

酶联免疫吸附试验在人类免疫缺陷病毒抗体筛选中的应用效果

林云霞

作者单位: 274300 山东菏泽, 单县疾病预防控制中心

通信作者: 林云霞, Email: shlyx111@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2025.01.015

【摘要】 目的 研究酶联免疫吸附试验(ELISA)在人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体筛选中的应用效果。**方法** 选择2021年1月—2022年12月在单县疾病预防控制中心就诊的150例疑似艾滋病患者作为研究对象。所有患者均采集血液标本进行HIV抗体检测,检测方法为胶体金法和ELISA法,比较两种检测方法的真阳性例数和诊断效能。**结果** 采用免疫印迹试验确诊110例艾滋病患者。采用胶体金法和ELISA法检出的真阳性例数分别为81例、102例,ELISA法对HIV抗体检测的敏感度、准确度、阴性预测值均显著高于胶体金法(敏感度:92.73%比73.64%;准确度:92.67%比76.00%;阴性预测值:82.22%比53.23%;均 $P < 0.05$);ELISA法与胶体金法对HIV抗体检测的特异度和阳性预测值比较差异均无统计学意义(特异度:92.50%比82.50%;阳性预测值:97.14%比92.05%;均 $P > 0.05$)。**结论** ELISA法通过筛查HIV抗体能够更好地辅助诊断艾滋病。

【关键词】 艾滋病; 酶联免疫吸附试验; 人类免疫缺陷病毒抗体

Application effect of enzyme linked immunosorbent assay in screening antibodies against human immunodeficiency virus

Lin Yunxia. Center for Disease Control and Prevention of Shanxian County, Heze 274300, Shandong, China

Corresponding author: Lin Yunxia, Email: shlyx111@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effectiveness of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in the human immunodeficiency virus (HIV) antibody detection. **Methods** A total of 150 suspected acquired immune deficiency syndrome (AIDS) patients who went to Center for Disease Control and Prevention of Shanxian County from January 2021 to December 2022 were selected as research objects. The blood samples of all patients were collected for HIV antibody testing, using colloidal gold method and ELISA method. The true positive cases and diagnostic efficacy of the two methods were compared. **Results** The 110 cases of AIDS patients were diagnosed by Western blotting. The true positive cases detected by colloidal gold method and ELISA method were 81 cases and 102 cases, respectively. The sensitivity, accuracy and negative predictive value of ELISA method for HIV antibody detection were significantly higher than those by colloidal gold method (sensitivity: 92.73% vs. 73.64%; accuracy: 92.67% vs. 76.00%; negative predictive value: 82.22% vs. 53.23%; all $P < 0.05$). There were no statistically significant differences in the specificity and positive predictive value of HIV antibody detection between ELISA and colloidal gold methods (specificity: 92.50% vs. 82.50%; positive predictive value: 97.14% vs. 92.05%; both $P > 0.05$). **Conclusion** ELISA could better assist in the diagnosis of AIDS by screening HIV antibodies.

【Key words】 Acquired immune deficiency syndrome; Enzyme linked immunosorbent assay; Human immunodeficiency virus antibody

艾滋病是一种对人体危害极大的感染性疾病,主要是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染导致,HIV侵入人体后的潜伏期较长,会降低机体的抵抗力,导致带状疱疹、肺结核等合并症,且疾病后期还可能导致恶性肿瘤,增高死亡风险^[1-2]。现阶段还未研制出能够根治艾滋病的特

效药物,因此在积极预防艾滋病的同时,针对高危人群还应加强筛查工作,以便及时诊治^[3-4]。免疫印迹试验用于HIV检测的准确率较高,但通常在确诊试验中应用。胶体金法不需要使用特殊仪器,操作简便,通过肉眼即可直接判读结果,且检测用时较短,在各级医疗机构均有应用^[5]。酶联免疫吸附试

验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 是临床常用的检测技术, 本研究 bijiao 150 例疑似艾滋病患者分别应用胶体金法和 ELISA 法进行 HIV 抗体检测的效果, 旨在进一步探究 ELISA 法在 HIV 抗体筛选中的应用价值, 现将结果报告如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象与一般资料 共纳入 150 例疑似艾滋病患者作为研究对象, 均为 2021 年 1 月—2022 年 12 月至单县疾病预防控制中心就诊的患者。其中男性 89 例, 女性 61 例; 年龄 22~70 岁, 平均 (47.65 ± 4.10) 岁; 体质量指数 (body mass index, BMI) $18.8 \sim 29.5 \text{ kg/m}^2$, 平均 $(23.55 \pm 1.63) \text{ kg/m}^2$ 。受检者婚姻状况: 78 例未婚, 60 例再婚, 12 例离异或丧偶; 性取向: 男男性行为 64 例, 异性性行为 86 例。

1.1.1 纳入标准 ① 存在持续性发热、疱疹等典型症状, 结合性生活史等资料疑诊为艾滋病者; ② 理解能力和认知功能正常者; ③ 精神状态良好者; ④ 积极配合检查者。

1.1.2 排除标准 ① 机体存在严重感染者; ② 器官功能严重障碍者; ③ 合并肿瘤疾病者; ④ 存在其他免疫系统疾病者; ⑤ 心脑血管疾病患者。

1.1.3 伦理学 本研究符合《赫尔辛基宣言》医学伦理学标准, 并已通过本单位医学伦理委员会审批。所有患者均对研究内容知情同意, 自愿参与本研究。

1.2 仪器和试剂 PHOMO 酶标仪 [购自安图实验仪器 (郑州) 有限公司, 注册证编号: 豫械注准 20192220576], MW096 全自动洗板机 [购自菲仕医学设备 (武汉) 有限公司, 注册证编号: 鄂械注准 20192222631], 20~200 μL 微量加样器 [购自赛默飞世尔 (上海) 仪器有限公司]; 胶体金试剂与 ELISA 试剂盒 (均购自北京万泰生物药业股份有限公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 标本采集 在清晨采集患者空腹状态下的肘正中静脉血 5 mL, 将血液标本以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 对 HIV 抗体进行测定。

1.3.2 胶体金法 在试纸板条加样区分别滴加待测样本 50 μL , 再于加样区上方滴加 1 滴稀释液, 观察 30 min 并记录。

1.3.3 ELISA 法 按照相关说明书进行操作。针对阳性标本实施 ELISA 法复核, 采用免疫印迹试验对结果进行确证。

1.4 评价指标及判定标准 ① 以免疫印迹试验结果作为“金标准”, 判断两种检测方法的阳性情况。

其中 ELISA 法判定标准如下: HIV 抗体初筛为阳性结果; 初筛和复核结果均为阳性; 当结果出现一个为阳性, 一个为阴性时则需要通过免疫印迹法对结果进行确证。② 计算两种检测方法对 HIV 抗体的诊断效能。

1.5 统计学处理 将本研究中采集到的数据录入 SPSS 25.0 统计软件包中加以分析。计数资料以例 (%) 作为表现形式, 组间比较采用 χ^2 检验。差异有统计学意义, 则 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 不同检测方法所得诊断结果比较 采用免疫印迹试验对检测结果进行确证, 共检出 110 例艾滋病患者, 其中 ELISA 法检出真阳性例数为 102 例, 胶体金法检出真阳性例数为 81 例。见表 1。

表 1 不同方法检测 HIV 抗体所得诊断结果与“金标准”结果比较

“金标准” 结果	胶体金法 (例)		ELISA 法 (例)		合计 (例)
	阳性	阴性	阳性	阴性	
阳性	81	29	102	8	110
阴性	7	33	3	37	40
合计	88	62	105	45	150

注: HIV 为人类免疫缺陷病毒, ELISA 为酶联免疫吸附试验

2.2 不同检测方法对 HIV 抗体的诊断效能 采用 ELISA 法检测 HIV 抗体的敏感度、准确度和阴性预测值均显著高于胶体金法 (均 $P < 0.05$); 两种检测方法检测 HIV 抗体的特异度和阳性预测值比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。见表 2。

表 2 不同方法检测 HIV 抗体的诊断效能比较

检测方法	敏感度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
胶体金法	73.64	82.50	76.00	92.05	53.23
ELISA 法	92.73	92.50	92.67	97.14	82.22
χ^2 值	14.329	1.829	15.768	2.532	9.691
P 值	< 0.001	0.176	< 0.001	0.112	0.002

注: HIV 为人类免疫缺陷病毒, ELISA 为酶联免疫吸附试验

3 讨论

通过分析往年的调查数据表明, HIV 感染的高危人群为性工作者、吸毒者、男男性行为人群等, 同时以上群体的伴侣也容易出现 HIV 感染。全球 HIV 感染新增人数虽然明显下降, 从 1997 年的 290 万例降至 2018 年的 170 万例, 但仍未达到 2020 年的目标值 (50 万例), 表明 HIV 感染的防控工作仍存在较大的挑战。艾滋病具有较长的潜伏期, 未发病前无

明显症状出现,但仍存在较强的传染性,会严重危害人们的身体健康,HIV 能直接攻击人体免疫系统,导致免疫功能下降,从而引起多种感染性疾病^[6-7]。近年来,由于人口流动性增大,HIV 感染已经不仅限于高危人群中,而是开始扩散到一般人群^[8-9]。艾滋病发病的早期症状不明显、不典型,容易被忽视,导致 HIV 通过不同途径传播,因此需要对公众加强艾滋病防控宣教和性教育,做好高危人群的筛查工作,以便对艾滋病做到早预防、早诊断、早治疗,及时控制感染源以及切断传播途径,促进疾病防治水平提高^[10]。

人体感染 HIV 后约 10 d 便可从血浆中检出遗传物质 HIV-DNA,在 2~3 周后则能从血浆中检测到 p24 抗原、免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM) 抗体,IgM 抗体在 HIV 感染的后续阶段一直存在。HIV 感染后,最先出现的生物标志物为 HIV-DNA,之后为 p24 抗原、抗体^[11]。为防控艾滋病传播,对 HIV 进行筛查十分重要。免疫印迹试验对 HIV 抗体检测的敏感度与准确度均较高,但检验步骤复杂,因此多在确诊试验中应用^[12-13]。胶体金法的操作简便,试剂盒携带方便,且标志物具有较强的稳定性,能够快速获得检测结果,但是该方法的诊断阳性率不高,对 HIV 抗体的敏感度较低,因此检测结果可能出现误差^[14]。

ELISA 法是应用比较广泛的酶联免疫检测技术,其检测原理为在固相载体上放置 HIV 抗原或抗体包被,再将酶标记的特异性二抗加入,根据酶作用底物后的不同显示颜色判断试验结果。该检测方式有助于在细胞水平上显示出抗体部位^[15-16]。ELISA 法是一种半定量检测技术,不仅能够直接检测 HIV 抗体,也能检测血液和组织标本中含有的微量 HIV 抗体,其检测结果也不会受到类风湿因子的干扰,具有较高的敏感度和特异度^[17]。但需要注意的是,HIV 抗原与其他反转录病毒间的交叉反应会导致 ELISA 法的 HIV 抗体检测结果出现假阳性,因此针对初筛阳性患者需要对结果进行进一步验证^[18]。

通过分析本研究数据结果显示,与免疫印迹试验结果进行比较,ELISA 法的真阳性例数更接近,且该检测方法除特异度、阳性预测值外的其他 3 项诊断效能指标水平均显著高于胶体金法,表明 ELISA 法更具诊断价值。与胶体金法比较,ELISA 法的检测时间更长,但能够进行大批量检测,因此检测成本更低。另外在本研究中,应用 ELISA 法对 HIV 抗体

进行初筛和复核,并应用免疫印迹试验进行结果确证,能够进一步提高对艾滋病的诊断准确率,减少误诊情况出现^[19-20]。ELISA 法对组织标本、血液样本的敏感度和特异度均较高,且其他类风湿因子等因素不会干扰检查结果,能够将机体各指标水平检出,有助于及时制定并采取相应的预防和控制措施。

本研究中临床数据显示,ELISA 法筛查 HIV 抗体仍会出现假阳性结果,表明在艾滋病的筛查和诊断过程中多种因素会影响检验结果,主要有以下几方面:① 标本溶血,被污染储存时间过长;② 运输和贮存条件不达标,降低敏感度与特异度,促使酶试剂失活;③ ELISA 法使用的试剂已过期,采用不同厂家、不同批号的 ELISA 试剂中存在酶标记物浓度不同的情况;④ 检测仪器未定期进行维护、洗板机使用后未及时冲洗等,均会对检测结果产生不良影响^[21];⑤ 另外检测过程中温度是影响酶反应活性的重要因素,进而会对检测准确性产生影响^[22]。

为消除上述危险因素对检验结果产生的影响,需要针对不同因素采取积极的防控措施。具体措施总结为:① 医院应安排参与标本采集至检验这一流程的操作人员接受专业培训,要求其熟悉和掌握相关知识、标准以及操作方法,在标本采集、保存、检验等环节中能够严格按照相关步骤进行操作,保证标本质量合格^[22-23]。在加入抗凝物质时避免应用酶抑制剂,防止影响 ELISA 试剂中的酶活性。另外医院应采购来自正规厂家且符合标准规范的实验室试剂,要求厂家提供相关证明,并按照试剂保存要求进行妥善保存,确保试剂质量合格。在试剂使用前进行检查,及时处理变质或过期的试剂^[24-25]。定期对实验室仪器设备进行检查、维护和保养,保证仪器设备的精密度,加强仪器的室内质控。② 合理选择试剂,根据临床评估结果选择高敏感度、高特异度的试剂盒,并在检测前对试剂进行全面预处理^[26]。③ 保证标本质量,在进行血清分离操作时,应确保血浆和血清彻底分离,防止血清样本中因含有纤维蛋白而出现假阳性结果;在保存血清时应将其置于低温环境中冷冻保存,避免反复冻融、受热,防止因蛋白分子被破坏而导致假阴性结果^[27]。④ 酶标仪使用前先开机进行预热,时间为 30 min。在检测开始前,洗板机冲洗至少两次,促使游离的血红蛋白被彻底清除,以免影响检测结果。洗板机使用后及时对管路冲洗 5~6 次。应用恒温箱对试剂温度进行控制,若实验试剂未用完则将其置于含有干燥剂的

密封袋中,保存于冰箱中。严格按照相关规章制度中规定的流程进行操作,规范 HIV 检测行为^[28]。

综上所述,ELISA 法在 HIV 抗体筛查中具有较高的诊断效能,有助于艾滋病检出率的提高,辅助临床制定防治措施。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 徐璐,吕晓静,程栋,等.新乡市人类免疫缺陷病毒抗体有反应者胶体硒法与蛋白质免疫印迹试验结果分析[J].实用检验医师杂志,2020,12(2):114-115. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.02.014.
- 陈晶.酶联免疫反应加速仪在 HIV 抗体筛查试验 ELISA 法中的应用与探讨[J].中国医疗器械信息,2022,28(11):100-102. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2022.11.032.
- 穆荣.ELISA 法筛查 HIV 抗体的结果及价值分析[J].中国实用医药,2022,17(6):128-130. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2022.06.046.
- 王新现.尿液 HIV 抗体 ICGT 法与 ELISA 法在高危人群 HIV 筛查性能评价中的对比分析[J].内蒙古医学杂志,2020,52(9):1060-1061. DOI: 10.16096/J.cnki.nmgxyzz.2020.52.09.021.
- 杨色娟,刘小六.酶联免疫法筛查 HIV 抗体在艾滋病诊断中的应用价值[J].临床医学工程,2022,29(11):1519-1520. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4659.2022.11.1519.
- 徐秋芳,范好,张亚军,等.2014-2020 年上海市青浦区 HIV 抗体筛查和确证试验结果分析[J].中国人兽共患病学报,2021,37(9):821-825,832. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2021.00.118.
- 张春英.酶联免疫吸附测定法筛查 HIV 抗体在艾滋病诊断中的意义[J].中国实用医药,2019,14(4):74-75. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2019.04.041.
- 沈湜,吴忠兰,杨东智,等.433 例 HIV 抗体初筛阳性样本确证检测结果分析[J].宁夏医学杂志,2020,42(1):50-52. DOI: 10.13621/j.1001-5949.2020.01.0053.
- 李伊,陆红云.宜春市袁州区 2015—2018 年 HIV 抗体筛查情况及复检阳性样本确证结果分析[J].国外医学(医学地理分册),2019,40(3):229-231. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8883.2019.03.007.
- 陈婧,王涛,汤琰,等.2014—2018 年上海市浦东新区 HIV 抗体筛查与确证试验结果特征分析[J].公共卫生与预防医学,2020,31(2):62-65. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2483.2020.02.015.
- 陈伟.ELISA 法检测抗 HIV 抗体准确度研究[J].质量安全与检验检测,2021,31(3):134-136.
- 尤佳女,陈兵,许珂,等.疑似 HIV 感染者样本抗体筛查蛋白印迹试验及核酸检测结果分析[J].中国艾滋病性病,2021,27(7):741-744. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2021.07.16.
- 周敏,林哲,王甲芳,等.酶联免疫法检测艾滋病抗体的质量控制研究[J].检验检疫学刊,2019,29(6):93-95. DOI: CNKI:SUN:XDSJ.0.2019-06-031.
- 唐杰,于永敏,冯煦,等. AIDS 患者 ELISA 法 HIV 抗体检测结果错误相关影响因素分析及干预策略[J].黑龙江医药科学,2021,44(2):129-130. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0104.2021.02.057.
- 张丽云.比较分析 ELISA 法检测抗-HIV 国产和进口酶免试剂的差异性[J].中国医疗器械信息,2021,27(10):39-40,190. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2021.10.016.
- 苗岳,郭波,王欣锐,等.ELISA 与胶体金法在 HIV 筛查中的诊断效果对比[J].临床医学工程,2021,28(11):1519-1520. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4659.2021.11.1519.
- 徐莉,孙琦,隋苗苗.734 例 HIV 抗体初筛阳性标本的复检和确证结果分析[J].预防医学论坛,2019,25(12):929-931,934. DOI: CNKI:SUN:YXWX.0.2019-12-015.
- 何奕斌.ELISA 测定 HIV 抗体对艾滋病的诊断价值分析[J].基层医学论坛,2022,26(20):79-81. DOI: 10.19435/j.1672-1721.2022.20.027.
- 李爱红.酶联免疫吸附试验在急诊艾滋病病毒抗体初筛中的应用价值[J].河南医学研究,2021,30(20):3813-3815. DOI: 10.3969/j.issn.1004-437X.2021.20.056.
- 钟秀琴.酶联免疫吸附法与胶体金法在筛查 HIV 感染中的意义[J].中国国境卫生检疫杂志,2020,43(6):430-431. DOI: 10.16408/j.1004-9770.2020.06.016.
- 闫皓.ELISA 法与胶体金法检测 HIV 效果比较[J].中国冶金工业医学杂志,2019,36(6):733-734. DOI: CNKI:SUN:ZGYJ.0.2019-06-113.
- 卢永亮,陈冬莲,王满娣.不同免疫检验方法在抗人类免疫缺陷病毒检测中的应用[J].实用检验医师杂志,2022,14(1):63-66. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.01.016.
- 刘士明.艾滋病检验中 HIV 抗体 ELISA 法筛查结果的分析[J].糖尿病天地,2022,19(5):176-177.
- 董莉.在临床疑似艾滋病血清 HIV 检测中 ELISA 法与胶体金免疫层析试验法的检测效果分析[J].黑龙江中医药,2021,50(3):440-441.
- 张玉.ELISA 法与蛋白印迹法诊断 AIDS 临床分析[J].医学检验与临床,2020,31(10):46-47,54. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2020.10.011.
- 段艳鸽.在艾滋病检验中人类免疫缺陷病毒抗体酶联免疫吸附法筛查结果的研究及临床价值分析[J].黑龙江医学,2023,47(15):1839-1841. DOI: 10.3969/j.issn.1004-5775.2023.15.014.
- 叶锋.ELISA 筛查 HIV 抗体在艾滋病诊断中应用价值分析[J].黑龙江医药,2023,36(3):680-682. DOI: 10.14035/j.cnki.hljyy.2023.03.061.
- 杨东昇.不同免疫检验在抗艾滋病病毒检测中的结果对比[J].中国社区医师,2021,37(25):105-106. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2021.25.050.

(收稿日期:2025-01-08)

(本文编辑:邵文)