

酶联免疫吸附测定法在 HIV 抗体筛查中的应用价值研究

白 灵, 田俊丽, 任 芳, 杜 鹃, 张智竑*

(包头市疾病预防控制中心, 包头 014000)

摘要:目的 探讨酶联免疫吸附测定法(ELISA)在人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体筛查中的应用价值。**方法** 本研究选取包头市疾病预防控制中心2019年1月至2022年12月收集的1085例HIV抗体筛查标本,均采用酶联免疫吸附法与胶体金法检查,基于免疫印记法(金标准),评估酶联免疫吸附法(ELISA)在HIV抗体筛查中的诊断效能。**结果** ELISA在1085例样本中检出652例阳性,阳性率为60.09%,高于胶体金法的58.6%。以免疫印迹法为金标准,ELISA的灵敏度达96.34%,特异性为85.1%,准确率为91.34%,均显著优于胶体金法的91.36%、82.19%和87.28%,且 P 值均 <0.05 ,差异具有统计学意义。**结论** ELISA在HIV抗体筛查中较于胶体金法具有更高的灵敏度和特异性,在HIV抗体筛查中具有重要的应用价值,是HIV初筛的理想选择。

关键词: 人类免疫缺陷病毒; 酶联免疫吸附测定法; HIV抗体筛查; 胶体金法

0 引言

艾滋病(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)引发的高度传染性免疫系统疾病,其特点是传播速度快、发病缓慢且致死率高^[1-2]。当前,全球艾滋病的流行形势严峻,我国疫情也呈上升趋势,感染范围已从高危人群逐步向一般人群蔓延。在此背景下,早期识别潜在的HIV感染者,对疾病防控及临床干预具有重要意义。目前,实验室检测仍是HIV感染诊断的核心手段,其中免疫印记法虽为确诊“金标准”,但其操作繁琐,成本高昂,且耗时较长,难以满足高危人群的快速筛查需求^[3-4]。相比之下,胶体金法与酶联免疫吸附法(ELISA)凭借操作简便、成本可控等优势,成为HIV抗体筛查的常用手段,然而两者在检测效能上的差异仍需系统性验证。本研究通过对比ELISA与其他检测方法的诊断效能,旨在明确其在HIV抗体筛查中的应用价值,为优化检测策略提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究以包头市疾病预防控制中心于2019年1月至2022年12月期间收集的1085例HIV抗体筛查标本作为

研究对象。筛查对象中男性736例,女性349例;年龄22~83岁,平均年龄(39.41±1.47)岁。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:①HIV感染疑似者或高风险人群;②年龄 ≥ 18 岁(成年);③首次接受HIV抗体筛查;④有明确的对照组或金标准检测结果;⑤数据完整(含检测结果、样本类型及检测时间)。

排除标准:①既往接受过抗反转录病毒治疗(ART)或其他针对性干预措施;②HIV感染已明确诊断;③合并肝肾功能不全;④存在恶性肿瘤病史或活动性肿瘤;⑤合并自身免疫性疾病(如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎);⑥凝血功能异常($INR > 1.5$ 或血小板计数 $< 50 \times 10^9/L$);⑦样本量不足导致统计学效力较低($n < 30$)。

1.3 仪器与试剂

全自动酶免分析仪(爱康科技有限公司,型号URANUSAE95);全自动免疫印记仪(瑞士TECAN,型号PROFIBLOT48);离心机(EppendorfAG,型号5424R);冰箱(采用Haier品牌,型号DW86L578J);酶联免疫吸附测定法初筛试剂盒(北京金豪制药股份有限公司);复检试剂盒(北京万泰生物药业股份有限公司);胶体金法试剂(珠

第一作者:白灵,主管检验师,病媒科副科长,研究方向为艾滋病及病媒生物病原微生物检测。

*通信作者:张智竑,主管检验师、检验科副科长,研究方向为微生物及理化检验。E-mail: zhangzhihongbjtk@163.com

海丽珠试剂股份有限公司); 免疫印迹法试剂盒(选用新加坡 MP 生物医学亚太有限公司试剂)。所有试剂均已获得国家食品药品监督管理局的注册批准, 且在规定的有效期内规范使用^[3]。

1.4 方法

①酶联免疫吸附法: 采用固相微孔板技术, 实验流程包含关键步骤: 样本预处理后加入包被孔, 经辣根过氧化物酶标记, 进行孵育、洗板, 显色反应采用 TMB(3,3',5,5'-四甲基联苯胺)底物体系避光反应 15 min, 2 mol/L 硫酸终止后, 于 450 nm 波长读取吸光度。阳性阈值设定为 OD 值 ≥ 1.0 , 临界值以下判定阴性; ②胶体金法: 基于侧向层析原理, 定量移液器精准加样 50 μ L 至检测卡加样孔。胶体金标记的抗体复合物在层析过程中与样本 HIV 抗体发生特异性结合, 15~20 min 形成可视化结果: 双带(检测带+质控带)为阳性, 单一质控带为阴性, 质控带缺失则判定检测失效; ③依据中国疾病预防控制中心 2020 年 3 月发布的《全国艾滋病检测技术规范》^[5](2020 修订版), 采用免疫印迹法作为确诊方法。通过电泳分离 HIV 抗原组分, 转印至硝酸纤维素膜后与样本抗体反应, 出现 *env(gp41/gp120)*、*pol(p31/p51/p66)* 和 *gag(p17/p24/p55)* 特征性条带组合时判定为真阳性。以免疫印迹结果为参照标准, 系统评估两种初筛方法的诊断效能指标: 灵敏度(真阳性率)、特异度(真阴性率)、总符合率, 并计算阳性预测值(PPV)与阴性预测值(NPV)。实验全程执行标准化操作程序(SOP), 严格匹配试剂说明书反应条件与判读时限。

1.5 观察指标

以免疫印迹法的检测结果为金标准, 统计分析胶体金法与酶联免疫吸附法的 HIV 抗体检测结果, 并对两者诊断效能, 包括灵敏度、特异性、准确率。

1.6 统计学处理

数据采用 SPSS 19.0 软件处理, 计数资料以个数或百

分比表示, 组间比较通过 χ^2 检验分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 ELISA 与胶体金法在 HIV 抗体筛查中的结果对比

2019 年 1 月至 2021 年 12 月, 包头市艾滋病确证实验室共收集 1085 份样本(含辖区内各筛查实验室送检的阳性样本及本实验室接收的自愿咨询), 以免疫印迹法为金标准, 确证阳性 602 例(55.48%)、阴性 483 例(44.52%)。ELISA 检测结果显示, HIV 抗体阳性 652 例(60.09%), 阴性 433 例(39.9%)。胶体金法检出阳性 636 例(58.61%), 阴性 449 例(41.38%)。在本次研究中, 酶联免疫吸附测定法(ELISA)的阳性率为 60.09%(652/1085), 相较于胶体金法的阳性率 58.6%(636/1085), ELISA 检测出更多的阳性样本, 显示出更高的阳性率。见表 1。

表 1 基于免疫印迹法的 ELISA 与胶体金法在 HIV 抗体筛查中的结果对比(单位: 例)

方法	免疫印迹法		合计
	阳性	阴性	
胶体金法	阳性	550	636
	阴性	52	449
	合计	602	1085
酶联免疫吸附反应	阳性	580	652
	阴性	22	433
	合计	602	1085

2.2 HIV 抗体筛查中 ELISA 与胶体金法的诊断效能比较

以免疫印迹法结果为金标准, 酶联免疫吸附法在 HIV 抗体筛查中表现出更高的诊断效能, 灵敏度为 96.34%, 准确率为 91.34%, 阴性预测值为 94.92%, 均显著优于胶体金法的灵敏度 91.36%, 准确率 87.28%, 阴性预测值 88.48%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 HIV 抗体筛查中 ELISA 与胶体金法的诊断效能比较

方法	胶体金法比例(n)	酶联免疫吸附反应比例(n)	χ^2	P
灵敏度	91.36%(550/602)	96.34%(580/602)	12.96	0.0005
特异性	82.19%(397/483)	85.1%(411/483)	1.48	0.223
准确率	87.28%(947/1085)	91.34%(991/1085)	9.34	0.002
阳性预测值	86.48%(550/636)	88.96%(580/652)	1.84	0.175
阴性预测值	88.48%(397/449)	94.92%(411/433)	12.1	0.0005

3 讨论与结论

酶联免疫吸附测定法在 HIV 抗体检测中的应用价值一直是学术界关注的焦点。本研究对比了酶联免疫吸附法与胶体金法在 HIV 抗体筛查中的诊断效能, 发现 ELISA 在

灵敏度、特异性及准确率等在核心指标上均显著优于胶体金法, 进一步验证了其在 HIV 初筛中的重要应用价值。

在本研究中, ELISA 的灵敏度为 96.34%, 高于胶体金法的 91.36%, 差异有统计学意义($\chi^2=12.96$, $P=$

0.0005)。两者差异可能源于技术原理的本质区别。ELISA 基于固相酶标记技术, 通过抗原-抗体结合后的酶催化显色反应实现定量检测, 其信号放大系统可识别更低浓度的抗体, 尤其适用于感染早期或抗体滴度较低的样本。而胶体金法依赖免疫层析技术, 通过肉眼判读胶体金颗粒聚集形成的条带, 其灵敏度受限于标志物的显色强度及操作者的主观判断, 可能导致弱阳性样本的漏检。此外, ELISA 的自动化程度较高(如使用全自动酶免分析仪), 可减少人为误差, 且反应时间相对较长, 通常需要数小时, 这样可以提高检测的灵敏度, 而胶体金法多为手工操作, 易受温湿度、加样量等因素干扰, 且反应时间较短, 只需几十分钟, 可能会导致低浓度的抗体无法被充分检测到。这一技术差异解释了在本研究中 ELISA 假阴性率(22 例)显著低于胶体金法(52 例)的现象。这一现象在高危人群筛查中尤为关键。例如, 男性同性性行为者或静脉吸毒人群的 HIV 感染风险较高, 且可能存在多次暴露但抗体未达检测阈值的情况。漏检可能导致感染者未能及时接受抗病毒治疗(antiretroviral therapy, ART), 加剧病毒传播风险。而 ELISA 的特异性 85.1% 虽略低于免疫印迹法(金标准), 但高于胶体金法 82.19%, 这表明其能较好地地区分非感染者, 能更有效地降低假阳性率。因此, 在高流行区域或重点人群中, ELISA 应作为首选初筛方法。

尽管 ELISA 优势显著, 但研究中仍存在 22 例假阴性和 72 例假阳性结果。假阴性可能与感染窗口期抗体未完全形成或病毒抗原变异有关^[6-7], 而导致 HIV 抗体筛查试验 ELISA 法出现假阳性反应结果的原因可能包括: ①某些传染病病原体与 HIV 某些抗原决定簇存在交叉反应, 从而干扰了实验的准确性; ②血液病、肿瘤、老年心脑血管疾病可能对 HIV 抗体产生影响^[8]; ③妊娠是 HIV 筛查假阳性的危险因素, 可能是由于妊娠期纤维蛋白浓度升高^[9], 纤维蛋白原的聚集可非特异性地结合试剂中的 HIV 抗体, 干扰 HIV 抗体筛查检测结果^[10]。针对这些问题, 建议采用第四代 ELISA 试剂, 联合检测 HIV 抗体和 p24 抗原, 缩短 HIV 感染的检测窗口期; 建立“ELISA 初筛+化学发光免疫分析法复检”的双重检测体系, 配合核酸检测技术, 构建多维度检测网络, 有效提升 HIV 抗体检测的准确性和灵敏度。同时, 强化检测人员标准化培训, 建立动态考核机制, 完善实验室质量控制体系, 通过定期室内质评、内部质量审核等方式, 持续提升检测结果的可靠性和一致性。

本研究共检测 1085 例样本, ELISA 的阳性率(60.09%)

显著高于胶体金法(58.6%), 且操作流程标准化, 适合批量检测。相较于免疫印迹法的高成本与复杂性, ELISA 更具成本效益, 尤其适用于资源有限的地区。这一特点与全球公共卫生领域对扩大 HIV 筛查覆盖面的需求高度契合。

ELISA 的高诊断效能使其成为 HIV 初筛的首选方法。在临床和公共卫生场景中, 可将其与胶体金法结合使用: ELISA 用于大规模初筛, 胶体金法则适用于快速现场检测(如偏远地区或紧急情况)。同时, 需建立多步骤验证流程, 通过免疫印迹法或核酸检测对初筛阳性样本进行确证, 以平衡筛查效率与准确性。

本研究证实, ELISA 在 HIV 抗体筛查中具有高灵敏度、特异性、可操作性及成本效益优势, 是初筛阶段的理想选择。未来可通过技术迭代(如第四代试剂)与多方法联用进一步提升其应用价值, 为全球艾滋病防控提供更高效的工具。

参考文献

- [1] 钟瑞, 赵蓉, 焦亚东, 等. 2015—2020年榆林市HIV确证实验结果分析[J]. 医学动物防制, 2022, 38(6): 587-590.
- [2] 高晔. 胶体金法与酶联免疫吸附法在AIDS高危人群HIV抗体筛查中的应用价值比较[J]. 河南医学研究, 2021, 30(16): 3038-3040.
- [3] 金晓媚, 杨晓娟, 陈会超, 等. HIV抗体快速诊断试剂评估[J]. 皮肤病与性病, 2019, 41(4): 481-483.
- [4] 顾玉枝, 王莎, 贺淑丹. 特异性皮炎患儿482例血清过敏原检测结果分析[J]. 现代医药卫生, 2023, 39(19): 3293-3296.
- [5] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范: GB/T 35583—2020[S]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2020.
- [6] 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.
- [7] 杨惠民, 韦正亚, 孙琳, 等. 50岁及以上男性HIV感染者HIV抗体首阳检测原因的多重对应分析[J]. 医学动物防制, 2025, 41(4): 365-369.
- [8] 吴志奇, 黄慧青, 陈丹, 等. 第三代HIVELISA诊断试剂初筛试验假阳性原因分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(19): 2937-2939.
- [9] 刘健玲. 纤维蛋白原、D-二聚体及血脂联合检测对孕妇血液高凝状态的价值研究[J]. 中国妇幼卫生杂志, 2014, 5(1): 64-67.
- [10] 王新卫, 秦黄旋, 邱小萍. 孕妇人类免疫缺陷病毒初筛阳性8例分析[J]. 实用临床医学, 2018, 19(6): 48-50.