

淮北地区血站血液检测 ELISA 法弱阳性标本与 PCR 测定结果的比较

郭 滔¹, 程训民², 刘 颀² (1. 安徽省淮北市中心血站 235000; 2. 安徽省淮北市人民医院检验科 235000)

【摘要】 目的 探讨献血者乙型肝炎表面抗原(HBsAg)检测 ELISA 弱阳性标本与 PCR 检测 HBV-DNA 结果的符合程度,为献血者获得更准确的检测结果,以及为临床提供更安全的用血服务。**方法** 对 50 例献血者 HBsAg 检测 ELISA 弱阳性标本与 PCR 检测的结果进行比较。**结果** 50 例献血者 HBsAg 检测 ELISA 弱阳性标本的 PCR 检测 19 例阳性,31 例阴性,两者有相关性但也有差异。**结论** 临床须提高 ELISA 血液筛查试剂检测灵敏度,积极改善其检测特异性,为献血者提供更准确的检测结果。

【关键词】 献血者; 酶联免疫吸附测定; 乙型肝炎表面抗原检测; 弱阳性; PCR 检测; 比较

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.15.021 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)15-1866-01

Comparison of blood detection method of ELISA weak positive samples with PCR in Huaibei Guo Tao¹, Cheng Xun-min², Liu Sa² (1. Huaibei City Center Blood Station, Anhui 235000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Huaibei People's Hospital, Anhui 235000, China)

【Abstract】 Objective To explore conformity of weak positive blood of donors by ELISA for HBsAg and HBV DNA specimens by PCR, and to obtain more accurate results for providing safer blood service in clinic. **Methods** Weak positive blood specimens of 50 donors by ELISA HBsAg were compared with PCR results. **Results** In 50 weak positive specimens by ELISA, 19 specimens were positive and 31 specimens were negative by PCR, two were related, but they were still different. **Conclusion** It is necessary to continuously improve the ELISA blood screening reagent detection sensitivity at the same time, and actively improve the detection specificity for providing accurate results to blood donors.

【Key words】 blood donors; ELISA; HBsAg detection; weak positive; PCR detection; comparison

乙型肝炎表面抗原(HBsAg)是乙型肝炎病毒感染的主要检测指标,ELISA 方法简单、快速、成本低,且具有较好的特异性和较高的灵敏度,二次 ELISA 筛查有利于保障血液安全。目前,中国采供血机构在实施二次酶免筛查初、复检措施,初检二次阳性报告筛查(HBsAg)不合格;一次阳性同种试剂双孔复检,与第一次初检共 3 孔,有 2 孔阳性报告筛查(HBsAg)不合格^[1]。对于筛查(HBsAg)弱阳性献血者有部分到医院进行 HBsAg 检查,献血者医院检查结果经常是阴性,血站检验人员和献血者常常感到困惑,结合考虑 ELISA 实验影响因素,作者对 50 例献血者弱阳性标本进行了 PCR 检测以找出真正的感染者,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 淮北市血站 2010~2012 年部分弱阳性标本冰冻血清标本 50 例,献血者献血后血清于一 20 ℃ 冰冻保存,PCR 检测前 37 ℃ 水浴融化。

1.2 仪器 帝肯(TECAN)Freedom Evolyzer 150 全自动酶免分析仪(帝肯公司),FAME 全自动酶免分析仪(瑞士哈美顿公司),达安 DA7600 核酸扩增仪(中山大学达安基因股份有限公司)。

1.3 ELISA 检测 分别针对不同试剂严格按照其操作步骤和要求,设置自动加样程序及全自动酶联免疫分析仪检测程序,分批对所有样本做平行检测。若单一试剂阳性反应者则用同一试剂重复双孔试验,与第一次初检共 3 孔,有 2 孔阳性报告筛查(HBsAg)结果不合格。

1.4 DNA 提取 (1)标本处理:从筛查弱阳性的血清标本中吸取 100 μL 于离心管中,加入等量浓缩液,振荡器振荡混匀后

5 s;12 000 r/min 离心 10 min;去上清液,沉淀中加入 20 μL DNA 提取液,振荡器剧烈振荡混匀后 5~10 min,瞬时离心数秒,100 ℃ 恒温处理 10 min;12 000 r/min 离心 5 min,备用。(2)阴性质控品/乙型肝炎病毒(HBV)临界值阳性质控品/HBV 强阳性质控品处理:取出质控品,8 000 r/min 离心数秒,吸取 50 μL 至 0.5 mL 灭菌离心管中,加入 50 μL 浓缩液,振荡混匀 5 s。(3)HBV 阳性定量参考品处理:8 000 r/min 离心数秒后,备用。

1.5 PCR 扩增检测 取反应管若干,分别加入处理后的样品(包括标本、阴性质控品、临界值阳性质控品、强阳性质控品/阳性定量参考品)上清液 2 μL,8 000 r/min 离心数秒,将反应管放入荧光 PCR 仪上进行扩增检测。HBV-DNA 的拷贝数通过参与实验流程已知浓度的 HBV-DNA 标准品,得到关于 HBV-DNA 浓度与 CT 值的标准曲线,以其为标准得到待测标本中的病毒浓度。

2 结 果

ELISA 双试剂弱阳性标本 12 例,PCR 核酸检测阳性($>1 \times 10^2$ copy/mL)8 例,阴性 4 例,阳性率 66.7%;单试剂试剂弱阳性(经复检阳性)标本 20 例,PCR 核酸检测阳性($>1 \times 10^2$ copy/mL)3 例,阴性 17 例,阳性率 15%;单试剂试剂弱阳性(经复检阴性)标本 18 例,PCR 核酸检测阳性($>1 \times 10^2$ copy/mL)8 例,阴性 10 例,阳性率 44.4%。

3 讨 论

ELISA 法检测存在一定的假阳性,或者由于试剂本身存在一定的假阳性,或者由于标本溶血、脂肪(下转第 1868 页)

疗,实现轻作业期的延续,培养持久力和忍耐力。

1.2.2.4 社会适应训练期 时间 1 周,患者住院治疗目的是痊愈回归社会,希望出院后能胜任以前的工作,适应家庭角色,有良好的社会交往。此期应着重培养这方面的能力。可以做一些猜字游戏,开展家居如厨房、卫生间的布置与技巧训练,并各自谈自己的看法。开展集体心理治疗,如讲解出院指导,排练小品,将患者种种冲突下的心理表现呈现在舞台上,给别的患者和自己启迪,达到对生活的主动性和协调性,培养其顺其自然的心境。

1.2.2.5 定期开展效果评价 6 周的治疗结束后,将各小组情况进行总结评定,总结经验,找出不足,为下期治疗提供更好的治疗。

表 2 观察组与对照组不同的阶段的 SCL-90 各因子比较($\bar{x}\pm s$,分)

项目	组别	治疗前	治疗后		
			第 2 周	第 4 周	第 6 周
躯体化	观察组	2.20±0.54	2.09±0.52	1.95±0.51	1.89±0.45
	对照组	2.22±0.53	2.17±0.48	2.02±0.48	2.06±0.44
抑郁情绪	观察组	2.26±0.48	1.82±0.46	1.95±0.46	2.02±0.45
	对照组	2.33±0.47	1.91±0.47	2.01±0.42	2.17±0.38
人际敏感	观察组	2.08±0.43	2.03±0.61	1.95±0.47	1.89±0.48
	对照组	2.35±0.48	2.21±0.49	2.02±0.46	2.01±0.49
焦虑	观察组	2.38±0.43	1.96±0.50	1.94±0.47	1.98±0.49
	对照组	2.45±0.48	2.06±0.43	2.06±0.39	2.03±0.51
偏执	观察组	1.78±0.42	1.75±0.50	1.74±0.48	1.70±0.47
	对照组	1.82±0.42	1.81±0.47	1.82±0.38	1.82±0.42

1.2.3 评定工具及方法 采用 SCL-90 症状量表对两组患者进行调查分析,测试前按量表内容统一指导讲明测试的目的及要求,对文化程度低者,由治疗师逐条宣读后,由患者回答,全部参试者在规定时间内交表。

1.3 统计学处理 使用 SPSS13.0 统计软件进行处理,分析 SCL-90 因素分值,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 *t* 检验。

(上接第 1866 页)

血、抗凝不好造成纤维蛋白干扰,或者由于实验过程中的一些原因,造成个别健康献血者的血液 HBsAg 检测假阳性^[2-3]。这就要求血站血液检测人员对待 ELISA 法弱阳性献血者的解释要慎重,不能把他们等同于 HBsAg 感染者,在血站没有 PCR 核酸检测仪的情况下,建议他们到医院做核酸检测以确定准确结果,以免造成不必要的误解和精神负担。

50 例 ELISA 法弱阳性献血者标本 PCR 核酸检测 18 例单试剂阳性最后 ELISA 法检测阴性仍有 8 例 PCR 检测阳性(>1×10² copy/mL),说明血站血液检测仍存在漏检^[4],需要在检测方法和手段上进一步提高,降低漏检率,以保护临床用血安全。

综上所述,临床须提高 ELISA 血液筛查试剂检测灵敏度,积极改善其检测特异性,最大限度降低由假阳性反应导致的血液不合理淘汰和资源浪费。此外,推进中国核酸诊断技术在血液筛查中的应用研究和产品开发,探讨建立免疫学与核酸诊断技术相结合的血液病原学筛查模式,为切实提高血液安全提供

2 结 果

应用改良森田治疗的观察组 SCL-90 项目因子分的改善比对照组效果好,两组从第 2 周开始均有好转,第 2 周起观察组与对照组患者的抑郁情绪、焦虑、躯体化等方面比较差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

3 讨 论

对广泛性焦虑症患者进行改良森田治疗,可以帮助患者摆脱焦虑、抑郁情绪所造成的无助感、失望感,可以缓解患者紧张心理状态,消除抑郁不安的情绪,消除身心疲劳,促进患者康复。

针对焦虑症患者进行心理疏导及讲解发病机制,可使患者认识到疾病的相关知识和转归,加强战胜疾病的信心^[4]。治疗中患者能自由发表自我存在的问题,表现出愉快的情绪,积极地配合治疗,对疾病的治疗与康复起到了决定性的作用。

改良森田疗法注重行动、注重性格改变,这点正是疾病患者治疗的本质^[5]。通过改良森田的治疗,患者学会了自我调节与放松的方法,从而摆脱了苦恼,能够应用健康教育内容进行自我放松,对广泛性焦虑症患者的康复有积极的作用。

参考文献

- [1] 沈渔屯. 神病学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2002:460.
- [2] 中华医学会精神科分会. 中国精神障碍分类与诊断标准(CCMD-3)[M]. 3 版. 济南:山东科学技术出版社,2001:106-107.
- [3] Wang SM, Kaim ZN. Auricular acupuncture; a potential treatment for anxiety[J]. Anesth Analg, 2001, 92(2):548-553.
- [4] 杨丽明,刘秀勤. 心理护理结合生物反馈促进焦虑症患者康复[J]. 中华护理杂志,2004,39(10):784
- [5] 大原浩一,大原健士郎. 森田疗法与新森田疗法[M]. 崔玉华,言明昭,译. 北京:人民卫生出版社,1995:36.

(收稿日期:2012-02-18)

科学的技术保障^[5]。

参考文献

- [1] 陈筱华,林碧,陈荣仓,等. 无偿献血者 HBsAgELISA 筛查阳性样本病毒核酸检测的研究[J]. 现代实用医学,2008,21(6):480-481.
- [2] 钱筑宁,谷俊莹. 对影响 ELISA 实验质量的有关因素的分析[J]. 贵州医药,2009,29(12):1131-1132.
- [3] 宋炳荣,杜彩霞. ELISA 一步法检测乙型肝炎病毒标志物影响因素的实验研究[J]. 实用医技杂志,2004,11(9):1836-1838.
- [4] 李花. PCR 法对输血前患者 ELISA 检测 HBsAg 弱阳性标本的再分析[J]. 中国现代医生,2010,48(24):59-60.
- [5] 叶贤林,尚桂芳. 免疫筛查阴性献血者血样病毒核酸检测的研究[J]. 中国输血杂志,2005,18(4):286-289.

(收稿日期:2012-02-14)