

ELISA 检测单试剂反应性献血者跟踪检测结果分析

代静¹ 刘维卓² 何红¹ 蔡兰¹

[摘要] 目的:了解攀枝花地区酶联免疫吸附试验(ELISA)检测单试剂反应性献血者情况,探讨在攀枝花地区通过献血者追踪检测对单试剂反应性献血者回归的意义,为指导制定相应的献血者归队策略,进一步稳定和扩大献血者队伍提供依据。**方法:**对 2017-01-01—2018-01-31 收集的 18 154 例无偿献血者 ELISA 及核酸检测结果进行统计分析,并对其中单试剂反应性的献血者从检出后第 6 个月、12 个月仍用 2 次 ELISA 加 1 次核酸的方法进行 2 次跟踪检测。**结果:**18 154 例献血者 ELISA 检测不合格共计 264 例(1.45%),其中双反应性 144 例(0.79%),单反应性 120 例(0.66%)。在对 115 例单试剂反应性献血者的跟踪检测中有 12 例(10.4%)ELISA 及核酸检测均为非反应性,2 例抗-HIV 确认为阴性,97 例(84.3%)ELISA 仍然为单试剂反应性,其余 6 例(5.2%)转化为双试剂反应性。**结论:**通过追踪检测提示,在未开展确证实验,不改变检测试剂和检测方法的前提下,跟踪检测对献血者回归、稳定献血者队伍意义不大。但能提示开展核酸检测的情况下,只采用 1 种 ELISA 检测试剂进行初筛,可能存在漏检的风险,同时进行 2 次 ELISA 检测仍有必要。

[关键词] 酶联免疫吸附试验;单试剂反应性;献血者;核酸检测

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.12.014

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Analysis of tracking test results of elisa-single reagent reactive blood donors

DAI Jing LIU Weizhuo HE Hong CAI Lan

(¹Department of Quality Management, Panzhihua Center Blood Station, Panzhihua, 617067, China; ²Department of Clinical Laboratory, Panzhihua Center Blood Station)

Corresponding author: HE Hong, E-mail: 228996235@qq.com

Abstract Objective: To investigate the situation of single reagent reactive blood donors detected by ELISA in panzhihua area. To explore the significance of tracing blood donors for the return of blood donors in this area. To provide the basis for guiding the formulation of the strategy of returning blood donors, stabilizing and expanding the team of blood donors. **Method:** The results of ELISA and nucleic acid test in 18 154 volunteer blood donors from Jan. 1, 2017 to Jan. 31, 2018 were analyzed. The single reagent reactivity blood donors were tracked twice by ELISA plus nucleic acid in the 6th and 12th months after detection. **Result:** A total of 264 cases (1.45%) of 18 154 blood donors were not qualified by ELISA, of which 144 cases (0.79%) were bireactivity and 120 cases (0.66%) were monoreactivity. A total of 115 cases were detected. 12 cases (10.4%) were non-reactive in ELISA and NAT, 97 cases (84.3%) were still single reagent reactivity, and the other 6 cases (5.2%) were converted to double reagent reactivity. Two anti-HIV single reagent reactivity specimens were confirmed negative. **Conclusion:** Without changing the detection reagents and methods, tracking detection is of little significance to the return of blood donors and the stabilization of blood donors.

Key words enzyme linked immunosorbent assay; single reagent reactive; blood donor; nucleic acid test

按照规程规定,血站在对献血者的血液进行输血传染病指标检测时均采用 2 种不同厂家的试剂进行检测。由于试剂灵敏度的差异,出现了部分献血者的血液检测结果为单试剂检测阳性。为了保证血液安全,大部分的血站对酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)单试剂反应性献血者进行了献血屏蔽,从而造成部分献血者流失。为了稳定我地区无偿献血者队伍,指导制定献血者回归方案,保证血液质量,减少血液浪费,同时为无偿献血的宣传、招募、征询工作提供

相应的科学依据,笔者对我站 18 154 例献血者中的 115 例单试剂反应性的献血者追踪检测结果进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 对象

研究 2017-01-01—2018-01-31 按照国家有关标准进行体检和健康征询,符合 GB18467-2011 献血者健康检查要求,在我站成功献血的无偿献血者 18 154 例。所有标本均符合要求并且在规定时间内完成检测。

1.2 仪器与试剂

STAR 全自动加样仪(HAMILTON); FAME24/20 全自动酶免分析仪(HAMILTON),

¹攀枝花市中心血站质量管理科(四川攀枝花,617067)

²攀枝花市中心血站检验科

通信作者:何红, E-mail: 228996235@qq.com

爱康 AE288 全自动酶免分析仪;DA3000 核酸提取仪(达安基因),AFD9600 实时荧光定量 PCR 仪(杭州安杰思);乙肝表面抗原(HBsAg)试剂:英科新创和 Murex;丙肝抗体(抗-HCV):英科新创和 ORTHO;艾滋病病毒抗体(抗-HIV):英科新创和伯乐;梅毒螺抗体(抗-TP):英科新创和北京万泰。所有仪器均按规定进行维护保养,运行状态良好。所有试剂均符合国家要求,使用前经过确认,并在有效期内严格按试剂说明书使用。

1.3 检测方法

ELISA 检测项目包括 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP。检测策略为 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 每个检测项目采用 1 种国产试剂,1 种进口试剂进行检测,抗-TP 用 2 种不同厂家的国产试剂同时进行检测。结果判定:按照试剂说明书的要求 S/CO 值 ≥ 1.0 为有反应性, < 1.0 为无反应性。若 2 种试剂均呈反应性判定为双试剂反应性(简称双反应性),若 2 种试剂均为非反应性判定为非反应性,若有一种 ELISA 试剂反应性或灰区则对该项目进行双孔复试,双孔复试结果只要有一孔为反应性就最终判定为单试剂反应性(简称单反应性),双孔复试结果均为非反应性判定为非反应性,双孔复试均为反应性判定为双反应性。对 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 检测结果为双试剂反应性、ALT 阳性和抗-TP 项目不再进行核酸检测,抗-HIV 反应性送市 CDC 确认,对非反应性及单反应性的标本进行核酸检测。对单反应性献血者进行追踪检测,再次抽取血液标本进行 ELISA 和核酸检测,按照归队指南^[1],采取屏蔽期最长的检测项目 HCV 的屏蔽时间为一轮(6 个月),从初次检出时间开始计算的第 6 个月后进行第 1 轮追踪检测,第 1 轮检测结果为单试剂反应性者于第 12 个月后进行第 2 轮检测。

对初次及追踪检测结果进行收集,整理,分析。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,用 χ^2 检验比较差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 初次检测结果

18 154 例献血者 ELISA 检测不合格共计 264

例(1.45%),其中双反应性 144 例(0.79%),单反应性 120 例(0.66%)。国产试剂检测单反应性 48 例(0.26%),进口试剂检测单反应性 72 例(0.40%),进口试剂单反应性所占比率比国产试剂明显偏高,差异有统计学意义($\chi^2 = 9.600, P < 0.05$)。核酸检测 17 783 例,阴性 17 766 例,反应性 17 例。单反应性标本核酸检测阳性率为 4.17% (5/120),非反应性标本核酸检测阳性率为 0.07% (12/17 663),单反应性标本核酸检测阳性率明显高于非反应性标本,差异有统计学意义($\chi^2 = 168.938, P < 0.05$)。详见表 1。

表 1 ELISA 及 NAT 初次检测结果 例(%)

项目	ELISA 检测		NAT 检测
	双反应性	单反应性	反应性
HBsAg	48(0.28)	28(0.12)	14(0.055)*
抗-HCV	5(0.11)	61(0.31)	2(0.008)*
抗-HIV	7(0.05)	2(0.02)	1(0.004)
抗-TP	84(0.48)	29(0.11)	—
合计	144(0.91)	120(0.56)	17(0.067)

注:* 14 例 HBV 核酸反应性献血者中同时单试剂反应性的有 4 例,2 例 HCV 核酸反应性献血者中同时单反应性 1 例。

2.2 追踪检测结果

为了指导我地区制定献血者回归方案,稳定、壮大无偿献血者队伍,对 120 例单反应性献血者进行追踪检测,5 例由于各种原因不能参加,对其中的 115 例献血者进行了跟踪检测。经过 2 轮追踪,共有 12 例(10.4%)为非反应性;97 例(84.3%)仍为单反应性;6 例(5.2%)为双反应性。2 例抗-HIV 单试剂反应性标本 CDC 确诊均为阴性。第 1 轮追踪结果为:非反应性 6 例(5.2%)、单反应性 106 例(92.1%)、双反应性 3 例(2.6%)。第 2 轮追踪结果为:非反应性 6 例(5.7%)、单反应性 97 例(91.5%)、双反应性 3 例(2.8%)。核酸检测阳性同时呈双试剂反应性 1 例为抗-HCV。第 1 轮和第 2 轮检测结果为单试剂反应性的比较,抗-HIV、HBsAg、抗-HCV、抗-HCV、抗-TP 检测结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 2。

表 2 ELISA 单试剂反应性献血者跟踪检测结果

例(%)

项目	6 个月跟踪检测					12 个月跟踪检测				
	例数	非反应性	单反应性	双反应性	核酸阳性	例数	非反应性	单反应性	双反应性	核酸阳性
HBsAg	27	1(3.7)	24(88.9)	2(7.4)	2(7.4)	24	2(8.3)	22(91.7)	0(0.0)	0(0.0)
抗-HCV	60	3(5.0)	57(95.0)	0(0.0)	1(1.7)	57	2(3.5)	54(94.7)	1(1.8)	1(1.8)
抗-HIV	2	0(0.0)	2(100)	0(0.0)	0(0.0)	2	0(0.0)	2(100)	0(0.0)	0(0.0)
抗-TP	26	2(7.7)	23(88.5)	1(3.8)	—	23	2(8.7)	19(82.6)	2(8.7)	—
合计	115	6(5.2)	106(92.1)	3(2.6)	3(2.6)	106	6(5.7)	97(91.5)	3(2.8)	1(0.9)

3 讨论

按照《血站技术操作规程》规定,血液检测合格判定标准为:HIV、HBV、HCV、梅毒感染性标志物检测的最终结论为无反应性。目前大多数血站为了保证血液安全,预防经血液传播疾病的发生,对于单试剂反应性献血者,采取的是永久性屏蔽的方式,这种方式虽然可以最大限度地保证受血者的输血安全,但是由于采供血机构使用的是灵敏度较高的 ELISA 检测试剂,在相同原理和技术水平条件下,筛查试验(试剂)灵敏度与特异性呈反比关系,灵敏度较高的 ELISA 试剂难以完全避免假阳性问题。本站初筛结果 HBsAg 单反应性占 0.12%,HCV 单反应性占 0.31%,TP 单反应性占 0.11%,HIV 单反应性占 0.02%,以 HCV 所占比例最高,与国内的其他报道以 HBsAg 单反应性所占比例最高不一致^[2]。这与各血站选择的试剂灵敏度不同有关。在单试剂反应性标本中 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 三者的进口试剂所占比率比国产试剂明显偏高,差异有统计学意义($P < 0.05$),显示进口试剂灵敏度较高,可能导致假阳性明显偏高。按照目前的淘汰策略,不仅使一部分符合要求的献血者不能献血,造成血液资源浪费,同时也会造成献血者的献血热情降低。随着医学技术的发展临床用血量在不断增加,稳定和壮大献血队伍是血站目前重要任务之一,为此国内专家提出了反应性献血者屏蔽与归队策略,指出在进入归队流程的献血者其检测结果为核酸阴性及双试剂阴性者符合回归条件^[3-4]。笔者通过对 4 项血筛检测单反应性献血者的跟踪检测,探讨单反应性献血者继续献血的可行性,保证无偿献血队伍的稳定,以上数据可见目前检测试剂检测结果无论批内或批间重复性较好。追踪检测结果可以提示:单试剂反应性 97 例(84.3%)>非反应性 12 例(10.4%)>双反应性 6 例(5.2%)。检出率仍以单试剂反应性为主,与刘玉强^[5]的报道一致。跟踪 6 个月和 12 个月的重复检测结果与初次检测的符合率很高,实际符合回归条件的人员很少,HBsAg 单试剂检测反应性献血者有 3 例(11.1%)、抗-HCV 有 5 例(8.3%)、抗-HIV 无、抗-TP 有 4 例(15.4%),低于国内相关文献的报道^[6]。符合回归条件的以抗-TP 所占比例最高(15.4%)、依次为 HBsAg(11.1%)、抗-HCV(8.3%),与刘宇宁等^[7]报道基本一致。第 1 轮追踪检测结果为单试剂反应性者共 106 例(92.1%),第 2 轮追踪检测结果为单试剂反应性者仍有 97 例

(84.3%),均高于国内相关文献报道^[8]。检测结果为双试剂反应性的献血者 6 例(5.2%),转为双阳性的比例低于国内相关文献的报道^[9]。我站追踪检测单试剂反应性献血者比例高于国内相关报道,可能与本站进行跟踪的人员未进一步作确认试验筛选,检测结果存在假反应性有关。提示在不具备确认试验条件的基层血站,在不改变目前检测策略的前提下,跟踪检测对攀枝花地区献血者回归、稳定献血者队伍有一定意义,但作用不明显。

为了最大限度的保留献血者,排除假阳性检测结果,对献血者进行两轮追踪,并对两轮结果进行比较。但是通过追踪检测可以看出,第 1 轮和第 2 轮检测结果比较差异无统计学意义,提示我站检测试剂检测结果重复性较好。但值得注意的是,单反应性标本核酸检测阳性率明显高于非反应性标本。并且在追踪检测时核酸检测阳性的同时单反应性的 3 例献血者最终均转化为了双试剂反应性。提示在开展核酸检测的情况下,只采用一种 ELISA 检测试剂进行初筛,可能存在漏检的风险,同时进行 2 遍 ELISA 检测仍有必要。

参考文献

- [1] 朱永明. 反应性献血者屏蔽与归队指南[M]. 北京:中国输血协会,2013.
- [2] 张利,丁显平,朱国彪. 输血相关感染性标志物检测对完善献血员保留机制的探讨[J]. 临床血液学杂志,2016,29(2):142-144.
- [3] 郭永健,姚凤兰,林授,等. HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血屏蔽与归队指引(上)[J]. 中国输血杂志,2011,24(1):79-85.
- [4] 葛红卫,林授,王德海,等. HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血屏蔽与归队指引(下)[J]. 中国输血杂志,2011,24(1):172-176.
- [5] 刘玉强. ELISA 法试剂灰区或单试剂阳性献血者追踪调查研究[J]. 检验医学与临床,2016,13(增刊):274-275.
- [6] 黄凌峰. 单试剂阳性的献血者追踪分析研究[J]. 中国医学工程,2015,23(7):124-124.
- [7] 刘宇宁,蔡菊英,刘晓音. 血液筛查 HBsAg、抗 HCV 假阳性献血者归队的调查分析[J]. 中国输血杂志,2012,25(3):260-262.
- [8] 庞栋,申卫东,张翔,等. ELISA 筛查单试剂反应献血者追踪检测[J]. 中国输血杂志,2014,27(4):381-383.
- [9] 姜莹,苏武锦,张翔,等. 丙型肝炎病毒抗体筛查单试剂反应性献血者的追踪检测[J]. 检验医学与临床,2014(13):1818.

(收稿日期:2019-05-24)