

应用VIDAS免疫分析系统检测血清 抗伯氏包柔螺旋体抗体

关淑珍 尹国才 韩善桥 化冰 刘群英

摘要 莱姆病(Lyme disease)是最近十年来才被认识的一种蜱媒传染性流行病。Lyme病的血清学诊断方法有间接荧光免疫法(IFA),酶免疫试验(EIA),免疫印迹法(WB)。梅里埃生物公司(Biomerieux)推出VIDAS免疫诊断系统能够自动定性和半定量地检查Lyme病的抗伯氏包柔螺旋体抗体(抗BB抗体)。本法结合了酶和荧光免疫两种方法。硷性磷酸酶标记二抗的底物是4methylumbellifery phosphate,底物在硷性磷酸酶的催化下转变成4-methylumbelliferon,该产物在365nm光激发下可发出455nm的荧光,光强度被VIDAS中的光扫描器测定出来。我们用VIDAS检测了体检标本83例,阳性8份(9.6%);检测临床为结核病的标本20份,无一例阳性;临床诊断为结节病或可疑结节病标本46份,阳性4份(8.7%);各种眼科疾病57份,阳性13份(22.8%);口唇疾病15份,阳性4份(26.7%);其他标本17份,阳性2份(11.8%);检测了军事医学科学院(军科院)微生物流行病学研究所采自新疆、黑龙江省可疑Lyme病病人的标本16份,检出阳性12份(75.0%)。

笔者用VIDAS系统和IFA方法比较了165份标本,VIDAS检出阳性24份(14.5%),IFA法检出131份(79.4%),两法一致性为32.7%。

关键词 莱姆病(Lyme病) 抗BB抗体 VIDAS系统 IFA

莱姆病(Lyme病)是由伯氏包柔螺旋体(BB)引起的人畜共患疾病。我国1986年在黑龙江省首次发现并报告了此病^[1]。1991年在北京市、河北省病人血中分离出5株伯氏包柔螺旋体^[2]。化冰等^[3]1991年报告了33例结节病病人血清抗BB抗体阳性率为81.8%,并有一例病人血培养BB阳性。刘嵩年等^[4]1991年首次报告了6例眼Lyme病,由于Lyme病流行广,造成人体多系统损害,因而被人们重视。

Lyme病的病原诊断比较困难,由于临床表现多种多样,与许多疾病不易鉴别。Lyme病的实验室诊断最常用的是血清学方法。主要用间接荧光染色法(IFA),酶免疫分析法(EIA),免疫印迹法(WB)。梅里埃(Biomerieux)公司近几年推出的VIDAS免疫诊断试验系统是一种全自动荧光酶标免疫实验系统(EIEA),用于定性和半定量检测

抗BB抗体IgM+IgG。我们用VIDAS系统对我院1992年以来结节病、眼科疾病、口腔科疾病等标本做了抗BB抗体检测,并与常规方法做了比较,现将结果报告如下。

材料和方法

一、材料:

① 抗原: B₃₁标准菌株来源于美国耶鲁医学院。

由本院中心实验科培养并制成抗原片。

② 羊抗人IgM和IgG荧光抗体由军科院微生物流行病学研究所提供。

③ VIDAS免疫诊断实验系统上的试剂批号为930301-1, 930412-0, 930412-1。

二、仪器:

① Olympus荧光显微镜,日本生产。

② VIDAS免疫诊断实验系统系法国

Biomerieux产品1992年引进。所用电脑软件为3DSPIN₁-R₀.6.1。

三、方法:

① IFA方法: 参照文献[3]。

② VIDAS试验程序及原理: 将BB抗原包被在一个样品吸头样的固相(SPR)内壁上, SPR即是固相载体, 又可做为吸头, 具有双重作用。在预冲洗和待检样品稀释后, 样品在SPR内反复吐吸一定时间。存在于样品中的抗BB抗体(IgM+IgG)就与包埋在SPR壁上的BB抗原结合, 洗掉未结合的血清成分。硷性磷酸酶标记的鼠抗人IgG和羊抗人IgM导入SPR中, 并在SPR内反复吐吸。反应一定时间后再吸入底物—4-methylumbellifery phosphate, SPR内壁上特异性结合的酶, 催化底物并转变成4-methylumbelliferone, 该产物经365nm光激发, 可发出455nm的荧光, 光强度能被VIDAS中的光扫描器测定出来。整个程序在VIDAS中的电脑控制下自动完成, 并自动计算打印结果。仪器的第一读数为背景读数, 第二读数为测定读数, 第二读数减去第一读数的荧光值即为实验结果的相对荧光值(RFV), 每个样品的RFV减去标准RFV即为最后的实验值。每批实验有阳性、阴性质控血清。930301-1, 930412-0, 930412-1试剂盒中阳性质控RFV>325, 阴性质控RFV是40~150。质控值不在范围内不能报结果。标准RFV是40~150, 试验值小于140为阴性, 140~160为可疑, 大于160为阳性。

结 果

一、VIDAS系统对各种血清标本检出抗BB抗体情况: 共检查各种标本254份, 抗BB抗体阳性43份(16.9%), 详见表1。

二、VIDAS系统与我院常规IFA方法检出率的比较: 用两种方法对比检查了165份标本, VIDAS检出阳性24份(14.5%), IFA检出阳性131份(79.4%), 两方法检出符合

表1 抗BB抗体的检出情况

疾 病	例数	检出抗BB 抗体阳性数	(%)
正常体检	83	8	(9.6)
结核病	20	0	(0.0)
结节病	46	4	(8.7)
眼科病	57	13	(22.8)
口唇疾病	15	4	(26.7)
其 他	17	2	(11.8)
临床可疑*	16	12	(75.0)
Lyme病			
合 计	254	43	(16.9)

* 军科院微生物流行病学研究所从新疆、黑龙江采集的可疑Lyme病标本

率仅为32.7%。详见表2。

表2 两种方法检测抗BB抗体的比较

疾 病	例数	VIDAS		IFA		符合率 %
		阳性数	%	阳性数	%	
结节病	46	4	8.7	44	95.7	13.0
眼科病	57	13	22.8	49	85.7	36.8
口唇病	15	4	26.7	15	100.0	26.7
结核病	20	0	0.0	9	45.0	55.0
其 他	17	2	11.8	12	70.6	33.3
体 检	10	1	10.0	2	20.0	70.0
合 计	165	24	14.5	131	79.4	32.7

讨 论

1. 用VIDAS系统检测了健康体检者, 临床诊断为结节病的病人、眼科疾病、口唇疾病、临床确诊为结核病的病人(标本由解放军309医院提供)及军科院从流行区采集的可疑Lyme病病人标本共254例, 共检出抗BB抗体阳性43份(16.9%)。除临床确诊为结核病的20份标本外, 其余每一组标本中均有阳性检出。说明Lyme病是一个侵犯多系统的疾病。

2. 我们检测了临床诊断为结节病的46份病人标本, 检出抗BB抗体阳性4例(8.7%)。这一结果与文献[3]报告相距甚大, 本试验结果

表明：认为伯氏包柔螺旋体是结节病病因的可能性需要探讨。

3. 眼科疾病中(57例)检出抗BB抗体阳性13例, 阳性率22.8%。其中色素膜炎3例, 角膜炎2例, 巩膜炎2例, 球后神经炎1例, 飞蚊症, 视网膜脱落, 右眼突出症, 视盘血管炎, 中央静脉阻塞各1例。说明Lyme病累及眼部病变广泛, 临床表现多样。口唇疾病抗BB抗体比例也较高(26.7%), 值得临床医生重视。

4. 正常体检83份病例中, 其中有73份是1993年某部师以上干部体检随机采取的标本, 抗BB抗体有7例阳性(9.6%), 而且RFV值都比较高(分别为935、585、304、201、288、443、166), 这些人没有Lyme病的临床表现, 但过去是否曾经与BB抗原接触过没有调查。另外体检的10份标本中有一例阳性系献血员标本, 提示血库工作者注意。

5. Lyme病病原分离比较困难, Lyme病的诊断主要靠病史、临床症状及血清学试验。血清学试验方法的非标准化及实验室内较大的变异使各实验室间结果相差较大。Luger等^[5]曾做过抗BB抗体血清学检验的敏感性及其重复性试验。将9份Lyme病人血清分别送到9个不同的参考实验室, 5个实验室用ELISA方法, 4个用IFA方法, 结果发现各实验室的阳性率相差甚大, ELISA方法阳性率范围44%~100%, IFA方法阳性率范围44%~89%, ELISA方法不比IFA更可靠。另外8个实验室做了同一份血清滴度之差的比较, 结果滴度相差4倍的有4个实验室(50%), 说明重复性差。Schwart等^[6]也报告了4个实验室对体检标本进行了抗BB抗体检查, 结果一致性很低。我们用VIDAS系统与我院常规IFA方法比较了165份标本。结果两种方法的一致性只有32.7%。鉴于抗BB抗体血清学检查方法缺乏标准化, 实验室间变异大, 早期检查的低敏感性, 以及存在与其他螺旋体病、自身免疫病、EBV、CMV等病的交叉反应, Hedberg等^[7]认为: 临床未

患Lyme病的血清试验阳性缺乏临床意义, 阴性结果也不能排除感染的可能性。因此血清学试验不能做为诊断Lyme病的唯一标准, 临床表现与病史可疑病人4~6周应再做试验。

6. VIDAS系统是将酶标法和荧光法结合起来设计的自动检测仪器。据Biomerieux公司报告, VIDAS系统与EIA方法比较相对敏感性77.1%, 相对特异性84.6%, 符合率81.3%。和IFA方法比较相对敏感性75.1%, 相对特异性91.0%, 符合率83.1%。我们用VIDAS系统检测确诊为结核病的标本20份, 无一例阳性; 检测军科院采自新疆等流行区可疑Lyme病标本16份, 阳性12份(75%), 可说明VIDAS系统有较好的敏感性及其特异性。

Detection of Anti-BB Antibodies in Human Sera by VIDAS System Guan Shuzhen, Yin Guocai, Han Shanqiao, et al. Department of Laboratory. Navy General Hospital. Beijing 100037

Lyme disease is an infectious disease just known in the latest decade. The sera of people from various origins were detected for Anti-BB antibodies (IgM+IgG) by VIDAS system. The results are as follows: Of 83 sera from the health-cared people, 8 were positive(9.6%); of 20 sera from the patients clinical diagnosed as tuberculosis, none was positive; of 46 sera from the patients clinical diagnosed or suspected as node diseases, 4 were positive(8.7%); of 57 sera from the patients with various ophthalmologic diseases, 13 were positive(22.8%); of 15 sera from the patients with stomatologic diseases, 4 were positive(26.7%); of 17 sera from the patients with various diseases including dermo-myositis, liver and spleen swelling, undefined febrile diseases; lung cancer, lung shadow, etc.), 2 were positive(11.8%); of 16 sera from the people highly suspected with lyme disease living in the epidemic areas of Xin Jiang and Hei Long Jiang provinces, 12 were positive (75%).

The same 165 sera samples were detected at the same time by VIDAS System and IFA, 24 were positive by VIDAS System(14.5%), and 131 positive by IFA(79%), the accordance rate was only 32.7%.

Key words Lyme disease Anti-BB antibodies VIDAS System IFA

参考文献

- 1 艾承绪, 温玉欣, 张永国, 等. 黑龙江省海林县林区莱姆病的流行病学调查. 中国公共卫生(基层版), 1987, 6: 82.
- 2 张薇芬, 冯方波, 渠战芬, 等. 北京地区及河北省病人血液中分出五株伯氏包柔螺旋体. 中华医学检验杂志, 1991, 14(2): 109.

- 3 化冰, 李庆棣. 伯氏包柔螺旋体感染可能是结节病的病因. 中华内科杂志, 1991, 30(10): 631.
- 4 刘蔼年, 刘海林, 化冰. 眼莱姆病一包柔螺旋体6例. 实用眼科杂志, 1991, 9(9): 491.
- 5 Luger SW, Krause E. Serologic test for lyme disease: Arch Inter Med, 1990, 150: 761.
- 6 Schwartz BS, Goldstein MD, Ribeiro JMC, et al. Antibody testing in lyme disease: A comparison of results in for laboratory. JAMA. 1989, 262: 3431.
- 7 Hedberg CW. Serologic tests for antibody to *borrelia bergdorferi*. Another Pandora's Box for Medicine? Arch Inter Med. 1990, 150: 732.
(收稿: 1993-10-06 修回: 1994-02-22)

耻阴虱二例报告

汤凌全 张小岚

阴虱病近年来国内时有报道。深圳市为新兴城市，建市前后数十年未见该病种报道，此两例纯属本市的首发报道。该病在本市的出现应引为关注，现报告如下。

病例1，患者陈某，男，31岁，未婚，深圳市爆炸危险物品服务中心民工。病前有不洁性交史。自述于1993年9月7日始外阴奇痒，曾自用高锰酸钾液洗患处数日未见好转，痒感日见加重，自查见阴毛处有“小虫”，于9月12日到本站寄生虫防治科求医。经查阴毛根部检获多个针尖大小虫体，镜检证实为耻阴虱成虫、若虫及虫卵。查其腋毛及衣服无发现虫体。嘱其剃去阴毛，用10%百部酒精浸液涂擦患处，每日3~5次，并用沸水烫洗衣裤及床上用品。三天痊愈，随访一周无复发。

病例2，患者叶某，女，19岁，未婚，深圳市某个体发廊洗头工。病前数日有不洁性交史。自述于1993年11月21日外阴痒感，曾自用酒精涂擦患处未见好转，经人介绍到某个体诊所求医，诊为“皮炎”改用“皮炎灵”药水擦患处数日仍无好转，于11月28日外阴奇痒加重，患处皮肤伴烧灼感而来就医。经查外阴皮肤多处抓痕，有丘疹样红色斑点及斑块，少量脓性渗出物，局部潮红糜烂。于阴毛间及根部检获多个

灰白色小虫体，镜检为耻阴虱成虫、若虫及虫卵。查其衣服未见虫体。嘱其剃去阴毛，用10%百部酒精浸液涂擦外阴，每天3~5次，皮肤糜烂处涂紫药水。烫洗内衣裤及床褥，一周痊愈，随访三天无复发。

两例患者均为外来流动人员，到本市做临工半年余，均为未婚青年，病前数日均有不洁性交史（经详细查问），病史基本类同。两病例均无同性共床史，据此可认为其发病为不洁性接触感染及传播所致。病例二因误诊延误治疗并皮肤感染。两例患者的居室卫生状况差，常5~6人同居一室(6.5m²)，人员混杂，洗、用具共用，衣物混放，极易引起传播。耻阴虱病的临床诊治不难，经镜检确诊后通过适当治疗可数日见效，而预防工作难度较大。深圳为沿海开放城市，内外交往日益巨增，大量流动人口涌入，给人口管理和防病工作带来困难，尤其是外来流动人口聚居地，如工地窝棚、出租屋等，居室环境差，民工文化素质低，卫生防病工作较难开展。本病的出现应引起有关部门的关注，须加强卫生宣教及道德教育，增强自我保护意识，改变不良行为是防制本病的重要措施。

(收稿: 1994-04-20 修回: 1994-06-03)

本文作者单位: 广东省深圳市防疫站 518020