

混合血清法筛检丙型肝炎抗体可行性的血清流行病学研究

刘沛¹ 舒华嵩¹ 张言超² 鲍勇³ 丁莹⁴ 张新英⁴

摘要 应用单盲随机化控制的流行病学方法研究了10个血清标本混合,筛检抗-HCV的可行性。为保证每个标本加样量及每孔液体总量与EIA要求相同,只改变被测混合标本同所加标本稀释剂之间量的比例,其它操作方法与试剂盒说明书一致。结果显示:以逐个检验法为对照,混合血清法的灵敏度为100%,特异度为97.6%,假阳性率为2.4%,Kappa值为0.95 ($P < 0.05$)。收益分析发现,应用混合血清法筛检抗-HCV可获得显著的经济效益。作者认为,在用EIA检测抗-HCV的实验中,将10个标本混合进行抗-HCV筛检是可行的。

关键词 混合血清法 抗-HCV筛检 酶免疫法

近年来,因献血、输血造成丙型肝炎血源性传播的情况日益突出,其危害程度已超过乙型肝炎传染^[1]。但由于抗-HCV检测试剂价格昂贵,目前我国仅有十个省市的血站和大医院开展了抗-HCV检测,一些地区虽用ALT和抗-HBc检测作为替代试验,但效果欠佳^[2]。在此背景下,寻找一种既能在人群中筛检抗-HCV,又能大大减少检测费用的血清流行病学方法,具有重要的现实意义。文献检索发现虽有人将混合血清法用于艾滋病毒抗体血清学研究^[3],但目前国内外尚未见到此法在抗-HCV血清流行病学研究中的应用。

材料与方 法

一、血清标本:抗-HCV阳性标本采自我院传染病学教研室,选取标准为抗-HCV测定三次及三次以上阳性,经临床确诊为丙型肝炎者。抗-HCV阴性标本采自徐州市职业献血员。

二、试剂:上海实业科华生物技术有限公司的EIA检测丙型肝炎抗体试剂盒。批号19921230。

三、酶标仪:南京华东电子管厂的DG3022型酶联免疫检测仪,波长490nm。

四、试验操作方法:①逐个检验法:按试剂盒说明书A法操作;②混合检验法:以10个标本为一组,构成混合标本。为保持每单个标本加样量及每孔液体总量与说明书要求相同,只改变被测混合标本同所加标本稀释剂之间量的比例,其它操作方法同前。

五、血清流行病学方法:采用单盲随机化控制试验的流行病学研究方法。对照组:随机抽取抗-HCV阴性的职业献血员血清250份,其中男性为34.1%,女性为65.9%,年龄为18~49岁,献血年限为1~19年,采血次数为2~22次,单采浆还输血球献血员占11.1%;实验组:将250份献血员血清按OD值大小重新编号,按完全随机化方法分为9人或10人一组,同时按机械抽样的方法将27名抗-HCV阳性血清随机混入各组。抗-HCV阳性血清OD值为0.27~1.41,均数为0.75,标准差为0.38。在试验过程中,操作者不知道哪组已混入阳性血清。

1 徐州医学院卫生学教研室 221002

2 徐州医学院传染病学教研室;

3 徐州医学院流行病学教研室;

4 徐州市中心血站。

本研究由徐州市科学技术委员会,徐州医学院资助

结 果

一、混合血清法与逐个检验法检测抗-HCV结果：见表1。以逐个检验为对照，混合检验的灵敏度为100%，特异度为97.6%，假阳性率为2.4%，因特异度降低而造成的多检出率为1.8%，Kappa值为0.95（ $P < 0.05$ ）。

表1 逐个检验法与混合检验法检测抗-HCV结果

混合检验	逐个检验		合计
	阳性	阴性	
阳性	27	2	29
阴性	0	81	81
合计	27	83	110

二、抗-HCV阳性血清在不同水平时，混合血清法对试验灵敏度的影响：分别对未混合的抗-HCV阳性标本，1份阳性9份阴性的混合标本作5倍稀释至1:625，然后按EIA检测抗-HCV，每孔均作平行样品，结果见表2。

表2 不同稀释状态下测定抗-HCV的OD值

	未稀释	1:5	1:25	1:125	1:625
未混合标本	1.35	1.40	1.24	0.63	0.13
10个标本混合	1.34	1.44	1.25	0.61	0.18

以本次实验Cutoff Value=0.207为界，混合标本与未混合标本测定的定性结果一致，定量结果未见差异（ $P > 0.05$ ）。

三、收益分析：设某地区待筛检的人数为n，抗-HCV估计阳性率为P，每组混合人数为k，则每组检验次数 $a_i, i=1, 2, \dots, \frac{n}{k}$ 为一随机变量。注意到若某组k人全为阴性，根据乘法定理。可知概率为 $(1-p)^k$ ，而此时仅需对混合标本检验1次，故 $a_1=1$ ；若混合标本检验结果为阳性，表明k人中至少有1人为阳性，根据逆事件定理可知概率为 $1-(1-p)^k$ ，此时再对这k个人逐个检验，共需检验k+1次，于是

每组检验次数的数学期望为

$$E_{a_i} = 1 \times (1-p)^k + (k+1) \cdot [1 - (1-p)^k] \quad (1)$$

混合血清法检验次数的数学期望为

$$E_a = E_{a_1} + E_{a_2} + \dots + E_{a_{\frac{n}{k}}} = \frac{n}{k} E_{a_i} = n [1 - (1-p)^k + \frac{1}{k}] \quad (2)$$

混合血清法减少检验次数的百分数为

$$L = [(1-p)^k - \frac{1}{k}] \times 100\% \quad (3)$$

设每人检查费用为W，节省的费用为S，

现给出经济效益定量分析的计算公式

$$S = L \cdot n \cdot W \quad (4)$$

如北京地区自然人群抗-HCV阳性率为2.1%〔4〕，本次试验的多检出率为1.8%，现拟按5人一组混合，则按（3）式可算得L=62.0%；若按1992年北京市共组织采血313 598人次，每人检测费用约为10元计算，估计可节省经费S=194.4万元。

现根据不同献血人群抗-HCV阳性率〔5〕，结合本次试验的多检出率，对其收益进行定量分析（表3）。从表3可知，抗-HCV阳性率越低，收益越大，而对献浆者，将增加24.9%的检验次数。

表3 不同献血人群应用混合血清法筛检抗-HCV收益定量分析

献血者分类	测定次数	抗-HCV(+)率(%)	k	L
无偿献血者	738	1.7	6	64.1
公民义务献血者	3934	2.9	5	58.6
个体献血者	14757	13.6	3	27.2
献浆者	2415	48.1	2	-24.9

讨 论

一、灵敏度及一致性分析：由于EIA检测抗-HCV反应是将抗原吸附在固相载体上的，它只能与抗体结合，而结合后的复合物不能象沉淀反应那样再互相结合，且在操作过程中要反复冲洗反应板，所以这类反应没有免疫阻滞现象〔6〕。故我们将试验条件控制在最可能出现

假阴性结果的1阳9阴的混合上,表1、表2显示,混合血清法未降低检验的灵敏度。一般说来,若Kappa值 ≥ 0.75 ,说明两方法间已取得相当满意的一致程度^[7]。本次实验的Kappa值=0.95,提示:混合血清法和逐个检验法,在用EIA检测抗-HCV时,具有良好的-一致性($P < 0.05$)。

二、特异度分析:在本次实验中,为保持检验的灵敏度,我们仍采用说明书规定的加样量,结果出现了2.4%的假阳性率,这可能是背景OD值的迭加作用所致。考虑到漏检抗-HCV阳性标本有可能造成丙肝感染,而若出现假阳性还要进行逐个检验,且收益分析发现,只要将因特异度降低而造成的多检出率控制在允许范围内,应用混合血清法仍可大大减少检验次数。因此我们认为,在混合血清法中为保持其灵敏度,对特异度作出一些让步是值得的。

三、收益分析:由(3)、(4)式可知,混合血清法的收益与估计阳性率 p ,每组混合人数 k 及待筛检人数 n 等有关,其中估计阳性率对其影响最大。当估计阳性率 $p=25\%$ 时,由(3)式可知,混合检验法最多只能减少8.9%的检验次数,此时若 n 较小,则应用混合血清法的意义已不大。而当 $p > 30\%$ 时,应用混合血清法反而会增加检验次数。因此,在应用混合血清法时,应对抗-HCV阳性率有一事先估计。

由于试验是在严格控制的条件下进行的,组的划分是随机的,并消除了操作者可能存在的主观影响。因此,我们初步认为,在用EIA检测抗-HCV的试验中,将10个标本混合进行抗-HCV筛检是可行的。

Department of Hygiene, Xuzhou Medical College, 221006

The feasibility of screening for the antibody to HCV by pooling 10 serum specimens was studied by utilizing the epidemiologic method of blind randomized controlled trial. We changed only the ratio between the pooled serum specimen volume and the serum specimen diluent volume, with their total volume and single serum specimen volume being as much as the volume required by EIA. Other steps were the same as those of EIA. The result showed that taking single serum specimen as the control group, the sensitivity and specificity of pooled serum specimen were 100% and 97.6%, respectively. The false positive rate was 2.4%, Kappa value was 0.95 ($P < 0.05$). The analysis of profit found that remarkable social and economic benefit will be obtained when serum pooling method is used. These results demonstrate that pooling 10 serum specimens is feasible to screening the antibody to HCV in blood donors by EIA.

Key words Serum Pooling Method
Screening for Antibody to HCV EIA

参考文献

- 1 戴云.控制丙型肝炎的传播势在必行.中国输血杂志, 1992, 5(4): 169.
- 2 马贵明,谈维,献血者抗-HCV及替代标志物的调查.中国输血杂志, 1992, 5(4): 204.
- 3 季阳,瞿德敏,贾桂芳,等.混合血清法筛检HIV抗体试验.中国公共卫生, 1992, 8(10): 457.
- 4 北京医科大学肝病研究所,日本红十字中央血液中心,北京医科大学血液病研究所,等.北京地区不同人群血清抗HCV研究.中华医学杂志, 1992, 72(1): 18.
- 5 赵海燕,陶其敏,盛树立,等.河北省部分地区及北京市献血人群的抗-HCV调查.中国输血杂志, 1992, 5(4): 176.
- 6 贾万钧.免疫血清学检验指导——抗原抗体反应定量表的应用.北京:化学工业出版社, 1988, 197.
- 7 倪宗瓚主编.医学统计学.北京:人民卫生出版社, 1990, 255.

Seroepidemiologic Study on the Feasibility of Screening for the Antibody to HCV by Pooling the Serum Specimens Liu Pei, Shu Huasong, Zhang Yanchao, et al.

(收稿: 1993-04-06 修回, 1993-05-28)