

流式微球术、胶体金渗滤法 及 ELISA 法检测 HIV 抗体的评价与分析*

乔 军¹, 刘俊娜¹, 王春娟¹, 张 洁²

(1. 西安市长安医院, 西安 710100; 2. 陕西省人民医院, 西安 710068)

摘要:目的 探讨采用流式微球术(FMA), 胶体金斑点免疫渗滤法(DIGFA)与 ELISA 法检测 HIV 抗体三种试验之关系, 为提高艾滋病检测技术提供依据。**方法** 分别采用 FMA, DIGFA 与 ELISA 法检测 HIV 抗体阳性血清标本 98 例和 86 例 HIV 抗体阴性标本。**结果** FMA 与 ELISA 的 K 一致性检验, k 值=0.911 2, $P<0.01$, 提示两种方法的检测结果具有极强的一致性。FMA 与 DIGFA 的 K 一致性检验, k 值=0.903 2, $P<0.01$, 提示两种方法的检测结果具有极强的一致性。故三种方法的检测结果具有极强的一致性。FMA 法检测阳性率为 100%, 而 DIGFA 检测阳性率是 94%。ELISA 法检测阳性率为 95%。**结论** 三种试验方法检测的特异度和灵敏度没有显著性差异。

关键词: HIV 抗体; 流式微球术; 胶体金渗滤法; 酶联免疫吸附试验

中图分类号: R446.61 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)06-104-02

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.06.031

Evaluation and Analysis of HIV Antibodies Detected with Flow Microbeads Assay, Dot Immune-gold Filtration Assay and ELISA

QIAO Jun¹, LIU Jun-na¹, WANG Chun-juan¹, ZHANG Jie²

(1. Chang'an District Hospital of Xi'an, Xi'an 710100, China;

2. Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: **Objective** To explore the relation among adopting FMA, the colloidal gold osmosis of immune system spots and detecting all HIV antibodies in order to improve HIV testing technology. **Methods** Adopted three different methods, FMA, the osmosis of immune system spots of colloidal gold and detecting all HIV antibodies to test 98 positive serum samples and 86 negative serum samples. **Results** The detection of K consistency of FMA and ELISA was: $k=0.911\ 2$, $P<0.01$. Using the two methods, found that the two kinds of test results were extremely consistent. The detection result of K consistency of FMA and DIGFA was: $k=0.903\ 2$, $P<0.01$ which shows that test results were extremely consistent. So three methods could lead to the extreme consistency. By using FMA could assure that the positive rate of detection was 100%. By using the colloidal gold osmosis, found that the positive rate of detection was 94%. By using ELISA the positive rate was 95%. **Conclusion** There were no significant differences in detecting the specificity and sensitivity.

Keywords: HIV antibodies; flow microbeads assay; dot immuno filtration assay; ELISA

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)是引起艾滋病的病原体。目前各大医疗单位进行艾滋病筛查仍然采用酶联免疫吸附试验(ELISA)。长期以来国内外都在不断探讨更灵敏或更快速的 HIV 抗体血清学检测方法。近年来发展起来的流式微球技术(flow microbeads assay, FMA)和免疫胶体金检测技术, 显示出很好的灵敏度和快速检测的优点。本试验使用 FMA, 胶体金斑点免疫渗滤法(dot immune-gold filtration assay, DIGFA)和酶联免疫吸附试验(ELISA)法定性检测 HIV 抗体, 探讨其在 HIV 抗体血清学诊断中的价值。

1 材料和方法

1.1 标本来源 西安市几家三甲医院近年来的 HIV 抗体阳性血清 98 例, 健康查体 HIV 抗体阴性血清 86 例。

1.2 仪器及试剂 HIV 抗体 ELISA 试剂盒(上海科华生物工程股份有限公司), HIV 抗体 FMA 试剂盒及 DIGFA 试剂盒(西安微通生物技术有限公司)。流式细胞仪(FACSCalibur, BD 公司)。

1.3 方法

1.3.1 FMA 方法检测血清 HIV 抗体^[1]: 取 1:50 稀释的血清 100 μ l/管, 与微球(1×10^6)在 2~8℃培养 25 min; 清洗离心后加 FITC 标记的山羊抗人抗体 0.5 μ g/管, 2~8℃避光培养 25 min; 清洗离心后上流式细胞仪分析。(下转 108 页)

* 作者简介: 乔 军(1964—), 女, 副主任检验技师, 从事临床检验及医院管理工作。

通讯作者: 张 洁, 女, 研究员, E-mail: zhangjie810@aliyun.com.cn。

(上接 104 页)试验包括阳性和阴性质控品对照管。结果判定:临界值(cut-off)计算:临界值=阴性对照荧光强度值 $\times 2.1$ 。受检样本荧光强度值:临界值(S/co) ≥ 1 为抗体阳性,(S/co) < 1 为抗体阴性。

1.3.2 DIGFA 和 ELISA 方法检测血清 HIV 抗体;按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学分析

本实验资料均为定性资料,故采用四格表分析和 K 一致性检验^[2], $k < 0$,一致性强度极差;0.0~0.2,微弱;0.21~0.40 弱;;0.41~0.60,中度;0.61~0.8,高度;0.81~1.00,极强。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FMA 荧光强度

HIV 阳性血清抗体的荧光强度比健康查体血清明显增强。

2.2 DIGFA 斑点图

健康组对照血清呈阴性染色,HIV 阳性血清呈阳性染色。

2.3 FMA,DIGFA 和 ELISA 的灵敏度和特异度

对 98 例阳性血清和 86 例阴性血清的检测显示,FMA,DIGFA 和 ELISA 的灵敏度分别为 100% (95%CI:96.54%~100%),94% (95%CI:88.15%~99.78%) 和 95% (95%CI:90.56%~100%)。三种方法的 95% 可信区间重叠,提示无显著性差异。三种方法的特异度均为 100% (95%CI:97.25%~100%),三种方法的 95% 可信区间重叠,提示三种方法的特异度无显著性差异。

FMA 与 ELISA 的 K 一致性检验, k 值 = 0.911 2, $P < 0.01$,提示两种方法的检测结果具有极强的一致性。FMA 与 DIGFA 的 K 一致性检验, k 值 = 0.903 2, $P < 0.01$,提示两种方法的检测结果具有极强的一致性。故三种方法的检测结果具有极强的一致性。

3 讨论

本研究采用的三种方法定性检测 98 例 HIV 阳性血清标本和 86 例阴性血清标本,三种方法均有很好特异度(100%)。ELISA 是目前 HIV 最常用的检测方法,灵敏度较高(95%),但操作较为麻烦并费时,有时会出现假阳性^[3~4];FMA 灵敏度最高(100%),与传统的 ELISA 检测相比,该技术的特点有:①能够同时对单一样本进行多种目的蛋白检测;②较传统检测节省样本量;③与 ELISA 相比灵敏度高(95%)、重复性好;④检测的线性范

围宽(0~5 000 pg/ml);⑤所有分析只需一组标准曲线;⑥避免 ELISA 所致假阳性或假阴性;⑦强大的 CBA 分析软件;⑧节省操作时间、检测时间和分析时间。DIGFA 的灵敏度略低(94%),但该方法操作简单,节省时间,不需仪器设备,实验成本低,适用于设备条件有限或大批量健康查体。

尽管三种方法的灵敏度有轻度差异(100%, 95%和 94%),但无统计学意义(三种方法的 95% 可信区间重叠,K 一致性检验具有极强的一致性)。提示上述三种方法均有一定的临床应用价值。

参考文献:

- [1] 张洁,林远,金伯泉.流式微球载体技术在检测肾综合征出血热患者血清特异性抗体和细胞因子中的应用[J].细胞与分子免疫学杂志,2009,25(3):245-247.
- [2] Zhang J, Lin Y, Jin BQ. Application of flow microbeads assay in detection of specific antibody and cytokines in serum from patients with hemorrhagic fever with renal shndrome[J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2009, 25(3): 245-247.
- [2] 夏邦世,吴金华. Kappa 一致性检验在检验医学研究中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1): 83-84.
- [3] Xia BS, Wu JH. Kappa consistency test in the test research on the application of the medicine[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2006, 29(1): 83-84.
- [3] 陈新,朱威,张海萍,等. HIV 感染实验室诊断技术进展[J]. 实用皮肤病学杂志, 2011, 4(3): 160-162.
- [4] Chen X, Zhu W, Zhang HP, et al. Progresses on the detection's technology of human immunodeficiency virus infection[J]. Journal of Practical Dermatology, 2011, 4(3): 160-162.
- [4] 汤琰,孙乔,李旭,等. HIV 抗体筛查实验的检测策略评价[J]. 中国艾滋病性病, 2013, 19(1): 10-12.
- Tang Y, Sun Q, Li X et al. Evaluation of the detection strategy for HIV antibody screening[J]. Chin J AIDS STD, 2013, 19(1): 10-12.