

吸毒人群中 HIV/HCV 核酸和抗体关系的分析*

张春涛, 李秀华, 宋爱京, 许四宏, 王佑春**

(中国药品生物制品检定所, 北京, 100050)

The Relationship of the Nucleic Acid and Antibody of HIV/HCV Among Drug Users

ZHANG Chun-tao, LI Xiu-hua, SONG Ai-jing, XU Si-hong, WANG You-chun**

(Department of Cell Biology, National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

Abstract: The objective of this study was to determine the relationship between the nucleic acid and antibody of HIV/HCV in a high-risk population. Plasma samples (320) were collected from drug users in Xinjiang and the nucleic acid and antibody of HIV/HCV were detected. A total of 38% of the subjects were positive for both HIV and HCV. The positive rate of HIV antibody was 41.9%, and the relative coincident rate of HIV RNA and antibody was 98.9%. HIV RNA was detected in 2 cases out of 186 HIV antibody negative cases. The positive rate of HCV antibody was 80.3%, and the positive accordant rate of HCV RNA and antibody is 92.6%, the general accordant rate of those is 90.0%. These results indicated that HIV/HCV infection during the so-called window period can be found by the nucleic acid assay in high-risk areas, however, 8% of HCV antibody positive cases with negative HCV RNA requires further investigations.

Key words: Hepatitis C virus (HCV); Human immunodeficiency virus (HIV); Nucleic acid; Antibody; Nucleic acid test (NAT)

摘要: 研究了高危人群中 HIV/HCV 核酸和抗体的关系。从新疆地区采集吸毒人群的血样, 并对其进行 HIV/HCV 核酸和抗体的检测。320 例吸毒人员血浆样品中 HCV 抗体阳性率为 80.3%, HIV 抗体阳性率为 41.9%, HIV 和 HCV 共感染者为 38.3%。HIV RNA 与抗体的总符合率为 98.9%, 在 186 例 HIV 抗体阴性样品中可能有 2 例为 HIV 感染的窗口期。HCV 抗体和 HCV RNA 的阳性符合率为 92.6%, HCV RNA 与 HCV 抗体的总符合率为 90.0%, 以上结果说明在 HIV/HCV 的高流行区进行 HIV/HCV 核酸检测可以发现病毒感染的窗口期, 而约 8% 的 HCV 抗体阳性样品为病毒核酸阴性, 也值得进一步研究。

关键词: 丙型肝炎病毒; 人类免疫缺陷病毒; 核酸; 抗体; 核酸检测

中图分类号: R511 文献标识码: A 文章编号: 1003-5125(2005)06-0600-03

机体感染人类免疫缺陷病毒(Human Immunodeficiency virus, HIV)以后, 在感染的早期, 病毒在体内大量复制, 此时 HIV RNA 检测呈阳性, 但机体免疫系统还未产生抗 HIV 抗体, 故抗体检测为阴性, 此时期为“窗口期”; 同样, 丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus, HCV)的感染也存在“窗口期”^[1,2]。“窗口期”后机体开始产生 HIV 或 HCV 抗体, 一般认为此时病毒抗体和核酸同时存在, 用 HIV 或 HCV 抗体检测试剂可以诊断 HIV 或 HCV 的感

染。通过对血液 HIV 或 HCV 抗体的筛查可以预防 HIV 或 HCV 的输血后传播, 但仅检测抗体并不能排除病毒感染的“窗口期”, 因此, 普遍认为增加病毒核酸的检测可以减少病毒“窗口期”的传播^[3~5]。本研究主要是采用灵敏度较高的 HIV/HCV 核酸检测试剂对 HIV/HCV 感染的高危人群进行核酸检测, 分析高危人群中病毒感染的“窗口期”存在的可能性, 并进一步分析病毒核酸和抗体的关系。现将研究结果报告如下:

收稿日期: 2005-06-10, 修回日期: 2005-07-18

* 基金项目: 本课题部分受国家科技攻关课题支持(2004BA71907)

作者简介: 张春涛(1973-), 男, 甘肃兰州籍, 助研, 博士, 主要从事 HIV 病毒的分子生物学研究。

** 通讯作者: 王佑春(1962-), 男, 研究员, 研究方向为 HIV 病毒的分子生物学研究。

Corresponding author Tel: 010-67017755 415. E-mail: wangyc@nicpbp.org.cn

1 材料与方 法

1.1 样品和检测试剂

320 份样品来自新疆吸毒人群,人类免疫缺陷病毒 I 型和丙型肝炎病毒核酸联合检测试剂(Procleix HIV/HCV RNA)为美国 Gen-probe Incorporated 公司产品,其中包括 HIV 鉴别试剂和 HCV 鉴别试剂。人类免疫缺陷病毒(HIV)1+2 型抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)为荷兰生物梅里埃公司生产,丙肝病毒(HCV)抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)为强生傲拓临床诊断公司生产。

1.2 Procleix HIV-1/HCV RNA 的检测

Procleix HIV-1/HCV RNA 分析法利用目标扩增核酸探针技术,检测献血者血液和血浆中的 HIV-1 和 HCV RNA。首先用目标捕获法从血浆样本中分离出 RNA,目标片段被捕获到用磁场从血浆中分离出的磁性微粒上;然后应用转录中介扩增法(一种使用 MMLV 反转录酶和 T7 RNA 多聚酶的转录水平的核酸扩增方法)对核酸进行扩增;最后应用杂交保护分析法进行检测。该试剂组份主要包括内质控试剂、扩增试剂、酶试剂、探针试剂、选择试剂。

1.2.1 目标 RNA 的捕获:将样品从-70℃冰箱中取出,室温溶解。将目标捕获试剂工作液充分混合,重新悬浮微粒,分别加 400 μ L 到每一检测管中,加入 500 μ L 校下剂和检测样品,封口,充分混匀至少 20s,置 60℃水浴 20min。室温 14min,置 TCS,9min,弃去封口膜。加入 1ml 洗涤液,封口,充分混匀至少 20s,置 TCS,4min,弃去封口膜。

1.2.2 目的片断扩增:加 75 μ L Amp(扩增剂),200 μ L 油,封口,充分混匀至少 20s,置 60℃水浴 10min,置 41.5℃水浴 9min,弃去封口膜。在 41.5℃水浴中直接加 25 μ L 酶,再 41.5℃水浴 60min。

1.2.3 杂交保护分析:在另一实验区内加入 100 μ L Probe(探针试剂),封口,充分混匀至少 20s,置 60℃水浴 15min,弃去封口膜。加 250 μ L 选择试剂,封口,充分混匀至少 20s,置 60℃水浴 10min,普通水浴 10min。用 Chiron Procleix HC+流明计,进行鉴别分析。选择正确的 Chiron Procleix 系统软件,自动进行分析,S/CO 值>1 判为阳性,<1 判为阴性。

1.3 ELISA 方法检测 HIV 抗体和 HCV 抗体

按荷兰生物梅里埃公司生产的 HIV1+2 型抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)和强生傲拓临床诊断公司生产的 HCV 抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)说明书

的要求进行严格操作进行检测。结果判定分析参照说明书,样品吸光值 \geq CUTOFF 值判为阳性,<CUTOFF 值判为阴性。

2 结果

2.1 HIV 和 HCV 抗体的检测

对 320 例吸毒人员血浆样品用 ELISA 试剂对 HCV 和 HIV 抗体进行检测,其中 257 份为 HCV 抗体阳性,阳性率为 80.3%,134 份 HIV 抗体阳性,阳性率为 41.9%。在 320 例吸毒人群中 HIV 和 HCV 共感染者 124 例,占 38.8%,HCV 单独感染者为 133 例,占 41.6%;HIV 单独感染者 8 例,占 2.5%;HIV 和 HCV 抗体均为阴性者为 55 例,占 17.2%。

2.2 HIV RNA 与 HIV 抗体的关系

用 Procleix HIV/HCV RNA 试剂中 HIV RNA 单检试剂对 320 例吸毒人群样品进行检测,结果在 132 例 HIV 抗体阳性样品中 HIV RNA 全部为阳性,HIV 抗体与 HIV RNA 的阳性符合率为 100%;188 例 HIV 抗体阴性样品中,HIV RNA 阴性者为 186 例,HIV 抗体和 HIV RNA 的阴性符合率为 98.9%;2 份样品为 HIV 抗体阴性,但 RNA 为阳性,其核酸检测 S/CO 值分别为 4.59(xj203102)和 4.06(xj203258),一周后继续采集 xj203102 的样品并进行检测,其核酸 S/CO 值为 22.79,其病毒载量明显增高,但 HIV 抗体仍为阴性,可能为感染初期抗体滴度较低或抗体还没有出现,属于感染的窗口期。HIV RNA 与抗体的总符合率为 99.4%(表 1)。

表 1 HIV 抗体与核酸检测结果比较

Table1 the comparison of HIV antibody and nucleic acid

	Total	HIV RNA	
		Positive	negative
HIV Ab Postive(n)	132	132	0
HIV Ab Negative(n)	188	2	186
Total(n)	320	134	186

2.3 HCV RNA 与 HCV 抗体的关系

用 Procleix HIV/HCV RNA 试剂中 HCV RNA 单检试剂对 320 例吸毒人群样品进行 HCV RNA 的检测,在 257 例抗体阳性样品中,HCV RNA 阳性者为 238 例,HCV 抗体和 HCV RNA 的阳性符合率为 92.6%,对 19 例 HCV 抗体阳性但 HCV RNA 为阴性的样本中的 16 例进行了 HCV RIBA 补充实验,结果均为阳性;320 例吸毒人员血浆样品中 63 例为 HCV

抗体阴性, HCV RNA 阴性者为 50 份, 阳性者为 13 份, 其核酸检测 S/CO 值分别为: 23.32(xj203005), 3.44(xj203024), 21.2(xj203028), 9.03(xj203029), 6.81(xj203044), 25.53(xj203047), 25.22(xj203062), 1.75(xj203064), 1.97(xj203190), 1.05(xj203201) 21.84(xj203271), 10.47(xj203298), 2.34(xj2030299), 说明这些阳性样品可能为感染的窗口期。在该人群中考核试剂对 HCV RNA 与 HCV 抗体的总符合率为 90.0%(表 2)。

表 2 HCV 抗体与核酸检测结果比较
Table 2 the comparison of HCV antibody and nucleic acid

	Total	HCV RNA	
		Positive	negative
HCV Ab Positive(n)	257	238	19
HCV Ab Negative(n)	63	13	50
Total(n)	320	251	69

3 讨论

HIV 和 HCV 主要经血传播, 其中静脉吸毒是 HIV 和 HCV 经血传播的方式之一, 近几年来随着静脉吸毒人数的不断增加, 经静脉吸毒感染 HIV 或/和 HCV 传播的人群也越来越多, 据报道我国通过静脉吸毒感染 HIV 的比例占 68%^[4], 感染 HCV 的比例占 35.0~94.9%。本研究的人群来自于 HIV 的高发区新疆, 结果显示在该吸毒人群中 HIV 抗体阳性率为 40%, 阳性率较高; HCV 抗体的阳性率为 80%。大部分 HIV 抗体阳性者为 HCV 抗体阳性, 除此以外还有相当比例的感染者为 HCV 抗体单独阳性, 提示 HCV 比 HIV 更易通过静脉吸毒传播, 因此, 减少或控制静脉吸毒是预防 HIV 和 HCV 传播的重要方式之一。

通过对本人群中 HIV RNA 的检测发现 HIV RNA 和抗体的符合率高, 为 99.4%, 在 HIV 抗体阴性样品中有 2 例为 HIV RNA 阳性, 由于病例追踪困难, 仅对其中 1 例随访一周, 结果显示 HIV RNA 的拷贝数明显增加, 其 S/CO 值由一周前的 4.59 增加为 22.79, 但抗体仍然没有产生, 提示通过 HIV 核酸检测可以检出感染的窗口期。

根据目前的报道, 在 HCV 抗体阳性样品中, 一般能检出 80% 左右的样品为 HCV RNA 阳性, 本研究采用了灵敏度较高的 Proclix HIV/HCV 核酸检测试剂, 其检测 HCV RNA 的灵敏度为 11IU/ml, 但即使采用较高灵敏度的核酸检测试剂, 仍有约

10% 的 HCV 抗体确证为阳性的样品为 HCV RNA 阴性, 在这部分人群中 HCV 是处于静止期还是 HCV 的恢复期, HCV 感染者是否具有恢复期? 或者在这部分人群 HCV 抗体是否具有中和活性? 这些问题很值得进一步研究。同时在该人群中 HCV 抗体阴性者中, 约有 20% 为 HCV RNA 阳性, 而且重复检测也为阳性, 而且拷贝数较高, 部分样品的 S/CO 值在 20.00 左右。遗憾的是未对这些样品进行追踪。研究结果显示在该人群中 HCV RNA 与 HCV 抗体的总符合率为 90.0%。核酸检测试剂既可以检出 HCV 感染的窗口期, 但在 HCV 抗体确证阳性的样品中也确实有一定比例的病例为 HCV 核酸阴性, 因此, 仅用 HCV 抗体或核酸检测试剂单独检测都不能对 HCV 感染状态作出正确的判断。HCV 的感染远比 HIV 感染复杂, 应该对 HCV 的各标志物与疾病的进展以及预后进行综合分析, 或许对今后研制 HCV 疫苗具有很大的帮助。

通过以上的研究发现, 在高危人群中确实存在 HIV/HCV 感染的窗口期, 而且窗口期样品的比例可能明显多于国外报道, 这主要是由于人群不同, 但遗憾的是由于追踪困难, 未能对大部分窗口期或可疑窗口期的样品进行追踪。这一研究结果提示在 HIV/HCV 的高流行区进行病毒核酸检测可以预防病毒窗口期传播, 减少输血后 HIV/HCV 的感染。

参考文献

- [1] Dodd R Y, Notari E P, Stramer S L, et al. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population[J]. *Transfusion*, 2002, 42: 975-979.
- [2] Orton S L, Stramer S L, Dodd R Y, et al. Risk factors for HCV infection among blood donors confirmed to be positive for the presence of HCV RNA and not reactive for the presence of anti-HCV[J]. *Transfusion*, 2004, 44: 275-81.
- [3] Katsoulidou A S, Moschidis Z M, Gialeraki R E, et al. Clinical evaluation of an HIV-1 and HCV assay and demonstration of significant reduction of the HCV detection window before sero-conversion[J]. *Transfusion*, 2004, 44: 59-66.
- [4] 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防与控制中心 2002 年我国艾滋病疫情及防治工作进展情况[DB/OL]. <http://www.chinaids.org.cn> 2003.2.21.
- [5] 王敏, 杜建伟, 黄好壮, 等. 海南省吸毒人员吸毒方式与 HIV、HCV、HBV 和梅毒感染调查[J]. *中国公共卫生*, 2000, 16: 854-855.
- [6] 李大勤, 郑锡文, 张桂云, 等. 云南省吸毒人群中 HIV 及 HCV 感染流行状况的研究[J]. *中国流行病学杂志*, 1994, 15: 74-75.