

〔文章编号〕 1007-0893(2022)24-0015-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2022.24.005

## 56 °C 30 min 灭活病毒对光激化学发光法 检测输血前传染性指标结果的影响

彭献香 魏寿忠<sup>\*</sup>

(宁德师范学院附属宁德市医院, 福建 宁德 352100)

〔摘要〕 **目的:** 探讨 56 °C 30 min 灭活血液中的病毒, 对光激化学发光法(LiCA)检测输血前传染性指标结果的影响。**方法:** 采集 20 例患者血液各 2 管, 分别在未灭活和 56 °C 30 min 灭活后, 采用全自动光激化学发光检测仪进行输血前传染性指标〔丙型肝炎病毒抗体(HCV-Ab)、人免疫缺陷病毒抗体(HIV-Ab)、梅毒螺旋体抗体(TP-Ab)、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎表面抗体(HBsAb)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎 e 抗体(HBeAb)、乙型肝炎核心抗体(HBcAb)〕的检测, 比较灭活前后指标的检测结果及发光测定信号值差异。**结果:** 56 °C 30 min 灭活前后, 所有输血前传染性指标的发光测定信号值比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有指标的灭活前后的定性分析符合率均为 100%。*Pearson* 相关性分析结果显示, 灭活前后, 各输血前传染性指标均呈高度的正相关( $r$  均  $> 0.7$ ,  $P$  均  $< 0.01$ )。**结论:** 血液经 56 °C 30 min 灭活处理后不会对 LiCA 检测输血前传染性指标的结果造成影响, 该灭活方法可以作为在传染性强的病毒学实验室的标本前处理方法。

〔关键词〕 56 °C 30 min 灭活病毒; 光激化学发光法; 输血前传染性指标

〔中图分类号〕 R 446.6 〔文献标识码〕 B

### Effect of Inactivation of Virus at 56 °C for 30 min on the Results of Detection of Indicators of Pre-transfusion Infectivity by Light Initiated Chemiluminescent Assay

PENG Xian-xiang, WEI Shou-zhong<sup>\*</sup>

(Ningde Hospital Affiliated to Ningde Normal University, Fujian Ningde 352100)

〔Abstract〕 **Objective** To investigate the effect of inactivation of virus in blood at 56 °C for 30 min on the results of indicators of pre-transfusion infectivity by light initiated chemiluminescent assay (LiCA). **Methods** Two tubes of blood from 20 patients were collected, and after inactivation at 56 °C for 30 min, the transmissibility indexes [hepatitis C virus antibody (HCV-Ab), human immunodeficiency virus antibody (HIV-Ab), treponema pallidum antibody (TP-Ab), hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B surface antibody (HBsAb), hepatitis B e antigen (HBeAg), hepatitis B e antibody (HBeAb) and hepatitis B core antibody (HBcAb)] were detection, and comparison of the detection results of the indicators before and after inactivation and the difference of the signal value of the luminous assay. **Results** Before and after inactivation at 56 °C for 30 min, there was no statistically significant difference in the signal value of the luminescence measurement of all the infectious indicators before blood transfusion ( $P > 0.05$ ). The coincidence rate of qualitative analysis before and after inactivation of all indicators was 100%. *Pearson* correlation analysis showed that before and after inactivation, the infective indexes before and after transfusion were highly correlated ( $r > 0.7$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion** The inactivation treatment of blood at 56 °C for 30 min will not affect the results of LiCA detection of indicators of pre-transfusion infectivity. This inactivation method can be used as a sample pretreatment method in highly infectious virology laboratories.

〔Keywords〕 Inactivation of virus at 56 °C for 30 min; Light initiated chemiluminescent assay; Indicators of pre-transfusion infectivity

在常规的血液标本处理过程中, 有的病毒可能会通过气溶胶等方式感染实验室工作人员或污染实验室工作环境, 按照医院感染的要求及对检验人员、标本的安全考虑, 检测时必须按照规定进行生物安全防护, 对待检

〔收稿日期〕 2022 - 10 - 08

〔作者简介〕 彭献香, 女, 主管技师, 主要研究方向是临床输血检验。

〔\* 通信作者〕 魏寿忠 (E-mail: weisz2021@163.com; Tel: 13559903990)

标本进行灭活处理是病毒核酸检测前的常规处理方法<sup>[1]</sup>。有研究结果显示加热灭活处理对大部分生物化学和免疫项目并无影响或影响较小<sup>[2]</sup>，为了总结相关的经验，本研究收集 20 例血液标本，探讨采用 56 °C 30 min 灭活病毒对光激化学发光法（light initiated chemiluminescent assay, LiCA）下各标本输血前传染性指标的影响，包括以下 8 项指标：丙型肝炎病毒抗体（hepatitis C virus antibody, HCV-Ab）、人免疫缺陷病毒抗体（human immunodeficiency virus antibody, HIV-Ab）、梅毒螺旋体抗体（treponema pallidum antibody, TP-Ab）、乙型肝炎表面抗原（hepatitis B surface antigen, HBsAg）、乙型肝炎表面抗体（hepatitis B surface antibody, HBsAb）、乙型肝炎 e 抗原（hepatitis B e antigen, HBeAg）、乙型肝炎 e 抗体（hepatitis B e antibody, HBeAb）、乙型肝炎核心抗体（hepatitis B core antibody, HBcAb）。现将研究结果报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 标本来源

收集已经检测的 HCV-Ab 阳性、HIV-Ab 阳性、TP-Ab 阳性、乙型肝炎“大三阳”患者各 2 例，以及同期 12 例住院患者，用真空促凝采血管采集静脉血各 2 管，每管 3 mL。一管标本直接 3000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min 分离血清，另一管置于 56 °C 恒温水浴箱 30 min 灭活处理后，3000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min 分离血清。

#### 1.2 仪器与试剂

全自动光激化学发光检测仪（LiCA500），由北京科美生物技术有限公司设计，嘉兴凯实生物科技有限公司生产。汕头市医用设备厂有限公司生产的电子恒温水浴箱，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司生产的 L500 台式低温离心机。试剂为博阳生物科技有限公司生产的光激化学发光试剂，包括：HCV-Ab、HIV-Ab、TP-Ab、HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 试剂。

### 1.3 检测方法

将灭活前、56 °C 30 min 灭活后的 40 份标本血清，用全自动光激化学发光检测仪检测，根据仪器检测结果以及检测的发光测定信号值进行比较。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS 18.0 软件进行数据处理，输血前传染性指标检测的发光测定信号值以  $\bar{x} \pm s$  表示，各指标热灭活前后水平差异比较用配对样本 *t* 检验比较，采用 *Pearson* 相关分析灭活前后各指标检测结果，*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 灭活前后输血前传染性指标检测结果比较

灭活前后，所有输血前传染性指标的发光测定信号值比较，差异均无统计学意义（*P* > 0.05），见表 1。所有指标的灭活前后的定性分析符合率均为 100 %。

表 1 灭活前后输血前传染性指标检测结果比较（*n* = 20,  $\bar{x} \pm s$ ）

指 标	灭活前	灭活后
HCV-Ab	79248.95 ± 242844.79	77949.10 ± 238783.19
HIV-Ab	53564.60 ± 224265.21	49290.90 ± 204255.57
TP-Ab	54516.20 ± 201165.69	55780.95 ± 206952.57
HBsAg	70029.85 ± 216440.83	68012.95 ± 209458.89
HBsAb	20588.05 ± 64262.09	23728.85 ± 74027.31
HBeAg	2496.60 ± 8520.37	2484.70 ± 8519.52
HBeAb	294764.05 ± 186026.43	283104.35 ± 123056.86
HBcAb	40246.15 ± 36009.95	36377.65 ± 333965.08

注：HCV-Ab — 丙型肝炎病毒抗体；HIV-Ab — 人免疫缺陷病毒抗体；TP-Ab — 梅毒螺旋体抗体；HBsAg — 乙型肝炎表面抗原；HBsAb — 乙型肝炎表面抗体；HBeAg — 乙型肝炎 e 抗原；HBeAb — 乙型肝炎 e 抗体；HBcAb — 乙型肝炎核心抗体。

### 2.2 灭活前后检测发光信号值相关性分析

*Pearson* 相关性分析结果显示，灭活前后，各输血前传染性指标均呈高度的正相关（*r* 均 > 0.7, *P* 均 < 0.01），见表 2。

表 2 灭活前后检测发光信号值相关性分析

统计值	HCV-Ab	HIV-Ab	TP-Ab	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb
<i>r</i>	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	1.000	0.717	0.705
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001

注：HCV-Ab — 丙型肝炎病毒抗体；HIV-Ab — 人免疫缺陷病毒抗体；TP-Ab — 梅毒螺旋体抗体；HBsAg — 乙型肝炎表面抗原；HBsAb — 乙型肝炎表面抗体；HBeAg — 乙型肝炎 e 抗原；HBeAb — 乙型肝炎 e 抗体；HBcAb — 乙型肝炎核心抗体。

## 3 讨论

实验室检测人员在面对未知检测结果时，无法预知标本是否具有传染性，因此在检测之前先进行病毒灭活处理，可消除检测人员的职业暴露危险<sup>[2]</sup>。而加热灭活病毒的方法不引入任何的化学试剂，仅需控制温度和时间，能使病毒的高级结构受到破坏，其蛋白不再有生理

活性，从而失去感染、致病和繁殖能力<sup>[3-4]</sup>。因此 56 °C 30 min 病毒灭活成为了可选方法。本实验采用促凝真空采血管采集的 20 例 40 份标本，严格遵守生物安全操作，在生物安全柜内开盖，在灭活前和 56 °C 30 min 灭活后进行了光激化学发光检测仪检测，结果显示，56 °C 30 min 灭活前后，HCV-Ab、HIV-Ab、TP-Ab、HBsAg、

HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 等输血前传染性指标的发光测定信号值比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有指标灭活前后的定性分析符合率均为 100%,与郭旺源等<sup>[5]</sup>报道一致,其中 HBsAb 的结果与李晓东等<sup>[2]</sup>报道一致。

输血是临床上的重要治疗手段,但任何血液成分都可能给受血者带来输血风险,其中有输血传播疾病风险。输血传播疾病中最重要的是艾滋病、乙型肝炎、丙型肝炎、梅毒等。目前我国要求作为常规执行的有 HBsAg、抗 HCV、抗 HIV-1/2 筛选检测,另外检测谷丙转氨酶作为检测肝炎的非特异性指标。这些检测为大幅度减少输血传播艾滋病和肝炎做出了决定性的作用<sup>[6]</sup>。目前有的医疗机构针对输血前传染性指标仍采用酶联免疫吸附试验

(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), ELISA 具有成本低廉、稳定性较好、操作相对简单、可实现批量自动化检测等优点,但文献资料显示<sup>[7]</sup>,该方法也有钩状效应引起的假阴性、非特异反应、检测时间长、易交叉污染引起的假阳性和灵敏度较低、检测窗口期时间较长、容易导致假阴性等问题。一旦 ELISA 的反应板上的非特异性吸附干扰物质洗涤不够彻底带有残留物质,就会引起吸光度本底偏高,导致假阳性的发生。而化学发光法用于检测微量抗原或抗体的一种新型标记免疫测定技术。其检测原理与放射免疫(radioimmunoassay, RIA)和酶免疫测定(enzymeimmunoassay, EIA)相似,不同之处是借助发光底物自身的发光强度直接进行测定<sup>[8]</sup>,测得的光量子数就和待测样本中的抗原浓度成正比及线性关系,其本身并不受颜色反应的影响与干扰,结果稳定、精密度高、反应体系可控、检测时间短。本实验对灭活前后输血前传染性指标检测的光激化学发光测定信号值相关性分析,结果显示:Pearson 相关性分析结果显示,灭活前后,各输血前传染性指标均呈高度的正相关( $r$ 均 $> 0.7$ , $P$ 均 $< 0.01$ ),进一步证明 56 °C 30 min 灭活处理不会对 LiCA 检测输血前传染性指标结果造成影响,保证了临床输血的安全性。

虽然 56 °C 30 min 灭活对本造成轻微溶血,但溶血标本对化学发光法检测 HBsAg、HCV-Ab、HIV-Ab、TP-Ab 检测结果的准确性并不受影响<sup>[9-15]</sup>。并且 56 °C 加热 30 min 灭活法不需昂贵的仪器设备、简单易行<sup>[10]</sup>,因此,为避免实验室人员的职业暴露,对本 56 °C 30 min 病毒灭活后检测,可以作为在传染性强的病毒学实验室的标本前处理方法。此外,由于不同实验室检测项目、检

测仪器以及检测方法不同,对本采用 56 °C 30 min 病毒灭活,是否影响检测结果,不同实验室要进行实验验证。

#### [参考文献]

- (1) 国家卫生健康委员会办公厅,国家中医药管理局办公室. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第九版)的通知. 国卫办医函(2022)71号(EB/OL). (2022-03-14) (2022-03-15). [http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2022-03/15/content\\_5679257.htm](http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2022-03/15/content_5679257.htm).
- (2) 李晓东,廖昊,刘妍,等. 60°C 加热 1 h 灭活病毒方法对常规临床检测指标的影响研究(J). 传染病信息, 2016, 29(3): 160-163, 166.
- (3) 郭舒杨,周旭,国泰. 病毒蛋白质相互作用的研究方法及其应用(J). 微生物学免疫学进展, 2011, 39(1): 74-78.
- (4) 白玉龙,高玉凤,袁鸿宾,等. 同种异体及异种组织修复材料:如何选用适宜的病毒灭活工艺(J). 中国组织工程研究, 2019, 23(14): 2261-2268.
- (5) 郭旺源,汤敏,史文元,等. 56°C 30 min 灭活对新型冠状病毒抗体和生化免疫检测结果的影响(J). 检验医学与临床, 2021, 18(1): 97-100.
- (6) 胡丽华. 临床输血学检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013: 227-228.
- (7) 吴忠华,罗鹏,吕沁风. HIV 实验室检测及其研究进展(J). 中国国境卫生检疫杂志, 2009, 32(4): 285-292.
- (8) 白洁,何灵,周建. 传染病四项不同检测方法的临床应用价值对比分析(J). 标记免疫分析与临床, 2016, 23(6): 688-690.
- (9) 万小春. 溶血标本对化学发光方法检测献血者四项传染病指标的影响(J). 中国实用医药, 2017, 12(21): 191-192.
- (10) 董文成. 56 °C 灭活对生化激素检测结果的影响(J). 中国社区医师, 2021, 37(20): 95-96.
- (11) 程敏卓,张向辉,赵卫国,等. 基于光激化学发光技术开发的多表位检测 cTnI 的方法(J). 免疫学杂志, 2014, 30(9): 825-828.
- (12) 全静雯,张亚松,王小春,等. 光激化学发光法与电化学发光免疫法检测甲胎蛋白的一致性(J). 生物技术通讯, 2012, 23(2): 255-257.
- (13) 任杰,刘胜林,李会强. 血清催乳素光激化学发光法的建立及性能评价(J). 临床检验杂志, 2019, 37(7): 495-498.
- (14) 岳庆阳. 酶联免疫吸附法与光激化学发光法检测乙肝病毒临床价值对比(J). 中国现代药物应用, 2022, 16(6): 66-68.
- (15) 苏鹏,付杰,张征. 光激化学发光免疫分析系统检测甲状腺球蛋白的性能评价(J). 标记免疫分析与临床, 2019, 26(12): 2151-2155.