DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.11.02

· 专家论坛 ·

临床实验室 HIV 感染的筛查、确认及报告

王娟[1],华文浩[2],刘方遥[3],崔丽艳[4],徐国宾[1](1.北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所检验科,恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室,北京 100142;2.北京大学人民医院检验科,北京 100044;3.北京市海淀区疾病控制中心,北京 100013;4.北京大学第三医院检验科,北京 100191)

摘要:艾滋病在我国的传播呈现快速增长的趋势,已成为严重威胁我国人民健康的公共社会问题。近几年来中国疾病预防与控制中心对于 HIV 感染筛查策略有所调整,中美间筛查策略也有细微差别。该文简要介绍了 HIV 感染者筛查的血清学生物标志物及中美筛查和确认策略,并对医疗机构 HIV 筛查报告发放模式提出建议。

关键词:人类免疫缺陷病毒;感染;筛查;确认;报告

中图分类号:R446　　**文献标志码**:A

艾滋病是由人类免疫缺陷病毒(human immune deficiency virus, HIV)感染引起的,以人体 $CD4^+$ T 淋巴细胞减少为特征的进行性免疫功能缺陷综合征。艾滋病目前尚无法治愈且在中国的传播呈现快速增长的趋势,已成为严重威胁我国人民健康的公共社会问题。高危人群艾滋病的筛查受到各级部门的重视。就诊于各级医院的患者在进行有创诊治或输血前需接受包括乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、苍白(梅毒)螺旋体和 HIV 在内的病原体感染的血清学标志物检测。由于各级不同医院筛查条件不同,规范于医院接受机会性筛查患者的 HIV 感染筛查和报告策略很重要,应引起关注。

目前已发现 2 种 HIV 亚型,分别为 HIV-1 和 HIV-2,在我国以 HIV-1 为主要流行株。HIV 感染实验室检测标志物包括 HIV-1/2 抗体、HIV-1 p24 抗原和核酸(HIV-1 RNA)。HIV 抗体检测技术共分为五代。第一代至第四代检测技术的测定目标物、抗原合成技术、检测原理及对应检测窗口期不同。目前我国艾滋病筛查试验多采用第四代 HIV-1/2抗原抗体联合检测试剂或第三代 HIV 抗体检测试剂。在我国,筛查有反应样本需进行补充实验,即抗体确证和核酸检测。美国疾病预防控制中心 HIV 检测策略(2014 年版)仅推荐使用第四代检测试剂进行筛查试验。对于筛查有反应样本,美国采用区分 HIV-1/HIV-2 抗体的免疫诊断试剂进行确认,与筛查结果一致则报告阳性,与筛查结果不符即进行核酸检测。2020 年中国疾病预防控制中心立足于我国目前的检测状况,参考发达国家的现行指南,发布新版《全国艾滋病检测技术规范》。本文简要介绍了 HIV 感染后核酸和血清学标志物的经时变化及中美筛查、确证流程的异同,并对医院 HIV 筛查有反应报告的发放模式提出了建议。

1　HIV 感染人体后核酸和血清学生物标志物的经时变化及检测

HIV 感染实验室检测标志物 HIV-1 RNA、HIV-1 p24抗原、IgM/IgG 类抗体可分别在人体感染后约 1 周[1-2]、2 周[3]、3 周[4]的时间检测(图 1)。HIV-1 p24 抗原的持续检测时间较短,抗体合成后可干扰 HIV-1 p24 抗原的测定[5-7]。HIV 感染后的血清学标志物检测方法学经历了五代的改进(表 1)。不同代免疫学检测试剂的组成和包被材料不同,检测的特异性和灵敏度也不相同[8]。第一代 HIV 试剂检测的是 HIV-1 IgG 类抗体,包被的靶抗原来源于细胞培养物中的 HIV-1 型病毒裂解物,交叉反应明显,特异性只有 95%~98%。第二代检测技术所用包被抗原来自于病毒细胞裂解物和合成肽,可同时检测 HIV-2 IgG 类抗体。第三代技术采用双抗原夹心法同时检测 HIV-1/2 IgG 和 IgM 类抗体,检测所用抗原来自于合成肽和重组抗原。由于 IgM 类抗体出现时间早于 IgG 类抗体,该代技术的检测灵敏度提高,窗口期缩短。第四代 HIV 检测技术其检测标志物新增 HIV-1 p24 抗原,相较第三代 HIV 检测技术,具有更短的检测窗口期。美国伯乐

作者简介:王娟,1994 年生,女,技师,大学本科,主要从事临床检验工作。

通信作者:徐国宾,研究员,E-mail:xupkuch@163.com。

公司生产出品了第五代 HIV 检测试剂，采用的是多重流式免疫分析技术，与第四代检测试剂不同的是可在单个反应体系中分别检测 HIV-1 抗体、HIV-2 抗体和 HIV-1 p24 抗原。来自法国的一项研究评估了第五代伯乐 Plex 2200 HIV Ag-Ab 试剂检测的灵敏度和特异性及其检测和区分急性 HIV 感染、HIV-1 和 HIV-2 感染的能力[9]。该研究共纳入 1 505份新鲜血清样本和 524 份冰冻已知 HIV-1 感染、HIV-2 感染、HIV-1/HIV-2 双重感染和急性 HIV-1 感染血样。1 505例样本与采用雅培 Architect HIV Ag/Ab Combo 第四代试剂初筛并经免疫印迹、HIV-1/2 核酸确认后的结果作比较，伯乐第五代试剂检测敏感性为 100%，特异性为 99.5%。第五代试剂多重流式荧光法对于 HIV 阳性的 524 例冰冻血样检出率也为 100%，HIV-1 感染、急性 HIV-1 感染、HIV-2 感染、HIV-1/HIV-2 双重感染 4 种情况下区分 HIV-1 与 HIV-2 感染的能力分别为 100%、90.9%、90.7%和 100%，性能良好[9]。

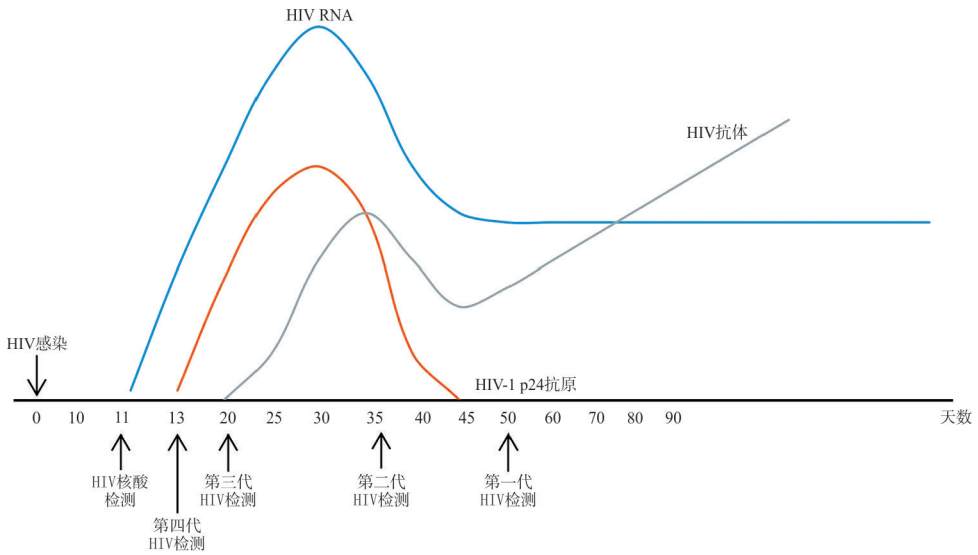


图 1　感染 HIV 后核酸和血清学标志物的经时变化

表 1　不同代 HIV 血清学标志物检测技术特点[10]

技术参数	第一代	第二代	第三代	第四代	第五代
抗原(抗体)来源	病毒细胞裂解物	病毒细胞裂解物/合成肽	合成肽/重组抗原	合成肽/重组抗原	合成肽/重组抗原
特异性	95%~98%	>99%	>99.5%	99.5%	99.5%
敏感性	99%	>99.5%	>99.5%	>99.8%	100%
窗口期	8~10 周	4~6 周	2~3 周	2 周	2 周
检测标志物	HIV-1 IgG 抗体	HIV-1/HIV-2 IgG 抗体	HIV-1/HIV-2 IgG/IgM 抗体	HIV-1/HIV-2 IgG、IgM 抗体，p24 抗原	HIV-1 IgG/IgM 抗体，HIV-2 IgG/IgM 抗体，p24 抗原

2　HIV 核酸检测及其临床应用[11]

HIV-1 核酸检测包括定性检测和定量检测，检测原理主要包括实时荧光 PCR 和巢式 PCR。HIV 核酸检测的特异性和敏感性高，目前只有 HIV-1 商品化核酸检测试剂。就诊于定点医院接受抗病毒治疗的 HIV 感染者和艾滋病患者需定期接受HIV-1 病毒载量检测，确认是否沿用或调整原定治疗方案。核酸检测在非定点医院几乎没有应用。除定点医院外，在 HIV 感染确认实验室，核酸检测可作为补充试验用于筛查试验有反应但抗体确证试验不确定或阴性样本的诊断，急性期和晚期感染者的判定，婴儿感染的早期诊断。混样核酸检测主要应用于血站。具有采供血资质的血站利用核酸检测的高敏感性，采用混样核酸检测发现早期 HIV-1 感染样本。

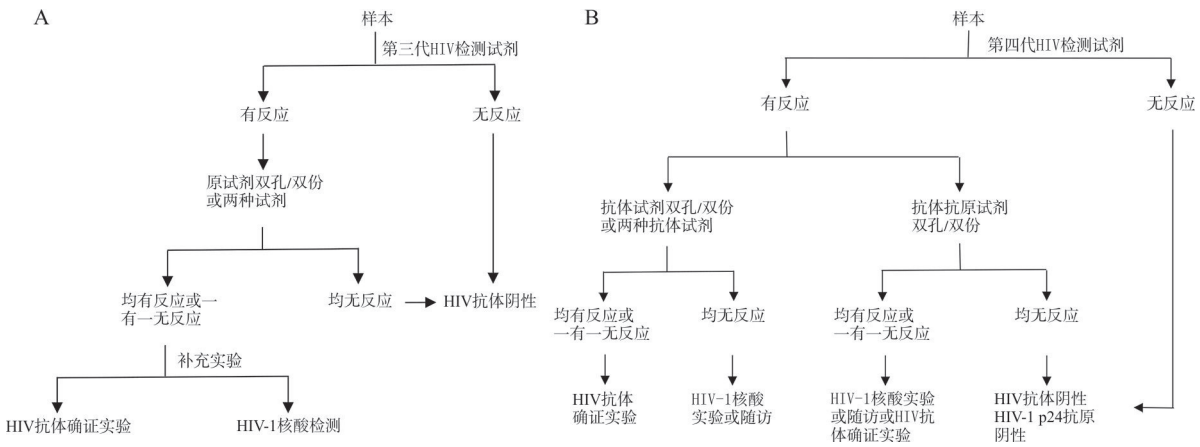
HIV-1 核酸检测结果判定需严格遵照试剂盒说明书，报告形式以临床实际需求为准。在诊断 HIV-1 感染时，定量检测结果>5 000 copies/mL(或 IUs/mL)或定性结果阳性，提示 HIV 感染。阴性或低于最低检测限不能排除 HIV 感染，需结合流行病学史、临床病史和实验室相关指标进行综合判断。

HIV-2 核酸检测可用于区分 HIV-1、HIV-2 感染，疑似 HIV-2 感染且抗体确证结果为不确定样本的诊断以及 HIV-2 感染者和艾滋病患者的治疗效

果监测。目前我国尚无 HIV-2 商品化试剂盒通过国家药品监督管理局批准。

3　中美实验室 HIV 感染筛查和确认

HIV 检测策略制定取决于多种因素，包括国家政策、地区流行情况、HIV 检测适宜人群和场所等[12]。根据我国规范要求，医院 HIV 检测应包括筛查试验和补充试验 2 个步骤，HIV 筛查试验有反应者再进行 HIV 补充试验，补充试验检测结果包括阴性、不确定和阳性（见图 2）。筛查试验由各医院检验科完成，补充实验由区/市疾控中心或经过认证的确认中心完成。推荐选用第三代或第四代 HIV 检测试剂做初筛试验。结果无反应，发送阴性报告；有反应则进入复检程序。复检时要求双份测试，均无反应时发送阴性报告。任一有反应或均有反应则由专人专车送往指定的疾控中心做补充实验。HIV 补充试验包括抗体确证试验和核酸试验。抗体确证试验包括免疫印迹试验、重组/线性免疫印迹试验等，核酸检测包括核酸定性和定量试验。



注：A，第三代试剂；B，第四代试剂。

图 2　中国疾病预防控制中心推荐检测策略（2020 年版）

美国 HIV 检测策略包括筛查、区分 HIV-1/2 抗体的免疫诊断检测和核酸检测（nucleic acid test, NAT），见图 3。在我国可使用第三代或第四代 HIV 检测试剂进行筛查。与第四代试剂相比，由于第三代试剂不能检测 HIV-1 p24 抗原，其报告的窗口期相对较长。在美国，筛查有反应后直接由临床实验室采用区分 HIV-1/2 抗体试剂做确认试验，报告周期更短。依据我国 HIV 检测策略，补充试验多优先使用抗体确证，核酸检测与随访并列其后作为可选择路径。目前我国 HIV 核酸检测多在定点医院进行。国内 HIV 感染检测策略中针对有反应性样本的免疫印迹确认方法可能漏检早期 HIV 感染者，且不确定结果较多。如果在免疫印迹检测为“不确定”或“阴性”结果后加做核酸检测，可避免部分患者漏检。病毒抗体检测是病毒感染的间接标志物，有其固有的局限性[13]。因此，在 HIV 检测策略制定时，应强调核酸检测的重要性。建议我国应明确提出在抗体确认结果与筛查结果不符时核酸检测应立即执行的检测路径。建议借鉴发达国家的经验，加强常规实验室就可以开展的区分 HIV-1 和 HIV-2 感染的发光检测试剂的研发，在 HIV 核酸检测定点机构开展 HIV-2 核酸检测方法学的建立工作。目前尚未检索到有关采用中美筛查策略对于医疗机构机会性筛查结果的头对头比较的研究。我们认为不管是中国还是美国的检测策略，对于 HIV 感染诊断的敏感性和特异性均达不到 100%，可能有假阳性或假阴性。如果不能完全排除 HIV 感染的路径，对于筛查有反应而进一步的抗体确证可疑者，即使核酸检测阴性也需要按“全国艾滋病检测技术规范”进一步观察一定时间后再行实验室检测。对于高危人群，需要做好随访监测。

4　HIV 感染筛查和确认结果报告

依据我国艾滋病检测规范，对于三代试剂和四代试剂筛查试验无反应者分别报告 HIV 抗体阴性、HIV 抗体/HIV-1 p24 抗原阴性。筛查试验有反应的样本应送往区/市疾控中心做补充实验。建议检验科应与医院医务管理和医院感染/疾病控制部门根据相关规范要求共同评审筛查和确认结果的报告和发放流程。建议检验科将筛查有反应结果报告单上标注“HIV 感染待确证”字样后双人签字发放。电话通知患者取确认报告的时间和方式，同时

电话报告患者的主治医师或首诊医师和医院感染/疾病控制部门专项负责传染病上报的工作人员，并做好筛查有反应结果报告登记，见图 4。补充实验结果回报后，需告知医院感染/疾病控制部门工作人员和责任医生，并补充填写传染病登记本。HIV 确证实验为阴性，通知患者本人取走报告单。若结果为阳性或不确定，需将检测结果报告单交给医院感染/疾病控制部门工作人员，由其在隐私性好的单独空间交与患者并做流行病学调查。部分地区是由疾控中心发放确认报告，则流行病学调查由其工作人员开展。实验室应定期对检测人员和院感控科负责人员培训，增强对患者隐私的重视和保护。相关人员需严格遵守保密制度，未经许可，不得向任何单位或个人泄露患者信息。

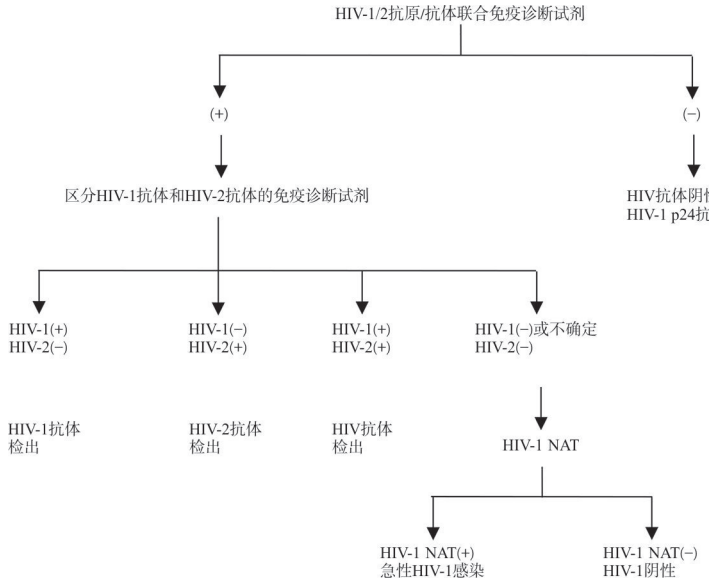


图 3 美国疾病预防控制中心推荐检测策略(2014 年版)

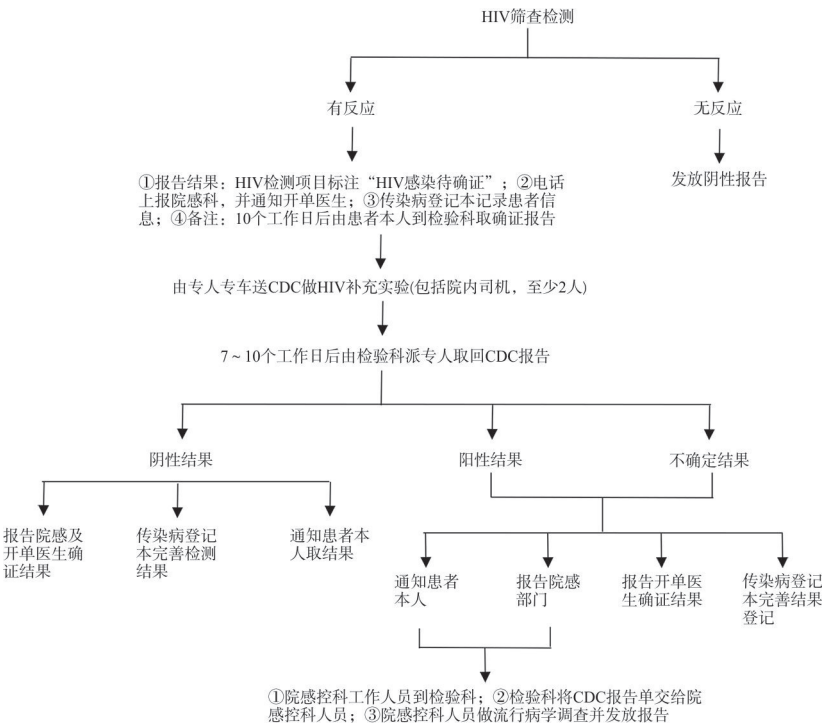


图 4 医院检验科 HIV 检测结果的建议性报告流程

5 参考文献

[1] Lindbäck S, Karlsson AC, Mittler J, *et al*. Viral dynamics in primary HIV-1 infection[J]. AIDS, 2000, 14(15): 2283-2291.

[2] Lindbäck S, Thorstensson R, Karlsson AC, *et al*. Diagnosis of primary HIV-1 infection and duration of follow-up after HIV exposure [J]. AIDS, 2000, 14(15): 2333-2339.

[3] Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, *et al*. Dynamics of HIV viremia

and antibody seroconversion in plasma donors[J]. AIDS, 2003, 17(13): 1871-1879.

[4] Tomaras GD, Yates NL, Liu P, *et al*. Initial B-cell responses to transmitted human immunodeficiency virus type 1: virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia[J]. J Virol, 2008, 82(24): 12449-12463.

[5] Goudsmit J, de Wolf F, Paul DA, *et al*. Expression of human immunodeficiency virus antigen (HIV-Ag) in serum and cerebrospinal fluid during acute and chronic infection[J]. Lancet, 1986, 2(8500): 177-180.

[6] McRae B, Lange JA, Ascher MS, *et al*. Immune response to HIV p24 core protein during the early phases of human immunodeficiency virus infection[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 1991, 7(8): 637-643.

[7] Bollinger RC, Kline RL, Francis HL, *et al*. Acid dissociation increases the sensitivity of p24 antigen detection for the evaluation of antiviral therapy and disease progression in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected persons[J]. J Infect Dis, 1992, 165(5): 913-916.

[8] Chappel RJ, Wilson KM, Dax EM. Immunoassays for the diagnosis of HIV: meeting future needs by enhancing the quality of testing[J]. Future Microbiol, 2009, 4(8): 963-982.

[9] Salmona M, Delarue S, Delaugerre C, *et al*. Clinical evaluation of BioPlex 2200 HIV Ag-Ab, an automated screening method providing discrete detection of HIV-1 p24 antigen, HIV-1 antibody, and HIV-2 antibody[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(1): 103-107.

[10] Alexander TS. Human immunodeficiency virus diagnostic testing: 30 years of evolution[J]. Clin Vaccine Immunol, 2016, 23(4): 249-253.

[11] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2020 年修订版)[EB/OL]. [2021-02-10]. http://ncaids.chinacdc.cn/zxzx/zxdteff/202005/W020200522484711502629.pdf

[12] 沈蕊, 邢文革. HIV 实验室检测策略[J]. 中国艾滋病性病, 2015, 21(9): 833-836.

[13] 杨瑞锋, 樊春红. 从“血清学阴性”HIV 感染病例谈病毒抗体检测的局限性[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(4): 285-287.

(**收稿日期**:2021-05-16)

(**本文编辑**:王海燕)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《临床检验杂志》可直接使用缩略形式的常用词汇

对于以下医学检验工作者比较熟悉的常用词汇,本刊允许在论文撰写中直接使用其缩略语,可以不标注中文。

磷酸盐缓冲液(PBS)	白细胞介素(IL)	乙型肝炎表面抗原(HBsAg)
核糖核酸(RNA)	肿瘤坏死因子(TNF)	乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)
脱氧核糖核酸(DNA)	干扰素(IFN)	抗 HBsAg 抗体(抗 HBs)
聚合酶链反应(PCR)	人类白细胞抗原(HLA)	抗 HBeAg 抗体(抗 HBe)
酶联免疫吸附试验(ELISA)	系统性红斑狼疮(SLE)	抗 HBcAg 抗体(抗 HBc)
免疫球蛋白 G(IgG)	类风湿关节炎(RA)	严重急性呼吸综合征(SARS)
免疫球蛋白 A(IgA)	人类免疫缺陷病毒(HIV)	红细胞(RBC)
免疫球蛋白 M(IgM)	甲型肝炎病毒(HAV)	白细胞(WBC)
免疫球蛋白 D(IgD)	乙型肝炎病毒(HBV)	血红蛋白(Hb)
免疫球蛋白 E(IgE)	丙型肝炎病毒(HCV)	