

单克隆抗体反向被动血凝抑制试验与间接血凝抑制试验在诊断乙脑中的比较

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 郑锡文 杨功焕 张桂云

提要 本文用乙脑单克隆抗体致敏羊血球的反向被动凝集抑制试验 (RPHI), 对临床诊断为乙脑患者的124份双份血清进行检测, 并与常用的间接血凝抑制试验HI作比较, RPHI的阳性率为83.1% (103/124), HI法的阳性率为79.0% (98/124)。经统计学检验, $P > 0.05$, 两法的阳性率无明显差别。再进一步将检测血清按滴度的不同水平分组, 进行相关分析, 结果表明, 两种方法检测的结果存在正相关, 且恢复期血清检测结果的相关度高于急性期检测结果的相关度。因此, 证明了简便、快速的RPHI法可作为诊断乙脑的检测手段。

关键词 乙脑 间接血凝抑制试验 反向被动血凝抑制试验

流行性乙型脑炎目前在我国仍是广泛流行的一种传染病, 全国乙脑报告发病率约为2~3/10万, 死亡率约为0.2~0.3/10万。目前常用的间接血凝抑制试验 (HI) 较为复杂, 故一种简便、快速的诊断方法对于基层医院用于辅助临床诊断和基层防疫站用于流行病学调查均很需要。最近陈伯权已成功地建立了乙脑单克隆抗体致敏羊血球反向被动凝集抑制试验 (RPHI), 但观察例数较少。我们用该法对124份临床诊断为乙脑的病人的双份血清作了检测, 并与HI进行了比较。

材料和方法

一、血清: 从9个省、市采集临床诊断为乙脑患者的双份血清124份。第一份血在病人入院后一周内采集, 第二份血一般与第一份血间隔两周后采集。分离血清, 低温冰箱保存备用。

二、HI: 按常规方法进行。

三、RPHI: 将乙脑病毒血凝素作倍比稀释, 使每孔含25微升不同稀释度的抗原, 每孔加入25微升待测病人血清 (1:10稀释), 再立即加入25微升M-血球, 室温作用30~60分

钟。以pH7.2PBS溶液代替病人血清作为对照组。结果判定: 以试验组凝集滴度比对照组低4倍或以上为阳性。RPHI诊断药盒由中国预防医学科学院病毒所脑炎室提供。

结果

一、用RPHI和HI检测临床诊断为乙脑患者的双份血清124份, 结果见表1。表1表明, 用RPHI检验, 124份血清中有103例为乙脑抗体阳性, 阳性率为83.1%。用HI检验, 有98例抗体阳性, 阳性率为79.0%。其中有90例两法均证实为阳性, 13例两法均证实为阴性。但另有8例, HI检测为阳性, RPHI检测为阴性, 有13例, HI检测为阴性, RPHI检测为阳性。

表1 124例临床诊断为乙脑患者的双份血清用HI和RPHI检测结果

HI	RPHI		合计
	+	-	
+	90(a)	8(b)	98
-	13(c)	13(d)	26
合计	103	21	124

表1为配对资料, 假定两方法检测的阳性

率无差别, 用McNemar's公式检验: $\chi^2 = 0.76$
 $df = 1$ $P > 0.05$ 。因此可以认为, 两种检测方法的阳性率没有显著区别。

二、为了进一步对这两种方法的检验结果进行判断, 我们按两种方法检测急性期和恢复期血清的滴度水平分组, 进行相关分析, 推断两方法检查结果有无相关, 再进一步确定相关的密切程度。结果见表2, 3。

表2 用HI和RPHI检测乙脑患者急性期血清的结果

HI	RPHI				合计
	<1/20	1/20	1/40	1/80	
<1/10	1	7	7	9	24
1/10	1	1	4	5	11
1/20	0	9	8	21	38
1/40	0	6	5	40	51
合计	2	23	24	75	124

表3 用HI和RPHI检测乙脑患者恢复期血清的结果

HI	RPHI				合计
	<1/20	1/20	1/40	1/80	
<1/10	2	4	0	5	11
1/10	1	3	2	0	6
1/20	1	2	6	5	14
1/40	0	6	12	75	93
合计	4	15	20	85	124

根据表2、表3的结果, 推断两因素间有无相关关系, 可用 χ^2 检验。假设两种检测方法所得结果无关, 按下列公式计算 χ^2 值:

$$\chi^2 = n \left(\sum \frac{A^2}{n_{RC}} - 1 \right),$$

式中A为R×C表示每格的实际频数, n_R 与 n_C 分别为实际频数所在行R、列C的合计, n为样本含量, R为行数, C为列数。按下列公式计算Person(P)列联系数:

$P = \sqrt{\frac{\chi^2}{n + \chi^2}}$, 并分析相关的密切程度。P值在0~1之间, 0表示完全独立, 1表示完全相关。

1.对急性期血清检测结果的分析: 按上述公式计算, $\chi^2 = 20.71$, $P < 0.05$, 故拒绝检验假设, 而认为两种方法检测结果存在相关。列联

系数 $P = 0.38$ 。

2.对恢复期血清检测结果的分析: 按上述公式计算, 结果拒绝检验假设, 可认为两种方法检测恢复期血清存在高度相关。列联系数 $P = 0.53$ 。

由此说明, 两种方法对恢复期血清检测结果的相关程度高于急性期血清检测结果的相关程度。也就是说, 两种方法对恢复期血清的检测结果更为符合。

讨 论

本次试验说明了RPHI和HI两种方法检测乙脑患者血清没有明显差别, 存在明显的正相关关系。HI是一种用于诊断乙脑患者的常用的血清学方法, 故RPHI也可作为一种诊断方法。用RPHI测抗体时, 待测血清不用像血凝抑制试验那样需事先处理, 且抗原和待测血清结合后可立即加入M-血球, 从而大大简化了操作步骤, 使整个检测工作一小时就可出结果。由于该方法操作简便、快速, 不需特殊设备, RPHI试剂盒已投入商品生产, 故该方法适用于基层医院及防疫站临床诊断和流行病学调查。

虽然两种检测方法的结果存在正相关, 且恢复期血清检测结果的相关关系更密切, 但是两种方法的原理并不一样, 检测血清中两种诊断方法显示的乙脑抗体是否为同一抗体, 还值得进一步探讨。

The Comparison of RPHI with McAbs and HI in the Diagnosis of Japanese Encephalitis
 Zheng Xiwen, et al., Institute of Epidemiology & Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing

In this paper, it has been described to test 124 paired (acute and recovered) sera from the patients who were diagnosed clinically as Japanese Encephalitis by RPHI with McAbs and HI.

Results showed that the positive rates of RPHI and HI were 83.1% (103/124) and 79.0% (98/

124) respectively. $P > 0.05$. There were little obvious difference between RPHI and HI. Further analysis on different levels of sera titre tested by two methods showed the positive correlation.

Furthermore, RPHI is easier, quicker than HI. Contrary to HI, it doesn't need to do pre-treatment of samples. The results can be read within 30 to 60 minutes. So, it is proved that RPHI is a more suitable method on diagnosing Japanese Encephalitis

Key words Japanese Encephalitis HI RPHI

参 考 文 献

1. Kosriniemi M, et al. Acute encephalitis. A

survey of epidemiological, clinical and microbiological features covering a twelve-year period. Acta Med Scand 1981;1209(115).

2. Englebery NC, et al. The impact of new cloning techniques on the diagnosis and treatment of infectious diseases. New England Journal of medicine 1984; 311(11).

3. 陈伯权, 等. 单克隆抗体的反向被动血凝和反向被动血凝抑制试验在乙脑快速诊断中的应用. 病毒学报 1987; 7(1):43.

4. 陈伯权, 等. 流行性出血热病毒单克隆抗体的反向被动血凝和被动血凝抑制试验在诊断中的初步应用. 病毒学报 1986; 2(4):387.

5. Kleinbaum, et al. Epidemiologic Research, 1982: p392.

6. 中国医学百科全书. 医学统计学 1985: p101.

(中国预防医科院病毒所陈伯权教授、刘琴芝同志对本试验给予大力支持, 特此致谢)

一起B群链球菌感染的报告

北京铁路局中心卫生防疫站 曹元其

北京市崇文区卫生防疫站 黄瑾

1986年10月初国家体委运动员第二食堂厨师远××手背部伤后感染, 有二处化脓性病灶, 局部红肿, 大的直径2cm左右, 中央有浆液性脓泡鼓起, 有酸痛感, 局部淋巴结肿大, 未经任何处理继续工作。其后与他在同一水池中洗鸡肉的9人, 经2~3日后, 有3人相继发生手背部感染, 其症状与远××相同, 病灶大小不一。其中一人(王××)感染后发烧, 体温达38°C以上, 局部淋巴管与淋巴结发炎疼痛。经用青霉素治疗5日后, 一周左右痊愈。

一、微生物学检验与鉴定:

1. 样品采集: 用无菌棉拭子浸湿生理盐水, 涂抹感染病灶收集。

2. 方法: 微生物检验与特异性生化鉴定。

二、结果:

1. 从远××、王××病灶区采集的样品, 涂布麦康凯和羊血营养平板, 经37°C 18~24小时培养, 分离出二株均呈光滑、湿润、灰白、不透明较小的菌落(约1~1.5mm), 在羊血平板上的菌落周围出现2mm左右溶血环。

2. 染色镜检为革兰氏阳性球菌, 呈水平链状排列; 经CAMP试验, 烛缸35°C 24小时呈显箭头样溶血

区; 菌落显色试验, 经半固体穿刺37°C 18小时出现桔黄色菌落生长线; 杆菌肽试验不敏感。

根据以上结果和特异性反应, 确认为B群链球菌

3. 药物纸片敏感试验, 红霉素、青霉素、四环素纸片抑菌带大于20mm; 氯霉素、磺胺、利福平抑菌带10~20mm; 庆大霉素、新霉素、卡那霉素、多粘菌素B、痢特灵不敏感。

三、流行病学调查: 对4名病人咽拭子检查没分离出GBS, 追踪检验同批未食用的鸡肉, 没查出致病菌, 洗鸡池水当时已排放, 未做细菌学检验。

四、讨论:

1. 本报告分离的二株均有菌落显色现象, 此特征是人源有毒菌株固有的, 而从动物体分离的菌株多数不产生色素。

2. 自三十年代开始有人报道GBS对人类的感染, 但最初并不为人们所重视。目前已公认它是一种重要的感染性致病菌, 为临床分离标本中最常见的β-溶血性链球菌, 但国内至今尚未见有文献报告, B群链球菌感染手背部病灶所引起的爆发感染多人的病例, 故此报告已引起同行注意。

(本文承蒙胡真教授审阅, 特此致谢)