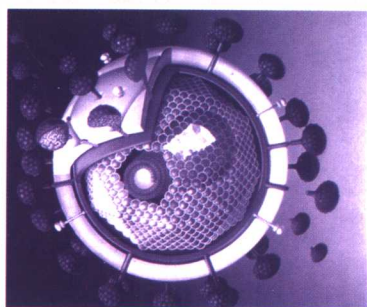


AIDS

AIZIBING JIANCEFANGFAYUYINGYONG

艾滋病 | 检测方法与应用

AIZIBING JIANCE FANGFA
YU YINGYONG



李敬云 / 主编



军事医学科学出版社

艾滋病检测方法与应用

主 编 李敬云

军事医学科学出版社
·北 京·

图书在版编目(CIP)数据

艾滋病检测方法与应用/李敬云主编.

- 北京:军事医学科学出版社,2005

ISBN 7-80121-752-7

I.艾… II.李… III.艾滋病-医学检验 IV.R512.910.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 122889 号

出 版:军事医学科学出版社

地 址:北京市海淀区太平路 27 号

邮 编:100850

联系电话:发行部:(010)63801284

63800294

编辑部:(010)66884418;66884402 转 6210,6216,6213

传 真:(010)63801284

E-MAIL:<http://www.mmsp.cn>

印 装:华润印装厂

发 行:新华书店

开 本:850mm×1168mm 1/32

印 张:8.875

字 数:228 千字

版 次:2006 年 3 月第 1 版

印 次:2006 年 3 月第 1 次

定 价:15.00 元

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换

内 容 提 要

本书介绍了艾滋病防治工作中使用的 HIV 及其相关的检测方法和应用。内容不仅包括常用的 HIV 抗体筛查和确认实验方法,还有常用的针对 HIV 本身的定性和定量检测方法,包括 HIV 抗原、HIV 前病毒 DNA、HIV 病毒载量、HIV 耐药性、HIV 毒株分离培养和表型鉴定等;对 HIV 相关免疫学指标的检测,如 HIV 抗病毒免疫以及 CD4⁺T 淋巴细胞检测方法也作了简要介绍;本书还论述了 HIV 检测技术在艾滋病防治领域中的应用,如献血员 HIV 筛选、婴儿 HIV 检测的特殊问题、抗 HIV 药物筛选和评价方法等;同时也包括 HIV 检测相关的生物安全和质量管理,如职业性 HIV 感染的危险与预防、实验室质量管理与质量控制等。

本书适合从事艾滋病防治的卫生防疫人员和临床医生阅读,也可供从事艾滋病研究的科研人员参考。

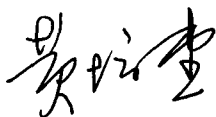
序 一

我国自 1985 年发现首例艾滋病病例以来,估计目前已有存活
的 HIV 感染者/艾滋病患者 84 万,流行已经进入快速增长期,并正
在由高危人群向一般人群扩散。我国政府对艾滋病防治工作十分
重视,近几年采取了一系列切实有效的措施控制艾滋病的流行和
扩散,取得了明显的成效。

艾滋病检测是艾滋病防治工作的重要组成部分。全军艾滋病
检测中心暨艾滋病检测确认实验室承担全军艾滋病检测技术培训
任务,为了更好地开展培训工作,提高培训质量,1999 年,李敬云
研究员编写出版了《艾滋病的病原学诊断》一书,为军队艾滋病检
测技术培训提供了很好的教材,受到艾滋病检测实验室广大技术
人员的欢迎。时隔 6 年,艾滋病检测技术和方法又有了很大进展,
他们又结合自身的实践经验,参考了大量国内外文献,在原有教材
的基础上编写了这本《艾滋病检测方法与应用》。本书不仅介绍了
HIV 抗体筛查和确认、HIV 抗原、HIV 前病毒 DNA、HIV 病毒载量、
HIV 耐药性、HIV 毒株分离培养和表型鉴定、HIV 抗病毒免疫以及
CD4⁺ T 淋巴细胞检测方法,还论述了 HIV 检测技术在艾滋病防治
领域的应用,如献血员 HIV 检测方法、婴儿 HIV 检测的特殊问题、
抗 HIV 药物筛选和评价方法等;同时也包括 HIV 检测相关的生物
安全 and 质量管理等内容,如职业性 HIV 感染的危险与预防、实验
室质量管理与质量控制等。

本书全面介绍了艾滋病检测技术及其最新进展以及在艾滋病
防治领域的应用。内容丰富、语言流畅、简明实用。相信这本书的
出版和应用必将对加强全军艾滋病检测实验室的能力建设,提高
检测技术水平,做好质量保证工作发挥重要的作用。

军事医学科学院研究员



2005 年 10 月于北京

序 二

我国目前艾滋病流行已经进入快速增长期,并正在由高危人群向一般人群扩散,防治工作处于关键时期。

艾滋病检测是艾滋病防治工作的重要组成部分,是减少和阻断艾滋病病毒的传播、进行准确的病原学诊断以及指导抗病毒治疗的有力工具。全军艾滋病检测中心暨艾滋病检测确认实验室承担军队艾滋病检测技术培训和质量控制任务,为了更好地开展军队艾滋病检测技术培训工作,提高培训质量,1999年,李敬云研究员编写出版了《艾滋病的病原学诊断》一书,为军队艾滋病检测技术培训提供了很好的教材,受到广大艾滋病检测技术人员和艾滋病检测实验室的欢迎。最近几年,艾滋病检测技术和方法有了很大进展,艾滋病检测实验室需要掌握更多、更加复杂的技术方法并进行更加科学有效的管理。他们参考了大量国内外文献、结合自身的实践经验,在原有教材的基础上编写了这本《艾滋病检测方法与应用》,全面介绍了艾滋病检测技术方法及其最新进展以及在艾滋病防治领域的应用,为军队艾滋病检测技术人员提供了新的教材和参考书。

本书不仅内容丰富、语言流畅,而且非常简明实用,广大技术人员可以在工作的时候随时查阅。这本书的出版和应用必将对进一步作好军队艾滋病检测的技术培训工作、提高军队艾滋病检测的技术和质量管理水平并作好军队的艾滋病防治工作发挥重要的作用。

总后卫生部防疫局局长

2005年10月于北京

主 编 李敬云

编委名单 (以姓氏笔画为序)

王 铮	军事医学科学院微生物流行病研究所
刘永健	军事医学科学院微生物流行病研究所
刘思扬	军事医学科学院微生物流行病研究所
刘建礼	北京出入境检验检疫局
朱 红	北京出入境检验检疫局
庄道民	军事医学科学院微生物流行病研究所
李 林	军事医学科学院微生物流行病研究所
李 珏	军事医学科学院微生物流行病研究所
李敬云	军事医学科学院微生物流行病研究所
李韩平	军事医学科学院微生物流行病研究所
董华凰	军事医学科学院微生物流行病研究所
鲍作义	军事医学科学院微生物流行病研究所

前 言

艾滋病在全球肆虐已经 20 多年了,在人类与艾滋病抗争的过程中,艾滋病检测对于预防和减少 HIV 的传播发挥了重要的作用。艾滋病检测是艾滋病防治工作的重要组成部分,是阻断 HIV 的经血传播、进行准确的病原学诊断、监测抗病毒治疗的效果以及研究病毒致病机理的有力工具。艾滋病是绝对依赖病原学诊断的传染病,有较长时期的潜伏期,只有通过病原学检测才能发现 HIV 感染,从而有效地控制 HIV 的传播。对 HIV 病毒载量、CD4 细胞数和耐药性的测定是估计预后、评价抗病毒治疗效果、制订和调整抗病毒治疗方案的主要依据,对 HIV 亚型和变异等遗传特性的检测是在分子水平上掌握 HIV 传播和分布规律的主要手段,也是 HIV 诊断试剂和疫苗研究的基础。

自从 1985 年美国 FDA 批准第一种 HIV 抗体 ELISA 检测试剂以来,艾滋病检测技术和方法取得了长足的发展,目前已经有针对多种检测目标、适用多种检测标本、采用多种检测模式以及满足多种用途的方法,对于 HIV 感染的诊断、抗病毒治疗效果的判断、抗病毒治疗方案的制定和调整、保证输血安全等产生了重要的作用。

1999 年,在总后卫生部的支持下,中国人民解放军艾滋病检测确认实验室的李敬云研究员编写出版了《艾滋病的病原学诊断》一书,系统介绍了当时使用的艾滋病检测方法,主要用于军队艾滋病检测技术人员的培训,受到广大技术人员的欢迎。时隔 6 年,艾滋病检测技术和方法又有了很大的发展,受总后卫生部的委托,李敬云研究员组织艾滋病研究室的全体同志,在前一本书的基础上,查阅了大量国内外文献,结合自己的实践经验,补充了近几年新的技术和方法,写成了这本《艾滋病检测方法与应用》。书中包括进

行艾滋病的病原学诊断、判断抗病毒治疗效果、分子流行病学调查以及抗病毒免疫研究使用的艾滋病检测技术,适合从事艾滋病检测和艾滋病研究的技术人员阅读和参考。

本书的作者都是从事艾滋病检测和研究的专业技术人员,是一支非常年轻的队伍。由于写作时间紧迫,对有些检测技术经验不足,书中难免存在疏漏甚至错误,恳请广大同行批评指正。

编者

2005 年 10 月于北京

目 录

第一章 概论	(1)
第二章 艾滋病的病原学	(7)
第一节 HIV 的发现和研究历史	(7)
第二节 HIV 的遗传和变异	(11)
第三节 HIV 的生物学特性	(16)
第四节 HIV 基因组结构及主要功能	(19)
第五节 HIV 的复制周期	(24)
第六节 HIV 的动态变化	(28)
第七节 HIV 感染后的血清学变化	(30)
第三章 HIV 抗体检测	(34)
第一节 HIV 抗体的筛查检测	(34)
第二节 HIV 抗体的确认实验	(43)
第三节 HIV - 2 和 HIV - 10 群的检测	(51)
第四节 唾液和尿液 HIV 抗体的检测	(54)
第五节 HIV 抗体检测试剂的发展	(54)
第六节 确定早期感染、估计发病率的抗体检测策略	(60)
第七节 HIV 抗体检测方法的应用策略	(62)
第八节 HIV 抗体筛查和确认常见的问题及其解答	(64)
第四章 HIV - 1 P24 抗原测定	(73)
第五章 检测 HIV 前病毒 DNA	(80)
第六章 HIV 的基因型及其检测方法	(89)
第七章 HIV 病毒载量测定	(104)
第八章 HIV - 1 分离培养及其表型特征检测	(133)

第九章	HIV 耐药性检测方法与应用	(145)
第十章	CD4 ⁺ T 淋巴细胞数的测定	(173)
第十一章	宿主对 HIV 免疫反应的检测	(186)
第十二章	婴儿 HIV 感染的诊断及病毒和免疫学特征 ...	(195)
第十三章	献血员 HIV 感染检测及 HIV 经血传播的 预防	(204)
第十四章	抗 HIV 药物筛选和评价方法	(218)
第十五章	HIV 基因组感染性克隆的构建方法及应用	(233)
第十六章	HIV、HBV 和 HCV 感染的职业危险和实验室 安全	(244)
第十七章	HIV 检测的质量保证、质量控制和质量评价 ...	(259)

第一章 概 论

获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)是1981年首先在美国被发现的,在20多年的时间内,已经在全世界广泛流行,造成了十分严重的危害。据世界卫生组织统计,截止到2004年12月,全世界累计存活的HIV感染者3940万例、成人感染者3720万例、15岁以下儿童感染者220万人。2004年新感染490万例,死亡人数约310万例。2004年估计每天有1.4万人感染HIV,其中95%来自中低收入国家,大约2000名是15岁以下儿童,约1.2万人是15~49岁成人。每天新感染的成人病例中50%年龄在15~24岁之间,50%为妇女。发展中国家的HIV感染者和艾滋病患者中64%为妇女和儿童,全球妇女和女童HIV感染的机会是同龄男性的2.5倍,某些地区高达6倍。世界卫生组织预测,亚洲目前存活的HIV感染者820万例,仅次于非洲,将是继非洲之后又一个流行严重的地区,流行速度将大大超过全球其他地区。

我国自1985年报道首例艾滋病病例以来,在20年的时间内,AIDS流行经历了传入期和扩散期,目前已经进入快速增长期。截止2005年6月,全国共报道HIV感染者和艾滋病患者126808例,其中艾滋病患者28789例,中国和世界卫生组织的联合评估报告估计我国目前有存活的HIV感染者84万人,其中艾滋病患者8万人。31个省、自治区、直辖市已全部发现HIV感染者,三种传播途径(性接触传播、经血传播及母婴传播)均已存在。新的证据显示,我国艾滋病流行呈现全国低流行与局部高流行共存的特点,已经出现艾滋病发病和死亡的高峰,传播模式和途径正在发生变化,性传播途径感染的比例和女性感染者的比例有较大幅度上升,显示

艾滋病正在由高危人群向一般人群传播,提示我国正处在艾滋病防治的关键时期。

HIV 检测是艾滋病防治工作的重要组成部分,是阻断 HIV 经血传播、进行准确的病原学诊断、监测抗病毒效果以及研究病毒致病机理的有力工具。AIDS 是绝对依赖病原学诊断的传染病,有较长时期的潜伏期,只有通过病原学检测才能发现 HIV 感染,从而有效地控制 HIV 通过血液、性接触和母婴途径传播。对 HIV 病毒载量、CD4 细胞数和耐药性的测定是估计预后、评价抗病毒治疗效果、制订和调整抗病毒治疗方案的主要依据,对 HIV 亚型和变异等遗传特性的检测是在分子水平上掌握 HIV 传播和分布规律的主要手段,也是 HIV 诊断试剂和疫苗研究的基础。

HIV 的病原学诊断可以从检测病毒和病毒的成分及免疫反应的产物两个方面入手,前者包括病毒分离、检测病毒抗原(P24)、检测病毒核酸等,后者主要是检测病毒特异性的抗体。其中抗体检测方法是常规使用的 HIV 病原学诊断方法,其他方法或在特殊情况下使用(窗口期、婴儿诊断、HIV 抗体检测的不确定结果等)、或作为抗体检测方法的验证和补充、或作为判断预后和指导治疗的依据(病毒载量测定、CD4⁺ T 细胞计数),一般不用作常规的诊断。自从 1985 年第一种 HIV 检测方法问世以来,HIV 检测方法取得了长足的发展,美国 FDA 已经批准了 35 种 HIV 检测试剂,包括 25 种 HIV 抗体检测试剂、2 种 HIV - 1P24 抗原检测试剂、3 种 HIV - 1 病毒载量检测试剂、2 种 HIV - 1 基因型耐药性检测试剂以及 3 种 HIV - 1 核酸检测试剂。在 HIV 抗体检测试剂中,有用于血清、血浆、干血斑标本 HIV - 1/HIV - 2 抗体检测的 EIA 试剂 11 种,用于血清、血浆、全血标本 HIV - 1/HIV - 2 抗体检测的快速试剂 5 种,用于血清、血浆、干血斑标本 HIV 抗体确认的免疫印迹试剂 3 种及间接免疫荧光试剂 2 种,用于唾液和尿液 HIV 抗体检测的 EIA 试剂各 1 种以及用于唾液和尿液 HIV 抗体确认的免疫印迹试剂各 1 种(表 1-1)。已经有针对多种检测目标(HIV 抗体、HIV - 1P24 抗

原、HIV RNA、HIV 前病毒 DNA)、多种检测标本(血清/血浆,唾液、尿液、干血斑)、多种检测模式(ELISA、WB、快速法、各种核酸扩增方法)以及多种检测用途(病原学诊断、监测病程和疗效、监测病毒变异)方法,这些方法的应用在有效控制 HIV 的传播和蔓延方面发挥了重要的作用。

表 1-1 1985 年以来美国 FDA 批准的 HIV 检测试剂

批准时间	试剂名称	检测原理	检测标本	用途
1985 年 3 月 11 日	HIV 抗体 EIA	酶 免 试 验 (EIA)	血清/血浆	献血员筛选
1987 年 12 月 18 日	Vironostika HIV - 1 Microelisa System	酶 免 试 验 (EIA)	血清/血浆	献血员筛选
1990 年 4 月 25 日	Genetic Systems HIV - 2 EIA	酶 免 试 验 (EIA)	血清/血浆	献血员筛选
1990 年 11 月 4 日	Vironostika HIV - 1 Microelisa System	酶 免 试 验 (EIA)	干血斑	诊断
1991 年 1 月 3 日	Cambridge Biotech HIV - 1 Western Blot Kit	免 疫 印 迹 (WB)	血清/血浆	献血员补充试验
1992 年 2 月 5 日	Fluorognost HIV - 1 IFA	间 接 免 疫 荧 光 (IFA)	血清/血浆	献血员补充试验
1992 年 2 月 14 日	Abbott HIVAB HIV - 1/HIV - 2 (rDNA)EIA	酶 免 试 验 (EIA)	血清/血浆 /尸体血浆	捐献者筛选
1992 年 4 月 22 日	HIVAB HIV - 1 EIA	酶 免 试 验 (EIA)	干血斑	诊断
1992 年 5 月 22 日	Murex SUDS HIV - 1 Test	快 速 免 疫 试 验	血清/血浆	献血员筛选
1994 年 12 月 23 日	Epitope OraSure HIV - 1 唾液标本收集装置	唾 液 标 本 收 集 装 置	唾液	用于非献血员筛选及其补充试验
1994 年 12 月 23 日	唾液 Vironostika HIV - 1 Microelisa System	酶 免 试 验 (EIA)	唾液	诊断
1996 年 3 月 14 日	Coulter HIV - 1 P24 抗原实验; HIV - 1 p24 Antigen ELISA 检测系统	酶 免 试 验 (EIA)	血清/血浆	献血员筛选
1996 年 3 月 14 日	Coulter HIV - 1 P24 抗原实验	酶 免 试 验 (EIA)	病毒培养上清液	病毒培养物监测
1996 年 5 月 14 日	Fluorognost HIV - 1 IFA	间 接 免 疫 荧 光 (IFA)	干血斑	补充诊断

续表

批准时间	试剂名称	检测原理	检测标本	用途
1996年6月3日	OraSure HIV - 1 Western Blot Kit	免疫印迹 (WB)	唾液	补充诊断
1996年8月6日	HIV - 1 尿 EIA	酶免试验 (EIA)	尿液	诊断
1998年5月28日	Cambridge Biotech HIV - 1 Western Blot Kit	免疫印迹 (WB)	尿	补充诊断
1998年6月29日	Genetic rLAV EIA 系统	酶免试验 (EIA)	血清/血浆	献血员筛选
1998年6月29日	Genetic System rLAV EIA	酶免试验 (EIA)	干血斑	诊断
1998年11月13日	Genetic Systems HIV - 1 Western Blot	免疫印迹 (WB)	血清/血浆	献血员补充试验
1998年11月13日	Genetic Systems HIV - 1 Western Blot	免疫印迹 (WB)	干血斑	补充诊断
1999年3月2日	Roche Amplicor HIV - 1 Monitor Test	PCR	血浆	患者管理/ HIV - 1 病毒载量实验
2000年12月9日	Genetic Systems HIV - 1/HIV - 2 Peptide ELA	酶免试验 (EIA)	血清/血浆/ 尸体血浆	捐献者筛选
2001年9月18日	UltraQual HIV - 1 RT - PCR 实验	PCR	血浆	献血员筛选
2001年11月19日	NucliSens HIV - 1 QT	NASBA	血浆	患者管理/ HIV - 1 病毒载量实验
2002年2月8日	Procleix	HIV - 1/HCV 核酸检测 (TMA)	血浆	献血员以及其他组织器官捐献者的筛选、尸体标本检测
2002年4月24日	Trugene HIV - 1 基因型试剂和开放的 DNA 测序系统	HIV - 1 基因型耐药性检测	血浆	患者监测
2002年9月11日	Versant HIV - 1 RNA 3.0 (bDNA)	核酸探针的信号扩增实验	血浆	患者监测

续表

批准时间	试剂名称	检测原理	检测标本	用途
2002 年 12 月 20 日	COBAS Ampliscreen HIV - 1 Test	PCR	血浆	献血员以及其他组织器官捐献者的筛选
2003 年 4 月 16 日	Reveal HIV - 1 抗体快速试验	快速免疫试验	血清/血浆	诊断
2003 年 6 月 6 日	Vironostia HIV - 1 Plus O Micro-elisa 系统	酶 免 试 验 (EIA)	血清/血浆/干血斑	诊断
2003 年 6 月 11 日	带有 3700 基因分析仪的 Viro-Seq HIV - 1 基因型检测系统	HIV - 1 基因型耐药性检测	血浆	患者监测
2003 年 8 月 5 日	Genetic Systems HIV - 1/HIV - 2 Plus O EIA	酶 免 试 验 (EIA)	血清/血浆	献血员筛选
2003 年 12 月 23 日	Uni - Gold Recombigen HIV	快速免疫试验	血清/血浆/全血(静脉血和指尖血)	诊断
2004 年 6 月 22 日	OratQuick ADVANCE HIV - 1/2 antibody Test	快速免疫试验	全血/血浆/唾液	诊断
2004 年 11 月 12 日	Multispot HIV - 1/HIV - 2 Rapid Test	快速免疫试验	血清/血浆	诊断

与其他病原微生物感染诊断不同的是, HIV 检测具有特殊的严肃性,任何诊断的错误结果不论是假阳性还是假阴性,都将造成十分严重的危害。一个 HIV 抗体阳性的诊断将对个人的名誉、工作、生活乃至生存产生十分严重的影响,而 HIV 抗体阴性的结论是能够捐献血液、器官的依据之一,对于保证输血和移植的安全十分重要。为了最大限度地保证诊断结果准确, HIV 诊断采用特殊的检测策略,即先用具有高度敏感性的方法进行筛查,对筛查阳性的结果再用特异性强的方法进行确认,同时还要采取严格的质量保证、质量控制和质量评价措施。

HIV 感染的病原学诊断及艾滋病防治的需要促进了微生物诊断技术的发展,如抗体检测方法(ELISA、各种快速方法等)目前已

达到了空前的敏感性和特异性;分子生物学技术的发展也带动了 HIV 检测水平的提高,如基因工程和合成肽抗原的制备和应用大幅度提高了 HIV 抗体检测的敏感性和特异性,病毒载量测定方法的建立和不断改进就是基于体外核酸扩增技术的高度发展。检测技术的发展和检测水平的提高不仅有效地控制了 HIV 的传播和扩散,也加深了人们对 HIV 自然史和致病机理的认识,而所有这些对于从根本上控制 HIV,研制有效的抗 HIV 药物和疫苗又是至关重要的。HIV 检测技术的发展和应用于人类了解和控制 HIV/AIDS 已经并将继续发挥重要的作用。

(李敬云)

参 考 文 献

- 1 <http://www.fda.gov>. Food and Drug Administration. Licensed/Approved HIV, HTLV and Hepatitis Tests
- 2 <http://www.fda.gov>. Food and Drug Administration. HIV Testing Information
- 3 国务院防治艾滋病工作委员会办公室、联合国艾滋病中国专题组及联合国艾滋病规划署十个发起组织. 中国艾滋病防治联合评估报告(2004)