

• 临床检验研究论著 •

沙眼衣原体感染不同检测方法的比较

杜 昆

(湖北省荆州市第一人民医院检验科, 湖北荆州 434000)

摘 要:目的 研究不同方法检测沙眼衣原体感染的灵敏度和特异度。方法 采取 213 例女性非淋菌性泌尿生殖道感染者宫颈分泌物, 分别用直接免疫荧光法(DFA)、免疫层析法(ICA) 和实时荧光定量 PCR 法(FQ-PCR)检测沙眼衣原体。结果 采用 DAF 法和 FQ-PCR 法与采用 ICA 法检测沙眼衣原体阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$); DFA 法、ICA 法和 FQ-PCR 法的灵敏度分别为 95.1%、60.2% 和 97.3%, 特异度分别为 93.2%、99.2% 和 99.3%。DFA 法和 FQ-PCR 法的灵敏度高于 ICA 法, 差异有统计学意义($P < 0.05$), ICA 法和 FQ-PCR 法的特异度高于 DFA 法, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 FQ-PCR 法有较高的灵敏度和特异度, 可为临床诊断沙眼衣原体感染提供可靠依据。基层医疗卫生单位适合用 ICA 法检测沙眼衣原体。

关键词:衣原体, 沙眼; 荧光抗体技术, 直接; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)05-0529-02

Comparison of different assays for detection of *Chlamydia trachomatis*

Du Kun

(Department of Clinical Laboratory, Jingzhou Municipal First People's Hospital, Jingzhou, Hubei 434000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the sensitivity and specificity of different assays for detection of *Chlamydia trachomatis*. **Methods** *Chlamydia trachomatis* was determined in samples of cervical secretions from 213 patients with nongonococcal urethritis or genitourinary tract infection by direct immunofluorescence assay (DFA), gold-immunochromatographic assay (ICA) and real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR). **Results** Comparing the positive rates of *Chlamydia trachomatis* detected by adopting the DAF, FQ-PCR and the ICA methods showed the statistical difference ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of *Chlamydia trachomatis* detected by DFA, ICA and FQ-PCR were 95.1%, 60.2%, 97.3% and 93.2%, 99.2%, 99.3%, respectively. The sensitivity of the DFA and FQ-PCR methods was higher than that of the ICA method, difference was statistically significant ($P < 0.05$). The specificity of the ICA and FQ-PCR methods was higher than that of the DFA method, difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The FQ-PCR method has higher sensitivity and higher specificity for the detection of *Chlamydia trachomatis* and can provide the reliable basis for clinically diagnosing the infection of *Chlamydia trachomatis*. The primary medical units is suitable to adopt the ICA method for detecting *Chlamydia trachomatis*.

Key words: *Chlamydia trachomatis*; fluorescent antibody technique, direct; polymerase chain reaction

沙眼衣原体是专性细胞内寄生的原核微生物, 是性传播疾病最常见的病原体。沙眼衣原体感染女性生殖道后, 可导致宫颈炎、输卵管炎、盆腔炎等, 并引起不孕、流产、宫外孕等多种并发症^[1-2]。由于其感染人体后, 症状不明显, 患者往往得不到及时有效的治疗, 造成持续性感染, 成为严重危害人类生命健康的致病因素之一。因此, 临床上需要一种早期、快速、敏感的方法检测沙眼衣原体。细胞培养法虽为“金标准”, 但其需要的时间较长, 技术难度大, 难以在临床推广。本研究分别用直接免疫荧光法(DFA)、免疫层析法(ICA) 和实时荧光定量 PCR 法(FQ-PCR)检测 213 例临床样本, 并对它们的灵敏度和特异度进行了比较。

1 资料与方法

1.1 标本来源 213 例标本均为本院 2011 年 2~8 月接收的性病门诊女性患者宫颈分泌物标本。先用无菌生理盐水棉球洗去宫颈外分泌物, 再用无菌棉拭子插入宫颈口上 1~2 cm 处, 旋转 1 周, 并停留 10 s, 取出拭子并及时送检。

1.2 仪器与试剂 沙眼衣原体 DFA 检测试剂盒购自青岛海博生物技术有限公司, 沙眼衣原体 ICA 快速诊断试剂盒购自英国 Unipath 公司, 沙眼衣原体 FQ-PCR 试剂盒购自上海闪晶

分子生物技术研究。荧光显微镜为日本 OLYMPUS 公司产品, PE7700 荧光定量 PCR 仪为美国 ABI 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 DFA 法检测沙眼衣原体 严格按照试剂盒说明书操作。将拭子上的标本涂在载玻片上, 甲醇固定 10 min, 加 FITC 标记的抗沙眼衣原体单克隆抗体, 37 ℃ 孵育 30 min, 滴加缓冲甘油, 加盖玻片封片后荧光显微镜下观察。如见亮绿色、边界清晰的圆形颗粒或柱状细胞内查见亮绿色包涵体, 即可判断为阳性。

1.3.2 ICA 法检测沙眼衣原体 严格按照试剂盒说明书进行操作。测试区和对照区内同时出现条带, 判为阳性; 仅对照区内出现条带, 判为阴性; 测试区和对照区均无条带, 或只有测试区有条带, 均判为无效, 需重新检测。

1.3.3 FQ-PCR 法检测沙眼衣原体 严格按照试剂盒说明书进行操作。37 ℃ 反应 2 min, 然后 93 ℃ 预变性 5 min, 再按 93 ℃ 变性 30 s、55 ℃ 退火 30 s、72 ℃ 延伸 40 s, 共 40 个循环。最后经仪器自动标出标准曲线, 在标准曲线相关系数 $r > 0.95$ 以上, 质控物定标液结果均为阳性且相差在一个数量级内, 并满足荧光 PCR 仪给出对应的 C_t 值 $C_{t1} < C_{t2} < C_{t3}$, 阴性的 C_t 值

无任何数值,可判断实验结果有效,否则实验无效。沙眼衣原体的检测以大于 $1 \times 10^3/\text{L}$ 为阳性。

1.4 统计学处理 采用统计软件 SPSS13.0 对实验数据进行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总体检测结果 DFA 法、ICA 法和 FQ-PCR 法 3 种方法中,2 种或 2 种以上方法检测结果为阳性时作为真阳性,反之作为真阴性。213 例临床样本中真阳性 74 份(34.7%),真阴性 139 份(65.3%)。

2.2 3 种方法检测沙眼衣原体阳性率比较 213 例标本中,DFA 法检测阳性 67 例(31.5%),ICA 法检测阳性 54 例(25.4%),FQ-PCR 法检测阳性 73 例(34.3%)。采用 DAF 法和 FQ-PCR 法检测沙眼衣原体阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$),而两者与采用 ICA 法检测沙眼衣原体阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 灵敏度和特异度比较 DFA 法检测 67 例阳性标本中,9 例为假阳性;146 例阴性标本中,3 例为假阴性。ICA 法检测 54 例阳性标本中,1 例为假阳性;159 例阴性标本中,35 例为假阴性。FQ-PCR 法 73 例阳性标本中,1 例为假阳性;140 例阴性标本中有 2 例检测为假阴性。采用 3 种不同方法检测沙眼衣原体的灵敏度和特异度,DFA 法、ICA 法和 FQ-PCR 法的灵敏度分别为 95.1%、60.2%和 97.3%,特异度分别为 93.2%、99.2%和 99.3%。DFA 法和 FQ-PCR 法的灵敏度高于 ICA 法,差异有统计学意义($P < 0.05$),ICA 法和 FQ-PCR 法的特异度高于 DFA 法,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

沙眼衣原体具有广泛的致病谱,严重危害人类的生命健康。如沙眼衣原体感染可导致沙眼,是发展中国家引起致盲的主要病因之一^[3];也是目前发达国家与发展中国家性传播性疾病最常见的病原体^[4]。由于沙眼衣原体感染后症状不明显,往往得不到及时而有效的治疗,容易反复感染,严重危害人类生命健康。而对沙眼衣原体的检测将有助于沙眼衣原体感染性疾病的诊断。细胞培养法虽为公认的检测沙眼衣原体的“金标准”,但是该法敏感性较低^[5],对实验设备、技术要求较高^[6]且周期长、费用高,并不适合临床上对沙眼衣原体的检测。因此,临床上选择一种快速、灵敏度和特异度均较高的检测方法显得尤为重要。

本研究比较了 DFA 法、ICA 法和 FQ-PCR 法对沙眼衣原体的检测情况。以 2 种或 2 种以上方法检测结果为阳性时作为真阳性,反之作为真阴性。这也是目前诊断沙眼衣原体“扩大的金标准”^[7-8]。213 例临床标本中,DFA 法、ICA 法和 FQ-PCR 法分别检出阳性标本 67 例、54 例和 73 例,阳性率为 31.5%、25.4%和 34.3%,DFA 法和 FQ-PCR 法与 ICA 法比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而 DFA 法与 FQ-PCR 法比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。此外,进一步研究证实 FQ-PCR 法的灵敏度(97.3%)与 DFA 法的灵敏度(95.1%)没有明显差别,但两者的灵敏度均高于 ICA 法的灵敏度(60.2%);FQ-PCR 法特异度(99.3%)和 ICA 法特异度(99.2%)没有明显差别,但二者的特异度均高于 DFA 法的特异度(93.9%)。

综上,这 3 种不同的方法检测沙眼衣原体,DFA 法的灵敏

度较高,而特异度比另外两种方法相低;ICA 法的特异度虽然较高,但灵敏度明显比另外两种方法相低;FQ-PCR 法不但具有较高的灵敏度,而且具有较高的特异度,同时具有速度快等特点,所以 FQ-PCR 法更加适合临床检测沙眼衣原体的要求^[9-14]。但由于该法需要的仪器昂贵,且对实验室条件要求较高,不适宜于基层单位开展。而 ICA 法虽然灵敏度不如 FQ-PCR 法和 DFA 法,但该法无需特殊的仪器设备,操作简单快速,更适合于基层医疗卫生单位对沙眼衣原体的检测^[15]。

参考文献

- [1] Azenabor AA, Kennedy P, Balistreri S. Chlamydia trachomatis infection of human trophoblast alters estrogen and progesterone biosynthesis; an insight into role of infection in pregnancy sequelae [J]. Int J Med Sci, 2007, 4(4): 223-231.
- [2] Brunham RC, Rey-Ladino J. Immunology of chlamydia infection: implications for a chlamydia trachomatis vaccine [J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(2): 149-161.
- [3] Taylor HR, Johnson SL, Schachter J, et al. Pathogenesis of trachoma: the stimulus for inflammation [J]. J Immunol, 1987, 138(9): 3023-3027.
- [4] Sherman KJ, Daling JR, Stergachis A, et al. Sexually transmitted diseases and tubal pregnancy [J]. Sex Transm Dis, 1991, 17(3): 115-121.
- [5] Yin YP, Peeling RW, Chen XS, et al. Clinic-based evaluation of Clearview Chlamydia MF for detection of Chlamydia trachomatis in vaginal and cervical specimens from women at high risk in China [J]. Sex Transm Infect, 2006, 82 Suppl 5: 33-37.
- [6] Skulnick M, Small GW, Simor AE, et al. Comparison of the clearview chlamydia test, chlamydiazyme, and cell culture for detection of chlamydia trachomatis in women with a low prevalence of infection [J]. J Clin Microbiol, 1991, 29(9): 2086-2088.
- [7] 张津萍, 钟铭英, 张树文, 等. 沙眼衣原体酶免疫法和细胞培养法的比较 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2004, 18(5): 288-289.
- [8] Taylor-Robinson D. Tests for infection with Chlamydia trachomatis [J]. Int J STD AIDS, 1996, 7(1): 19-25.
- [9] 尤永燕, 龚匡隆, 龚向东, 等. 实时荧光聚合酶链反应检测性病患者泌尿生殖道沙眼衣原体的临床分析 [J]. 微生物与感染, 2013, 8(3): 153-156.
- [10] 谢翠, 熊礼宽. 沙眼衣原体检测技术与分型方法学研究及应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 427-430.
- [11] 武卫. 沙眼衣原体临床检测研究进展分析 [J]. 医学信息: 下旬刊, 2011, 24(2): 271.
- [12] 陈暖, 彭学宏, 李粉莲. FQ-PCR 检测淋球菌、沙眼衣原体和解脲支原体 [J]. 中国实用医药, 2008, 3(20): 49-51.
- [13] 刘炜, 马俊. FQ-PCR 检测沙眼衣原体及解脲支原体 [J]. 中国现代医生, 2008, 46(6): 139-140.
- [14] 李皇, 张耀平, 牛康文. 荧光定量 PCR 检测泌尿生殖道沙眼衣原体 [J]. 右江民族医学院学报, 2001, 23(5): 787-788.
- [15] 张树文, 王千秋, 潘丽. 基层适宜的沙眼衣原体检验技术 [J]. 中国计划生育学杂志, 2013, 21(8): 574-576.

(收稿日期: 2013-10-22)