

2.2 标本支原体阳性检出率 687 例标本中阳性标本 240 例 (34.9%), 其中 Uu 阳性 130 例 (18.9%), Mh 阳性 24 例 (3.5%), Uu 和 Mh 混合阳性 86 例 (12.5%)。

3 讨论

支原体是一类大小和结构复杂程度介于病毒和细菌之间, 能在无生命培养基中生长和繁殖的最小原核细胞微生物^[3], 可引起人类慢性宫颈炎、盆腔炎、非淋菌性尿道炎、子宫内膜炎、输卵管炎及继发性不孕等疾病。目前在临床上支原体感染已经成为性传播疾病之一, 由于临床症状轻微, 病程长, 患者易延误治疗, 又由于支原体耐药菌株不断增加, 并出现多重耐药现象, 给临床治疗带来困难。通过对泌尿生殖道分泌物感染支原体的抗生素耐药性可用于指导临床用药, 以提高临床疗效。以上试验结果显示, 泌尿生殖道感染患者支原体检出率为 34.9%, 结果与国内文献报道相似^[4]。其中临床上支原体感染以 Uu 感染为主, 在阳性标本中检出率为 54.2%, 其次是 Uu 和 Mh 混合感染, 占 35.8%, 单纯 Mh 感染少见, 仅占 10.0%。

药敏试验结果显示, 支原体对交沙霉素、强力霉素、美满霉素的敏感性较高, 分别为 97.9%、94.6%、85.0%, 对环丙沙星、红霉素、阿奇霉素耐药率最高, 分别为 83.5%、69.2%、52.5%。故本地区支原体阳性患者治疗时应首选交沙霉素、强

力霉素、美满霉素进行治疗, 不宜将环丙沙星、红霉素、阿奇霉素作为治疗的一线用药。

鉴于支原体耐药菌株的不断变化, 建议临床医务人员在收治患者的初期或抗生素治疗效果不佳时, 要及时做药敏试验, 根据其药敏试验结果进行针对性治疗。另外由于抗生素在体内的代谢过程不同, 其敏感性在体内外存在不同程度的差异, 因此, 临床还应结合药物的药代动力学特点综合选择抗生素。

参考文献

- [1] 林平, 吴钟琪. 宫颈糜烂 317 例解脲支原体感染调查分析[J]. 中国妇幼保健, 2005, 20(2): 177-178.
- [2] 闫立青, 桑慧, 司红卫, 等. 不孕症患者支原体感染 376 例临床分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14(2): 97-98.
- [3] 倪安平. 支原体与衣原体的实验室诊断[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(9): 1076-1080.
- [4] 陈东科, 陈丽, 胡云建. 泌尿生殖道支原体感染趋势及耐药性分析[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(2): 170-172.

(收稿日期: 2010-06-03)

临床研究

ELISA 检测献血者 HBsAg 设定灰区的必要性

徐锦霞(江苏省无锡市红十字中心血站检验科 214021)

【摘要】 目的 探讨 ELISA 检测献血者 HBsAg 设置灰区以及灰区设置的合适范围。**方法** 用 ELISA 检测献血者血浆标本后, 选取吸光度值在临界值(cut off, CO)值以下 30%范围内的血浆标本 442 份, 用聚合酶链反应(PCR)检测其是否含有 HBV DNA。**结果** 吸光度值在 CO 值以下 10%范围内的标本检出 HBV DNA 阳性 2 份, 吸光度值在 CO 值以下 20%~10%范围内的标本检出 HBV DNA 阳性 1 份, 吸光度值在 CO 值以下 30%~21%范围内未检出 HBV DNA 阳性标本。**结论** 为了尽可能减少 HBV 漏检, 保障用血安全, 用 ELISA 检测献血者 HBsAg 时应该设置灰区并建议灰区下限设置在 CO 值以下 20%。

【关键词】 HBsAg; 灰区; 聚合酶链反应; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.21.032

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)21-2361-02

乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)是乙型肝炎病毒感染的最主要病原标志和直接证据之一^[1], 因而 HBsAg 是各采供血机构筛检献血者的必检项目。我国现行的献血法明确规定: 为保证医疗临床用血需要和安全, 保障用血者身体健康, 阳性标本必须报废, 不得用于临床。目前检测 HBsAg 的主要方法是酶联免疫吸附试验(ELISA), 但检测过程中经常会出现吸光度值在临界值(cut off, CO)值以下附近的值, 又由于 ELISA 本身检测敏感度不够高, 存在检测漏检的可能性, 所以绝大部分血站实验室根据自身情况在 ELISA 检测 HBsAg 中设置了灰区^[2]。其中部分实验室将 CO 值以下 10%范围内设置为灰区下限, 还有部分血站出于更严格的规范要求, 将灰区下限调整至 CO 值以下 30%范围内, 灰区标本都视为阳性报废, 最大限度保障了用血安全。为了探讨灰区设置的必要性和灰区设置的合适范围, 作者对本站 2006 年 1 月至 2007 年 6 月采集的 60 034 份无偿献血者血液样本 ELISA 筛查 HBsAg 结果进行分

析, 选取吸光度值在 CO 值以下 30%范围内的血液样本 442 份, 用聚合酶链反应(PCR)对其血浆进行 HBV DNA 检测, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试剂 HBsAg ELISA 试剂盒(厦门新创, 北京万泰); 乙型肝炎病毒核酸扩增 PCR 试剂盒(深圳匹基生物工程有限公司), 试剂均在有效期内使用。

1.2 仪器 HAMILTON STAR 加样仪、FAME 全自动酶免分析仪(瑞士)、Roche Light Cycler(罗氏公司)。

1.3 样本的采集和处理 2006 年 1 月至 2007 年 6 月采集的无偿献血者血液样本 60 034 份, 用以上两种 HBsAg 试剂进行初、复检, 操作方法严格按照试剂盒说明书执行, 由仪器配套软件判定结果。选取其中吸光度值在 CO 值以下 30%范围内的献血者样本 442 份, 重新留取 3 mL 血液于乙二胺四乙酸抗凝管内, 2 h 内分离血浆, 随后将血浆标本置于 -20 ℃冰箱中保

存备用。

1.4 HBV DNA 检测 使用 PCR 试剂盒检测重新留取的 442 份血浆标本,操作过程严格按照试剂盒说明书执行。

2 结 果

2.1 442 份献血者血浆经 PCR 检测,其中 HBV DNA 阳性标本有 3 份,阳性率为 0.68%(3/442),其余 439 份均为阴性,不同梯段的吸光度值具体结果见表 1。

表 1 442 份献血者标本的 PCR 检出情况

A 值梯段	n	HBV DNA 阳性数	阳性率(%)
CO 值以下 10%	106	2	1.89
CO 值以下 20%~11%	111	1	0.90
CO 值以下 30%~21%	225	0	0.00
合计	442	3	0.68

2.2 HBV DNA 阳性标本的定量范围 全部 3 份阳性标本 HBV DNA 定量都约为 10³~10⁴ copy/mL。

3 讨 论

目前采供血机构用于献血者 HBsAg 筛查的方法多为 ELISA,ELISA 测定是一种定性测定,必须在“阳性”和“阴性”之间有一个明确的分界值,即 CO 值,处于 CO 值周围一定范围内的测定结果可归为可疑,亦即 ELISA 的“灰区”。由表 1 可见,吸光度值在 CO 值以下 30%范围内的 442 份献血者标本中仍有 3 份 HBV DNA 阳性,可以说“灰区”范围内的标本仍然存在 HBV 感染的可能性。所以筛查献血者的 HBsAg,ELISA 是否有必要设立“灰区”以及“灰区”设置的合适范围应该引起每位从事血站血液检测工作人员的重视与深思,而这些处于“灰区”范围的献血者可以通过确认试验或追踪检测来确定到底是阴性还是阳性。

那么,HBV 感染的献血者标本为什么吸光度值会在低于且接近 CO 值的范围呢?可能存在以下几个方面的原因:(1)方法学因素。由于现在血站实验室中 ELISA 检测 HBsAg 多为进一步双抗体夹心法,据资料表明,在一步法 ELISA 中,有可能由于“钩状效应”的存在导致吸光度随抗原浓度的增加而下降,甚至不显色。而解决“钩状效应”最好的办法就是改进检测方法,可以通过采用二步法试剂盒或使用 PCR 等方法避免“钩状效应”对献血者标本 HBsAg 结果的影响^[3-4]。此外,ELISA 试剂的灵敏度明显较 PCR 低,资料显示,国产 ELISA 试剂的最低检出量仅达到 0.5 ng/mL,而一般认为 0.1 ng/mL HBsAg 即有传染性^[5]。因此,国产 ELISA 试剂对于一些低滴度的抗原检测具有局限性。当 HBsAg 含量低于所用方法的测定下限之下,如感染的“窗口期”、急性期后或恢复期、自限性感染末期的携带者等都有可能逃避 ELISA 的检测。(2)病毒变异方面因素。①编码 HBsAg 的 HBV 的 S 基因的突变,HBV 的 S 基因负责编码表达表面抗原,任何影响 S 蛋白表达水平或其抗原性的突变都可能导致抗原性的表达下降甚至不表达^[6],从而使常规试剂检测的吸光度下降甚至降至阴性水平;② HBV 的 X 基因变异导致的 HBV 低水平复制和 HBsAg 阴性的慢性无症状 HBV 携带者也可能使吸光度水平出现下降,尤其后者的隐匿性已构成对血液安全的威胁^[7]。作者认为,综合

以上几方面的原因,设立“灰区”并且设立合适的“灰区”下限对于保证输血安全极有意义。

当前,安全输血已成为一个全球性的问题,引起了全社会的关注。为了保证医疗临床用血的需要和安全,保证献血者和用血者的身体健康,我国于 1998 年颁布实施了《中华人民共和国献血法》,卫生部根据《中华人民共和国献血法》相继制定了《医疗机构临床用血管理办法》和《临床输血技术规范》等。从此我国临床用血工作步入了正规化、法制化的管理轨道。这些法律法规的出台就是规范采供血机构的操作,保证患者用血安全,而如何把握献血者筛查的标准是血站检测人员的关键职责所在。由表 1 可见,作者针对本站 2006 年 1 月至 2007 年 6 月的 60 034 份 ELISA 检测 HBsAg 结果中吸光度值在 CO 值以下 30%范围内的 442 份标本中有 3 份为 HBV DNA 阳性,这 3 份阳性标本吸光度值分布在 CO 值以下 20%的范围内,而在 CO 值以下 30%~21%的范围内未检出 HBV DNA 阳性标本。作者认为,在目前国产 HBsAg ELISA 试剂灵敏度较低的情况下有可能出现 HBsAg 的漏检,各实验室应根据自身实验室的情况设立合适的“灰区”。由表 1 可见,在 CO 值以下 20%~11%之间还存在 1 例 HBV DNA 阳性的标本,若以 CO 值以下 10%作为“灰区”下限的话,则有可能发生 HBsAg 漏检现象。由于血液资源的稀缺性,若以 CO 值以下 30%作为“灰区”下限则可能造成严重的血液资源浪费。因此,作者建议使用国产 HBsAg ELISA 试剂盒可以设立灰区下限至 CO 值以下 20%,可以最大限度减少经输血传播乙型肝炎的危险。当然除了“灰区”下限的调整,还可以通过集中化检测模式,整合优势资源,通过增加乙型肝炎标志物检测项目,使用灵敏度更高的检测手段(如 NAT 技术)来达到既提高血液检测的安全性,又尽量减少血液资源浪费的目的。

参考文献

[1] 李金明.乙型肝炎病毒血清标志物测定及结果解释的若干问题[J].中华检验医学杂志,2006,29(5):385-389.

[2] 李金明.血液感染性疾病标志物筛选中应重视的若干问题[J].中华检验医学杂志,2005,28(6):569-571.

[3] 杨振修.钩状效应与免疫学检验[J].上海医学检验杂志,1994,9(2):111-112.

[4] 张春英,冯百芳,殷珊,等.“一步法”检测 HBsAg 的“HOOK”效应[J].中国输血杂志,1994,7(4):188-189.

[5] 徐树良,石斌,谈维,等.荧光定量 PCR 对 ELISA-HBsAg “灰区”标本的再分析[J].中国输血杂志,2003,16(1):24-25.

[6] 钟熙,王佑春,Ling R,等.用现行国产 HBsAg EIA 试剂检测乙肝 S 基因突变体问题的研究[J].中华微生物与免疫学杂志,1998,18(2):85-87.

[7] 王贵强,斯崇文.应重视对隐匿性乙型肝炎的诊断[J].中华内科杂志,2002,41(10):649.