

两种麻疹抗体 IgG 定量检测方法的比较

陈辉, 段永翔

[关键词] 麻疹抗体; 定量; 酶联免疫吸附
[中图分类号] R511.1 [文献标识码] B

[文章编号] 1003-8507 (2005) 06-0634-02

多年来, 根据国标, 麻疹抗体 IgG 定量检测一般采用酶联免疫吸附试验即包被抗原过夜, 将血清稀释成 4 个稀释度加麻疹抗原与对照抗原, 比较 OD 值得出血清的抗体效价。此方法费时、麻烦、工作量大, 我们采用国外较先进的麻疹抗体 IgG 酶联免疫吸附试验进行定量检测试剂盒, 操作简便、快速, 判断结果方便、准确。

1 材料与方 法

1.1 样本 静脉抽取不同年龄段的正常人群血液 136 例离心分离血清, -20℃保存待用。

1.2 试剂 酶免测定麻疹病毒 IgG 抗体 (定量) 试剂盒 (中国预防医学科学院病毒学研究所全国病毒病诊断中心实验室, 有效期: 2005.02), 此试剂盒生产厂家以下简称病毒所。

酶免测定麻疹病毒 IgG 抗体 (定量) 试剂盒 (德国维润, SIS 29)

1.3 方法 用病毒所试剂盒检测样本, 得出滴度浓度, 随意抽取 1: 800, 1: 3200, 1: 12800 3 种滴度样本各 1 份进行倍比稀释, 以稀释后血清为样本, 分别用病毒所、德国维润试剂进行测定。假设抗体的滴度浓度与国际单位浓度有一定的关系, 对 136 份样品分别用两种试剂盒进行检测。

2 结果

2.1 血清稀释倍数与抗体含量的关系 用病毒所试剂盒检测 20 份血清样品, 得出样品的滴度浓度, 随意抽取 1: 800, 1: 3200, 1: 12800 3 种滴度样本各 1 份进行倍比稀释, 稀释后样品分别用病毒所、德国维润试剂进行测定, 结果见表 1、表 2、表 3。

表 1 两种试剂检测样品 1 (滴度为 1:800) 的结果

稀释倍数	病毒所		德国维润	
	OD 值	结果	OD 值	结果
原液	0.299/0.052	1:800	1.437	0.76
1:2	0.143/0.044	1:800	0.900	0.40
1:4	0.270/0.032	1:200	0.472	0.17
1:8	0.162/0.023	1:200	0.293	0.10
1:16	/	<1:200	0.191	0.07
1:32	/	<1:200	0.141	0.05

维润试剂盒测定抗体含量与血清稀释倍数 (相关系数 $r=0.998, P<0.005$) 有相关性。

表 2 两种试剂检测样品 2 (滴度为 1: 3200) 的结果

稀释倍数	病毒所		德国维润	
	OD 值	结果	OD 值	结果
原液	0.373/0.034	1:3200	2.598	3.20
1:2	0.118/0.013	1:3200	2.025	1.51
1:4	0.228/0.029	1:800	1.621	0.94
1:8	0.119/0.018	1:800	0.985	0.42
1:16	0.229/0.025	1:200	0.599	0.23
1:32	0.134/0.024	1:200	0.271	0.10

维润试剂盒测定抗体含量与血清稀释倍数 (相关系数 $r=0.996, P<0.005$) 有相关性。

表 3 两种试剂检测样品 3 (滴度为 1: 12800) 结果比较

稀释倍数	病毒所		德国维润	
	OD 值	结果	OD 值	结果
原液	0.418/0.001	1: 12800	2.852	4.92
1:2	0.264/0.002	1:12800	3.029	7.16
1:4	0.144/0.002	1:12800	2.808	4.52
1:8	0.186/0.005	1:3200	2.221	1.92
1:16	0.432/0.009	1:800	1.780	1.13
1:32	0.234/0.006	1:800	1.003	0.43

维润试剂盒测定抗体含量与血清稀释倍数相关系数 $r=0.698$

因抗体含量过高时, 影响抗原抗体特异性结合, 除去原液测定的数据, 维润试剂盒测定抗体含量与血清稀释倍数 (相关系数 $r=0.990, P<0.005$) 有相关性。

2.2 假设滴度与抗体含量的关系 根据以上结果假设滴度与抗体含量有一定关系如表 4 所示。

表 4 假设滴度与抗体含量的关系

抗体滴度	抗体含量 (U/mL)
< 1:200	< 0.1
1:200	0.1 ≤ 含量 < 0.4
1:800	0.4 ≤ 含量 < 1.6
1:3200	1.6 ≤ 含量 < 3.2
≥ 1:3200	含量 ≥ 3.2

[作者单位] 深圳市南山区疾病预防控制中心, 深圳, 518054

[作者简介] 陈辉 (1968~), 女, 主管技师, 主要从事疾病控制

因抗体含量过高时,影响抗原抗体特异性结合,因此当抗体含量 ≥ 3.2 U/mL时,血清进行16倍稀释后,用德国维润试剂加多1孔进行测定。

2.3 根据假设,两种试剂对血清样品结果的比较 病毒所、德国维润试剂分别对136份正常人血清样本进行测定,根据以上假设,对维润试剂测定的国际单位含量值换算成抗体滴度,结果如表5。经秩和检验 $P > 0.05$,两方法差异无显著性。

表5 两种试剂检测正常人血清样本的结果

抗体滴度	病毒所	线润
< 1:200	2	2
1:200	30	31
1:800	62	64
1:3200	20	18
1:12800	19	20
> 1:12800	3	1
合计	136	136

3 讨论

间接酶联免疫试验用于检测麻疹特异性IgG抗体,其原理是将麻疹病毒抗原吸附在固相载体上,随之与病人血清反应,存在于血清中的特异性IgG抗体与麻疹病毒抗原结合,然后用酶标记的抗人IgG结合物检测,检出特异性抗体^[1]。以上两种试剂盒原理相同,但在操作及结果报告上存在一定的差异。国内常用的试剂盒一般要求客户自己稀释包被抗原4℃放置过夜,待检血清稀释1:200、1:800、1:3200、1:12800 4个稀释度,每个稀释度加麻疹抗原与对

照抗原各1孔,培养测定。凡同一稀释度下麻疹抗原OD值/对照抗原OD值 > 2.1 为阳性,阳性之最高稀释度的倒数即为该血清的抗体效价^[2]。而德国维润公司采用国外先进的技术和抗原包板,只需将血清1:100倍稀释后直接加样培养测定,在结果报告上采样4PL单点定量算法,使用非线性函数可以保证把OD值信息精确地换算成定量浓度值,同时提供相应的计算软件^[3],客户只需每次检测时测量标准血清,且测量值在有效范围内,通过软件计算即可得出抗体的含量。通过对3个不同滴度的样品倍比稀释进行测定,维润试剂检测的含量与稀释倍数有一定的相关性,相关系数分别为:0.998、0.996、0.990。对于高滴度样品,因抗体含量过高,影响抗原抗体的特异性结合,结果有一定误差,同时含量与滴度之间也存在一定的关系。

含量和滴度均表示血清中抗体的量,只是表达的单位不同,当含量 ≥ 3.2 U/ml时,因抗体含量过高,影响抗原抗体的特异性结合,对血清样品稀释16倍后加做1孔进行测定。

对136份正常人群样品运用两种试剂盒分别进行测定,把维润公司提供的试剂盒测定的含量值根据假设换算成滴度,两者进行比较,两方法测定抗体量差异无显著性。

德国维润公司生产的试剂盒操作简便,耗时少,结果判断准确、可靠,但成本过高,在条件允许的情况下可推广使用。

[参考文献]

- [1] 刁连东. 麻疹[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2001.
- [2] 麻疹诊断标准及处理原则[S], GB15983-1995;
- [3] SERION ELISA class Masern Virus/Measles Virus IgG/ IgM (quant) Virion[M].

[收稿日期] 2004-12-02

(上接第629页)

因,可能与机体的免疫功能差异有关,年龄是影响全程免疫成功的重要因素^[3-4]。表1随着年龄的增大,免疫功能的减退,抗体产生的阳性率也逐渐下降,提示对免疫功能减退的老年体弱者,根据情况适当增加免疫次数是有必要的。在本资料中,完成了全程免疫,但血清抗体检测阴性者,有72例进行了狂犬疫苗补接种,其中有42例血清抗体转为阳性,阳转率为58.33%,提示对狂犬疫苗常规免疫失败的人群,经复种后大多数人能获得免疫效果。证明适当增加免疫次数效果较为理想。同时,除个体差异外,免疫效果的差异是否与国产疫苗的质量或在疫苗运输、保存、使用等诸多环节达不到要求而造成疫苗的效价下降有关,值得进一步探讨。

从对全程免疫后抗体检测的性别分析,男性抗体阳转率为84.01%,女性抗体的阳转率为82.74%,说明纯化狂犬疫苗在不同性别的人群中具有相同的免疫效果,对性别无选择作用。

本文狂犬疫苗常规接种失败后,经补种仍有少数人对

目前使用的纯化疫苗未发生免疫应答,能否通过对暴露者使用抗狂犬免疫血清,或加大狂犬疫苗免疫剂量或针次,联合免疫佐剂等措施,最大限度提高初次免疫成功率,是今后狂犬病预防工作中值得研究和探讨的课题。

(温岭市疾病预防控制中心朱灵芝主管检验师参加此项调查工作,谨致谢忱。)

[参考文献]

- [1] 徐葛林,吴杰,吴泰才,等. 多种方法对广西地区健康犬带狂犬病毒的调查[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(3): 108~109
- [2] 朱维正. 狂犬病防制工作的几点建议[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(5): 94~95
- [3] 刘北航. 狂犬疫苗免疫后抗体水平分析[J]. 现代医药卫生, 2001, 17(5): 378
- [4] 吴燕. 两种狂犬疫苗接种后人体抗体水平比较[J]. 湖北预防医学杂志, 2001, 12(6): 15

[收稿日期] 2004-10-08