

- 分析[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(12): 946-948.
[4] 许友山, 钱惠忠, 胡越, 等. 血液核酸筛查技术的应用分析[J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24(9): 926-928.
[5] 陈善华, 朱丽莉, 吕素梅, 等. 洛阳地区无偿献血人群

中核酸检测及分析[J]. 临床血液学杂志, 2019, 32(2): 301-303.

(收稿日期: 2019-04-18)

血液筛查 ELISA 方法检测抗-HCV 设置灰区的必要性探讨 Discussion on the necessity of detecting Anti-HCV setting gray area by blood screening ELISA method

陈善华¹ 朱丽莉¹ 吕素梅¹

[关键词] 抗-HCV; 灰区; 酶联免疫; RIBA 试验; 核酸检测

Key words anti-HCV; ash region; enzyme-linked immunosorbent assay; RIBA assay; nucleic acid detection

doi: 10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.10.022

[中图分类号] R457.1 [文献标志码] B

丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的病毒性肝炎, 主要经输血、针刺、吸毒等传播。据 WHO 估计, 全球 HCV 的感染率约为 3.0%^[1], 而我国 HCV 的感染率约为 3.2%^[2-5], 略高于全球。由于丙型肝炎可导致肝脏慢性炎症坏死和纤维化, 部分患者可发展为肝硬化甚至肝细胞癌(HCC), 对患者的健康和生命危害极大, 而目前又没有预防 HCV 感染的疫苗, 所以需尽早诊断和治疗^[6]。由于输血作为 HCV 传播的主要途径之一, 所以国家规定各采供血机构将 HCV 作为献血者筛查的必检项目, 检测方法采用酶联免疫吸附试验(ELISA)及病毒核酸检测。前者检测血清中 HCV 抗体, 后者检测 HCV RNA^[7-8]。血站运用 ELISA 方法进行抗-HCV 检测时, 由于不同检测试剂之间存在检测性能的差异, 所以对于检测结果呈强反应性标本及明显阴性的标本检测结果符合性较好, 但对一些跟临界值结果接近的检测标本(即“灰区”标本), 目前实验室 ELISA 法很难对结果真伪做出准确的判断。因此为了解这部分标本是否处于“窗口期”, 我实验室对这部分标本(ELISA 法检测 HCV 结果处于 $0.6 \leq s/co < 1.0$ 范围内的标本)再分别用 RIBA 确证试验和核酸 HCV RNA 同时进行检测比较, 现将检测结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2016-08—2018-07 采集的无偿献血者标本经 ELISA 抗-HCV 试剂检测, 检测结果处于灰

区内($0.6 \leq s/co < 1.0$)的标本 167 例为研究对象。

1.2 仪器和试剂

ELISA 法使用瑞士 HAMILTON 公司生产的 Microlab STAR 全自动前加样系统和 Microlab FAME 全自动酶免后处理系统, ELISA 抗-HCV 检测试剂盒分别由珠海丽珠和上海科华公司提供; 核酸 HCV RNA 检测设备使用全自动核酸检测分析系统 TIGRIS, HCV RNA 试剂盒由美国诺华公司提供; RIBA HCV 3.0 SIA 检测试剂由美国 Chiron 公司提供; 以上检测设备均在校准有效期内, 检测试剂也均在检测有效期内使用。

1.3 检测方法

使用 2 个厂家(珠海丽珠、上海科华)生产的 ELISA 抗-HCV 试剂对献血者标本分别进行检测, 任何一种检测试剂其检测结果在 $0.6 \leq s/co < 1.0$ 之间的标本再用相同试剂进行双孔复试, 双孔中至少有 1 份检测结果仍在灰区内, 留取该标本再进行 RIBA 确证试验和核酸 HCV RNA 检测。进行 RIBA 确证试验, 同时做 100 例阴性标本(ELISA $s/co < 0.3$)和 100 例阳性标本(ELISA $s/co > 6.0$)作为对照组; 进行核酸 HCV RNA 检测时同时做阴性标本(ELISA $s/co < 0.6$)26 034 例作为对照组, 检测方法均严格按照试剂说明书进行操作。

1.4 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 11.5 进行统计分析, 本资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2 个厂家生产的检测试剂(ELISA)检出的 167 例 HCV“灰区”标本情况见表 1。

“灰区”标本和阴性、阳性对照组标本的 RIBA 试验检测结果见表 2。

¹ 洛阳市中心血站(河南洛阳, 471000)

通信作者: 陈善华, E-mail: 1521728943@qq.com

表 1 2 个厂家检测试剂检出的 167 例 HCV 灰区情况

珠海丽珠(s/co)	上海科华(s/co)					合计
	s/co<0.6	0.6≤s/co<0.7	0.7≤s/co<0.8	0.8≤s/co<0.9	0.9≤s/co<1.0	
s/co<0.6	0	11	22	18	2	53
0.6≤s/co<0.7	19	9	5	6	3	42
0.7≤s/co<0.8	17	4	6	5	3	35
0.8≤s/co<0.9	21	2	3	1	1	28
0.9≤s/co<1.0	7	2	0	0	0	9
合计	64	28	36	30	9	167

表 2 “灰区”标本与阴性、阳性对照组标本的 RIBA 试验检测结果

HCV ELISA(s/co)	总例数	RIBA	
		阳性例数	阳性率/%
<0.3	100	0	0
灰区	167	2	1.20
>6.0	100	100	100

ELISA 法检测 HCV 和核酸 HCV RNA 检测结果见表 3。

RIBA 确证试验和 HCV RNA 检测阳性标本结果见表 4。

2 例 HCV 灰区标本追踪检测结果见表 5。

表 3 ELISA 法检测 HCV 和核酸 HCV RNA 检测结果

HCV ELISA(s/co)	总例数	HCV RNA 定性	
		阳性例数	阳性率/%
<0.6	26 034	0	0
灰区	167	2	1.20

表 4 RIBA 确证试验和 HCV RNA 试验检出阳性结果情况

编号	年龄/岁	性别	献血次数	职业	ELISA(上海科华)			ELISA(珠海丽珠)			确证试验	
					初筛	复核 1	复核 2	初筛	复核 1	复核 2	HCV RNA	RIBA
					s/co	s/co	s/co	s/co	s/co	s/co	检测结果	检测结果
1	46	女	3	农民	0.73	0.70	0.77	0.89	0.86	0.84	阳性	阳性
2	37	女	1	农民	0.62	0.66	0.68	0.75	0.70	0.73	阳性	阳性

表 5 2 例“灰区”标本追踪检测结果

编号	检测试剂及检测方法	初次	第 2 周	第 4 周	第 8 周
1	ELISA:科华(s/co)	0.73	0.89	1.06	2.86
	ELISA:丽珠(S/CO)	0.89	1.02	1.23	3.07
	RIBA	阳性			
	HCV RNA	阳性			
2	ELISA:科华(s/co)	0.62	0.72	1.13	3.06
	ELISA:丽珠(S/CO)	0.75	0.83	1.08	2.93
	RIBA	阳性			
	HCV RNA	阳性			

3 讨论

HCV 感染标志物其检测方法多样,其中 ELISA 法用于诊断丙型肝炎的最重要手段,适用于高危人群的筛查,也可以用于丙型肝炎感染者的初次筛查;HCV RNA 检测是检测血液中 HCV 的实际存在情况,可在感染 2 周内检测到病毒;RIBA 检测 HCV 抗体。目前国内最常用 ELISA 方法进行 HCV 抗体的筛查,但由于 ELISA 方法不同试剂生产厂家所用 HCV 包被抗原在组成及来源上存在差异,会导致检测结果略有不同。

笔者用珠海丽珠和上海科华 2 个厂家生产的抗-HCV 试剂(ELISA)分别对献血者标本进行检测共得到“灰区”标本 167 例,其中单试剂“灰区”标本 117 例,双试剂“灰区”标本 50 例(见表 1),再分别利用美国 Chiron 公司提供的 RIBA HCV 3.0 SIA 试剂和美国诺华公司提供的核酸 HCV RNA 试剂同时进行检测,结果显示“灰区”组标本中用 2 种检测方法检出的阳性率均与 HCV 阴性组差异有统计学意义($P<0.05$)。167 例“灰区”标本中用 RIBA 确证试验与核酸 HCV RNA 试验同时检出 2 例相同的阳性标本。说明用抗-HCV 试剂(ELISA)检测出的“灰区”标本中存在一定数量的阳性结果(分别见表 2、表 3、表 4),这部分“灰区”标本中确实存在有 HCV 病毒复制,后经追踪检测确认(见表 5),这 2 例标本正处于“窗口期”(血清转阳的过程中),此时因抗体效价甚低而达不到阳性检出的标准;而核酸 PCR(HCV RNA)的检测方法是直接检测血中的 HCV RNA,因其较丙型肝炎抗体出现得早,故可用于 HCV 感染的早期筛查诊断标准^[9]。

当然用 ELISA 法检测抗-HCV 出现“灰区”的

原因很多,主要有试剂的因素,由于 ELISA 方法本身的局限性以及不同试剂间的灵敏度和特异性均存在差异,会导致检测结果可能不同,特别是处于临界值附近的标本很难做出准确判定^[10]。有研究结果显示,高浓度的非特异免疫球蛋白、补体、某些抗体等内源性感染因素以及标本溶血、污染等外源性因素均可影响 ELISA 方法的检测结果而导致假阳性结果^[11-12]。因此初筛 ELISA 抗-HCV 检测结果在“灰区”范围内也并不代表都是处于“窗口期”标本,部分“灰区”标本有可能是发生非特异性反应导致检测结果值偏高。但 ELISA 方法检测 HCV 抗体的“灰区”标本中确实存在一部分 HCV 的感染者。

综上所述,由于检测结果灰区(真值)的存在,ELISA 抗-HCV 检测试剂“最低检出浓度”有限,对于用 ELISA 方法检测 HCV 抗体处在“灰区”范围内的标本必须引起高度重视,可根据实验室使用的不同检测试剂设置一个适合我实验室的“灰区”范围。因为这部分标本中有可能存在真正的 HCV 感染者。从表 4、表 5 可以看出,对于相同的标本用不同的检测试剂在同一个实验室进行检测,其检测值之间也是有差异的;有报道即使使用相同的试剂和检测设备在不同实验室检测相同的标本,其检测结果也存在差异。因此各实验室设置试剂检测结果“灰区”的范围是不一致的。各实验室可以根据自身的“室内质控”判定规则以及试剂“批内”和“批间”之间差异,并进行重复性实验和确认实验,综合评估后根据实验室使用的不同检测试剂设置一个适合自己实验室的“灰区”范围,以保证血液质量检测安全。

参考文献

- [1] Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection[J]. *Lancet Infect Dis*, 2005, 5: 558-567.
- [2] Xia R, Lu L, Wang J, et al. Correlation of viral loads with HCV genotypes: higher levels of virus were revealed among blood donors infected with 6 strains[J]. *PLoS One*, 2012, 7: 452-467.
- [3] Mohd HK, Groeger J, Flaxman AD, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence[J]. *Hepatology*, 2013, 57: 1333-1342.
- [4] 钟江, 陈文霞, 刘玉娇, 等. 无偿献血者抗-HCV 筛查与 RIBA 补充实验情况的综合分析[J]. *中国输血杂志*, 2016, 29(6): 616-619.
- [5] 李育芬, 楚承霞, 杨颖. HCV 检测方法研究进展及其临床意义[J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(5): 1342-1344.
- [6] 陈菲, 骆珊, 郭风繁, 等. 丙型肝炎病毒各感染状态外周血中白细胞介素 8 表达水平研究[J]. *现代医院*, 2016, 16(2): 164-166.
- [7] 任宪辉, 姚冬杰, 张洋. 丙型肝炎患者 HCV-RNA 感染与血清自身抗体的相关性分析[J]. *国外医学(医学地理分册)*, 2016, 37(2): 131-133.
- [8] Costantino A, Spada E, Equestre M, et al. Naturally occurring mutations associated with resistance to HCV NS5B polymerase and NS3 protease inhibitors in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C[J]. *Virology*, 2015, 12: 186.
- [9] Walker DR, Pedrosa MC, Manthena SR, et al. Early View of the Effectiveness of New Direct-Acting Antiviral(DAA) Regimens in Patients with Hepatitis C Virus(HCV)[J]. *Adv Ther*, 2015, 32: 1117-1127.
- [10] 卢香云, 程江, 包建玲, 等. ELISA 法检测丙型肝炎病毒抗体最佳临界值及其可疑区间[J]. *现代预防医学*, 2015, 42(10): 1841-1844.
- [11] 彭吉芳. 丙型肝炎病毒检测假阳性 1 例[J]. *临床输血与检验*, 2014, 16(2): 217-218.
- [12] 李金明. 感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(7): 577-580.

(收稿日期: 2019-03-08)