

洛阳地区无偿献血人群中核酸检测及分析

陈善华¹ 朱丽莉¹ 吕素梅¹ 吕冬冬¹

[摘要] 目的:了解洛阳地区无偿献血人群中核酸检测及追踪情况。方法:对2012-03-11—2017-12-31参与无偿献血的献血者标本进行2次酶联免疫法和1次核酸检测,并对ELISA检测无反应性、核酸检测有反应性的献血者进行跟踪检测,定期采集其血样进行血液筛查和补充试验,以便确定是否为“窗口期”。结果:163 436份无偿献血者血液标本中检出酶联免疫法无反应性核酸联检有反应性标本310份,进一步对这310份标本进行病毒种类的鉴别,最后鉴别出乙型肝炎病毒(HBV DNA)阳性119份,人类免疫缺陷病毒(HIV RNA)阳性1份,丙型肝炎病毒(HCV RNA)阳性0份。最终随访到19例献血者(鉴别结果为HBV DNA阳性的献血者7例,经确认有5例OBI,2例HBV“窗口期”;鉴别结果为阴性的献血者11例,经确认有1例HBV“窗口期”;鉴别结果为HIV RNA阳性的献血者1例确认结果是HIV“窗口期”)。结论:核酸检测确实能够最大限度地减少方法学上引起的血液安全风险,最大程度地提升血液安全,这对保证用血者健康具有重要意义。

[关键词] 核酸检测;乙型肝炎病毒;丙型肝炎病毒;人类免疫缺陷病毒

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.04.016

[中图分类号] R512.6;R512.91 **[文献标志码]** A

Analysis of nucleic acid detection and follow-up of voluntary blood donors in Luoyang area

CHEN Shanhua ZHU Lili LV Sumei LV Dongdong

(Luoyang Blood Center, Luoyang, 471000, China)

Corresponding author: CHEN Shanhua, E-mail: 1521728943@qq.com

Abstract Objective: To understand the nucleic acid detection and follow-up of voluntary blood donors in Luoyang area. **Method:** From March 11, 2012 to December 31, 2017, two times of Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and one nucleic acid test were performed on blood specimens from voluntary blood donors who came to our blood station. The blood donors whose blood specimens did not exhibit reactivity in ELISA, but exhibited reactivity in nucleic acid detection were followed up; and their blood specimens were collected regularly for blood screening and supplementary tests in order to determine whether they were in a "window period". **Result:** Totally 310 of 163 436 blood specimens from donors were found to exhibit no reactivity in ELISA, but exhibit reactivity in nucleic acid detection. The 310 specimens were further identified for virus types, and finally 119 HBV DNA positive, 1 HIV RNA positive and 0 HCV RNA positive were identified. Finally, 19 blood donors in them were followed up successfully. In 7 blood donors with positive HBV DNA, 5 cases of occult HBV infection (OBI) and 2 cases of HBV "window period" were confirmed. In 11 blood donors with negative HBV DNA, 1 case of HBV "window period" was confirmed. The only donor with positive HIV RNA was confirmed to be HIV "window period". **Conclusion:** Nucleic acid detection can minimize the risk of blood caused by methodology and improve blood safety to the greatest extent, which is of great significance for ensuring the health of blood recipients.

Key words nucleic acid detection; HBV DNA; HCV RNA; HIV RNA

核酸检测被视为是降低血清学“窗口期”漏检风险及低病毒载量检出的最佳解决方法。我站在核酸检测期间,一直采用2次酶联免疫法加1次核酸的检测方式。为更好地评价血清学与核酸检测在防范输血相关传染疾病风险中的重要作用,现将检测结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源

2012-03-11—2017-12-31 我站无偿献血者血液标本 163 436 份。标本的离心和保存均严格按检

测试剂说明书要求进行操作。

1.2 仪器

瑞士 HAMILTON 公司 Microlab STAR 全自动加样系统, Microlab FAME 全自动酶免处理系统, 美国诺华公司 Procleix TIGRIS 全自动核酸检测分析系统。

1.3 试剂

酶联免疫试剂: HBsAg 检测试剂分别由厦门新创和上海科华生物公司提供; 抗-HCV 检测试剂分别由珠海丽珠和上海科华生物公司提供; 抗-HIV 检测试剂由北京万泰生物公司提供, Gen-screen ULTRA HIV Ag-Ab 由法国伯乐公司提

¹ 洛阳市中心血站检验科(河南洛阳, 471000)

通信作者: 陈善华, E-mail: 1521728943@qq.com

供。核酸检测试剂:HBV/HCV/HIV1 核酸三联检测试剂、HBV 鉴别探针试剂、HCV 鉴别探针试剂、HIV(1 型)鉴别探针试剂(TMA-化学发光法)均由美国诺华公司提供。乙肝 5 项试剂由厦门新创生物公司提供。以上试剂均在有效期内使用。

1.4 血液检测

1.4.1 检测模式 血清学检测和核酸检测同时进行。

1.4.2 酶免检测方法及判定规则 献血者标本分别用 2 种不同厂家生产的酶联免疫试剂做平行检测,即所谓的一检、二检,并且每板次都做室内质控,检测过程严格按试剂说明书要求进行,阴性对照、阳性对照和室内质控值均在允许的范围内时,判定实验结果有效。只有当一检、二检检测结果均为 S/CO<0.5 时,判定该项目酶免检测结果为无反应性;当一检、二检检测结果均为 S/CO≥1 时,判定该项目酶免检测结果为有反应性。否则应再用一检、二检中相同的两种试剂分别进行双孔复试,任意 1 孔有反应性即为不合格(当 0.5≤S/CO<1 时,判定结果为灰区;当 S/CO≥1 时,判定结果为有反应性)。

1.4.3 核酸检测方法及判定规则 采用单个标本的检测模式,呈反应性的标本判定为核酸联检阳性,无反应性的标本判定为合格。对于核酸联检阳性同时酶免检测为无反应性的标本,均采用美国诺华鉴别试剂进行病毒种类的鉴别。

1.4.4 随访检测 对酶免检测无反应性、核酸检测阳性的献血者进行跟踪检测,定期采集其血样进行血液筛查及补充试验,密切观察血清学检测的变化情况,以便确定是否是“窗口期”。

2 结果

2.1 3 项联合病毒核酸检测结果

163 436 份无偿献血者血液标本中,检出酶免无反应性而核酸联检阳性的标本 310 份,阳性率为 0.19%。

2.2 病毒核酸鉴别结果

对核酸联检阳性而酶免检测无反应性的 310 份病毒核酸标本进行病毒种类的鉴别试验,其中 TMA 鉴别为乙型肝炎病毒(HBV DNA)阳性 119 份,人类免疫缺陷病毒(HIV RNA)阳性 1 份,丙型肝炎病毒(HCV RNA)阳性 0 份。鉴别阳性率为 0.07%。

2.3 跟踪随访结果

119 例 HBV DNA 阳性献血者随访到 7 例,重新抽样进行乙肝“两对半”检测结果见表 1。

190 例鉴别结果为阴性的献血者随访到 11 例,又确认 1 例 HBV DNA 阳性(2 周后酶免检测结果为有反应性,HBV DNA 阳性),其余均为

阴性。

对 1 例 HIV RNA 阳性的献血者,自 2016 年 6 月 1 日起,每周对该献血者进行血液采集和检测。在第 1 周该献血者酶免检测结果值升高,接近 cut-off 值,HIV RNA 阳性;第 2 周 2 种酶免检测结果均出现阳性;第 3 周 2 种酶免检测结果均出现强阳性。后将该献血者标本送至我市疾病预防控制中心进一步做确证试验(WB),反馈结果确证阳性。其随访及确证结果见表 2。

表 1 随访 7 例 HBV DNA 阳性献血者血液“两对半”检测结果

编号	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc	结果判定
1(原管)	(-)	+	(-)	(-)	+	OBI
(追踪)	(-)	+	(-)	(-)	+	
2(原管)	(-)	+	(-)	(-)	+	OBI
(追踪)	(-)	+	(-)	(-)	+	
3(原管)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 窗口期
(追踪)	+	(-)	(-)	+	+	
4(原管)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	OBI
(追踪)	(-)	(-)	(-)	(-)	+	
5(原管)	(-)	(-)	(-)	+	+	OBI
(追踪)	(-)	+	(-)	+	+	
6(原管)	(-)	+	(-)	(-)	+	OBI
(追踪)	(-)	+	(-)	(-)	+	
7(原管)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 窗口期
(追踪)	+	(-)	+	(-)	+	

表 2 1 例 HIV RNA 阳性献血者标本的初次及随访检测结果

检测试剂及方法	初次	第 1 周	第 2 周	第 3 周
ELISA:万泰(S/CO)	0.055	0.78	5.66	25.46
伯乐(S/CO)	0.165	0.86	4.89	27.66
NAT:诺华(联检)	12.28	12.33	/	/
诺华(鉴别)	20.15	22.35	/	/
WB				阳性

3 讨论

虽然酶联免疫检测技术已经广泛运用于血液筛查,该方法的灵敏度和特异性也在不断地改进和提高,但每年仍有少数新发输血后肝炎病例报道。因此降低输血相关病毒传播的风险是输血行业乃至全医疗行业、全社会所关注的问题,而核酸检测与血清学检测相结合是目前降低该风险的最佳血液筛查模式^[1]。

有文献报道核酸检测能将风险降低 66%,因

此开展病毒核酸检测对输血安全意义重大^[2]。本次检测的163 436份标本数据来看,酶联免疫法检测无反应性而HBV DNA阳性的标本共120份(包括1份追踪HBV DNA阳性),ELISA检测无反应性而HIV RAN阳性的标本1份,无HCV RNA检出。

鉴别出的阳性标本中,几乎全是HBV DNA阳性,阳性率为0.07%,明显高于欧美等国家^[3],出现上述原因是我国属HBV感染高流行区,加之现使用的酶联免疫法血清学检测技术的一些固有缺陷无法检出“窗口期”感染、“隐匿性”(OBI)感染或“病毒变异”等情况血液标本,而核酸检测技术能缩短病毒检测的“窗口期”和检出“隐匿性”(OBI)感染等,因此我国人群中检出的ELISA HBsAg阴性/HBV DNA阳性比例较高。我站检出的ELISA阴性、HBV DNA阳性率(0.07%)低于绍兴血站报告的阳性率(1.0%)^[4]和佛山市顺德区血站报告的阳性率(0.12%)^[5],略高于苏州血站报告的阳性率(0.058%)^[6]。随访到7例HBV DNA阳性献血者,其中OBI占5例,比例较高,这可能与在抗病毒治疗和乙肝疫苗接种的选择压力下,病毒变异增加,导致HBsAg的合成降低或其结构改变,或病毒复制和表达受抑制有关^[7]。国外的研究证实核酸检出的HBV“窗口期”感染和OBI感染的病毒载量绝大多数都处于较低的水平(<50 IU/ml)^[8],因此核酸检测与原有血清检测技术联合应用,能够实现互补,从而防止血清学检测无反应性而实际感染的血液应用于临床。

对1例HIV RNA献血者进行追踪检测,在第2周时酶免检测结果阳性,第3周时WB检测结果阳性,通过追踪检测确认当时献血者献血时正处于血清学“窗口期”。国内多家血站也在引入血液核酸检测后报道发现了HIV“窗口期”的献血者^[9],由此印证了HIV核酸检测相对于血清学检测的优势在于提高了HIV“窗口期”感染的检出。

由此可见,核酸检测可以有效地缩短病毒特异抗原和抗体免疫测定的“窗口期”,从而减少输血风险,提高输血安全。在HBV感染检测中,核酸检测除可以缩短HBV感染检测的“窗口期”外,还可减少HBV急性感染恢复期、慢性隐匿性HBV感染以及变异病毒株感染的漏检;在HCV感染检测

中,可将HCV感染检测的“窗口期”缩短,减少免疫静默感染的漏检;在HIV感染检测中,可将HIV感染检测的“窗口期”缩短。虽然我们没有检出HCV RNA阳性的标本,但据报道采用核酸检测后,法国的HCV感染危险度下降到约为原来的 $1/10^{10}$ ^[10],说明核酸检测确实能够最大限度地减少方法学上引起的血液安全风险,最大程度地提升血液安全。这对保证用血者健康具有重要意义。

参考文献

- [1] Allain JP, Candotti D. Diagnostic algorithm for HBV safe transfusion[J]. *Blood Transfus*, 2009, 7: 174-182.
- [2] 张静,王素玲,赵莉华,等. 2010-2015年石家庄市无偿献血人群HIV感染率及血液筛查后残余风险评估[J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(10): 812-814.
- [3] Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors[J]. *N Eng J Med*, 2011, 364: 236-247.
- [4] 朱守兵,刘祎,傅立强. 绍兴地区无偿献血者血液核酸检测效果评估[J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(10): 831-832.
- [5] 夏传友,刘志泉,陈永飞,等. 佛山市顺德区无偿献血者核酸检测情况分析[J]. *中国输血杂志*, 2017, 30(8): 935-937.
- [6] 周怡,蒋靓,王凯,等. HBsAg阴性HBV DNA阳性无偿献血者的血清学模式及其相关特征研究[J]. *临床血液学杂志*, 2017, 30(2): 86-89.
- [7] Allain JP, Candotti D. ISBT HBV Safety Collaborative Group. Hepatitis B virus in transfusion medicine: still a problem[J]. *Biologicals*, 2012, 40: 180-186.
- [8] Lelie N, Bruhn R, Busch M, et al. Detection of different categories of hepatitis B virus (HBV) infection in a multi-regional study comparing the clinical sensitivity of hepatitis B surface antigen and HBV-DNA testing[J]. *Transfusion*, 2017, 57: 24-35.
- [9] 何成涛,傅强,黄敏,等. 血站HIV感染标志物检测方法比较及模型探讨[J]. *临床血液学杂志*, 2017, 30(2): 144-146.
- [10] Pillonel J, Laperche S, Saura C, et al. Trends in residual risk of transfusion-transmitted viral infections in France between 1992 and 2000[J]. *Transfusion*, 2009, 2: 980-982.

(收稿日期:2018-12-26)