

核酸检测和酶免(ELISA)检测在血液制品质量控制中的应用研究

时素华 文精贵 潘昌臣

国药集团贵州血液制品有限公司 贵州 黔东南苗族侗族自治州 556011

摘要: 血液制品对于许多疾病的治疗和预防起到了至关重要的作用, 由于血液制品是从人血浆中提取出来的, 所以其中可能存在各种传染性疾病的病原体, 如艾滋病病毒、肝炎病毒等。如果血液制品没有经过充分的检测和处理, 就可能会传播这些病原体。为了保证血液制品的安全性和有效性, 需要对其进行质量控制。目前, 核酸检测和酶免(ELISA)检测是常用的检测方法。本文通过比较两种检测方法在血液制品质量控制中的应用, 探讨其优缺点和适用范围。

关键词: 核酸检测; 酶免(ELISA)检测; 血液制品; 质量控制; 应用; 研究

1 引言

血液制品是指从健康人血浆中提取出来的药物, 它们包括人血白蛋白、凝血因子、免疫球蛋白等。这些制品在医学上有着广泛的应用, 对于许多疾病的治疗和预防起到了重要的作用, 但是, 由于采集、处理、储存和生产等过程中的不当操作, 血液制品中存在着病原体的污染风险, 如乙肝病毒、丙肝病毒、人免疫缺陷病毒等。这些病原体的污染会危害病人的健康, 甚至导致死亡。为了保证血液制品的安全性和有效性, 需要对其进行严格的质量控制。

目前, 核酸检测和酶免(ELISA)检测是常用的检测方法。核酸检测是利用聚合酶链式反应(PCR)技术, 对血液制品中的核酸进行扩增并检测, 可以检测出包括病毒、细菌和寄生虫等在内的多种病原体, 并具有高灵敏度和特异性。但是, 该方法需要对病原体的基因序列有一定的了解, 并且存在着假阳性和假阴性的问题。酶免(ELISA)检测则是利用特异性抗体和酶标记的方法, 对血液制品中的病原体进行检测。可以检测出多种病原体, 并且具有高灵敏度和特异性。但是, 该方法需要提前准备好特定的抗体, 并且存在着交叉反应和抗体失效的问题。两种方法各有优缺点, 核酸检测和酶免(ELISA)检测都是血液制品质量控制中常用的检测方法, 应根据具体情况选择适当的方法进行检测, 以确保血液制品的安全性和有效性。本文将通过比较两种检测方法在血液制品质量控制中的应用, 探讨其适用范围和优缺点。

2 核酸检测在血液制品质量控制中的应用

核酸检测是一种基于分子生物学技术的检测方法, 可以对血液制品中的病原体进行快速、准确的检测和鉴

定。在血液制品质量控制中, 核酸检测被广泛应用于以下几个方面:

2.1 病毒感染的筛查: 核酸检测可以对血液制品中的病毒进行快速、准确的筛查, 如乙型肝炎病毒、人免疫缺陷病毒(HIV)、丙型肝炎病毒等。这些病毒若存在于血液制品中, 会给接受血液制品的患者带来极大的健康风险。

2.2 感染源的鉴定: 核酸检测可以对血液制品生产过程中的污染源进行鉴定, 如细菌、真菌等。通过对污染源的及时鉴定, 可以及时采取相应的措施, 保证血液制品的质量和安全性。

2.3 质量控制的监测: 核酸检测可以对血液制品生产过程中的关键节点进行监测, 如原材料、生产过程、成品等。通过对关键节点的监测, 可以及时发现和纠正生产过程中的问题, 保证血液制品的质量和安全性。

3 酶免(ELISA)检测在血液制品质量控制中的应用

酶免(ELISA)是一种常用的免疫学检测方法, 可用于血液制品质量控制中的病原体检测。ELISA检测技术基于抗原与抗体的特异性结合, 并通过酶标记进行检测。

在血液制品质量控制中, ELISA常用于以下几个方面:

3.1 病毒检测: ELISA可用于检测血浆或血清中的病毒抗体和抗原, 如艾滋病病毒、乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒等。这些病毒可能存在于捐赠者的血液中, 如果不及检测出来, 就会影响血液制品的安全性。

3.2 细菌检测: ELISA也可用于检测血浆或血清中的细菌抗体和抗原, 如梅毒螺旋体和结核分枝杆菌等。这些细菌可能存在于捐赠者的血液中, 如果不及检测出

来, 就会影响血液制品的安全性。

3.3 免疫球蛋白检测: ELISA可用于检测血浆或血清中的免疫球蛋白, 如人类免疫球蛋白G (IgG) 和人类免疫球蛋白M (IgM) 等。这些免疫球蛋白是一种重要的治疗性蛋白质, 可以用于治疗某些自身免疫性疾病和感染性疾病。

4 我公司核酸检测和酶免(ELISA)检测平行筛查血液制品生产用人血浆的检测方法及结果汇总

目前, 我国原料血浆控制经血传播疾病的主要手段为病毒标记物的血清学酶免(ELISA)检测及HBV/HCV/HIV病毒核酸检测。酶免(ELISA)检测是通过直接法、间接法或双抗体夹心法等免疫反应吸附实验测定血清或血浆中的抗原或抗体, 故可因“窗口期”感染、免疫静默感染、抗原、抗体蛋白结构的变异等原因发生漏检; 而核酸检测(NAT)是通过将血液中微小的病毒核酸(DNA或RNA)通过PCR进行扩增, 通过荧光信号进行识别的, 灵敏度高, 与酶免(ELISA)检测形成很好的互补。为进一步提高血液制品生产用人血浆质量和保证血浆安全, 公司于2019年底按照《中国药典》2020年版三部“血液制品生产用人血浆”要求在酶免(ELISA)检测基础上增加了核酸检测(NAT)(HBV DNA, HCV RNA, HIV-1RNA), 现对核酸检测(NAT)与酶免(ELISA)检测联合应用于公司血液制品生产用人血浆筛查的检测方法及结果进行汇总。

4.1 核酸检测和酶免(ELISA)检测所需材料及方法

4.1.1 所需材料:

--血液制品生产用人血浆: 选取公司从位于江西省的所属单采血浆站购进的献血浆者血浆标本199888人份。标本均按照《中华人民共和国药典》中“血液制品生产用人血浆”的规定和《单采血浆站质量管理规范》的规定进行采集、检验、贮存和运输。

--检测试剂:酶免(ELISA)检测试剂:HBsAg由上海科华生物工程股份有限公司提供; 抗HCV、抗HIV由北京万泰生物药业股份有限公司提供。核酸检测(HBV DNA,HCV RNA,HIV-1RNA)试剂盒(PCR-荧光法)由上海科华生物工程股份有限公司提供, 所有试剂均在有效期内使用, 并严格按试剂说明书操作。

--检测用主要仪器:赛默飞世尔(上海)仪器有限公司FC酶标仪;上海科华实验系统有限公司Parami N400全自动核酸提取纯化仪(混样仪)、哈美顿博纳图斯股份有限公司Microlab STAR IVD全自动核酸提取/纯化分析仪、伯乐CFX C0nnect定时定量PCR扩增仪。

4.1.2 检测方法:

采用先核酸检测后酶免筛查的策略进行。核酸检测是采用48人份标本混样核酸联合检测(HBV DNA,HCV RNA,HIV-1RNA), 若混检结果为无反应性, 则48份标本核酸结果均判定为阴性;若混检结果为有反应性, 则对这48份标本进行拆分检测, 即每8份标本进行混样检测, 未拆出有反应性的标本, 则8份标本均为核酸阴性, 拆出有反应性的标本则对8份标本直接进行单人份核酸检测, HBV DNA HCV RNA HIV-1 RNA有反应性为核酸阳性, 无反应性为核酸阴性。

对酶免(ELISA)初筛呈阳性反应的样品, 使用原有试剂双孔复试, 复试双孔均出现阴性结果, 则判定为阴性; 双孔均为阳性或出现一阴一阳时, 均判为阳性。

4.2 检测结果汇总:

4.2.1 核酸检测(NAT)与酶免(ELISA)检测结果:见下表。

表1 199888份献血浆者标本酶免(ELISA)检测结果

项目	单试剂反应性标本数(份)	反应率(%)
HBsAg	18	0.009
抗HCV	1	0.0005
抗HIV	0	0
合计	19	0.010

表2 199888份献血浆者标本核酸检测(NAT)结果

项目	反应性标本数(份)	反应率(%)
HBV DNA	4	0.002
HCV RNA	2	0.001
HIV-1 RNA	1	0.0005
合计	7	0.004

表3 酶免与核酸检测平行筛查结果(份)

/	酶免(ELISA)检测(+)	酶免(ELISA)检测(-)	合计
核酸检测(+)	1	6	7
核酸检测(-)	18	199863	199881
合计	19	199869	199888

酶免(ELISA)检测(HBsAg、抗HCV、抗HIV)单试剂反应性19份, 不合格率为0.010%。核酸检测(NAT)(HBV DNA,HCV RNA, HIV-1RNA)反应性7份, 不合格率0.004%其中1份既为酶免(ELISA)检测(HBsAg)单试剂反应性, 又为核酸检测(NAT)(HBV DNA)反应性。

5 核酸检测和酶免(ELISA)检测平行筛查血液制品生产用人血浆的检测结果的比较分析

选取的我公司199888份献血浆者标本的核酸检测(HBV DNA, HCV RNA, HIV-1RNA)结果和酶免(ELISA)检测(HBsAg、抗HCV、抗HIV)结果进行比较分析。结果:199888份献血浆者标本核酸检测(HBV DNA, HCV

AHIV-1 RNA)反应性 7份,不合格率为 0.004%; 酶免(ELISA)检测(HBsAg、抗HCV、抗HIV)反应性 19份,不合格率为 0.010%;其中1份既为酶免(ELISA)检测(HBsAg)单试剂反应性,又为核酸检测(HBV DNA)反应性。因此核酸检测与酶免(ELISA)检测用于血液制品生产用人血浆平行筛查过程中可以降低漏检率,有很好的互补作用,以此保证血浆平行筛查的安全性,进一步提高血液制品生产用人血浆的质量,保证药品安全。

从上述数据可以看出酶免(ELISA)检测结果和核酸检测结果之间有不一致的表现存在;核酸检测(NAT)在酶免(ELISA)检测无反应的标本中检出3例 HBV DNA病毒、2例HCV RNA病毒、1例HIV-1 RNA病毒,核酸检测(NAT)方法在血液筛查中有效地检测出病毒早期感染标本,有效缩短“窗口期”,降低了因窗口期漏检带来的风险,提高了原料血浆的病毒安全性水平;且避免了原料血浆不必要的浪费,血浆利用率得到提高。在酶免(ELISA)检测阳性标本中核酸检测阴性为18例,可能由于病毒相关标志物于患者外周血当中存在的时间不同,病毒载量低,未达到核酸检测的最低检测限,或者由于病毒在血浆中分布的不均一性,核酸提取时对病毒核酸提取的随机性,都有可能会出现漏检的现象。由此可见,酶免(ELISA)检测和核酸检测应用于血液制品生产用人血浆检测当中都仍可能有漏检或者假阳性的情况存在。

6 结论

本文通过比较核酸检测和酶免(ELISA)检测在血液制品质量控制中的应用案例分析,可以发现两种检测方法各有优缺点。核酸检测具有高度敏感、特异性强、能够检测到微量的病原体,同时不受病毒变异的影响。此外,核酸检测还可以进行定量检测,能够衡量病毒的含量,为治疗提供参考依据。但需要对样本进行前处理,检测结果易受到干扰,无法区分病毒的活性和失活状态等缺点。酶免(ELISA)检测其优点在于操作简单、成本低

廉、快速、准确。酶免(ELISA)检测可以检测到多种病原体,如乙肝病毒表面抗原、丙肝病毒抗体等。然而,酶免(ELISA)检测也存在一些缺点。首先,其灵敏度较低,不能检测到微量的病原体。其次,酶免(ELISA)检测的结果容易受到交叉反应的影响,即可能出现假阳性或假阴性的情况。在实际应用中,根据需要选择适当的检测方法。对于需要检测微量病原体、需要定量检测、需要判断病毒的活性和失活状态的情况,应选择核酸检测;对于需要快速、准确检测、操作简单、成本低廉的情况,应选择酶免(ELISA)检测。因此核酸检测和酶免(ELISA)检测在血液制品质量控制中,两者不能互相替代检测,可以综合使用两种检测方法,以提高检测的准确性和可靠性。以将防漏互补的优势充分发挥,进一步提高血液制品生产用人血浆的质量,最有效地降低经血传播疾病的风险,保证药品安全。同时,也需要加强对检测方法的质量控制,确保检测结果的准确性和可靠性。

参考文献

- [1]王金芳, 杨晓娟, 刘海霞, 等. 核酸检测与酶免检测在血液制品中的应用比较研究[J]. 中国血液卫生, 2018, 31(6): 609-612.
- [2]张丽萍, 王伟, 刘洪波, 等. 核酸检测和酶免检测在输血质量控制中的应用研究[J]. 医药导报, 2019, 38(4): 437-441.
- [3]杨平, 陈红梅, 陈国强, 等. 核酸检测和酶免检测在血液制品检测中的比较研究[J]. 中华实验诊断学杂志, 2020, 24(1): 58-61.
- [4]徐志刚, 陈琳, 张慧敏, 等. 核酸检测与酶免检测在血液制品质量控制中的应用比较研究[J]. 中国医学创新, 2020, 17(9): 33-36.
- [5]孙凤英, 孙建国, 张丽娟, 等. 核酸检测和酶免检测在血液制品中的应用比较研究[J]. 中国医药科学, 2021, 11(2): 87-90.