

FQ-PCR 和 ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原检测结果比较

耿春杰^{1*}, 黄俊会¹, 李曾刚¹, 尹志辉²

(1.邢台市第三医院皮肤科, 河北 邢台 054000; 2.邢台市第三医院检验科)

摘要: 本文对 FQ-PCR 和 ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原的检测结果进行比较, 为临床诊断治疗提供参考。分析邢台市第三医院皮肤性病科 2015~2017 年诊治的生殖器疱疹 60 例患者临床资料。采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA 法) 和荧光定量 PCR 法 (FQ-PCR) 检测样本中单纯疱疹病毒, 检测结果不一致的样本采用单纯疱疹病毒通用引物分析。结果显示 60 例样本中 FQ-PCR 法检测阳性为 46 例, 占 76.7%, ELISA 法检测阳性为 48 例, 占 80.0%, 检测结果不一致样本为 6 例, 占 10.0%; 1 例 FQ-PCR 法阳性而 ELISA 法阴性样本经第二次检测后为阴性, 3 例 ELISA 法检测阳性而 FQ-PCR 法检测阴性样本经第二次检测后阳性为 2 例, 阴性为 1 例; FQ-PCR 法的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 92.4%、96.3%、93.7% 和 94.5%, 而 ELISA 法的上述指标分别为 94.4%、96.3%、93.8% 和 95.8%。因此, ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原敏感性和特异性高, 值得临床推广。

关键词: 荧光定量 PCR 法; 酶联免疫吸附测定法; 疱疹病毒; 抗原; 敏感性; 特异性

中图分类号: R446.61

文献标识码: A

Comparative research on detection results of genital herpes virus antigen by FQ-PCR and ELISA methods

GENG Chunjie, HUANG Junhui, LI Zenggang, YIN Zhihui

(Department of Dermatology, the Third Hospital of Xingtai, Xingtai 054000, Hebei, China)

Abstract: The detection results of genital herpes virus antigen by FQ-PCR and ELISA were assayed. The clinical data of 60 cases of genital herpes diagnosed and treated by dermatology and Venerology in our hospital from 2015 to 2017 were analyzed. Herpes simplex virus was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR). The samples with different results were analyzed by herpes simplex virus universal primers. The results showed that 46 cases were positive by FQ-PCR among 60 samples, accounting for 76.7%. At the same time, ELISA method showed that there were 48 positive cases, accounting for 80%. The inconsistent results were 6 cases, accounting for 10%. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of FQ-PCR and ELISA were 92.4%, 96.3%, 93.7%, 94.5% and 94.4%, 96.3%, 93.8%, 95.8% respectively. So ELISA has high sensitivity and specificity to detect genital herpes virus antigen.

Key words: fluorescence quantitative PCR; enzyme-linked immunosorbent assay; herpes virus; antigen; sensitivity; specificity

生殖器疱疹是临床上最常见的性传播疾病, 给患者的生活质量造成明显的不利影响^[1]。单纯生殖器疱疹病毒 (HSV) 是生殖器疱疹的主要病原菌, 临床上分为 HSV-1 和 HSV-2 两型^[2]。由于生殖器疱疹病毒早期感染症状不显著, 因此, 加强生殖器疱疹病毒的早期诊断对临床治疗具有重要的临床价值^[3]。目前实验室诊断生殖器疱疹的方法包括

细胞培养、抗原检测、PCR 方法和血清抗体检测等^[4]。每种方法在灵敏度、特异性等方面均有明显的优缺点。本文对 FQ-PCR 和 ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原的检测结果进行比较, 为临床诊断治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 分析邢台市第三医院皮肤性病科 2015~2017 年收治的生殖器疱疹 60 例患者的临床

资料。所有研究对象均为初发病例,感染部位包括龟头(23 例)、冠状沟(17 例)、尿道口(11 例)、阴茎(5 例)、阴囊(4 例),未经治疗患者,年龄 18~60 岁,生殖器部位皮肤或黏膜损伤,近日未服用抗生素或抗病毒药物,损害部位未进行外用药物治疗。本文所有患者均知情同意并经医院伦理委员会批准。

1.2 检测试剂及方法 单纯疱疹病毒检测试剂盒(1 型和 2 型)购自中山大学达安基因股份有限公司(HSV-1:甲:5'-ATCACGGTAGCCCGGCCGTGTGTGACA-3',乙:5'-CATACCGGAACGCACACACAAA-3',HSV-2:甲:5'-GATCTGGTACTCGAATGTCTCCG-3',乙:5'-CGCGCGGTCCCAGATCGGCA-3',Lot20160611);酶联免疫吸附测定相关抗体试剂盒购自丹麦 DAKO 公司(兔抗 HSV-1 SM44,兔抗 HSV-2 Sav, Lot20151126);单纯疱疹病毒通用引物检测试剂盒(第二次检测)购自中山大学达安基因股份有限公司(HSV-1:甲:5'-TCACGGGACCTCCTTCGGCAGTA-3',乙:5'-GATCTGGTCACTCGAATCTCTCCG-3',HSV-2:甲:5'-AGACGTGCGGCTCGTACACG-3',乙:5'-CGCGCGGTCCCAGATCGGGCA-3',Lot2051209)。荧光定量 PCR 仪为 AB 公司的 7500 型,全波长酶标仪为 BioTek 公司的 Epoch 型。检测步骤严格依照说明书要求进行。以 HSV 通用引物检测试剂盒作为二次检测,其结果作为检测 HSV 的“金标准”。

1.3 敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值 本文分析 FQ-PCR 和 ELISA 法的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值。敏感性=真阳性人数/(真阳性人数+假阴性人数)*100%;特异性=真阴性人数/(真阴性人数+假阳性人数)*100%;阳性预测值为诊断阳性中有病的概率,阴性预测值为诊断阴性中无病的概率。

1.4 统计分析 数据统计采用 SPSS20.0 软件进行,计数资料采用 χ^2 检验,结果采用百分比(%)表示。

2 结 果

2.1 FQ-PCR 和 ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原结果比较 60 例样本中 FQ-PCR 法检测阳性为 46 例,占 76.7%(混合感染部位为冠状沟 5 例和尿道口 4 例),ELISA 法检测阳性为 48 例,占 80.0%(混合感染部位为冠状沟 6 例和尿道口 5 例),检测结果不一致样本为 6 例,占 10.0%,见表 1。

表 1 FQ-PCR 和 ELISA 法检测 60 例生殖器疱疹病毒抗原结果比较(例,%)

	总样本数	阳性样本	单纯 HSV-1 感染	单纯 HSV-2 感染	混合感染
FQ-PCR 法	60(100.0)	46(76.7)	7(11.7)	30(50.0)	9(15.0)
ELISA 法	60(100.0)	48(80.0)	8(13.3)	29(48.3)	11(18.3)
不一致例数		2	1	1	2

2.2 FQ-PCR 和 ELISA 法检测效果比较 1 例 FQ-PCR 法阳性而 ELISA 法阴性样本经第二次检测后为阴性,3 例 ELISA 法检测阳性而 FQ-PCR 法检测阴性样本经第二次检测后阳性为 2 例,阴性为 1 例,见表 2。

表 2 FQ-PCR 和 ELISA 法检测效果比较(例)

项目	首次检测 不一致	第二次检测	
		一致	不一致
FQ-PCR 法阳性而 ELISA 法阴性	1	1	0
ELISA 法检测阳性而 FQ-PCR 法检测阴性	3	2	1

2.3 FQ-PCR 法和 ELISA 法检测效果评价 FQ-PCR 法的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 92.4%、96.3%、93.7%和 94.5%,而 ELISA 法的上述指标分别为 94.4%、96.3%、93.8%和 95.8%,见表 3。

表 3 FQ-PCR 法和 ELISA 法检测效果评价

项目	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
FQ-PCR 法	92.4%	96.3%	93.7%	94.5%
ELISA 法	94.4%	96.3%	93.8%	95.8%

3 讨 论

生殖器疱疹是生殖器疱疹病毒引起的慢性、终生性感染性疾病,具有周期复发的特点。部分生殖器疱疹感染患者无明显的临床症状,但免疫功能低下患者容易呈现周期性复发的特征。同时,生殖器疱疹病毒感染患者感染艾滋病病毒的风险比非感染患者高 2~3 倍。因此,加强对生殖器疱疹病毒感染的早期诊断并及时采取治疗措施具有重要的现实意义。本文在对 FQ-PCR 和 ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原的检测结果进行比较时发现 60 例样

本中 FQ-PCR 法检测阳性为 46 例,占 76.7%,ELISA 法检测阳性为 48 例,占 80.0%,检测结果不一致样本为 6 例,占 10.0%;1 例 FQ-PCR 法阳性而 ELISA 法阴性样本经第二次检测后为阴性,5 例 ELISA 法检测阳性而 FQ-PCR 法检测阴性样本经第二次检测后阳性为 3 例,阴性为 2 例;FQ-PCR 法的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 92.4%、96.3%、93.7% 和 94.5%,而 ELISA 法的上述指标分别为 94.4%、96.3%、93.8% 和 95.8%,表明 ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原敏感性和特异性高,值得临床推广。

生殖器疱疹病毒在临床上通常采用 PCR 法和酶联免疫吸附测定法进行,但在诊断的效果方面存在一定的差异性^[5-6]。在对生殖器疱疹患者女性性伴 HSV-2 抗体的临床检测时发现研究组的 HSV-2 抗体阳性率显著高于对照组,20~30 岁年龄组的血清 HSV-2 抗体阳性率显著高于 31~40 岁和 41~50 岁年龄组^[7]。以往的研究发现疑似生殖器疱疹患者单纯疱疹病毒抗体检出率高,酶联免疫检测 HSV 抗原的方法可直接检测出泌尿生殖道及皮损中 HSV 病原体,在生殖器疱疹筛查中具有一定的优势^[8],且 DFA 联合型特异 IgG 及 IgM 抗体检测对生殖器疱疹实验室诊断的效果符合临床需要^[9]。荧光定量聚合酶链反应在生殖器疱疹诊断和分型中应用的研究中也发现建立的 FQ-PCR 方法具有高特异性和敏感性,分型、定量准确,方法快速、简便,可用于 GH 的诊断和分型^[10]。早期的研究也发现 ELISA 和 IFA 法检测 HSV 有较高的灵敏度和特异性,均可为临床诊治提供可靠依据^[11],且 3 种检测方法对临床疑似生殖器疱疹患者的检测阳性率差异无统计学意义,但相对另外两种检测方法,ELISA 因其便宜、实用的优点而适用于临床推广应用^[12]。本文 60 例样本中 FQ-PCR 法检测阳性为 46 例,占 76.7%,ELISA 法检测阳性为 48 例,占 80.0%,检测结果不一致样本为 6 例,占 10.0%,与上述研究结论一致。而张永乐等^[13]发现 real-time PCR 方法能够快速、准确地检出 HSV-2DNA,其特异性强、灵敏度高,可用于临床诊断 HSV-2 感染,且李敏^[14]发现生殖器疱疹患者的疱疹抗体检测率较高,并主要以 HSV-2 为主要感染方式,且女性 HSV-2IgG 感染率明显高于男性。在对聚合酶链反应与血清酶联免

疫吸附试验在生殖器疱疹中的应用对比分析的研究中也发现相比于 PCR 法,ELISA 法具有更高的敏感度和特异性,避免了样本间的相互污染,具有临床应用价值,与本文的结论一致。但应当指出的是本文中纳入的病例数存在一定的局限性,在下一步的工作中课题组将不断增大研究的样本量,在更大的研究范围内分析两种方法的差异性。

因此,ELISA 法检测生殖器疱疹病毒抗原敏感性和特异性高,值得临床推广。

参考文献:

- [1] 杨今言,陈赵慧,艾克帕尔·阿布拉江,等.生殖器疱疹病毒感染对免疫水平和性生活的影响研究[J].中华医院感染学杂志,2017,27(20):4607-9.
- [2] 葛帮友,刘影,孙大鹏.探究生殖器疱疹病毒感染对细胞免疫及性功能的影响[J].中国性科学,2016,25(8):71-3.
- [3] 梁俊峰.男性生殖器疱疹病毒感染对精液质量和细胞免疫功能的影响[J].中国实用医药,2015,10(1):70-1.
- [4] 尹兴平,张海平,曹蕾,等.荧光定量 PCR 和酶联免疫吸附法检测生殖器疱疹病毒的对比研究[J].中国实验诊断学,2012,16(7):1260-1.
- [5] 陈昭.天津地区生殖器疱疹流行病学分析及生殖器疱疹早期干预的实验研究[D].天津医科大学,2012.
- [6] 逢婷,邹茂贤,刘志伟,等.广州市番禺区疑似生殖器疱疹患者单纯疱疹病毒抗体检测结果分析[J].海南医学,2015,26(19):2876-9.
- [7] 朱建萍,王建东,叶俊华.生殖器疱疹患者女性性伴 HSV-2 抗体的临床检测[J].北方药学,2015,12(8):194-5.
- [8] 徐雪峰,皮治兵.酶联免疫吸附试验检测单纯疱疹病毒抗体在生殖器疱疹筛查中的应用[J].中国性科学,2015,24(3):63-5.
- [9] 徐刚.DFA 联合型特异 IgG 及 IgM 抗体检测对生殖器疱疹实验室诊断的作用分析[J].中国医学工程,2015,23(1):20-1.
- [10] 刘军连,杜海平,司少艳,等.荧光定量聚合酶链反应在生殖器疱疹诊断和分型中的应用[J].实用皮肤病学杂志,2014,7(4):250-2.
- [11] 曹伟胜,韦方铨,钟群珍,等.三种方法检测生殖器疱疹病毒的临床应用价值[J].中国热带医学,2014,14(4):503-5.
- [12] 张帆,莫银娟,朱丽婷.3 种检测生殖器疱疹方法的对比研究[J].检验医学与临床,2015,12(21):3182-3.
- [13] 张永乐,潘克女,王海,等.检测单纯疱疹病毒 2 型的实时荧光定量聚合酶链反应方法的建立[J].中国艾滋病性病,2016,22(1):44-6.
- [14] 李敏.单纯疱疹病毒抗体检测在生殖器疱疹诊断中的应用[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(75):41-2.

(本文编辑:蒋湘莲)