

化学发光法在HIV初筛呈阳性反应无偿献血者中的应用

于艳涛,李 交,符发雄,叶伟亮,刘志泉,梁丽雯,朱慧娟,陈永飞,罗娇娜,欧阳海宁 (佛山市顺德区中心血站检验科,广东佛山 528300)

摘 要:目的 探讨化学发光免疫分析法(CLIA)在酶联免疫吸附试验(ELISA)检测人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体阳性的无偿献血者归队中应用的可行性。方法 收集ELISA筛查HIV呈阳性反应性并自愿咨询检测的无偿献血者100例,进行CLIA检测的同时送当地疾病预防控制中心进行确证,并将两种方法的检测结果与疾病预防控制中心确证结果进行比较分析。结果 CLIA检测结果阳性符合率显著高于ELISA($P<0.01$)。当CLIA结果S/CO值 ≥ 100.0 时,阳性符合率显著提高;而ELISA检测只有当两种试剂结果均为阳性且S/CO值 ≥ 10 时,确证结果才为阳性。结论 CLIA用于检测ELISA筛查HIV阳性的无偿献血者,对无偿献血者队伍的管理具有重要意义。

关键词: 化学发光法; HIV抗体; 无偿献血者

中图分类号: R 446

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)05-0587-03

Application of chemiluminescence in voluntary blood donors HIV-positive in preliminary screening

YU Yan-tao, LI Jiao, FU Fa-xiong, YE Wei-liang, LIU Zhi-quan, LIANG Li-wen, ZHU Hui-juan, CHEN Yong-fei, LUO Jiao-na, OUYANG Hai-ning (Laboratory Department, Central Blood Center of Shunde, Foshan 528300, China)

Abstract: Objective To explore the feasibility of applying chemiluminescence in the return voluntary blood donors HIV-positive in ELISA test. Methods A total of 100 cases of voluntary blood donors who was HIV-positive in preliminary screening and voluntarily consulted the test were samples. The samples underwent CLIA test and were simultaneously sent to local center for disease prevention and control for confirmation. The test results of these two methods were compared with the confirmatory results of the center for disease prevention and control. Results The positive coincidence rate of chemiluminescence was significantly higher than that of ELISA, and the difference was statistically significant ($P<0.01$); The positive coincidence rate increased significantly when the S/CO value of CLIA was ≥ 100.0 . However, in ELISA test, only when the results of the agents were all positive and S/CO ≥ 10 , the confirmatory result is positive. Conclusion It is of great significance for the management of the team of voluntary blood donors to apply CLIA in testing voluntary blood donors HIV-positive in ELISA screening.

Key word: chemiluminescence; HIV antibody; voluntary blood donors

艾滋病是一种危害性极大的传染性疾病,是由于患者感染人类免疫缺陷病毒(HIV)引起,目前在临床医学中还没有有效的治疗方法。为预防及杜绝血液传播而导致HIV相关疾病,国家卫生部门要求献血者在输血前均需接受HIV抗体检测。在血站日常筛查工作中,第4代HIV酶联免疫吸附法(ELISA)的假阳性率较高^[1],会造成血液资源的浪费以及假阳性献血者的恐慌。对热衷于支持无偿献血事业的固定献血者,我们应做好相应的归队管理。因此本站收集了ELISA检测HIV抗体呈阳性反应但感染状态不确定的无偿献血者样本,通过增加化学发光免疫分析法

(CLIA)检测,以确认ELISA法阳性反应性无偿献血者的血清学状态,对无偿献血者归队要求进行评估,同时为将来ELISA筛查HIV呈阳性反应献血者的归队检测积累数据资料。

1 资料和方法

1.1 一般资料

收集我站2018年7月至2020年12月ELISA筛查HIV阳性且自愿咨询检测的无偿献血者100例,男65例,女35例,年龄19~50岁,平均 (35.2 ± 8.7) 岁,其中经当地疾病预防控制中心(CDV)应用免疫印迹法(WB)确证HIV抗体阳性者10例。

1.2 仪器与试剂

罗氏公司CLIA分析仪cobas 6000(e 601模块),FAME全自动酶标仪(北京澳斯邦公司),Xantus全自

基金项目: 佛山市自筹经费类科技计划项目
(No.1920001001675)

收稿日期: 2021-05-17; 修订日期: 2021-09-01

作者简介: 于艳涛(1983-),女,硕士,主管技师

动加样仪(深圳爱康公司)。化学发光质控品、定标液和艾滋病毒抗原/抗体检测试剂盒均购自罗氏公司。北京万泰人类免疫缺陷病毒抗体抗原检测试剂盒(ELISA),法国伯乐人类免疫缺陷病毒抗体抗原检测试剂盒(ELISA),试剂均在有效期内。

1.3 方法

对研究期间所有采集的无偿献血者血液标本经两种酶免试剂ELISA初筛检测,操作均按仪器和试剂盒说明书进行。复检至少有1种试剂仍为阳性反应性的标本送至顺德区CDV通过WB进行确证。同时对于呈反应性但感染状态不确定的无偿献血者样本进行CLIA检测。

1.4 判断标准

罗氏cobas 6000化学发光免疫分析法:以S/CO值 ≥ 1.0 判定为阳性,S/CO值 < 1.0 判定为阴性;酶联法:吸光度 $\geq \text{cut off}$ 值为阳性,吸光度 $< \text{cut off}$ 值为阴性。

1.5 统计学处理

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析,计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测HIV抗体结果的比较

CLIA法检测HIV抗体阳性符合率明显高于ELISA法($P < 0.01$),见表1。

2.2 ELISA检测HIV抗体阳性结果分析

ELISA检测100例HIV抗体阳性者S/CO值与WB结果符合率比较,以WB检测结果为标准,ELISA

表1 两种方法检测HIV抗体结果的比较

方法	<i>n</i>	WB确证阳性/例	假阳性/例	阳性符合率/%
ELISA	100	10	90	10.0
CLIA	11	10	1	90.9

检测100例HIV抗体阳性者中,S/CO值为 $10.0 \sim < 30.0$ 的标本阳性符合率明显高于其他组($P < 0.01$),见表2。

2.3 CLIA检测HIV抗体反应性结果分析

ELISA检测100例HIV抗体反应性的标本进行CLIA复检,CLIA结果按阴性、假阳性、阳性S/CO值分布分区与WB结果阳性符合率比较,S/CO值 ≥ 100.0 的阳性符合率显著高于其他组($P < 0.01$),见表3。

2.4 无偿献血者参与血站献血者归队管理情况

在WB确证的90例HIV抗体阴性献血者中,25例自愿参加了献血者归队检测,占比27.8%。献血者归队标本均进行ELISA检测,其中仍有10例结果为阳性。

3 讨论

目前HIV检测方法分为筛查试验(ELISA、CLIA)和补充试验(确证试验和核酸试验)^[2-3]。常规用于血站HIV血液筛查的ELISA方法,由于其成本低、操作简单,而被血站广泛应用于献血者血液筛查^[4]。CLIA是一种新型的免疫学检测技术,因其灵敏度高、特异性好^[5]、操作简便等优势而被临床广泛应用,但其检测成本较高,现在尚未在无偿献血者血液筛查中普遍推广。本研究将CLIA用于ELISA检测呈阳性反应性

表2 ELISA检测HIV抗体阳性S/CO值与WB结果符合率的比较

S/CO值	ELISA法	<i>n</i>	WB确证阳性/例	WB确证阴性/例	符合率/%
1 ~ <5.0	双试剂阳性	1	0	1	0
	单试剂阳性	81	0	81	0
5.0 ~ <10.0	双试剂阳性	0	0	0	0
	单试剂阳性	6	0	6	0
10.0 ~ <30.0	双试剂阳性	10	10	0	100.0
	单试剂阳性	2	0	2	0
合计		100	10	90	10.0

表3 CLIA检测HIV抗体阳性者S/CO值与WB结果符合率的比较

S/CO值	CLIA法/例	WB确证阳性/例	WB确证阴性/例	符合率/%
<1.0	89	0	89	100.0
1.0 ~ <100.0	1	0	1	0
≥ 100.0	10	10	0	100.0
合计	100	10	90	10.0

的无偿献血者标本,探讨其应用于献血者归队管理中的可行性。我站2018年7月至2020年12月无偿献血者HIV感染率为0.108%,低于广州^[6](0.229%),与中山^[7](0.120%)接近,说明本地区无偿献血者大部分为HIV感染低危人群,我们更应做好HIV抗体反应性无偿献血者的归队管理工作。献血者经常规检测法ELISA筛查HIV阳性的100例标本再行CLIA检测,结果与WB确证结果比较,ELISA假阳性90例,CLIA假阳性1例,ELISA检测的假阳性率显著高于CLIA。

当ELISA两种不同检测试剂均呈阳性反应且S/CO值 ≥ 10.0 时,标本的阳性符合率较高,预示HIV抗体阳性的可能性较大。其他区间的88例假阳性反应性标本中单试剂阳性反应性标本占绝大部分,导致这部分献血者的血液淘汰,同时影响后续的献血者归队。可能因ELISA检测试剂包被抗原多为重组抗原,不同厂家包被抗原选取的片段不一致,造成检测结果不一致^[8];也可能与部分血站为了提高输血的安全性而设置临界值灰区(下调临界值)有关。本研究中单试剂检测阳性的标本经WB确证试验均为阴性。吕蒙恩等^[9]研究认为ELISA检测HIV抗原/抗体,设置灰区对提升血液安全的作用有限,还易误淘汰无偿献血者。而CLIA特异性高,假阳性率较低。本研究中,CLIA的1例假阳性发生在S/CO值 $1.0 \sim <100.0$ 。因此我们在检测时应注意该区间的阳性结果以保证结果的可靠性。国内有专家提出高滴度自身抗体会干扰CLIA对HIV抗体的检测,产生一定的假阳性^[10-11];也有学者研究发现CLIA检测标本采用高速离心后HIV抗体的阳性复检率显著降低,可避免纤维蛋白、血细胞及其碎片、血液中可能存在的其他粒子对抗原、抗体检测的影响^[12]。而本实验过程中进行CLIA检测的样本,未将标本进行高速离心处理,直接用原来的血清样本进行复检,可能是导致假阳性结果的原因。因此在应用CLIA检测HIV筛查呈反应性的标本且在S/CO值较低时,应重新提高离心速度分离样本,再行复检。

将高灵敏度的ELISA试剂应用于低危献血者人群的血液筛查,假阳性结果的出现无可避免。但每一份假阳性结果都可能会给无偿献血者造成身心伤害和精神困扰。献血者归队作为健康公民参加无偿献血的选择权,我们血站工作者有必要做好无偿献血者归队管理。本文ELISA检测HIV抗体阳性的100例无偿献血者中,经CDC确证有90例假阳性者,其中25例主动参与了归队管理检测,说明假阳性献血者中仍有27.8%愿意继续参与无偿献血,这对无偿献血事业有重要的意义。血站现行的归队管理检测策略

是应用筛查项目呈阳性的ELISA试剂再次进行双孔复检。连续随访两次,结果仍为HIV抗体阳性,献血者可永久屏蔽献血资格^[13]。本研究参与归队的25名献血者中仍有10名献血者检测呈阳性反应(假阳性结果)而无法顺利归队。因此,为了减少假阳性检出率,有必要对ELISA筛查呈阳性反应的标本再行CLIA方法复检,降低假阳性率,从而减轻对献血者造成不必要的身心伤害和精神困扰。从这个方面来说,CLIA比ELISA具有一定的优势,与段美婷等^[14]的研究结果相似。

综上所述,CLIA在无偿献血者HIV筛查呈阳性的标本检测中假阳性率低于ELISA,由于其成本高未能在无偿献血者血液筛查检测中普遍推广,但可应用于无偿献血者的归队管理。

参考文献:

- [1] 黄秀琳,冷文杰,尹丹,等.重庆市无偿献血者HIV筛查及确认结果对比分析[J].中国输血杂志,2015,28(9):1128-1130.
- [2] 赵菲,王新明.化学发光法检测HIV抗体在血液筛查中的应用评价[J].实验与检验医学,2019,37(5):964-967.
- [3] ESHETU A, HAUSER A, SCHMIDT D, et al. Comparison of two immuno-assays for concurrent detection of HCV antigen and antibodies a-mong HIV/HCV co-infected patients in dried serum/plasma spots[J]. J Virol Methods, 2020, 279: 113839.
- [4] 陈剑锋,李英莲,常乐,等.两家化学发光系统用于血液筛查HIV的性能评价[J].中国输血杂志,2018,31(8):846-850.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会.WS 293-2019艾滋病和艾滋病病毒感染诊断[S].北京:中国标准出版社,2019.
- [6] 李仲平,梁浩坚,王昊,等.2007-2016年广州地区抗-HIV阳性无偿献血者人群特征分析[J].中国输血杂志,2017,30(11):1270-1274.
- [7] 何锐洪,詹宗伟,林惠燕,等.中山地区2006—2015年无偿献血人群人类免疫缺陷病毒感染情况分析[J].临床输血与检验,2017,19(3):288-291.
- [8] 李德武.HIV抗体初筛试验假阳性原因探究及处理措施[J].检验医学与临床,2012,9(19):2492-2493.
- [9] 吕蒙恩,凌霞.献血者HIV1/2血清学ELISA检测初试灰区标本的结果分析[J].中国输血杂志,2017,30(12):1387-1388.
- [10] 徐丽霞,毛根珍,林群,等.RA相关自身抗体对HIV病毒检测结果的影响[J].中国现代医生,2018,56(6):124-127.
- [11] 薛城.HIV抗体初筛检测质量影响因素的分析[J].临床检验杂志,2019,8(1):132-133.
- [12] 安哲,张妮,李思鹏,等.高速离心对传染病四项复检结果的影响[J].标记免疫分析与临床,2016,23(1):91-94.
- [13] 林铁辉,曾晓燕.某地区重复献血人群分布[J].国际检验医学杂志,2012,33(5):1839-1842.
- [14] 段美婷,兰良子.CLIA法与酶联免疫吸附法进行血检测HIV效果评价[J].检验检测,2016,22(5):78-80.