

血液 HBV、HCV 和 HIV 核酸检测 在临床输血中的应用*

黄劲松¹ 刘世国¹ 张军霞¹ 彭黎¹ 李勤¹ 徐瑶¹ 岑千红¹

【摘要】 目的:探讨采供血机构血液制品和综合医院输血常规检测病人同时进行病毒核酸筛查的必要性和可行性。**方法:**采集湖北省中山医院输血科 2010-05—2011-05 的武汉市血液中心来源血液制品 3 527 份,以及 2012-01—2012-07 的输血常规检测标本中各项血清学筛查均合格的 2 815 份血液标本作 16 人份混合血清样本病毒核酸扩增(NAT)检测,凡筛查不合格血样再作单人份检测。**结果:**HBVDNA 阳性标本 4 例,HCV RNA 和 HIV RNA 阳性标本未检出。**结论:**采用 NAT 技术同时筛查献血者和受血者,可以进一步有效降低输血安全风险,避免因输血传播疾病造成的医疗纠纷。

【关键词】 病毒核酸扩增技术;输血安全;输血前检查

【中图分类号】 R457.1 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1004-2806(2013)02-0095-03

Application of NAT testing for HBV, HCV and HIV in clinical blood transfusion

HUANG Jinsong LIU Shiguo ZHANG Junxia PENG Li

LI Qin XU Yao CEN Qianhong

(Department of Clinical Laboratory, Hubei Zhongshan Hospital Wuhan, 430030, China)

Corresponding author: CEN Qianhong, E-mail: cenqianhong@163.com

Abstract Objective: To study the necessity and feasibility of NAT testing for HBV, HCV and HIV in clinical blood transfusion. **Method:** 3527 samples from Wuhan Blood Center from 2010 May to 2011 May and 2815 samples from Department of Clinical Laboratory, Hubei Zhongshan Hospital from 2012 January to 2012 July were collected and detected by nucleic acid amplification (NAT) testing for pools of 16 serologically negative samples, any pools positive in NAT would undergo NAT again individually. **Result:** HBVDNA positive specimens were found from 4 patients, HCV RNA and HIV RNA positive samples were not detected. **Conclusion:** Screening of blood donors and blood recipients using the technology of NAT could further reduce blood transfusion safety risk and avoid medical disputes caused by transfusion transmitted diseases.

Key words nucleic acid amplification testing; blood transfusion safety; examination before blood transfusion

自 20 世纪 80 年代初报道艾滋病可经输血传播以来,血液安全日益受到国内外医学界的关注,其中 HIV、HBV 和 HCV 三种病毒感染危害尤其严重,被世界各国列为献血者及临床供应血液的必检项目。1993 年卫生部颁布的《血站基本标准》规定,血站使用酶联免疫(ELISA)法检测 HBsAg、抗-HCV 和抗-HIV^[1-2]。随着试剂盒质量的不断提高,输血感染病毒的风险已降到非常低的程度,但由于 ELISA 检测病毒抗原或抗体,其“窗口期”、病毒变异、非典型性血清转阳过程等因素造成的漏检往往在所难免,这就给输血安全带来较大的隐患。为缩短血液感染病毒的检测“窗口期”,降低经输血途径传播病毒的风险,国内外越来越多的采供血机构开始在血液筛选中引入核酸扩增技术(Nucleic

acid amplification testing, NAT)检测^[3]。同时临床工作中,输血常规检查虽然已由原来的酶联免疫(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测,逐步改进为化学发光法为主,但是技术的进步仍然不能完全避免输血风险的发生,因此在有条件的大型综合医院开展灵敏度更高的病毒核酸检测已经显得尤为重要。

1 材料与方法

1.1 仪器设备与试剂

Chemagic Magnetic Separation Module I 核酸自动提取系统, ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪, 罗氏 E170 电化学发光分析仪, -70℃ 低温冰箱, 罗氏 HBSAG、HCVAB 和 HIVAB 检测试剂盒(试剂批号: HBSAG 00164271-00167912, HCVAB 00163430-00166980, HIVAB 00160958-00167479), 达安基因 HBV、HCV、HIV-1 病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)。

* 基金项目: 2011—2012 年度湖北省卫生厅采供血管理科研项目(No: CGX2010-5)

¹ 湖北省中山医院检验科(武汉, 430030)

通信作者: 岑千红, E-mail: cenqianhong@163.com

1.2 样本来源

我院输血科 2010-05—2011-05 收到的武汉市血液中心来源血液制品 3 527 份,以及 2012-01—2012-07 的输血常规检测中化学发光法检测 HBSAG、HCVAB 和 HIVAB 均为阴性的血液 2 815 例。

1.3 血清学筛查

武汉市血液中心来源血液制品的检测由血液中心完成,按卫生部要求作 HBV、HCV、HIV、梅毒、ALT 检测,用 2 种试剂检测 2 次,筛查均为阴性。湖北省中山医院输血常规检测标本电化学发光法检测 HBSAG、HCVAB 和 HIVAB 均为阴性。

1.4 应用核酸扩增技术对上述样本分别进行检测

1.4.1 检测原理 采用电脑控制程序实现核酸检测标本的混合加样与磁珠法提取病毒核酸,利用已知阳性、阴性对照和卫生部临床检验中心发放的室内质控物同步操作提取病毒核酸进行内部质量控制,利用荧光 PCR 技术进行病毒核酸检测,并同时采用内标技术进行质量控制。

1.4.2 检测技术路线 将各项血清学筛查均合格的血清以 16 人份混合后作 HBVDNA、HCVRNA 和 HIVRNA 联合检测,混合血样阳性时再作单人份拆分检测。

1.5 复检试验

对于 NAT 阳性而血清学筛查为阴性的样本,用备用管作联合 NAT 复检,以排除原检测管交叉污染可能造成的 NAT 假阳性,并使用 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪(核酸检测试剂由达安基因提供)进行单人份复检,以排除非特异性 NAT 结果;同时使用罗氏 E170 电化学发光分析仪复检血清学结果。

2 结果

武汉血液中心 3 527 例血液制品运用 ELISA 法和 NAT 法未检出 HBV、HCV 和 HIV 阳性。我院内输血常规检测患者检出 HBVDNA 阳性病例 4 份,占 0.14%,均为低拷贝阳性,HCVRNA 和 HIVRNA 核酸阳性病例均未检出。医院内输血常规检测 2 815 患者,血清学筛查均为阴性,HBVDNA 检测阳性 4 例,二种方法比较差异有统计学意义。核酸阳性标本复检血清学检测结果见表 1。

表 1 HBVDNA 阳性病例血清学复查模式表

序号	HBSAG	HBSAB	HBEAG	HBEAB	HBCAB
1	阴性	阴性	阴性	阳性	阳性
2	阴性	阴性	阴性	阳性	阳性
3	阴性	阴性	阴性	阴性	阳性
4	阴性	阴性	阴性	阳性	阳性

3 讨论

目前,我国采供血机构采用 ELISA 进行检测

病毒抗原或抗体,使用两种不同试剂平行检测 2 次,以提高检测结果的可靠性。虽一直在不断地改进和提高检测的灵敏度和特异性,但每年仍有输血后并发肝炎病例的报道。据美国研究证实,输注每单位血液制品传播 HBV、HCV 和 HIV 的残留风险分别为 1:66 000、1:103 000 和 1:676 000^[4]。1995—1998 年上海市输血后肝炎调查研究发现,2 例输血后肝炎病例均是输用“窗口期”感染的血液引起^[5],因此,ELISA 的“窗口期”漏检是当前影响血液安全性的重要因素,对于献血者的筛选,单纯检测抗原或抗体不能有效地保障血液安全。本实验中,武汉市血液中心来源的血液制品未检出 HBV、HCV 和 HIV 核酸阳性,虽然存在样本量较小的缺陷,但是也说明随着无偿献血政策和亲友互助献血政策的有效实施,各地采供血机构对血液质量的持续重视,以及血液制品检测方法的改进,甚至上海^[6]、北京^[7]、深圳^[8]等地区的采供血机构已经开始采用核酸检测技术对献血员进行筛选,血液制品的质量和安全性已大幅提高,为临床输血安全提供了极大的保障。

我国为 HBV 高流行区,在 ELISA 检测合格标本中,深圳 HBV NAT 阳性检出率为 1/114(5 人份混合,国产试剂),1/3 724(24 人份混合)^[9];济南为 1/1619(24 人份混合,国产试剂)^[9-10],香港地区为 1/2 599(采用 Roche S201 MPX 6 人份混合检测以及 Chiron Procleix Ultrio 单人份检测)^[9];北京血液中心于 2007 年检测 20 378 份血液 HBV/HCV/HIV 三项联合 NAT 检测(6 人份混合,少量为单检),共检出 NAT 阳性血液 14 份(1/1 433)^[9]。在本研究中,乙型肝炎病毒的隐匿性感染情况较为突出,占到 1/704,可能与本实验标本来源为医院住院患者有关,当然这需要在今后的工作中加大检测样本量来进一步证实。

临床工作中,大型三甲医院的输血前常规检查基本已由原来的 ELISA 法检测,逐步替代为化学发光法为主,但由于化学发光法检查的仍然是相应病毒的抗原或抗体,而“窗口期”、病毒数量和病毒变异等因素均可导致 HBV、HCV 和 HIV 的不能检出,因此技术的进步也不能完全避免漏检的发生,对于献血者的筛选和受血者的输血前常规检查,单纯检测抗原或抗体不能有效地保障输血安全。有研究表明,混合血样 NAT 检测,可将 HBV、HCV 和 HIV 感染的平均“窗口期”分别由 56 d、70 d、22 d,缩短为 41 d、12 d 和 11 d^[3]。尽管 NAT 从理论上并不能完全消除感染“窗口期”,但病毒核酸转阳之前的血液传染性极低,可以有效地预防经输血传播病毒性疾病^[11],为临床用血安全提供有力保障。但是临床上仍然可能出现以下情况,由于输血治疗患者抵抗力相对较弱,极易在输血治疗前就接

触到了可导致疾病的病毒,在体内形成了低拷贝的病毒复制,但是没有表现出临床症状,常规检测手段也不能有效检出,但随着身体素质和抵抗力的降低,一段时间后就可能会出现感染性疾病的发生,如果该患者接受过输血治疗行为,就有可能导致医疗纠纷的发生。在现有举证倒置体制,以及现有检测方法存在技术性缺陷的前提下,医院往往要承担举证不力的责任,因此医院有必要进一步提高输血前检查的灵敏度和准确度。

病毒核酸检测技术是目前认为最灵敏和准确的检测方法,临床上应大范围开展。有条件的大型医院在进行输血前检查时采用核酸检测技术,一方面可以及早诊断,及时治疗,另一方面可以有效屏蔽漏检风险,避免医疗纠纷的发生。

参考文献

- [1] 陆志檬,韩永年. 进一步控制经输血传播的病毒感染[J]. 中华检验医学杂志,2001,24(3):135-135.
- [2] GALLARDA J L, DRAGON E. Blood screening by nucleic acid amplification technology: current issues, future challenges[J]. Mol Diag,2000,5:11-11.
- [3] BUSCH M P. HIV, HBV, and HCV: new developments related to transfusion safety [J]. Vox Sang, 2000,78:253-253.
- [4] SCHREIBER G B, BUSH M P, KLEINMAN S H, et al. The risk of transfusion transmitted viral infection. The retrovirus epidemiology donors study[J]. N

Engl J Med,1996,334:1685-1685.

- [5] 王迅,高峰,张钦辉. 上海地区输血后丙型肝炎感染的历史与现状[J]. 中国输血杂志,2001,14(6):395-395.
- [6] 王迅,郑岚,张晰,等. 核酸扩增技术(NAT)在上海血液筛检中的初步应用[J]. 中国输血杂志,2003,16(3):157-160.
- [7] 任芙蓉,刘长利,吕秋霜,等. 病毒核酸检测在献血者血液筛查中的应用[J]. 中华医学检验杂志,2004,27(9):596-599.
- [8] 任芙蓉,王憬惺,赵海燕,等. 我国5城市合格献血者血液 HIV 及 HCV 残余风险研究[J]. 中国输血杂志,2007,20(6):469-475.
- [9] 刘强,钱榕,彭继红,等. 病毒核酸检测在采供血机构血液筛查中的应用[J]. 实验与检验医学,2008,28(4):375-376.
- [10] 刘德春,孙波,徐群,等. 核酸检测技术与酶联免疫检测技术在血液筛查中的初步应用比较[J]. 中国输血杂志,2007,20(1):43-45.
- [11] MITSUNAGA S, FUJIMURA K, MATSUMOTO C, et al. High throughput HBV DNA and HCV RNA detection system using a nucleic acid purification robot and real time detection PCR: its application to analysis of post transfusion hepatitis[J]. Transfusion,2002,42:322-322.

(收稿日期:2012-08-20)

(上接第94页)

度加以解释,对血糖浓度已恢复正常,而 PLT 参数还未恢复正常情况下,须继续使用抗血小板聚集药物预防血栓形成。

参考文献

- [1] 刘海英,王雅茹,朱爱辛. 高血糖症引起红细胞平均体积假性增高[J]. 临床检验杂志,1998,16(5):302-304.
- [2] 林军,季勇,戈一峰,等. 高血糖对红细胞平均体积测定的影响[J]. 临床检验杂志,1998,16(5):280-302.
- [3] BESSMAN J D, WILLANS L J, GILMER P R J. Platelet size in health and hematologic disease[J]. Am J Clin Pathol,1982,78:150-151.
- [4] 赵淑好,王中心,杨立勇. 糖尿病患者平均血小板体积和血脂变化的研究[J]. 中华内分泌代谢杂志,1998,14(1):56-57.
- [5] 徐黔宁. 糖尿病患者红细胞平均体积和血小板各参数的临床意义[J]. 江西医学检验,2004,22(4):337-338.
- [6] 周宓,薛侃,王晓玲. 2型糖尿病患者红细胞和血小板

各参数的临床分析[J]. Jiangxi J Med Lab Sci,2005,23(60):544-600.

- [7] 魏平,王铁丹,徐爱华. IDDM 患者红细胞膜 Na⁺-K⁺-ATPase 活性变化及相关研究[J]. 中华内分泌代谢杂志,1994,10(2):79-80.
- [8] 万本愿,王刚,王文丁. 血液学实验参数分析与临床[M]. 南昌:江西科学技术出版社,2001:39-40.
- [9] HEKIMSOY Z, PAYZIN B, OMET T, et al. Mean platelet volume in Type 2 diabetic patients[J]. J Diabetes Complications,18,3:173-176.
- [10] 金长碧. 2型糖尿病病人的血小板4项参数检测的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志,2006,2(5):160-161.
- [11] 吕晓华. 2型糖尿病并发冠心病患者血浆总同型半胱氨酸及血小板参数变化[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版),2007,4(6):264-265.
- [12] 李德奎,刘跃,朱名安,等. 糖尿病患者血小板参数、血液流变学和凝血功能指标检测的临床意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2008,22(11):801-803.

(收稿日期:2012-06-08)