·论　　著·

核酸检测与抗体检测在 HIV 感染中的应用

侯海燕，燕清丽，刘　靓，刘纯成△
（淮安市疾病预防控制中心，江苏淮安 223001）

摘　要：目的　比较核酸检测与抗体检测在人类免疫缺陷病毒（HIV）感染诊断中的准确性。**方法**　回顾性分析 2005～2014 年 124 例确诊 HIV 感染者的抗体检测与核酸检测资料，并分别比较两种方法在早期感染者（76 例）与中晚期感染者（48 例）中的检出阳性率。**结果**　早期感染者核酸检测阳性率（94.74%）高于抗体检测（84.21%），中晚期感染者抗体检测阳性率（97.92%）高于核酸检测（81.25%），差异均有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　核酸检测在 HIV 感染早期准确性高于抗体检测，而在 HIV 感染中晚期，抗体检测准确性较高。

关键词：人类免疫缺陷病毒；　核酸检测；　抗体检测
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2015.23.028　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2015)23-3431-03

Application of nucleic acid detection and antibody detection in HIV infection

Hou Haiyan, Yan QingLi, Liu Jing, Liu Chuncheng△
(*Center for Disease Control and Prevention of Huaian City, Huaian, Jiangsu* 223001, *China*)

Abstract: Objective　To compare the accuracy of nucleic acid detection and antibody detection for diagnosing human immunodeficiency virus (HIV) infection. **Methods**　Retrospectively analysed data of nucleic acid detection and antibody detection from 124 cases of patients diagnosed with HIV infection from 2005 to 2014. The positive rates of the two methods were compared respectively in patients with early-stage of HIV infection (76 cases) and patients with intermediate and advanced stage of HIV infection (48 cases). **Results**　In patients with early-stage of HIV infectionn, the positive rate of nucleic acid detection (94.74%) was higher than that of antibody detection (84.21%); while in patients with intermediate and advanced stage of HIV infection, the positive rate of antibody detection (97.92%) was higher than that of nucleic acid detection (81.25%); both had statistically significant difference ($P<0.05$). **Conclusion**　On the early stage of HIV infection, the accuracy of nucleic acid detection is higher than that of antibody detection; while on the intermediate and advanced stage of HIV infection, antibody detection shows better accuracy.

Key words: human immunodeficiency virus;　nucleic acid detection;　antibody detection

艾滋病是获得性免疫缺陷综合征（AIDS）的简称，是一种严重威胁人类健康的公共卫生疾病。AIDS 的病原体为人类免疫缺陷病毒（HIV），HIV 感染在全球尤其是在一些欠发达国家和地区广泛流行[1]。据统计，截至 2014 年底，报告存活的 HIV 感染者和 AIDS 患者为 50.1 万例，形势十分严峻。早发现、早诊断对于 HIV 感染的后期治疗尤为重要。常用的 HIV 检测方法为抗体检测与核酸检测，其中抗体检测包括 HIV 抗体筛查（包括初筛和复筛）和 HIV 抗体确证试验两部分，按照《全国艾滋病检测技术规范》（2009 年修订版）的要求，所有筛查试验呈阳性反应的标本不能直接出阳性报告[2]，需经 AIDS 确证实验室确证阳性后，才可出具 HIV 抗体-1 型（HIV 抗体-2 型）阳性确证报告，并按相关规定做好咨询、保密工作[3]。而在 HIV 感染过程中，首先出现的是病毒 RNA，这时可以用核酸检测的方法。本研究旨在比较在 HIV 感染的不同阶段，两种检测方法的准确性。

1　资料与方法

1.1　一般资料　2005 年 1 月至 2014 年 12 月 AIDS 确证中心实验室检出的 84 例初次抗体确诊不确定，二次随访及通过 AIDS 生物样本库查询确诊为阳性的患者的首次血样，另外 40 份血样来自 AIDS 疫情网络直报系统查询确诊阳性且通过淋巴细胞亚群分析 $CD4^+$ 淋巴细胞明显降低，具有艾滋病晚期临床症状的生物样本库样品。124 例感染者中，男 81 例（65.32%），女 43 例（34.68%）；年龄 17～68 岁，平均（38.24±12.64）岁；主要为小学及以下文化者；其中早期感染者 76 例（61.29%），中晚期感染者 48 例（38.71%）。

1.2　仪器与试剂　T 淋巴细胞亚群采用美国 BD 公司流式细胞仪及三色荧光的单克隆抗体试剂盒分析检测；抗体采用 BD 公司配套抗体；核酸检测采用美国罗氏 TaqMan 全自动病毒载量仪。

1.3　方法

1.3.1　抗体检测　采用酶联免疫吸附试验检测，具体包括：包被蛋白、蛋白质聚合反应、一抗抗体孵育、含有吐温 20 的 Tris 缓冲盐水（TBST）洗涤、加入酶标二抗、加底物液显色，最后置酶标检测仪上，于 450 nm 处，在空白对照孔调零后检测各孔吸光度（A）值。

1.3.2　核酸检测　（1）核酸提取：采用硅胶柱离心、磁性硅胶颗粒分离方法及自动化仪器等商品化试剂或设备，并按说明书进行操作，提取 RNA，置于－20 ℃保存。（2）逆转录合成互补 DNA（cDNA）：逆转录 cDNA 合成反应体系包括逆转录引物、脱氧核糖核苷酸三磷酸（dNTPs）、逆转录酶、RNA 酶抑制剂、二硫苏糖醇（DTT）、缓冲液和适量无 RNA 酶的超纯水及 RNA 模板。在扩增仪或水浴箱中，按规定的温度和时间进行逆转录反应，使用商品化实时荧光聚合酶链式反应（PCR）一步法试剂进行第一轮扩增反应。（3）PCR 扩增反应：PCR 反应体系含引物、dNTPs、DNA 聚合酶（如 Taq 酶等）、缓冲液、适量无 RNA/DNA 酶超纯水及模板（cDNA）。在扩增仪中，按照设定

作者简介：侯海燕，女，主管检验师，主要从事病原微生物检验工作。　△　通讯作者，E-mail：Hajklcc@163.com。

的程序进行扩增。(4)扩增产物定性分析：使用琼脂糖凝胶电泳法分析扩增产物，与相对分子质量标准比较，判断扩增片段是否在预期的相对分子质量范围内。

1.4　统计学处理　采用 SPSS17.0 软件进行数据处理与统计分析，计数资料以例数或百分率表示，采用 χ^2 检验进行比较，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　早期感染者与中晚期感染者基本资料比较　早期感染者与中晚期感染者在性别、年龄、文化程度、婚姻、职业等方面比较，差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1　124 例感染者的人口学基本特征比较(n)

项目	早期感染者(n=76)	中晚期感染者(n=48)	χ^2	P
性别				
男	49	32	0.06	>0.05
女	27	16		
年龄(岁)				
<20	6	6	0.65	>0.05
20～50	60	37		
>50	10	7		
文化程度				
小学及以下	48	31	0.19	>0.05
初中	10	6		
高中	9	7		
大学及以上	7	4		
婚姻状况				
未婚	18	14	0.38	>0.05
已婚	14	8		
离异	26	16		
其他	16	10		
职业				
农民	22	13	5.27	>0.05
无业	24	10		
个体	10	6		
工人	8	5		
干部	2	2		
其他	8	12		

2.2　抗体检测与核酸检测在 HIV 感染早期的准确性　76 份早期感染者标本同时进行了抗体检测和核酸检测，其中抗体检测阳性 64 份，阳性率为 84.21%(64/76)；核酸检测阳性 72 份，阳性率为 94.74%(72/76)。在早期 HIV 感染者中，核酸检测阳性率高于抗体检测，差异有统计学意义($\chi^2=4.08$，$P<0.05$)。见表 2。

表 2　两种方法检测早期 HIV 阳性者的诊断情况(n)

抗体检测	核酸检测		合计
	+	−	
+	62	2	64
−	10	2	12
合计	72	4	76

2.3　抗体检测与核酸检测在 HIV 感染中晚期的准确性　48 份中晚期感染者标本同时进行了抗体检测和核酸检测，其中抗体检测阳性 47 份，阳性率为 97.92%(47/48)；核酸检测阳性 39 份，阳性率为 81.25%(39/48)。在中晚期 HIV 感染者中，抗体检测阳性率高于核酸检测，差异有统计学意义($\chi^2=4.90$，$P<0.05$)。见表 3。

表 3　两种方法检测中晚期 HIV 阳性者的诊断情况(n)

抗体检测	核酸检测		合计
	+	−	
+	38	9	47
−	1	0	1
合计	39	9	48

3　讨　论

抗体检测与核酸检测是诊断 HIV 感染的最常用方法，在 HIV 感染过程中，病毒 RNA 较抗体早出现约 1～2 周，通过检测可确定是否有早期感染[4]。急性感染 HIV 指的是初期的、快速广泛的免疫细胞破坏及 HIV 感染后，出现不受控制的病毒血症，这段时间通常持续约 4 周，在此期间 HIV 传染性最高[5-6]，感染者体内呈现一过性的高病毒血症状态，常无特异的临床表现，常规的抗体检测方法无法检出，容易被忽视而造成病毒的进一步播散。因此，在高危人群中采取有效的方法筛查 HIV 感染者，并给予早期干预和治疗，具有重要的临床和公共卫生学意义。近年来，在传统抗体检测技术的基础上，发展了用于 HIV 检测的核酸检测方法，并且已经被多种研究证实具有早期监测意义。

本研究在 HIV 早期感染者与中晚期感染者中，分别比较了核酸检测与抗体检测 HIV 的诊断准确性，结果显示：在 HIV 感染早期，核酸检测准确性高于抗体检测，而在 HIV 感染中晚期，抗体检测诊断准确性较高。既往研究表明，在高危人群中，核酸检测具有长远利益，但可能引起筛查成本增加[7]。而实际工作中需要结合患者的疾病分期及经济基础选择准确性较高的检测手段，必要时需要二者同时进行。

综上所述，核酸检测在 HIV 感染早期准确性高于抗体检测，而在 HIV 感染中晚期，抗体检测准确性较高，临床工作中可根据不同阶段选择合适的检测手段。

参考文献

[1] 张舒，黄文祥. 艾滋病暴露前预防的研究进展[J]. 中华临床感染病杂志，2014，7(1)：81-83.

[2] 胡文静，李伟华，闫惠平. HIV 实验室检测技术研究进展[J]. 北京医学，2012，34(6)：490-492.

[3] 汪敏，张洪波，王君，等. 男男性行为人群 HIV 感染者 CD4+T 随访检测与抗病毒治疗状况及影响因素分析[J]. 中华疾病控制杂志，2012，16(12)：1011-1014.

[4] 韩梅，冯连贵，蒋岩，等. 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[J]. 国际检验医学杂志，2011，32(11)：1185-1186.

[5] 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.

[6] Cohen MS, Shaw GM, Haynes BF, et al. Acute HIV-1 infection [J]. N Engl J Med, 2011, 364(20): 1943-1954.

[7] De Souza MS, Phanuphak N, Pinyakorn S, et al. Impact of nucleic acid testing relative to antigen/antibody combination immunoassay on the detection of acute HIV infection[J]. AIDS, 2015, 29(7): 793-800.

(收稿日期：2015-08-17)