

• 临床检验研究论著 •

流感病毒亚型鉴定的两种方法比较

宋月娟, 哈小琴, 冯强生, 赵 勇

(中国人民解放军兰州军区兰州总医院检验科, 甘肃兰州 730050)

摘要:目的 比较直接免疫荧光法(DFA)与间接免疫荧光法(IFA)检测流感病毒亚型的特异性和敏感性,评价2种方法在流感病毒亚型检测中的应用效果。方法 采用DFA法和IFA法对90份流行性感冒患者及120份健康者的鼻分泌物、血清进行检测。结果 DFA法检测腺病毒的阳性率为17%(36/210),IFA法检测的阳性率为26%(56/210),二者差异无统计学意义($P>0.05$)。DFA法检测的敏感性为54.6%,特异性为97.2%;IFA法检测的敏感性为87.5%,特异性为48.2%。二者敏感性和特异性比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 DFA与IFA法检测流感病毒具有较好的特异性和敏感性。

关键词:流感病毒属; 直接免疫荧光法; 间接免疫荧光法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)21-2842-02

Comparison of two identification methods of influenza virus subtypes

Song Yuejuan, Ha Xiaoqing Feng Qiangsheng, Zhao Yong

(Department of Clinical Laboratory, Lanzhou Military General Hospital of Lanzhou

Chinese People's Liberation Army, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: Objective To compare the specificity and sensitivity of direct immunofluorescence (DFA) and indirect immunofluorescence assay (IFA) in influenza virus subtypes detection, and their application effects. Methods DFA method and the IFA method were used to detect rhinitis secretions and serums of 90 patients with influenza and 120 healthy people. Results The positive rate of DFA detection for adenovirus was 17% (36/210), and that of IFA was 26% (56/210), with no statistically significant difference ($P>0.05$). The sensitivity and specificity of DFA were 54.6% and 97.2%, respectively. The sensitivity and specificity of IFA were 87.5% and 48.2%, respectively. Compared with their sensitivity and specificity, the differences were no statistical significance ($P<0.05$). Conclusion DFA and IFA detection for influenza viruses have higher sensitivity and specificity.

Key words: influenza virus C; direct immunofluorescence assay; indirect immunofluorescence assay

流行性感冒简称流感,是人类目前面临的公共健康问题之一^[1]。流感是临床最常见的病种,通过空气或唾液飞沫方式传播,传播速度快,春、冬季婴幼儿发病率高^[2],容易造成局部流行,可导致爆发性流行^[3]。本文采用直接免疫荧光法(direct immunofluorescence assay, DFA)^[4]与间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence assay, IFA)^[5]两种方法对210份标本进行检测,比较两者在流感病毒亚型鉴定中的特异性和敏感性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本实验用标本为甘肃省某学校大规模流感疫情中所采集90份患者血清,以及同期120份健康献血者血清。

1.2 标本采集 静脉取血4~5 mL,置干燥试管中待凝固后分离血清,-20℃保存。采集流感患者鼻咽分泌物,鼻分泌物通过一次性鼻咽拭子经鼻腔插入7~8 cm达鼻咽部取得,将取得的标本用生理盐水洗涤,4℃保存。

1.3 DFA检测 采用7项呼吸道病毒检测试剂盒(美国Diagnostic Hybrids公司)对流感等7种呼吸道常见呼吸道病毒进行检测,严格按说明书操作,以每片不少于5只阳性包涵体细胞为阳性,并根据质控片排除非特异性染色。

1.4 IFA检测 采用西班牙VIRCEL公司生产的呼吸道病毒检测试剂盒对9种常见呼吸道病毒进行检测,严格按照试剂说明进行操作,根据质控孔进行判读。

1.5 统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用 χ^2 检验,组间比较采用 t 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

采用DFA及IFA两种方法对90份患者血清和120份健康献血者血清进行检测结果,结果见表1。DFA法检测腺病毒的阳性率为17%(36/210),IFA法检测的阳性率为26%(56/210),二者差异无统计学意义($P>0.05$)。

表1 DFA与IFA检测结果比较[n(%)]

组别	n	DFA 阳性	IFA 阳性	P
腺病毒患者组	90	32(35)	43(47)	0.096
健康组	120	4(3)	13(32)	0.024

210例标本中,64例确诊腺病毒感染。DFA法检出腺病毒阳性36例,确诊腺病毒感染35例;敏感性为54.6%(35/64),特异性为97.2%。IFA法检出腺病毒阳性56例,包括甲型流感病毒感染2例,乙型流感病毒感染3例。腺病毒感染者阳性43例,健康人群阳性13例;敏感性为87.5%(58/64),特异性为48.2%,见表2。DFA法和IFA法的敏感性比较,差异有统计学意义($P<0.01$),二者特异性比较,差异也有统计学意义($P<0.01$)。

作者简介:宋月娟(1986~),女,硕士,主要从事自身抗体的研究和临床检验工作。

表 2 DFA 与 IFA 检测结果的敏感性和特异性比较

组别	检测阳性 (n)	确诊阳性 (n)	假阳性 (n)	敏感性 (%)	特异性 (%)
DFA	36	35	1	54.6	97.2
IFA	56	27	9	87.5	48.2

3 讨 论

大规模流感病毒亚型的快速准确鉴定,对于流感的防治和疫情的控制尤为重要。目前,国内诊断呼吸道感染基本采用电镜检测、培养鉴定法、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)、酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、IFA、凝集法等,有文献指出以上这些方法中,抗原较抗体检测更敏感^[6-7]。以往检测主要采用 IFA 法^[8],目前临床多利用抗原与特异性抗体形成特异性免疫复合物,用 IFA 来鉴定流感病毒亚型,该法形成的复合物可比 DFA 法更多地连接荧光抗体,故较 IFA 法灵敏^[9-10]。

本研究所需标本取自某学校大规模流感流行的腺病毒感染者,实验结果显示,患者采用 DFA 法检测出阳性 32 例,IFA 法检测出阳性 43 例,二者阳性率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。IFA 法较 DFA 法检测更敏感。此外,IFA 法还检出 3 例乙型流感病毒抗体,2 例甲型流感病毒抗体。两种方法的敏感性和差异性比较,差异无统计学意义($P < 0.01$)。运用 DFA 法同时检测 7 种常见的呼吸道病毒^[11],能及时为临床提供病原学资料,在指导合理用药方面具有重要的意义^[12-15]。IFA 法检测呼吸道病毒具有高灵敏性和特异性,而且操作简便,适合临床实验室病毒检测的要求。

参考文献

[1] 方峰. 加强对病毒感染的研究[J]. 中华儿科杂志, 1998, 36(11): 643-644.

(上接第 2841 页)

除样本中一些干扰物质的影响。本验证显示在应用自动化分析仪检测尿蛋白时,国产试剂的各项检测指标均较为满意。

参考文献

[1] 陆怡德,杨帆,董丹凤,等. 氨基糖苷类药物对尿液总蛋白检测的干扰分析[J]. 检验医学, 2012, 27(5): 336-339.
 [2] 徐国宾,蒋琳. 临床生物化学常规定量方法的分析性能评价[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(6): 718-720.
 [3] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 240-244.
 [4] 李萍,姜悦,王惠民,等. 临床实验室管理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 38-40.
 [5] 张秀明,庄俊华,郑松柏,等. 临床化学发光免疫法检测 AFP 的分析性能验证与实验方法[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1293-1297.
 [6] 李岱容,黄维嘉,程大林,等. 邻苯三酚红法定量测定尿蛋白[J]. 江西医学检验, 2002, 20(4): 197-198.
 [7] Marshall T, Williams KM. Total protein determination in urine: elimination of a differential response between the coomassie blue

[2] 莫运波,何扬帆,杨炳中. 儿童急性呼吸道感染 256 例病毒检测分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2008, 23(4): 295-297.
 [3] 孙蒂,林宏,王厚芳,等. 呼吸道系统感染性疾病快速实验室诊断技术的应用[J]. 检验医师, 2003, 2(1): 3-6.
 [4] 黄凌,安邦权,周燕明,等. 直接免疫荧光法对七种呼吸道病毒检测的临床应用[J]. 贵州医药, 2009, 33(5): 422-423.
 [5] 陶国华,郭新荣,吴俊渊. 541 例呼吸道病毒和病毒抗体检测分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2000, 7(1): 19-20.
 [6] 顾伟中,曹群,汤宏峰,等. 直接免疫荧光法对呼吸道分泌物多种呼吸道病毒检测的临床意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2004, 19(10): 857-858.
 [7] 朱汝南,邓洁,王芳,等. 2000 年秋冬季至 2002 年夏北京地区呼吸道感染的病毒病原学研究[J]. 临床儿科杂志, 2003, 21(1): 25-26.
 [8] 徐放生,吴婉芳,王秀芳,等. 新生儿肺炎病原学及临床研究[J]. 中华儿科杂志, 1998, 36(10): 601-603.
 [9] 申昆玲,买颖,刘亚谊,等. 免疫荧光法检测鼻咽物中多种呼吸道病毒抗原[J]. 中华儿科杂志, 1999, 37(7): 401-403.
 [10] 周长江. 呼吸道合胞病毒感染流行病学研究[J]. 实用儿科临床杂志, 2002, 17(4): 425-426.
 [11] 李海珠,吕波,林志方,等. 小儿下呼吸道感染病原体检测与临床分析[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(5): 433-434.
 [12] 周晓聪,徐强,董琳,等. 儿童呼吸道感染谱临床分析[J]. 浙江医学杂志, 2006, 28(4): 293-294.
 [13] 张梓荆. 小儿病毒性呼吸道感染与病毒性肺炎[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1990.
 [14] 王同权,何亚香,季正华,等. 快速检测小儿肺炎病毒病原体 1615 例报告[J]. 苏州医学院学报, 1995, 15(1): 153-154.
 [15] 孙志勤,周建发,张丹,等. 武汉地区 1978 至 1993 年间小儿呼吸道感染病毒感染的实验研究及流行病学分析[J]. 中国实用儿科杂志, 1994, 9(1): 42-43.

(收稿日期: 2013-09-14)

and pyrogallol red protein dye-binding assays[J]. Clin Chem, 2000, 46(3): 392-398.

[8] 胡望平,胡盈莹,陈金花. 用邻苯三酚红钼络合法测定尿液及脑脊液蛋白[J]. 上海医学检验杂志. 2003, 18(6): 340-342.
 [9] 赵桂芝,王淑娟,江忠仪,等. 临床检验学[M]. 3 版. 成都: 四川科学技术出版社, 1997: 226-227.
 [10] 安崇文,李海霞. 连苯三酚红法测定尿液及脑脊液蛋白的再认识[J]. 中国药事, 2012, 26(6): 566-571.
 [11] 刘红彬. 24 小时尿液总蛋白测定及其临床意义的再认识[J]. 中国医疗前沿, 2009, 4(20): 70-71.
 [12] 陈筱菲,池胜英,刘存丽,等. 尿总蛋白测定情况调查和邻苯三酚红钼法评价[J]. 温州医学院学报, 2004, 34(5): 369-370.
 [13] 黄芳. 连苯三酚红法测定尿蛋白的方法学评价[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(4): 507-508.
 [14] 邵天波,郭翀,杨兰辉,等. 24 h 尿蛋白和尿 NAG 与尿蛋白/肌酐比值及尿 NAG/肌酐比值的相关性研究[J]. 检验医学, 2010, 25(5): 385-386.

(收稿日期: 2013-06-07)