

Discussion on the Application of EIA and NAT to the Screening of HBV Virus in Blood Samples of Voluntary Blood Donation

Jiayu Zheng Yi Liu

Guizhou Blood Center, Guiyang, Guizhou, 550002, China

Abstract

Objective: To discuss the value of enzyme immunosorption and NAT to the screening of HBV virus in unpaid blood samples. **Methods:** From January 2020 to December 2020, 104323 blood samples of unpaid blood donation obtained by Guizhou blood center were examined by NAT and ELISA. Observation index: HBsAg-positive detection rate and HBV-DNA reactivity detection rate. **Results:** 577 HBV-DNA reactions were detected in 104323 blood samples, with 0.55% positive rate, 717 HBsAg positive cases, and a positive rate of 0.69%. The NAT positive rate has no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion:** The NAT method has limited blood detection value for low viral load, and the combined application of the EIA method can improve the positive detection rate, and the two methods are complementary to each other, which can further improve the accuracy of blood detection.

Keywords

EIA; NAT method; blood donation without compensation; HBV virus screening

EIA 与 NAT 法对无偿献血血液标本 HBV 病毒筛查的应用讨论

郑家宇 刘奕

贵州省血液中心, 中国·贵州 贵阳 550002

摘要

目的: 探讨酶联免疫吸附法与 NAT 法对无偿献血血液标本 HBV 病毒筛查的应用价值讨论。**方法:** 以在 2020 年 1 月—2020 年 12 月期间, 贵州省血液中心获得的 104323 份无偿献血血液标本, 均对所有患者进行 NAT 法以及 ELISA 法进行检查。观察指标: HBsAg 阳性检出率、HBV-DNA 反应性检出率。**结果:** ① 104323 份血液样本中检出 HBV-DNA 反应性例数 577 份, 阳性率 0.55%, HBsAg 阳性例数 717 份, 阳性率 0.69%。NAT 阳性率与 EIA 相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论:** NAT 法对于病毒载量较低的血液检测价值有限, 联合应用 EIA 法可提高阳性检出率, 两种方法互为互补, 可进一步提升血液检测准确性。

关键词

EIA; NAT 法; 无偿献血; HBV 病毒筛查

1 引言

乙型肝炎是中国高发的传染性疾病, 其危害是肝脏炎症的持续进行, 病毒的持续发展, 最后导致肝纤维化和肝硬化。乙型肝炎病毒主要通过血液传播、性传播、母婴传播等方式^[1]。乙肝表面抗原检测是中国采供血机构血液筛查的其中之一, 对于切断 HBV 经输血传播保障临床中输血安全性是疾病治疗有效性的重中之重, 随着血液输入的不良情况发生, 进一步使临床输血安全得到重视^[2]。所以加强对无偿献血血液样本中 HBV 病毒筛查对于临床输血安全有着十分重要的作用^[3]。

ELISA 法原理为酶复合物与抗体结合后特异性显色, 能保持其免疫活性, 该方法为血清学诊断法, 具有快速、灵敏

和廉价的特点, 是采供血机构血液筛查的重要检测手段^[4]。

NAT 法作为一种新型的分子生物学检测方法, 可直接测定 HBV-DNA 含量反映感染情况, 具有较高的诊断灵敏度^[5]。

本次研究以贵州省血液中心 104323 例无偿献血血液样本为例, 探究 ELISA 法和 NAT 法对 HBV 病毒筛查中的应用讨论。

2 资料与方法

2.1 基本资料

以 2020 年 1 月—2020 年 12 月期间, 贵州省血液中心采集的 104323 份无偿献血血液标本, 均对所有血液标本进行 NAT 法以及 ELISA 法进行检查。104323 份血液样本中男性与女性数量占 65423/38900, 年龄范围 18~55 岁, 部分多次献

【作者简介】 郑家宇 (1991-), 女, 中国贵州金沙人, 本科, 初级临床检验师, 从事血液检测方面研究。

血者年龄可延至 60 岁, 均值年龄 (28.3±18.9) 岁。

所有献血者均符合国家标准 GB18467-2011《献血者健康检查要求》后方可献血。每位献血者均平行采集两管血液, 离心后一管采用 ELISA 法进行检测, 另一管采用 NAT 法进行检测。

2.2 方法

2.2.1 NAT 法

核酸管 (分离胶离心管注入 8mL 血液标本) 离心后进行检测, 采用 Procleix TIGRIS 核酸检测系统和盖立复试剂进行 HBV-DNA 检测, 通过使用目标捕获使病毒的 RNA 和 DNA 从样本中分离。用去污剂处理样本, 以溶解病毒包膜、使蛋白质变性并释放病毒基因组 RNA 或 DNA。如果检测样本中存在与 HBV 高度保守区域同源的寡核苷酸 (“捕获寡核苷酸”), 则其将与目标 HBV DNA 发生杂交, 在 Procleix Ultrio Plus Assay (联检) 中, 向添加了样品的各反应管加入目标增强试剂, 以增强对 HBV 病毒颗粒的破坏。加入目标增强试剂后, 杂交目标将被吸附于磁性微粒上, 然后这些磁性微粒可通过磁场从样本中分离出来。利用清洗步骤来消除来自反应管的外部成分。通过目标捕获系统进行磁分离及清洗的步骤。检测过程中根据 NAT 检测相关要求进行实验, 对各种防污染措施予以严格执行, 且加强对血液样本保存防治污染等情况发生。

2.2.2 ELISA 法

采用 STAR 全自动加样仪器和 FAME 全自动酶免分析仪。用两种不同的试剂厂家分别为中国北京万泰和上海科华。进行乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的测定, 每批试验均需有阳性、室内质控和空白对照组、阴性对照组。

2.3 观察指标

观察指标: HBV-DNA 反应性检出率、HBsAg 阳性检出率。

判断标准: 反应性判定为 S/CO≥1.00; 内标 ≤650, 000RLU。内标包含 2 个, 一是联检内标, 另一个是鉴别内标。S/CO < 1 为阴性, S/CO≥1 为阳性。

2.4 统计学分析

纳入研究献血者无偿献血血液样本, 研究过程中产生的数据, 使用 SPSS 19.0 统计学软件分析, 计量资料使用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 *t* 检验。计数资料使用 (%) 表示, 行卡方检验。

3 结果

104323 份血液样本中检出 HBV-DNA 反应性例数 577 份, 阳性率 0.55%, HBsAg 阳性例数 717 份, 阳性率 0.69%。NAT 阳性率与 EIA 相比, 组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 讨论

乙肝是现阶段临床医学中极为常见疾病, 疾病的发生率较高, 且疾病具有较强的传染性, 传染途径主要为血液传播、性传播、母婴传播等, 想要积极预防乙肝传染需要提高临床输血的安全性^[6]。乙肝病毒 DNA 是乙肝病毒的脱氧核糖核酸, 是乙肝病毒感染最直接、敏感以及特异性的指标, 若检测结果显示乙肝病毒 DNA 呈阳性, 则表示乙肝病毒可复制, 且具有传染性, 并且乙肝病毒 DNA 水平越高则代表病毒复制速度越快, 传染性越强^[7]。EIA 主要是通过将相应抗原或抗体固定在某一载体表面, 并且可长期保持其蛋白免疫活性, 再将某种特定酶置于抗体或抗原上, 一方面可保持抗体或抗原活性, 另一方面也可保留酶特定生物活性。对无偿献血者血液标本联合使用 EIA 以及 NIA 进行检测, 可提升乙肝病毒筛查效果, 从而避免通过血液传播乙肝病毒。

结果分析讨论: 此次 104323 份血液样本中检出 HBV-DNA 反应性例数 577 份, 阳性率 0.55%, HBsAg 阳性例数 717 份, 阳性率 0.69%。NAT 阳性率低于 EIA, 可能是因为病毒载量较低的原因导致检测结果出现假阴性, 从而导致 NIA 的阳性检出率低于 EIA, 针对 NIA 检测导致的假阴性样本, EIA 反而具有较好的检测能力, 因此上述两种检测方式本身存在一定互补性, 证实了其在血液样本检测中的联合应用具有显著价值。

通过结合其他学者研究结果, 认为 EIA 检测方式与 NIA 检测方式的互补性主要表现为: 两种方式检测方法存在差异, NIA 检测通常对病原体核酸类型进行分析, 而 EIA 检测则主要对抗体与抗原状态进行分析, 因此若某一项检测出现假阴性, 另一种检查方式可能就起到了完善效果, 进一步提高了特异性^[8]。除此之外, EIA 检测中, HBsAg 通常能较好地检出, 在血液病毒出现异常突变后, EIA 通常也难以对病毒抗体及抗原进行有效检出, 增加了假阴性率, NIA 检测可有效检出病原体核酸出现的变异情况, 进而避免漏检情况发生^[9]。

5 结语

综上所述, NIA 检测在病原学检测的基础上应用可明显提高血液样本 HBV 感染阳性检出率, 单独核酸检测存在一定程度的假阴性率, 因此其不能取代 EIA 检测的地位, 血液系统针对无偿献血者血液样本进行筛查时应用 NIA 及 EIA 检测可明显提高不合格血液样本检出率, 进而提升血液质量, 提高临床输血治疗安全性。

(下转第 74 页)

5 干预策略

5.1 规范护士的皮内注射操作

①正确选择注射部位。标准的皮试部位为前臂掌侧下端，避开浅表静脉、皮疹、瘢痕、纹身处或是本身皮肤发红部位，选择视野清晰、皮肤正常处为注射部位。

②培训护士。使护士掌握正确的皮试方法、注入剂量及结果判定。标准的皮内注射方法应为5度角进针，待针头斜面完全进入皮内后即放平针管推注0.1mL。对输液室全体护士加强培训，要求每人熟练过关，牢牢掌握皮试的操作技术要领。皮试结果判断以第六版的基础护理学为依据，判断皮试时须仔细，借助工具（直尺），拿捏不准请高年资护士帮助判断，切不可随意。

③进行绩效考核。督促护士平时工作中加强责任心，护士长及质控组成员不定期随机检查，发现有违规操作者给予绩效考核。

5.2 把握好病人皮试中的细节问题

①改进消毒方法。改进皮试消毒液，不用酒精而用0.9%生理盐水擦拭皮肤，表面待干后再皮试，大大降低了因酒精刺激引起皮试假阳性的发生。

②交代病人皮试后的注意事项。病人做完皮试后，护士嘱咐患者不可按压、触碰皮试部位，皮试处最好裸露在外，防止被摩擦刺激；叮嘱病人看皮试的时间为20min，不要提前也不可推后。遇有年老体弱独自看病的患者，护士帮忙掌握好皮试时间；遇有喝酒的患者，如病情允许，交代患者在喝酒后24h之内来做皮试，距离饮酒时间越长越好，而不要

选择在饮酒后立即注射。

5.3 正确配置、保存皮试液

①皮试液的配置按照标准配置，一定要准确、规范，配好后须充分混匀方可使用。

②任何皮试液一律现配现用，在室温下静置保存，时间不得超过4h。遇高温或严寒天气，必须在有空调的房间里放置使用。

6 结语

皮试在临床众多的护理问题中看似虽小，其实隐藏着很多学问，直接关系到护理质量。笔者所在医院急诊科输液室通过对皮试假阳性影响因素的分析，采取了一系列的干预措施，有效降低了皮试假阳性的发生，保证了病人能及时合理用上药，从而提升了护理质量与病人的治疗效果。

参考文献

- [1] 温亚,郭锦丽,刘晋,等.破伤风抗毒素皮试标尺的设计与临床应用[J].护理学杂志,2016,31(2):64-65.
- [2] 李志兰.护理干预对破伤风抗毒素皮试结果的影响[J].中国现代药物应用,2019,13(1):218-219.
- [3] 李萍.降低临床青霉素皮试假阳性率的管理探讨[J].甘肃科技纵横,2017,46(7):93-95.
- [4] 杨云鸿.怎样减少青霉素皮试假阳性反应的发生[J].健康忠告,2019(21):126.
- [5] 刘云鹰,王力,温晓华,等.夜间皮试假阳性的原因分析及对策[J].医药,2015(3):11.

(上接第71页)

参考文献

- [1] 焦志欣,李海欣,杨丽萍,等.彩色多普勒超声成像与经颅多普勒超声成像联合检查对颈部血管狭窄的诊断价值[J].中国临床医生杂志,2019,47(2):193-195.
- [2] 张磊.输血前不规则抗体检测对输血安全性的影响分析[J].中国现代药物应用,2020,14(6):204-206.
- [3] 沈延平.无偿献血血液标本NAT法HBV病毒筛查对临床输血安全的影响[J].临床研究,2019,27(7):154-155.
- [4] 苏俊,骆冬云.核酸检测与酶联免疫吸附检测在无偿献血血液标本乙肝病毒筛查中的应用价值比较[J].中国乡村医药,2015,22(16):58-59.
- [5] 张琼,林碧,蔡淑锋,等.血清学、核酸检测在乙型肝炎病毒血液筛查中的应用评估[J].中国卫生检验杂志,2017(23):3393-3394.
- [6] 陈天鹏,明帅,赵应丹,等.德宏地区95030份无偿献血标本HBV/HCV/HIV ELISA与NAT同步检测结果分析[J].中西医结合心血管病电子杂志,2019(16):83.
- [7] 龚锐,姚云清,鲁文辉,等.慢性乙型病毒性肝炎合并原发性肝癌患者外周血滤泡辅助性T细胞水平及血清中白介素-21的表达[J].中国生物制品学杂志,2019,32(5):549-552+556.
- [8] 刘卓劫,邱勇,钱邦平.强直性脊柱炎患者血清中链非编码RNA差异性表达的初步筛查[J].中华骨科杂志,2019,39(18):1142-1148.
- [9] 邓雪莲,李婷婷,郭笑寒,等.核酸检测非重复反应性的HBsAg阴性血液HBV感染的确认[J].中国输血杂志,2018,31(9):962-967.