

不同免疫检验方法在抗人类免疫缺陷病毒检测中的应用

卢永亮 陈冬莲 王满娣

作者单位: 511500 广东清远, 清远市中医院检验科

通信作者: 卢永亮, Email: 2114965802@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.01.016

【摘要】 目的 探讨不同免疫检验方法在抗人类免疫缺陷病毒(HIV)检测中的应用。**方法** 选择2016年1月—2021年12月在清远市中医院初筛 HIV 阳性的72例获得性免疫缺陷综合征(AIDS)患者作为研究对象,收集所有患者的临床资料并进行回顾和分析。所有患者均进行抗 HIV 检测,依次采用电化学发光法和酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,对两种检测结果不一致的标本采用免疫印迹法(WB)进行确证试验,比较电化学发光法和 ELISA 检测结果的准确性。**结果** ① 初筛结果:72例受检者经 ELISA 检测显示阳性57例(阳性率为79.17%),经电化学发光法检测显示阳性69例(阳性率为95.83%),二者比较差异无统计学意义($P>0.05$);有15例患者采用两种检测方法所得结果不一致,初筛结果的符合率为79.17%。② WB 验证:15例患者经 WB 检测确证显示,其中3例结果为阴性,12例结果为阳性。③ 诊断价值:ELISA 检测的特异度为100%(12/12),敏感度为95%(57/60),阳性预测值为100%(57/57),阴性预测值为80%(12/15)。电化学发光法检测的特异度为100%(2/2),敏感度为95%(57/60),阳性预测值为95%(57/60),阴性预测值为0%(0/3)。两种方法的特异度和敏感度比较差异均无统计学意义($\chi^2=0.152, 0.364, P=0.452, 0.298$),但阴性预测值和阳性预测值比较差异均有统计学意义($\chi^2=5.334, 5.245, P=0.036, 0.028$)。ELISA 与 WB 确证后结果比较, κ 值为0.815,一致性良好;电化学发光法检测结果与 WB 确证后结果比较, κ 值为0.706,一致性一般。**结论** ELISA 和电化学发光法检测抗 HIV 的敏感度和特异度比较差异均无统计学意义,但 ELISA 筛查的准确度更高,特异性较好,可作为抗 HIV 初筛的首选方法,针对异常结果再结合其他检验方法进行诊断,以提高诊断准确率。

【关键词】 电化学发光法; 酶联免疫吸附试验; 获得性免疫缺陷综合征; 抗体; 免疫

Application of different immunity assays in detection of human immunodeficiency virus antibody

Lu Yongliang, Chen Donglian, Wang Mandi. Department of Clinical Laboratory, Qingyuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qingyuan 511500, Guangdong, China

Corresponding author: Lu Yongliang, Email: 2114965802@qq.com

【Abstract】 Objective To discuss the application of different immunity assays on the detection of human immunodeficiency virus (HIV) antibody. **Methods** The 72 patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) who were screened positive with HIV from January 2016 to December 2021 in Qingyuan Hospital of Traditional Chinese Medicine were selected as research subjects. The clinical data of all patients were retrospectively analyzed. The electrochemiluminescence method and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect the HIV antibody; Western blotting (WB) was used to confirm the samples with inconsistent test results, and the accuracy of electrochemiluminescence and ELISA was compared. **Results** ① Preliminary screening: ELISA indicated 57 positive cases (with the positive rate of 79.17%) and electrochemiluminescence indicated 69 positive cases (with the positive rate of 95.83%); no significant differences were observed between two methods ($P > 0.05$); the results of the two methods were inconsistent in 15 cases, and the coincidence rate of the preliminary screening results was 79.17%. ② WB verification: 3 negative cases and 12 positive cases were discovered. ③ The diagnosis specificity, sensitivity, positive predictive value and negative predictive value based on ELISA were 100% (12/12), 95% (57/60), 100% (57/57) and 80% (12/15). The diagnosis specificity, sensitivity, positive predictive value and negative predictive value based on electrochemiluminescence were 100% (2/2), 95% (57/60), 95% (57/60) and 0% (0/3). The diagnosis specificity and sensitivity based on ELISA and electrochemiluminescence were not significantly different ($\chi^2=0.152, 0.364, P=0.452, 0.298$); the negative predictive value and positive predictive value based on ELISA and electrochemiluminescence were significantly different ($\chi^2=5.334, 5.245, P=0.036, 0.028$). ELISA and

WB results were quite consistent ($\kappa = 0.815$); electrochemiluminescence and WB results were finely consistent ($\kappa = 0.706$). **Conclusions** There are no significant differences among the diagnosis sensitivity and specificity based on ELISA and electrochemiluminescence. However, ELISA can be primarily recommended owing to its high diagnostic accuracy and specificity. Meanwhile, the other examination methods can be applied for the abnormal samples.

【Key words】 Electrochemiluminescence; Enzyme linked immunosorbent assay; Acquired immunodeficiency syndrome; Antibody; Immunity

获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)是一种由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency disease, HIV)引起的传染病,具有病程较长、危害较大、病死率较高的特点。HIV 主要对人体的免疫系统发起攻击,一旦被感染,不仅会影响患者的免疫系统,更会侵犯其他组织,造成器官功能丧失,从而降低患者的生活质量,甚至危及生命安全^[1]。有研究表明, HIV 的传播途径主要包括母婴传播、性传播和血液传播 3 种途径,同时 AIDS 的流行也成为严重影响人类健康和全球社会经济发展的公共卫生问题,因此早筛查、早诊断、早干预、早治疗刻不容缓^[2]。目前,临床适用于抗 HIV 筛查的工具较多,其中血清学检测方法的应用范围最广,且特异度最高,常见方法有酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、电化学发光法和免疫印迹法(Western blotting, WB)等^[3]。其中 WB 是临床公认的抗 HIV 血清确证试验方法,但因其成本较高、操作繁琐,故不适用于临床大批量筛查,相比之下电化学发光法和 ELISA 更适合用于大批量的标本筛查,且具有操作简单、成本较低、敏感度和特异度均较高的优势^[4-5]。本研究为验证两种检验方法初筛结果的准确性,收集 2016 年 1 月—2021 年 12 月在本院初筛 HIV 阳性的 72 例 AIDS 患者的临床资料,并进行分析,依次采用电化学发光法和 ELISA 检测,对初筛阳性的患者再次进行 WB 确证试验,比较两种检测方法所得结果的差异,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象与一般资料 选择 2016 年 1 月—2021 年 12 月在本院就诊的 72 例 AIDS 患者作为研究对象,收集临床资料进行回顾分析。其中男性 53 例,女性 19 例;年龄 22~66 岁,平均(44.69 ± 3.74)岁。

1.1.1 纳入标准 ① 确诊为 AIDS;② 仅对患者的检验数据进行回顾分析,经过患者或家属签署送检同意书及告知相关流程,对患者的身份信息严格保密,不纳入本研究信息范围;③ 既往无梅毒、乙型肝炎或丙型肝炎病毒感染史;④ 病情稳定、意识状

态正常。

1.1.2 排除标准 ① 合并其他病原菌感染;② 近期使用过免疫球蛋白等药物;③ 合并高血压、高脂血症等慢性病;④ 患有其他传染性疾病;⑤ 中途退出本研究。

1.2 仪器与试剂 HIV 抗体第三代 ELISA 试剂盒(批号:201801091)购自北京万泰生物药业股份有限公司, PHOMO 酶标仪和 IWO-960 洗版机购自郑州安图生物工程股份有限公司,罗氏 cobas 6000 电化学发光仪(批号:20180103)及配套试剂购自罗氏集团(中国)有限公司。移液器(批号:71469K100)购自赛默飞世尔科技公司,加温设备(批号:2069831)购自北京长源医用设备公司,离心机(批号:20163854)由湖南湘智设备公司提供。所有试剂均为合格产品,且在有效期内;检测设备均已通过校准,且在正常状态下使用。

1.3 研究方法

1.3.1 样本采集 采集受检者空腹肘静脉血 5 mL,静置血液待凝固后,以 3 000 r/min 离心 8 min,分离血清后进行检测,样本放置于 -20 ℃ 环境中保存。

1.3.2 ELISA 检测 标本采集后,严格按照 ELISA 试剂盒说明书要求进行检测操作,采用酶标仪(双波长 450/620 nm)读取各孔吸光度值,并计算各样品吸光度值与 cut-off 值之比(S/CO)。ELISA 初筛结果表明, S/CO 值 >1 或 S/CO 值为 0.5~1.0 的血液标本需进行原管双孔复检^[5],若复检结果仍与上述结果一致,则视为可疑标本,送至疾病预防控制中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)进行 WB 确证试验,最终以确证结果为准。保留所有数据的原始资料。

1.3.3 电化学发光法试验 使用罗氏 cobas 6000 电化学发光仪,试剂为原厂配套的 HIV 抗原/抗体试剂盒,室内质控品使用伯乐质控定值血清。初筛结果显示,罗氏试剂 COI 值 <0.9 为阴性, COI 值为 0.9~1.0(灰区)或 COI 值 ≥ 1.0 的血液标本判定为阳性,需进行原管复查或采用 ELISA 复检。若复检结果与上述结果一致,则视为可疑标本,送 CDC 进

行 WB 验证。所有操作均严格按照相关规定流程进行。保留所有数据的原始资料。

1.4 观察指标及评价工具 记录 ELISA 和电化学发光法检测的初筛结果,对两种方法结果不一致的标本采用 WB 检测进行确证试验,比较 ELISA 和电化学发光法对检测筛查抗 HIV 感染的准确度、特异度和敏感度;以 WB 确证试验结果为确诊标准,比较两种检测方式的一致性。

1.5 统计学处理 使用 SPSS 22.0 软件处理数据。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 t 检验;计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用一致性检验验证患者检测结果,当 $\kappa > 0.74$ 时,表示阳性和阴性检测结果的一致性良好;当 κ 值为 $0.40 \sim 0.74$,表示检测结果的一致性一般;当 $\kappa < 0.40$ 时,则表示检测结果的一致性较差。

2 结果

2.1 ELISA 检测和电化学发光检测结果比较 72 例 AIDS 患者血清样本经 ELISA 检测显示阳性者 57 例(阳性率为 79.17%),阴性者 15 例(阴性率为 20.83%);电化学发光试验显示阳性者 69 例(阳性率为 95.83%),阴性者 3 例(阴性率为 4.17%),两种方法的阳性率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.428$, $P = 0.369$)。有 15 例患者两种方法的检验结果不一致,符合率为 79.17% (58/72)。见表 1。

表 1 ELISA 检测和电化学发光试验结果比较

ELISA 检测结果	例数 (例)	电化学发光试验 (例)	
		阳性	阴性
阳性	57	57	0
阴性	15	12	3
合计	72	69	3

注: ELISA 为酶联免疫吸附试验

2.2 ELISA 和电化学发光试验与 WB 确证试验结果比较 经 ELISA 检测和电化学发光试验结果不一致的患者经 WB 确证后,结果显示 15 例患者中有 3 例为阴性,12 例为阳性。两种检验方式的特异度和敏感度比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),但阴性预测值和阳性预测值比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2~3。

2.3 ELISA 和电化学发光试验与 WB 确证试验的一致性比较 ELISA 检测与 WB 确证结果比较 κ 值为 0.815,表明一致性良好;电化学发光法检测与 WB 确证结果比较 κ 值为 0.706,表明一致性一般。

表 2 ELISA 检测和电化学发光试验与 WB 确证结果比较

检测方法	检测结果	例数 (例)	WB 确证结果 (例)	
			阳性	阴性
电化学发光试验	阳性	69	57	12
	阴性	3	3	0
	合计	72	60	12
ELISA	阳性	57	57	0
	阴性	15	3	12
	合计	72	60	12

注: ELISA 为酶联免疫吸附试验, WB 为免疫印迹法

表 3 ELISA 检测和电化学发光试验的诊断效能比较

检测方法	敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
ELISA	95.0	100.0	100.0	80.0
电化学发光试验	95.0	100.0	95.0	0.0
χ^2 值	0.152	0.364	5.245	5.334
P 值	0.452	0.298	0.001	0.005

注: ELISA 为酶联免疫吸附试验

3 讨论

自 1985 年我国首次正式报道 AIDS 以来,该疾病在国内的发病率呈快速上升趋势,一项数据研究显示, AIDS 病例正以每年 30%~40% 的速度快速增长,已成为一个十分严峻的公共卫生问题^[6]。由于 AIDS 是由于 HIV 感染引起的机体免疫功能缺陷,具有较高的传染性,且传播途径较广,其中 90% 以上的患者为通过性传播途径,其余可通过母婴和血液等途径传播^[7-8]。因此, HIV 抗体筛查成为遏制 AIDS 的关键环节。徐璐等^[9]采用胶体硒法进行 HIV 抗体筛查,结果显示阳性率高于 WB 法确证试验,因此可作为一种可行的检测手段。

目前,在对 AIDS 患者抗 HIV 的临床筛查中多以血清学检测方式为主,其中 WB 检测方法一直被作为抗 HIV 检测的“金标准”,可以借助明胶颗粒包裹特异性的 HIV 抗原进行检测,一方面无需采用吸收剂,可有效避免生物因素对检测结果产生影响^[10];另一方面可以与抗 HIV 特异性抗体结合,发生明显的凝聚反应,从而具备较高的敏感度和特异度,但因该检测方法的试剂盒造价昂贵,且检测步骤操作繁琐,因此并不适用于临床大规模筛查^[11-12]。

本研究采用 ELISA 和电化学发光试验分别对 AIDS 患者进行 HIV 检测,结果表明,72 例受检者经 ELISA 检测显示,阳性率为 79.17%,电化学发光试验显示阳性率为 95.83%,二者比较差异无统计学意义; HIV 抗体检测主要应用双抗原夹心 ELISA 定性检测受检者血清,也是一种针对 HIV 常用的检测手

段,用于 HIV 感染的辅助诊断以及抗 HIV 药物治疗的效果监测。并且该方法具有较高的敏感度和特异度,加之操作简便,成本较低,适合临床应用,检测结果可以长期保留,故而更适用于大范围筛查^[13-14]。

电化学发光法是通过电化学方法来产生一些特殊的物质,这些电生物物质之间或电生物物质与其他物质之间进一步反应而发生的一种发光现象。电化学发光是化学发光方法与电化学方法结合的产物,保留了化学发光方法所具有的敏感度高、线性范围宽、观察方便和仪器操作简单等优点^[15-16]。但检测结果显示,两种检测方法有 15 例患者的检测结果不一致,初筛结果的符合率为 79.17%,表明两种检测方法均存在一定的假阳性和假阴性结果。本研究对采用 ELISA 与电化学发光试验所得结果不同的 15 例患者经 WB 检测确证,结果显示,有 3 例结果为阴性,12 例结果为阳性;经比较,ELISA 检测的敏感度和阳性预测值均高于电化学发光法,并且 ELISA 检测与 WB 确证试验的结果一致性良好;电化学发光法与 WB 确证试验结果比较的一致性一般,提示电化学发光法更易产生假阳性结果,造成误诊;而采用 ELISA 对受检者抗 HIV 进行测定,具有操作简单,敏感度和特异度高,以及成本低的优势。但值得注意的是,ELISA 在检测过程中易受保存方式、试剂制作工艺以及运输等因素的影响,导致检测标本的稳定性较差,而且该检测方法只能对血清标志物进行定性分析,而无法进行定量分析,因此具有较高的误诊和漏诊率^[17]。

综上所述,ELISA 检测和电化学发光法检测对抗 HIV 的敏感度和特异度比较无明显差异,但 ELISA 筛查的准确度更高,因此该方法值得作为初筛抗 HIV 的首选方法,但仍然建议针对异常结果再结合其他检验方法进行确证,以提高诊断准确率,与此同时还应加强相应的健康宣教工作,强化群众的防范意识,预防 AIDS 的传播。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 李明霖,梁未雯,刚永桂,等. 益艾康胶囊对人类免疫缺陷病毒感染/获得性免疫缺陷综合征患者临床疗效的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2018, 25 (3): 257-259. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.03.009.
- KANMOGNE G D, FONSAH J Y, UMLAUF A, et al. Attention/working memory, learning and memory in adult cameroonians: normative data, effects of HIV infection and viral genotype [J]. J Int Neuropsychol Soc, 2020, 26 (6): 607-623. DOI: 10.1017/S13556

17720000120.

- 秦攀,李青,杨晓亮,等. 56 例 HIV 抗体免疫印迹试验不确定结果的随访分析 [J]. 检验医学与临床, 2020, 17 (22): 3279-3281, 3284. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2020.22.015.
- 何佳谕,汪刻灵,许圆圆,等. 台州市 2006-2019 年 HIV/AIDS 抗病毒治疗策略与免疫学效果的关联及影响因素分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41 (12): 2093-2097. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200611-00833.
- 林倩茹,于贺军,张辉,等. HIV-1 感染者不同免疫状态的抗体及病毒载量研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2021, 35 (2): 147-151. DOI: 10.3760/cma.j.cn112866-20200902-00235.
- 戴湊湊,艾尼·色依提,李红梅,等. 阿克苏地区 214 例人类免疫缺陷病毒感染者和艾滋病患者抗病毒治疗效果及影响因素分析 [J]. 中国病毒病杂志, 2021, 11 (2): 112-117. DOI: 10.16505/j.2095-0136.2020.0096.
- NUGRAHA A P, TRIYONO E A, PRAHASANTI C, et al. The correlation of pathognomonic periodontal manifestation with CD⁴⁺ level in people live with human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome in a tertiary hospital, Surabaya, Indonesia [J]. J Int Oral Health, 2019, 11 (3): 137-140. DOI: 10.4103/jioh.jioh_53_19.
- 孙梅,国东,赵琢,等. 人类免疫缺陷病毒实验室检测方法研究进展 [J]. 实用检验医师杂志, 2019, 11 (3): 188-190. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.03.020.
- 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.
- 徐俊,郭楠,刘敏. 酶联免疫法筛查 HIV 抗体在艾滋病诊断中的应用价值 [J]. 国际病毒学杂志, 2016, 23 (1): 53-56. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2016.01.017.
- 王万海,孟真,杨若男,等. 免疫印迹法检测 HIV 抗体条带常见模式分析及在随访中的价值 [J]. 检验医学, 2020, 35 (2): 95-99. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2020.02.001.
- 肖俊,杨斌,卫芳,等. 2016 年-2018 年黔东南州人类免疫缺陷病毒/获得性免疫缺陷综合征患者抗病毒治疗 HIV-1 病毒载量结果分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30 (19): 2343-2345.
- 刘洋,杨慧娣,蒋苏,等. 胶体层析法与酶联免疫吸附试验在急诊艾滋病病毒 (HIV) 抗体初次筛查中的比较分析 [J]. 中国性科学, 2019, 28 (1): 118-121. DOI: CNKI:SUN:XKXZ.0.2019-01-037.
- 何溪,李凌华,朱媛媛,等. 三种不同抗病毒方案对初治 HIV 感染者免疫疗效的分析 [J]. 中国病毒病杂志, 2019, 9 (4): 281-286. DOI: 10.16505/j.2095-0136.2019.0033.
- 董雪,刘建敏,李福安,等. 全自动免疫印迹检测系统在 HIV 抗体确证试验中的应用研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28 (5): 537-539. DOI: CNKI:SUN:ZWJZ.0.2018-05-008.
- 林琳,朱鸿,范存琳,等. 1 例人类免疫缺陷病毒感染早期人类免疫缺陷病毒抗体检测的动态变化 [J]. 中国医科大学学报, 2018, 47 (9): 860-861. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2018.09.022.
- 朱豪,杨国然,白海涛,等. 北海市 2016 年-2017 年 HIV 抗体蛋白免疫印迹试验不确定结果分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30 (7): 813-816. DOI: CNKI:SUN:ZWJZ.0.2020-07-013.

(收稿日期: 2022-01-27)

(本文编辑: 邵文)