

# 化学发光法在 HIV 抗体/抗原检测中的应用 及确证结果分析\*

卢燕君<sup>1</sup> 梁铮<sup>1</sup> 周厚全<sup>1</sup> 刘思景<sup>1</sup> 何耀宗<sup>1</sup> 高云龙<sup>1</sup> 晁艳<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:评估罗氏化学发光免疫试验(CLIA)检测人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体/抗原的特异性,了解 CLIA 法检测 HIV 的初筛阳性反应与免疫印迹试验(WB)阳性结果的关系。方法:用 CLIA 法检测拟定输血患者血清中 HIV 抗体/抗原标本,保留 CLIA 法检测的阳性标本,再用 WB 法对初筛阳性标本进行确认,分析 CLIA 法在 HIV 抗体/抗原检测中的应用及 HIV 确证结果。结果:CLIA 法检测 552 例阳性, WB 法检测 108 例阳性(19.57%);WB 法证实 HIV 阳性率在  $1 < S/CO \leq 10$ 、 $10 < S/CO \leq 50$ 、 $50 < S/CO \leq 150$ 、 $150 < S/CO \leq 500$ 、 $S/CO > 500$  5 个区间中,其阳性率分别为 0.28%、12.51%、66.70%、100.00%、91.89%,5 组 HIV 确诊阳性率差异有统计学意义( $\chi^2 = 247.81, P < 0.01$ )。WB 法确诊感染者 108 例,其中男 70 例(65.0%),女 38 例(35.0%)。根据受试者工作特征曲线(ROC)分析,55.37 S/CO 作为罗氏 CLIA 法检测 HIV 初筛试验的分界值。该值对应的灵敏度、特异度和 ROC 曲线下面积分别为 100%、94.57%和 0.986。结论:CLIA 法检测 HIV 高数值的患者,感染 HIV 的风险高,采用 55.37 S/CO 作为罗氏 CLIA 法截断值,其特异度和灵敏度较高,高于此数值的患者感染 HIV 的可能性非常大,对 HIV 的检测流程完善有一定的指导意义。

**[关键词]** 化学发光免疫试验;人类免疫缺陷病毒;免疫印迹试验

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2022.08.006

**[中图分类号]** R512.91 **[文献标志码]** A

## Application of chemiluminescence immunoassay method in HIV antibody/antigen detection and analysis of confirmation cases

LU Yanjun LIANG Zheng ZHOU Houquan LIU Sijing HE Yaorong  
GAO Yunlon CHAO Yan

(Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, 520120, China)

Corresponding author: CHAO Yan, E-mail: chaoyanqy@163.com

**Abstract Objective:** To evaluate the specificity of Roche chemiluminescence immunoassay(CLIA) in detecting human immunodeficiency virus(HIV) antibodies/antigens, and understand the relationship between the positive results of CLIA detection of HIV and the positive results of western blotting(WB). **Methods:** The CLIA method was used to detect HIV antibody/antigen samples in the serum of blood transfusion patients planned by the hospital, and the positive samples detected by the CLIA method were retained, and then the positive samples were confirmed by WB at the initial screening. HIV confirmatory results were analyzed. **Results:** Among 552 positive cases detected by CLIA method, 108 positive cases(19.57%) were detected positive by WB method. In the five intervals of  $S/CO \leq 150$ ,  $150 < S/CO \leq 500$ , and  $S/CO > 500$ , the positive rates were 0.28%, 12.51%, 66.70%, 100.00%, and 91.89%, respectively. There were differences in the positive rates of HIV among the five groups. There was statistical significance( $\chi^2 = 247.81, P < 0.01$ ); among the 108 cases of infection confirmed by WB method, 70 cases(65.0%) were male, and 38 cases(35.0%) were female. According to receiver operating characteristic curve(ROC curve) analysis, 55.37 S/CO was used as the cut-off value for the detection of HIV primary screening test by Roche CLIA method. This value corresponded to sensitivity, specificity and area under the ROC curve of 100%, 94.57% and 0.986, respectively. **Conclusion:** Cases with a high value of HIV detected by CLIA method may have a high risk of HIV infection. Using 55.37 S/CO as the cutoff value of Roche CLIA method can have high specificity and sensitivity. Patients with higher values than this value would be very likely to be infected with HIV. It may have certain guiding significance for the improvement of HIV detection process.

**Key words** chemiluminescence immunoassay; human immunodeficiency virus; western blot

\*基金项目:广东省中医药局科研项目(No:20211202)

<sup>1</sup>广州中医药大学第二附属医院输血科(广州,510120)

通信作者:晁艳,E-mail:chaoyanqy@163.com

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)是患者获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)的病原体, HIV 感染的产妇通过产道传染给婴儿,是我国现阶段主要防治的性疾病之一。目前, HIV 抗体/抗原的筛查试验作为输血前和手术必须检测项目,也是孕妇产前筛查项目。患者血清中抗-HIV 抗体尽早检测出来与 AIDS 病原体尽早确诊,对临床手术前的预防措施、医务人员健康保护及预防 AIDS 病原体的传播有重大意义。化学发光免疫试验(chemiluminescence immunoassay, CLIA),作为 HIV 抗体/抗原筛查试验方法, CLIA 法检测系统有操作方便,特异度和敏感度高,结果易保存原始数据,可以独立一个标本检测或大批量标本检测的优势,适合医疗机构开展急诊检测项目。而 AIDS 的免疫印迹试验(western blot, WB)是我国 AIDS 病原体确证实验室推荐的确证诊断方法<sup>[1]</sup>。为了解 HIV 筛查(CLIA 法)在本实验室应用情况,分析化学发光法检测 HIV 筛查试验信号/临界值(S/CO)与确证试验的相关性;分析第四代化学发光法 HIV 抗体假阳性反应的影响因素及 HIV 患者的感染状况。本研究回顾收集我院 CLIA 法 HIV 初筛阳性患者的检测结果(ELISA、胶体金、WB 同步检测),分析 2016—2021 年 CLIA 法 HIV 初筛阳性标本结果的特点及确证结果比较分析。指导医护人员面对突发事件时可及时采取针对性消毒隔离,避免医源性污染,并在手术或进行创伤性治疗时加强自我防护等方面具有重要作用。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

采集 2016 年 9 月至 2021 年 9 月我院拟输血患者的血清。选取 CLIA 法检测 S/CO $\geq$ 1 作为阳性(CLIA 法阳性反应)552 例患者为研究对象,其中女 242 例,男 310 例;年龄 10~93 岁。

## 1.2 试剂和仪器

罗氏全自动免疫分析仪 Roche cobas e602(瑞士罗氏公司生产)及配套试剂法(第四代 HIV 抗原抗体联合检测试剂盒),胶体金试剂盒(HIV1+2)(万泰生物药业股份有限公司),免疫印迹法人类免疫缺陷病毒确证试剂盒(新加坡亚太科技有限公司),人类免疫缺陷病毒抗原抗体试剂 1(ELISA1,第四代试剂,珠海丽珠生物公司)。人类免疫缺陷病毒抗体试剂 2(ELISA2,第三代试剂,北京金豪股份有限公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 HIV 初筛试验** 本研究的初筛试验依照《全国艾滋病检测技术规范》要求,用 CLIA 法,在 Roche cobas e602 筛查出阳性标本(根据试剂盒说明书,阳性判断标准为 S/CO $\geq$ 1),用胶体金法复检,同时用 CLIA 法再复检 1 次,收集检测结果及患者资料。

**1.3.2 HIV 确认试验** CLIA 法和胶体金法复检试验 2 种方法同时阳性或者其中 1 种方法阴性,另 1 种方法阳性的血清标本(要求同时另外抽取 1 管患者血清标本)送广州市疾病预防控制中心(CDC)检测, CDC 采用 2 种酶联免疫法试剂盒复检及 WB 法确证。

**1.3.3 HIV RNA 检测** 对 WB 法结果不确定标本,重新联系患者抽血,送 CDC 进行 HIV RNA 检测。

## 1.4 统计学方法

采用 MedCalc 14.8.1 软件进行统计学处理,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CLIA 法阳性标本与 WB 法确证试验

552 例 CLIA 法初筛阳性患者,以 WB 法确证试验结果为判断标准, CLIA 法判断 433 例为假阳性患者,108 例确证阳性患者,11 例为确证不确定。CLIA 法阳性标本与 WB 法确证试验结果见表 1。

表 1 CLIA 法与 WB 法确证结果的比较

S/CO	总例数	阴性/例(%)	WB 法/例(%)	
			阳性	不确定
1<S/CO $\leq$ 10	359	355(98.87)	1(0.28)	3(0.84)
10<S/CO $\leq$ 50	73	65(89.04)	1(1.37)	7(9.59)
50<S/CO $\leq$ 150	53	11(20.75)	42(79.25)	0
150<S/CO $\leq$ 500	30	0	30(100.00)	0
S/CO>500	37	2(5.41)	34(91.89)	1(2.70)
合计	552	433(78.44)	108(19.57)	11(1.99)

WB 法证实 5 组 HIV 确诊阳性率差异有统计学意义( $\chi^2 = 247.81, P < 0.01$ ); WB 法确诊感染 108 例中男 70 例(64.81%),主要集中在 20~70 岁,女 38 例(35.19%),主要集中在 51~70 岁。根

据受试者工作特征曲线(ROC)分析,55.37 S/CO 作为 CLIA 法检测 HIV 初筛试验的分界值。CLIA 法检测 HIV 的最佳截断值,以 WB 法检测的结果为金标准,以确证试验 WB 法的阴阳性为状态

变量,以 CLIA 法检测 HIV 的 S/CO 比值为检验变量绘制 ROC 曲线,见图 1。当灵敏度和特异性达到最佳点时,HIV 的截断值为 55.37 S/CO,与之对应的灵敏度和特异度分别是 100.00%、94.57%,此时的曲线下面积(AUC)为 0.986(95% CI 0.965~0.996, $P<0.01$ )。

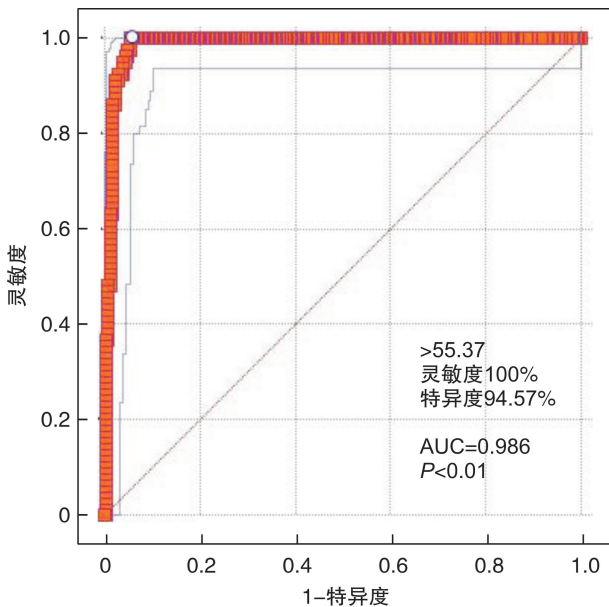


图 1 CLIA 法检测 HIV 的 ROC 曲线

### 2.2 CLIA 法阳患者年龄、性别与 WB 法确证的检测结果

552 例 CLIA 法阳性而且经过 WB 法确证的 108 例 HIV 感染者,CLIA 法 S/CO 值平均为 529.2(1.08~2075);HIV 感染者年龄分布为 10~93 岁,而 552 例 CLIA 法阳性的年龄与 WB 法确证的检测结果见表 2。

表 2 552 例 CLIA 法阳性患者年龄与 WB 法确证结果

年龄/岁	CLIA 法阳性		WB 法		
	例数	阳性数	不确定数	阴性数	
<20	男	10	5	0	5
	女	5	0	1	4
20~50	男	202	40	0	162
	女	122	16	2	104
>50	男	98	25	3	70
	女	115	22	5	88
合计	男	310	70	3	237
	女	242	38	8	196

### 2.3 筛查假阳性及确证阳性患者就诊科室分布

对 433 例判断为 CLIA 法假阳性患者进行科室分析,患者假阳性频次较高的 6 个科室分别为:乳腺科 93 例(21.48%)、妇科 77 例(17.78%)、肿

瘤科 53 例(12.24%)、内分泌科 47 例(10.85%)、心脏内科 38 例(8.78%)、肾病内科 28 例(6.47%),其他科室 97 例(22.4%)。对 433 例 HIV 假阳性患者进一步分析发现,53 例诊断为肿瘤性疾病,CLIA 法 S/CO 值平均为 8.53(1.03~74.0),并且最终确证试验均为阴性,假阳性率为 100%;有 38 例诊断为心血管疾病,假阳性标本 38 例,假阳性标本 CLIA 法 S/CO 值平均为 2.53(1.02~5.55),假阳性率为 100%;妇科 77 例 CLIA 法阳性的患者经确证为全阴性,假阳性率为 100%。

552 例 CLIA 法初筛阳患者,以 WB 法确证试验结果为判断标准,108 例 HIV 确证阳患者,其中排前 6 的科室分别为:皮肤科 43 例(39.80%)、肛肠科 23 例(21.30%)、急诊科 18 例(16.67%)、眼科 8 例(7.41%)、消化内科 8 例(7.41%)、外科 6 例(5.56%),其他科室确证阳性患者 2 例(1.85%)。108 例确证阳性标本 WB 法带型分析中,WB 出现全带型 54 例(50.00%),条带型出现 7~8 条带 32 例(29.63%),出现 5~6 条带 16 例(14.81%),出现 4 条带 6 例(5.56%)。在 WB 各条带中 p160、p120 最高,出现率均为 100.00%,p24 出现率为 99.57%,p55 出现率为 44.35%。

### 2.4 108 例 WB 法确证的 HIV 阳性不同人群特征及可能的感染途径

108 例感染者的文化程度主要以小学为主;婚姻状况以已婚为主;可能的感染途径以异性性接触感染(嫖客)为主要感染途径,见表 3。

表 3 WB 法 HIV 确证患者的特征及感染途径

特征	阳性例数	构成比/%
性别		
男	70	64.81
女	38	35.19
文化程度		
小学	35	32.41
初中	17	15.74
中专(高中)	15	13.89
大专	9	8.33
大学以上	18	16.67
文化程度不详	14	12.96
婚姻状况		
未婚	42	38.89
已婚	62	57.41
离婚(失偶)	4	3.70
可能的感染途径		
异性性接触感染(嫖客)	61	56.48
吸毒(毒品输注者)	5	4.63
同性恋者	13	12.04
母亲阳性史	1	0.93
不详者	28	25.93

### 3 讨论

目前国内 AIDS 最常用是检测患者血清的 HIV 抗体,各医院以及医疗机构常规采用的筛查试验,具有操作简便,检测快速及高灵敏度等特点。初筛试验阳性的患者,选用特异性高的方法复检。CLIA 法与免疫印迹法结果比较,发现 S/CO 值小于 50 的标本,最终 WB 法的阳性率低,并且 CLIA 法低值患者的假阳性率高,灵敏度高;对于 CLIA 法 S/CO 值大于 50 的标本,这类患者 HIV 感染的概率较高,对 S/CO 值大于 150 的标本,WB 法的阳性率可高达 95% 以上,提示高值 S/CO 的患者中 HIV 感染的概率很高,HIV 感染的可能性很高。即 CLIA 法检测 S/CO 值越高,其阳性确诊率亦越高。

电化学发光法第四代试剂的原理是一种 Elexsys HIV Combi PT 探针,定性检测患者血清或血浆中的 HIV(1、2 型)抗体及 HIV(1 型)p24 抗原检测方法<sup>[1]</sup>,第四代试剂比第三代检测窗口期的时间可平均缩短 5~7 d,对比单一抗原 p24 检测方法的灵敏度高<sup>[2]</sup>,同时特异性也随之下落,假阳性率大大增加<sup>[3-4]</sup>。另外,在对 552 例初筛阳性患者的分析中发现,乳腺病、肿瘤、心血管疾病与内分泌病患者的假阳性率高。研究发现妊娠、自身免疫性疾病、透析、肝炎等患者 HIV 抗体检测的假阳性率高,也有报道患者体内含有某些病理性和生理性的甲胎蛋白、自身抗体、治疗性的药物和抗体、类脂嗜异性抗体、类风湿因子等物质,这些物质可能会与试剂中抗原的某些化学基团发生非特异结合反应,从而导致假阳性的发生<sup>[5-9]</sup>。另有报道,老年人、孕妇、婴幼儿等特殊患者,体内也可能产生嗜异性抗体,从而导致检测结果的异常。

通过对 80 例 WB 法确证阳性患者分析,以 20~50 岁年龄段为主,性别差异明显,女性明显少于男性,提示男性同性性行为是 AIDS 感染者的高危行为,另外,毒品注射、嫖娼等也是感染 AIDS 的高危行为。龚睿婕等<sup>[10]</sup>报道,女性青壮年的感染率明显低于男性,对于老年患者这类特殊群体,其 HIV 感染问题同样不容忽视。

对于 WB 法不确定患者,其主要原因是 HIV 感染存在窗口期,其血清中存在大量的抗原而此时体内还并未产生抗体,如果该患者初筛试验的 S/CO 高,这种情况很大可能是早期 HIV 感染,其最终报告结果有可能是不确定或阴性。增加 p24 抗原检测的第四代试剂(CLIA 和 ELISA1)提高了检测灵敏度,缩短检测窗口期<sup>[11]</sup>。另外,对确认试验中的不确定结果,应行 HIV RNA 检测,结合患者流行病学跟踪随访。本研究中对 4 例不确定患者

进行 RNA 检测,结果均为阴性。

总之,我国目前 HIV 感染渐进高发期,选择准确、操作方便、快速地检测 HIV 抗体的方法,在医疗单位日常工作更加重要。CLIA 法敏感性高,标本随到随查,检测时间短,自动化程度高,符合广大医院、检测机构的需求。CLIA 法检测 HIV 的高数值的患者,感染 HIV 的风险高,采用 55.37 S/CO 作为 CLIA 法截断值,其特异度和灵敏度较高,高于此数值的患者感染 HIV 的可能性非常大,对 HIV 检测流程的完善有一定的指导意义<sup>[12]</sup>。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 王乐,汪峰,莫艳萍,等. 无偿献血者血液 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 和抗-TP 不合格情况分析[J]. 临床血液学杂志,2021,34(4):263-267.
- [2] Muhlbacher A, Schennach H, vanHelden J, et al. Performance evaluation of a new fourth-generation HIV combination antigen-antibody assay[J]. Med Microbiol Immune, 2013, 202(1):77-86.
- [3] Hu HS, Luo WT, Wu ZH, et al. A pilot study on the allergenspecific IgE to molecular components on polysensitized mite allergic asthmatic patients in Guangzhou, China[J]. Mol Immunol, 2019, 105(1):38-45.
- [4] 王凡强,曲婧,李世浩,等. 化学发光法检测梅毒和艾滋病抗体的灰区结果分析[J]. 中国国境卫生检疫杂志,2021,44(4):284-285.
- [5] 黄秋婵,李莲娜. 抗-HIV 初筛假阳性患者 52 例临床分析[J]. 中国临床实用医学,2014,4(5):47-48.
- [6] 简练,李雪芽,孙乐栋. HIV 初筛试验假阳性的 SLE 患者 1 例及文献复习[J]. 中国皮肤病学杂志,2013,27(1):100-101.
- [7] 张云燕,仇卫民,江春梅. 1 例肝癌患者磁微粒化学发光法 HIV 假阳性分析[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(23):3381-3382.
- [8] 赵玉锋,张勇,彭玉芳. 化学发光微粒子免疫分析法在 HIV 检测中假阳性分析[J]. 医疗装备,2017,30(8):41-41.
- [9] 梅方超,尚小玲,戴海英,等. 类风湿因子 IgM 对化学发光法检测 HIV 抗体结果的影响[J]. 实用检验医师杂志,2018,10(3):143-144.
- [10] 龚睿婕,王甦平,支阳,等. 性传播疾病患者 HIV 感染的预防干预措施及存在问题[J]. 上海预防医学,2020,32(12):1054-1058.
- [11] 徐莉,孙琦,隋苗苗. 734 例 HIV 抗体初筛阳性标本的复检和确证结果分析[J]. 预防医学论坛,2019,25(12):929-934.
- [12] 张亚兰,卫晓丽,郑海潮,等. 使用四代 HIV 抗原抗体试剂筛查联合蛋白印迹或核酸补充实验的检测策略临床评价[J]. 中国艾滋病性病,2018,24(3):286-306.

(收稿日期:2021-12-23 修回日期:2022-02-14)