

部分国产艾滋病病毒抗体检测试剂 临床应用质量评价

李敬云 鲍作义 吕富双 王宏霞

【摘要】 目的 为掌握国产艾滋病病毒(HIV)抗体筛选酶免试剂的实际应用状况,对8种主要的国产HIV抗体筛选酶免试剂进行了临床应用质量评价。方法 以一种进口HIV抗体筛选酶免试剂为参比,用8种考评试剂对200份标本进行了统一的检测。200份标本包括100份经过确认的HIV抗体阳性、阴性、可疑标本和100份新疆吸毒人群的血清标本。结果 参比试剂可以检出全部74份阳性标本,敏感性为100%,而考评试剂有6~18份不等的假阴性结果,敏感性为81.1%~91.9%。假阴性结果主要发生于来自吸毒人群的HIV抗体弱阳性标本。考评试剂的特异性相对较好,在107份阴性标本中,参比试剂将2份错判为阳性,特异性为98.1%,考评试剂有0~8份标本错判为阳性,特异性为92.5%~100%。结论 考评试剂的主要问题是敏感性低,这可能与检测原理是间接法、抗原组成不全面、反应条件不合理等因素有关。

【关键词】 艾滋病病毒抗体 吸毒人群 酶免疫试剂

Quality evaluation of locally— prepared kits for HIV antibody detection in clinical applications LI Jingyun, BAO Zuoyi, LU Fushuang, et al. Institute for Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071

【Abstract】 Objective To evaluate the quality of eight kinds of locally prepared enzyme— linked immunosorbent assay (ELISA) kits for HIV antibody (anti— HIV) detection and study their current status in clinical applications. **Methods** Two hundred serum specimens were tested with eight kinds of locally prepared ELISA kits for anti— HIV screening, with an imported kit as reference, including 100 specimens with confirmed positive, negative or undetermined anti— HIV and 100 specimens collected from the drug abusers in Xinjiang Region. **Results** Anti— HIV could be detected in all the 74 confirmed positive specimens with the imported reference kit, with sensitivity of 100%. But, six to eighteen specimens were false negative detected with local prepared kits, with sensitivities of 81.1%~91.9%, mainly in those collected from the drug abusers with weak positive for anti— HIV. Two of the 107 confirmed negative specimens were false positive by the imported reference kit, with a specificity of 98.2%, and 0~8 specimens were false positive by locally prepared kits with specificities of 92.5%~100%. **Conclusion** The sensitivity of locally prepared ELISA kits for anti— HIV screening should be improved further to ensure the safety of blood transfusion and the control of AIDS/HIV.

【Key words】 Antibody against human immunodeficiency virus (anti— HIV) Drug abusers ELISA kit

检测艾滋病病毒(HIV)抗体是诊断 HIV 感染的常规方法,目前我国在献血员筛选、临

床诊断、流行病学调查等方面广泛使用的是国产 HIV 抗体酶免试剂。国产试剂经过最近几年的发展,质量不断提高,能够满足多数情况下诊断的需要,并且国产试剂还具有价格低廉、使用方便等优点,深受医疗、防疫等

部门用户的欢迎。发展自己的国产试剂也是我国 AIDS 防治工作的长远需要。为了解目前国产试剂的实际应用状况,找出存在的问题,促进国产试剂质量的不断提高,我们于 1998 年 7 月对部分国产试剂进行了临床应用质量评价。

材料与方 法

一、试剂:荷兰产阿克苏 HIV 抗体酶免试剂作为参比试剂,批号 97120103;通过市场途径购买 8 种主要的国产 HIV 抗体酶免试剂(标记为 A~H),全部通过了批批检,为考评试剂;确认试剂为免疫印迹试剂,Genelab 公司产品,批号 AE0132676。

二、标本:

1. 经过确认的 HIV 抗体阳性、阴性、可疑标本 100 份,其中由国家艾滋病预防与控制中心和解放军艾滋病检测确认实验室各提供 50 份。

2. 100 份吸毒人群血清标本,由新疆维吾尔自治区艾滋病检测确认实验室提供,采自乌鲁木齐某戒毒所。

三、方法:

1. 用 1 种参比试剂和 8 种考评试剂检测

全部 200 份标本,按照各自的说明书操作。A 值/临界值 ≥ 1.0 的标本为初筛阳性,A 值/临界值 $0.8 \sim 1.0$ 定为灰区标本。初筛阳性标本和灰区标本都用同种试剂进行复检。

2. 100 份吸毒人群血清凡①参比试剂检测为阳性而考评试剂一种以上检测为阴性的;②考评试剂二种以上检测为阳性的;③只有一种考评试剂检测为阳性且标本 A 值/临界值 ≥ 3.0 的,统一进行免疫印迹检测确认,按照说明书操作。

四、HIV 抗体阳性、阴性和可疑的标准:

1. 100 份经过确认的标本按照确认的结果记为阳性、阴性和可疑。

2. 100 份吸毒人群血清标本,阳性标本包括①参比试剂和 8 种考评试剂检测均为阳性的标本;②确认检测为阳性的标本。阴性标本包括①参比试剂和 8 种考评试剂检测均阴性的标本和只有一种考评试剂检测为阳性且标本 A 值/临界值 < 3.0 的标本;②确认检测为阴性的标本。可疑标本为确认可疑的标本。

结 果

将 200 份标本的检测结果列于表 1,可以大致看出考评试剂与参比试剂的检测结果

表 1 考评试剂和参比试剂的检测结果

试剂	AIDS 中心标本			本室标本			新疆标本			合 计			
	+	±	-	+	±	-	+	±	-	+	±	-	
A	+	30	3	0	8	1	1	29	2	3	67	6	4
	-	0	2	15	0	11	29	7	0	59	7	13	103
B	+	29	2	0	8	1	5	29	2	3	66	5	8
	-	1	3	15	0	11	25	7	0	59	8	14	99
C	+	30	4	0	8	0	0	30	1	0	68	5	0
	-	0	1	15	0	12	30	6	1	62	6	14	107
D	+	30	2	0	8	0	0	29	0	0	67	2	0
	-	0	3	15	0	12	30	7	2	62	7	17	107
E	+	30	2	0	8	0	3	29	1	2	67	3	5
	-	0	3	15	0	12	27	7	1	60	7	16	102
F	+	29	2	0	8	0	2	30	0	5	67	2	7
	-	1	3	15	0	12	28	6	2	57	7	17	100
G	+	24	1	1	7	0	2	25	0	1	56	1	4
	-	6	4	14	1	12	28	11	2	61	18	18	103
H	+	27	1	1	8	2	2	25	2	4	60	5	7
	-	3	4	14	0	10	28	11	0	58	14	14	100
参比	+	30	5	0	8	7	0	36	1	2	74	13	2
	-	0	0	15	0	5	30	0	1	60	0	6	105
合 计		30	5	15	8	12	30	36	2	62	74	19	107

有较大的区别。主要表现为:

一、考评试剂的敏感性明显低于参比试剂。在 200 份考核标本中有 HIV 抗体阳性标本 74 份, 参比试剂检测这 74 份标本均为阳性, 敏感性为 100%, 而考评试剂有 6~18 份不等的漏检, 敏感性仅为 81.1%~91.9%。也就是假阴性率不同, 参比试剂的假阴性率为零, 考评试剂为 8.1%~24.3%。漏检主要发生于来自吸毒人群的阳性标本。

在吸毒人群的 36 份阳性标本中, 有 15

份参比试剂检测为阳性而考评试剂 1 种以上检测为阴性, 其中的 7 份标本有 7 种以上试剂发生漏检, 并且多数都在灰区以外。分析这 7 份标本的情况(表 2), 可以看到它们确认检测虽然是阳性, 但是条带都比较少, 参比试剂检测的 A 值/临界值也比较低, 在 1.280~3.176 之间, 表明它们是 7 份 HIV 感染早期的弱阳性标本, 考评试剂的假阴性结果主要集中在弱阳性标本, 也就是检测弱阳性标本的能力较差。

表 2 弱阳性标本的检测结果(A 值/临界值)

	标 本 号							
	1091	1083	1047	1099	1093	1035	1089	
试剂 A	0.827	0.194	0.394	0.248	0.681	0.194	0.235	
试剂 B	0.221	0.236	0.611	0.951	0.257	0.380	0.282	
试剂 C	0.376	0.400	0.303	0.361	0.437	0.513	2.348	
试剂 D	0.287	0.030	0.872	0.036	0.012	0.421	0.079	
试剂 E	0.449	0.152	0.437	0.227	0.323	0.892	0.494	
试剂 F	2.365	0.185	0.400	0.275	0.075	0.270	0.165	
试剂 G	0.065	0.145	0.430	0.765	0.025	1.030	0.225	
试剂 H	0.090	0.040	0.265	0.025	0.096	0.123	0.345	
参比试剂	2.120	1.468	1.280	2.803	3.428	2.801	3.176	
WB 带型	gp160 p24 p17	gp160 p24 p17	gp160 p24 p17	gp160 p24	gp160 p24	gp160 p24	gp160 p24	

与之相应的是参比试剂的阴性预测值为 100.0%, 而考评试剂的阴性预测值是 85.4%~94.7%, 这提示考评试剂在特别需要杜绝漏检的场合应用要十分谨慎, 如筛选献血员。

参比试剂与考评试剂检出可疑标本的数目也有很大不同, 前者可以检出 19 份可疑标本中的 13 份, 敏感性是 68.4%; 而考评试剂最多检出 6 份, 最少只能检出 1 份, 敏感性是 5.3%~31.6%。

二、考评试剂的特异性相对较好, 在 107 份阴性标本中, 参比试剂将 2 份错判为阳性, 特异性为 98.1%, 考评试剂有 8 份标本错判为阳性, 特异性为 92.5%~100.0%, 相应的假阳性率分别为 1.9%和 7.5%。阳性预测值参比试剂是 97.4%, 考评试剂是 87.8%~100.0%, 提示好的考评试剂适合在相对强调特异性的场合应用, 如临床诊断、对流行率较低的人群进行流行状况调查等。

讨 论

一、考评试剂的主要问题是敏感性低, 弱阳性标本检测不出来, 而特异性相对较好。原因可能有①考评试剂与参比试剂的检测原理不同, 前者是间接法, 而后者是双抗原夹心法, 方法学的差异决定了敏感性的不同; ②考评试剂与参比试剂使用的 HIV 抗原种类可能不同, 前者抗原种类单一, 有的只有 1 种抗原(跨膜蛋白 gp41 和 gp36), 后者的抗原相对种类齐全, 包括 HIV 包膜、核心蛋白的主要抗原决定簇; ③国产试剂规定的反应条件常常达不到抗原-抗体反应的最适要求, 如抗原-抗体反应达到平衡一般需要在 37℃保温至少 1 个小时, 而国产试剂为了满足用户出结果快的要求多数将反应时间缩短为 20~25 分钟, 并且国产试剂的加样量一般较少, 仅为 5~10μl, 这在一定程度上也影响了敏感性。为了赢得市场厂商纷纷将用户的要

求当做生产的重要导向,这是一个需要扭转的不良倾向。

二、考评试剂之间质量相差悬殊。尽管考评试剂全部通过了国家检定,但是实际应用时敏感性和特异性差别很大。按照考评的结果,可以大致把考评试剂分成二类:A~F属于第一类,质量相对较好;G和H属于第二类,质量较差。因此在试剂生产的管理方

面,除了要抓好生产时的检定以外,还要重视实际应用的考核,要督促考核结果较差的试剂生产厂家采取必要的整改措施。

从考评的结果可以看出,国产HIV抗体筛选酶免试剂的敏感性需要进一步提高质量,这是我国控制HIV/AIDS流行,特别是保证输血安全的迫切需要。

(收稿:1999-03-20 修回:1999-06-16)

解脲脲原体感染症传播途径的分子流行病学研究

汪宁 贺晓新 范宝剑 鲁荣绥 任慕兰 赵季文 徐萃瑜

探讨解脲脲原体(Uu)感染的传播模式。研究对象为性滥、性病患者及其性伴26对,对照者及其性伴88对和围产期的孕产妇及其新生儿360对。

检测方法:①应用Uu液体培养基做分离鉴定;②Uu经鉴定后,用代谢抑制试验(MIT)法进行血清分型;③用随机扩增多态性脱氧核糖核酸分析(RAPD)检测Uu分离株之间亲缘关系,RAPD结果在凝胶电泳成像分析系统(英国UVP公司)分析。

一、生殖泌尿道解脲脲原体感染经性传播的特征:26对性病患者和他(她)们的性伴,Uu感染状态的一致率为76.92%;双方共同感染率为61.54%,仅一方Uu感染的比例为23.08%,其中83.33%是女方Uu感染而男方Uu阴性。在一般人群中的88对性伴,Uu感染状态的一致为89.77%,双方共同感染率为45.45%,仅一方Uu感染的比例为10.23%,同样是女性单方Uu阳性者为多,这是两性解剖特征不同所造成的Uu定植机会上的差异。性伴间Uu感染状态的高度一致性强烈提示了Uu感染水平传播的最主要方式是性传播。对分离到的Uu做了MIT血清分型和RAPD图谱分析,性伴间Uu血清型和RAPD图谱的相似性定义为:①严格一致性血清型完全一致,如一方为混合型,另一方为单一型则判为不一致;RAPD图谱完全一致;②相对一致性血清型基本一致,如一方无论是单一型或混合型,只要有被对方包含或包含对方同一型者,即判为一致;RAPD图谱条带经UVP凝胶图像分析系统判断有2/3或

以上条带相同者,即判为一致。结果表明,固定性伴间Uu血清型和基因型一致性较高,而非固定性伴间Uu血清型和基因型的一致程度就稍低些,尤其是按严格一致性判定时,两类人群的差异更明显($\chi^2 \geq 10.29, P < 0.01$)。反映了不同诊断方法在评价Uu传播来源的敏感性,特异性不同,所提供的流行病学信息也有差异。

二、生殖泌尿道解脲支原体围产期传播的特征:158例Uu阳性孕妇的新生儿Uu携带率为60.76%,其中剖宫产新生儿Uu携带率为21.88%,产道新生儿Uu携带率为70.63%,差异有统计学意义($\chi^2 = 25.45, P < 0.001$);202例Uu阴性孕妇的新生儿Uu携带率1.49%,其中剖宫产新生儿Uu携带率为2.50%,产道产新生儿Uu携带率为1.23%,二者差异无显著性意义($\chi^2 = 0.35, P > 0.50$)。Uu阳性孕妇尽管在分娩时接受一定规程的消毒,但母婴经产道传播危险仍较大,是剖宫产者3.23倍。需要特别说明是:剖宫产者一半以上是因为胎膜早破,所以主要还是产道逆行性传播;13例胎膜未破的剖宫产中,2例新生儿携带Uu,在胎盘组织也分离到Uu,其中1例脐带血检出Uu抗体,说明宫内感染的传播方式也是存在的。围产母婴Uu分离株无论MIT分型或RAPD图谱亲缘比较,一致性都很高,可以清楚地了解到新生儿Uu的传染来源。这两种方法对于估价Uu母婴传播的效能基本上是一样的。没有像在评价性伴间水平传播那样,表现出MIT血清型判断传播来源的敏感性优于RAPD,而特异性逊于RAPD的情况。

(收稿:1999-02-19)

本文获得国家自然科学基金资助(项目号:39170669;39670646)

作者单位:210009 南京铁道医学院流行病学教研室