

两种 HIV ELISA 试剂在无偿献血血液筛查中的应用

陶丽芳,伍圣克

广西壮族自治区血液中心质量管理科,广西柳州 545005

摘要:目的 了解实验室进口 BIO-RAD 第 4 代抗原抗体检测超敏试剂(以下简称 BIO-RAD 试剂)与国产上海科华第 3 代人类免疫缺陷病毒(HIV)-1/HIV-2 抗体试剂(以下简称上海科华试剂)检测抗-HIV 的结果,为选择适应实验室的试剂提供一定的科学依据。**方法** 用上海科华与进口 BIO-RAD(伯乐)两种 ELISA 试剂对 2015—2017 年柳州市无偿献血者标本进行抗-HIV 检测,分析其检测结果。**结果** 2015—2017 年柳州市无偿献血标本 218 478 份双试剂阳性反应率为 0.060%;上海科华试剂初次阳性反应率为 0.064%,BIO-RAD 试剂初次阳性反应率为 0.465%,上海科华试剂重试阳性反应率为 46.429%;BIO-RAD 试剂重试阳性反应率为 27.461%。上海科华试剂阳性反应送检确认阳性率为 0.000%,BIO-RAD 试剂阳性反应送检确认阳性率为 0.358%。**结论** 在 HIV 感染高流行区和灵敏度要求高的采供血机构实验室建议使用 HIV ELISA 第 4 代抗原抗体超敏试剂加上核酸检测,避免漏检,确保血液的安全性,保证临床用血安全。

关键词:血液筛查; 人类免疫缺陷病毒; 酶联免疫吸附试验

中图分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)18-2702-03

人类免疫缺陷病毒(HIV)主要通过母婴传播、血液传播和性传播。柳州市艾滋病疫情形势严峻,为了解及筛选出更适合本实验室的 HIV 检测策略,防止 HIV 的漏检,本研究对 2015—2017 年柳州市无偿献血者标本用两种酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂进行检测,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015—2017 年广西壮族自治区血液中心检验科检测的柳州市无偿献血者标本共 218 478 份。所有献血者均是柳州市街头无偿献血和企事业单位无偿献血者,均符合《献血者健康检查要求》2012 年新国标要求。

1.2 主要仪器与试剂 仪器:ELISA 筛查采用 TE-CAN EVO 200、TECAN EVO 150 全自动标本处理系统,FAME24/30 全自动酶免分析系统,340RT、Sunrise 酶标仪。试剂:国产试剂(上海科华生物工程股份有限公司生产)第 3 代 HIV-1/HIV-2 抗体检测试剂(以下简称上海科华试剂),进口试剂(BIO-RAD 公司生产)第 4 代抗原抗体检测超敏试剂(以下简称 BIO-RAD 试剂)。所有仪器均在校准有效期和正常状态下使用,所有试剂均为批检合格试剂,均在有效期内使用。

1.3 方法 ELISA 采用两个不同生产厂家试剂,两种试剂检测呈阳性反应则该标本判为筛查阳性反应;单试剂检测呈阳性反应,需用原试剂双孔重试,任一孔为阳性反应则该标本判为筛查阳性反应;所有筛查阳性反应的标本送柳州市疾病预防控制中心(CDC)确证实验室,采用蛋白印迹法进行确证。所有检测过程严格按照仪器及试剂盒说明书的要求进行操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分

析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

2 结果

2.1 柳州市无偿献血标本的两种 ELISA 试剂检测结果情况统计 2015—2017 年柳州市 218 478 份无偿献血者标本中双试剂阳性反应 132 份(0.060%),上海科华试剂初次阳性反应 140 份(0.064%),BIO-RAD 试剂初次阳性反应 1 016 份(0.465%)。不同年份间阳性反应率差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 2015—2017 年柳州市无偿献血标本的两种 ELISA 试剂检测结果情况统计[n(%)]

年份	n	双试剂阳性	上海科华试剂阳性	BIO-RAD 试剂阳性
2015 年	68 941	42(0.061)	60(0.087)	301(0.437)
2016 年	75 100	47(0.063)	30(0.040)	385(0.513)
2017 年	74 437	43(0.058)	50(0.067)	330(0.443)
合计	218 478	132(0.060)	140(0.064)	1 016(0.465)

2.2 单试剂初次阳性反应的重试结果情况统计 对 2015—2017 年单试剂初次阳性反应进行原试剂双孔重试结果情况统计,发现上海科华试剂初次阳性反应 140 份中有 65 份重试阳性反应,重试阳性反应率为 46.429%;BIO-RAD 试剂初次阳性反应 1 016 份中有 279 份重试阳性反应,重试阳性反应率为 27.461%;不同年份间上海科华试剂重试阳性反应率差异有统计学意义($\chi^2 = 17.86, P < 0.01$);不同年份间 BIO-RAD 试剂重试阳性反应率差异无统计学意义($\chi^2 = 5.37, P > 0.05$),见表 2。

2.3 两种 ELISA 试剂初次阳性反应送检确认阳性反应结果统计情况 对 2015—2017 年两种 ELISA

试剂阳性反应性标本送柳州市 CDC 确证实验室的确认阳性反应结果进行统计,结果显示:上海科华试剂阳性反应送检 65 份,有 0 份确认阳性反应,确认阳性反应率为 0.000%,5 份不确定,不确定率为 7.692%;BIO-RAD 试剂阳性反应送检 279 份,有 1 份确认阳性反应,确认阳性反应率为 0.358%,17 份不确定,不确定率为 6.093%;不同年份间确认阳性反应符合率与不确定率差异无统计学意义($P>0.05$),没有上升或下降趋势,见表 3。

2.4 两种 ELISA 试剂阳性反应落在灰区的送检确认结果统计情况 对 2015—2017 年两种 ELISA 试剂阳性反应落在灰区的送检确认结果进行统计,发现上海科华试剂阳性反应落在灰区的占 38.462%,确认

阳性反应为 0.000%,BIO-RAD 试剂阳性反应落在灰区的占 47.312%,确认阳性反应为 0.358%,见表 4。

表 2 2015—2017 年单试剂初次阳性反应的重试结果情况统计

年份	上海科华试剂		BIO-RAD 试剂	
	初次阳性 (n)	重试阳性 [n(%)]	初次阳性 (n)	重试阳性 [n(%)]
2015 年	60	40(66.667)	301	70(23.256)
2016 年	30	11(36.667)	385	120(31.169)
2017 年	50	14(28.000)	330	89(26.970)
合计	140	65(46.429)	1 016	279(27.461)

表 3 2015—2017 年两种 ELISA 试剂初次阳性反应送检确认阳性反应结果统计情况

年份	上海科华试剂			BIO-RAD 试剂		
	初次阳性(n)	确认阳性[n(%)]	不确定[n(%)]	初次阳性(n)	确认阳性[n(%)]	不确定[n(%)]
2015 年	40	0(0.000)	2(5.000)	70	1(1.429)	0(0.000)
2016 年	11	0(0.000)	1(9.091)	120	0(0.000)	15(12.500)
2017 年	14	0(0.000)	2(14.286)	89	0(0.000)	2(2.247)
合计	65	0(0.000)	5(7.692)	279	1(0.358)	17(6.093)

表 4 2015—2017 年两种 ELISA 试剂阳性反应落在灰区的送检确认结果统计情况

年份	上海科华试剂			BIO-RAD 试剂		
	初次阳性(n)	灰区[n(%)]	确认阳性[n(%)]	初次阳性(n)	灰区[n(%)]	确认阳性[n(%)]
2015 年	40	21(52.500)	0(0.000)	70	42(60.000)	1(1.429)
2016 年	11	2(18.182)	0(0.000)	120	50(41.667)	0(0.000)
2017 年	14	2(14.286)	0(0.000)	89	42(47.191)	0(0.000)
合计	65	25(38.462)	0(0.000)	279	132(47.312)	1(0.358)

注:本实验室灰区是按 cut off 值的 60% 设置的。

3 讨 论

3.1 柳州市无偿献血人群 HIV 感染率明显高于全国无偿献血人群 从表 1 看,2015—2017 年献血者标本双试剂阳性反应率 0.060%,这与刘峭梅等^[1]报道的柳州市无偿献血人群 HIV 感染率为 0.058% 相符,明显高于亳州献血人群 HIV 感染率(0.017%)^[2],也高于广州地区无偿献血人群 HIV 感染率(29.6/10 万)^[3]。

3.2 BIO-RAD 试剂假阳性高于上海科华试剂 从表 1、2 看,BIO-RAD 试剂初次阳性反应率远高于上海科华试剂,其重试阳性反应率低于上海科华试剂,说明 BIO-RAD 试剂假阳性率高于上海科华试剂,原因可能为 BIO-RAD 试剂包被纯抗原造成了一部分假阳性,另外也与 BIO-RAD 试剂对纤维蛋白和某些颗粒物质有交叉反应有关,如抗链球菌溶血素 O、反应蛋白、类风湿因子、抗核抗体等对 P24 抗原干扰物质^[4],还有洗液、洗板要求程度不同等方面的原因。

3.3 BIO-RAD 试剂灵敏度较高可减少漏检的发生 从表 3 看,BIO-RAD 单试剂阳性有 1 例(该例标本核酸检测结果为阴性反应)确认为 HIV P24 抗原

阳性,说明 BIO-RAD 试剂灵敏度高,如果两种试剂均采用国产第 3 代的情况下,就会造成 HIV 抗原的漏检。上海科华试剂阳性反应有 5 份不确定;BIO-RAD 试剂有 17 份不确定;不确定结果预示有较大的感染风险,因没有对不确定结果的献血者进行追踪复查,因此不了解这些标本是窗口期 HIV 感染还是非特异性抗体引起,需做进一步研究调查。

3.4 BIO-RAD HIV 试剂灵敏度较高,且有必要设置灰区 从表 4 看,上海科华试剂阳性反应落在灰区的 25 份标本,确认阳性反应为 0 份,BIO-RAD 试剂阳性反应落在灰区的 132 份标本,确认阳性反应 1 份,并利用血站信息系统进行追踪,其核酸检测结果为阴性反应,说明是病毒载量低的慢性或持续性感染,虽然这比率比较低,但是涉及血液的安全,本实验室 BIO-RAD 试剂设立灰区是非常必要的。这与文献[5-7]报道第 4 代抗-HIV ELISA 试剂检测不必设置灰区不同,这可能与 HIV 感染流行区域有关,也可能与实验室环境有关。上海科华试剂可以结合核酸检测(NAT)结果取消灰区的设立或者提高灰区的设置,

以减少日常工作量和献血者的误淘汰,这与文献[5-8]报道相符。

综上所述,本研究结果表明,上海科华试剂受干扰因素少,交叉反应少,因此假阳性低,减少了血液的报废与血源的流失,降低本实验室资源的浪费,更重要的是减轻了确证阴性献血者的心理负担和精神压力,可以结合核酸结果取消灰区的设立或者提高灰区的设置,缺点是会造成对 HIV 抗原的漏检;BIO-RAD 试剂灵敏度高,可以缩短“窗口期”4~5 d^[9],提高检出率,更好地避免漏检,同时设立灰区也是非常必要的,特别是 BIO-RAD 单试剂灰区阳性反应有 1 列确认为 HIV P24 抗原阳性证明了这一点,但由于存在交叉反应和干扰因素较多,使其有更高的假阳性。本研究期间有 2 份 NAT 反应性、ELISA 检测阴性标本,送柳州市 CDC 确证实验室标本阴性,追踪和随访采样检测发现:1 份 CDC 最终确证抗-HIV 阳性,为 HIV“窗口期”感染者,1 份为阴性,说明病毒核酸检测有效缩短 HIV 检测的窗口期,对确保血液安全有重要意义。2019 版《血站技术操作规程》也提出了新的血液检测方法策略:HIV、乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)感染标志物应至少采用核酸和血清学试剂各进行 1 次检测。这样就对试剂提出了更大的考验,在选择试剂的时候一定要充分评估试剂,如果能对不确定结果的献血者进行追踪复查和补充试验检测,将能更好地考核试剂做出选择,对于在 HIV 感染高流行区和灵敏度要求高的采供血机构实验室,在实际工作中建议使用灵敏度高的 BIO-RAD 试剂和 NAT 结合检测策略避免漏检,确保血液的安全性,保证临床

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.18.036

用血安全。

参考文献

- [1] 刘峭梅,周仲民,王荔.柳州市无偿献血者 HIV 感染流行病学分析[J].国际检验医学杂志,2014,35(14):1898-1899.
- [2] 贾夫峰,张峰,罗港.亳州地区 2010—2017 年无偿献血者感染 HIV 情况分析[J].临床输血与检验,2018,20(4):351-353.
- [3] 黎世杰,冯凡凡,陈锦艳,等.2010—2015 年广州地区无偿献血人群 HIV 感染现状分析[J].临床输血与检验,2018,20(5):457-462.
- [4] 严凤好,钟展华,李雪群,等.HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 酶免阴性及单试剂反应性献血者核酸检测结果分析[J].临床输血与检验,2017,19(4):379-382.
- [5] 郭巍,张婷.献血者 HIV 筛查结果的回顾性分析及灰区设置的探讨[J].临床输血与检验,2017,19(3):281-283.
- [6] 王桂喜,汪道法.ELISA 法检测抗-HIV 灰区设置的探讨[J].临床输血与检验,2019,21(2):162-165.
- [7] 胡文佳,王亚武.献血者 HIV ELISA 反应性标本的结果分析及其灰区设置的探讨[J].中国输血杂志,2018,31(12):1337-1340.
- [8] 吕蒙恩,凌霞.献血者 HIV 1/2 血清学 ELISA 检测初试灰区标本的结果分析[J].中国输血杂志,2017,30(12):1387-1388.
- [9] 林诗雅,王湜,李仲平,等.2015 年广州地区无偿献血者核酸和 ELISA 检测结果分析[J].临床输血与检验,2017,19(2):137-141.

(收稿日期:2020-01-06 修回日期:2020-07-23)

腹泻儿童 A 群轮状病毒及粪便常规检测结果的分析

杨 严

湖北省荆州市中心医院检验科,湖北荆州 434020

摘要:目的 了解该地区儿童感染 A 群轮状病毒的流行病学特征及其粪便常规检查特点,为临床诊疗提供参考依据。方法 对 2018 年因腹泻来该院就诊的 1 810 例患儿的 A 群轮状病毒检测结果和粪便常规结果,按性别、年龄、月份和粪便常规特点进行分析。结果 1 810 例患儿 A 群轮状病毒抗原检测阳性 456 例,阳性率为 25.19%。其中,男性患儿阳性率为 24.86%;女性患儿阳性率为 25.69%,不同性别之间的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。6 个月至 2 岁的儿童为易感染阶段,阳性率最高(28.03%)。该地区 A 群轮状病毒感染高发季为 1 月和 12 月,其阳性率分别为 48.37%和 41.15%。经 Kappa 一致性检验,A 群轮状病毒抗原检测阳性率与粪便常规检查中白细胞、红细胞、隐血检出率一致性差,与脂肪球检出率有较好的一致性。结论 该地区 1 月和 12 月为 A 群轮状病毒感染高发期,6 个月至 2 岁的儿童为易感染人群,其粪便中脂肪球的检出率与轮状病毒阳性率有相关性。

关键词:轮状病毒; 脂肪球; 流行病学; 儿童腹泻

中图分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)18-2704-03

腹泻病是引起儿童营养不良和婴幼儿死亡的主要原因之一,因起病急,发展快,一直受到临床重点关注。A 群轮状病毒是导致婴幼儿腹泻的主要病毒,在

发达国家和欠发达国家均有较高比例,据报道,年龄<5 岁的儿童几乎都曾感染过 A 群轮状病毒^[1]。严重轮状病毒感染可造成多个脏器损伤,产生神经系