

• 短篇论著 •

3 种呼吸道病毒检测方法在呼吸道感染老年患者中的应用比较

曾雅莉¹, 文 双¹, 熊静霆¹, 王舒灵¹, 王 萍², 刘慧敏^{3△}

华中科技大学同济医学院附属梨园医院: 1. 检验科; 2. 呼吸科; 3. 儿科, 湖北武汉 430077

摘 要:目的 比较呼吸道病毒抗原、抗体检测及二者联合检测在呼吸道感染老年患者中的临床应用价值。方法 收集 2019 年 1—12 月该院收治的呼吸道感染老年患者的血清和鼻咽拭子, 利用直接和间接免疫荧光法分别检测呼吸道病毒的抗原和抗体 IgM, 对比分析抗原、抗体及其联合检测的阳性率, 并分析患者性别、年龄、病程对其检测结果的影响。结果 725 例患者中抗原检测、抗体检测、联合检测的总阳性率分别为 36.0%、27.0%、42.9%, 3 种检测方法的总阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同病程患者抗原检测、抗体检测阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。发病 ≤ 2 d、发病 3~4 d、发病 5~6 d 患者抗原检测阳性率均高于抗体检测阳性率($P < 0.05$), 但其联合检测阳性率与抗原检测阳性率比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); 发病 ≥ 7 d 患者联合检测阳性率明显高于抗原、抗体检测阳性率($P < 0.05$)。结论 呼吸道感染老年患者发病早期呼吸道病毒抗原检测优于抗体检测, 与抗原检测相比, 抗原、抗体联合检测没有明显提高阳性率; 抗原、抗体联合检测可以显著提高发病 ≥ 7 d 患者呼吸道病毒检出阳性率。

关键词:老年; 呼吸道病毒; 抗原; 抗体**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.18.027**文章编号:**1673-4130(2021)18-2290-03**中图法分类号:**R446.5**文献标志码:**A

呼吸道病毒是呼吸道感染最为常见的病原微生物, 是导致临床发病率与病死率高的主要原因之一^[1]。老年人由于呼吸系统形态学的变化及身体机能的退化, 成为呼吸道病毒的易感人群^[2]。因此快速检测鉴别呼吸道病毒, 对于患者疾病的诊断及治疗具有重要价值。目前检测呼吸道病毒的方法有病毒培养法、分子生物学方法、免疫学方法。病毒培养法耗时耗力, 假阴性多; 分子生物学的方法灵敏度高, 但对工作人员和实验室要求均较高; 免疫学的方法相对简单, 应用比较广泛^[3]。本研究分析呼吸道感染老年患者呼吸道病毒抗原、抗体检测及其两者联合检测的结果, 旨在比较 3 种检测方法的临床应用价值, 为临床选择合适的检测方法提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1—12 月本院收治的呼吸感染的老年患者(≥ 60 岁) 725 例作为研究对象。其中男 394 例、女 331 例, 平均年龄(75.36 ± 7.82) 岁。研究对象按照年龄分为 60~ <80 岁 542 例和 ≥ 80 岁 183 例。又依据研究对象起病时长分为发病 ≤ 2 d 112 例、发病 3~4 d 147 例、发病 5~6 d 208 例、发病 ≥ 7 d 258 例。诊断标准参照人民卫生出版社《内科学(第 8 版)》。

1.2 仪器与试剂 抗体检测试剂盒为西班牙 VIR-cell 公司呼吸道病原体 IgM 抗体检测试剂盒, 抗原检测试剂盒为美国 Diagnostic Hybrids 公司呼吸道病毒检测试剂盒, 显微镜为德国徕卡公司 Leica DM500 荧光显微镜。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 研究对象入院立即采集鼻咽拭子和血清标本。鼻咽拭子采集方法: 将带有聚丙烯纤维头的拭子轻轻伸入患者的鼻咽部, 停留片刻缓慢旋转取出, 将拭子头进入至含 2 mL 生理盐水的无菌容器中, 立即送检, 用于检测流感病毒 A(IFA)、流感病毒 B(IFB)、腺病毒(ADV)、呼吸道合胞病毒(RSV)、副流感病毒(包括 1、2、3 型, PIV-1、2、3) 抗原。血清标本采集方法: 抽取患者静脉血 2~3 mL 于黄色真空促凝管中, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清用于检测呼吸道病毒抗体 IgM。

1.3.2 呼吸道病毒抗原的检测 (1) 标本准备: 将标本放在漩涡混匀器上充分混匀 10~15 s, 3 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 在沉淀中加 2 mL 磷酸盐缓冲液(PBS), 充分振荡混匀 10 s 再次离心弃上清液, 在沉淀中加 1 mL PBS, 吹打混匀形成细胞悬液。(2) 标本检测: 在 8 孔载玻片的每孔内滴加 25 μ L 的细胞悬

[△] 通信作者, E-mail: 37511025@qq.com。

液,待完全风干,于室温用预冷的 100%丙酮固定细胞约 5~10 mL 后取出风干,在固定并风干好的细胞及抗原对照板上滴加 1 滴 DFA 染色试剂,使其完全覆盖细胞并置于湿盒,放入 37℃恒温箱孵育 30 min,用预先稀释好的洗涤液反复清洗已染玻片 2~3 次,晾干后在固定有细胞的每个孔内加 1 滴封闭液,最后盖上盖玻片在荧光显微镜下观察,若细胞呈现苹果绿荧光为阳性,无绿色荧光为阴性。

1.3.3 呼吸道病毒抗体 IgM 检测 (1)标本准备:先将血清用预先配置好的 PBS 按 1:1 稀释,即 15 μL 血清加入 15 μL PBS,再加入 150 μL 抗人 IgG 吸附剂,混匀后,12 000 r/min 离心 10 min,留上清备用。(2)标本检测:在载玻片的每孔中加入 15 μL 上述处理好的血清后放入湿盒,37℃温育 90 min,用 PBS 冲洗载玻片,然后将载玻片浸泡在 PBS 中 10 min,再用去离子水冲洗载玻片晾干后,每孔加入 15 μL 抗人 IgM FITC 结合物溶液,将载玻片放入湿盒 37℃温育 30 min,重复上述洗涤步骤,待载玻片晾干后,每孔加 1 滴封闭介质,盖好盖玻片在荧光显微镜下观察,若细胞有果绿色荧光为阳性,无绿色荧光为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计数资料用百分数(%)表示,率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种方法检测呼吸道病毒的阳性情况 725 例老年患者中,抗原检测方法检出 261 例至少 1 种病毒阳性,阳性率为 36.0%,其中检出 2 种及以上病毒阳性 24 例,混合感染率 9.20%;抗体检测方法检出 196 例至少 1 种病毒阳性,阳性率为 27.0%,其中检出 2 种及以上病毒阳性 29 例,混合感染率 14.8%;抗原联合抗体检测方法检出 311 例至少 1 种病毒阳性,阳性率为 42.9%,其中检出 2 种及以上病毒阳性 35 例,混

合感染率 11.3%。差异有统计学意义($\chi^2=13.5、7.22、40.1,P<0.05$)。抗原检测阳性率最高为 IFB,其次为 IFA、PIV、RSV、ADV,另外两种检测方法也显示同样的趋势,见表 1。

2.2 不同性别、年龄患者 3 种检测方法阳性率比较 男、女患者抗原检测阳性率、抗体检测阳性率、联合检测阳性率比较差异均无统计学意义($\chi^2=1.48、0.85、1.46,P>0.05$)。两个年龄段间抗体检测阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=4.25,P<0.05$),抗原检测阳性率、联合检测阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.61、0.01,P>0.05$),见表 2。

2.3 不同病程患者 3 种检测方法阳性率比较 不同病程患者抗原检测阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$),随着病程的延长抗原检测阳性率呈降低趋势。不同病程患者抗体检测阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$),随着病程的延长抗体检测阳性率呈下降趋势。不同病程患者联合检测阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。发病≤2 d、发病 3~4 d、发病 5~6 d 患者 3 种检测方法阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=31.39、15.20、6.89,P<0.05$),进一步分析结果显示发病≤2 d、发病 3~4 d、发病 5~6 d 患者抗原检测阳性率均高于抗体检测阳性率($\chi^2=23.60、9.72、4.31,P<0.05$),联合检测阳性率亦均明显高于抗体检测阳性率($\chi^2=27.37、15.67、6.54,P<0.05$),联合检测阳性率与抗原检测阳性率比较差异均无统计学意义($\chi^2=0.16、0.35、0.49,P>0.05$)。发病≥7 d 患者 3 种检测方法阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=10.80,P<0.05$),其联合检测阳性率明显高于抗原、抗体检测阳性率($\chi^2=10.47、4.01,P<0.05$),但其抗原检测阳性率与抗体检测阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.55,P>0.05$),见表 3。

表 1 3 种方法检测各呼吸道病毒阳性率[n(%)]

方法	总阳性率	IFA	IFB	ADV	RSV	PIV
抗原检测	261(36.0)	109(15.1)	124(17.1)	15(2.0)	26(3.6)	43(5.9)
抗体检测	196(27.0)	83(11.5)	103(14.2)	9(1.2)	17(2.3)	49(6.8)
联合检测	311(42.9)	122(16.8)	159(21.9)	17(2.3)	28(3.9)	64(8.8)

表 2 不同性别、年龄患者 3 种检测方法阳性率比较[n(%)]

方法	性别		年龄	
	男(n=394)	女(n=331)	60~<80 岁(n=542)	≥80 岁(n=183)
抗原检测	134(34.0)	127(38.4)	207(38.2)	64(35.0)
抗体检测	112(28.4)	84(25.4)	158(29.2)	39(21.3)
联合检测	161(40.9)	150(45.3)	232(42.8)	79(43.2)

表 3 不同病程患者 3 种检测方法阳性率比较[n(%)]

方法	发病≤2 d(n=112)	发病 3~4 d(n=147)	发病 5~6 d(n=208)	发病≥7 d(n=258)
抗原检测	49(43. 8)	60(40. 8)	80(38. 5)	72(27. 9)
抗体检测	16(14. 3)	35(23. 8)	60(28. 8)	85(32. 9)
联合检测	52(46. 4)	65(44. 2)	87(41. 8)	107(41. 5)

3 讨 论

目前,抗原或抗体检测是临床上常用的呼吸道病毒检测方法,其中直接免疫荧光法是经世界卫生组织评审结果良好,是稳定可靠的抗原检测方法^[4],间接免疫荧光测抗体的方法也有着较高的特异度和灵敏度等优点^[5]。本研究比较这两种检测方法的阳性率结果,分析是否有必要联合检测来提高病原体检出阳性率。这对于指导临床更加快速、合理地明确诊断,减少住院周期及不必要的实验室检测,节约医疗资源有着重要意义。

本研究结果显示,抗原检测、抗体检测、抗原及抗体联合检测总阳性率分别为 36. 0 %、27. 0 %、42. 9 %。从总阳性率来看,联合检测阳性率高于抗原、抗体单独检测,抗原检测阳性率高于抗体检测阳性率,提示总体上抗原、抗体联合检测有助于提高阳性率,具体还需进一步分析。老年人群呼吸道病毒感染以 IFB 为主,其次为 IFA、PIV、RSV、ADV,这与潘婧等^[6]报道结果不同,可能与地域、年份不同有关^[7-9]。3 种方法检测混合感染率约 10 %,高于高巍^[10]报道结果,提示老年人更容易发生呼吸道病毒的混合感染。

本研究结果显示,男、女患者抗原阳性率、抗体阳性率、联合检测阳性率比较差异均无统计学意义($P>0. 05$)。60~<80 岁患者抗体检测阳性率明显高于≥80 岁患者,可能跟≥80 岁老年人的免疫反应明显降低有关^[11]。发病≤2 d、发病 3~4 d 和发病 5~6 d 患者抗原检测、联合检测阳性率均明显高于抗体检测阳性率,但其联合检测阳性率与抗原检测阳性率比较差异均无统计学意义($P>0. 05$),进一步提示在发病早期抗原检测优于抗体检测,这可能与抗体产生的窗口期有关^[12];与抗原检测相比,联合检测并没有显著提高病原体检出阳性率。发病≥7 d 患者联合检测阳性率明显高于抗原、抗体检测阳性率,而其抗原检测阳性率与抗体检测阳性率比较差异无统计学意义($P>0. 05$),提示发病≥7 d 患者联合检测有助于提高呼吸道病毒检出阳性率。

综上所述,建议临床医生依据患者的特点,科学地选择检测手段。对于发病早期的呼吸道感染老年患者,建议优先选择呼吸道病毒抗原检测,对于发

病≥7 d 患者,建议抗原、抗体同时检测,这对于节约患者医疗费用,提高临床诊断效率有重要意义。

参考文献

[1] KALIL A C, METERSKY M L, KLOMPAS M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia 2016 clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america and the american thoracic society[J]. Clin Infect Dis, 2016, 63(5): 61-111.

[2] ZHAO T M. Etiologic characteristics and therapeutic strategies of lower respiratory infections in the elderly[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2017, 16(3): 177-180.

[3] 叶星辰, 杨海鸥, 王静. 呼吸道病毒实验室检测技术的研究进展[J]. 检验医学, 2015, 30(8): 861-865.

[4] 刘芮, 沈秉正, 张启悦, 等. 武汉市 12 881 例住院儿童呼吸道感染病原学分析[J]. 武汉大学学报, 2020, 41(5): 791-795.

[5] 魏英, 武伦, 王靳璿, 等. 2018 年湖北省十堰地区某医院呼吸道 9 种病原体检测结果分析[J]. 湖北医药学院学报, 2020, 39(4): 344-348.

[6] 潘婧, 梁芸, 王金荣, 等. 河北地区老年患者呼吸道感染病病毒病原谱特征及分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(12): 2058-2063.

[7] 李晓晨, 赵志鹏, 赵秀英, 等. 北京地区 1 459 例成人呼吸道病原体 IgM 检测结果临床分析[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(6): 999-1002.

[8] 向星宇, 张红, 高立冬, 等. 湖南省 2012—2014 年发热呼吸道症候群哨点监测结果分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(12): 1419-1423.

[9] 岑军科. 门诊老年患者九项呼吸道非细菌性病原体 IgM 检测分析[J]. 实用预防医学, 2017, 29(1): 15-16.

[10] 高巍. 呼吸道病毒抗原抗体联合检测的临床应用价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(13): 1574-1576.

[11] MARUYAMA M. Age-associated decline in the immune system[J]. Nihon Rinsho, 2013, 71(6): 993-998.

[12] 刘洋. 重视呼吸道病毒感染的实验室检测[J]. 实验与临床医学, 2020, 38(3): 419-422.