

柯萨奇 B 组病毒 IgM 抗体蛋白芯片法检测分析

韦勇¹, 张晓峰¹, 刘洁², 周颖¹

(1. 南京医科大学附属无锡人民医院医学检验科 2. 呼吸科, 江苏 无锡 214023)

摘要: 目的 分析蛋白芯片法检测柯萨奇 B 组病毒(CVB) IgM 抗体的临床应用价值。方法 收集 356 例呼吸道病毒性感染者血清和 85 例非呼吸道感染患者及 30 例健康献血员的血清标本, 同时采用蛋白芯片法和 ELISA 法检测, 进行灵敏度和特异性的比较。结果 蛋白芯片法和 ELISA 法的阳性检出率分别为 27.0% 和 20.8%, 两种方法检测柯萨奇 B 组病毒 IgM 抗体的差异有统计学意义($\chi^2 = 17.3$, $P < 0.01$); 85 例非呼吸道感染的病毒性肝炎患者的血清, ELISA 法检出阳性 7 例, 阴性 78 例, 特异性 91.8%; 蛋白芯片法检出阳性 6 例, 阴性 79 例, 特异性 92.4%; 30 例健康献血员的血清, 两种方法均未检出 CVB IgM 抗体, 特异性 100.0%。结论 蛋白芯片法检测柯萨奇 B 组病毒 IgM 抗体具有灵敏度高、特异性强、标本用量少的特点, 值得推广应用。

关键词: 蛋白芯片; 酶联免疫吸附试验; 柯萨奇 B 组病毒

中图分类号: R466.62 文献标识码: A 文章编号: 1005-4529(2011)19-3984-03

Detection of IgM antibody of Coxsackie B viruses by protein chip method

WEI Yong, ZHANG Xiao feng, LIU Jie, ZHOU Ying

(Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University,
Wuxi, Jiangsu 214023, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To analyze the clinical value of protein chip for detection of CVB IgM antibody. **METHODS** A group of viral respiratory infection and non viral respiratory infection serum specimen were detected by protein chip and ELISA. Their sensitivity and specificity were compared. **RESULTS** The positive rates detected by protein chip method and ELISA method were respectively 27.0% and 20.8%. The positive rate of protein chip was clearly higher than ELISA ($\chi^2 = 17.3$, $P < 0.005$). There was no significant difference in specificity with the two methods with respectively 91.8% and 92.4%. **CONCLUSION** Both protein chip and ELISA for detection of CVB IgM antibody show perfect specificity, while the sensitivity of protein chip is better than that of ELISA, and the interference factor less, thus is more likely to obtain stable and reliable results.

Key words: Protein chip; ELISA; Coxsackie B viruses

柯萨奇 B 组病毒(CVB)是引起呼吸道感染、病毒性心肌炎的重要病原体, 分别有 1~6 个血清型^[1,2]。在 CVB 感染早期产生的 IgM 抗体能够持续数周以上, 此抗体的出现可作为 CVB 的急性期或持续期感染的重要指标之一。IgM 抗体的检出代表近期感染对早期病原诊断、治疗有重要意义。ELISA 方法是目前临床最常用的检测 CVB IgM 抗体的方法, 蛋白芯片技术则是近几年刚被采用的一种新的检测方法^[3,5]。笔者对蛋白芯片法检测柯萨奇 B 组病毒(CVB) IgM 抗体的临床应用价值进行分析, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2009 年 2-3 月来我院就诊的 356 例呼吸道病毒性感染者血清, 男 187 例, 女 169 例, 平均年龄 36 岁; 收集门诊和病房 85 例非呼吸道感染的病毒性肝炎者血清, 男 44 例, 女 41 例, 平均年龄 36 岁; 健康献血人员血清 30 例, 男 16 例, 女 14 例, 平均年龄 33 岁, -20℃保存待检。

1.2 试剂与材料 柯萨奇病毒分型 IgM 抗体联检试剂盒(蛋白芯片法)为深圳赛尔生物技术有限公司产品; 柯萨奇 B 组病毒 IgM 类诊断试剂盒(酶联免疫法)购自北京生物技术研究产品。

1.3 柯萨奇病毒蛋白芯片法的检测 用标本稀释液以 1:20 稀释血清标本于试管中混匀, 取 200 μl 稀释的标本加于芯片方格内, 将芯片置于湿盒中放

置 37 °C 温育 30 min 后用去方格内液体, 每方格内加入 4 滴洗涤液, 连续洗涤 3 次, 用吸水纸吸干周围水滴, 再每格加 2 滴示踪物, 湿盒中 37 °C 温育 30 min, 同上洗涤 3 次, 最后每格加入 2 滴显色液, 孵育显色 10 min 后观察结果。

1.4 柯萨奇病毒 ELISA 法的检测 在预包被板上设一个空白对照孔, 不加任何试剂, 设阴、阳性对照各两孔, 每孔加阴阳性标准液 100 μ l, 其余每个检测孔滴加两滴标本稀释液, 然后直接加待测血清 10 μ l, 混匀, 放置 37 °C 30 min, 洗板后每孔加酶结合物 100 μ l, 混匀后置 37 °C 温育 20 min, 洗板后每孔加 A, B 显色剂各 50 μ l, 37 °C 避光显色 10 min 后观察结果。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件包进行双侧 *t* 检验分析、配对计量资料分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 蛋白芯片法结果判断 在白色背景下观察各方格内显色情况, 阳性显兰色点, 阴性无色; A1、B1、C1、D1 代表质控点; A2、B2 代表 CoxV B1 型显色位点; A3、B3 代表 CoxV B2 型显色位点; A4、B4 代表 CoxV B3 型显色位点; C2、D2 代表 CoxV B4 型显色位点; C3、D3 代表 CoxV B5 型显色位点; C4、D4 代表 CoxV B6 型显色位点; 每次试验质控点均显色, 否则实验无效, 本系统以双位点设计, 若双位点中只有一个显色, 另一位点未显色, 则试验需重复, 阴性结果见图 1, 阳性结果见图 2。

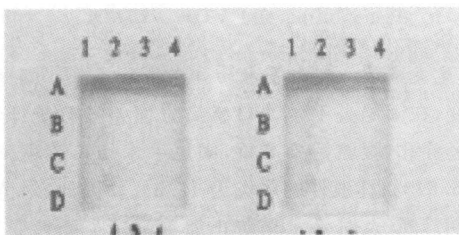


图 1 蛋白芯片法阴性结果

Figure 1 negative result of protein-chip

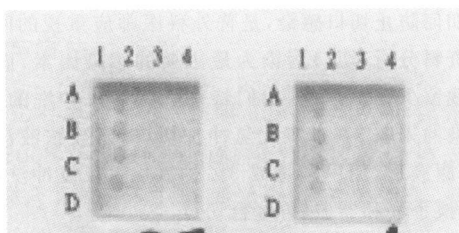


图 2 蛋白芯片法阳性结果

Figure 2 positive result of protein-chip

2.2 蛋白芯片法与 ELISA 法检测 CVB IgM 阳性率 356 例呼吸道病毒性感染者, 血清分别采用蛋白芯片和 ELISA 两种方法定性检测 CVB IgM 抗体。结果显示, ELISA 法检出阳性 74 例, 阴性 282 例, 阳性率为 20.8%; 蛋白芯片法检出阳性 96 例, 阴性 260 例, 阳性率为 27.0%。两种方法检测检测柯萨奇 B 组病毒 IgM 抗体的差异有统计学意义 ($\chi^2 = 17.3, P < 0.01$), 蛋白芯片法与 ELISA 法相比有较高的敏感性。见表 1。

表 1 呼吸道病毒性感染者 ELISA 法与蛋白芯片法的检测结果比较

Table 1 The results of detection of respiratory viral infection by protein chip method and ELISA method

蛋白芯片法	ELISA 法		合计
	+	-	
+	71	25	96
-	3	257	260
合计	74	282	356

2.3 特异性分析 采用同一批号的蛋白芯片试剂和 ELISA 试剂检测 85 例非呼吸道感染的病毒性肝炎患者的血清, 其结果显示, ELISA 法检出阳性 7 例, 阴性 78 例, 特异性 91.8%; 蛋白芯片法检出阳性 6 例, 阴性 79 例, 特异性 92.4%; 30 例健康献血员的血清, 两种方法均未检出 CVB IgM 抗体, 特异性 100.0%。两种方法均具有较高的特异性。

3 讨论

柯萨奇 B 组病毒 (CVB) 是多种病毒性感染疾病的主要病原体, 可引起广泛的临床症状, 如发热、肺炎、上下呼吸道感染、病毒性心肌炎等, 对人类健康会造成严重侵害。快速、简便、可靠地检测出 CVB 有利于早期临床诊断和治疗。在 CVB 感染早期产生的 IgM 抗体能够持续数周以上, 此抗体的出现可作为 CVB 的急性期或持续期感染的重要指标之一^[1,2]。IgM 抗体的检出代表近期感染对早期病原诊断, 治疗有重要意义。

蛋白芯片法和 ELISA 法比较的结果显示, 蛋白芯片法灵敏度较高, 蛋白芯片法和 ELISA 法的阳性检出率分别为 27.0% 和 20.8%, 两者的差异有统计学意义 ($\chi^2 = 17.3, P < 0.01$), 蛋白芯片法的灵敏度高于 ELISA 法。这是因为蛋白芯片是利用抗原和相应抗体特异性结合的双抗体夹心法的原理, 在固相载体上点布高密度的抗体, 捕获待测样本中的抗原, 然后再与标记了示踪标记物的第二抗体结合的

方法来检测柯萨奇 B 组病毒^[4,5], 这大大提高了柯萨奇 B 组病毒的检出率。

蛋白芯片法还具有省时、高效、高通量平行检测的优点。蛋白芯片技术无需特殊设备, 操作简单, 将高度纯化的基因工程柯萨奇 B 组病毒 1~6 型的抗原固定于生物芯片基上后, 只需要加入 10 μl 的患者血清, 血清中的抗体与片基上的抗原结合, 再加入示踪物, 在底物的作用下形成按点样设计的图形, 一次试验即可检测出柯萨奇 B 组病毒的 1~6 型 IgM 抗体的血清状况。检测结果既可肉眼定性观察, 也可用扫描仪定量检测, 结果可永久保存, 是传统检测方法无可比拟的。蛋白芯片上有上万的密集排列的分子微阵列, 能够在短时间内分析大量的生物分子, 快速准确地获取样品中的生物信息, 效率是传统检测手段的数千倍^[6,7]。

特异性分析的结果表明, 蛋白芯片法不仅提高了检出率, 特异性也较高。85 例非呼吸道感染的病

毒性肝炎患者的血清, ELISA 法检出阳性 7 例, 阴性 78 例, 特异性 91.8%; 蛋白芯片法检出阳性 6 例, 阴性 79 例, 特异性 92.4%; 两种方法均具有较高的特异性。

参考文献

- [1] 张露, 瞿自强. 柯萨奇病毒持续感染机制的研究[J]. 国外医学(病毒学分册) 2002, 9(1): 25-29.
- [2] Knowlton KU. CVB infection and mechanisms of viral cardiomyopathy[J]. Curr Top Microbiol Immunol. 2008, 323: 315-335.
- [3] Yip TT, Chan JW, Cho WC, et al. Protein chip array profiling analysis in patients with severe acute respiratory syndrome identified serum amyloid A protein as a biomarker potentially useful in monitoring the extent of pneumonia[J]. Clin Chem, 2005, 51(1): 47-55.
- [4] Zhang XE, Bi LJ. Protein chip for detection of DNA mutations[J]. Methods Mol Biol. 2007, 382: 163-176.
- [5] 董永康, 汤俊明. 蛋白芯片检测肿瘤标志物的临床应用[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(25): 381.

225 例阑尾炎术后切口感染调查分析

高素青, 刘金淑

(濮阳市油田总医院感染控制办公室, 河南 濮阳 457001)

关键词: 阑尾炎; 手术; 切口感染

中图分类号: R181.3+2 文献标识码: B 文章编号: 1005-4529(2011)19-3986-01

阑尾切除术后切口感染是阑尾炎并穿孔、坏疽性阑尾炎术后的主要并发症。为了解阑尾炎术后切口感染率, 笔者对 2009 年普外科住院阑尾炎手术治疗的患者进行了目标性监测, 现将报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 为普外科 2009 年 1-12 月 225 例住院进行阑尾炎手术治疗患者, 年龄 3~72 岁, 平均 35.8 岁, 其中男性 130 例, 女性 95 例。

1.2 调查方法 制定目标性监测方案, 固定 1 名专职人员, 每天深入病房进行前瞻性监测, 及时发现危险因素, 根据卫生部 2001 年颁发的《医院感染诊断标准》每月汇总分析。应用 Excel 2003 进行统计学处理。

2 结果

2.1 切口感染率 225 例阑尾炎患者住院行阑尾切除术后, 切口感染 8 例, 感染率为 3.56%。

2.2 病理分型与切口感染率 根据病理分型切口感染率由高到低依次为阑尾炎并穿孔 16.67%、坏疽性阑尾炎

12.5%、化脓性阑尾炎 5.48%、慢性阑尾炎 4.76%。

3 讨论

3.1 阑尾炎病理分型与手术切口感染的关系 阑尾的不同病理改变, 在阑尾炎手术切口感染方面差异有统计学意义。阑尾一经穿孔, 腹腔污染严重, 阑尾手术切口感染率明显上升, 为 16.67%; 坏疽性阑尾炎为 12.5%。因此, 对急性阑尾炎的早期诊断、及时手术是防止加重阑尾炎病理变化、预防手术切口感染的关键。

3.2 术后切口感染率与伤口类型、手术类别等有关 感染最常见的原因有手术时污染切口、存留血肿和异物、引流不畅等。如何防止切口感染, 是普外科医师应重视的问题。根据本院资料分析, 切口污染为最主要的感染因素, 血肿形成及异物残留少见。因此, 我们特别强调切口冲洗的方法, 有腹腔污染的采取 3% 过氧化氢冲洗切口, 已被脓液污染的切口, 缝合腹膜后, 用甲硝唑或 3% 过氧化氢反复冲洗, 并重新铺单, 更换手套和器械, 再缝合切口。

总之, 在阑尾炎临床治疗中, 应尽早手术, 术中严格执行无菌技术操作, 严密保护切口, 正确进行腹腔和切口冲洗, 及时合理使用抗菌药物可有效降低切口感染率。

收稿日期: 2011-06-11