论著

文章编号:1000-5404(2003)12-1098-03

间接法和双抗原夹心法抗-HIV初筛试剂质量对比分析

袁 玲,陈方祥,刘建忠,马贵山 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所输血科,重庆 400042)

提 要:目的 综合评估间接法和双抗原夹心法人类免疫缺陷病毒(HIV-1/2)抗体酶标诊断试剂盒的质量。方法 以4对8种试剂(同一厂家间接法和双抗原夹心法配对)对100份人血清样品分别进行对比实验,阳性结果以蛋白印迹法(WB)确认。结果 间接法的敏感性、功效率和阴性预示值范围分别为97.97%~100%,93.49%~98.04%,97.05%~100%,有2种试剂存在不同程度上的HIV抗体阳性漏检,双抗原夹心法的敏感性和阴性预示值均为100%、功效率值范围为96.15%~100%,测试中未发现假阳性。结论 双抗原夹心法试剂多项质量指标均明显优于间接法试剂。

关键词:HIV抗体;间接法;双抗原夹心法;质量控制
中图法分类号:R392.11;R457.1;R512.91 文献标识码:A

Comparative analysis of indirect method and dual-antigen sandwich method in screening of reagents for HIV detection

YUAN Ling, CHEN Fang-xiang, LIU Jian-zhong, MA Gui-shan (Department of Blood Transfusion, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To estimate the quality of HIV-1/2 antibody labeled ELISA Kit made in China by indirect method and dual-antigen sandwich method. **Methods** Eight kits were divided into 4 groups according to the manufacturers (indirect method and dual-antigen sandwich method for the same manufacturer in one group) and were used for the determination of 100 serum samples. The positive and suspected positive results were affirmed by Western blot analysis. **Results** The sensibility, efficacy ratio and NPV range of indirect method were 97.97%~100%, 93.49%~98.04% and 97.05%~100%, respectively, but 2 kits failed to detect the HIV positive sample. The sensibility, efficacy ratio and NPV range of dual-antigen sandwich method were 100%, 96.15%~100% and 100% without mis-diagnosis. **Conclusion** Dual-antigen sandwich method is better than indirect method in some indexes of quality.

Key words: HIV antibody; ELISA; detection; quality

艾滋病(AIDS)是依赖病原学诊断的传染病,由于AIDS有较长的潜伏期,因此只有通过病原学检测才能发现HIV感染。HIV检测是血源的必查项目。自1985年第一种HIV抗体检测试剂问世以来,在十几年的时间内,HIV病原学检测方法飞速发展。HIV的病原学诊断可分为检测标本中病毒或病毒成分和免疫反应的产物两方面,前者包括病毒分离、检测病毒抗原(P24)、检测病毒核酸等,后者包括检测病毒特异性抗体[1,2]。我国自1986年发现首例艾滋病以来,截至2001年,全国31个省、自治区和直辖市已报告发现HIV感染者86万人[3]。随着感染人数的不断增多,艾滋病防治工作对抗-HIV检测技术和所用试剂质量都提出了更高的要求。我科从1994年开始对艾滋病抗体实行监测,使用了酶联免疫间接法和双抗原夹心法试剂多种,为了解两种试剂检测效果的可靠性,对我科常用的分别来自4个厂家的间接法和双抗原夹心法国产试剂4对分别进行了对比实验,报告如下。

1 资料与方法

1.1 试剂评估样品的组成、来源及质量

已知结果样本60份分别为:考核标本40份,其中20份由重庆市HIV确认中心提供(其中阳性标本14例,阴性标本6例),20份由全军HIV确认中心提供(其中阳性标本8例,阴性标本12例);本室质控标本20份(其中阳性标本10例,阴性标本10例,由重庆市HIV确认中心提供)。已知结果标本和考核标本均系WB确认后样品,其中包括抗-HIV阴性(含初筛假阳性)、阳性和弱阳性。未知结果标本为住院病人输血前检查样本40份,检出结果经重庆市HIV确认中心用WB法确认,全部样品质量良好,

作者简介:袁 玲(1964-),女,四川省宜宾市人,主管技师,主要从事输血方面的研究,发表论文10篇。电话:(023)68757221

收稿日期:2003-01-27;修回日期:2003-04-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

无污染、溶血或脂血, 从制备到实验均未反复冻融。

1.2　试剂

国产抗-HIV 检测试剂分别由金豪、新创、万泰、科华公司提供。试剂 A～D 为间接法试剂, A′～D′为双抗原夹心法试剂。

1.3　确认试剂

确认试验结果由重庆市 HIV 确认中心提供: 蛋白印迹法(Westem Blot)抗-HIV 检测试剂 Genelabs Diagnostics HIV Blot 2.2 (WB)。

1.4　仪器

美国 Bio-Rad 550 酶标仪和 1575 型洗扳机。科华实验室管理系统作结果分析。

1.5　方法

所有试剂对已知和未知样本进行测试, 初筛阳性和可疑阳性用蛋白印迹法确认。操作严格按各自试剂盒说明书进行。

1.6　统计学处理

采用美国 Instat ver2.0 软件作 χ^2 检验。

2　结果

2.1　各组试剂检测结果, 见表 1

表 1　间接法和双抗原夹心法检测抗-HIV 结果

Tab 1　Results by indirect method and dual-antigen sandwich method kits for anti-HIV

Kit	Sample from general logistics department		Sample from Chongqing city		Sample from our department		Sample from inpatient department		Total	
	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−
	(*n*=8)	(*n*=12)	(*n*=14)	(*n*=6)	(*n*=10)	(*n*=10)	(*n*=2)	(*n*=38)	(*n*=34)	(*n*=66)
A	8	12	14	6	10	10	3	37	35	65
B	9	11	14	6	12	8	2	38	36	64
C	7	13	13	7	11	9	2	38	34	66
D	7	13	15	5	11	9	2	38	36	64
A′	8	12	14	6	10	10	2	38	34	66
B′	8	12	14	6	11	9	2	38	35	65
C′	8	12	14	6	10	10	2	38	34	66
D′	9	11	15	5	10	10	2	38	36	64

n presents the number of known sample, + positive sample, − negative sample, A-D are indirect method kits, A′-D′ are dual-antigen sandwich method kits for HIV

表 1 结果表明: ①间接法试剂存在一定程度的漏检率, 以试剂 C 最为突出, 漏检样本主要是考核标本中的弱阳性标本; 双抗原夹心法试剂检测出考核标本中的全部阳性结果; ②假阳性较为突出, 但双抗原夹心法少于间接法; ③住院病人中的两例阳性标本无一家试剂漏检。

2.2　各项质量指标结果比较

根据表 1 结果, 计算出各种试剂的敏感性、特异性和功效率及假阳性率、假阴性率, 阳性预示值(PPV)和阴性预示值(NPV)[4]。8 种检测试剂对检测血清测试后的有关内在质量指标见表 2, 间接法和双抗原夹心法的对比分析见表 3。结果显示: ①双抗原夹心法试剂多项质量指标优于间接法试剂, 其中试剂 A' 居本次试验结果之首。功效率两种方法相差显著, 假阳性、假阴性有较大差异, 但无统计学意义。②间接法试剂质量指标综合评定: 试剂 A 居首, 试剂 D 次之, 试剂 B、C 更次之; 双抗原夹心法试剂质量指标综合评定: 试剂 A 仍居第一, 试剂 C 居第二, B、D 质量指标优劣不一。

表 2　检测试剂各项质量指标

Tab 2　The quality index of each diagnosis kit for anti-HIV

Kit	Sensitivity (%)	Specificity (%)	False-positive rate(%)	False-negative rate(%)	Effective rate(%)	PPV(%)	NPV(%)
A	100.00	98.51	1.49	0	98.04	100.00	100.00
B	100.00	95.65	4.35	0.00	94.94	94.44	100.00
C	91.89	98.51	1.49	5.56	93.46	97.14	97.05
D	100.00	97.06	2.94	2.86	94.94	94.44	98.51
A′	100.00	100.00	0.00	0.00	100.00	100.00	100.00
B′	100.00	98.51	1.49	0.00	98.04	97.14	100.00
C′	100.00	100.00	0.00	0.00	100.00	100.00	100.00
D′	100.00	97.06	2.94	0.00	96.15	94.44	100.00

A-D and A′-D′ are dual-antigen sandwich method kits for HIV

表 3　间接法和双抗原夹心法的比较

Tab 3　Comparison of quality index between indirect method and dual-antigen sandwich method kits for HIV

Kit	Sensitivity (%)	Specificity (%)	False-positive rate(%)	False-negative rate(%)	Effective rate(%)	PPV(%)	NPV(%)
Mean by indirect method	97.97	97.43	2.57	2.10	95.34	96.51	98.89
Mean by sandwich method	100.00	98.89	1.11	0.00	98.54	97.9	100.00
P	0.409 6	0.407 9	0.127 5	0.051 5	0.029 9	0.443 1	0.428

3　讨论

HIV 抗体的检测是艾滋病检测中最常见的方法, 寻找更高灵敏度和特异性并简单易行的 HIV 抗体检测方法是研究的重点。ELISA 是最早也是使用最广泛的检测方法, 目前已发展到了第 3 代 HIV 抗体检测试剂。它的反应模式由第 1 代和第 2 代的间接法改进为双抗原夹心法, 它除了将 HIV 抗原包被到固相载体上以外, 酶标记物也由抗人 IgG 改为特异性 HIV 抗原, 标本中的 HIV 抗体与试剂形成 HIV 抗原-HIV 抗体-酶标记 HIV 抗原复合物。这种试剂可以检测 HIV 不同抗体亚类, 包括 IgG、IgM、IgA 等, 同时不需要将标本过度稀释来保证特异性, 因而具有较高的敏感性。与间接法检测试剂相比, 第 3 代试剂检出 HIV 抗体的时间提前了 4～9 d[5]。抗 HIV 试剂质量的优劣, 是关系到检测结果准确与否的前提。表 2 显示了 7 项质量指标的比较结果, 敏感性是鉴别阳性的能力, 特异性是指一个实验正确鉴别阴性标本的能力, 也就是不产生假阳性的能力。7 项指标中敏感性与特异性是基础, 是最为重要的指标; 功效率是敏感性和特异性的综合, 是区分不同试验方法鉴别阳性和阴性标本的能力; 阳性预示值和阴性预示值是表示检测效率的指标, 前者是阳性检测结果中真正阳性所占的比率, 后者是阴性检测结

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

果中真正阴性所占的比率，二者说明该诊断试剂的价值。表3结果显示间接法试剂的特异性与双抗原夹心法试剂的特异性比较，差异无显著性意义（$P>0.05$），可能与样本量较少有关。间接法与双抗原夹心法比较相差显著（$P<0.05$）。表1结果显示假阳性问题较为普遍，但双抗原夹心法假阳性率小于间接法，本实验所检测的34份阳性标本中，间接法有2种试剂漏检，试剂C漏检严重，漏检率达5.56%，试剂B漏检1例，漏检率为2.87%，双抗原夹心法未出现漏检现象。综合评价我们认为双抗原夹心法试剂各项质量指标均明显优于间接法试剂，因此，大力推广和采用双抗原夹心法作为临床初筛试剂势在必行。

一个整体规划，包括质量保证、质量控制和质量的评估是诊断结果正确性的保证。正确使用内部对照血清和外部对照质控血清，是做好质量控制工作的重要内容。由于不同厂家生产的ELISA试剂盒所使用的HIV抗原的构成以及使用比例不同，因此对同一标本的反应有差异，所以建议长期或稳定地使用一至二种质量好的试剂盒，如更改新批号的试剂盒，必须重新制作室内质控图，建议对新旧两批试剂盒进行平行性试验，包括外部对照质控血清和前一批试剂盒中的内部对照质控血清，它有利于质量控制和分析。

根据我国HIV/AIDS的感染情况，且感染人数还在不断增多，因而在今后一段时间内抗-HIV诊断试剂的需求量将会增大。本实验结果同时还提示，对试剂的选择使用是非常重要的，除按规定选用国家PP检试剂外，还应根据实验室所针对的检测人群和该地区HIV流行状况和不同监测目的认真选择试剂，对于献血员的筛选应选择敏感性高的试剂，避免漏检。虽然我国现属HIV低流行区，但如有HIV漏检则可能会导致HIV的扩散，以至于出现医源性感染、职业性感染的可能，因此建议采用现今敏感性和特异性均较好的双抗原夹心法试剂作临床诊断用。

参考文献：

[1] D'Amelio R, Tuerlings E, Perito O, *et al*. A global review of legislation on HIV/AIDS: the issue of HIV testing[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2001, 28(2): 173—179.

[2] Mylonakis E, Paliou M, Lally M, *et al*. Laboratory testing for infection with the human immunodeficiency virus: established and novel approaches [J]. Am J Med, 2000, 109(7): 595—597.

[3] 郑锡文. 我国艾滋病流行形势以及控制成就[J]. 中华流行病学杂志, 1999, 20(2): 131.

[4] 李敬云. 艾滋病病原学诊断[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 1999. 134—135

[5] 李敬云. HIV诊断试剂的发展[J]. 中国性病艾滋病防治, 2001, 7(1): 54—56.

（编辑 王 红）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)11-1100-02

慢性重型肝炎上消化道出血的预见性护理

Preventable nursing care for patients with upper gastrointestinal hemorrhage of chronic severe hepatitis

李嘉佳，余小蓉 （第三军医大学附属西南医院全军感染病研究所，重庆 400038）

1 资料与方法

预见性护理组85例慢重肝均为我科1999年2月至2002年10月的住院患者，男73例，女12例，年龄12～68岁，病程1～25年。入院时血清总胆红素（TB）179～687 μmol/L，凝血酶原时间（PT）22～65 s，凝血酶原时间活动度（PTa）9.1%～38.3%。出血前明确有食道、胃底静脉曲张者37例，胃溃疡者7例。对照组为抽取1991年3月至1998年6月收治的101例同类病例，男87例，女14例，年龄12～75岁，病程2～22年。入院时TB 175～589 μmol/L，PT 21.5～55 s，PTa 10.6%～38.2%；出血前明确有食道、胃底静脉曲张者30例，胃溃疡者8例。两组诊断均符合2000年全国病毒性肝炎防治方案。两组病例的性别、年龄、TB、PT、静脉曲张及胃溃疡等差异无显著性意义（$P>0.05$）。

对照组为常规保肝、对症治疗。预见性护理组在此基础上实行3月的预见性护理，首先对慢重肝患者制定出护理计划，然后根据护理中发现的问题及时调整治疗及护理方案。

统计学方法：采用χ^2检验。

2 结果

预见性护理组及对照组病死率分别为22.5%（19/85），28.7%（29/101），两组间比较，差异无显著性意义（$\chi^2=0.975$，$P>0.05$）。上消化道出血的发生率为33.2%（28/85）、39.5%（40/101），两组间比较，差异无显著性意义（$\chi^2=0.115$，$P>0.05$）。

作者简介：李嘉佳（1975—），女，重庆市人，护师。电话：(023)68754000-73065

收稿日期：2003-01-10；修回日期：2003-04-20

（下转1103页）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net