

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.01.004

3 种人体包虫病 IgG 抗体检测试剂盒的性能评价*

庞华胜, 袁 余, 匡紫微, 张春莹, 马 莹[△]

(四川大学华西医院实验医学科 400000)

摘要:目的 对 3 种人体包虫病 IgG 抗体检测试剂盒的检验性能进行初步评价。方法 收集四川大学华西医院包虫病确诊的 112 例患者血清标本作为包虫病组;收集 60 例非包虫病患者及体检者血清标本作为非包虫病组,同时用珠海海泰包虫病 IgG 抗体检测试剂盒(酶联免疫吸附法)、新疆贝斯明包虫病特异抗体检测试剂盒(胶体金法)、上海新吉而囊型/泡型包虫病抗体检测试剂盒(胶体金法)进行检测,计算 3 种试剂的灵敏度、特异度、Youden 指数,评价 3 种试剂的灵敏度、特异度、Youden 指数的差异,采用 Kappa 一致性检验,分析 3 种试剂检测结果与临床诊断的一致性。结果 海泰、贝斯明、新吉而试剂盒的灵敏度分别为 94.64%(106/112)、92.86%(104/112)、96.43%(108/112);特异度分别为 100.00%(58/58)、91.38%(53/58)、93.10%(54/58)。3 种试剂的灵敏度和特异度比较,差异无统计学意义($P>0.05$); Youden 指数分别为 0.965、0.924、0.953, Kappa 值分别为 0.923、0.832、0.895。结论 3 种人体包虫病 IgG 抗体检测试剂盒均具有较好的灵敏度、特异度、准确度,与临床诊断一致性较高。

关键词:包虫病; 酶联免疫吸附法; 免疫层析; IgG 抗体

中图法分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)01-0013-03

Performance evaluation of three kinds of hydatid IgG antibody detection kits*

PANG Huasheng, YANG Yu, KUANG Ziwei, ZHANG Chunying, MA Ying[△]

(Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of three kinds of diagnostic kit detecting serum IgG antibody of echinococcosis. **Methods** A total of 112 serum samples of patients with echinococcosis and 60 serum samples of non-echinococcosis person (patients without echinococcosis or health examinationers) were collected from West China Hospital of Sichuan university and detected by three kits: Zhuhai Haitai Diagnostic Kit for IgG antibody to Hydatid (ELISA), Xinjiang Beisiming Rapid in Vitro Diagnostic Kits for Human echinococcosis (DIGFA), Shanghai Xinjier Hydatid Disease Antibody Test Kit (DIGFA). Related indicators including sensitivity, specificity and Youden index were compared by chi-square test, concordance was evaluated by Kappa. **Results** The result showed that the sensitivity and specificity of the three kits from Haitai, Beisiming and Xinjier were 94.64% and 100.00%, 92.86% and 91.38%, 96.43% and 93.10% respectively. There were no significant differences in sensitivity and specificity between either two kits ($P>0.05$). The Youden index of the three kits from Haitai, Beisiming and Xinjier were 0.965, 0.924 and 0.953 respectively, and the Kappa were 0.923, 0.832 and 0.895 respectively. **Conclusion** According to the results of this study, all of these three hydatid IgG antibody detection Kits showed a good performance in sensitivity, specificity and accuracy.

Key words: echinococcosis; enzyme linked immunosorbent assay; immunochromatography; IgG antibody

棘球蚴病也称包虫病,是一种由棘球绦虫幼虫寄生引起的危害度极高的人畜共患寄生虫病,呈全球性分布,主要分布于畜牧区^[1-2]。棘球绦虫属扁形动物门,圆叶目带科,棘球属。棘球属绦虫在虫种上变异较大,曾先后报道 16 个种和 13 个亚种,目前公认的有 4 个种,即细粒棘球绦虫、多房棘球绦虫、少节棘球

绦虫和福氏棘球绦虫^[3]。少节棘球绦虫和福氏棘球绦虫主要分布在中美洲和南美洲,我国主要为细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫,分别导致囊型包虫病和泡型包虫病,其中囊型包虫病在临床所占比例较高^[4-5]。

包虫病的潜伏期较长,影像学检查很难对早期感染进行诊断,而血清学方法可在早期检测到包虫特异

* 基金项目:四川省科技计划资助项目(2016SZ0023)。

作者简介:庞华胜,男,医师,主要从事病原微生物、寄生虫研究。 [△] 通信作者, E-mail: majiying72@hotmail.com。

性抗体,从而做到早发现、早诊断、早治疗,是包虫病重要的早期诊断方法^[6]。目前,已获准国家食品药品监督管理总局(CFDA)批准上市、用于包虫病临床辅助诊断的抗体检测试剂来自3家公司,分别是珠海海泰的酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒,新疆贝斯明的胶体金法试剂盒、上海新吉而2016年获准上市的胶体金试剂盒。现就3种人体包虫病特异性抗体检测试剂盒的性能进行初步评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 包虫病组:2016年1月至2017年3月本院包虫病112例确诊患者血清标本(包虫病组);非包虫病组:共58例,其中排除包虫病的体检者血清46例及排除包虫病患者血清12例(囊虫病5例,肝吸虫病3例,肺吸虫病2例,乙型肝炎2例)。

1.2 诊断试剂 珠海海泰包虫 IgG 抗体检测试剂盒(酶联免疫吸附法)(YZB/国 0100-2015,20170512),新疆贝斯明包虫病特异抗体检测试剂盒(胶体金法)(YZB/国 0271-2011,20161013),上海新吉而囊型/泡型包虫病抗体检测试剂盒(胶体金法)(国械注准 20163400065,20170121)。

1.3 检验方法及结果判定

1.3.1 珠海海泰包虫病 IgG 抗体 ELISA 诊断试剂盒 将待检标本用样品稀释液以 1:100 的比例稀释后,按常规 ELISA 法进行孵育、洗板等操作。结果判读:使用酶标仪读取 450 nm 和 630 nm 处的吸光度值 A, A_{450 nm} - A_{630 nm} 得到标本的 A 值,计算标本 S/CO 值(S/CO 值=标本 A 值/临界对照的平均值),当 S/CO 值 \geq 1.1 时判为阳性,当 0.9<S/CO<1.1 时判为可疑灰区,当 S/CO \leq 0.9 时判为阴性。为了便于与另 2 种试剂盒比较检测结果,对 0.9<S/CO<1.1 判为灰区的结果本研究进行如下处理,即按常用的 ELISA Cut Off 值判断方法,当 0.9<S/CO<1.0 时判为阴性,当 1.0 \leq S/CO<1.1 时判为阳性。

1.3.2 新疆贝斯明包虫病特异抗体检测试剂盒(胶体金法) 在 5 滴稀释液中加入 20 μ L 血清,混匀后取 100 μ L 滴于测试板小孔中,待干后,滴入 3 滴洗涤液,吸收后,加入 3 滴显色液,同样待干后,滴入 3 滴洗涤液于小孔。结果判读:测试板孔中 A、B、C、D 4 个测试点任意一点出现红色圆斑均判为阳性,C 点阳性时考虑囊型包虫病,D 点阳性时考虑泡型包虫病感染,4 个测试点无红色斑点则为阴性。

1.3.3 上海新吉而囊型/泡型包虫病抗体检测试剂盒(胶体金法) 取 10 μ L 标本血清滴于试条的样品垫上,待血清被吸干后,逐滴滴加 2~3 滴样品稀释液于样品垫上。30 min 内判读结果:质控线显色为试验有效;检测线 1 显色,检测线 2 未显色,判为囊型包虫抗体阳性;检测线 2 显色,无论检测线 1 显色与否,判为泡型包虫抗体阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数

据分析,3 种试剂盒的检测结果显示与 170 例血清供者临床诊断的一致性使用 Kappa 检测;计数资料以例数或百分率表示,三者的灵敏度、特异度和准确度应用 χ^2 检验进行两两比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种包虫抗体检测试剂盒的检测效能指标比较 珠海海泰包虫 IgG 抗体检测试剂盒(ELISA)、新疆贝斯明包虫病特异抗体检测试剂盒(胶体金法)、上海新吉而囊型/泡型包虫病抗体检测试剂盒(胶体金法)对 170 例血清标本的检测结果显示,112 例包虫确诊患者标本在 3 种试剂盒分别检出 106、104、108 例阳性者;58 例排除了包虫感染的血清标本在 3 种试剂的阴性结果分别为 58、53、54 例。见表 1。

表 1 3 种包虫抗体检测试剂盒的检测效能指标比较

试剂类别	灵敏度(%)	特异度(%)	Youden 指数	Kappa 值
海泰	94.64	100.00	0.965	0.923
贝斯明	92.86	91.38	0.924	0.832
新吉而	96.43	93.10	0.953	0.895

2.2 3 种试剂假阳性率结果比较 新疆贝斯明出现了 5 例假阳性,其中 4 例来自患者标本,1 例来自排除了包虫病的囊虫病患者;新吉而出现的 4 例假阳性均来自患者标本。珠海海泰、新疆贝斯明、上海新吉而的灵敏度比较,差异无统计学意义($P>0.05$);特异度差异也无统计学意义($P>0.05$),海泰为 100%;准确度显示 3 种试剂 Youden 指数差异也无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

包虫病是严重危害牧区人民健康及财产安全的人兽共患病,其中的泡型包虫病更是病死率较高的疾病,有“虫癌”之称^[7-8]。目前包虫病的诊断主要根据临床症状、流行病学史、影像学、血清学检查,虽然包虫病的确诊依靠病原学检查,但病原学证据很难获得,病理学检查创伤大,风险高、费用高,无法广泛开展;影像学检查虽有特征性病变,但当病变部位出现影像学异常时,患者已经出现了相应的临床症状,且影像学检查对专业人员要求高,移动便携性较差^[9]。另一方面,患者在疾病的早期会出现特异性 IgG 抗体,抗体的检测具有准确性高、用时短、创伤小、易于开展等优点,可广泛用于临床辅助诊断、普查、流行病学调查。

本研究中珠海海泰、新疆贝斯明、上海新吉而 3 种试剂盒的灵敏度、特异度、Youden 指数均达到 90% 以上,具有较好的检测性能。此外,3 种试剂盒的 Kappa 值均大于 0.8,说明三者检测结果与临床诊断有较好的一致性,且 3 种试剂盒的灵敏度和特异度差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究结果表明,珠海海泰的特异度更高,达到 100%,其 Youden 指数也突

出,为 0.965。3 种试剂盒均能较准确地检测包虫特异性抗体,其中珠海海泰效果更佳。

感染其他寄生虫是造成免疫学检测假阳性最主要的原因之一,猪囊尾蚴或其他蠕虫与棘球蚴拥有共同或相似的抗原片段导致假阳性^[10];此外,患者患有其他免疫性疾病产生类似的抗体也可致假阳性。3 种检测试剂均出现了假阴性结果,可能原因:(1)棘球蚴寄生部位和数量。寄生部位的不同可导致血清中出现的抗体类型和抗体量的不同^[11-12]。(2)所患疾病。免疫抑制或免疫缺陷病患者血清中未出现相应的抗体或者抗体量未达到阳性标准^[13]。(3)儿童和特定人群的抗原反应减弱。(4)ELISA 中包被的抗原片段导致部分漏诊。(5)钩状效应等。

操作的简易程度和耗时方面显示,ELISA 法平均耗时 1.5~2 h,而胶体金法只需 10~30 min,且操作简便,更能随时进行单个标本的检测,提高报告效率。但另一方面,ELISA 法可以通过使用仪器达到全自动检测,而胶体金法则只能靠手工方法进行,因而若要进行流行病学调查,当标本量大时,可以进行全自动检测的 ELISA 法可能更具优势。本研究结果表明,ELISA 法的结果判断通过 S/CO 值确定较客观;而胶体金法通过肉眼观察红色斑点或深色检测线的有无而确定阴、阳性,主观性强,当斑点或线条出现模糊情况时,结果判断很易受到试验人员主观因素的影响,这也很可能是本研究中 2 种胶体金法的特异性较 ELISA 法稍弱的原因之一。

胶体金方法的检测原理为运用斑点免疫胶体金渗滤法(DIGFA)将不同的棘球蚴抗原结合在特制的载体上,抗原可以是不同虫种的特异性抗原,因此 2 种胶体金检测试剂有可能对囊型包虫病和泡型包虫病进行区分,而 ELISA 法无法做到。对于确诊包虫患者的血清,贝斯明试剂的检测结果会出现各种不同的表现型,如 A、B、C、D 4 个阳性斑点分别单独出现或者出现任意 2、3 个斑点,甚至 4 个斑点同时出现,所以在相当多的情况下也无法提供分型的信息。新吉而的试剂除了质控线而外的 2 条特异性检测线,应该分别代表囊型和泡型包虫病,因此在分型上可以提供相对更明确的信息。但试剂盒是否能提供关于混合感染的信息,2 种胶体金试剂盒均未提及。

综上所述,3 种包虫特异性抗体检测试剂盒在灵敏度、特异度、准确度具有不错的表现,而在操作简易性、耗时多少及检测结果可提供的信息方面又各具其优势,使用者应根据实际情况及目的从而选择最适合

的产品。

参考文献

- [1] DEPLAZES P, RINALDI L, ROJAS C A A, et al. Chapter six-global distribution of alveolar and cystic echinococcosis[J]. *Adv Parasitol*, 2017, 95(12): 315-493.
- [2] ZHANG W, ZHANG Z, WU W, et al. Epidemiology and control of echinococcosis in central Asia, with particular reference to the People's Republic of China[J]. *Acta Tropica*, 2015, 141(Pt B): 235-243.
- [3] NABARRO L E, AMIN Z, CHIODINI P L. Current management of cystic echinococcosis; a survey of specialist practice[J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(5): 2231-2235.
- [4] ZHANG T, ZHAO W, YANG D, et al. Human cystic echinococcosis in Heilongjiang Province, China; a retrospective study[J]. *Bmc Gastroenterol*, 2015, 15(1): 1-5.
- [5] 朱曜宇, 伍卫平. 国内外包虫病防治和研究进展[J]. *中国病原生物学杂志*, 2016, 28(3): 284-286.
- [6] TAMER G S, DUNDAR D, UZUNER H, et al. Evaluation of immunochromatographic test for the detection of antibodies against *Echinococcus granulosus*[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21(10): 1219.
- [7] 张磊. “虫癌”防控面临多重困境[J]. *中国卫生*, 2017, 20(3): 105-106.
- [8] CARMENA D, CARDONA G A. Echinococcosis in wild carnivorous species: epidemiology, genotypic diversity, and implications for veterinary public health[J]. *Vet Parasitol*, 2014, 202(3/4): 69-94.
- [9] MIHMANLI M, IDIZ U O, KAYA C, et al. Current status of diagnosis and treatment of hepatic echinococcosis[J]. *World J Hepatol*, 2016, 8(28): 1169-1181.
- [10] 古努尔·吐尔逊, 米晓云, 张壮志, 等. 细粒棘球绦虫成虫表膜糖抗原的免疫性分析[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(22): 4713-4719.
- [11] 王莹, 张璟, 袁忠英, 等. 细粒棘球绦虫烯醇酶基因克隆表达及免疫诊断研究[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2012, 24(5): 549-552.
- [12] OMRANI V F, ROUHANI S, KAZEMI B, et al. Seroprevalence of IgG antibodies against *Echinococcus granulosus* by ELISA method using recombinant Agb in Lorestan Province, Western Iran[J]. *Iran J Public Health*, 2017, 46(8): 1132-1138.
- [13] RAN B, SHAO Y, GUO Y, et al. Surgical treatment of hepatic cystic echinococcosis in patients coinfecting with HIV/AIDS[J]. *J Helminthol*, 2016, 90(1): 125-128.