



•论 著•

长沙市无偿献血者血液样本酶联免疫检测联合核酸检测 HBV 的结果分析

白 颖 张 钢 郭 咚

(长沙血液中心, 湖南 长沙 410000)

摘要:目的 分析 2017 年度长沙血液中心所有无偿献血者的血液样本 HBV 项目的酶联免疫检测联合核酸检测筛查结果。方法 对本站 2017 年 1 月 1 日~2017 年 12 月 31 日采集的 159228 份血液的相应标本, 先采用两种不同厂家试剂进行 2 遍包括 HBsAg 等四项感染性标志物的酶联免疫检测以及转氨酶的血清学检测, 后对所有常规检测结果阴性的进行包括 HBV DNA 等三项经血传播病毒的核酸检测。结果 在 159228 份献血者样本中, 血清学检测所有项目共 3552 份不合格, 其中 1259 份 HBsAg 的结果为不合格。各项目酶免检测合格的 155676 份样本, 进行核酸检测后, 71 份为 HBV DNA 阳性。结论 对无偿献血者的样本采取酶联免疫检测和核酸检测相结合的联合检测模式, 使 HBV 的检出率有明显提高, 有效避免因隐匿性乙肝、窗口期等因素造成的漏检, 降低输血传播乙肝风险, 提高血站的血液质量安全。

关键词: 酶联免疫检测; 核酸检测; HBsAg; HBV DNA

中图分类号: R256.12

文献标识码: A

文章编号: 1009-5187 (2018) 04-012-02

血液安全是血站永恒的质量主题, 如何降低输血传播疾病风险是血站人不断追求和持续改进的目标。我国采供血系统血液筛查的传统检测方法为酶联免疫吸附试验, 虽然方法灵敏度和特异性在不断提高, 但是由于窗口期感染, 免疫静默, 病毒变异, 隐匿性感染等原因, 检测后仍然存在较高的残余风险[1]。乙肝在我国具有高流行率, 有研究表明, (1-59) 岁人群中约 5.84% 为 HBV 携带者[2]。无偿献血者标本通过酶免试验筛查血液 HBsAg 后, 血液中 HBV 仍然存在较大的漏检风险。按照国家要求, 近年来我中心实施在 2 遍酶免试验的基础上, 全面增加一遍核酸检测的检测模式。现对本中心 2017 年度献血者的 HBsAg 酶免检测联合 HBV DNA 核酸检测的筛查结果进行比较分析。

1 材料与方法

1.1 标本 选取 2017 年 1 月 1 日~2017 年 12 月 31 日本中心采集的 159228 名无偿献血者的血液标本作为研究材料。所有献血者在献血前经过 ALT 干式生化仪检测和 HBsAg、TP 快速金标法检测合格, 体检符合《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)。每位献血者留取 2 管含 EDTA-K2 抗凝剂的血液标本, 各 5ml, 一管用于血清学检测, 另一管还包含分离胶、无菌、无 RNA 酶的用于核酸检测。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 试剂 酶免检测试剂: HBsAg (美国伯乐和北京万泰); 核酸检测试剂: HBV、HCV、HIV (1+2 型) 联合试剂 (德国罗氏、上海科华)。所有试剂均为经过国家批批检合格产品, 并在有效期内使用。

1.2.2 仪器 酶免检测设备: EVO 全自动加样仪 (奥地利帝肯)、STAR 全自动加样仪 (瑞士汉密尔顿)、FAME 24/20 和 FAME 24/30 全自动酶联免疫后处理系统 (瑞士汉密尔顿); 核酸检测设备: 德国罗氏 Cobas S201 核酸检测系统、上海科华核酸检测系统, 二者互为备用系统。所有设备均在校验合格期内使用。

1.3 方法

1.3.1 血清学检测

所有标本由不同工作人员采用两种不同厂家试剂严格按照试剂说明书要求进行 2 次 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP 的酶免检测, 以及不同厂家试剂的 2 遍 ALT 项目的速率法检测。

其中 ALT>50U/L 判为不合格; HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP 酶免检测 S/CO 值 ≥ 1.0 判为有反应性, 进口试剂 $0.7 \leq S/CO$ 值 ≤ 1.0 、国产试剂 $0.5 \leq S/CO$ 值 ≤ 1.0 判为灰区。双试剂阳性/灰区, 判为不合格; 一种试剂阴性, 另一种试剂阳性/灰区, 采取双孔复查, 复查结果任意一孔为阳性/灰区即判为不合格。

1.3.2 核酸检测

对血清学检测结果合格的标本采用一种核酸试剂进行 HBV DNA、HCV RNA、HIV RNA (1+2 型) 的核酸检测。罗氏检测系统为 6 人份 (167ul/份) 混样成 1 份 (1ml) 汇集池 (pool), 科华核酸检测系统为 8 人份 (167ul/份) 混样成 1 份 (1.44ml) 汇集池 (pool), 汇集后由该核酸检测系统的相应仪器进行核酸提取和荧光-PCR 试验。每批试验均设置试剂盒自带的阴性质控、阳性质控、外部弱阳性质控, 每个 pool 均含内对照 (IC)。

汇集孔检测为阴性, 则此汇集池 (pool) 中所有的标本合格; 汇集池 (pool) 检测为阳性, 则需要对此汇集池 (pool) 中的所有标本进行拆分试验, 拆分试验相应标本阳性即判为不合格, 阴性即判为合格。

2 结果

2.1 酶联免疫检测结果

本站 2017 年 1 月~12 月共采集 159228 份献血者的血液样本, 经过酶联免疫检测, 共 1259 份为 HBsAg 反应性 (0.79%), 其中 HBsAg 双试剂反应性数为 510 份, HBsAg 单试剂反应性数为 749 份。酶免检测结果见表 1。

表 1 HBsAg 酶联免疫检测结果

检测时间	样本数	HBsAg 双试剂反应性数	HBsAg 单试剂反应性数	HBsAg 反应性总数	HBsAg 报废率
2017 年 1 月	12384	50	79	129	1.04%
2017 年 2 月	11355	70	59	129	1.14%
2017 年 3 月	13739	37	88	125	0.91%
2017 年 4 月	12322	34	59	93	0.75%
2017 年 5 月	12149	34	60	94	0.77%



• 论 著 •

2017年6月	11612	35	66	101	0.87%
2017年7月	13179	32	45	77	0.58%
2017年8月	14184	49	48	97	0.68%
2017年9月	10359	21	43	64	0.62%
2017年10月	18057	53	85	138	0.76%
2017年11月	14275	36	60	96	0.67%
2017年12月	15613	59	57	116	0.74%
总计	159228	510	749	1259	0.79%

2.2 核酸检测结果

经过血清学检测,所有项目不合格的总数为 3352 份,所有项目合格的标本为 155676 份,这些标本均做核酸检测,共 112 个汇集池

(pool) 检测结果呈 HBV DNA 反应性,经过拆分后,71 例的核酸检测结果为 HBV DNA 反应性 (0.456%)。核酸检测结果见表 2。

表 2 HBsAg 阴性标本 HBV DNA 核酸检测结果

检测时间	样本数	HBV DNA 汇集检测反应性数	HBV DNA 拆分检测反应性数	HBV DNA 报废率
2017年1月	12015	14	11	0.916%
2017年2月	11031	14	9	0.816%
2017年3月	13444	8	3	0.223%
2017年4月	12074	5	2	0.165%
2017年5月	11875	13	10	0.842%
2017年6月	11370	5	5	0.439%
2017年7月	12927	11	6	0.464%
2017年8月	13888	17	12	0.864%
2017年9月	10186	6	2	0.196%
2017年10月	17678	8	3	0.170%
2017年11月	13981	5	5	0.357%
2017年12月	15207	6	3	0.197%
总计	155676	112	71	0.456%

3 讨论

2017 年度本中心 159228 份献血者样本的酶免检测 HBsAg 阳性标本 1259 例,检出率为 0.79%。而酶免检测阴性的 155676 份献血者标本中,经过核酸检测 HBsAg 阴性标本 HBV DNA 反应性达到了 71 例,HBV DNA 阳性检出率达到 0.456%,与上海[3]、河南[4]等地接近。证明 HBV 经输血传播的风险较高,这一方面可能与我国的 HBV 高感染率有关,另一方面与方法学局限性有关。即使经过两遍酶免检测,且酶免检测设置了灰区,仍然存在一定程度的漏检。因此,对于酶免检测 HBsAg 阴性的标本增加核酸检测十分必要,这样可以更大幅度地减少 HBV 的漏检,降低输血传播乙肝风险。

酶联免疫检测以 HBsAg 为检测对象,有较长的窗口期。而核酸检测技术是检测病原体本身的核酸,窗口期较短,跟酶联免疫检测相比,平均可将 HBV 的检测“窗口期”缩短 40%[5]。同时,对于隐匿性乙肝(OBI),核酸检测也有着十分重要的意义。有研究表明,HBV DNA 检测可降低 ELISA 检测后的残余风险 73.77%,且降低的 HBV 的风险中的 87.9%为隐匿性风险[6]。此外,核酸检测对于病毒的免疫静默、病毒亚型和病毒变异也能检出[7]。值得注意的是,核酸检测同样也可能出现假阴性的结果,例如病毒载量过低的乙肝携带者、核酸不稳定容易降解等情况,这部分标本通常用酶免检测 HBsAg 可以检出,因此酶免检测与核酸检测存在方法学的互补性。所以,在目前的检测水平下,

以酶联免疫检测为基础,联合核酸检测,可以更大幅度地检出 HBV,降低漏检风险,保障用血安全。

参考文献:

- [1]李雪梅,杨春茂,杨春晴,付海忠,董国良,柳杨.献血者 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TPELISA 检测阳性与确证试验的对比研究[J].中国输血杂志,2013,26(06):541-543.
- [2]Yu Liu, Jingxing Wang, Yi Huang, et al. Molecular epidemiological study of hepatitis B virus in blood donors from five Chinese blood centers. Arch Virol, 2012, 157(9):1699-1707.
- [3]陆韬宏,周国平,张晰.集中化检测后上海地区血液核酸筛查数据的回顾性分析[J].临床输血与检验,2016,18(03):276-280.
- [4]来祝樵,韩惠云,张国平.核酸检测 HBV DNA 阳性献血者的追踪检测结果分析[J].中国输血杂志,2017,30(05):525-528.
- [5]郭超群,李运琴,来祝樵.基层血站开展血液核酸筛查的必要性及可行性分析[J].医药前沿,2014(9):84-85.
- [6]曹谊,陆荣,王凯,王玲玲,夏伟凤,刘鱼,王明元.HBsAg 阴性献血者核酸检测结果分析及其降低 HBV 残余效果研究[J].中国输血杂志,2015,28(11):1348-1351.
- [7]梁启忠,程玉根.核酸检测技术在献血者血液筛查中的应用[J].国际检验医学杂志,2015,36(22):3265-3270.