

间接免疫荧光法检测咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原的诊断价值

张淑芹 赵文静 王莹 刘薇 叶冬霞

【摘要】 目的 探讨间接免疫荧光法(IFA)检测咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原对儿童麻疹病毒(MV)感染的诊断价值。**方法** 对68例怀疑为麻疹的患儿进行咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原检测,分析其阳性检出率,并对部分患儿进行短期随访,分析IFA方法的临床应用价值。**结果** 68例患儿中有62例诊断为麻疹,咽拭子、尿残渣麻疹病毒抗原的阳性检出率分别为91.9%(57/62)和96.8%(60/62),差异无统计学意义($\chi^2 = 1.363, P > 0.05$);62例麻疹患者中有45例诊断为典型麻疹,咽拭子、尿残渣麻疹病毒抗原的阳性检出率分别为95.6%(43/45)和97.8%(44/45),差异无统计学意义($\chi^2 = 0.345, P > 0.05$);17例诊断为非典型麻疹,咽拭子、尿残渣麻疹病毒抗原的阳性检出率分别为82.4%(14/17)和94.1%(16/17),差异无统计学意义($\chi^2 = 1.133, P > 0.05$);6例诊断为其他出疹性疾病。**结论** IFA法检测咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原是一种早期、快速、敏感的实验方法。

【关键词】 麻疹病毒;间接荧光免疫测定

Diagnostic value of indirect immunofluorescence assay of measles virus antigen in throat swab and urine residue ZHANG Shu-qin, ZHAO Wen-jing, WANG Ying, LIU Wei, YE Dong-xia. Institute of Research, Hepatobiliary Diseases Hospital, Jilin Province, Changchun 130062, China

Corresponding author: ZHANG Shu-qin, Email: xingyuewj2@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To evaluate the diagnostic value on measles virus (MV) from throat swab and urine residue in children measles cases by indirect immunofluorescence assay (IFA). **Methods** Total of 68 suspected children measles cases were detected for MV antigen from throat swab and urine residue. The positive rate of two kinds of sample were analyzed and some patients were followed-up for short period. **Results** Total of 62 patients were diagnosed as measles. The positive rates of MV antigen detection in throat swabs and urine residue were 91.9% (57/62) and 96.8% (60/62), respectively, the differences were not statistically significant ($\chi^2 = 1.363$,

$P > 0.05$)。All of 45 patients were diagnosed as typical measles, the MV antigen detection positive rates of throat swabs and urine residue were 95.6% (43/45) and 97.8% (44/45), respectively, the differences were not statistically significant ($\chi^2 = 0.345$, $P > 0.05$); There were 17 patients diagnosed as atypical measles, whose MV antigen detection positive rates of throat swabs and urine residue were 82.4% (14/17) and 94.1% (16/17), respectively, the differences were not statistically significant ($\chi^2 = 1.133$, $P > 0.05$)。 **Conclusions** The detection of MV antigen from throat swab and urine residue by IFA is a rapid and sensitive method.

【Key words】 Measles virus; Indirect immunofluorescence assay (IFA)

麻疹是由麻疹病毒(measles virus, MV)引起的急性传染病,多发于儿童尤其是婴幼儿。近几年我国儿童麻疹的发病率仍然较高,由于麻疹的临床表现与其他呼吸道感染非常相近,接种过疫苗或使用过其他免疫增强剂后感染麻疹病毒的不典型病例占较大比例,早期诊断、早期隔离尤为重要,因此必须提高实验室的诊断技术^[1-4]。传统的间接麻疹 IgM 抗体的血清学检查存在较多的假阴性^[5]。为提高阳性率,本研究采用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay, IFA)检测患儿咽拭子、尿残渣麻疹病毒抗原,现报告如下。

资料和方法

一、研究对象

病例来源于2006年1月至6月本院感染科收治的具有发热、咳嗽、皮疹等表现,临床怀疑为麻疹的患儿共68例,其中男42例,女26例;年龄6个月~13岁,其中6~12个月患儿10例,12个月~2岁患儿12例,2~6岁患儿18例,6~8岁患儿17例,8~13岁患儿12例。均在入院后第2天开始采集尿液标本,采集咽拭子于存有2 ml 生理盐水的无菌试管内0.5 h内送检;麻疹病毒单克隆抗体、硫氰酸荧光素(FITC)标记的抗-IgG均购自DAKO公司。

二、细胞涂片制备

患者尿液标本1500 r/min 离心10 min,弃上清液,沉淀物用磷酸盐缓冲液(PBS:pH 7.2, 0.01 mmol/L)8~10 ml 洗涤2次,再用少量PBS调成悬液呈云雾状、制片,空气中干燥后用冷丙酮固定10 min。

咽拭子标本先用旋涡混合器打散黏液,细胞涂片制备方法同上。

三、间接免疫荧光法检测病毒抗原

取出已固定的尿残渣、咽拭子细胞涂片,PBS冲洗2次,甩去多余的PBS;滴加麻疹病毒单克隆抗体(用PBS 1:200稀释),于37℃湿盒孵育30 min;用PBS洗涤2次,甩去多余的PBS,加入FITC标记的抗-IgG(二抗),于37℃湿盒孵育30 min;用PBS洗涤3次,蒸馏水再洗涤1次,甩去多余的蒸馏水后用封片剂封片(具体过程按试剂说明书操作),荧光显微镜下观察。检测结果判断:以见到 ≥ 2 个完整细胞内有明亮的黄绿色荧光为阳性,否则为阴性。

四、统计学处理

计数资料以率描述,尿残渣和咽拭子标本麻疹病毒抗原阳性检出率比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、临床诊断和麻疹病毒抗原检测结果

根据《实用内科学》诊断标准^[6],麻疹患者临床症状主要为发热、咳嗽、流涕、眼结膜充血、气促,一般在发热后3~4 d可见皮肤斑丘疹、麻疹黏膜斑等临床表现;肺部听诊有较固定的中、细湿罗音;X线胸片示两肺纹理增粗、紊乱、有斑点、斑片状阴影。本实验68例患者中有62例诊断为麻疹。其中,45例诊断为典型麻疹,17例诊断为不典型麻疹,6例诊断为其他出疹性疾病。IFA检测结果表明62例麻疹患儿中咽拭子标本麻疹病毒抗原阳性57例,尿残渣标本麻疹病毒抗原阳性60例,6例非麻疹患者咽拭子、尿残渣标本麻疹病毒抗原均为阴性,实验结果表明IFA法检测麻疹病毒抗原具有较高的特异性。

二、咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原检测结果比较

本实验观察62例麻疹患儿中,咽拭子、尿残渣麻疹病毒抗原的阳性检出率分别为91.9% (57/62) 和96.8% (60/62),咽拭子和尿残渣的阳性一致(即该患者咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原检测同时阳性)率为86.7% (52/60)。尿残渣标本麻疹病毒抗原检出阳性率略高于咽拭子标本,差异无统计学意义($\chi^2 = 1.363$, $P > 0.05$)。

62例麻疹患儿中典型麻疹45例,咽拭子、尿残渣标本麻疹病毒抗原的阳性检出率分别为95.6% (43/45) 和97.8% (44/45),差异无统计学意义($\chi^2 = 0.345$, $P > 0.05$);非典型麻疹17例,咽拭子、尿残渣麻疹病毒抗原的阳性检出率别分为82.4% (14/17) 和94.1% (16/17),差异无统计学意义($\chi^2 = 1.133$, $P > 0.05$),见表1。

表1 咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原检测结果(例)

标本类型	麻疹患者				非麻疹患者	
	典型		不典型			
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
咽拭子	43	2	14	3	0	6
尿残渣	44	1	16	1	0	6

讨 论

麻疹是由麻疹病毒引起的一种急性全身出疹性呼吸道传染病,主要症状有发热、上呼吸道炎症、眼结膜炎等,以皮肤出现红色的斑丘疹和颊黏膜上有麻疹黏膜斑为特征。自1965年普遍接种麻疹疫苗以来,已控制了麻疹流行,麻疹的发病率和病死率明显下降,尤其是儿童发病率在城市很少见。但近年来成人麻疹发病率

呈上升趋势,各地麻疹暴发流行的报道相继增多^[7]。

麻疹是我国法定的乙类传染病之一,具有很强的传染性,人群普遍易感,多发于儿童尤其是婴幼儿,目前我国儿童麻疹的发病率仍然较高,典型病例可根据临床表现结合流行病学做出诊断^[8,9]。由于麻疹的临床表现与其他呼吸道感染非常相近,接种过疫苗或使用过其他免疫增强剂后感染麻疹病毒的不典型病例占较大的比例,这些均给麻疹的诊断带来一定困难,也在一定程度上影响了麻疹治疗和防疫工作的及时性,故麻疹的早期诊断、早期隔离尤为重要。麻疹病毒感染最常见、最明显的病理特征是多核巨噬细胞的形成,麻疹病毒巨细胞可在呼吸道分泌物、尿液和黏膜表面如喉部、鼻腔,尿液、颊黏膜和结膜中找到,其出现的时间以出疹前2 d至出疹后1 d最为多见,此时采集上述各部位标本进行检测,有助于临床对麻疹病毒感染做出早期诊断^[10-12]。

IFA法以荧光素标记抗球蛋白,抗体与相应抗原结合后,荧光标记的抗球蛋白与已结合的抗体作用,从而推知抗原或抗体的存在,间接荧光技术可以用已知的抗原检测未知的抗体,也可用已知的抗体测未知抗原。IFA法检测咽拭子或尿残渣麻疹病毒抗原是一种特异性较高的实验室诊断方法。本研究采用IFA方法检测麻疹患者咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原,结果显示咽拭子麻疹病毒抗原的阳性率为91.9%,尿残渣麻疹抗原的阳性率为96.8%,与文献报道基本相符^[13-15];不典型麻疹患者咽拭子、尿残渣麻疹病毒抗原检出率分别为82.4%和94.1%,表明咽拭子和尿残渣标本麻疹病毒抗原检测对不典型麻疹的早期诊断有重要价值。咽拭子和尿残渣标本采集过程操作简单,有一定专业技能的医务人员都能完成,但必须保证脱落细胞的数量和质量。另外,本实验分析比较了麻疹患者咽拭子和尿残渣标本麻疹病毒抗原检出阳性率,结果显示尿残渣标本的阳性检出率略高,但差异无统计学意义,笔者认为尿液标本取材方便且容易,采用尿残渣标本检测麻疹病毒抗原较为理想。

综上所述,本研究初步比较了咽拭子和尿残渣两种标本在麻疹患者、非麻疹患者、典型麻疹、非典型麻疹患者的阳性检出率,实验结果表明IFA法检测咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原是一种较为理想的实验室检测方法,对麻疹诊断和鉴别诊断具有重要参考价值。同时本研究还发现部分患者在出疹后7 d,咽拭子和尿残渣标本麻疹病毒抗原检测结果仍为阳性,说明麻疹病毒可在咽部及尿液中存在较长时间,是否有并发症的影响或应适当延长传统的隔离期(5 d),由于本研究病例数有限,尚待进一步积累更多资料进行深入研究。

参 考 文 献

- 1 李平,司源,武继守,等. 陕西省麻疹野病毒的分离及基因分型. 中国计划免疫,2005,11(3):184-186.
- 2 司源,李平,侯铁军,等. 西安市麻疹野病毒核蛋白基因序列分析. 第四军医大学学报,2006,27(21):1953-1955.
- 3 罗小铭,张晋昕. 全球麻疹消除的意义与发展现状. 医学综述,2008,14(1):119-121.
- 4 陆亭屹,徐萍. 麻疹、风疹血清流行病学特征对比. 中国保健,2008,16(3):117-118.
- 5 许文波,朱贞,蒋小泓,等. 中国麻疹实验室网络的建立及运转. 中国计划免疫,2006,12(1):60-61.

- 6 刘湘云. 麻疹//陈灏珠主编. 实用内科学. 第11版. 北京:人民卫生出版社,2007:364-369.
- 7 陈小华,许洁,臧国庆. 成人麻疹112例流行病学和临床特征. 中华传染病杂志,2006,24(3):183-185.
- 8 杨智宏,王晓红,朱启镛. 上海地区2005年儿童麻疹临床流行病学特征分析. 中华传染病杂志,2007,25(1):25-28.
- 9 刘克洲主编. 人类病毒性疾病. 北京:人民卫生出版社,2002:667-677.
- 10 姜明,杰甘云,梁勇,等. 荧光定量-聚合酶链反应法快速检测麻疹病毒核酸. 中国卫生检验杂志,2007,17(4):220-221.
- 11 郭向东. 成人麻疹伴腹泻18例临床分析. 新疆医科大学学报,2009,32(2):135-142.
- 12 朱菊珍. 以腹泻为主要表现的成人麻疹21例. 中华传染病杂志,2005,23(2):140-141.
- 13 梁晓,岳向华,周加新. 224例成人麻疹临床分析. 中华实验和病毒学杂志,2005,19(1):99.
- 14 刘刚袁,正宏,谢德胜,等. 上海地区成人麻疹170例. 中华传染病杂志,2006,24(6):415-417.
- 15 俞洁行,吕铁峰. 118例麻疹流行特征和临床特点分析. 浙江医学,2008,30(5):505-506.

(收稿日期:2010-04-11)

(本文编辑:孙荣华)

张淑芹,赵文静,王莹,等. 间接免疫荧光法检测咽拭子和尿残渣麻疹病毒抗原的诊断价值[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2010,4(4):390-394.