

阴道分泌物常规检查的 实验室标准化

四川大学华西第二医院 胡正强 主任技师 hufly747@163.com



目录 CONTENTS



一、阴道微生态检查概况



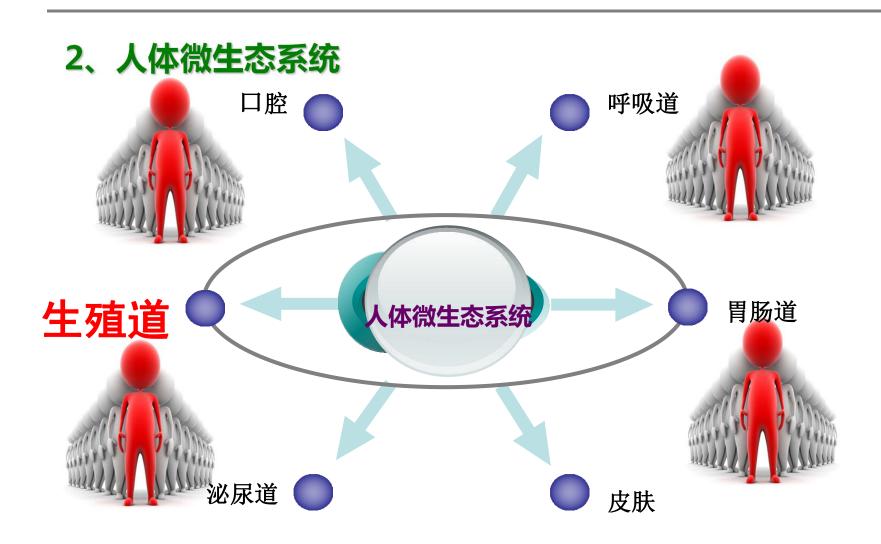
二、阴道分泌物常规检查的实验室标准化

1、人体微生态系统是人体的有机组成部分

- ◆ 人体微生态系统:人体在长期进化过程中,通过物种之间的相互适应、自然选择,正常菌群不同物种之间,正常菌群与宿主之间,正常菌群、宿主与环境之间始终处于动态平衡状态,形成的一个相互依赖、相互制约的系统。
- ◆ 人体正常菌群种类:1000余种
- ◆ 数量100万亿个(人体体细胞仅10万亿个)
- ◆ 平均重约1.5kg,相当于肝脏的重量。



阴道微生态检查概况





3、阴道微生态系统

动态平衡 (1:5-1:10)

●细菌(需氧菌



厌氧菌)

1.需氧菌和兼性厌氧菌:

优势菌

1) G-: 大肠埃希氏菌、阴道加德纳菌

2)G+:乳杆菌、棒状杆菌、GBS、非溶血性链球菌、肠球菌、金

葡、表葡;

2. 专性厌氧菌:梭状芽孢杆菌、消化链球菌、类杆菌及梭形杆菌等。

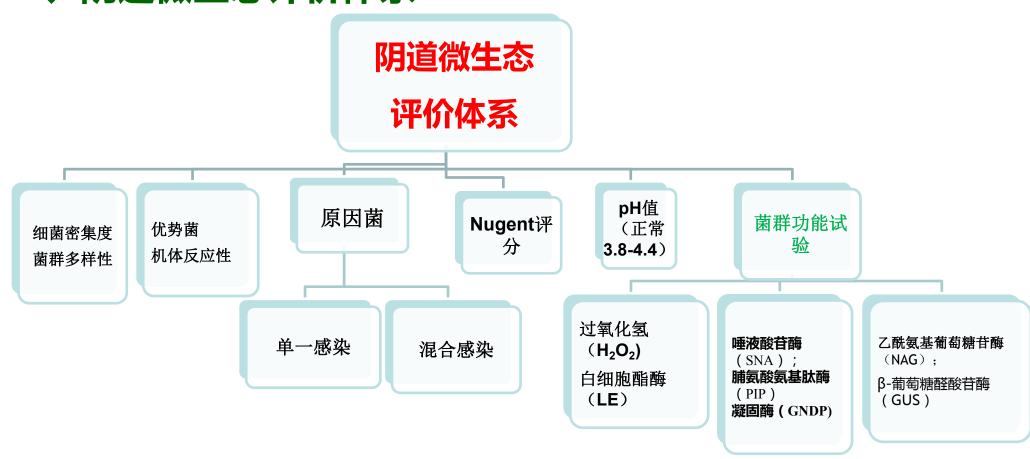


3、阴道微生态系统

- 真菌(白假丝酵母菌和各种非白假丝酵母菌)
- 原虫(如阴道毛滴虫、阿米巴等)
- 病毒
- 支原体



4、阴道微生态评价体系



(根据中华医学会妇产科分会感染性疾病协作组《阴道微生态评价的临床应用专家共识》

4.1 细菌密集度

- ◆标本中细菌分布、排列的密集程度。
- ◆反映阴道菌群总生物量的多少。
- ◆分级:
- ▶无 油镜下几乎没有细菌
- ➤ I(1+)油镜下每视野细菌数1-9个
- **■ II**(2+)油镜下每视野细菌数10-99个
- ➤ Ш(3+)油镜下每视野细菌数100-999个
- ▶ IV(4+)油镜下细菌聚集成团。



4.2 菌群多样性

- ◆指某一菌群中所有细菌种类的多少
- ◆反映细菌处于微生境选择压力的大小
- ◆决定性参数:机体对菌群的机械性清除作用和酸度
- ◆多样性分级:
- ➤ 无油镜下没有菌种;
- ► I(1+)油镜下能辨别细菌1-3种;
- I(2+) 油镜下能辨别细菌4-6种;
- ▶ Ш (3+)油镜下能辨别细菌7-10种;
- ▶ IV(4+)油镜下能辨别细菌11种以上。

- 4.3 优势菌 指菌群中生物量或种群密度最大的细菌,很大程度上 影响整个菌群的功能及其对宿主的病理生理意义。
- 4.4 机体炎症反应性 指局部有无炎症反应,可在一定程度上反映菌群的致病性。
- 4.5 阴道pH值 即阴道酸碱度,正常育龄妇女阴道分泌物pH3.8-4.5。pH > 4.5提示阴道菌群功能异常和微生态失调。



4.6 Nugent评分 上世纪90年代由Robea Nugent提出的细菌性阴道病(BV)评分方法,之后被视为实验室诊断BV的金标准。

评分	乳杆菌	阴道加德纳菌/普类沃菌	动弯杆菌
0	>30/油镜	0	0
1	6-30/油镜	<1/油镜	1-5/油镜或<1/油镜
2	1-5/油镜	1-5/油镜	>30/油镜或6-30/油镜
3	<1/油镜	6-30/油镜	
4	0	>30/油镜	

注:1)总评分=乳杆菌评分+阴道加德纳菌和普类沃菌评分+动弯杆菌评分。

2) 总评分0~3分为正常,4~6分为临界范围,7~10分可诊断BV。



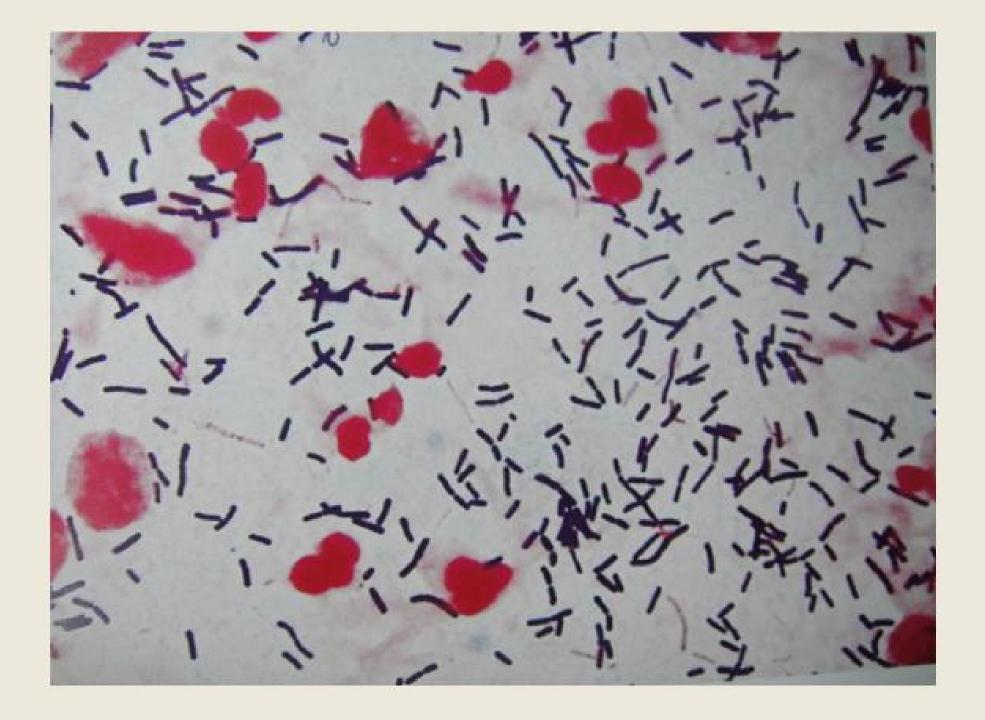
0分: 每油镜视野

乳杆菌>30

未见明显杂菌

分值		
乳杆菌	加德纳菌/普雷 沃菌等	动弯杆菌
0	0	0

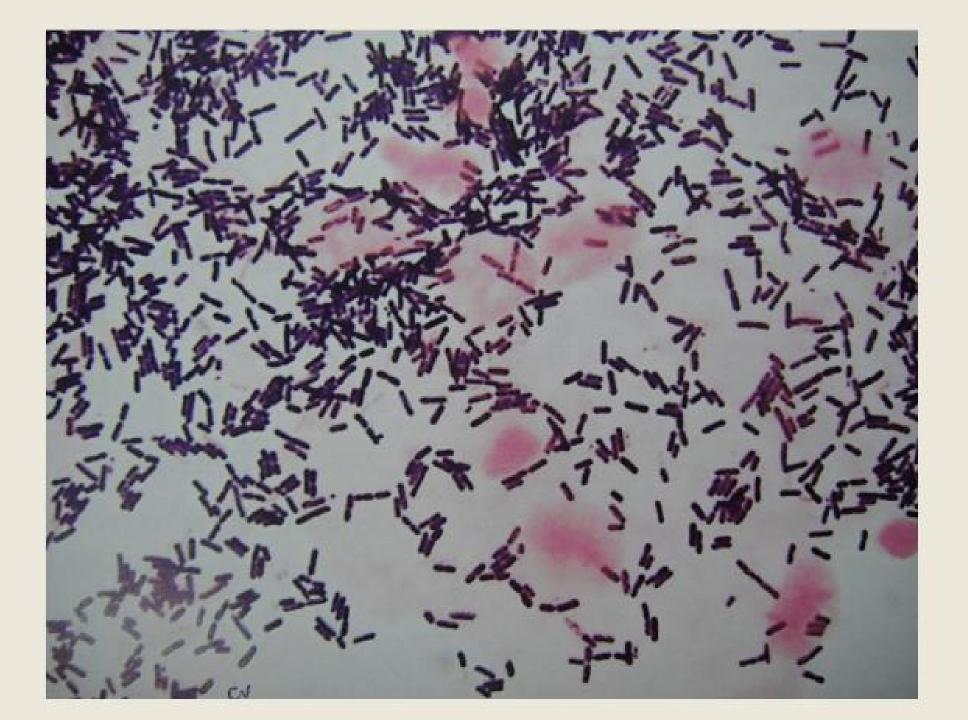
较多白细胞 仍评**0**分

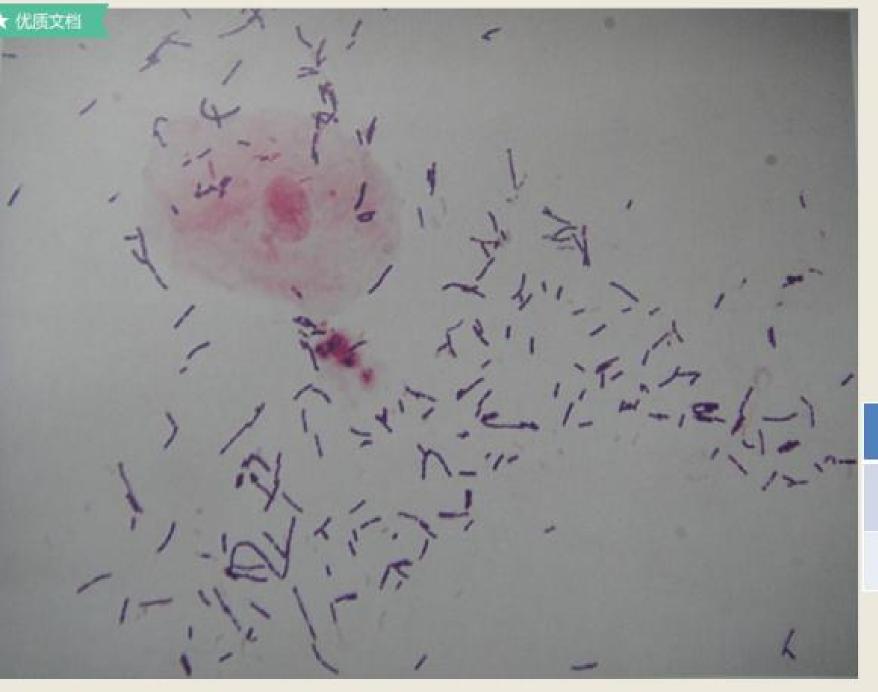


乳杆菌过多

评0分

诊断: CV





1分:每油镜视野

乳杆菌>30

极少量杂菌

(相比0分背景稍不干净)

分值		
乳杆菌	加德纳菌/普雷 沃菌等	动弯杆 菌
0	1	0

背景杂

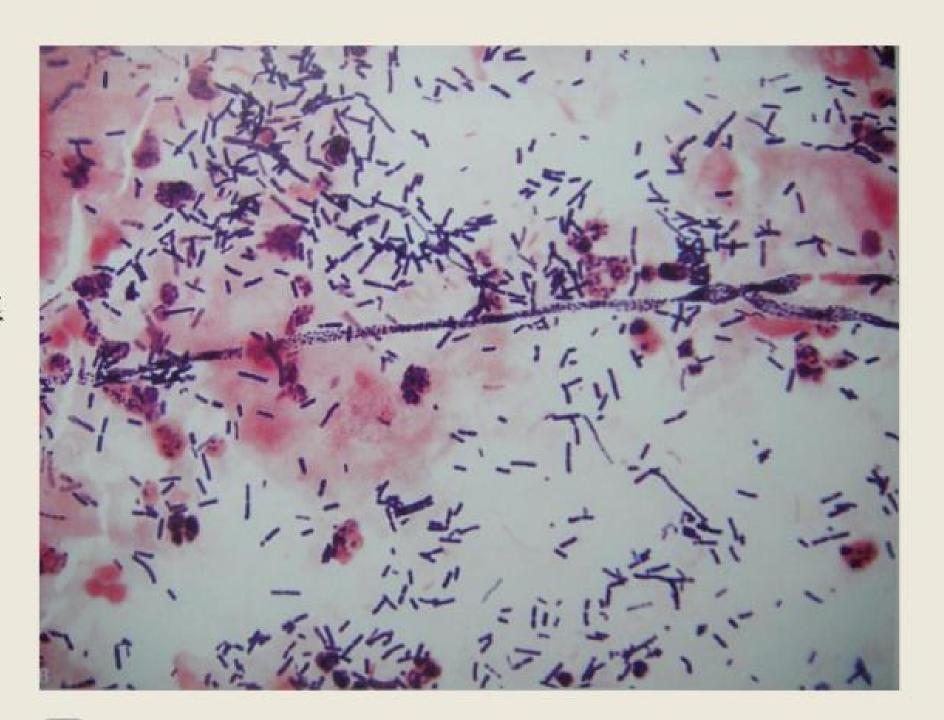
见白细胞和菌丝

乳杆菌>30

隐约见杂菌

诊断: BV阴性

VVC



白细胞较多

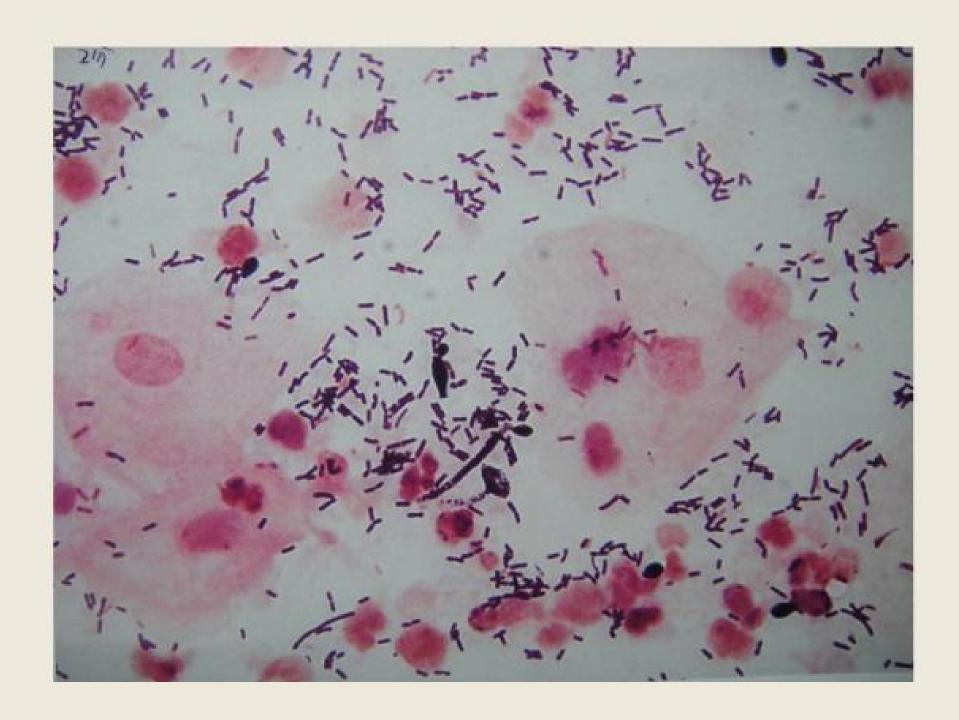
孢子,芽生孢子,菌丝

乳杆菌>30

少量杂菌

诊断: BV阴性

VVC



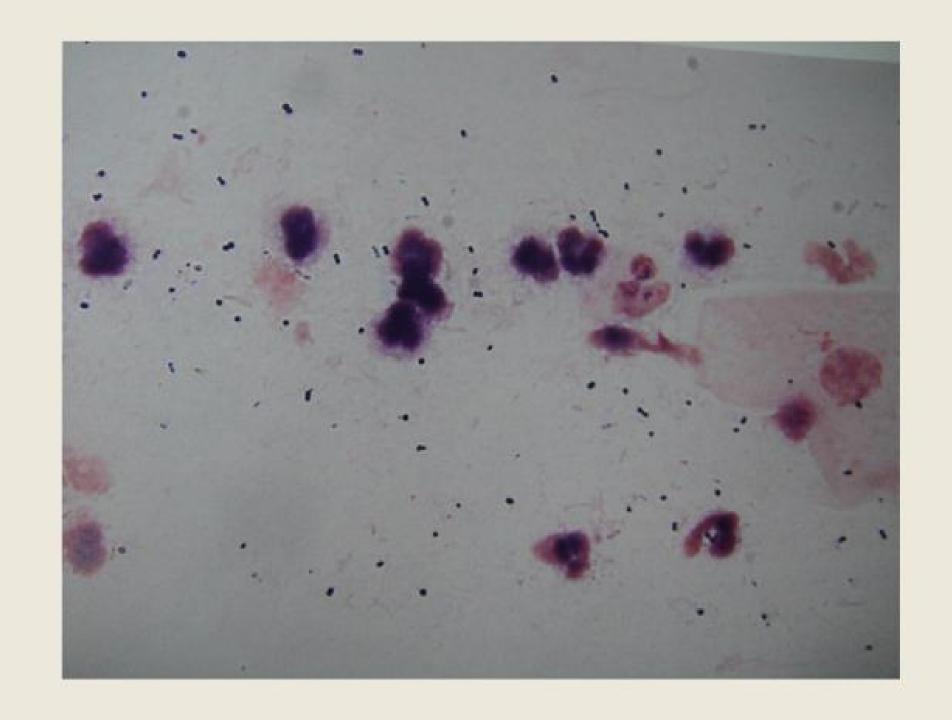
G+球菌为主

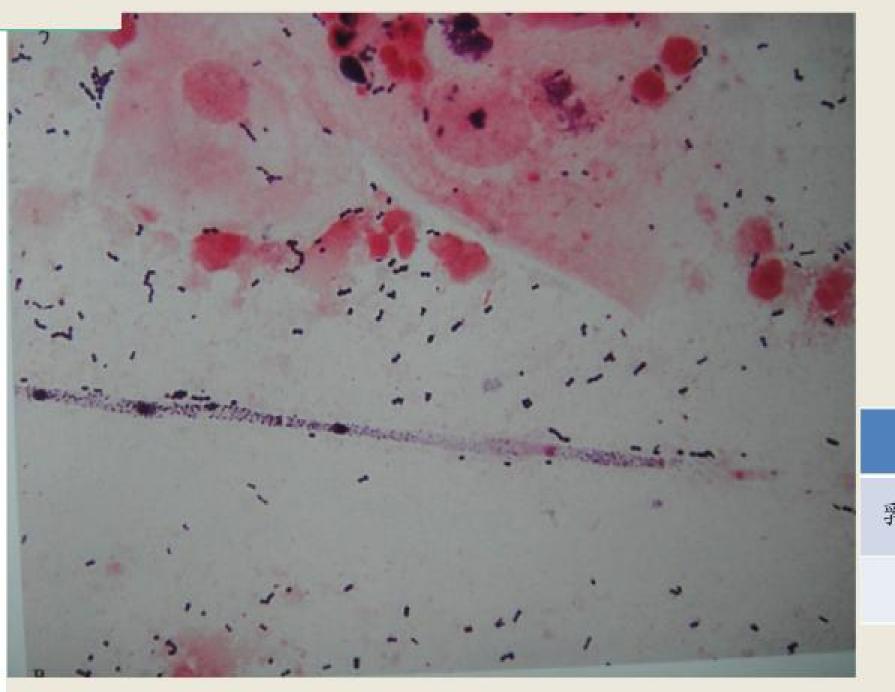
乳杆菌<1

见白细胞

诊断: BV阴性

菌群异常





3分: 乳杆菌<1/油镜

少量杂菌

可见菌丝、孢子

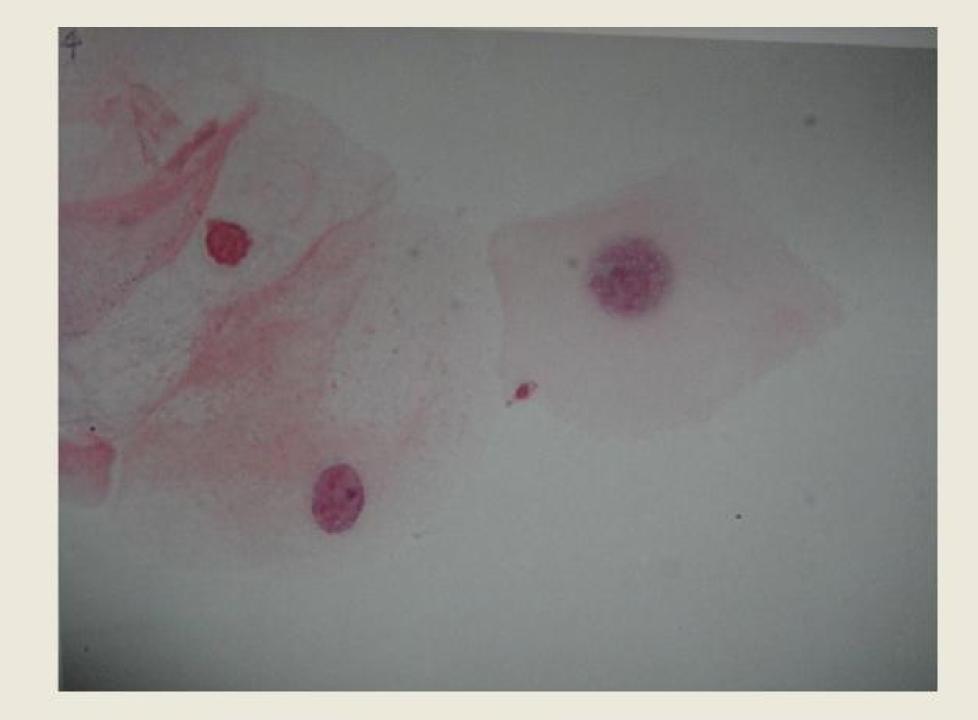
分值		
乳杆菌	加德纳菌/普雷 沃菌等	动弯杆菌
1	2	0

乳杆菌无

无杂菌

诊断: BV阴性

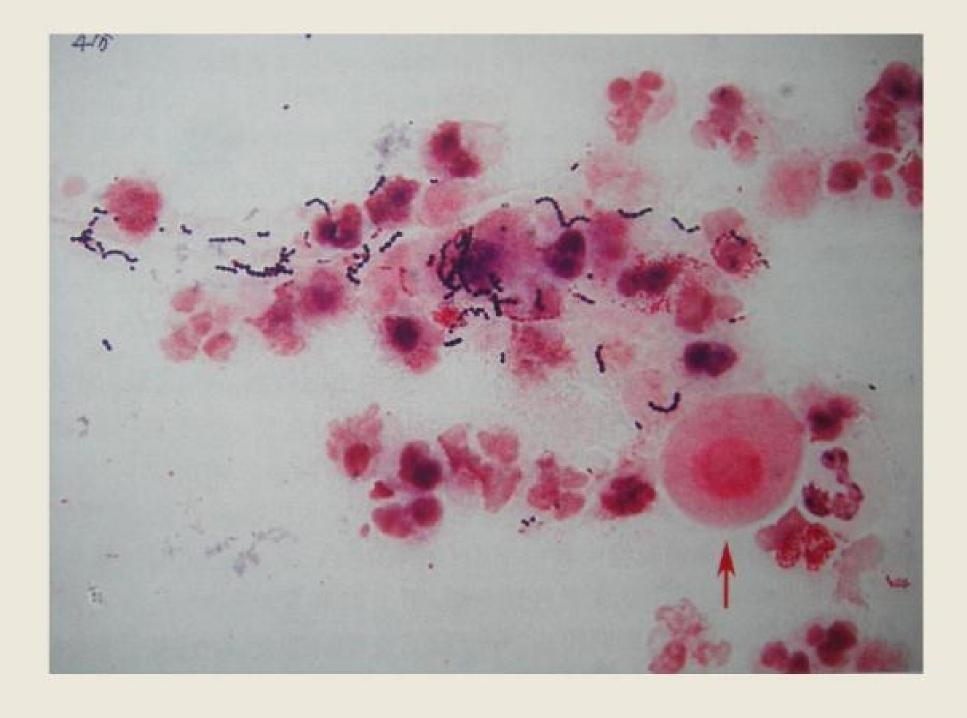
菌群抑制



链球菌为主

白细胞多

诊断: AV

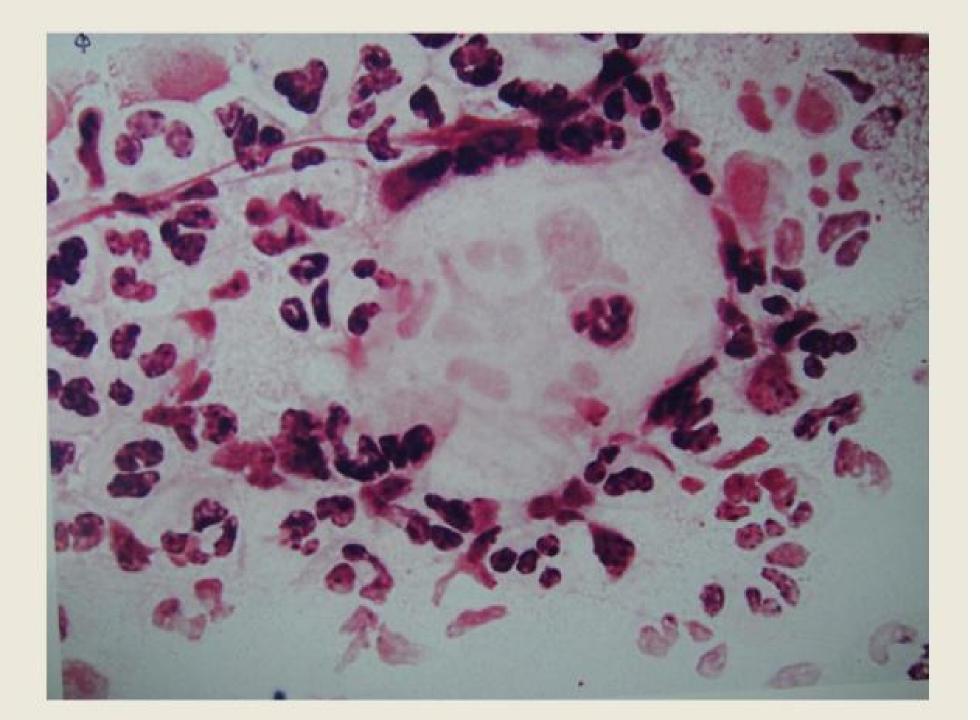


白细胞多

未见乳杆菌

未见杂菌

诊断: 菌群抑制

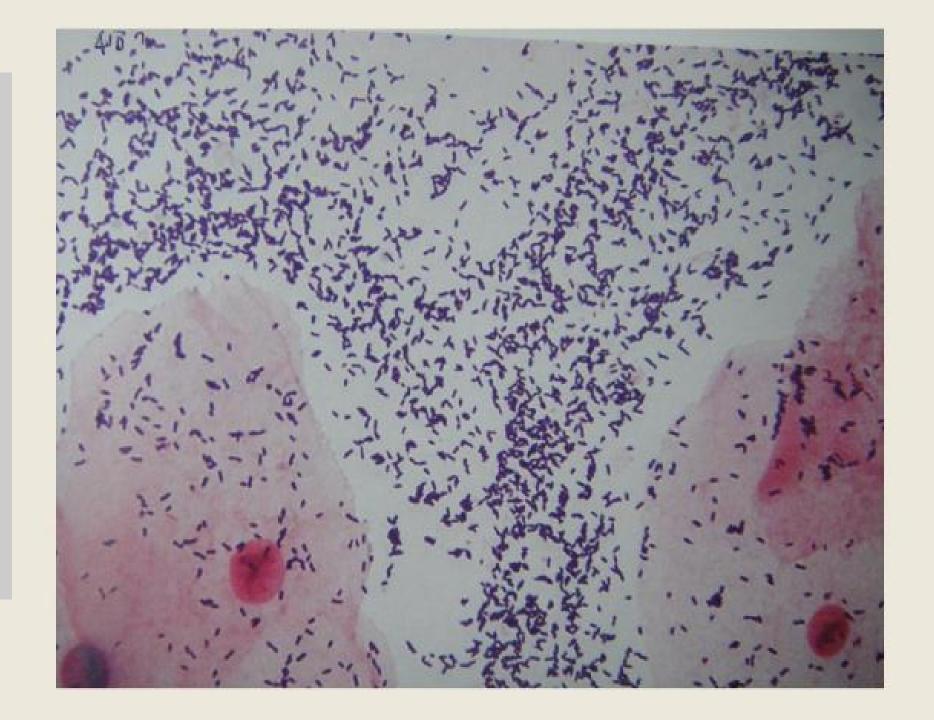


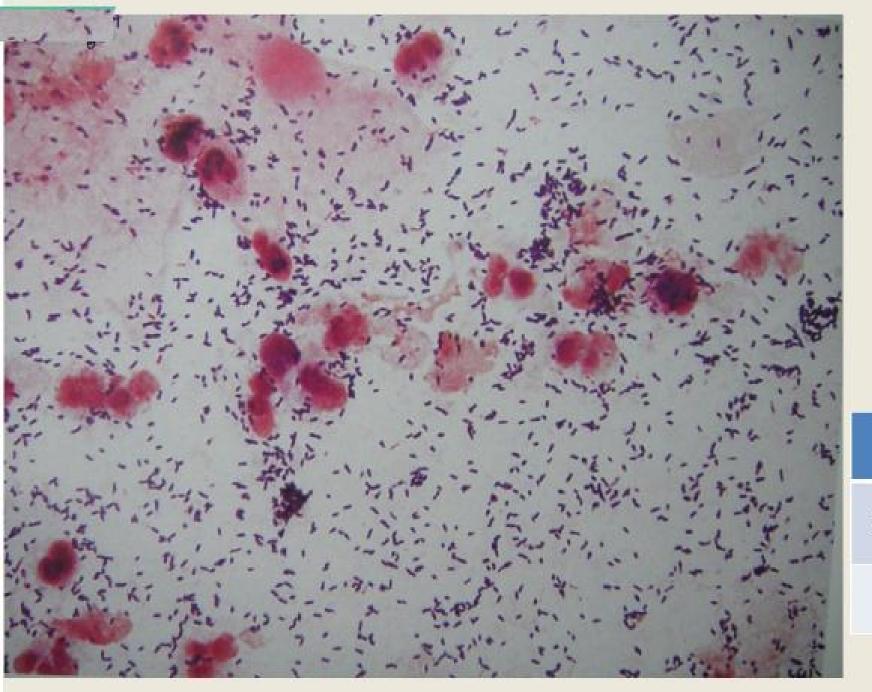
G+短小杆菌优 势

乳杆菌1-5个/ 油镜

诊断: BV中间

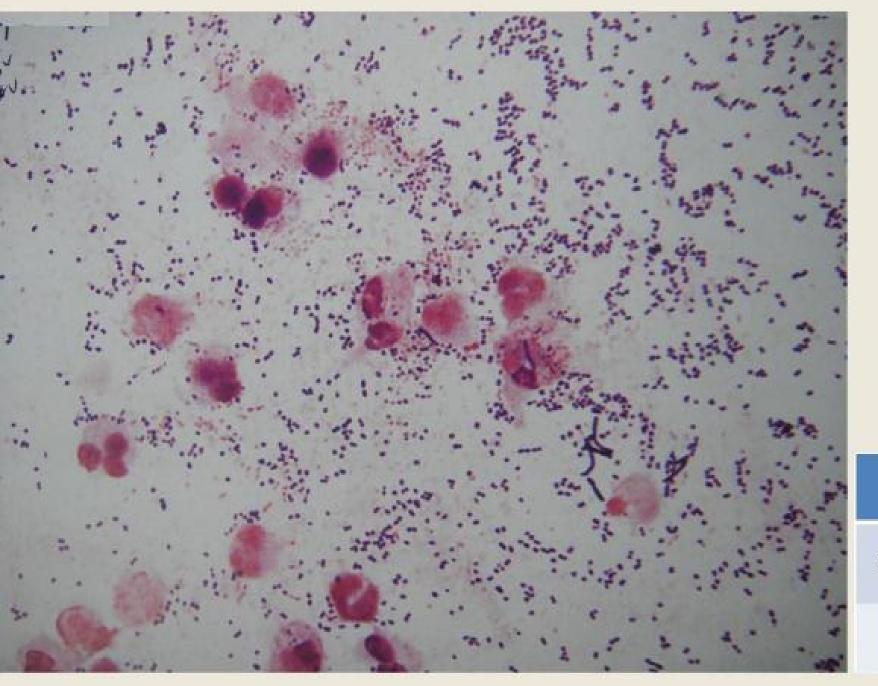
型





诊断: BV中间型

分值		
乳杆菌	加德纳菌/普雷 沃菌等	动弯杆菌
2	3	1



7分: G-小杆菌优势

乳杆菌1-5/油镜

G+球菌多见

白细胞多

诊断: BV合并AV

分值		
乳杆菌	加德纳菌/普雷 沃菌等	动弯杆菌
2	4	1

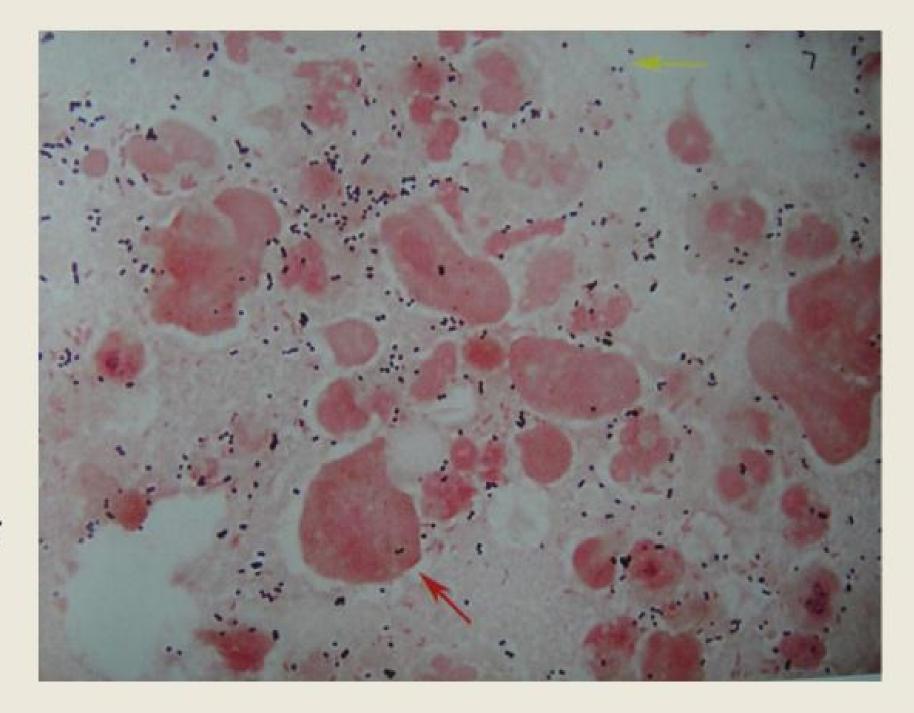
可见滴虫

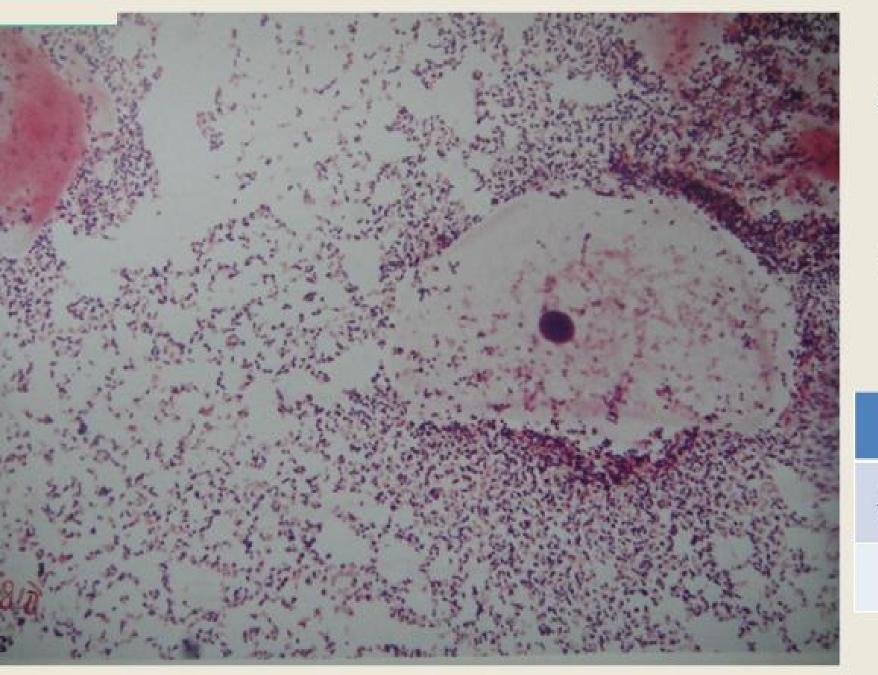
未见乳杆菌

G+球菌优势

G-小杆菌较多

诊断: TV并BV并AV





8分: 乳杆菌未见

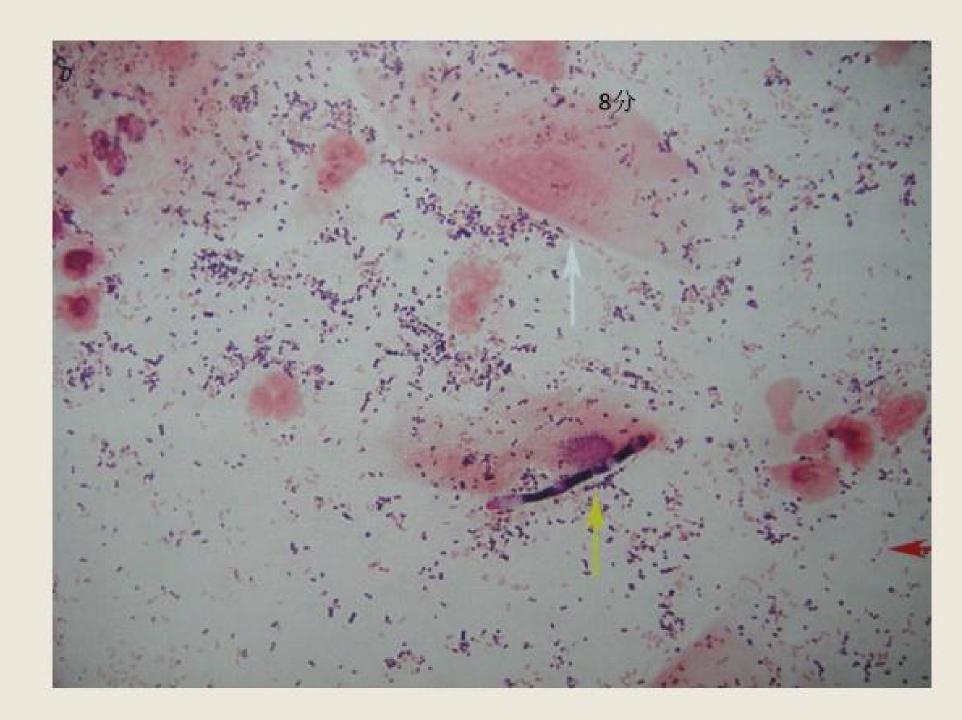
大量G-小杆菌

诊断: BV

分值		
乳杆菌	加德纳菌/普雷 沃菌等	动弯杆菌
4	4	0

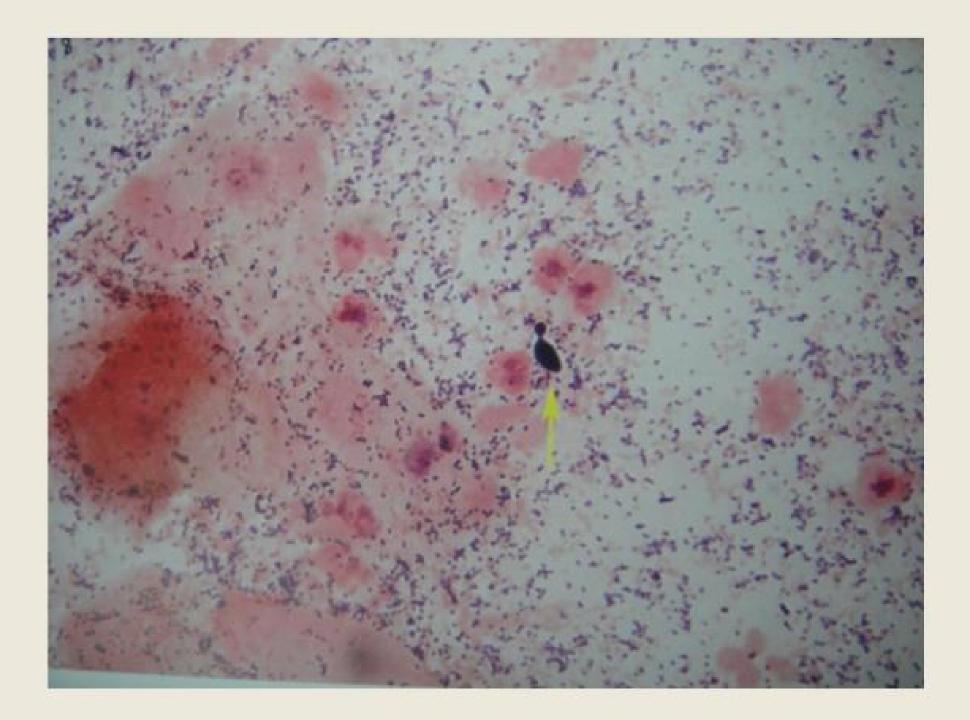
8分 诊断: BV

VVC

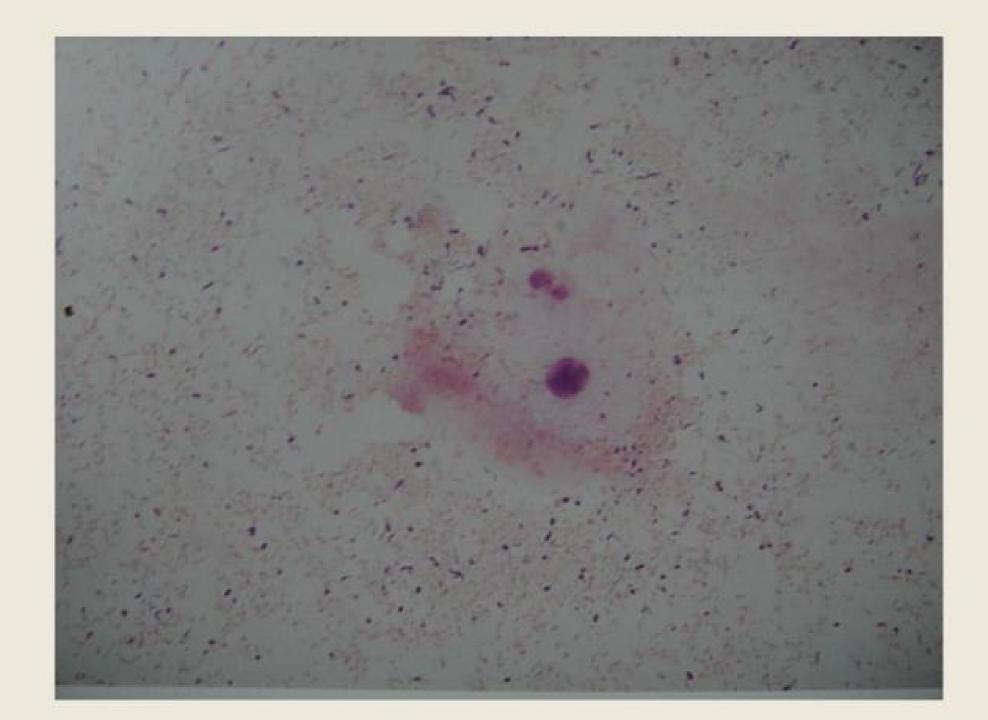


诊断: BV

VVC



10分 诊断: BV





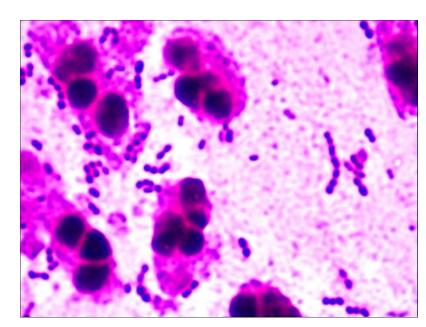
4.7 原因菌

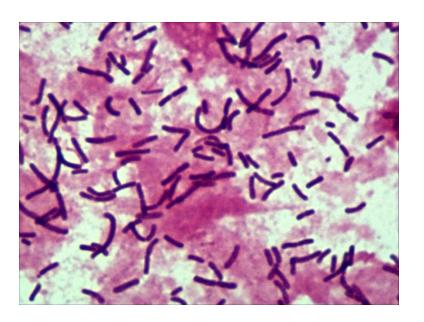
- ◆假丝酵母菌;
- ◆阴道毛滴虫;
- ◆革兰阴性双球菌;
- ◆加德纳菌、各种厌氧菌、动弯杆菌及支原体引起 的混合感染。

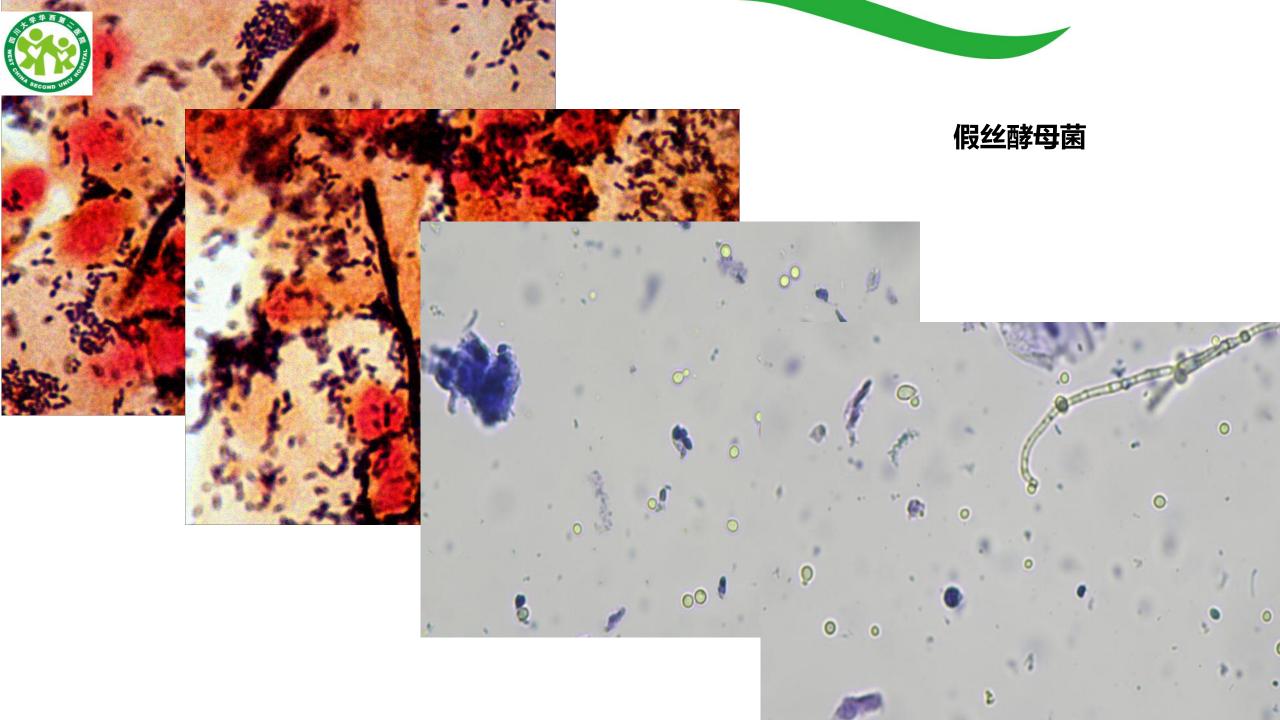


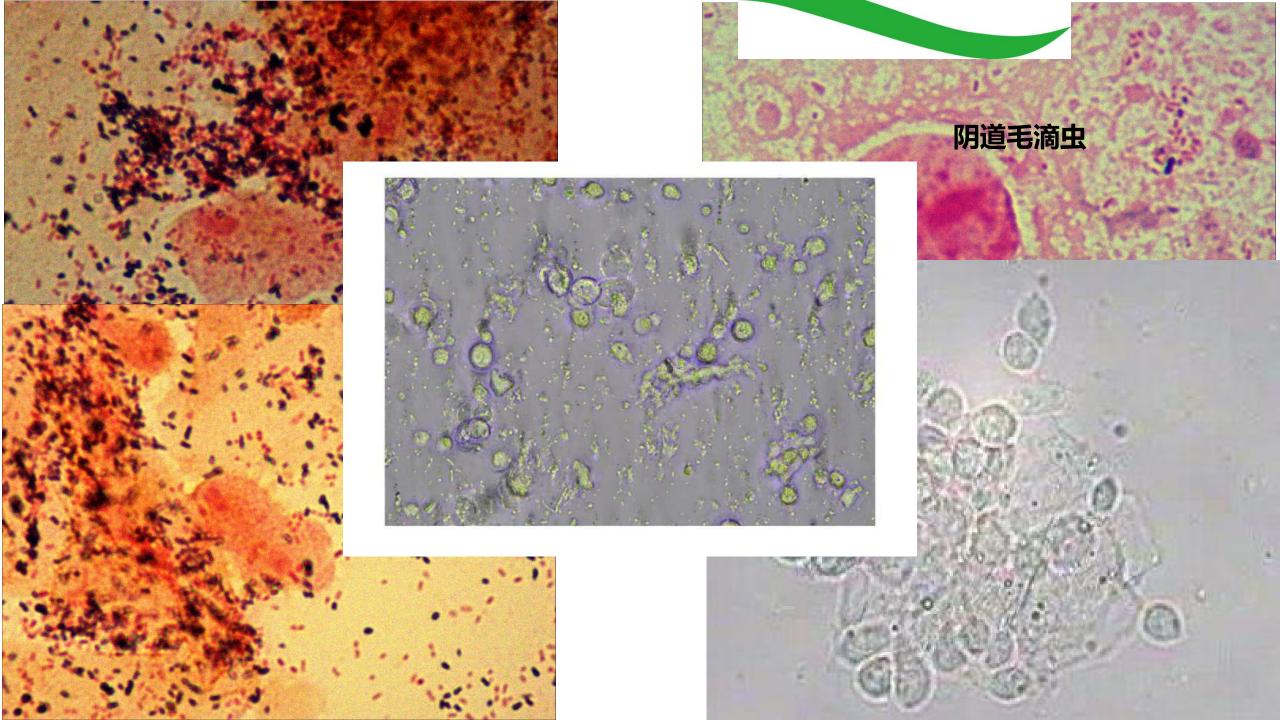
4.7 原因菌

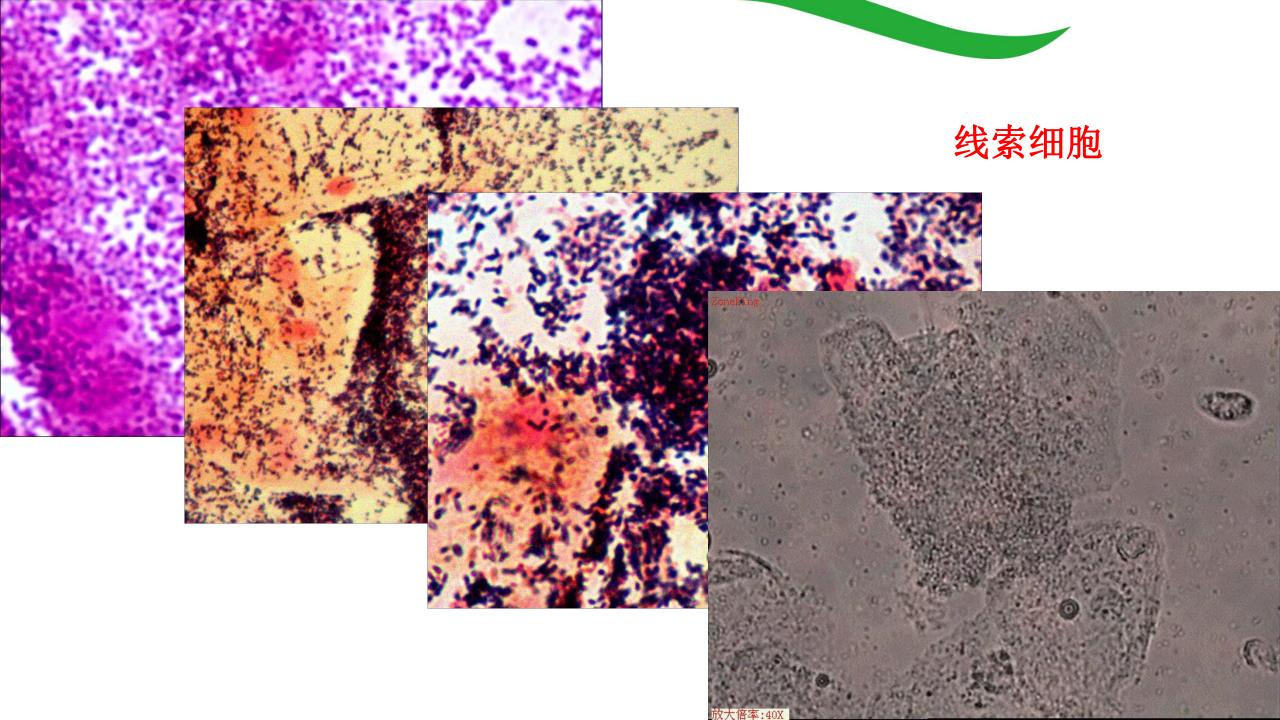
- ◆ 需氧菌性阴道炎(AV)病原菌:G+球菌或G-粗杆菌:大肠埃希菌、 B族链球菌;金黄色葡萄球菌、粪肠球菌等。
- ◆ 过度生长的乳杆菌--引起胞溶性阴道病 (CV)

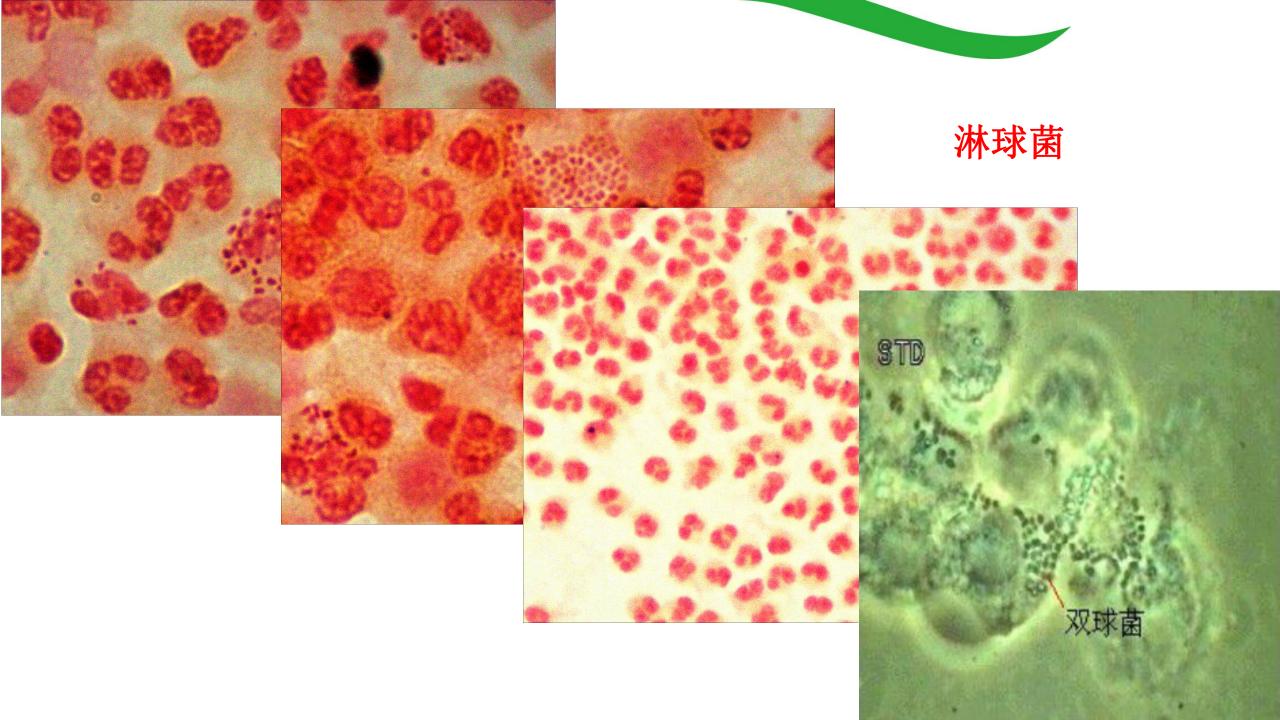














一、阴道微生态检查概况

4.8 细菌功能检查及其临床应用

- ▶β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)是白色念珠菌、阴道毛滴虫、人型支原体等阴道常见致病菌分泌的酶。结合pH值,提示VVC或TV存在。
- **▶唾液酸酶**(SNA)是加德纳菌、动弯杆菌等BV致病菌分泌的特异性酶。 若SNA为阳性,表明有细菌性阴道病。
- **➢脯氨酸氨基肽酶**(PIP)是部分阴道加德纳菌、 动弯杆菌及白假丝酵母菌产生的特异性酶标志物,阳性表明可能有细菌性阴道病。
- ▶**白细胞酯酶**(LE): 为多形核白细胞释放的羧酸酯酶,在人体发生炎症时,多形核白细胞在病灶聚集并大量释放白细胞酯酶。白细胞酯酶活性可反映阴道清洁度,辅助诊断阴道炎症程度。



4.8 细菌功能检查及其临床应用

- 凝固酶 (GNDP)表示凝固酶活性,金葡菌、粪肠球菌、大肠埃希菌、假丝酵母菌和滴虫感染指标[1];
- β-葡萄糖醛酸苷酶(GUS):大肠埃希菌等需氧菌的特异性酶,阴道分泌物中含有此酶,说明阴道被大肠埃希菌等需氧菌感染。
- ▶ 过氧化氢(H₂O₂):是阴道优势菌乳酸杆菌的标志物,其浓度表示阴道有益菌群是否正常,阴性指维系阴道微生态平衡的乳酸杆菌量正常,阳性指阴道微生态被破坏,阴道微生态失调。



一、阴道微生态检查概况

5 正常阴道微生态[1]

密集度	多样性	优势菌	清洁度	乳杆菌功能	pH值
II-III级	II-III级	乳杆菌	I度	H ₂ O ₂ 阴性 (乳杆菌功能正常)	3.8-4.5

[1]中华医学会妇产科分会感染性疾病协作组.阴道微生态评价的临床应用专家共识.中华妇产科杂志, 2016; 51(10): 721-723.



一、阴道微生态检查概况

6 微生态失衡

- ◆ 微生态评价体系中密集度、多样性、优势菌、炎症反应、pH值和乳杆菌功能任—指标异常,即为微生态失衡。
- ◆生殖道感染的本质:阴道微生态失衡。
- ◆ 生殖道炎症的本质:是不同微生物病理性协同作用的结果。



目录 CONTENTS



一、阴道微生态检查概况



二、阴道分泌物常规检查的实验室标准化



- ◆分析前
- ◆分析中
- ◆分析后



分析前

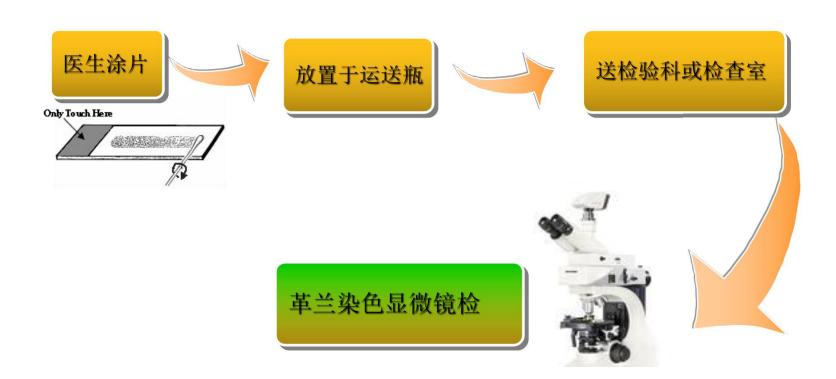
- ◆ 标本采集
- → 一般要求: 取材前24h 内应无性交、无盆浴或阴道冲洗;48h内无阴道用药。
- **采集方法:**用两支采样拭子于相同部位刮取分泌物,一支直接送检,一 支涂布于洁净载玻片,放入加盖的运送瓶内,送检。
- 采集部位:将窥器润滑后放入阴道内暴露宫颈,以无菌采样拭子从阴道 上1/3侧壁取材,能真正反映阴道菌群的状态。
- ➤ 特殊病原体的采集部位:宫颈管口内1-2cm—淋球菌/衣原体检测;

后穹窿—白色念珠菌/阴道毛滴虫。



分析前

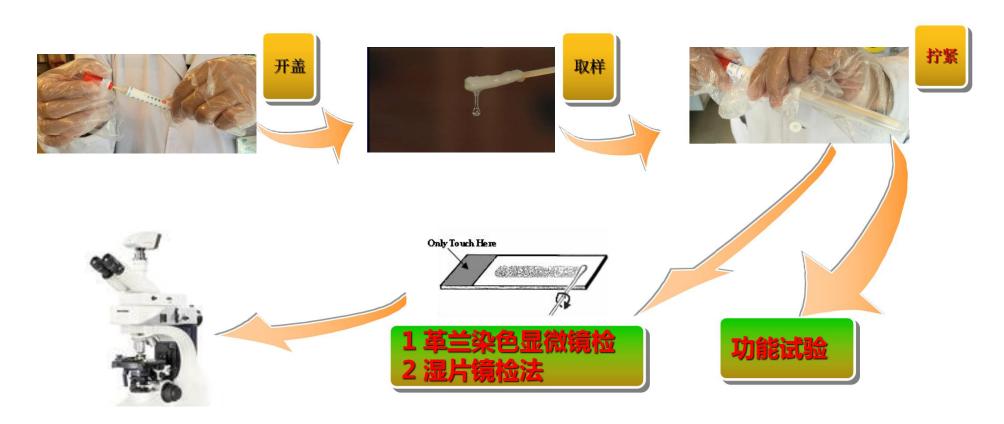
◆ 检查流程1:





分析前

◆ 检查流程2





分析前

◆ 检查流程3











拧紧

仪器自动进行:

- 1显微镜检
- 2 功能试验



白带常规或微生态 自动化检查



分析前

- ◆ 注意事项
- > 尽量多取样;
- 如果医生未按要求采集,应拒收标本或备注。
- 根据检测目的确定检查流程。
- ✓ 革兰染色镜检法:流程1,流程2
- ✓ 湿片显微镜检法:流程2
- ✓ 阴道微生态检查:流程2
- ✓ 白带自动化检查: 流程3



分析前

- ◆ 标本处理
- ◆ 患者缴费后生成条形码;
- ◆ 标本接收(LIS系统生成接收时间及接收人员);
- ◆ 标本流转(生成流转时间及流转人员);
 - 优点:标本接收和运送一目了然,便于规范流程,防止标本丢失,及时送检。
- ◆ 标本录入:微生态实验室收到标本后,立即编号、录入(生成录入时间及录入人员)
- ◆ 标本分流:涂片标本用于形态学检查;一次性采样拭子用于功能学实验或白带(微生态)自动化检查。



- ◆ 标本检测
- ◆ 形态学检查(显微镜检或自动化仪器分析):
- ➢ 革兰染色:固定→初染→媒染→脱色→复染→干燥。
- 显微镜检:包括清洁度、上皮细胞、原因菌、细菌密集度、菌群多样性、优势菌、机体炎症反应性(白细胞)等。
- ◆ 功能试验:包括pH值、过氧化氢、白细胞酯酶、唾液酸酶、GUS、GNDP、NAG等检测;
- 功能实验已经实现自动化检测和结果的自动化传输。
- ◆ 参考意见:必要时根据形态学检查和功能试验结果给临床提供参考意见。
- ◆ 图像分析:必要时进行微生态图像采集。



- ◆ 白带自动化分析仪的性能评价
- ◆ 仪器投入使用前,应通过分析系统的评价验证其 性能是否能达到设备说明书的性能要求(制造商 规定的性能要求应满足临床需要)
- ◆ 评价内容:准确度、精密度、携带污染率、仪器 比对



全自动白带分析仪



◆ 仪器维护、保养与校准

- ▶ 日常维护:建立完整的SOP并严格执行,对每天仪器的状况、出现的问题及时登记,对仪器做全面检查(废试剂板、废玻片、打印纸等)
- 每日保养:每日测定完毕后,仪器表面试剂带托盘用清水或中性清洁剂擦拭干净,及时清除废物(废玻片、废试剂板);每日对显微镜镜头、台面、机身进行清洁保养。
- 每周保养或每月保养:各类自动分析仪及显微镜根据仪器的具体情况 进行每周或每月保养。
- 定期校准:白带自动化分析仪校准(半年周期)。
- 临时校准和维护:仪器安装、移动、故障修复后的校准及维护保养。注:所有的维护、保养和校准均有记录,并保存于仪器档案或仪器记录文件内。



仪器的状态与我们的检测结果密切相关





- ◆ 质量控制
- ◆室内质控:目的是控制仪器或人员检测的精密度和一致性。
- ▶ 形态学:采用人员比对方法(所有形态学项目双份抽样比对,检测结果阴阳判断一致,相差不超过一个程度级为结果在控)
- ▶ 自动化分析仪或功能试验:使用阴性和阳性两种质控品(或仪器配套的质控品)每日进行室内质控,同样:任意一个试剂模块的检测结果与质控液期望靶值允许有一个定性等级的差异,超过此范围或结果在正常和异常(阴性和阳性)之间跳跃均应视为失控。
- ▶ 失控的处理:填写失控报告、分析原因、及时纠正。



- **◆** 质量控制
- ◆ 自动化分析仪:目的是控制仪器或人员检测的精密度和一致性。
- ▶ 每日室内质控:采用配套质控品每日质控(根据标本量确定**质控频率** , 一般每日1次)。
- ▶ 仪器维修、校准、故障修复前后的比对(留样待测),以保障仪器在维修、校准、故障前后的一致性(差值≦1/3TEA)。
- ▶ 仪器间比对:如同一实验室有两台以上相同的分析仪,需每半年进行 仪器间比对,以保证仪器检测的一致性(差值≦1/2TEA)。



- ◆ 质量控制
- ◆ 室间质评:目的是控制检测结果的准确度。
- ▶ 相关检测项目(如上皮细胞、线索细胞、真菌、阴道毛滴虫、Nugent评分等)参加第三方机构如美国病理家协会(CAP)组织的室间质评。
- ▶ 或同级实验室之间进行比对(替代实验)
- 失控的处理:填写失控报告、分析原因、及时纠正(一个月内完成)。



		V	四川大	学华的	当第二	三医院	完临 B	末检	验	科	(-	*-	-)										
版数	Editio	n) 8.0 版 n 相正是	(日) (日) (日)	III Date of Æ Autho	Isone: 20 rized by:	015-01-0	文件名			010-Mi		M126	1										
								例	道德	生态	检查	室内加	近控证	录表									
				QUAL	ITV C	ONT	POI								FCO	eve	CEN		CIN	,			
201	qu.			QUAL.		Oiti	KOL	ICE.	CO	KD C	/E Y/A	GIN	AL M	ICKO	-ECO	313	LEAV	LAS	(SA)		IO-ME		M
	T				10101	3果								.,	双位	结果							Ϊ
								过	14									过	塘		X		ı
	16	利度				乳杆		76	液	白相		相保	10.00	优		乳杆		製	报	CHIN	和		ı
18	# 9	出集	福田多	(3.35	Noprat		pH	et	稅	MICKS.	初检	密集	多样	57:	Nugent	百分	pH	化	M2	Mitte	17	复检	1
-	-	1度	种性	III C-b	7	但	但	泉	Ni	nis	47	12	11	(iii	野分	100	值	氮	til	Ni	好	- 8	4
31/2		4+	21	6-b		Ilb	4.7	+	+-	+-	PLY	41	2†	6-6	7	Ib	4.	+	+-	+-	7	reta	4
7/4		3+	14	乳料道 C-6	0	I	50	-	-	+-	co	3+	14	知精	0	I	50	-	-	+-	7	una	Н
8/	-	74	2+	C-9	-	Ib Ih	47	+	-	+	co	3 1	3† 2†	a-6	2	I.	44	+	-	+-	7	WHO.	+
111-		34	2+	63	1	5 h	47	-	-	+	Op	34	24	0-6	7	Th	47		-	+	7	1450	ä
19/4		3+	1 *	(50)	7	I.	5.0	+	-	+	do	3+	3-	G 367	6	I A	50		-	+	1	well	1
14/		2+	1+	8141%	3	Ea.	4.0	+	-	+-	CO	2"	1.0	304%	3	II.	4.0	-	-	+-	Y	uns	ň
13/4	1	2+	2+	CHA	6	Ib	0.0	+	#	+	do	3+	2.7	G.b	6	I6	5.0		7	+	4	una	t
18/0	1	3+	1+	别样的	0	I	1.0	-	-	+	Ch	3+	17	and.	0	1	5.0	-	-	+	4	.me	+
13/6	2	2+	1+	SHA	2	Ia	47	+	-	+-	w	2+	1+	346	2	Ila	4.7	+	-	4 -	y	une	ā
20/4	1	2+	1+	SUH	0	1	4.0	_	-	-	ch	3+	It	多髓	0	1	40	-	-	-	y	ieno	ü
21/4	3	3+	3+	ab	7	116	5.0	+	+	+	on	3+	3+	G-6	7	Ib	5.0	+	+	+	4	wee	ū
2/4	1	2+	14	らの作動	1	Ia	44	+	-	+	0)	2+	11	细瘤	1	Ia	4	+	-	+	4	LANCE	ū
1/2	1	14	1+	龙	v	Ia	4.6	+	-	+	dp	1+	1+	7	2	Da	4.4	+	-	+	y	25572	1
266	1	3+	1+	30th	1	1ª	4,0	+	-	+	op	3+	Childhiso 14	8496	1	Ila	90	+	-	十	V	(nett)	в

	COLLEGE of PATHOLOGIS 125 Manager Band, Northfeld 800-325-4640 - capang	STS	Attention	n 7196972-01 ic West China Sec ic Xiaopan Liu ii: Chengdu Sic Cl		Sichson		Original	Kir ID: 29906863 Kir Mailed: 2/8/2016 Evaluation: 3/29/2016 Evaluation: 4/29/2016		
	EVALUAT REVISION	TON			VS2-	A 2016	Vaginitis :	Screen, (Gram St		
Test Method Vaginitis Screen		Specimen VS2-01 VS2-02 VS2-03	NEG BAC	r VAGINOSIS I VAGINOSIS VAGINOSIS			Intended	l Response	336 336 338 338	good 14	od 1411
Test Unit Of Measure Methods Nugent Scoring			-			Evaluation			Limits of Acceptable		
		VS2-01 VS2-02 VS2-03	Your Re	sult 4 7	Mean	8.D. 0-3 1-5 7-10	3.6 3.8 3.18	5.D.1 5 97 5 97	Lower Upp 13% 京教別學 1.4% 二、吳安內代學 4.08% 二、安安內代學	R I	Grade
		找物件	一级敏线	labs	Nuge	nt sone	- 16	安岭飞	labs		
2154	VS2-01	BVC->	98.01	357		1	97	-97	>88 >99		
,	N2x-03	BV(+) BV(-)	94.5%	337		,	54	13/	>89		
2006	1// -1	BV(-)	99.4%	312		3	9,	.76%	×C		
2007	N.C. =47	BV(-)	100%	311				4.51%	XZ		
	VS2-07 VS2-07 VS2-03	BV(+)	99.0%	3/2	8	3	9	7.45%	×2		
							Vaginit	is Scre	en do Nogont s	iore thing	作分数
										7634	- 690°

室内质控

室间质评



分析后

◆ 结果审核

- ▶ 病人信息核对:核对病人信息和检验项目,对不符合处及时更正。
- **历史结果回顾**:对照病人以前结果及临床诊断,如有不符,通过电话、实验室信息系统、走访病房等形式与临床沟通,探讨异常结果可能的影响因素,直到问题解决,才能审核发放报告。
- 质控回顾:回顾当日室内质控,只有当显微镜检或自动化分析室内质控在控时,才能审核发放报告。如室内质控失控,应及时填写失控报告、分析原因、及时纠正。纠正前发出的报告应及时追回。
- ◆ 检查无误后,发出报告。



我们的服务理念:

快速、准确、方便!



