DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.04.033



文章编号:1000-5404(2000)04-0383-02

临床研究

# ELISA法检测单纯疱疹病毒Ⅱ型特异性抗体的临床应用研究

杨慧兰[1],杨 军[1],刘荣卿[2],杨太成[3],王 捷[3],冼 江[3],李建军[3] ([1]广州军区总医院皮肤科,广州 510010;[2]第三军医大学附属西南医院皮肤科,重庆 400038;[3]广州军区总医院医学实验科,广州 510010)

提 要:目的 探讨单纯疱疹病毒Ⅱ型(HSV-2)感染的早期特异检测手段。方法 对52例性病门诊的生殖器疱疹患者用改良的ELISA方法进行了HSV-gD2IgG检测并同细胞分离方法进行对比观察。结果 病毒分离的阳性率为69.2%,ELISA法检测抗体的阳性率为65%,两种方法检测结果差异无显著性。结论 ELISA法检测血清疱疹病毒IgG抗体具有简便,快速,特异的优点,适合于临床大规模检测之用。

关键词:单纯疱疹病毒Ⅱ型;糖蛋白D;ELISA
中图法分类号: R446.6 文献标识码: A

# Detection of herpes simplex virus glycoprotein D2 IgG

YANG Hui-lan, YANG Jun, LIU Rong-qing, YANG Tai-cheng, WANG Jie, XIAN Jiang, LI Jian-jun (Department of Dermatology, General Hospital of Guangzhou Command, Guangzhou 510010, China)

**Abstract: Objective** To explore a specific method for the early diagnosis of genital herpes. **Methods** 52 specimens were collected from the outpatient department of venereal disease and examined with ELISA for the detection of Herpes simplex virus glycoprotein $D_2$ IgG and cell isolation culture was done for comparison. **Results** The positive rate of the detection of the specific antibody against Herpes simplex virus was 69.2% and that of the isolation of the virus was 65%. **Conclusion** ELISA is the technique of choice to be used in outpatient clinic to detect Herpes simplex virus glycoprotein D2 IgG.

**Key words**: Herpes simplex virus; glycoprotein $D_2$; IgG; ELISA

生殖器疱疹是目前较常见的性病之一。主要由疱疹病毒Ⅱ型(HSV-2)引起。细胞培养分离HSV是诊断HSV较敏感和可靠的标准实验室检查方法。但培养分离生殖器标本易于污染,操作复杂,无法检测亚临床型、潜伏性生殖器疱疹及满足临床特异快速的要求。我们用ELISA方法检测生殖器标本中HSV-2,旨在寻找一种早期快速特异诊断HSV感染的方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 临床资料

1998年2月至1999年3月共收集我科性病临床标本52份。其中男性33例,女性19例。病程2周至2年,年龄18~62岁。入选条件参照1993年中华人民共和国卫生部防疫司编《性病防治手册》。对有生殖器溃疡的病人加做梅毒血清学检查排除梅毒。

### 1.2 标本采集和保存

用无菌棉签擦取受损部位液体及组织,标本采集后立即浸入0.5 ml病毒移送液内-70℃冰箱保存,备用。同时抽取所选病例静脉血2 ml提取血清备用。

### 1.3 病毒及细胞制备

HSV-2Sav国际标准毒株引自中国预防科学院病毒所。取0.1 ml含临床标本的病毒移送液后接种于生长成片的Vero细胞中。37℃吸附2 h,加入维持液于37℃培养,逐日观察细胞病变(CPE),如接种3 d无CPE出现,既收取0.1 ml培养液转种新制备的单层Vero细胞,继续观察,盲组三代无典型CPE出现,方报告病毒分离阴性[1]。

### 1.4 ELISA检测HSV-gD2IgG

按照ELISA常规间接法进行,将纯化的疱疹病毒Ⅱ型糖蛋白D(HSV-gD2)[2]按1∶100稀释后做为抗原封闭过夜。用收集的52份待测血清标本为一抗,HRP标记的羊抗人IgG为二抗,按ELISA常规方法检测,在≦960酶标仪上进行,最终用450 nm测D值。用疱疹病毒gD2单克隆抗体(HSV-gD2 McAb由第四军医大学喻启桂博士惠赠)做阳性对照。用Spr/O腹水作阴性对照[3]。

基金项目:广东省科委自然基金资助项目(960671)
作者简介:杨慧兰(1962—),女,云南省昆明市人,博士研究生,副主任医师,主要从事生殖器疱疹病毒的分子生物学方面的研究,发表论文12篇,现在第三军医大学附属西南医院皮肤科。电话:(020)86662205
收稿日期:1999-01-04;修回日期:1999-03-09

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

## 2　结果

### 2.1　ELISA 检测 HSV-$gD_2$ IgG

待测包被孔与 Spr/O 包被孔的 $D_{450}$ (P/N) ≥2 为阳性，反之，P/N＜2 为阴性。

### 2.2　细胞分离与鉴定

52 份拟诊疱疹病毒感染的标本，36 份出现典型的 HSV 感染 CPE，分离阳性率为 69.2%(36/52)，36 份阳性标本的感染细胞培养液转种 Vero 细胞单层，26 份 3 d 内出现典型的 CPE，剩余 10 份阴性标本将单层细胞盲传一代，再培养 3 d，均出现典型的 HSV-CPE 特征。

### 2.3　ELISA 和病毒分离的比较

36 份 HSV-Ⅱ病毒分离阳性标本中有 33 份 ELISA 法检测为阳性其敏感性为 91.6%(33/36)，特异性为 93.7%(15/16)。病毒分离的阳性率为 69.2%(36/52)，ELISA 的阳性率为 65.0%(34/52)。若以病毒分离为金标本，则 ELISA 假阳性为 1 份，假阴性为 3 份。$\chi^2=0.25$，$P>0.05$，差异不显著，见表 1。

**表 1　52 份标本的病毒分离与 ELISA 法检测抗体的结果比较**

**Tab 1　Results of viral culture and ELISA in 52 clinical specimens**

| ELISA | Viral culture | | Total |
|---|---|---|---|
| | + | − | |
| + | 33 | 1 | 34 |
| − | 3 | 15 | 18 |
| Total | 36 | 16 | 52 |

## 3　讨论

近年来，疱疹病毒感染逐渐成为我国性传播疾病病谱中的重要疾病，复发性生殖器疱疹病人亦逐年增多。在美国每年 300,000 生殖器疱疹新病例中，90%每年复发 4～5 次[4]。ELISA 方法可在没有生殖器损害而无法检测 HSV-2 抗原时测定 HSV-2 IgG，敏感性及特异性较高，可以判断复发性生殖器疱疹感染[5]。HSV-$gD_2$ 基因不仅是生殖器疱疹的疫苗侯选基因，同时也是 HSV-2 的特异性诊断基因[6]。本实验用纯化的表达产物 HSV-$gD_2$ 蛋白做抗原封闭，用 ELISA 法检测血清中 HSV-$gD_2$ IgG 特异性抗体，方法简便，敏感性 91.6%，特异性 93.7%，可做为临床上检测疱疹病毒，尤其是复发性生殖器疱疹的有效检测手段。

## 参考文献：

[1]　鄂　怔，陈勇光，徐新来　主编．组织培养技术[M]．第 2 版．北京：人民卫生出版社，1993. 45－48.

[2]　杨慧兰，李　明，廖元兴．疱疹病毒 gD 基因在大肠杆菌中的高效表达[J]．中华皮肤科杂志，1997, 30(3): 157－159.

[3]　喻启桂，李连青．ELISA 检测妇女生殖器疮疹中单纯疮疹病毒型特性抗原的研究[J]．单克隆抗体通讯．1991, 7(4): 49－51.

[4]　Corey L, Adams H G, Brown Z A, *et al*. Genital herpes simplex virus infections: clinical manifestations, course, and complications[J]. Ann Intern Med, 1983, 98(6): 958－972.

[5]　Spiezia K V, Dill B J, Mushahwar I K, *et al*. Prevalence of specific antibodes to herpes simplex virus type 2 as revealed by an enzyme-Linlod immunoassay and western bolt analysis[J]. Adv Exp Med Biol, 1990, 278(1): 731－735.

[6]　Doto T, Yamaguchi Y, Hashido M. Diagnosis of genital herpes by PCR amplification[J]. Microbiol Immunol, 1993, 37(12): 987－990.

（编辑　陈聪连）

## 经验与短篇

文章编号：1000-5404(2000)04-0384-01

# XGI 型脉动真空灭菌柜所致湿包的原因和检修

# The　overhaul of pulse steam sterilizer GXI causing moistened package

魏静蓉，王　卫，李　彬　（第三军医大学附属西南医院设备科，重庆 400038）

我院是一个 1 000 多张床位的综合性医院，现有 XGI·1 型、XGI·P 型、XGI·PG 型和 XGI·XZ 型等脉动真空灭菌柜 5 台，使用中发现湿包的故障率很高。根据国家卫生部消毒技术规范规定："经灭菌后取出的物品包，水份含量超过 3%或有明显水渍者，称为湿包，不可作为灭菌物品使用"。湿包的发生，直接影响灭菌效果和灭菌物品的保存，进而影响医院医教研工作的正常进行。为此，我们在检修工作中重点解决湿包问题。在检修过程中发现，产生湿包的原因虽多，但主要是机械和电路两部

（下转 387 页）

作者简介：魏静蓉（1962－），女，四川省雅安市人，主管护师，主要从事医院消毒灭菌方面的研究。电话：(023) 68754227

收稿日期：1999-12-28；修回日期：2000-03-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net