

3 种方法检测 286 例生殖道沙眼衣原体的分析

黄启强, 顾 艳, 周晓兰(遵义医学院第五附属珠海医院, 广东珠海 519100)

【摘要】 目的 分析比较酶联免疫吸附试验(ELISA)、核酸扩增聚合酶链反应(PCR)荧光法和免疫层析法在检测泌尿生殖系统沙眼衣原体(CT)感染中的应用效果。**方法** 分别采用 ELISA、核酸扩增 PCR 荧光法和免疫层析法检测泌尿生殖系统的 CT 抗原,同时用细胞培养法作为“金标准”。**结果** 共检 286 例标本,ELISA、核酸扩增 PCR 荧光法和免疫层析法的特异性和灵敏度分别为 99.1%和 95.5%;98.2%和 97.0%;99.5%和 73.6%。**结论** ELISA 法与核酸扩增 PCR 荧光法具有较一致灵敏度和特异性,均可作为临床治疗和监测性病提供可靠的依据;免疫层析法虽然操作简便,但灵敏度较差。

【关键词】 沙眼衣原体; 生殖道; 酶联免疫吸附试验; 核酸扩增聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.10.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)10-1197-02

Analysis of three methods on detecting 286 cases of Chlamydia trachomatis HUANG Qi-qiang, GU Yan, ZHOU Xiao-lan(The Fifth Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zhuhai, Guangdong 519100, China)

【Abstract】 Objective To analyze and compare the application performance of enzyme-linked immunosorbent adsorption test (ELISA), nucleic acid amplification PRC fluorescence method and immune chromatography method on detecting Chlamydia trachomatis (CT) in the urogenital systems. **Methods** We detected CT in the urogenital systems by using ELISA, PCR fluorescence method and immune chromatography method respectively, and used cell culture as the "gold standard" simultaneously. **Results** 286 cases of specimens were detected. The specificities of ELISA, PCR fluorescence method and immune chromatography method were 99.1%, 95.5% and 98.2% respectively, and the sensitivities were 97.0%, 99.5% and 73.6% respectively. **Conclusion** ELISA and PCR fluorescence method are more consistent in sensitivity and specificity, both providing reliable basis for clinical treatment and sexually transmitted diseases. Immune chromatography method is less sensitive in spite of its simple operation.

【Key words】 Chlamydia trachomatis; genital tract; enzyme-linked immunosorbent adsorption test; nucleic acid amplification PRC

沙眼衣原体(CT)是一种常见的性病病原体,会引泌尿生殖道感染、包涵体包膜炎、性病淋巴肉芽肿等,但其感染在临床上多呈隐性感染,表现为无症状或轻微症状而不为患者所重视。CT 的实验室检测方法很多,但其特异性和敏感度差别较大。本文对常用的 3 种检测 CT 的方法进行了比较,并用细胞培养法作为“金标准”进一步验证,以分析不同方法检测泌尿生殖系统 CT 的应用效果。

1 材料与方法

1.1 标本来源 286 例标本为本院皮肤性病、妇科、泌尿外科门诊人群分泌物、尿液沉渣、精液等标本。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 全自动免疫仪(芬兰 Microtial II 生产)和原厂配套酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂。

1.2.2 聚合酶链反应(PCR)试剂(深圳匹基生物生产), MJ OPTICON2 基因扩增仪(美国 MJ 公司生产)。

1.2.3 免疫层析法试剂(英国立明生产)

1.3 方法

1.3.1 细胞培养接种标本于含有单层 McCoy 细胞的 24 孔培养板,2 500 r 离心 1 h,弃上清液,加放线菌酮培养液,35 ℃、5%的 CO₂ 培养 48~72 h 后碘染色镜检包涵体。

1.3.2 ELISA、核酸扩增 PCR 荧光法和免疫层析法按试剂盒操作说明使用。

1.3.3 ELISA 法、PCR 法和层析法均为阳性或者 3 种方法中有一种或两种阳性的再用培养法为阳性的作为真阳性,考虑在

培养时部分样本衣原体死亡造成培养的假阴性。ELISA 法、PCR 法都同时为阳性的,培养法为阴性的标本也作为阳性来处理,其他为阴性。分别计算 ELISA 法、PCR 法和层析法的灵敏度、特异性、阳性预测值、阴性预测值。

1.4 统计学方法 采用配对卡方检验两两比较 ELISA 法、PCR 法、层析法的灵敏度、特异性的统计学差异。

2 结 果

2.1 分别用 ELISA 法、PCR 法、层析法共检测了 286 例临床标本,结果阳性为 64 例(22.4%),阴性为 220 例(77.6%)。其中有 40 例 3 种方法都为阳性,占阳性的 62.5%,经细胞培养有 35 例阳性,有 5 例为阴性,只是 ELISA 法、PCR 法都同时为阳性但层析法为阴性的有 22 例,占 31.3%,经细胞培养有 20 例阳性,有 2 例为阴性,有 2 例是 ELISA 法、PCR 法、层析法中只是其中一种方法为阳性但经培养法验证为阳性的。

2.2 ELISA 法共检测 286 例标本其阳性为 63 例(22.0%),其中 3 例为 PCR 法、层析法都阴性,经细胞培养验证 2 例为阴性,另 1 例为阳性,灵敏度为 95.5%,其特异性为 99.1%,阳性预测值为 96.8%,阴性预测值 99.1%,见表 1。

2.3 PCR 法共检测 286 例标本其阳性为 65 例(22.7%),其中 5 例为 ELISA 法、层析法都为阴性的经细胞培养验证 1 例阳性和 4 例阴性,其特异性为 98.2%,灵敏度为 97.0%,阳性预测值为 96.9%,阴性预测值为 98.2%,见表 1。

2.4 层析法共检测 286 例标本其阳性为 41 例(14.3%),其中 1 例为 ELISA 法、PCR 法均为阴性的经细胞培养验证为阴性,

其特异性为 99.5%,灵敏度 73.6%,阳性预测值为 97.6%,阴性预测值 99.6%。

表 1 3 种方法的检测结果

方法	阳性	阴性	合计	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	灵敏度 (%)	特异性 (%)
ELISA	63	223	286	96.8	99.1	95.5*	99.1
PCR	65	221	286	96.9	98.2	97.0*	98.2
层析法	41	245	286	97.6	99.6	73.6	99.5

注:与层析法比较,**P*<0.05。

3 讨 论

CT 是常见的一种性传播疾病病原体,CT 是引起非淋菌性尿道炎的主要病原体,非淋性尿道炎的 40%~50%是由 CT 感染引起的。感染 CT 后妇女最常见的是引起化脓性宫颈炎,脓性白带增多,可伴有外阴瘙痒。如果引起尿道炎时,约一半患者出现尿急、尿频和排尿困难,与淋病性尿道炎不同的是,CT 引起的尿道炎无尿痛症状,或尿痛很轻微,可有少量的尿道分泌物。如果巴氏腺被感染,还能引起巴氏腺炎;女性患者多数症状很轻,或者没有自觉症状,因此常被忽略,容易造成本病的传播^[1-2]。选择一种高效快速、特异、敏感的检测方法有着重要的临床意义。

ELISA 法检测 CT 抗原有着较高的特异性和灵敏度,灵敏度为 95.5%,特异性为 99.1%,有仪器的自动化,与 PCR 的结果一致性达到 96.9%,可为临床提供较为准确的结果。细胞培养虽然被国际公认为是检测衣原体的“金标准”,方法通过碘染色镜检包涵体或用荧光标记单克隆抗体检测组织中的包涵体,特异性近似于 100%,但耗时长,且不同实验室培养法的敏感性也不相同(50%~90%),培养时部分样本衣原体死亡造成培养的假阴性,不能满足临床的需求。PCR 法凭高灵敏度成为检测 CT 的一项新技术,但需要有昂贵的试剂和仪器,要专用的分子生物实验室,实验条件要求较高,比免疫分析法容易出现假阳性。免疫层析法快速,操作简单,有较高的特异性但

灵敏度低,容易漏检^[3-7]。ELISA 试剂具有简便(自动化)快速、结果易判断,适宜大量的标本检测,该方法也可手工操作,也能在基层医院推广使用^[8]。

参考文献

[1] 王千秋.重视生殖道沙眼衣原体感染的防治[J].中华皮肤科杂志,2007,40(5):257-259.

[2] Sarah P, Simon B, Hannah K, et al. Mapping the global distribution of trachoma[J]. Bull Word Health Organ, 2005,83:913-919.

[3] 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(5):33-37.

[4] 刘开扬,李俊平,刘进军,等. Gap-LCR-ELISA 法与 PCR-反向杂法对沙眼衣原体的检测对比研究[J]. 中华检验杂志,2007,30(7):820.

[5] 李启宁,夏理评.金标快速免疫试剂盒检测沙眼衣原体的性能评估[J]. 上海检验杂志,2003,18(1):31-33.

[6] Tong CY, Donnelly C, Hood N. Lowering the cut off value of an automated chlamydia enzyme immunoassay and confirmation by PCR and direct immunofluorescent antibody test[J]. J Clin Pathol, 1997,50(8):681-685.

[7] 李燕姝,江海燕,黄西元. 4 089 例性病门诊沙眼衣原体检测结果分析[J]. 岭南皮肤性病科杂志,2008,15(1):9-11.

[8] 郑和平,李美玲,黄进梅,等. Microtrak II EIAI 法检测泌尿生殖道沙眼衣原体感染[J]. 岭南皮肤性病科杂志,2004,11(3):207-209.

(收稿日期:2011-01-23)

(上接第 1196 页)

易降解该试剂开盖后的稳定期,稳定期通常只有 1 个月左右^[1]。TBA 与常规化学检测项目相比其试剂使用率相对较低,并且该项目试剂较为昂贵,因此多数实验室(尤其是基层医院实验室)对于该项目校准周期设定较长。本实验中改良试剂瓶显著降低了不校准状态下检测结果的日间变异 CV 及结果累计偏差,尤其在开盖 15 d 后效果更为明显。实验结果证实,在自动化生化分析仪中应用改良试剂瓶对延长 TBA 试剂效期、减小测定结果日间变异有显著效果,本实验同时为改良试剂瓶在其他类型检测项目中的应用提供了参考依据。

改良试剂瓶对于减缓 TBA 试剂衰变的性能良好,有利于提高试剂开瓶后的稳定性、延长试剂效期;改良试剂瓶对于降低因试剂衰变导致检测结果的日间变异 CV 效果显著,有利于 TBA 检测精密度的进一步提高。

参考文献

[1] 韩志钧. 临床化学常用项目自动分析法[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2005:998-1000.

[2] 刘洪范. 化学实验基础[M]. 济南:山东科学技术出版社,

1983:217-225.

[3] 孙宏伟,陈君华. 化学试剂变质原因及对策[J]. 安徽农业技术学院学报,2000,14(3):60-70.

[4] 周能,赵书林,谢祖芳,等. 重氮氨基类试剂在分析化学中的研究进展[J]. 玉林师范学院学报:自然科学,2002,3(25):51-52.

[5] 王箴. 化工辞典[M]. 北京:化学工业出版社,1979:1363.

[6] 胡望平,周长邵,王丹,等. 肌酐试剂稳定性的改进[J]. 现代检验医学杂志,2003,18(2):28-29.

[7] 肖少林,魏曼梅,胡望平,等. 改进肌酐试剂稳定性的方法[J]. 检验医学与临床,2007,4(8):759-760.

[8] 袁水斌. 稳定型总蛋白(TP)试剂的研制[J]. 江西医学检验,2006,4(2):124-126.

[9] 张纯. PVC(聚氯乙烯)袋装呋喃西林溶液的稳定性试验[J]. 中国现代临床医学,2006,5(5):19-21.

[10] 曾平. 全自动生化分析仪试剂添加方法对试验结果的影响[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(8):759-760.

(收稿日期:2010-12-10)