

## 第 4 代人类免疫缺陷病毒酶免检测试剂的应用与分析

刘海波<sup>1</sup>, 王 丽<sup>2</sup> (1. 江苏省淮安市中心血站检验科 223001; 2. 江苏省淮安市妇幼保健院检验科 223001)

**【摘要】目的** 通过与第 3 代人类免疫缺陷病毒(HIV)酶免试剂的比较,分析第 4 代试剂的检测性能。**方法** 运用第 3 代和第 4 代试剂平行检测无偿献血者标本、室内质控品、室间质评血清和临床干扰性标本,比较其特异性和灵敏度。**结果** 从无偿献血者血样中检出有反应性标本 20 例,其中第 3 代试剂检出 7 例,第 4 代试剂检出 16 例,有 2 例标本由双方共同检出并最终确认为阳性。检测 1 NCU/mL 室内质控品,S/CO 值无明显差异,变异系数(CV)值在 11%~14%。室间质评血清检测中,对临界值弱阳性标本的判定只有第 4 代 HIV 试剂准确无误。检测干扰性标本,两种试剂检测结果完全一致,未见交叉反应。**结论** 第 4 代 HIV 酶免检测试剂适合献血者的筛查,有利于保障血液的安全。

**【关键词】** 人类免疫缺陷病毒; 酶联免疫法; 检测分析

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)23-2937-02

**Application and analysis of 4th generation HIV Enzyme Immunodetection reagent** LIU Hai-bo<sup>1</sup>, WANG Li<sup>2</sup> (1. Department of Laboratory, Central Blood Station of HuaiAn, Huaian, Jiangsu; 2. Department of Laboratory, Central Blood Station of Huaian, Jiangsu 223001, China)

**【Abstract】Objective** To analyse the detection abilities of the 4th generation HIV enzyme immunodetection reagent comparing to the 3rd. **Methods** Samples of blood donors, indoor quality control, external quality assessment and samples with interference factors were detected by the 3rd and 4th generation reagents, and the specificity and sensitivity were analyzed. **Results** 20 reactive samples were detected from the blood of donors, 7 were detected by the 3rd generation reagent, 16 were detected by the 4th, only 2 samples that detected by them together were confirmed as HIV positive at last. When detecting 1NCU/mL internal quality control serum, there was no obvious difference between S/CO value, and CV ranged from 11% to 14%. When detecting the external quality assessment serum, only the result of the 4th generation reagent to weak positive sample of critical was accurate. When detecting samples with interference factors, the two reagents had uniform result without cross reaction. **Conclusion** The specificity of the 4th generation reagent is poorer than that of the 3rd, but the sensitivity was on the contrary, so the 4th generation HIV detection reagent can be used to screen donor and ensure blood safety.

**【Key words】** human immunodeficiency virus; enzyme linked immunosorbent assay; detection and analysis

艾滋病(AIDS)由人类免疫缺陷病毒(HIV)引起,目前尚无有效的预防疫苗和治疗手段,因此早期检出,切断其传播途径成为 AIDS 防控的首要策略。当前国内采供血机构对献血者筛查主要采用第 3 代 HIV 酶免检测试剂,其灵敏度和特异性很高,但窗口期较长,在 HIV 抗体尚未出现之前容易漏检。第 4 代试剂则是基于 P24 抗原在 HIV 感染初期就已经出现的特性,通过 HIV 抗体和 P24 抗原的联合检测,缩短窗口期,减少 HIV 经输血途径的传播<sup>[1]</sup>。本实验作者选用第 4 代 HIV 酶免试剂对 4 类样品进行检测,并与第 3 代试剂进行比对,现报道如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 标本来源** 20 例初筛有反应标本为 2011 年 7 月至 2012 年 3 月,从 37 546 例献血者血样中筛查所得,其中经疾病预防控制中心(CDC)确认阳性 2 例。室内质控品(1 NCU/mL)由北京康彻斯坦公司提供,批号:201005001,在有效期内使用。室间质评血清由卫生部临检中心下发,规定时间内检测。40 例干扰性标本由淮安市妇幼保健院检验科提供,内含甲型肝炎病毒抗体、乙型肝炎病毒表面抗体、丙型肝炎病毒抗体、类风湿因子、抗核抗体等免疫干扰因子。

**1.2 试剂与仪器** HIV 抗体诊断试剂(酶联免疫法),由上海科华生物工程股份有限公司提供(批号:201101021、201105011、201107041、201109021)。HIV 抗原抗体诊断试剂

(酶联免疫法),由北京万泰生物药业股份有限公司提供(批号:H20110404、H20110706、H20110908、H20111110)。试剂均为批检合格并在有效期内使用。仪器采用 Microlab Star 全自动加样仪、FAME24/20 全自动酶免分析仪(瑞士 Hamilton),均定期检定校准合格。

**1.3 方法** 按照《全国艾滋病检测技术规范》要求和各试剂说明书进行实验操作、结果判定和待确认标本送检等。初次检测有反应性,取血库同源血袋留样,与原管同时双试剂双孔复试,以防采样差错并确定初筛试验最终结论。室内质控品与室间质评血清的检测按常规标本同等要求进行操作。初筛有反应性标本送淮安市 CDC,由 AIDS 确认中心实验室用蛋白质印迹法(WB)进行确认。

**1.4 统计学处理** 将献血者标本、室间质评血清和干扰性标本的检测数据一一对应分析,比较其特异性和灵敏度等;对室内质控品的实验数据计算出  $\bar{x} \pm s$  和变异系数(CV),并采用  $t$  检验进行统计分析。

### 2 结 果

**2.1 初筛结果** 用第 3 代和第 4 代酶免试剂对 37 546 份无偿献血者血样进行筛查,共检出有反应性标本 20 例,其中第 3 代试剂检出 7 例,第 4 代试剂检出 16 例,有 2 例标本为双方共同检出并经 CDC 确认为最终阳性。

**2.2 室内质控品检测结果** 用两种试剂对 20 份室内质控样品进行检测,其中第 3 代试剂检测结果为  $3.01 \pm 0.34$ , CV 为 11.4%,第 4 代试剂检测结果为  $3.13 \pm 0.42$ , CV 为 13.4%,两组数据差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 室间质评血清检测结果** 用两种试剂检测 5 份室间质评血清(1171-1175),其中第 4 代试剂检测结论与反馈结果一致,第 3 代试剂有 1 例临界值弱阳性标本未明确检出,其余均与反馈结果相同。见表 1。

表 1 两种试剂对 5 份室间质评血清检测结果

项目	1171	1172	1173	1174	1175
反馈结果	-	+	-	+	-
第 3 代酶免试剂	-	?	-	+	-
第 4 代酶免试剂	-	+	-	+	-

注: - 表示阴性, + 表示阳性, ? 表示可疑。

**2.4 干扰性标本检测结果** 用第 3 代和第 4 代 HIV 酶免试剂对 40 例干扰性标本进行检测,检测结果均为阴性,二者检测结果完全一致。

### 3 讨论

HIV 感染可以通过检测 HIV 特异性抗体、抗原、核酸或病毒培养分离等加以明确,其中检测 HIV 抗体的酶联免疫吸附试验(ELISA)技术在国际上应用最早、发展最快。自 1985 年采用 HIV 纯化全病毒裂解物作为抗原的第 1 代酶免试剂问世以来,目前 ELISA 已经发展到第 4 代。其中,第 3 代试剂以基因重组或合成多肽抗原进行包被和标记,具备较高的灵敏度和特异性,但第 3 代试剂所检测的 IgM、IgG 和 IgA 抗体主要针对 HIV 病毒的 gag、env 以及结构蛋白,该类抗体一般在 4~6 周后才能检出。第 4 代 HIV 试剂将 HIV1/2 抗原、P24 抗体包被于微板作联合检测,由于 HIV 感染后 1~2 周人体血液中即可表达核心蛋白 P24 抗原,故其与第 3 代试剂相比,能缩短窗口期 4~8 d<sup>[1]</sup>。

本次实验中,通过对 HIV 待确认标本与 CDC 确认结果的比较,作者发现两种试剂对 WB 确认为阳性样本的检测灵敏度均达到 100%,但第 4 代试剂送检量明显多于 3 代试剂。由于 WB 检测抗体多为 IgG,其出现时间晚于 IgM 和 P24,故 WB 灵敏度低于第 3、4 代 HIV 检测试剂<sup>[2]</sup>。因此初筛有反应性而 WB 为阴性的人群,仍可能处于窗口期,这在一定程度上表明第 4 代试剂具有较高的敏感性。从另一角度来看,即使考虑到上述部分样本可能处于窗口期,送检数据仍能显示第 4 代试剂的特异性相对偏低。这种假阳性偏多,一方面可能因为第 4 代试剂微孔板中包被的抗 HIV-P24 抗体是鼠单抗,而献血人群中 1%~2% 存在人抗鼠抗体反应或其他不明原因的异种免疫反应<sup>[3]</sup>。另一方面,加样或分血过程中血样交叉污染、标本留取速度过快造成溶血、红细胞内酶类物质的非特异性反应等也会导致酶免检测假阳性的发生<sup>[4]</sup>。这提示日常检测工作要注意加强培训、规范操作,以减少误差;同时在检测结果反馈时,也应该考虑到上述情况,综合考量,避免给献血者带来不必要的恐惧心理或其他负面情绪。

两种试剂对 1 NCU/mL 室内质控品的检测数据未见明显差异,且 CV 均在 11%~14%,说明两种试剂的微板孔间差异较小,不会导致检测结果不稳定或重复性差,也不会使 S/CO 在 1~4 的弱阳性标本发生漏检或误判。在检测 5 份室间质评血清时,二者表现出一定差异,有 1 份弱阳性临界值样本被第 4 代试剂检出,第 3 代试剂因 S/CO < 1,最后判为“可疑”,这说

明二者对底限弱阳性标本的敏感性存在差异。据估计血液经 HIV 抗体筛查后,因处于窗口期感染而造成输血后 HIV 传播的危险为  $1.4/107^{[5]}$ ,而增加抗原检测后可再减少残余风险的 10%<sup>[6]</sup>,从而提高输血的安全性。对 40 例干扰性标本的检测结果显示,两种试剂对包含甲型肝炎病毒抗体、乙型肝炎病毒表面抗体、丙型肝炎病毒抗体及自身免疫因子的样本均未发生交叉反应,具备较高的抗干扰能力,这与国内外的报道基本一致<sup>[7-8]</sup>。

目前,国外已经广泛使用可以同时检测 HIV 抗原和特异性抗体的第 4 代试剂。其中,Speers 等<sup>[9]</sup>在对 1 例 HIV 患者动态监测中发现,感染初期第 4 代 HIV 检测试剂和 P24 抗原阳性,第 3 代试剂为阴性;16 d 后检测第 3、4 代试剂为阳性而 P24 抗原测定阴性,说明第 4 代试剂对缩短窗口期,减少 HIV 漏检有很高的价值。当然,第 4 代 HIV 酶免试剂要全面取代第 3 代试剂尚需要进一步的评估和考证。有文献报道,第 4 代 HIV 检测试剂由于载体上同时包被 HIV 抗原和抗体,吸附到载体上的抗原和抗体量均会受到限制,造成抗原和抗体检测之间相互干扰,导致灵敏度下降,甚至出现第 2 个窗口期<sup>[10]</sup>。现阶段,按照卫生部即将颁布执行的血筛标准,可以选择 1 个生产厂家的 ELISA 试剂检测 HIV-1 和 HIV-2 抗体,选择另 1 个生产厂家的 ELISA 试剂联合检测 HIV-1 和 HIV-2 抗原和抗体。通过实践和分析,作者认为这种模式可将二者有机结合起来,在第 3 代试剂稳定性好、特异性强的基础上,充分发挥第 4 代试剂敏感性高的特性,有效降低输血传播 HIV 的残余危险。

当然,第 4 代 HIV 酶免检测试剂加入筛查后,仍会存在 2~3 周的窗口期,且从方法学上看,ELISA 灵敏度终究有限。当前实验室检测技术已进入分子生物学的崭新时代,在欧美发达国家的血液中心,核酸检测试剂纷纷被用于献血者的筛查,并将 HIV 检测窗口期一举降至 11 d,感染的危险度大大降低<sup>[11]</sup>。虽然核酸检测技术操作复杂、实验要求高且成本昂贵,目前尚未在国内血筛中大规模使用,但这是一个值得特别关注的趋势。本站检测中心已于去年初步完成了核酸检测实验室的筹建工作,今后,作者将在此基础上,对核酸实验中检测条件的优化、检测流程的管理、检测项目的整合、血样采集的改进等方面做详细的研究与探讨,继续缩短 HIV 检测的窗口期,不断提高临床用血的安全性。

### 参考文献

- [1] 许文燕,邱茂峰,佐合拉·吐尔地,等.第四代 HIV 抗原抗体酶联检测试剂缩短 HIV 窗口期的研究[J].中华检验医学杂志,2007,30(3):284-287.
- [2] 吴瑞英.不同方法对两例早期 HIV 感染者血清抗体追踪检测研究[J].中国艾滋病性病,2007,13(5):462-463.
- [3] 张麒,佐拉,秦光明,等.评估第 4 代 HIV 酶联免疫法诊断试剂对静脉吸毒者感染窗口期的检测能力[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):633-634.
- [4] 程玉萍,鲁然,许亚辉.国产 ELISA 试剂检测抗-HIV 假阳性原因分析[J].中国误诊学杂志,2004,4(1):54-55.
- [5] Soldan K, Davison K, Dow B. Estimates of the frequency of HBV, HCV and HIV infectious donations entering the blood supply in the United Kingdom, 1996 to 2003[J]. Eurosurveillance, 2005, 10(2):17-19.
- [6] Chiavetta JA, Escobar M, Newman A, et al. Incidence and estimated rates of residual risk for HIV, (下转第 2940 页)

表 1 两组患儿主要症状、体征变化情况 ( $\bar{x} \pm s, d$ )

组别	n	咳嗽气促	肺部啰音	呼吸困难	胸片吸收
		缓解时间	消失时间	改善时间	时间
治疗组	48	2.43±1.21	4.19±0.45	1.84±0.11	4.52±0.47
对照组	42	3.67±1.08	5.44±0.56	4.14±0.16	5.34±0.46

2.2 两组患儿临床疗效 从表 2 可知,治疗组的疗效较对照组的疗效高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 2 两组患儿临床疗效

组别	n	显效	有效	无效	总有效率(%)
治疗组	48	28	16	4	44
对照组	42	14	18	10	32

2.3 治疗组患儿雾化吸入前后情况 治疗组患儿进行了 192 次雾化治疗,雾化吸入后呼吸频次和心率降低,血氧饱和度升高,雾化吸入前后呼吸、心率及血氧饱和度比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 治疗组患儿雾化吸入前后呼吸、心率及血氧饱和度情况

时间	呼吸(次/分)	心率(次/分)	血氧饱和度(%)
雾化吸入前	24.85±3.94	104.12±10.40	91.18±4.42
雾化吸入后	19.47±4.14	87.78±8.70	95.15±3.56

### 3 讨论

小儿气管、支气管相对成人短,而且狭窄,黏膜柔嫩,毛细血管丰富,软骨柔软,缺乏弹力组织,支撑力差,加之黏液腺分泌不足而使气道干燥,纤毛运动较差致清除能力差,且儿童免疫功能尚未健全,机体抵抗力差,容易受各种细菌、病毒的侵害。所以儿童患麻疹后极易并发支气管肺炎。雾化吸入是治疗支气管肺炎的常用方法。雾化吸入常用方法有超声雾化吸入、氧驱动吸入及压缩雾化吸入。氧驱动是喷射式雾化吸入法的一种,药液量少,雾化时间短,可产生理想的气雾量和雾化微粒,增加气雾微粒在肺内的沉降,以氧气为驱动力,可使雾化微粒迅速播撒到下呼吸道,与气道有广泛的接触面积,且作用直接。氧气驱动雾化吸入患者仅需潮气量呼吸,即能将药液吸入到支气管及肺泡,迅速缓解症状体征,改善肺功能,并且患者呼吸不必费力,又有足够的氧气吸入,患者的不适感明显减少,尤

其适用于低氧血症、严重气促无法深吸气的患者。氧气吸入有利于周围组织,特别是呼吸机的供氧,改善缺氧性肺血管收缩及降低肺动脉高压,防止支气管痉挛引起的低氧血症。有研究显示,在临床上常用的超声雾化吸入、氧气驱动雾化吸入、空气泵雾化吸入 3 种方法中氧气驱动雾化吸入具有方法简单易行、用药量少、起效快、效果肯定、易被患者接受等优点,是治疗幼儿毛细支气管炎、哮喘等肺部疾病常用的有效方法<sup>[5-7]</sup>。布地奈德混悬液含 50% 的布地奈德,稀释后经氧气驱动雾化吸入即可避免或减少全身使用皮质激素,且接受雾化的患儿只需被动配合。因此,在麻疹合并支气管肺炎的患儿中吸入布地奈德混悬液,能够有效起到抗炎作用且不良反应小<sup>[8]</sup>。本研究采用氧气驱动雾化吸入布地奈德混悬液,较对照组明显较快改善患儿的咳嗽气促、呼吸困难等症状和体征,最终减轻病情和缩短病程,可在临床中试用。

### 参考文献

- [1] 杨绍基,任红. 传染病学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:69-74.
- [2] 依巴古力·艾拜都拉,孙晓凤,帕提古丽·玉苏甫,等. 149 例麻疹临床分析[J]. 新疆医科大学学报,2009,32(8):1091-1093.
- [3] 邓辛香. 沐舒坦超声雾化吸入对麻疹并肺炎祛痰疗效的观察[J]. 南华大学学报:医学版,2009,37(4):472-473.
- [4] 曾晖,黄凌云. 不同雾化吸入疗法对麻疹并肺炎患儿排痰效果影响的研究[J]. 实用临床医学,2009,10(5):87-88.
- [5] 袁转弟,谢丹宇,戴志辉,等. 不同雾化吸入方式对哮喘婴幼儿血氧饱和度的影响[J]. 实用儿科临床杂志,2007,22(4):273-274.
- [6] 黄如珍,肖政祥,邓泉珍. 不同雾化吸入方式对婴幼儿支气管肺炎的治疗效果的影响[J]. 护理学杂志,2007,22(11):14-15.
- [7] 李西睦,喻广娟,丁志远,等. 3 种不同雾化吸入方式治疗毛细支气管炎疗效比较[J]. 河北医药,2009,31(21):2909-2910.
- [8] 赵国荣,卓志强,潘万责,等. 布地奈德雾化混悬液佐治儿童麻疹并支气管肺炎疗效观察[J]. 医学理论与实践,2009,22(9):1079-1080.

(收稿日期:2012-05-21)

(上接第 2938 页)

hepatitis C, hepatitis B and human T-cell lymphotropic viruses in blood donors in Canada, 1990-2000[J]. CMAJ, 2003, 169(8):767-773.

[7] 郑晓红,张玮,陈安琪,等. HIV 抗原抗体联合检测试剂在高危人群筛查中的应用[J]. 诊断学理论与实践,2008,7(2):168-171.

[8] Sickinger E, Stieler M, Kaufman B, et al. Multicenter Evaluation of a New, Automated Enzyme-Linked Immunoassay for Detection of Human Immunodeficiency Virus-Specific Anti-bodies and Antigen[J]. J Clin Microb, 2004, 42(1):21-29.

[9] Speers D, Phillips P, Dyer J. Combination Assay Detecting both Human Immunodeficiency Virus(HIV) p24 Antigen and Anti-HIV antibodies Opens a Second Diagnostic Window[J]. J Clin Micr, 2005, 43(10):5397-5399.

[10] 白浪,雷秉钧. HIV/AIDS 实验室检测及其研究进展[J]. 中国循证医学杂志,2008,8(3):206-209.

[11] Aubuchon JP, Birkmeyer JD, Busch MP. Cost-effectiveness of expanded human immunodeficiency virus-testing protocols for donated blood[J]. Transfusion, 1997, 37(1):45-48.

(收稿日期:2012-05-25)