

酶联免疫吸附法检测 HIV 抗体的常见影响因素及改进措施分析

罗丽^{1*}, 刘朝云²

(1. 惠水县疾病预防控制中心, 黔南 550600; 2. 惠水县中医医院, 黔南 550600)

摘要: 人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV) 具有高度传染性, 在全球的流行形势比较严峻, 给成千上万的家庭带来了持续痛苦, 成为全球范围内严重的公共卫生问题。酶联免疫吸附法 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 是检测 HIV 抗体的一种常用方法, 具有灵敏度高、特异性强、经济实惠、操作简便、自动化程度高、适合大规模样品检测等优点。然而, 在实际应用中, ELISA 检测 HIV 抗体会受到多种因素的影响, 导致检测结果的不确定性。本文旨在分析影响 ELISA 检测 HIV 抗体的常见因素, 并提出相应的改进措施, 以提高检测的准确性和可靠性。

关键词: 人类免疫缺陷病毒; 艾滋病; 抗体; 酶联免疫吸附法; 影响因素; 质量控制

0 引言

人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV), 亦称艾滋病病毒, 它主要通过性传播、血液接触及母婴垂直传播这三种方式在人类社会中广泛传播^[1]。自 1981 年人类首次发现 HIV 以来, HIV 的感染跨越了 200 多个国家和地区, 成为全球范围内严重的公共卫生问题^[2-3]。根据世界卫生组织 (WHO) 的统计, 截至 2022 年, 全球 HIV 的感染者约 3900 万例^[4]。近年来, 全球对 HIV 的防治工作取得了显著成效, 但 HIV 的流行形势依然严峻。酶联免疫吸附法 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 是广泛应用于临床实验室的一种免疫学检测技术, 在 HIV 抗体检测中扮演着不可或缺的角色, 具有高灵敏度、高特异性的特点^[5]。同时, 具有经济实惠, 操作简便, 自动化程度高, 适合大规模样品检测的优点。然而, 在实际操作中, 由于受到各种潜在因素的干扰, 导致 HIV 抗体检测结果具有不确定性。本文将围绕“人、机、料、法、环”这五个重要环节探讨可能影响 HIV 抗体检验结果准确性的各种因素, 并提出相应的改进措施, 以提高检测结果的准确性和可靠性。

1 影响 HIV 抗体检验结果准确性的主要因素

1.1 人员因素

实验室检验操作人员的专业素质和责任心对于保证 HIV 抗体检测结果的准确性起着至关重要的作用^[6]。熟练的操作人员

能够准确、快速地进行检测, 有效降低误差的发生。相反, 缺乏经验和专业培训的实验室检验人员可能在操作过程中出现偶然误差, 从而影响检测结果的准确性。因此, 在 HIV 抗体检测的每一步骤中, 都必须严格遵循操作规程, 确保每一项操作的精确无误。任何操作上的疏忽, 如标本加样量不准确、孵育器温度控制不当、酶标板洗涤次数不足、显色剂漏加及缺乏意识造成标本样品之间的相互污染等都可能导致检测误差, 影响结果的准确性。例如: 酶标板洗涤是 ELISA 实验中的重要环节, 如手工洗涤不彻底时会导致假阳性结果出现, 而过度洗涤则可能导致假阴性结果。

1.2 仪器设备

随着自动化技术的飞速发展, 自动化检验设备在临床实验室中的应用得到了极大的推动和发展。自动化检验设备能够高效地处理大批量标本样品, 不仅极大地提高了实验室的工作效率, 还减少了人为操作可能引起的误差和交叉污染等风险, 为 HIV 抗体的检测工作带来了显著的改进和提升^[7-8]。因此, HIV 抗体检测结果的准确性和可靠性在很大程度上要取决于实验室使用仪器设备的质量和性能。在采用 ELISA 法检测 HIV 抗体的工作中, 实验室使用的仪器设备主要包括移液器、酶标仪、洗板机和孵育器等。实验室应当选择具有高准确性、重复性、稳定性和灵敏度的设备, 并正确使用以减少实验误差。例如, 移液器的使用要尽可能选择所需加液量接近最大量程; 酶标仪要提前开机预热以保证光源稳定; 洗板机在使用前需检查加液

* 通信作者: 罗丽, 主管技师, 研究方向为实验室诊断及研究。E-mail: 3998560472@qq.com

孔是否通畅, 以保证加液量准确。

1.3 样品的采集及处理

血液标本的采集与处理对 HIV 抗体检测结果具有显著影响。因此, 在采集标本的过程中, 必须严格遵循无菌操作规程, 确保样本处理过程的质量。采集后的标本应置于适宜的温度和湿度条件下进行运输和储存。通常情况下, HIV 抗体检测的标本应在 2~8℃ 的条件下保存, 并尽快进行检测, 以避免因长时间保存或运输条件不当而导致的样本质量下降, 进而影响检测结果的准确性。如果在血液未充分凝固的情况下分离血清, 可能会导致血清中残留纤维蛋白原, 形成纤维蛋白块, 这些物质容易沉淀或附着在聚乙烯孔内, 不易清洗, 可能造成假阳性结果。

1.4 试剂及耗材的选择

检验试剂及耗材的选择是进行 HIV 抗体检测的基础, 也是检验过程中的关键物质, 其质量的优劣直接关系到检测结果的准确性和可靠性^[9]。在 ELISA 实验过程中, 酶标记抗体和底物酶的纯度、活性, 抗原或抗体的纯度和浓度, 以及稀释缓冲液的组成和 pH 值等直接关系到 HIV 抗体检测结果的准确性。因此, 选择经过严格质量控制、高灵敏度和特异性的检测试剂, 是提高 HIV 抗体检测结果准确性的关键。优质的检验试剂和消耗材料具备高敏感性和高特异性, 能够精确地识别标本中的 HIV 抗体物质, 并且能够有效排除类风湿因子、补体等物质的干扰, 从而保障检测结果的准确性。此外, 高质量的试剂具有较好的重复性和一致性, 能够在不同批次和不同实验条件下得到一致的检测结果。如果使用的检验试剂和耗材质量不佳, 在储存或使用过程中发生了质量变化, 导致假阳性或假阴性, 就会影响临床诊断和治疗的准确性。

1.5 环境和设施

在 ELISA 检测过程中, 环境因素和设施条件对 HIV 抗体检测结果的影响不容小觑。ELISA 实验检测过程对温度和湿度有特定的要求。确保实验室环境和设施正常是确保检验结果准确性的基石, 也是确保检测结果准确性的关键基础^[10-11]。首先, 酶催化底物反应时需要在 37℃ 恒温条件下进行孵育, 若温湿度波动较大, 可能会导致酶活性发生变化, 从而影响抗原抗体反应和酶促反应的速度以及效率, 进而影响检验结果的准确性。其次, 光照对 ELISA 检测也有一定的影响, 强光或紫外光可能会破坏试剂的活性或改变其性质, 也会对 HIV 抗体检测结果造成影响。此外, 实验室内的灰尘、细菌和其他污染物质可能会污染试剂或样本, 影响检测结果。

2 提高准确性的改进措施

2.1 强化培训, 提高实验室工作人员的业务水平

实验室工作人员的能力直接关系到 HIV 抗体检测结果的准确性, 加强人员培训是实现这一目标的关键环节^[12]。在临床实

践中, 持续的专业培训和监督对于提高实验室工作人员的专业素养极其重要。业务培训内容应包括 ELISA 检测的基本原理、具体操作流程、实验的重要性、潜在的影响因素及质量控制的认识, 以确保工作人员熟练掌握实验技巧, 并提升操作技能和经验。通过深入的培训, 工作人员能够及时更新知识, 并通过实际操作不断积累经验, 提高操作的准确性和稳定性。其次, 还应注重培养工作人员的批判性思维和问题解决能力, 使他们能够独立分析和解决检验过程中遇到的问题。此外, 团队协作技能的培养同样重要, 临床检验工作通常需要多人的协同努力, 有效的团队合作能够提升工作效率, 最大限度地减少错误发生, 从而为临床诊断和治疗提供有力支持。

2.2 强化实验室仪器设备的管理

随着自动化技术的进步, 自动化检验设备在检验领域的应用得到了极大的推动和发展。这些先进的自动化检验设备能够高效地处理大批量样本, 不仅极大地提高了检验科的工作效率, 还减少了人为操作可能引起的误差和交叉污染风险, 为 HIV 抗体检测工作带来了显著的改进和提升。因此, HIV 抗体检测结果的准确性和可靠性很大程度上依赖于使用仪器设备的质量和性能。做好仪器设备的保养和维护是确保实验室设备正常运行、延长使用寿命、保障检测结果准确性及提高工作效率的关键措施。首先, 工作人员必须深入了解仪器设备的基本原理、技术参数、操作程序、维护保养、常见故障原因及应急处理措施, 并严格遵守仪器设备的使用操作规范, 以确保不同人员在执行相同任务时能够保持统一的操作步骤, 防止由于操作失误导致的设备损害。其次, 应根据仪器设备的实际运行状况及使用频率, 制订周密的定期检查与保养计划, 对于易损部件(如泵、阀门、密封圈等), 应保持密切监控, 一旦发现损坏要及时更换。此外, 制订合理的校准和性能验证计划是必不可少的, 在每次校准和性能验证过程中, 应详细记录下操作时间、方法、使用的标准物质、校准和性能验证结果及出现的异常情况, 这有助于追踪设备性能的变化。

2.3 强化样本的规范化采集及处理

标本的规范化采集及处理是 HIV 抗体检测流程中的首要环节, 它不仅是整个检验过程质量控制的开端, 而且在质量管理体系中占据核心地位, 还是质量控制过程中的难点问题。样本质量可能受到多种因素的影响, 包括患者的生理状态、采集过程及储存条件等, 这些因素都可能导致样本质量不合格, 从而给患者的诊断和治疗带来不必要的困扰^[13-14]。在日常工作中, 以样本溶血现象最为常见。标本一旦发生溶血, 可能会对 ELISA 检测产生干扰, 因为溶血样本中的血红蛋白表现出类似过氧化物酶的活性, 这可能催化底物变色, 导致假阳性结果。鉴于此, 应严格避免溶血样本进行检测。首先, 样本采集时止血带压迫时间不能过长, 避免过度挤压静脉; 其次, 样本采集

后要在规定时间内送达实验室, 避免长时间放置; 最后, 实验室收到样本后需及时分离血清, 同时处理样本时要避免剧烈摇晃导致血细胞破裂, 以减少溶血情况的发生。

2.4 强化试剂耗材的使用及管理

加强检验试剂和耗材的管理对于确保 HIV 抗体检测工作的顺利进行及提高检验结果的准确性具有重要意义^[15]。首先, 实验室应制订 HIV 抗体检测试剂和耗材的采购、质检、存储、使用、废弃等环节的管理规范, 并确保所有工作人员严格遵守。同时, 根据试剂和耗材的性质, 将其分为不同的类别并分别储存。例如, 将有机试剂和无机试剂分开存放, 易燃、易爆、腐蚀性试剂应单独存放, 并采取相应的安全措施。其次, 建立 HIV 抗体试剂和耗材的库存清单, 详细记录试剂耗材的使用情况, 并根据实验室需求合理采购检测试剂和耗材, 避免过量采购导致试剂过期浪费。最后, 对实验室检测试剂和耗材定期进行质量检测, 对于一些易变质、易挥发、易损耗的试剂, 应更加注意检查和维护, 确保其满足实验室需求。

2.5 强化实验室布局及配套设施

ELISA 实验分析过程对实验室环境条件及设施的要求严苛。因此, 实施严格的环境控制是确保 HIV 抗体检验结果准确性的关键, 这需要实验室从温度、湿度、空气质量、光照、噪音等多个方面进行严格的管理和监控, 确保实验条件的稳定性。首先, 实验室应采取屏蔽措施, 以减少电磁干扰对实验室内部仪器设备的影响, 并配备高精度的温、湿度控制系统, 确保实验室内的温度和湿度始终维持在适宜范围。其次, 实验室需采取避免外部污染物进入的预防措施, 如安装独立的通风系统, 并限制外来人员的频繁进入。同时, 实验室应配备高效空气过滤系统, 并定期对实验室进行彻底的清洁和消毒。此外, 实验室应考虑光线的稳定性, 频繁的光线变化可能会对 HIV 抗体检验结果产生不利影响。

ELISA 法检测 HIV 抗体的准确性受到众多因素的共同影响, 全面实施检验全过程的质量控制是提高 HIV 抗体结果准确性的关键途径。为了确保 HIV 抗体结果的准确性和可靠性, 实验室必须针对标本采集处理、检测试剂的选择、操作人员专业技能、仪器设备使用及实验室环境设施等多个核心环节, 构建一套完善的质量控制体系文件, 并确保这些文件的严格执行, 通过这种全方位的质量控制管理, 可以为临床诊断和治疗提供准确、可靠的数据支持。

3 结束语

本文对 ELISA 法检测 HIV 抗体流程中的五大关键要素——

“人、机、料、法、环”进行了深入分析, 提高了实验室识别干扰检验结果准确性的潜在因素, 为 HIV 抗体检测工作的规范化提供切实了实用指导建议。随着检测技术的不断进步, HIV 抗体检测技术会朝着更加精准、快速、便捷和智能化的方向发展, 将显著提高实验室在 HIV 感染的早期发现和精准诊断能力。

参考文献

- [1] 刘欢, 金怡晨, 汤后林. HIV 感染者的高危行为接触者追踪研究进展 [J]. 中华流行病学杂志, 2024, 45(05): 755-760.
- [2] 甄心, 周奇文, 杨颖, 等. HIV 感染者生命质量影响因素研究进展 [J]. 传染病信息, 2024, 37(02): 167-171.
- [3] ZHANG D, ZHENG CL, LI HP, *et al.* Molecular surveillance of HIV-1 newly diagnosed infections in Shen-zhen, China from 2011 to 2018 [J]. J Infect, 2021, 83(01): 76-83.
- [4] JESUDASON T. Global progress reported for AIDS [J]. Lancet Infect Dis, 2023, 23(09): e342.
- [5] 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.
- [6] 陈会超, 董莉娟, 陈敏. 从质量控制角度分析 HIV 抗体不确定结果的产生和处理 [J]. 中国艾滋病性病, 2022, 28(09): 1097-1101.
- [7] 罗纯生, 刘静. 三种不同免疫检验方式在 HIV 检测中的可靠性观察 [J]. 医学信息, 2022, 35(10): 174-176.
- [8] 赵晓辉. 抗 HIV 检测中进行不同免疫检验方法的结果与准确性分析 [J]. 黑龙江中医药, 2021, 50(03): 98-99.
- [9] 阳冬冬, 穆银玉, 张日伊, 等. PEG 降低 HIV 第四代试剂检测假阳性干扰的研究 [J]. 中国现代医生, 2024, 62(13): 40-42, 59.
- [10] 吴丽娟, 徐燕. 电化学发光法和 ELISA 检测抗 HIV 的准确性研究 [J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2023, 39(11): 20-22.
- [11] 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(06): 128-130.
- [12] 陈丽杰. 全面质量控制疾控中心理化实验室中的应用效果 [J]. 中国卫生标准管理, 2022, 13(14): 24-28.
- [13] 王东, 李娟, 王艳. 临床血液生化检验标本分析过程中影响检验结果准确性的因素研究 [J]. 临床研究, 2024, 32(04): 5-8.
- [14] 栾尚顺. 血液标本采集时间、部位、溶血、送检时间对检验结果的影响 [J]. 饮食保健, 2023, 10(16): 61-64.
- [15] 崔满意. 临床免疫检验质量控制措施 [J]. 中国城乡企业卫生, 2023, 38(02): 226-228.