

• 经验交流 •

乙肝表面抗原初、复检阳性标本再检情况分析

王新梅

(辽宁省大连市血液中心检验科 116001)

摘要:**目的** 研究 ELISA 法检测乙肝表面抗原(HBsAg)初、复检及再检结果的符合情况,探讨其作用和价值。**方法** 对 2010 年度该中心无偿献血初筛合格样本 58 700 例分别用 2 种不同厂家的试剂做 HBsAg 初、复检。初、复检检测均合格,直接按标准判为合格;对于初、复检阳性标本按照实验室操作规程的相应要求进行再检。用统计学的方法对初、复检检测结果的符合情况及再检情况进行分析。**结果** 统计学分析显示,初、复检双侧阳性标本与单侧阳性标本再检符合率差异有统计学意义($P<0.05$),而初检单侧阳性标本与复检单侧阳性标本再检符合率差异无统计学意义($P>0.05$);初、复检阳性检出率的差异有统计学意义($P<0.05$);初、复检阳性标本与弱阳性标本的再检标本管与相应血辩结果符合性比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 科学先进的血液检测方法和再检模式,高质量符合要求的血液检测标本以及选择质量优良的检测试剂对提高再检重复性和保证血液检测质量非常必要。

关键词:乙肝表面抗原; 初检; 复检; 再检; 符合性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.03.051 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2012)03-0366-02

中国是感染病大国,人群中有 5%左右乙型肝炎患者和乙型肝炎病毒(HBV)携带者^[1]。尽管近年来病毒性肝炎的检测技术和方法的进步大大减低了因输血传播乙型肝炎的发生,但输血传播 HBV 的危险仍然是输血常见的不良反应和并发症。HBsAg 为 HBV 感染的最主要检测指标和最直接证据之一,是采供血机构筛查献血者血液的必检项目。为了提高血液质量,保证献血者和受血者安全,国家卫生部规定对献血者的血液必须进行 2 次检测,且初检和复检不得使用同一厂家生产的试剂,同一份样本的初检和复检不得由同一人操作^[2]。在实际工作中,部分样本初、复检检测结果往往会出现不一致的现象,为保证安全输血,减少血液报废,防止在血液检测中出现过多的假阳性以及确定初次实验结果的准确性,需要开展再检工作,即建立初次反应性标本进一步复检的程序。目前本中心检测 HBsAg 采用一步双抗体夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA),由于该方法易受多种因素的影响,初筛后再检率高。现将本中心 2010 年度实验室检测 HBsAg 的结果及再检情况进行统计分析,报道如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源 2010 年 1~12 月无偿献血初筛合格样本 58 700 例。血液样本及血辩由体采科护士采血时直接留取。

1.2 试剂与仪器 初检检测试剂(ELISA):TMB 系列,上海科华;复检检测试剂(ELISA):厦门英科新创。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。室内质控血清:由卫生部临床检验中心提供。仪器:Hamilton Microlab AT2 和 FAME 全自动酶免分析系统(澳斯邦公司)。

1.3 方法与结果判定 使用 ELISA 法对同一献血者样本分别用 2 种试剂进行检测,检测过程严格按试剂说明书进行。OD 低限灰区值为 0.089,0.089 至 CO 值为灰区,弱阳性样本 OD 值从 0.105 到试剂盒规定的临界值的 3 倍即 0.315。初、复检检测均合格,直接按标准判为合格;初、复检检测均为阳性,使用与初、复检相同的 2 种试剂和方法对其相应的血辩分别做双孔试验进行再检,任何一种试剂双孔阳性则按阳性报结果;对于初、复检单侧阳性的标本,则分别对标本管和相应血辩做平行 4 孔再检,只要标本管和血辩有一方为阳性则按阳性报

结果。

1.4 统计学处理 应用 χ^2 对所有检测项目的初检和复检检出率进行比较。

2 结果

2.1 血液样本初检、复检符合情况及统计结果 见表 1、2。初、复检双侧阳性标本与单侧阳性标本再检符合率比较($\chi^2=64.00, P<0.05$);初检单侧阳性标本与复检单侧阳性标本再检符合率比较($\chi^2=1.82, P>0.05$)。初,复检阳性检出率比较($\chi^2=35.298, P<0.05$)。

表 1 58 700 份血液样本初、复检 HBsAg 检测结果的符合性及再检情况

检测结果	再检阳性(n)	再检阴性(n)	合计	再检阳性符合率(%)
初、复检阳性	68	8	76	89.47
初检阳性	69	126	195	35.38
复检阳性	41	53	94	43.67

表 2 58 700 份血液样本初、复检 HBsAg 阳性检出例数(n)

检测结果		初检		合计
		+	-	
复检	+	76	94	170
	-	195	58 335	58 530

初、复检阳性检出率比较, $\chi^2=35.298, P<0.05$ 。

表 3 初检阳性标本与弱阳性标本的再检标本管与相应血辩结果符合性

标本类型	标本管与血辩	标本管	血辩阳性	合计
	双阳例数(n)	阳性例数(n)	例数(n)	
初检阳性标本	13	8	2	23
初检弱阳性标本	13	27	6	46
合计	26	35	8	69

2.2 初检或复检阳性标本与弱阳性标本的再检标本管与相应血辩检测结果符合情况及统计结果 见表 3~4。初检阳性标

本与弱阳性标本的再检标本管与相应血辩结果符合性比较($\chi^2 = 5.215, P < 0.05$)。复检阳性标本与弱阳性标本的再检标本管与相应血辩结果符合性比较($\chi^2 = 5.109, P < 0.05$);表 3~4 中的标本管阳性和血辩阳性均为再检单侧阳性。

标本类型	表 4 复检阳性标本与弱阳性标本的再检标本管与相应血辩结果符合性			
	标本管与血辩 双阳例数(n)	标本管阳性 例数(n)	血辩阳性 例数(n)	合计
复检阳性标本	21	5	0	26
复检弱阳性标本	7	6	2	15
合计	28	11	2	41

3 讨 论

从表 1 结果分析,初检或复检单侧阳性标本再检符合率低说明 2 种试剂同时检出阳性的标本重复性好于单侧检出的且假阳性率低。原因可能由于国产试剂临界值通常在 0.1~0.25,易导致国产试剂对操作时的温度、时间、加样量等条件依赖过度,阴阳性 OD 值拉不开,灰区较宽,重复性较低^[3]。由此可见对血液标本进行再检可大大降低血液报废率。分析出现假阳性的原因:(1)样本在处理过程中离心不充分,血清中的纤维蛋白导致结果的假阳性;标本管中抗凝剂含量不足或漏加,离心后血清中仍残留部分纤维蛋白原。(2)加样时产生的拖带现象^[4-5],再检实验的手工加样可避免上述现象的发生。(3)当工作量大时,已加好样的微板不能及时进入 FAME 进行检测会造成微板在外停放的时间过长。(4)洗板吸干时液体残留量过多,洗液的浓度未按要求配置,不同试剂公司的洗液混用这些情况都易产生假阳性。5)样本的质量不能满足检测要求,采集、运送和保存不当造成血液污染、溶血、脂血。在溶血样本中,红细胞破坏溶解并释放出大量具有过氧化物酶活性的血红蛋白,其会导致非特异性显色,干扰测定结果^[6]。(6)提前装载试剂或标本量多时,试剂在试剂仓内的放置时间过长,尤其是显色剂 B 液由于其不稳定放置时间过长易变色,最好现用现装。7)FAME 试剂槽清洗不干净残留的蛋白质物质污染试剂引起非特异性结合。8)厂家包被板的孔间差异,没有封闭好的孔易引起标本与酶结合物对孔壁的非特异性结合。9)人和物的因素,如实验室人员操作不规范、仪器设备的配置、校准和维护不当等^[7]。

表 2 的统计情况说明不同厂家试剂由于板孔底所包被的抗体片段、质量不同引起其灵敏度、特异性上存在的差异,与假阳性或假阴性结果有关^[8-10],只用 1 种试剂检测必然会引起漏检,因为不能排除有些初检或复检单侧阳性标本为真阳性的可能。而同时使用 2 种试剂对乙型肝炎表面抗原(HBsAg)进行检测则可利用其阳性检出率的差异在一定程度上降低漏检率提高血液的安全性。2 种试剂检测结果不一致也说明对初检或复检单侧阳性标本进行再检十分必要,可减低由于各种原因所引起的假阳性结果,降低血液的报废率。

初、复检弱阳性标本再检标本管与相应血辩结果符合性低于阳性标本,其中多为标本管阳性血辩阴性,这主要是由于血辩血液被稀释,使得本来含量就不高的弱阳性标本所对应的血辩当中的检测物含量下降,这样就很容易导致 S/CO 低于底限灰区值,产生假阴性结果。特别是对于破损、溶血和细菌污染

的弱阳性试管标本,用同源血辩进行检测极易造成 HBsAg 的漏检,给输血带来严重的安全隐患。因为 HBsAg 弱阳性的血液具有高度传染性,对随机抽样标本进行的 PCR 检测中,HBV-DNA 的阳性率为 80%^[11]。为了避免不合格血液发往临床,将血辩再检为阴性的初、复检双侧阳性标本不要直接报阴性,有条件最好进行核酸扩增检测,因为 ELISA 法 HBsAg 检测敏感性较低,如果血清标志物出现在窗口期,或者乙型肝炎病毒存在低水平的复制,此时 HBsAg 滴度较低而用 ELISA 法不易测出^[12],而用核酸扩增检测技术可以测出。当试管标本与对应血辩标本检测结果不一致时,应认真分析原因,确定试管标本是否留取错误。由于血辩标本保存不当溶血或含抗凝剂少离心不充分,血清中存有纤维蛋白,可能是造成血辩标本阳性率高于试管标本的原因。试管标本与相对应的血辩标本再检是排除检测操作误差和确定试管标本与原血袋的同源性^[13]。血辩标本的质量直接关系到检测结果的准确性且试管标本与相对应血辩标本结果符合性好也可降低血液报废率,减少工作人员查找标本管与原血袋是否同源性的工作量。

综上所述,在实际工作中,为保障临床用血安全,提高血液检测的准确性,除了加强质量管理、人员培训,严格各项操作规程外,选择一些质量优良的不同厂家试剂进行初、复检及再检,有条件的地区可使用中和试验确认 HBsAg 和开展核酸检测,采用可以进行旁路留取不含血液保养液血辩的血袋,提高再检重复性,保证血液质量。

参考文献

[1] 成能斌. 血液检验中的安全问题分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010,31(1):82-83.

[2] 中国输血协会. GB 18467-2001 献血者健康检查要求[S]. 北京:中国标准出版社,2006.

[3] 吕运来,陈善华,肖鲲. 血液初检、复检及再检结果的符合性研究[J]. 中国输血杂志,2009,22(1):38-39.

[4] 孙立平. 两种抗凝剂对血液 4 项指标 ELISA 检测结果干扰的分析[J]. 中国输血杂志,2006,19(4):290-292.

[5] 修树丽,李燕,吴硕,等. 阳性拖带现象产生的原因和解决方法[J]. 中国输血杂志,2006,19(3):218-219.

[6] 杨勇毅. 血液不合格率与初次反应性样本的复检[J]. 中国输血杂志,2008,21(11):869-870.

[7] 张琦,宋贺欣. 血站血液检测模式与血液安全性探讨[J]. 中国误诊学杂志,2007,7(20):4776.

[8] 孙爱玉,张琳伟,张新华. 不同厂家试剂检测献血者抗-HCV 结果的分析[J]. 中国输血杂志,2003,16(2):77-78.

[9] 邢文革,郑怀竟. 血站丙肝病毒抗体酶免检测试剂的使用调查[J]. 中国输血杂志,2002,15(1):60.

[10] 陈惠民,吴丽惠. 两种 ELISA 试剂检测献血者血液 HBsAg 和抗-HCV 结果比较[J]. 中国输血杂志,2001,14(1):14-15.

[11] 刘芳,尹建平,吴玲. ELISA 法检测试管标本与血辩标本结果分析[J]. 中国输血杂志,2010,23(8):632-633.

[12] 黄梁鏊,龙欣,周洪. 应用荧光定量 PCR 检测乙型肝炎 DNA 的临床分析[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(7):725-727.

[13] 姚勇,袁兵. 建立试管标本与血辩标本平行再检程序的必要性[J]. 中国输血杂志,2009,22(12):1025-1026.