维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)05－0701－02

呼吸道合胞病毒感染的快速诊断与临床特点

王莉佳[1], 刘恩梅[1], 宋洪超[2], 罗晓菊[1]

(1.重庆医科大学儿科学院免疫室,重庆 400014;2.重庆南江工程地质队医院,重庆 401147)

【中图分类号】R446.5 【文献标识码】B 【收稿日期】2004－02－13

呼吸道合胞病毒(RSV)是婴幼儿急性下呼吸道感染的最重要的病原之一。实验室快速的病毒抗原或特异性抗体诊断能够及时指导临床明确病原,较早地采取抗病原治疗。本文采用美国 Chemicon 公司生产并由 WHO 认可的免疫荧光法快速诊断试剂盒对 300 例急性呼吸道感染患儿鼻咽分泌物进行包括 RSV 在内的 7 种常见呼吸道病毒检测,同时采用固相酶联免疫吸附(ELISA)方法检测患儿血清 RSV 特异性抗体,将两种方法进行了比较。并且分析 RSV 感染的临床特征。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象

重庆医科大学儿科学院 2002 年 11 月～2003 年 8 月诊断为毛细支气管炎、肺炎、支气管炎的住院儿童,共 300 例,最小年龄 25 天,最大年龄 4 岁。平均年龄为 7.4 个月。

1.1.2 试剂

免疫荧光快速诊断试剂盒系 Chemicon 公司生产,批号为 22080063;RSV 病毒抗体检测 ELISA 试剂盒购自深圳晶美公司,批号为 EB－020811。

1.1.3 主要仪器

日本 OLYMPUS(型号 BX51)荧光显微镜。

1.2 实验方法

1.2.1 取材

在患儿入院当天或次日取鼻咽分泌物。无菌吸痰管从患儿的单个鼻孔进入 7～8cm 达鼻咽部,通过负压吸引得到足够的分泌物标本后,将标本迅速送到实验室。

1.2.2 间接免疫荧光实验

根据试剂盒说明书,首先对标本进行病毒抗原的间接免疫荧光筛查。经筛查,凡是病毒阳性的再进行病毒分型的确定实验。具体方法:用吸管反复吹打粘液标本,离心洗涤以制备细胞悬液,点于多孔玻片,空气中干燥后,用冷丙酮固定 10min,加入荧光抗体,置 37℃恒温箱孵育 30min。PBS 冲洗后封片及时荧光显微镜检测或－20℃保存。病毒抗原阳性细胞显示苹果绿荧光,阴性者为红色。结果判断:一张片子中找到≥2 个阳性细胞,判为标本阳性。

1.2.3 直接免疫荧光实验

间接免疫荧光筛查阳性的标本,滴加 7 种不同的荧光抗体(RSV、Adv、FluA、Flub、PIV1、2、3)置湿盒 37℃ 30min,PBS 洗涤吹干后立即封片。用荧光显微镜的高倍镜或油镜检查。

1.2.4 ELISA 法检测 RSV 病毒抗体

根据试剂盒说明书操作。

1.3 统计学分析

数据采用卡方检验进行分析处理。

2 结 果

2.1 免疫荧光法呼吸道病毒的检出率

300 例标本中共有 171 份为阳性标本,阳性率为 57%(171/300),其中男 98 例,女 73 例,男:女＝1.34:1。在 171 份阳性标本中 RSV 阳性占 94.7%(162/171),其余分别为副流感 3 病毒 5 例 2.92%(5/171),腺病毒 3 例 1.75%(3/171),流感 A 病毒 1 例 0.58%(1/171)。

2.2 免疫荧光快速诊断技术和 ELISA 在 RSV 检测中的比较

由免疫荧光快速诊断检出的 RSV 感染率为 54%(162/300),而 ELISA 法 RSV 抗体检测阳性率为 2.67%(8/300),两种方法比较 $P<0.01$,有显著性差异。

2.3 RSV 感染的临床特征

在所检测的呼吸道病毒检测感染中,RSV 在≤6 个月,6～12 个月,12 个月～4 岁 3 个年龄阶段都为首位的感染病毒,随着年龄的增大 RSV 感染率降

作者介绍:王莉佳(1956－)女,主管技师,
主要研究方向:TB 细胞免疫性疾病。

维普资讯 http://www.cqvip.com

低,1 岁内婴儿 RSV 感染率最高,共有 141 例阳性,占 RSV 总阳性病例的 87.04%(141/162),其 60% RSV 感染表现为毛细支气管炎,其余 29%表现为肺炎,11%为婴幼儿哮喘急性发作伴 RSV 感染;在 RSV 感染中以男性患儿多见,男:女=1.46:1。

3 讨 论

免疫荧光快速诊断技术(IF)和碱性磷酸酶抗碱性磷酸酶桥联酶标法均为近年来我国广泛采用的 RSV 快速检测的标准方法。其中 IF 由于敏感性及特异性较高,已被 WHO 推荐为快速诊断 RSV 的首选方法。目前认为该技术能取代病毒分离,可进行大规模流行病学调查及病原学监测[1]。本研究用免疫荧光诊断试剂盒对 300 例患儿鼻咽分泌物标本进行筛查,筛查出病毒阳性率占 57%(171/300),与北京地区的资料相似[2,3]。其中 94.7%被确认为 RSV 感染。而采用固相酶联免疫吸附实验(ELISA)检出 RSV 抗体阳性率仅为 2.67%,因此,我们认为采用鼻咽分泌物涂片快速诊断 RSV 抗原的方法具有敏感、快速、准确等优点(只需 1.5h 可出结果),比用血清学检查抗体(ELISA)法稳定、可靠、阳性率高。分析造成两种方法结果差异的原因,估计与小婴儿感染 RSV 后所获得的自然免疫不完全缺乏中和抗体产生[4,5]有关,为用 ELISA 检测 RSV 抗体增加了困难有关。在免疫荧光检测中为避免造成严重的非特异性染色应注意:①在染色的整个过程中,使用试剂盒所提供阳性和阴性质控作对照;②脱落细胞的固定尤为重要,固定不好的细胞将脱落,从而使检出率降低;③标本点样及加抗体时,注意孔与孔之间勿要相互接触,避免交叉污染。

本文研究结果与其他的研究结果相似[6],再次证明 RSV 是引起小儿急性下呼吸道感染(毛细支气管炎、肺炎)的主要病原,在 1 岁以内婴儿 RSV 感染率最高,随着年龄的增大 RSV 感染率逐渐降低。有研究认为尽管新生儿血清中 RSV 特异性 IgG 水平很高,但主要经胎盘来自母体,在 2～6 个月维持在较低水平,6 个月才开始逐渐升高,所以 RSV 感染的严重类型多见于 1～6 个月的小婴儿,尤以毛细支气管炎最为严重[7]。

与以往的研究有所不同[6,8],从我们的检测结果看,副流感病毒仅次于 RSV 成为儿童急性呼吸道感染的第 2 位病原,腺病毒和流感病毒感染相对少见,在我们进行检测的标本中这两种病毒仅为散发,提示不同时期,不同地区引起婴幼儿呼吸道感染的病毒病原谱呈不断变迁趋势,严密监测引起小儿呼吸道感染的病毒病原有助于临床采用针对性强的治疗防治滥用抗生素有重要意义。

参 考 文 献

[1] 徐 锦,丁韵珍,苏犁云,等.不同方法检测两种呼吸道病毒结果的比较[J].中华实验和临床病毒学杂志,2002;16(4):347－347.

[2] 朱汝南,邓 洁,王 芳,等.2000 年至 2002 年夏北京地区急性呼吸道感染病毒病原学研究[J].临床儿科杂志,2003;21(1):25－27.

[3] 刘国荣,申昆玲,江载芳,等.北京地区儿童 ARI 的鼻咽分泌物的病毒免疫荧光检测结果分析[J].中国儿童保健杂志,2001;9(3):178－180.

[4] Weber MW,Dackour R,USen S,el al. The Chincal spectrum of respiratory syncytial virus discase in the Garnbia[J]. Pediatr Infect Dis,1998;17(3):224－230.

[5] Weber MW,Mulholland EK,Greenwood BM,ReSpiratory syncytial Virus infection in tropical and develpping Countries [J]. Trop Med Int Health,1998;3(4):268－280.

[6] 刘 瑜,程 茜.婴幼儿毛细支气管炎的病毒学检测分析[J].重庆医学,1999;28(3):178－180.

[7] 钱 渊.RSV 感染的临床特点[J].中国实用儿科杂志,2000;15(8):458－460.

[8] 王亚娟,姚德秀,燕润菊,等.北京地区儿童急性下呼吸道感染的病原学研究[J].中华儿科杂志,2000;38(3):159－161.