



防疫与检疫科学

## 6种布鲁氏菌病诊断试剂检测结果的比较

王军, 段倩倩, 王维, 周迎春, 王倩, 沈艳, 刘畅, 苗文萍

(安徽省动物疫病预防与控制中心, 安徽合肥 230091)

**摘要:**为比较不同布鲁氏菌病诊断试剂在实验室检测工作中性能的差异,本研究以96份奶牛血清为实验材料,采用虎红平板凝集试验(RBT)、试管凝集试验(SAT)、间接酶联免疫吸附试验(iELISA)、竞争酶联免疫吸附试验(cELISA)4种方法、6种不同试剂进行比对检测,将SAT结果作为金标准,分析其余5种诊断试剂的敏感性、特异性和符合率,并分析同种方法不同试剂检测结果的一致性。结果显示:(1)SAT检测出阳性样本3份,阴性样本93份。(2)与SAT结果相比,RBT、iELISA-A和iELISA-B的敏感性最高(100.00%),RBT和cELISA-C的特异性最高(98.92%)。(3)RBT、iELISA-A、cELISA-C的符合率均在91.67%以上。(4)iELISA-A与iELISA-B之间,cELISA-C与cELISA-D之间一致性较差。研究表明:相比iELISA-B和cELISA-D试剂盒,iELISA-A和cELISA-C试剂盒的结果更加可靠;在开展布鲁氏菌病大规模初筛时宜选用敏感性高的试剂,如RBT和iELISA-A,确诊时宜选用特异性高的试剂,如SAT和cELISA-C。本研究结果为诊断试剂的选择提供参考,以提高诊断准确性。

**关键词:**布鲁氏菌病;诊断试剂;敏感性;特异性;符合率;一致性

[中图分类号] S851.34

[文献标志码] A

[文章编号] 1004-6704(2024)-04-0094-04

## Comparison of Detection Results of 6 Kinds of Diagnostic Reagents for Brucellosis

WANG Jun, DUAN Qianqian, WANG Wei, ZHOU Yingchun,

WANG Qian, SHEN Yan, LIU Chang, MIAO Wenping

(Anhui Provincial Center for Animal Disease Control and Prevention, Hefei, Anhui 230091, China)

**Abstract:** In order to compare the performance of different brucellosis diagnostic reagents in laboratory tests, In this study, 96 samples of cow serum were detected by 4 methods, including rose bengal plate agglutination test (RBT), serum agglutination test (SAT), indirect enzyme-linked immunosorbent assay (iELISA) and competitive enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA), and 6 different reagents. SAT results were used as the gold standard. The sensitivity, specificity and coincidence rate of the other 5 diagnostic reagents were analyzed, and the consistency of the detection results of different reagents with the same method was analyzed. The results showed that 3 positive samples and 93 negative samples were detected by SAT. RBT, iELISA-A and iELISA-B showed the highest sensitivity (100.00%) compared with SAT. The specificity of RBT and cELISA-C was the highest (98.92%). The coincidence rates of RBT, iELISA-A and cELISA-C were all above 91.67%. The consistency between iELISA-A and iELISA-B and between cELISA-C and cELISA-D was poor. The results of this study provided reference for the selection of diagnostic reagents to improve the diagnostic accuracy.

**Key words:** brucellosis; diagnostic reagent; sensitivity; specificity; coincidence rate; consistency

[收稿日期] 2024-04-30

[第一作者] 王军(1983-),男,兽医师,主要从事动物疫病防控工作。E-mail:136329532@qq.com

[共同第一作者] 段倩倩(1996-),女,助理兽医师,主要从事动物疫病防控工作。E-mail:1460809869@qq.com

布鲁氏菌病(brucellosis,简称“布病”)是由布鲁氏菌引起的一种人兽共患传染病,主要是生殖器官和胎膜发炎,引起流产、不育和各种组织的局部病灶<sup>[1]</sup>。该病呈全球性流行,我国将其列为二类动物

疫病,世界动物卫生组织(OIE)将其列为 B 类流行病<sup>[2]</sup>。布病目前在人、畜间仍有发生,在部分地区呈现反弹趋势,给畜牧业和人类的健康带来严重危害<sup>[3-5]</sup>。

安徽省根据布病防控现状<sup>[6]</sup>,适时加大监测力度,每年布病诊断试剂需求量较大。然而近几年面临试剂选择难的问题,尤其是在 2018 年发布实施的修订版《动物布鲁氏菌病诊断技术》(GB/T 18646—2018)将竞争酶联免疫吸附试验增加为血清学确诊试验后,市场上有更多不同厂家生产的布病诊断试剂,选择高效、简便、准确度高的布病诊断试剂显得更难。本研究采用虎红平板凝集试验(RBT)、试管凝集试验(SAT)、间接酶联免疫吸附试验(iELISA)、竞争酶联免疫吸附试验(cELISA)等检测方法,选择本实验室常用的 6 种不同布病诊断试剂,分别对在某规模奶牛场采集的 96 份奶牛血清进行比对检测,以传统的布病确诊试验——SAT 的检测结果作为参照,根据检测结果对其他 5 种布病诊断试剂进行分析评估,以期为本实验室选用适当的布病诊断试剂提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 检测试剂

虎红平板凝集试验抗原(批号:202213)、试管凝集试验抗原(批号:202201)、布病标准阳性血清(批号:202101)与阴性血清(批号:202001),购自哈药集团生物疫苗有限公司。2 种 iELISA 抗体检测试剂随机命名为 A(批号:SE220728)和 B(批号:14403),2 种 cELISA 抗体检测试剂随机命名为 C(批号:TE221004)和 D(批号:20162219),分别购自国内外 4 家生物公司。以上试剂均按要求存放,且处于有效期内。

### 1.2 血清样本

96 份奶牛血清采自某规模奶牛场,离心后于本实验室-20℃保存。

### 1.3 仪器设备

酶标仪(TECAN Sunrise),智能生化培养箱(SHP-250),96 通道洗板机(BioTek ELx405),离心机(中佳 SC-3610),微量振荡器(荣华 ZW-A),微量移液器(Transferpette)。

### 1.4 检测方法

1.4.1 虎红平板凝集试验(RBT)和试管凝集试验(SAT) 操作与结果判定按照《动物布鲁氏菌病诊断技术》(GB/T 18646—2018)进行。

1.4.2 酶联免疫吸附试验(ELISA) 平行检测全部血清样本,严格按照各诊断试剂说明书进行操作、判定。

### 1.5 数据分析与处理

以 SAT 为金标准,分析其他 5 种检测试剂的敏感性、特异性、符合率。

敏感性 = 真阳性数 / (真阳性数 + 假阴性数)

特异性 = 真阴性数 / (真阴性数 + 假阳性数)

符合率 = (真阳性数 + 真阴性数) / 被检总数

对同种方法的不同试剂(iELISA-A 和 iELISA-B, cELISA-C 和 cELISA-D)进行一致性比较,计算一致性系数(K 值)。

当  $K \geq 0.75$  时,说明试验具有高度一致性;若  $0.40 < K < 0.75$ ,则说明具有中度一致性;若  $K \leq 0.40$ ,则说明试验的一致性较差<sup>[7]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 6 种布病诊断试剂血清学检测结果

采用 RBT、SAT、ELISA 等方法分别对同一批奶牛血清样本进行检测,结果显示:经 SAT 检测,阳性样本数量为 3 份,阴性样本数量为 93 份;其他 5 种诊断试剂检测出阳性样本数分别为 4 份、11 份、23 份、3 份、38 份,详见表 1 和表 2。

表 1 6 种布病诊断试剂血清学检测结果

Table 1 Serological test results of 6 kinds of bruceopathy diagnostic reagents

诊断试剂	检测结果	
	+	-
SAT	3	93
RBT	4	92
iELISA-A	11	85
iELISA-B	23	73
cELISA-C	3	93
cELISA-D	38	58

注:+,为阳性;-为阴性。表 2,表 4,表 5 同。

### 2.2 敏感性、特异性与符合率分析

由表 3 可知,以 SAT 结果为金标准,RBT、iELISA-A 和 iELISA-B 的敏感性最高(100.00%),RBT 和 cELISA-C 的特异性最高(98.92%),RBT、iELISA-A、cELISA-C 的符合率均在 91.67%以上。

### 2.3 一致性分析

由表 4 和表 5 可知,iELISA-A 与 iELISA-B 之间,cELISA-C 与 cELISA-D 之间一致性均较差。

表 2 5 种诊断试剂与 SAT 检测结果的比较

Table 2 Comparison of 5 kinds of diagnostic reagents and SAT test results

诊断试剂	检测结果	SAT	
		+	-
RBT	+	3	1
	-	0	92
iELISA-A	+	3	8
	-	0	85
iELISA-B	+	3	20
	-	0	73
cELISA-C	+	2	1
	-	1	92
cELISA-D	+	2	36
	-	1	57

表 3 5 种布病诊断试剂的敏感性、特异性与符合率

Table 3 Sensitivity, specificity and coincidence rate of 5 kinds of bruceopathy diagnostic reagents

诊断试剂	敏感性/%	特异性/%	符合率/%
RBT	100.00	98.92	98.96
iELISA-A	100.00	91.40	91.67
iELISA-B	100.00	78.49	79.17
cELISA-C	66.67	98.92	97.92
cELISA-D	66.67	61.29	61.46

表 4 2 种 iELISA 试剂检测结果一致性

Table 4 Consistency of test results of two iELISA reagents

诊断试剂	检测结果	iELISA-B		K 值
		+	-	
iELISA-A	+	8	3	0.373
	-	15	70	

表 5 2 种 cELISA 试剂检测结果一致性

Table 5 Consistency of test results of two cELISA reagents

诊断试剂	检测结果	cELISA-D		K 值
		+	-	
cELISA-C	+	2	1	0.042
	-	36	57	

### 3 讨论

常用的布鲁氏菌病血清学检测方法有 RBT、SAT、ELISA、补体结合试验、胶体金免疫层析等。RBT 试剂中的酸性成分,能抑制非特异性 IgM 活性,并增强特异性 IgG 活性,该方法操作简单、耗时短,不需要配套仪器设备,且试剂成本低廉。SAT

主要检测 IgM,对 IgG 几乎不敏感,因此可以作为早期诊断。ELISA 的优点是检测通量大,结果判读更为客观准确,缺点是操作步骤相对繁琐,耗时长,对操作人员技术水平要求高,且试剂成本高,检测抗体类型与包被的抗原或抗体以及使用的二抗相关。

敏感性、特异性、符合率、一致性等都属于评价诊断试剂的基本指标。敏感性是识别阳性动物的能

力,敏感性越高,漏检率越低;特异性是识别阴性动物的能力,特异性越高,误诊率越低;符合率则是对敏感性和特异性的综合评估;一致性是用两种方法对同一样本检测出相同结果的特性,一致性越高,结果可信程度越高。本研究中 2 种 iELISA 试剂之间、2 种 cELISA 试剂之间一致性较差,以 SAT 作为金标准,iELISA-A 和 cELISA-C 的符合率明显高于 iELISA-B 和 cELISA-D,表明不同品牌试剂的检测可信程度参差不齐,iELISA-A 和 cELISA-C 的结果更加可靠。因此,在实际工作中,应当使用标准品对试剂进行质控,验收无误才可投入使用。剔除 2 种与 SAT 符合率低于 80% 的试剂(iELISA-B 和 cELISA-D)后,3 种检测试剂敏感性排序为 RBT = iELISA-A > cELISA-C,特异性排序为 RBT = cELISA-C > iELISA-A,与 SAT 符合率排序为 RBT > cELISA-C > iELISA-A。在开展布鲁氏菌病大规模初筛时宜选用敏感性高的试剂,如 RBT 和 iELISA-A,不漏检任何一个可能阳性的动物;确诊时宜选用特异性高的试剂,如 SAT 和 cELISA-C,避免误诊“假阳性”,增加无效的处置成本。虽然本研究测得 RBT 特异性也很高,但是该方法易受样品溶血、抗凝剂作用、交叉反应和反应时间过长等因素影响,从而发生“假阳性”凝集。因此,临床上多以 SAT 和 cELISA 结果作为确诊依据。

#### 4 结 论

相比 iELISA-B 和 cELISA-D 试剂盒,iELISA-A 和 cELISA-C 试剂盒的结果更加可靠;在开展布鲁氏菌病大规模初筛时宜选用敏感性高的试剂,如 RBT 和 iELISA-A,确诊时宜选用特异性高的试剂,如 SAT 和 cELISA-C。

#### 参考文献:

- [1] 陈溥言. 兽医传染病学[M]. 北京:中国农业出版社,2015.
- [2] 董丽娟,杨少华,王 广,等. 奶山羊布鲁氏菌病抗原与

抗体双检测的效果分析[J]. 畜牧兽医杂志,2023,42(5):118-121.

DONG L J, YANG SH H, WANG G, et al. Analysis on the effect of double detection of antigen and antibody of brucellosis in milk goats[J]. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2023, 42(5): 118-121.

- [3] 贺雪丽. 肃南县畜间布鲁氏菌病流行病学调查报告[J]. 畜牧兽医杂志,2024,43(2):88-90.

HE X L. Epidemiological investigation report on brucellosis among livestock in Sunan County[J]. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2024, 43(2): 88-90.

- [4] 王 磊,李 涛,武军林,等. 绥德县 2011—2020 年畜间布鲁氏杆菌病综合防治调研[J]. 畜牧兽医杂志,2022,41(5):275-278.

WANG L, LI T, WU J L, et al. Investigation on comprehensive prevention and control of brucellosis among livestock in Suide County from 2011 to 2020[J]. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2022, 41(5): 275-278.

- [5] 奎 军. 西宁市湟中区 2022 年畜间布病基线调查报告[J]. 青海畜牧兽医杂志,2023,53(3):31-32.

- [6] 洪功飞,刘 华,车跃光,等. 安徽省牛羊布鲁氏菌病防控现状与思考[J]. 中国动物检疫,2021,38(11):64-68.

HONG G F, LIU H, CHE Y G, et al. Analysis on the prevention and control of brucellosis in cattle and sheep in Anhui Province and some reflections[J]. China Animal Health Inspection, 2021, 38(11): 64-68.

- [7] 万 颖,周改静,麻 园,等. 猪流行性腹泻病毒 N 蛋白阻断 ELISA 抗体检测方法的建立及初步应用[J]. 畜牧兽医学报,2022,53(4):1 173-1 181.

WAN Y, ZHOU G J, MA Y, et al. Development and application of N-protein blocking ELISA for detecting porcine epidemic diarrhea virus antibodies [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2022, 53(4): 1 173-1 181.