

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.18.022

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210804.1439.002.html\(2021-08-05\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210804.1439.002.html(2021-08-05))

抗-HCV 筛查反应性 HCV 核酸阴性献血者的确证结果分析*

秦伟斐,杨丹蓉,段恒英,黄霞[△]

(重庆市血液中心 400015)

[摘要] **目的** 探讨献血人群 HCV 筛检效果,为献血者血液筛查和归队策略提供科学依据。**方法** 收集 ELISA 抗-HCV 反应性但核酸检测阴性的 122 份标本,采用重组免疫印迹进行抗-HCV 确证试验,对结果进行汇总分析。**结果** 122 份标本中确证试验阳性 38 份、不确定 42 份、阴性 42 份,确证阳性率为 31.15%。ELISA 试剂 1 单反应性的确证阳性率为 0,ELISA 试剂 2 单反应性为 25.93%,试剂 1、2 均反应性为 47.06%。确证试验条带主要以核抗原蛋白为主,其次为 NS4 蛋白。随着 S/Co 增高,确证试验的阳性预测值也增高。**结论** ELISA 和核酸联合检测能更好地保障血液安全,有必要对单试剂 ELISA 抗-HCV 反应性献血者开展归队。

[关键词] 无偿献血者;抗-HCV;重组免疫印迹;核酸检测;反应性;归队

[中图分类号] R446.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)18-3163-04

Analysis of the confirmation results of blood donors with anti-HCV screening positive reaction and HCV nucleic acid negative*

QIN Weifei, YANG Danrong, DUAN Hengying, HUANG Xia[△]

(Chongqing Blood Center, Chongqing 400015, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of HCV screening in blood donors, provide scientific basis for blood screening and returning strategies for blood donors. **Methods** A total of 122 specimens with ELISA anti-HCV positive reaction but negative nucleic acid test were collected, the anti-HCV confirmation test was performed by recombinant immunoblot assay, and the results were analyzed. **Results** Among 122 specimens, 38 were positive, 42 were uncertain and 42 were negative in confirmation test, the confirmed positive rate was 31.15%. The positive rate of single positive reaction of ELISA reagent 1 was 0, the single positive reaction of ELISA reagent 2 was 25.93%, and the positive reaction of both reagents 1 and 2 was 47.06%. The confirmation test band was mainly nuclear antigen protein, followed by NS4 protein. As S/Co increased, the positive predictive value of confirmation test also increased. **Conclusion** The combined detection of ELISA and nucleic acid can better guarantee blood safety, and it is necessary to regroup individual ELISA anti-HCV-reactive blood donors.

[Key words] unpaid blood donors; anti-HCV; recombinant immunoblot assay; nucleic acid testing; reaction; reentry

为保障血液安全,我国《血站技术操作规程(2019版)》对献血者病毒感染标志物筛查作了明确规定: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。血液筛查应尽可能选用高敏感性试剂,因试剂的特异性有所降低,会存在一定的生物学假阳性,低危险无偿献血人群其假阳性比例更高^[1]。假阳性结果会给献血者带来心理负担,同时造成血液资源的浪费。另一方面,核酸筛查 HCV 核酸阴性献血者中也存在一定比例的假阴性,对血液安全构成威胁。本研究通过对重庆地区 122 份抗-

HCV 筛查呈反应性且 HCV 核酸阴性献血者的确证结果进行分析,探讨现有筛查策略的安全性及开展献血者归队的必要性,为献血者筛查策略的选择和献血者归队提供科学依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1—12 月本血液中心经 ELISA 试剂检测抗-HCV 抗体反应性、HCV 核酸检测阴性的 122 份无偿献血者标本为研究对象。

1.2 方法

1.2.1 试剂

ELISA 试剂:抗-HCV(北京万泰、美国强生)。HCV 重组免疫印迹确证试剂:HCV BLOT 3.0(美国 MP 公司)。

1.2.2 仪器

全自动样品处理仪(Xan-Tus);全自动酶联免疫分析系统(Microlab FAME24/20);PROCLEIX TIGRIS 核酸检测系统(西班牙 Grifols 公司);全自动蛋白印迹仪 ProfiBlot48(瑞士帝肯公司)。

1.2.3 检测流程

上述标本同时进行 ELISA 和核酸检测,对 ELISA 试剂反应性且核酸检测呈阴性的标本进行 HCV 确证试验。

1.2.4 血清学 ELISA 检测与结果判定

加样器自动加样后,用全自动酶联免疫分析仪对抗-HCV 进行双试剂 2 次 ELISA 法检测,依据《血站技术操作规程》规定的标准和试剂说明书及工作手册进行结果判定。 $S/CO \geq 0.8$ 判为有反应性,其中 $S/CO \geq 0.8 \sim < 1.0$ 设置为灰区。双试剂 $S/CO \geq 0.8$, 直接判为阳性;单试剂有反应性的标本采用原试剂对标本管进行双孔复试,任意一孔有反应性则判为阳性。

1.2.5 确证试验检测与结果判断

将需要进行确证试验的标本按 HCV 确证试剂 HCV BLOT 3.0 的操作说明书和全自动蛋白印迹仪 ProfiBlot 48 的操作程序进行操作,结果判断依据按试剂说明进行。其条带强度的判读和结果的解释如下:未出现 HCV 抗体特异条带强度+及以上判为阴性,至少出现 2 条强度+及以上或出现 1 条核抗原条带++及以上判为阳性,仅出现 1 个 HCV 抗体特异条带强度+及以上判为不确定。阳性预测值是指阳性检测结果为真阳性的概率,即阳性预测值=真阳性/(真阳性+假阳性)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ELISA 试剂检测抗-HCV 反应性标本的确证试验结果

ELISA 试剂检测抗-HCV 呈反应性标本的确证试验结果中各阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 23.801, P < 0.05$),见表 1。

表 1 ELISA 试剂检测抗-HCV 反应性标本的确证试验结果

项目	确证试验[n(%)]			合计(n)
	阳性	不确定	阴性	
ELISA 试剂 1 单反应性	0	5(29.41)	12(70.59)	17
ELISA 试剂 2 单反应性	14(25.93)	18(33.33)	22(40.74)	54
试剂 1、2 均反应性	24(47.06)	19(37.25)	8(15.69)	51
合计	38(31.15)	42(34.43)	42(34.43)	122

2.2 确证试验条带分布及组合情况

试剂 1、2 经确证阳性标本,条带主要是核心区核抗原蛋白区带,其次是非结构 NS4 蛋白区带,区带反应强度组合主要是核抗原蛋白区带和核抗原+NS4,见表 2。

2.3 不同区间 S/Co 呈阳性反应的标本与确证试验结果的关系

随着 S/Co 增高,阳性预测值也增高。但试剂 1、2 经确证试验确证的阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.904, P > 0.05$),见表 3。

表 2 确证试验条带分布及组合情况

序号	核抗原	NS3-1	NS3-2	NS4	NS5	确证例数(n)
1	++	阴性	阴性	阴性	阴性	15
2	++	阴性	阴性	+	阴性	6
3	++	+	±	+	阴性	5
4	++	阴性	+	±	阴性	3
5	++	+	阴性	++	阴性	3
6	+	阴性	+	阴性	±	2
确证条带数(n)	37	11	9	18	2	

表 3 不同区间 S/Co 呈阳性反应的标本与确证试验结果的关系

项目	S/CO	n	确证试验(n)			阳性预测值 [% (n/n)]
			阳性	不确定	阴性	
ELISA 试剂 1 单反应性	0.8~<1.0	13	1	5	7	7.69(1/13)
	1.0~<5.0	38	9	17	12	23.68(9/38)
	≥5.0	17	14	2	1	82.35(14/17)
合计		68	24	24	20	35.29(24/68)

续表 3 不同区间 S/Co 呈阳性反应的标本与确证试验结果的关系

项目	S/CO	n	确证试验(n)			阳性预测值 [% (n/n)]
			阳性	不确定	阴性	
ELISA 试剂 2 单反应性	0.8~<1.0	34	4	12	18	11.76(4/34)
	1.0~<5.0	68	31	25	12	45.59(31/68)
	≥5.0	3	3	0	0	100.00(3/3)
	合计	105	38	37	30	36.19(38/105)

3 讨 论

HCV 感染的实验室诊断主要为检测 HCV 抗体、抗原或 HCV 核酸。由于 ELISA 法具有操作简单、灵敏度高、成本低、适用于批量检测等优点^[2],目前国内血液筛查中均采用了该方法进行抗-HCV 抗体检测,已有研究报道抗-HCV ELISA 试剂灵敏度和特异度均超过 99%^[3]。但该方法在具有较高灵敏度的同时,也会产生一定的假阳性,国外报道假阳性率大于 26%,有的甚至高达 50%以上^[4]。因此,美国疾病预防控制中心建议,抗-HCV ELISA 反应性的标本需采用重组免疫印迹确证或核酸检测结果阳性可报告确证结果^[5]。近年来,国内的采供血机构对献血者进行了 HCV 核酸检测的全覆盖,发现无偿献血人群中存在一定比例的抗-HCV 筛查反应性而 HCV 核酸阴性的献血者,对此类献血者的处理及后续的归队策略引起了大多数研究者的关注。

本课题组采用重组免疫印迹对此类献血者进行 HCV 确证试验,结果显示在 122 份标本中,ELISA 试剂 1 单反应性的确证阳性率为 0,ELISA 试剂 2 单反应性为 25.93%,试剂 1、2 均反应性为 47.06%,总体确证的阳性率为 31.15%,不确定率为 34.43%,这表明 ELISA 试剂检测抗-HCV 反应性对于筛查 HCV 感染仍具有重要意义,两种 ELISA 试剂同时检测能最大限度降低核酸检测的漏检率。另一方面,确证试验结果中假阳性率为 34.43%,与 KODANI 等^[6]和陈少彬等^[7]报道的抗-HCV ELISA 试剂假阳性率接近,表明现阶段采用的两种不同厂家的 ELISA 试剂检测在弥补试剂差异和减少人为误差的同时,也增加了 HCV 初筛结果的假阳性率。为进一步提高输血安全,目前国内血站已进行核酸检测全覆盖^[8]。HCV 核酸检测不仅灵敏度高且特异度好,阳性说明血液中含有 HCV 病毒,也具有传染 HCV 病毒风险。引进核酸检测也可明显缩短 HCV 检测的“窗口期”,降低经输血传播 HCV 的概率^[9]。但由本研究结果可知,部分 ELISA 阳性而核酸检测阴性标本仍不能排除 HCV 感染的可能,因此,血清学和核酸检测在血液筛查中互为补充、缺一不可。根据《血站技术操作规程(2019 版)》规定,HCV 感染标志物应至少采用核酸和血清学试剂各进行 1 次检测的要求,至于要选择“1 遍 ELISA”还是“2 遍 ELISA”的筛查策略,这就要求各

血站应根据自己的数据进行成本效益的分析,结合技术水平和人力物力等条件来制订不同的筛查策略,权衡筛查效果和成本的关系,做出最好的选择来降低输血风险^[10]。

确证试验结果显示,确证检测条带数越多,确证的阳性率越高,说明初筛抗-HCV 反应性标本的确证阳性率与确证检测条带数、条带强度一致,结合确证试剂检测条带数、条带强度对结果进行判定可提高阳性预测值的准确性^[11]。此外,S/Co 越高,阳性预测值也就越高。文献报道 Ortho HCV 3.0ELISA 试剂在其检测标本 S/Co≥3.8 时,阳性预测值超过 95%^[12],本研究结果显示两种 ELISA 试剂检测结果阳性预测值低于张雪梅等^[13]报道的 98.02%和 98.92%,这可能与本研究均为核酸检测阴性标本有关。研究结果显示 ELISA 试剂 1 的 S/Co≥5.0 的确证阳性率仅为 82.35%,这就需要进一步确定试剂 1 最佳屏蔽阈值。ELISA 试剂 2 的 S/Co≥5.0 的确证阳性率为 100.00%,提示这部分献血者可以直接屏蔽。所以,在制订反应性献血者屏蔽与归队时,可以根据不同抗-HCV ELISA 试剂的 S/Co 作为预测 HCV 感染真阳性结果的参考阈值。本研究显示 2 种 ELISA 试剂在灰区均有确证阳性,说明本实验室 HCV 这个项目设置灰区是有必要的,与王瑞等^[14]报道的可以取消灰区设置不一致。这与实验室环境、仪器设备性能、试剂厂家、操作程序等不同有关,因此,是否设置灰区及其设定值应根据不同实验室进行验证。

按照目前的筛查策略,任意 1 次筛查结果为阳性的血液标本均视为不合格血液,基本上没有开展确证试验便使该献血者被屏蔽,导致一定数量的健康献血者被永远屏蔽,终身失去了献血的资格,既减少了血源,又给献血者造成严重心理负担。《反应性献血者屏蔽与归队指南》的出台,对于解决这类问题提供了依据和路径,作为血液安全的筛查者或研究者,需要思考的是采用何种检测试剂、何种筛查策略能为献血者屏蔽或归队提供科学依据^[15]。根据《反应性献血者屏蔽与归队指南》,对核酸检测阳性和抗-HCV ELISA 双试剂均呈反应性的直接屏蔽,但对于 ELISA 试剂单反应性的这部分献血者,可根据不同试剂 S/Co 阈值来预测,S/Co 大于或等于最佳阈值的直接屏蔽,S/Co 小于最佳阈值的进入归队流程,这样能

有效减少不必要的献血者屏蔽。在确保血液安全的同时,有必要进行随访,给献血者提供相对准确、可靠的检测结果,增加对献血者的关爱,提高献血服务的质量^[16]。当然,面对抗-HCV 筛查反应性但 HCV 核酸阴性献血者,增加确证试验应该是一条可行路径,但又面临技术、人员、成本、时间等多方面考量,需要综合评判。

综上所述,在献血人群中同时采用 2 遍 ELISA 和核酸检测,并在 ELISA 检测中设灰区的筛查策略能最大限度降低输血感染 HCV 的风险,保障血液安全。但假阳性将导致献血者被屏蔽,开展 HCV 确证试验有助于指导献血者归队,也可提高献血服务的质量。

参考文献

- [1] 代静,刘维卓,何红,等. ELISA 检测单试剂反应性献血者跟踪检测结果分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2019,32(12):956-958.
- [2] 孙国清,杨瑞云,马彦民. 2016—2018 年郑州市无偿献血者检测出 HIV 情况分析[J]. 西藏医药,2020,41(5):96-98.
- [3] 庄海珍,苏光扬,林秉滔,等. 慢性丙型肝炎患者血清抗-HCV 和 HCV-RNA 与肝功能指标变化的临床意义[J]. 中华医院感染学杂志,2019,29(19):2886-2889.
- [4] VÁZQUEZ-MORÓN S, ARDIZONE JIMÉNEZ B, JIMÉNEZ-SOUSA M A, et al. Evaluation of the diagnostic accuracy of laboratory-based screening for hepatitis C in dried blood spot samples: a systematic review and meta-analysis [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 7316.
- [5] 张燕,方建华,吕永磊,等. 35 例无偿献血者的丙肝检测结果分析[J]. 河南预防医学杂志,2019,30(7):520-522.
- [6] KODANI M, MARTIN M, DE CASTRO V L, et al. An automated immunoblot method for detection of IgG antibodies to hepatitis c virus: a potential

supplemental antibody confirmatory assay [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(3): e01567-18.

- [7] 陈少彬,何子毅,陈庆恺,等. 抗-HCV 反应性献血者血液检测补充试验的选择分析[J]. 中国输血杂志,2019,32(8):764-768.
- [8] 王艺芳,葛文超,李俊英,等. 7 家血站核酸集中化检测结果分析[J]. 实验与检验医学,2020,38(1):190-193.
- [9] 陈红霞. ELISA 联合 NAT 技术在献血者血液筛查和输血残余风险分析中的应用[J]. 广州医药,2020,51(6):117-119.
- [10] 朱紫苗,张炳权,刘燕飞,等. 2015—2018 年温州地区无偿献血者核酸检测情况分析[J]. 中国卫生检验杂志,2020,30(18):2297-2299.
- [11] 郑欣,许晓绚,曾劲峰,等. 深圳地区 HBV、HCV 反应性献血者归队检测结果分析与策略探讨[J]. 中国输血杂志,2019,32(10):1024-1027.
- [12] STASI C, SILVESTRI C, VOLLER F. Update on hepatitis C epidemiology: unaware and untreated infected population could be the key to elimination[J]. SN Compr Clin Med, 2020, 18: 1-8.
- [13] 张雪梅,黄珂,许茹,等. 广州献血人群抗-HCV ELISA 检测 S/Co 与确证试验结果的相关性[J]. 中国输血杂志,2013,26(1):29-33.
- [14] 王瑞,陈瑜,张婧,等. 抗-HCV 酶联免疫吸附试验灰区临界值设置的探讨[J]. 中国输血杂志,2016,29(7):696-699.
- [15] 周华平,王拥军,桑列勇,等. 区域一体化血筛反应性献血者归队策略的应用与评价[J]. 中国输血杂志,2019,32(9):918-921.
- [16] 蒋菲菲,吕蓉,赵阳,等. 安徽省 HBsAg 单试剂反应性献血者归队情况分析[J]. 中国实验血液学杂志,2020,28(4):1391-1396.

(收稿日期:2020-12-22 修回日期:2021-05-12)

(上接第 3162 页)

- [20] SHETH K N, GILSON A J, CHANG Y, et al. Packed red blood cell transfusion and decreased mortality in intracerebral hemorrhage[J]. Neurosurgery, 2011, 68(5): 1286-1292.
- [21] LASEK-BAL A, HOLECKI M, STEPOSZ A, et al. The impact of anemia on the course and short-term prognosis in patients with first ever ischemic stroke [J]. Neurol Neurochir Pol, 2015, 49(2): 107-112.
- [22] ALTAMURA S, VEGI N M, HOPPE P S, et

al. Glutathione peroxidase 4 and vitamin E control reticulocyte maturation, stress erythropoiesis and iron homeostasis[J]. Haematologica, 2020, 105(4): 937-950.

- [23] KAIIFA G, SAVOPOULOS C, KANELLOS I, et al. Anemia and stroke: where do we stand? [J]. Acta Neurol Scand, 2017, 135(6): 596-602.

(收稿日期:2020-12-08 修回日期:2021-05-15)