

# 新型B族链球菌胶体金免疫层析试纸条的临床应用评价\*

吴瑜霞<sup>1</sup>, 吴斌<sup>1</sup>, 潘秀华<sup>2</sup>, 汤永平<sup>2</sup>, 徐邦牢<sup>1</sup>

(1. 广州市第一人民医院检验科, 广州 510180; 2. 广州市微米生物科技有限公司, 广州 510663)

**摘要:**目的 探讨新型B族链球菌(GBS)胶体金免疫层析试纸条的临床检测效果。方法 选取202份女性的阴道或宫颈棉拭子标本, 采用新型检测试剂与对照试剂作对比, 进行临床应用评价。结果 新型试剂最低检出浓度为 $10^5$  CFU/ml, 5~8 min内即可观察结果; 与对照试剂相比, 考核试剂灵敏度更好, 显色时间更短; 检测的202份临床标本中, 与对照试剂相比, 197例样本检测结果一致, 其余5例样本检测结果不符, 阳性符合率达97.5%, 阴性符合率达97.54%, 总符合率为97.52%, Kappa值0.948, 一致性分析表明新型试剂与对照试剂具有很好的一致性。结论 该新型试剂能有效的辅助诊断B族链球菌感染, 具有较高的临床应用价值。

**关键词:** B族链球菌; 胶体金免疫层析; 试纸; 临床应用

中图分类号: R378.12; Q503 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)04-053-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.04.014

## Clinical Application of Novel Colloidal Gold Immunochromatographic Test Strip for Group B *Streptococci*

WU Yu-xia<sup>1</sup>, WU Bin<sup>1</sup>, PAN Xiu-hua<sup>2</sup>, TANG Yong-ping<sup>2</sup>, XU Bang-lao<sup>1</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou First People's Hospital, Guangzhou 510180, China; 2. Guangzhou Weimi Biotechnology Co., Ltd, Guangzhou 510663, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of a novel colloidal gold immunochromatographic test strip for detection of group B *streptococci* (GBS). **Methods** A total of 202 cases of swab of vagina or neck of uterus were collected, and they were detected by novel strip and control strip to evaluate their clinical applications. **Results** Sensitivity of novel strip was about  $10^5$  CFU/ml and the detection time was about 5 to 8 minutes, and it showed better sensitivity and shorter detection time compared with control strip. In the 202 cases of clinical samples, the detection results of 197 cases were in consistent with the control strip, however, the detection results of 5 cases were not in consistent. The positive coincidence rate and negative coincidence rate were 97.5% and 97.54% respectively, and the total coincidence rate and Kappa value were 97.52% and 0.948 respectively. The consistency test showed no significant difference between this strip and control strip. **Conclusion** This method was a effective technology for diagnosing of infection caused by GBS, and had high value in clinical application.

**Keywords:** group B *streptococci*; colloidal gold immunochromatographic assay; test strip; clinical application

B族链球菌(group B *streptococci*, GBS)又名无乳链球菌, 是一种革兰阳性球菌, 成对或链状排列, 因其细胞壁C多糖物质含Lancefield B群抗原而得名。根据GBS表面荚膜多糖(capsular polysaccharides, CPS)的不同, 可将GBS分为10种不同的血清型: Ia, Ib, II~IX<sup>[1]</sup>。GBS常寄生在健康妇女的阴道中, 孕妇GBS感染常导致早产、胎膜早破、产褥感染, 新生儿GBS感染常导致败血症、脑膜炎和肺炎等的发生, 20世纪70年代起, 欧美国家将GBS列为围产期感染的主要致病菌<sup>[2]</sup>。基于GBS感染引起孕妇和新生儿疾病的严峻性, 产前筛查GBS显得更为重要。目前, GBS的检测方法有多种, 包括微生物学诊断、细菌抗原检测、特异性

抗体检测等手段。但大量应用于临床的快速、准确、特异性高、成本低的检测方式较少。本研究旨在采用一种新型GBS胶体金免疫层析试纸条对GBS进行快速检测, 并将其与临床使用的同类试剂在检测效果上作对比, 为该试剂在今后临床的大量使用提供依据。

### 1 材料与方法

1.1 标本来源 选取2014年2月~4月在广州市妇女儿童医疗中心和南华大学附属第一医院就诊的女性阴道或宫颈棉拭子标本, 年龄不限。采样时用拭子置入女性阴道或者宫颈, 轻轻旋转几次, 取出观察即可。标本采集的同时立即编码, 并分别用待考核试剂和对照试剂同时检测。待考核试剂

\* 基金项目: 广东省科技计划项目(2012B040304015), 广州市科技攻关计划项目(2010U1-E00681)。

作者简介: 吴瑜霞(1970—), 女, 大学本科, 从事医学检验工作, E-mail: christine\_wu2003@163.com。

通讯作者: 徐邦牢, 男, 主任技师, 博士研究生导师, Tel: 020-81048082, E-mail: banglaoxu@163.com。

盒检测前设盲,待试验完全结束后揭盲。

1.2 试剂 考核试剂为广州市微米生物科技有限公司研制开发的“B族链球菌快速检测试剂(免疫层析法)”,生产批号为201401;对照试剂为珠海华澳生物科技有限公司生产的“B族链球菌鉴定卡(胶体金法)”,生产批号为20131205,批准文号为粤食药监械(准)字2012第2400077号。

### 1.3 方法

1.3.1 胶体金免疫层析法的技术原理:B族链球菌(GBS)检测试剂采用固相免疫层析分析技术,样品中的待检物在反应区与标记有胶体金的抗B族链球菌抗体结合形成免疫复合物,并随着样品层析至测试区,与已预包被的另一个抗B族链球菌抗体的膜并与之反应形成免疫三明治免疫复合体形成检测线,在一定范围内,检测线颜色的深浅与样品中的B族链球菌含量呈正比例关系。

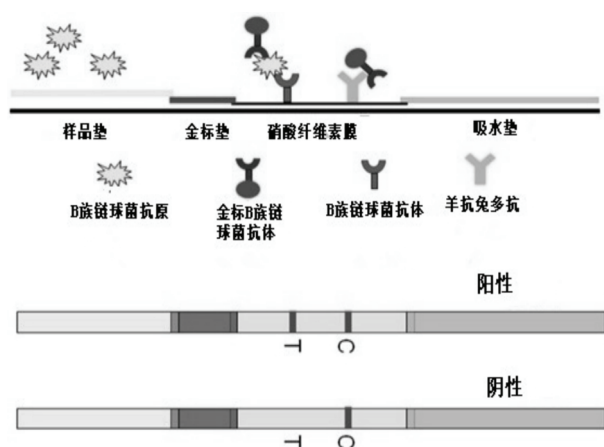


图1 胶体金免疫层析法的技术原理

1.3.2 特异度检测:将购买的 ATCC A 族链球菌、D 族链球菌与白色念珠菌复苏,增菌培养。麦氏比浊法与平板计数结合,测定细菌的数量。均用 PBS 稀释至浓度为  $10^9$  CFU/ml,分别取  $100 \mu\text{l}$  加入  $900 \mu\text{l}$  抽提液,实际菌体浓度均为  $10^8$  CFU/ml,反应 5~10 min 后,检测其对试纸条有无交叉反应。

1.3.3 灵敏度检测:将购买的 ATCC B 族链球菌复苏,增菌培养。麦氏比浊法与平板计数结合,测定细菌的数量。用 PBS 稀释至浓度为  $0, 10^5, 10^6, 10^7$  和  $10^8$  CFU/ml,分别取  $100 \mu\text{l}$  加入  $900 \mu\text{l}$  抽提液,实际菌体浓度相应为  $0, 10^4, 10^5, 10^6$  和  $10^7$  CFU/ml,反应 5~10 min 后,检测其最低检出限。

1.3.4 准确度检测:将3份确证为GBS阳性的临床标本,增菌培养,麦氏比浊法与平板计数结合,测定细菌的数量。用 PBS 稀释至浓度为  $10^8$  CFU/ml,分别取  $100 \mu\text{l}$  加入  $900 \mu\text{l}$  抽提液,反应 5~10

min 后,检测其准确度。

1.3.5 临床样本检测:对所收集的 202 份临床样品用考核试剂和对照试剂进行检测,比较两者检测结果。绘制四格表(表1),根据以下公式计算阳性符合率、阴性符合率、总符合率、约登指数、Kappa 值等指标,同时对不符标本应用传统的细菌分离培养方法进行复核。

表1 诊断试验符合性的资料归纳表

试 验		对照试剂		合 计
		阳性	阴性	
考核	阳性	A(真阳性)	B(假阳性)	A+B
试剂	阴性	C(假阴性)	D(真阴性)	C+D
合 计		A+C	B+D	A+B+C+D

计算公式:阳性符合率 =  $A/(A+C) \times 100\%$ , 阴性符合率 =  $D/(B+D) \times 100\%$ , 总符合率 =  $(A+D)/(A+B+C+D) \times 100\%$ , 约登指数 =  $A/(A+C) + D/(B+D) - 1$ ,  $Kappa = 2(AD-BC)/[(A+B)(B+D) + (A+C)(C+D)]$ 。

## 2 结果

2.1 临床样本检测 检测临床标本 202 例(见表2),其中考核试剂有 197 例样本检测结果与对照试剂一致,其余 5 例样本检测结果不符,通过计算得出阳性符合率达 97.5%,阴性符合率达 97.54%,总符合率为 97.52%,约登指数为 0.950 4, kappa 值为 0.948。其中约登指数值的范围为 0~1,值越大,其真实性越好;kappa 值范围在 0~1 之间,可分为五组来表示不同程度的一致性:0.0~0.20 极低的一致性,0.21~0.40 一般的一致性,0.41~0.60 中等的一致性,0.61~0.80 高度的一致性和 0.81~1 几乎完全一致。一致性分析结果表明新型试剂与对照试剂具有很好的一致性。

表2 考核试剂与对照试剂试验汇总表

试 验		对照试剂		合 计
		阳性	阴性	
考核	阳性	78	3	81
试剂	阴性	2	119	121
合 计		80	122	202

2.2 两种试剂临床检测对比 见表3。通过对两种试剂的临床检测结果对比发现,考核试剂在灵敏度和显色时间上具有更好的效果。两种试剂的特异性和准确度均较高,重复性和稳定性也较好,因而,考核试剂和对照试剂相比,临床检测效果相当甚至更好。

3 讨论 B 族链球菌(GBS)是一种条件致病菌,在健康人的肠道和生殖道带菌率可达 50% 以上<sup>[3]</sup>。近年来,尽管新生儿 GBS 疾病的发生率在下降,但在西方国家,GBS 感染仍然是新生儿感染

的主要原因。以往有学者认为我国妇女 GBS 带菌率低于欧美国家,GBS 并非新生儿感染的主要病原,但近年来,大量流行病学统计资料显示 GBS 是我国新生儿早发感染的重要病原菌之一<sup>[4,5]</sup>。因此对孕妇进行 GBS 筛查对于疾病的预防具有重要意义。

表 3 考核试剂与对照试剂比较结果

对比项目	考核试剂	对照试剂
灵敏度	10 <sup>5</sup> CFU/ml,显色较深	10 <sup>5</sup> CFU/ml,显色较浅
重复性	平行测定显色均一	平行测定显色基本一致
稳定性	好,4~30℃,12个月	好,4~30℃,12个月
显色时间	5~8 min	8~12 min
特异性(%)	100	100
准确度(%)	100	100

细菌学检查是诊断 GBS 感染的基本手段,血液、脑脊液、关节腔等无菌部位或感染病灶抽取体液中培养分离出 GBS 是诊断 GBS 感染的“金标准”<sup>[5]</sup>。但该方法耗时较长,操作复杂,限制了其在临床中的应用。某些分子生物学方法如斑点印迹法<sup>[6]</sup>、全细胞荧光原位杂交法<sup>[7]</sup>、常规 PCR<sup>[8]</sup>和 DNA 芯片<sup>[9]</sup>等,与血清学检测相比,对 GBS 的检测更加灵敏和特异,但由于其对仪器设备和操作人员要求较高,目前均未能应用于临床。

近年来由于免疫技术的飞速发展,免疫金标记技术得到广泛应用。由于胶体金的颜色可直接用肉眼观察,给操作者带来极大的方便<sup>[10]</sup>。有实验结果表明,胶体金检测的敏感度正逐步接近和达到 ELISA 的水平<sup>[11]</sup>。本研究所使用的能适用于现场快速检测的双抗体夹心胶体金免疫层析试纸条,能在 5~8 min 内检测病人阴道或宫颈 GBS,最低检出限为 10<sup>5</sup> CFU/ml。该考核试剂灵敏度高,特异度好,操作简便快速,不需要其它设备和试剂。目前,在国内批准上市的进口和国产同类的 GBS 体外诊断试剂仅有 1 种。通过和已上市的同类试剂对 GBS 的检测效果进行对比发现,本考核试剂在灵敏度及显色时间上效果更好,提示该试剂对于孕妇 GBS 的早期诊断具有重要应用价值,对于女性妇科炎症的治疗、保障孕妇围产期安全、降低新生儿的 GBS 感染率有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] Baker CJ. Group B streptococcal infections[M]. Stevens DL, Kaplan EL, editors. Streptococcal infections New York Oxford University Press, 2000:222-237.
- [2] Emonet S, Schrenzel J, Martinez de Tejada B. Molecular-based screening for perinatal group B Streptococcal infection: implications for prevention and therapy

[J]. Mol Diagn Ther, 2013, 17(6):355-361.

- [3] Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M, et al. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(1):83-89.
- [4] 陈慧慧, 范建霞. 围产期 B 族溶血性链球菌感染的研究新进展[J]. 中国妇幼健康研究, 2009, 20(3):343-345.  
Chen HH, Fan JX. Progress in study on Group B *Streptococcus* infection in perinatal period[J]. Chinese Journal of Woman and Child Health Research, 2009, 20(3):343-345.
- [5] 王爱华. B 群链球菌与疫苗预防[J]. 中国实用儿科临床杂志, 2013, 28(20):1527-1529.  
Wang AH. Group B *Streptococcus* and vaccine prevention[J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2013, 28(20):1527-1529.
- [6] Mavengwa RT, Maeland JA, Moyo SR. Distinctive features of surface-anchored proteins of *Streptococcus agalactiae* strains from Zimbabwe revealed by PCR and dot blotting[J]. Clin Vaccine Immunol, 2008, 15(9):1420-1424.
- [7] Montague NS, Cleary TJ, Martinez OV, et al. Detection of group B *Streptococci* in Lim broth by use of group B *Streptococcus* peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization and selective and nonselective agars[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(10):3470-3472.
- [8] Rallu F, Barriga P, Scrivo C, et al. Sensitivities of antigen detection and PCR assays greatly increased compared to that of the standard culture method for screening for group B *Streptococcus* carriage in pregnant women[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(3):725-728.
- [9] Wen L, Wang Q, Li Y, et al. Use of a serotype-specific DNA microarray for identification of group B *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*) [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(4):1447-1452.
- [10] 张付贤, 王兴龙. 免疫胶体金技术影响因素分析[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(5):199-202.  
Zhang FX, Wang XL. Analysis of the affecting factors of immune colloidal gold technique [J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2009, 36(5):199-202.
- [11] 汪琳, 周琦, 赖平安, 等. 免疫胶体金技术及其在检验检疫中的应用[J]. 检验检疫科学, 2004, 14(4):56-58.  
Wang L, Zhou Q, Lai PA, et al. Colloidal gold immunochromatographic assay and its application in [J]. Inspection and Quarantine Science, 2004, 14(4):56-58.

收稿日期:2015-04-02

修回日期:2015-05-30