

Analysis of Enzyme Immunity and Nucleic Acid Testing of Samples of Unpaid Blood Donors from 2018 to 2020

Wei Wang Yi Liu Yu Wang

Guizhou Blood Center, Guizhou, Guiyang, 550001, China

Abstract

Objective: In order to understand the application effect of ELISA and NAT in the screening of blood samples of unpaid blood donors, this study analyzed the results of ELISA and NAT of blood samples of unpaid blood donors from Guizhou Blood Center, China from 2018 to 2020. **Methods:** All blood samples from unpaid blood donors used parallel enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and single nucleic acid joint test (TRI-NAT) mode. **Results:** Among the 313392 unpaid blood donor samples from 2018 to 2019, 3043 ELISA (HBsAg/anti-HCV/anti-HIV) reaction samples were detected, with a total detection rate of 0.97%, and ELISA testing between different years The response rate was compared, and the difference was statistically significant ($\chi^2=22.983$, $P<0.001$). TRI-NAT test was performed on 313 392 blood donation specimens, and 2449 reactive specimens were detected, with a total detection rate of 0.78%. Comparing the identification results of nucleic acid reactive specimens in different years, the difference was statistically significant ($\chi^2=6.680$, $P=0.035$). A single virus identification test was performed on 2449 TRI-NAT positive specimens. The positive identification rate of nucleic acid reactive specimens in different years was compared, and the difference was not statistically significant ($\chi^2=2.819$, $P=0.244$). **Conclusion:** The combined use of enzyme immunoassay and nucleic acid detection can play their respective advantages, complement each other, increase the detection rate of blood transfusion-related infectious viruses, reduce the probability of blood transmission of pathogens, and effectively improve the safety of blood transfusion.

Keywords

unpaid blood donors; enzyme immunoassay; nucleic acid detection

2018—2020年无偿献血者标本酶免和核酸检测情况分析

王伟 刘奕 王好

贵州省血液中心, 中国·贵州 贵阳 550001

摘要

目的: 为了解 ELISA 和 NAT 在无偿献血者血液标本筛查中的应用效果, 本研究对 2018—2020 年中国贵州省血液中心无偿献血者血液标本 ELISA 和 NAT 检测结果进行分析。**方法:** 所有无偿献血者血液标本均采用平行酶联免疫吸附试验 (ELISA) 和单人份核酸联检 (TRI-NAT) 模式。**结果:** 2018—2019 年的 313392 人份无偿献血者样本中, 检测出 3043 例 ELISA (HBsAg/抗-HCV/抗-HIV) 反应样本, 总检出率为 0.97%, 不同年份间 ELISA 检测反应率比较, 差异具有统计学意义 ($\chi^2=22.983$, $P<0.001$)。对 313 392 人份无偿献血标本进行 TRI-NAT 检测, 共检出反应性标本为 2449 例, 总检出率为 0.78%。不同年份的核酸反应性标本鉴别结果比较, 差异有统计意义 ($\chi^2=6.680$, $P=0.035$)。对 2449 例 TRI-NAT 阳性标本进行单项病毒的鉴别试验, 不同年份的核酸反应性标本阳性鉴别率进行比较, 差异无统计意义 ($\chi^2=2.819$, $P=0.244$)。**结论:** 联合使用酶免和核酸检测能发挥各自的优势, 相互补充, 提升输血相关传染病毒的检出率, 降低经血传播病原体的概率, 有效提高输血安全性。

关键词

无偿献血者; 酶免检测; 核酸检测

1 引言

利用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 可对乙型肝炎病毒 (HBV)、丙型肝炎病毒 (HCV)、人类免疫缺陷病毒 (HIV) 进行输血相关病毒的抗原或抗体的检测。目前, ELISA 不能

有效检测到血液中“窗口期”病毒的感染情况^[1]。核酸检测 (NAT) 可通过逆转录介导的扩增技术 (TMA), 可捕获血液标本中较早出现的乙型肝炎病毒 (HBV) 的 DNA、丙型肝炎病毒 (HCV) 的 DNA 和人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1) 的 RNA, 缩短输血相关病毒的“窗口期”, 降低输血后 HBV、HCV、HIV 的感染风险, 提高输血安全率^[2]。

为了解 ELISA 和 NAT 在无偿献血者血液标本筛查中的

【作者简介】王伟 (1988-), 研究生学历, 检验师, 现任职于中国贵州省血液中心, 从事血液检测研究。

应用效果,本研究对2018—2020年中国贵州省血液中心无偿献血者血液标本ELISA和NAT检测结果进行分析,现报告如下。

2 材料和方法

2.1 标本来源

标本来自2018年1月1日—2020年12月31日中国贵州省血液中心采集的无偿献血者313392人次。献血者年龄为18~55周岁,均符合《献血者健康检查要求》,每位献血者均采集2管标本(5ml酶免检测管和8ml核酸检测管),标本采集后3500g离心10min,存放于2~10℃冰箱。

2.2 仪器与试剂

STAR全自动加样仪、EVO全自动加样仪,乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)检测试剂盒(北京万泰、上海科华),丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)诊断试剂盒(北京万泰、上海科华生),人类免疫缺陷病毒抗原抗体(抗-HIV/HIV)检测试剂盒(北京万泰、法国伯乐/英国索林)、全自动酶免反应设备FAME和SIEMENS BP-III。

全自动核酸检测分析系统(Procleix TIGRIS System)、核酸(HBV/HCV/HIV-1)联合单人份检测试剂(Procleix Ultrio Plus Assay)及HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA鉴别试剂盒。

以上所用试剂均在国家批检合格且均在有效期内使用。

2.3 检测方法

所有无偿献血者血液标本均采用平行酶联免疫吸附试验(ELISA)和单人份核酸联检(TRI-NAT)模式。

2.3.1 ELISA 检测

ELISA检测同时使用两种不同厂家的试剂,按照试剂说明书要求分别对HBsAg、抗-HCV、抗-HIV/HIV进行检测。双厂家反应性判为阳性,单厂家反应性以同一试验对原血样做双孔复试,如果双孔复试结果均为非反应性判为阴性,如果双孔复试结果中任何1孔为反应性,则判为阳性。

2.3.2 核酸检测

核酸检测通过转录介导的核酸扩增技术(TMA),采用全自动核酸分析系统对无偿献血者血液标本进行TRI-NAT(HBV-DNA/HCV-RNA/HIV-RNA),挑取反应标本再进行鉴别试验,以确定标本的感染病毒类别。HBV-DNA、

HCV-RNA、HIV-RNA单项鉴别结果都为阴性的标本,归类为不确定标本。

2.4 统计学方法

采用SPSS 18.0软件对数据进行分析。计数资料以n(%)表示,组间比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 无偿献血者血液标本ELISA检测结果

2018—2019年的313392人份无偿献血者样本中,检测出3043例ELISA(HBsAg/抗-HCV/抗-HIV)反应样本,总检出率为0.97%;抗-HIV酶免检测阳性率为0.22%(703/313392)。不同年份间ELISA检测反应率比较,差异具有统计学意义($\chi^2=22.983$, $P < 0.001$),详见表1。

表1 2018—2019年无偿献血者血液标本ELISA检测结果比较

时间/年	标本数/份	HBsAg阳性/份	抗-HCV阳性/份	抗-HIV阳性/份	反应率/%
2018年	102421	651	134	224	0.99
2019年	106648	585	125	211	0.86
2020年	104323	717	128	268	1.07
合计	313392	1953	387	703	2.91

3.2 无偿献血者血液标本核酸检测结果

对313392人份无偿献血标本进行TRI-NAT检测,共检出反应性标本为2449例,总检出率为0.78%。不同年份的核酸反应性标本鉴别结果比较,差异有统计意义($\chi^2=6.680$, $P=0.035$),详见表2。

表2 不同年份NAT联检反应结果

时间/年	TRI-NAT反应性数/份	反应率/%
2018年	776	0.76
2019年	798	0.75
2020年	875	0.84
合计	2449	0.78

3.3 NAT阳性标本进行单项病毒的鉴别试验结果

表3中ELISA反应性皆为双厂家试剂阳性,对2449例TRI-NAT阳性标本进行单项病毒的鉴别试验,把鉴别结果进行ELISA反应性和ELISA非反应性分类,其中HIV核酸检出率为0.04%(111/313392)。不同年份的核酸反应性标本阳性鉴别率进行比较,差异无统计意义($\chi^2=2.819$, $P=0.244$),详见表3。

表3 2018—2019年无偿献血者血液标本核酸联检反应性及反应性标本鉴别结果比较

时间/年	HBV 鉴别		HCV 鉴别		HIV 鉴别		鉴别不确定标本
	ELISA 阳性/份	ELISA 阴性/份	ELISA 阳性/份	ELISA 阴性/份	ELISA 阳性/份	ELISA 阴性/份	
2018年	501	70	34	0	31	2	129
2019年	473	92	38	0	38	0	157
2020年	511	96	44	0	49	1	168
合计	1485	258	116	0	108	3	454

4 结语

论文对中国贵州省血液中心2018年1月—2020年12月313 392人份无偿献血者的血液标本平行进行ELISA检测和TRI-NAT。ELISA检测到3043例ELISA(HBsAg/抗-HCV/抗-HIV)反应样本,总检出率为0.97%。由表2和表3可知,通过平行检测313 392人份无偿献血标本进行单人份核酸检测,TRI-NAT检测到的反应性血液标本ELISA都是显示双家试剂反应性,共检出NAT单人份联检阳性标本为2449例,总检出率为0.78%,低于ELISA的总检测率。

ELISA可检测血液中特定抗原或抗体的存在,且对抗体含量有一定的要求,“窗口期”、病毒变异等可导致HBV、HCV、HIV的漏检^[3];酶免检测HBsAg、抗-HCV、抗HIV阴性的结果不能完全排除HBV、HCV、HIV感染的风险^[4],对输血质量保障造成影响。与酶免检测相比较,互补使用核酸技术检测血液中的HBV DNA、HCV RNA和HIV RNA,能有效缩短酶免检测“窗口期”,降低HBV、HCV、HIV等经输血传播疾病的风险,进一步提高了临床输血安全水平,保障受血者的输血安全。对2499例TRI-NAT反应性进行鉴别试验,鉴别结果显示1743份样本为HBV DNA阳性,116份样本为HCV RNA阳性,111份样本为HIV RNA阳性,其余454份样本鉴别结果显示为不确定。核酸鉴别不确定标本占了TRI-NAT阳性标本的18.54%(454/2449),这可能与隐匿性HBV有关。有研究报道指出,隐匿性HBV感染的无偿献血者血液标本中的病毒浓度极低,容易导致TRI-

NAT检测的结果不确定性^[5]。HBV DNA阳性ELISA阳性占0.47%(1485/313392),HBV DNA阳性ELISA阴性占0.08%(258/313392),这比天津HBV“窗口期”标本检测率(0.047%)高^[6];本次统计未检测到HCV RNA阳性而ELISA“漏检”样本;HIV酶免检测阳性率为0.22%,而HIV核酸鉴别率为0.04%,且HIV RNA阳性样本中经鉴定有3份是“窗口期”标本。由此可见,核酸检测在降低血液中乙肝病毒检测和缩短发现HIV“窗口期”发挥了很大作用^[7]。

综上所述,制约ELISA检测的因素在核酸检测中几乎不存在,联合使用这两种方法能发挥各自的优势,相互补充,可以提升输血相关传染病的检出率,降低经血传播病原体的概率,更能有效提高输血安全性。

参考文献

- [1] 邹嵘嵘,谢云峰,伍晓菲,等.上海地区无偿献血者乙型肝炎病毒隐匿性感染情况和突变分析[J].中国输血杂志,2013,26(8):701-704.
- [2] Barrio M, RG Diez, JMH Sánchez, et al. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Spain, 1997-2002, and impact of nucleic acid testing[J]. Eurosurveillance, 2005,10(02):20-22.
- [3] 段勇,郭逸,叶世辉.病毒核酸检测技术在西安地区血液筛查中的应用分析[J].中国输血杂志,2014,27(08):842-844.
- [4] 刘颖,邓雪莲,等.无偿献血者血液HBV核酸筛查研究[J].国际检验医学杂志,2013,34(6):731-732.
- [5] Lin K T, Chang C L, Tsai M H, et al. Detection and identification of occult HBV in blood donors in Taiwan using a commercial, multiplex, multi-dye nucleic acid amplification technology screening test[J]. Vox Sanguinis, 2014(07):221-224.
- [6] 王霞,潘彤等.天津市无偿献血者HBV、HIV、和HCV和核酸检测分析[J].中国输血杂志,2012,25(10):1008-1009.
- [7] 姚凤兰,汪德海,查祎,等.核酸检测单反应性无偿献血者HBV感染状态分析[J].国际检验医学杂志,2015(11):1513-1516.