

两种方法检测性病患者Ⅱ型单纯疱疹病毒结果分析

周 潇¹, 黄必然² (广东省惠州市第一人民医院: 1. 检验科; 2. 皮肤科 516003)

【摘要】 目的 采用 ELISA 与 PCR 方法分别检测具典型皮损与非典型皮损性病专科门诊患者的Ⅱ型单纯疱疹病毒, 了解性病专科门诊患者Ⅱ型单纯疱疹病毒(HSV-Ⅱ)病毒的感染情况, 并探讨单纯疱疹感染诊断及标本选择。**方法** 采用聚合酶链反应(PCR)及血清酶联免疫吸附试验分别检测 216 例患者。**结果** 有典型生殖器疱疹皮损患者, 血清 HSV-Ⅱ型抗体检测阳性率占 58.06%, 疱液标本 PCR 阳性率占 89.25%; 无典型生殖器疱疹皮损患者, 血清 HSV-Ⅱ型抗体检测阳性率占 23.58%, 分泌物标本 PCR 阳性率占 14.63%。**结论** 建议在生殖器疱疹有临床症状时采用 PCR 检查, 无典型皮损的患者可采用血清学作抗体检查。

【关键词】 生殖器疱疹; 单纯疱疹病毒; 聚合酶链反应; 酶链免疫吸附法

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.022 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)13-1581-02

Analysis of the test result of herpes simplex virus type Ⅱ in patients with STD by two different methods ZHOU Xiao¹, HUANG Bi-ran² (1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Dermatology, the First People's Hospital of Huizhou City, Guangdong 516003, China)

【Abstract】 Objective To detect herpes simplex virus type Ⅱ (HSV-Ⅱ) of the patients with typical skin lesion or non-typical skin lesion attending STD clinic by ELISA and PCR, and determine HSV-Ⅱ infection in STD clinic and investigate a better method of diagnosing HSV-Ⅱ and choosing a suitable method to detect sample. **Methods** Clinical data on 216 cases with HSV-Ⅱ were detected by PCR and ELISA. **Results** In patients with typical skin lesion, the positive rate of HSV-Ⅱ antibody in serum was 58.06% and positive rate in vesicle fluid was 89.25% which was detected by PCR, whereas in patients with non-typical skin lesion positive rate was 23.58% and 14.63% respectively. **Conclusion** We suggest that when patients have typical skin symptom should be detected by PCR, whereas patients without non-typical lesion should detect the level of serum antibody.

【Key words】 genital herpes; herpes simplex virus; PCR; enzyme linked immunosorbent assay

生殖器疱疹(GH)是由单纯疱疹病毒(HSV)引起的一种常见性传播疾病(STD)。近年来有研究表明, GH 主要由Ⅱ型单纯疱疹病毒(HSV-Ⅱ)感染引起, 发病率逐年增加, 是主要的生殖器溃疡性疾病。同时, GH 容易复发, 是引起人们性心理障碍的主要原因之一, 可显著降低患者的生活质量^[1]。HSV 感染者对 HIV 的易感性亦增高。因此, 早期诊断和治疗 GH 对促进患者皮损愈合降低其传染性危害性有重要意义。目前实验室对其检测方法颇多, 为了解性病门诊患者中 HSV-Ⅱ的感染情况并探讨单纯疱疹感染诊断及标本选择, 本文采取血清和分泌物标本, 运用酶联免疫吸附试验(ELISA)和聚合酶链反应(PCR)检测 HSV-Ⅱ型抗体, 对本院性病门诊此类患者进行检查, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 均为 2009 年 10 月至 2011 年 10 月本院性病专科门诊初次就诊患者, 不包括皮肤病就诊者共 216 例, 男 135 例, 女 81 例, 年龄 18~52 岁, 平均年龄 28.5 岁。标本采集条件: (1) 初次发病或既往有此病史而反复发作, 有典型 GH 或高度可疑 GH 皮损, 如局部簇集成群的小水泡或生殖器部位有簇集性点状糜烂表现; (2) 无典型 GH 皮损, 但男性患者有尿道疼、痒等不适感或有尿道口发红、有分泌物等症状; 女性患者有阴部分泌物增多、阴部不适、宫颈糜烂等症状; (3) 有非婚性接触史或配偶有 GH 病史者。符合采集条件患者有典型 GH 皮损的有 93 例, 无典型 GH 皮损的有 123 例; 符合采集条件的女性患者有典型 GH 皮损的有 22 例, 无典型 GH 皮损的有 59 例; 符合采集条件的男性患者有典型 GH 皮损的有 71 例, 无典

型 GH 皮损的有 64 例。

1.2 标本采集 血液标本采血 2 mL 于一次性无菌管中, 疱液标本先用生理盐水清洗水泡后, 刺破水泡, 用无菌棉签擦拭吸取疱液放入一次性无菌管中, 加入 0.5 mL 生理盐水摇匀。无典型或无 GH 症状的患者, 男性用无菌细小棉拭子伸入尿道口内 2~4 cm 处, 轻轻旋转 2 周, 停留 20 s 后取出, 装于无菌试管内; 女性先用生理盐水冲洗外阴, 再用无菌棉拭子伸入 2~4 cm 处, 轻轻旋转两周, 停留 20 s 后取出, 装于无菌试管内, 之后均加入 4 mL 无菌生理盐水。标本一般当天检测, 若不能当天检测, 则置于 -20℃ 保存。

1.3 检测方法和试剂 血液标本采用 ELISA 对 216 例患者检测 HSV-Ⅱ型血清抗体。试剂由美国美德声科学技术公司提供; 疱液标本及分泌物标本采用 PCR, 对 216 例患者作 HSV-Ⅱ型 DNA 的检测, 试剂盒和质控品均由中山达安基因有限公司提供, 严格按照说明书操作。

1.4 统计学方法 采用 χ^2 检验进行统计学处理。

2 结果

93 例有典型 GH 皮损患者, 取血液标本采用 ELISA, 做血清 HSV-Ⅱ型抗体检测, 阳性 54 例, 阳性率为 58.06%; 取疱液标本采用 PCR, 做 HSV-Ⅱ型 DNA 检测, 阳性 83 例, 阳性率 89.25%; $\chi^2 = 22.32, P < 0.05$, 差异有统计学意义。

123 例无典型 GH 皮损患者, 取血液标本采用 ELISA, 做血清 HSV-Ⅱ型抗体检测, 阳性 29 例, 阳性率 23.58%; 取分泌物标本采用 PCR, 做 HSV-Ⅱ型 DNA 检测, 阳性 18 例, 阳性率 14.63%; $\chi^2 = 4.92, P < 0.05$, 差异有统计学意义。

3 讨 论

GH 已成为最常见的性传播疾病之一,且发病率快速增长,生殖器感染 HSV 后临床表现多种多样,典型表现为具有特征性的水疱、脓疱、小溃疡,但表现不典型、亚临床无症状感染相当多见^[2-3];不典型的表现有裂隙、裂纹、细小线状溃疡,非特异性红斑、丘疹、毛囊炎、硬结、疖肿等^[4]。对该疾病的诊断主要依据病史、临床表现及实验室检查。常用的检验诊断技术包括细胞学、微生物学、免疫学和分子生物学诊断。细胞培养分离病毒是生殖器疱疹病原学诊断的“金标准”,但操作繁琐,培养周期长,且技术要求较高,不便于一般实验室开展。在没有生殖器疱疹临床损害而无法检测 HSV-Ⅱ 抗原时,测定血清抗体具有它的优越性,机体在感染 HSV 后,血液中针对 HSV 的抗体会在 1 周左右出现,在 3~4 周达到高峰,并可持续多年,但由于 HSV 感染后产生的潜伏状态,使得正常的非发患者群仍具有较高的 HSV 抗体阳性率^[5],可以发现是否曾有过 HSV-Ⅱ 感染。所以 HSV 抗体的血清学检测方法有其他实验室检测方法不能比拟的优势,该法适用于检测亚临床无症状 HSV 患者、复发人群及大规模的流行病学调查^[6]。发现有典型 GH 皮损患者组 HSV-Ⅱ 血清抗体阳性率为 61.29%,无典型 GH 皮损患者组,HSV-Ⅱ 血清抗体阳性率为 22.76%,提示应用 ELISA 检测 HSV-Ⅱ 抗体有一定意义。至于 36 例有典型临床表现的 GH 患者均未检出任何抗体,可能与下列因素有关,是单纯疱疹Ⅰ型所致,在 HSV-Ⅱ 感染初期,血清中尚未出现抗体,还有机体对 HSV-Ⅱ 感染的免疫低反应性,不能形成易检测抗体。

GH 常见临床症状是生殖器部位出现水疱、脓疱、溃疡或糜烂,对其疱液或渗出液进行 HSV 检测,PCR 检出率阳性率高为 92.47%,但对无皮损的泌尿生殖道分泌物进行 HSV 检测阳性率较低为 15.45%。PCR 检测作为一种近年来广为使用的检查手段,在微量体液的病毒检测方面显示出了巨大的潜力^[7-8]。具特异性高,检验快速等优点,它的敏感性较细胞培养高,已初步在临床病毒检验工作中,显示出了较大的优越性^[9],该法适应于有典型 GH 皮损疑为单纯疱疹感染患者,但由于标本易受污染,尤其对病毒含量少,成分复杂的女性生殖道标本处理困难,易造成假阳性或假阴性结果。且需要特殊的仪器和试剂,在普及推广中,目前尚有困难。建议在 GH 有临床症状时采用 PCR 检查,无典型皮损的患者可采用血清学作抗体检

查。

虽然 HSV 的感染机制尚不甚明了,但随着分子生物学的推广应用,检测技术和治疗预防措施的不断改进,以及联合疫苗的研发,人类肯定能彻底解密 HSV 感染,做到早预防、早发现、早治疗。

参考文献

[1] 鄢黎明,张俊,胡飞虎,等.疑似生殖器疱疹患者单纯疱疹病毒抗原检测结果分析[J].中国皮肤性病学杂志,2006,20(7):428-429.

[2] Safrin S,Shaw H,Bolan G,et al. Comparison of virus culture and the polymerase chain reaction for diagnosis of mucocutaneous herpes simplex virus infection[J]. Sex Transm Dis,1997,24(3):176-180.

[3] 赖伟红,韩国柱,王千秋,等.126 例生殖器疱疹的临床和病毒学检查的分析[J].临床皮肤科杂志,2001,30(2):75-77.

[4] 赖伟红,邵长庚.生殖器疱疹的研究进展[J].中国麻风皮肤病杂志,2002,18(4):372-374.

[5] 徐安健,赵高潮,乌姗娜,等.单纯疱疹病毒血清学检测及其临床应用进展[J].国际医学寄生虫病杂志,2010,37(6):381-383.

[6] 李翠英.对 ELISA 检测生殖器疱疹患者 HSV 及其临床应用的评价[J].中国皮肤性病学杂志,2005,19(10):630-631.

[7] 李莉,宋武琦,李晓光,等.病毒分离和 PCR-RFLP 法对急性结膜炎标本中腺病毒感染及其分型别的分析[J].中国微生态学杂志,2005,17(2):97-99.

[8] 范松涛,孙洪臣.聚合酶链式反应检测角膜内皮炎泪液及房水中单纯疱疹病毒 DNA[J].中国实用眼科杂志,2002,20(10):738-740.

[9] 蒲力群,杨丕忠,霍满鹏,等.PCR 检测分析单纯疱疹病毒及其意义[J].延安大学学报:医学科学版,2005,3(2):6-8.

(收稿日期:2012-03-08)

(上接第 1580 页)

通过建立已知的血小板捐献者 HLA 基因分型资料库,掌握本地域人群中 HLA 基因分布情况,可以为临床提供 HLA 匹配的血小板制品,降低免疫性血小板输注无效的发生率,进一步提高临床输注血小板的安全性、有效性。

参考文献

[1] 刘达庄,包于勤,陆萍,等.血小板抗体检测在输血中的重要意义[J].中国输血杂志,1999,12(2):116-119.

[2] 吴国光,邓志辉,高素青,等.6 965 名汉族骨髓库供者 HLA 多态性分析[J].中华内科杂志,2004,25(8):473-477.

[3] 孙继力,杜可明,傅敏,等. HLA-A,B,DRB1 单体型频率计算机在骨髓库的应用[J].中国输血杂志,2005,18(4):280-285.

[4] 金蕾,傅启华,严力行.血小板供者库的建立与应用初探

[J].临床输血与检验,2001,3(3):8210.

[5] 付涌水,夏文杰,叶欣,等.广州地区汉族人群人类血小板同种抗原及 HLA-I 抗原基因分型库的建立[J].中国输血杂志,2009,22(4):274-277.

[6] 焦淑贤,迟晓云,冯智慧,等.青岛地区已知 HLA 和 HPA 分型血小板供者库的建立和临床应用[J].中国输血杂志,2010,23(9):675-678.

[7] Takahashi K,Juji T,Miyazaki H. Determination of an appropriate size of unrelated donor pool to be registered for HLA-matched platelet transfusion[J]. Transfusion,1987,27(5):394-398.

[8] Schiller CA,Keller C,Dutcher JP,et al. Potentia HLA-matched platelet donor availability for alloimmunized patients[J]. Trailsfusion,1983,23(4):286-289.

(收稿日期:2012-03-12)