

· 调查报告 ·

医院患者 HIV 抗体筛查阳性与免疫印迹试验结果对比分析

谭 兵, 詹廷西, 李 青, 李 成, 吕 莉, 邢 燕, 张国珍[△]

(重庆医科大学附属第一医院输血科 400016)

摘要:目的 对比分析 HIV 抗体筛查试验与免疫印迹试验结果, 探讨抗体筛查阳性结果与确证结果之间的关系。方法 参照《全国艾滋病检测技术规范》要求, 对 HIV 抗体初筛阳性标本采用免疫印迹试验进行确证。结果 287 份筛查阳性标本经 WB 确证后, 251 例为 HIV-1 型抗体阳性(87.46%), 16 例不确定(5.57%), 20 例阴性(6.97%)。ELISA、胶体硒法与 WB 试验的阳性符合率分别为 89.96% 和 90.29%。WB 试验阳性、不确定和阴性标本的 EIISA 平均 S/CO 值分别为 16.93、6.996 和 5.568。S/CO 值大于或等于 1 而小于 6, 与确证试验阳性符合率为 18.75%; 大于或等于 6 而小于 10, 阳性符合率为 69.23%; S/CO 值大于或等于 10, 阳性符合率为 97.05%。确证为 HIV-1 型抗体阳性的标本, gp160、gp120、gp41、p66、p51、p24 出现频率都在 95% 以上。结论 筛查试验存在一定假阳性结果, 随着 S/CO 值的增高, 与确证试验的阳性符合率也升高, 但是高 S/CO 值样品并不代表感染 HIV, HIV 抗体结果报告必须以 WB 结果为准。WB 确证方法在不确定标本中存在一定缺陷。

关键词: HIV 抗体; 酶联免疫吸附测定; 免疫印迹法

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.28.021

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)28-2862-03

Comparative analysis of HIV antibody screening positive and western blot test results in hospital patients

Tan Bing, Zhan Tingxi, Li Qing, Li Cheng, Lv Li, Xing Yan, Zhang Guozhen[△]

(Blood Transfusion Department, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective Comparing and analyzing the HIV antibody screening positive results and Western Blot test results, to study the relationship between screening positive results and Western Blot results. **Methods** According to the "National Guideline for Detection of HIV /AIDS", positive samples screened by HIV antibody screening test were confirmed by Western Blot test. **Results** Among 287 positive samples tested by primary screening test, 251 samples were confirmed to be positive(87.46%), 16 samples indeterminate(5.57%) and 20 samples negative(6.97%) by WB test. The positive coincidence rates of ELISA/Electroselenium method and WB were 89.96% and 90.29% respectively. The mean value of S/CO were 16.93, 6.996 and 5.568 in confirmatory positive group, indeterminate group and negative group, respectively. When the S/CO value of the positive samples screened by ELISA equal to or more than 1 and less than 6, 18.75% were confirmed by WB, and when equal to or more than 6 and less than 10, 69.23% were confirmed by WB, and when more than 10, 97.05% were confirmed by WB. The appearance rate of gp160, gp120, gp41, p66, p24 reactive bands were all over 95% in WB confirmed HIV-1 antibody positive samples. **Conclusion** With the S/CO values increased, the positive coincidence rate of ELISA and WB increased, but ELISA results with high S/CO values does not certainly mean HIV infection. The final HIV antibody test results must be confirmed by WB test as some false positives do exist in the screening test. WB test has limitation in indeterminate samples.

Key words: HIV antibodies; enzyme-linked immunosorbent assay; immunoblotting

艾滋病是我国重点防治的重大传染病。艾滋病病毒(HIV)抗体检测是艾滋病防治工作的基础。我国现行艾滋病抗体检测程序是先初筛(筛查和复检)再确证。初筛是采用高敏感性筛查试剂最大限度地发现所有 HIV 抗体阳性者, 目前我国常用的是酶联免疫试验(ELISA)和快速检测试剂; 确证则须用高特异性方法和试剂纠正所有假阳性标本, 得出正确结论, 常用免疫印迹试验(WB)。为了解筛查阳性标本与确证结果之间的关系, 现将本院近 7 年 287 例初筛阳性与确认试验结果对比分析如下:

1 资料与方法

1.1 研究对象 2003 年 1 月至 2009 年 12 月, 本院住院患者术前、输血前, 疑似艾滋病感染者以及部分普通门诊患者, 共 158 451 例。均抽取静脉血 3 mL, 进行 HIV 抗体检测。

1.2 试剂与仪器 HIV 抗体初筛(ELISA 法)试剂盒由珠海丽珠试剂有限公司和北京华大吉比爱生物技术有限公司提供,

胶体硒法试剂为日本雅培公司生产, 确证试剂为新加坡 MP 生物医学亚太私人有限公司生产的 HIV(1+2)型抗体免疫印迹试剂。上述试剂均在国家食品药品监督管理局注册, 批检合格, 并在有效期内使用。Multiskan MK3 酶标仪和 Wellwash4 MK2 洗板机, 由热电上海仪器有限公司生产。Autoblot System 20 全自动蛋白印迹仪由 MP 生物医学亚太私人有限公司生产。

1.3 检测方法 初筛采用双抗原夹心 ELISA 法或胶体硒法。初筛阳性标本用原试剂及另外一种不同原理试剂复查, 将两法检测阳性或一阴一阳标本按照《全国艾滋病检测技术规范》要求送重庆市疾病预防控制中心艾滋病确证实验室进行 WB 确证。确证结果按试剂盒说明书进行判断, HIV-1 抗体阳性: 检测出两条 env 带(gp160/gp41 和 gp120)及 gag(p17、p24、p55)或 pol(p31、p51、p66)带; 阴性: 没有病毒的特异性条带, 或只检出 p17 抗体没有其他条带; 不确定: 出现任何病毒特异条带, 但

[△] 通讯作者, E-mail: zhanggz808@163.com.

不足于被判断为阳性。HIV-2 抗体阳性:在 HIV-1 阳性或不确定基础上见如 HIV-2 清晰条带,提示 HIV-2 阳性感染。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行描述性统计分析。

2 结果

2.1 初筛试验与确证试验结果 初筛试验阳性结果与 WB 确认结果见表 1。初筛阳性标本共 287 例,其中 ELISA 和胶体硒法均为阳性有 270 例,ELISA 阴性胶体硒法阳性有 8 例,ELISA 阳性胶体硒法阴性有 9 例。287 例 HIV 抗体初筛阳性标本,经 WB 确证,其中 251 例为 HIV-1 型抗体阳性,占 87.46%;16 例为不确定,占 5.57%;20 例确证为阴性,占 6.97%。

ELISA、胶体硒法与 WB 的阳性符合率分别为 89.96% (251/279)和 90.29%(251/278),初筛试验与确证试验的阳性符合率为 87.46%(251/287),两种方法同时呈阳性反应标本与 WB 的阳性符合率为 92.96%(251/270)。

表 1 初筛试验阳性结果与 WB 确认结果

初筛试验	n	确证试验		
		阳性	阴性	不确定
ELISA(+)/胶体硒(+)	270	251	6	13
ELISA(-)/胶体硒(+)	8	0	6	2
ELISA(+)/胶体硒(-)	9	0	8	1
合计	287	251	20	16

2.2 初筛阳性标本 ELISA(S/CO 值)与确证试验结果的关系 251 例确证为 HIV-1 型抗体阳性标本的平均 S/CO 值为 16.93,16 例不确定标本的平均 S/CO 值为 6.996,20 例阴性标本的平均 S/CO 值为 5.568。ELISA(S/CO 值)与确证试验结果比较,见表 2,有 8 例初筛阳性标本的 S/CO 值小于 1,确证

试验为阴性或不确定结果;16 例标本的 S/CO 值大于或等于 1 而小于 6,与确证试验阳性符合率为 18.75%;26 例标本的 S/CO 值大于或等于 6 而小于 10,与确证试验阳性符合率为 69.23%;237 例标本的 S/CO 值大于或等于 10,与确证试验阳性符合率为 97.05%。

表 2 ELISA(S/CO 值)与确证试验结果比较

S/CO 值	n	确证试验		
		阳性	阴性	不确定
S/CO 值<1	8	0	6	2
1≤S/CO 值<6	16	3	7	6
6≤S/CO 值<10	26	18	3	5
10≤S/CO 值	237	230	4	3
合计	287	251	20	16

2.3 WB 确证试验带型结果 WB 试验确证为 HIV-1 型抗体阳性的 251 例标本中,呈现 10 条带的有 130 例(51.79%),9 条带 23 例(9.16%),8 条带 44 例(17.53%),7 条带 34 例(13.33%),6 条带 10 例(3.98%),5 条带 6 例(2.39%),4 条带 3 例(1.20%),3 条带 1 例(0.40%)。gp160、gp120、gp41、p66、p51、p24 条带出现的概率都在 95%以上,其中 gp160 和 gp120 出现概率为 100%;而 p39 出现概率最低,只有 55.38%,见表 3。

16 例确证为不确定标本中,p24 出现概率最高,为 75.00%;其次是 gp160,为 43.75%。出现 1 条带的 7 例;2 条带 6 例,分别为 2 例 p24 和 gp160,2 例 p24 和 gp120,1 例 gp160 和 gp120,1 例 p24 和 p51;3 条带的 3 例,带型分别为 p24、gp160 和 p31,p24、gp160 和 p66,gp160、p66 和 p51。

表 3 WB 确证试验带型分布[n(%)]

确证结果	env 外膜糖蛋白			pol 逆转录酶蛋白			gag 核心蛋白			
	gp160	gp120	gp41	p66	p51	p31	p55	p24	p17	p39
阳性	251(100.00)	251(100.00)	243(96.81)	244(97.21)	240(95.62)	233(92.83)	154(61.35)	248(98.80)	199(79.28)	139(55.38)
不确定	7(43.75)	3(18.75)	0(0.00)	2(12.50)	2(12.50)	2(12.50)	0(0.00)	12(75.00)	0(0.00)	0(0.00)

3 讨论

初筛 HIV 抗体阳性 287 例标本,经 WB 试验确证有 251 例为 HIV-1 型抗体阳性。ELISA、胶体硒法与 WB 试验的阳性符合率分别为 89.96%和 90.29%,两种方法同时呈阳性反应的标本与 WB 试验阳性符合率较单一方法高,为 92.96%。以上结果还表明,即使 ELISA、胶体硒法均呈阳性反应的标本,仍然存在一定的假阳性反应,所以初筛呈阳性反应的标本必须按《全国艾滋病检测技术规范》^[1]要求进行 WB 确证,最终结果以 WB 试验为准。

分析比较 ELISA 与 WB 确证试验结果,可见 WB 确证为阳性标本的 S/CO 平均值高达 16.93,明显较不确定标本 6.996 和阴性标本 5.568 高。进一步比较分析 S/CO 值与确证试验阳性符合率的关系表明:随着 S/CO 值增高,确证试验阳性符合率也随之升高,但是高 S/CO 值样品并不代表感染 HIV,即

使 S/CO 值大于或等于 6 的标本其确证结果也有可能是不确定或阴性,这与国内相关文献报道一致^[2-3]。分析其原因,可能与 ELISA 试剂的特异性、样品的质量等有关。疾病预防控制中心(CDC)每周做 1 次确证实验,初筛阳性送检样品往往保存时间过长,同时运输环节较多,从而影响确证结果。另一方面 S/CO 值大于或等于 1 而小于 6 的标本与确证试验阳性符合率为 18.75%,这与一些报道确证试验阳性标本的 S/CO 值均大于或等于 6 不一致^[4],而与黎锋等^[2]的报道相同。

在确证为 HIV-1 抗体阳性的 251 份标本中,197 份(78%)出现 8 条以上带型结果,表明绝大多数阳性患者体内病毒繁殖活跃,病毒含量高,具有较强传染性,在检测过程中应注意加强防护。

自 1986 年 HIV 抗体免疫印迹法试剂问世以来,有关 WB 结果解释一直存在争议,全世界尚无统一标准。《全国艾滋病

检测技术规范》^[5]2004 版规定我国的阳性标准是:至少有 2 条 env 带(gp41 和 gp160/gp120)出现,或至少 1 条 env 带和 p24 同时出现,判为 HIV-1 抗体阳性(+);而 MP 公司试剂盒对于 HIV-1 抗体阳性的判断标准与之有些差异,检测出两条 env 带(gp160/gp41 和 gp120)及 gag(p17、p24、p55)或 pol(p31、p51、p66)。本试验中呈现(p24 和 gp160,p24 和 gp120,p24、gp160 和 p31,p24、gp160 和 p66)带的标本,按检测技术规范应判为阳性,按试剂盒说明则判为不确定。2009 版的《全国艾滋病检测技术规范》则避免了这种情况发生,规定同时符合我国使用的 WB 确证 HIV 感染判定标准和试剂盒提供的阳性判定标准方可判为 HIV-1 抗体阳性,这使 HIV-1 抗体阳性判定标准更为严格。即使这样,使用 WB 法确证仍有可能出现假阳性结果。国外学者对低危人群进行了回顾性研究,发现过去一些标本被错误判断为阳性,这部分人群或仅有包膜蛋白(gp41+gp120/gp160)或 gag+包膜(p24+gp41 和/或 gp120/gp160)带型而被蛋白印迹试验判断为 HIV-1 阳性,个别蛋白印迹假阳性率甚至高达 8%(52/683)^[6-7]。杨成勇和刘翌^[8]也研究发现 1 例受检标本有 gp160、gp120、p66、p24 条带,经 NASBA 和 RT-PCR 进一步进行核酸检测却为阴性。

由于阳性判定标准更为严格,随之而来的则是不确定结果的增加。各种不同研究发现,在保证检测质量的基础上,造成不确定原因主要有:HIV 新近感染不久出现的血清转换期、肝病、自身免疫性疾病、输入血制品、肾功能衰竭和血液透析、注射某些药物、妊娠、肿瘤、免疫接种、疟疾、病毒感染等^[9-13]。本次研究对象中,16 例为不确定,占初筛阳性的 5.57%。对于不确定标本,需要 4~8 周甚至更长时间随访检测,并根据复查结果来最终判定是阴性还是阳性。这也是实践工作中,WB 确认方法的局限性。不确定结果标本的存在,给检验人员检测工作带来难度;同时由于长时间随访给受检者带来困惑和巨大的心理压力,影响入伍、入学、求职、就医等关系个人前途命运的大事^[14-15]。这些都是需要解决的问题。

总之,在进行 HIV 感染的诊断中,不仅要依据实验室确证试验结果,还需要结合流行病学资料、核酸检测等辅助诊断手段,以及定期随访复查等综合因素加以判断。既要防止出现假阳性,也要防止出现假阴性。

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[S]. 2009-11-30.
- [2] 黎锋,刘伟,梁富雄,等. 2472 例 HIV 抗体筛查(ELISA)与免疫印迹试验的对比研究[J]. 应用预防医学,2009,15
- [16] 王豫林,丁贤彬,易辉容,等. 流动人口艾滋病防治知识和感染率调查[J]. 中国公共卫生,2006,22(11):1285-1287.
- [17] 范杉,周国甫,魏尊,等. 进城务工人员艾滋病知识传播来源和获得需求的调查[J]. 重庆医学,2010,39(11):1475-1476.
- [18] 中华人民共和国卫生部. 卫生部介绍中国艾滋病疫情现状[EB/OL]. (2009-11-30)[2010-06-05]. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohbgt/s35>

(5):302-304.

- [3] 彭庭海,陈慧萍,汤恒,等. HIV 抗体筛查阳性与免疫印迹试验结果对比分析[J]. 医药论坛杂志,2006,27(17):52-54.
- [4] 杨育红,陈杰毅,陈明春,等. 泉州市 318 例 HIV 抗体筛查阳性的确认结果分析[J]. 实验与检验医学,2010,28(1):37-38.
- [5] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范[S]. 2004-08.
- [6] Healey DS,Bolton WV. Apparent HIV-1 glycoprotein reactivity on Western blot in uninfected blood donors[J]. AIDS,1993,7(5):655-658.
- [7] Sayre KR,Dodd RY,Tegtmeier G, et al. False-positive human immunodeficiency virus type 1 Western blot tests in uninfected blood donors[J]. Transfusion,1996,36(1):45-52.
- [8] 杨成勇,刘翌. HIV-1 抗体蛋白印迹确认与核酸检测复核对比研究[J]. 病毒学报,2006,22(2):114-117.
- [9] Walensky RP,Rosenberg ES,Ferraro MJ, et al. Investigation of primary human immunodeficiency virus infection in patients who test positive for heterophile antibody[J]. Clin Infect Dis,2001,33(4):570-572.
- [10] Ghosh K,Javeri KN,Mohanty D, et al. False-positive serological tests in acute malaria[J]. Br J Biomed Sci,2001,58(1):20-23.
- [11] Silverstein DM,Aviles DH,Vehaskari VM. False-positive human immunodeficiency virus antibody test in a dialysis patient[J]. Pediatr Nephrol,2004,19(5):547-549.
- [12] 高凯,李燕,梁彩云,等. 用蛋白印迹确认实验检查“人类免疫缺陷病毒抗体不确定”结果的分析[J]. 微生物与感染,2007,2(1):16-18.
- [13] 郑晓虹,潘启超,张玮,等. 人类免疫缺陷病毒确认试验不确定结果分析[J]. 上海预防医学杂志,2007,19(8):373-376.
- [14] 杨晓莉,李敬云. HIV 感染确认的现状和发展趋势[J]. 中国艾滋病性病,2007,13(6):585-587.
- [15] 张国珍,谭兵,詹廷西,等. 住院患者 HIV 抗体检测结果分析及防范[J]. 重庆医学,2009,38(12):1427-1428.

(收稿日期:2011-04-16 修回日期:2011-06-03)

(上接第 2861 页)

- [16] 王豫林,丁贤彬,易辉容,等. 流动人口艾滋病防治知识和感染率调查[J]. 中国公共卫生,2006,22(11):1285-1287.
- [17] 范杉,周国甫,魏尊,等. 进城务工人员艾滋病知识传播来源和获得需求的调查[J]. 重庆医学,2010,39(11):1475-1476.
- [18] 中华人民共和国卫生部. 卫生部介绍中国艾滋病疫情现状[EB/OL]. (2009-11-30)[2010-06-05]. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohbgt/s35>

82/200911/44754.htm.

- [19] Zhang L. Migration and privatization of space and power in late socialist China[J]. Am Ethnol,2001,28(1):179-205.
 - [20] Li X,Fang X,Lin D, et al. HIV/STD risk behaviors and perceptions among rural-to-urban migrants in China[J]. AIDS Educ Prev,2004,16(6):538-556.
- (收稿日期:2011-04-27 修回日期:2011-06-14)