维普资讯 http://www.cqvip.com

应用桥联酶标技术检测艾滋病毒抗体

王 哲 曾 毅

（中国预防医学科学院艾滋病研究和检测中心，北京）

提 要

将 APAAP 桥联酶标技术用于 HIV 抗体检测，其特异性和重复性与免疫荧光技术相同，敏感性高于后者。APAAP法易辨认掌握，不需特殊仪器，适用于基层和临床使用。

关键词：艾滋病病毒 APAAP桥联酶标技术 抗体检测

艾滋病病毒（人免疫缺陷病毒，HIV）是引起艾滋病的人逆转录病毒。在我国，HIV抗体阳性者近年有迅速增加的趋势，表明HIV的传入随着改革开放和国际交往的继续深入而扩大。要控制HIV和艾滋病在我国的传播，首先要加强HIV血清学检测。

HIV血清学检测需经初筛和确证两步骤，初筛方法有ELISA[1]、明胶凝集[2]和免疫荧光[3]等。进口的HIV诊断试剂价格昂贵且不易得到，无法用于国内大面积人群检测。我们研制的免疫荧光（IF）已成功地实现了试剂国产化，但该试剂需荧光显微镜，而且有非特异着色等缺点，对操作人员有一定要求，限制了该试剂在基层单位的应用和推广，也影响了国内主动检测的开展和尽快检查出HIV抗体阳性者。

本文将桥联酶标技术（APAAP）用于检测 HIV 抗体，取得了满意的结果。

材 料 和 方 法

一、HIV-1 抗原片 收集感染HIV-1的 MT-4 细胞，涂片，冷丙酮固定、吹干，封闭于带有干燥剂的锡泊袋内，4℃保存。

HIV-1毒株为本室分离的HIV-1-AC株[4]。

二、血清 HIV-1 抗体阳性血清85份，为美国艾滋病病人血清和本室收集的 HIV-1 抗体阳性者血清。

HIV-1 抗体阳性血清315份为各省送检血清。

三、试剂

1. APAAP试剂盒由军事医学科学院分子免疫室提供。
2. 鼠抗人IgG 单克隆抗体由中国医学科学院基础所免疫室提供。
3. FITC-羊抗人IgG由本室标记，滴度1:80，作用浓度1:40。
4. 蛋白印迹试剂由本室制备。
5. 伊文氏兰及无机盐等试剂均为国产分析纯试剂。

本文于1990年1月22日收到

维普资讯 http://www.cqvip.com

四、方法

1.APAAP 桥联酶标法

将1:10稀释的血清滴于抗原片上，37℃孵育45分钟，PBS洗三次；滴加鼠抗人IgG单抗，室温30分钟，PBS洗三次；滴加羊抗鼠IgG，室温30分钟；PBS洗三次；滴加APAAP（碱性磷酸酶-抗碱性磷酸酶单抗复合物），室温30分钟；PBS洗三次；滴加显色液，37℃ 15分钟，0.06% 伊文氏兰复染1分钟，光镜观察结果。

结果判定：细胞浆和细胞膜呈玫瑰红色为阳性，兰色为阴性细胞。镜下出现阳性细胞即判为阳性结果，反之为阴性结果。

2. 间接免疫荧光法：常规方法见文献3。

3. 蛋白印迹法：常规方法见文献4。

结果和讨论

对400份血清进行APAAP、IF和蛋白印迹法(WB)检测，结果APAAP达到IF水平，与WB的结果一致(表1)。

取10份阳性血清用APAAP和IF法分别测其滴度并计算GMT，APAAP的GMT约为IF的二倍(表2)。

表1 三种方法检测结果

Table 1 Detecting Results of Three Methods

	血清数	APAAP		IF		WB	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性血清	85	85	0	85	0	85	0
阴性血清	315	0	315	0	315	0	315
总计	400	85	315	85	315	85	315

表2 敏感性实验结果

Table 2 Results of Sensitivity Test

血清号	APAAP	IF
468	1:20480	1:5160
539	1:1280	1:640
543	1:1280	1:640
618	1:2560	1:640
623	1:1280	1:640
630	1:160	1:160
645	1:10240	1:1280
646	1:2560	1:640
652	1:5120	1:1280
663	1:80	1:80
GMT	1811.34	642.69

取6份阳性和2份阴性血清用APAAP和IF法分别重复检测三次，结果基本稳定，表明APAAP法重复性良好(表3)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

APAAP 法利用抗原抗体复合物来制备酶标记物，这样制备的酶标记物非常稳定，再利用羊抗鼠IgG搭桥连接鼠IgG单抗和APAAP，同时起到放大作用。

表 3 重复性实验结果

Table 3 Results of Reproducibility Test

血清号	APAAP			IF		
	1	2	3	1	2	3
468	1：20480	1：20480	1：20480	1：5120	1：5120	1：2560
618	1：2560	1：2560	1：2560	1：640	1：640	1：640
623	1：1280	1：2560	1：1280	1：640	1：640	1：640
630	1：160	1：160	1：160	1：160	1：160	1：160
645	1：10240	1：10240	1：10240	1：1280	1：2560	1：1280
652	1：5120	1：10240	1：5120	1：1280	1：1280	1：1280
9	—	—	—	—	—	—
21	—	—	—	—	—	—

APAAP 法显色为玫瑰红色，经复染后阴性细胞呈兰色，使阳性、阴性对比鲜明，易于辨认，仅需普通光学显微镜，适合基层和临床使用。而且 APAAP 法具有放大效应，敏感性高于 IF，有助于筛选低抗体滴度病人血清，并能对 IF 筛选中的可疑样品作进一步的检测。

参 考 文 献

〔1〕 McDougal JS et al., 1985, *J Immuno Methods*, 76：171.
〔2〕 曾毅等，1988，病毒学报，4：65.
〔3〕 王必嫦等，1985，病毒学报，1：391.
〔4〕 曾毅等，1988，中华流行病学杂志，9：135.

Detection of HIV Antibody by Bridge-linked Enzyme Labelling Technique

Wang Zhe Zeng Yi

(AIDS Research and Detection Centre, Chinese Academy Preventive Medicine, Beijing)

APAAP bridge-linked enzyme labelling method was established for detection of HIV antibody. Compared with immunofluorescence test (IF), these two methods had the same specificity and reproducibility, but APAAP is more sensitive for detection of HIV antibody than IF test. The technique is simple and convenient, and only requires the ordinary microscope, so it can be applied in HIV screening laboratories and clinic.

Key Words: HIV APAAP bridge-linked enzyme labelling test Antibody detection