

# 2015年亚太地区登革热和基孔肯雅热诊断能力外部质量评估

Li Ting Soh,<sup>a\*</sup> Raynal C Squires,<sup>b\*</sup> Li Kiang Tan,<sup>a</sup> Kwoon Yong Pok,<sup>a</sup> HuiTing Yang,<sup>a</sup> Christina Liew,<sup>a</sup> Aparna Singh Shah,<sup>c</sup> John Askov,<sup>a</sup> Sazaly Abubakar,<sup>d</sup> Futoshi Hasabe,<sup>e</sup> Lee Ching Ng<sup>a</sup> and Frank Konings<sup>b</sup>

通讯作者: Frank Konings (电子邮件: koningsf@wpro.who.int).

**目的:** 继2013年第一轮登革热的外部质量评估 (EQA) 后, 针对亚太地区国家级公共卫生实验室再次进行了登革热和基孔肯雅热诊断的外部质量评价。

**方法:** 24个国家级公共卫生实验室在由2个模块组成的测试平台上进行常规诊断试验。其中, 模块A是含有登革热病毒或基孔肯雅热病毒的血清样本, 用于检测核酸和非结构蛋白1 (NS1) 抗原。模块B含有人血清样本, 用于登革热病毒抗体的检测。

**结果:** 在参加模块A测试的20个实验室中, 有17 (85%) 个实验室通过RT-PCR技术正确地检测到登革热病毒RNA, 有18 (90%) 个实验室正确地确定了血清型, 有19 (95%) 个实验室通过RT-PCR正确地检测出基孔肯雅热病毒。在15个进行NS1检测的实验室中, 有10 (66.7%) 个得到了正确的检测结果。在模块B测试中, 有18/23 (78.3%) 的实验室正确地检测到登革热抗体IgM, 有20/20 (100%) 的实验室正确地检测到登革热抗体IgG。在24个参与测试的实验室中, 有19 (79.2%) 个实验室可以使用分子 (RT-PCR) 和血清型方法 (IgM) 两种方法检测到急性或近期的登革热感染。

**讨论:** 准确的实验室检测是登革热和基孔肯雅热监测和控制的重要组成部分。通过本次第二轮外部质量评估可以看出, 亚太地区的实验室在这些疾病的分子和血清型试验诊断方面具有较好的水平。在将来的EQA中, 应该包括寨卡病毒检测在内的更全面的诊断检测。

**近** 几十年来, 虽然登革热的真实病例数由于漏报而被低估, 但是登革热的发病率仍然显著增加。Bhatt等人认为每年大概发生3.9亿登革热感染, 其中9600万出现临床症状<sup>[1]</sup>。亚太地区 (包括WHO东南亚地区和西太平洋地区) 每年都有多起以及较大规模的登革热暴发, 是登革热的高发区, 占全球负担的70%。在西太平洋地区, 2014年所罗门群岛就有1513例登革热病例<sup>[2]</sup>, 中国有45 171例登革热病例, 马来西亚有108 698例登革热病例<sup>[3]</sup>。在近70多年中, 日本也首次报道了本土病例<sup>[4,5]</sup>, 而且登革热3型病毒在消失18年之后再次在太平洋地区流行<sup>[6]</sup>。

基孔肯雅热是对亚太地区的新发威胁。该疾病是由基孔肯雅热病毒 (甲病毒属) 通过蚊子传播引起的, 与登革热病毒具有部分相同的传播媒介 (埃及伊蚊和白纹伊蚊等)。临床症状和登革热也相似, 尽管基孔肯雅热通常是一种比较温和的疾病, 但是常会伴

有一些引起不适的后遗症, 如有36%–64%的病例出现持久性关节痛<sup>[7]</sup>。由于基孔肯雅热症状和登革热相似, 同时能够和登革热病毒共同传播, 因此基孔肯雅热病毒或许已经在本地区内有传播<sup>[7,8]</sup>。寨卡病毒也是同样情况, 寨卡病毒是一种60年代在亚洲检测出的黄病毒 (flavivirus), 最近在太平洋地区和美洲地区出现<sup>[9]</sup>。由于寨卡病毒和小头畸形以及一些神经疾患的聚集性病例有关, WHO已经于2016年2月1日宣布寨卡为“国际关注的突发公共卫生事件”<sup>[10]</sup>。

准确的实验室诊断是监测和响应的重要组成部分。特别在登革热流行的地区, 如果没有实验室确认, 很难区分登革热和基孔肯雅热这两种相似的疾病。这就会影响到卫生应对, 因为针对埃及伊蚊和白纹伊蚊需要不同的控制策略<sup>[11]</sup>, 而且临床医生也需要专业的培训来处理重症登革热病例<sup>[12]</sup>。登革热和基孔肯雅热的诊断是相似的。在感染的急性期, 诊断的重

<sup>a</sup> 新加坡国家环境局环境卫生研究所, WHO虫媒病毒及相关媒介参比研究合作中心

<sup>b</sup> WHO西太区区域办公室卫生安全与突发事件部, 新发疾病监测与应对组, 马尼拉, 菲律宾

<sup>c</sup> WHO东南亚区域办公室传染病所血液安全与实验室技术部, 新德里, 印度

<sup>d</sup> WHO虫媒病毒参比研究合作中心 (登革热/重症登革热), 热带传染病研究与教育中心, 医学微生物科, 医学院, 马来亚大学, 吉隆坡, 马来西亚

<sup>e</sup> WHO热带及新发病毒参比研究合作中心, 长崎大学, 长崎, 日本

\* 共同第一作者

投稿日期: 2016年2月16日, 发表日期: 2016年4月22日

doi: 10.5365/wpsar.2016.7.1.002

点放在病毒RNA的检测上（或者是登革热病毒的非结构蛋白S1）；在恢复期主要针对免疫球蛋白IgM和/或高滴度的IgG进行检测<sup>[7,13]</sup>。尽管使用RT-PCR进行RNA检测的初始花费很高，并且需要技术专家和很好的实验设备，但是这个检测平台能够同时进行多种病原体的检测，而且能生成血清型（登革热病毒）和基因型等相关数据，对于追踪病毒变化和风险评估是非常有用的<sup>[14]</sup>。目前已经有几种通过RT-PCR检测DENV和CHIKV的试剂盒，或者通过检测IgM和IgG抗体的商业检测试剂盒。尽管针对登革热在医院以外的即时检测技术已经建立，但是针对基孔肯雅热的可靠、快速的诊断试验(rapid diagnostic tests, RDTs)尚未形成<sup>[15]</sup>。

我们最近报告了WHO西太平洋地区国家级公共卫生实验室针对登革热检测的第一次区域外部质量评估的结果<sup>[13]</sup>，该评估由亚太新发疾病策略组织于2013年发起<sup>[16]</sup>，参照WHO现行的针对流感外部质量评估流程<sup>[17]</sup>，使用灭活登革热病毒和恢复期病人的血清，评估该区域内登革热诊断试验的水平，评估结果显示在分子和血清型检测方面有较高的检测水平。本次研究扩大了检测内容，包含了更多登革热的诊断样本，同时也包括了基孔肯雅热的样本，以及更广泛的区域覆盖范围，和更多的WHO东南亚地区的国家级公共卫生实验室。

## 方法

### 参加的实验室

有24个国家级公共卫生实验室参加了此次外部质量评估（详见文末），分别来自WHO东南亚和西太平洋的22个国家和地区。外部质量评估测试平台于2015年2月至5月间陆续分发到各个实验室。

### 外部质量评估平台的准备

考虑到外部质量评估需要一定的技术专家、足够的样本和必须的资源等条件，因为选择了位于新加坡国家环境局环境卫生研究所的WHO虫媒病毒及相关媒介参比研究合作中心作为此次外部质量评估的提供者。

此次外部质量评估平台有两个模块组成（A和B），包含由1mL血清，其中有灭活的登革热病毒和基孔肯雅热病毒（模块A），以及0.2mL从登革热恢复期病人中得到的血清（模块B）（见表1）。所有的病人血清样本经过56℃一小时的热处理，并且人免疫缺陷病毒、乙肝表面抗原和丙肝抗体的检测均为阴性。

对于模块A，灭活的登革热病毒和基孔肯雅热

病毒分离物通过哺乳动物细胞培养（分别为Vero 和 BHK Clone 21）的上清液得到，包括DENV-1（SG(EHI) D1/19944Y13, Genotype III, GenBank: KP685234），DENV-3（SG(EHI)D3/26592Y13, Genotype III, GenBank: KP685235）和CHIKV（SGEHI06071Y13, GenBank: KP685237）。细胞上清液中的病毒颗粒通过1小时60℃的热处理，使之灭活，经过三阶段内部细胞病毒感染实验证实其无感染性。经过热处理的样本用无病原体的人血清进行稀释（SeraCare Life Sciences, Milford, MA, USA），通过内部RT-PCR确定其最终的病毒载量（用基因组当量/毫升[GE/mL]测量）<sup>[18,19]</sup>。通过商用登革热NS1试验（Panbio登革热早期NS1抗原捕获ELISA[Alere 公司, Waltham, MA, 美国]）和登革热NA1银盒[Standard Diagnostics Inc., Kyonggi-do, 韩国]确定登革热病毒样本中含有NS1抗原。只有同时被NS1试验和RT-PCR实验证实含有登革热病毒的样本才能纳入本模块中。两份血清样本作为阴性对照（A2015-V07 和A2015-V10），并且通过NS1试验和RT-PCR实验确定其登革热病毒和基孔肯雅热病毒为阴性。

对于模块B，将近期恢复的登革热病人的血清分成两个系列(B2015-S02和B2015-S03; B2015-S04 和 B2015-S05)，这些血清中含有针对登革热病毒1-4型的中和抗体 (>1:1000, 通过内部基于细胞的噬斑减少中和技术[plaque reduction neutralization test, PRNT]确定)<sup>[20]</sup>。这些样本经过登革热病毒商用试验(Bioline Dengue Duo [Standard Diagnostics Inc.]、登革热病毒IgM捕获DxSelect[Focus Diagnostics, Cypress, CA, USA]、Panbio登革热IgG捕获以及IgG间接ELISA[Alere Inc])检测证实登革热病毒抗体IgM和IgG阳性。样本B2015-S02 和B2015-S03为高IgM (IgM捕获> 72 Panbio units; > 11为阳性)和高IgG (IgG捕获> 97 Panbio units; > 22为阳性)，而样本B2015-S04 和B2015-S05为低IgM (IgM捕获为18 Panbio units; > 11为阳性)和高IgG (IgG捕获 > 87 Panbio units; > 22为阳性)。样本B2015-S01 和B2015-S06是阴性对照（仅有人血清），并且通过上述商用和PRNT方法确认样本的抗登革热病毒抗体为阴性。

在将外部质量评估样本发放到各个实验室之前，所有的样本都要在ISO 15189和CAP认证的实验室使用登革热病毒和基孔肯雅热病毒RT-PCR方法<sup>[21,22]</sup>和SD Bioline Dengue Duo 试剂盒方法进行检测。

参加此次评估的实验室可以选择一个模块或者两个模块进行测试。所有的样本在发放之前都进行了编号并冻存在-80℃环境中。有一个实验室要求向其提供登革热四种血清型的阳性对照物，以便用于核实登革热RT-PCR实验方案。同样，如果实验室要求，也会向

表1 2015年WHO东南亚和西太区登革热和基孔肯雅热外部质量评估所用的模块特征

模块	样本编号	内容	血清型/株及滴度(GE/mL)*	抗体
病毒RNA/NS1 抗原 (模块A)	A2015-V01	灭活的登革热病毒血清	DENV-1 (1.1X10 <sup>6</sup> )	-
	A2015-V02	灭活的登革热病毒血清	DENV-1 (1.0X10 <sup>6</sup> )	-
	A2015-V03	灭活的登革热病毒血清	DENV-1 (1.7X10 <sup>6</sup> )	-
	A2015-V04	灭活的登革热病毒血清	DENV-1 (1.5X10 <sup>6</sup> )	-
	A2015-V05	灭活的登革热病毒血清	DENV-1 (1.4X10 <sup>6</sup> )	-
	A2015-V06	灭活的登革热病毒血清	DENV-1 (5.0X10 <sup>5</sup> )	-
	A2015-V07	只有血清	阴性对照	-
	A2015-V08	灭活的基孔肯雅热病毒血清	ECSA (8.2X10 <sup>4</sup> )	-
	A2015-V08	灭活的基孔肯雅热病毒血清	ECSA (9.9X10 <sup>4</sup> )	-
	A2015-V10	只有血清	阴性对照	-
抗体 (模块B)	B2015-S01	阴性的人血清	-	阴性对照
	B2015-S02 <sup>†</sup>	恢复期血清	-	IgM, IgG
	B2015-S03 <sup>†</sup>	恢复期血清	-	IgM, IgG
	B2015-S04 <sup>†</sup>	恢复期血清	-	IgM, IgG
	B2015-S05 <sup>†</sup>	恢复期血清	-	IgM, IgG
	B2015-S06	阴性的人血清	-	阴性对照

\* 病毒滴度为每毫升平均基因组拷贝数 (genomic equivalents, GE, 基因组当量)。

<sup>†</sup> B2015-S02 和B2015-S03, B2015-S04 和B2015-S05分别是两个近期登革热恢复的病人中采集的同样的标本, 用于评价实验结果的可重复性。

CHIKV, 基孔肯雅热病毒; DENV, 登革热病毒; ECSA, 东中欧和南非系; ID, 编号; NS1, 非结构蛋白1。

其提供基孔肯雅热的阳性对照物和用于传统或实时RT-PCR的参比以及引物/探针序列。

## 数据收集和分析

每个参与实验室都有一个唯一的身份识别号, 以确保匿名参与, 同时还提供说明表格和结果提交反馈表。此外, 伴随模块B样本的还有临床信息说明。另外也包括了样本标签故意的标记错误, 以评价各实验室实验前对样本的预处理情况。各参与实验室按照常规诊断方法对外部质量评估样本进行检测, 报告发现的任何标签错误, 提交检测技术相关的背景信息, 包括方法、试剂盒、方案和使用的试剂。

在模块A中, 如果使用RT-PCR或者NS1能够正确地检测登革热病毒, 或对登革热病毒进行正确地分型, 或使用RT-PCR正确地检测基孔肯雅热病毒, 那么该实验室将会分别得到两个积分。在模块B中, 能够正确检测到IgM和IgG抗体将分别得到两个积分。所有的实验操作(包括补充的)都将实行积分, 没有完成的实验不作处罚。对于阳性样本如果仅提供了一个含糊结果只给一个积分<sup>[23]</sup>。对每一个模块, 使用有效期内的试剂或能够验证试剂已经过期的做法都可赢得额外4个积

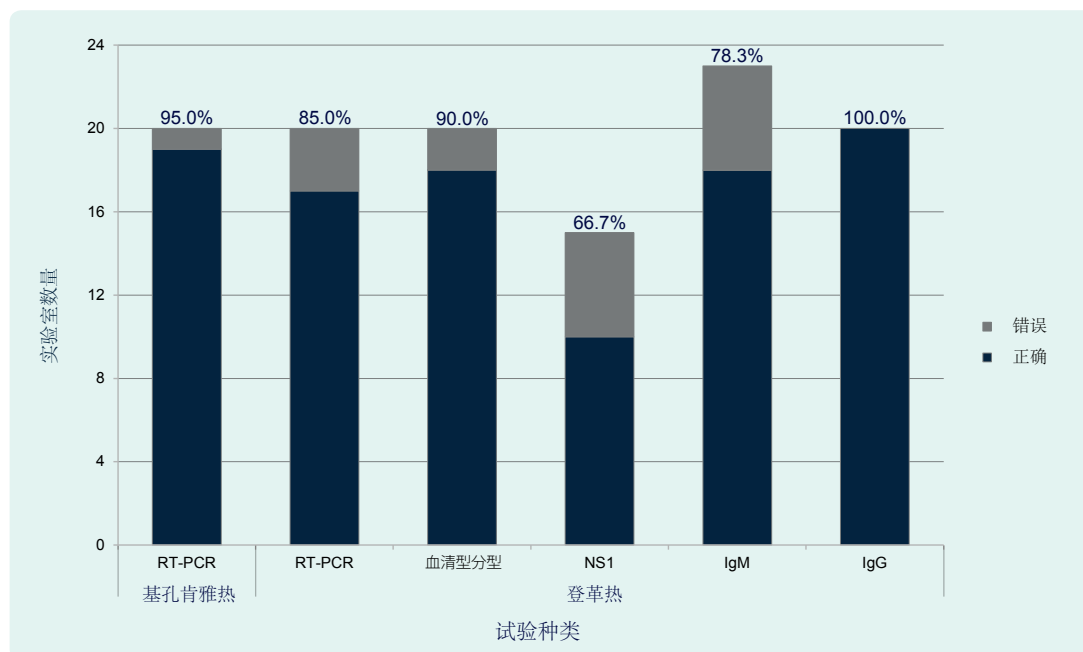
分; 对于每一个模块, 成功识别出标签错误者奖励额外1个积分。最终的计分结果是在所有可能得到的积分中, 实际所得积分所占的比例。

## 结果

### 实验室总体水平

在24个参与此次评估的实验室中, 分别有20个进行了模块A的测定, 有23个进行了模块B的测定。有19个实验室同时测定了两个模块。结果见图1。大多数的参与实验室通过RT-PCR正确地检测到登革热病毒(17/20, 85%)、登革热病毒血清型(18/20, 90%)和基孔肯雅热病毒(19/20, 95%)。而对于NS1检测, 准确性处于中等水平(10/15, 66.7%)。大多数实验室进行了抗登革热抗体IgM的检测, 有18/23(78.3%)实验室正确报告了结果。而所有20个检测IgG的实验室均准确报告了结果。有7个实验室对单一样本类型进行了补充检测(这种方法能够消除常规诊断中的假阳性或者假阴性), 并且对至少一种使用的试验方法报告了正确的结果(见表2)。在24个实验室中, 有18个(75%)实验室没有鉴别出样本标签上的故意错误。

图1. 2015年WHO东南亚和西太区登革热和基孔肯雅热诊断的外部质量评估中，参加不同试验种类的实验室比例以及检测结果



备注：柱子的上方为正确完成每一项检测的实验室比例  
NS1，非结构蛋白1；RT-PCR，逆转录聚合酶链式反应

## 模块A：病毒RNA和NS1抗原

在20家使用RT-PCR进行模块A测试的实验中，有15家（75%）实验室在测试过程中使用了实时RT-PCR技术对一些核酸位点进行了检测，其中10家实验室只使用了此技术（见表2）。很少有实验室在使用RT-PCR检测登革热病毒、登革热血清型和基孔肯雅热病毒时出现错误。在3家检测登革热病毒出错的实验室中，有两家使用了传统的RT-PCR，错误地将登革热阳性样本（A2015-V01，V02 and V03）报告成阴性；有一家使用实时RT-PCR，将登革热阳性样本（A2015-V01，V02 and V06）报告成阴性。在两家血清型检测错误的实验室中，其中一家实验室将仅含有登革热1型病毒（A2015-V03）的样本报告成同时含有1型和4型，另一家实验室将2份3型登革热样本（A2015-V04和A2015-V05）报告成4型登革热。还有一家实验室将纯血清样本（A2015-V10）报告成基孔肯雅热病毒。用于病毒检测和血清分型的登革热病毒基因组比较易变，尤其是capsid和non-structural protein 5。而对基孔肯雅热的检测主要是通过envelope 1和non-structural protein 1和4基因。

在15家进行NS1抗原检测的实验室中，有7家仅使用了ELISA，有4家同时使用了ELISA和RDT，剩余4家仅使用了RDT。有5家实验室通过Platelia Dengue NS1 Ag试剂盒（Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, 美国）使用ELISA的方法检测登革热病毒阳性样本

A2015-V03时出现了错误，其中4家报告结果不明确，1家报告了假阴性结果。

## 模块B：血清学

在模块B中，所有23家实验室均进行了抗登革热病毒IgM的检测，其中18家仅使用了ELISA的方法，1家使用了RDT，4家同时使用了两种方法（表2）。抗体捕获ELISA（Alere Inc.）和SD（Standard Diagnostics Inc.）是检测IgM中最常使用的两种方法。在22家使用ELISA进行检测的实验室中，有17（77.3%）家得到了正确的结果，有5（22.7%）家在检测登革热IgM阳性样本时（B2015-S04 and B2015-S05），至少有一份标本的检测结果不明确或者假阴性。在使用RDT的实验室中，没有出现错误。

在模块B中，有20家实验室同时测定了登革热抗体IgG和IgM，只有3家实验室仅进行了IgM的检测。在IgG的检测中，所有的使用方法均未出现错误。14（70%）家实验室只使用了ELISA检测了IgG，其余的实验室使用了RDT检测试剂盒或使用血凝抑制试验（HI），或者同时使用了两种方法。

## 与2013年外部质量评估的比较

在18家同时参加了2013年和2015年外部质量评估的实验室中，有4（22%）家在此次评估中保持或者提升了

表2. 2015年WHO东南亚和西太区登革热和基孔肯雅热诊断的外部质量评估中，参加实验室的检测结果总结

实验室识别号	13 01	13 02	13 03	13 04	13 06	13 07	13 08	13 09	13 10	13 11	13 12	13 13	13 14	13 15	13 16	13 17	13 18	13 19	14 20	14 21	14 22	14 23	14 24	14 25
<b>核酸检测 (RT-PCR)</b>																								
<b>登革热病毒</b>																								
实时	●	●	●			●		●	●	●	○			●	●	●		●	●					
传统	●			●	○							●	●				○						●	●
<b>登革热病毒血清分型</b>																								
实时	●	●	●			○		●	●	●	●			●	●	●		●	●					
传统	●			●	●							●	●				●						○	●
<b>基孔肯雅热病毒</b>																								
实时	●	●	●			○		●	●		●	●		●	●	●		●	●				●	●
传统				●	●					●			●			●	●							●
<b>登革热病毒NS1抗原检测</b>																								
ELISA	○			●		●		●					●	○	○	●	○	○					○	
RDT	●	●		●	●			●				○	○					●						
<b>抗登革热病毒IgM检测</b>																								
ELISA	●	●	●	●		●	●	●	●	○		●	○	●	●	○	○	●	○	●	●	●	●	●
RDT	●	●			●									●								●		
<b>抗登革热IgG检测</b>																								
ELISA	●		●	●		●			●	●		●	●	●			●	●	●	●			●	●
RDT	●	●			●											●						●		
HI	●													●	●									
模块运输时间 (天)	2	1	3	2	1	8	2	3	3	2	4	1	2	3	1	1	2	2	2	6	1	1	8	2
测试时间 (天)	41	27	36	72	54	29	41	7	25	27	28	12	30	32	21	27	49	30	27	28	13	24	50	44

注：实心点代表对所有的样本检测正确；空心点代表至少有一个样本检测错误

CHIKV, 基孔肯雅热病毒; DENV, 登革热病毒; ELISA, 酶联免疫吸附试验; HI, 血凝反应抑制试验; NS1: 非结构蛋白1; RDT, 快速诊断试验; RT-PCR, 逆转录聚合酶链式反应。

得分，而其余的14家实验室分值降低的中位数为3.5%（见图2），其中12家实验室的降幅小于8%，相反，另外两家实验室分别降低了14%和24%，重复了2013年血清型检测的错误，得分在这两次中均低于85%。

### 运输

提交结果的平均时间周期为32天。对20家要求检测基孔肯雅热样本的实验室，额外延长了30天以便其优化基孔肯雅热RT-PCR检测方法。在13家接受延长时限的实验室中，5家使用了延长时限，其中包括2家实验室在检测期间遇到了为期14天的法定假期。有1家实验室因为试剂不足，要求了24天的延期。

在测试样本运输到参与实验室的过程中，没有运输方面的困难。所有样本在接收的时候都保持着冻存状态。几乎所有实验室在4天内收到了测试样本；有3家实验室的样本由于延长的海关报关时间，在8天内收到了样本。

### 讨论

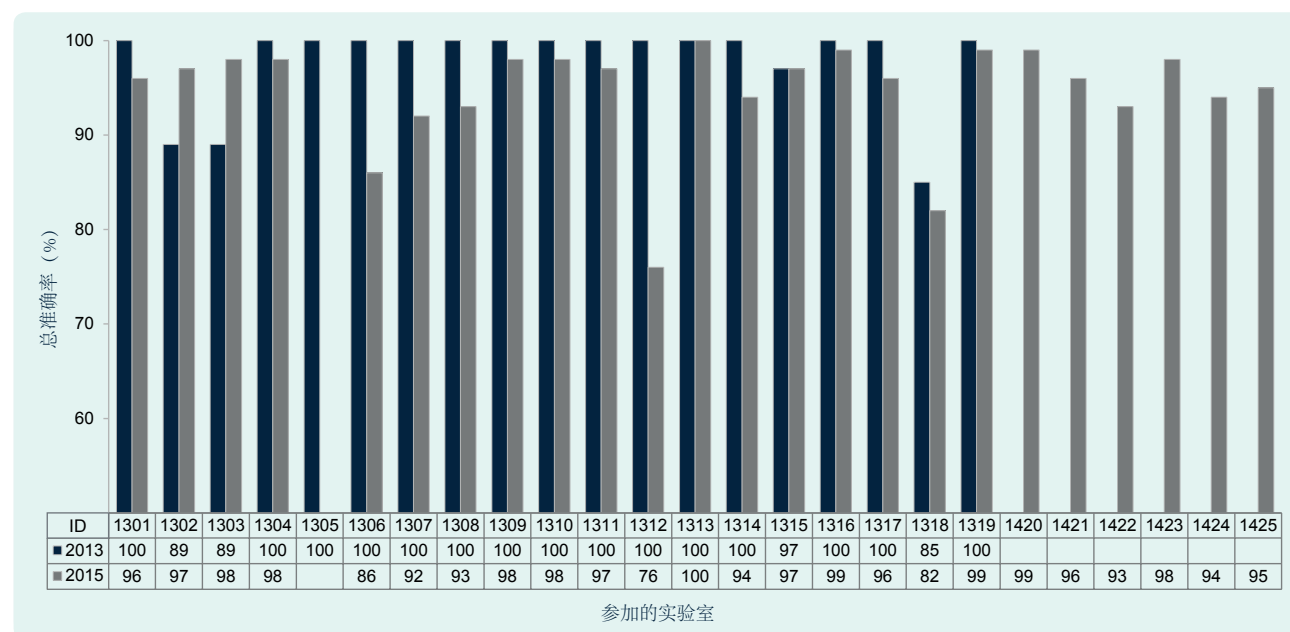
本研究报告了第二轮WHO西太地区国家级公共卫生实验

室登革热诊断的外部质量评估情况，本次评估增加了基孔肯雅热的诊断以及东南亚地区的国家级实验室的参与。

登革热的正确诊断必须依靠于在合适的时间使用合适的登革热诊断方法。在24家参试的实验室中，有19家使用了适合急性期登革热感染（RT-PCR）和近期感染（抗登革热IgM）的检测方法；有4家使用了登革热抗体检测，但是并没有使用像RT-PCR或者NS1这样适合早期检测的方法，其中1家可以进行RT-PCR，但是没有血清检测的能力。鉴于缺乏完整的诊断，这些实验室或许不能对登革热病毒的感染比例做出诊断，建议其通过使用ELISA方法检测NS1或者IgM，以尽快提升他们的诊断能力。

通过RT-PCR对登革热病毒和基孔肯雅热病毒进行检测及对登革热病毒进行分型的准确性可以达到85%以上。在登革热病毒的检测中，个别的错误（假阴性）主要集中在样本A2015-V01 和V02的检测中，这两个样本实际是相同的，含有同样的高滴度登革热1型病毒。在模块A检测中，大多数错误出现在NS1的检测中。其中，87.5%的NS1检测错误都来自同一个登革热阳性样本A2015-V03，在8家实验室中，有7家报告成阴性或者

图2. 参加2013年和2015年WHO登革热和基孔肯雅热诊断外部质量评估的实验室的总准确度（最终得分）



ID, 实验室识别号

结果不明确,尤其是在使用Platelia Dengue NS1 Ag试剂盒时。这意味着样本中NS1含量可能是处在该试剂盒检测的阈值上,使得像RT-PCR这种补充检测在登革热检测中意义更重大。

此次外部质量评估为使用RT-PCR检测基孔肯雅热病毒提供了平台。在20家使用RT-PCR的实验室中,16(80%)家实验室请求基孔肯雅热病毒阳性对照,有12(60%)家请求实时或者传统RT-PCR的操作方法,以便建立并确保其在基孔肯雅热检测中的能力。

开展抗登革热病毒IgM检测的实验室有较高的准确性(78.3%)。在这部分出现的错误主要是针对样本B2015-S04和/或B2015-S05的ELISA假阴性结果或不明确的结果。这两个样本来自同一个恢复期志愿者,含有较低的IgM,提示这些实验室应该重新考虑IgM检测中临界值的选取。所有针对IgG的检测均没有出现错误。与2013年的评估结果相似,实验室要么使用高滴度IgG的ELISA方法检测急性期/近期感染,要么使用低滴度IgG的ELISA检测既往感染(比如在血清流行率的研究中)。实验室应当意识到使用IgG检测的局限性,但是由于模块B只含有高滴度IgG样本,因此这种局限性没能够在检测中体现出来。

对参加了2013年和2015年质量评估的实验室而言,本次在得分上小幅降低也在预期之中,因为这次评估的复杂性有所增加<sup>[24]</sup>。本次评估尽管在一些方面较之前有所改进,但是也有一些局限性。模块A含有10

个样本而不再是2013年的3个,同时包含了登革热病毒和基孔肯雅热病毒,但是仅含有2种登革热血清型和1种基孔肯雅热株系。此次评估优先考虑同时使用登革热病毒NS1和RT-PCR测定样本,因为尽管NS1 RDT不如RT-PCR敏感,但却是临床实践中检测急性登革热病毒感染的一种重要诊断方法和流行病学工具。这意味着滴度低于 $10^5$  GE/mL的样本不能用于评估RT-PCR的敏感性。但是对于滴度为 $10^4$  GE/mL的基孔肯雅热样本却不一样,与另一个EQA的相似样本相比,此样本能够被非常准确地检测<sup>[25]</sup>。我们将来的研究可以更多地考虑使用更适合监测和诊断的低滴度样本研究登革热分子水平检测的敏感性<sup>[26]</sup>。

模块B包含了高滴度和低滴度的抗登革热病毒IgM样本,但是没有包含低滴度的抗登革热IgG样本,因而没能进行IgG敏感性评估。本模块同样也没有包含抗基孔肯雅热抗体的血清学检测样本,虽然目前在西太区很多地方已经有能力进行这方面的检测了<sup>[27]</sup>。此外,很多实验室没有发现EQA评估中的故意错误问题,这表明在将来的评估中应该强调质量控制的重要性。总之,此次评估的局限性也为将来的评估提供了提升改进的机会,包括将寨卡病毒纳入到评估中。鉴于寨卡能够造成严重的神经疾患,并与登革热病毒和基孔肯雅热病毒能够同时流行,而且具有相似的症状,因此对这些病原体的鉴别诊断至关重要<sup>[24]</sup>。

此次外部质量评估显示在亚太地区有较高的登革热和基孔肯雅热诊断能力。能力较差的实验室可以通

过此次评估提供的技术支持提升自身能力。在将来的评估中，将会增加评估的复杂性，并纳入包括寨卡病毒在内的新病原体。通过这种评估，有助于增强该区域内实验室针对新发传染病的诊断能力。

## 利益冲突

无

## 资金来源

本次2015年实验室能力评估的部分资金来自加拿大外事贸易与发展部的全球合作项目

## 致谢

感谢参与此次外部质量评估的国家级公共卫生实验室，同时还要感谢新加坡Tan Tocksenng医院的Leo Yee Sin教授帮助获得登革热抗体阳性血清样本。

## 参与实验室名单

PathWest 医学实验室；QEII医学中心（澳大利亚）；流行病学、疾病控制与研究所（孟加拉国）；Cambodge巴斯德研究所（柬埔寨）；中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所（中国）；斐济传染病控制中心（斐济）；Louis Malarde研究所（法属波利尼西亚）；公共卫生实验室中心，病毒部（香港特别行政区）；国家卫生研究与发展研究所（印度尼西亚）；国家传染病与病毒学第一研究所（日本）；国家卫生研究所虫媒病毒部（韩国）；国家实验室与流行病学研究中心（老挝人民民主共和国）；卫生局公共卫生实验室（澳门特别行政区）；马来亚大学热带传染病研究与教育中心（马来西亚）；国家公共卫生实验室（马来西亚）；卫生部动物源性疾病研究中心（蒙古）；国家卫生实验室（缅甸）；国家公共卫生实验室（尼泊尔）；Nouvelle-Calédonie巴斯德研究所，Biologie Médicale实验室（新卡里多尼亚）；环境科学与研究机构，临床病毒学（新西兰）；巴布亚新几内亚医学研究所，环境与新发疾病部（巴布亚新几内亚）；热带医学研究所，病毒学部（菲律宾）；医学研究所病毒部（斯里兰卡）；国家卫生与流行病学研究所病毒学部（越南）；胡志明巴斯德研究所，虫媒病毒实验室（越南）。

## 参考文献

1. Bhatt S et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 2013, 496(7446):504–507. doi:10.1038/nature12060 pmid:23563266
2. *Dengue Situation Update - 3 June 2014*. Manila, World Health Organization Regional Office for the Western Pacific, 2014 ([http://www.wpro.who.int/entity/emerging\\_diseases/Dengue\\_Biweekly.03Jun2014.pdf](http://www.wpro.who.int/entity/emerging_diseases/Dengue_Biweekly.03Jun2014.pdf), accessed 17 December 2015).
3. *Dengue Situation Update - 13 January 2015*. Manila, World Health Organization Regional Office for the Western Pacific, 2015 ([http://www.wpro.who.int/entity/emerging\\_diseases/dengue\\_biweekly\\_13jan2015.pdf](http://www.wpro.who.int/entity/emerging_diseases/dengue_biweekly_13jan2015.pdf), accessed 17 December 2015).
4. Arima Y et al. Ongoing local transmission of dengue in Japan, August to September 2014. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2014, 5(4):27–29. doi:10.5365/wpsar.2014.5.3.007 pmid:25685602
5. Kutsuna S et al. Autochthonous dengue fever, Tokyo, Japan, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, 21(3):517–520. doi:10.3201/eid2103.141662 pmid:25695200
6. Cao-Lormeau VM et al. Dengue virus type 3, South Pacific Islands, 2013. *Emerging Infectious Diseases*, 2014, 20(6):1034–1036. doi:10.3201/eid2006.131413 pmid:24856252
7. Weaver SC, Lecuit M. Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease. *New England Journal Medicine*, 2015, 372(13):1231–1239. doi:10.1056/NEJMra1406035 pmid:25806915
8. Horwood P et al. The threat of chikungunya in Oceania. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2013, 4(2):8–10. doi:10.5365/wpsar.2013.4.2.003 pmid:24015365
9. Kindhauser MK et al. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. *Bulletin of the World Health Organization*, 2016 (submitted). doi:10.2471/BLT.16.171082
10. *WHO Director-General summarizes the outcome of the Emergency Committee regarding clusters of microcephaly and Guillain-Barré syndrome*. Geneva, World Health Organization, 2016 (<http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2016/emergency-committee-zika-microcephaly/en/>, accessed 21 March 2016).
11. Yap G et al. Evaluation of Chikungunya diagnostic assays: differences in sensitivity of serology assays in two independent outbreaks. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 2010, 4(7):e753. doi:10.1371/journal.pntd.0000753 pmid:20651930
12. *World Health Organization and Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases: Handbook for clinical management of dengue*. Geneva, World Health Organization, 2012 (<http://www.who.int/denguecontrol/9789241504713/en/>, accessed 8 April 2016).
13. Pok KY et al. First round of external quality assessment of dengue diagnostics in the WHO Western Pacific Region, 2013. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2015, 6(2):73–81. doi:10.5365/wpsar.2015.6.1.017 pmid:26306220
14. Hapuarachchi HC et al. Intra-epidemic evolutionary dynamics of a Dengue virus type 1 population reveal mutant spectra that correlate with disease transmission. *Science Report*, 2016, 6:22592. doi:10.1038/srep22592 pmid:26940650
15. Prat CM et al. Evaluation of commercially available serologic diagnostic tests for chikungunya virus. *Emerging Infectious Diseases*, 2014, 20(12):2129–2132. doi:10.3201/eid2012.141269 pmid:25418184

16. *Asia Pacific Strategy for Emerging Diseases (2010)*. Manila, World Health Organization Regional Office for the Western Pacific, 2011 ([http://www.wpro.who.int/emerging\\_diseases/APSED2010/en/](http://www.wpro.who.int/emerging_diseases/APSED2010/en/), accessed 17 December 2015).
17. *WHO external quality assessment project for the detection of influenza virus type A by PCR*. Geneva, World Health Organization, 2012 ([http://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/external\\_quality\\_assessment\\_project/en/](http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/external_quality_assessment_project/en/), accessed 17 December 2015).
18. Lai YL et al. Cost-effective real-time reverse transcriptase PCR (RT-PCR) to screen for Dengue virus followed by rapid single-tube multiplex RT-PCR for serotyping of the virus. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45(3):935–941. doi:10.1128/JCM.01258-06 pmid:17215345
19. Hasebe F et al. Combined detection and genotyping of Chikungunya virus by a specific reverse transcription-polymerase chain reaction. *Journal of Medical Virology*, 2002, 67(3):370–374. doi:10.1002/jmv.10085 pmid:12116030
20. Low SL et al. Dengue seroprevalence of healthy adults in Singapore: serosurvey among blood donors, 2009. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2015, 93(1):40–45. doi:10.4269/ajtmh.14-0671 pmid:26013376
21. Johnson BW, Russell BJ, Lanciotti RS. Serotype-specific detection of dengue viruses in a fourplex real-time reverse transcriptase PCR assay. *Journal Clinical Microbiology*, 2005, 43(10):4977–4983. doi:10.1128/JCM.43.10.4977-4983.2005 pmid:16207951
22. Pastorino B et al. Development of a TaqMan RT-PCR assay without RNA extraction step for the detection and quantification of African Chikungunya viruses. *Journal of Virological Methods*, 2005, 124(1-2):65–71. doi:10.1016/j.jviromet.2004.11.002 pmid:15664052
23. *Guidelines for organizing national external quality assessment schemes for HIV serological testing*. Geneva, World Health Organization, 1996 ([http://www.who.int/diagnostics\\_laboratory/quality/serology/en/](http://www.who.int/diagnostics_laboratory/quality/serology/en/), accessed 17 December 2015).
24. Donoso Mantke O et al. Quality control assessment for the serological diagnosis of dengue virus infections. *Journal of Clinical Virology*, 2004, 29(2):105–112. doi:10.1016/S1386-6532(03)00110-0 pmid:14747029
25. Jacobsen S et al. External quality assessment studies for laboratory performance of molecular and serological diagnosis of Chikungunya virus infection. *Journal of Clinical Virology*, 2016, 76:55–65. doi:10.1016/j.jcv.2016.01.008 pmid:26828561
26. Domingo C et al. 2nd International external quality control assessment for the molecular diagnosis of dengue infections. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, 4(10):e833. doi:10.1371/journal.pntd.0000833 pmid:20957194
27. Squires RC, Konings F. Preparedness for Zika virus testing in the World Health Organization Western Pacific Region. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2016, 7(1):44–47. doi:10.5365/wpsar.2016.7.1.007