

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 05. 003

某国产人类免疫缺陷病毒 1 型核酸定量检测试剂的临床试验研究*

周全华,王 越,刘 华,廖 莉,陈 玲,张媛媛,张 敏
重庆市疾病预防控制中心微生物检测所,重庆 400042

摘 要:**目的** 评价某国产人类免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)核酸定量检测试剂(考核试剂)和对比试剂的相关性及一致性。**方法** 采用国产 HIV-1 考核试剂和对比试剂,对 197 例标本进行平行检测。采用相关性分析、Bland-Altman 模型等统计方法分析 2 种检测试剂之间的相关性和一致性。**结果** 197 例标本中该国产 HIV-1 考核试剂与对比试剂的阳性符合率为 98.94%、阴性符合率为 100.00%,总符合率为 98.98%。线性回归方程为 $Y=0.98X-0.04$,相关系数 $r=0.968(R^2=0.937)$,二者具有较高的一致性。**结论** 该国产 HIV-1 考核试剂与对比试剂的检测结果具有较好的相关性和一致性。

关键词:人类免疫缺陷病毒 1 型; 病毒载量; 相关性; 一致性

中图法分类号:R512.91 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2021)05-0585-04

A clinical trial study of a domestic human immunodeficiency virus
type 1 nucleic acid quantitative detection reagent*

ZHOU Quanhua, WANG Yue, LIU Hua, LIAO Li, CHEN Ling, ZHANG Yuanyuan, ZHANG Min
Department of Microbiology Laboratory, Chongqing Center for Disease
Control and Prevention, Chongqing 400042, China

Abstract:**Objective** To evaluate the correlation and consistency between a domestic human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) nucleic acid quantitative detection reagent (assessment reagent) and contrast reagent. **Methods** The domestic HIV-1 assessment reagent and contrast reagent were used to parallel test the viral load of 197 samples. Correlation analysis, Bland-Altman model and other statistical methods were used to analyze the correlation and consistency between the two detection reagents. **Results** In 197 samples, the positive coincidence rate of the domestic HIV-1 assessment reagent and the comparison reagent was 98.94%, the negative coincidence rate was 100.00%, and the total coincidence rate was 98.98%. The linear regression equation was $Y=0.98X-0.04$, and the correlation coefficient was $r=0.968(R^2=0.937)$. The two reagents had a high consistency. **Conclusion** The domestic HIV-1 assessment reagent and the contrast reagent have good correlation and consistency.

Key words: human immunodeficiency virus type 1; viral load; correlation; consistency

艾滋病是全球共同关注的疾病,我国自 1985 年发现首例人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者以来,截至 2018 年 9 月 30 日,报告现存活 849 602 例感染者^[1]。早发现、早治疗是控制艾滋病传播的关键^[2]。其病原 HIV 在人体体液中的含量与其传播能力呈正相关。病毒载量是指每毫升体液中病毒颗粒的数量。根据人类免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)病毒载量检测结果,可以诊断 HIV-1 感染状况,监测疾病病程,判断抗病毒治疗的效果和指导治疗方案的选择^[3-5]。但是,我

国 HIV-1 病毒载量检测主要还是依赖于进口设备和试剂,其昂贵的价格,严重制约了接受抗病毒治疗的感染者和患者的检测频率及病毒载量检测覆盖的范围。为使有限的公共卫生资源能更好地运用于临床诊断、治疗等领域,开发灵敏度、精确度和准确度与进口试剂相当的国产检测试剂已迫在眉睫。本研究对某国产 HIV-1 核酸定量试剂盒(PCR-荧光探针法)进行临床评价,比较其和进口同类试剂的相关性和一致性,为该国产 HIV-1 核酸检测试剂的临床性能评价提

* 基金项目:重庆市技术创新与应用发展专项面上项目(cstc2019jscx-msxmX0225);重庆市卫生和计划生育委员会医学科研项目(2017ZDXM001)。

作者简介:周全华,男,副主任技师,主要从事艾滋病检验方面的研究。

本文引用格式:周全华,王越,刘华,等.某国产人类免疫缺陷病毒 1 型核酸定量检测试剂的临床试验研究[J].检验医学与临床,2021,18(5):585-588.

供数据支撑,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 所有标本均来自重庆市疾病预防控制中心在 2018—2019 年接受抗病毒治疗患者和新确诊的 HIV 感染者,共筛选了 208 例血浆标本,因标本信息不全剔除 11 例,实际纳入 197 例标本,其中,阳性标本 188 例,定量范围涵盖 $10\sim10^6$ IU/mL,阴性标本 9 例(健康人群),符合对比试剂和考核试剂定量限范围的标本 178 例。

1.2 试剂 对比试剂为 Roche Cobas TaqMan HIV-1 Test Version2.0 检测试剂盒(简称 Roche 试剂),购于罗氏公司,上样量 1 mL,检测限 $33.40\sim1.67\times10^7$ IU/mL;考核试剂为 HIV-1 核酸测定试剂盒(RT-PCR 荧光探针法,简称丽珠试剂),由珠海丽珠试剂股份有限公司研制,上样量 500 μ L,检测限 $1.0\times10^2\sim1.0\times10^7$ IU/mL;复核试剂为 HIV-1 核酸定量试剂盒(PCR-荧光探针法,简称达安试剂),由中山大学达安基因股份有限公司提供,上样量 200 μ L,检测限 $2.5\times10^2\sim1.0\times10^8$ IU/mL。

1.3 方法 根据国家食品药品监督管理局 2014 年 9 月 11 日颁布的《体外诊断试剂临床试验技术指导原则》的要求,选择已批准上市的产品作为对比试剂(Roche 试剂),与考核试剂(丽珠试剂)对临床标本进行对比试验研究,结果不一致的标本用复核试剂(达安试剂)进行复核检测。操作过程均严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 用 SPSS22.0 统计软件对数据进行分析。计数资料以频数、率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用线性回归方法分析不同试剂检测结果的相关性,采用 Bland-Altman 法分析 2 种试剂检测结

果的一致性。通过 GraphPad prism 6.0 软件进行统计分析和绘图。

2 结 果

2.1 考核试剂与对比试剂的对比试验结果比较 188 例 HIV 阳性标本中,186 例标本经 2 种试剂检测均为阳性,阳性符合率为 98.94%(95%CI: 96.20%~99.71%),9 例阴性标本经 2 种试剂检测结果均为阴性,阴性符合率为 100.00%(95%CI: 70.09%~100.00%),2 种试剂检测总符合率为 98.98%(95%CI: 96.37%~99.72%),见表 1。2 例(编号为 RZ-159、RZ-166)结果不一致的标本用复核试剂进行复核检测,复核结果见表 2。利用数据分析软件 SPSS22.0 对数据进行 Kappa 一致性分析,Kappa 值为 0.895($P<0.05$),说明考核试剂与对比试剂具有较好的一致性。

2.2 各基因型标本检出情况 共有 188 例标本进行分型检测,143 例标本分型检测成功,其中,AE 重组型(CRF01-AE 重组型)19 例、BC 重组型 116 例(CRF07-BC 重组型 88 例、CRF08-BC 重组型 28 例)、B/B'型 8 例,加上购买的 O 组商品化阳转血清盘 1 例,共计 144 例分型成功。考核试剂检出率为 99.31%(143/144),有 1 例(编号 RZ-166)CRF08-BC 的标本未检出;对比试剂检出率为 100.00%(144/144)。

表 1 考核试剂与对比试剂定性检测结果比较

考核试剂	对比试剂		合计 (n)	符合率(95%CI,%)
	阳性(n)	阴性(n)		
阳性	186	0	186	98.84(96.20~99.71)
阴性	2	9	11	100.00(70.09~100.00)
合计	188	9	197	98.98(96.37~99.72)

表 2 2 例结果不一致标本考核试剂、对比试剂及复核试剂检测结果

编号	考核试剂检测结果(IU/mL)	对比试剂		复核试剂定量结果(IU/mL)
		定性结果(copy/mL)	定量结果(IU/mL)	
RZ-159	—	23.5	39.2	178.0
RZ-166	—	52.3	87.3	89.9

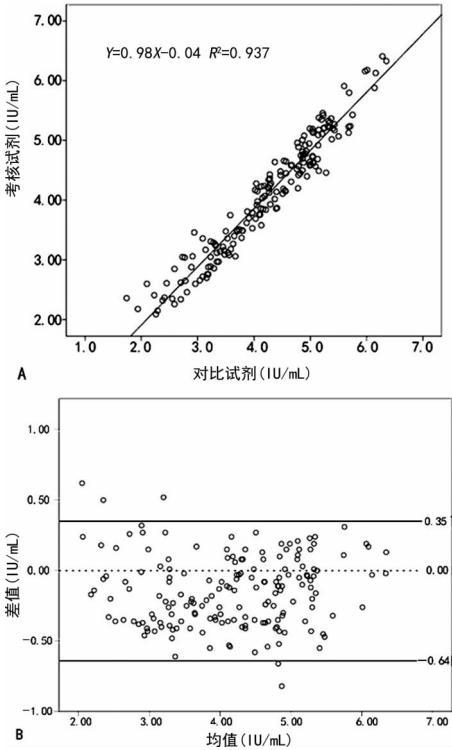
注:—为未检测到 HIV-1 RNA。

2.3 线性范围内检测结果 符合对比试剂($33.4\sim1.67\times10^7$ IU/mL)和考核试剂($1.0\times10^2\sim1.0\times10^7$ IU/mL)检测限范围的标本 178 例,剔除其中 4 例离群标本,对剩余的 174 例标本检测结果采用对数转换处理后再进行定量统计分析,线性回归方程为 $Y=0.98X-0.04$,相关系数 $r=0.968(R^2=0.937,P<0.05)$,2 种试剂检测结果线性相关关系成立,说明 2 种试剂相关性较好,见图 1A。采用 Bland-Altman 一致性分析,174 组数据的 95%一致性界限为(−0.64,

0.35),有 5/174(2.87%)例标本在 95%一致性界限以外,说明 2 种检测试剂的一致性较好,见图 1B。

2.4 治疗患者标本与未治疗患者标本检测结果的相关性 本次试验中共收集到 97 例接受抗病毒治疗的患者标本,检测范围涵盖 $10\sim10^4$ IU/mL,考核试剂与对比试剂的线性回归方程为 $Y=0.93X+0.07$,相关系数为 $r=0.933(R^2=0.871)$,见图 2。92 例(含 1 例 HIV-1 O 组商品化阳转血清盘)未接受治疗的 HIV-1 感染者标本,检测范围涵盖 $10^2\sim10^6$ IU/mL,

考核试剂与对比试剂的线性回归方程为 $Y = X + 0.12$, 相关系数为 $r = 0.950 (R^2 = 0.903)$, 见图 3。



注: A 为考核试剂与对比试剂检测 HIV-1 标本的相关性分析; B 为考核试剂与对比试剂检测结果一致性分析。

图 1 考核试剂与对比试剂检测结果的相关性和一致性分析

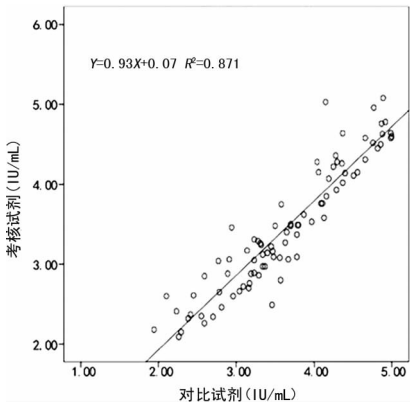


图 2 考核试剂与对比试剂检测抗病毒治疗患者标本结果的相关性

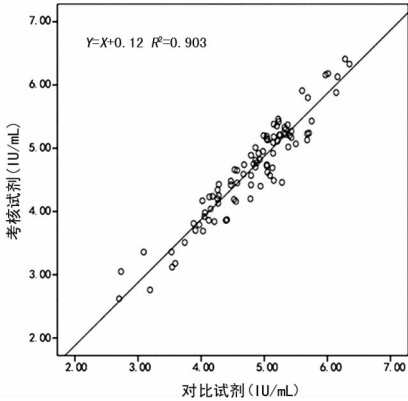


图 3 考核试剂与对比试剂检测未抗病毒治疗患者标本结果的相关性

3 讨 论

艾滋病作为全球十大死因之一的传染性疾病, 严重威胁着人类的健康, 且目前无有效疫苗和彻底治愈的方法^[6-7], 故防控 HIV 的流行成为世界各国面临的一项十分重要的任务^[8]。治疗艾滋病及 HIV 携带者是我国现行的防控措施之一^[9-10], 准确、客观、及时评价抗病毒治疗效果就显得十分重要。有文献报道, 早期诊断和有效治疗能使 HIV 传播的风险降低 96%^[9], HIV-1 病毒载量检测是评价抗病毒治疗效果和早期诊断最有效的方法, 然而进口试剂和设备价格昂贵, 严重制约了我国 HIV-1 病毒载量检测工作的开展, 因此开发适合我国国情的优质试剂迫在眉睫。

在 197 例检测标本中, 考核试剂和对比试剂在 Kappa 分析中, Kappa 值为 0.895 ($P < 0.05$), 说明 2 种检测试剂在定性检测方面完全一致。在 2 种试剂共同的线性范围内, 回归分析表现出较好的相关性, 相关系数 $r = 0.968 (R^2 = 0.937)$, 这与邹静波^[6]、MURPHY 等^[11]、李梅等^[12]、孙国清等^[13]、丁莉莎等^[14]的报道的结果相一致。Bland-Altman 一致性分析显示出 2 种试剂一致性较好。在 2 种试剂共同的线性范围中, 考核试剂有 4 例标本出现离群值, 可能是 2 种试剂选择的靶基因位点、引物、探针序列及反应体系的不同造成检测结果的差异, 同时由于 HIV 为反转录病毒, 基因组的突变率非常高, 当待测标本的基因组的靶基因发生突变, 即可能造成考核试剂和对比试剂的检测结果的差异。在定性分析中, 有 2 例检测结果不一致, 这可能与超出考核试剂的检测限, 并且处于对比试剂检测下限, 检测结果本身就具有很大的不确定性有关。李繁等^[15]的研究也指出, 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差异。本次研究发现的差异在临床可接受的范围内, 因此, 可以认为考核试剂与对比试剂具有良好的一致性。

对我国 4 种主要流行的 HIV-1 基因亚型 (CRF07-BC、CRF01-AE、CRF08-BC、B/B')^[16-17] 检测中, 考核试剂与对比试剂的检测结果差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.24, P > 0.05$), 说明该考核试剂能满足我国 HIV-1 病毒载量的检测要求。

本研究发现, 考核试剂与对比试剂对于治疗患者的标本和未治疗患者标本的检测结果具有高度的相关性, 相关系数分别为 0.933 和 0.950。这表明该考核试剂能够运用于治疗效果的监测、疾病的进程和感染状况的判断。

综上所述, 本研究参与评估的考核试剂在定性、定量、治疗患者和未治疗患者、不同基因亚型等方面的检测能力都与对比试剂具有较好的相关性和一致

性。随着国产试剂研发的投入,市场上已经出现了与进口试剂质量相当的国产试剂^[18-19],甚至部分国产试剂已经优于部分进口试剂^[20]。国产试剂相对于进口试剂而言,具有检测设备开放、所需样本量小、价格低廉等优势,更容易被患者和临床医生所接受。但是国产试剂普遍面临着仪器设备的自动化程度较低、低值的重复性较差等缺点,这些都需要在下一步的研发中进行完善。

参考文献

[1] 中国疾病预防控制中心. 2018 年第 3 季度全国艾滋病性病疫情[J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(11): 1075.

[2] 李敬云. HIV 早期感染诊断方法与运用[J]. 传染病信息, 2007, 20(6): 352-356.

[3] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2015 年修订版)[J]. 中国病毒杂志, 2016, 6(6): 401-427.

[4] 张岭, 蒋岩, 潘品良. HIV-1 病毒载量检测常用技术及研究进展[J]. 传染病信息, 2015, 28(6): 352-356.

[5] 潘品良, 蒋岩. HIV-1 病毒载量测定及质量保证指南(试行)[S]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2008: 13-16.

[6] 邹静波. 某国产 HIV-1 病毒载量检测试剂盒的临床应用性能评估[J]. 中国艾滋病性病, 2017, 23(2): 94-97.

[7] VANWALSCAPPEL B, RATO S, PEREZ-OLMEDA M, et al. Genetic and phenotypic of sequential vpu alleles from HIV-infected IFN-treated patients [J]. Virology, 2015, 500: 247-258.

[8] 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.

[9] COHEN M S, CHEN Y Q, MACAULEY M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy[J]. N Engl J Med, 2011, 365(6): 493-505.

[10] UNAIDS. 90-90-90-An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic[EB/OL]. [2020-05-20]. [http://catalogue.safaiids.net/publications/90-90-90-ambitious-](http://catalogue.safaiids.net/publications/90-90-90-ambitious-treatment-target-help-end-aids-epidemic)

treatment-target-help-end-aids-epidemic.

[11] MURPHY D G, COTE L, FAUVEL M, et al. Multicenter comparison of Roche Cobas Amplicor Monitor version1. 5, Organon Teknike NucliSens QT with extractor, and Bayer Quantiplex version3. 0 for quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(11): 4034-4041.

[12] 李梅, 王静. 某国产 HIV-1 核酸定量检测试剂盒的应用性能评估[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(16): 2220-2225.

[13] 孙国清, 闫江舟, 薛秀娟, 等. 国内某人类缺陷病毒 I 型(HIV-1)核酸检测试剂盒的自动化应用性能评估[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(18): 3054-3055.

[14] 丁莉莎, 陈曦, 熊晓燕, 等. 一种新型国产试剂检测 HIV-1 病毒载量[J]. 实用预防医学, 2014, 21(1): 19-21.

[15] 李繁, 蒋岩, 王天怡, 等. 某种人类免疫缺陷病毒 1 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.

[16] 钟平. HIV 分子流行病学研究与实践进展[J/CD]. 新发传染病电子杂志, 2019, 4(3): 137-144.

[17] LI K, OU W D, FENG Y, et al. Near full-length genomic characterization of a novel HIV type 1 recombinant form (CRF01_AE/B) Identified from Anhui, China[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2018, 34(12): 1100-1105.

[18] 李剑军, 方宁烨, 邓月琴, 等. 一种国产 HIV-1 病毒载量试剂与进口试剂的对比研究[J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(2): 199-201.

[19] 蔡侃儒, 程林, 陈伟梅, 等. 两种 HIV-1RNA 定量检测方法的临床对比研究[J]. 中国艾滋病性病, 2019, 25(1): 18-21.

[20] 李繁, 蒋岩, 屈然, 等. 两种 HIV-1 核酸定量检测试剂盒 V2.0 的对比研究[J]. 中国艾滋病性病, 2014, 20(3): 146-148.

(收稿日期: 2020-05-25 修回日期: 2020-12-27)

(上接第 584 页)

[9] 冉学兵. 免疫固定电泳对诊断多发性骨髓瘤的临床价值[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(2): 87-88.

[10] 严湘红. 免疫固定电泳技术及临床应用进展[J]. 医学临床研究, 2018, 35(4): 713-715.

[11] MISRA A, MISHRA J, CHANDRAMOHAN, J. et al. Old but still relevant: high resolution electrophoresis and immunofixation in multiple myeloma[J] Indian J Hematol Blood Transfus, 2016, 32(1): 10-17.

[12] 李小燕, 周铁成, 程晓东. 血清免疫固定电泳和血清游离轻链检测在辅助诊断多发性骨髓瘤中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9): 1139-1141.

[13] TRACY E, ANDREWS D M, CONSTANTIN M A, et al. Differences identified between serum and urine immunofixation electrophoresis[J]. Clin Chim Acta, 2015, 439(1): 68-70.

(收稿日期: 2020-03-07 修回日期: 2020-12-28)