

junctive skin care[J]. *Cutis*, 2013, 92(5):234-240.

[11] 丁惠玲, 韩娜娜, 仪晓芹, 等. 玫瑰痤疮生活质量调查分析[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2016, 12(12):1271-1274.

[12] 徐敏. 综合护理干预对慢性荨麻疹患者心理状态及生活质量的影响[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2017, 38(1):124-125.

[13] VAN DER LINDEN M M, VAN RAPPARD D C, DAAMS J G, et al. Health-related quality of Life in patients with cutaneous rosacea: a systematic review[J]. *Acta Derm Venereol*, 2015, 95(4):395-400.

(收稿日期:2018-09-14 修回日期:2018-11-06)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.08.029

## 乙型肝炎、丙型肝炎单试剂检测阳性献血者的分析

马晓军, 杨文勇, 李治鹏

(四川省广元市中心血站检验科 628017)

**摘要:**目的 探讨血站酶联免疫吸附测定(ELISA)检测乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)灰区设置的必要性及单试剂阳性献血者淘汰与归队的相关问题。方法 将2015年1月至2018年1月广元地区采集的无偿献血者标本进行ELISA双试剂检测,对ELISA检测HBV、HCV单试剂反应性及灰区标本再次进行核酸检测。结果 85 558例标本中共检出HBV阳性703例,HCV阳性362例,其中HBV单试剂阳性401例,占比57.04%,HCV单试剂阳性247例,占比68.23%,HBsAg灰区171例,抗-HCV灰区115例。对ELISA单试剂阳性及灰区标本进行核酸检测后,共检出HBV DNA反应性标本6例,未检出HCV DNA反应性标本。结论 ELISA检测HBV、HCV单试剂阳性,其假阳性率较高,采供血机构可结合自身实际情况,建立合理的献血者淘汰及归队机制。

**关键词:** HBV; HCV; 核酸检测; 单试剂阳性; 灰区; 献血者归队

**中图分类号:** R331

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-9455(2019)08-1107-03

乙型肝炎病毒(HBV)是有高度传染性和流行性的严重危害人类健康的传染病性病毒,据WHO统计,全球慢性乙型肝炎的感染者超过2.4亿<sup>[1]</sup>。我国是HBV高发区,据有关调查显示,我国HBV携带者约为1.2亿,感染率高达60%,乙型肝炎表面抗原(HBsAg)携带者亦高达10%~15%<sup>[2]</sup>。HBV可经多种途径传播,主要有经血液、母婴、性接触传播,其中经输注血液制品传播是其重要的传播途径之一。丙型肝炎是一种由丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的病毒性肝炎,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癌。据WHO统计,全球HCV的感染率约为3%,约1.8亿人感染了HCV,每年新发丙型肝炎病例约3.5万例。其传播方式主要是母婴、血液和性传播,如输血、毒品注射、移植等。据统计,我国输血后乙型肝炎感染率为0.1%,丙型肝炎为0.2%~0.4%,因此对于无偿献血者的血液筛查工作非常重要<sup>[3]</sup>。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集2015年1月至2018年1月本血站采集的85 558例无偿献血者血液标本。所有无偿献血者均按照国家卫生健康委员会现行《献血者健康检查要求》(GB 18467-2011)进行筛选。献血者年龄18~55岁,均体检合格,HBsAg金标试纸条快速筛查HBsAg阴性,丙氨酸氨基转移酶(ALT)试纸条

筛查ALT<50 U/L,硫酸铜比重法测量血红蛋白,筛查结果均符合要求。

**1.2 仪器与试剂** 采用低温低速离心机、冰箱、冰柜、Hamilton STAR全自动加样仪、FAME全自动酶联免疫吸附测定(ELISA)检测仪、FAME全自动ELISA检测仪 Hamilton STAR全自动混样仪、Roche COBAS201AmpliPre全自动核酸提取系统、CTM核酸扩增检测系统。采用两种不同厂家的ELISA试剂进行HBsAg、抗-HCV检测。HBsAg检测试剂:HBV表面抗原诊断试剂盒,由北京万泰生物和法国伯乐(进口)提供。抗-HCV检测试剂盒由北京万泰生物、美国强生(进口)和意大利索灵提供(进口)。核酸试剂:二代(MPX2检测试剂),由美国罗氏提供。所有试剂均在有效期内使用。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 所有血液检测标本均由采自献血者的血袋留取,分别放置于2支以乙二胺四乙酸抗凝的5 mL真空采血管中,第1管不含分离胶,取血液标本用于ELISA检测,第2管含分离胶,用于核酸扩增检测,且核酸检测管于采血后4 h内4℃水平离心20 min,离心力1 600 g,标本于专用标本运输箱2~10℃运回保存于2~8℃冰箱中,并于72 h内完成检测,未能在72 h内完成检测的核酸标本,于-20℃冻存。

**1.3.2 检测方法** 采用两种不同厂家的ELISA试

剂进行 HBsAg、抗-HCV 检测, ELISA 试验完成后, 挑选 ELISA 单试剂阳性及灰区标本进行核酸检测。(1)ELISA 试验严格按照《血站技术操作规程(2015 版)》要求, 同时采用 2 种不同厂家生产的 ELISA 试剂对 85 558 份标本进行 HBsAg 及丙型肝炎抗体检测, 检测过程严格按照 SOP 及试剂使用说明书进行。试验结果阴阳性对照均成立, 室内质控在可控范围内。任何一种试剂 S/CO 值 $\geq 1.0$  为反应性, 本血站设置 $0.7 \leq S/CO$  值 $< 1.0$  为灰区, 对检测单试剂阳性及灰区标本, 使用检出阳性或灰区的同一种 ELISA 试剂进行双孔复测, 复检后任一种试剂任一孔 S/CO 值 $\geq 1$  时, 则判定为阳性。(2)核酸检测使用 Hamilton STAR 全自动混样仪将每 6 份标本取样混入一个混样池, 每份标本吸取 167  $\mu$ L, 后进入 Roche COBAS201 AmpliPre 全自动核酸提取系统、CTM 核酸扩增检测系统进行核酸提取、扩增, 检测结果由核酸检测系统自动判读。定性拆分核酸检测阳性混样池, 即对阳性混样池内 6 份标本进行单人份检测。核酸检测过程中, 均采用了外部质控, 同批次检测。试验过程中, 工作人员严格按照标准操作规程及试剂说明书进行检测, 且保证质控在控。

## 2 结 果

**2.1 标本中 HBV、HCV 阳性标本比例** 85 558 例无偿献血者标本中共计检出 HBV 阳性标本 703 例, 占比 0.82%, HCV 阳性标本 362 例, 占比 0.42%; 其中 HBV 单试剂阳性标本 401 例, 占比 0.47%, HCV 单试剂阳性 247 例, 占比 0.29%; HBsAg 灰区标本 171 例, 占比 0.20%, 抗-HCV 灰区标本 115 例, 占比 0.13%。见表 1。

表 1 85 558 例标本中 HBV、HCV 阳性标本比例

项目	HBV	HCV	HBV 单试剂	HCV 单试剂	HBV 灰区	HCV 灰区
阳性(n)	703	362	401	247	171	115
比例(%)	0.82	0.42	0.47	0.29	0.20	0.13

**2.2 HBV、HCV 单试剂阳性标本于阳性标本占比** 703 例 HBV 阳性标本中, HBV 单试剂阳性标本 401 例, 占比 57.04%; 362 例 HCV 阳性标本中, HCV 单试剂阳性标本 247 例, 占比 68.23%。见表 2。

表 2 HBV、HCV 单试剂阳性标本于阳性标本占比

项目	HBV	HCV	总计
单试剂阳性例数(n)	401	247	648
阳性例数(n)	703	362	1 065
单试剂阳性比例(%)	57.04	68.23	60.84

**2.3 HBsAg 灰区标本核酸检测反应性标本比例** 总计 934 例 HBsAg 及抗-HCV, ELISA 检测单试剂

阳性、灰区标本进行核酸检测后, 共计检出 HBV DNA 反应性标本 6 例, 且 6 例 HBV DNA 反应性标本均为 ELISA 检测 HBsAg 灰区标本, 未检出 HCV RNA 反应性标本。见表 3。

表 3 171 例 HBsAg 灰区标本核酸检测反应性标本比例

项目	HBV DNA	HCV RNA
核酸检测反应性例数(n)	6	0
比例(%)	3.5	0

## 2.4 HBV 进口试剂与国产试剂单试剂阳性率比较

401 例 HBsAg ELISA 检测单试剂阳性标本中, 进口试剂(法国伯乐)检出单试剂阳性标本数 193 例, 占比 48.13%; 国产试剂(北京万泰)检出 208 例, 占比 51.87%; 247 例 HCV ELISA 检测单试剂阳性标本中, 进口试剂(美国强生)检出单试剂阳性标本数 166 例, 占比 67.21%; 进口试剂(意大利索林)检出单试剂阳性标本数 46 例, 占比 18.62%; 国产试剂(北京万泰)检出 35 例, 占比 14.17%。见表 4。

表 4 HBV 进口试剂与国产试剂单试剂阳性率比较

厂家	法国伯乐 (HBsAg)	北京万泰 (HBsAg)	美国强生 (HCV)	意大利索林 (HCV)	北京万泰 (HCV)
单试剂阳性(n)	193	208	166	46	35
比例(%)	48.13	51.87	67.21	18.62	14.17

## 3 讨 论

ELISA 是酶联免疫测定技术中应用最广的技术。其基本原理是将抗原抗体的特异性免疫反应与酶的催化反应相结合, 具有灵敏度高, 特异度强, 利于自动化操作等特点, 于血液筛查试验中得到了大量的应用。但因其高灵敏度, ELISA 易受到多种影响因素的干扰, 从而导致假阳性, 其常见影响因素有试剂、环境、操作、类风湿因子、补体等, ELISA 检测出现的假阳性反应, 经常表现为单试剂或单次检测呈阳性反应<sup>[4]</sup>。

本血站检测 2015 年 1 月至 2018 年 1 月的 85 558 例无偿献血者标本中, 检出 HBV 阳性标本 703 例, 占比 0.82%, 高于河南南阳 0.38%<sup>[5]</sup>, 低于湖南郴州市 1.157%<sup>[6]</sup>; HCV 阳性标本 362 例, 占比 0.42%, HCV 阳性率高于江西九江地区 0.18%<sup>[7]</sup> 与河北承德 0.42%<sup>[8]</sup> 相当。其中 HBV 单试剂阳性 401 例, HCV 单试剂阳性 247 例, 分别占比为 57.04%、68.23%。通过对比, 国产试剂 HBV 单试剂检测阳性率 51.87%, 较进口试剂的 48.13% 稍高, 但总体相差不大; 而 HCV 单试剂阳性率国产试剂为 14.17%, 进口试剂美国强生、意大利索林分别为 67.21% 与 18.62%, 进口试剂单试剂阳性率明显高于国产试剂。

进行核酸检测后,单试剂检测阳性标本及抗-HCV 灰区标本中均未检出核酸反应性标本,171 例 HBsAg 灰区标本中,检出 HBV DNA 反应性标本 6 例。核酸检测技术有效降低了因 ELISA 技术缺陷导致的漏检情况,但灰区设置对 ELISA 检测仍有一定作用。根据《血站技术操作规程(2015 版)》要求,血清学检测后均需进行 1 次核酸检测,所以采供血机构可根据自身情况决定是否对 HBV、HCV 检测进行灰区设置,但是灰区设置的方法与范围有待进一步探讨。

血液筛查 ELISA 检测试剂灵敏度较高,但对于阳性和灰区标本的结果,我国尚未要求对其作进一步验证,因此检测出现的阳性结果因多数采供血机构没有开展确证试验而无法及时得到证实<sup>[9-10]</sup>。根据本血站检测数据,HBV、HCV 检测阳性标本中,单试剂阳性占比分别为 57.04%、68.23%,于 HBV、HCV 检测总阳性标本量中的占比较高达 60.84%。因检测结果单试剂阳性较高的假阳性率,单试剂阳性献血者被屏蔽,其中不乏因单试剂假阳性而被淘汰的献血者。据有相关文献表明,ELISA 筛查单试剂反应性献血者中有很大比例为潜在合适献血者,南宁及河南新乡地区追踪调查结果显示,单试剂反应性献血者中潜在合适献血者比例分别为 86.6%、58.3%<sup>[11-12]</sup>。单试剂假阳性不仅直接导致了血液资源的浪费,削弱了无偿献血者队伍,同时对因假阳性而遭到淘汰的献血者身心造成了伤害,对无偿献血事业的健康发展造成了不良影响。血液资源异常宝贵,如何降低因 ELISA 检测单试剂假阳性而导致的献血者淘汰及归队问题,笔者认为可从以下几点入手:(1)建议试剂厂商在保证试剂检测灵敏度的同时,适当提高检测试剂的特异性,降低因检测试剂灵敏度过高而导致的假阳性;(2)采供血机构在屏蔽单试剂阳性献血者至少 6 个月后<sup>[13]</sup>,对献血者进行随访并采集标本,进行 HBV、HCV NAT 和 HBsAg、抗-HCV 检测,对检测合格的献血者解除屏蔽,恢复其无偿献血资格;(3)增加补充实验或者确证试验,目前国内大部分省份已经实现了省内采供血机构联网,建议以省为单位统一规划建设集中检测确证实验室,开展单试剂反应性标本的确证;(4)修订《献血者健康检查要求》《血站技术操作规范》,建立标准化的献血者归队策略,明确单试剂反应性标本补充及确证试验方法。

因本血站尚未开展单试剂阳性献血者的追踪及确认工作,核酸检测不能作为 HBV、HCV 的确证试

验,同时核酸检测也具有有一定时间范围的窗口期及受到标本水平等因素的影响,所以 ELISA 检测单试剂阳性献血者的分析需进行进一步探讨。

综上所述,血站工作中应珍惜每一个无偿献血者,采供血机构可结合自身实际情况,在保证血液质量的同时,对 ELISA 检测灰区进行设置并建立合理的献血者归队机制,慎重对待 HBV、HCV ELISA 检测单试剂阳性无偿献血者的淘汰及归队工作。

## 参考文献

- [1] LAVANCHY D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus[J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(2): 107-115.
- [2] 王清图,马振芝,修霞,等. 乙肝病毒母婴传播的途径[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14(1): 127-128.
- [3] 王富国. 输血感染后的处理[J]. 淮海医药, 2002, 20(6): 498-499.
- [4] 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): 124-127.
- [5] 姚瑞英. 无偿献血人群乙肝表面抗原感染情况调查[J]. 中国卫生产业, 2014, 11(32): 97-98.
- [6] 罗永芬,李光清,王业坤. 无偿献血者 HBsAg ELISA 筛查阳性结果确证分析[J]. 实用预防医学, 2010, 17(7): 1412-1413.
- [7] 陈红. 丙肝检测单试剂阳性献血者的分析[J]. 实验与检验医学, 2016, 34(2): 248-250.
- [8] 王天恒,董志伟,王淑香. 承德地区无偿献血人群 HBV、HCV、HIV 感染情况调查[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(1): 68-69.
- [9] 李雪梅,杨茂春,杨春晴,等. 献血者 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP ELISA 检测阳性与确证试验的对比研究[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(6): 541-543.
- [10] 曾劲峰,陈云龙,郑欣,等. HBsAg、抗-HCV 反应性无偿献血者归队检测模式探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(23): 3207-3209.
- [11] 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.
- [12] 张艳梅,王新梅,郭喜彪,等. 抗-HCV ELISA 单阳、双阳献血者补充实验及跟踪分析研究[J]. 中国卫生产业, 2016, 13(16): 43-45.
- [13] 郭永建,姚凤兰,林授,等. HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血者屏蔽与归队指引(上)[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(1): 81-84.

(收稿日期:2018-09-10 修回日期:2018-11-02)