

人类免疫缺陷病毒抗体检测“灰区”设置的探讨*

冯晓丹,叶莉莉,高玲娟,顾平清(江苏省南京市妇幼保健院检验科 210004)

【摘要】 目的 通过酶联免疫吸附试验(ELISA)检测人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体,旨在设置科学、合理的 HIV 抗体检测的“灰区”范围,减少 HIV 抗体阳性的漏检率。**方法** 采用 ELISA 对吸光度值/临界值(S/CO)介于大于 0.8~<1.2 的 30 例临界值患者血清进行 HIV 抗体检测,以此 S/CO 值,设置“灰区”范围;对于 S/CO 介于灰区的标本进行免疫印迹确证。**结果** 设置灰区参考范围为 0.796~1.204;共有 46 例处于“灰区”的血清标本,经免疫印迹确证为阳性 3 例,不确定 1 例。**结论** ELISA 检测 HIV 抗体应设置合理的“灰区”范围,对灰区的标本进行确证,对减少 HIV 抗体阳性漏检具有重要的临床意义。

【关键词】 HIV 抗体; 灰区; 酶联免疫吸附试验
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.22.015 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)22-3332-02

Study on gray area setting in HIV antibody detection* FENG Xiao-dan, YE Li-li, GAO Ling-juan, GU Ping-qing
(Department of Clinical Laboratory, Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital, Nanjing, Jiangsu 210004, China)

【Abstract】 Objective To set the scientific and rational gray area range of HIV antibody detection by ELISA for reducing the missed detection rate of HIV antibody detection. **Methods** Thirty serum specimens with the critical value range of 0.8<S/CO<1.2 were performed the HIV antibody detection, the gray area range was set with this S/CO value; for the samples with S/CO between the gray area, the Western blot analysis was conducted for verification. **Results** The reference range of gray area was set at 0.796~1.204. 46 serum samples in gray area were verified via Western blot analysis, in which 3 specimens were positive and 1 specimen was indeterminacy. **Conclusion** The rational gray area range should be set for ELISA assay in detecting HIV antibody, conducting the verification of the gray area samples has an important clinical significance for reducing the missed detection of HIV antibody.

【Key words】 HIV antibody; gray area; enzyme-linked immunosorbent assay

获得性免疫缺陷综合征(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)引发的一种免疫缺陷性疾病^[1]。到 2010 年,我国 HIV 感染者已达 1 000 万,严重威胁着人类健康^[2]。为了有效控制艾滋病的传播,WHO 和我国卫生部将酶联免疫吸附试验(ELISA)首推为 HIV 抗体筛查方法^[3-4]。在 ELISA 检测 HIV 抗体过程中,对 Cut-off 值的设定尤为重要,而接近 Cut-off 值的结果往往难以判断,研究者将其定义为“灰区”^[5]。本研究旨在根据本实验室实际情况,科学、合理地设置 HIV 抗体检测的“灰区”范围,最大限度地检出可疑标本,防止 HIV 抗体弱阳性标本的漏检。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 1 月至 2014 年 12 月南京市妇幼保健院门诊患者 28 760 份血液标本,无溶血、脂血、黄疸等,收集后-20℃保存。

1.2 仪器与试剂 HAMILTON 全自动酶免分析仪(瑞士 Hamilton Bonaduz AG)。HIV(1+2 型)ELISA 试剂盒由北京万泰药业股份有限公司提供(国药准字 S20000024),批号分别为 I201102038034、I201101028021、I201105088083; HIV(1+2 型)ELISA 试剂盒由英科新创(厦门)科技公司提供(国药准字 S20000039),批号分别为 2011086615、2011126622、2011116618、2011076613。

1.3 方法 ELISA 严格按照试剂盒说明书流程以及初筛试验流程进行操作。根据说明书判定北京万泰 HIV 诊断试剂的 Cut-off 值为 0.124,英科新创 HIV 诊断试剂的 Cut-off 值为

0.105。将原始吸光度值/临界值(S/CO),根据回归方程计算 S/CO 的平均值为 1 时(临界值血清)的 CV 值。灰区的上限和下限计算公式分别为:灰区上限(S/CO 值)=1+2CV,灰区下限(S/CO 值)=1-2CV^[6]。

2 结果

2.1 HIV 抗体试验“灰区”的参考范围 将处于 0.8<S/CO<1.2 的 30 例临界值患者血清进行 HIV 抗体检测,如表 1 所示,将 S/CO 进行统计学分析,取其 CV=0.102。根据公式计算:灰区上限=1+2CV=1+2×0.102=1.204,灰区下限=1-2CV=1-2×0.102=0.796,即万泰 HIV 抗体检测试剂盒灰区参考范围为 0.796~1.204。

表 1 HIV 体抗体临界值血清所测吸光度、S/CO 值

标本号	吸光度值	S/CO	标本号	吸光度值	S/CO
1	0.139	1.12	16	0.137	1.10
2	0.104	0.84	17	0.134	1.08
3	0.148	1.19	18	0.124	1.00
4	0.141	1.14	19	0.113	0.91
5	0.131	1.06	20	0.129	1.04
6	0.126	1.02	21	0.114	0.92
7	0.102	0.82	22	0.144	1.16
8	0.120	0.97	23	0.104	0.84

* 基金项目:江苏省南京市科技发展规划资助项目(201308041)。
作者简介:冯晓丹,女,主管检验医师,硕士,主要从事医学检验相关工作。

续表 1 HIV 体抗体临界值血清所测吸光度、S/CO 值

标本号	吸光度值	S/CO	标本号	吸光度值	S/CO
9	0.107	0.86	24	0.124	1.00
10	0.136	1.10	25	0.135	1.09
11	0.127	1.02	26	0.122	0.98
12	0.113	0.91	27	0.111	0.89
13	0.109	0.88	28	0.134	1.08
14	0.122	0.98	29	0.129	1.04
15	0.131	1.06	30	0.115	0.93

注： $\bar{x}$ =1.001；s=0.103；CV=0.102。

2.2 灰区标本确证结果 28 760 份血清标本经免疫印迹确证为阳性的共计 8 例(表 2 仅示例阳性结果 3 例,其余 5 例阳性结果未处于灰区),经 ELISA 试剂初筛 S/CO 值在 0.796~1.204 的血清共计 46 例(表 2 仅示例 23 例结果),将其确定为灰区标本。经免疫印迹确证为阳性的 3 例,占比例为 6.52%(3/46);不确定 1 例,占比例为 2.17%(1/46)。减少 HIV 抗体漏检率为 25%(2/8),假阳性比例为 86.9%(20/23),见表 2。

表 2 “灰区”标本经确证的阳性结果

标本号	吸光度值 (万泰)	S/CO (万泰)	吸光度值 (新创)	S/CO (新创)	初筛 结果	免疫 印迹
1	0.142	1.15	0.110	1.05	阳性	真阳性
2	0.141	1.14	0.120	1.14	阳性	不确定
3	0.102	0.82	0.090	0.86	阴性	真阳性
4	0.117	0.94	0.101	0.96	阴性	真阳性
5	0.140	1.13	0.108	1.03	阳性	真阴性
6	0.130	1.05	0.116	1.11	阳性	真阴性
7	0.133	1.07	0.109	1.04	阳性	真阴性
8	0.141	1.14	0.118	1.12	阳性	真阴性
9	0.136	1.10	0.105	1.00	阳性	真阴性
10	0.138	1.11	0.119	1.13	阳性	真阴性
11	0.131	1.06	0.122	1.16	阳性	真阴性
12	0.126	1.02	0.119	1.13	阳性	真阴性
13	0.144	1.16	0.108	1.03	阳性	真阴性
14	0.148	1.19	0.110	1.05	阳性	真阴性
15	0.149	1.20	0.118	1.12	阳性	真阴性
16	0.143	1.15	0.120	1.14	阳性	真阴性
17	0.146	1.18	0.112	1.07	阳性	真阴性
18	0.140	1.13	0.110	1.05	阳性	真阴性
19	0.139	1.12	0.120	1.14	阳性	真阴性
20	0.148	1.19	0.110	1.05	阳性	真阴性
21	0.131	1.06	0.112	1.07	阳性	真阴性
22	0.134	1.08	0.119	1.13	阳性	真阴性
23	0.129	1.04	0.125	1.19	阳性	真阴性

3 讨 论

临床实验室针对 HIV 抗体测定时,ELISA 均需要设置一段“灰区”范围^[7],然而目前,国内定性试剂生产厂家并未对其“灰区”范围进行科学、合理地设定,而且各实验室对于“灰区”设定的观点众说不一。在实际的 HIV 抗体检测时,设置合适的“灰区”范围能最大限度地减少阳性漏检的问题,“灰区”范围

的确定使得测定结果假阳性与假阴性发生率降低^[8]。在本研究中,作者探讨了“灰区”范围的合适范围,将处于 0.8<S/CO<1.2 的 30 例临界值患者血清进行 HIV 抗体检测,根据公式分别计算了灰区上限和灰区下限,本研究中,万泰 HIV 抗体检测试剂盒灰区参考范围为 0.796~1.204。

根据本试验室设置的“灰区”范围,进一步将 S/CO 值处于“灰区”的血清共计 46 例进行免疫印迹确证,结果显示阳性 3 例,占比例为 6.52%(3/46),不确定 1 例,占比例为 2.17%(1/46)。原因分析:(1)国内 HIV 抗体筛查试剂盒,多采用 ELISA 双抗体(抗原)夹心法,但 ELISA 诊断试剂的局限性使得不能及时捕捉 HIV 抗体检测的窗口期^[9],针对这些标本的检测,其结果可能为阴性或处在灰区,但具有传染性,如表 2 中的标本 2。(2)部分患者标本,经多次检测,HIV 抗体的 S/CO 值始终处在“灰区”范围,此为真抗体弱阳性,其原因可能为基因片段的突变导致试剂盒检测吸光度值降低^[10],如表 2 中的标本 1、3、4。且本研究揭示,针对灰区的标本进行进一步确证,HIV 抗体漏检率为 25%(2/8),假阳性比例为 86.9%(20/23)。基于此,合理、科学地设置灰区范围,能使 ELISA 最大限度地检出阳性标本,防止弱阳性标本的漏检,可有效保证检测结果的准确性。

参考文献

[1] Patel SM,Johnson S,Belkllap SM,et al. Serious adverse cutaneous and hepatic toxicities associated with nevirapine use by non-HIV-infected individuals[J]. J Acquir Immune Defic Syndr,2004,35(2):120-125.

[2] Chinese Medical Association,Chinese Center for Disease Control and Prevention. Guidelines for diagnosis and treatment of HIV/AIDS in China(2005)[J]. Chin Med J (Engl),2006,119(19):1589-1608.

[3] 杨春晖,张容,郑鹏,等. 影响抗 HIV 弱阳性质控血清稳定性的几种因素探讨[J]. 中国输血杂志,2008,21(6):441-443.

[4] 李金明. 临床酶免疫测定技术[M]. 北京:人民军医出版社,2005:95.

[5] 周艳萍,倪诗强,黄勇进. 酶联免疫吸附试验“灰区”结果探讨[J]. 检验医学与临床,2008,5(14):876-877.

[6] 伍伟健,郭如华. ELISA 试验灰区设置方法的探讨[J]. 中国生物制品学杂志,1998,21(10):911-912.

[7] Parkin JM,Murphy M,Anderson J,et al. Tolerability and side-effects of post-exposure prophylaxis for HIV infection[J]. Lancet,2000,355(9205):722-723.

[8] 庞栋. 血站实验室质控物的制备和应用[J]. 医学文选,2001,12(3):351-352.

[9] Parienti JJ,Massari V,Descamps D,et al. Predictors of virologic failure and resistance in HIV-infected patients treated with nevirapine-or efavirenz-based antiretroviral therapy[J]. Clin Infect Dis,2004,38(9):1311-1316.

[10] Tourret J,Deray G,Isnard-Bagnis C. Tenofovir effect on the kidneys of HIV: infected patients: a double-edged sword? [J]. J Am Soc Nephrol,2013,24(10):1519-1527.