

进口 ELISA 试剂在检测献血者 HBsAg 中的应用及评价

张炯炯

海南省血液中心检验科, 海南海口 570311

摘要:**目的** 对进口酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)的应用效果进行评价,探究减少 1 次 ELISA 检测的可行性。**方法** 将 2019 年 9 月至 2020 年 7 月 105 737 份无偿献血标本用国产和进口 ELISA 试剂进行 HBsAg 平行检测,对结果为单试剂有反应性的标本做核酸检测,以国产试剂作为比较试剂,核酸检测作为确认方法,利用统计学方法分析进口 ELISA 试剂的复检符合率、阳性率和单试剂阳性标本的阳性预测值。**结果** 国产试剂和进口试剂的复检符合率分别为 27.42%和 51.79%,阳性率分别为 0.30%和 0.46%,差异均有统计学意义($\chi^2=12.597, P<0.05$; $\chi^2=36.921, P<0.05$);国产试剂和进口试剂的阳性预测值分别为 5.88%和 4.26%,差异无统计学意义($\chi^2=0.098, P>0.05$)。**结论** 进口试剂的假阳性率和国产试剂相当,但其稳定性和灵敏度明显优于国产试剂;国产试剂和进口试剂仍具有一定程度的互补性,如血清学检测只用进口试剂做 1 次 ELISA 检测,存在漏检的可能。

关键词: 献血者; 符合率; 检出率; 阳性预测值; 血清学检测

中图分类号:R446.4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)17-2469-03

The preliminary application and evaluation of imported ELISA reagent in detecting HBsAg of blood donors

ZHANG Jiongjiong

Department of Clinical Laboratory, the Blood Center of Hainan Province, Haikou, Hainan 570311, China

Abstract:**Objective** To evaluate the application effect of imported enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) reagent in the detection of hepatitis B surface antigen (HBsAg), and explore the feasibility of reducing one time enzyme-linked immunosorbent assay. **Methods** From September 2019 to July 2020, 105 737 samples of unpaid blood donors were used for HBsAg parallel detection with domestic and imported ELISA reagent, and the single reagent reactive samples were tested for nucleic acid. Domestic reagent was used as comparison reagent and nucleic acid test was used as confirmation method, statistical methods was used to analyze the coincidence rate, positive detection rate and positive predictive value of single reagent positive samples. **Results** The retest coincidence rates of domestic and imported reagent were 27.42% and 51.79% respectively, and the positive detection rates were 0.30% and 0.46% respectively, with statistically significant differences ($\chi^2=12.597, P<0.05$; $\chi^2=36.921, P<0.05$). The positive predictive values were 5.88% and 4.26% respectively, with no significant difference ($\chi^2=0.098, P>0.05$). **Conclusion** The false positive rate of the imported reagent is similar to that of the domestic reagent, but the stability and sensitivity of the imported reagent are obviously better than those of the domestic reagent. Domestic reagent and imported reagent are still complementary to a certain extent, if the serological test only used imported reagent to do one time ELISA test, there is the possibility of missed detection.

Key words: blood donors; coincidence rate; detection rate; positive predictive value; serological test

乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)是乙型肝炎病毒(HBV)感染最重要的血清标志物,其检测结果受试剂质量和检测方法的影响^[1]。目前,检测 HBsAg 的最常用血清学方法是酶联免疫吸附试验(ELISA)法,全国大部分血站是采用 2 次血清学检测和 1 次核酸

检测进行 HBV、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、梅毒螺旋体(TP)4 项血液感染标志物筛查,根据《血站技术操作规程(2015 版)》所述,实施核酸检测试剂批签发之后,允许对 HBV、HCV、HIV 感染标志物采用血清学检测和核酸检测各 1 次的血

作者简介:张炯炯,男,主管技师,主要从事血液检测和输血安全方面的研究。

本文引用格式:张炯炯. 进口 ELISA 试剂在检测献血者 HBsAg 中的应用及评价[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(17): 2469-2471.

液筛查策略,然而减去 1 次血清学检测是否会影响血液筛查的效果、增加残余风险等都需要进行科学合理的评估和确认^[2]。为提高检测效能,本中心检验科自 2019 年 9 月开始把 HBsAg 的血清学检测由原来的两种国产试剂变更为 1 种国产和 1 种进口试剂的检测模式,现将进口试剂的检测效果进行评价,旨在探讨只做 1 次 HBsAg 血清学检测的可行性和安全性,为本中心检验科制订合理的 HBsAg 血清学筛查模式提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2019 年 9 月至 2020 年 7 月本中心无偿献血者标本 105 737 份,采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管(江苏康健医疗公司)和 EDTA-K₂ 分离胶抗凝管(美国 BD 公司)留取 ELISA 法检测和核酸检测标本各 1 支,离心后保存于 2~8℃ 冰箱,48 h 内进行检测。

1.2 仪器与试剂 血清学检测:全自动加样仪 FREEDOM EVO-2 200 Base(瑞士 TECAN 公司),全自动 ELISA 后处理仪 BEP-III(德国 SIEMENS 公司),ELISA 法 HBsAg 诊断试剂盒(美国伯乐和英科新创),室内质控品(北京康彻思坦生物技术有限公司);核酸检测:Roche 全自动核酸检测系统(美国罗氏公司)及其检测试剂,室内质控品(北京康彻思坦生物技术有限公司)。以上所有仪器都经过校准并在正常状态下使用,试剂均经中国生物制品研究所检测合格,不同批号试剂和质控品均在有效期内使用。

1.3 方法 (1)血清学检测采用国产和进口 ELISA 诊断试剂进行 HBsAg 平行初检,当 0.9≤S/CO<1.0 (即灰区)和 S/CO 值≥1.0 时判为反应性,当 S/CO 值<0.9 时判为非反应性,如双试剂检测均有反应性则判为阳性,如双试剂检测均无反应性则判为阴性,如单试剂有反应性则进行复检。(2)血清学初检单试剂有反应性标本的复检采用单试剂(初检哪家试剂有反应性用哪家)双孔进行 2 次检测,结果至少有 1 孔为反应性判为单试剂阳性,双孔均无反应性判为阴性。(3)对血清学检测结果为单试剂阳性的标本与其他 ELISA 法检测阴性的标本一起进行核酸 6 人份混检,若混检结果为有反应性则进行拆分试验,拆分结果为有反应性判为阳性,反之判为阴性。以上过程均严格按照试剂盒的说明书和本中心检验科标准操作规程进行操作,实验操作人员均经过上岗培训且考核合格。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。复检符合率=单试剂阳性数/初检单试剂有反应性数×100%;阳性率=(双试剂阳性数+单试剂阳性数)/标本总数×100%;阳性预测值=核酸检测阳性数/单试剂阳性数×100%。

2 结 果

2.1 血清学检测初检单试剂有反应性标本复检结果 两种试剂初检有反应性的临界值都设为 S/CO=0.9,105 737 份标本经 ELISA 法检测得到初检单试剂有反应性标本国产试剂 62 份,进口试剂 363 份,进一步进行双孔复检得到单试剂阳性数分别为 17 份和 188 份,复检符合率分别为 27.42%、51.79%,差异有统计学意义($\chi^2=12.597, P<0.05$)。

2.2 两种 ELISA 试剂检测 105 737 份标本 HBsAg 的血清学结果 根据血清学检测判定规则,得到国产试剂和进口试剂检测 HBsAg 的双试剂阳性数为 295 份,双试剂阴性数为 105 237 份,国产试剂和进口试剂单试剂阳性数分别为 17、188 份。最终进口试剂和国产试剂的阳性率分别为 0.46%和 0.30%,差异有统计学意义($\chi^2=36.921, P<0.05$)。

2.3 血清学检测 HBsAg 单试剂阳性标本的核酸检测结果 对国产试剂(17 份)和进口试剂(188 份)的单试剂阳性标本进行核酸检测,得到核酸阳性标本数分别为 1、8 份,阳性预测值分别为 5.88%和 4.26%,差异无统计学意义($\chi^2=0.098, P>0.05$)。

2.4 9 份核酸检测阳性的标本对应的血清学检测结果及其献血者特征 将这 9 份核酸检测阳性的标本编号为①~⑨,追溯其对应的国产和进口 ELISA 试剂检测的 S/CO 值,并溯源到献血者是否为初次献血,见表 1。

表 1 核酸检测阳性标本对应的血清学检测 S/CO 值及献血者特征

试剂类型	编号	S/CO 值	是否为初次献血
国产试剂	①	2.66	是
	②	1.22	是
进口试剂	③	1.29	是
	④	1.59	是
	⑤	2.90	是
	⑥	2.48	是
	⑦	1.05	是
	⑧	2.53	是
	⑨	1.55	是

3 讨 论

我国是 HBV 感染的高发区,7.18%的人口感染 HBV^[3],经血液传播是 HBV 感染的主要途径之一。报道中的血站筛查项目中以 HBsAg 的阳性率最高^[4],而血站实验室进行血液筛查的目的是为了防止通过输血感染病原体而非以诊断为目的,为保障输血治疗安全,减少漏检率,故对检测试剂灵敏度的要求高于特异度,即使 ELISA 法检测单试剂阳性的血液也要进行报废处理。因此,首先要确保试剂对阳性标本的检出能力,其次应考虑兼顾其他性能及成本

效益。

本研究中,进口试剂的复检符合率明显高于国产试剂($\chi^2=12.597, P<0.05$),反映出进口试剂的重复性和稳定性较好,主要是因为不同厂家试剂盒包被抗体成分纯度、生产工艺等不同^[5]。进口试剂的阳性率明显高于国产试剂($\chi^2=36.921, P<0.05$),可间接反映出进口试剂的灵敏度高于国产试剂。HBsAg 的 ELISA 试剂经过从“一步法”到“两步法”的发展,其检测效能得到很大的提高,但不同生产厂家使用的包被单克隆抗体不同,对不同亚型的亲和力不同,导致检测 HBsAg 的能力也有所不同,通常认为灵敏度高带来的是特异度的下降,假阳性率升高,而阳性预测值是反映筛检试验结果阳性患者目标疾病可能性的一项指标,可间接反映假阳性率的高低。本研究进一步分析发现,单试剂阳性标本中,国产试剂和进口试剂之间阳性预测值比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.098, P>0.05$),说明进口试剂除了灵敏度高于国产试剂,其假阳性率和国产试剂相当,灵敏度提高的同时并没有带来假阳性率的同步升高,同时也说明了国产试剂的性能在某方面达到进口试剂的水平,这与国内杨丽华等^[6]报道的结果一致。但国产试剂和进口试剂的阳性预测值都比较低,分别为 5.88% 和 4.26%,高于国内马晓军等^[7]报道的 1.05%,低于张秀慧等^[8]报道的 9.83%,可见国产试剂和进口试剂单试剂的阳性结果中都有着较高的假阳性率,需要注意的是导致假阳性率高的原因除试剂本身的因素外,仪器、人员、环境等也是很重要的因素。

另外,本研究 9 份核酸检测阳性标本的 S/CO 值都偏小,集中于 1~3,其中最小值为 1.05,很接近临界值,所以设置灰区很有必要。不同的实验室灰区的设置不同,目前国内没有统一的标准。王庆敏等^[9]、陈善华等^[10]也对灰区的设置进行了相应的研究,但仍未达成共识,本中心检验科 ELISA 法检测 HBsAg 的灰区设置为 $0.9 \leq S/CO \text{ 值} < 1.0$,此范围内未检测出核酸阳性的标本,符合本中心检验科的要求。曾婀娜等^[11]探讨了 ELISA 法检测结果的 S/CO 值和假阳性的关系,本研究还发现 S/CO 值不在 1~3 的单试剂阳性标本假阳性率较高,此数据可为制订献血者归队策略提供参考。另外,本研究溯源到这 9 份标本对应的献血者都为初次献血,国内有报道初次献血者的不合格率明显高于重复献血者^[12],可见检测同样数量的标本,进口试剂在拦截 HBsAg 阳性的初次献血者中优于国产试剂,保障了血液安全。

从进口 ELISA 试剂在本中心检验科筛查血液 HBsAg 中的应用效果来看,其假阳性率和国产试剂相差不大,但稳定性和灵敏度均明显优于国产试剂。

减去 1 次 ELISA 法检测的初衷是希望其中 1 种试剂的性能完全能取代另 1 种试剂而不出现漏检,本研究中的国产单试剂阳性虽仅检出 1 例 HBsAg 阳性,但其正是进口试剂漏检的,国产试剂和进口试剂仍具有一定程度的互补性。因此,减去 1 次 ELISA 法检测应该慎重,存在造成输血感染事件的可能性,建议结合其他辅助试验,如化学发光法试验、乙肝两对半试验等或者进行一段时间的跟踪检测来辅助确认核酸检测结果,以此就是否调整 HBsAg 的筛查策略进行风险和效益的综合评估。

参考文献

- [1] JI A, HONG M, WEI L, et al. Multicentre evaluation of the Elecsys hepatitis B surface antigen II assay for detection of HBsAg in comparison with other commercially available assays[J]. Med Microbiol Immunol, 2009, 198(4):263-269.
- [2] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 血站技术操作规程(2015 版);国卫医发(2015)95 号附件[S]. 北京:中华人民共和国卫生和计划生育委员会, 2015.
- [3] WANG Y, JIA J. Control of hepatitis B in China: prevention and treatment[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2011, 9(1):21-25.
- [4] 蔡丽娜, 朱绍, 汶周春, 等. 2010—2013 年中国南京地区无偿献血人群 HBV、HCV、HIV 感染情况分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(4):218-222.
- [5] 陈云贞. 7 家 ELISA 法 HBsAg 诊断试剂的质量评价分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(15):2249-2250.
- [6] 杨丽华, 张裕, 彭萍, 等. 利用室内质评数据对 HBsAg ELISA 检测试剂的技术性能评价[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(2):89-91.
- [7] 马晓军, 杨文勇, 李治鹏, 等. 乙型肝炎、丙型肝炎单试剂检测阳性献血者的分析[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(8):105-107.
- [8] 张秀慧, 余加宏, 钟政荣, 等. ELISA 法检测 HBsAg 灰区和单试剂反应性样本的确认结果分析[J]. 临床输血与检验, 2015, 17(3):42-44.
- [9] 王庆敏, 冯晨晨, 蒋昵真, 等. 国内常用 7 家 HBsAg 酶免检测试剂盒灰区临界值的确定[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(3):279-281.
- [10] 陈善华, 朱丽莉, 李浩, 等. ELISA 方法检测 HBsAg 设置灰区的必要性探讨[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(10):1013-1014.
- [11] 曾婀娜, 李锡兰. 对血液筛查单试剂阳性献血者保留献血资格的探讨[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(4):386-387.
- [12] 张蓝江, 王欢, 赵欣, 等. 初次献血者与重复献血者酶联免疫及核酸检测结果分析[J]. 继续医学教育, 2016, 30(7):154-156.