

阴性标本 45 份。

1.2 仪器与试剂 雷杜自动 RD6100 型酶标仪及 RD3100 型洗板机,北京科伟永兴仪器有限公司 DH 型电热恒温培养箱,汕头市医用设备厂电子恒温水湿箱,长沙湘智离心机仪器有限公司 XZ-P6 型离心机、南通无线电三厂 MM74. B 型微量混合器。试剂盒、质控品由中山生物技术有限公司提供。

1.3 方法 将选择的 HBsAg 阳性标本 45 份、HBsAg 阴性标本 45 份,分别加入 2 块 HBsAg ELISA 反应微孔板中,严格按照实验室的标准化操作规程进行操作,温育时将 2 块反应板分别放入电热恒温培养箱、电子恒温水湿箱中进行温育。

1.4 统计学处理 用 SPSS11.0 统计软件进行统计学处理。将检测结果所测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验。

2 结 果

DH 型电热恒温培养箱与电子恒温水湿箱 45 份 HBsAg 阴性结果比较 $t=0.026, P>0.05$; 45 份 HBsAg 阳性性结果比较 $t=0.052, P>0.05$, 差异均无统计学意义。见表 1。

表 1 2 种温育方式检测结果比较

温育方式	HBsAg 阳性标本 S/CO	HBsAg 阴性标本 S/CO
DH 型电热恒温培养箱	0.92±0.24	0.010±0.009
电子恒温水湿箱	0.94±0.23	0.016±0.008

3 讨 论

ELISA 法的操作过程中每个环节都会对试验结果产生影响,使其出现错误的结果^[2]。为保证检验结果的准确性,必须做好以下几点:(1)试剂的选择,应选用三证齐全的试剂,不同批号的试剂不能混用,禁止使用过期试剂。试剂盒使用前必须放置 37℃ 恒温箱平衡 30 min 后方可使用。(2)标本因素,当天采集的标本应在当天进行检测。标本离心时注意一定要等血液凝固后,未凝固的血液强行离心分离血清,此时血清中仍残留部分纤维蛋白丝会附着于微孔底部,干扰抗原抗体反应会影响检验结果。溶血标本红细胞溶解释放出具有过氧化物酶活

• 检验技术与方法 •

唾液酸酶联合线索细胞检测对细菌性阴道病的诊断价值

伍亚云¹,郭建华^{2△},张昭勇²,刘俊宏¹,李 红¹

(1. 十堰市红十字会医院检验科,湖北十堰 442000; 2. 湖北医药学院附属太和医院检验部,湖北十堰 442000)

摘 要:目的 评估唾液酸酶与线索细胞联合检测对诊断细菌性阴道病(BV)的价值。方法 分别采用唾液酸酶法、TCT 法和 Amsel 法检测患者的阴道分泌物标本,以 Amsel 法作为 BV 诊断的金标准,采用唾液酸酶法检测标本中唾液酸酶活性,TCT 法检查标本中的线索细胞。结果 唾液酸酶法与 TCT 法诊断 BV 的灵敏度分别是 87.1%和 97.6%;特异度分别是 93.5%和 82.8%,同时联用两种方法可使诊断灵敏度提升至 99.7%,先用 TCT 法筛查,再进一步检测唾液酸酶,可使诊断特异度提高至 98.9%。结论 对两种方法的合理联合使用有利于提高 BV 的诊断效率。

关键词:唾液酸酶法; TCT; 线索细胞; 联合诊断; 阴道病,细菌性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.031

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)02-0195-02

细菌性阴道病(BV)主要由于阴道菌群失调所引起。唾液酸酶是阴道感染细菌所产生的特异性酶之一,有研究表明女性 BV 患者阴道分泌物中的唾液酸酶活性明显高于健康妇女^[1]。因此,检测阴道分泌物中的唾液酸酶活性是诊断 BV 的一种新方法。薄层液基细胞学检测(TCT)在妇女宫颈癌预防普查中

性物质,会增加非特异性显色。如有细菌污染也会产生假阳性。标本采集后如不能及时检测可分离血清可放置于 4℃ 保存,如超过 1 周应置于一 20℃ 以下保存,避免反复冻融。(3)操作中加样要准确加入微孔底部,注意不可溅出及产生气泡,注意防止交叉污染。加试剂时应垂直滴加,不得倾斜。(4)严格控制温育箱温度,必须准确按照说明书要求的时间进行温育。温育过程中应封闭,避免边缘效应。(5)洗板时要彻底,洗液应注满每个微孔,甩板时要垂直避免交叉污染。洗板次数根据当地水质情况而定不可少于 5 次,但也不可以过度洗板,防止洗掉抗原抗体复合物,造成假阴性。使用洗板机洗板时每天进行注液量和残液量的校正,洗涤后残液量不得大于 2 μL,最后将孔内液体拍干。(6)显色时间应严格按照操作规程,终止显色 15 min 内酶标仪读取。(7)每批测试均应做好室内质控,一般最少需要做 2 个值,建立严格的审核制度,对异常结果要进行双份复查并与临床医生及时沟通,才能保证检验结果的可靠性。

温育是 ELISA 试验中的一个重要环节,按照传统实验室放置水湿箱中进行温育,一般认为水湿箱温度均匀,但水湿箱中的水极易被污染,给实验室工作带来很多不便。所以多数实验室改用电热恒温培养箱进行温育。实验结果显示,温育方式对实验无明显干扰;只要严格按照实验室的标准化操作规程进行操作,排除潜在的影响因素,可以最大限度地降低检测的系统误差,以保证 ELISA 试验有较好的准确性。

参考文献

[1] 蔺承艳,姜莉. ELISA 与 TRFIA 法检测乙肝表面抗体的对比分析及应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 254-255.
[2] 李金明. 临床酶免疫测定技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005: 5, 87-90.

(收稿日期: 2012-07-02)

△ 通讯作者, E-mail: guojh1234@sina.com.

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 4~6 月本院妇科门诊及体检女性已婚患者,年龄(38.9±11.6)岁,共 386 例。

1.2 仪器与试剂 日本 Olympus 光学显微镜、自配革兰染液、载玻片、香柏油。BV 快速诊断试剂盒(唾液酸酶法)由珠海迪尔生物工程有限公司提供。MCT-II 型 TCT 制片机及相关耗材由达希高科(北京)贸易有限公司提供。

1.3 方法 采用无菌棉拭子收集患者阴道后壁内 1/3 部位或后穹窿部位阴道分泌物标本,TCT 检测专用采样刷收集宫颈管脱落细胞,并将其移入标本瓶,立即送检。唾液酸酶的检测按照试剂说明书操作进行,Amsel 法诊断标准为:匀质、稀薄、白色的阴道分泌物;阴道 pH>4.5;氨臭味试验阳性;线索细胞阳性。符合上述标准中的 3 项可确诊为 BV。将巴氏染色的 TCT 片置于高倍镜下观察,鳞状上皮细胞被革兰阴性菌覆盖,尤其沿细胞膜边缘排列,外观似线索状,即为线索细胞。以 TCT 片中线索细胞大于 20% 为阳性,线索细胞大于 60% 至 70% 为强阳性^[4]。

1.4 统计学处理 使用 SPSS18.0 计软件进行数据分析,率的比较采用 χ^2 检验。样本含量的估算:估计该试验灵敏度为 85%,特异度为 80%,设允许误差 $\Delta=0.10$, $\alpha=0.05$, $Z_{\alpha}=1.96$ (双侧)。则病例组样本量 = $1.962 \times 0.90 \times (1 - 0.90) / 0.102 = 49$;对照组样本量 = $1.962 \times 0.80 \times (1 - 0.80) / 0.102 = 92$,研究样本多于最少估计例数,具有研究意义。

2 结 果

386 例研究对象中,Amsel 法阳性检出率为 32.1% (124/386),唾液酸酶法阳性检出率为 32.4% (125/386),TCT 法阳性检出率为 43.0% (166/386)。唾液酸酶法阳性检出率与 Amsel 法阳性检出率差异无统计学意义($\chi^2=0.01$, $P>0.05$);TCT 法阳性检出率与金标准 Amsel 法阳性检出率差异有统计学意义($\chi^2=9.78$, $P<0.01$)。与 TCT 法检测线索细胞相比较,唾液酸酶法的特异度较高,灵敏度较低,联合检测可使灵敏度提高,如果对先采用 TCT 法检查线索细胞,再进一步检测唾液酸酶,则可提高诊断的特异度,见表 1。

表 1 唾液酸酶法与 TCT 法诊断性能评价		
诊断性能	唾液酸酶法	TCT 法
灵敏度(%)	87.1	97.6
特异度(%)	93.5	82.8
准确度(%)	91.5	87.6
阳性预测值(%)	86.4	72.9
阴性预测值(%)	93.9	98.6
阳性似然比	13.4	5.67
阴性似然比	0.138	0.029

3 讨 论

目前对 BV 的诊断是以 Amsel 法作为金标准。但是 Amsel 法易受较多因素的影响,如混合感染标本 pH 和气味的改变、检测者对线索细胞的识别和对气味的敏感性等均可影响结果的判断,因缺乏可比性,也难以开展质量控制。有研究表明,使用 Amsel 法可造成 BV 的漏诊^[5]。20 世纪 80 年代后期,研

究者发现 BV 与阴道中特有的微生物代谢产物——唾液酸酶有着密切的关系,并且以此建立了新的 BV 诊断方法——唾液酸酶法。已有研究报道采用唾液酸酶法代替 Amsel 法诊断 BV^[6-7]。本研究结果显示,唾液酸酶法的准确度为 91.5%,灵敏度为 87.1%,特异度为 93.5%,阳性预测值为 86.4%,阴性预测值为 93.9%,基本达到对 BV 快速诊断的要求。但不足之处是,唾液酸酶活性在肿瘤细胞中增强,生殖道肿瘤可导致假阳性;另外阴道内一些细菌和滴虫也产生脯氨酸氨肽酶,感染这些病原体也可造成酶活力升高导致假阳性,同时部分引发 BV 的厌氧菌不产生唾液酸酶或产酶量少也可导致假阴性。

线索细胞检测是 Amsel 法诊断 BV 单项检测中最有特异性的。湿片中线索细胞的检查虽操作简便,但缺少规范的检查方法和统一的阳性标准,还受到炎症细胞的干扰,直接影响了细菌性阴道病的临床诊断。革兰染色费时费力,尤其是革兰染色过程中反复冲洗,使标本脱落,线索细胞丢失而造成漏诊,影响阳性结果。TCT 作为一种新型的技术已广泛应用于妇女宫颈癌的筛查,因此在做 TCT 宫颈防癌普查工作同时进行线索细胞检查,可对 BV 诊断提供有价值的诊断。此外,TCT 片背景干净,线索细胞形态典型,有利于线索细胞的检出,提高了对 BV 诊断的敏感性。本研究中 TCT 法检查线索细胞诊断 BV 的灵敏度为 97.6%,特异度为 82.8%,虽然其特异度较唾液酸酶法低,但其诊断的高敏感性使其作为一项优秀的筛查试验应该得到重视。

本研究中对联合运用唾液酸酶法和 TCT 法诊断 BV 的诊断效果进行了评估。当两种方法时,可使灵敏度提高至 99.7%,如果先采用 TCT 法检查线索细胞,再进一步检测唾液酸酶,则可使诊断特异度提高至 98.9%。临床医生合理利用联合试验结果可使患者得到准确及时的诊断和治疗。

总之,唾液酸酶法检测快速、简便、可靠且便于质量控制,适合作为临床诊断的有效指标。TCT 法具有较高的灵敏度,可用于门诊及健康体检中对 BV 的筛查,两种方法联合使用有利于提高 BV 的临床诊断效率。

参考文献

[1] 陆伟,窦智,吕晓辉.唾液酸酶法检测细菌性阴道病临床应用价值[J].中国伤残医学,2009,17(5):94-95.
[2] 曾风华,辛华.液基薄层找线索细胞与 BV blue 检测细菌性阴道病结果比较[J].实验与检验医学,2011,29(5):577-578.
[3] 漆明.宫颈液基细胞制片镜检线索细胞在细菌性阴道病诊断中的应用[J].国际检验医学杂志,2011,32(9):987-988.
[4] 徐新曙.唾液酸酶法诊断细菌性阴道病的价值[J].现代中西医结合杂志,2007,16(1):105.
[5] 杜丽新,李凤莲,李书清,等.细菌性阴道病的实验室检测方法比较[J].检验医学与临床,2011,8(15):1872-1873.
[5] 陈永琴,王利英.BV 三项在阴道分泌物检测中的应用及临床结果分析[J].中国微生态学杂志,2008,20(1):84-85.
[6] 潘婉,覃西.唾液酸酶法诊断细菌性阴道病的临床应用[J].中国妇幼保健,2012,27(20):3156-3158.
[7] 朱新建,黄烈,钟小强.唾液酸酶检测对细菌性阴道炎的诊断价值与临床应用[J].海南医学,2006,17(5):167-168.