

## ELISA 法检测麻疹病毒 IgM 抗体血清外对照的设置及意义

杨庆利, 刘巍, 卓家同, 韦一如, 班华国, 谢镇国  
广西壮族自治区疾病预防控制中心(南宁 530021)

**[摘要]** 目的 为了严格控制麻疹 IgM 抗体 ELISA 检测试剂的质量, 消除试剂误差产生的检测错误。方法 根据麻疹 IgM 抗体定量测定结果, 选择标准曲线线性良好部分血清标本制备外对照血清, 并计算出外对照血清对于相应公司试剂的参考值范围。结果 实验测得外对照血清的活性为 48.2~60.5 Units/ml, 对于海泰公司试剂的 OD 参考值范围是 0.630~0.674。用此外对照血清对 2 个公司共 5 个批号的试剂盒做复核验证, 发现海泰公司批号为 20040806 试剂盒检测结果失控, 而正是此批号试剂对 116 份血清标本的检测阳性率和符合率明显低于其它试剂盒。还验证了此外对照血清的有效活性在 4℃条件下可至少维持 6 个月。结论 对于只有阴/阳性定性指示的 ELISA 检测试剂盒, 制备特定 OD 值范围的外对照质控血清很有必要。

**[关键词]** ELISA; 麻疹病毒; IgM 抗体; 血清外对照

**Value of extra serum control in ELISA for measles virus IgM antibody detection** YANG Qing-li, LIU Wei, ZHUO Jia-tong, et al. Guangxi Center for Disease Prevention and Control, Nanning 530021, China.

**[Abstract]** **Objective** To accurately control the quality of measles virus IgM ELISA kits and eliminate the false results caused by reagents. **Methods** Based on measles virus IgM quantification, standardized extra control serum was selected from the scale of standard curve with good linearity and its referential value was measured by kit of certain company. **Results** The biological activity of extra control serum was 48.2~60.5 units/ml, and its OD referential range measured by the kit of "Hai Tai" company was 0.630~0.674. Through the usage of extra control serum in 116 samples' detection by kits of 5 batches from 2 companies, we found that the batch 20040806 kit of "Hai Tai" not only lost control, but also showed lower positive and coincident rate in contrast to others. The activity of extra control serum could be maintained at least for 6 months at 4℃. **Conclusion** It is necessary to prepare extra control serum with definite OD range from those measles virus IgM ELISA kits only having qualitative referential positive/negative serum.

**[Key words]** ELISA; Measles virus; IgM antibody; Extra serum control

用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 定性检测麻疹病毒血清 IgM 抗体时, 由于某些试剂盒内提供的阴/阳性对照血清只能定性指示, 无 OD 值参考范围, 因此凭借试剂盒内阴/阳性对照血清指示有时会造成检验结果的失控而出现假阴/阳性结果。为了提示检测结果的误差, 我们制备了试剂盒外的对照血清, 专门针对临界值标本进行控制, 实验及评价过程如下。

### 1 材料和方法

1.1 标本来源 选择近年来我室收集的麻疹 IgM 抗体 ELISA 检测 OD 临界值附近血清标本共 116 份。

1.2 检测试剂 麻疹 IgM 抗体 ELISA 检测试剂盒购

自德国 Institut Virion \ Serion GmbH 公司 (以下简称 Virion 公司, 批号为 SHU.BP) 和广东珠海海泰生物制药有限公司 (以下简称海泰公司, 批号为 20040806、20041101、20050117 和 20050323)。

1.3 检测方法 首先用 Virion 公司出品的麻疹 IgM 检测试剂盒定量检测全部血清样本, 方法是预先用类风湿因子 (Rf) 吸收剂处理待检血清, 随后用间接 ELISA 法检测血清中麻疹病毒 IgM 抗体, 再用 SERION easy base 4PL 软件计算抗体活性, 用 Units/ml 表示; 其次用海泰公司出品的上述 4 个批号麻疹 IgM 抗体检测试剂盒定性检测, 采用捕获 ELISA 法。

1.4 统计学处理 用 SPSS10.0 for Windows 统计学软件, 采用 ANOVA 和  $\chi^2$  检验。

### 2 结果

2.1 ELISA 法检测麻疹 IgM 抗体结果 用 2 个公司 5 个批号 ELISA 试剂对 OD 值临界的 116 份血清进

基金项目: 广西壮族自治区疾病预防控制中心资助项目, 合同编号: 20030010

作者简介: 杨庆利 (1973-), 男, 河北省玉田县人, 主管技师, 硕士, 主要从事免疫学及病毒学检测工作。

行检测并比较结果,计算每种试剂检测阳性率;将海泰公司4个批号试剂的检测结果与Virion公司试剂检测结果比较并计算符合率。结果发现,海泰公司批号为20040806试剂盒麻疹IgM抗体检测阳性率和符合率分别为3.4%和64.7%,明显低于其余批号试剂盒检测结果( $P < 0.01$ ),而海泰公司其它批号试剂盒的检测阳性率和符合率均无差异( $P > 0.05$ ),结果见表1。

表1 各批号试剂盒麻疹IgM检测阳性率和符合率(%)

	Virion 试剂 (SHU.BP)	海泰试剂* (20040806)	海泰试剂 (20041101)	海泰试剂 (20050117)	海泰试剂 (20050323)
阳性率	38.8	3.4	41.4	40.5	39.7
符合率	100	64.7	97.4	98.3	99.1

\*阳性率  $\chi^2 = 56.75, P < 0.01$ ; 符合率  $\chi^2 = 140.28, P < 0.01$

## 2.2 麻疹IgM抗体外对照血清的制备 首先根据Virion公司试剂检测结果并参照试剂盒标准曲线

表2 外对照血清对两个批号试剂复核的OD值

试剂批号	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
20040806	0.214	0.335	0.301	0.445	0.379	0.260	0.482	0.409	0.321
20050117	0.640	0.651	0.648	0.638	0.662	0.670	0.647	0.650	0.663
20050323	0.656	0.641	0.665	0.632	0.644	0.638	0.645	0.655	0.661

率均有差异的批号为20040806试剂盒,外对照血清9次复核OD值均在0.630~0.674参考值范围以外;而对于检测结果符合率很好的批号为20050117和20050323试剂盒,9次复核OD值均在参考值范围以内。由此,用某试剂盒检测时根据外对照血清OD值是否失控就能指示试剂盒误差,提示检测结果失控。

2.4 外对照血清的定期复核与更新 外对照血清制备后1、3、6月,用Virion公司试剂(批号SHU.BP)定量检测其活性(Units/ml)变化;其次用海泰公司试剂(批号20041101、20050117和20050323)重复测定其OD值,了解外对照血清的稳定性和有效指示期限。结果显示,先后用Virion公司和海泰公司3个批号试剂定量测定此外对照血清的活性和OD值范围,结果均无差异( $P > 0.05$ ),见表3。这说明,此外对照血清的有效性至少可维持6个月。

表3 外对照血清的定期复核

	1个月	3个月	6个月
Units/ml	54.1±3.1	53.8±2.8	51.3±2.6
OD值	0.653 ±0.014	0.651 ±0.012	0.649 ±0.011

图,截取Cutoff值以上曲线线性较好的部分,取此部分中间点处OD值所对应的血清样本制备外对照血清。将选出的血清用pH7.2 PBS 1:100稀释并加入0.2%BSA和0.05%叠氮钠,置于4℃保存。

用Virion公司试剂(批号为SHU.BP)对此外对照血清进行麻疹IgM抗体定量测定,然后用海泰公司试剂(批号为20041101)对外对照血清进行重复检测,实验由3人进行,每人重复3次。结果测得此外对照血清的活性为48.2~60.5 Units/ml,对于海泰公司试剂的OD参考值范围是0.630~0.674(均按照均数±1.96标准差制订)。

2.3 外对照血清对试剂误差的提示 为了验证外对照血清对试剂盒误差的指示作用,用其分别对海泰公司批号为20040806和20050117试剂盒进行复核。实验由A、B、C3人进行,每人重复3次,结果见表2。

可见,对于检测阳性率和试剂间检测结果符合

## 3 讨论

在麻疹实验室日常检测工作中发现,选用某试剂盒进行麻疹IgM定性检测时,有时阴/阳性对照虽然正常显色,却不能提示试剂误差,很容易出现假阴/阳性结果。为了弥补试剂盒内阴/阳性对照的缺陷,我们参照相关方法<sup>[1]</sup>制备了标准外对照血清,并且测定了其活性值和对于特定公司试剂的OD值范围。设置标准外对照血清的目的是用其定量指示试剂误差,通过考察外对照血清检测结果是否失控,就能控制整个实验过程的质量,尤其对于试剂盒误差有重要的提示作用。在实际工作中首先可以用外对照血清复核新购相应公司不同批号试剂的质量;其次可以用外对照血清代替试剂盒内只能定性指示的阳性对照血清。ELISA法仍是目前麻疹IgM抗体检测的主要方法,ELISA间接法和竞争法的检测阳性率并无差异<sup>[2]</sup>。本次研究发现,某一批号试剂与其他批号试剂之间检测阳性率和符合率有明显差异,这种差异不是由于ELISA检测方法造成,而是由于试剂盒本身质量问题。因此,有必要针对特定公司试剂制备标准外对照血清指示不同批号试剂的误差。定期定量检测外对照血清的活性是保证其有效性的

重要环节,我们初步判定其有效性至少可维持6个月。总之,制备麻疹IgM抗体外对照血清对控制麻疹IgM ELISA检测质量有重要意义。

## [参考文献]

[1] 杨屹,刘雪娟,孟茹,等.弱阳性外部对照质控血清

的制备方法[J].中国国境卫生检疫杂志,2004,27(5):269-270.

[2] 蒋泓,许文波,Sato Takeshi.乳胶凝集法检测麻疹IgM抗体的应用[J].中国计划免疫,2003,9(2):98-100.

收稿日期:2005-07-28

## 某学院入学新生健康状况分析

张发能,蒙诗德

广西玉林师范学院校医院(537000)

笔者对玉林师范学院2005、2000、1996及1991年入学新生的健康体检结果进行比较,现分析如下。

### 1 对象与方法

1.1 对象 玉林师范学院1991、1996、2000和2005年的入学新生共6072人,其中男生2854人,女生3173人。

1.2 方法 按照《2000年全国学生体质健康状况调查研究细则》的要求,组织专业人员经统一培训后,按统一方法和标准进行检测。

1.3 诊断标准 视力低下、沙眼、龋齿、色觉障碍、肝功能及皮肤病等诊断标准参照文献<sup>[1-3]</sup>。

### 2 结果与分析

1991~2005年入学新生健康检查结果见表1。

表1 1991~2005年入学新生患病率(%)

年级	人数	视力低下	沙眼	龋齿	色觉障碍	肝功能异常	HBsAg(+)	血压升高	皮肤病	其它
1991	273	68.86	9.52	33.70	1.47	5.86	12.45	2.93	1.83	3.29
1996	1123	70.88	7.84	21.02	1.07	4.04	16.38	3.83	1.42	3.21
2000	1709	73.84	3.80	14.63	2.34	3.16	17.79	2.98	1.58	5.21
2005	2922	78.18	2.70	6.54	1.06	0.99	10.92	2.12	0.75	2.60
合计	6072	75.16	4.28	12.76	1.44	2.79	13.95	2.72	1.16	3.46

入学新生视力低下率平均为75.16%,明显高于陕西省合阳县学生<sup>[1]</sup>(58.20%)和甘肃省汉族学生<sup>[3]</sup>(52.19%),与南京大学新生<sup>[2]</sup>(74.38%)相近。视力低下率居高不下,并呈逐年上升趋势,这与教室采光照度不够,不注意用眼卫生,学习负担过重有直接因果关系。提示减轻学生学习负担,注意用眼卫生,纠正学生读写姿势,指导学生养成良好的用眼卫生习惯,创造和改善学生的学习环境,课桌椅要符合标准,人工照明和采光要达到国家规定的标准,是降低视力低下的重要措施。1991~2005年,沙眼、龋齿、肝功能异常检出率和HBsAg(+)率均有明显下降,其原因之一是学生健康意识提高,注意个人卫生;二是各级卫生、教育部门注重加强了学生常见病防治工作;三是学校改善水、洗手等卫生设施,积极开展预防沙眼知识的宣传和口腔健

康教育。积极开展了学生健康体检,做到了早发现、早治疗。肝功能异常检出率和HBsAg(+)率有逐年下降趋势,这与乙肝疫苗接种率的提高,一次性医疗用品的使用和生活习惯的改变有直接关系。因此,在今后的学校卫生工作中,要加大乙肝预防知识宣传的力度,宣传并普及乙肝疫苗的接种,以促进学生健康成长。

## [参考文献]

[1] 王建民,马晓红.合阳县1999~2002年高考学生体检结果分析[J].中国学校卫生,2005,26(4):326-327.

[2] 杲强.甘肃省汉族学生2000年视力状况分析[J].中国学校卫生,2005,26(3):238-239.

[3] 孙鸣.南京大学新生健康状况调查[J].中国学校卫生,2004,25(2):216.

收稿日期:2006-04-10