

文章编号: 1673-8640 (2022) 02-0174-03 中图分类号: R446.1 文献标志码: A DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2022.02.016

干式荧光发光法在 HIV 感染初筛中的应用价值

黄 山¹, 孙溪若², 吕松琴¹, 许宝妹¹, 聂 磊¹, 王义娜², 李晓非¹

[1.昆明市第三人民医院(云南省传染病临床医学中心), 云南 昆明 650041;

2.上海荣盛生物药业有限公司, 上海 201108]

摘要: **目的** 探讨干式荧光发光法在HIV感染初筛中的应用价值。**方法** 收集疑似HIV感染患者血清样本351例, 分别采用干式荧光发光法、ELISA进行检测, 以免疫印迹法作为HIV的确证试验(金标准), 分析2种检测方法的敏感度、特异性、准确性、阴性预测值、阳性预测值、符合率和一致性。**结果** ELISA的S/CO值显著高于干式荧光发光法($P<0.001$)。趋势分析结果显示, 干式荧光发光法的S/CO值随ELISA S/CO值的升高而升高, 呈正相关($r=0.658$, $P<0.001$)。351例样本中, 干式荧光发光法阳性165例、阴性186例, ELISA阳性168例、阴性183例。2种方法的敏感性、特异性、准确性、阳性预测值和阴性预测值差异均无统计学意义($P>0.05$)。干式荧光发光法与ELISA的阳性符合率为95.83%, 阴性符合率为97.27%, 总符合率为96.58%, 一致性好($Kappa=0.931$)。**结论** 干式荧光发光法检测快速、操作简便, 与ELISA有较高的一致性, 适用于基层医疗机构对HIV感染的快速筛查。

关键词: 干式荧光发光法; 酶联免疫吸附试验; 人类免疫缺陷病毒

在人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染的初筛试验中^[1], 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)因有较好的敏感性和特异性, 对场地和设备要求不高, 所以应用最为广泛^[2], 但存在检测耗时长、需手工操作、易出错、易污染等缺点^[3]。因此, 为了克服ELISA的不足, 临床亟需一种可自动操作、简便、检测耗时短的HIV初筛方法。本研究拟初步探讨干式荧光发光法在HIV感染筛查中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取2020年6月1日—12月31日昆明市第三人民医院感染一科收治的疑似HIV感染患者351例, 其中男186例、女165例, 年龄(47.79 ± 12.35)岁。收集所有患者的血清样本, 对所有HIV抗体筛查试验有反应的样本采用HIV确证试验(免疫印迹法)检测, 最终确认HIV抗体阳性165例、阴性186例。本研究经昆明

市第三人民医院伦理委员会审核通过, 研究前向患者及家属讲述本研究的目的和实施方案, 征得同意后并签署知情同意书, 临床试验严格遵循赫尔辛基宣言和中国有关临床试验研究规范、法规进行。

1.2 仪器与试剂

HIV检测试剂盒(干式荧光发光法)、HIV诊断试剂盒(ELISA)均购自上海荣盛生物药业有限公司。人类免疫缺陷病毒(HIV 1+2型)抗体检测试剂盒(免疫印迹法)购自新加坡MP生物医学亚太私人有限公司。AFS-1000干式荧光免疫分析仪、AFS-1200干式荧光免疫分析仪均购自广州蓝勃生物科技有限公司, ELX808酶标仪、ELX50洗板机均购自美国BioTek公司。

1.3 方法

1.3.1 HIV抗体补充试验 采用人类免疫缺陷病毒(HIV1+2型)抗体检测试剂盒(免疫印迹法)检测HIV, 严格按试剂盒说明书操作, 根据试剂说明书提供的标准判定阴阳性。

作者简介: 黄 山, 男, 1984年生, 硕士, 主管技师, 主要从事传染病检测技术相关研究工作;

孙溪若, 女, 1987年生, 学士, 助理研究员, 主要从事传染病检测技术研发工作。

黄山与孙溪若对本研究具有同等贡献, 并列第一作者。

通信作者: 李晓非, E-mail: 1971069866@qq.com。

1.3.2 HIV筛查实验 (1) 干式荧光发光法：严格按试剂盒说明书操作。吸取100 μL血清，滴加到试剂卡的加样孔中，反应15 min后立即上机检测，S/CO值≥1为阳性，S/CO值<1为阴性。

(2) ELISA：严格按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析。呈非正态分布的计量资料以中位数(M)[四分位数($P_{25} \sim P_{75}$)]表示，组间比较采用Mann-Whitney U检验。计数资料以率或例表示，组间比较采用 χ^2 检验。采用Kappa值评估2种方法之间的一致性。采用Spearman相关分析评估2种方法的相关性。以HIV确证试验(免疫印迹法)为金标准，分别计算2种方法的敏感性、特异性、准确性、阳性预测值和阴性预测值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 干式荧光发光法与ELISA S/CO值的比较

ELISA的S/CO值为0.233 (0.156 ~ 17.453)，显著高于干式荧光发光法[0.573 (0.132 ~ 2.432)] ($Z=5.608, P < 0.001$)。见图1。

趋势分析结果显示，干式荧光发光法的S/CO值随ELISA S/CO值的升高而升高，呈正相关($r=0.715, P < 0.001$)。在ELISA S/CO值=31.639和干式荧光发光法S/CO值=2.432时，2种方法的趋势线交叉，自该交叉点起，随着检测结果数的增多，ELISA S/CO值的升高趋势更明显。见图2。

2.2 干式荧光发光法与ELISA的检测性能分析

以HIV确证试验(免疫印迹法)为金标准，在351例样本中，干式荧光发光法阳性165

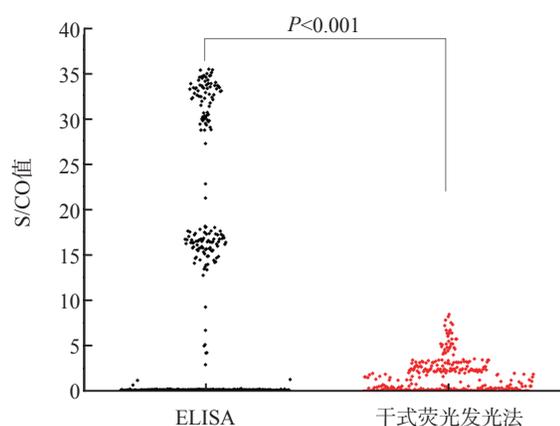
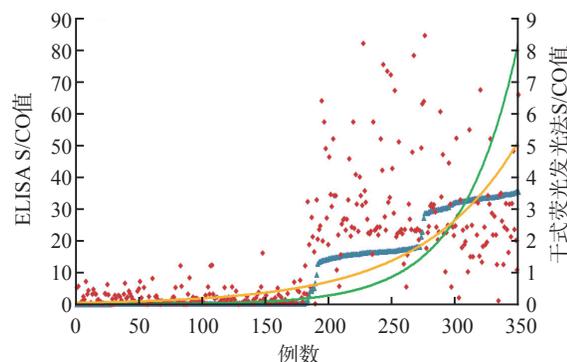


图1 干式荧光发光法与ELISA的S/CO值比较



注：▲ ELISA；◆ 干式荧光发光法；— ELISA趋势线；— 干式荧光发光法趋势线。

图2 干式荧光发光法与ELISA的S/CO值趋势比较

例、阴性186例，ELISA阳性168例、阴性183例。2种方法的敏感性、特异性、准确性、阳性预测值和阴性预测值差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

干式荧光发光法与ELISA的阳性符合率为95.83% (161/168)，阴性符合率为97.27% (178/183)，总符合率为96.58% (339/351)，一致性好($Kappa=0.931$)。

表1 干式荧光发光法与ELISA的检测性能分析

方法	例数	敏感性/%	特异性/%	准确性/%	阳性预测值/%	阴性预测值/%
ELISA	351	98.79	97.31	98.04	97.02	98.91
干式荧光发光法	351	97.58	97.85	97.77	97.58	97.85

3 讨论

在HIV筛查试验中，ELISA对仪器、设备要求不高，且具有较高的敏感性和特异性，因此应用最为广泛^[4]。但ELISA从加样到结果判读需要2个多小时，从加样一直到最后的终止反应，所有检测步骤基本为手工操作，极易出错或被

污染。当操作出错或受污染时，多数情况下需重新检测，不仅浪费了人力、物力，提高了检测成本^[5]，还会耽误患者的就诊、确诊时间^[6]。干式荧光发光法仅需一台小型荧光免疫分析仪，对设备的要求比ELISA更低，一份样本的检测时长只需15 min，整个检测过程不涉及大量

的手工操作,滴加样本后只用等待上机判读结果,出错或被污染的概率很低。该技术采用双抗原夹心法原理设计^[7],在硝酸纤维素膜检测线(T线)位置包被HIV重组抗原1,检测时样本中的待测物先与固化在玻璃纤维上的荧光微球标记的HIV重组抗原2结合,并继续向硝酸纤维素膜层析,通过硝酸纤维素膜T线时,被包被在硝酸纤维素膜上的HIV重组抗原1捕获。在荧光免疫分析仪上检测时,阳性样本的T线产生明显信号,荧光数值的高低与样本中的待测物浓度成正比。在硝酸纤维素膜质控线(C线)包被羊抗兔多克隆抗体,在玻璃纤维膜上固化有荧光微球标记的兔IgG,无论样本中是否含有待测物,C线羊抗兔多克隆抗体始终可以捕获兔IgG荧光标记物,因此C线始终有荧光信号产生。

本研究结果显示,干式荧光发光法检测HIV的敏感性和特异性均>90%,准确性高。与ELISA比较,虽然2种方法的S/CO值存在显著差异,但变化趋势基本一致,阳性符合率、阴性符合率和总符合率均>90%,一致性好($Kappa=0.931$)。由此可见,干式荧光发光法与ELISA具有较高的一致性。

综上所述,干式荧光发光法各项检测性能与ELISA相当,且具备检测快速、操作简便等优势,在检验技术人员紧缺、场地及设备受限的部分欠发达地区和基层医院可采用该技术开展HIV抗体筛查;该技术也为即时检验^[8]及HIV快速检测替代策略^[9]提供了一种适宜的选择,具有

很好的应用前景。

参考文献

- [1] 中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组, 中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南(2018版)[J]. 中华传染病杂志, 2018, 36(12): 705-724.
- [2] 庞贤武, 何芹, 唐凯玲, 等. 高危人群HIV急性期/早期感染检测策略应用研究[J]. 现代预防医学, 2020, 47(3): 518-521.
- [3] TIWARI A K, UPADHYAY A P, ARORA D, et al. Head-to-head comparison of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and enhanced chemiluminescence immunoassay (ECLIA) for the detection of transfusion transmitted disease (TTD) markers; HIV, HCV and HBV in blood donors, in India[J]. J Virol Methods, 2020, 285: 113962.
- [4] IHA K, INADA M, KAWADA N, et al. Ultrasensitive ELISA developed for diagnosis[J]. Diagnostics (Basel), 2019, 9(3): 78.
- [5] 刘珊, 朱晓霞, 缪夏晔. 纸基ELISA的应用及其研究进展[J]. 现代免疫学, 2019, 39(5): 433-436.
- [6] 刘亚军, 周君. 血站实验室HIV检测性能验证的研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(4): 1287-1290.
- [7] SARLI M, THOMPSON C S, NOVOA M B, et al. Development and evaluation of a double-antigen sandwich ELISA to identify *Anaplasma marginale*-infected and *A. centrale*-vaccinated cattle[J]. J Vet Diagn Invest, 2020, 32(1): 70-76.
- [8] CHEN H, LIU K, LI Z, et al. Point of care testing for infectious diseases[J]. Clin Chim Acta, 2019, 493: 138-147.
- [9] 董莉娟, 马艳玲, 陈会超, 等. 云南省艾滋病快速检测替代策略推广运用情况分析[J]. 中国艾滋病性病, 2020, 26(10): 1106-1109.

(收稿日期: 2021-01-21; 修回日期: 2021-07-19)

(本文编辑: 龚晓霖)



健康
给生命带来光和热