

论著 · 基础研究

2 种酶联免疫试剂和核酸同步筛查 HIV 的策略评价

陈 敏,王 芳,阳禄平,黄秀琳,汤耕耘,李 维[△]
(重庆市血液中心,重庆 400015)

摘 要:**目的** 评价酶联免疫法(ELISA)第三代试剂、第四代试剂和核酸同步检测无偿献血者人类免疫缺陷病毒(HIV)的检测策略。**方法** 采用 1 种第三代、1 种第四代 ELISA 试剂和 1 种核酸检测试剂分别对 2016 年 1 月至 2017 年 6 月无偿献血者血浆样本进行平行检测。初筛结果为反应性的标本送检至确证实验室,采用免疫印迹法(WB)进行 HIV-1 抗体确证。**结果** 第三代抗-HIV 诊断 ELISA 试剂与 WB 的阳性符合率为 72.11%;第四代抗-HIV 诊断 ELISA 试剂与 WB 的阳性符合率为 37.06%;核酸检测与 WB 的阳性符合率为 93.04%;3 种方法同步检测与 WB 的阳性符合率为 100.00%。**结论** 使用 ELISA 第三代与第四代 HIV 筛查试剂和核酸同步检测可以提高筛查无偿献血者 HIV 的能力,降低经血传播 HIV 的风险。

关键词:酶联免疫检测; 病毒核酸检测; 人类免疫缺陷病毒; 检测策略
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.004 **中图法分类号:**R446.6
文章编号:1673-4130(2018)20-2481-03 **文献标识码:**A

Evaluation of blood screening strategy of HIV with 2 enzyme-linked immunosorbent assay reagents and nucleic acid test
CHEN Min, WANG Fang, YANG Luping, HUANG Xiulin, TANG Gengyun, LI Wei[△]
(Chongqing Blood Center, Chongqing 400015, China)

Abstract:**Objective** To evaluate the blood screening strategy of human immunodeficiency virus (HIV) in voluntary unpaid blood donors with third generation, fourth generation reagents enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) reagents and nucleic acid test. **Methods** One third generation anti-HIV ELISA reagent, one fourth generations HIV antigen-anti-HIV co-diagnose ELISA reagent and one viral nucleic acid test reagent were used for detecting the plasma samples of blood donors in parallel. The samples which considered reactive results of the screening test were confirmed by the Western blot (WB). **Results** The positive rate of third generation anti-HIV diagnostic ELISA reagent and WB was 72.11%, the positive rate of fourth generation anti-HIV diagnostic ELISA reagent and WB was 37.06%, the positive rate of nucleic acid detection and WB was 93.04%, while the positive coincidence rate between the three methods of synchronous detection and WB was 100.00%. **Conclusion** The use of synchronous detection of the third and fourth generation HIV screening reagents and nucleic acid detection can improve blood donation screening ability of HIV, and reduce the risk of transfusion transmitted HIV.

Key words: enzyme-linked immunosorbent assay; virus nucleic acid test; human immunodeficiency virus; blood screening strategy

目前,国内人类免疫缺陷病毒(HIV)感染形势严峻,出现由高危人群向低危人群蔓延的趋势,且血液是 HIV 传播的重要途径之一,如何在无偿献血人群中筛选出 HIV 感染者,防止 HIV 经血传播是采供血机构面临的一项艰巨任务。HIV 感染可引起获得性免疫缺陷综合征(AIDS),主要侵犯感染者的免疫系统。《血站技术操作规程》(2015 版)提出的血液 HIV 筛查策略包括^[1]:实施核酸检测试剂批签发之前, HIV、乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)感染标志物应采用 2 遍血清学检测和 1 遍核酸检测,血清学检测应采用 2 个不同生产厂家的试剂;实施核酸检测试剂批签发之后, HIV、HBV 和 HCV 感染标志物应采用核酸和血清学检测 2 种方法各进行 1 次检测。不同的检测策略可能会有不同的检测效果。

作者简介:陈敏,女,技师,主要从事血液和输血研究。 [△] 通信作者,E-mail:liwei0111@163.com。
本文引用格式:陈敏,王芳,阳禄平,等.2 种酶联免疫试剂和核酸同步筛查 HIV 的策略评价[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(20):2481-2483.

本文通过比较三种检测方法筛查阳性结果,评价采用第三代试剂、第四代试剂和核酸检测同步检测无偿献血者样本 HIV 的检测策略。

1 材料与方法

1.1 材料 2016 年 1 月至 2017 年 6 月重庆市血液中心 HIV 初筛结果为反应性的无偿献血标本 322 例。

1.2 试剂与仪器 第三代 HIV 抗体诊断试剂盒(ELISA 法)(上海科华生物工程股份有限公司, KH);第四代 HIV 抗原抗体诊断试剂盒(ELISA 法)(美国 Bio-Rad 公司, BR)。HBV、HCV、HIV(1 型)核酸检测试剂盒(Procleix Ultrio Assay, 西班牙 Grifols 公司)。所有试剂均经批批检合格,并在有效期内使用。全自动加样系统(STAR, 瑞士 HAMILTON 公司),全自动酶免后处理系统(FAME24/30, 瑞士 HAMILTON 公司),全自动核酸检测分析系统(TIGRIS, 西班牙 Grifols 公司)。

1.3 方法 采用 1 种第三代抗-HIV 诊断 ELISA 试剂、1 种第四代 HIV 抗原抗体联合诊断 ELISA 试剂和 1 种核酸检测试剂对无偿献血者血浆样本进行平行筛查。初筛反应性标本送检至艾滋病确证实验室进行免疫印迹法(WB)HIV-1 抗体确证试验。所有样本的检测及结果均按照检测试剂说明书判定。

2 结 果

2.1 322 例 HIV 初筛为反应性的标本初筛及确认结果 322 例 HIV 初筛反应性标本中, WB 确证结果为 HIV-1 抗体阳性 107 例, 不确定 43 例, 阴性 172 例。2 例核酸检测为反应性, 两种酶免试剂检测均为非反应性, 确证结果 1 例为阳性, 1 例为不确定性。见表 1。

表 1 322 例 HIV 初筛为反应性的标本初筛及确认结果				
KH	BR	核酸检测	WB	n
+	+	+	+	106
+	+	+	±	6
+	+	-	-	1
+	-	-	-	24
+	-	-	±	10
-	+	-	-	147
-	+	-	±	26
-	-	+	+	1
-	-	+	±	1

注: +表示初筛反应性或者确证阳性, -表示初筛非反应性或者确证阴性, ±表示确证不确定性

2.2 3 种方法初筛反应性样本确认结果的比较 见表 2。

2.3 初筛反应性与确认结果之间的符合率 3 种方

法初筛反应性与确认结果之间的符合率: 核酸检测为 93.05%, BR 为 37.06%, KH 为 72.11%。3 种方法同步检测的符合率为 100.00%。

表 2 3 种方法初筛反应性样本确认结果比较(n)			
确认结果	BR	KH	核酸检测
+	106	106	107
-	148	25	0
±	32	16	8

注: +表示确证阳性, -表示确证阴性, ±表示确证不确定性

3 讨 论

血液筛查的效果受多种因素的影响, 其中最重要因素之一是血站所选择的筛查策略是否适宜^[2]。2015 版《血站技术操作规程》已经规定了我国血液 HIV 筛查策略, 血站在国家实施核酸试剂批签发之后可以选择“1 遍酶免+1 遍核酸”的检测模式^[1]。本研究结果中, 322 例初筛反应性标本中, 有 2 例核酸检测反应性, 2 种酶免试剂检测均为非反应性, 确证结果 1 例为阳性, 1 例为不确定性, 随访 1 个月后第 2 次抽血, 献血者两种 ELISA 试剂检测结果均为反应性, WB 确证结果为阳性。说明核酸检测应用于献血者血液筛查可以有效降低输血传染性残余风险, 进一步保障输血安全^[3-4]。

国内许多血站在新的检测策略出台之前采用的两遍酶免方法为“1 遍第三代试剂+1 遍第四代试剂”^[5], 在减掉一遍酶免试剂时必然会遇到减哪种试剂的问题。有研究表明第四代试剂检测灵敏度优于第三代试剂^[6]。同时, 有研究比较了第三代试剂、第四代试剂及核酸检测方法在男男性行为人群(MSM)中筛查 HIV 的应用, 认为第四代试剂在发现早期 HIV 感染者方面优于第三代试剂, 有必要将第四代试剂作为高危人群筛查的首选试剂^[7]。也有研究认为第四代试剂固相载体上同时包被 HIV 抗原和抗 p24 的单克隆抗体, 而载体表面积是固定的, 包被到载体上的抗原和抗体的量会受到限制, 从而造成抗体与抗原检测之间有干扰现象^[8-9]。

本研究结果表明, 第三代国产抗-HIV 诊断 ELISA 试剂与 WB 的阳性符合率为 72.11%; 第四代国产抗-HIV 诊断 ELISA 试剂与 WB 的阳性符合率为 37.06%, 说明酶免第三代与第四代 HIV 筛查试剂均存在一定的假反应性, 且第四代试剂假反应性率更高。但是, HIV 第四代检测试剂比第三代检测试剂有着更高的灵敏度, 可缩短 HIV 检测的窗口期, 应用第四代 ELISA 检测试剂可提高 HIV 的检出率^[10]。因此在血液筛查过程中, 可能面临处于抗-HIV 检测窗口期而 HIV 抗原可查的 HIV 感染标本, 这部分标本

可以通过 HIV ELISA 第四代试剂检测出来^[11]。

核酸检测与 WB 的阳性符合率为 93.04%。虽然试验结果显示血液筛查 HIV 项目核酸检测的 HIV 阳性符合率远比 ELISA 检测结果高,但血液筛查中核酸检测并不能完全代替 ELISA 检测,不能因为增加了核酸检测而忽略了对 ELISA 检测的质量管理和控制,因为核酸检测也存在自身的缺陷。例如,对于 HIV 精英控制者^[12](抗-HIV ELISA 反应性、核酸检测非反应性,但 WB 抗-HIV 确证阳性)和 HIV 基因变异的携带者^[13]就可能造成核酸检测漏检,而 ELISA 检测可以与核酸检测形成很好的互补。

3 种方法同步检测与 WB 的阳性符合率为 100.00%。表明使用酶免第三代与第四代 HIV 筛查试剂和核酸同步检测可以有效地避免 HIV 窗口期及精英控制者的漏检,提高筛查无偿献血者 HIV 的能力,降低经血传播 HIV 的风险^[14]。

4 结 论

本文的局限在于仅采用了 WB 一种方法对初筛反应性标本进行确证,确认结果存在较多的不确定结果,这些血液是否具有传染性还需多次跟踪来证明检测结果是否为真阳性^[15],但至少说明这些血液可能存在感染用血者的潜在风险。因此,采用第三代试剂、第四代试剂和核酸同步检测的策略能够提高筛查无偿献血者 HIV 的能力,降低经血传播 HIV 的风险。建议选择“1 遍酶免+1 遍核酸”的检测模式时,应对选用的试剂做严格评估。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 国家卫生计生委关于印发血站技术操作规程(2015 版)的通知 [EB/OL]. 2015-12-17 [2018-04-11]. <http://www.nhfp.gov.cn/zygi/s7658/201512/d9c61cbe48c14b88ab82ebae72036223.shtml>.

[2] 周国平,王迅,任亚娜,等. 血液筛查策略的选择要因地制宜[J]. 中国输血杂志,2015,28(1):108-110.

[3] 王迅. 采供血机构开展血液病毒核酸检测的条件及意义

[J]. 中国输血杂志,2008,21(11):825-826.

[4] 曾劲峰,郑欣,许晓绚. ELISA 检测与 NAT 在血液筛查应用中的互补性研究[J]. 中国输血杂志,2012,25(10):1012-1014.

[5] 王胜蓝,吉克春农,魏禄川,等. 开展核酸检测后凉山地区献血者 HIV/HBV/HCV 筛查策略探讨[J]. 中国输血杂志,2016,29(7):679-681.

[6] 梁启忠,掌友湖,程玉根. 第 4 代与第 3 代 HIV 检测试剂质量比较[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2010,23(3):356-358.

[7] 于茂河,柳忠泉,夏建晖,等. 两代酶联免疫试剂在男男性行为人群 HIV 检测中的应用[J]. 中国艾滋病性病,2012,18(4):242-244.

[8] 冯健亮,翁远桥,陈日明,等. 2 种酶联免疫试剂筛查血液抗-HIV 应用比较[J]. 中国输血杂志,2012,25(6):568-569.

[9] 许四宏,李秀华,宋爱京,等. 第 4 代 HIV 抗原抗体联合检测试剂的评价[J]. 中国输血杂志,2006,19(3):188-191.

[10] 程绍辉,赵璇,周宁,等. 采用四代试剂结合核酸检测方法早期发现 HIV 感染者的检测策略[J]. 中国艾滋病性病,2015,21(5):358-360.

[11] 薛文颖,王瑞丽,许丹,等. 沧州血站筛查抗-HIV 的两种 ELISA 试剂质量的评估[J]. 河北医药,2014,36(13):2046-2047.

[12] 王丽梅,池泉,林授,等. 无偿献血者 HIV 检测和归队情况分析[J]. 中国输血杂志,2017,30(8):901-903.

[13] 黄力勤,查祎,姚凤兰,等. 无偿献血人群 HIV 检测结果多样性分析[J]. 中国输血杂志,2016,29(5):505-508.

[14] 余瑾,毕昊,陆华新,等. 核酸检测技术在酶联免疫吸附法漏检 HIV 和 HBV 血样筛查中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(8):964-965.

[15] 李玲,牛丽彬,朱邵汶,等. 中国采供血机构抗-HIV/HIV 核酸筛查阳性献血者确证策略研究[J]. 中国输血杂志,2015,28(9):1118-1121.

(收稿日期:2018-02-20 修回日期:2018-05-12)

(上接第 2480 页)

MAREŠ J, et al. Clusterin CSF levels in differential diagnosis of neurodegenerative disorders[J]. J Neurol Sci, 2016,361:117-121.

[22] THAMBISETTY M, BEASON-HELD L L, AN Y, et al. Alzheimer risk variant CLU and brain function during aging[J]. Alzheimers Dement, 2013,73(5):399.

[23] CAI R, JING H, JIE S, et al. Plasma clusterin and the CLU gene rs11136000 variant are associated with mild cognitive impairment in type 2 diabetic patients[J]. Front Aging Neurosci, 2016,8:179.

[24] YU J T, LI L, ZHU Q X, et al. Implication of CLU gene polymorphisms in Chinese patients with Alzheimers disease[J]. Clin Chim Acta, 2010,411:1516-1519.

[25] DU W, TAN J, XU W, et al. Association between clusterin gene polymorphism rs11136000 and late-onset Alzheimer's disease susceptibility: a review and meta-analysis of case-control studies[J]. Exp Ther Med, 2016,12(5):2915-2927.

(收稿日期:2018-02-27 修回日期:2018-05-18)