

两种不同方法检验 EB 病毒的临床效果分析

吴玉红(北京大学深圳医院检验科,深圳 518036)

【摘要】 目的 对比分析酶联免疫吸附试验(ELISA)法和实时定量 PCR 法检验 EB 病毒的临床效果。**方法** 抽取 42 例活检确诊为鼻咽癌患者和 42 例经门诊体检健康的成人静脉血 4 mL,分离血清,分别以两种方法进行检测,比较灵敏度与特异度。**结果** 单项检验以 ELISA 检测 EA-IgA 的灵敏度最高为 90.5%,以 ELISA 检测 EA-IgG 的特异度最高为 92.9%,ELISA 检测三项联合的灵敏度为 97.6%、特异度为 78.7%,而 PCR 法的灵敏度为 69.0%、特异度为 71.4%。两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** ELISA 法三项联合检测 EB 病毒的临床效果较好,具有较高的灵敏度与特异度,能够提高 EB 病毒血清学的诊断效果。

【关键词】 EB 病毒; 酶联免疫吸附试验; 实时定量 PCR 试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.06.024 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)06-0694-02

EB 病毒(EBV)是主要感染人类口咽部上皮细胞和 B 淋巴细胞的一种疱疹病毒^[1]。在我国南方的鼻咽癌患病人群中可检测到有 EB 病毒基因组的存在。因为 EBV 较难分离培养,临床上采用细胞内 EBV 基因组及其表达产物的检测方法检测。本文对比分析常用的酶联免疫吸附试验(ELISA)检测病毒壳抗体(VCA-IgA)与早期抗体(EA-IgA 和 EA-IgG),与实时定量 PCR 法检测血清游离 EBV DNA 的方法和结果,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 血清材料 EB 组:抽取 42 例活检确诊为鼻咽癌患者的静脉血 4 mL,并分离血清。对照组:抽取 42 例经门诊体检健康的成人静脉血 4 mL,分离血清。

1.2 ELISA 检测 VCA-IgA、EA-IgA 和 EA-IgG 选用深圳博卡公司的 EB 病毒 VCA-IgA 抗体检测试剂盒,并按说明书严格操作。450 nm 波长测值每孔吸光度 A 值,以 A 值超过阴性对照值 0.5 判断为阳性。选用 Dako 公司生产的 IgA 和 IgG 试剂,以 490 nm 和 630 nm 双波长扫描每孔吸光度 A 值,以 A

值超过阴性对照值 0.5 判断为阳性。

1.3 PCR 法检测 EBV DNA 试剂选自中山医科大学有限公司生产的,按照说明书严格操作,并以荧光强度曲线来判断标本到达阈值所需循环数 Ct 值,以 Ct 值为 0 判断为阴性,<40 判断为阳性。

1.4 计算公式 灵敏度为 EB 组阳性数/EB 组总例数,特异度为对照组阴性数/对照组总例数。

1.5 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计软件行 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

检测结果阳性例数及阳性率见表 1,由此可见,单项检验以 ELISA 检测 EA-IgA 的灵敏度最高为 90.5%,以 ELISA 检测 EA-IgG 的特异度最高为 92.9%,ELISA 检测三项联合的灵敏度为 97.6%,特异度为 78.7%,而 PCR 法的灵敏度为 69.0%,特异度为 71.4%。两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 EB 组和对照组两种检测方法阳性例数及阳性率比较[n(%)]

组别	VCA-IgA	EA-IgA	EA-IgG	VCA-IgA+EA-IgA+EA-IgG	EBV DNA
EB 组	37(88.1)	38(90.5)	36(85.7)	41(97.6)	29(69.0)
对照组	9(21.3)	5(11.9)	3(7.1)	9(21.3)	12(28.6)

3 讨论

EBV 主要感染人类口咽部的上皮细胞和 B 淋巴细胞。有研究表明其可能在系统性红斑狼疮和风湿性关节炎的发生、发展中起到一定的作用。大量研究已经证实鼻咽癌患者血清中均存在高于健康人抗体水平的 EB 病毒抗体,在我国南方的鼻咽癌患病人群中也检测到有 EB 病毒基因组的存在。目前检测 EBV 的 VCA-IgA、EA-IgA 水平被认为是血清学诊断鼻咽癌的主要检验方法^[2-4],传统的免疫酶标法也被逐步改进和被 ELISA 所代替。而 PCR 法检测 EBV DNA 水平正被作为一种新的反映肿瘤临床诊断的方法。

VCA-IgA 水平对 EBV 检测的灵敏度较高,但也有报道证明其特异度较低,本文研究结果 ELISA 检测 VCA-IgA 的特异度为 78.7%,误诊率远高于其他两项,这与报道结果相符,传统的免疫酶标法也正是因此被人们所注意改进。蒋卫红等^[5]研究表明,鼻咽癌患者血清存在多种 EBV 抗体,而 ELISA 法

能够较好地反映 VCA-IgG,三项联合能够得到较好的灵敏度与特异度,这也客观地反映了此种结果。但这些抗体的水平却无法反映肿瘤的临床分期,因此一种新的 EBV 检测法即 PCR 法检测 EBV DNA 被人们所重视,它也被作为临床检查的一种辅助方法,并已被作为治疗效果的评估指标^[6]。

本文通过对比分析 ELISA 法和实时定量 PCR 法检验 EB 病毒的临床效果,得出 ELISA 法三项联合检测 EB 病毒的临床效果较好,具有较高的灵敏度与特异度,能够提高 EB 病毒血清学的诊断效果。

参考文献

[1] 李淑英,曾莉,曲银娥,等.乳腺癌与 EB 病毒感染相关性研究[J].中国综合临床,2006,22(10):896-897.

[2] 宗永生,吴秋良,林素暇,等.EB 病毒相关性疾病病理学研究的进展[J].中山大学学报:医学科学版,2005,26

(5);481-487.

[3] 阳茂春,陆爱英,李山,等. 免疫酶法与 ELISA 法检测 EB 病毒 VCA-IgA 的比较[J]. 标记免疫分析与临床,2009,16(2):93-95.

[4] 苏犁云,徐锦,孙家娥,等. EB 病毒感染实验室诊断方法探讨[J]. 检验医学,2006,21(5):513-516.

[5] 蒋卫红,赵素萍,尹志华,等. 定量和定位检测 EB 病毒在

鼻咽癌组织中的感染状态[J]. 癌症,2005,24(7):796-800.

[6] Gross AJ, Hochberg D, Rand WM, et al. EBV and systemic lupus erythematosus: a new perspective[J]. J Immunol,2005,174(11):659-667.

(收稿日期:2010-10-15)

• 临床研究 •

血培养仪 VersaTREK-240 检测血样本结果分析

郝金中,张红升(河南省安阳市人民医院输血科 455000)

【摘要】 目的 了解败血症患者病原菌分布及其常见病原菌耐药情况。**方法** 患者血培养标本经美国 Versa-TREK 血培养仪培养,分离所得菌株用英国先德 ARIS 2X 进行鉴定药敏,比较前 5 位细菌耐药特征。**结果** 204 株病原菌中,医院感染菌共 194 株,占 98.7%;以凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、白色假丝酵母菌、阴沟肠杆菌为主,病原菌对常用抗菌药物的耐药率较高,且医院感染菌的多重耐药率高于院外感染菌。**结论** 临床需及时掌握败血症的细菌分布及其对抗菌药物的耐药现象和动态变化,对合理应用抗菌药物具有重要意义。

【关键词】 败血症; 细菌培养; 抗药性,细菌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.06.025 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)06-0695-03

败血症是严重的全身性感染,病情复杂且死亡率较高,血培养是确立败血症的重要依据,明确败血症的病原菌,对临床有针对性地抗菌治疗至关重要,随着科技的发展,培养方法也从手工、半自动发展到全自动血培养仪的临床应用,提高了病原菌检出率,缩短了检测时间,为临床诊治败血症提供了快速、准确的病原菌诊断,为此,采用 VersaTREK240 血培养仪对 1 630 份临床标本进行检测,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源与采集

1.1.1 标本来源 来自本院 2009 年 1 月至 2010 年 6 月急诊及各病区患者临床血液标本 1 630 份。

1.1.2 标本采集 要求在抗生素使用前,发热初期或寒战时,间隔 10 min 采血两瓶。采血量应按成人 5~10 mL,儿童 3~5 mL 为宜,骨髓采集量常为 1~2 mL,立即注入专用需氧瓶。

1.1.3 仪器与试剂 一次性全封闭 VersaTREK240 系统专用需氧血培养瓶,全自动血培养系统(VersaTREK240),全自动微生物鉴定系统(ARIS2X)、药敏板、鉴定卡为英国先德公司产品。

1.2 标本处理

1.2.1 采集患者的血液标本,按 VersaTREK240 操作程序加入血培养瓶,该仪器温度保持在 35 ℃对每一个培养瓶进行 24 h 每 12 分钟自动连续检测。

1.2.2 阳性培养瓶处理 凡系统报告为阳性时,应及时转种血琼脂平板、麦康凯平板、巧克力平板,置 35 ℃培养 18~24 h,同时涂片做革兰染色、镜检,并将结果通知临床作为血培养的一级报告,将分离的菌株按操作程序做鉴定及药敏试验,经 16~24 h 后作最终报告。

1.2.3 阴性培养瓶处理 培养监测 7 d 后显示阴性瓶者,按常规步骤卸瓶,涂片镜检并盲种于血琼脂平板、麦康凯平板、巧克力平板置 35 ℃培养 18~24 h 后,若无细菌生长,方可报告无菌生长。

1.3 耐药菌检测 D-Test MRS ESBLs 采用 CLSI 2008 年推

荐的确证方法。

1.4 质量控制 采用金黄色葡萄球菌 ATCC25923、大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853 进行药敏质控(购于省临床检验中心)。

1.5 数据分析 用 WHONET-5 软件进行分析。

2 结果

2.1 病原菌的分布 血样本总阳性率 11.9%。在检出的 204 株病原菌中,革兰阴性杆菌占 46.1%(94/204),其中大肠埃希菌 23.5%(48/204);革兰阳性球菌占 45.1%(92/204),以凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)为主,占 29.4%(60/204),其次为金黄色葡萄球菌占 11.8%(24/204);白色假丝酵母菌占 5.9%(12/204)。见表 1。

表 1 204 株微生物种类分布及构成比

细菌名称	株数	构成比 (%)	细菌名称	株数	构成比 (%)
革兰阴性杆菌	94	46.1	溶血葡萄球菌	15	7.3
大肠埃希菌	48	23.5	腐生葡萄球菌	7	3.4
阴沟肠杆菌	13	6.4	人葡萄球菌	6	2.9
铜绿假单胞菌	10	4.9	头葡萄球菌	6	2.9
鲍氏不动杆菌	8	3.9	其他 CNS	4	2.0
肺炎克雷伯菌	8	3.9	粪肠球菌	3	1.5
落氏不动杆菌	2	1.0	尿肠球菌	2	1.0
嗜麦芽窄食单胞菌	2	1.0	酪黄肠球菌	1	0.5
木糖氧化产碱杆菌	1	0.5	肺炎链球菌	1	0.5
芳香沙雷菌	1	0.5	停乳链球菌似马亚种	1	0.5
聚团多源菌	1	0.5	真菌	18	8.8
革兰阳性球菌	92	45.1	白色假丝酵母菌	12	5.9
金黄色葡萄球菌	24	11.8	热带假丝酵母菌	5	2.5
表皮葡萄球菌	22	10.8	季也蒙假丝酵母菌	1	0.5