

某国产 HIV-1 核酸定量检测试剂盒的应用性能评估

李梅, 王静[△](重庆市公共卫生医疗救治中心检验科 400036)

【摘要】目的 对某国产人类免疫缺陷病毒 I 型(HIV-1)核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)的临床应用性能进行评估。**方法** 收集不同 HIV 感染状态人群的血液样品共计 247 例,分别使用 HIV-1 被评估试剂与已被 SFDA 批准的对照试剂进行临床检验平行对比。比较两种方法之间的相关性和一致性。对比不符样本用国际公认的 Roche 公司生产的 HIV-1 病毒载量检测试剂进行复核。**结果** 共检测 247 例样本,被评估试剂与对照试剂检测结果一致的样本有 233 例,检测结果不一致的样本有 14 例(其中 8 例阴阳性结果不一致,6 例定量结果对数值差异大于 1),14 例不符样本用复核试剂检测确认后,均与被评估试剂检测结果一致。以复核试剂检测结果最终判断:被评估试剂的一致率为 100.00%。对 177 例被评估试剂与对照试剂定量线性范围内样本进行统计分析,定量相关性为 0.967 1。**结论** 被评估试剂与已上市的国内同类产品检测功能上具有等效性,被评估试剂灵敏度、定量准确性与 Roche 检测结果一致性相近,高于对照试剂。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒 I 型; 逆转录-聚合酶链反应; 评价

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.16.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)16-2220-02

Evaluation of a new domestic nucleic acid quantitative detection kit for human immunodeficiency virus type 1 LI Mei, WANG Jing[△] (Chong Qing Infectious Disease Medical Center, Chongqing, 400036, China)

【Abstract】Objective To evaluate the variation and stability of a new domestic nucleic acid quantitative detection kit for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). **Methods** A total of 247 blood samples were detected by both the tested kit and the contrast kit approved by SFDA, when different results were obtained, the sample was re-examined with HIV-1 viral load kit produced by Roche company. **Results** The results of 233 samples from the tested kit and the control kit were consistent, and 14 samples were not consistent (8 samples were proved to be positive by the tested kit but to be negative by the control kit. Another 6 samples showed that the difference of the lg values between the two kits were more than 1). The results weren't consistent reexamined by the rechecked kit were in consistency with the results from the tested kit. The consistency of the evaluated kit with the control kit and the reexamined kit was 100%. There was a strong overall correlation of the test results between the two methods ($r=0.9671$). **Conclusion** High qualitative consistency and strong correlation between the tested kit and the control kit were found, and the tested kit showed the same sensitivity, accuracy and consistency with the reexamined kit.

【Key words】 human immunodeficiency virus type 1; reverse transcription polymerase chain reaction; evaluation

在全球范围内,获得性免疫缺陷综合征(AIDS)病例及其所致的死亡不断增加,已经成为十大主要死因之一。控制 HIV/AIDS 流行是目前世界各国面临的一项十分重要的任务^[1]。人类免疫缺陷病毒 I 型(HIV-1)属于单股正链核糖核酸(RNA)逆转录病毒科慢病毒亚科,是艾滋病的主要病原体,主要传播途径为性传播、血液传播和母婴传播。HIV 抗体检测是世界卫生组织和我国卫生部推荐使用的 HIV 感染诊断方法。细胞培养(病毒分离)、P24 抗原检测、定量核酸检测(也称 HIV 病毒载量检测)可作为辅助手段使用。定量核酸检测可测定外周血的病毒含量,相对于其他辅助手段更敏感、便捷,可用于早期 HIV-1 感染辅助诊断,也广泛用于研究 HIV 的感染过程、随访 HIV 的疾病进展和药物疗效的评价。

尽管已有 HIV-1 核酸定量检测试剂盒获得国家批文并用于临床检验,但国产试剂盒在检验的灵敏度和结果的一致性跟进口试剂仍存在差距,开发高灵敏度和准确性的试剂盒值得深

入开展。本研究拟对一种新开发的 HIV-1 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)进行临床评价,比较其和已被 SFDA 批准的同类检测试剂的灵敏度和检验结果一致性。

1 材料与方 法

1.1 材料 本研究选取了本实验室收集的不同 HIV 感染状态样本共 247 例,其中包括 207 例 HIV-1 感染者样本,干扰组样本 32 例,健康者样本 8 例。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 被评估试剂 为国内正在研制的一种 HIV-1 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法,后面简称考核试剂),实验主要仪器有 QIAcube 全自动核酸纯化仪和 Rotor-Gene Q 实时荧光定量 PCR 分析仪。检测线性范围: $5.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^7$ copy/mL。

1.2.2 对照试剂 为已被 SFDA 批准并已在临床试用的该公司生产的“HIV-1 核酸定量检测试剂盒(RT-PCR-荧光探针

法)”,检测线性范围为 $5.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^6$ copy/mL。

1.2.3 复核试剂 为“HIV-1 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光法) COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 Test, version 2.0”(美国 Roche Molecular Systems, Inc, 批号: R00002), 检测线性范围为 $20 \sim 1.0 \times 10^7$ HIV RNA copy/mL。

1.3 研究方法 用考核试剂和对照试剂同时检测血液样本, 比较两试剂的结果一致性。若检测结果不符合(阴阳性不符、定量值在线性范围内且定量结果 lg 值差大于 1 的样本), 则该样本进一步用复核试剂检测, 并以复核检测结果为标准。所有检测严格按照试剂盒的说明书标准步骤进行。

1.4 统计学方法 采用 Excel 和 SPSS11.0 软件进行统计分析, 两种方法检测结果的一致性比较采用 Kappa 检验, 并计算 Youden 指数、以 1-Specificity 的值为横坐标, 以 Sensitivity 值为纵坐标绘制 ROC 曲线。使用 Bland-Altman 模型评价考核试剂与对照试剂定量检测结果的一致性。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 考核试剂与对照试剂检测结果对比 如表 1 所示, 考核试剂与对照试剂检测结果 239 例阴阳性一致, 8 例阴阳性结果不一致: 均为考核试剂检测为阳性、但定量值均低于考核试剂定量线性范围下限 ($\leq 5.0 \times 10^2$ copy/mL), 而对照试剂检测为阴性。两种试剂检测的阳性符合率为 100.00%, 阴性符合率为 84.62%, 阳性预期值 PPV 为 96.06%, 阴性预期值 NPV 为 100.00%, 一致率为 96.76%。

表 1 考核试剂与对照试剂盒检测结果比较 (n)

考核试剂	对照试剂		合计
	阳性	阴性	
阳性	195	8	203
阴性	0	44	44
合计	195	52	247

247 例样本中, 除上述 8 例阴阳性结果不一致外, 尚有 6 例样本其考核试剂与对照试剂定量结果均处于线性范围但其对数值差大于 1。这 14 例不符样本经复核试剂的复检结果显示: 8 例阴阳性不符样本经复检后均为阳性, 但其病毒量均小于或等于 5.0×10^2 copy/mL; 6 例考核试剂与对照试剂定量检测结果对数值差大于 1 的样本经复核试剂复检后, 定量结果均与复核试剂结果接近, 定量结果对数值差小于 1。对 14 例考核试剂与对照试剂不符样本用复核试剂进一步确认后, 考核试剂盒与对照试剂/复核试剂检测性能比较如下, 见表 2。考核试剂与复核试剂的阳性符合率、阴性符合率、阳性预期值、阴性预期值和一致率均达到 100.00%。

表 2 考核试剂与对照试剂/复核试剂结果比较 (n)

考核试剂	对照试剂/复核试剂		合计
	阳性	阴性	
阳性	203	0	203
阴性	0	44	44
合计	203	44	247

对 247 例样本考核考核试剂盒与对照试剂/复核试剂检测结果进行统计分析, 其 Kappa 值为 1.0、Youden 指数为 1.0、

ROC 曲线如图 1 所示, ROC 曲线下面积为 1.0。

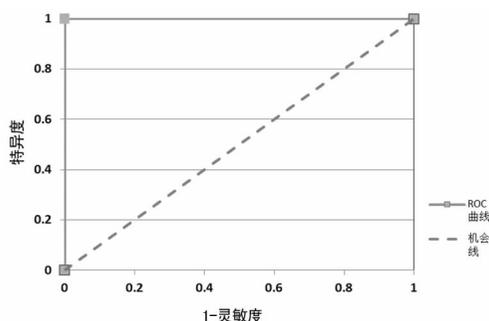


图 1 考核试剂检测结果的 ROC 曲线

2.2 定量相关性、定量准确性及一致性 选择考核试剂盒与对照试剂定量线性范围内(不剔除高于定量范围上限样本)177 例样本检测结果进行定量相关性、定量准确性及一致性统计分析。统计分析表明, 考核试剂与对照试剂/复核试剂的相关系数为: $r=0.9671$ ($P<0.05$, 图 2)。以考核试剂与对照试剂定量值对数值均值为横坐标、差值为纵坐标做散点图(经复核样本用复核试剂检测结果为标准进行统计分析), 结果见图 3。Bland-Altman 模型显示其一致性界限 LoA 及其 95% 置信区间为: -0.481 ($-0.513 \sim -0.449$) ~ 0.501 ($0.469 \sim 0.533$); 经统计 95% 的差值位于一致性界限以内, 且 LoA 不超过专业上可接受的界限值: 1 lg。

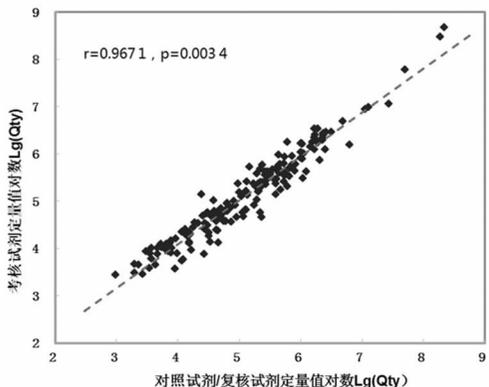


图 2 考核试剂与对照试剂/复核试剂定量相关性

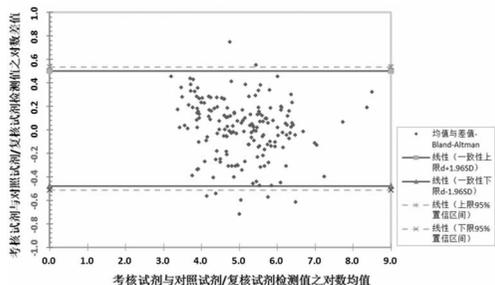


图 3 考核试剂盒 Bland-Altman 模式一致性分析图

3 讨论

艾滋病作为一种严重危害人类健康的疾病, 目前尚无有效的预防性疫苗, 因此, 其防控尤为重要^[2]。其病原体 HIV 感染的相关检测主要包括 HIV 抗体检测、HIV 抗原检测、HIV 核酸检测、HIV-1 耐药性检测、CD4⁺/CD8⁺ 淋巴细胞检测等^[3]。对 HIV 感染者及艾滋病患者进行 HIV 病毒载量检测是评价疾病进展、确定治疗开始时间、监测高效抗反转录病毒治疗的重要指标, 在婴儿早期诊断及感染窗口(下转第 2225 页)

言,采取人工关节置换治疗相比于髓内钉固定治疗在提高术后早期的治疗效果,缓解疼痛,改善患肢活动度、促进骨折愈合、降低术后并发症的发生率、提高患者的生活质量等方面具有显著的优越性。

参考文献

- [1] 邵明,毕郑刚,贺胜,等.人工关节置换与髓内钉固定治疗高龄严重骨质疏松股骨转子间骨折的疗效比较[J].中华创伤骨科杂志,2013,15(5):405-402.
- [2] 周家铃,李兵,李海丰,等.股骨近端防旋髓内钉治疗股骨转子间骨折的复位技巧[J].中华创伤骨科杂志,2012,11(14):299-303.
- [3] 聂勇,孙良业,凤晓翔,等.治疗老年人股骨粗隆间骨折手术方法选择的体会[J].实用骨科杂志,2012,18(4):342-344.
- [4] 宋炬赫,杨卫良,薛冰,等.三种方法治疗老年股骨转子间骨折的临床比较研究[J].中华创伤骨科杂志,2010,12(5):437-441.
- [5] 邹文.两种手术方式治疗老年股骨转子间骨折患者的临床分析[J].检验医学与临床,2012,9(16):1982-1985.
- [6] 孙强,许平安,郑加法,等.三种手术方式固定不稳定性股骨转子间骨折的生物力学研究[J].中华创伤杂志,2012,28(12):1078-1082.

- [7] 赵茂.股骨近端髓内钉治疗股骨转子间骨折[J].检验医学与临床,2012,9(22):359-361.
- [8] 曹杨,刘斌,王大为,等.双极人工股骨头置换术治疗骨质疏松性不稳定性股骨转子间骨[J].中华创伤杂志,2011,27(10):909-912.
- [9] 吴元勇,郭金伟.人工关节置换术治疗高龄股骨粗隆间骨折 42 例分析[J].重庆医学,2013,42(11):1243-1247.
- [10] 吴小军,陈秋生,谭志强,等.微创全髋关节置换术治疗老年股骨颈骨折 22 例[J].中国老年学杂志,2013,33(19):4898-4899.
- [11] Daniel O. Kendoff, Mustafa Citak, Claus C. Egidy, et al. Eleven-Year Results of the Anatomic Coated CFP Stem in Primary Total Hip Arthroplasty[J]. The Journal of Arthroplasty(IF 2.11), 2013,28(6):1047-1051.
- [12] Yen-Wen Cheng, Wei-Ming Chen, Cheng-Fong Chen, et al. Results of revision total hip arthroplasty with cementless cups with different coating[J]. Formosan Journal of Musculoskeletal Disorders, 2012,3(3):83-87.
- [13] 阎戈,王愉思,徐勇强,等.全髋关节置换术与人工股骨头置换术治疗老年股骨颈骨折的临床对照观察[J].中国医药导报,2012,9(5):164-165.

(收稿日期:2013-12-04 修回日期:2014-01-26)

(上接第 2221 页)

期诊断中具有重要的辅助诊断价值^[4]。病毒载量定点水平大于或等于 10^4 copy/mL 者快速发展为艾滋病的危险性增加 10.8 倍^[5]。

本次研究共检测 247 例样本,233 例考核试剂与对照试剂检测结果一致,14 例检测结果不一致者经复核试剂检测确认后,均与考核试剂检测结果一致,显示考核试剂具有较好的检测敏感性和准确性,检测性能优于对照试剂,可接近进口的国际公认试剂的水平。本研究表明,艾滋病患者样本定性和定量检测结果的不一致时,应考虑不同种试剂的有效定量检测范围和其检测灵敏度。有报道表明,经过抗病毒治疗 2~8 周后,艾滋病患者样本血浆中病毒载量降低约 10 倍,16~24 周后会降低到测不出的程度^[6-7]。在病毒载量较低时,不同试剂盒加样量的不同会直接导致检测敏感性的差异^[8]。对治疗后病毒量较低或者检测不出的标本,应结合临床采用各种检测手段监测。

经临床研究表明,被评估的 HIV-1 核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)与已经上市的国内外同类产品在人血浆或血清样本中的 HIV-1 RNA 的定量测定功能上具有等效性,可用于人类免疫缺陷病毒的早期诊断、疑难样本的辅助诊断、艾滋病的病程监控及预测、以及指导抗病毒治疗及疗效判定。

参考文献

- [1] 尚红.中国艾滋病流行和检测及治疗现状与发展趋势

[J].中华检验医学杂志,2008,31(10):1088-1090.

- [2] 张宏萍.三种方法筛查 HIV 抗体的比较[J].上海预防医学,2012,24(3):155-159.
- [3] 董雪,赵曦,里天初,等.中国三版艾滋病检测技术规范的对比如分析[J].中国艾滋病性病,2010,16(6):595-598.
- [4] 彭巧丽,李美忠,蒋强,等.不同 HIV-1 病毒载量定量检测方法的比较研究[J].中国艾滋病性病,2011,17(1):4-7.
- [5] 李敬云.HIV 早期感染诊断方法与应用[J].传染病信息,2007,20(6):352-356.
- [6] 王夏,唐力,刘满清,等.武汉市艾滋病患者高效抗逆转录病毒治疗效果分析[J].中华疾病控制杂志,2010,14(3):212-214.
- [7] 彭瑾瑜,贺建梅,邹潇白,等.接受抗病毒药物治疗艾滋病患者体内病毒数量变化研究[J].中实用预防医学,2010,17(4):644-646.
- [8] 李繁,蒋岩,王天怡,等.某种人类免疫缺陷病毒 I 型核酸定量检测试剂盒的性能评估[J].中华疾病控制杂志,2013,17(7):605-608.

(收稿日期:2014-05-07 修回日期:2014-06-19)