

呼吸道九联检与七联检在 500 例患者中的检测结果分析

谷 雷¹, 谷 峰², 陈璐璐³, 解燕川¹, 李武威¹, 齐媛媛¹, 李晶晶^{1△}

(河南科技大学临床医学院/河南科技大学第一附属医院:

1. 中心实验室; 2. 颌面外科; 3. 检验科, 河南洛阳 471000)

摘 要:目的 对患者同时进行呼吸道血清中病原体特异性抗体 IgM 检测(九联检)与鼻咽分泌物脱落细胞病毒抗原检测(七联检), 对比分析检测结果, 探讨临床检测方法的合理应用及价值。方法 选取呼吸道感染患者 500 例为研究对象, 同时采用九联检与七联检对其进行检测, 并将 2 种检测结果进行统计分析。结果 2 种检测方法的阳性符合率依次为腺病毒(30.8%), 呼吸道合胞病毒(12.2%), 甲型流感病毒(57.7%), 乙型流感病毒(60.0%), 副流感病毒 1、2、3 型(23.8%)。检测结果总符合率为 36.2%。九联检的检测阳性率明显低于七联检, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 呼吸道九联检与七联检 2 种检测方法联合应用对提高病原体检出率具有非常重要的临床价值。

关键词:呼吸道感染; 九联检; 七联检; 免疫荧光法; 抗原抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.13.019

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2019)13-1612-03

文献标识码:A

Comparison and analysis of respiratory tract nine combined tests and seven combined tests in 500 cases*

GU Lei¹, GU Feng², CHEN Lulu³, XIE Yanchuan¹, LI Wuwei¹, QI Yuanyuan¹, LI Jingjing^{1△}

(1. Department of Clinical Central Laboratory; 2. Department of Mandibular Surgery; 3. Department of Clinical Laboratory, Clinical Medical College of Henan University of Science and Technology/the First Hospital Affiliated with Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China)

Abstract: **Objective** The specific antibody IgM in respiratory serum(nine combined tests) and exfoliated cytoviral antigen in nasopharyngeal secretions(seven combined tests) were detected simultaneously. The results were compared and analyzed to explore the reasonable application and value of clinical detection methods. **Methods** Totally 500 patients with respiratory tract infections were selected as the research objects. Nine combined tests and seven combined tests were used to detect the respiratory tract infections, and the two results were analyzed statistically. **Results** The positive coincidence rates of the two methods were adenovirus (30.8%), respiratory syncytial virus (12.2%), influenza A (57.7%), influenza B (60.0%) and parainfluenza 1, 2 and 3 (23.8%). The total coincidence rate was 36.2%. The positive rate of the nine combined tests was significantly lower than that of the seven combined tests ($P < 0.05$). **Conclusion** The combination of the two detection methods has very important clinical value in improving the detection rate of pathogens.

Key words: respiratory infection; nine combined tests; seven combined tests; immunofluorescence; antigen-antibody

呼吸道感染包括上呼吸道感染和下呼吸道感染, 下呼吸道感染多由上呼吸道感染不规范治疗, 久治不愈迁延所致。多发于小儿及老年人, 严重影响小儿身心健康及成长, 给对老年人生活也带来诸多不便。90%以上呼吸道感染由病毒引起, 其中甲型流感病毒(IFVA), 乙型流感病毒(IFVB), 腺病毒(ADV), 呼吸道合胞病毒(RSV), 副流感病毒 1、2、3 型(PIV1、PIV2、PIV3)最为常见^[1]。目前, 实验室对呼吸道感染的检测方法主要有 2 种^[2]: 一是采集静脉血血清中病原体特异性抗体 IgM 检测(九联检); 二是采集鼻咽部分泌

物脱落细胞病毒抗原检测(七联检)。2 种检测方法均可以同时检测多种病原, 快速准确, 为临床诊断节省时间, 减少没有针对性的盲目用药率。为探讨 2 种检测方法在临床实验室的实际应用价值, 本研究小组对本院 500 例呼吸道感染患者同时进行九联检与七联检, 并对检测结果进行统计分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 10 月至 2018 年 3 月于本院就诊的 500 例呼吸道感染患者为研究对象, 分别来自儿科、呼吸内科及血液科。其中男 326 例, 女 174

作者简介: 谷雷, 男, 主管技师, 主要从事临床生化免疫与分子生物学检验。△ 通信作者, E-mail: 378558900@qq.com。

本文引用格式: 谷雷, 谷峰, 陈璐璐, 等. 呼吸道九联检与七联检在 500 例患者中的检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(13): 1612-

例。年龄 1~12 岁 456 例,平均(3.96±2.57)岁;13~18 岁 6 例,平均(13.17±2.16)岁;>18 岁 38 例,平均(59.62±5.14)岁。所选患者均具有呼吸道感染的临床症状及体征,由临床医生根据相关诊断标准诊断为呼吸道感染^[3]。

1.2 研究方法

1.2.1 检测方法 同时采用九联检和七联检对患者进行检测,九联检使用间接免疫荧光法(IFA),检测项目包括嗜肺军团菌(LP)、肺炎支原体(MP)、Q 热立克次体(COX)、肺炎衣原体(CP)、IFVA、IFVB、ADV、RSV、PIV1、PIV2、PIV3。七联检采用直接免疫荧光法(DFA),检测项目包括 IFVA、IFVB、ADV、RSV、PIV1、PIV2、PIV3。

1.2.2 标本采集 (1)采用无菌真空干燥采血管采集患者静脉血 2 mL。(2)采用专用无菌咽拭子采集鼻咽部分泌物含鼻咽部脱落细胞。

1.2.3 标本处理 严格按照试剂盒说明书进行操作。(1)静脉血 2 mL,3 500 r/min,离心 10 min,用 PBS 对血清进行 1:1 稀释,取透明干燥试管 1 支,依次加入 100 μ L PBS 缓冲液,100 μ L 血清,充分混匀。用吸附剂对稀释后的样本进行吸附,取透明干燥试管 1 支,依次加入 150 μ L 吸附剂,30 μ L 稀释后的样本血清,充分混匀,3 000 r/min,离心 10 min。制片,取 1 张包被有病原体抗体的载玻片,每孔依次加入 15 μ L 处理过的上清,前 9 孔依次为 LP、MP、COX、CP、ADV、RSV、IFVA、IFVB、PIV1、PIV2 和 PIV3,第 10 孔为质控孔。放入湿盒,37 $^{\circ}$ C 水浴箱孵育 90 min。洗片,用 PBS 缓冲液流水缓慢冲洗孵育后的载玻片,然后用 PBS 缓冲液浸泡 5 min(摇床摇动)。加异硫氰酸荧光素(FITC)结合物,用吸水纸将载玻片四周吸干,自然晾干,每孔依次加入 15 μ L FITC 结合物,放入湿盒,37 $^{\circ}$ C 水浴箱孵育 30 min。用 PBS 缓冲液缓慢冲洗孵育后的载玻片,然后浸泡 5 min(摇床摇动)。封片,用吸水纸将载玻片四周吸干,自然晾干,每孔依次加入封片介质,加盖盖玻片^[4]。(2)采集后的咽拭子,加入 2 mL 标本采集液,采集刷头与采集液充分混匀,漩涡震荡 1 min,弃刷头,3 000 r/min,离心 10 min,弃上清,加入 2 mL 细胞保存液,充分混匀,漩涡震荡 1 min,3 000 r/min,离心 10 min,弃上清,留 200 μ L 于管底,用加样枪吹打混匀,制成细胞悬液。制片,取专用 8 孔载玻片 1 张,每孔依次加入 25 μ L 细胞悬液,40 $^{\circ}$ C 下将玻片风干,4 $^{\circ}$ C 下丙酮固定 5 min,每孔依次加 25 μ L 抗体与 FITC 的结合物,前 7 孔依次为 IFVA、IFVB、ADV、RSV、PIV1、PIV2 和 PIV3,第 8 孔为空白对照孔。放入 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 15 min。洗片,用 PBS 缓冲液流水冲洗 2 遍,将剩余的 FITC 结合物洗掉,40 $^{\circ}$ C 下将玻片风干。封片,每孔依次加入封片介质,加盖盖玻片。

1.2.4 荧光显微镜观察结果^[5] 分别将制好且封片

的呼吸道九联检与七九联检的载玻片置于荧光显微镜载物台上,调整荧光显微镜至 400 $\times$,观察结果。

1.3 统计学处理 收集数据,建立 Excel 表,将数据带入 SPSS20.0 统计软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示;计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 九联检和七联检 2 种检测方法的结果比较 呼吸道九联检对不同病原体的检测阳性率依次为 LP(0.40%),MP(23.60%),COX(0.06%),CP(0.20%),ADV(4.60%),RSV(3.00%),IFVA(15.00%),IFVB(13.00%),PIV1、PIV2、PIV3(7.00%)。七联检对不同病原体的检测阳性率依次为 IFVA(26.00%),IFVB(17.00%),ADV(5.20%),RSV(24.60%),PIV1(0.06%),PIV2(5.60%),PIV3(7.60%)。PIV1、PIV2、PIV3 的总体阳性率为 12.60%。其中九联检和七联检 2 种检测方法均包含的 5 类病原微生物的检测阳性率结果比较,见表 1。

表 1 九联检和七联检对不同病原体的检测阳性率结果比较[n(%)]				
检测结果	七联检	九联检	χ^2	P
ADV	26(5.2)	23(4.6)	0.086	0.769
RSV	123(24.6)	15(3.0)	96.245	0.000
IFVA	130(26.0)	75(15.0)	17.892	0.000
PIV1、PIV2、PIV3	63(12.6)	35(7.0)	8.247	0.004

注:两组方法同时检测 RSV,结果比较 $\chi^2=96.245,P<0.05$;同时检测 IFVA,结果比较 $\chi^2=17.892,P<0.05$;同时检测 PIV1、PIV2、PIV3,结果比较 $\chi^2=8.247,P<0.05$

2.2 九联检和七联检 2 种检测方法的阳性符合率 九联检与七联检的检测结果进行比较,其阳性符合率依次为 ADV(30.8%),RSV(12.2%),IFVA(57.7%),IFVB(60.0%),PIV1、PIV2、PIV3(23.8%)。九联检与七联检的检测结果总符合率为 36.2%。见表 2。

表 2 九联检和七联检 2 种检测方法的阳性符合率结果比较			
病原体(n=500)	七联检检测 结果(n)	九联检符合 例数(n)	符合率(%)
ADV	26	8	30.8
RSV	123	15	12.2
IFVA	130	75	57.7
IFVB	85	51	60.0
PIV1、PIV2、PIV3	63	15	23.8
阴性	73	17	23.3
合计	500	181	36.2

3 讨 论

免疫荧光技术是将已知的抗原或抗体标记上荧光素(荧光标记物),再用其作为分子探针检查细胞内

的相应抗原(或抗体),它是建立在免疫学、生物化学和显微镜技术基础发展起来最早的一种标记免疫技术^[6-8]。该方法利用抗原抗体反应进行抗原或抗体物质的定位,在荧光显微镜下根据荧光标记复合物发出的荧光,判断被检测物质的来源、性质和部位^[9]。

本研究结果显示,九联检部分病原体的检测阳性率明显低于七联检呼吸道病原体的抗原检测,差异有统计学意义($P<0.05$)。七联检是检测抗原,九联检是检测抗体,一般来说抗原检测的阳性率会低于抗体检测,但这可能与九联检是对机体因病原体产生的抗体进行检测,而不同患者用药治疗情况、检测时间点不同,或病原体 IgM 抗体在不同患者血清中表达水平不同有关^[10],七联检是直接咽拭子采集鼻咽分泌物脱落细胞检测病毒抗原,与抗体在体内表达不同的是其更直接。也有研究表明^[11],患者受呼吸道病原体感染后,可在发病后 1 周左右检测到血清中产生的特异性 IgM 抗体,且在急性期呈持续升高趋势。因此,检测患者急性期血清特异性 IgM 抗体对诊断具有重要的意义。宋秦伟等^[12]的研究显示,急性期血清呼吸道病毒 IgM 检测的阳性率低于抗原检测阳性率,与本研究结果相似。

九联检和七联检 2 种检测方法在实际工作中仍存在其各自的优缺点^[13],易受标本取样及实验员操作水平等因素的影响,在一定程度上具有互补作用。呼吸道九联检血清标本取样简便,临床易于接受,除脂、溶血外,很少受标本取样因素的影响,但易受抗体表达水平、玻片质量、实验员以及实验本身原理特性等因素的影响,进而造成其阳性检出率的降低^[14]。七联检取患者鼻咽分泌物脱落细胞^[15],对其进行抗原检测,其取样方式不易于被临床及患者接受,尤其是儿童,因此,取样标本的合格与否非常重要,如果未取到合格的鼻咽分泌物脱落细胞,则整个实验很难成功。综上所述,七联检最主要受标本是否合格的影响,其次易受实验员操作水平等因素的影响。在实际工作中,采用 2 种检测方法同时进行,不仅可以避免因病原体抗体表达的影响,还可以避免因 2 种实验各自的缺点而产生的影响,以降低漏检率。建议临床对原因未明且有待查病因的呼吸道感染患者同时进行呼吸道九联检及七联检,以帮助临床进一步明确诊断患者病因。

4 结 论

本研究采用免疫荧光法检测患者呼吸道病原体感染情况,结合临床资料进行比较分析显示,血清特异性 IgM 抗体受血清学局限,九联检检测阳性率在 ADV、RSV、IFVA、IFVB 及 PIV1、PIV2、PIV3 中显著低于七联检,但对 MP 检测仍具有重要的意义,其中 LP、COX、CP 3 项检出率较低,可与其他实验方法联合应用以提高检出率。七联检因人为取样

因素对标本质量的影响,具有一定的漏检率,因此,七联检联合应用九联检可提高病原体检出率,对疾病的预防、诊断及治疗均具有非常重要的临床意义,为临床合理选择检测方法,更好地解读检测结果提供依据。

参考文献

- [1] 周博. 急性呼吸道感染儿童血清 8 种呼吸道病原体 IgM 抗体检测分析[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(1): 132-134.
- [2] 左万超, 瞿新, 梁荣鑫, 等. 9 项呼吸道病原体联合检测在儿科呼吸道疾病诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(1): 60-62.
- [3] 张波. 反复呼吸道感染的临床概念和处理原则[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(62): 194.
- [4] 李云, 王澜, 胡挺松, 等. 855 例呼吸道感染患者九种病原体 IgM 抗体检测结果分析[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2016, 36(6): 50-53.
- [5] 马兆娟, 李惠萍. 间质性肺疾病急性加重患者九项呼吸道常见病原体检测分析[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(6): 997-1000.
- [6] 王志勇, 阮杰, 梁一. 间接免疫荧光技术在免疫检验实验教学中的应用[J]. 科教导刊, 2017, 9(17): 139-140.
- [7] 杨泉, 席金瓯. 直接免疫荧光法检测儿童呼吸道病毒抗原的结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(16): 2331-2333.
- [8] 何忠发, 卢彦蕙, 韦秀锦. 间接免疫荧光法检测呼吸道非典型病原体临床应用评价[J]. 医学检验与临床, 2017, 28(1): 2767-2768.
- [9] 靳毅, 李玉如, 白植生. 轮状病毒免疫荧光技术[J]. 微生物学免疫学进展, 1986, 14(1): 17-19.
- [10] 陈武, 谢书琳, 陈立坚. 九项呼吸道感染病原体 IgM 抗体联合检测在呼吸道感染诊治中的临床应用价值[J]. 医学检验与临床, 2017, 28(8): 72-73.
- [11] ZENG M Y, CISALPINO D, VARADARAJAN S A, et al. Gut Microbiota-Induced immunoglobulin G controls systemic infection by symbiotic bacteria and pathogens[J]. Immunity, 2016, 44(3): 647-658.
- [12] 宋秦伟, 朱汝南, 邓洁, 等. 血清特异性抗体检测在儿童呼吸道病毒感染病原诊断中应用的探讨[J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(6): 440-444.
- [13] Miffy. 直接免疫荧光和间接免疫荧光染色方法的异同[EB/OL]. [2010-10-19] (2018-09-12). http://www.microimage.com.cn/xwjs/2010/1019/article_8715.html.
- [14] 罗丹, 张晓阳, 高向阳, 等. 普洱市儿童呼吸道感染病原体 IgM 抗体九联检临床应用分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(9): 1205-1206.
- [15] 李权恒, 高文杰, 李金英, 等. 5 150 例急性下呼吸道感染儿童呼吸道病毒检测结果分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(1): 51-54.