

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)

(上接第 1116 页)

本提取液使用试剂 C 提供的稀释液;同一份标本检测采用制作的同一管稀释的粪便标本。

1.3.1 敏感性实验 取健康人粪便 2 g 加入刻度离心管中,加蒸馏水至 5 mL 刻度混匀,再加入纯化的人血红蛋白的质控品 10 μ L,其 Hb 浓度为 160 μ g/mL,然后再吸出含 Hb 的粪便混合液用蒸馏水稀释成系列混合液,用 3 种试剂进行测定。胶体金试条对照线出现则实验成立,检测线明显为阳性,检测线较淡或光亮处方可看到检测线为弱阳性,光亮处看不到检测线为阴性。

1.3.2 特异性实验 在胶体金法和匹拉米洞法阴性稀释粪便标本中,分别加入绵羊、兔、鸡、乳鸽的血液和猪、鸭血块碎末,以及绿色蔬菜汁,用 3 种试剂进行测定。

1.3.3 抗干扰实验 含维生素 C 浓度分别为 5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 mg/mL 加入约含 Hb 3.5 μ g/mL 的粪便中。

1.3.4 反应时间 从 3 种试剂中任意取 10 份,分别测同一份约含 Hb 3.5 μ g/mL 的粪便标本。试剂 A 以滴加显色剂 B (3%过氧化氢)后计时,试剂 B、C 以加样区接触标本液开始计时,待液体渗透至对照线,出现肉眼可见的颜色时记录时间。取各自 10 份测试的平均时间为反应时间。

1.3.5 均一性 试剂 A、B、C 分别随机观察 50 份测试,以试条浸液 10 min 在滤膜上除检测线 and 对照线以外的区域仍可见显色,或浸液后 10 min 仍不能达到对照线的试条判为不均一,以百分率表示。

2 结 果

2.1 敏感性 含不同浓度 Hb 的粪便混合液 Hb,见表 1。

表 1 含不同浓度 Hb 的粪便混合液 Hb(μ g/mL)

试剂	16.0	4.0	1.0	0.8	0.4	0.2	0.15	0.10
A	阳性	阳性	阳性	弱阳性	阴性	阴性	阴性	阴性
B	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	弱阳性	阴性	阴性
C	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	阳性	弱阳性	弱阳性

试剂 A 最低 Hb 检出浓度为 0.80 μ g/mL,试纸 B 最低 Hb 检出浓度为 0.2 μ g/mL,试剂 C 最低 Hb 检出浓度为 0.10 μ g/mL。这说明试剂 C 比试剂 A 和试剂 B 灵敏度高,对人体早期的消化道微量出血更为敏感。

2.2 特异性 在胶体金法和匹拉米洞法阴性稀释粪便标本中,分别加入各种动物 Hb 和蔬菜汁后检测,胶体金法检测结果仍为阴性,而匹拉米洞法结果均为强阳性。

2.3 抗干扰能力 胶体金法所做的结果始终不变,而匹拉米洞法测得的结果为阴性。这说明胶体金法不受其他有类似过氧化物酶作用的化学药品、铁剂等的干扰,而匹拉米洞则受之影响较大,易形成假阴性结果。

2.4 反应时间 试剂 A、B、C 反应时间分别为 18、23、25 s。

2.5 均一性 试剂 A、B、C 分别为 90.7%、92.0%和 96.0%。

3 讨 论

粪便隐血实验是传统的常规检验项目,对消化道出血性疾病的诊断有重要价值,常作为人群(尤其是中、老年人)消化道恶性肿瘤诊断的筛检指标^[1]。胃肠道出血可由多种疾病引起,美国癌症协会估计早期诊断和及时治疗的情况下,每年死于此类疾病的 2/3 可挽救。临床研究证实,粪便中带有的微量出血是早期结、直肠癌惟一可以查出的异常现象,所以对粪便中微量 Hb 的检出具十分重要的意义,这就要求大便隐血实验必须具有高度的灵敏度及特异性^[2]。

匹拉米洞又名氨基比林,作为原料在药剂学上常被用于解热镇痛药。改良的匹拉米洞粪便隐血试剂,敏感性适中,其原理是 Hb 中的亚铁血红素有类似过氧化物酶的活性,能催化过

氧化氢释放新生态氧,将受体匹拉米洞氧化成紫色的物质,显色的深浅与 Hb 浓度呈正比。但以上实验证实,此方法灵敏度、特异性、抗干扰性能较差,操作过程易造成实验人员及台面污染,且假阳性率较高。因为其检测的是过氧化物酶的活性,食物因素对检测结果影响大,原因主要与非人类 Hb、饮食中假过氧化物酶以及再水合作用有关^[3];其假阴性的主要原因与血红蛋白降解、维生素 C 作用和试剂贮存有关^[4-7]。现因其不良反应小、价格低廉,也多在中、小实验室及消化道肿瘤普查时使用。

胶体金免疫检测技术是 20 世纪 80 年代发展起来的 1 项新技术,它是用胶体金颗粒标志抗原或抗体,进行抗体或抗原的检测。粪便隐血胶体金法测定是利用双抗体夹心法,采用抗人血红蛋白单克隆抗体制成试纸,抗体能特异地结合人血红蛋白,其灵敏度、特异性高,检测结果也不会因非甾体类消炎药物或维生素 C 等抗氧化剂及铁剂、动物血等干扰,假阳性率低,能够较真实地反映消化道出血与否。但其检测的蛋白质受肠内细菌代谢的影响,对上消化道出血及便秘患者的阳性检测并不理想,有待进一步完善。其假阴性的原因主要与 Hb 降解、粪便 pH 值改变、试剂贮存不当及抗原过剩所造成的后带现象有关。胶体金免疫法已是世界卫生组织和世界胃肠镜检查协会推荐作为粪便隐血实验的 1 种较为确认的方法^[8]。但各厂家所采用的固相微粒膜包被和金标志抗体以及成品试剂制备工艺有所区别,导致两种胶体金试条在反应时间和均一性方面存在一定差异性,与 FOB 平均渗透速度 1.5 min,试条渗透均一性为 96%的报道也稍有差异,可能与结果判读方法不同有关^[9]。实验结果显示,胶体金法的特异性强、灵敏度高、准确度及抗干扰性能好,不受食物、药物的限制及干扰,操作简便,值得在临床推广使用。有条件的医院应选用敏感度、特异性高,渗透速度快,微孔膜均一性好,且密封、干燥保存的胶体金试剂条^[10]。

参考文献

[1] 李明勇,腾飞鹏,钟亚玲,等. 转铁蛋白/血红蛋白双联胶体金法检测粪便隐血临床应用评价[J]. 检验医学与临床,2010,7(14): 1459-1460.

[2] 周斌,刘春国. 粪便隐血监测方法学探讨[J]. 中华医学实践杂志, 2005,4(11):1167.

[3] 谭卫华. 粪便隐血实验两种不同方法应用评价[J]. 中医临床研究,2010,2(7):43-44.

[4] 杨海芸,戈之铮,戴军,等. 免疫法和化学法粪便隐血实验在上消化道出血性疾病中阳性率比较[J]. 世界华人消化杂志,2008,16(9):946-950.

[5] 余悦能. 匹拉米洞化学法和双联试纸条法检测粪便隐血方法学评价[J]. 检验医学,2009,24(3):232-234.

[6] 叶应妩,王懿三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京:东南大学出版社,1997:142-143.

[7] 熊立凡. 临床检验基础[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2005: 243-246.

[8] Young GP,Stjohn DJ,Winawer SJ,et al. Choice of fecel occult blood tests for colorectal cancer screeching. Yecommendations based on performance characteristics in population studies. a WHO(World Health Organization)and OMED(World Organization for Digestive Endoscopy) report[J]. Am J gastroenterol, 2002,97(10):2499-2507.

[9] 罗建伟,高成莲. 胶体金免疫层析实验的室内质量控制探讨[J]. 检验医学与临床,2010,7(12):1240-1241.

[10] 刘艳. GICA 法检测 HBsAg 的探讨[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册,2005,26(3):141-142.