

## 2 种方法检测献血者丙型肝炎病毒抗体结果分析\*

邓燕清<sup>1</sup> 王湜<sup>1</sup> 黄伯泉<sup>1</sup>

**【摘要】 目的:**为血液中心丙型肝炎病毒(HCV)抗体检测试剂由间接法更改为双抗原夹心法提供依据。**方法:**随机抽取 2018—2020 年无偿献血者标本,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)间接法双试剂(A、B)和双抗原夹心法双试剂(A1、B1)检测抗-HCV 抗体,同时进行 HCV RNA 核酸检测。统计分析 4 种抗-HCV ELISA 试剂盒检测结果,单试剂阳性标本复查阳性符合率。**结果:**抗-HCV ELISA 间接法双试剂、双抗原夹心法双试剂共检测无偿献血 116 843、98 903 人份,间接法抗-HCV 抗体单试剂阳性标本复检阳性率 0.088%(102/116 843)与双抗原夹心法抗-HCV 抗体单试剂阳性标本复检阳性率 0.012%(12/98 903),差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。单试剂阳性标本均进行双试剂双孔复检,试剂 A、B、A1、B1 的再检阳性符合率分别为 A(61.90%)>B(54.95%)>A1(50.00%)、B1(50.00%),4 种试剂之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),单试剂阳性标本核酸 RNA 均为阴性。**结论:**本地区无偿献血者抗 HCV 抗体酶免双试剂阳性人群在性别、年龄分布有差异,对日后招募低危献血者人群有指导意义。抗-HCV 双抗原夹心法 ELISA 检测特异性更高,减少假阳性率,保证临床用血安全。

**【关键词】** 丙型肝炎病毒;阳性再检符合率;假阳性率;低危人群

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2021.04.011

**【中图分类号】** R512.6 **【文献标志码】** A

## Analysis of two methods for detection of hepatitis C virus antibody in blood donors

DENG Yanqing WANG Jian HUANG Boquan

(Guangzhou Key Laboratory of Blood Safety, Guangzhou Blood Center, Guangzhou, 510095, China)

**Abstract Objective:** To provide the basis for the change of HCV antibody detection reagent from indirect method to double antigen sandwich method in our blood center. **Methods:** Samples of unpaid blood donors in our center from 2018 to 2020 were randomly selected to detect anti HCV antibody by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) indirect double reagent(a, b) and double antigen sandwich double reagent(A1, B1), and HCV RNA and nucleic acid were detected at the same time; the detection results of four kinds of anti HCV ELISA kits and the positive coincidence rate of single reagent positive samples were statistically analyzed. **Results:** A total of 116 844 and 98 903 blood donors were detected by the double reagents of anti HCV ELISA indirect method and double antigen sandwich method. The positive rate of anti HCV antibody single reagent of indirect method was 0.088%(102/116 843) and that of anti HCV antibody single reagent of double antigen sandwich method was 0.012%(12/98 903), the difference was statistically significant( $P < 0.05$ ). The positive coincidence rates of A, B, A1 and B1 were A(61.90%)>B(54.95%)>A1(50.00%) and B1(50.00%), respectively. There was no statistical difference between the four reagents( $P > 0.05$ ). The nucleic acid RNA of single reagent positive samples was negative. **Conclusion:** There are differences in gender and age distribution of anti HCV antibody double reagent positive blood donors in this region, which has guiding significance for future recruitment of low-risk blood donors; anti HCV double antigen sandwich ELISA has higher specificity, reduces false positive rate, and ensures the safety of clinical blood use.

**Key words** hepatitis C virus; coincidence rate of positive re examination; false positive rate; low risk population

丙型肝炎是一种由丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染引起的病毒性肝炎,可发展为肝纤维化、肝硬化,甚至肝癌,给患者的生命安全带来了严重的威胁<sup>[1]</sup>,同时是一种传染性较强的疾病,给世界各国都带来了一定的影响<sup>[2]</sup>。据世界卫生组织统计,全球 HCV 的感染率约 3%,近 2 亿人感染 HCV<sup>[3]</sup>,主要经输血、吸毒、针刺纹身等传播。

我国丙型肝炎通过输血感染率为 0.2%~0.4%,输血成为主要传播方式,所以对于无偿献血者的血液筛查工作十分重要。血液安全是采供血机构和输血工作中最关注的问题。目前采供血机构多采用 2 种不同厂家的酶免试剂盒检测 HCV 抗体,对献血者进行初复检筛查工作。血筛工作者多把重点放在提高检测灵敏度、减少漏检、保障血液安全上,而对于筛查的假阳性问题重视不够。笔者通过统计我中心 HCV 抗体筛查情况对间接法双试剂

\*基金项目:广州市医学重点学科建设项目(血液安全重点实验室)

<sup>1</sup>广州血液中心广州市血液安全重点实验室(广州,510095)

和双抗原夹心法双试剂,4种抗-HCV试剂检测结果进行比对统计分析,现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验对象

分别留取2018年12月—2019年4月、2019年12月—2020年4月不同年份同一时间段无偿献血者标本,年龄18~55岁。所有献血者采用ED-TA-K2真空抗凝管留取2管5ml血液,使用带分离胶的真空抗凝管做核酸检测。标本采血后4h内离心,运输温度控制在2℃~8℃,24h内检测。

### 1.2 试剂与仪器

每个时间段酶联免疫吸附试验(ELISA)项目采用2种试剂盒进行筛查:抗-HCV血清学筛查试剂分别为间接法酶联免疫HCV抗体诊断试剂盒(用试剂A、B表示)、双抗原夹心法酶联免疫HCV抗体检测试剂盒(用试剂A1、B1表示);所有试剂均严格按照使用说明书操作。仪器:ML-STAR加样仪(瑞士HAMILTON);FAME24/30自动酶联免疫后处理系统;酶联免疫分析仪(瑞士HAMILTON);340a酶标仪(奥地利Anthos);孵育箱;洗板机等;核酸检测试剂与仪器应用TIGRIS全自动血液核酸检测仪(美国盖立复公司),配套试剂为Procleix Ultrio assay(美国盖立复公司),按照说明书要求进行操作。

### 1.3 实验方法

依据卫生部GB18467-2011《献血者健康检查标准》对无偿献血者标本进行筛查。丙型肝炎项目用A和B试剂盒对2018年12月19日—2019年4月22日采集标本进行筛查,用A1和B1试剂对2019年12月19日—2020年4月22日采集标本进行检测。检测策略及检测结果判定应用ELISA法和核酸对标本进行平行检测,ELISA结果 $\geq$ Cut off值判为阳性,结果 $<$ Cut off值判为阴性。单试剂阳性标本进行双试剂双孔复核检测,均为阴性者则为合格,其中1种为阳性判为不合格。同时对所有标本进行核酸检测,查看标本核酸结果。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 17.0软件对检测结果进行统计分析。用 $\chi^2$ 检验对结果进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 抗-HCV筛查结果

间接法、双抗原夹心法各检出抗-HCV阳性标本199、57人份,单试剂阳性+双试剂阳性总不合格率0.17%、0.06%,试剂A、B、A1、B1复检单试剂阳性标本数为52、50、6、6,核酸结果均为阴性,4种试剂其单试剂阳性率A、B与A1、B1差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1。

表1 4种试剂HCV初筛阳性复查结果比对

方法	试剂厂家	初筛单试剂阳性标本/人份	复查阴性标本/人份	复查阳性标本/人份	单试剂阳性率/%
间接法	A	84	32	52	0.045
	B	91	41	50	0.043
双抗原夹心法	A1	12	6	6	0.007
	B1	12	6	6	0.007

### 2.2 4种试剂再检阳性符合率

试剂A、B、A1、B1检测抗-HCV抗体初筛阳性再检阳性符合率为61.90%(52/84)、54.95%(50/91)、50.00%(6/12)、50.00%(6/12),4种试剂再检阳性符合率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.3 人群分布情况

2个时间段内双试剂阳性率中心站内与集中检测(包含花都、增城、从化),差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。中心站内个人献血双试剂阳性率高于团队献血的0.059%,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。从性别方面看,男女双试剂阳性率差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),男性高于女性。不同年龄段献血者双试剂阳性率差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),阳性率随年龄段升高而升高,见表2。在不合格人群中,非首次献血双试剂阳性仅1人份。

表2 不同年龄段HCV双试剂抗体阳性情况

年龄/岁	献血总人数	双试剂阳性标本数	阳性率/%
18~29	100 094	25	0.021
30~39	48 476	33	0.068
40~49	30 306	42	0.139
$\geq 50$	9 236	20	0.217

## 3 讨论

ELISA是常用的HCV抗体检测技术,在目前HCV抗体检测过程中已经开始使用第3代试剂,这些试剂中包括NS3以及HCV-core等,这些试剂的检测灵敏度近乎100%<sup>[4]</sup>,具有检测灵敏度高、特异性较好且成本低等特点,被临床实验室广泛使用,大多数国家应用于献血者的血液初筛,按反应原理分为间接法和双抗原夹心法。间接法标记的是抗IgG,当样本中含有内源性干扰物质,如类风湿因子、自身抗体、补体等时,就会出现假阳性。双抗原夹心法标记的是HCV抗原,研究证实双抗原夹心法试剂能有效减少这类假阳性的发生。因抗原纯度或标本存在溶血等原因所以假阳性无法完全避免,与HCV RNA等其他方法比较ELISA检测HCV存在假阳性<sup>[1]</sup>。

我中心HCV检测阳性标本中间接法(试剂A、B)单试剂阳性占比明显高于双抗原夹心法(试

剂 A1、B1),有报道显示酶免单试剂阳性其假阳性率较高,单试剂检测阳性标本未检出核酸反应性标本<sup>[5]</sup>,而本次研究中在 ELISA 试剂单阳性的血样中,采用核酸检测(NAT)并未发现抗-HCV 阳性的血样,这一研究结果与黄耀东等<sup>[6]</sup>、武春燕<sup>[7]</sup>研究结果一致。此外,实验室操作中标本加样量前者采用 10  $\mu\text{L}$  而后者采用 50  $\mu\text{L}$ ,加样量的增加可以对实验操作过程中漏加、加样量不足等原因造成的漏检起到很好的避免作用,标本与稀释液比例增高还可以缩短窗口期<sup>[8]</sup>,因此,HCV 抗体检测方法学上,双抗原夹心法具有更好的灵敏度及特异性<sup>[9]</sup>,其替代间接法在采供血机构大批量献血者血液筛查可有效地降低由于检测结果假阳性而造成的血液资源浪费。

4 种试剂抗-HCV 抗体复检阳性率差异无统计学意义,初筛结果阳性再检阴性,其原因笔者认为加完样后酶标板孔壁上贴有微小血块或杂质,洗板机堵孔均会导致结果呈假阳性。因此,实验室操作人员在检测工作过程中需严格按照规程操作,对可疑的抗-HCV 抗体单试剂阳性标本用 2 种不同厂家试剂盒进行双试剂双孔复检,以避免浪费宝贵的血液资源。据报道 NAT 可将 HCV 检测窗口期由 70 d 缩短到 10~14 d,所以丙型肝炎抗体检测由夹心法原理替代间接法原理的酶联免疫试剂,并结合 NAT 应用于无偿献血者丙型肝炎筛查,可更加有效地对血液进行筛查,保证临床输血安全。而对于抗 HCV 抗体复检单试剂阳性的献血人员,采供血机构可以结合自身情况对其进行随访,可定期组织此类献血人员采集标本复检减少献血人员流失使其正名归队,建立合理的献血者淘汰与归队机制。

近年来,抗 HCV 抗体阳性献血人员在性别年龄上可见,在 18~29 岁 HCV 抗体阳性率最低,阳性率随年龄段上升而增加,这可能与广州地区有较大中专院校,招募此类献血员较多有关。在男女献血人群比例上抗-HCV 阳性率男性明显高于女性,这与本地区男性静脉注射毒品人员较多、男男

性行为、不洁异性性行为、男性纹身比例高等因素有关。此外,首次献血抗-HCV 抗体阳性率也高于多次献血者,所以在日后献血招募中应加大力度动员既往合格献血者再次献血,提高女性、高校学生等低危群体的献血比例,可以有效降低 HCV 经输血传播的风险。同时,加强献血者的健康教育,让献血者了解高危行为和窗口期风险,采血前仔细询问,以便有高危行为人员主动退出献血,同时建立一支固定的献血者队伍具有重要意义。

#### 参考文献

- [1] 何学虎,郭雅琪,董洁,等. 新型丙型肝炎病毒核酸定量试剂检测性能验证[J]. 中华医院感染学杂志, 2019,29(6):821-826.
- [2] 马淑青,宋宇,毕艳妮,等. HCV 抗体血清学检测联合 HCV-RNA 检测的应用价值:附 2 例病例分析[J]. 实用检验医师杂志,2019,11(2):122-124.
- [3] 蔡华娟,张雅丽,林永财,等. 酶联免疫吸附试验试剂与核酸检测联检丙型肝炎病毒的检测模式的选择分析[J]. 临床合理用药杂志,2019,12(9):161-163.
- [4] 谢振迪,金速速,余坚,等. 乙型肝炎病毒基因分型的双通道荧光 PCR 检测及其在未成年乙型肝炎病毒感染者中的临床应用[J]. 中国卫生检验杂志,2019,29(6):662-665.
- [5] 马晓军,杨文勇,李治鹏. 乙型肝炎、丙型肝炎单试剂检测阳性献血者的分析[J]. 检验医学与临床,2019,16(08):1107-1109.
- [6] 黄耀东,彭云娟,魏丽华. 丙型肝炎病毒抗体检测联合核酸检测在血液筛查中的价值[J]. 实用检验医师杂志,2018,10(1):53-54.
- [7] 武春艳. 某市无偿献血者血样不合格率及乙肝、丙肝、艾滋筛查结果分析[D]. 济南:山东大学,2018.
- [8] 汪峰,费静娴,庄小狮,等. 抗-HCV ELISA 试剂评价体系的建立及检测结果[J]. 临床血液学杂志,2015,28(3):462-464.
- [9] 吴敏,陈俊梅,刘召波,等. 乙型肝炎病毒核心抗体 IgM 的蛋白芯片检测法研究[J]. 现代生物医学进展,2019,19(3):560-562,575.

(收稿日期:2020-11-30)