

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.03.020

疟原虫胶体金快速检测试剂盒在加蓬的临床应用研究

李世佳¹, NGANIANGA Chailina²

1. 天津市第四中心医院检验科, 天津 300143; 2. 加蓬弗朗斯维尔中加友谊医院检验科, 弗朗斯维尔 3725

摘要:目的 评价疟原虫胶体金快速检测试剂盒法(RDTs法)在疟疾诊断中的应用价值。方法 收集加蓬弗朗斯维尔中加友谊医院 2020 年 9 月至 2021 年 6 月 105 例疑似疟疾患者(中国人 25 例, 加蓬人 80 例)全血标本, 应用 RDTs 法进行检测, 以显微镜镜检法作为金标准, 分析 RDTs 法诊断恶性疟、非恶性疟的灵敏度、特异度, 以及 2 种检测方法的综合推广率及检测时间。结果 显微镜镜检法检出阳性患者 92 例, 阳性率为 87.6%, RDTs 法检出阳性患者 91 例, 阳性率为 86.7%。RDTs 法检测恶性疟的灵敏度为 100.0%, 特异度为 94.7%, 检测非恶性疟的灵敏度为 66.7%, 特异度 100.0%。RDTs 法、显微镜镜检法检测结果比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。根据 10 项单因素指标对比分析, RDTs 法的综合推广率[86.7%(26/30)]高于显微镜镜检法[63.3%(19/30)], 显微镜镜检法检出时间[(40.0±5.2)min]长于 RDTs 法[(12.6±1.5)min], 差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 RDTs 法可作为显微镜镜检法的辅助检测工具, 在医疗条件落后的非洲地区推广使用。

关键词: 疟疾; 疟原虫; 快速检测; 镜检法; 加蓬

中图分类号: R531.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)03-0364-03

Clinical application of the colloidal gold rapid detection kit for plasmodium in Gabon

LI Shijia¹, NGANIANGA Chailina²

1. Department of Clinical Laboratory, Tianjin Forth Central Hospital, Tianjin 300143, China;

2. China-Gabon Friendship Hospital of Franceville, Franceville 3725, Gabon

Abstract: Objective To evaluate the diagnostic value of plasmodium colloidal gold rapid detection kit (RDTs) in malaria. **Methods** From September 2020 to June 2021, 105 suspected malaria blood samples (25 Chinese and 80 Gabonese) were collected from China-Gabon Friendship Hospital of Franceville in Gabon. By using microscopy as the gold standard, the sensitivity and specificity of RDTs were analyzed, and the comprehensive extension rate and detection time of the two methods were observed. **Results** The positive rate were 87.6% in 92 patients by microscopy and 86.7% in 91 patients by RDTs. The sensitivity and specificity of RDTs were 100.0% and 94.7% for falciparum malaria, and 66.7% and 100.0% for non-falciparum malaria. There was no significant difference on detection results between RDTs and microscopy ($P>0.05$). According to the comparative analysis of 10 single factor indexes, the comprehensive promotion rate of RDTs method [86.7%(26/30)] was higher than that of microscope method [63.3%(19/30)], and the detection time of microscope method [(40.0±5.2) min] was longer than that of RDTs method [(12.6±1.5) min], the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** RDTs could be used as an auxiliary detection tool for microscopic examination in Africa where medical conditions are backward.

Key words: malaria; plasmodium; rapid detection; microscopic examination; Gabon

疟疾是一种严重危害人类身体健康的寄生虫病, 疟原虫主要分为恶性疟原虫、间日疟原虫、三日疟原虫和卵型疟原虫。目前疟疾在世界范围内广为流行, 其中以非洲最为严重, 全球近 90% 的疟疾病例发生于非洲, 且以恶性疟为主^[1-2]。加蓬地处非洲西南部, 气候多雨湿热, 增大了疟疾经蚊虫传播可能^[3-4]。近年

来, 随着全球经济一体化进程, 我国外出到加蓬务工人员逐年增加, 且多在林场、矿区等易于蚊虫生长繁殖地区工作, 加之当地肠道疾病发病率也较高, 很多疟疾患者发热后自行服用退热、消炎药治疗, 不易被及时发现, 常常延误最佳治疗时机。

疟疾的早期诊断是防治的关键^[5], 目前常用的检

作者简介: 李世佳, 男, 主管技师, 主要从事临床检验研究。

本文引用格式: 李世佳, NGANIANGA Chailina. 疟原虫胶体金快速检测试剂盒在加蓬的临床应用研究[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(3): 364-

测方法为疟原虫镜检法、抗原快速检测和核酸检测^[6]。但受经济条件所限,非洲当地无法广泛开展疟疾核酸检测项目,故多以显微镜镜检法作为疟疾检测的金标准,辅以抗原快速检测。万孚疟原虫快速检测试剂盒是我国唯一可同时检测人体 4 种疟原虫的试剂盒^[7]。本研究旨在分析疟原虫胶体金快速检测试剂盒法(RDTs 法)对加蓬地区疟疾的检测效果,为 RDTs 法在非洲地区的推广应用提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集加蓬弗朗斯维尔市中加友谊医院 2020 年 9 月至 2021 年 6 月 105 例疑似疟疾患者(中国人 25 例,加蓬人 80 例)的乙二胺四乙酸(ED-TA)抗凝全血标本。105 疑似疟疾患者中男 63 例,女 42 例。

1.2 仪器与试剂 奥林巴斯显微镜;疟原虫检测试剂盒(广州万孚生物技术有限公司,产品标准编号:YZB/国 4201-2011)。

1.3 方法

1.3.1 RDTs 法 参照试剂盒说明书,吸取 5 μ L 全血标本垂直滴加于加样区,同时滴加 3 滴裂解液于加裂解液区,15 min 内观察显示结果。对照区(C)和检测区(T1)同时出现红色条带提示感染恶性疟原虫。对照区(C)和检测区(T1、T2)同时出现红色条带提示感染恶性疟原虫合并其他 3 种疟原虫的一种或几种。对照区(C)和检测区(T2)同时出现红色条带提示感染间日疟原虫、三日疟原虫或卵形疟原虫的一种或几种。仅对照区(C)出现红色条带提示检测结果为阴性。对照区(C)无红色条带出现,提示检测结果无效。

1.3.2 显微镜镜检法 参照 WS259-2015《疟疾的诊断》^[8]制作厚、薄血涂片,100 倍油镜下观察厚血膜,发现疟原虫后,以薄血膜进行虫种分类。以显微镜镜检结果作为疟疾检测的金标准。

1.3.3 RDTs 法检测综合推广能效分析 将显微镜镜检法与 RDTs 法进行多角度推广能效比对,根据 10 项因素给予高、中、低 3 档评定,依不同档次赋值 3、2、1 分,总分 30 分,计算综合推广率,综合推广率越高表示综合推广能效越好。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2010 记录数据,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 种方法检测阳性率比较 105 例疑似疟疾患者中,显微镜镜检法检出阳性 92 例,阳性率 87.6%(92/105),其中恶性疟阳性率 81.9%(86/105),间日疟阳性率 3.8%(4/105),卵形疟阳性率 1.9%(2/105)。采用 RDTs 法检出阳性 91 例,阳性率 86.7%

(91/105),其中恶性疟 87 例,非恶性疟 4 例。显微镜镜检法、RDTs 法检测阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 RDTs 法对恶性疟、非恶性疟的诊断指标分析 以显微镜镜检法为金标准,对恶性疟检测结果分析得出:RDTs 法检测灵敏度为 100.0%,特异度为 94.7%。对非恶性疟检测结果分析得出:RDTs 法检测灵敏度为 66.7%,特异度为 100.0%。2 种方法检测结果比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 RDTs 法对恶性疟、非恶性疟的诊断指标(%)

类型	灵敏度	特异度	假阳性率	假阴性率	阳性预测值	阴性预测值
恶性疟	100.0	94.7	1.1	0.0	98.9	94.7
非恶性疟	66.7	100.0	0.0	33.3	66.7	100.0

2.3 2 种检测方法在加蓬的综合推广能效分析 根据 10 项因素评定得分显示,显微镜镜检法合计得分为 19 分,综合推广率为 63.3%(19/30),而 RDTs 法检测合计得分为 26 分,综合推广率为 86.7%(26/30)。见表 2。

表 2 2 种检测方法的综合推广能效分析

单因素指标	RDTs		显微镜镜检法	
	程度	得分(分)	程度	得分(分)
鉴别能力	中	2	高	3
特异性	中	2	高	3
敏感性	中	2	低	1
技术要求	低	3	高	1
仪器要求	低	3	中	2
成本要求	中	2	低	3
耗时	低	3	中	2
环境要求	低	3	中	2
培训要求	低	3	高	1
推广难度	低	3	高	1

2.4 2 种方法检出时间比较 显微镜镜检法经制作厚、薄血膜及镜检过程,平均检出时间为(40.0 $\pm$ 5.2) min,RDTs 法平均检出时间为(12.6 $\pm$ 1.5) min,2 种方法检出时间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

2021 年 6 月 30 日,世界卫生组织认证中国已消除疟疾^[9]。但随着经济一体化带来的人口流动,我国输入性疟疾的风险依旧存在,主要由非洲及东南亚国家归国务工人员输入^[10]。据报道,全球每年感染疟疾病例近 2 亿,其中引起死亡的多为恶性疟疾^[11]。因此,提高疟疾的早期诊断率是救治的关键。

目前,疟疾诊断方法包括显微镜镜检法、RDTs 法和 PCR 法。其中传统血涂片显微镜镜检法是检测疟

原虫的金标准,此方法成本较低且能鉴定虫种,但受检验人员水平限制,在血液中疟原虫密度较低的情况下极易造成漏检,而且制作厚、薄血膜步骤烦琐、用时较长。PCR 核酸检测技术因其高灵敏度和特异度等优势,在疟疾诊断中应用前景广泛,但受非洲环境、经济等条件所限,在当地较难开展。本研究结果显示,RDTs 法灵敏度较高,可以减少漏诊。与镜检法不同,RDTs 法检测操作更为简便,1 min 内即可观察结果且更加直观,易于基层检验医生甚至非专业人士操作使用,已广泛应用于疟疾筛选^[12]。万孚疟原虫快速检测试剂盒采用恶性疟原虫抗组氨酸富集蛋白 II (HRP-II) 单克隆抗体和抗鼠 IgG 多克隆抗体。胶体金标记抗 HRP-II 单克隆抗体,应用层析式双抗体夹心法的原理定性检测全血中的疟原虫抗原。HRP-II 是疟原虫消化血红蛋白的产物,属于血溶性抗原,包含大量组氨酸,在疟疾患者血、尿中均可检出,在恶性疟疾及间日疟诊断中特异度高^[7]。本研究中,镜检法所示的 86 份恶性疟原虫阳性标本,应用 RDTs 法全部检出。一般认为,当疟原虫密度 <50 个/ μL 时镜检法难以检出,RDTs 法可检出疟原虫 >10 个/ μL ,本研究中 RDTs 法检测灵敏度为 100.0%,较镜检法多检出 1 例恶性疟病例,正是因患者血液中疟原虫密度低所致。但 RDTs 法漏诊了 2 例非恶性疟患者,提示其对非恶性疟的检测灵敏度不佳,这与 MALTHA 等^[13]的研究结果一致。本研究结果显示,采用镜检法与 RDTs 法检测疟疾的阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),这与张欣等^[14]研究结果一致。此外,RDTs 法检出时间明显短于显微镜镜检法,达到了临床快速诊断的要求。

综上所述,该试剂盒能够快速准确地检测疟原虫,特别是非洲地区高发的恶性疟,检出质量和效率与显微镜镜检法相当,且综合推广能效优于显微镜镜检法。因此,RDTs 法可作为显微镜镜检法的辅助检测工具,在医疗条件落后的非洲加蓬地区推广使用。

参考文献

[1] World Health Organization. 2017 World malaria report

(上接第 363 页)

SNHG3 sponges miR-577 to up-regulate SMURF1 expression in prostate cancer[J]. Cancer Med, 2020, 9(11): 3852-3862.

[16] PENG L, ZHANG Y, XIN H. lncRNA SNHG3 facilitates acute myeloid leukemia cell growth via the regulation of miR-758-3p/SRGN axis[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(2): 1023-1031.

[17] TIAN D, WEI X, ZHU H, et al. LncRNA-SNHG3 is an

[R]. Geneva: WHO, 2017: 2-20.

[2] MAITLAND K. Severe malaria in African children: the need for continuing investment[J]. N Engl J Med, 2016, 375(25): 2416-2417.

[3] 李国风. 312 例加蓬恶性疟疾的临床分析[J]. 天津医科大学学报, 1997, 3(2): 55-56.

[4] 姜国晶, 齐雪梅, 王仲言, 等. 弗朗斯维尔市气象因素与疟疾、高血压和脑卒中关系的初步探讨[J]. 天津医科大学学报, 2021, 27(3): 243-246.

[5] 张丽蓉, 潘雪峰, 钟德善, 等. 非洲赤道几内亚儿童疟疾感染实验室检测及临床诊治分析[J]. 中国热带医学, 2016, 16(2): 155-158.

[6] 江莉, 王真瑜, 张耀光, 等. 3 种疟疾检测方法的应用分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2017, 35(1): 53-58.

[7] 唐凤, 唐建霞, 陆风, 等. 万孚疟原虫检测试剂盒检测卵形疟原虫效果评价及影响因素分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2016, 28(2): 146-150.

[8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 疟疾的诊断: WS 259-2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.

[9] World Health Organization. From 30 million cases to zero: China is certified malaria-free by WHO [EB/OL]. (2021-06-30) [2021-07-06]. <https://www.who.int/news/item/30-06-2021-from-30-million-cases-to-zero-china-is-certified-malaria-free-by-who>.

[10] 陈远东, 屈志强, 李萍. 全球疟疾流行现状及我国输入性疟疾疫情[J]. 医学动物防制, 2017, 33(1): 51-54.

[11] 孙凌聪, 吴冬妮, 张华勋, 等. 湖北省首例输入性疟疾混合感染的实验室诊断分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2017, 28(2): 131-133.

[12] 郑剑锋, 林祖锐, 赵晓涛. 疟疾快速免疫诊断试剂在我国的应用[J]. 中国热带医学, 2014, 14(2): 246-249.

[13] MALTHA J, GILLET P, JACOBS J. Malaria rapid diagnostic tests in endemic settings[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(5): 399-407.

[14] 张欣, 苏新霞. 镜检法和胶体金法在疟原虫检测中的应用评估[J]. 河南预防医学杂志, 2018, 29(2): 94-95.

(收稿日期: 2021-07-09 修回日期: 2021-11-09)

independent prognostic biomarker of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(7): 2706-2712.

[18] ZHANG X, ZHENG W, JIANG W, et al. Long non-coding RNA SNHG3 accelerates progression in glioma by modulating miR-384/HDGF axis [J]. Open Life Sci, 2020, 15(1): 654-664.

(收稿日期: 2021-06-15 修回日期: 2021-11-22)