

参考文献

- [1] 付冬,马小艳,刘敏,等. 89 例慢性乙型肝炎妊娠妇女孕期肝功能异常的临床分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2014(4):556-560.
- [2] Zhang H, Pan CQ, Pang Q, et al. Telbivudine or lamivudine use in late pregnancy safely reduces perinatal transmission of hepatitis B virus in real-life practice[J]. Hepatology, 2014, 146(2):468-476.
- [3] Lefevre ML, Force UT. Screening for hepatitis B virus infection in nonpregnant adolescents and adults; US preventive services task force recommendation statement [J]. Ann Intern Med, 2014, 161(1):58.
- [4] 丁伯泉. 慢性乙型肝炎妊娠晚期 HBeAg 及 HBV DNA 对产后肝脏炎症的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(13):1881-1882.
- [5] 李纪凤,李玮. 孕妇乙型肝炎病毒感染对妊娠结局的影响分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(18):4619-4621.
- [6] Ayres A, Yuen L, Jackson KM, et al. Short duration of lamivudine for the prevention of hepatitis B virus transmission in pregnancy: lack of potency and selection of resistance mutations[J]. J Viral Hepat, 2014, 21(11):809-817.
- [7] Frambo AB, Atashili J, Fon PN, et al. Prevalence of HBsAg and knowledge about hepatitis B in pregnancy in the Buea Health District, Cameroon; a cross-sectional study [J]. BMC Res Notes, 2014, 7(1):1-7.
- [8] 高汇波,代振英. 妊娠合并乙型肝炎病毒感染对母儿结局的影响及相关因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(9):1841-1844.
- [9] 李飞凤,黄启涛,马思原,等. 慢性乙型肝炎孕妇 HBeAg 阳性与不良妊娠结局关系研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2016(7):680-684.
- [10] Fan L, Jr OK, Schillie SF, et al. Cost-effectiveness of testing hepatitis B-positive pregnant women for hepatitis B e antigen or viral load[J]. Obstetrics & Gynecology, 2014, 123(5):929-937.
- [11] Ezechi OC, Kalejaiye OO, Gabokafor CV, et al. Sero-prevalence and factors associated with Hepatitis B and C co-infection in pregnant Nigerian women living with HIV Infection[J]. Pan African Medical Journal, 2014, 17(17):197-197.
- [12] Lamberth JR, Reddy SC, Pan JJ, et al. Chronic hepatitis B infection in pregnancy[J]. World J Hepatol, 2015, 7(9):1233-1237.
- [13] 严彦,杨环文. 慢性乙型肝炎孕妇妊娠晚期凝血及纤溶指标的临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2016(21):4405-4408.
- [14] Bateman BT, Huybrechts KF, Fischer MA, et al. Chronic hypertension in pregnancy and the risk of congenital malformations: a cohort study[J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 212(3):e1-337.
- [15] 罗芳,费志医,白帆. 妊娠高血压综合征合并宫颈感染对妊娠结局及术后感染的影响分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(4):988-990.
- [16] 刘君红. 妊娠高血压疾病对妊娠结局的影响及防治对策[J]. 中国医药指南, 2015(36):44-44.
- [17] 陈林丽,赵莉萍. 对比不同程度妊娠高血压综合征的妊娠结局差异[J/CD]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2015(1):88-89.
- [18] Ferguson KK, McElrath TF, Mukherjee BA, et al. Associations between Maternal Biomarkers of Phthalate Exposure and Inflammation Using Repeated Measurements across Pregnancy[J]. PLoS One, 2015, 10(8):e0135601.
- [19] 彭志清,史秋兰,董春艳,等. 妊娠高血压患者 TNF- α 、IL-6、ET、NO 水平变化及意义[J]. 医学信息, 2014, 36(2):215-217.

(收稿日期:2016-12-04 修回日期:2017-01-26)

• 临床研究 •

抗-HIV 抗体筛查与免疫印迹试验两种检测方法的对比研究^{*}

杨芬兰¹, 穆廷杰², 陈 涛^{3△}

(1. 甘肃省临夏州中医医院 731100; 2. 甘肃省临夏州医院 7311003; 3. 甘肃省康复中心医院, 兰州 730000)

摘要:目的 探讨了酶联免疫吸附试验(ELISA)法和免疫印迹试验(WB)两种方法检测 HIV 抗体的准确性。方法 用 ELISA 方法检测了 7 291 例样本,对 41 例复测阳性的标本用 WB 法检测,分析两种方法检测结果的关系。结果 41 例阳性样本用 WB 法检测,共检出阳性样本 12 例(S/CO 平均值为 22.8);阴性结果 13 例(S/CO 平均值为 8.7),不确定结果 16 例(S/CO 平均值为 10.7)。阳性标本中 p55 条带出现的频率为 47.1%,p51 为 58.3%,其他均达到 75.0%以上。结论 筛查试验存在假阳性结果, HIV 抗体先筛查,后确证有利于提高 HIV 抗体检测结果的准确性。

关键词: HIV 抗体; 筛查; ELISA; 免疫印迹法

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 07. 030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)07-0948-03

艾滋病是发病病死率高,传染性强,传播范围广, 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], HIV

^{*} 基金项目:甘肃省循证康复研究中心“百千万”工程康复人才科研专项基金(GSXZKF-2016-01)。

[△] 通信作者, E-mail: 1467389532@qq. com。

传播的途径主要是血源性传播,其中临床输血是 HIV 传播及感染患者的重要途径之一,为保证临床输血的有效性和安全输血,降低因输血而导致的各种风险,采供血机构严格按标准流程实施防止经血液传播途径而感染 HIV 的任务是很艰巨的。为了能够早期诊断 HIV 感染,筛查试验非常重要,但目前的筛查技术仍无法避免假阳性结果的出现,这给实验室工作带来诸多不便^[2]。目前 HIV 的检测基本都是采用检测人体标本中抗-HIV 抗体的浓度为主,目前检测抗-HIV 抗体含量的方法主要有:斑点免疫胶体金试验(或胶体硒)法、免疫印迹试验(WB)法、酶联免疫吸附试验(ELISA)、放射免疫沉淀试验(RIP)、明胶颗粒凝集试验(PA)、免疫荧光试验(IFA)。目前我国 HIV 抗体检测规范要求抗 HIV 抗体筛查首选检测方法为 ELISA,抗 HIV 抗体确证试验为 WB 法,两种方法各有优缺点,对常规检测的这两种方法差异性进行对比分析,总结经验,为提高抗 HIV 抗体检测实验室质量控制很重要^[3-4]。本研究对用 7 291 份血液样本用 ELISA 法和 WB 法检测并对检测数据进行统计学处理与分析,以了解抗 HIV 抗体阳性标本 ELISA 与 WB 检测结果及方法之间的关系。

1 材料与方法

1.1 标本来源 7 291 例样本为 2011—2015 年临夏州中医医院和临夏州医院住院患者筛查抗 HIV 抗体的血液本。

1.2 检测试剂 抗-HIV 抗体初筛试验用抗 HIV-1/2 ELISA 法,成品试剂盒由英科新创厦门科技有限公司提供,复检试剂采用两个生产厂家生产的抗 HIV-1/2 酶联免疫吸附试验盒,配套试剂由北京金豪生物技术有限公司提供,确证试验送省疾病预防控制中心 HIV 确认实验实进行确认。

1.3 仪器 HAMILTON 全自动酶免疫分析仪、郑州安图 A2000 全自动化学发光分析仪,实验所需器材均经过计量校准合格。

1.4 方法 所有实验均严格按《全国艾滋病检测技术规范(2009 版)》操作^[3],第一次所有样本均用 ELISA 法试剂盒进行检测,S/CO 值平均为阴性结果者判读为抗-HIV 抗体阴性;抗-HIV 抗体筛查 S/CO 值平均结果为阳性时,同种试剂双孔复查结果均为阳性者,再用两家生产厂家生产的 ELISA 法检测试剂盒进行复检,试剂盒由北京万泰生物技术有限公司、珠海丽珠生物技术有限公司提供。两个厂家生产的试剂盒复检 2 次结果均为阳性及一次结果阴性,一次结果阳性时均用 WB 法进行确诊。

2 结果

2.1 两种方法检测结果的比较 ELISA 法(筛查试验)与 WB 法(确证试验)检测结果比较,30 例标本 ELISA 法筛查试验 2 次结果均呈阳性,对阳性的 30 份标本用 WB 法检测,确证试验检测结果为:10 例样本检测结果均为 HIV-1 抗体阳性;10 例样本检测结果为阴性反应,10 例样本检测结果不确定。2 次 ELISA 试剂盒检测结果一次结果为阴性一次结果为阳性的标本共 9 例,对 9 例标本用 WB 法检测结果为 2 例阳性结果,4 例判读为阴性结果,3 例判读为不确定结果。2 次用 ELISA 法检测结果呈阴性反应的 2 例,用 WB 法检测结果全部判读为结果不确定,见表 1。

2.2 WB 法与 ELISA 法 S/CO 值的比较 WB 法检测 HIV-1 抗体确认为阳性结果的标本共 12 份,ELISA 法检测结果 S/CO 均值为 14.3;11 份结果 S/CO≥6.0 占 91.70%(11/12),S/CO 计算值为 1.0~<6.0 的样本 1 份占 8.33%(1/12);WB 法检测 HIV-1 抗体结果 16 例样本为不确定,对 16 份不确定样本用 ELISA 法检测,S/CO 均值为 5.9,5 份结果 S/CO≥6.0 占 31.25%(5/16),9 份结果 S/CO 值在 1.0~<6.0,占 56.25%(9/16),2 份结果 S/CO 值<1.0,占 12.50%(2/16);13 份抗 HIV-1 抗体确认为阴性的标本,S/CO 均值为 5.0,7 份结果 S/CO 值≥6.0,占 53.85%(7/13),6 份结果 S/CO 在 1.0~<6.0,占 46.15%(7/13),见表 2。

表 1 WB 与 ELISA 法检测结果的比较[n(%)]

| ELISA | 标本数 | WB | | |
|----------|-----|----------|----------|----------|
| | | P(%) | N(%) | ID(%) |
| 复检 2 次阳性 | 30 | 10(33.3) | 10(33.3) | 10(33.3) |
| 复检一阴一阳 | 9 | 2(22.2) | 4(44.4) | 3(33.3) |
| 复检 2 次阴性 | 2 | 0(0.0) | 2(100.0) | 0(0.0) |

表 2 WB 法与 ELISA 法 S/CO 值结果的比较

| WB | ELISA | | | S/CO 平均值 |
|---------|----------|----------|-----------|----------|
| | <1.0 | 1.0-6.0 | ≥6.0 | |
| 12 份阳性 | 0(0.00) | 1(8.33) | 11(91.70) | 14.3 |
| 16 份不确定 | 2(12.50) | 9(56.25) | 5(31.25) | 5.9 |
| 13 份阴性 | 0(0.00) | 6(46.15) | 7(53.85) | 5.0 |

表 3 WB 法阳性与不确定结果反应条带

| 条带 | env | | | pol | | | gag | | |
|-------|-----------|-------|------|------|------|------|------|-------|------|
| | gp17 * 20 | gp120 | gp41 | p66 | p51 | p31 | p55 | p24 | p17 |
| 阳性 | | | | | | | | | |
| n | 12 | 9 | 9 | 9 | 7 | 9 | 5 | 12 | 9 |
| 比例(%) | 100.0 | 75.0 | 75.0 | 75.0 | 58.3 | 75.0 | 41.7 | 100.0 | 75.0 |
| 不确定 | | | | | | | | | |
| n | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 2 |
| 比例(%) | 62.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 37.5 | 12.5 |

注:(1)env 外膜糖蛋白带:gp160, gp120, gp41;(2)pol 逆转录酶蛋白带:p66, p51, p31;(3)gag 核心蛋白带:p55, p24, p17;比例为百分数=相应条带数/确证阳性数(不确定数)×100。

2.3 在 WB 确证试验结果中阳性与不确定结果反应条带情况 在 WB 确证试验结果阳性条带中, gp160、p24 出现概率最高,达 100.0%,其次为 gp120、gp41、p66、p31、p17 均为

75.0%,p51 为 58.3%,最少是 p55 为 41.7%。在 WB 确证试验结果不确定条带中, gp160 出现频率最高,达 62.5%;其次为 p24 的 37.5%,p17 为 12.5%;未出现其他条带,见表 3。

3 讨 论

3.1 根据 2009 版的《全国艾滋病检测技术规范》的标准和规范要求^[3],目前我国现在执行的抗 HIV 抗体检测流程为先用初筛试验过筛、过筛实验阳性或可疑时再进行双孔双试剂盒复检,如复检结果仍为阳性或可疑时再送批准的确证实验室进行确证试验后再确认结果。本组研究结果提示,41 例抗-HIV 抗体筛查阳性标本用确证试验 WB 法,其中 12 例经 WB 法确认为阳性反应结果(均为抗-HIV-1 抗体阳性),13 例证实为阴性反应结果,16 例证实为结果不确定。结果分析提示筛相试验 ELISA 法检测抗-HIV 抗体的结果与 WB 法确认试验结果比较存在不符合的情况,ELISA 法还存在一定的非特异性,尤其是再 2 次用 2 家不同试剂厂家的 ELISA 检测试剂盒复检出现结果呈现 1 次阴性一次阳性时这种非特异性较明显,WB 法确认试验能够排除假阳性结果,还能对筛查实验结果进行复核确证,因此抗-HIV 抗体阳性结果的判定应以 WB 法确认试验的结果为最终确认结果。

3.2 本组实验结果提示,ELISA 法检测 S/CO 比值越高,筛查实验结果阳性与确证试验结果阳性的符合率也呈现越高的情况,但是 ELISA 法检测 S/CO 比值较高的样本并不能说明已感染 HIV。本组研究中 23 份 ELISA 法检测 S/CO ≥ 6 的标本,经 WB 法确认试验确认为阳性反应的标本仅为 11 份,两种方法的阳性符合率仅为 47.8%;ELISA 法检测结果在 $1 \leq S/CO < 6$ 范围内的样本,WB 法确认试验阳性反应结果的符合率为 6.7%,WB 法检测呈现不确定结果达 61.0%,这与多篇报道 S/CO 比值在 1.0~6.0 的均为阴性不一致^[4-5];还有 2 份经 ELISA 法检测复检为阴性反应的样本,经 WB 法确认试验确认为阴性。《全国艾滋病检测技术规范》中要求的替代策略 I 和 II 都以 ELISA 检测结果的 S/CO > 6.0 作为替代策略的首要判断标准,但本组实验结果提示不应以 ELISA 检测结果 S/CO > 6.0 来替代确证试验阳性报告,应该将所有以 ELISA 筛查阳性的标本均经过 WB 法确认试验进行最终结果的确认。

3.3 导致抗-HIV 抗体筛查试验 ELISA 法出现假阳性反应结果的原因可能有以下几种情况:(1)可能存在有些传染病病原体与 HIV 某些抗原决定簇有交叉反应的情况而干扰了实验的准确性。(2)因有些标本存在脂血、溶血、微生物污染等现象影响试验结果,增加了抗-HIV 抗体检测结果的假阳性率,因而 HIV 实验室人员应严格执行标本采集,保存流程,拒绝接受不合格标本进行检测,可减少假阳性率的发生^[6]。

3.4 WB 法与 ELISA 法相比较,WB 法检测结果的特异性高,确证试验结果提示结果不确定通常与 HIV 感染窗口期、进展终末期以及生物学假阳性有关,WB 法对筛查试验不确定结果的判定仍存在的问题^[7-8],本研究用筛查试验 ELISA 法检测出 41 例结果为不确定结果,对 41 份标本用 WB 法检测结果呈现不确定的也有 16 份,占 39.0%(16/41)。此外,本研究中还存在 2 份复检为阴而确证试验为不确定的样本。抗-HIV 抗体检测结果呈现不确定的原因可能为:HIV 早期感染和非特异反应,其中非特异反应导致检测结果不确定的比例大^[9]。目前 WB 法确认试验试剂盒中所使用的抗原为大多为全病毒抗

原裂解液,可能含有病毒赖以生存的宿主细胞成分,而导致实验结果的不确定性增加。目前国外已使用重组蛋白和合成肽作为抗原,大大减少了非特异性不确定结果的产生^[10]。

3.5 再 ELISA 法检测的基础上,增加核酸检测。可以明显提高抗-HIV 抗体检测的灵敏度,缩短窗口期,窗口期成为导致检测漏检并威胁血液安全的主要原因^[11],在 HIV 感染早期核酸检测的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,因此大力普及推广核酸检测技术,提高抗-HIV 抗体检测的准确度非常重要^[12]。

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] 吴志奇,黄慧青,陈丹,等. 第 3 代 HIV ELISA 诊断试剂初筛试验假阳性原因分析[J]. 检验医学与临床杂志,2015,12(19):2937-2939.
- [3] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范[S]. 北京:中国疾病预防控制中心,2009.
- [4] 邓荣婧,颜淑妩,周凌,等. 19 份初筛抗 HIV 阳性而确证为阴性或不确定的标本结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(9):2030-2031.
- [5] 范文成,汪学纯,贾曙光,等. 绵阳市献血者抗 HIV 筛查与确证结果分析[J]. 中国输血杂志,2013,26(4):375-376.
- [6] 郑艳丽,夏银祥,张晓琦. 初筛抗 HIV1+2 阳性而确认阴性标本的分析[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(11):2020-2021.
- [7] Temkin E, Marsiglia VC, Hague C, et al. Screening for a cute human immunodeficiency virus infection in Baltimore public testing sites[J]. Sex Transm Dis,2011,38(5):374-377.
- [8] 周雯婧,任智晶,叶震璇,等. 贵州地区 2013—2015 年 HIV 抗体筛查及确证结果分析[J]. 检验医学与临床杂志,2016,13(15):2141-2143.
- [9] Re MC, Schiavone P, Bon I, et al. Incomplete IgG response to HIV-1 proteins and low avidity levels in recently converted HIV patients treated with early antiretroviral therapy[J]. Int J Infect Dis,2010,14(1):22.
- [10] 程红革,付春云,李钰,等. HIV 现行诊断规程中存在的问题及建议[J]. 吉林医学,2012,33(36):7999-8001.
- [11] 高峰. 临床输血与检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:13-14.
- [12] 侯海燕,燕清丽,刘靓,等. 核酸检测与抗体检测在 HIV 感染中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(23):3431-3432.

(收稿日期:2016-09-08 修回日期:2016-11-09)