

人类免疫缺陷病毒(HIV)

人类免疫缺陷病毒（Human Immunodeficiency Virus, HIV），属逆转录病毒科，主要攻击CD4+T淋巴细胞，导致免疫系统进行性衰竭。HIV为直径约120nm的球形包膜病毒，其结构包括包膜（Envelope）、衣壳（Capsid）、核心（Core）等关键组分。其中包膜是宿主细胞膜来源的双层脂质膜，嵌入病毒编码的糖蛋白复合物（gp120表面蛋白与gp41跨膜蛋白），介导病毒与宿主CD4+T细胞结合。衣壳是由p24抗原构成的二十面体结构（约2000个p24蛋白亚基），包裹病毒基因组及酶系（逆转录酶、整合酶、蛋白酶）。

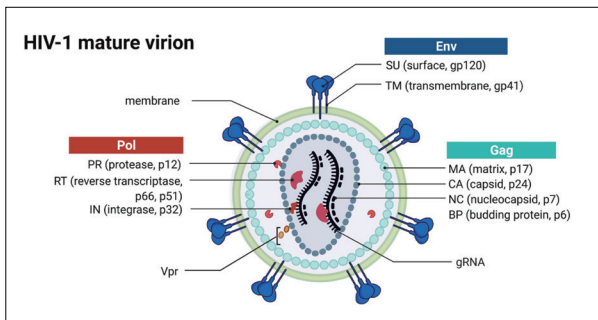


图1. HIV病毒结构

来源于: doi.org/10.3390/toxins14020138

HIV病毒颗粒结构及gp120、gp41、gp36和p24/p26的诊断作用

HIV-1和HIV-2中的HIV颗粒结构类似，呈球形，直径约为120nm，外面包裹着由宿主细胞衍生的富含脂蛋白的膜。与其他逆转录病毒一样，HIV基因组包含三个主要基因——gag、env和pol，它们编码病毒的关键结构和功能蛋白。

- gag基因编码多个内部结构蛋白，其中最重要的是衣壳蛋白p24，形成病毒核心，也是HIV早期感染的重要标志物。HIV-1表达p24抗原，HIV-2表达另一种同源蛋白，在科学文献中也称为HIV-2 p26抗原。
- env基因编码包膜糖蛋白。在HIV-1中，env基因编码前体gp160，随后被切割形成包膜糖蛋白gp120和gp41，这些蛋白位于病毒表面。gp120与宿主T细胞上的CD4受体结合，启动病毒进入，而gp41锚定gp120于病毒膜上，并介导病毒与宿主细胞之间的融合。gp120和gp41都能激发强烈的抗体反应，这使它们成为HIV检测的理想靶点。在HIV-2中，env基因编码前体gp160，随后被切割形成表面糖蛋白gp120和跨膜糖蛋白gp36，后者在功能上与HIV-1中的gp41类似。
- pol基因编码对病毒复制至关重要的酶，包括反转录酶、整合酶和蛋白酶。

临床用途

- 目标人群HIV感染的筛查和监测
- 早期诊断以提升生活质量

HIV的分型和地理分布

HIV分为HIV-1和HIV-2两种主要类型，其生物学特性与流行病学分布存在显著差异。HIV-1全球流行占比>95%，其致病性和传播效率高。HIV-2全球流行占比<5%，主要集中在西非地区，其潜伏期时间长，传播效率较低。HIV-1包括4个群组M、O、P和N，其中M组占全球HIV-1感染的90%以上。其中M组包括多种遗传亚型（A、B、C、D、F、G、H、J和K）以及循环重组株（CRFs）。O组主要分布于喀麦隆及周边国家（占HIV-1感染约1%），但某些欧洲国家（法国、西班牙和比利时）报告了非洲以外的最高流行率。HIV-1 O组与M组病毒株之间的序列多样性非常大，在env和pol基因中分别达到50%和30%。P组和N组极罕见。HIV-2包括8个不同的群组，其中A、B为主要群组，C-H为罕见群组。

表1. HIV分型情况概述

病毒类型	组	流行率	主要特征	地理分布
HIV-1	M	主要流行	包括多种遗传亚型（A、B、C、D、F、G、H、J和K）以及循环重组株（CRFs）	全球
	O	~1%	基因不同（“Outlier”）	主要在喀麦隆及其邻国
	N	极罕见	有限流行	主要在喀麦隆
	P	极罕见	最不明确的群体	非常有限的数据库
HIV-2	A&B	主要流行	与广泛传播相关	主要在非洲西部
	C-H	罕见	有限传播	有限病例，主要在西非

HIV早期诊断标志物

p24抗原是HIV-1的核心结构蛋白，属于衣壳蛋白（Capsid, CA），分子量约24kDa（由231个氨基酸组成）。p24抗原水平与病毒载量正相关，感染早期即在血液中达到峰值，早于抗体的出现。HIV感染后7-10天可检测出HIV RNA，感染后10-15天可检测出p24抗原，感染后2-8周可检测出HIV抗体。HIV p24抗原抗体联合检测可将窗口期缩短至14天。根据欧盟IVDR classD注册法规要求，WHO HIV-1 p24国际标准物质（NIBSC code: 90/636）的最低检测限要≤2IU/mL，且试剂的特异性≥99.5%。因此HIV p24抗体的敏感性和特异性显得尤为重要。

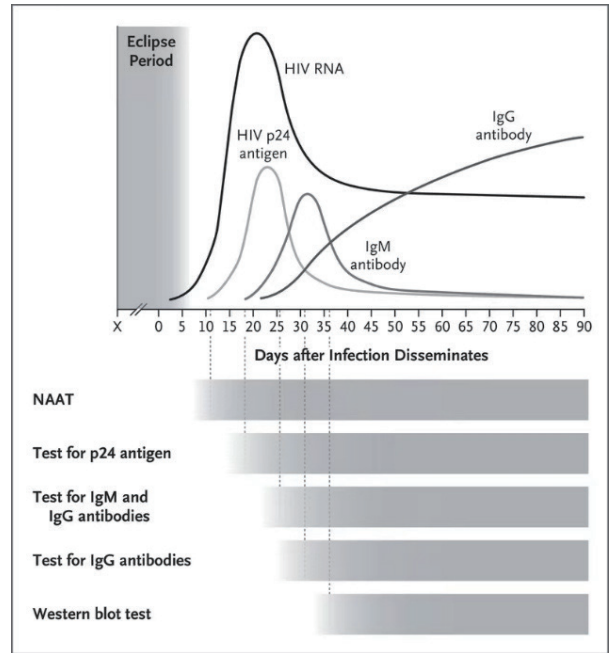


图2. HIV感染后各项待测指标的动力学曲线
来源于: DOI: 10.1056/NEJMc1915826

用于HIV抗原免疫检测试剂开发的p24单克隆抗体

Hytest提供若干株HIV p24单克隆抗体，可用于开发新一代HIV p24抗原免疫检测试剂。代表性推荐配对的分析灵敏度如图3所示，使用WHO HIV-1 p24国际标准物质（NIBSC code: 90/636）制备的参考品进行灵敏度分析显示，推荐配对的分析灵敏度在0.55-0.57IU/mL，高于欧盟IVDR classD注册法规要求。推荐配对信息及其对应的LoD数据如表2所示，针对不同亚型和来源的p24抗原和HIV-2 p26抗原，所有配对均展示出了极佳的灵敏度。此外，经过外部临床样本测试数据显示，推荐配对的特异性均大于99.95%，符合临床要求。所有推荐HIV p24抗体配对均能识别以下HIV-1亚型：包括A1,B,C,D, F1/CRF12_BF/BFrec, G, CRF20_BG, CRF01_AE, CRF02_AG, H亚型和group O。

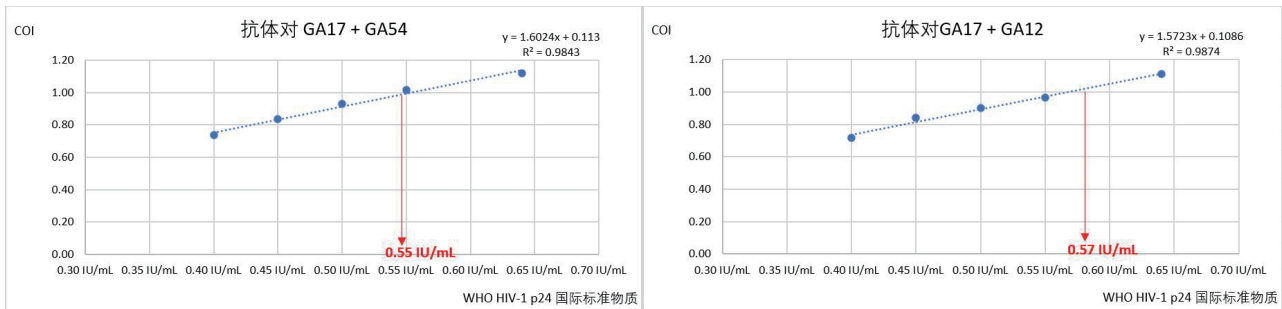


图3. 代表性推荐配对的WHO HIV-1 p24国际标准物质测试结果（单位：COI）
原型试剂：化学发光法（碱磷酶标记）

表2. HIV p24推荐配对信息及最低检测限

编号	捕获抗体	检测抗体	WHO HIV-1 p24国际 标准物质(NIBSC code: 90/636) 最低检测限, IU/ml	HIV重组抗原最低检测限		
				HIV-1型M组p24 抗原, pg/ml	HIV-1型O组p24 抗原, pg/ml	HIV-2型p26 抗原, pg/ml
1	GA17	GA54	0.55	4	1.5	15
2	GA17	GA12	0.64	2	2	8
3	GA17	GA38	0.55	1.5	1.5	8
4	GA34	GA54	0.5	2	1.5	20
5	GA38	GA54	0.55	4	1.5	20
6	GA39	GA54	0.64	4	4	25
7	Abbott HIV Ag/ Ab Combo试剂		1.0	5	4	1ng/ml 时未检出
8	Roche HIV combi PT试剂		1.3	5	6	20

用于HIV-1/HIV-2抗体免疫检测试剂开发的重组抗原

Hytest还提供若干用于HIV-1/HIV-2抗体检测的重组抗原。在感染过程中，不同的抗体会在不同时间产生。针对gp41的抗体是HIV-1感染中最早出现的抗体之一。它们通常在感染后2-3周内即可检测出，这意味着gp41是早期检测的重要靶点。相比之下，针对gp120（V3环）的抗体通常在较晚阶段出现，但V3区域的免疫原性很高。为了提供广泛且可靠的诊断覆盖，Hytest的抗原包含免疫优势表位和高度保守区域，例如HIV-1 gp41、gp120 V3环，以及HIV-2 gp36。详细的抗原信息见表3。

使用Hytest原型试剂在CLIA平台上对11份未稀释的HIV-1阳性样本和11份稀释的HIV-2阳性样本进行了评估。所有Hytest HIV-1和HIV-2抗原配对均显示100%检出率。同时，通过不少于200例干扰样本和5000例临床样本对不同HIV-1和HIV-2抗原配对的特异性进行了评估。Hytest HIV-1和HIV-2抗原配对符合欧盟委员会实施条例（EU）2022/1107中定义的性能要求（特异性>99.5%）。

表3. HIV重组抗原信息

货号	产品	分子量	等电点	表达体系
8H11	HIV-1, gp120-gp41 N-Trx	57kDa	5.93	大肠杆菌
8H12	HIV-1, gp41-gp120 N-Fc	66kDa	6.55	哺乳动物细胞系
8H13	HIV-1, gp41 N-HSA	87kDa	6.39	哺乳动物细胞系
8H16	HIV-1, gp120 C-Fc	33.3kDa	8.34	哺乳动物细胞系
8H24	HIV-2, gp36 N-HSA	86.6kDa	6.5	哺乳动物细胞系
8H25	HIV-2, gp36 C-TnC	37.6kDa	4.7	哺乳动物细胞系

Hytest HIV Ag/Ab Combo原型试剂评估

目前主流的HIV免疫学检测试剂是抗原抗体联检试剂，这意味着对抗原抗体配对组合的匹配性有着极高的要求。Hytest使用HIV Ag/Ab Combo原型试剂在CLIA平台上进一步评估了若干抗原抗体配对组合的敏感性和特异性。其中，所有组合的原型试剂均能够检测出所有待测基因型（A,B,C,C/CRF_BC,C/CRF08_BC,C/CRF31_B-C,CRF_BG,CRF01_AE,CRF02_AG,CRF03_AB,CRF22_01A1, D, F2, G）。同时，HIV Ag/Ab Combo原型试剂对4272例阴性样本进行了特异性评估，其特异性均大于99.9%。此外，HIV Ag/Ab Combo原型试剂使用HIV血清转换盘对HIV早期感染的检测能力进行了进一步的评估。结果显示，原型试剂对血清转换盘的早期检出能力高于商品化试剂（数据见表4）。

参考文献

- Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories. 2018 Quick reference guide: Recommended laboratory HIV testing algorithm for serum or plasma specimens. Published on January 27, 2018.
- Bush S, Tebit DM. HIV-1 Group O Origin, Evolution, Pathogenesis, and Treatment: Unraveling the Complexity of an Outlier 25 Years Later. AIDS Rev. 2015;17(3):147-158.)
- Branson, Bernard M. et al. (2014). Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection : updated recommendations.
- European Commission. Commission Implementing Regulation (EU) 2022/1107 of 4 July 2022 laying down common specifications for certain class D in vitro diagnostic medical devices. Official Journal of the European Union, L 174, 4 July 2022, pp. 3-42. At <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX%3A32022R1107> >
- Butler, Audrey L. et al. "The Antibodiome-Mapping the Humoral Immune Response to HIV. Current HIV/AIDS reports vol. 16,2 (2019): 169-179.

表4. Hytest HIV Ag/Ab Combo原型试剂HIV血清转换盘检测结果

No.	Assay Pairs Seroconversion Panel	Sample Size	HIV Combo1 HIV-1: 8H11+8H13 HIV-2: 8H24+8H25 p24: GA17+GA12	HIV Combo2 HIV-1: 8H11+8H12 HIV-2: 8H24+8H25 p24: GA17+GA54	IVD Combo1
			Number of HIV reactive samples		
1	HIV9021	17	4	4	4
2	HIV9018	9	3	3	3
3	HIV9030	16	3	3	3
4	HIV9011	11	2	2	2
5	HIV9028	7	2	2	2
6	HIV 9012	8	3	4	3
7	HIV 9077	23	12	12	12
8	SCP-HIV-002	20	11	12	11
9	SCP-HIV-003	7	4	4	4
10	SCP-HIV-004	7	3	3	3
11	SCP-HIV-005	25	21	21	21
12	SCP-HIV-007	9	4	4	4
13	O600-0240	5	2	2	2
14	O600-0245	7	2	2	2
15	O600-0248	10	3	3	3
16	O600-0251	10	3	4	4
17	O600-0256	4	2	2	2
18	O600-0258	4	2	2	2
19	O600-0261	4	3	3	2
20	O600-0270	4	3	3	2
21	O600-0272	6	3	3	3
22	O600-0243	9	2	2	2
Seroconversion Panel Tested			22	22	22
Total Tested Samples			222	222	222
HIV Reactive Samples			97	100	96

订购信息

单克隆抗体

品名	货号	克隆号	亚型	备注
HIV1/2 p24单克隆抗体	3H24	GA12	IgG1	体外生产, CLIA, EIA
		GA15	IgG1	体外生产, CLIA, EIA
		GA17	IgG1	CLIA, EIA
		GA18	IgG1	体外生产, CLIA, EIA
		GA32	IgG	CLIA, EIA, 重组兔抗体
		GA34	IgG	CLIA, EIA, 重组兔抗体
		GA38	IgG	CLIA, EIA, 重组兔抗体
		GA39	IgG	CLIA, EIA, 重组兔抗体
GA54	IgG1	CLIA, EIA, 重组嵌合抗体		

抗原

品名	货号	纯度	来源
HIV-1, gp120-gp41 N-Trx, 重组	8H11	>80%	重组
HIV-1, gp41-gp120 N-Fc, 重组	8H12	>80%	重组
HIV-1, gp41 N-HSA, 重组	8H13	>85%	重组
HIV-1, gp120 C-Fc, 重组	8H16	>90%	重组
HIV-2, gp36 N-HS, 重组	8H24	>90%	重组
HIV-2, gp36 C-TnC, 重组	8H25	>80%	重组