

# 酶联免疫反应加速仪在麻疹病毒 IgM 抗体检测中的应用

姜波涛(哈尔滨医科大学附属第一医院感染科化验室,哈尔滨 150001)

**【摘要】 目的** 探讨酶联免疫反应加速仪在麻疹病毒 IgM 抗体检测中的应用价值。**方法** 选取 2013 年 6~12 月哈尔滨医科大学附属第一医院儿科疑似麻疹病例血清 238 份,麻疹病毒 IgM 抗体阳性血清 1 份,在酶联免疫吸附试验中分别采用常规温育法(常规法)和酶联免疫反应加速仪法(加速法)进行麻疹病毒 IgM 抗体的检测,比较两种方法在检测麻疹病毒 IgM 抗体的重复性、灵敏度及特异性。**结果** 加速法的变异系数(CV)为 2.86%~9.52%,灵敏度为 97.40%,特异度为 100.00%,均符合试剂盒标准;且加速法和常规法对麻疹病毒 IgM 的定量检测结果呈正相关( $P<0.05$ )。**结论** 酶联免疫反应加速仪在麻疹病毒 IgM 抗体检测中,各项指标均符合试剂盒要求,可应用于临床检测。

**【关键词】** 酶联免疫反应; 酶联免疫反应加速仪; 麻疹病毒; IgM  
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.05.044 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)05-0684-02

麻疹是由麻疹病毒引起的一种以发热、呼吸道其他症状和全身斑丘疹为特征的急性病毒性传染病<sup>[1]</sup>。目前最常用于检测麻疹病毒 IgM 抗体的方法是酶联免疫吸附试验(ELISA),该方法成本低廉,操作简单,但整个检测过程需耗时 3 h。国内已有报道,ELISA 加速仪在检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)中可以有效缩短检测时间。本研究将 ELISA 加速仪用于检测麻疹病毒 IgM 抗体,以探讨其在麻疹病毒 IgM 抗体检测中的作用。现将相关研究结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 2013 年 6~12 月本院儿科疑似麻疹病例血清 238 份,麻疹病毒 IgM 抗体阳性血清 1 份(由哈尔滨市疾病预防控制中心提供)。

**1.2 仪器与试剂** ELISA 加速仪(四川诺亚医疗科技有限责任公司研制,型号:NY/MMJ)、酶标仪(奥地利安图斯)、37℃ 电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司)、全自动立式洗板机(郑州基波新科技有限公司)。所有试剂均购自珠海海泰生物制药有限公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 检测方法** 具体操作方法严格按《全国临床检验操作规程》<sup>[2]</sup>及仪器与试剂盒使用说明书进行。使用常规温育法(简称常规法),37℃ 恒温箱第 1 步孵育 60 min、第 2 步孵育 60 min,显色 30 min;而使用 ELISA 加速仪(简称加速法),第 1 步孵育 30 min、第 2 步孵育 30 min,显色 15 min,其余步骤及操作完全一致。所有标本均经实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测。

**1.3.2 重复性试验** 将麻疹病毒 IgM 抗体阳性血清倍比稀释,使用同一批号麻疹病毒 IgM 抗体检测试剂盒,分别用加速法和常规法对样本进行检测,每份样本检测 20 次。

**1.3.3 相关性分析** 在疑似麻疹病例的血清中随机抽取 56 份标本,分别用常规法和加速法进行检测,结果进行相关性分析。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据处理与统计学分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示组间,组间比较采用  $t$  检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;相关性分析采用 Pearson 相关性分析;以  $\alpha=0.05$  为检验水准, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 重复性试验结果** 经倍比稀释的麻疹病毒 IgM 抗体阳

性血清分别采用加速法和常规法进行检测,定性结果相同;在各不同稀释倍数下,两种方法所测血清麻疹病毒 IgM 抗体的样本/临床值比值(S/CO 值)比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ );两种方法的变异系数(CV)均小于 15%,符合试剂盒的规定。见表 1。

表 1 不同稀释倍数麻疹病毒 IgM 抗体阳性血清两种方法检测结果

| 稀释<br>倍数 | 检测<br>次数 | 常规法                          |       |    | 加速法                          |       |    |
|----------|----------|------------------------------|-------|----|------------------------------|-------|----|
|          |          | S/CO 值<br>( $\bar{x}\pm s$ ) | CV(%) | 定性 | S/CO 值<br>( $\bar{x}\pm s$ ) | CV(%) | 定性 |
| 1:1      | 20       | 12.48 $\pm$ 0.41             | 3.28  | +  | 12.39 0.40                   | 3.23  | +  |
| 1:2      | 20       | 6.19 $\pm$ 0.18              | 2.91  | +  | 6.24 0.21                    | 3.37  | +  |
| 1:4      | 20       | 3.11 $\pm$ 0.11              | 3.53  | +  | 3.13 0.09                    | 2.86  | +  |
| 1:8      | 20       | 1.63 $\pm$ 0.10              | 6.13  | +  | 1.62 0.12                    | 7.41  | +  |
| 1:16     | 20       | 0.83 $\pm$ 0.07              | 8.43  | —  | 0.79 0.07                    | 8.86  | —  |
| 1:32     | 20       | 0.45 $\pm$ 0.05              | 11.11 | —  | 0.42 0.04                    | 9.52  | —  |

注:十表示阳性,—表示阴性。

**2.2 相关性分析结果** 相关性分析结果显示,加速法和常规法对麻疹病毒 IgM 的检测结果呈正相关(回归方程为  $Y=1.016X-0.11$ , $P<0.05$ )。见图 1。

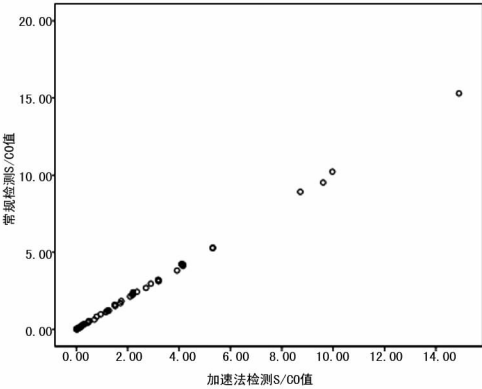


图 1 两种方法检测麻疹病毒 IgM 相关性分析

**2.3 灵敏度和特异度** 经参考法实时荧光定量 PCR 检测,疑似麻疹患者的 238 份血清中,192 份为阳性,列为实验组;46 份为阴性,列为对照组。实验组和对照组均采用常规法和加速法

检测麻疹病毒 IgM 抗体,加速法和常规法的灵敏度分别为 97.40%、96.35%,两种方法的特异度均为 100.00%,两种方法的灵敏度与特异度比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 两种方法的检测灵敏度与特异度

| 组别  | n   | 加速法 |    | 常规法 |    |
|-----|-----|-----|----|-----|----|
|     |     | +   | -  | +   | -  |
| 实验组 | 192 | 187 | 5  | 185 | 7  |
| 对照组 | 46  | 0   | 46 | 0   | 46 |

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

3 讨 论

麻疹是一种严重危害人类健康的传染病,据世界卫生组织报告,每年约有 4 400 万麻疹患者,并有 100 万儿童死于麻疹。1954 年 Enders 与 Peebles 应用人胚肾细胞培养麻疹病毒获得成功之后,多位学者开始研制麻疹疫苗以控制麻疹的传染<sup>[3]</sup>。我国于 1965 年开始使用麻疹减毒活疫苗,可靠地保护了绝大多数 9~12 个月乃至年龄更大的儿童<sup>[4]</sup>。然而,由于麻疹疫苗的广泛使用,接触野毒株的机会少,体内抗体水平逐年减少,最终可导致不能完全抵御麻疹病毒的侵袭,出现不典型的临床表现<sup>[5]</sup>。于是有效的检测方法对麻疹的诊断和及时的治疗起着重要作用。

麻疹病毒检测的最直接方法是病毒分离,然而其操作过于复杂,且对标本有严格的要求,难以在医院大面积地推广。分子生物学手段检测麻疹病毒核酸的方法也开始运用于实验室诊断,但是多数实时荧光定量 PCR 检测麻疹病毒 RNA 时有一定的概率出现假阳性和假阴性<sup>[6]</sup>,且成本较高。目前,临床主要应用 ELISA 检测患者血清中麻疹特异性抗体 IgM,该方法敏感性和特异性均较好,但患者血清 IgM 的阳性率与取血时间有关<sup>[7]</sup>。一般患者在出现皮疹后 3 d 至 4 周内取血,麻疹病毒特异性 IgM 抗体的阳性率达最高。

ELISA 加速仪是基于传统的孵育方法设计出来的。它综合采用了先进的正温度系数(PTC)热敏陶瓷加热热风恒温技术,利用高频电磁波对生物分子的生化作用补充能量,并将反应试剂进行内置振荡,从而稳定地加速了反应过程并减少了人工操作程序和时间。常规 ELISA 因简单、易于操作、且准确度高而备受青睐,然而其耗时过长。ELISA 加速仪很好地克服

了这一缺陷<sup>[8]</sup>,在不影响实验结果的前提下将整个实验时间约缩短了一半,有效地提高了检测效率。

本研究结果显示,在重复性方面,两种方法比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );相关分析结果显示,两种方法对麻疹病毒 IgM 的检测结果呈正相关( $P<0.05$ );两种方法均具有较高的灵敏度与特异度,加速法的灵敏度和特异度分别为 97.40%、100.00%,常规法分别为 96.35%和 100.00%,两种方法的灵敏度和特异度比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。表明采用加速法对麻疹病毒 IgM 进行检测不会影响检测结果,同时可以减少检测时间,提高检测效率。

综上所述,将 ELISA 加速仪运用于麻疹病毒 IgM 的检测不会对检测结果造成影响,同时可以大幅度地缩短检测时间,提高检测效率,值得在临床中推广应用。

参考文献

[1] 逯光文,高福,严景华.麻疹病毒受体与病毒侵入[J].生物工程学报,2013,29(1):1-9.

[2] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:630-631.

[3] Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Global control and regional elimination of measles, 2000-2011 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2013, 62(2): 27-31.

[4] Himan AR. 中国麻疹控制策略的建议[J]. 中国计划免疫, 2002, 8(2): 111-115.

[5] Martin DB, Weiner LB, Nieburg PI, et al. Atypical measles in adolescents and young adults [J]. Ann Intern Med, 1979, 90(6): 877-881.

[6] 杨贵清,卓菲,刘卫民,等.基于 M 基因构建的麻疹病毒实时荧光 PCR 检测技术[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(8): 1843-1847.

[7] 李铁平. 麻疹病毒检测技术进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6): 1587-1588.

[8] 耿珍,刘铭. 酶联免疫反应加速仪在巨细胞病毒 IgG 抗体检测中的应用[J]. 中国计划生育学杂志, 2013, 21(5): 340-342.

(收稿日期:2014-09-16 修回日期:2014-11-28)

(上接第 683 页)

[7] Ulmer-Franco AM, Cherian G, Quezada N, et al. Hatching egg and newly hatched chick yolk sac total IgY content at 3 broiler breeder flock ages[J]. Poult Sci, 2012, 91(3): 758-764.

[8] 侯立业,徐辉雄,张桃桃,等. 高频超声与阴道超声诊断早期妊娠的对比研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(22): 1751-1752.

[9] 李喜红,欧阳妍,殷斌,等. 早孕期经阴道超声检测卵黄囊对妊娠结局的预测价值[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(30): 82-85.

[10] Tasaki T, Kim ST, Zakrzewska A, et al. UBR box N-recognin-4 (UBR4), an N-recognin of the N-end rule pathway, and its role in yolk sac vascular development and autophagy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(10): 3800-3805.

[11] 侯立业,徐辉雄,刘娟,等. 高频超声与常规超声诊断早期妊娠的对比分析[J]. 中国介入影像与治疗学, 2011, 8(3): 224-226.

[12] Kao CS, Idrees MT, Young RH, et al. Solid pattern yolk sac tumor: a morphologic and immunohistochemical study of 52 cases[J]. Am J Surg Pathol, 2012, 36(3): 360-367.

[13] 赵凡桂,张浩,孙莉,等. 12 例卵巢卵黄囊瘤临床及超声表现分析[J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(8): 592-594.

[14] Arukwe A, Olufsen M, Cicero N, et al. Effects on development, growth responses and thyroid-hormone systems in eyed-eggs and yolk-sac larvae of Atlantic salmon (*Salmo salar*) continuously exposed to 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (PCB-77) [J]. J Toxicol Environ Health A, 2014, 77(9/11): 574-586.

(收稿日期:2014-08-15 修回日期:2014-10-25)