

致 力 于 人 类 的 健 康 与 幸 福

第 06 期
2017/08

华医通讯

www.hybiome.com

人类免疫缺陷病毒血清标志物

Serological Markers for Human
Immunodeficiency
Virus Infection





HIV

人类免疫缺陷病毒（Human Immunodeficiency Virus, HIV），即艾滋病（AIDS，获得性免疫缺陷综合征）病毒，是造成人类免疫系统缺陷的一种病毒。自 1981 年美国报告首例艾滋病病例以来，全球累计报告艾滋病感染病例达 7000 万，死亡病例 3500 多万。艾滋病全球流行已造成巨大的社会、经济和人口损失。据世界卫生组织（World Health Organization, WHO）和联合国艾滋病规划署（Joint United Nations Programme on HIV and AIDS, UNAIDS）公布的《艾滋病流行全球报告》，至 2016 年底，全球约有 3670 万艾滋病毒感染者，新增感染者 180 万。该报告指出，虽然每年新增感染病例数正在减少，预计死亡率也在下降，但艾滋病在某些地区流行形势依然严峻，实现对艾滋病的有效控制依然面临巨大挑战（图 1）。

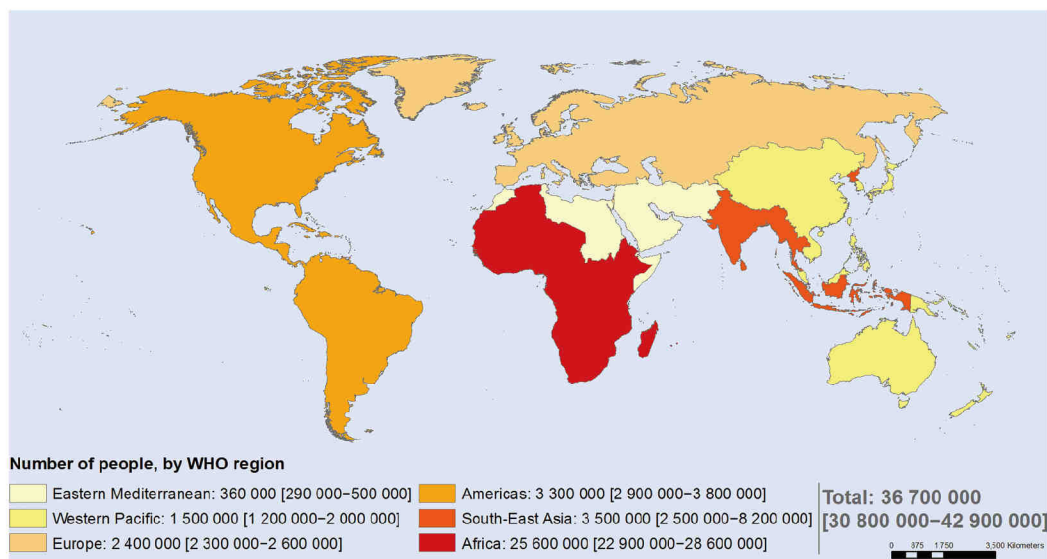


图 1. HIV感染人数（2016，WHO）

HIV生物学特征

HIV 根据基因型分为 HIV-1 和 HIV-2 两型^[1-2]，两型氨基酸序列的同源性为 40-60%，几乎所有病例感染的都是 HIV-1。HIV-1 又可分为 M 群（包括 A-K 亚型）、N 群和 O 群^[3]，O 群和 M 群有 55-71% 的同源性。HIV-2 最早在西非发现，与 HIV-1 相比，HIV-2 的传播效率较低（感染早期的传播效率比 HIV-1 低 5-8 倍，并且很少发生垂直传播）。HIV-2 感染病毒载量常较低，CD4 细胞下降速率和临床进程较慢。

HIV-1 在电子显微镜下是直径 100-120nm 的球形颗粒（图 2）。病毒的核心呈中空锥形，由两条相同的单 RNA 链、逆转录酶和蛋白质组成。核心之外为病毒衣壳，由衣壳蛋白

P24 构成^[4-5]，呈 20 面体立体对称。最外层为包膜，包膜上的糖蛋白有突状结构，是 HIV 与宿主细胞的结合位点和主要的中和位点。

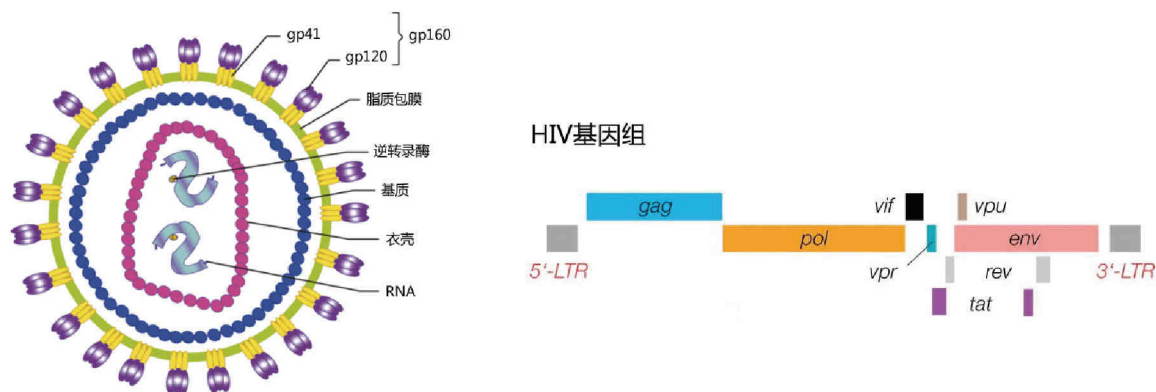


图2. HIV病毒颗粒结构及基因组结构

HIV-1 基因组长约 9.7kb，由两条相同单股正链 RNA 组成（图 2），RNA 具有 5' 端帽子结构和 3' ployA 尾，同时还具有低分子量 RNA，作为 DNA 合成引物。HIV-1 除具有逆转录病毒 3 个基本结构基因，即 *gag*（组特异性抗原基因）、*pol*（聚合酶基因）、*env*（外膜蛋白基因）、及基因组两端的长末端重复序列（*LTR*）以外，还有 2 个调节基因（即 *rev* 毒粒蛋白表达调节子和 *tat* 反式激活因子）以及 4 个辅助基因，即 *nef*（负调控因子）、*vif*（毒粒感染性因子）、*vpr*（病毒蛋白）和 *vpu*（HIV-1）或 *vpx*（HIV-2）（病毒 u 蛋白或 x 蛋白）。它们的作用是在转录、翻译、装配等各个环节对病毒的生长和繁殖起调节作用^[6]。

HIV的生活史

HIV 是一种有包膜的病毒，它通过粘膜或静脉内进入生物体。HIV 感染的细胞的平均寿命为 2.2 天（半衰期为 1.6 天），血浆中 HIV 病毒的平均寿命约为 0.3 天（半衰期为 0.24 天）。HIV 复制的速度非常快，平均每天约产生 10.3×10^9 个病毒颗粒。在人体内，HIV-1 生命周期的最短持续时间大约为 1.2 天。HIV 进入细胞的过程主要由包膜蛋白（Envelope Proteins, Env）介导（图 3）^[7-8]。主要包括以下几个阶段：吸附与融合、逆转、整合、转录、翻译、组装、出芽与成熟。

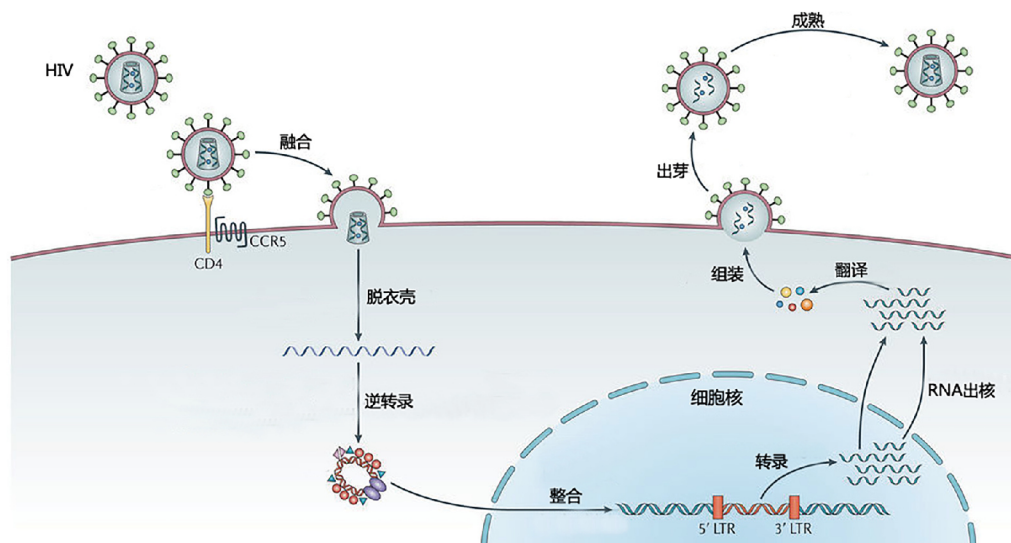


图 3. HIV生命周期^[7]

HIV 的检测技术

(1) 抗体检测

HIV 抗体的检测是 HIV 实验室诊断应用最早、发展最快、目前仍是应用最广的检测技术。常用的技术有酶联免疫法 (ELISA)、胶体金快速检测试纸条 (POCT) 和化学发光法。其中化学发光法因为灵敏度高、全自动操作仪器的使用等, 已成为市场发展的趋势。

HIV 抗体的确认试剂是蛋白印迹法 (WB), WB法是用聚丙烯酰胺凝胶电泳将HIV病毒裂解的蛋白进行分离, 再经转移电泳将不同蛋白条带转印于硝酸纤维膜上, 加入病人血清孵育后, 用抗人免疫球蛋白酶标抗体染色, 就能测出针对不同结构蛋白抗体, 如抗gp160、gp120、gp41、gp36、p24、p17、p31、p39、p51、p55、p66抗体等, 特异性较高。

(2) 抗原检测

HIV 感染机体后, 感染者血液中最先出现的是病毒基因表达产物抗原, 然后才出现相应的特异性抗体, 以后随抗体滴度的升高抗原含量呈逐渐下降的趋势, 以至检测不出。在病情发展后期, 病毒大量复制, 机体免疫力下降, 所产生的抗体不足以中和病毒抗原时, 抗原在血中又可测出。目前检测的 HIV 抗原为 P24。P24 抗原的检测, 缩短了检测的窗口期, 有利于提前判断是否感染了 HIV (图 4)。

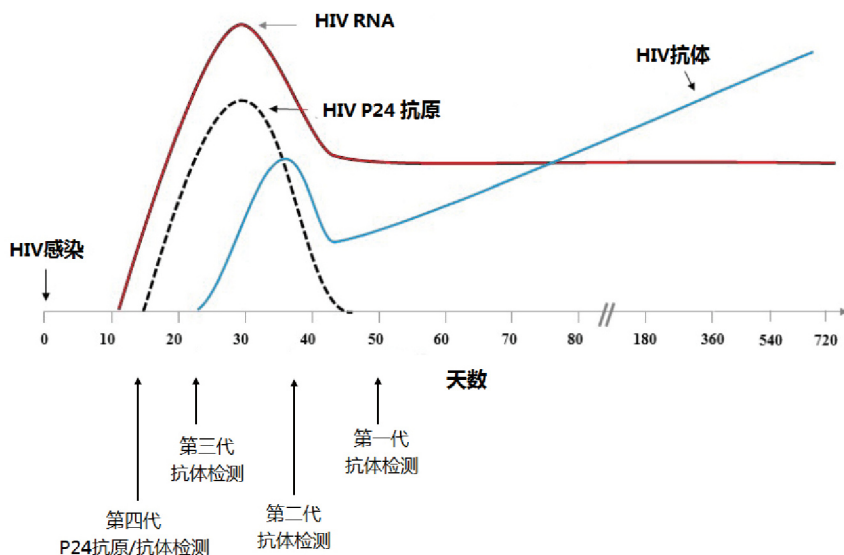


图4. HIV感染标志物

HIV 抗原抗体检测的四个阶段：

第一代：采用纯化裂解的病毒抗原，间接法原理检测

第二代：采用基因工程重组抗原，间接法原理检测

第三代：采用基因工程重组抗原，夹心法原理检测

第四代：在第三代的基础上，加入双抗体夹心法检测 P24 抗原，即抗原抗体联检

(3) 核酸检测

用 PCR 法检测基因，具有快速、高效、敏感和特异等优点，目前该法已被应用于感染早期诊断及艾滋病的研究中。

临床诊断相关的检测策略及结果报告

用筛查试剂进行初筛，结果呈阴性反应，报告“抗-HIV 阴性”；结果呈阳性反应，不能出具阳性报告，必须进入复检试验。对初筛呈阳性反应的样品用原有试剂双孔或原有试剂加另一种不同原理（或厂家）试剂进行复检试验，如均呈阴性反应，报告“抗-HIV 阴性”；如均呈阳性反应或一阴一阳反应，送确认实验室确认。临床诊断筛查检测流程见图 5：

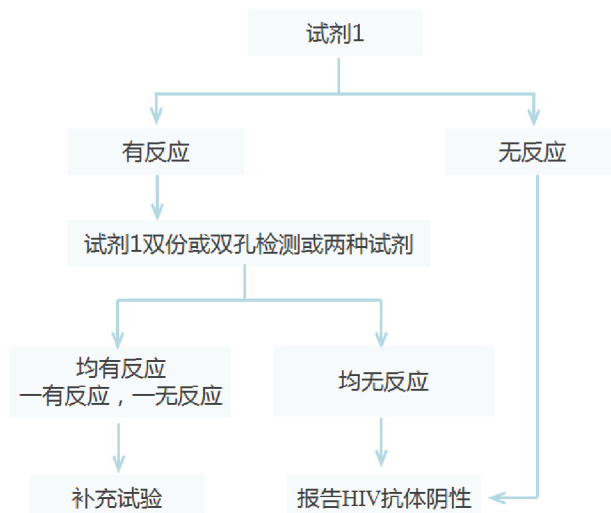


图5. HIV临床诊断筛查检测流程

应用 问答

1.关于《全国艾滋病检测技术规范(2015年修订版)》中临床诊断相关的检测策略及结果报告：使用抗体检测试剂的检测流程的理解？

在“使用抗体检测试剂的检测流程”中“对初筛有反应的样品，用原有试剂双份或双孔进行复检试验（或者两种试剂复检）”，其中备注“两种试剂可以是原有试剂加另一种试剂，也可以是两种不同试剂”。在临床实际应用中，对于采用复检的两种试剂，选择上有所不同，有些科室用化学发光法或酶免法初筛的有反应的样本，采用胶体金法等快速检测试剂进行复检。从艾滋病初筛的设计上考虑，应该是灵敏度高，也就是“宁可错杀，不可漏过”，因为后续还有“如均有反应或一个有反应一个无反应，进行补充试验”的流程，所以在选择复检的两种试剂时，应该选用方法原理上相当、或更高灵敏度的试剂进行复检。

2.传染病产品,有时偶然出现第一次检测弱反应性,复检无反应性,是什么原因？

一般来讲，当标本处理不完全时，血清和血细胞等分离不彻底，对检测结果造成影响，当复检时，由于经过时间放置，检测结果为阴性。这种情况属于非特异反应，属于偶发现象。通过标本的前处理，规范化操作等，可以将发生概率大幅度降低。

3.试剂生产厂家是如何保证产品质量的？

试剂盒的生产质量控制包括原料检验、半成品检验、成品检验和过程控制等。检验的内容主要包括灵敏度、线性、准确度、重复性、批间差、稳定性等，定性产品还包括特异性等。

参考文献

1. GJ Jr, JB McCormick, S Mitchell, JA Nelson, MB Oldstone. Synthetic peptide immunoassay distinguishes HIV type 1 and HIV type 2 infections. 1987 Sep 11;237(4820):1346-9.
2. Chen YH, Christiansen A, Dierich MP. HIV-1 gp41 selectively inhibits spontaneous cell proliferation of human cell lines and mitogen- and recall antigen-induced lymphocyte proliferation. Immunol Lett. 1995 Nov;48(1):39-44.
3. Guertler L. Virus safety of human blood, plasma, and derived products. Thromb Res. 2002 Oct 31;107 Suppl 1:S39-45.
4. Joshi S, Joshi RL. Molecular biology of human immunodeficiency virus type-1. Transfus Sci. 1996 Sep;17(3):351-78.
5. S Sierra, B Kupfer, R Kaiser. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. Journal of Clinical Virology the Official Publ..., 2005, 34(4):233-44.
6. 余勇, 肖庚富, 李敏, 詹睿, 张文涛. 人类免疫缺陷病毒-1进入细胞的分子机制及相关药物的研究. 生物化学与生物物理进展, 2003, 30(1):13-18.
7. Barré-Sinoussi F, Ross AL, Delfraissy JF. Past, present and future: 30 years of HIV research. Nat Rev Microbiol, 2013, (12):877-883.
8. Cooley LA, Lewin SR. HIV-1 cell entry and advances in viral entry inhibitor therapy. J Clin Virol, 2003, (26): 121.

有奖征集

华医通讯推出后, 受到读者的广泛赞誉。为了更好的服务客户, 解决实际工作中面临的疑问, 欢迎大家踊跃来信, 分享自己的知识经验或工作中遇到的问题。我们将给予心动的回报!
投稿邮箱: hytx@hybiome.com

有奖征答

室间质评为什么要分组呢?

下期预告

全自动化学发光免疫分析仪



苏州长光华医生物医学工程有限公司

SUZHOU HYBIOME BIOMEDICAL ENGINEERING CO., LTD

地址: 苏州高新区锦峰路8号4号楼

Address: Building 4, No. 8, Jinfeng Road, Suzhou 215163, China

电话: 400 928 0111 传真: 0512-6689 7061

Email: hybiome@hybiome.com www.hybiome.com

