

HSV型特异性糖蛋白抗体检测及其意义

韩建德,张云青,廖绮曼,陈木开,李欢

(中山大学附属第一医院皮肤性病科,广东广州 510080)

摘要:【目的】探讨以 HSV 型特异性糖蛋白 gG-1 和 gG-2 为抗原的酶免疫方法检测生殖器疱疹(GH) HSV 抗体的应用价值。【方法】以确诊复发性 GH 38 例、初发 GH 8 例为病例组,以 31 例健康献血者为对照组,用 ELISA 方法分别检测血清标本 HSVgG1-IgG 抗体及 HSVgG2-IgG 抗体,并进行结果评价。【结果】复发性 GH 患者血清 HSVgG2-IgG 阳性率为 94.7%,初发 GH 患者阳性率为 25%,对照组阳性率为 9.7%。复发性 GH 血清 HSVgG2-IgG 阳性率明显高于初发 GH 及对照组的阳性率($P < 0.05$)。复发性 GH 与对照组血清 HSVgG1-IgG 抗体阳性率相近,无明显统计学差异。【结论】以 HSV 的型特异性糖蛋白 gG-1 和 gG-2 为抗原检测血清 HSV 抗体是高敏感性和特异性的新一代酶免疫实验方法。通过病毒分离培养及血清学检测均说明 HSV-2 是本地区 GH 的主要病原体,用 ELISA 方法检测血清 HSVgG2-IgG 抗体可以检测出无症状 HSV 感染者,有助于对不典型 GH 患者的诊断并可作为流行病学调查的手段。

关键词:生殖器疱疹;单纯疱疹病毒;HSV 糖蛋白 G

中图分类号:R759

文献标识码:A

文章编号:1672-3554(2005)02-0211-03

Determination and Significance of HSV Type-specific Glycoprotein Antibody

HAN Jian-de, ZHANG Yun-qing, LIAO Qi-man, CHEN Mu-kai, LI Huan

(Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract:【Objective】To investigate the significance of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) based on type-specific glycoproteins (gG-1 and gG-2) from HSV (herpes simplex virus) for type 2 (HSV-2) infections in clinical application.【Methods】The patients diagnosed as genital herpes (GH) were collected as case group (recurrent patients: 38; new-developed patients: 8) and healthy donors (31 persons) as control group. HSVgG1-IgG and HSVgG2-IgG from the serum of the two groups were tested and analyzed by ELISA.【Results】The positive rate of HSVgG2-IgG in recurrent patients with GH was 94.7% (36/38) and that of HSV (gG2-IgG in new-developed patients was 25%, while the positive rate of HSVgG2-IgG in controls was 9.7%. The positive rate of HSVgG2-IgG in recurrent patients with GH was significantly higher than that in normal persons ($P < 0.05$). The positive rate of HSVgG1-IgG in the recurrent patients with GH was similar to that of the normal persons.【Conclusion】ELISA based on type-specific glycoproteins gG-1 from HSV-1 and gG-2 from HSV-2 is a new generation of ELISA with a high sensitivity and specificity. The main pathogen of GH in this region was HSV-2. Determination of serological HSVgG2-IgG by ELISA may diagnose asymptomatic and atypical patients with GH. It can also be used as epidemiological screening method for GH.

Key words: genital herpes; herpes simplex virus; HSVgG

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci),2005,26(2):211-213]

单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)可以通过症状性损害及无症状病毒排放的方式传播^[1]。要控制生殖器疱疹引起人群的传播,关键因素是发现已感染 HSV 但因症状不典型未能明确诊断的

患者。潜伏状态、无症状感染者及症状不典型患者的血清学诊断是目前较为可靠的诊断依据^[2]。本文选取确诊生殖器疱疹患者及普通人群血清标本检测两型单纯疱疹病毒抗体,并评价型特异性血清

收稿日期:2003-12-31

基金项目:广东省科技计划重点资助项目(2002C31203)

作者简介:韩建德(1963-),男,广东广州人,硕士,副教授, E-mail:Hanjd_gzb@21cn.net

学检验方法的使用价值。

1 材料与方 法

1.1 研究对象及分组

本研究 46 例患者均是从我院性病中心就诊患者中选取确诊生殖器疱疹的病例(2002 年 7 月至 2003 年 12 月),其中初次发病 8 例,复发 38 例;病例符合下列 3 项要求者为人选研究对象:①曾有不洁性生活史或性伴有性病史;②生殖器部位出现典型簇集水疱、脓疱、糜烂面、小溃疡等皮疹;③皮损标本经 Vero 细胞培养 HSV 阳性,并进行血清学分型。对照组:对照组血清标本取自健康献血者,31 例。

1.2 实验材料

①细胞株:HSV 培养采用 Vero (猴肾)细胞,由 ATCC 提供,本实验室保存传代。②FITC-HSV 直接免疫荧光试剂盒:购自爱尔兰 Trinity 公司,用于血清分型。③HSV gG1-IgG、HSV gG2-IgG ELISA 试剂盒:爱尔兰 Trinity 公司。④酶标仪: BIO-RAD860

1.3 HSV 分离培养与鉴定

将皮损标本接种到 Vero 细胞。培养阳性细胞收集制成细胞悬液,滴在玻片上,丙酮固定,滴加 FITC-HSV 分型单抗,在荧光显微镜下观察。

1.4 型特异性抗体检测

按照试剂盒说明书进行操作,包被重组 HSV 糖蛋白 G 的微孔条带放于微孔架中,作标记,其中 6 个孔设为对照孔或标准孔。在相应微孔中加 100 μ L 已稀释(均为 1:20)的标准液、对照血清及病人血清。孵育 30 min。吸出孔中的液体,用缓冲液冲洗 4 次。每孔加入 100 μ L 的酶标结合物。孵育 30 min。重复前述冲洗孔板的操作。添加底物溶液 100 μ L 至每一孔中。静置 15 min。按照底物溶液添加顺序,向所有微孔加入 100 μ L 中止反应液。置于酶标仪(450 nm 波长)检测吸光度。

1.5 结果判断方法

按试剂盒说明书进行:①所有检测孔均设复孔;②记录定标物(Calibrator)、阳性对照、阴性对照及病人样本的吸光度值(A),并算出均值(\bar{x});③检测指数(index)=病人样本均值/定标值;④检测指数 < 0.9 为阴性, ≥ 1 为阳性,0.91~0.99为可疑;⑤质控:空白对照 < 0.250 ;如果定标值 < 0.250 ,检测无效,重做。

1.6 统计学方法

将数据输入电脑内,使用 SPSS 10.0 统计软件进行 χ^2 检验处理。

2 结 果

2.1 FITC-HSV 单克隆抗体直接免疫荧光鉴定分型结果

46 例标本经细胞分离培养与单抗鉴定,均为 HSV-2 病毒(图 1)。

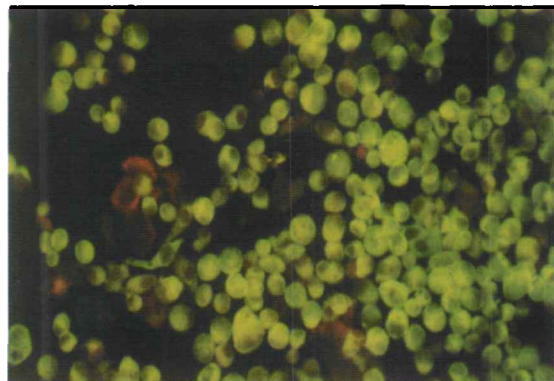


图 1 HSV 分离培养阳性细胞, FITC 标记单抗鉴定阳性
Fig.1 The positive cultured cell with HSV2, identified by HSV2-McAb-FITC

2.2 复发性与初发生殖器疱疹血清 HSVgG2-IgG 抗体检测结果

46 例患者(38 例为复发性 GH, 8 例为初发 GH)血清标本中有 38 例 HSVgG2-IgG 抗体检测阳性;8 例 HSVgG2-IgG 抗体检测阴性,阴性病例中有 6 例是初发病例,2 例为复发病例,也就是仅有 2 例初发病例呈 HSVgG2-IgG 抗体阳性,阳性率为 25%(2/8),而复发患者的 HSVgG2-IgG 抗体阳性率为 94.7%(36/38),见表 1。

表 1 复发性与初发生殖器疱疹血清 HSVgG2-IgG 抗体检测结果

Table 1 The results of HSVgG2-IgG in serum from recurrent and new-developed patients

	HSVgG2-IgG		Total
	negative	positive	
Recurrent patients	2	36	38
New-developed patients	6	2	8
Total	8	38	46

$\chi^2=22.371, P< 0.05$

2.3 复发性生殖器疱疹与对照组血清 HSVgG1-

IgG抗体检测结果

38例复发性GH患者中,33例血清HSVgG1-IgG抗体阳性,阳性率为86.84%;而31例对照组中,27例血清HSVgG1-IgG抗体阳性,阳性率为87.10%, $\chi^2=0.001, P>0.05$ 。

2.4 复发性生殖器疱疹与对照组血清HSVgG2-IgG抗体检测结果

38例复发GH患者中,36例血清HSVgG2-IgG抗体阳性,阳性率为94.7%;而在31例对照组中,3例阳性,阳性率为9.7%(3/31), $\chi^2=50.264, P<0.05$ 。

3 讨论

单纯疱疹病毒可以通过症状性损害及无症状病毒排出的方式引起HSV感染^[1]。一般认为50%的生殖器HSV-1型及70%~80%的HSV-2型感染无症状^[2]。有50%~90%的传染源没有意识到已经感染HSV^[3]。所以要控制GH引起人群HSV传播关键是发现已感染HSV但无症状的感染者和症状不太典型未能确诊的患者。国外目前也主要通过血清学调查来判断人群中HSV感染状况^[4]。

HSV-1主要引起口唇部的感染,并与口腔鳞癌的发病相关^[5]。HSV-2与生殖器感染关系密切。HSV-1的糖蛋白gA、gB、gD与gE分别含有与HSV-2的共同抗原,其抗血清与HSV-2发生交叉反应。糖蛋白G是在HSV-1和HSV-2之间显示出最大电泳差别的外膜蛋白。gG-1和gG-2之间在大小、序列及结构上的广泛差异有效地限制了两型病毒之间的交叉血清学反应^[6]。Whittington等^[7]研究表明这种使用糖蛋白G的ELISA方法在性活跃人群中筛选出未被识别的HSV-2感染是有帮助的。

本资料在检测病例组及对照组血清标本HSVgG1-IgG及HSVgG2-IgG抗体时,使用的ELISA试剂盒中包含的抗原是重组HSV-1的型特异性糖蛋白gG-1和HSV-2的gG-2。在确诊HSV-2感染的复发性生殖器疱疹患者病例组中,HSVgG2-IgG阳性率为94.7%(36/38),说明使用以HSVgG2抗原为基础的ELISA实验方法对检测HSV2感染有较高敏感性。而在对照组中HSVgG2-IgG阳性率仅为9.7%,与病例组有显著统计学差异,说明以HSV-2的gG-2为抗原的ELISA检测方法也有较好特异性。本研究46例生殖器疱疹患者均分离出HSV-2型病毒,而且在38例复发性生殖器疱疹患者与对照组的血清HSVgG1-IgG抗体阳性率无明

显差异,说明本地区生殖器疱疹主要由HSV-2感染引起,与国外报道近年来HSV-1所致生殖器疱疹逐渐增加不一致^[4],推测这可能和国人与国外人性行为方式不一致有关。因此,在本地区使用以HSV-2的gG-2为抗原检测HSVgG2-IgG的ELISA方法可以识别出生殖器疱疹患者中占大部分HSV-2感染,对辅助诊断症状不典型的生殖器疱疹患者有较高临床使用价值,更重要的是可在高危人群中发现无临床症状的HSV感染者。尤其是目前国内能在临床上开展HSV分离培养的单位较少,用该方法作为辅助诊断或作流行病学调查更具实用意义。再者,本研究发现初次发病的生殖器疱疹患者中HSVgG2-IgG抗体的阳性率为25%(2/8),远低于复发性生殖器疱疹94.7%(36/38)的阳性率。这与HSV2-IgG抗体的产生有一定的关系,一般认为HSV2-IgG抗体产生于感染后1-3个月。这也说明本检验对初次发病的病例有一定局限性。

参考文献:

- [1] Corey L. The current trend in genital herpes: Progress in prevention[J]. Sex Trans Dis, 1994,21(suppl): s38-s44.
- [2] Maccato ML, Kaufman RH. Herpes genitalis[J]. Dermatol Clin, 1992, 10(2): 415-22.
- [3] Breninig MK, Kingsley LA, Armstrong JA, et al. Epidemiology of genital herpes in Pittsburgh: serologic, sexual, and racial correlates of apparent and inapparent herpes simplex infection[J]. J Infect Dis, 1990, 162(2): 299-305.
- [4] Buxbaum S, Geers M, Gross G, et al. Epidemiology of herpes simplex virus types 1 and 2 in Germany: what has changed[J]. Med Microbiol Immunol (Berl), 2003, 192(3):177-81.
- [5] 程斌,李秉诗,陈谦明. I型单纯疱疹病毒ul30基因片段在口腔鳞癌细胞中的分布[J]. 中山医科大学学报,1997,18(3):192-4.
- [6] Bergstrom T, Trybala E. Antigenic differences between HSV-1 and HSV-2 glycoproteins and their importance for type-specific serology[J]. Intervirology, 1996, 39(3): 176-84.
- [7] Whittington WL, Celum CL, Cent A, et al. Use of a glycoprotein G-based type-specific assay to detect antibodies to herpes simplex virus type 2 among persons attending sexually transmitted disease clinics [J]. Sex Transm Dis, 2001, 28(2): 99-104.

(编辑 刘清海)