

• 临床检验研究 •

快速检测、抗原-抗体联合酶联检测和集合核酸检测在 MSM 人群 HIV-1 检测中的应用研究*

韩梅¹, 冯连贵^{1△}, 蒋岩², 潘品良², 赵金扣³, 凌华¹, 丁贤斌¹, 张敏¹

(1. 重庆市疾病预防控制中心 400042; 2. 中国疾病预防控制中心国家艾滋病参比实验室, 北京 100206; 3. 比尔及梅琳达·盖茨基金会北京代表处 100027)

摘要:目的 比较快速检测(胶体砵)和抗原-抗体联合酶联检测(4代酶联检测)以及集合核酸检测对男男同性恋人群(MSM)HIV 急性感染的检验效能。方法 结合该市 2008 年男男同性恋人群 HIV 感染专项调查工作,应用快速检测、4代酶联检测对接受调查的 2 165 例 MSM 进行 HIV 抗体初筛,对结果阴性者进行集合核酸检测,直至找到急性期感染者;对不同方法的检测成本进行估算,比较发现 1 例感染者的性价比。结果 快速检测和 4 代酶联检测应用于 MSM 人群 HIV 筛查时,分别存在 7.6% 和 2.9% 的漏检率。本次调查使用集合核酸检测共发现 10 例急性期感染者。使用快速检测、4 代酶联检测发现 1 例感染者的成本分别为 48.8、50.5 元,使用集合核酸检测发现 1 例急性期感染者的成本为 7 380.2 元。结论 4 代酶联检测与快速检测成本接近,但前者功效更高,应该成为目前针对 MSM 人群 HIV 检测策略的组成部分,集合核酸检测应成为必要的补充,在该市 MSM 人群中使用上述方法的成本低于国外同类报道。

关键词: HIV 抗体; 男男性行为者; 急性期感染; 快速诊断; 抗原-抗体联合酶联检测实验; 集合核酸检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)11-1185-02

Application of rapid test, combined HIV antigen/antibody EIA and pooled PCR in the detection of HIV-1 among MSM*

Han Mei¹, Feng Liangui^{1△}, Jiang Yan², Pan Pinliang², Zhao Jinkou³, Ling Hua¹, Ding Xianbin¹, Zhang Min¹

(1. Chongqing Center for Diseases Control and Prevention, Chongqing 400042, China; 2. Chinese Center for Diseases Control and Prevention, Beijing 100206, China; 3. Bill & Melinda Gates Foundation Beijing Office, Beijing 100027, China)

Abstract: Objective To compare the efficiency of rapid test(electroselenium), combined HIV antigen/antibody EIA(the 4th generation EIA) and POOL-PCR in the detection of acute HIV infection among men who have sex with men(MSM). **Methods** During the surveys among MSM, 2 165 cases of MSM were detected by rapid test and the 4th generation EIA and cases with negative detection results were detected by POOL-PCR to find cases with acute infection. The detection cost was estimated to compare the efficiency/cost ratio of different methods to discovering one confirmed case. **Results** The omission factors of rapid test and the 4th generation EIA were 7.6% and 2.9% respectively. 10 cases with acute HIV infection were found by using POOL-PCR. The costs were about 48.8, 50.5, and 7 380.2 RMB for rapid test, the 4th generation EIA and POOL-PCR to discover one case with acute HIV infection. **Conclusion** The 4th generation EIA and POOL-PCR should be an important supplement in HIV screening among MSM. The cost of the detection methods, mentioned above, when performed among the MSM in Chongqing, is much less than overseas reports.

Key words: HIV antibodies; men who have sex with men; acute infection; rapid test; combined HIV antigen/antibody EIA assay; POOL-PCR

随着近年来中国男男同性恋人群(MSM)中艾滋病病毒感染率的不断上升,MSM 人群中 HIV 流行趋势日益严峻,已成为中国艾滋病防控工作的重要对象。重庆市作为中国男男性行为人群艾滋病综合防治试点地区之一,2008 年 2 月开始按照中国疾控中心下发《男男性行为人群艾滋病综合防治试点现场工作手册》(下称《手册》)开展 MSM 专项调查工作。本次调查在执行《手册》实验室检测策略的基础上,加入抗原-抗体联合酶联检测(下称 4 代酶联检测)和核酸检测,并对 3 种试剂在 MSM 人群中的诊断效能进行了比较,将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用“滚雪球”和“同伴推动抽样”的方式,共招募到 2 165 例 18 岁及 18 岁以上、在重庆居住至少 6 个月、在

调查前 12 个月内与男性发生过口交和(或)肛交性行为的男性,每人采集静脉血 5 mL。

1.2 方法 快速检测:针对所有样本,采用金标/砵标免疫沉淀原理,检测待检样本中的特异性 HIV 抗体。4 代酶联检测:针对所有样本,采用 4 代酶联检测试剂盒,同时检测血清中的 HIV-1 P24 抗原和 HIV-1 抗体。集合核酸检测:针对所有上述试剂检测为阴性的样本,采取每 10 份组成 1 个 2 级 POOL,5 个 2 级 POOL 合成 1 个 1 级 POOL,检测标本中的 HIV RNA。当遇到阳性 POOL 时,按照集合策略逆向拆分,直至找到阳性样本^[1-2]。

1.3 试剂 快速检测试剂 1(Abbott Japan Co. Ltd);快速检测试剂 2(韩国 SD);酶联检测试剂——HIV(1+2)抗体及抗原

* 基金项目:卫生部艾滋病防治应用型研究项目(WA-2007-03);国家“十一五”重大专项艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治项目(2008ZX10102)。△ 通讯作者, E-mail: flg@cqcdc.org。

HIV-1 P24 联合检测试剂 (BioMerieux, The Netherlands); 集合核酸检测——Pooled-PCR (Roche Cobas Amplicor HIV-1 Monitor Test Version 1.5, Branchburg, NJ08876, USA)。

2 结 果

2.1 不同方法的检测情况 本次调查共采集样本 2 165 例, 结果发现, 现场快速检测有 340 例呈阳性(至少 1 种快速试剂检测为阳性), 1 825 例呈阴性。将快速检测的所有样本使用 4 代酶联检测试剂复查, 发现 357 例呈阳性, 经蛋白印迹实验确认检测, 发现 311 例阳性, 37 例不确定, 9 例阴性, 对 37 例不确定者进行了病毒载量检测, 其中 4 例为阳性。为节省检测成本, 只将 4 代酶联检测试剂为阴性的所有样本收集起来进行集合核酸的检测, 发现 10 例核酸阳性, 提示为急性期感染(AHI)样本。WB 不确定者 3 个月后的回访率低, 发现抗体阳转 1 例。上述结果可以看出, 当现有抗体检测试剂用于 MSM 人群时, 即使是较为先进的 4 代酶联检测试剂, 也出现了 3.26% 的漏检率, 低于此前报道的 100% 敏感性和 100% 特异性的临床评估结果。

2.2 不同检测方法的成本估算显示, 按照前文检测策略综合考虑, 计算因子如下: 筛查成本总计=样本量×单价, 快速检测和 4 代酶联检测都为 15 元(参考国内招标价格); 复核系数: 快速检测和 4 代酶联检测复核系数为 2, PCR 检测为 1.1(快速检测和 4 代酶联检测重复系数参照现行技术规范, PCR 检测重复系数为估计); 复核阳性样本数=筛查阳性数; 检测费用总计: 初筛、复核、确认检测的费用总和; 每检测出 1 例感染者的成本: 检测费用总计/确认阳性数, 确认阳性数略等于筛查阳性数。2 级集合数=样品数×急性期感染率/10, 每个 2 级集合由 10 份样品组成; 加入对照后系数=24/19, 每 19 份样品需消耗 5 份对照, 分别为试剂盒提供的 3 份对照及实验室自备的 2 份外部质控品; 重复实验系数: 估计为 1.1。

上述比较表明, 快速检测和 4 代酶联检测对于每发现 1 例感染者所消耗的成本都在 50 元人民币左右, 但各自的功效和检测意义却不同。对于漏检率, 快速检测是 4 代酶联检测的 2.5 倍; 4 代酶联检测能发现部分 AHI, 优于快速检测。核酸检测对于每发现 1 例 AHI 的成本很高, 超过 7 000 元, 其检测的是抗体尚未出现的早期感染者, 避免了漏检和误判, 是前两种方法的必要补充。本研究中, 抗体检测和 POOL-PCR 检测所消耗的成本, 均低于国内外同类报道^[3-4]。

3 讨 论

2008 年公布的 HIV 抗体检测试剂的临床评估结果显示, 本次调查中使用的试剂敏感性、特异性都超过 99%, 符合横断面血清学筛查要求^[4]。但 MSM 是目前国内 HIV 感染率最高的人群之一, 重庆市 2008 年 MSM 人群的感染率为 15.8%, 应用捕获酶联实验估计的 HIV 发病率为 7.8%, 为目前国内报道最高^[5]。当现行检测策略用于该人群时, 不同的试剂、方法

都出现不同程度的漏检, 在此前提下, 应该考虑将新技术、新方法补充到现行检测策略中。

AHI 指体内存在病毒且迅速复制, 病毒量急剧猛增, 但抗体尚不可检测的阶段。AHI 阶段的高病毒载量极大地增强了疾病传播的效率。集合核酸检测是 AHI 诊断的重要技术方法, 具有重要的公共卫生意义, 但价格昂贵, 对实验设备和技术要求很高。研究表明, 在性接触成为主要传播途径的情况下, HIV 感染者中有 30% 以上源于 AHI 阶段的传播。对于受血者来说, 一旦接触, 被感染的概率就是 100%^[6]。因此, 从长远来说, 每减少 1 例 AHI 漏检, 对于防范 2 代感染所节约的卫生成本和社会资源远远高于其检测成本。所以, 在发病率高的地区, 在有条件的实验室开展集合核酸检测, 尤其在采供血机构积极倡导常规开展集合核酸检测, 对于疾病的早干预、早治疗、降低输血感染风险、估计发病率都有非常深远的意义。此外, AHI 样品的获得对于研究疾病进程、系列阳转学清盘的制备、疫苗研发等工作都具有重要作用。

中国现行检测策略中没有对使用上述方法做明确规定, 但此次调查结果强烈提示, 现行检测策略亟待补充, 应该根据不同地区的发病率状况确定合适的检测策略, 4 代酶联检测应该成为 MSM 人群 HIV 检测的常规方法, POOL-PCR 方法应该成为其必要补充。

参考文献

[1] Quinn TC, Brookmeyer R, Kline R, et al. Feasibility of pooling sera for HIV-1 viral RNA to diagnose acute primary HIV-1 infection and estimate HIV incidence[J]. AIDS, 2000, 14(17): 2751-2757.

[2] Wawer MJ, Gray RH, Sewankambo NK, et al. Rates of HIV-1 transmission per coital act by stage of HIV-1 infection in Rakai, Uganda[J]. J Infect Dis, 2005, 191(9): 1403-1409.

[3] Priddy FH, Pilcher CD, Moore RH, et al. Detection of acute HIV infection in an urban HIV counseling and testing population in the United States[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2007, 44(2): 196-202.

[4] Pilcher CD, Fisons SA, Nguruyen TQ, et al. Detection of acute infection during HIV testing in north Caroline[J]. N Engl J Med, 2005, 352(18): 1873-1883.

[5] 韩梅, 冯连贵, 沈圣, 等. 重庆市男男性接触人群 2006~2008 年 BED HIV-1 发病率调查[J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(9): 879-881.

[6] 张艳梅, 胡消艳. 输血必检 4 项的临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(6): 573.

(收稿日期: 2011-01-10)

(上接第 1184 页)

用[J]. 重庆医学, 2003, 32(11): 1540.

[3] 秦光梅, 江兵, 杨时光, 等. 恶性肿瘤特异性生长因子用于肺癌诊断的价值评价[J]. 重庆医学, 2005, 12(34): 1558-1859.

[4] 张敏, 赵洁, 燕容. 血清 TSGF、CA125、CEA 和 AFP 联合检测对卵巢癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(1): 28-31.

[5] 徐元斌, 王德春, 朱忠勇. 恶性肿瘤特异性生长因子(TSGF)测定及临床应用[J]. 福建医学检验, 1996, 1(3): 118-119.

[6] 王先广. 应用恶性肿瘤相关物质(TSGF)进行 3 年防癌普查的临床研究[J]. 医学理论与实践, 2003, 16(6): 647-649.

(收稿日期: 2011-03-01)