

• 短篇论著 •

207 例 HIV 抗体不确定标本的结果分析*

刘建礼, 肖利力, 张绍福, 焦艳丽

(海关总署(北京)国际旅行卫生保健中心, 北京 100013)

摘要:目的 分析人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体免疫印迹试验(Western blot)检测为不确定标本的结果特征,探究不确定结果的影响因素。方法 对 Western blot 试验检出的 207 例 HIV 抗体不确定标本从人群特征、条带阳性率、带型分布及随访复检结果进行分析。结果 1 295 例初筛阳性标本 Western blot 结果总不确定率占 15.9%,女性(20.5%)不确定率高于男性(13.9%),60 岁以上不确定率(26.0%)明显高于其他年龄。p24 条带阳性率最高,其中单独 p24 带型为 151 例,占 73.0%。31 例标本随访复检结果均为转阴或无进展。结论 HIV Western blot 不确定结果与性别和年龄有一定关系,与 p24 蛋白的非特异性反应是造成不确定结果的主要因素之一。

关键词:人类免疫缺陷病毒; 结果不确定; 蛋白质印迹法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.10.023

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2020)10-1245-03

文献标识码:B

人类免疫缺陷病毒(HIV)是引起艾滋病的病原体。HIV 感染者的早期发现是有效预防 HIV 传播的首要环节,血清 HIV 抗体检测是目前诊断 HIV 感染的重要手段。HIV 抗体检测包括筛查试验和确证试验^[1]。目前使用最广泛的的确证试验是免疫印迹试验(Western blot)。Western blot 试验的结果分为 HIV-1 抗体阳性、HIV 抗体阴性和 HIV 抗体不确定,对于 Western blot 试验不确定结果,一般建议 2~4 周后复查或进行病毒核酸检测。这无疑增加了实验室诊断的困难,同时给患者带来极大困扰。本研究对实验室近期出现 HIV 抗体 Western blot 试验不确定标本进行分析,探讨其影响因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 1 月至 2019 年 4 月北京市海淀区、石景山区 HIV 筛查实验室送检的 HIV 初筛阳性标本及本实验室检出的 HIV 筛查阳性标本共 1 295 例。病例来源主要包括医院门诊和住院患者、血液中心自愿献血者和海关出入境体检人员。

1.2 仪器与试剂 全自动蛋白印迹仪购自新加坡 MP 生物学亚太私人有限公司,型号 Autoblot System 20;HIV1+2 型抗体免疫印迹试剂盒购自新加坡 MP 生物学亚太私人有限公司。

1.3 方法 按照试剂说明书进行 Western blot 检测和结果判读,结果分为 HIV 抗体阴性、HIV-1 抗体阳性和 HIV 抗体不确定。(1)阴性:没有出现特异性条带或者只有 p17 抗体且没有其他条带;(2)阳性:检出 2 个 env(gp160/gp41 和 gp120)及任何 1 个 gag(p17、p24、p55),或检出 2 个 env(gp160/gp41 和 gp120)及

任何 1 个 pol(p31、p51、p66);(3)不确定:出现任何特异性条带,但不足以判定阳性。

1.4 统计学处理 用 Excel2007 进行数据录入和初步整理,用 SPSS13.0 进行统计分析,百分率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不确定标本的人群分布 本研究共对 1 295 例 HIV 初筛试验阳性标本进行了 Western blot 检测,结果为 HIV 抗体不确定有 207 例,占 15.9%。男女分别来看,1 295 例初筛阳性中,男性 885 例,Western blot 不确定 123 例,占 13.9%;女性 410 例,Western blot 不确定 84 例,占 20.5%。男性不确定率低于女性,差异有统计学意义($\chi^2=9.059, P<0.05$)。

1 295 例初筛阳性病例中,有 3 例年龄记录缺失,其余 1 292 例年龄范围为 2~100 岁,按年龄将初筛阳性病例分为 4 段进行分析,60~≤100 岁组不确定率最高,达到 26.0%;其次为<20 岁组。经统计学检验,60~≤100 岁组与其他年龄组相比,差异有统计学意义($\chi^2=14.816, P<0.05$)。见表 1。

表 1 不同年龄段病例的 Western blot 不确定标本

项目	<20 岁组	20~<40 岁组	40~<60 岁组	60~≤100 岁组
初筛阳性数(n)	68	695	356	173
Western blot 不确定数(n)	12	104	46	45
不确定率(%)	17.7	15.0	12.9	26.0

2.2 不确定标本的带型分布 Western blot 试验共检测分析 10 条 HIV 蛋白条带, gag 蛋白 p24 阳性率

* 基金项目:北京市科技计划项目(Z161100001116107)。

本文引用格式:刘建礼,肖利力,张绍福,等. 207 例 HIV 抗体不确定标本的结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(10):1245-1247.

最高,达 83.6%,其后阳性率超过 5%的条带依次为 env 蛋白 gp160(10.1%)、gag 蛋白 p17(8.2%)和 pol 蛋白 p66(5.8%),gag 蛋白 p39 在不确定结果中则从未出现。从带型组合来看,207 例不确定标本中共出现了 19 种 Western blot 带型,其中单独 p24 条带带型最多,为 151 例,占 72.9%,p24+p17 带型为 12 例,排第 2 位,含有 p24 的带型还包括 p24+gp160、p24+p66+gp160、p24+p51、p24+p31、p17+p24+p66、p17+p24+p31+p39 等带型,但数量都较少。env 蛋白 gp160 单独条带有 9 例,占 4.3%,gp160+gp120 为 6 例,占 2.9%。pol 蛋白 p66 单独条带 8 例,占 3.8%,单独 p51 条带 5 例,占 2.4%。见表 2、3。

表 2 不确定标本中 HIV 蛋白条带的阳性率

蛋白类型	条带名称	阳性数(<i>n</i>)	阳性率(%)
env	gp160	21	10.1
	gp120	7	3.4
	gp41	2	1.0
gag	p55	1	0.5
	p39	0	0.0
	p24	173	83.6
	p17	17	8.2
pol	p66	12	5.8
	p51	7	3.4
	p31	1	0.5

表 3 不确定标本中 Western blot 的带型分布

Western blot 带型	<i>n</i>	百分比(%)
p24	151	72.95
p24+p17	12	5.80
gp160	9	4.35
p66	8	3.86
gp120+gp160	6	2.90
p51	5	2.42
gp160+p24	4	1.93
p66+p24	1	0.48
p66+p17	1	0.48
p55+p51	1	0.48
p24+p66+gp160	1	0.48
p24+p51	1	0.48
p24+p31	1	0.48
p17+p24+p66	1	0.48
p17+p24+p31+p39	1	0.48
p17+gp41	1	0.48
gp41	1	0.48
gp160+p17	1	0.48
gp120	1	0.48

2.3 部分不确定病例的随访检测结果 207 例不确定标本中,对其中 31 例进行了 2 次随访检测,2 次检测间隔周期从 2~39 周不等。随访标本的带型包括 9

种,其中单独 p24 条带回访 19 例,15 例 2 次检测仍为 p24,5 例 2 次检测无条带。其余几种带型的 2 次随访结果与此类似,大部分随访检测中结果为无条带,少部分检测结果条带无进展:如 p24+gp160、p51 和 p66。见表 4。

表 4 31 例不确定标本的随访结果

带型	初次结果	随访结果
p24	19	15
p17+p24	1	0
gp160	1	0
p24+gp160	1	1
p24+p66+gp160	1	0
p51	2	1
p55+p51	1	0
p66	2	1
gp120+gp160	3	0

3 讨论

HIV 进入人体 1~3 个月后,人体免疫系统即产生针对 HIV 蛋白的各种特异性抗体,并在整个疾病的发展过程中持续存在,属于 HIV 感染的标志性抗体^[2]。Western blot 是当前使用最广泛的 HIV 确证试验,它把 HIV 蛋白经电泳分离后,转印在硝酸纤维素膜上,通过杂交染色来分别检测标本中所存在的 HIV 抗体。但是,由于标本的生物复杂性及免疫学反应的复杂性,Western blot 试验常常出现不确定结果。近年来,Western blot 检测为 HIV 抗体不确定的概率逐年上升^[3]。国内多数研究表明,HIV 初筛阳性标本中 Western blot 不确定结果的概率为 2%~15%^[4-7]。本研究中 1 295 例初筛阳性标本的 Western blot 不确定结果为 15.9%,较大多数研究数据偏高,推测可能源于以下两方面,(1)标本来源的复杂多样性:本研究中初筛 HIV 阳性标本大部分来源于三甲医院等大型医疗机构,北京医疗资源丰富,汇集了来自全国各地的患者,患者数量多,病种类型广泛,临床患者身体状况和免疫机能的多样性使 Western blot 检测更易出现免疫学交叉反应。(2)初筛检测方法的灵敏度:本研究中 HIV 筛查实验室使用的 HIV 初筛试验以化学发光法为主,其中以雅培、罗氏等国际知名厂商的第四代化学发光试剂为主。第四代发光法 HIV 筛查试剂具有更高的灵敏度^[8-9],灵敏度升高也导致初筛假阳性过高^[10-11],这些初筛假阳性在 Western blot 试验中也往往为不确定结果。

从 Western blot 不确定标本所出现的带型来看,gag 蛋白 p24 条带占据了主导地位,检出阳性率达到 83.6%,这一结果较多数研究报道的结果偏高^[12-13],并且单独 p24 带型的结果也偏高,占总不确定结果数量的 73.0%。另外,依据 MP 试剂说明书的判定规

则,单独的 p17 条带判为 HIV 抗体阴性,因此在本研究中有 19 例结果为单独 p17 带型没有纳入不确定标本中,只有 p17 与其他条带同时出现时(如 p17+p24),该标本结果才被判为不确定。因此,虽然在不确定标本中 p17 的阳性率为 8.2%,低于 env 蛋白 gp160 的 10.1%,但从总体标本的检出情况来看,gag 蛋白 p17 的阳性率仅次于 p24。研究表明,gag 区条带不确定与 HIV 感染的关系不大,尤其是单一条带可基本上为非特异反应^[14]。本研究随访检测中,19 例单独 p24 带型病例均为无进展或者条带消失,这表明,单独 p24 带型基本属于非感染性的非特异反应。当然,由于本研究中随访病例数及随访次数有限,尚不能完全排除单独 p24 带型的标本感染 HIV 的可能,也有研究报道单独 p24 带型随访发生阳转^[15]。综上所述,单一 p24 带型的不确定标本绝大多数为非特异性假阳性反应,但仍存在 HIV 病毒早期感染的较低可能。

关于造成 HIV Western blot 试验非特异性反应的因素,一般认为与受检者本身的身体状况(如自身免疫性疾病、肾衰竭、透析、类风湿因子)、妊娠、疫苗接种或其他病原体感染(如结核杆菌、疟原虫等)有关^[13]。本研究结果则显示,60 岁以上老年人出现不确定结果的概率要明显增大,说明年龄可能也是一个重要的影响因素,推测这可能与老年人体内免疫功能部分失衡,容易产生干扰性交叉抗体有关。

随着以化学发光法为代表的 HIV 初筛检测试剂检测灵敏度的升高,初筛假阳性、Western blot 不确定结果增多会越来越明显。这虽然有助于更早发现早期感染者,减少漏检概率,但不确定结果给实验室诊断带来困难,对医疗机构的后续诊疗措施造成困扰,也给受检者造成沉重的心理负担。在 2019 年 7 月 1 日开始实施的卫生行业标准《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断》中,核酸检测结果已经被正式作为 HIV 感染的诊断依据之一^[16]。对于 Western blot 不确定结果,尽早进行 HIV 核酸检测可能是最佳选择。

综上所述,HIV Western blot 试验不确定结果与受检者的性别和年龄有一定关系,p24 条带在不确定结果中占绝对优势,单独 p24 带型结果主要是非特异性反应。

参考文献

[1] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2015

年修订版)[S]. 北京:国家标准出版社,2015.

[2] 李敬云. 艾滋病检测方法与应用[M]. 北京:军事医学科学出版社,2005:30-31.

[3] 高敏,吴守丽,严延生. HIV 抗体不确定的影响因素及其检测方法的研究进展[J]. 中国艾滋病性病,2016,22(4):308-311.

[4] 殷方兰,钟培松,张永,等. HIV 抗体不确定结果影响因素的分析及对策[J]. 中国皮肤性病学杂志,2015,29(9):978-980.

[5] 楚承霞,赵山平,刘芳芳. HIV 抗体不确定标 158 例的结果及随访转归观察[J]. 检验医学与临床,2013,10(6):659-660.

[6] 孙琦,徐莉,张化江,等. 2011—2014 年威海市 HIV 抗体筛查阳性标本的确诊结果分析[J]. 中国艾滋病性病,2015,21(11):982-984.

[7] 孙茂利,王晓立,司虹,等. 大连市 512 份 HIV 抗体筛查阳性标本与确诊结果分析[J]. 预防医学论坛,2015,21(1):33-35.

[8] 陈苏苏,陈蕾,吴越人,等. HIV 血清抗体免疫学检测结果分析[J]. 检验医学与临床,2017,14(6):832-833.

[9] 吴春磊,李婧,邓安彦,等. ELISA 法和化学发光法在感染性免疫检查中的比较分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(16):2302-2304

[10] KIM S,LEE J H,CHOI J Y,et al. False-positive rate of a "fourth-generation" HIV antigen/antibody combination assay in an area of low HIV prevalence[J]. Clin Vaccine Immunol,2010,17(10):1642-1644.

[11] 张晓红,张倩,周学红,等. 雅培化学发光法在 HIV 筛查试验中假阳性分析[J]. 标记免疫分析与临床,2013,20(1):43-46.

[12] 张庆娟,张志坤,曹慧珍,等. 176 例 HIV 抗体不确定结果的带型分析[J]. 中国艾滋病性病,2017,23(1):13-16.

[13] 杨育红,陈杰毅,陈明春. 64 份 HIV 抗体不确定样品的检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(16):2354-2358.

[14] 马仲慧,陈兵,常浩. 非 HIV 感染者蛋白印迹试验不确定及假阳性结果的原因[J]. 中国艾滋病性病,2017,23(6):571-574.

[15] 沈俐,刘晓霞,傅更锋,等. 镇江市 2012—2015 年 HIV 抗体不确定者检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(16):2329-2331.

[16] 国家卫生健康委员会. 关于发布《淋病诊断》等 4 项强制性卫生行业标准的通告[J]. 中国卫生法制,2019,27(3):11.

(收稿日期:2019-12-25 修回日期:2020-02-19)