

我国几种日本血吸虫病免疫诊断试剂的综合测评

许 静,冯 婷,郭家钢,郑 浩,王 强,吴晓华,周晓农

[摘要] 目的 了解我国血吸虫病防治工作中使用的免疫诊断试剂的综合质量,为第三次全国血吸虫病流行病学抽样调查查病工具的筛选提供参考。方法 聘请血吸虫病免疫诊断及相关专家组成专家评估组,确定综合测评指标。采用单盲法,由各日本血吸虫病免疫诊断试剂的生产单位对 254份血清统一进行测试。计算各试剂盒的敏感性、特异性、Youden指数,收集其他测评指标的相关信息并进行分析。结果 参评的 8个研究所(公司)的 9种试剂盒总体上质量较好,大部分试剂盒的敏感性或特异性在 90%以上,其中 Youden指数在 0.9以上的试剂盒有 3个,但并殖吸虫病的交叉反应普遍存在,乙型肝炎的交叉反应在 0~30%之间。由于操作以及结果判断失误等其他原因,个别试剂盒的测试结果不够理想。结论 参加测评的绝大部分试剂盒的敏感性和特异性都达到了现场应用标准。

[关键词] 日本血吸虫病;免疫诊断试剂;综合测评

[中图分类号] R532.21 [文献标识码] A

Comprehensive evaluation of several diagnosis agents of schistosomiasis japonica in China

Xu Jing, Feng Ting, Guo Jiagang, Zheng Hao, Wang Qiang, Wu Xiaohua, Zhou Xiaonong (Institute of Parasitic Diseases, Chinese Centre for Disease Control and Prevention, Shanghai 200025, China)

[Abstract] Objective To evaluate the comprehensive quality of the immuno-diagnosis reagents applied in schistosomiasis prevention and control in China and to supply information for selection of disease detection reagents in the third national schistosomiasis epidemiological sampling survey.

Methods Seven relevant experts in immuno-diagnosis on schistosomiasis were invited as members of an evaluation group, which determined comprehensive evaluation indexes. A total of 254 sera were examined with the single-blind method by the professionals from the immuno-diagnosis reagent producers. Specificity, sensitivity, Youden index and information of other relevant comprehensive indexes were investigated and analyzed.

Results The qualities of 9 reagents produced by 8 units were relatively good. The sensitivity or specificity was above 90% in most reagents, and Youden index was above 0.9 in 3 reagents. However, cross reactions with sera of paragonimiasis patients were general and 0~30% cross reaction with sera of hepatitis B patients were present in some of reagents. Conclusion Most reagents tested in this evaluation can be used in schistosomiasis control and prevention.

[Key words] Schistosomiasis japonica; Immuno-diagnosis reagent; Comprehensive test and evaluation

自皮内试验 (intradermal test, ID)于 1936年首次在我国血吸虫病防治工作中使用以来,国内外学

者对日本血吸虫病的免疫学诊断方法进行了广泛研究和不断改进,诊断方法/试剂层出不穷,如环卵沉淀试验 (COPT)、间接血球凝集试验 (IHA)、酶联免疫吸附试验 (ELISA)、胶体染料试纸条法 (DDIA)等等,在血吸虫病的防治和策略制定中发挥了重要的作用。但同时由于方法或试剂众多,缺少统一的评估途径。为了解这些试剂的质量,国内有关单位曾组织

作者单位] 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所 (上海 200025)

作者简介] 许 静 (1978-),女,硕士,研究实习员。研究方向:血吸虫病免疫诊断和血清流行病学

电话:021-54650863 E-mail: xfmj@163.com

了一些会议,针对不同的专题对血吸虫病免疫诊断试剂进行了测评^[1,2]。受卫生部疾病控制司的委托,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所发起并组织了本项目,拟通过对全国血吸虫病防治现场中使用的多种试剂/方法进行测评,以了解血吸虫病免疫诊断试剂/方法的质量现状,并为第三次全国血吸虫病流行病学抽样调查查病工具的筛选提供参考。

材料和方法

1 材料

1.1 测评试剂 来自全国共8个单位的9种试剂盒参加了测评。所有参评试剂盒的检测探针均为日本血吸虫可溶性虫卵抗原(SEA),检测靶为血清中的抗SEA抗体。中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所对诊断试剂盒进行了随机编号:①间接血凝诊断试剂盒;②血吸虫病快速试纸条试剂盒;③间接血凝诊断试剂盒;④血吸虫病快速检测试剂

盒;⑤冻干血吸虫虫卵抗体诊断血球;⑥间接血凝诊断试剂盒;⑦酶联免疫诊断试剂盒;⑧金标检测抗血吸虫抗体试剂盒;⑨酶联免疫诊断试剂盒。按检测原理分,1 3 5 6号试剂盒均为间接血凝法,4 7 9号试剂盒为酶联免疫吸附法,2号试剂盒为层析法,8号试剂盒为斑点金免疫渗滤法。

1.2 血清 测试血清为中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所统一提供的新鲜血清,均经中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所的快速酶联免疫吸附试验(F-ELISA)检测,共254份,包括并殖吸虫病人血清、乙肝病人血清、非疫区正常人血清以及不同感染度的慢性血吸虫病人血清(表1)。测试前,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所的工作人员将待测血清的原有编号(该编号仅有2名工作人员知晓)再次进行随机编号,所有测试小组按第2次编号的血清进行检测。

表1 检测血清来源、种类及数量

Table 1 Source, categories and number of detected sera

种类 Category	份数 Number	采集地 Source	备注 Remark
正常人 Normal people	100	山东、河北 Shandong, Hebei	无疫水接触史,酶联免疫诊断血清学阴性 No contact with infested water, negative detected by ELISA
慢性血吸虫病人 Chronic schistosomiasis	100	江西 Jiangxi	EPG 4~ 40, 51份; 41~ 100, 16份; 101~ 400, 19份; > 400, 14份 No sera 51(EPG 4~ 40); 16(EPG 41~ 100); 19(EPG 101~ 400); 14(EPG 400)
并殖吸虫病人 Paragonimiasis	24	福建、江西 Fujian, Jiangxi	有体征,皮试和ELISA检测血清双阳性 Showing signs and sera positive detected by ID and ELISA
乙型肝炎病人 Hepatitis B	30	山东 Shandong	无疫水接触史,HBsAg检查阳性 No contact with infested water, positive in HBsAg detection

2 测评方法

聘请7位血吸虫病免疫诊断及相关领域专家组成评估组,对测试血清的质量进行审核,确认血清的质量符合综合测评的要求;并对会前通过专家咨询确立的综合测评表进行了讨论和修正并确定各考核指标及权重,测评前向全体参评人员公布;同时对整个测评活动进行监督,保证测评的公平和公正;测评结束后,由专家评估组审核测评结果,并予以确认。

每种试剂盒按单盲原则,由各生产单位派员自行操作,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所的工作人员对操作全程进行现场监督,并负责测试结果的资料汇总和整理。

3 统计分析

3.1 统计指标及所占权重 敏感性(40%):100例慢性血吸虫病人免疫学方法的阳性检出率;特异

性(25%):100例非疫区正常人中的阴性率;Youden指数(5%);敏感性+特异性-1;单价(5%):每检测1个人血清所用试剂的价格;单样本反应时间(5%):每检测1个人血清所用的时间;交叉反应(10%):对其他寄生虫病人血清的阳性检出率;单样本血清量(5%):检测1个人所需血清量;是否有特殊要求(5%):进行检测时是否需要特殊用水或仪器。

3.2 分析 将获得的数据按测评表中的各项指标的权重进行分析,并汇总。

结 果

1 测试结果

参加测评的试剂盒总体上质量较好,大部分试剂盒的敏感性或特异性在90%以上,敏感性、特异

性均在 90% 以上的有 4 种试剂,其中 Youden 指数在 0.9 以上的试剂盒有 3 种。各试剂与并殖吸虫病入血清的交叉反应普遍存在,与乙型肝炎病人血清的交叉反应在 0~ 30% 之间。各个试剂盒在综合测

评表中各个指标的值及得分情况见表 2。由于操作以及结果判断失误等其他原因,个别试剂的测试结果不够理想。根据测评表中各个指标的权重进行综合评比,4 号试剂盒在本次测试中得分最高。

表 2 各检测指标试剂盒测评指标的值及得分

Table 2 Value and score of indexes of detected reagents																			
测评指标 Index es																			
编号 Code	敏 感 性 Sens- iti- vity (%)	得 分 Sco re	特 异 性 Spec- ifi- city (%)	得 分 Score	Youd- en 指 数 You- den index	得 分 Score	单 费 用 (元 / 人) Unit price (yuan /per- son)	得 分 Score	单 样 本 血 清 量 Unit quan- tity (μ l)	得 分 Score	单 样 本 反 应 时 间 (分钟) Unit time (min)	得 分 Score	并殖 吸虫 交叉 反应 Cross effe- ct with para- go- ni- mi- asis (%)	得 分 Score	乙 肝 交 叉 反 应 Cross effe- ct with Hepa- titis B(%)	得 分 Score	特 殊 要 求 (项) Spe- cial requ- ire- ment	得 分 Score	总分 Total score
1	90	25	100	25	0.90	5	0.27	5	30	4	1.5	5	21	2	0	5	0	5	81
2	92	28	97	22	0.89	4	1.50	3	10	5	1.4	5	50	1	0	5	0	5	78
3	84	10	99	24	0.83	4	0.09	5	25	4	0.9	5	25	2	0	5	0	5	64
4	97	36	100	25	0.97	5	0.95	4	10	5	1.5	5	17	3	3	4	2	1	88
5	55	10	88	13	0.43	1	0.20	5	25	4	1.2	5	46	1	17	3	1	3	45
6	96	34	85	10	0.81	4	0.15	5	10	5	1.4	5	50	1	3	4	2	1	69
7	92	28	88	13	0.80	4	0.80	4	10	5	1.8	5	17	3	13	3	1	3	68
8	95	33	97	22	0.92	5	1.20	3	25	4	0.9	5	25	2	0	5	0	5	84
9	85	20	94	19	0.79	3	0.70	4	2.5	5	3.3	5	75	1	30	2	0	5	64

2 对低感染度血吸虫病人血清的检测情况
综合分析各个试剂盒对 100 份慢性血吸虫病人血清检出率的同时,分析了各个试剂盒对 EPG 为 4

~ 40 的 51 份低感染度慢性血吸虫病人血清的检出率(表 3)。结果显示 4 号酶联免疫诊断试剂盒及 6 号间接血凝试剂盒的检出率最高,均为 98.0%。

表 3 各试剂盒对 51 份低感染度慢性血吸虫病人血清的敏感性

Table 3 Sensitivity to 51 chronic schistosomiasis sera with low intensity									
检测结果 Detected result	试剂盒编号 Code of reagents								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
阳性数 No. of positive	46	46	40	50	29	50	46	49	40
阴性数 No. of negative	5	5	11	1	22	1	5	2	11

讨 论

由于以往测试会表明大部分测试系统对急性血吸虫感染病人的检出率都比较高,因此本项目未对急性血吸虫病人进行检测。而在 100 例慢性血吸虫病人血清中,我们选取了不同程度的感染者,其中 EPG < 40 的有 51 份,对这些低感染度血清的检出率 > 90% 的试剂盒有 6 个。
由于本项目的目的是在了解目前国内日本血吸虫病免疫诊断市场的基础上为第三次全国血吸虫病流行病学抽样调查查病工具的筛选提供参考,为保证调查结果的可靠性、科学性,综合测评表的指标及权重分布显得非常重要。试剂盒的各项质量指标包

括了敏感性、特异性、Youden 指数、交叉反应的强度,总权重为 80。其中由于作为筛查工具为避免漏检,敏感性这一指标尤为重要,权重为 40,另外抽样调查方案中对人群的检测是先血清学筛检再做粪检,因此为减少工作量,试剂盒的特异性这一指标也不能忽视,权重为 25。
专家组认为,在本次测试会中,大部分试剂盒的质量达到了现场使用的水平。敏感性在 90% 以上的试剂盒有 6 种,特异性在 90% 以上的试剂盒有 6 种,其中 1 号间接血凝诊断试剂盒和 4 号酶联免疫诊断试剂盒的特异性均为 100%。Youden 指数在 0.9 以上的试剂盒有 3 个: 1 号间接血凝试剂盒、4 号血吸虫病快速检测试剂盒、8 号金标检测抗血吸虫抗体

试剂盒 5号冻干血吸虫虫卵抗体诊断血球试剂盒的 Youden 指数只有 0.43,可能是由于试剂盒的有效期限即将过去,血球抗原效价下降所致。而 3号间接血凝试剂盒由于操作和判读的失误使其试剂盒的敏感性下降, Youden 指数只有 0.83 但所有试剂盒对并殖吸虫病的交叉反应普遍存在(17%~73%),对于乙型肝炎的交叉反应在 0~30%之间。

作为大规模的流行病学调查的工具,试剂盒在现场的应用是否可行还涉及到它的价格是否能被接受,操作是否简便、快速,因此综合测评表中还加入了试剂盒的单价、单样本血清量、单样本反应时间、操作特殊要求等指标。9种试剂盒按检测方法分有4种:酶联免疫检测方法(3个单位)、间接血凝检测法(4个单位)、胶体染料试纸条法(1个单位)、胶体金斑点免疫渗滤法(1个单位)。其中间接血凝诊断试剂盒以其价格便宜、操作简便、现场可行、结果判读容易等原因应用较广,但存在只定性不定量的缺点。酶联检测方法的优点在于所需血清量少、敏感性高、结果可以定量、价格适中,但存在操作繁琐、易受温度等外界因素的影响。胶体染料试纸条法和胶体金斑点免疫渗滤法是1990年代以来我国血吸虫病免疫诊断市场上新出现的方法,具有简便、快速的优点,且不需要任何辅助仪器,但价格昂贵,在现场的应用有一定的限制性。根据对试剂盒的敏感性、特异性、Youden指数、交叉反应以及血清量、单价、反应时间以及是否有特殊要求等指标的综合分析和测评,4号血吸虫病快速检测试剂盒、8号金标检测抗血吸虫抗体试剂盒以及1号间接血凝诊断试剂盒名

列前3名,其中4号血吸虫病快速检测试剂盒推荐为第三次全国血吸虫病流行病学调查血清学检查的工具,但需进行进一步的考察和测试。

自日本血吸虫病免疫诊断发展以来,通过血清检测循环抗原、抗体等诊断病人的方法层出不穷。参加本次免疫诊断测试会的试剂盒均以日本血吸虫可溶性虫卵抗原为检测探针检测血清中的抗体。这些试剂盒存在不能进行疗效考核或进行感染度分析的缺点,即不能区分现在感染和过去感染。同时由于试剂在生产过程中受到诸多因素的影响易造成试剂批间的差异,试剂的稳定性和重复性受到影响。因此各血吸虫病免疫诊断试剂生产单位应加强对试剂的标准化研究,尽快为防治一线提供质量稳定、操作简便、诊断快捷的实用产品。

(致谢:感谢南京医科大学吴观陵教授和张兆松教授、华中科技大学同济医学院石佑恩教授、苏州大学医学院李允鹤教授、中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所陈名刚研究员、安徽省血吸虫病防治研究所汪天平研究员、复旦大学公共卫生学院流行病学教研室赵根明教授对本项目的热心帮助!感谢中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所血吸虫病室的全体人员对本项目的大力支持!)

[参考文献]

- [1] 管晓虹,石佑恩. 评估日本血吸虫病免疫学诊断方法疗效考核价值的合作研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1996, 8(2): 72-77.
- [2] 冯正,裴丽姝,陈名刚,等. 从平行检测和检测结果分析我国血吸虫病诊断试剂的现状[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16(5): 321-325.

[收稿日期] 2004-12-05 [编辑] 汪伟

(上接第106页)性接触疫水而感染,其次是山丘内陆地区监测查螺未到位,未及时发现新疫点造成成批感染。

3.2 新发现晚血病人散在发生 由于青壮年外出打工和阶段性输出人口增加,致使这部分人群在历次查病中漏查,加上治疗不及时而形成新的晚血病人,在新发现的9例晚血病人中,34岁以下5例。

3.3 人群感染率下降缓慢 人群感染率呈徘徊状态,局部地区感染率高达18.98%,究其原因:①“三滩”地区有螺面积大,药物灭螺局限在重易感地带,灭螺覆盖面小,造成急性感染年年发生;②每年汛期生产、生活性接触疫水人员增加;③健康教育薄弱,致使非生产性接触疫水未得到有效控制。

3.4 耕牛重复感染严重 2001年因无专项经费,查出的病牛无法治疗,2002年始政府加大了耕牛血防投入,耕牛受治率和扩大化疗头数不断增加,故感染率呈下降趋势。但每年受检率仅50%左右,很可能有一部分病牛未能检出,滩地

污染仍未得到有效控制,致使耕牛重复感染严重。

3.5 山丘内陆钉螺回升较快 3年残存钉螺回升和新发现钉螺面积12.2 hm²,并有继续扩散趋势。其原因:①每年有限药物主要用于“三滩”地区打击感染性螺点,忽视了内陆灭螺;②环境改造灭螺短期投入大、代价高,仅靠血防部门无法承受;③部门配合不力,使综合治理未达到灭螺要求。

对此,建议:①加大药物灭螺力度,结合农田水利基本建设,对有螺环境进行综合治理,压缩有螺面积,杀灭阳性钉螺;②加大经费投入,确保防治工作的正常开展,同时进一步完善“政府领导、部门协作、社会参与”的血防工作机制;③做好人畜同步防治工作,特别是流动人口和从疫区购进及市场交易的耕牛监测查病,控制急性感染,尽可能治愈所有感染者;④大力开展健康教育,加强疫区改水改厕工作,引导人们改变不卫生的行为;⑤建立安全放牧区,提倡以机代牛,逐步减少耕牛对滩地的污染。

[收稿日期] 2004-10-20 [编辑] 沈怡平