

• 检验技术与方法 •

不同的检验方法对沙眼衣原体检测结果的影响与评价

黄江浩, 陈宝娜, 常 帅, 刘 平, 叶佐婉, 于艳霞, 杨庆伟

(广州医科大学附属深圳沙井医院检验科, 广东深圳 518104)

摘要:目的 探讨并评价不同的检验方法对沙眼衣原体检测结果的影响。方法 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法与免疫胶体金技术对 354 例标本进行沙眼衣原体检测, 并对两种方法的检测结果进行比较。结果 ELISA 与免疫胶体金技术检测结果比较, 总体标本及女性标本检测结果的差异无统计学意义($P>0.05$), ELISA 检测男性标本的阳性检出率为 11.02%(13/118), 显著高于女性标本[4.2%(5/118)]($P<0.05$)。结论 ELISA 法特异性、敏感性高于免疫胶体金技术, 对男性尿道沙眼衣原体感染的早期诊断具有重要意义。

关键词:衣原体, 沙眼; 酶联免疫吸附测定; 免疫胶体金技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.09.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)09-1168-02

Effects and evaluation of different test methods on the results of *Chlamydia trachomatis* detection

Huang Jianghao, Chen Baona, Chang Shuai, Liu Ping, Ye Zouwan, Yu Yanxia, Yang Qingwei

(Center for Clinical Laboratory, Shajing Hospital of Shenzhen Affiliated to Guangzhou Medical University, Shenzhen, Guangdong 518104, China)

Abstract: Objective To investigate and evaluate the effects of different test methods on the results of *Chlamydia trachomatis* detection. Methods Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) method and the immune colloidal gold technique were adopted to detect the *Chlamydia trachomatis* in 354 specimens. Results Compared the detection results of ELISA and immune colloidal gold technique, differences of detection rates of overall specimens and female specimens was not statistically significant($P>0.05$). The positive rate of male specimens detected by ELISA was 11.02%(13/118), which was significantly higher than that of female specimens[4.2%(5/118)]($P<0.05$). Conclusion The specificity and sensitivity of ELISA were higher than those of immune colloidal gold technique, which is important for the early diagnosis of male urethral *Chlamydia trachomatis* infection.

Key words: *Chlamydia trachomatis*; enzyme-linked immunosorbent assay; immune colloidal gold technique

沙眼衣原体是泌尿生殖系统常见的病原体, 特定条件下可以致病, 是流行广泛的性传播疾病病原体之一, 易感染泌尿生殖道、口腔、直肠和眼结膜表面等^[1]。沙眼衣原体检测方法有很多, 本实验采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)及免疫胶体金技术对 354 例本院门诊标本进行沙眼衣原体检测, 并对 2 种方法的检测结果进行比较分析, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 全部 354 例标本来自 2012 年 8 月本院门诊求诊者, 其中, 男性标本 118 例, 女性标本 236 例; 男性求诊者取尿道拭子, 采用尿道拭子插入尿道内 2~3 cm 处, 稍用力转动 1 周并停留 30 s 取样(嘱患者采样前 1 h 勿小便, 尿道有分泌物时, 应先查淋球菌); 女性求诊者取宫颈标本, 用大棉签拭子擦去宫颈外的分泌物, 将另一棉签插入宫颈管内 1~2 cm 处, 转动 5~10 s 后取出棉签, 勿接触阴道壁, 放入传送管中, 男性和女性都同时取 2 份标本, 室温下放置不超过 4 h。将待 ELISA 检测的标本棉签标本放入有 1 000 μ L 红色裂解液的裂解管中, 置 95 ℃水浴 15 min, 冷却后挤压棉签并将棉签取出。待免疫胶体金检测的标本无需预处理。

1.2 主要试剂与仪器 主要试剂: MicroTrak II Chlamydia ELA 沙眼衣原体试剂盒(爱尔兰 Trinity Biotech Plc 公司)、沙眼衣原体检测试剂盒(杭州艾博生物医药有限公司); 主要仪器为 MicroTrack XL System 全自动酶免分析仪(爱尔兰 Trinity Biotech Plc 公司)。

1.3 检测方法 ELISA 检测: 严格按操作说明书上机进行操作, 仪器自动判定阴性或阳性结果。免疫胶体金检测: 在裂解管中竖直滴入无色裂解液 A 液 5 滴, 立即放入棉签, 用手指挤压裂解管中的棉签头, 并转动棉签 15 次, 静置 2 min, 在同一裂解管中竖直滴入裂解液 B 液 6 滴, 用手指挤压裂解管中的棉签头, 并转动棉签 15 次, 静置 1 min。挤干裂解管中棉签头, 弃去棉签, 盖上并旋紧裂解管滴头。在试剂的加样孔中滴入 3 滴裂解后溶液, 10~20 min 判读结果(20 min 后判读无效)。阳性为 2 条红色条带出现, 阴性为仅出现 1 条红色条带。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 计数资料用率表示, 率的比较采用 χ^2 检验, 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

ELISA 检测 354 例标本, 沙眼衣原体的阳性检出率为 8.19%(29/354), 其中, 男、女性标本的阳性检出率分别为 11.02%(13/118)、6.8%(16/236)。免疫胶体金检测 354 例标本, 沙眼衣原体的阳性检出率为 6.5%(23/354), 其中, 男、女性标本的阳性检出率分别为 4.2%(5/118)、7.6%(18/236)。ELISA 与免疫胶体金技术比较, 总体标本及女性标本检测结果的差异无统计学意义(χ^2 分别为 0.75、0.13, $P>0.05$), 男性标本检测结果的差异有统计学意义($\chi^2=4.06$, $P<0.05$)。

3 讨 论

沙眼衣原体感染的潜伏期平均 1~3 周。女性患者主要有尿急、尿痛等尿道炎症状, 但主要为宫颈内膜(下转第 1171 页)

(其中氯、尿素和三酰甘油稍高于指标,基本符合要求),占总评估项目的 69.2%;《指标》未对 DBIL、 α -HBDH 和 TIBC 提出要求,本科评估结果分别为 24.85%、12.87% 及 26.33%,其中 DBIL 高于张晓红等^[3]报道的结果(17.61%),与黄宪章等^[5]报道的结果(分别为 19.24%、12.06% 及 28.08%)基本相仿。

本研究中有 5 个不符合要求的项目,分别为 TBIL、清蛋白、CK、钙、镁,占总评估项目的 19.2%。清蛋白不精密度和偏倚对合成不确定度的构成比分别为 58.1% 和 41.9%,两者比较接近,说明精密度和正确度 2 个分量对清蛋白测量不确定度的影响基本一样,如要改进其测量不确定度,提高检测质量水平,一方面要注意仪器的维护,试剂的校准和工作人员的操作,提高室内质控的精密度;同时要参加各种室间质评活动,进行正确度验证,以减少测量结果的偏倚;TBIL、CK、钙、镁等项目不精密度占测量不确定度的构成比均在 70% 以上,提示引起这几个项目测量不确定度高的主要原因在于精密度较差,因此,做好室内质控,提高精密度是改进测量不确定度的关键。当从精密度和正确度两者进行改进后,测量不确定度仍然无法达到质量目标要求时,可用“自下而上”的方法来识别不确定度的各种来源,改进主要影响因素,从而减小测量不确定度。

尽管“自上而下”方法是用来评定测量不确定度的一种可行方法,但是该方法仍然存在着一些问题,有待于进一步探讨。首先,利用该方法进行测量不确定度评定是否需要对校准品的不确定度进行合成。张晓红等^[4]在其研究中对测量不确定度评定给出了“考虑校准品不确定度和未考虑校准品不确定度”2 种结果,并认为不应忽视校准品不确定度的影响。笔者认为,由于利用室内质控和室间质评数据对测量不确定度进行评估是一种“自上而下”的经验办法,数据结果本身已包含了分析过程中的各种影响因素,也包含了试剂校准品本身的不确定度,

(上接第 1168 页)

炎。宫颈有充血、水肿、触之易出血、黄色黏液脓性分泌物增多以及下腹部不适等症状。但也有相当数量的患者症状轻微或无任何临床症状。沙眼衣原体不仅感染女性泌尿生殖道,也感染男性泌尿生殖道,引起男性不育^[2]。男性患者表现为尿道炎,常有尿痛或尿道分泌物。尿痛的程度比淋病症状轻,有时仅表现为尿道的刺痛和瘙痒。尿道分泌物常为浆液脓性,较稀薄,量少。沙眼衣原体寄生在男性尿道和前列腺上皮细胞内,会影响生精和输精功能,导致男性不育^[3]。治疗沙眼衣原体感染的关键是及时、准确的诊断。沙眼衣原体检测方法有很多种,主要有细胞培养法、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)分子生物法、金标法、ELISA 法等。细胞培养法的敏感性和特异性虽最高^[4],但培养周期长,不适合每天检测;PCR 分子生物法虽然准确性、敏感性高,但条件及检测成本也较高,不适合基层医院广泛应用;而金标法及 ELISA 法条件要求不高,一般实验室即可满足条件,尤其是免疫胶体金技术所需时间更短,30 min 内便可出结果。在沙眼衣原体检测方面,免疫胶体金技术应用最为普及^[5]。但免疫胶体金技术也有明显的不足,虽然快速、方便,但其敏感性并不十分理想,文献报道,免疫胶体金技术敏感性较 ELISA 法低^[5]。用免疫胶体金技术检出患者体内有沙眼衣原体抗体时,患者的病情已到中期,达不到早期发现、早期诊断及早期治疗的效果^[6]。ELISA 法也是一种实验室常用的检测方法,其敏感性和特异性介于 PCR 分子生物法和免疫胶体金技术之间。ELISA 法具有特异

如再对校准品的不确定度加以合成,势必引起重复计算,扩大测量不确定度。其次,一个完整的检验过程应包括分析前、分析中和分析后,“自上而下”方法只评定与分析过程相关的医学检验结果的不确定度,而未涉及到生物学变异、分析前和分析后过程对结果分散性的影响,因此,该方法具有一定的局限性,对分析前和分析后测量不确定度的评定仍需要进一步探讨。最后,测量不确定度和测量物浓度水平是明显相关的,不同浓度很难有一致的不确定度,“自上而下”方法采用的是室间质评结果,室间质评质控物往往包含多个浓度水平,且不同批次质评的质控物浓度水平也常有变化,很难做到与室内质控物浓度水平一致,实际工作中只能采用与室内质控浓度水平接近的结果数据计算,这种由于质控物浓度水平不一致以及质控物的基质效应对测量不确定度的影响是否需要评估也是一个值得商榷的问题。

参考文献

- [1] 胡丽涛,何法霖,王薇,等. 临床检验测量不确定度的评定[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(9): 658-659.
- [2] 杨振华. 用“经验办法”评定测量不确定度[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(3): 278-230.
- [3] 张晓红, 鲁辛辛. 依据 Nordtest 准则评估测量不确定度更适合于临床实验室[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5): 404-406.
- [4] 张晓红, 刘向炜, 文江平, 等. 利用“室内质控和室间质评”数据评估临床生化检验中的测量不确定度[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5): 457-462.
- [5] 黄宪章, 王东梅, 徐建华, 等. 28 个临床化学指标 3 种不确定度评定方法的比较[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(12): 953-956.

(收稿日期: 2013-12-06)

性好、敏感性高、漏检率低、重复性好等优点,其敏感性较免疫胶体金技术高^[5]。但比免疫胶体金技术耗时,需 3 h 左右出结果。因 ELISA 法检测男性尿道拭子标本的阳性检出率远高于免疫胶体金技术,故建议 2 种方法灵活运用,标本量小且急需出报告时用免疫胶体金技术检测;标本量大时,用 ELISA 法检测。对于男性尿道拭子标本最好集中到一定的量后再用 ELISA 法检测,这样能最大限度地提高检出率。用 ELISA 法检测男性沙眼衣原体对其感染的早期诊断具有重要的意义。

参考文献

- [1] 李振林. 微生物及检验技术[M]. 广州: 广东科技出版社, 1994.
- [2] 丁显平, 唐乃秋, 岳秀兰, 等. 沙眼衣原体和解脲支原体感染与不育不孕症的相关性研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2001, 9(5): 28-30.
- [3] 段孝勤. 沙眼衣原体感染与继发不孕症的关系探讨[J]. 海南医学, 2010, 21(5): 90-91.
- [4] 叶顺章, 邵长庚. 性病治疗与预防[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [5] 幸彩梅. 二种沙眼衣原体抗原检测方法比较与评价[J]. 海南医学, 2009, 20(3): 92-93.
- [6] 刘洪庆, 徐秀香. 克隆荧光抗体染色法与金标免疫斑点法检测沙眼衣原体的比较[J]. 内蒙古医学杂志, 2006, 38(5): 431-432.

(收稿日期: 2014-01-23)