

间接免疫荧光抗体试验在传染性非典型肺炎诊断中的应用

方立群 张泮河 杨宝安 吴晓明 赵秋敏 刘玮 刘洪 邓永强 詹琳
韩伟国 吕富双 吴劲松 杨红 祝庆余 曹务春

【摘要】 目的 评价应用间接免疫荧光抗体试验(IFA)在传染性非典型肺炎(严重急性呼吸综合征(SARS))诊断中的可靠性,探讨 SARS 患者发病后血清抗体在体内的产生规律。方法 采用 IFA 方法检测不同发病时间的临床确诊 SARS 病例、疑似病例和其他人群的血清 SARS 病毒抗体,同时对每一个研究对象采用调查表进行一般情况调查。结果 在发病 10 天内,SARS 患者血清 IgG 阳性率为 55.1%,IgM 阳性率为 16.3%;发病 10 天后 SARS 患者 IgG 阳性率达 89.8%,IgM 阳性率达 65.3%;发病 25 天以后 SARS 患者 IgG、IgM 阳性率均为 90.9%。对发病时间与抗体阳性率采用趋势 χ^2 检验,结果显示 SARS 患者血清 IgG、IgM 抗体阳性率随着发病时间而上升(IgG 趋势检验 $\chi^2 = 16.376, P = 0.000\ 05$; IgM 趋势检验 $\chi^2 = 28.736, P = 0.000\ 00$)。IFA 法用于检测 SARS 患者发病 10 天后血清抗体,结果显示灵敏度、特异度及与临床诊断的符合率均在 90% 以上。结论 IFA 法适于 SARS 发病 10 天后作为实验室辅助诊断方法。

【关键词】 严重急性呼吸综合征;免疫荧光抗体试验;抗体

The application of indirect immuno-fluorescence assay in the diagnosis of severe acute respiratory syndrome

FANG Li-qun, ZHANG Pan-he, YANG Bao-an, WU Xiao-ming, ZHAO Qiu-min, LIU Wei, LIU Hong, DENG Yong-qiang, ZHAN Lin, HAN Wei-guo, LU Fu-shuang, WU Jin-song, YANG Hong, ZHU Qing-yu, CAO Wu-chun. Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

【Abstract】 Objective To explore the temporal profile of serum antibody against coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome (SARS), and to evaluate the reliability of indirect immuno-fluorescence assay (IFA) in the diagnosis of SARS. **Methods** Clinically confirmed SARS patients, suspected SARS patients, and controls were included in the study. IFA was used to detect the serum antibody against SARS coronavirus. General information about the subjects was collected using a standard questionnaire. **Results** The positive rates of specific IgG and IgM against SARS virus within 10 days after onset of the disease were 55.1% and 16.3% respectively and then increased up to 89.8% for IgG and 65.3% for IgM. After 25 days of the onset of the disease, 90.9% patients became positive for both IgG and IgM. Results from chi-square for trend test revealed that the positive rates of both IgG and IgM increased with time (χ^2 for trend = 16.376, $P = 0.000\ 05$ for IgG; χ^2 for trend = 28.736, $P = 0.000\ 00$ for IgM). Sensitivity, specificity and agreement value of IFA regarding the diagnosis of SARS were all higher than 90%. **Conclusion** IFA can be used to assist diagnosis of SARS after 10 days of the onset of disease.

【Key words】 Severe acute respiratory syndrome; Immuno-fluorescence assay; Antibody

传染性非典型肺炎世界卫生组织命名为严重急性呼吸综合征(SARS),目前已有 30 多个国家和地区发现病例^[1-3]。为了评价间接免疫荧光抗体试验(IFA)在检测 SARS 患者血清抗体的可靠性,了解

SARS 患者血清抗体产生的规律,本项研究用 IFA 方法对北京市多家医院的 SARS 病例、疑似病例、其他病患者和正常人的血清 SARS 抗体进行了检测。从而为该方法应用于 SARS 的特异诊断提供依据和参考。

基金项目:国家重点发展计划“863”计划资助项目
(2003AA208406)

作者单位:100071 北京,军事医学科学院微生物流行病学研究所
通信作者:曹务春

材料与方法

1. 研究对象与样品收集:以解放军第三〇九医院、解放军第三〇七医院、北京协和医院、北京朝阳

医院、北京佑安医院、北京地坛医院、北京胸科医院入院的临床确诊 SARS 病例 169 例、疑似病例 45 例和其他疾病、医护人员和其他正常人群 413 人作为研究对象。SARS 临床确诊病例、疑似病例诊断标准采用国家卫生部《传染性非典型肺炎临床诊断标准(试行)》。对所有调查对象由医院医护人员填写流行病学调查表,同时静脉采血 5 ml,3 000 r/min 离心 3 min 后,分离血清待测。

2. 检测指标与试验方法^[4]:采用 IFA 检测血清抗 SARS 病毒 IgG 和 IgM 抗体(试剂盒由军事医学科学院微生物流行病研究所研制)。试验方法如下:待测血清 56℃ 30 min 灭活,每份血清标本用 0.005 mol/L、pH 7.2 的 PBS 分别稀释到 1:10 和 1:20 两个稀释度,每个稀释度各取 10 μl 分别滴加在抗原片的不同孔上。检测 IgG 抗体将玻片置湿盒中 37℃ 30 min,检测 IgM 抗体将玻片置湿盒中 37℃ 120 min。反应完成后将玻片取出,用自来水冲洗,晾干。用荧光抗体稀释液将异硫氰酸荧光素标记的荧光抗体进行 1:30 稀释,取 10 μl 分别滴加到抗原片的不同孔上。置玻片于湿盒中 37℃ 作用 30 min,反应后将玻片取出,用自来水冲洗,晾干。在荧光显微镜下观察染色结果,根据胞浆或胞膜部位有无特异性荧光染色来判断检测结果。

3. 统计学分析:数据的录入采用 EXCEL 2000 软件,数据分析采用 EPI info 2000 软件。

结 果

1. SARS 患者血清抗体产生规律:检测了发病 1~43 天的 148 例患者血清抗 SARS 病毒抗体,结果显示第一周患者血清抗体阳性率较低,一周后血清 IgG 抗体阳性率迅速上升,IgM 抗体阳性率上升稍缓,发病 10 天内 IgG 抗体阳性率为 55.1%,IgM 抗体阳性率为 16.3%;发病 10 天后 IgG 抗体阳性率达 89.8%,IgM 抗体阳性率达 65.3%;发病 15 天后 IgG 抗体阳性率为 87.8%,IgM 抗体阳性率为 66.2%;发病 25 天以后 SARS 患者 IgG、IgM 抗体阳性率达到一致,均为 90.9%。发病时间每 5 天为一个时段的抗体检出率结果见图 1。对发病时间与抗体阳性率采用趋势 χ^2 检验,结果显示 SARS 患者血清 IgG、IgM 抗体阳性率随着发病时间的增长而上升,其中 IgG 抗体的趋势检验 $\chi^2 = 16.376, P = 0.000\ 05$;IgM 抗体趋势检验 $\chi^2 = 28.736, P = 0.000\ 00$ 。两两比较各发病时间段抗体阳性率,显示发病时间 1~5 天组、6~

10 天组与 10 天以上各组之间的差异均有统计学意义,而 1~5 天组与 6~10 天组之间,10 天以上各组之间的差异均不显著。比较 SARS 患者发病后 1~10 天的抗体阳性率与 10 天以上的抗体阳性率,IgG 和 IgM 的差异均有显著性(IgG: $\chi^2 = 23.1, P = 0.001$; IgM: $\chi^2 = 31.4, P = 0.001$),提示采用 IgG 和 IgM 作为 SARS 实验室辅助诊断指标应选择在 SARS 患者发病 10 天后。临床确诊 SARS 患者发病 10 天后采用 IFA 检测血清抗体的灵敏度、特异度和符合率均较高,分别为 91.6%、90.4% 和 90.9%(表 1)。

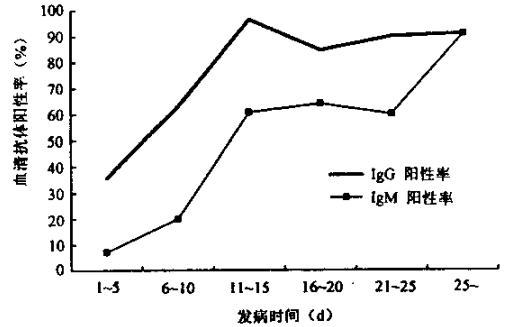


图1 SARS 患者发病时间与血清抗体阳性率的关系

表1 IFA 检测临床诊断 SARS 患者和其他病患者血清抗体可靠性评价

临床诊断	IFA		合计
	阳性	阴性	
SARS 患者	87	8	95
其他患者	12	113	125
合 计	99	121	220

2. 对 SARS 疑似病例和其他病例的血清抗体检测分析:检测 20 例发病 10 天以上的疑似病例血清抗体,有 13 例血清抗体阳性,提示疑似病例可能有 65% 左右感染 SARS 病毒。同时对发病时间为 10 天以上的 20 例伴有发热症状的其他患者血清抗体进行检测,显示有 7 例 SARS 病毒抗体阳性,提示因其他疾病入院治疗伴发热症状的患者可能为 SARS 感染,也可能是一部分 SARS 患者症状不明显或症状出现较晚。

3. IFA 与 ELISA 检测 SARS 病毒血清抗体的一致性:选择发病 10 天后 SARS 患者和正常人对照血清,采用 IFA 和 ELISA 方法检测 SARS 病毒抗体,结果见表 2。比较 IFA 与 ELISA 方法检测 SARS 患者的血清抗体,符合率也达到了 90%。

表2 IFA 与 ELISA 检测 SARS 病毒血清抗体的一致性比较

IFA	ELISA		合计
	阳性份数	阴性份数	
阳性	50	11	61
阴性	2	66	68
合计	52	77	129

讨 论

本研究以 SARS 临床确诊病例、疑似病例和其他患者及正常人群作为调查对象,采用 IFA 方法对 SARS 患者血清抗体的产生规律进行了初步的探讨,评价了 IFA 作为 SARS 的快速、特异诊断方法的可靠性。结果显示,SARS 患者发病 10 天内 IgG 和 IgM 抗体阳性率较低,而发病 10 天以后血清 SARS 病毒 IgG 阳性率较高为 89.8%,IgM 阳性率为 65.3%,其中 IgM 阳性率在 25 天以后与 IgG 阳性率一致(90.9%),该检测方法的灵敏度、特异度以及与临床诊断的符合率均在 90%以上,提示 IFA 方法适合于 SARS 患者发病 10 天后作为血清学诊断方法。

通过该分析结果提示,在利用现行的 IFA 检测方法对 SARS 疾病进行诊断时,应充分考虑检测时间对结果的影响。

通过对 SARS 患者体内血清抗体产生规律的研究,为 SARS 实验室诊断、SARS 恢复期血清疗法采血时机的选择等方面提供了依据,也为 SARS 血清流行病学研究提供了基础。但是 SARS 患者体内血清抗体滴度的变化情况、抗体持续的时间等方面,还有待进一步更加深入的研究。

参 考 文 献

- 1 WHO. Cumulative number of reported cases of severe acute respiratory syndrome (SARS). <http://www.who.int/csr/sars/country/2003-05-17/en/>
- 2 Schlegelhauf P, Ashraf H. Severe acute respiratory syndrome spreads worldwide. *Lancet*, 2003 361(9362): 101.
- 3 卫生部. 5 月 17 日非典型肺炎疫情通报. <http://www.moh.gov.cn/zhgl/yqfb/200305170033.htm>
- 4 祝庆余,李钟铎,蒋越,等. 病毒免疫诊断配套试剂的研究. *军事医学科学院院刊*, 1997 21:198-201.

(收稿日期 2003-05-10)

(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

1 131 例宫颈糜烂流行病学因素分析

张秀英

为了解已婚妇女宫颈糜烂的患病特点,自 2002 年 2~10 月对湖南省永州市部分县区及厂矿年龄在 20~60 岁的已婚妇女进行了宫颈糜烂流行病学调查分析。

1. 患病情况:对 4 018 名已婚妇女进行宫颈刮片细胞学检查,必要时作阴道镜检查及活体组织检查。诊断标准依据全国高等医药院校第 5 版《妇产科学》教材^[1],确诊为宫颈糜烂者 1 131 例,患病率为 28.15%,其中轻度糜烂者 834 例、中度糜烂者 249 例、重度糜烂者为 48 例,患病率分别为 73.74%、22.02% 和 4.24%。

2. 年龄分布:年龄按 20~29 岁、30~39 岁、40~49 岁、50~59 岁分组,被调查人数分别为 1 044 例、1 843 例、805 例和 326 例,患病人数分别为 388 例、568 例、150 例和 25 例,患病率分别为 37.16%、30.82%、18.63% 和 7.67%。四个不同年龄组宫颈糜烂患病率比较,差异有显著性($\chi^2 = 186.18, P < 0.01$)。20~29 岁组与其他三组分别比较,差别均有显著性($P < 0.01$)。

3. 职业分布:职业按农民、工人、公务员、教师和职员分类,被调查人数分别为 926 例、1 059 例、690 例、592 例和 751 例,患病人数分别为 337 例、310 例、175 例、143 例和 166 例,患病率分别为 36.39%、29.27%、25.36%、24.16% 和 22.10%。五组不同职业宫颈糜烂患病率比较,差异有显著性($\chi^2 = 52.14, P < 0.01$)。农民组与其他四组分别比较,差异均有显著性($P < 0.01$)。

4. 区域分布:区域按农村、厂矿和城区分类,被调查人数分别为 1 126 例、1 259 例和 1 633 例,患病人数分别为 391

例、355 例和 385 例,患病率分别为 34.73%、28.20% 和 23.58%。三组不同区域宫颈糜烂患病率比较,差异有显著性($\chi^2 = 38.72, P < 0.01$)。其中农村与厂矿、厂矿与城区、农村与城区比较,差异均有显著性($P < 0.01$)。

5. 讨论:本次调查 4 018 名已婚妇女,宫颈糜烂患病 1 131 例,患病率为 28.15%,较国内报道的宫颈糜烂患病率 22.40%^[2]高。本次调查发现宫颈糜烂患病率最高的年龄是 20~29 岁组,30 岁后随年龄增长而呈下降趋势,这可能与雌激素水平有关,更重要的是与年轻夫妇性生活频繁、性卫生知识缺乏,以及婚外性乱、未婚人流、人工流产、引产^[2]、宫颈损伤和产后不注意卫生有关。本次调查还表明,凡经济、文化条件落后,医疗服务的提供及利用不足的区域和自我保健意识淡薄的人群,宫颈糜烂患病率就高。调查结果证实,永州市已婚妇女农村比厂矿、城区患病率高,农民比工人、公务员、职员患病率高。为此全社会应高度重视已婚妇女保健工作,各级政府和有关职能部门应利用各种新闻传媒宣传卫生保健知识,特别是对广大农村要增加卫生投入,提高产科质量和计划生育技术水平,定期普查普治,增强妇女的自我保健意识,努力降低宫颈糜烂的发病率。

参 考 文 献

- 1 乐杰,主编. 妇产科学. 第 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2000. 291-292.
- 2 吴美琼,郝坚毅,朱丽平. 113938 例已婚妇女妇科普查分析报告. *中国实用妇科与产科杂志*, 1999, 15: 2255.

(收稿日期 2003-03-06)

(本文编辑:张林东)