

血液筛查中丙型肝炎病毒检测方法的应用评价

金一鸣¹, 方志红², 曹 谊¹ (1. 苏州市中心血站 215004; 2. 苏州市中医医院检验科 215006)

【摘要】 目的 比较血液筛查中丙型肝炎病毒的检测方法, 并探讨其应用价值。**方法** 收集 2011 年 8~12 月血液筛查中酶联免疫吸附试验(ELISA)、丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)阳性标本共 41 例, 使用重组免疫印迹试验进行确证; 同时用新创、Ortho 两种抗-HCV ELISA 试剂以及 Architect Anti-HCV Reagent 化学发光试剂进行检测, 比较三者结果的差异。**结果** 统计学分析显示, 3 种检测方法的检测结果差异有统计学意义。重组免疫印迹试验检测 HCV 阳性 35 例, 阴性 6 例, 与 Architect 化学发光法结果相符, 新创 ELISA 法检测 41 例全为阳性, Ortho ELISA 法检测阳性 33 例, 阴性 8 例。**结论** Ortho 试剂对 HCV 检测的特异性高于新创试剂, 化学发光法对 HCV 检测的特异性高于 ELISA 法, 化学发光法与 ELISA 法联合检测能提高血液筛查中 HCV 的阳性检出率, 对可疑标本再做重组免疫印迹试验分析。

【关键词】 丙型肝炎病毒抗体; 酶联免疫吸附试验; 重组免疫印迹试验; 免疫化学发光

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.05.019 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)05-0552-02

Application evaluation of methods for detection of hepatitis C virus in blood screening JIN Yi-ming¹, FANG Zhi-hong², CAO Yi¹ (1. Suzhou Municipal Blood Center, Suzhou, Jiangsu 215004, China; 2. Department of Laboratory, Suzhou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Suzhou, Jiangsu 215006, China)

【Abstract】 Objective To compare the detection methods of hepatitis C virus in blood screening and to explore its application value. **Methods** 41 cases of anti-HCV positive samples detected by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) in blood screening during August—December 2011 were collected and performed the confirmatory assay by Western blot. At the same time, two kinds of anti-HCV ELISA reagent provided by Intec and Ortho companies and Architect anti-HCV reagent were adopted for detection. The differences in the results among three methods were compared. **Results** The statistical analysis showed that the results detected by three methods had statistical difference. In the recombinant immunoblot assay measurement, 35 cases were HCV positive and 6 cases were negative, which conformed to the results by the Architect chemiluminescence immunoassay. In the Intec enzyme immunoassay test, 41 cases were all positive. In the Ortho enzyme immunoassay test, 33 cases were positive and 8 cases were negative. **Conclusion** The Ortho reagent is more specific than the Intec reagent for the HCV detection, the chemiluminescence immunoassay detection is more specific than the enzyme immunoassay. The combined detection of the chemiluminescence immunoassay and the enzyme immunoassay can improve the detection rate of HCV positive in blood screening. The suspicious sample is further analyzed by the recombinant immunoblot assay.

【Key words】 hepatitis C viral antibody; enzyme-linked immunosorbent assay; recombinant immunoblot assay; chemiluminescence immunoassay

丙型肝炎病毒(HCV)为嗜肝性慢性病毒, 是引起输血后非甲非乙型肝炎(NANBH)的主要病原体, 是输注血液或血液制品后引起医疗纠纷的主要原因之一。过去十年间, HCV 的筛查是建立在对 HCV 血清学抗体的大量筛查检测基础上的, 但由于 HCV 感染窗口期的存在以及某些耐受人未发生血清转化等, 使丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)检测未能准确反映患者体内 HCV 的感染状态; 而用于确证及定量检测 HCV 感染的技术也有各自的局限性。因此分析 HCV 的检测技术对提高 HCV 在血液筛查中的检测准确率有着重大的意义。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选择 2011 年 8~12 月血液筛查中酶联免疫吸附测定(ELISA)抗-HCV 阳性标本 41 例, 该检测标本由检验科工作人员进行血液筛查后留取, -20℃保存。

1.2 试剂与仪器 Ortho 抗-HCV ELISA(简称 Ortho)试剂, 英科新创(Intec)抗-HCV ELISA 试剂, Architect Anti-HCV Reagent Kit 化学发光试剂, 新加坡 Genelab 的 HCV Blot 3.0 Western Blot Assay。以上所有检测试剂均有国家批准文号并

有批检合格标识, 且在有效期内使用。抗-HCV 室内质控血清(卫生部临床检验中心)。TECAN 全自动加样仪和 FAME2430 全自动 ELISA 分析系统(澳斯邦公司), 雅培 ARCHITECT i2000SR 免疫发光检测系统。

1.3 方法 将收集的 41 例 ELISA 抗-HCV 阳性标本用 RIBA 重组免疫印迹试验(新加坡 Genelab 的 HCV Blot3.0 Western Blot Assay)进行确证试验检测, 同时用新创、Ortho 两种 ELISA 抗-HCV 试剂以及 Architect 抗-HCV 化学发光试剂进行检测, 比较三者结果与确证结果之间的差异。检测过程严格按照试剂说明书进行, 阳性及阴性对照和室内质控值均在允许的范围时, 判定试验结果有效。

1.4 数据分析 根据 RIBA 确证结果从 2 个角度探讨 3 种检测方法与 RIBA 检测结果之间的关系: (1) 3 种检测方法与 RIBA 检测的符合性; (2) ELISA 试剂对待检标本的测定 OD 值与阳性判定值的比值(S/Co)大小, 与检测方法真阳性率的相关性。

1.5 统计学方法 所有数据均输入 SPSS13.0 统计软件进行

处理,用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对 41 例血液筛查中 ELISA 抗-HCV 阳性标本进行检测,Architect 化学发光法检测 HCV 阳性 35 例,阴性 6 例,与 RIBA 确证试验结果相符;而两组 ELISA 法检测结果与 RIBA 确证试验结果不符,其检测结果分别为:新创 ELISA 法检测 41 例全为阳性,OrthoELISA 法检测阳性 33 例,阴性 8 例。具体见表 1。

表 1 41 例血液筛查中 ELISA 抗-HCV 阳性标本
4 种检测方法的结果比较

检测方法	n	阳性标本		阴性标本	
		S/CO	RIBA 确证 阳性数	n	RIBA 确证 性数
Ortho ELISA	41	>0.9	28	28	8
		<0.9	5	5	—
新创 ELISA	41	>0.9	31	31	0
		<0.9	10	4	—
Architect 化学发光	41	—	35	35	6
RIBA 确证试验	41	—	35	—	6

注:3 组检测方法的阳性检出率比较: $\chi^2=8.36,P<0.05$ 。—表示无数据。

2.2 表 1 中也表明在两种 ELISA 试剂检测中,S/CO 值与其真阳性率有一定的相关性:两种 ELISA 试剂 S/CO 值大于 0.9 的阳性标本其真阳性率均为 100%;而 S/CO 值小于 0.9 的阳性标本经 RIBA 试验确证后发现新创试剂和 Ortho 试剂的真阳性率分别为 40%和 100%,但是 Ortho 试剂存在假阴性。

3 讨 论

HCV 感染通常是持续性的终生感染,抗体检测是一个非常有效的方法;但因感染 HCV 后,抗-HCV 出现较慢,因此,抗-HCV 检测结果可能存在少量的假阴性^[1]。而我国 HCV 流行毒株以 1b 和 2a 型为主^[2],ELISA 法检测试剂对不同的毒株的检出能力也有所不同,其检测灵敏度和特异性各有差异^[3-8]。本实验中发现,Ortho ELISA 法抗-HCV 检测阴性的 8 例阴性标本经 RIBA 确证有 2 例为阳性;而经确证试验后发现新创 ELISA 法抗-HCV 检测 6 例为假阳性,而假阳性直接会造成血液资源的浪费,甚至会对献血员有所误导,造成误诊风险。以上表明如果单用 ELISA 法检测 HCV,存在漏检或误诊成 HCV 阳性的风险。而结合 Architect 化学发光法检测 HCV,发现检测结果与确证试验相符,其与 ELISA 法联合检

测可提高血液筛查的准确性。

综上所述,目前国内血液筛查中检测 HCV 仍以 ELISA 技术为主,不利于丙型肝炎的早期检测以及会造成血液资源的浪费。因此血液筛查中应对 HCV 阳性的标本作进一步确证。但由于 RIBA 试剂非常昂贵,本研究使用几种试剂和检测方法对 HCV 血液检测阳性结果进行分析,以期建立简便、经济、适合血液筛查实验室的 HCV 确证试验方案。建议在血液筛查中使用化学发光法与 ELISA 法联合检测,对可疑的标本再做重组免疫印迹试验分析来提高血液筛查的准确率。虽然本文仅对 3 种进口试剂和 1 种国产试剂联合检测的可行性进行了初步探讨,但不排除仅使用国产试剂联合检测用于确证的可能性,具体国产试剂的选择、搭配数量以及阳性预期值情况有待进一步的研究。

参考文献

[1] 何长辉. 丙型肝炎病毒检测方法的应用评价[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(10): 753, 755.

[2] 郑岚, 王迅, 许莉萍, 等. 献血人群 HCV 携带者 NS5b 区基因多态性的初步探讨[J]. 临床输血与检验, 2000, 2(4): 23-25.

[3] 孟淑芳, 李秀华, 尹红章, 等. 丙型肝炎病毒抗原检测方法的建立[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2001, 15(3): 287-290.

[4] 王国华, 张贺秋, 李少波, 等. 丙型肝炎病毒核心抗原检测试剂的研制及初步应用[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(5): 299-301.

[5] 季阳, 庄文, 杨翠, 等. 丙型肝炎病毒感染的献血者 10 年追踪观察[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(6): 399-403.

[6] 任芙蓉, 龚晓燕, 李京京, 等. 献血员丙型肝炎病毒抗体酶免疫法检测试剂的测量值与其真阳性的相关性[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(4): 255-258.

[7] Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L, et al. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention [J]. MMWR Recomm Rep, 2003, 52(RR-3): 1-13, 15.

[8] Farci P, Purcell RH. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies[J]. Semin Liver Dis, 2000, 20(1): 103-126.

(收稿日期: 2012-08-15 修回日期: 2012-12-03)

(上接第 551 页)

下对生化检验回报时间的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(10): 955-956.

[5] 宋昊岚, 高宝秀, 彭志英. 急诊生化检测 TAT 时间的分析[J]. 华西医学, 2008, 23(1): 59-60.

[6] 张玉洪, 柏灵灵, 张莉萍. 住院患者急诊生化检验报告时间分析[J]. 重庆医学, 2010, 39(24): 3344-3345, 3347.

[7] 王琦, 叶发平. 基于 ISO15189 标准的实验室管理系统改进[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(15): 1654-1655.

[8] 万海英. 检验标本流程中信息节点控制的临床价值[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(6): 408-410.

(收稿日期: 2012-07-25 修回日期: 2012-11-13)