

· 论 著 ·

太原市无偿献血者抗-HIV 结果确认和带型分析

陕柏峰,原维宇,冯 泽,张柳明
(山西省血液中心检验科,太原 030024)

摘要:目的 分析研究太原市无偿献血者人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体(抗-HIV)阳性标本的确认结果和带型。方法 采用蛋白印迹(WB)对 185 例初筛阳性献血者标本进行确认试验,采用 SPSS13.0 分析试验结果和带型。结果 确认阴性 128 例,不确定 15 例、阳性 42 例。确认阳性标本中,gp120、gp160、p24 带型阳性率为 100.00%,p31、p51 和 p66 阳性率均大于 90.00%。不确定标本中,p24 阳性率最高,有 12 例,占 80.00%;其次为 gp160,有 3 例,占 20.00%。随着 S/CO 值增大,带型出现率逐渐增高,最高为 S/CO 值>6.00 组($\chi^2=35.16, P=0.009$)。结论 HIV 筛查试验存在假阳性。确认阳性标本多为病毒感染期。初筛阳性标本必须进行追踪确认试验,确认其是否感染。

关键词:艾滋病病毒; 蛋白印迹; 确认试验; 带型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.21.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)21-3017-03

Analysis of the confirmation results and banding patterns of the HIV antibody of unpaid blood donors in Taiyuan City

SHAN Baifeng, YUAN Weiyu, FENG Ze, ZHANG Liuming

(Department of Clinical Laboratory, Shanxi Blood Center, Taiyuan, Shanxi 030024, China)

Abstract: **Objective** To analyze the confirmation results and banding patterns of the HIV antibody of unpaid blood donors in Taiyuan city. **Methods** Western blot was used to confirm the positive samples of 185 blood donors in primary screening. SPSS 13.0 analysis was used to analyze the experimental results and banding patterns. **Results** A total of 128 negative cases were confirmed, 15 cases were not confirmed and 42 cases were positive. The positive rates of banding patterns of gp120, gp160 and p24 were all 100.00%, and which of p51, p66 and p31 were all higher than 90.00%. In the undetermined samples, there were 12 positive cases of p24, which accounted for 80.00%, followed by gp160, 3 positive cases and accounted for 20.00%. With the increase of S/CO value, rates of banding patterns gradually increased, and the highest rate group was the S/CO higher than 6.00 ($\chi^2=35.16, P=0.009$). **Conclusion** There are some false positive results in the HIV screening test. The specimens which are confirmed positive are mostly in the virus infection period. Positive samples in primary screening must be conducted confirmed test so as to determine whether the cases are infected.

Key words: HIV; Western blot; confirmed test; banding patterns

目前,我国无偿献血者人类免疫缺陷病毒(HIV)检查方法主要有筛查和确认 2 种。无偿献血者血液标本必须经过筛查和确认试验才能确定是否感染 HIV。无偿献血是公益性服务,其发现 HIV 感染者的原因,一方面是患者自身被感染且不知情,另一方面可能其存在高危行为故意隐瞒但被发现。若感染 HIV 血液流向临床,将产生重大损失。由于众多检测方法对人类感染 HIV 均存在检测“窗口期”,易导致“漏检”现象发生,所以要求血液中心提高检测技术,并在献血者招募和征询中严格把关。因此,笔者对无偿献血者中确认 HIV 阳性标本进一步分析和研究,为血液安全提供理论基础,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 6 月至 2015 年 6 月山西省血液中心 185 例 HIV 抗体(抗-HIV)筛查结果为阳性的无偿献血者标本进行蛋白印迹(WB)确认研究。

1.2 方法 确认试验采用 WB 进行。试剂为 HIV 1+2 型抗体检测试剂盒(IMT HIV-1/2 Blot 确认试剂盒),严格参照试剂说明书进行试验。判断标准参考《全国艾滋病检测技术规范(2009 年版)》。确认试剂由上海英旻泰生物技术有限公司提供,经国家食品药品监督管理局注册并在有效期内使用。

1.3 统计学处理 采用 EXCEL 2003 进行录入,SPSS13.0 进行统计分析,计数资料采用%表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 初筛阳性标本确认结果及带型分布 185 例初筛阳性标本确认阴性 128 例(69.19%),阳性 42 例(22.71%),不确定 15 例(8.11%)。42 例阳性标本中 gp120、gp160、p24 带型阳性率为 100.00%,p31、p51、p66 和 gp41 阳性率均大于 90.00%。不确定标本中,p24 阳性率最高,有 12 例,占 80.00%;其次为 gp160,有 3 例,占 20.00%;gp41、p51、p31、p17 各 1 例,各占 6.67%。见表 1。

表 1 初筛阳性标本确认结果和带型分布[n(%)]

带型	阳性(n=42)	不确定(n=15)
Pol		
p31	39(92.86)	1(6.67)
p51	40(95.24)	1(6.67)
p66	40(95.24)	0(0.00)
Env		
gp120	42(100.00)	0(0.00)
gp160	42(100.00)	3(20.00)
gp41	1(2.38)	1(6.67)
gag		
p24	42(100.00)	12(80.00)
p55	20(47.62)	0(0.00)
p17	37(88.10)	3(20.00)
p39	2(4.76)	0(0.00)

注:Pol 为逆转录蛋白带;Env 为外膜糖蛋白带;gag 为核心带。

2.2 不同 S/CO 值标本的确认结果和带型分析 185 例初筛阳性标本中出现阳性带型共 57 例,其中有 40 例 S/CO 值大于 6.00,有 14 例 S/CO 值大于 1.00 且小于或等于 3.00,有 3 例 S/CO 值大于 3.00 且小于或等于 6.00。阳性带型出现率最高为 S/CO 值大于 6.00 组,不同 S/CO 值的 3 组间,带型出现率差异有统计学意义($\chi^2=35.16, P=0.009$)。见表 2。

表 2 不同 S/CO 值初筛阳性标本确认结果和带型分布[n(%)]

带型	>1.00~3.00 (n=14)	>3.00~6.00 (n=3)	>6.00 (n=40)
Pol			
p31	2(14.29)	1(33.33)	37(92.50)
p51	2(14.29)	1(33.33)	38(95.00)
p66	1(7.14)	1(33.33)	38(95.00)
Env			
gp120	1(7.14)	1(33.33)	40(100.00)
gp160	3(21.43)	1(33.33)	39(97.50)
gp41	1(7.14)	0(0.00)	0(0.00)
gag			
p24	12(85.71)	2(66.67)	40(100.00)
p55	0(0.00)	1(33.33)	19(47.50)
p17	3(21.43)	2(66.67)	35(87.50)
p39	0(0.00)	0(0.00)	2(5.00)

注:Pol 为逆转录蛋白带;Env 为外膜糖蛋白带;gag 为核心带。

3 讨 论

本次研究结果显示,185 例阳性标本中,确认阳性 42 例,真阳性比例为 22.71%,低于辽阳、遵义等地的报道^[1-2],高于长治、邯郸等周边地区的报道^[3-4]。这可能与本中心自 2014 年起缩小“灰区”设置,采用第 4 代酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂进行抗-HIV 筛查有关。科学制订“灰区”能有效减少假阳性发生,第 4 代 ELISA 试剂在检测传统抗体的同时,还能检测 p24 抗原,提高敏感性和特异性,但存在交叉反应等非特异性反应,仍有一定假阳性^[5]。

HIV 感染人体后,不同抗体在人体内产生的时间和作用并不相同。原发性抗体水平在感染后 2~4 周开始上升,3~6 个月后达到高峰并持续整个潜伏期。血清抗体种类包括中和抗体、抗-p24 和针对病毒不同组分的抗体。本次研究显示, WB 确证阳性者均为 HIV-1 型感染,全带型阳性为 41 例,占 97.62%;出现 8 条及以上带型者 19 例,占 45.24%。其中, gp160、gp120、p24 出现率为 100.00%, p31、p51、p66 带型出现率均大于 90.00%,与俞根龙等^[6]的报道相似。出现全带型提示患者正处于感染期,且其将持续整个潜伏期,表明本地区无偿献血者抗-HIV 阳性者多数处于感染期未进入获得性免疫缺乏综合征(AIDS)期。由于 HIV 结构蛋白水平、抗原性强弱和产生相应抗体时间不同,且不同个体对不同抗原成分的免疫应答强度存在差异,导致 WB 带型存在一定差异,但也预示了疾病感染的进展程度。本次研究阳性标本中,Env gp41 缺失率最高,有 41 例,占 97.62%。gp41 带作为外膜蛋白带,出现晚于 gp160 和 gp120 带,在病毒侵入靶细胞时才会大量存在。gag p55 带型缺失 22 例,占 52.38%。其可能因机体免疫功能严重受损,免疫应答能力减弱,使某些抗体产生量下降,缺失率增高,提示疾病进展速度较快^[7]。p31 缺失 3 例,占 7.14%,其

中 2 例为全带型,1 例仅出现 gag 基因表达的 p17、p24 和 Env 基因表达的 gp120 带型。p31 带型缺失可能预示患者为早期感染^[8],尤其是伴随 Env 区带型的缺失。此外,阳性标本中还有 2 例出现 p39 带,抗-p39 出现可能与不同人群的免疫力差异有关^[9]。

由于含有较 ELISA 试验更全面的 HIV 特异性抗原成分, WB 试验可以确定参与反应的抗原,广泛应用于 HIV 感染确认试验。但是,由于病毒抗体产生时间和试验敏感性等问题,该试验结果存在不确定性,需要进一步追踪确认。本次研究显示,15 例不确定结果中,p24 带型阳性率最高,为 80.00%;其次为 gp160 和 p17,为 20.00%,与前期报道相似^[10]。虽然有报道认为 gag 类大部分为非特异性反应^[11],但也有部分为感染早期患者,需要进一步追踪确认^[12]。而本次试验的不确定结果以 p24 带最多,需引起进一步重视。

本结果还对 S/CO 值和带型出现率的关系进行了研究,发现随着 S/CO 值增高,确认符合率逐渐增高,除 p24 和 gp41 外,其余带型出现率逐渐增高,表明随着病毒增殖活跃,机体产生的抗体水平逐渐增高,ELISA 和 WB 试验对抗体的检出率也逐渐增高。试验中有 5 例单试剂阳性标本(S/CO 值大于 6.00)和 2 例双试剂阳性结果(S/CO 值为 1.31、1.00、5.26、1.02)确认为阴性,2 例单试剂阳性(S/CO 值为 3.89 和 1.73)确认为阳性,表明并不能以初筛 S/CO 值判断是否感染,必须进行确认试验。

综上所述,山西省血液中心无偿献血者 HIV 筛查试验存在一定假阳性结果,HIV 阳性献血者多数处于感染期,随着初筛 S/CO 值增高,带型出现率逐渐增高,但须进行追踪确认试验,确认其是否感染。

参考文献

- [1] 魏薇. 辽阳市 2011~2013 年 HIV 抗体筛查实验室确证符合率分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(12): 1998-1999.
- [2] 赵明伍,田登菊,朱琳. 遵义市 2013 年 HIV 确认实验室检测结果分析[J]. 中国艾滋病性病, 2016, 22(1): 56.
- [3] 牛丽彬,杨涛,申玉丽. 长治地区无偿献血者 HIV 筛查与确证分析[J]. 医药与保健, 2015, 9(9): 257.
- [4] 魏淑梅,孙国栋,左志平,等. 2002~2013 年邯郸市无偿献血人群 HIV 筛查及确证情况分析[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(8): 856-858.
- [5] Muhlbacher A, Schennach H, Helden J, et al. Performance evaluation of a new fourth-generation HIV combination antigen-antibody assay [J]. Med Microbiol Immunol, 2013, 202(1): 77-86.
- [6] 俞根龙,李凤儿,叶智颖. HIV 抗体初筛阳性与免疫印迹试验结果对比性分析[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(12): 1592-1594.
- [7] 史晓林,王峰,刘双辉,等. 140 例 HIV-1 抗体阳性者 WB 带型及 CD4⁺T 细胞结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(11): 2600-2602.
- [8] Schupbach J, Bisset LR, Regenass S, et al. High specificity of line-immunoassay based algorithms for recent HIV-1 infection Independent of viral subtype and stage of disease [J]. BMC Infect Dis, 2011, 11(1): 254.
- [9] 钟敏,马莎,杨绍敏. 367 例 HIV-1 阳性样本 WB 确认结果的带型分析[J]. 检验医学与临床, 2012(20): 2529-2530.

续表 1 不同规格与病毒灭活血浆亚甲蓝残留量的关系

规格(mL)	抽检数量(n)	合格数量(n)	合格率(%)
125	86	82	95.35
150	57	49	85.96
175	43	35	81.39
200	49	44	89.79
250	45	44	97.78
合计	462	429	92.86

表 2 不同萃取小柱与亚甲蓝残留量的关系($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)

血浆标本编号	Waters Oasis 小柱	北京瑞尔达小柱
13024942	0.322±0.020	0.308±0.020
13053711	0.377±0.040	0.356±0.060
13075504	0.335±0.020	0.314±0.030
14012219	0.351±0.030	0.339±0.040
14023362	0.318±0.010	0.327±0.050
14045401	0.382±0.050	0.375±0.060
14063839	0.311±0.010	0.318±0.010
14075104	0.362±0.020	0.334±0.030
15011772	0.379±0.040	0.351±0.030
15022521	0.336±0.030	0.316±0.020
15024106	0.359±0.030	0.335±0.020
15035101	0.326±0.020	0.302±0.010
15050226	0.315±0.010	0.305±0.020
15061811	0.306±0.010	0.292±0.020
15097109	0.345±0.030	0.310±0.020

2.2 不同规格与病毒灭活血浆亚甲蓝残留量的关系 2012~2015 年常州地区病毒灭活血浆抽检规格分别为 75、100、125、150、175、200、250 mL,以检测结果小于 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 为合格。7 种规格的病毒灭活血浆亚甲蓝残留量测定结果中,规格为 150 mL、175 mL 和 200 mL 的病毒灭活血浆亚甲蓝残留量合格率较低,可能与本站根据血浆量选用相应规格的一次性病毒灭活血浆过滤器材有关,见表 1。

2.3 不同萃取小柱与亚甲蓝残留量的关系 取 15 例亚甲蓝残留量为 0.30~<0.40 $\mu\text{mol/L}$ 标本,分别采用 Waters Oasis 小柱和北京瑞尔达配套耗材小柱进行固相萃取,后采用 F4040 半自动生化仪检测其水平,平均测定 3 次。检测结果表明,Waters Oasis 小柱的吸附效果显著好于北京瑞尔达小柱。见表 2。

3 讨论

随着亚甲蓝光化学照射技术的发展,其相关应用越来越广泛,并被采供血机构中广泛采用。但是,过多的亚甲蓝进入体内会对机体产生一定毒性作用。因此,控制过滤前血浆亚甲蓝的水平及过滤后亚甲蓝残留量成为重要质量控制标准^[5-6]。

本站使用一次性病毒灭活过滤器有 2 种规格,即 01B 和 02B。01B 对应的血浆量为 170 mL 及 170 mL 以下,02B 对应的血浆量为 170 mL 以上;容量为 170 mL 左右的病毒灭活血浆冰冻血浆亚甲蓝残留量超标现象更为严重,建议厂家针对容量 150~200 mL,生产 1.5B 规格的一次性病毒灭活过滤器,可以有

效减少亚甲蓝残留量带来的潜在风险。本研究结合采供血机构血液质量抽检标准及本站病毒灭活血浆抽检情况,亚甲蓝残留量偏高原因可能有:(1)工作人员责任性不强造成。根据血浆量应选用相应规格的一次性病毒灭活血浆过滤器材。本站使用 1B 和 2B 规格。1B 对应的血浆量为 170 mL 及 170 mL 以下;2B 对应的血浆量为 170 mL 以上。工作人员在血浆称重分类时掌握不严,可能将 170 mL 及 170 mL 以下血浆袋放入 170 mL 以上的筐内。此外,净化室戳浆时,可能将 1B 的病毒灭活血浆过滤器材错拿成 2B。(2)光照结束后未及时过滤。有统计显示,分别在光照结束后 0 h、2 h、3 h 进行过滤比较,亚甲蓝残留量会逐渐升高,差异有统计学意义。(3)一次性病毒灭活血浆过滤器材本身存在质量问题,光照结束,挤压光照袋启动过滤后,使含亚甲蓝的血浆经过滤器自然流入血浆储存袋,当出现过滤不畅的情况时,不得不人为用力去挤压光照袋。

固相萃取是 1 种试样预处理技术,采用固体吸附剂将样品中的目标化合物吸附,使样品基体和干扰化合物分离,再用洗脱液洗脱,可分离和富集目标化合物。小柱在吸附过程中主要通过阻滞作用、表面张力、电荷排斥力来完成^[4]。

亚甲蓝光照血浆病毒灭活关键环节为:(1)新鲜冰冻血浆在 30~37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴箱中融化,融化时注意不要将冰冻血浆碰到水浴箱壁,为了减少融化时间应不断轻柔摇动血浆袋,但不能剧烈摇晃,以免产生大量泡沫。(2)病毒灭活柜内温度保持 2~6 $^{\circ}\text{C}$,每层光照达到血浆病毒灭活的效果。(3)灭活后血浆马上滤除亚甲蓝。总之,为降低病毒灭活血浆中亚甲蓝残留量,首先需要把握成分制备的关键控制点,加强工作人员责任心;其次,在抽检过程中严格按照操作规程确保检测结果的准确性,将血液的每一步环节把握到位,才能保障血液安全。

参考文献

- [1] Wagner SJ. Virus inactivation in blood components by photoactive phenothiazine dyes[J]. Transfus Med Rev, 2002,16(1):61-66.
- [2] 葛健民,柏则蓉,梁启忠,等.亚甲蓝光化学法病毒灭活前后血浆凝血因子等的质量分析[J].中国输血杂志,2012,25(8):750-751.
- [3] 周群刚,谢莲,方敏,等.基于阴离子型环糊精超分子包合物高灵敏荧光光度分光法检测血浆中残留亚甲蓝[J].中国药房,2014,6(6):519-521.
- [4] 李榕,陈火玲,钱献,等.亚甲蓝/光照法病毒灭活血浆的制备及应用评价[J].临床输血与检验,2013,15(1):4-7.
- [5] 黎添华,邢启明,劳丽嫦.亚甲蓝残留量在病毒灭活血浆中的限量检测方法[J].现代诊断与治疗,2014,25(7):1464-1465.
- [6] 梁启忠,葛健民,程玉根,等.病毒灭活血浆亚甲蓝残留量的检测及质量标准研究[J].国际检验医学杂志,2013,34(16):2148-2149.

(收稿日期:2016-02-21 修回日期:2016-05-18)

(上接第 3018 页)

- [10] 管改弟,李东,李向红.2012~2013 年太原市无偿献血人群 HIV 感染的流行病学调查[J].临床医药实践,2015(10):796-797.
- [11] 魏彬,丰姝,罗娅,等.2013 年 HIV 抗体免疫印迹试验确诊不确定结果分析[J].现代预防医学,2015,42(15):

2788-2792.

- [12] 朱荣华,向信春.37 例 HIV 不确定结果随访观察及 WB 带型分析[J].皮肤病与性病,2014,36(1):46-47.

(收稿日期:2016-04-11 修回日期:2016-06-22)