

国产试剂一步法与两步法检测抗-HCV 结果比较*

杨茹¹ 涂历波¹

〔摘要〕 目的:比较一步法与两步法抗-HCV ELISA 检测试剂的特异性及灵敏度。方法:分别采用两个不同厂家的一步法及两步法 ELISA 试剂,对本中心标本进行试验,对比分析两种试剂的血液报废率及检测结果。结果:使用两步法 ELISA 检测试剂后,血液报废率相对于一步法检测试剂略有下降,可疑阳性标本数明显下降。但灰区和可疑弱阳性标本数两个厂家间有较大差异。不同的两步法检测试剂符合率仍有待提高。结论:两步法抗-HCV ELISA 检测试剂优于一步法,但特异性及灵敏度仍有待加强。

〔关键词〕 丙型肝炎病毒;一步法;两步法;ELISA

〔中图分类号〕 R512.6 **〔文献标志码〕** A **〔文章编号〕** 1004-2806(2013)12-0844-02

Comparison of one step and two step anti-HCV
domestic detection reagentsYANG Ru¹ TU Libo²

(Laboratory of Wuhan Blood Center, Wuhan, 430030, China)

Corresponding author: YANG Ru, E-mail: yangru1226@126.com

Abstract Objective: To compare the specificity and sensitivity of the one step and two step anti-HCV ELISA reagents. **Method:** Specimens of the center were respectively detected using two different manufacturer of one-step and two-step ELISA reagents. The detection results and blood scrap rate were compared. **Result:** After using two-step ELISA detection reagent, the blood scrap rate fell slightly compared with one-step detection reagent, the suspicious positive specimens decreased obviously. But the gray area specimens and suspicious weakly positive samples had great difference between the two manufacturers. Two step detection reagents coincidence rate remained to be improved. **Conclusion:** Two-step anti-HCV ELISA detection reagents would be superior to the one step method, but the specificity and sensitivity remain to be strengthened.

Key words hepatitis C virus; one-step method; two-step method; ELISA

为了提高血液质量,保证献血者和受血者安全,卫生部要求将原有国产酶免试剂中的一步法更改为两步法,以提高检出率,减少血液报废。笔者对 2011 年 3 月使用一步法试剂检测抗-HCV 的检测结果与 2011 年 6 月使用两步法试剂检测抗-HCV 的检测结果进行了比较,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2011 年 3 月我中心的无偿献血者血液标本 16 686 份(女 10 667 人,男 6 019 人),2011 年 6 月标本 15 089 份(女 10 332 人,男 4 757 人);献血者年龄 18~55 岁。人群来源均为街头和高校的自愿无偿献血者。样本均为 1:4 枸橼酸-枸橼酸钠抗凝管抗凝,血液标本离心 3 000 转,15 min 后检测。

1.2 试剂来源

抗-HCV 酶联免疫试剂由厦门英科新创生物科技有限公司和上海科华生物科技有限公司提供(分别以 A 和 B 代替)。均有批批检防伪标签并在

有效期内使用。

1.3 仪器

HAMILTON STAR2000 全自动加样仪(瑞士), FAME 全自动酶免检测分析仪(瑞士)。

1.4 方法

将抗凝血液标本室温离心后,用 HAMILTON STAR2000 全自动加样仪自动加样。FAME 全自动酶免检测分析仪进行后处理。过程完全按照 2 种试剂盒说明书操作。结果按照试剂说明书的要求,0.8 ≤ S/CO < 1 判为灰区,1 ≤ S/CO 判为反应性标本。依据美国 CDC 新准则,对 ELISA 筛查试验 S/CO ≥ 3.8 的样本视为需做确证试验的可疑阳性标本。因此本次实验分成 S/CO ≥ 3.8, 1 ≤ S/CO ≤ 3.8, 0.8 ≤ S/CO < 1 三个数据段进行比较。2011 年 3 月 2 种试剂都采用其对应的一步法试剂盒试验,2011 年 6 月 2 种试剂都采用其对应的两步法试剂盒试验。

2 结果

一步法和两步法血液报废率的比较见表 1。

进一步分析试剂 A 和试剂 B 各自的反应性标本数,弱反应性标本数和灰区标本数,见表 2。

* 基金项目:武汉市卫生局科研项目(No: WX08B16)

¹ 武汉血液中心检验科(武汉, 430030)

通信作者:杨茹, E-mail: yangru1226@126.com

表 1 一步法与两步法血液报废率比较 份(%)

分组	A 试剂报废	B 试剂报废	共同报废	报废总数
一步法	43(0.258)	60(0.360)	38(0.228)	65(0.390)
两步法	34(0.225)	44(0.292)	24(0.159)	54(0.358)

注:按照本实验室规则,若首次检测 $S/CO \geq 0.8$,将进行试管与其对应的血样双孔复试,再检双孔复试结果均为 $S/CO \geq 0.8$ 才报废该袋血液。

表 2 一步法与两步法试剂 A 和 B 的可疑阳性数、可疑弱阳性数及灰区数比较 例(%)

分组	A 一步法	A 两步法	B 一步法	B 两步法
可疑阳性	32(0.192)	23(0.152)	25(0.150)	18(0.119)
可疑弱阳性	8(0.048)	9(0.060)	28(0.168)	15(0.099)
灰区	3(0.018)	2(0.013)	7(0.042)	11(0.073)

注:结果以 S/CO 值大于 3.8 判定为可疑阳性, $1 \leq S/CO \leq 3.8$ 判为可疑弱阳性, $0.8 \leq S/CO < 1$ 判为灰区。

3 讨论

HCV 病毒因其 RNA 聚合酶的低保守性和缺乏校正功能,致使 HCV 基因组具有很大的变异性^[1]。酶联免疫试剂检测的抗-HCV 抗体为多种抗体的混合物。有文献报道,HCV 感染的免疫功能正常的低危人群中,如献血者,ELISA 检测的假阳性率为 15%~60%。目前国内检测的抗-HCV 试剂含核心区(Core),NS3、NS4 和 NS5 区重组蛋白或合成肽,由于厂家使用 HCV 片段化学合成或基因工程法所选取的片断有所差异,抗原的质量和各抗原片段包被比例也不同,导致各厂家试剂的灵敏度和特异性存在很大差异,本文中两个厂家的检测符合率也较低,这与国内其他文献报道也一致^[2-3]。单独使用任何一种试剂都会存在漏检和假阳性。由表 1 可以看出,一步法相对于两步法,无论是试剂 A 还是试剂 B,血液的报废率都偏高,使用两步法后,报废的血液数目均有下降。因此,使用两步法的抗-HCV ELISA 检测试剂是很有必要的。因抗-HCV 检测假阳性而导致血液报废,不仅浪费了宝贵的血液资源,也给献血者带来了沉重的思想负担。这要求我们从源头上确实淘汰掉一部分患 HCV 的高危潜伏人群,确保血液安全。还对我们的检测工作提出了更高的要求。现有的两种 ELISA 试剂检测条件下,还需要做核酸检测以提高检出率,确保血液质量。有条件的情况下,还应该对抗-HCV 检测弱阳性的标本进行确认试验。对于确实因抗-HCV 假阳性而淘汰的献血者予以献

血资格保留,并做好解释工作减轻其思想负担。这样既对献血者负责,也对受血者负责。

据美国文献报道,2000 年用强生和雅培公司的试剂对 HCV 抗体 ELISA 筛查弱阳性的标本进行进行 RIBA 试验,其中 86%~88%为阴性,同时观察到 65 例 $S/CO \geq 3.8$ 的 ELISA 阳性标本中 64 例重组免疫试验(RIBA)阳性,占 98.6%;目前美国已经采用了 CDC 新准则,只对 ELISA 筛查试验 $S/CO \geq 3.8$ 的样本做 RIBA 确证试验,既节约资金,又提高检验质量和试验的准确性^[4-6]。因此本文中将 ELISA 试验中 S/CO 大于 3.8 的标本和 $1 \leq S/CO \leq 3.8$ 分别单独列出比较。可以看出,使用两步法后,试剂 A 和试剂 B 在 S/CO 值大于 3.8 的标本数上均有下降,分析其原因可能是由于一步法试剂假阳性率偏高,使用两步法后,由于孵育时间延长,洗板次数增加,非特异性反应明显降低,灵敏度提高所致。由表 2 可以看出,无论是试剂 A 还是试剂 B,两步法后可疑阳性数都有明显的下降。试剂 A 使用两步法后,可疑弱阳性数和灰区数未见明显变化,试剂 B 使用两步法后,可疑弱阳性数有明显的下降,而灰区数略有上升。可见不同的两步法试剂在弱阳性和灰区标本的检测上还是存在一定的差异,这就要求试剂生产商加大科研力度,努力提高生产工艺,从源头上保证国产试剂的质量,这也是实验室最期待解决的核心问题。

参考文献

[1] 黄辉红,周元平,杨洁,等.联合分析 HCV 种属信息区和高度保守区序列确定广东地区 HCV 基因型和亚型[J].广东医学,2010,31(7):825-828.

[2] 袁学敏,舒群峰,崔萍,等.5 种国产抗-HCV ELISA 试剂血清盘考核结果分析[J].临床输血与检验,2012,14(2):179-180.

[3] 傅立强,桑列勇,蒋国瑾.ELISA 试剂检测抗-HCV 反应性结果分析[J].检验医学,2012,27(7):588-590.

[4] 甘新宇,杨洋,于丽君,等.ELISA 检测抗-HCV 抗体灰区设置的探讨[J].国际检验医学杂志,2012,33(11):1405-1406.

[5] 魏来,杨瑞峰.丙型肝炎病毒实验室诊断的现状与存在的问题[J].中华检验医学杂志,2008,31(8):844-846.

[6] 张雪梅,黄珂,付涌水,等.广州献血人群抗-HCV ELISA 检测 S/CO 值与确证试验结果的相关性[J].中国输血杂志,2013,26(1):29-32.

(收稿日期:2013-04-09)