

# HIV-2 检测方法学进展

潘海西<sup>1</sup> 黄秋芳<sup>1</sup> 任雅楠<sup>2</sup> 邢文革<sup>2</sup>

<sup>1</sup>南宁市疾病预防控制中心 530023; <sup>2</sup>中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心, 北京 102206

通信作者: 邢文革, Email: xingwenge@sina.com

**【摘要】** 实验室检测是 HIV 感染的诊断、监测和血液筛查的常规方法, 是艾滋病早期诊断的主要依据。HIV 分为 HIV-1 和 HIV-2, HIV-1 广泛分布全球各地, 是造成全球艾滋病流行的主要原因, HIV-2 主要分布于非洲西部, 流行较为局限。我国从 1998 年陆续有 HIV-2 感染的报道, 多为散发病例, 绝大部分都是 HIV-1/HIV-2 混合感染。目前我国针对 HIV-2 检测的关注较少, 国产可区分 HIV-2 的检测试剂也没有注册上市。目前我国针对 HIV-2 的检测方法主要是抗体检测和核酸检测, 通过快速检测等方法进行初筛检测, 免疫印迹试验(WB)和条带免疫试验(LIA)进行确认, 依据 HIV 抗体检测结果确定是否感染 HIV-2。随着分子生物学技术的飞速发展, 核酸检测实验室诊断方法取得了很大进展。

**【关键词】** HIV-2; 检测; 方法学

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.07.024

## Progress in HIV-2 detection methodology

Pan Haixi<sup>1</sup>, Huang Qiufang<sup>1</sup>, Ren Yanan<sup>2</sup>, Xing Wenge<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nanning Municipal Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530023, China; <sup>2</sup>National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding author: Xing Wenge, Email: xingwenge@sina.com

**【Abstract】** Laboratory test is the routine method of diagnosis, monitoring and blood screening of HIV infection, and main basis for early diagnosis of AIDS. HIV is divided into HIV-1 and HIV-2 subtypes, HIV-1 infection is the major cause of AIDS pandemic, while HIV-2 infection occurs in limited areas in the world, mainly in West Africa. HIV-2 infection has been reported in China since 1998. They are sporadic cases, and mainly HIV-1/HIV-2 mixed infections. There are less concerns about HIV-2 detection in China at present, and domestic HIV-2 detection reagents have not come into the market. At present, the detection method of HIV-2 is mainly antibody test and nucleic acid test. The initial screening is through rapid test and other methods and the confirmation is depended on Western Blot and Line Immune Assay. According to the HIV antibody test results, HIV-2 infection is confirmed. With the rapid development of molecular biology, the diagnostic method of nucleic acid detection laboratory has made great progress.

**【Key words】** HIV-2; Test; Methodology

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.07.024

截至 2018 年 7 月 31 日, 全国报告现存活 HIV/AIDS 831 225 例, 报告死亡 255 995 例<sup>[1]</sup>。HIV 分为 HIV-1 和 HIV-2, 其中 HIV-1 是引起全球艾滋病流行的病原体, 其致病性强, 传播快速, 病程进展快。相对 HIV-1 感染者来说, HIV-2 感染者的疾病进展缓慢<sup>[2]</sup>, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞计数(CD<sub>4</sub>)下降缓慢<sup>[3-4]</sup>, 性传播和垂直传播低<sup>[5-6]</sup>, 低病毒载量<sup>[7-8]</sup>, 对非核苷酸类反转录酶抑制剂和几种蛋白酶抑制剂天然耐药, 而这些药物是 HIV-1 的基础治疗药<sup>[9-10]</sup>。HIV-2 是 1980 年代中期从西非的艾滋病患者中分离出的病原体, 其他地区陆续有个例报道, 转而蔓延到整个非洲、欧洲、印度和美国等<sup>[11]</sup>。目

前, 全球估计有 100 万至 200 万 HIV-2 感染者<sup>[11-12]</sup>, 与 HIV-1 在全球的传播相反, HIV-2 在很大程度上仍然局限于非洲西部的一些国家<sup>[13]</sup>。经济全球化带来的人口流动增加也使 HIV-2 得以传播<sup>[14-17]</sup>。我国 1998 年首次在福建省发现 HIV-2 感染者<sup>[18]</sup>, 随后陆续在湖南省<sup>[19]</sup>、广州市<sup>[20]</sup>、宁夏回族自治区<sup>[21]</sup>、云南省<sup>[22]</sup>等有报道, 多为散发病例并呈点状分布。我国病例绝大部分是 HIV-1 和 HIV-2 混合感染, 主要是来自于 HIV-2 流行地区或者曾经在 HIV-2 流行区并有过高危行为。HIV-2 的超微结构及细胞嗜性与 HIV-1 相似。在分子学特性方面, HIV-2 与猴免疫缺陷病毒(SIV)相近, 与

HIV-1 的结构蛋白差异较大,尤其是外膜蛋白。其核苷酸和氨基酸序列与 HIV-1 相比明显不同,仅 40% ~ 50% 与 HIV-1 相似<sup>[23]</sup>。HIV-2 基因组也有 *gag*、*env* 和 *pol* 3 个基因编码结构蛋白,*gag* 编码核心蛋白 p55、p26、p16;*env* 基因编码包膜蛋白 gp125/105a 及 gp36/41,*pol* 基因编码反转录酶、内切核酸酶和蛋白酶 p68、p34、p53。也有 *tat*、*rev*、*nef*、*vif* 和 *vpr* 等调控基因和辅助基因。所不同的是 HIV-2 没有 *vpu* 基因,而是在其中央区有一个 *vpx* 基因编码病毒蛋白 x,其功能尚不清楚。HIV-2 的抗原特性与 HIV-1 不同,两者的结构蛋白交叉反应最强,而外膜蛋白交叉反应最弱。目前 HIV-2 检测方法主要包括抗体检测和核酸检测,抗体检测又包括筛查检测和确证检测。筛查检测有快速检测、ELISA 和化学发光等;确认检测包括免疫印迹试验(WB)和条带免疫试验(LIA)。核酸检测包括 HIV-2 RNA 和 HIV-2 DNA 检测,本文主要对这些检测方法进行阐述。

一、抗体检测

1. 筛查检测:

(1)快速检测: HIV 快速检测方法,使用比较简便,不需要专业的实验室技术人员和实验室设备,一般 15 ~ 30 min 可以读取结果,这种方法和对临床医生非常重要<sup>[24]</sup>。在艾滋病诊断策略中,除个别的正在血清转化的个体无法快速检测外<sup>[25-26]</sup>,≥2 种的快速试剂诊断已经用于诊断标准。快速检测的缺点主要是产品质量相差较大、不宜质控,只能定性不能定量,只作为初筛的诊断试剂。对 HIV-1 和 HIV-2 感染者进行准确分型和采用合适的抗病毒治疗至关重要。

(2)免疫层析试验:是一种用免疫层析原理的快速检测,以醋酸纤维素膜为载体,HIV 抗原线状固定在膜上,定性测定血样的 HIV 抗体。加样品入反应条,如果样品中有 HIV 抗体,将会与膜上抗原结合,被固相包被的合成肽和重组抗原所捕捉,形成一条红线。如果样品中不含 HIV 抗体,则没有一条红线形成。目前,常用的可区分 HIV-1 和 HIV-2 的免疫层析法快速试剂有:①日本产 Determine HIV-1/2 assay 试剂;②韩国产 SD Bioline HIV 1/2 3.0 试剂;③法国产 Genie II

HIV1/HIV2 试剂;④英国产 Immunoflow HIV-1/HIV-2 试剂;⑤印度产 First Response HIV Card Test 1-2.0 试剂。

Chaillet 等<sup>[27]</sup>在几内亚用 443 份 HIV 阳性标本(其中 384 份 HIV-1、52 份 HIV-2 和 7 份混合型)对 SD Bioline HIV1/2 3.0、Genie II HIV1/HIV2、Immunoflow HIV-1/HIV-2、First Response HIV Card Test 1-2.0 这 4 种试剂的评估结果显示,SD Bioline HIV 1/2 3.0、Genie II HIV1/HIV2、Immunoflow HIV-1/HIV-2 试剂检测 HIV 感染的敏感度为 100.0%, First Response HIV Card Test 1-2.0 试剂检测 HIV 感染的敏感性则为 99.5%。对于区分 HIV-1 和 HIV-2 型,Genie II HIV1/HIV2 试剂可以区分 99.5% 的 HIV-1、95.2% 的 HIV-2 和 HIV-1/2 混合型,SD Bioline HIV 1/2 3.0 试剂只能区分 65.1% HIV-1 和 69.2% HIV-2 标本,见表 1。对以上的 4 种试剂的评估认为 Genie II HIV1/HIV2 试剂对区分 HIV-1/2 型是最好的,但是 Genie II HIV1/HIV2 试剂的缺点是只能用血清或者血浆检测,不能用全血检测,且试剂需要在 2 ~ 8 °C 保存,因此,在有实验室的条件下,可能是首选试剂,无实验室和冷链的条件下,使用 Immunoflow HIV-1/HIV-2 试剂更为合理。在几内亚农村地区,使用 Immunoflow HIV-1/HIV-2 试剂代替 SD Bioline HIV 1/2 3.0 试剂作为 HIV 分型的诊断试剂更合理。

(3)免疫渗滤试验:免疫渗滤试验是快速检测的另一种方法,以醋酸纤维素膜为载体,HIV 抗原点状或线状固定在膜上,加入待测样品,利用微孔滤膜的可滤过性,使抗原和抗体反应。阳性结果在膜上抗原部位显示出有色斑点或条带,反应时间≤10 min。

Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test 是一种免疫渗滤法,是 2004 年 11 月被美国 FDA 批准的快速检测试剂,可在 15 min 内定性检测 HIV-1 和 HIV-2 抗体的免疫试剂,滤膜上包被有 4 个点,分别是质控对照抗人 IgG,含有 HIV-2 gp36 主要免疫表位多肽,含有重组的 HIV-1 gp41 蛋白和 HIV-1 gp41 主要免疫表位的多肽<sup>[28]</sup>。有研究显示该试剂与 WB 检测结果有较高的一致性。Ramos 等<sup>[17]</sup>的研究显示,经过第 3 或第 4 代 ELISA 试剂筛查出的 993 份有反应的样品中,用 Multispot

表 1 4 种 HIV-1 和 HIV-2 快速诊断试剂鉴别诊断准确性比较(%)

诊断准确性	SD Bioline HIV1/2 3.0 试剂	Genie II HIV1/HIV2 试剂	Immunoflow HIV-1/HIV-2 试剂	First Response HIV Card Test 1-2.0 试剂
HIV-1 样本(n=384)				
正确识别	250/384(65.1)	382/384(99.5)	380/384(99.0)	362/384(94.3)
错误确定为 HIV-2	0	0	0	0
错误确定为混合型	134/384(34.9)	2/384(0.5)	4/384(1.0)	22/384(5.7)
HIV-2 样本(n=52)				
正确识别	36/52(69.2)	49/52(95.2)	35/52(67.3)	33/52(63.5)
错误确定为 HIV-1	0	1	0	0
错误确定为混合型	16/52(30.8)	2/52(3.8)	17/52(32.7)	17/52(32.7)
错误确定为 HIV 阴性	0	0	0	2
混合型样本(n=7)				
正确识别	7	7	7	4
错误确定为 HIV-1	0	0	0	3
错误确定为 HIV-2	0	0	0	0

HIV-1/HIV-2 Rapid Test 试剂进行复核,有反应 890 例,无反应的 103 例样品中有 10 例证实为 HIV-1 急性感染期;882 例显示 HIV-1 反应并用 WB 确认后,871 例显示 HIV-1 抗体阳性,11 例显示 HIV 抗体不确定的有 6 例最终结果判为 HIV-1 感染。3 例显示 HIV-2 有反应,5 例显示 HIV-1 和 HIV-2 均有反应,但 HIV-1 和 HIV-2 显示的颜色深浅有差异,最后判定结果见表 2。

(4)ELISA 法:基本原理是免疫反应物通过化学或免疫学的方法形成酶结合物,酶结合物能与待检样品中相应的抗原或抗体结合成为免疫复合物,然后加入酶底物,经酶的催化或水解作用,无色底物产生颜色,用肉眼、分光光度计观察结果。初筛用的 ELISA 试剂目前已经发展到第 4 代检测试剂。第 1 代试剂主要以病毒裂解物或部分纯化的病毒抗原包被反应板,以检测血清中的抗体。由于包被的抗原不很纯,假阳性率较高。随着基因工程技术迅速发展,1990 年 5 月第 2 代使用基因重组或合成多肽抗原的 HIV 诊断试剂面世。虽然仍然是利用间接酶联免疫法原理,但第 2 代诊断试剂窗口期比第 1 代诊断试剂缩短了约 20 d,灵敏度和特异性也有所提高。同时由于第 1 代试剂只含有 HIV-1 抗原,而 HIV-1 抗原与 HIV-2 抗原的核苷酸序列相差约 40%<sup>[23]</sup>,因此检测 HIV-1 抗体的试剂对 HIV-2 抗体阳性的标本灵敏度较低,常发生漏检,针对此种情况第 2 代诊断试剂中出现了 HIV-1/HIV-2 抗体诊断试剂盒,这种试剂盒在包被的抗原中又加入了 HIV-2 抗原(gp36 多肽),使得在 1 次试验中可同时检测 HIV-1 和 HIV-2 抗体。第 2 代试剂与第 1 代相比,特异性有明显的提高。第 3 代试剂使用双抗原夹心法检测抗体,进一步提高了敏感性。第 4 代 HIV 诊断试剂是一种 HIV-1/HIV-2 抗体与 HIV-1 O 亚群抗体及 p24 抗原的联合检测方法。近年来为节省时间和经费,大部分试剂厂家和血库采用 HIV-1 和 HIV-2 抗体联合测定。联合测定的 ELISA 模式与 HIV-1 抗体测定相同,不同的是在包被固相载体时用 HIV-1 和 HIV-2 这 2 种抗原的混合物替代单一的 HIV-1 抗原。

(5)化学发光免疫分析:根据其采用的标记物不同可分为发光物标记、酶标记、元素标记化学发光免疫分析 3 大类。化学发光是指伴随化学反应过程所产生的光的发射现象。发光物标记的 CLIA 是以发光物质、酶标记物作为标记物标记重组 HIV 的 gp120、gp41 和合成肽 gp36 抗原或抗体,

在化学发光反应体系(如金刚烷胺增敏化学发光反应体系作为底物)中发光物质在碱性介质中氧化时释放大量自由能,产生激发态的中间物质由最低振动回到稳定基态,产生辐射,从而产生发光现象。利用发光信号的测量仪器,分析接受光量子产额,通过计算机系统转换成被测物质的浓度单位。此系统包括两部分:化学发光反应系统和免疫反应系统,即 HIV 抗原抗体特异性反应过程中,伴随有化学反应过程而产生光的发射现象,其光量子强弱代表检测 HIV 抗体是阳还是阴。目前 HIV 化学发光试剂都是 HIV-1/HIV-2 抗体联合检测试剂,当实验显示阳性反应时,待进一步用确证试剂进行血清学确证。

2. 确证试验:HIV-2 抗体的 WB 法主要分为两类:WB 法和条带免疫试验(Line Immuno Assay, LIA)<sup>[29]</sup>。国内常用的确认试验方法是 WB。确认流程:有 HIV-1/2 混合型和单一的 HIV-1 或 HIV-2 型,先用 HIV-1/2 混合型试剂进行检测,如果无反应,则报告 HIV 抗体阴性,如果有反应,则报告 HIV-1 抗体阳性,如果不满足阳性标准,则判为 HIV 抗体检测结果不确定。如果出现 HIV-2 的特异性指示带,需要用 HIV-2 型 WB 试剂再做 HIV-2 的抗体确认,无反应,报告 HIV-2 抗体阴性,呈有反应性则报告 HIV-2 抗体血清学阳性。WB 的敏感性一般不低于初筛实验,但其特异性很高,这主要是基于 HIV 不同抗原组分的分离以及浓缩和纯化,能够检测针对不同抗原成分的抗体,因而能够用 WB 方法鉴别初筛实验的准确性。

目前所有的确证试剂盒均包被合成肽 gp36 抗原,均可检测到 HIV-2,但不是所有的试剂盒都能区分 HIV-1 和 HIV-2。主要用于 HIV-2 确认的试剂盒有:①INNO-LIA HIV- I / II Score (Innogenetics, 比利时),检测可区分 HIV-1 和 HIV-2。②NEW LAV BLOT II (Bio-Rad, 法国)。③HIV BOLT 2.2 和 HIV BOLT 1.2 (Genelabs Diagnostic, 新加坡), HIV BOLT 2.2 可以混合检测 HIV-1 和 HIV-2, HIV BOLT 1.2 为 HIV-2 确证试剂盒。④HIV-1/2 LIA-PEPTI-LAV 1-2 (Bio-Rad, 法国),也可同时检测并区分 HIV-1 和 HIV-2 抗体。⑤2017 年国家食品药品监督管理总局注册批准条带免疫试剂 MIKROGEN recomline HIV-1 & HIV-2 IgG (德国,机械注进 20173407220),此试剂可同时确认 HIV-1 和 HIV-2。所有的试剂盒操作步骤和结果判定均按试剂盒说明书。以

表 2 8 例 HIV-2 有反应的最终判定结果

样品编号	酶联免疫筛查	补充试验				WB 条带	结果判定
		Multispot		免疫斑点	WB		
		HIV-1	HIV-2	HIV-2	HIV-1		
1	3 代试剂	—	+	阳性	不确定	55、40、31、24	HIV-2
2	3 代试剂	—	+	阳性	阳性	160、55、31、24	HIV-2
3	3 代试剂	—	+	阳性	阳性	160、31、24	HIV-2
4	3 代试剂	+	+/-	阴性	阳性	全带	HIV-1
5	4 代试剂	+	+	阳性	阳性	160、120、31、24	HIV-2
6	4 代试剂	+	+/-	阴性	阳性	全带	HIV-1
7	4 代试剂	+	+/-	阴性	阳性	全带	HIV-1
8	4 代试剂	+/-	+/-	阴性	不确定	160(+/-)	HIV-1 NC

注: +/- 代表斑点的颜色浅, HIV-1 NC 表示经过 HIV-1 RNA 检测显示阴性



上的试剂盒虽然可以单独检测到HIV-2,但由于其与HIV-1在氨基酸水平上的同源性的40%~50%,进行确证实验时可能会出现交叉反应<sup>[30]</sup>。按照我国目前诊断HIV感染的常规检测程序,对于HIV-2感染,即使HIV-2抗体阳性,也只能报告血清学阳性,只有经过核酸分析后才能确证为HIV-2感染<sup>[31]</sup>。在我国许多可疑HIV-2感染的样本绝大部分同时呈现HIV-1阳性<sup>[29]</sup>。

## 二、核酸检测

1. HIV-2 RNA检测:HIV-2感染与HIV-1感染有显著不同,主要表现在其自然过程缓慢、治疗方式不同和遗传多样性。因此,分子诊断方法是患者监测所必需的。目前的检测方法主要由实验室自建方法或商业试剂盒的衍生产品组成,在其敏感性、准确性和对HIV-2基因多样性的覆盖率方面受到严重限制<sup>[32]</sup>。HIV-2感染的特征之一是血浆中病毒载量低,法国有研究显示在974例HIV-2感染者中,61%未治疗者的血浆病毒载量<250拷贝数/ml。英国有研究表明当CD<sub>4</sub>>500个/μl时只有8%检测到RNA,CD<sub>4</sub><300个/μl只有62%的病例可以检测到血浆的病毒载量<sup>[33]</sup>。当前,临床上尚未有批准注册的商品化HIV-2 RNA试剂盒。有报道显示HIV-2值在不同的实验室检测结果差异较大<sup>[32]</sup>。HIV-2高度变异性,基因分型可分为A~H共8组亚型。其中A组是最常见<sup>[15]</sup>,其次是B组<sup>[34]</sup>。Avettand-Fenoel等<sup>[35]</sup>进行了前瞻性研究,他们选择放大LTR和GAG区域的双重方法,策略基于病毒基因组两个不同区域的引物和探针的耦合,已被罗氏诊断公司在其CAP CTM HIV-1检测2.0版中采用,还使用了与Biocentric HIV-1检测试剂盒相同的操作条件。新的试验呈良好的线性关系(40~1 000 000拷贝数/ml),内部重现性(<15%)。通过对3个不同地点的评价,验证了其实验室的可重复性。对手工和自动提取方法进行了验证,以确保与资源有限的国家尝试中的本地实践相兼容。该分析方法可以在相同的分析平台上使用,也可以用于检测HIV-1,从而提高其用于监测感染了HIV-1和/或HIV-2患者的成本效率。这种同时分析的可能性将有助于母婴传播的HIV-1和/或HIV-2诊断,也有助于诊断和跟踪同一样本中的HIV-1/HIV-2双重感染。并且,使用该方法进行HIV-2的病毒性监测,将了解不同临床阶段HIV-2感染的自然史提供新的见解。

日本建立了一种定性的实时PCR检测HIV-1和HIV-2 RNA的方法<sup>[36]</sup>。从500 μl血浆中提取病毒RNA,用小沟聚合物探针进行实时PCR检测。以牛白血病病毒为内标,敏感性采用WHO对HIV-1和HIV-2的国际标准进行概率回归分析。HIV-1和HIV-2最低检测限分别为54 IU/ml和5.0 IU/ml,这比其他报道的任何HIV-2检测方法都低。在52份HIV-1阳性标本中检测到51份HIV-1 RNA,10份HIV-2阳性标本中检测到7份HIV-2 RNA。在100份HIV阴性标本中未检测出HIV-1和HIV-2之间的非特异性信号和交叉反应,该方法对检测HIV-1和HIV-2具有高度的敏感性和特异性,有助于对HIV-1和HIV-2感染的诊断。但该研究的局限性:①HIV-2阳性血清的样本量较少;②无HIV-1和HIV-2

共感染的标本;③本研究未对HIV-2 B亚型进行检测,因为所有检测到的HIV-2 B亚型核苷酸序列与用于实时PCR的正反引物和探针核酸序列一致的。

使用HIV-2 RNA对HIV-2感染诊断存在较大的争议,因为将近一半的患者体内并未能检测到HIV-2 RNA<sup>[37]</sup>。人们普遍认为在HIV-2感染中,前病毒DNA比病毒RNA更容易检测到。

2. HIV-2 DNA检测:在血液中检测不到HIV-2 RNA的情况下,HIV-2 DNA可能是唯一检测的标记物。在血清学交叉反应强的情况下,HIV-2 DNA可能是诊断HIV-2单感染或和HIV-1共感染的标志物<sup>[38]</sup>。HIV-2 DNA的检出对母婴传播的早期诊断至关重要,另外,HIV-2 DNA可用于发病机制的研究。

当前,还未有HIV-2 DNA商品化的定量试剂盒问世,以前已有多种HIV-2 DNA的定量检测研究,但均对HIV-2 B亚型病毒检测的质量较难以控制,而有些标本中也无法检测到HIV-2 DNA<sup>[39]</sup>。为建立一种可复制的、灵敏度和特异性高度HIV-2 DNA检测方法,特别是对高流行的A和B亚型进行实时定量检测,Bertine等<sup>[40]</sup>开展了前瞻性研究,在美国3个实验室进行开发和验证实验,评估方法的分析性能和实验室的可重复性,对50份HIV-1阳性标本、30份HIV阴性标本和63份HIV-2阳性标本进行实验检测,结果敏感性和特异性均为100%。这种定量的分析方法是基于一种针对长末端重复(LTR)和gag基因保守一致区域的重三重Taqman PCR方法,该方法已用于HIV-2 RNA定量分析<sup>[35]</sup>。该项研究的目的是建立一种高敏感性的HIV-2 DNA定量检测方法,能在HIV-2流行地区易于实施。虽然HIV-1和HIV-2之间存在广泛的基因突变,但HIV-2引物并不与HIV-1基因杂交。实验结果显示具有良好的线性关系(6~6 000拷贝数/PCR),实验室的可重复性良好。此外,该实验方法还包括定量检测的外部标准,这可以提高研究的可靠性和相互之间的比较,这种新的HIV-2 DNA病毒载量的测定方法,具有良好的分析性能和临床敏感性,特别是成功检测到HIV-2 A和B亚型,最后此方法在一大批特征良好的患者标本上得以印证。它对于HIV血清学阳性母亲新生儿的HIV-2诊断和/或HIV-1单独感染或合并感染也特别有用,对监测和治疗后果非常重要,它还可以帮助研究HIV-2储存库的发病机制,目前认为评价储存库的唯一可行的临床指标是外周血HIV DNA,可以有效地解决在目前有效治疗的情况下,HIV感染者普遍检测不到HIV RNA,缺乏有效的指引困惑。HIV-2 DNA还可以探索不同阶段HIV-2感染的自然史,并为治疗的患者提供更多的临床研究机会。

综上所述,本文分别从抗体检测和核酸检测方面,对HIV-2实验室检测技术及其发展进行综述,抗体的筛查检测快速方便,但产品质量相差较大,不宜质控,只能定性不能定量。HIV抗体确证实验可确定是否感染HIV-2,但由于HIV-1和HIV-2在血清学上有很大的交叉反应,很多病例出现了HIV-1特异性条带后就忽略HIV-2特异性条带,容易造

成对 HIV-2 的漏检。核酸的检测具有很高的灵敏度,对疾病的进展检测,治疗效果的观察和耐药监测非常重要。由于 HIV-2 的基因多样性,没有一套引物可以覆盖所有的 HIV 序列,使检测的敏感性受到限制。此外,目前还没有商品化的试剂盒上市,检测方法没有标准化,实验室内检测结果重现性差,成本高,操作人员要求高,难以在一般实验室推广,不适用于快速检测与临床广泛应用。如何在提高检测灵敏度与特异性的同时,达到快速检测、操作自动化和降低成本的目的,更好地为我国艾滋病防控工作服务,将是 HIV-2 检测技术的未来发展方向。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] 中国疾病预防控制中心,性病艾滋病预防控制中心,性病控制中心. 2018 年 7 月全国艾滋病性病疫情[J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(9): 865. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2018.09.01. NCAIDS, NCSTD, China CDC. Update on the AIDS/STD epidemic in China in July, 2018[J]. Chin J AIDS STD, 2018, 24(9): 865. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2018.09.01.
- [2] Tchounga B, Ekouevi DK, Balestre E, et al. Mortality and survival patterns of people living with HIV-2[J]. Curr Opin HIV AIDS, 2016, 11(5): 537-544. DOI: 10.1097/COH.0000000000000299.
- [3] Marlink R, Kanki P, Thior I, et al. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1 [J]. Science, 1994, 265(5178): 1587-1590. DOI: 10.1126/science.7915856.
- [4] Matheron S, Pueyo S, Damond F, et al. Factors associated with clinical progression in HIV-2 infected-patients: the French ANRS cohort [J]. AIDS, 2003, 17(18): 2593-2601. DOI: 10.1097/01.aids.0000096907.73209.b9.
- [5] Kanki PJ, Travers KU, Marlink RG, et al. Slower heterosexual spread of HIV-2 than HIV-1 [J]. Lancet, 1994, 343(8903): 943-946. DOI: 10.1016/s0140-6736(94)90065-5.
- [6] Burgard M, Jasseron C, Matheron S, et al. Mother-to-child transmission of HIV-2 infection from 1986 to 2007 in the ANRS French perinatal cohort EPF-COI [J]. Clin Infect Dis, 2010, 51(7): 833-843. DOI: 10.1086/656284.
- [7] Ariyoshi K, Jaffar S, Alabi AS, et al. Plasma RNA viral load predicts the rate of CD<sub>4</sub> T cell decline and death in HIV-2-infected patients in West Africa [J]. AIDS, 2000, 14(4): 339-344. DOI: 10.1097/00002030-200003100-00006.
- [8] Berry N, Ariyoshi K, Jaffar S, et al. Low peripheral blood viral HIV-2 RNA in individuals with high CD<sub>4</sub> percentage differentiates HIV-2 from HIV-1 infection [J]. J Hum Virol, 1998, 1(7): 457-468.
- [9] Witvrouw M, Pannecouque C, van Laethem K, et al. Activity of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors against HIV-2 and SIV [J]. AIDS, 1999, 13(12): 1477-1483. DOI: 10.1097/00002030-199908200-00006.
- [10] Witvrouw M, Pannecouque C, Switzer WM, et al. Susceptibility of HIV-2, SIV and SHIV to various anti-HIV-1 compounds: implications for treatment and postexposure prophylaxis [J]. Antivir Ther, 2004, 9(1): 57-65.
- [11] Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection [J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(6): 780-787. DOI: 10.1093/cid/ciq248.
- [12] de Mendoza C, Cabezas T, Caballero E, et al. HIV type 2 epidemic in Spain: challenges and missing opportunities [J]. AIDS, 2017, 31(10): 1353-1364. DOI: 10.1097/QAD.0000000000001485.
- [13] Nicolás D, Ambrosioni J, Paredes R, et al. Infection with human retroviruses other than HIV-1: HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 and HTLV-4 [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2015, 13(8): 947-963. DOI: 10.1586/14787210.2015.1056157.
- [14] Zbinden A, Dürig R, Shah C, et al. Importance of an early HIV antibody differentiation immunoassay for detection of dual infection with HIV-1 and HIV-2 [J]. PLoS One, 2016, 11(6): e0157690. DOI: 10.1371/journal.pone.0157690.
- [15] Faria NR, Hodges-Mameletzis I, Silva JC, et al. Phylogeographical footprint of colonial history in the global dispersal of human immunodeficiency virus type 2 group A [J]. J Gen Virol, 2012, 93(4): 889-899. DOI: 10.1099/vir.0.038638-0.
- [16] de Mendoza C, Caballero E, Aguilera A, et al. HIV-2 and HTLV-1 infections in Spain, a non-endemic region [J]. AIDS Rev, 2014, 16(3): 152-159.
- [17] Ramos EM, Harb S, Dragavon J, et al. Clinical performance of the Multispot HIV-1/HIV-2 rapid test to correctly differentiate HIV-2 from HIV-1 infection in screening algorithms using third and fourth generation assays and to identify cross reactivity with the HIV-1 Western Blot [J]. J Clin Virol, 2013, 58 Suppl 1: e104-107. DOI: 10.1016/j.jcv.2013.08.018.
- [18] 严延生, 郑兆双, 陈舸, 等. 福建发现首例 HIV-2 感染者 [J]. 海峡预防医学杂志, 1999, 5(1): 6-7.  
Yan YS, Zheng ZS, Chen G, et al. The first case of HIV-2 infection in Fujian [J]. Strait J Prev Med, 1999, 5(1): 6-7.
- [19] 陈曦, 贺建梅, 郑军. 湖南省首次检出 HIV-1/2 型混合感染者 2 例报告 [J]. 中国医师杂志, 2003, 5(10): 1436. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2003.10.090.  
Chen X, He JM, Zheng J. The first detection of 2 cases HIV-1/2 mixed infection in Hunan province [J]. J Chin Phys, 2003, 5(10): 1436. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2003.10.090.
- [20] 高凯, 李燕, 梁彩云, 等. 广州市发现首例 HIV-1/HIV-2 混合感染 [J]. 华南预防医学, 2006, 32(1): 17-19. DOI: 10.3969/j.issn.1671-5039.2006.01.005.  
Gao K, Li Y, Liang CY, et al. The identification of first HIV-1/HIV-2 mixed infection in Guangzhou [J]. South China J Prev Med, 2006, 32(1): 17-19. DOI: 10.3969/j.issn.1671-5039.2006.01.005.
- [21] 詹军, 潘国新, 陆海霞, 等. 宁夏首例 HIV-1/2 型混合感染者的实验室诊断 [J]. 宁夏医学杂志, 2005, 27(11): 772-773. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5949.2005.11.019.  
Zhan J, Pan GX, Lu HX, et al. The laboratory diagnosis on the

- first HIV-1/2 mixture infection in Ningxia [J]. *Ninxia Med J*, 2005, 27 (11) : 772-773. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5949.2005.11.019.
- [22] 梁跃波, 李亚平, 候中生, 等. 云南边境地区 HIV-1 型和 HIV-2 型混合感染的流行病学分析 [J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2007, 30 (6) : 331-333. DOI: 10.3969/j.issn.1004-9770.2007.06.002.
- Liang YB, Li YP, Hou ZS, et al. Epidemiologic analysis on HIV-1 and HIV-2 of mixture infection in Yunnan border areas [J]. *Chin J Front Health Quar*, 2007, 30 (6) : 331-333. DOI: 10.3969/j.issn.1004-9770.2007.06.002.
- [23] Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS [J]. *Science*, 1986, 233 (4761) : 343-346. DOI: 10.1126/science.2425430.
- [24] World Health Organization. Joint united nations programme on HIV/AIDS (UNAIDS)-WHO. Revised recommendations for the selection and use of HIV antibody tests [J]. *Wkly Epidemiol Rec*, 1997, 72(12):81-87.
- [25] Koblavi-Deme S, Maurice C, Yavo D, et al. Sensitivity and specificity of human immunodeficiency virus rapid serologic assays and testing algorithms in an antenatal clinic in Abidjan, Ivory Coast [J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(5) : 1808-1812. DOI: 10.1128/JCM.39.5.1808-1812.2001.
- [26] Andersson S, da Silva Z, Norrgren H, et al. Field evaluation of alternative testing strategies for diagnosis and differentiation of HIV-1 and HIV-2 infections in an HIV-1 and HIV-2-prevalent area [J]. *AIDS*, 1997, 11 (15) : 1815-1822. DOI: 10.1097/00002030-199715000-00005.
- [27] Chaillet P, Tayler-Smith K, Zachariah R, et al. Evaluation of four rapid tests for diagnosis and differentiation of HIV-1 and HIV-2 infections in Guinea-Conakry, West Africa [J]. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, 2010, 104 (9) : 571-576. DOI: 10.1016/j.trstmh.2010.05.007.
- [28] 李敬云. 提高对 HIV-1 急性感染和 HIV-2 诊断能力的检测策略 [J]. *中国艾滋病性病*, 2016, 22(2) : 138-140. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2016.02.25.
- Li JY. Optimization of laboratory HIV testing algorithm for acute HIV-1 infection and HIV-2 diagnosis [J]. *Chin J AIDS STD*, 2016, 22(2) : 138-140. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2016.02.25.
- [29] 邱茂锋, 邢文革, 蒋岩, 等. 我国人类免疫缺陷病毒 2 型感染的初步回顾性血清学调查 [J]. *现代预防医学*, 2007, 34(12):2215-2216, 2221.
- Qiu MF, Xing WG, Jiang Y, et al. Preliminary retrospective serological investigation on human immunodeficiency virus type 2 infection in China [J]. *Mod Prev Med*, 2007, 34 (12) : 2215-2216, 2221.
- [30] Tedder RS, Hughes A, Corrah T, et al. Envelope cross-reactivity in Western blot for HIV-1 and HIV-2 may not indicate dual infection [J]. *Lancet*, 1988, 332 (8617) : 927-930. DOI: 10.1016/S0140-6736(88)92598-6.
- [31] 于国龙, 刁丽梅, 李杰, 等. HIV-1 与 HIV-2 交叉反应毒株的基因亚型分析 [J]. *中国皮肤性病杂志*, 2008, 22(4) : 198-200.
- Yu GL, Diao LM, Li J, et al. The gene subtype of strain in the cross reaction of HIV-1 and HIV-2 [J]. *Chin J Derm Venereol*, 2008, 22(4) : 198-200.
- [32] Damond F, Benard A, Balotta C, et al. An international collaboration to standardize HIV-2 viral load assays: results from the 2009 ACHIEV2E quality control study [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(10) : 3491-3497. DOI: 10.1128/JCM.02389-10.
- [33] Smith NA, Shaw T, Berry N, et al. Antiretroviral therapy for HIV-2 infected patients [J]. *J Infect*, 2001, 42 (2) : 126-133. DOI: 10.1053/jinf.2001.0792.
- [34] Cella E, Lo Presti A, Giovanetti M, et al. Phylogenetic analysis of human immunodeficiency virus type 2 group B [J]. *J Glob Infect Dis*, 2016, 8 (3) : 108-114. DOI: 10.4103/0974-777X.188592.
- [35] Avettand-Fenoel V, Damond F, Gueudin M, et al. New sensitive one-step real-time duplex PCR method for group A and B HIV-2 RNA load [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52 (8) : 3017-3022. DOI: 10.1128/JCM.00724-14.
- [36] Yamazaki S, Kondo M, Sudo K, et al. Qualitative real-time PCR assay for HIV-1 and HIV-2 RNA [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2016, 69 (5) : 367-372. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2015.309.
- [37] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: updated recommendations [EB/OL]. (2014-06-27) [2018-10-28]. <http://stacks.cdc.gov/view/cdc/23447>.
- [38] Damond F, Apetrei C, Robertson DL, et al. Variability of human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infecting patients living in France [J]. *Virology*, 2001, 280(1) : 19-30. DOI: 10.1006/viro.2000.0685.
- [39] Gueudin M, Damond F, Braun J, et al. Differences in proviral DNA load between HIV-1- and HIV-2-infected patients [J]. *AIDS*, 2008, 22 (2) : 211-215. DOI: 10.1097/qad.0b013e3282f42429.
- [40] Bertine M, Gueudin M, Mélard A, et al. New highly sensitive real-time PCR assay for HIV-2 group A and group B DNA quantification [J]. *J Clin Microbiol*, 2017, 55 (9) : 2850-2857. DOI: 10.1128/JCM.00755-17.

(收稿日期:2018-12-20)

(本文编辑:斗智)