

HIV 抗体不确定标本 158 例的结果及随访转归观察

楚承霞, 赵山平, 刘芳芳(昆明市疾病预防控制中心性病艾滋病防制科 650228)

【摘要】 目的 了解人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体产生不确定结果的特点及进展情况。**方法** 分析 2009~2011 年昆明市 158 例确证检测为不确定结果标本的样本来源、蛋白印迹试验(WB)带型特点及跟踪随访情况。**结果** 共进行 WB 确证检测 4 582 份,检测结果为不确定者 158 份,占 3.45%。无偿献血人员筛查和孕期/产前检查人群不确定结果的检出率(分别为 7.25%和 7.29%)明显高于其他人群;p24(+)30.4%、p24(+)gp160(+)25.9%和 gp160(+)16.5%,以这 3 种带型最为常见;随访到 43 例不确定者,WB 转为阳性结果 16 例(37.2%),转为阴性结果 27 例(62.8%),11 例 p24(+)gp160(+)有 3 例转为阴性。**结论** 无偿献血人员、孕期和产前检查人群出现 WB 不确定结果的预期要高于其他人群;对 p24(+)gp160(+)双带型判为阳性存在风险;应加强检测工作各个环节的质量控制,避免由于标本污染而造成的不确定结果。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒抗体; 蛋白印迹试验; 随访

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.06.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)06-0659-02

Analysis on follow-up outcome of 158 samples of indeterminate HIV antibody CHU Cheng-xia, ZHAO Shan-ping, LIU Fang-fang (Department of Venereal Diseases and AIDS Prevention and Treatment, Kunming Municipal Center for Diseases Prevention and Control, Kunming, Yunnan 650228, China)

【Abstract】 Objective To understand the characteristics and transformation situation of HIV antibody indeterminate samples. **Methods** To analyze the source, the WB band features and the track results in the 158 samples of indeterminate HIV antibody in Kunming during 2009—2011. **Results** Of the 4582 samples with WB confirmation test, 158 samples(3.45%) were found the indeterminate-result. The detection rate of the indeterminate-result among the blood donors(7.25%) and pregnancy/prenatal examination(7.29%) were obviously higher than that among other groups; the most common band patterns were p24(+)30.4%, p24(+)gp160(+)25.9% and gp160(+)16.5%; of the followed-up 43 cases, 16 cases were confirmed as HIV-positive later and 27 cases were proved to be HIV-negative, 3 out of 11 cases with p24(+)gp160(+) were confirmed to be HIV-negative. **Conclusion** The expectation of indeterminate-result among blood donors and pregnancy/prenatal examination crowd is higher than that of other groups; there is a risk for p24(+)gp160(+) confirmed to be HIV-positive; to avoid the indeterminate results caused by contaminated cases, it is suggested that the quality control should be improved in all procedures of the test.

【Key words】 HIV antibody; Western blot; Follow-up

目前诊断是否感染人类免疫缺陷病毒(HIV)最常用的确证试验是蛋白印迹试验(WB),根据《艾滋病检测技术规范(2009年修订版)》^[1],该试验检测结果的判定分为阳性、阴性和不确定,不确定需要进行 4 周或以上的随访方可判定最终结果。不确定检测结果可能由于随访困难而导致潜在的 HIV 感染者不能被及时发现,同时也给受检者带来沉重的心理负担。昆明市疾病预防控制中心艾滋病确证实验室承担了辖区 HIV 抗体初筛阳性标本的确证检测工作,现对 2009~2011 年 WB 检测结果为不确定的标本结果及随访情况进行分析。

1 材料与方 法

1.1 材料 选择 2009~2011 年昆明市疾病预防控制中心艾滋病确证实验室进行 WB 确证检测结果为不确定的标本。

1.2 方法 所有标本进行快速检测(RT)、酶联免疫吸附试验(ELISA)和 WB 试验。

1.3 试剂 快速检测为日本雅培试剂或韩国 SD 金标试剂;ELISA 采用生物梅里埃第三代或珠海丽珠试剂;WB 试验采用 MP 生物医学亚太私人有限公司 Genelabs Diagnostics 试剂。按各试剂盒使用要求进行操作,均在有效期内使用。

1.4 仪器 ALISEI 全自动酶联免疫分析仪或 BIO-RAD1575 洗板机/Anthos 2010 酶标仪、TECAN(ProfiBlot 48)全自动蛋

白印迹分析仪。酶标仪每年经云南省计量测试技术研究院检定合格并进行期间核查。

1.5 判定标准 依据中国疾病预防控制中心《艾滋病检测技术规范(2009年修订版)》^[1]和 MP 生物医学亚太私人有限公司 Diagnostics 试剂盒使用说明书的标准判定结果,HIV 抗体不确定的判定标准为出现任何 HIV 抗体特异性条带,但不足以判断为阳性。

2 结 果

2.1 不确定标本人群分布 2009~2011 年共进行 WB 确证检测 4 582 份,检测结果为不确定者 158 份,占 3.45%。不同来源的标本不确定结果检出情况见表 1。

表 1 不同来源的标本不确定结果检出情况

样本来源	WB 检测数(n)	不确定数(n)	检出率(%)
自愿咨询检测	1 629	48	2.95
术前检查	711	21	2.95
婚前检查	478	12	2.51
无偿献血人员检测	193	14	7.25
孕期和产前检查	247	18	7.29
羁押人员体检	606	20	3.30
其他来源	718	25	3.48

2.2 不确定标本的初筛检测情况 158 份不确定标本 RT 结果和 ELISA 的 S/CO 值见表 2。

2.3 不确定标本的 WB 带型分布及随访转归 成功随访到 43 例不确定者,随访率为 27.2%(43/158),WB 转为阳性结果 16 例,占 37.2%(16/43),转为阴性结果 27 例,占 62.8%(27/43);158 例不确定标本中 p24(+),p24(+)gp160(+)和 gp160(+)3 种带型最为常见(72.8%);出现单一带型的不确定标本有 90 例,占 57.0%(90/158),随访到了 21 例,随访转阴率 100.0%。158 例不确定标本的 WB 带型分布及 43 例随访

标本转归结果见表 3。

表 2 158 份不确定标本 RT 检测和 ELISA 的 S/CO 值结果(n)

RT	S/CO 值			合计
	<1.0	1.0~<6.0	≥6.0	
-	0	23	5	28
+	63	34	33	130
合计	63	57	38	158

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

表 3 158 例不确定标本的 WB 带型分布及 43 例随访标本转归结果

WB 带型	不确定 [n(%)]	随访结果					
		随访数(n)	随访率(%)	阳性数	转阴率(%)	阴性数	转阴率(%)
p24	48(30.4)	10	20.8	0	0.0	10	100.0
gp160	26(16.5)	6	23.1	0	0.0	6	100.0
p17	8(5.1)	2	25.0	0	0.0	2	100.0
gp41	2(1.3)	2	100.0	0	0.0	2	100.0
p66	2(1.3)	1	50.0	0	0.0	1	100.0
p24, gp160	41(25.9)	14	34.1	11	78.6	3	21.4
gp120, gp160	10(6.3)	3	30.0	2	66.7	1	33.3
p17, p24	4(2.5)	1	25.0	1	100.0	0	0.0
p55, p66	2(1.3)	2	100.0	1	50.0	1	50.0
p17, gp160	1(0.6)	1	100.0	1	100.0	0	0.0
p17, p24, p51	1(0.6)	1	100.0	0	0.0	1	100.0
gp41, gp120, gp160	4(2.5)	0	0.0	-	-	-	-
p24, p66	3(1.9)	0	0.0	-	-	-	-
其他 GAG 或 POL	6(3.8)	0	0.0	-	-	-	-
合计	158(100.0)	43	27.2	16	37.2	27	62.8

注: - 表示无数据。

转为阴性结果的 27 例中 7 例(25.9%)为随访时筛查试验即为阴性;7 例(25.9%)为筛查试验阳性,但 WB 检测未出现 HIV 抗体特异性条带,判为阴性;13 例(48.2%)为仍有条带出现,但无任何进展判为阴性。

3 讨论

本次调查 WB 法检测 HIV 抗体不确定结果占检测总数 3.45%,这与近年国内文献报道一致^[2-3]。无偿献血人员筛查和孕期/产前检查人群 WB 不确定结果的检出率高于其他人群,提醒 HIV 确证检测实验室在接受该类人群初筛阳性标本时,预期出现 WB 不确定结果要高于其他人群。

WB 试验中 gp160 和 p24 是 HIV 感染后最早出现的带型^[4]。本次调查的 158 例不确定标本中 p24(+),p24(+)gp160(+)和 gp160(+)3 种带型最为常见(72.8%),p24(+)gp160(+)是 HIV 早期感染的重要信息。根据《全国艾滋病检测技术规范》,p24(+)gp160(+)可判为阳性,但在随访到的 14 例此类标本中有 3 例(21.4%)转为阴性,与多位研究者的报道相似^[5-7]。作者认为对 p24(+)gp160(+)双带型判为阳性存在风险,建议根据试剂盒说明书判为不确定,对检测对象进一步随访后再作判断。

随访到的 43 例不确定标本有 62.8%转为阴性结果,这与检测对象对该试验产生非特异性反应而出现不确定条带有关,

但标本污染亦会导致假阳性结果。由于 HIV 确证检测的标本来自各医疗、妇幼、采供血、羁押场所等机构,从采样、分离标本、标本运送到检测,中间环节较多,标本易造成污染,这需要各检测实验室对 HIV 检测工作中的所有环节进行严格的质量控制,对可疑者重新进行二次采样复核,尽量避免由于标本污染而造成的不确定结果。

仅出现单一带型的不确定标本随访到了 21 例,均转为阴性,这可能是由于本次随访标本量不足而导致的偶然结果,但也有文献曾报道类似情况^[8-9],虽无法定论,但在对出现单一带型者做结果解释时可以倾向于阴性咨询。

不确定结果的给艾滋病相关防治工作带来许多困扰,如有条件,应结合 CD4 细胞检测结果、病毒载量结果及流行病学史综合判断,缩短 HIV 窗口期诊断,及时为感染者提供关怀、治疗。

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(2009 年修订版)[M]. 北京:中国疾病预防控制中心,2009:5-18.

[2] 邓文青,吴湘云,代建平,等. 220 份 HIV 抗体检测确证为阴性或不确定标本的结果分析[J]. 中国(下转第 662 页)

围,见表 1、2。健康参考个体检测结果,CEA 所有结果均在厂家提供参考区间内,CA12-5、CA19-9 分别是 96.7%、93.3%。

表 1 Cobase 601 分析仪性能验证结果

肿瘤标志物	不精密度 CV(%)	不准确度偏倚(%)	灵敏度	可报告范围	最大稀释倍数	干扰试验
CA12-5	2.5	7.00	0.6	0.6~21 610	1:5	符合
CA19-9	3.8	7.03	0.6	0.6~9 621.5	1:10	符合
CEA	2.2	6.99	0.2	0.2~4 837	1:50	符合

表 2 健康参考个体检测结果

肿瘤标志物	厂家提供参考区间(U/mL)	符合人数	比率(%)
CA12-5	<35	29	96.7
CA19-9	<27	28	93.3
CEA	<6.5	30	100.0

3 讨 论

鉴于检验科提供检验项目可靠的生物参考区间,才能使临床对健康普查者的检验结果作出判断,对患者检验结果有大致的了解,因此获得检验项目可靠的生物参考区间是实验室的重要任务,根据 CLSIC28-A2 要求,在将一项新的实验引入到常规临床使用之前,必须要建立它的参考区间,而自建生物参考区间有一定难度,于大多数实验室既不可能也没有必要建立自己的参考区间。建议采用两种更为简单的方法:转换和验证已经建立的参考区间,生物参考区间的验证必须在稳定、准确检测系统/方法上进行,避免由于检测误差造成验证结果的机遇性符合和不符合^[8]。对于需要建立参考区间的分析物,所使用的分析方法最好是具有溯源性的检测方法。在对标本进行分析之前,需要对检测系统进行正确性验证^[9]。本实验室引进的德国罗氏 Cobase 601 电化学发光检测系统,虽然是封闭检测系统,仍须先进行性能验证。作者首先对检测系统不精密度小于或等于厂家提供的 CV%;不准确度偏倚、灵敏度、可报告范围、最大稀释倍数、干扰试验应在厂家允许范围内各项性能验证均符合厂家提供的允许范围,检测系统性能稳定、准确。

由于罗氏 Cobase 601 电化学发光检测系统是封闭检测系统,并非检测结果有溯源性,只需验证厂家提供的允许范围,本实验参考 NCCLS-C28-A2 文件推荐方法,设定验证方案,指南要求验证已建立的参考区间是否符合服务人群,至少需要 20 个能代表所采用实验室健康人群的个体来确定参考值。20 个参考数值里有不超过 2 个(10%)落到已经建立的参考区间以外,

该实验室就可以采用此参考区间。本研究选择 30 人份检测,健康参考个体检测结果表明:CA12-5、CA19-9、CEA 比率分别为 96.7%、93.3%、100.0%,符合指南要求。

综上所述,罗氏 Cobase 601 电化学发光检测系统通过各项性能验证试验,CA12-5、CA19-9、CEA 项目参考区间验证亦符合要求,厂商提供的参考区间适合本实验室。

参考文献

- [1] NCCLS. C28-A2. How to define and reference intervals in the clinical laboratory[M]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.
- [2] 杨振华. 临床(医学)实验室质量管理——ISO15189[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(8): 2079-2084.
- [3] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2007: 4.
- [4] 曾洁. 参考区间研究现状概述[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(6): 570-573.
- [5] 高中芳, 张建荣, 郭小龙. 肿瘤标志物正确度验证及评价[J]. 中国血液流变学杂志, 2011, 21(1): 166-167.
- [6] 安有芳, 张璐雯, 陈艳, 等. 化学发光法检测胃癌患者血清肿瘤标志物[J]. 医学信息: 中旬刊, 2010, 5(6): 1344-1345.
- [7] 潘桂梅. 电化学发光法检测胃癌患者血清标志物的临床意义[J]. 黑龙江医学, 2008, 32(7): 506-507.
- [8] 陈桂山. 临床生化检验项目生物参考区间适用性探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(2): 170-174.
- [9] 钟堃. 临床检验参考区间的转换和验证[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(4): 140-143.

(收稿日期: 2012-08-31 修回日期: 2013-01-08)

(上接第 660 页)

艾滋病性病, 2011, 17(1): 22-24.

- [3] 袁丹, 魏东兵, 余佳, 等. 四川省 63 例 HIV 抗体检测结果不确定者的追踪分析[J]. 预防医学情报杂志, 2009, 25(6): 402-404.
- [4] 李楠, 缪礼锋. WB 带型分析对 HIV 感染期和 AIDS 期的诊断意义[J]. 疾病控制杂志, 2005, 9(4): 376-377.
- [5] 郑晓虹, 张玮, 潘启超, 等. 免疫印迹法试验出现 gp160 和 p24 带型与 HIV-1 感染关系的探讨[J]. 上海预防医学, 2007, 19(7): 334-336.
- [6] 夏建晖, 柳忠泉, 郑敏娜, 等. HIV 抗体不确定样品的鉴别策略研究[J]. 热带医学杂志, 2010, 10(11): 1293-1295.

- [7] 黑发欣, 张启云, 孙伟东, 等. 病毒载量检测有助于排除人免疫缺陷病毒抗体可疑结果中的非感染者[J]. 中华预防医学杂志, 2008, 42(1): 43-46.
- [8] 王海燕, 杨晓莉, 王莉, 等. HIV 抗体不确定标本的鉴别诊断研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(14): 1900-1903.
- [9] 余枫华, 韩福郎, 阮冈, 等. 45 例 HIV 抗体不确定结果的人群跟踪观察和分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2009, 20(3): 30-32.

(收稿日期: 2012-09-09 修回日期: 2012-12-26)