

• 论 著 •

念珠菌乳胶免疫层析法的性能评价

吕长虹, 曾婷婷, 明德松[△]

(福建医科大学附属泉州第一医院检验科, 福建泉州 362000)

摘要:目的 评价念珠菌乳胶免疫层析法检测试剂盒(以下简称念试剂)检测阴道分泌物中念珠菌的性能和种属特异性。方法 采用涂片/革兰染色法和念试剂检测 354 例怀疑为念珠菌阴道炎妇女阴道分泌物和 9 种属 22 种阴道常见感染微生物, 并与涂片/革兰染色法半定量比较, 评价念试剂的临床标本检测性能及种属特异性。结果 与涂片/革兰染色法相比, 念试剂的灵敏度为 93.81%, 特异度为 99.10%, 准确性 97.31%, 阳性预期值为 98.14%, 阴性预期值为 96.90%; 与涂片/革兰染色法半定量相比, 该念试剂检测阴道分泌物中的念珠菌在标本中念珠菌浓度较低时仍然具有较高的特异度、可接受的灵敏性; 在种属特异性评价, 6 种念珠菌阳性, 其他 16 种阴道常见感染微生物均为阴性。结论 念试剂检测阴道分泌物中念珠菌具有较高的临床和种属特异度、灵敏度、阳性预测值和阴性预测值。

关键词:念珠菌; 免疫层析试剂; 评价; 性能; 阴道分泌物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.07.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)07-0895-03

Performance evaluation of Candida spp. latex immunochromatography

LYU Changhong, ZENG Tingting, MING Desong[△]

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Quanzhou First Hospital, Fujian Medical University, Quanzhou, Fujian 362000, China)

Abstract: Objective To preliminarily evaluate the performance and species specificity of Candida spp. latex immunochromatography kit for detecting Candida spp. in vaginal secretion. **Methods** The vaginal secretions in 354 cases of suspected vaginitis and 9 genus of 22 species of common vaginal infecting organisms were by adopting the smear/Gram staining and Candida spp. kit. The results were compared with those detected by smear/Gram staining semi-quantitative method. The detection performance and species specificity of Candida spp. kit for detecting clinical specimens were evaluated. **Results** Compared with the smear/Gram staining method, the sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of Candida sp. kit were 93.81%, 99.10%, 97.31%, 98.14% and 96.90%, respectively; compared the smear/Gram staining semiquantitative method, the Candida spp. kit for detecting Candida spp. in vaginal secretion still had higher specificity and acceptable sensitivity when the Candida spp. concentration was lower in specimens; in the species specificity evaluation, 6 kinds of Candida spp. were positive and other 16 kinds of common vaginal infecting organisms all were negative. **Conclusion** The Candida spp. kit for detecting Candida spp. in vaginal secretion has higher clinical and species specificity, sensitivity, positive prediction value and negative prediction value. **Key words:** candida spp; immunochromatography test; evaluate; efficiency; vaginal secretion

念珠菌可引起人类生殖器官皮肤黏膜的感染即生殖器念珠菌病^[1], 主要表现为外阴及阴道瘙痒、水样或豆渣样白带, 主要霉菌病原微生物包括白色念珠菌(占 80%)及光滑念珠菌、近平滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌、季以蒙念珠菌、葡萄牙念珠菌、酿酒念珠菌等 7 种念珠菌(占 19%)^[2]; 本病与某些其他性传播疾病的症状近似, 故单纯以临床症状经常难以做出正确诊断, 同时由于各种原因, 误诊、疗程不足、多种耐药机制引起的耐药等^[2-6], 导致病情反复甚至形成顽固性霉菌性阴道炎给患者带来身心伤害^[7-10]。

应用检验方法检出阴道念珠菌以确诊念珠菌阴道炎有重要临床价值; 目前, 实验室检查念珠菌的方法有: (1)涂片显微镜镜检(湿片法); (2)培养法^[11]; (3)抗原检测法, 如乳胶凝集法; (4)核酸检测法, 如 PCR。湿片法是临床常规检测方法, 培养法是检查念珠菌最为灵敏和特异的方法, 但因操作麻烦, 耗时长通常不作为常规检测, 直接免疫荧光染色及核酸检测方法需相应仪器设备及对操作人员的技术要求而限制其使用。

本文评价南京黎明生物制品有限公司生产的一种基于彩色乳胶免疫层析技术开发的念珠菌快速试剂在临床中检测阴

道分泌物中念珠菌的性能和种属特异性。

1 材料与方法

1.1 患者标本 2009 年 12 月至 2014 年 1 月到福建医科大学附属泉州第一医院门诊就诊的疑似念珠菌感染妇女阴道分泌物标本 354 份, 年龄 19~54 岁。取标本时, 窥器不涂润滑剂, 就诊前 2 周内有关念珠菌用药史者标本排除在外。

1.2 试剂 念珠菌乳胶免疫层析法检测试剂盒(以下简称念试剂)为南京黎明生物制品有限公司生产。

1.3 仪器 奥林巴斯 CH20 显微镜由日本奥林巴斯光学工业股份有限公司生产。隔水式电热恒温培养箱由上海跃进医疗器械厂生产。

1.4 方法

1.4.1 白色念珠菌抗原二联检测卡 中含有两根并联的检测条, 采用抗原抗体反应及免疫层析技术来定性检测临床标本中是否含有白色念珠菌抗原。

1.4.2 标本取材及革兰染色 用 1 支无菌拭子在阴道侧壁取典型分泌物, 先做生理盐水涂片/革兰染色镜检, 镜检由 2 名经验丰富的技师用显微镜镜检 20 个低倍视野(10×10), 查见(或

发现疑似)念珠菌菌丝再用高倍视野(10×40)确认,镜检查见念珠菌菌丝判为阳性,未查见念珠菌菌丝判为阴性。

1.4.3 与涂片法总体比较 全面评价所有标本比较结果。

1.4.4 半定量方法比较 参照尿沉渣红细胞半定量方法,制订白色念珠菌半定量方法镜检标准,分为 4 级,即阴性(—)为 0 个/20 个低倍视野、+ 为 1 个/3 个高倍视野、++ 为 1~5< 个/高倍视野、+++ 为 ≥5 个/高倍视野;拭子+生理盐水再严格按念试剂操作说明书操作并判读结果。

1.4.5 菌种特异性评价 测试菌种来源于中国医学科学院南京皮肤病医院,9 种属 22 种微生物,包括白色念珠菌、光滑念珠菌、近平滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌、季以蒙念珠菌、葡萄牙念珠菌、酿酒念珠菌等 8 种念珠菌,浓度为 1.0×10⁶ CFU/mL;金黄色葡萄球菌、粪肠球菌、尿肠球菌等 3 种革兰阳性球菌,铜绿假单胞菌、大肠杆菌、普通变形菌、伤寒沙门菌等 4 种革兰阴性杆菌,脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、卡他奈瑟菌等 3 种革兰阴性球菌,沙眼衣原体、阴道毛滴虫、解脲支原体和人型支原体等 4 种阴道常见感染微生物,浓度均为 1.0×10⁷ 个/mL。

1.5 统计学处理 试验结果按四格表进行分析归类并进行统计分析,评价试验的性能,灵敏度、特异度、准确性、阳性预期值和阴性预期值。

2 结 果

2.1 与涂片法总体比较结果 以涂片为金标准,念试剂免疫层析法与金标准相比,检测结果见表 1。

表 1 念试剂免疫层析法检测结果(n)			
念试剂	涂片/革兰染色法		合计
	阳性	阴性	
阳性	106	2	108
阴性	7	219	226
合计	113	221	334

灵敏度=(106/113)×100%=93.81%
特异度=(219/221)×100%=99.10%
准确性=(325/334)×100%=97.31%
阳性预期值=(106/108)×100%=98.14%
阴性预期值=(219/226)×100%=96.90%

表 1 结果表明,念试剂检测阴道分泌物中的念珠菌具有较高的临床特异度、灵敏度、准确性、阳性预测值和阴性预测值。

2.2 与涂片/革兰染色法半定量比较结果 以涂片/革兰染色法为金标准,念试剂与涂片/革兰染色法半定量相比,检测结果见表 2。

表 2 念试剂半定量检测结果(n)				
涂片/革兰染色法	n	念试剂		合计
		阳性	阴性	
—	10	0	10	10
+	4	2	2	4
++	4	3	1	4
+++	2	2	0	2
合计	20	7	13	20

表 2 结果表明,念试剂检测阴道分泌物中的念珠菌在标本

中念珠菌浓度较低时仍然具有较高的临床特异度、可接受灵敏度。

2.3 种属特异性评价 9 种属 22 种阴道常见感染微生物种属特异性评价,6 种念珠菌在浓度为 1.0×10⁶ CFU/mL 时出现阳性,其他 8 种属 16 种阴道常见感染微生物在浓度为 1.0×10⁷ 个/mL 时均为阴性。

3 讨 论

念珠菌是一类腐败物寄生菌,可生活在正常人体的皮肤、黏膜,消化道或其他脏器中,经常在阴道中存在而无症状,白带增多的非孕妇中,约有 10%,孕妇中约有 30%在阴道内有此菌寄生,当机体抵抗力降低[维生素缺乏(复合维生素 B)、严重的传染性疾病、糖尿病和其他消耗性疾病]、长期应用广谱抗菌素和肾上腺皮质激素,可使霉菌感染逐年增加^[12-15]。

念试剂很少,其评价文献更少^[16-17]。在本文念试剂,其原理是乳胶免疫层析法,即念珠菌抗体包被在彩色乳胶上,检测时,当标本中有念珠菌时,先和包被有念珠菌抗体的彩色乳胶结合,形成抗原抗体彩色乳胶复合物,由于层析作用该复合物沿着硝酸纤维膜前移,被固定在硝酸纤维素膜检测线上的另一个念珠菌抗体所捕获,形成一条红色的条带,若标本中没有念珠菌抗原则不能形成红色的条带。

本文比较结果可观察到:与涂片/革兰染色法相比,念试剂的灵敏度为 93.81%,特异度为 99.10%,阳性预期值为 98.14%,阴性预期值为 96.90%,具有很高的准确性;与涂片/革兰染色法半定量相比,该念试剂检测阴道分泌物中的念珠菌在标本中念珠菌浓度较低时仍然具有较高的特异性、可接受敏感性。在种属特异性方面,评价了 9 种属 22 种阴道常见感染微生物,6 种念珠菌阳性,其他 8 种属 16 种阴道常见感染微生物均为阴性,说明该念试剂有很高的种属特异性。

此外,该念试剂对操作人员和设备均无特殊需求,操作简单,适合于大规模推广,将极大地解放检验人员,同时可以最大限度地提高检验结果的准确性,是对霉菌的检测技术产生质的飞跃。

参考文献

[1] Nyirjesy P, Sobel JD. Genital mycotic infections in patients with diabetes[J]. Postgrad Med, 2013, 125(1): 33-46.
[2] Engberts MK, Korpelaar H, Vinkers M, et al. Vulvovaginal candidiasis: diagnostic and therapeutic approaches used by Dutch general practitioners[J]. Eur J Gen Pract, 2008, 14(1): 30-33.
[3] Cernicka J, Subik J. Resistance mechanisms in fluconazole-resistant Candida albicans isolates from vaginal candidiasis[J]. Int J Antimicrob Agents, 2006, 27(5): 403-408.
[4] Feng LJ, Wan Z, Wang XH, et al. Relationship between antifungal resistance of fluconazole resistant Candida albicans and mutations in ERG11 gene[J]. Chin Med J (Engl), 2010, 123(5): 544-548.
[5] Fan SR, Liu XP. In vitro fluconazole and nystatin susceptibility and clinical outcome in complicated vulvovaginal candidosis[J]. Mycoses, 2011, 54(6): 501-505.
[6] Fan SR, Liu XP, Li JW. Clinical characteristics of vulvovaginal candidiasis and antifungal susceptibilities of Candida species isolates among patients (下转第 899 页)

无法及时查询报告,ILTAT 延迟。本科室已制定 LIS 故障时的应急预案,最大程度的保证 ILTAT。平时加强与相关科室的沟通,注重 LIS 信息系统的升级与维护。

缩短急诊生化 ILTAT 有助于急诊医生更早地对危重患者的病情作出诊断和治疗。因此,为满足临床需求,本科室将急诊生化 ILTAT 目标值缩短为 60 min(ILTAT2),ILTAT2 检验及时率为 83.7%(7317/8743)。分析延迟因素,除上述 3 点外,还发现不同时段的 ILTAT 检验及时率差异有统计学意义($\chi^2=134.50, P<0.01$)。其中 T2(10:01—12:00)检验及时率最高(88.1%),T1(8:01—10:00)检验及时率最低(76.8%),T3(12:01—14:00)、T7(6:01—8:00)这两个时段检验及时率较低,分别为 79.4%、80.2%。研究发现,T1(8:01—10:00)时段标本量剧增,造成高峰期拥堵,限速主要原因在标本等待离心和上机检测。在现有设备处理标本的速度无法满足临床需求的情况下,可考虑对仪器进行更新或升级。T3(12:01—14:00)、T7(6:01—8:00)2 个时段分别是午交班和早交班时间。午交班由于标本量大,值班人员减少,造成 ILTAT 延迟;早交班值班人员需要进行室内质控、试剂更换、标本接收等相关工作而导致 ILTAT 延迟。科室采取相应的改进措施,于午间及晨间各增加一名值班人员,以缓解相应时段的工作压力,保证 ILTAT。

当然 ILTAT 影响因素众多,其中检验人员的业务能力至关重要。本科定期组织全员进行常见故障的学习及个人经验交流。同时注重培养检验人员的急诊意识。另外,标本稀释、危急值复查、临床沟通等因素都对急诊生化 ILTAT 有一定影响。但本研究未对上述影响因素进行量化评价,有待进一步研究予以完善。综上所述,本研究通过分析急诊生化 ILTAT 影响因素,采取有效的改进措施,优化了工作流程,缩短 ILTAT,

提高了工作效率;同时注重预防性改进,消除潜在的医疗隐患,防患于未然,持续性改进实验室的工作质量,从而更好地满足临床和患者的需求。

参考文献

- [1] 尹志辉,赵领军.实验室内报告周转时间数据调查与分析[J].河北医药,2012,34(20):3164.
 - [2] 李萍,黄亨建,刘小娟,等.常规生化检验的报告时间分析[J].中华检验医学杂志,2003,26(6):387-389.
 - [3] 权文强,田佳乐,戴燕,等.信息化管理实现检验标本周转时间的实时监控[J].中华检验医学杂志,2014,37(6):475-476.
 - [4] 陈丽.急诊检验报告周转时间现状分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(12):1527-1528.
 - [5] 张玉洪,柏灵灵,张莉萍.住院患者急诊生化检验报告时间分析[J].重庆医学,2010,39(24):3344-3345.
 - [6] 张宗久.中国医学评审实务[M].北京:人民军医出版社,2013:363-364.
 - [7] 曾蓉,王薇,王治国.临床实验室报告周转时间的监测[J].临床检验杂志,2012,30(4):301-302.
 - [8] 周亚春,董军,王彦霞,等.缩短门诊检验报告时间的持续改进[J].中华医院管理杂志,2010,26(5):331-333.
 - [9] Goswami B, Singh B, Chawla R, et al. Turn around time (TAT) as a benchmark of laboratory performance[J]. Indian J Clin Biochem, 2010, 25(4): 376-379.
- (收稿日期:2016-10-28 修回日期:2017-01-30)
-
- (上接第 896 页)
- in southern China from 2003 to 2006[J]. Obstetr Gynaecol Res, 2008, 34(4): 561-566.
- [7] 高静.顽固性霉菌性阴道炎 128 例临床分析[J].中国现代药物应用,2011,5(1):39-40.
 - [8] Mainini G, Rotondi M, Scaffa C. A new approach in the first-line treatment of bacterial and mycotic vulvovaginitis with topical lipohydroperoxides and glycyrrhetic acid: a comparative study[J]. Clin Exp Obstet Gynecol, 2011, 38(3): 243-246.
 - [9] Adib SM, Bared E, Fanous R, et al. Practices of lebanese gynecologists regarding treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis[J]. North Am J Med Sci, 2011, 3(9): 406-410.
 - [10] Bahadoran P, Rokni FK, Fahami F. Investigating the therapeutic effect of vaginal cream containing garlic and thyme compared to clotrimazole cream for the treatment of mycotic vaginitis[J]. Iran J Nurs Midwifery Res, 2010, 15(Suppl 1): 343-349.
 - [11] Guzel AB, Ilkit M, Akar T, et al. Evaluation of risk factors in patients with vulvovaginal candidiasis and the value of chromID Candida agar versus CHROMagar Candida for recovery and presumptive identification of vaginal yeast species[J]. Medical Mycology, 2011, 49(1): 16-25.
 - [12] 李慧.滴虫、霉菌性阴道炎患者白带检验及感染率动态观察[J].中国妇幼保健,2011,26(9):1362-1364.
 - [13] 丁利胜,管灵奶,徐瑞军.女性阴道分泌物 10 158 例检测结果分析[J].中国妇幼保健,2013,28(18):2906-2907.
 - [14] Goswami R, Dadhwal V, Tejaswi S, et al. Species-specific prevalence of vaginal candidiasis among patients with diabetes mellitus and its relation to their glycaemic status[J]. J Infect, 2000, 41(2): 162-166.
 - [15] Jackson ST, Mullings AM, Rainford L, et al. The epidemiology of mycotic vulvovaginitis and the use of antifungal agents in suspected mycotic vulvovaginitis and its implications for clinical practice[J]. West Indian Medical Journal, 2005, 54(3): 192-195.
 - [16] Evans EG, Lacey CJ, Carney JA. Criteria for the diagnosis of vaginal candidosis: evaluation of a new latex agglutination test[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1986, 22(5/6): 365-371.
 - [17] Marot-Leblond A, Nail-Billaud S, Pilon FA, et al. Efficient diagnosis of vulvovaginal candidiasis by use of a new rapid immunochromatography test[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(12): 3821-3825.
- (收稿日期:2016-09-02 修回日期:2016-12-26)