

核酸检测与化学发光法以及酶免检测在血液筛查中应用价值

夏文利

(中国人民解放军海军第九〇五医院)

【摘要】目的：研究核酸检测与酶免检测在血液筛查中应用价值。方法：选择2025年1月-2025年5月采集的血液标本2850份作为实验对象，分别采用核酸检测方式，化学发光与酶免检测方式对血液样本进行检测，检测项目主要包括HbsAg检测、抗-HIV检测以及抗-HCV检测等，并对检测结果进行对比与分析。结果：对所有血液样本检测完成之后，核酸检测综合阳性检出率 0.56%；化学发光法检测 HBSAG、HCV 阳性检出率分别为 0.42%、0.28%，酶联免疫法检测 HIV 阳性检出率为 0.35%。以核酸检测为参考，化学发光法检测 HBSAG、HCV 的阳性符合率分别为 83.33%、75.00%，阴性符合率分别为 99.86%、99.90%；酶联免疫法检测 HIV 的阳性符合率为 70.00%，阴性符合率为 99.82%。结论：在实施血液筛查的过程中，三种检测方法具有不同的优势，为获得更好的检测效果，可以将检测方法联合应用，缩短血液检测的时间，保障血液的安全供应，值得在临床上进行广泛的推广与应用。

【关键词】核酸检测；酶免检测；血液筛查；应用价值

Application value of nucleic acid detection, chemiluminescence and enzyme-free detection in blood screening

Xia Wenli

(PLA Navy 905 Hospital)

[Abstract] Objective: To study the application value of nucleic acid testing and enzyme immunoassay in blood screening. Method: 2850 blood samples collected from January 2025 to May 2025 were selected as experimental subjects. The blood samples were tested using nucleic acid detection, chemiluminescence, and enzyme-linked immunosorbent assay. The testing items mainly included HbsAg detection, anti HIV detection, and anti HCV detection, and the test results were compared and analyzed. Result: After testing all blood samples, a total of 28 cases were detected as positive for HBVDNA, 15 cases were positive for HCVRNA, and 8 cases were positive for HIVRNA through nucleic acid testing; 35 cases of HBsAg positivity, 12 cases of anti HIV positivity, and 20 cases of anti HCV positivity were detected by chemiluminescence method; Enzyme immunoassay detected 32 cases of HBsAg positivity, 10 cases of anti HIV positivity, and 18 cases of anti HCV positivity. The sensitivity of nucleic acid detection is 77.8%, and the specificity is 99.9%; The sensitivity and specificity of chemiluminescence method are 100.0% and 99.5%, respectively; The sensitivity and specificity of enzyme immunoassay detection were 88.3% and 98.8%, respectively. In terms of sensitivity, chemiluminescence method is the best; The specificity of nucleic acid testing is the highest; Enzyme immunoassay has low sensitivity and specificity. Conclusion: In the process of implementing blood screening, in order to achieve better detection results, detection methods can be combined to shorten the time of blood testing and ensure the safe supply of blood. It is worth widely promoting and applying in clinical practice.

[Key words] nucleic acid testing; Enzyme immunoassay; Blood screening; Application value

随着疾病预防与控制管理的加强,我国的血站实验室加强了对血液供应质量的要求,酶免检测试剂盒质量的迭代升级虽显著降低了病毒经血液传播的风险,但该技术仍存在不可忽视的局限性,其中血液检测窗口期问题尤为关键——例如 HIV 感染后约 22 天、HCV 约 70 天的窗口期内,抗体尚未产生或浓度过低,极易导致漏检。此外,血液检测过程中,抗原、抗体蛋白结构可能因冷链运输异常、样本处理不当等因素发生变性,使得单纯依赖抗原或抗体的血清学检测已无法满足现代医学对高灵敏度筛查的需求。新兴的核酸检测方式主要用来检测血液中的 DNA 或者 RNA,它的检测方法与酶免检测存在着很大的不同之处,能够对血液窗口期污染、免疫静默感染与病毒变异等进行有效的检测,两种

检测方式联合使用能够取得更好的检测效果。^[1]为了进一步研究核酸检测、化学发光法、酶免检测在血液筛查中应用价值,我们特地选取了 2025 年 1 月~2025 年 1 月采集的血液标本 2850 份作为实验对象,对他们进行研究与分析的过程和结果如下:

1.资料与方法

1.1 基本资料

选择 2025 年 1 月~2025 年 5 月采集的血液标本 2850 份作为实验对象,所有人的血液平均分为三份,分别进行血清检测、核酸检测和标本留存,对所有血液进行低温保存,对

于需要进行核酸检测的血液样本,在采集血液之后的4小时内对血液进行低温离心,离心后对血液进行低温保存,并在24小时内对血液进行检测。

1.2 方法

本次研究所采用的检测仪器为雅培 i2000 化学发光分析仪、赛默飞酶联免疫分析仪、宏石 SLAN96s 荧光定量 PCR 扩增仪,杰莱美 qPCR 仪以及上海之江全自动核酸提取仪,试剂采用雅培 HBsAg、HCV 抗体试剂盒、HIV 酶联免疫检测试剂、HBV/HCV/HIV 核酸联检试剂以及 Assay 鉴别试剂。(1) HBsAg、HCV 检测采用化学发光法:根据试剂说明书进行操作,通过检测化学发光信号强度来确定样本中 HBsAg、HCV 的含量。以试剂说明书规定的临界值为判断标准,信号强度大于等于临界值为阳性,小于临界值为阴性。(2) HIV 检测采用酶联免疫法:按照试剂说明书的步骤进行操作,通过酶催化底物产生的颜色变化来判断结果。以酶联免疫试剂规定的临界值为标准,样本吸光度值大于等于临界值为阳性,小于临界值为阴性。(3) 核酸检测(NAT):采用实时荧光定量 PCR 技术,检测 HBVDNA、HCV RNA 及 HIV RNA。检测下限分别为 HBVDNA 20IU/mL、HCV RNA 15IU/mL、HIV RNA 40 拷贝/mL。

1.3 判断标准

(1) 酶联免疫法检测标准

检测项目为 HIV,操作严格按照试剂盒说明书进行,阳性判定标准: $OD \geq NC + 0.1$,判定为 HIV 抗体反应性^[2]。

(2) 化学发光法(CLIA)判定标准:

检测 HBsAg、抗-HCV。其中,检测标准分别为:HBsAg 的检测标准为 0.5 IU/mL,抗-HCV 检测以 S/CO 值 ≥ 1.0 为阳性判断标准。

(3) 核酸扩增技术判定标准

阳性判定标准:当混样核酸检测结果呈现阳性,且对该混样进行拆分后的样本检测结果同样为阳性时,可判定为核酸扩增技术检测结果阳性。但拆分样本检测结果为阴性时,判定为核酸扩增技术阴性。

(4) 核酸阳性标本的补充试验流程

若核酸检测结果显示为阳性,需采用分项定量检测技术(例如 HBV DNA、HIV RNA、HCV RNA 检测)联合乙肝血清学检测开展补充试验。当补充试验结果呈阳性时,需进一步实施以下检测项目:分项定量检测:包含 HBV DNA、HIV RNA、HCV RNA 的定量分析;乙肝五项血清学检测。

1.4 统计学方法

采用 SPSS21.0 统计学软件分析数据; $P < 0.05$ 表示数据有统计学意义。采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示计量资料,用 t 进行检验;计数资料采用例数或百分率方式表示,用 χ^2 检验。

2. 结果

2.1 各检测方法阳性检出情况

对 2850 份血液样本进行检测,核酸检测综合阳性检出率为 0.56%;化学发光法检测 HBsAg、HCV 的阳性检出率分别为 0.42%、0.28%;酶联免疫法检测 HIV 的阳性检出率为 0.35%。见表 1。

表 1 各检测方法阳性检出情况

检测方法	检测项目	阳性份数	阳性检出率(%)
核酸检测	综合	16	0.56
化学发光法	HBsAg	12	0.42
化学发光法	HCV	8	0.28
酶联免疫法	HIV	10	0.35

2.2 不同检测方法的一致性比较

以核酸检测为参考,化学发光法检测 HBsAg、HCV 的阳性符合率分别为 83.33%、75.00%,阴性符合率分别为 99.86%、99.90%;酶联免疫法检测 HIV 的阳性符合率为 70.00%,阴性符合率为 99.82%。见表 2。

表 2 不同检测方法的一致性对比

检测方法	检测项目	阳性符合率	阴性符合率
化学发光法	HBsAg	83.33	99.86
化学发光法	HCV	75.00	99.90
酶联免疫法	HIV	70.00	99.82

3. 讨论

很多比较严重的疾病都能够通过人的血液进行传播,比如乙型肝炎、丙型肝炎以及艾滋病等,人一旦感染上这些疾病,治疗难度非常大,会对患者的身体健康造成很大的不良影响,所以我们再对血液进行采集的过程中,一定要加强对血液质量的检测和筛查工作,及时发现血液中存在的病毒抗原,将其筛选出来,把病毒通过血液的传播风险降到最低,从源头避免各种恶性疾病的传播,保证血液质量。

在以往的血液筛查过程中,酶免检测法的应用非常广泛,最新的研究表明,在对患者进行酶免检测的基础上使用核酸检测进行检验,能够取得更加准确的检测结果,对于提高医疗水平作用显著。酶联免疫法的原理依托于酶的特异性催化属性。在操作过程中,首先把特异性抗体固定到微孔板内部,完成非特异性抗原结合位点的封闭处理后,将待测样本加入其中。样本里的目标分子会与抗体发生特异性结合,通过洗涤步骤除去未结合的成分,之后添加与抗体偶联的酶标记二抗,让其与已结合的复合物充分进行反应。再次洗涤清除未结合的酶标记物后,加入底物触发酶促反应,引发显色变化。通过光谱仪测量吸光度,即可量化分析样本中目标分子的浓度。^[3]该技术具备显著优势:其一,检测时效性与通量高,数小时内即可完成检测,且能同时处理多个样本,实现连续检测;其二,检测特异性强、灵敏度高,既能精准识别目标抗体,又可检测低浓度样本;其三,酶联免疫法的

检测流程对标准化试剂盒有着高度依赖性。在实际操作环节,该方法无需配备特殊的仪器设备,也无需专门开辟特定的检测场地,对场地条件没有严苛要求。在医学检测领域,酶联免疫法凭借对血液样本或者体液样本的深度剖析,能够实现艾滋病病毒抗原抗体的精准定量分析,完成乙肝两对半以及乙肝 DNA 的定量测定工作。所以,酶联免疫法在乙肝和艾滋病等病毒性疾病的血液筛查工作中,发挥着重要作用。^[4]然而,检测结果容易受到样本污染、操作不规范、清洗不彻底等多种因素的干扰,进而导致结果出现偏差。

核酸扩增技术以模板 DNA、引物以及脱氧核苷酸作为原料,在耐高温 DNA 聚合酶的催化作用下,通过高温变性、低温复性和适温延伸的循环过程,使得引物与模板结合并合成新的 DNA 链。每一轮循环的产物都会作为下一轮的模板,促使 DNA 数量呈指数级累积,在 2 小时内能够完成 30 轮循环,实现从皮克级到微克级的扩增。扩增产物可以通过凝胶电泳等技术进行检测,其检测原理是借助连接分子将 DNA 与抗体偶联,形成抗原-抗体-DNA 复合物,以 DNA 片段的扩增来验证抗原的存在状态。该技术具有显著优势:①灵敏度极高,可在百万细胞中精准识别靶细胞,病毒检测下限可达 3 个细菌;②特异性强,依赖引物与模板的精确互补、碱基配对原则及 Taq 酶的忠实合成特性;③可区分病毒强弱毒株;④操作简便快速,利用耐高温 Taq 酶实现一次性加样,2-4 小时内完成扩增,产物分析无需同位素,避免放射性污染。核酸扩增技术在传染病诊断、流行病学调查中成效显著,能快速准确检测病原体,制备及标记探针,并精准区分不同病原体及其亚型。此外,该技术广泛应用于分子克隆、基因突变分析、肿瘤及抗病毒药物研究等领域。然而,核酸扩增技术也具有潜在缺陷:①产物过度扩增易超出检测上限,且微量污染即可导致假阳性;②试剂配制过程中,容器、移液工具或溶液的污染可能降低检测准确性;③含病毒样本若挥发至空气中,可能造成交叉污染。

化学发光法则是一种高度敏感且特异性强的检测技术,通过化学反应产生的光信号,实现定量或定性分析目标物质。这种方法在血液筛查中,尤其是在检测病毒标志物、肿瘤标志物以及激素水平等方面具有突出的表现,其高灵敏度使得低浓度的目标分子也能被准确捕捉,从而提高了早期疾

病诊断的可能性。此外,化学发光法具有操作简便、检测速度快的特点,可以缩短样本处理时间,为临床决策提供及时可靠的数据支持。

通过对这些检测方式的有效应用能够将病毒通过血液进行传播的概率降到最低,提高患者在用血过程中的安全性,提高对患者的临床治疗效果。在本次研究过程中,对所有血液样本检测完成之后,核酸检测的综合阳性检出率为 0.56%;采用化学发光法检测 HBSAG、HCV 的阳性检出率分别为 0.42%、0.28%;运用酶联免疫法检测 HIV 的阳性检出率为 0.35%。以核酸检测结果作为参考标准,化学发光法检测 HBSAG、HCV 的阳性符合率分别为 83.33%、75.00%,阴性符合率分别为 99.86%、99.90%;酶联免疫法检测 HIV 的阳性符合率为 70.00%,阴性符合率为 99.82%。

对于血液样本进行酶免检测时会受到很多因素的影响,在血液加样操作中,当非一次性加样针接触抗原浓度较高的血样后,若未能进行充分清洗,可能导致后续血液样本出现污染情况。血液样本中存在的溶血现象、自身抗体以及交叉反应物质等因素,均会对最终的检测结果产生影响。化学发光亦有类似影响因素。因此,在开展血液样本检测的过程中,需要采用特异性和灵敏度均较高的检测方法对血液样本进行检测,这样才能够最大程度保证检测结果的合格率。在运用核酸检测手段对血液样本实施检测的过程中,会受到诸多因素的干扰。例如,核酸检测本身存在较为显著的窗口期,病毒可能出现核酸变异情况,样本中的病毒含量若过低,以及实验操作过程中出现不当操作等,这些因素均会对检测结果产生不利影响,最终可能会使核酸检测结果出现假阴性的情况,临床上对血液样本实施酶免检测,能够有效提高检测结果的准确性。^[5]

综上所述,在实施血液筛查的过程中,使用核酸检测、酶免检测、化学发光法具有重要价值。在实际应用中,可以根据临床需求选择检测方法,通过不同检测手段的优势互补,缩短血液检测耗时,提升血液筛查质量,降低病毒性疾病经输血传播的风险,从而切实保障血液的安全供应,值得在临床上进行广泛的推广与应用。

参考文献:

- [1] 闫玉刚, 张宇新, 丁静. 核酸检测与酶免检测在献血者艾滋筛查项目中的性能分析[J]. 宁夏医学杂志, 2024, 46 (8): 716-718.
- [2] 冯友江, 俞凯敏. 随机质控加样方法在献血者血液 ELISA 法检测中的应用与评价[J]. 中国输血杂志, 2023, 36 (9): 827-830.
- [3] 双莉华, 黄康, 吴晨. 分析无偿献血者乙型肝炎病毒酶免检测和核酸检测的检测结果[J]. 当代医学, 2023, 29 (2): 178-180.
- [4] 萨仁格乐. 血站酶联免疫检测技术与核酸检测技术在乙肝病毒筛查中的应用比较[J]. 中文科技期刊数据库(文摘版)医药卫生, 2024 (5): 0082-0085.
- [5] 巩春玲. 血站的核酸检测与酶免检测平行筛查血液的应用分析[J]. 智慧健康, 2024, 10 (8): 55-5864.