

## 两种快速检测试剂在人类免疫缺陷病毒 / 获得性免疫缺陷综合征筛查中的应用

毛子晴 许文炯 乔梦凯 张洪英

作者单位: 210003 江苏南京, 南京市疾病预防控制中心

通信作者: 张洪英, Email: xiao99now@aliyun.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.01.015

**【摘要】** **目的** 比较两种快速检测(快检)试剂在人类免疫缺陷病毒/获得性免疫缺陷综合征(HIV/AIDS)筛查中的应用及漏检情况。**方法** 收集 2018—2019 年南京市筛查实验室使用快检法、酶联免疫吸附试验(ELISA)或化学发光试剂检测的筛查可疑样本,使用快检三代胶体硒试剂、三代胶体金试剂以及四代酶标试剂进行复核检测,对复核检测结果呈现至少一次有反应的样本进行补充试验。在补充试验前进行确证试验,对确证结果为“不确定”的样本进行荧光定量聚合酶链反应(PCR),以补充试验(确证试验和荧光定量 PCR)结果作为“金标准”,比较两种快检试剂的检测结果,包括检出率、敏感度、漏检率。**结果** 快检三代胶体金试剂检测 HIV/AIDS 的阳性率为 60.49%,快检三代胶体硒试剂的阳性率为 62.93%,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。快检三代胶体硒试剂检测 HIV/AIDS 的敏感度明显高于快检三代胶体金试剂(99.8% 比 98.6%,  $P<0.05$ )。两种快检试剂均存在漏检情况,使用三代胶体硒快检试剂检测的漏检率明显低于使用三代胶体金快检试剂,分别漏检 3 份和 19 份,差异有统计学意义[0.2%(3/1 374)比 1.4%(19/1 374),  $P<0.05$ ]。**结论** 快检试剂作为一种操作简便的 HIV/AIDS 抗体(抗原)检测方法,实用性较高,但不同品牌试剂对 HIV/AIDS 筛查的敏感度存在差异,敏感度低的试剂有漏检现象,应引起临床实验室重视。

**【关键词】** 快速检测; 人类免疫缺陷病毒; 获得性免疫缺陷综合征; 筛查; 比较研究

**基金项目:** 江苏省南京市医学科技发展资金资助重点项目(ZKX19048)

### Comparative study of two rapid detection reagents in human immunodeficient virus/acquired immune deficiency syndrome screening

Mao Ziqing, Xu Wenjiong, Qiao Mengkai, Zhang Hongying. Nanjing Municipal Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210003, Jiangsu, China

Corresponding author: Zhang Hongying, Email: xiao99now@aliyun.com

**【Abstract】** **Objective** To compare the application and missed detection of two rapid detection reagents in screening for human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome (HIV/AIDS). **Methods** The suspicious screening samples from the screening laboratory in Nanjing from 2018 to 2019 using rapid detection, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), or chemiluminescence reagents were collected. Then, using the rapid detection third-generation colloidal selenium reagent, third-generation colloidal gold reagent and fourth-generation enzyme labeled reagent for re-testing. Supplementary tests were conducted on samples with at least one reaction in the re-testing results. In the supplementary experiment, a confirmation test was conducted first, and samples with uncertain confirmation results were subjected to fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR). The results of the supplementary test (confirmation test and fluorescence quantitative PCR) were used as "gold standard" to compare the detection results of the two rapid detection reagents, including detectable rate, sensitivity and missed detectable rate. **Results** The positive rate of rapid detection of HIV/AIDS using third-generation colloidal gold reagent was 60.49%, while the positive rate of rapid detection of third-generation colloidal selenium reagent was 62.93%, with no statistically significant difference ( $P > 0.05$ ). The sensitivity of the third-generation colloidal selenium reagent for detecting HIV/AIDS was significantly higher than that of the third-generation colloidal gold reagent (99.8% vs. 98.6%,  $P < 0.05$ ). Both types of rapid detection reagents had missed detections. The missed detectable rate of third-generation colloidal selenium rapid detection reagent was significantly lower than that of third-generation colloidal gold rapid detection reagent, with 3 and 19 missed detections, respectively, with statistically significant difference [0.2% (3/1 374) vs. 1.4% (19/1 374),  $P < 0.05$ ]. **Conclusions** Quick detection reagents, as a simple and practical method for detecting HIV/AIDS antibodies (antigens), have high practicality.

However, there are differences in the sensitivity of different brands of reagents to HIV/AIDS screening, and low sensitivity reagents may have missed detections, which should be taken seriously by laboratories.

**【Key words】** Quick inspection; Human immunodeficiency virus; Acquired immunodeficiency syndrome; Screening; Comparative study

**Fund Program:** Key Project Supported by Medical Science and Technology Development Fund in Nanjing City, Jiangsu Province (ZKX19048)

获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)也被称为艾滋病,是以人体 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞减少为特征的进行性免疫功能缺陷,疾病后期可继发各种机会性感染、恶性肿瘤以及中枢神经系统病变<sup>[1]</sup>。自 1991 年人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者在江苏省首次被发现以来,艾滋病已在省内流行数十年,目前艾滋病疫情整体呈上升趋势,至 2020 年底,全省累计报告 HIV 感染者和患者 36 289 例<sup>[2]</sup>。同时 HIV 感染合并其他传染病的情况较多见,危害人体健康,应及时发现和干预<sup>[3]</sup>。随着感染者的数量不断增加,艾滋病检测工作量逐渐加大,对检测的需求也不断增加。目前 HIV 抗体抗原检测依然是大部分实验室的主要筛查方法<sup>[4]</sup>。在 HIV 抗体抗原检测方法中,快速检测(快检)法由于操作简便快捷,对人员和仪器要求较低等原因,多适用于应急检测、自愿咨询检测(voluntary counseling and testing, VCT)以及检测点检测等<sup>[5]</sup>。部分医院的初筛实验室使用化学发光法作为主要筛查手段,其高敏感度导致确证符合率偏低<sup>[6]</sup>,在复检试验中也会选用快检法作为辅助方法。因此,快检试剂在南京市艾滋病初筛中扮演重要角色。部分地区甚至以快检法作为主要筛查手段<sup>[7]</sup>。本研究比较国产胶体金与进口胶体硒两种快检试剂,探讨快检替代常规策略进行 HIV 感染诊断的可行性<sup>[8]</sup>,现将结果报告如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 样本收集** 收集 2018—2019 年南京市初筛实验室送检的 2 250 份 HIV 抗体初筛阳性样本,筛查方法包括快检法、酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)以及化学发光法。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 HIV 筛查试验** 采用两种快检试剂和 ELISA 试剂分别对初筛实验室送检的样本进行复检。快检三代胶体金试剂为 HIV 1+2 抗体检测试剂盒(胶体金法;购自青岛汉唐生物科技有限公司);快检三代胶体硒试剂为 HIV 1+2 抗体检测试剂盒(胶体硒法;购自雅培诊断(日本)医疗有限公司);ELISA 检测

试剂为 HIV 抗原抗体诊断试剂盒第四代[酶联免疫法,购自伯乐生命医学产品(上海)有限公司]。

**1.2.2 HIV 确证试验** 将三次实验中任意一次“有反应”的样本进一步送确证实验室进行确证免疫印迹试验(Western blotting, WB)检测。WB 检测试剂为 HIV 1+2 型抗体检测试剂盒(免疫印迹法,购自 MP 生物医学亚太有限公司)。所有试剂均在有效期内,并严格按照说明书要求使用。

**1.2.3 荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)** 采用核酸快速提取试剂盒(磁珠法;购自江苏硕世生物科技股份有限公司)对 HIV 确证试验结果为“不确定”的样本进行提取,使用人类免疫缺陷病毒 1 型(human immunodeficiency virus-1, HIV-1)核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法;购自广州达安基因股份有限公司)进行测定。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS 20.0 统计学软件处理数据。计数资料以例(%)表示,采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两种快检试剂的检出率比较** 收集 2018—2019 年南京市初筛实验室送检的 2 250 份 HIV 抗体初筛感染待确定样本。使用快检三代胶体硒试剂和三代胶体金试剂进行检测,结果表明胶体硒试剂的检出率高于胶体金试剂,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 三代胶体硒与胶体金快检试剂对 HIV 的检出率比较

检测方法	样本数(份)	有反应(份)	无反应(份)	检出率(%)
胶体金快检试剂	2 250	1 361	889	60.49
胶体硒快检试剂	2 250	1 416	834	62.93
$\chi^2$ 值				2.845
$P$ 值				0.092

注: HIV 为人类免疫缺陷病毒

**2.2 两种快检试剂的检测结果比较** 共有 61 份样本采用两种快检试剂检测所得结果不一致(1 份有反应, 1 份无反应),其中 3 份样本采用三代胶体金快检试剂“有反应”,三代胶体硒快检试剂“无反应”;58 份样本采用三代胶体硒快检试剂“有反应”,三代胶体金快检试剂“无反应”。见表 2。

表 2 三代胶体硒与胶体金快检试剂检测 HIV 的结果

胶体金快检试剂	样本数 (份)	胶体硒快检试剂 (份)	
		有反应	无反应
有反应	1 361	1 358	3
无反应	889	58	831
合计	2 250	1 416	834

注: HIV 为人类免疫缺陷病毒

**2.3 确证试验结果比较** 对 61 份结果不一致样本, 经确证试验检测出阳性 9 份, 阴性 28 份。9 份阳性标本均为三代胶体硒快检试剂检出, 仅三代胶体金快检试剂检出的 3 个样本为 WB 阴性及不确定(经荧光定量 PCR 检测为阴性), 为假阳性。见表 3。

表 3 三代胶体硒与胶体金快检试剂检测 HIV 结果不一致样本的确证试验结果

确证试验	样本数 (份)	胶体硒 + 胶体金 - (份)	胶体硒 - 胶体金 + (份)
阳性	9	9	0
不确定	24	23	1
阴性	28	26	2
合计	61	58	3

注: HIV 为人类免疫缺陷病毒; + 为有反应, - 为无反应

**2.4 两种快检试剂检测性能评价** 本研究 2 250 份血液样本中, 73 份样本的两种快检结果均为无反应, 但 ELISA 结果为有反应, 其中 1 份确证试验结果为“不确定”的样本后续再次送检时为确证试验阳性, 提示快检试剂存在漏检。对 1 492 份采用两种快检试剂和 ELISA 检测出现任一有反应的样本进行确证试验, 获得 1 361 份确证试验阳性样本, 79 份确证阴性样本, 52 份不确定样本。其中, 1 361 份确证阳性样本中, 三代胶体硒无漏检, 胶体金试剂漏检 9 份。对所有确证不确定样本进行荧光定量 PCR 补充检测, 结果显示 13 份为 PCR 阳性, 这些样本中三代胶体硒与三代胶体金快检试剂结果分别漏检 3 份和 10 份。合并 9 份胶体金试剂漏检的确证阳性样本, 胶体硒和胶体金的总漏检数为 3 份和 19 份。见表 4。以确证试验和荧光定量 PCR 结果为判断标准, 两种试剂的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ ), 三代胶体硒试剂的敏感度明显优于三代胶体金试剂。见表 5。

表 4 两种快检试剂与补充试验检测 HIV 结果比较

补充试验结果	样本数 (份)	胶体金试剂 (份)		胶体硒试剂 (份)	
		有反应	无反应	有反应	无反应
阳性	1 374	1 355	19	1 371	3
阴性	876	6	870	45	831
合计	2 250	1 361	889	1 416	834

注: HIV 为人类免疫缺陷病毒

表 5 两种快检试剂检测 HIV 的性能评价

快检试剂	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
三代胶体金试剂	98.6	99.3	99.6	97.9
三代胶体硒试剂	99.8	94.9	96.8	99.6
$\chi^2$ 值	11.730	30.718	28.839	10.786
P 值	0.001	0.000	0.000	0.001

注: HIV 为人类免疫缺陷病毒

### 3 讨论

在南京市艾滋病管理网络中, 160 个快检点和 86 家筛查实验室组成了最前沿的实验室筛查网络。快检点因不具备二级实验室条件, 使用两种快检试剂检测; 筛查实验室均具备二级实验室条件, 使用快检、ELISA 和化学发光法的组合检测策略<sup>[1]</sup>。

快检试剂常用胶体硒、胶体金和乳胶法试剂, 已经历多代改进, 适用于多种样本来源, 并广泛应用于我国 HIV/AIDS 筛查或快检替代策略中<sup>[9-10]</sup>。实验室检测是 HIV 感染筛查的主要方法, 所以完美的筛查试剂应该具有敏感度高, 不易发生漏检的特性。虽然无漏检是理想状态, 但为了追求无漏检特性, 检验试剂一直在不断更新, 从一代、二代到三代试剂, 目前实验室主要使用的 HIV 筛查检测试剂已经更新到四代, 实验室常采用三代与四代试剂结合的方式进行检测<sup>[11-12]</sup>。第四代试剂相较于第三代试剂增加了抗原检测, 有助于更及时地发现感染者, 及时了解本地传染病流行情况, 对感染者及早进行持续性抗病毒治疗可以取得良好的治疗效果<sup>[13-14]</sup>。对初筛试剂敏感度的不断追求, 使临床对 HIV 感染的检验越来越精准<sup>[15]</sup>。本研究就是基于两种三代快检试剂, 通过比较两种快检试剂在 2 250 份初筛阳性样本中的表现, 来研究筛查试验中快检试剂选择的重要性, 为南京市筛查实验室网络管理提供依据。

本研究对比结果显示, 使用胶体金法检测结果呈现“有反应”的有 1 361 例, 呈现“无反应”的有 889 例, 检出率为 60.49%; 使用胶体硒法检测结果呈现“有反应”的有 1 416 例, 呈现“无反应”的有 834 例, 检出率为 62.93%。两种检测试剂结果比较差异无统计学意义, 与其他报道一致<sup>[16]</sup>。张丽云<sup>[17]</sup>研究表明, 两种酶标试剂对大量样本进行检测时, 阳性筛查率组间差异无统计学意义。蔡雅<sup>[18]</sup>研究表明, 快检试剂和酶标试剂之间检出率也差距不大, 韩思媛等<sup>[19]</sup>研究表明, 三种三代 / 四代快检试剂的阳性检出率比较差异无统计学意义, 上述结果显示, 这些试剂的检出率差异无统计学意义, 但漏检率是否

存在差异呢? 基于此, 本研究以补充实验为“金标准”, 进一步比较了两种试剂的临床表现。

2 250 份样本中, 采用两种快检试剂检测结果不一致的样本共 61 份; 两种快检试剂结果一致均为“无反应”, 但 ELISA 结果为“有反应”样本共 73 份。其中结果不一致的 61 份样本中有 9 份确证试验结果为阳性, 24 份确证结果“不确定”样本经荧光定量 PCR 补充试验检测, 有 7 份为阳性, 均为胶体硒法检测结果为“有反应”, 而胶体金法检测结果为“无反应”; 两种快检试剂结果均为“无反应”的 73 份样本中含有 24 份确证不确定样本, 经荧光定量 PCR 补充试验检测, 有 3 份为阳性; 两种快检结果均为“有反应”的样本中含有 4 份确证不确定样本, 经荧光定量 PCR 补充试验检测, 有 3 份为阳性。两种快检方法都有漏检情况, 三代胶体硒与三代胶体金快检试剂结果分别漏检 3 份和 19 份, 漏检率为 0.2% 和 1.4%。三代胶体硒试剂的敏感度优于三代胶体金试剂, 而三代胶体金试剂有更高的特异度。

综上所述, 对以快检法作为常用检测手段的艾滋病快检点, 建议使用至少两种不同原理的快检试剂辅助检测以提高检出率, 对在快检点筛查结果为阴性的样本, 区疾控中心依旧应对其进行酶标检测, 对有高危行为的人员, 也应提醒再次检测。同时, 对筛查实验室而言, 快检试剂只能用作辅助复检方式, 主要抗体筛查方法还应依赖于敏感度更高的化学发光法或 ELISA。若筛查实验室选择快检试剂作为辅助复检方法, 则也需考量其与主试剂的适配性。韩思媛等<sup>[19]</sup>研究表明, ELISA 试剂与不同快检试剂组合检测结果与随访结果具有差异, 万泰四代酶标法和万泰三代胶体金法组合检测是实验室与随访结果一致性最好的方案。即使采用其他检测方法, 选择适用的快检试剂也相当重要。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- 1 还锡萍. 江苏省艾滋病实验室网络建设 30 年发展报告 [J]. 江苏预防医学, 2018, 29 (5): 481-483. DOI: CNKI:SUN:JSYF.0.2018-05-002.
- 2 丁建平, 刘晓燕, 胡海洋, 等. 江苏省艾滋病防治工作 30 年发展报告 [J]. 江苏预防医学, 2022, 33 (1): 1-2, 7. DOI: 10.13668/j.issn.1006-9070.2022.01.001.
- 3 吕金娥, 王志瑶, 雷志辉, 等. HIV 合并 TP/HCV/HBV 感染者结果分析 [J]. 实用检验医师杂志, 2017, 9 (2): 93-95. DOI: 10.3969/

j.issn.1674-7151.2017.02.010.

- 4 冯霞, 娄金丽, 李宇, 等. HIV 抗原抗体筛查结合核酸定量补充实验检测策略的临床应用评价 [J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24 (1): 15-18. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2018.01.05.
- 5 陈小芳, 高艳, 朱晖. HIV 快速检测法在性病门诊艾滋筛查中应用探讨 [J]. 皮肤病与性病, 2018, 40 (6): 814-815. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1310.2018.06.018.
- 6 刘洁, 李崇, 曾照丽, 等. 2011 年—2015 年北京朝阳区 HIV 筛查阳性样本的确证符合率分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26 (18): 2692-2694. DOI: CNKI:SUN:ZWJZ.0.2016-18-036.
- 7 杨敏, 陈敏, 陈会超, 等. 快速检测替代策略进行 HIV 感染诊断的可行性探讨 [J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29 (17): 2084-2085, 2103. DOI: CNKI:SUN:ZWJZ.0.2019-17-010.
- 8 李双玉, 赫晓霞, 李慎坚, 等. HIV 抗体快速检测替代策略的初步探究 [J]. 中国艾滋病性病, 2020, 26 (8): 867-870. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2020.08.18.
- 9 赫晓霞, 马洁琼, 程焕义, 等. 干血斑用于 HIV 抗体筛查 (免疫层析法) 的评价 [J]. 中国艾滋病性病, 2019, 25 (2): 111-114, 139. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2019.02.01.
- 10 李光敏, 吕松琴, 徐丽萍, 等. 人类免疫缺陷病毒感染 143 例待确定样本快速检测替代策略试验结果分析 [J]. 实用医技杂志, 2022, 29 (3): 233-236. DOI: 10.19522/j.cnki.1671-5098.2022.03.002.
- 11 何志雄, 李木兰, 蒋显勇, 等. 郴州市某综合医院 2015-2018 年 HIV 抗体筛查结果分析 [J]. 湘南学院学报, 2019, 21 (3): 29-32. DOI: CNKI:SUN:CZYG.0.2019-03-010.
- 12 刘洁, 李崇, 曾照丽, 等. 2011 年—2015 年北京朝阳区 HIV 筛查阳性样本的确证符合率分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26 (18): 2692-2694. DOI: CNKI:SUN:ZWJZ.0.2016-18-036.
- 13 丁坚强, 陈婉君, 刘巨敏, 等. 2017-2018 年宁波市镇海区医疗机构性病患者艾滋病和梅毒筛查情况分析 [J]. 中国艾滋病性病, 2020, 26 (6): 615-617. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2020.06.12.
- 14 王渤. 2016-2018 年南通市通州区 HIV 筛查情况及抗病毒治疗效果 [J]. 江苏预防医学, 2019, 30 (6): 655-657. DOI: CNKI:SUN:JSYF.0.2019-06-020.
- 15 高丽, 王骥涛, 郭晓芳, 等. 2016-2018 年太原市 HIV 抗体筛查阳性者确证结果分析 [J]. 预防医学论坛, 2020, 26 (2): 132-134. DOI: CNKI:SUN:YXWX.0.2020-02-016.
- 16 孙胜平. 分析在艾滋病病毒抗体初次筛查中应用胶体层析法与酶联免疫吸附实验法的临床价值 [J/CD]. 现代医学与健康研究 (电子版), 2022, 6 (13): 104-107.
- 17 张丽云. 比较分析 ELISA 法检测抗-HIV 国产和进口酶免试剂的差异性 [J]. 中国医疗器械信息, 2021, 27 (10): 39-40, 190. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2021.10.016.
- 18 蔡雅. HIV 快速检测技术与 ELISA 法在艾滋筛查中应用价值 [J]. 口岸卫生控制, 2022, 27 (3): 52-54.
- 19 韩思媛, 杨植, 汤旭, 等. 4 种 HIV 筛查试剂与免疫印迹试验结果对比 [J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2022, 45 (6): 496-500.

(收稿日期: 2023-02-20)

(本文编辑: 邵文)