

· 论著 ·

# 免疫印迹法检测血液和尿液中 HIV-1 抗体的实验研究

谭卓 黄云坚 夏晓华 倪崖 沈小琴 房国坚 李坤

**【摘要】** 目的 用免疫印迹法检测 HIV 携带者的血液和尿液样本,研究尿检试剂替代血检试剂用于 HIV 确证的可行性。方法 采集河南、浙江研究对象 87 名的血液和尿液,分别用血检试剂和尿检试剂平行检测,按各自检定标准判定结果,统计各特异性条带出现频率。结果 87 名被检者中,血检阳性 41 人,尿检阳性 39 人,符合率为 97.7%。阳性血液样本中出现频率最高的条带是 gp160、p24、gp120,最低的是 p55、p31、p17;阳性尿液样本中出现频率最高的条带是 gp160、gp120、gp41,最低的是 p17、p55、p24。结论 HIV 携带者尿液中的抗体与血液不同,灵敏度也有一定差异,通过改进尿检试剂的制备工艺,同时制定适宜的判定标准,可以使尿检试剂替代血检试剂应用于 HIV-1 抗体的检测确证。

**【关键词】** HIV-1;免疫印迹;尿液;血液

**Comparison study on HIV-1 antibody test in human blood and urine specimens using western blot** TAN Zhuo\*, HUANG Yun-jian, XIA Xiao-hua, NI Ya, SHEN Xiao-qin, FANG Guo-jian, LI Kun.\* Hangzhou Ausia Biological Technic Co., Ltd, Hangzhou 310018, China

Corresponding author: XIA Xiao-hua, E-mail: xhxia1658@126.com; NI Ya, E-mail: niya99@china.com

**【Abstract】 Objective** To test and compare results of HIV-1 antibody in blood and urine specimens tested by western blot. **Method** 87 blood specimens and paired urine specimens were collected from Henan and Zhejiang, and tested by western blot. The results according to the criterion of each assay were interpreted and the frequencies of virus specific bands were counted. **Results** Among 87 specimens, 41 blood specimens and 39 urine specimens were positive respectively. The coincidence rate was 97.7%. In blood specimens, the frequency of gp160/p24/gp120 bands was the highest and that of p55/p31/p17 was the lowest. In urine specimens, the frequency of gp160/gp120/gp41 bands was the highest and that of p17/p55/p24 was the lowest. **Conclusions** HIV-1 antibody in urine is different from that in blood, new technics and criterions will increase the probability of test in urine specimens.

**【Key words】** HIV-1; Western blot; Urine; Blood

检测体液中的 HIV 抗体是早期发现 HIV 携带者的主要手段。目前国内常用的检测方法是抽取待检者的血清样本,用 ELISA、明胶颗粒凝集试验等进行初筛,初筛为阳性的样本用免疫印迹试验、免疫荧光试验等进行确认。众所周知,采集血液样本会使待检者产生不适感,不利于提高自愿检测者的主动性,同时还存在职业暴露的风险,因此有研究者开展了对检测尿液、唾液等非损伤性采集样品的研究<sup>[1-2]</sup>,开发出用于尿液检测的 HIV-1 抗体诊断试剂。为了

解尿液免疫印迹检测这项技术在临床中的应用效果,我们分别用血检试剂和尿检试剂检测同一待检者的血液和尿液样本,研究分析了平行比对实验结果,现将研究报道如下。

## 材料与方 法

### 一、检测对象

于 2007 年 4-5 月份采集河南及浙江研究对象中的 87 名被检者的血液和尿液,其中经血液检测确认为 HIV-1 阳性者 41 名。血液样本采集 5 ml,静置凝集血清,病毒灭活处理后,保存于 -20 ℃;尿液样本采集 10 ml,保存于 4 ℃。

### 二、检测方法

血检采用杭州澳亚生物技术有限公司生产的 HIV-1 + 2 抗体确证试剂盒(免疫印迹法),批号

基金项目:浙江省科技计划专项资金项目(2005F13024)

作者单位:310018,杭州澳亚生物技术有限公司生物工程研究院(谭卓、黄云坚、沈小琴);310014 杭州,浙江省临床检验中心(夏晓华);310013 杭州,浙江省医学科学院(倪崖、房国坚、李坤)

通讯作者:夏晓华, E-mail: xhxia1658@126.com; 倪崖, E-mail: niya99@china.com

20070301;尿检采用美国卡里普特生物医学公司生产的 HIV-1 抗体免疫印迹试剂盒,批号 C5118U。均按说明书严格操作。

### 结 果

#### 一、血检和尿检结果

检测 87 份血液样本, HIV 抗体阳性 41 份, 不确定 3 份, 阳性率 47.1%; 检测 87 份尿液样本, HIV 抗体阳性 39 份, 不确定 5 份, 阳性率为 44.8%。血检和尿检的符合率为 97.7%。3 份不确定血液样本对应的尿液样本检测结果为不确定, 另有 2 份阳性血液样本对应的尿液样本检测结果为不确定, 见表 1。

表 1 配对样本的 HIV-1 抗体免疫印迹检测结果

尿液样本	血液样本			合计
	阳性	阴性	不确定	
阳性	39	0	0	39
阴性	0	43	0	43
不确定	2	0	3	5
合计	41	43	3	87

#### 二、特异性条带出现频率对比

比较血液、尿液中阳性和不确定样本的检测结果, 统计各特异性条带出现频率, 血液样本中出现频率最高的条带是 gp160 (41/41)、p24 (41/41)、gp120(39/41), 最低的是 p55 (17/41)、p31 (17/41)、p17(18/41); 尿液样本中出现频率最高的条带是 gp160(39/41)、gp120(36/41)、gp41(35/41), 最低的是 p17(6/41)、p55(7/41)、p24(18/41), 见表 2。

表 2 HIV 抗体阳性及不确定者的病毒特异性条带出现频率(n=41)

	gp160	gp120	p66	p55	p51	gp41	p31	p24	p17
血检结果	41	39	33	17	28	32	17	41	18
尿检结果	39	36	30	7	24	35	27	18	6

### 讨 论

自从 HIV-1 感染者尿液中分离出 HIV-1 抗体, 并经证实主要成分为 IgG 后, 美国 FDA 分别于 1996 年和 1998 年通过了尿检 HIV-1 抗体 ELISA 检测试验和免疫印迹确证试验, 使之成为检测 HIV-1 抗体的重要技术。与血液样本相比, 检测尿液样本具有以下优势: (1) 非创伤性采集, 容易提高被检者的依从性, 同时避免了职业暴露; (2) 尿液样本采集方便、保

密性强, 被检者易于接受; (3) 尿液样本保存条件要求低, 在室温下可保存 55 d 或在 2~8 ℃ 保存一年, 也易于运输。尽管尿检存在上述优势, 但本文研究结果也表明, 尿检结果与血检相比一致性为 97.7%、特异性为 100%、灵敏度为 95.1%, 作为确认产品, 免疫印迹法试剂检测尿液样本的准确性低于血液, 目前尿检尚无法替代血检, 有待研究开发敏感度更高、特异性更强的检测技术及试剂。

依据《全国艾滋病检测技术规范》<sup>[3]</sup>和试剂盒说明书, 血检试剂和尿检试剂的判定标准不尽相同, 前者的标准是: 出现 gp160、gp120、gp41 三条带中的两条, 或出现上述三条带中的一条与 p24, 即判定为 HIV-1 抗体阳性; 后者的标准是: 清晰出现 gp160 带即判阳性。这种判断标准的差异主要来自于特异性条带出现频率上的不同<sup>[4]</sup>。本研究表明, 在 HIV-1 阳性不确定的血液和尿液样本中, gp160、gp120 及 gp41 出现频率比较一致, 证明由 *env* 编码的跨膜糖蛋白抗原专一性较高, 是检测 HIV-1 抗体的重要依据。p24 抗体在血液样本中出现频率也较高, 是血检试剂判断 HIV-1 抗体阳性的另一重要依据。但也有试验证明, 免疫印迹法检测正常人血清时, 有接近 20% 会出现 p24 假阳性<sup>[5]</sup>, 是造成检测结果不确定的主要原因, 这种不确定结果既造成了大量重复试验, 也给被检者造成巨大的心理影响; 而在尿液样本中 p24 则比较少见, 减少了不确定结果的出现率, 但另一方面, 单纯靠 gp160 作为判断依据, 检测弱阳性样本时容易造成漏检, 本次研究中就出现了 2 份血检阳性样本, 尿检时 gp160 带不清晰而被判不确定, 因此有待进一步研究提升 gp160 的灵敏度。

检测结果出现不确定的可能原因有: (1) 当 HIV 携带者处于窗口期 (HIV 感染一个月内), 体内尚未产生大量 HIV 抗体时, 或者艾滋病晚期患者免疫系统长期受损并体内抗体量低于 HIV 诊断试剂的检测限时, 尿液 HIV 确证试剂通常只能检出部分抗体 (如 p24、gp160 等), 按照有关标准不能判断为阳性的结果。(2) 阴性尿液样本如果严重混浊, 或经反复冻融, 或采集、保存时处理不当, 可能变性产生非特异性反应, 出现某条带型 (如 p24、p17 等), 按照目前的相关标准也不能判断为阳性或阴性结果。(3) 感染某些病毒 (如 CMV、EBV 等)、寄生虫 (如疟原虫) 产生的抗体和自身免疫疾病 (如风湿病) 患者的自身抗体都有可能与 HIV-1 的某些抗原决定簇有交叉反应, 出现某条带型 (如 p24、p17 等), 而造成难以判断

为阳性或阴性结果。

HIV-1 尿液免疫印迹试剂于 2002 年底进入中国市场,前期并未广泛用于临床检验,主要原因是检测效果不如血液检测试剂。根据卡特普利公司提供的资料,该试剂以 HIV-1 B 亚型流行株为抗原,在欧美地区的检测效果不亚于血液检测试剂,而我国现已发现的 8 种类型的 HIV-1 亚型中,流行区域最广的是 B'亚型等几种重组株<sup>[6]</sup>,因此 HIV-1 尿液免疫印迹试剂是否适用于我国的 HIV-1 检测尚待考察。另外,相对于血检试剂,尿检试剂检测所需时间较长,试剂组分较多,操作也复杂一些。如果尿检试剂能进一步改进,特别是采用 HIV 中国流行株抗原,并提高免疫反应体系的灵敏度,进一步研发快速、敏感、

特异的试剂和技术,有望部分替代血检试剂,用于特殊人群的 HIV-1 抗体检测。

### 参 考 文 献

- [1] 曹韵贞. 尿液中抗 HIV-1 抗体的研究. 中国性病艾滋病防治, 1999, 5(1):33-35.
- [2] 谭卓, 黄云坚, 倪崖, 等. 垂直流免疫印迹法检测尿液 HIV-1 抗体的技术研究. 国际流行病学传染病学杂志, 2008, 35(2): 86-88.
- [3] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2004 年版).
- [4] 杨晓莉, 李敬云. HIV 感染确认的现状和发展趋势. 中国艾滋病性病, 2007, 13(1): 585-587.
- [5] 刘世亮, 齐妍, 丁国伟, 等. 一种血液艾滋病病毒抗体免疫印迹试剂的现场评估. 中华流行病学杂志, 2006, 27(7): 593-594.
- [6] 倪崖, 黄云坚, 谭卓, 等. HIV 亚型特性及其意义. 国外医学流行病学传染病学分册, 2004, 31(5): 269-271.

(收稿日期:2008-07-31)

· 论 著 ·

## 症状监测在突发事件中的应用

申锦玉

**【摘要】目的** 评价症状监测系统在传染病监测中的效果。**方法** 数据收集通过临时安置点医务室医生使用的“接诊登记表”,数据日分析、解释、分发由当地 CDC 受指派医务人员执行,监测到的数据按症候群分成 4 类,包括呼吸道症候群(咳嗽、咽痛、流涕),消化道症候群(每日腹泻次数、恶心、呕吐),发热症候群(体温  $\geq 37.3$  °C)和其他症候群(头昏、头痛、乏力及其他症状),疑似病例进行实验室确诊。**结果** 总计人群中 7566(73%)就诊人次,共识别了 44% 呼吸道症候群,9% 消化道症候群,1% 发热症候群,46% 其他症候群。21% (1578/7566) 的就诊者是 60 岁及以上的老年人。男女性别比为 0.76:1。呼吸道、消化道、发热症候群总计 4380 组,就诊高峰发生在 2006 年 3 月 30 日和 4 月 3 日。报告一例疑似麻疹病例,经血样检测后排除麻疹,避免了大面积接种麻疹疫苗。共发现 71 例发热患者,其中高热患者 8 例(体温  $\geq 39$  °C)。报告一起疑似急性出血性结膜炎爆发,全部 21 例病例进行了流行病学调查后证实是硫化氢引起的急性眼刺激征。**结论** 症状监测有助于监测传染病病例,能迅速显示症候群消长趋势,实施成本低廉,在突发事件中实施有效可行,对类似的事件有实际应用价值。

**【关键词】** 传染病;症状监测;爆发

**Application of syndromic surveillance in the emergency events** SHEN Jin-yu. Xiamen Center for Disease Control and Prevention, Xiamen 361021, China

**【Abstract】Objective** To evaluate syndromic surveillance effect in the emergency events. **Method** We collected data from doctors using outpatient registers in the temporary settlements. Analysis, interpretation and dissemination of data were implemented daily by designated medical personnel of local CDC. symptoms were categorized in 4 clusters including respiratory symptoms(cough, angina, sniveling), gastrointestinal symptoms(diarrhea, nausea, vomiting), fever symptoms( $T \geq 37.3$  °C) and miscellaneous symptoms(dizziness, headache, nerveless and other symptoms). Specimens of suspect case were collected for laboratory confirmation. **Results** Overall, 73% outpatients were identified, included 44% respiratory symptoms, 9% gastrointestinal symptoms, 1% fever symptoms, 46% miscellaneous symptoms, 21% outpatients were 60 years old and above. The sex ratio is 0.76:1. Remove miscellaneous symptoms, respiratory and gas-

作者单位:361021,厦门市疾病预防控制中心应急处置与信息管理部

# 免疫印迹法检测血液和尿液中HIV-1抗体的实验研究

作者: [谭卓](#), [黄云坚](#), [夏晓华](#), [倪崖](#), [沈小琴](#), [房国坚](#), [李坤](#), [TAN Zhuo](#), [HUANG Yun-jian](#), [XIA Xiao-hua](#), [NI Ya](#), [SHEN Xiao-qin](#), [FANG Guo-jian](#), [LI Kun](#)

作者单位: [谭卓,黄云坚,沈小琴,TAN Zhuo,HUANG Yun-jian,SHEN Xiao-qin\(澳亚生物技术有限公司生物工程研究院,杭州,310018\)](#), [夏晓华,XIA Xiao-hua\(浙江省临床检验中心,杭州,310014\)](#), [倪崖,房国坚,李坤,NI Ya,FANG Guo-jian,LI Kun\(浙江省医学科学院,杭州,310013\)](#)

刊名: [国际流行病学传染病学杂志](#) **ISTIC**

英文刊名: [INTERNATIONAL JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE](#)

年,卷(期): 2008, 35(5)

## 参考文献(6条)

1. [曹韵贞](#) [尿液中抗HIV-1抗体的研究](#) 1999(01)
2. [谭卓;黄云坚;倪崖](#) [垂直免疫印迹法检测尿液HIV-1抗体的技术研究](#)[期刊论文]-[国外医学\(流行病学传染病学分册\)](#) 2008(02)
3. [中国疾病预防控制中心](#) [全国艾滋病检测技术规范](#) 2004
4. [杨晓莉;李敬云](#) [HIV感染确认的现状和发展趋势](#)[期刊论文]-[中国艾滋病性病](#) 2007(01)
5. [刘世亮;齐妍;丁国伟](#) [一种血液艾滋病病毒抗体免疫印迹试剂的现场评估](#)[期刊论文]-[中华流行病学杂志](#) 2006(07)
6. [倪崖;黄云坚;谭卓](#) [HIV亚型特性及其意义](#)[期刊论文]-[国外医学\(流行病学传染病学分册\)](#) 2004(05)

## 本文读者也读过(10条)

1. [万卓越](#),[赵茜茜](#),[颜瑾](#),[刘勇鹰](#),[周海](#),[吴宝燕](#) [人血液和尿液样本HIV-1抗体的ELISA 检测比较](#)[期刊论文]-[华南预防医学](#)2002, 28(1)
2. [贺健梅](#),[陈曦](#),[江洋](#),[郑军](#) [一种尿液HIV-1抗体EIA试剂现场使用评价](#)[期刊论文]-[实用预防医学](#)2002, 9(5)
3. [郑行照](#),[伍显明](#),[张良](#),[Zheng Xingzhao](#),[Wu Xianming](#),[Zhang Liang](#) [ELISA检测HIV感染者尿液标本中抗HIV-1抗体结果分析](#)[期刊论文]-[中国性病艾滋病防治](#)2001, 7(1)
4. [曹韵贞](#) [非侵入性艾滋病毒感染诊断新技术的引进和应用](#)[期刊论文]-[医学研究通讯](#)2003, 32(9)
5. [冯国基](#),[郑长青](#),[于剑](#),[杨林](#),[孙辉](#),[黄妍](#),[陈兰坤](#) [尿液HIV-1抗体EIA-PRC法检测的临床应用](#)[期刊论文]-[现代检验医学杂志](#)2003, 18(5)
6. [伦文辉](#),[李莉](#),[黄钦](#),[李敏](#),[曹韵贞](#) [人类免疫缺陷病毒感染者尿液中抗-HIV-1检测](#)[期刊论文]-[中华传染病杂志](#) 2002, 20(1)
7. [李莉](#),[曹韵贞](#) [尿液HIV-1抗体酶联免疫诊断试剂在北京等地现场考核结果报告](#)[期刊论文]-[中国性病艾滋病防治](#) 2001, 7(1)
8. [张曙光](#),[戚其平](#),[马晶](#),[张晓梅](#),[王自春](#),[李红霞](#),[曾毅](#),[ZHANG Xiao-guang](#),[QI Qi-ping](#),[MA Jing](#),[ZHANG Xiao-mei](#),[WANG Zi-chun](#),[LI Hong-xia](#),[ZENG Yi](#) [高效表达重组HIV-1 gp41及在尿液检测中的应用](#)[期刊论文]-[中华实验和临床病毒学杂志](#)2008, 22(4)
9. [伦文辉](#),[李莉](#),[黄钦](#),[李敏](#),[曹韵贞](#) [ELISA检测HIV感染者尿液标本中抗HIV-1抗体结果分析](#)[期刊论文]-[中国性病艾滋病防治](#)2001, 7(1)
10. [谭卓](#),[黄云坚](#),[倪崖](#),[房国坚](#),[胡丰翠](#),[李坤](#),[李忠辉](#),[TAN Zhuo](#),[HUANG Yun-jian](#),[NI Ya](#),[FANG Guo-jian](#),[HU Feng-cui](#),[LI Kun](#),[LI Zhong-hui](#) [垂直免疫印迹法检测尿液HIV-1抗体的技术研究](#)[期刊论文]-[国际流行病学传染病学杂志](#)2008, 35(2)

引用本文格式：谭卓.黄云坚.夏晓华.倪崖.沈小琴.房国坚.李坤.TAN Zhuo.HUANG Yun-jian.XIA Xiao-hua.NI Ya.SHEN Xiao-qin.FANG Guo-jian.LI Kun 免疫印迹法检测血液和尿液中HIV-1抗体的实验研究[期刊论文]-国际流行病学传染病学杂志 2008(5)