

国产HIV抗体检测试剂盒的评价

郑锡文¹ 朱 棣¹ 周钊民² 张桂云¹ 郭志宏²
姚 军² 何 平³ 郑越萍³ 陈惠峰²

提要 本文报告了对目前国产的HIV抗体检测粗筛试剂的评价结果。病毒所生产的IF和IE试剂，及上海生研所生产的ELISA试剂，敏感性为91.2%~96.9%；特异性为94.6%~97.3%。在我国这样的HIV低感染率情况下，这些试剂的阴性预测值可达100%，阳性预测值极低。认为这些试剂都还能满足国内HIV检测粗筛实验的应用。这些试剂的剂型价格，尚须改进。

关键词 试剂评价 HIV

为全面了解我国的HIV感染和流行状况，扩大我国艾滋病高危人群血清学监测，必须立足于应用国产检测试剂盒，特别是粗筛试验的试剂盒。目前我国已有不少单位能批量生产适合我国艾滋病监测要求的HIV抗体检测试剂盒。为推广应用这些国产试剂，以及HIV抗体检测的质量控制，我们对一些国产粗筛试验试剂盒的现场应用，作一评价。

材料与方 法

一、试剂：目前已在我国一定范围内使用的HIV粗筛试剂盒：中国预防医学科学院病毒所（下简称病毒所）生产的HIV抗体间接免疫荧光试剂（IF）；酶免疫试剂（IE）；上海生研所HIV抗体ELISA试剂盒；荷兰ORGANON Teknika的HIV抗体ELISA试剂盒（Vironostika anti-HTLV III）；日本FUJIREBIO的颗粒凝集试剂盒（PA）。

二、血清：阳性血清共34份，都经过WB试验确证为阳性。阴性血清共148份，都经过ELISA和IF检测为阴性。血清来源见表1，2。

三、试剂使用：除IF及IE所用PBS按试剂盒说明，用国产化学试剂配制，其余均用试剂盒所提供的试剂，按说明用双蒸水稀释或配制到使用浓度[1~4]。

四、操作方法及操作者：严格按照试剂盒

表1 34份阳性血清来源

美国CDC	(AIDS病人)	10
美国纽约	(AIDS病人)	20
杭州	(血友病人/HIV感染者)	3
杭州	(非洲留学者)	1

表2 148份阴性血清来源

北京	性病患者	31
浙江	密切接触者	18
福建	远洋海员	20
贵州	暗娼	74
美国纽约	住院病人	5

的说明进行操作。由中国预防医学科学院艾滋病监测中心（流研所）、浙江省卫生防疫站病毒科、贵州省卫生防疫站病毒科从事病毒学实验室血清学工作5年以上的专业人员分别操作。

每次试验检测107~108份血清，其中阳性血清32份或34份。先将阳性、阴性血清随便排序，再按随机数字重新排序。检测结果由另一人判读。最后将检测结果与原结果对比，作出四格表，计算各项指标，并结合有关资料，作出评价。

1 中国预防医学科学院流研所

2 浙江省卫生防疫站病毒科

3 贵州省卫生防疫站病毒科

五、评价指标及计算方法：见四格表。

	P	N	
+	A	B	A+B
-	C	D	C+D
	A+C	B+D	A+B+C+D

P：血清HIV抗体阳性 N：血清HIV抗体阴性

＋：检测为阳性结果 －：检测为阴性结果

敏感度 = $A / (A + C)$ ；特异度 = $D / (B + D)$ ；

假阴性率 = $C / (A + C)$ ；假阳性率 = $B / (B + D)$ ；

阳性预测值 = $A / (A + B)$ ；阴性预测值 = $D / (C +$

D)；

粗一致率 = $(A + D) / (A + B + C + D)$

调整一致率 = (敏感度 + 特异度 + 阳性预测值 + 阴性预测值) / 4 约登指数 = 敏感度 + 特异度 - 1

结 果

各试剂盒的检测结果显示评价指标见表3。

表3 各试剂盒的检测结果显示评价指标

指 标	ELISA (ORGANON)	ELISA (上海)1	ELISA (上海)2	PA	IF 1	IF 2	IE
(阳性份数/试验份数)	34/108	34/108	34/108	34/108	34/108	102/324	32/107
敏感度	97.1	88.2	91.2	100.0	94.1	94.1	96.9
特异度	97.3	86.5	94.6	93.2	97.3	94.6	97.3
假阴性率	2.9	11.8	8.8	0.0	5.9	5.9	3.1
假阳性率	2.7	13.5	4.1	6.8	2.7	5.4	2.7
阳性预测值	94.3	75.0	88.6	87.2	94.1	94.1	93.9
阴性预测值	98.6	94.1	95.9	100.0	97.3	97.2	98.7
粗一致率	97.2	87.0	93.5	95.4	96.3	95.4	97.2
调整一致率	96.8	86.0	92.6	95.1	95.7	95.0	96.7
约登指数	94.4	74.7	85.8	93.2	91.4	88.7	94.2
阳性预测值(6%)	70.0	63.3	53.8	50.4	71.0	54.5	71.6
阴性预测值(6%)	99.8	89.0	99.4	100.0	99.6	99.6	99.8
阳性预测值(0.01%)	5.5	6.5	0.2	0.1	0.3	0.2	0.4
阴性预测值(0.01%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
(说明)	肉眼判断		检测仪		三次平均		

为Cutoff值，更易产生假阳性，后我们采用0.5(P-N)为Cutoff值。

此次评价的是粗筛试剂，由于是在我国这

讨 论

从表3可以看出，国产HIV抗体检测试剂的敏感度略低于ORGANON的ELISA和日本的PA，但都在90%以上(91.2%~96.9%，上海生化所ELISA的肉眼判读结果后面再讨论)，特异度也接近或达到ORGANON ELISA的水平，而高于PA(94.6%~97.3%)。上海生化所ELISA试剂，由于试剂盒所带阳性对照，用肉眼观测显色很深，测试的一些阳性血清和阴性血清表现不同程度的显色，介于阴性对照和阳性对照之间，故肉眼判读造成一定程度的假阳性和假阴性结果，而影响敏感度和特异度。用ELISA检测仪可提高敏感度和特异度(分别从88.2%和86.5%提高到91.2%和94.6%)，但所用的酶标反应板不太适合国产ELISA检测仪(我们使用的是国产DG3022酶联免疫检测仪)，测读时不严，且受散射光的影响。而且，该试剂盒说明书推荐以OD=0.21

样的HIV低流行率的情况下使用，我们较注意阳性预测值和阴性预测值，说明试剂的阳性(阴性)结果的可靠程度。阳性预测值和阴性

预测值与流行率(检测血清的阳性率)密切相关,而与试剂的质量关系不太大。在6%及0.01%流行率时的阳性(阴性)预测值(阳性预测值6%,阴性预测值6%,阳性预测值0.01%,阴性预测值0.01%)是根据公式^[6]计算的:阳性预测值=流行率×敏感度/[流行率×敏感度+(1-流行率)(1-特异度)];阴性预测值=特异度(1-流行率)/[特异度(1-流行率)+流行率(1-敏感度)]。从表3可以看出,随着流行率从30%左右降到6%、0.01%时,阳性预测值降低得很厉害。即使敏感度、特异度较好的IE法,也从96.9%下降到71.6%(6%时)、0.4%(0.01%时)。也就是说,在HIV低流行率的地区,使用这些试剂得出阳性结果时,其中只有很少的可能真正是阳性者。相反,阴性预测值则可能接近或达到100%。从这一方面来看,所评价的这些试剂,都还能满足我国粗筛试验的目的,也证明,我国现采用的诊断程序——ELISA、IF、IE或PA阳性标本,一定要经WB的确证,这是非常合理、有科学根据的。必须采用此程序,才能尽可能不漏过一个感染者,又不造成不必要的恐慌。

病毒所生产的IF试剂,在判读结果时判读者的主观印象对结果有很大影响,若生产过程中产生细胞成堆聚集,易造成染料的堆集而判为阳性。加上设备上要求较昂贵的荧光显微镜,不利于在中小实验室使用。经改良为IE后,能在普通光学显微镜下较清楚地辨别出阳性和非特异染色,各项指标都有所提高,价格降低了,这确实比IF试剂更适合在一般实验室推广应用。

IF和IE的操作过程中要逐孔滴加反应液或试剂,以此相比,许多操作者还是偏爱ELISA中的多头移液方式。当然,IF和IE所需设备要求不很高,价格低,包装量少,特别是改为IE后,更适于每次只检测十来份的中小实验室。对一次就要检测近百份的实验室,使用ELISA或PA要快,且易于操作。

从操作过程来看,PA试剂操作时不用洗涤,不用换反应液或试剂,时间最短,且所需仪器设备也要求不高,很受操作者欢迎。我们期望能研制生产出具有这些优点的国产试剂盒,满足全国的需要。

除病毒所的产品外,国产的HIV抗体检测试剂盒的生产都依靠进口的HIV抗原,一方面成本贵,另一方面也给批量生产造成一定困难。同时,试剂的阳性对照来源也是问题。我们希望HIV抗体检测试剂盒的抗原也立足于国内,各试剂盒的阳性对照最好用单克隆抗体。这样有利于试剂的标准化以及检测操作的质量控制,也利于各试剂间及各批号间的质量比较。

ELISA试剂以其操作简便、时间短、结果判读较客观而受欢迎,希望国内的生产厂家在反应板类型、试剂盒大小、对照的质量及判读结果方面多从我国实际出发,加以改进。

从使用者来说,我们希望有敏感度、特异度都理想、有效期长、易于保藏、价格合理、易于操作、出结果快的更多的国产HIV抗体检测试剂盒为我们选用。

立足于应用国产HIV抗体检测试剂盒的一个重要考虑,就是价格低。目前国内使用这些试剂的单位大多数是进行HIV血清学的主动监测,不收取任何检测费。所以希望国内各试剂盒价格更具竞争性,主要还是出售价格与生产成本差距不要太大,以利于我国的HIV监测,共同为控制HIV感染在我国的传播和流行作出贡献。

An Evaluation of the China-made HIV Antibody Test Reagents Zheng Xiwen, Zhu Di, et al., The Institute of Epidemiology and Microbiology, CAPM, Beijing

This paper reports the results of the evaluation of the China-made HIV antibody screening test reagents, including the IF and IE reagents prepared by the Institute of Virology, CAPM, the ELISA reagent prepared by the

Shanghai Institute of Biological Products. Based on the results, the sensitivities of the IF and IE are from 91.2% to 96.9%; the specificities, from 94.6% to 97.3%. Due to the low HIV prevalence in China, the predictive values of negative of these reagents are up to 100%; but the predictive values of positive are very low. It is suggested that these reagents can be used for HIV antibody screen testing in China. The package of some reagents should be improved, the price of some reagents should be decreased.

Key words Reagents evaluation HIV

参 考 文 献

1. 中国预防医学科学院艾滋病检测及研究中心. 艾滋病抗体检测免疫酶法使用说明书 1989. 9.

2. 卫生部上海生物制品研究所. HIV-1抗体检测ELISA试剂盒使用说明书1989. 10.
 3. FUJIREBIO INC. SERODIA-HIV Particle-Agglutination Test for Screening of Antibodies to HIV, March 1989.
 4. ORGANON TEKNIKA, Vironostika anti-HTLV-III: Microelisa system, March 1988.
 5. 钱宇平主编, 流行病学-高等医药教材(卫生专业用), 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1981; 69~74.
 6. 郑锡文, 等. 中国1985~1989年艾滋病监测报告, 中华流行病学杂志1989; (2): 22.
 7. WHO. Global Programme on AIDS. Operational Characteristics of Commercially Available Assays to Determine Antibodies to HIV-1. Geneva, March 1989.
 (1989年9月1日收稿, 同年10月修回)

北京市食管癌的病例对照研究

北京医科大学公共卫生学院流行病学教研室

王润田 高弘 张华 孔广成

当前国内外食管癌的流行病学研究有两个主要学派: 国外学者基于食管癌中、低发地区提出了烟酒假说; 国内学者基于食管癌高发区提出了发酵霉变食品的病因假说。为探讨上述两假说在北京市食管癌发病中的作用及地位并初步筛选出北京市食管癌的危险因子, 特进行本研究。

一、材料和方法

本研究采用1:3配比的病例对照研究方法。病例来自1986年北京市肿瘤发病登记报告提供的新发病例及北京市各医院1986年新住院病例。病例要求条件是: 年龄40~75岁; 在本市连续居住15年以上; 经病理确诊的食管癌(贲门癌除外), 无病危及精神语言障碍。对照选自一般人群随机对照, 即先整群抽样后按配比条件选择同性别、同一年龄组(±2岁)、在本市连续居住15年以上无精神及语言障碍为研究对象。本研究共完成病例66例(男54、女12例), 对照198例。经检查病例和对照完全符合配比条件。资料分析用Breslow 1:M匹配资料分析方法及大连医学院胡克震推荐的1:M匹配通用公式进行单变量分析, 用Mantel-Haenszel分层分析法判断混杂和交互作用。

二、研究结果

1. 吸烟与食管癌的关联强度: 吸烟者患食管癌危

险性显著高于不吸烟者, $OR=4.14$, $\chi^2=12.08$ $P<0.005$ 。无论男女合计还是男性随每日吸烟量增加患食管癌危险性逐渐增大, 有明显的剂量反应关系。

2. 与吸烟有关的混杂因素经分析判定饮酒与生活水平是混杂因素; 由于它们的存在使吸烟与食管癌关联增强了。但分别控制这二个混杂变量后吸烟者患食管癌的危险性均显著高于不吸烟者。

3. 饮酒及遗传因素也是北京市食管癌发生的重要危险因子, 其比值比分别为2.20和7.0。95%可信限分别为1.12~4.32和2.22~22.10。

4. 其他与食管癌发生有关联的因素是低生活水平和饮食有关的行为因素如喜咸食、热食; 喜干硬食品、进食过快等。

三、讨论

本研究提出了北京市食管癌的主要危险因子是烟、酒、及遗传因素, 这与国外研究结果一致。与饮食习惯有关的行为因素与食管癌发生也存在关联。所以我国食管癌高发区所提出的发酵霉变食品假说不是北京市食管癌的危险因素。

本研究采用一般人群对照而未采用邻居对照, 作者认为本研究的假说内容不会由于对照类型而改变。