

· 论 著 ·

国产麻疹病毒 IgG 抗体检测试剂盒使用评价

Evaluation on domestic measles virus IgG detection kit

戴莹, 雷亚克, 胡兵, 岳苗苗, 李国明

DAI Ying, LEI Ya-ke, HU Bing, YUE Miao-miao, LI Gou-ming

湖北省疾病预防控制中心菌毒种保藏室, 湖北 武汉 430079

摘要:目的 以 Serion 麻疹病毒 IgG 试剂作为参比试剂, 以德国 IBL 作验证试剂, 通过实验评价国产麻疹病毒 IgG 抗体检测试剂盒的应用价值。方法 应用国产试剂和参比试剂对 369 份健康人血清进行抗体水平检测, 对于初试检测不一致或差异较大的样品用 Serion 试剂进行了复试, 并对复试结果仍不一致的样品用德国 IBL 试剂进行验证分析, 依照标准品绘制标准曲线, 计算麻疹抗体浓度。通过与参比试剂检测方法比较, 计算其敏感性、特异性、相关性等指标。结果 定性结果显示, 国产试剂与参比试剂相比较, 其灵敏度为 97.7%, 特异度为 99.3%, 假阳性率为 0.7%, 假阴性率为 2.3%, 阳性预示值为 99.5%, 阴性预示值 96.7%。国产试剂与参比试剂定量分析结果的相关性进行回归分析, $P < 0.01$ 。结论 该国产试剂操作规范, 简单快捷, 单份检测费用低廉, 不受条件限制, 利于大量标本的快速检测, 对麻疹的临床诊断、流行病学调查, 提供了一种更为简捷、确切可行的检测手段。

关键词: 麻疹; 抗体; 酶联免疫吸附试验

中国图书资料分类号: R115

文献标识码: A

文章编号: 1004-1257(2017)02-0173-03

Evaluation on domestic measles virus IgG detection kit

DAI Ying, LEI Ya-ke, HU Bing, YUE Miao-miao, LI Gou-ming

Bacterial Virus Storage Room, Hubei Center for Disease Control and Prevention, Wuhan Hubei 430079, China

Abstract: [Objective] To evaluate the application value of domestic measles virus IgG reagent by the experiments with the reference reagent of Serion measles virus IgG reagent and verification reagent of Germany IBL reagent. [Methods] The antibody levels of 369 healthy human serum samples were detected by domestic reagent and reference reagent respectively. The samples with inconsistent results or remarkably different results were detected by Serion reagent, and the samples with inconsistent results in re-examination were studied by verification analysis with Germany IBL reagent. According to the standard curve, the measles antibody concentration was calculated. Compared with the reference reagent, the sensitivity, specificity and correlation were calculated. [Results] The qualitative analysis results showed that: when the domestic reagent results were compared with data of reference reagent, the sensitivity and specificity of the domestic reagent was 97.7% and 99.3% respectively, false positive rate and false negative rate was 0.7% and 2.3% respectively, positive predictive value and negative predictive value was 99.5% and 96.7% respectively. As for the quantitative analysis, there was significant correlation between domestic reagent and reference reagent, which P value was less than 0.01. [Conclusion] The domestic reagent has the advantages of standardized, simple and quick operation, low cost of single detection, and no restriction, which is suitable for rapid detection of a large number of samples. It provides a more simple, accurate and practical detection means for clinical diagnosis and epidemiological investigation of measles.

Key words: Measles; Antibody; Enzyme linked immunosorbent assay

DOI:10.13329/j.cnki.zyyjk.2017.0052

麻疹是由麻疹病毒(measles virus, MV)引起的一种以发热、呼吸道卡他症状和全身斑丘疹为特征的急性病毒性传染病。并发症是造成死亡的重要原因。麻疹是我国扩大免疫规划控制的 15 种传染病之一^[1]。2005 年包括我国在内的 WHO 西太平洋区承诺于 2012 年消除麻疹, 然而近年来我国麻疹发病率仍维持在较高的水

平^[2-3]。同时提出实验室网络的建设及网络实验室在麻疹消除中的作用越来越重要。现在还没有有效的药物治疗麻疹患者, 对所有的易感人群接种和复种有效的麻疹疫苗, 及时对人群抗体水平进行监测, 对疫苗免疫成功率进行考核仍然是控制麻疹和最终消灭麻疹的唯一手段。我国至今仍未有统一推荐的试剂。为保证我省麻疹监测网络实验室使用质量稳定, 性价比高的试剂, 我们对珠海经济特区海泰生物制药有限公司研制的 2 种试剂与德国试剂进行了比对和评估, 现报告如下。

作者简介: 戴莹, 女, 主管医师, 主要从事肠道病毒分离工作。

通讯作者: 李国明, 主任技师, E-mail: 343042482@qq.com

1 材料与方法

1.1 材料 检测标本来源于健康人群,所有参与者抽取静脉血 3 ml,静置凝固后,分离血清,随机抽取 369 份, -20℃保存备检。

1.2 试剂和仪器 国产试剂:麻疹病毒 IgG 抗体检测试剂盒(酶联免疫法),由珠海经济特区海泰生物制药有限公司研制并提供(简称海泰试剂);规格 96T,批号 20120301,保存 2~8℃。试剂盒在有效期内使用。参比试剂盒 SERION ELISA classic Measles Virus IgG 试剂盒,德国 virion/serion 研发有限公司生产(简称 Serion 试剂),规格 96T/盒,批号 SMB.CC 及 SEB.AD,保存:2~8℃。通过 CE 认证。试剂盒在有效期内使用。Measles IgG ELISA 试剂盒,德国 IBL International GmbH 生产(简称 IBL 试剂),规格 96T/盒,批号 1MEG125,保存于 2~8℃。通过 CE 认证。试剂盒在有效期内使用。实验过程中洗板采用全自动洗板机(Auto instruments. Inc)洗板,在 EL-800 型酶标仪(Bio-tek instruments. Inc)上读取及采集数据。

1.3 检测方法 参照试剂说明书检测之前将试剂放在室温平衡 30 min,然后 1:100 稀释待检标本,加入待检标本和标准品,经过孵育,加入酶标抗体,再经过显色及终止的过程,完成试验,对空白对照调零,用酶标仪在 450±2 nm 波长处测定吸光值(A 值),要求终止后 10 min 内完成判读。以标准品的含量为自变量(X),以其对应的 A 值为因变量(Y),求出线性回归方程,将待

检样品的吸光值代入回归方程,计算出相应的含量,当线性回归系数 $r \leq 0.98$ 时,视为无效,有效线性范围为 0.00~0.16 U/ml,如果待检样品抗体(IgG)含量高于 0.16 U/ml 时,无法准确定量,需用试剂盒中的样品稀释液作进一步稀释后重新检测,检测结果须再乘以稀释倍数。

1.4 统计学分析 应用统计软件,对该试剂检测得到的抗体水平,与标准检测法得到的抗体水平进行比较,计算该试剂的灵敏度、特异性,并进行相关性分析。

2 结果

2.1 3 样品精密度检测 3 份高、中、低麻疹病毒 IgG 抗体浓度的样品分别用海泰试剂重复做 10 孔,其结果见表 1。

表 1 海泰试剂检测麻疹病毒 IgG 抗体结果的变异程度($n=10$)

样品	吸光度 ($\bar{x} \pm s$, A 值)	变异系数 (%)	检测结果 ($\bar{x} \pm s$, U/ml)	变异系数 (%)
低抗体浓度	0.585±0.037	6.41	0.415±0.033	7.91
中抗体浓度	1.172±0.020	1.69	1.092±0.031	2.86
高抗体浓度	1.916±0.044	2.28	3.485±0.308	8.85

用 3 份高、中、低麻疹病毒 IgG 抗体浓度的样品进行检测,其变异系数(CV)均不高于 15%。

2.2 定性检测结果 369 份血清样品中,海泰试剂与 Serion 试剂初试检测结果不一致及可疑样品有 16 份,这些样品用海泰试剂与 Serion 试剂进行了复试,并将复试结果仍不一致的样品用 IBL 试剂进行了验证。复试及验证结果见表 2。

表 2 初试检测结果不一致及可疑样品的复试和验证结果

样品编号	海泰试剂						Serion 试剂				IBL 试剂(验证)		
	初试			复试			初试		复试				
	A 值	S/CO	结果	A 值	S/CO	结果	A 值	结果	A 值	结果	A 值	S/CO	结果
MQ007	0.466	0.73	-	0.375	0.55	-	0.445	+	0.147	-			
11ZG321	0.112	0.18	-	0.737	1.10	+	0.318	+	0.317	+			
11wx022	0.811	1.30	+	0.868	1.27	+	0.093	-	0.219	-	0.277	0.65	-
11wx008	0.618	0.99	±	0.657	0.96	±	0.096	-	0.104	-	0.314	0.74	-
11wx056	0.572	0.92	±	0.613	0.89	-	0.328	+	0.335	+	0.615	1.44	+
11wx306	0.732	1.23	+	0.766	1.12	+	0.295	±	0.303	+			
11wx322	0.657	1.10	+	0.671	0.98	±	0.287	±	0.242	±	0.893	2.1	+
11wx380	0.637	1.07	±	0.781	1.14	+	0.317	±	0.356	+			
11wx387	0.461	0.77	-	0.796	1.16	+	0.313	±	0.399	+			
11ZG081	0.763	0.97	±	2.006	2.92	+	0.756	+	1.000	+			
11ZG252	0.842	1.31	+	0.148	0.22	-	0.369	±	0.266	+	0.647	1.52	+
11ZG255	0.893	1.39	+	0.296	0.43	-	0.395	±	0.350	+	0.710	1.67	+
11ZG305	0.662	1.06	±	0.993	1.45	+	0.188	-	0.515	+			
11ZG312	0.569	0.91	±	0.484	0.71	-	0.227	±	0.294	+	0.567	1.33	+
11ZG327	0.858	1.37	+	0.724	1.06	±	0.256	±	0.301	+	0.758	1.78	+
11ZG428	0.272	0.44	-	0.325	0.47	-	0.222	±	0.265	+	0.537	1.26	+
临界对照均值					0.686							0.426	
阳性对照均值					1.423							0.903	
阴性对照均值					0.010				0.190			0.369	
可疑范围					0.9<S/CO<1.1				0.314<A 值<0.387				

以复试及验证结果为准进行统计分析,在 369 份血清样品中,海泰试剂和参比试剂检测同时阳性的血清有 215 份,同时阴性的血清有 145 份,同时可疑的血清有 0 份,海泰试剂阳性而参比试剂阴性的血清有 1 份,海泰试剂阴性而参比试剂阳性的血清有 5 份,海泰试剂可疑而参比试剂阴性或阳性的血清有 3 份。海泰试剂和参比试剂比较,其灵敏度为 97.7%,特异度为 99.3%,假阳性率为 0.7%,假阴性率为 2.3%,粗一致性为 98.4%,调整一致性为 98.3%,约登指数为 0.970,阳性预示值为 99.5%,阴性预示值为 96.7%。用海泰试剂和参比试剂检测的结果一致率为 98.4% $K > 0.75$,说明 2 种诊断结果符合好。

2.3 定量检测结果分析 定量检测结果的详细数据见实验数据。369 份血清样品中,海泰试剂与 Serion 试剂初试检测结果超出线性范围外的样本(>5 U/ml)有 7 份,复试后仍有 5 份样本落在线性范围外,对线性范围内的 364 份样本(0~5 U/ml)进行统计。以国产试剂和参比试剂测量每份样本的均值作为 X 轴,2 种试剂测量每份样本的差值作为 Y 轴,绘制 Bland-Altman 图,对国产试剂和参比试剂的检测结果做偏倚分析。国产试剂与参比试剂比较,超出 95% 的一致性界限的样本有 27 份,将此 27 份样品用国产试剂与参比试剂进行了复试,并将复试结果仍超出 95% 的一致性界限的样品用 IBL 试剂进行了验证,仍有 4 份超出 95% 的一致性界限,即有 1.10% (4/364) 的样本在 95% 的一致性界限以外,在一致性界限范围内。以复试及验证结果为准,对海泰试剂和参比试剂的定量结果的相关性进行回归分析 $P < 0.001$ 。说明海泰试剂与参比试剂有非常好的一致性。

3 讨论

酶联免疫吸附试验(ELISA)法具有敏感、特异、快速、方便、限制因素少等特点^[4],已被广泛应用于麻疹病毒抗体检测。但是有些医院检测医院麻疹疑似病例的阳性率很低,低于国内其他相关的研究^[5-9],反映了临床鉴别诊断水平存在很大问题,所以良好的实验室诊断试剂^[4]可以帮助提高诊断水平。与传统方法相比,德国维润赛润公司^[9]生产的酶联免疫试剂盒方法简单、方便,但是价格高昂,对比了进口试剂,珠海海泰试剂灵敏性、特异性均等同于进口试剂,价格比进口试剂低廉,适合于基层疾病预防控制机构和医院抗体水平研究和调查。为制定与实施疫情控制措施提供快速、准确的检测数据^[9]。

试剂盒的质量直接影响到结果的准确与否,因此,要选择灵敏度和准确度较高,特异性较强的试剂盒,可以通过对试剂盒进行评估比对和日常试剂盒实际使用情况进行综合评价。结合近年来我省麻疹监测实验室网络对麻疹试剂使用的情况,发现海泰 IgG 试剂性能稳

定、阳性检测率较高。无论是使用何种麻疹-IgG 酶联免疫检测试剂,在使用过程中,都应注意试剂批号及有效期限,由于 ELISA 试剂盒的效期是根据酶结合物的稳定性确定,酶结合物是试剂盒的核心部分,因此要防止反复冻融。同时,试剂从冰箱中取出后,应先平衡至室温后再使用,做到“即取即用即收”,减少酶的失活^[9],才能保证实验结果准确可靠。

4 结论

经 369 份临床样本对比检测,国产试剂和参比试剂比较,其灵敏度为 97.7%,特异度为 99.3%,假阳性率为 0.7%,假阴性率为 2.3%,粗一致性为 98.4%,调整一致性为 98.3%,约登指数为 0.970,阳性预示值为 99.5%,阴性预示值为 96.7%。对 3 份高、中、低麻疹病毒 IgG 抗体浓度的样品进行检测,其变异系数(CV)均不高于 15%。对国产试剂和参比试剂的检测结果做偏倚分析,364 份样本有 1.10% (4/364) 的样本在 95% 的一致性界限以外。在一致性界限范围内,国产试剂与参比试剂检测的差值的绝对值最大为 1.106 U/ml。由于 2 种试剂对此份样本的检测结果平均为 3.602 U/ml,这种相差的幅度在临床上可以接受,因此认为 2 种方法测量的结果具有较好的一致性。对海泰试剂和参比试剂的定量结果的相关性进行回归分析 $P < 0.001$,说明海泰试剂与参比试剂有非常好的一致性。

作者声明 本文无实际或潜在的利益冲突

参考文献

- [1] 卫生部.扩大国家免疫规划实施方案[Z/OL].(2007-12-29). [2016-09-30]. http://www.gov.cn/gzdt/2008-02/19/content_893572.htm
- [2] 卫生部.2006—2012 全国消除麻疹行动计划[Z/OL].(2006-11-10.) [2016-09-30]. <http://www.moh.gov.cn/mohbgt/pw10611/200804/18264.shtml>
- [3] 马超,罗会明,安志杰,等.中国 2006—2007 年麻疹流行病学特征及消除麻疹措施分析[J].中国疫苗和免疫,2008,14(3):208-213.
- [4] 叶文,欧新华.长沙市 2012—2013 年麻疹/风疹实验室检测质量控制分析[J].右江民族医学院学报,2014,36(2):254-255.
- [5] 郑焕英,刘冷,郭雪,等.三种 IgM 酶联免疫试剂盒在麻疹病例实验室诊断中的应用比较[J].热带医学杂志,2006,6(8):898-899.
- [6] 陶志华,姚凤燕.麻疹病人不同采血时间的 IgM 抗体阳性率比较及 IgM 阴转时间观察[J].中国预防医学杂志,2006,7(3):224-225.
- [7] 许文波.麻疹实验室监测网络的建立和运转[J].中华实验和临床病毒学杂志,2008,22(6):401-402.
- [8] 毛乃颖,蒋小泓,吴立萍,等.定量酶联免疫吸附试验在检测麻疹 IgG 抗体中的应用与比较[J].中国计划免疫,2005,11(3):187-189.
- [9] ZHANG Y, ZHU Z, ROTA PA, et al. Molecular epidemiology of measles viruses in China, 1995-2003[J]. Virology Journal, 2007, 4(1):248-250.
- [10] 涂伟仁.影响 ELISA 试验的质量控制[J].中国误诊学杂志,2002,2(8):1171-1172.

收稿日期 2016-09-09 修回日期 2016-11-02 责任编辑 张军