

• 检验试剂评价 •

沙眼衣原体诊断试剂盒临床实验评价

刘 瑜¹, 单万水², 韩红星², 杨 燕², 唐 盛³, 樊学俊³

(1. 湖北省武汉市儿童医院检验科 430016; 2. 广东省深圳市第三人民医院检验科 518020;

3. 广东省深圳市迈科龙生物技术有限公司 518055)

摘 要:目的 对该公司开发的沙眼衣原体诊断试剂盒(免疫荧光法)进行临床实验,评价其检测效果。方法 采用 Trinity 试剂盒(免疫荧光法)和沙眼衣原体诊断试剂盒(免疫荧光法)对 1 100 例样本进行检测。采用拟验证试剂与对比试剂进行平行检测,并以 Trinity 试剂盒检测结果为对照,计算两种试剂盒检测结果的总符合率及阴、阳性符合率。结果 检测临床实验样本 1 100 例的结果显示,对比两种试剂盒的总符合率 97.18%,阳性符合率 92.72%,阴性符合率 97.89%。结论 迈科龙试剂盒检测快速、简便、经济、准确,可用于沙眼衣原体的快速诊断。

关键词:衣原体,沙眼; 试剂盒,诊断; 符合率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.048

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)10-1115-02

沙眼衣原体是 1 种细胞内寄生菌,它的感染形态是原体。原体感染宿主细胞,转变为代谢活跃的网状体,经二分裂增殖,最终仍产生原体,从细胞中释放出来感染新的细胞。沙眼衣原体所引起的泌尿生殖道感染是性传播疾病中最常见的 1 种,在性活跃期感染率高^[1]。沙眼衣原体的传播受多种因素的影响,其中年龄、性别、种族、避孕措施、多性伴、既往沙眼衣原体感染史、性伴有性传播疾病表现、合并其他疾病等因素均可成为独立危险因素。据世界卫生组织估计,全球每年新发的性传播沙眼衣原体感染患者约 8 900 万^[2]。近年来,由沙眼衣原体感染而导致的非淋菌性尿道炎、阴道炎、宫颈炎、子宫内膜炎等已超过淋球菌感染而居性传播疾病之首,从而引起不孕不育^[3]。因此,有必要开发出适用于临床检测且操作方法简便、快速、经济、准确的沙眼衣原体诊断方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料 女性采取宫颈分泌物,男性采取尿道口分泌物、前列腺液或精液样本。本实验共对 1 100 例样本进行临床对比实验,样本均分别用编号表示,采用拟验证试剂及对比试剂进行平行检测。患者涉及到广东省和湖北省不同地区,患病或不患病人群,具有地区和人群的代表性。排除已受污染或隔天的旧样本。剔除 1 周内受药理(如抗菌剂治疗患者样本)、病理及其他生理因素影响的患者样本;因种种原因未能完成检测的标本;实验过程中出现严重不良反应,无论是否与实验有关;临床单位主要研究者所认为的任何其他原因。

1.2 样本保存 取样后,如不能及时涂片或接种,样本需放入 2~8℃ 冰箱保存。样本保存超过 24 h 后,阳性率下降,应予以舍弃。

1.3 方法

1.3.1 样本采集 规范采集样本是获得准确检测结果的前提,必须予以高度重视。采集女性宫颈分泌物应使用无菌棉拭子拭去宫颈口黏性分泌物,丢弃该棉拭子,用另一无菌棉拭子插入宫颈管 2~3 cm 处,缓缓转动 10~15 s 左右抽出(抽出棉拭子时应避免接触到阴道壁),将棉拭子放入采样管,拧紧管盖。采集男性尿道口分泌物时,患者取样前 1 h 内不应排尿。将无菌棉拭子插入尿道口内 2~4 cm 处,缓缓转动,约 5 s 后抽出,将棉拭子放入采样管,拧紧试管盖。前列腺液或精液样本采集时,临床医师遵循相应规范医学采样方法进行采集,置于采样管中送检。

1.3.2 实验产品 沙眼衣原体诊断试剂盒(免疫荧光法)由深圳市迈科龙生物技术有限公司生产提供。产品有效期:暂定 14 个月,储存条件:2~8℃ 避光冷藏。

1.3.3 检验方法 将样本轻缓涂抹在载玻片上,勿在玻片上反复涂抹拭子,充分晾干。使用甲醇或丙酮固定 10 min,自然晾干。加 5 μ L 沙眼衣原体免疫荧光试剂,均匀滴加在玻片涂样处,置于 37℃ 温育箱孵育 30 min。应避免试剂在玻片上干燥,否则将加重非特异性染色现象,且有可能造成不正确的阳性结果。孵育后,使用去离子水或蒸馏水缓缓冲洗玻片多次,注意勿用水流直接冲洗涂样处,每次 5~10 s,再将玻片自然晾干。使用合适的荧光显微镜进行阅片,在 100 倍油镜下寻找发苹果绿色荧光的典型圆球形沙眼衣原体颗粒,而黄色荧光为非特异性染色或自发荧光。如不能马上观察玻片,建议将其置于 2~8℃ 环境下避光保存。

1.3.4 结果判读 观察多个视野,累计发现 10 个及 10 个以上苹果绿色典型圆球形沙眼衣原体颗粒即为阳性,否则判定为阴性。若发现不典型的疑似结果以及不可解释的结果时,应重新采集样本进行重复检测。

1.4 对照方法的选择

1.4.1 对照方法选择的依据 目前,中国对沙眼衣原体的检测及确认方法为行业标准方法,此次临床研究实验属于已有相同品种批准上市产品的临床研究,根据《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》的规定,采用进行临床研究的产品与已上市产品针对临床样本进行对比实验研究,来检验迈科龙公司的沙眼衣原体诊断试剂盒(免疫荧光法)的临床性能^[4]。本次实验选择爱尔兰 Trinity 公司生产的 Chlamydia Trachomatis Direct Specimen Test 试剂作为对照方法进行实验,对于两种试剂盒不一致的检测结果,采用爱尔兰 Trinity 公司生产的 Micro-Trak® II Chlamydia EIA 试剂盒进行进一步检测分析,Trinity 公司这两种试剂盒已获得美国 FDA 上市许可。根据有关规定,第三类产品临床研究的总样本数至少 1 000 例,因而确定本次临床实验总样本数 1 100 例。

1.4.2 对照实验 对照实验的检测操作和结果判定以及质量控制严格按试剂盒说明书进行。

1.5 质量控制 本实验严格按照《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》及《医疗器械临床实验规定》中相关规定进行。整个临床实验采用双盲法,在正式实验前,深圳市迈科龙生物技术有限公司技术人员对检测人员进行免疫荧光和酶联免疫试剂盒使用培训,培训合格后进行实验。整个实验均在检验科内进行,实验研究人员严格按说明书进行操作,实验操作中设置阴、阳性对照进行质控(迈科龙试剂盒采用公司内部阴、阳性质控),所有试剂盒均在其有效期内使用。

1.6 统计学处理 对比迈科龙试剂盒与 Trinity 试剂盒检测

得到的沙眼衣原体检测结果,进行配对四格表统计学分析,计算迈科龙试剂盒与 Trinity 试剂盒检测结果的阴、阳性符合率和总符合率,并计算一致性系数,即 Kappa 值。

2 结 果

1 100 例标本经迈科龙试剂盒(待验证试剂盒)与 Trinity 试剂盒(对比试剂盒)检测,结果见表 1。

表 1 两种试剂盒检测结果(n)

考核试剂(迈科龙试剂盒)	Trinity 试剂盒		合计
	阳性	阴性	
阳性	140	20	160
阴性	11	929	940
合计	151	949	1 100

根据表 1,可计算出总符合率为 97.18%,阳性符合率为 92.72%,阴性符合率为 97.89%,一致性系数 Kappa=0.884,说明两种方法一致性很好, $\chi^2=2.1, P>0.05$,可见,两种试剂盒的检测结果差异无统计学意义。对于两种试剂盒不一致的检测结果,采用第三方试剂——爱尔兰 Trinity 公司生产的 MicroTrak® II Chlamydia EIA 试剂盒进行进一步检测分析,其与迈科龙试剂盒的检测结果符合率为 54.84%,结果见表 2。

表 2 迈科龙试剂盒与 Trinity EIA 试剂盒检测结果(n)

考核试剂(迈科龙试剂盒)	Trinity 试剂盒		合计
	阳性	阴性	
阳性	10	10	20
阴性	4	7	11
合计	14	17	31

3 讨 论

沙眼衣原体诊断方法主要包括细胞培养法、核酸扩增法、抗原检测法、血清学检测等。细胞培养法由于操作繁琐、费用高、培养时间长且受标本采集、运送、保存及实验技术的影响,一般实验室难以开展^[5]。核酸扩增法由于应用特异性引物,大大增强了检测的敏感性和特异性,但对实验室条件、仪器设备、人员专业素质要求很高,且容易出现核酸扩增产物的交叉污染

• 检验试剂评价 •

而出现假阳性。血清学检测尽管简便、快速,但由于其特异性较差,主要用于肺炎衣原体、鹦鹉热衣原体感染的检测,对沙眼衣原体的检测仅可用于其播散性感染期间,可见其使用的局限性。目前临床上常用的诊断方法为胶体金快速检测法,但灵敏度不高。免疫荧光法(IFA)是在免疫学、生物化学和荧光显微镜技术的基础上建立起来的 1 项标志检验技术,其原理为将不影响抗原抗体活性的荧光素直接标志在抗体上,与样本中相应抗原结合后,在荧光显微镜下呈现特异性荧光成像。由于免疫荧光法既不要求菌体活力,也不需要定期进行周性的孵育以满足各种类型的糖类测试,因此具有显著的应用前景。与其他快速检测方法相比,该技术的特异性好、敏感性高,是快速检测的首选方法。从本次实验结果的统计分析可见,迈科龙公司的沙眼衣原体诊断试剂盒(免疫荧光法)与 Trinity 公司的 Chlamydia Trachomatis Direct Specimen Test 试剂相比,总符合率 97.18%;阳性符合率 92.72%;阴性符合率 97.89%,与对比试剂盒在性能上差异无统计学意义($P>0.05$),表明两种试剂盒在临床应用中具有等效性(Kappa=0.884)。迈科龙公司的沙眼衣原体诊断试剂盒(免疫荧光法)可直接检测其特异病原体,具有灵敏性高、特异性强、操作简便、经济实用等特点,适合于各级检验机构使用。

参考文献

[1] 张广富. 淮北地区泌尿生殖道沙眼衣原体感染情况及相关危险因素分析[J]. 疾病控制杂志, 2004, 8(5): 433-434.
[2] 马燕飞, 柴银柱, 宋玉平, 等. 不同人群泌尿生殖道沙眼衣原体感染状况分析[J]. 中国医疗前沿, 2008, 3(22): 62.
[3] 高宗玲. 不孕妇女中沙眼衣原体解脲脲原体淋病奈瑟菌感染的现状[J]. 上海医学检验杂志, 2003, 18(4): 241-243.
[4] 国家食品药品监督管理局. 关于印发《体外诊断试剂临床研究技术指导原则》及《体外诊断试剂说明书编写指导原则》的通知[R]. 2007-04-28.
[5] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 888-889.

(收稿日期: 2011-02-05)

3 种粪便隐血试剂检测性能的比较

李倩男, 滕宗莉

(兰州大学第二医院检验科 730030)

摘 要:目的 对 3 种粪便隐血测定试剂的检测性能进行比对。方法 通过对临床粪便标本以及加入动物血、蔬菜汁、维生素 C 等物质的标本进行测定,检测 3 种试剂的灵敏度、特异性、抗干扰能力、反应时间和均一性。结果 两种胶体金法试剂的灵敏度、特异性、抗干扰能力均高于匹拉米洞法;但其在反应时间和均一性方面也存在一定差异性。结论 胶体金法具有敏感度、特异性高,渗透速度快,微孔膜均一性好等特点,适合有条件的医院使用。

关键词:氨基比林; 胶体金; 检测性能; 粪便隐血实验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.10.049

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)10-1116-01

粪便隐血实验是诊断消化道出血性疾病的 1 个重要指标,对早期发现和诊断消化道恶性肿瘤及慢性消化出血性疾病有重要意义。要求实验结果必须具有高度的灵敏度及特异性,且试剂对人体亦无害,干扰因素少,简便、快速,现已有化学法、核素和免疫学检查法。本文选择化学法中的匹拉米洞法和免疫学方法中的胶体金法的两种试剂进行性能比较。

1 材料与方法

1.1 材料 100 例患者随机粪便标本;收集绵羊、兔、鸡、乳鸽的血液和猪、鸭血块碎末,及绿色新鲜蔬菜汁。

1.2 试剂 试剂 A:匹拉米洞定量检测试纸板;试剂 B:胶体金试纸条;试剂 C:胶体金试纸条。

1.3 方法 3 种试剂分别按说明书操作;粪便标(下转插 II)