

HIV抗體診斷試劑效能評估調查研究

何明純 鍾秉勳 王德原

研究檢驗組

摘要

HIV抗體診斷試劑是國際用於篩檢血液愛滋病毒的第一線工具，也是目前公認最經濟的愛滋病檢測方法。目前愛滋病檢驗程序中，若血液檢體經初步HIV抗體診斷試劑檢測為陰性則不再繼續追蹤，因此，當HIV抗體診斷試劑品質不良無法正確檢出愛滋病陽性血液檢體時，將延誤愛滋病患者的辨認和後續追蹤治療工作，無法有效控制愛滋病之感染擴散。本局於99年度開始調查市售EIA類HIV抗體診斷試劑之效能，由製造商及代理商處購得15種品項共29批次之同類產品，依據各產品使用說明書描述之檢測方法，以愛滋病國際標準血清對照組(WHO HIV, 1st International Reference Panel, code: 02/210)為標的檢測，結果29件產品均能檢測出HIV抗體。一般而言，所有抽購產品在效能試驗中均能檢測出HIV抗體，尚符合衛生署規範之HIV抗體診斷試劑品質要求。另以含不同HIV-1抗體濃度之BBI陽轉血清組進行靈敏度檢測，發現所有產品均能檢測出陽轉血清組中之強陽性血清，但除其中2種產品能正確檢出最弱陽性血清外，其餘品項對於弱陽性血清則反應不一，無法有效呈現陽性反應。

關鍵詞：HIV抗體診斷試劑、陽轉血清組、效能評估、陽性反應

前言

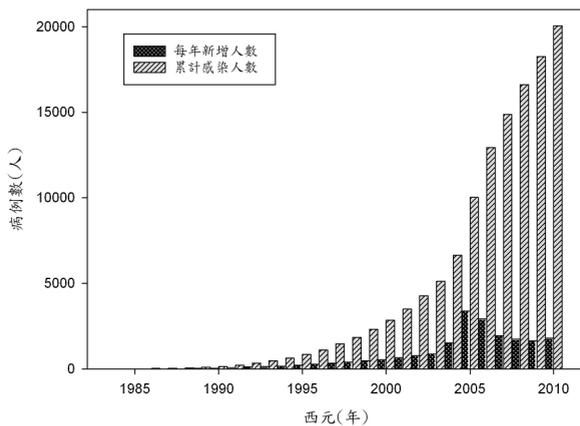
人類後天免疫不全病毒(Human Immunodeficiency Virus, HIV)，俗稱愛滋病毒，為反轉錄病毒科(Retroviruses)直徑約為120 nm的球狀病毒⁽¹⁾。其結構主要由雙層脂質之外套膜(envelope)與內層正十二面體之核殼(Nucleocapsid)所構成，核殼主成分係由蛋白質p24所組成。病毒核心部份帶有兩條約9.2-9.8Kb正單股(+)RNA基因體(dsRNA)，並具有反轉錄酶(Reverse transcriptase)、嵌入酶(Integrase)及蛋白酶(Protease)。反轉錄酶的功能係以病毒基因體作為模版進行互補DNA合成進而使病毒複製，由於此病毒之反轉錄酶無校對修正功能，使得HIV病毒基因在複製時的突變率增加而產生許多變

異亞型。HIV可分為HIV-1及HIV-2兩型。HIV-1依其外套膜蛋白片段(env)與核心蛋白片段(gag)的基因序列變異而分類為主要群(Major group, M group)、局外群(Outlier group, O group)及新群(New group, N group)三大群。M group中又分為A、B、C、D、E、F、G、H、J等亞型^(2,3)。全球HIV的感染型態除HIV-2亞型盛行於西非外，台灣與絕大多數國家中愛滋病毒之主要感染型為HIV-1 M group。台灣地區愛滋病患者之感染型態以HIV-1 M group之B亞型為最多，其次是E亞型，並有少數的A、C、G亞型⁽⁴⁾。根據行政院衛生署疾病管制局的統計，截至2010年10月底為止，HIV感染者人數為20,466人，若以主要危險因子分析，因同性戀性行為造成HIV感染者約佔35.63%，異性戀性行為感染者約22.11%，雙性戀

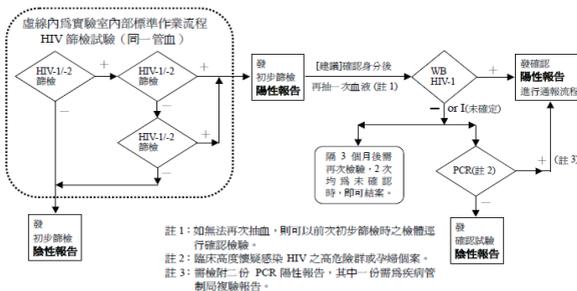
感染者約7.77%，注射毒癮者約32.58%，且總感染人數有逐年遞增之趨勢⁽⁵⁾(圖一)。

由衛生署公布之HIV檢驗作業流程圖(圖二)得知，目前國內HIV檢驗作業，係將受測者的血液檢體進行實驗室重覆檢驗，當檢驗結果連續兩次呈現陽性反應時，即為初步篩檢陽性。當初步篩檢結果確認為陽性後，則通知受測者再另抽一次血液，以西方墨點法(Western Blot Test)或核酸聚合酶連鎖反應(Polymerase Chain Reaction)進行確認檢驗，如無法再次抽血，則可使用前次初步篩檢時之檢體逕行確認試驗⁽⁶⁾。經證實為HIV檢驗陽性之受測者，通報行政院衛生署疾病管制局列冊管理，並知會受測者所屬地方衛生局定期追蹤回報。

HIV抗體診斷試劑是國際用於篩檢血液中HIV的第一線工具，經HIV抗體診斷試劑檢測為



圖一、台灣地區國人感染HIV趨勢圖



圖二、HIV檢驗作業流程圖(摘自行政院衛生署愛滋病防治工作手冊, 2009)

陽性的檢體，必須進一步檢測西方墨點法或經核酸擴增技術確認為陽性後，才能確診為感染愛滋病。衛生主管機關將持續追蹤愛滋病患者並投藥治療，避免愛滋病擴散。然而，若血液檢體經初步HIV抗體診斷試劑檢測為陰性則不再繼續追蹤，因此，當HIV抗體診斷試劑品質不良無法正確檢驗出HIV陽性血液檢體時，將延誤愛滋病患者後續追蹤治療工作，無法有效控制HIV之感染擴散。目前國內各級醫療院所及捐血中心進行之HIV篩檢，係以市售HIV體外診斷試劑作為初步檢測工具，其檢驗結果除用以診斷受測者是否感染外，並可作為愛滋病監控及流行病學調查的重要參考指標。市售HIV診斷試劑依其作用原理可分為酵素免疫分析(Enzyme immunoassay, EIA)、西方點墨(Western blotting)及核酸擴增試驗(Nucleic acid testing, NAT)等三種，而在台灣HIV體外診斷試劑列屬高風險第三級醫療器材，需經多種臨床試驗，並經本局醫療器材查驗登記檢驗等程序，且由取得GMP (Good Manufacture Practice)認可的製造廠生產始可上市。惟與美、歐國家相較，我國僅對疫苗、血液製劑等產品採取嚴格的批次放程序，對第三等級體外診斷醫療器材並未實施批次檢驗放行制度，因此惟有透過上市後產品效能監測機制，才能確保國人輸血安全。因此，本局於99年度首次進行市售HIV診斷試劑效能調查，了解目前台灣區使用之HIV診斷試劑品質是否符合相關規範，在三類不同HIV體外診斷試劑中，以酵素免疫分析方法做為機轉之HIV診斷試劑市場佔有率最高，因此本計畫選擇以EIA類試劑為評估標的，進行試劑之效能評估及靈敏度測試。

材料與方法

一、材料

(一)檢體來源

國內目前具衛生署許可證之EIA類HIV體外診斷試劑共15種，其中除國產1種製品外，其餘皆為輸入產品。各產品名稱詳如表一，採集

檢體時除第O項產品僅購得一批，其餘產品皆抽購2種不同之產品批次。

(二)對照標準品

1. HIV國際標準血清對照組(WHO HIV, 1st

International Reference Panel, code : 02/210)，由HIV-1 M群(A、B、C、E亞型)、O群與HIV-2陽性血清等共6瓶不同之標準品所組成，內容詳如表二。

表一、衛生署核可上市之EIA類HIV體外診斷試劑一覽表

項次	許可證字號 (衛署醫器製字)	品名	申請商	檢測方法	機器自動操作/ 人工手動操作
	第 015099 號	亞培設計師愛滋病毒抗原及抗體檢驗試劑 ABBOTT ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo	美商亞培股份有限公司	電化學冷光法	機器自動操作
	第 011251 號	"維特司" 免疫檢驗試劑 HIV 一、二型抗體 Vitros Immunodiagnostic products Anti-HIV 1+2	英商壯生和壯生(香港)股份有限公司	電化學冷光法	機器自動操作
	第 011130 號	羅氏電子冷光愛滋病毒抗原抗體免疫測定試劑 ELECSYS HIV COMBI	羅氏醫學儀器股份有限公司	電化學冷光法	機器自動操作
	第 010716 號	亞培愛可信愛滋病毒抗原及抗體檢驗試劑 AXSYM HIV AG/AB COMBO	美商亞培股份有限公司	電化學冷光法	機器自動操作
	第 011749 號	愛可信人類免疫缺乏病毒第一型(M及O族)及第二型抗體檢驗試劑	美商亞培股份有限公司	電化學冷光法	機器自動操作
	第 020356 號	"西門子"人類免疫不全病毒 1/O/2 型加強試驗組 Siemens HIV1/O/2 Enhanced (EHIV)	西門子股份有限公司	電化學冷光法	機器自動操作
各 產 品 附 予 V 至 O 之 代 碼	第 016163 號	"恩奈格斯特" 人類免疫缺乏病毒 I/II 型 Plus "Enzygnost" Anti-HIV 1/2 Plus	西門子股份有限公司	酵素鍵結法	機器自動操作/ 人工手動操作
	第 001241 號	普生愛滋酶 1+2 HIVASE 1+2	普生股份有限公司	酵素鍵結法	人工手動操作
	第 019456 號	金克滋愛滋病毒抗原-抗體試劑 GENSCREEN ULTRA HIV Ag-Ab	美商博瑞股份有限公司	酵素鍵結法	人工手動操作
	第 016825 號	金克滋"巴斯德" 愛滋病 1/2 型抗體篩檢試劑 GENSCREEN HIV 1/2 version 2	美商博瑞股份有限公司	酵素鍵結法	人工手動操作
	第 011738 號	妙芮絲人類免疫缺乏病毒抗體檢驗試劑 Murex HIV 1.2.0	美商亞培股份有限公司	酵素鍵結法	機器自動操作/ 人工手動操作
	第 012281 號	速樂定 HIV-1/2 SERODIA · HIV-1/2	台富製藥股份有限公司	粒子凝集法	人工手動操作
	第 012280 號	速樂定 HIV-1 SERODIA · HIV-1	台富製藥股份有限公司	粒子凝集法	人工手動操作
	第 013167 號	賽富定-HIV 1/2	台富製藥股份有限公司	粒子凝集法	人工手動操作
	第 010855 號	英凡尼斯 Determine 後天免疫不全病毒檢驗試紙 Inverness Determine HIV-1/2	美艾利爾健康股份有限公司	酵素鍵結薄層分析法	人工手動操作

表二、HIV國際標準血清對照內容物一覽表

IBSC code: 02/210	
HIV-1 Group M subtype A	(code:02/112)
HIV-1 Group M subtype B	(code:02/104)
HIV-1 Group M subtype C	(code:02/106)
HIV-1 Group M subtype E	(code:02/114)
HIV-1 Group O	(code:02/116)
HIV-2	(code:02/210)

- NIBSC HIV-1抗體標準品(HIV-1 antibody, British Working Standard, code: 99/750), 1瓶/組。
- HIV-1陽轉血清套組(BBI Diagnostics HIV-1 Seroconversion Panel, Lot: PRB959), 由7支不同HIV-1抗體濃度之血清所組成。該血清套組係由同一群供血者持續定期採血所製成之陽轉血清組, 亦可用於評估HIV病程發展時血清中HIV-1抗體、HIV p24及HIV-1 RNA濃度變化情形, 其組成內容詳如表三。依據BBI陽轉血清組出廠成績書之HIV-1抗體含量多寡, 可將該血清組分為二組: (1) PRB959 NO04、05、06、07歸為強陽性血清; (2) PRB959 NO01、02、03則歸為弱陽性血清, 其中以PRB959 NO01之陽性強度最弱。
- 陰性血清, 本調查研究所使用之陰性血清包括國產正常人類血清產品、輸入HIV陰性人類血清產品和正常健康人類血清, 為避免影響檢驗結果之爭議, 進行調查計畫檢驗前均先經預試驗, 以國際間公認目前病毒檢測靈敏度最高之核酸擴增技術進行HIV、HBV、HCV檢測, 確認前列病毒篩檢呈現陰性後, 再應用於本計畫中。

(三)儀器及裝置

包括酵素免疫分光光譜儀(μ Quant ELISA reader, Biotek)、酵素免疫分析儀(AxSYM, Abbott)、酵素冷光免疫分析儀(ELECSYS, Roche)、酵素冷光免疫分析儀(ARCHITECT, Roche)、酵素冷光免疫分析儀(Vitros, Johnson & Johnson)、酵素冷光免疫分析儀(ADVIA System II, Siemens)。

表三 HIV-1陽轉血清套組抗體、抗原含量表

BBI Diagnostics HIV-1 (PRB959)	HIV-1 (PRB959)		
	HIV-1抗體 (HIV-1)	HIV-p24抗原 (HIV-p24)	HIV-1 RNA (copies/mL)
PRB959-01	±	++	1.3 x 10 ⁵
PRB959-02	+	++++	50 x 10 ⁵
PRB959-03	++	++++	10 x 10 ⁵
PRB959-04	++++	+++	10 x 10 ⁵
PRB959-05	+++	+	3 x 10 ⁵
PRB959-06	+++	+	2.3 x 10 ⁵
PRB959-07	+++	++	5.3 x 10 ⁵

註: HIV-1抗體及HIV-p24濃度由低而高依序為±, +, ++, +++, +++++

二、檢驗方法

- 效能試驗: 參照各產品之使用說明書, 分別以各種標準品加以測試。
- 靈敏度試驗: 應用二倍序列稀釋法以5%BSA/PBS溶液稀釋成不同濃度之NIBSC HIV-1抗體標準品(HIV-1 antibody, British Working Standard, code: 99/750)後, 進行測試。

結果與討論

一、效能試驗結果

- HIV國際標準血清對照組(NIBSC code: 02/210)以含有HIV-1 M group、O group亞型與HIV-2 type之愛滋病毒國際標準血清對照組(code: 02/210)檢測, 檢測結果發現:
 - 市售15種EIA類HIV體外診斷試劑皆能對HIV-1 M group之A、B、C、E亞型及HIV-2產生陽性反應。
 - 除試劑套組B外, 其餘各產品皆能對HIV-1 type之O group亞型產生陽性反應。
- BBI陽轉血清組(NO.PRB959)檢測結果如表五:
 - 市售各種EIA類HIV體外診斷試劑對BBI陽轉血清組之強陽性血清均呈現陽性反應; 但對弱陽性血清之檢測結果則不同。
 - 除試劑套組L、試劑套組M、試劑套組N和試劑套組O外所有試劑套組均能測出抗體

表四、以HIV國際標準血清對照組檢測之判定結果

code :	HIV1- 02/210	HIV1- M-A	HIV1- M-B	HIV1- M-C	HIV1- M-E	HIV1- O	HIV2	陰性 血清
試劑套組 A	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 B	●	●	●	●	●	○	●	○
試劑套組 C	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 D	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 E	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 F	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 G	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 H	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 I	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 J	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 K	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 L	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 M	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 N	●	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 O	●	●	●	●	●	●	●	○

● = Positive (S/CO ≥ 1.0) ○ = Negative

表五、以HIV-1BBI陽轉血清組檢測之判定結果

PRB959 NO.	01	02	03	04	05	06	07
HIV-1 抗體濃度	±	+	++	++++	+++	+++	+++
試劑套組 A	●	●	●	●	●	●	●
試劑套組 B	○	●	●	●	●	●	●
試劑套組 C	○	●	●	●	●	●	●
試劑套組 D	○	●	●	●	●	●	●
試劑套組 E	○	○	●	●	●	●	●
試劑套組 F	○	○	●	●	●	●	●
試劑套組 G	○	○	●	●	●	●	●
試劑套組 H	○	○	●	●	●	●	●
試劑套組 I	●	●	●	●	●	●	●
試劑套組 J	○	●	●	●	●	●	●
試劑套組 K	○	○	●	●	●	●	●
試劑套組 L	○	○	○	●	●	●	●
試劑套組 M	○	○	○	●	●	●	●
試劑套組 N	○	○	○	●	●	●	●
試劑套組 O	○	○	○	●	●	●	●

● = Positive (S/CO ≥ 1.0) * ○ = Negative

* : S/CO 為 Signal/Cut-off value 之縮寫

濃度第四強之PRB959 NO03。

3. 試劑套組A與試劑套組I皆能檢出HIV-1抗體濃度最低之弱陽性血清PRB959 NO01。

4. 試劑套組B、試劑套組C、試劑套組D與試劑套組J均能檢測出HIV-1抗體濃度次低之弱陽性血清PRB959 NO02。

二、靈敏度試驗結果

表六為以NIBSC HIV-1型抗體標準品測試抽購產品靈敏度之結果，其結果敘述如下：

1. 試劑套組C可檢出稀釋64倍濃度之標準品。
2. 試劑套組I與試劑套組J可檢出稀釋32倍濃度之標準品。
3. 試劑套組F與試劑套組K可檢出稀釋16倍濃度之標準品。
4. 試劑套組B、試劑套組D、試劑套組E、試劑套組H與可檢出稀釋8倍濃度之標準品。
5. 試劑套組A、試劑套組L、試劑套組M與試劑套組N可檢出稀釋4倍濃度之標準。
6. 試劑套組G與試劑套組O無法檢測出NIBSC HIV-1型抗體標準品1x濃度。

三、討論

在衛生署公佈之HIV篩檢流程中，HIV抗體

表六、靈敏度試驗 (n = 6) 之判定結果

稀釋倍數	2x	4x	8x	16x	32x	64x	128x
試劑套組 A	●	●	○	○	○	○	○
試劑套組 B	●	●	●	○	○	○	○
試劑套組 C	●	●	●	●	●	●	○
試劑套組 D	●	●	●	○	○	○	○
試劑套組 E	●	●	●	○	○	○	○
試劑套組 F	●	●	●	●	○	○	○
試劑套組 G	○	○	○	○	○	○	○
試劑套組 H	●	●	●	○	○	○	○
試劑套組 I	●	●	●	●	●	○	○
試劑套組 J	●	●	●	●	●	○	○
試劑套組 K	●	●	●	●	○	○	○
試劑套組 L	●	●	○	○	○	○	○
試劑套組 M	●	●	○	○	○	○	○
試劑套組 N	●	●	○	○	○	○	○
試劑套組 O	○	○	○	○	○	○	○

● = Positive ○ = Negative

診斷試劑是用於篩檢血液HIV的第一線工具，因此HIV抗體診斷試劑之品質優劣將影響HIV病例確認和後續之追蹤治療與防治工作。

使用HIV國際標準血清對照組對各抽購試劑進行效能試驗的評估結果顯示，各市售HIV抗體診斷試劑均能有效檢測出HIV-1的常見亞型和HIV-2。而BBI陽轉血清組因係由同一群供血者持續定期採血所製成之陽轉血清組，其01至07號血清可以代表亦可用於評估HIV病程發展不同時期陽性血清中HIV-1抗體、HIV p24及HIV-1 RNA濃度變化情形。由表五結果得知，試劑套組A及I可對HIV感染初期陽轉血清產生反應，顯示該二產品可能在HIV感染初期有較佳的檢驗結果，而試紙型快速檢測試劑(rapid test)及試劑套組L、M、N則對已發生陽轉反應的血清有良好的檢測結果，顯示這些產品在確認患者感染HIV部分，效果能符合產品查驗登記的規格。

此外，效能試驗結果亦顯示，試劑套組B無法和HIV-1 O group亞型血清產生反應，進一步查閱該試劑套組之使用說明書及查驗登記資料等文件，確認該產品並未宣稱可正確檢出HIV-1 type O group亞型，但可使用於一般HIV-1 M group之A、B、C、E亞型及HIV-2檢測，因此產品品質亦符合規格。

HIV體外診斷試劑之檢測靈敏度，我們嘗試以NIBSC HIV-1抗體標準品(HIV-1 antibody, British Working Standard, code: 99/750)為標的，進行抽購產品的檢測靈敏度評估，我們發現除了試劑套組G和O外，各產品皆可與稀釋4倍的標準品產生陽性反應，甚至試劑套組C可與64倍的標準品產生陽性反應。至於試劑套組G與O則與標準品無任何陽性反應發生，因先前的效能評估已確認該二產品品質符合規範，故此一結果可能係因該二產品設計配方所含成分與標準品內含成分產生干擾所

致，惟仍有待進行後續試驗釐清。

結 論

由本調查結果顯示，國內市場流通使用之HIV抗體診斷試劑，效能試驗之結果證實皆能正確判別常見之HIV-1亞型和HIV-2病毒。以BBI陽轉血清組(含不同濃度之HIV-1抗體)測試之結果顯示，各種EIA類HIV體外診斷試劑雖然均能檢出HIV-1陽性反應，但部分試劑套組僅對強陽性陽轉血清產生反應，若待測血清為感染初期，血中HIV-1抗體含量較少時，可能較難產生有效結果。

參考文獻

1. Janeway, C. A., Waiport, M. J., Travers, P. and Shlomchik, M. 2007. *ImmunoBiology--the Immune System in Health and Disease*. 7th ed. Churchill Liverstone, UK.
2. Santiago, M. L., Santiago, E. G., Hafalla, J. C. et al. 1998. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in the Philippines, 1985 to 1997: transmission of subtypes B and E and potential emergence of subtypes C and F. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 18: 260-269.
3. Menu, E., Lien, T. X. and Lafon, M. E, et al. 1996. HIV type 1 Thai subtype E is predominant in South Vietnam. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 12: 629-633.
4. Luo, C. C., Tian, C., Hu, D. J. et al. 1995. HIV-1 subtype C in China. *Lancet* 345: 1051-1052.
5. 衛生署疾病管制局 [http://www.cdc.gov.tw/].
6. 衛生署疾病管制局。2009。愛滋病防治工作手冊。

Post-Market Surveillance for the Performance Evaluation of the Anti-HIV Diagnostic Kits

MING-CHUN HO, BING-HSUN CHUNG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis

ABSTRACT

This study was focused on the performance evaluation of the anti-HIV diagnostic kits on the market in Taiwan. The WHO (World Health Organization) HIV International Reference Panel, (1st, code: 02/210) and the diagnostic HIV-1 Seroconversion Panel (BBI[®], Lot: PRB959) were used as the control standards to evaluate the performance of the 15 various commercial anti-HIV diagnostic kits purchased from the production companies. The sensitivity of all kits was also checked by the two-fold serial dilutions of the NIBSC (National Institute for Biological Standard and Control) HIV-1 antibody standard (British Working Standard, code: 99/750). The results indicated that all the kits could identify various subtypes of HIV-1 M group and HIV-2 type, but 9 of the 15 kits could not detect the weak HIV positive serum of the BBI diagnostic HIV-1 seroconversion panel. The sensitivity tests revealed that all the kits could react with the 4 times diluted NIBSC HIV-1 antibody working standard. We also found that some kits did not give good response possibly caused by the interference of diluents, designed epitope or product formulation. Food and Drug Administration of Taiwan will monitor the quality, efficiency and safety of the therapeutic products continuously.

Key words: anti-HIV diagnostic kits, seroconversion panel, performance evaluation, positive reaction