

· 现场调查 ·

集合核酸检测用于低档场所女性性工作者 HIV 急性感染诊断及发病率估计

李剑军 张鸿满 沈智勇 周月姣 方宁烨 王斌 王江伟 唐振柱

【摘要】目的 评价集合核酸检测方法在低档场所女性性工作者(FSWs)HIV急性感染诊断中的应用价值。**方法** 对广西壮族自治区2011年低档场所FSWs进行调查,并采集血液,采用胶体硒法对HIV抗体初筛检测;对初筛阴性者采用集合核酸检测方法检测HIV RNA,若为阳性,3个月内随访并采集血液进行确证;应用估算公式计算HIV年发病率。**结果** 共收集6 469例FSWs的血液样本,HIV抗体初筛阳性139例,阳性率为2.15%。对6 330例初筛阴性者进行集合核酸检测,7例为HIV RNA阳性。3个月内随访检测,6例出现HIV-1抗体阳转,诊断为HIV急性感染者。2011年广西低档场所FSWs的HIV年发病率为1.45(95%CI:1.17~1.76)/100人年。**结论** 集合核酸检测用于HIV传播的高危人群检测可以发现急性感染者。

【关键词】 HIV急性感染;集合核酸检测;女性性工作者;发病率

The role of RNA pooling technique in the diagnosis of acute HIV infection and the estimation on HIV incidence among low-grade-venues female sex workers Li Jianjun, Zhang Hongman, Shen Zhiyong, Zhou Yuejiao, Fang Ningye, Wang Bin, Wang Jiangwei, Tang Zhenzhu. Division of HIV/AIDS Prevention and Control, Guangxi Zhuang Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530028, China

Corresponding author: Tang Zhenzhu, Email: tangzhzh@163.com

This work was supported by a grant from the Guangxi Scientific Research and Technological Development Project (No. 1298003-1-4).

【Abstract】 Objective To examine the feasibility of RNA pooling technique in the diagnosis on acute HIV infection among female sex workers (FSWs) working at the low-grade venues. **Methods** Plasma samples from the low-grade-venue FSWs in Guangxi, in 2011 were tested for HIV antibody using the rapid testing method. All samples which were HIV antibody negative in the rapid testing were tested for HIV RNA with RNA pooling technique. FSWs who showed HIV RNA positive were tested for HIV antibody by Western blot method in 3 months. The HIV incidence in the low-grade venue FSWs was counted under the estimation formula. **Results** There were 6 469 cases of FSWs who were recruited in this study. Through rapid testing, results showed that HIV antibody was positive in 139 cases, with the positive rate as 2.15%. 6 330 FSWs with HIV antibody negative were tested by HIV RNA pooling method, with 7 of them showing HIV RNA positive, in which 6 cases showed HIV-1 antibody seroconversion, thus were diagnosed as acute HIV infection. HIV incidence in low-grade FSWs appeared to be 1.45 per 100 person years (95% CI: 1.17-1.76 per 100 person years) in Guangxi. **Conclusion** Other than regular routine HIV antibody testing, it seemed necessary to adopt the HIV RNA pooling strategy in high-risk groups such as FSWs, so as to early detect the HIV infection and to timely perform the intervention or treatment programs to prevent sexual transmission of HIV.

【Key words】 Acute HIV infection; RNA pooling; Female sex workers; Incidence

女性性工作者(FSWs)在HIV经性途径传播中扮演着极其重要的角色,是HIV从高危人群向一般人群传播的桥梁^[1-3]。已有研究显示,利用集合样本

核酸检测对HIV抗体阴性的高危人群进行检测可及早诊断HIV急性感染者^[4],本研究利用该方法对广西低档场所FSWs的艾滋病急性感染状况进行分析。

对象与方法

1. 调查对象:2011年广西壮族自治区所有市、区(县)社区内(不包括监管场所内)的低档场所(城乡结合部、乡镇的路边店、小旅店、招待所、路边或广场

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.03.009

基金项目:广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻1298003-1-4)

作者单位:530028 南宁,广西壮族自治区疾病预防控制中心艾滋病预防所

通信作者:唐振柱, Email: tangzhzh@163.com

或公园站桩、出租屋等,或性交易价格每次 < 50 元的其他场所)的FSWs^[5]。每个市、区(县)至少完成 100 名低档场所FSWs的调查工作。本研究经广西壮族自治区疾病预防控制中心伦理委员会批准,所有研究对象需签署知情同意书。

2. 研究方法:采用方便抽样方法开展横断面调查,由经过全区统一培训的所在地疾病预防控制中心的工作人员对目标人群进行面对面问卷调查并采集静脉血 5 ml,采血后 6 h 内离心(室温,3 000 r/min,离心 10 min)分离血浆,血浆分装 2 管(每管约 1 ml),1 管用于 HIV 抗体检测,采用英科新创(厦门)科技有限公司快速检测试剂,具体操作按试剂盒说明书进行;1 管采用罗氏全自动病毒载量检测系统 COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan HIV-1 Test, version 2.0 进行集合核酸检测,参照文献[6],每 10 份原始标本(每份原始标本取 130 μl)混合成 1 个二级集合标本,每 5 个二级集合标本(每个二级集合标本取 210 μl)混合成 1 个一级集合标本。HIV RNA 阳性者采用第四代 ELISA 试剂和免疫印迹试验进行复核,对 HIV 抗体阴性且 HIV RNA 阳性的对象在 3 个月内随访并采集血液进行确证实验。HIV 急性感染定义为 HIV 抗体阴性且 HIV RNA 阳性,3 个月内 HIV 抗体阳转。参照文献[7]估算 HIV 发病率[发病率 = $1/\mu[1 - (M/N)^{1/C}]$,其中, N 为参与集合核酸检测的总样本数, M 为集合核酸检测为阴性集合的样本数, C 为集合核酸检测为阳性集合中的每个集合样本数, μ 为 HIV 抗体血清学阳转前可检测出 HIV RNA 阳性的时间间隔值(28 d)]。

3. 统计学分析:采用 SPSS 17.0 软件对数据进行整理和分析。

结 果

1. 一般情况:2011 年 9—11 月共抽取广西壮族自治区 14 个市及所辖 50 个区(县),共收集 6 469 例低档场所FSWs的血液样本,HIV 抗体初筛快速检测阳性反应 139 例(2.15%)、阴性反应 6 330 例(97.85%)。

2. 集合核酸检测及 HIV 急性感染诊断:对抗体初筛阴性者的血浆标本进行 HIV RNA 集合核酸检测,检测方法见图 1, HIV 急性感染诊断流程及结果见表 1。6 330 例标本集成成 633 个二级集合及 127 个一级集合。7 份 HIV 抗体初筛阴性的标本中检出 HIV RNA。用第四代 ELISA 检测试剂对 7 例标本进行复核,结果为 1 例 HIV 阳性,6 例阴性。免疫印迹试验检测结果与第四代 ELISA 检测结果一致。3 个月

内对 6 例 HIV 阴性者进行随访并采血检测,均出现 HIV 抗体阳转。结合追踪随访检测结果判断,6 例 HIV 抗体初筛阴性者为 HIV 急性感染者,1 例为快速检测呈假阴性的既往 HIV 感染者。6 例 HIV 急性感染者血浆中含有很高浓度的病毒(M 为 11 400 copy/ml,最低为 5 650 copy/ml,最高为 3 300 000 copy/ml)。

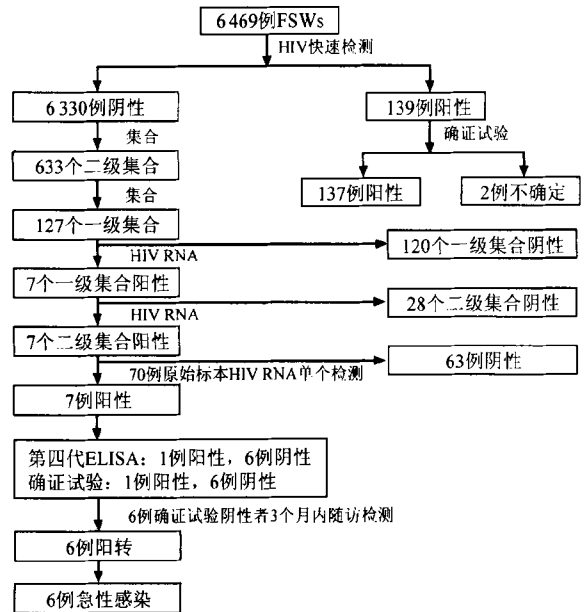


图 1 低档场所FSWs HIV 感染试验检测流程图

表 1 7 例 HIV 抗体初筛阴性/HIV RNA 阳性FSWs 的实验室检测结果

样本编号	HIV 抗体 (RT)	HIV 抗体/p24 抗原 (第四代 ELISA) 结果	A 值	HIV-1 抗体 (WB)	病毒载量 (copy/ml)	HIV 抗体 (3 个月内随访, WB)
450126088	阴性	阴性	0.098	阴性	16 000	阳性
450701015	阴性	阴性	0.087	阴性	5 900	阳性
450701053	阴性	阴性	0.071	阴性	3 300 000	阳性
450401673	阴性	阴性	0.127	阴性	222 000	阳性
450924077	阴性	阳性	3.395	阳性	2 370	-
450802005	阴性	阴性	0.102	阴性	5 650	阳性
450802119	阴性	阴性	0.086	阴性	6 800	阳性

注:RT:快速检测;WB:免疫印迹试验

3. 集合检测成本测算:HIV 核酸检测试剂成本为 500 元/人份,6 330 例 HIV 抗体初筛阴性者采用单个样本检测策略的成本:6 330 人份 × 500 元/人份 = 3 165 000 元。本研究采用集合核酸检测策略,需试剂份数:127 个一级集合 + 35 个二级集合 + 70 份原始标本 = 232 人份,试剂成本:232 人份 × 500 元/人份 = 116 000 元,与单个样本检测策略比较,可节省试剂成本:3 165 000 元 - 116 000 元 = 3 049 000 元,初步估算可节省试剂成本约 26 倍,检测工作量只有 232 人份。

4. HIV 年发病率:HIV 发病率计算数据来源所示,其中, $N = 6 330$, $M = 5 980 + 280 = 6 260$, $C = 10$,

$\mu = 28$ d, 因此, 发病率 = $1/\mu [1 - (M/N)^{1/\mu}] = 1/28 [1 - (6\ 260/6\ 330)^{1/28}] = 0.004\ 0\%$ 。发病率 $\times 365$ d 得到广西2011年低档FSWs的HIV年发病率为1.45 (95%CI: 1.17 ~ 1.76)/100人年。

讨 论

与中高档FSWs比较, 低档FSWs由于年龄偏大、文化程度普遍偏低、流动性更强、艾滋病性病防治知识较为缺乏、安全套使用率较低, 存在着通过性途径传播HIV的高风险^[8,9]。近年来, 国内陆续对FSWs开展HIV感染现状的调查研究, 结果显示, FSWs HIV抗体阳性检出率(患病率)为0 ~ 10.3%, 患病率差异可能与地区、FSWs工作场所档次、综合干预措施落实情况等有关^[2, 10-12]。由于艾滋病的潜伏期较长, 所发现的感染者或者病例的增多并不能准确反映目前危险因素作用的强度, 甚至可能掩盖防治措施的效果。因此, 识别HIV急性感染、正确计算HIV感染率对于估计危险因素作用的强度、评价干预的效果及制订正确的防控策略十分重要。本研究显示, 2011年广西低档场所FSWs HIV抗体阳性率为2.15%、HIV感染年发病率为1.45/100人年, 明显高于女性婚检者HIV抗体阳性率0.09%(内部资料, 待发表), 提示其感染危险因素仍大量存在, 亟待加强干预。

目前普遍认可的HIV急性感染的实验室诊断标准是HIV抗体初筛阴性、确证试验阴性或不确定, 同时HIV RNA水平 $> 10\ 000$ copy/ml 或 p24 抗原阳性^[13, 14]。HIV RNA检测针对的是常规HIV抗体检测方法漏掉的感染者, HIV RNA阳性的个体可以通过随访及抗体阳转所证实, 因而具有较大的诊断意义, 有助于诊断急性感染。对HIV抗体初筛阴性者进行HIV核酸检测, 可采用单个样本检测和集合样本检测策略。单个样本检测成本高且工作量大, 集合样本检测可大大节约成本、降低假阳性率和假阴性率等优点^[4, 15, 16], 因此, 该方法已成为美国一些大型实验室对高危人群急性感染实时监测的主要方法^[4, 15, 16]。

本研究结果显示, 用集合核酸检测方法发现了6例HIV-1急性感染的低档FSWs, 发现率为0.09% (6/6 330), 提示HIV高危人群(如FSWs、男男性行为者及静脉注射吸毒人群)的筛查检测中, 集合核酸检测方法及早发现HIV抗体初筛阴性者中的急性感染者。同时, 该方法的应用也可以弥补HIV抗体检测方法无法检出窗口期感染者的不足^[17]。本研究通过集合核酸检测方法发现6例HIV-1急性感染的

低档FSWs, 血浆中含有高浓度的病毒, 是传播HIV的高危人群。与单个样本检测策略比较, 集合样本检测可节省检测成本和减少工作量(节省试剂成本约26倍)。此外, 集合核酸检测也可通过公式估算高危人群的发病率。

参 考 文 献

- [1] Ramesh BM, Moses S, Washington R, et al. Determinants of HIV prevalence among female sex workers in four south Indian states: analysis of cross-sectional surveys in twenty-three districts [J]. *AIDS*, 2008, 22 Suppl 5: S35-44.
- [2] Wang HB, Wang N, Ding GW, et al. Investigation of HIV infection and its risk factors among female sex workers in Kaiyuan city, Yunnan province, China [J]. *Chin J AIDS STD*, 2007, 13(3): 220-223. (in Chinese)
汪海波, 汪宁, 丁国伟, 等. 云南省某市女性性工作者HIV感染及其危险因素调查[J]. *中国艾滋病性病*, 2007, 13(3): 220-223.
- [3] Wang Y, Tang ZZ, Zhu QY, et al. Epidemiological characteristics of HIV/AIDS in Guangxi, 2009-2011 [J]. *South Chin J Prev Med*, 2013, 39(1): 6-11. (in Chinese)
王勇, 唐振柱, 朱秋映, 等. 广西2009-2011年艾滋病流行特征分析[J]. *华南预防医学*, 2013, 39(1): 6-11.
- [4] Pilcher CD, Fiscus SA, Nguyen TQ, et al. Detection of acute infections during HIV testing in North Carolina [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352: 1873-1883.
- [5] Zhang XJ, Shen ZY, Tan GJ, et al. Survey on social behavior and related factors of HIV infection among low-grade commercial sex workers in Guangxi [J]. *Chin J AIDS STD*, 2013, 19(7): 514-517. (in Chinese)
张小娟, 沈智勇, 谭广杰, 等. 低档暗娼人口社会学特征与HIV感染状态[J]. *中国艾滋病性病*, 2013, 19(7): 514-517.
- [6] Chinese Center for Disease Control and Prevention. National Guideline for Detection of HIV/AIDS [S]. 2009: 5-18. (in Chinese)
中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2009年修订版) [S]. 2009: 5-18.
- [7] Quinn TC, Brookmeyer R, Kline R, et al. Feasibility of pooling sera for HIV-1 viral RNA to diagnose acute primary HIV-1 infection and estimate HIV incidence [J]. *AIDS*, 2000, 14(17): 2751-2757.
- [8] Ruan Y, Cao X, Qian HZ, et al. Syphilis among female sex workers in southwestern China: potential for HIV transmission [J]. *Sex Transm Dis*, 2006, 33(12): 719-723.
- [9] Li DM, Yuan F, Hu SY, et al. High risk behaviors and HIV/STI prevalence among female sex workers in different settings [J]. *Chin J AIDS STD*, 2007, 13(3): 210-213. (in Chinese)
李东民, 袁飞, 胡绍源, 等. 不同场所暗娼的高危行为和HIV/STI感染状况调查[J]. *中国艾滋病性病*, 2007, 13(3): 210-213.
- [10] Li XF, Zhang BC, Liu MH, et al. Survey on the behavioral characteristics related to HIV/AIDS and the sero-prevalence of sexually transmitted diseases (STD) among 466 female sex workers (SWs) in Qingdao [J]. *Chin J AIDS STD*, 2006, 12(1): 16-18. (in Chinese)
李秀芳, 张北川, 刘明华, 等. 466例女性性工作者AIDS/STD血清学和行为学调查[J]. *中国艾滋病性病*, 2006, 12(1): 16-18.
- [11] Zhu QY, Liu W, Chen J, et al. Analysis of data of AIDS sentinel surveillance from 1996 to 2003 in Guangxi province [J]. *Chin J AIDS STD*, 2006, 12(5): 429-532. (in Chinese)
朱秋映, 刘伟, 陈杰, 等. 广西1996-2003年艾滋病哨点监测结果分析[J]. *中国艾滋病性病*, 2006, 12(5): 429-532.
- [12] Lu L, Jia MH, Ma YL, et al. An analysis of epidemic of HIV/AIDS in Yunnan province in 1989-2005 [J]. *Chin J AIDS STD*, 2006, 12(6): 517-519. (in Chinese)
陆林, 贾曼红, 马艳玲, 等. 云南省1989-2005年艾滋病流行分析[J]. *中国艾滋病性病*, 2006, 12(6): 517-519.
- [13] Kahn JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection [J]. *New Engl J Med*, 1998, 339(1): 33-39.
- [14] Busch MP, Lee LL, Satten GA, et al. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors [J]. *Transfusion*, 1995, 35: 91-97.
- [15] Patel P, Klausner JD, Bacon OM, et al. Detection of acute HIV infections in high-risk patients in California [J]. *J Acquir Imm Defic Syndr*, 2006, 42: 75-79.
- [16] Priddy FH, Pilcher CD, Moore RH, et al. Detection of acute HIV infections in an urban HIV counseling and testing population in the United States [J]. *J Acquir Imm Defic Syndr*, 2007, 44: 196-202.
- [17] Pilcher CD, McPherson JT, Leone PA, et al. Real-time, universal screening for acute HIV infection in a routine HIV counseling and testing population [J]. *JAMA*, 2002, 288: 216-221.

(收稿日期: 2013-09-27)

(本文编辑: 万玉立)