

排名前 5 位细菌分别是肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌及大肠埃希菌,国内报道大多是鲍曼不动杆菌或铜绿假单胞菌占最大比例<sup>[2-4]</sup>。

金黄色葡萄球菌中 MRSA 的分离率为 66.7%,明显高于本院同期水平(22.57%),同时也明显高于四川<sup>[5]</sup>及全国相关报道<sup>[6]</sup>。原因可能是 2012 年初,本院 ICU、胸科等曾发生一次 MRSA 的小范围流行,之后本院加强了对 MRSA 感染或定植患者的隔离,强化手卫生,对重点科室进行主动筛查等干预措施,已使本院 MRSA 检出率逐年降低。总的来说,耐甲氧西林葡萄球菌对临床绝大多数抗菌药物耐药性要显著高于非甲氧西林耐药菌株。未发现对万古霉素、利奈唑胺耐药的菌株。

肠杆菌科细菌中,大肠杆菌对除头孢他啶以外的第 3、4 代头孢菌素耐药率均大于 50.0%,这可能与第 3 代头孢临床使用增多有关。阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦对肠杆菌科细菌仍保持较高活性,但总体抗菌活性最高的是碳青霉烯类抗菌药物,尚未在 ICU 分离出耐药菌株。仅 2014 年本院其他病区就分离出 2 例大肠杆菌、3 例肺炎克雷伯菌及 1 例阴沟肠杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药。近年来,相关报道也指出耐碳青霉烯类抗菌药物肠杆菌科细菌(CRE)逐年增多,多黏菌素类(包括多黏菌素 B 和黏菌素)、替加环素、磷霉素和阿米卡星对 CRE 菌株有良好的抗菌活性,可选择黏菌素或阿米卡星联合碳青霉烯类,黏菌素联合替加环素等治疗方案<sup>[7-10]</sup>。

非发酵菌中铜绿假单胞菌对美罗培南耐药性高达 30.0%,对其他常用抗菌药物耐药率分布在 1.4%~25.7%。鲍曼不动杆菌耐药情况较为严重,除了对复方磺胺甲恶唑及左氧氟沙星的耐药率分别为 37.5%和 56.2%,对其他常规药物,包括碳青霉烯类抗菌药物的耐药率都大于 65.0%。多重耐药鲍曼不动杆菌易发生交叉感染,引起医院感染暴发,临床治疗困难,病死率高。对这类细菌加做头孢哌酮/舒巴坦及替加环素药敏试验,这两种抗菌药物显示出较好抗菌活性,可供临床参考用药。

参考文献

[1] 张国英,王献民,何伟,等. ICU 2002~2007 年呼吸机相

关性肺炎病原菌流行分布和耐药监测[J]. 实用儿科临床杂志,2009,24(4):264-267.

[2] 沈萍,魏泽庆,陈云波,等. Mohnarin 2011 年度 ICU 细菌耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(24):5472-5476.

[3] 兰会华,郭世辉,梁宏洁,等. 重症监护病房常见非发酵菌的分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(13):1957-1959.

[4] 武卫东,张瑞琴,王秀哲,等. 重症监护病房病原菌分布及耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(17):2672-2674.

[5] 喻华,刘华,黄文芳,等. 四川省细菌耐药监测网 2012 年细菌耐药性监测[J]. 中国抗生素杂志,2014,39(5):332-337.

[6] 汪复,朱德妹,胡付品 等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2013,13(5):321-330.

[7] Bush K. Alarming  $\beta$ -lactamase-mediated resistance in multi-drug-resistant Enterobacteriaceae[J]. Curr Opin Microbiol,2010,13(5):558-564.

[8] Nordmann P,Dortet L,Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae; here is the storm [J]. Trends Mol Med,2012,18(6):263-271.

[9] Hu FP,Chen SD,Xu XG,et al. Emergence of carbapenem resistant clinical Enterobacteriaceae isolates from a teaching hospital in Shanghai, China [J]. J Med Microbiol,2012,61(Pt1):132-136.

[10] van Duin DV,Kaye RS,Neuner EA,et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae:a review of treatment and outcomes[J]. Diagn Microbiol Infect Dis,2013,75(2):115-120.

(收稿日期:2015-04-03 修回日期:2015-06-25)

• 临床探讨 •

# 核酸检测应用于献血者血液筛查的临床分析

刘 丹(辽宁省大连市血液中心 116001)

**【摘要】 目的** 分析并评价核酸检测应用于献血者血液筛查的临床效果,从而为临床提供依据和指导。

**方法** 采用 Roche Cobas S201 系统对 28 762 名献血者的血液标本进行筛查,所有血液标本均经常规酶联免疫吸附试验检测,结果一律为阴性,筛查内容包括 HBV、HCV 和 HIV,同时对核酸检测阳性的标本进行确证试验。

**结果** 核酸检测阳性 26 份,阳性检出率为 0.09%;核酸检测阴性 28 736 份,阴性检出率 99.91%;确证试验发现检测到 HBV RNA 反应阳性为 17 份(65.38%);未检测到 HBV DNA,HCV/HIV RNA 为 9 份(34.62%),阳性检出率达 65.38%。

**结论** 核酸检测应用于献血者血液筛查的效果较佳,既可有效提高献血者的血液质量,又可提高输血的安全性,避免重症血液疾病,显著提高血液的应用价值和安全性,值得相关采供血机构在血液筛查中推广使用。

**【关键词】** 献血者; 血液筛查; 核酸检测; 临床分析

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.23.055 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)23-3578-03

近年来,随着临床输血率增高,血液相关的传染病发生率也逐渐增高,因此,此类传染病的预防成为社会各界关注的焦点。虽然,血液相关机构已按照法定要求对献血者血液样品进行血清学检查,HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 和抗-TP 采用酶联

免疫吸附试验(ELISA)检测,血液传染病得到极大程度控制和改善,但是因输液而产生的传染病仍然不能够完全避免<sup>[1-2]</sup>。有研究认为,简单的血清学检查存在病毒感染“窗口期”漏检的现象,因此造成血液传染病依然居高不下的现象。“窗口期”是

指病毒感染后,机体处于产生抗体的阶段,普通的血清学检查无法检测出病毒抗体,但是机体却实实在在存在病毒感染<sup>[3-4]</sup>。核酸检测是指采用聚合酶链反应技术直击血液标本中病毒的 RNA 或 DNA 结构,从而提高检测的特异性<sup>[5]</sup>。本研究对核酸检测应用于献血者血液筛查的临床效果进行了分析并评价,以期对献血者血液标本更有效检测和筛查提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集大连地区 2014 年 1~10 月无偿献血者的全血标本,将其中 28 762 份经常规 ELISA 检测阴性标本作为研究对象,其中男性 16 741 名,女性 12 021 名;献血者年龄 18~58 岁,平均(38.5±2.0)岁。

1.2 核酸检测血液样品的纳入与排除标准<sup>[6]</sup> 对无偿献血者血液标本进行检测,检测内容包括 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV,所有检测结果均为阴性的标本进行核酸检测。

1.3 检测方法

1.3.1 标本制作 对献血者进行常规采血后,将血液样品置入 5 mL 容积的乙二胺四乙酸抗凝真空试管中,共制作 3 个真空血液样品试管。随后将试管放入冰箱保存,温度控制在 0~6 ℃,血液采集后 24 h 内对血液进行血浆分离,最后 1 号试管(不带分离胶)用于血清学筛查;2 号试管(带分离胶的无酶、无热源)用于核取(NAT)检测,3 号试管继续保存。

1.3.2 仪器与试剂 酶联免疫试剂有 HBsAg(厦门新创、美国雅培),抗-HCV(厦门新创、美国雅培),抗-HIV(厦门新创),HIV 抗原/抗体(法国伯乐)。核酸检测试剂为罗氏诊断试剂:

HBV、HCV、HIV(1 型+2 型)核酸联合检测试剂(PCR-荧光法)。仪器为 AT plus2&-FAME24/20(瑞士哈米尔顿),STAR 标本混样设备(瑞士哈米尔顿),Cobas S201 核酸检测系统。

1.3.3 核酸检测 检测时应用全自动加样仪和全自动核酸提取、扩增检测系统将血液样品混合后进行常规检测:对每个献血者取 20 mL 血浆样品,将 6 名献血者血浆样品放入一个一级混样池,放入后进行核酸检测,利用全自动混样仪加样;一级混样池标本采用核酸定性筛查试剂盒,在全自动核酸提取仪中应用 MGP 磁珠分离技术原理提取核酸,核酸扩增检测仪扩增检测 HBV、HCV、HIV 靶序列,在 PDM 服务器中自动判读结果,每组检测均设置质控对照,每个一级混样池均含内对照;全自动核酸提取、扩增检测系统检出的阳性一级混样池拆分为 6 个组,组成该一级混样池的原始标本做单标本检测,单标本检测阳性判定为 NAT 阳性,单标本检测阴性判定为 NAT 阴性。

1.3.4 阳性确证 对上述核酸检测结果显示阳性的血液标本进行单标本检测,包括 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc,从而确定结果的准确性。

2 结果

2.1 核酸检测情况分析 检测结果显示,核酸检测阳性 26 份,阳性检出率为 0.09%;核酸检测阴性 28 736 份,阴性检出率为 99.91%。

2.2 阳性标本分项确证情况 见表 1。将核酸检测检出的 26 份血液样品进行确证试验和分项鉴别,发现检测到 HBV DNA 反应阳性为 17 份(65.38%);未检测到 HBV DNA, HCV/HIV RNA 为 9 份(34.62%),阳性检出率达 65.38%。

表 1 阳性标本分项确证情况

MPX 初筛		病毒载量(U/mL)			HBV 两对半结果					结果判断
MPX 混样	MPX 单检	HBV	HCV	HIV	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc	
R	R	32.4	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 核酸反应阳性
R	R	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	未检测到 HBV 核酸
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	<12	-	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	HBV 核酸反应阳性
R	R	<12	-	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	<12	-	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	120	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 核酸反应阳性
R	R	353	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 核酸反应阳性
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 核酸反应阳性
R	R	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	未检测到 HBV 核酸
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	未检测到 HBV 核酸
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	-	-	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	未检测到 HBV 核酸
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 核酸反应阳性
R	R	-	-	-	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	未检测到 HBV 核酸
R	R	-	-	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	未检测到 HBV 核酸
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	HBV 核酸反应阳性

续表 1 阳性标本分项确证情况

MPX 初筛		病毒载量(U/mL)			HBV 两对半结果					结果判断
MPX 混样	MPX 单检	HBV	HCV	HIV	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗 HBe	
R	R	<12	-	-	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	HBV 核酸反应阳性
R	R	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	未检测到 HBV 核酸
R	R	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	未检测到 HBV 核酸
R	R	-	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	未检测到 HBV 核酸
R	R	<12	-	-	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	HBV 核酸反应阳性

注:R 表示反应性,-表示无数据,(+)表示阳性,(-)表示阴性。

### 3 讨 论

早在 20 世纪末期,一些发达国家就开始将核酸检测技术应用于血液样品的检验,能够有效对 HIV 等病毒进行筛查,显著提高血液检测技术的同时大大降低了血液疾病的传播。近年来,我国逐渐将核酸检测技术应用于无偿献血者的血液筛选,旨在提高输血的安全性<sup>[7-8]</sup>。Cobas S201 血液检测系统是从美国引进的,该系统的应用机制为:利用磁珠捕获方法提取分离靶核酸片段,并以实时荧光聚合酶链反应检测血液标本的核酸浓度,该系统根据其检测病毒种类不同,具有不同的工作灵敏度。本研究中利用的是混样池的模式进行检测,将多个待检验的样品混合后,对混合样品管进行检测<sup>[9-10]</sup>。由于该系统的灵敏度极高,即使样品中病毒浓度较低,甚至微量,其依然可以检测出病毒核酸;此外检测中一旦出现核酸阳性标本,应该立即利用另一种核酸检测系统进一步做 HBV、HCV、HIV 分项鉴别试验和乙肝两对半检测<sup>[11-12]</sup>。

本研究分析并评价核酸检测应用于献血者血液筛查的临床效果。通过对 28 762 份血液样品进行筛查后发现,核酸检测阳性 26 份,阳性检出率为 0.09%;核酸检测阴性 28 736 份,阴性检出率为 99.91%;确证试验发现检测到 HBV RNA 反应阳性为 17 份(65.38%);未检测到 HBV DNA, HCV/HIV RNA 为 9 份(34.62%),阳性检出率达 65.38%。由此表明本次检验中的 9 份样品经 Cobas S201 系统检测为阳性,经核酸确证试验检测为阴性,两种检测结果存在不吻合之处,分析原因与两种检测系统的病毒检测谱不同有关,Cobas S201 系统能够检测出 HIV-1-M、HIV-2 型病毒,而核酸确证系统不能够检测出,因此 9 份样品不排除为 HIV-1-M、HIV-2 型病毒的可能。本研究结果与其他研究结果相一致<sup>[13-15]</sup>。

综上所述,核酸检测应用于献血者血液筛查的效果较佳,既可有效提高献血者的血液质量,又可提高输血的安全性,避免重症血液疾病,显著提高血液的应用价值和安全性,值得相关采供血机构在血液筛查中推广使用。

### 参考文献

[1] 师玲玲,刘赴平,王德文,等.核酸检测技术在献血者血液筛查中的初步应用[J].中国输血杂志,2010,23(1):11-13.  
 [2] 郭永建,姚凤兰,林授,等. HIV-1 和 HCV 核酸检测、血液处置和献血者屏蔽与归队指引(上)[J].中国输血杂志,2011,24(1):956-957.

[3] Gallarda JL, Dragon E. Analysis of nucleic acid detection in screening blood donors[J]. China Med Armacy, 2011, 1(19): 16-27.  
 [4] 夏云峰, 张家港地区献血者血液核酸检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(16): 2174-2175.  
 [5] 叶贤林, 李活, 许晓绚, 等. 核酸扩增技术在献血者血液 HBVDNA、HCV RNA 及 HIV-1 RNA 筛查中的应用研究[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(1): 6-10.  
 [6] 谢云峥, 陈凌燕, 李超, 等. 上海地区无偿献血者乙肝病毒核酸检测分析[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(8): 738-741.  
 [7] 庄华, 何亚琴, 张建伟, 等. 常州地区开展无偿献血标本 PCR 检测的探讨[J]. 临床输血与检验, 2012, 14(4): 337-339.  
 [8] Soldan K, Davison K, Dow B. Cost benefit analysis of 43 714 donors blood nucleic acid testing applied to screening in Wuhan[J]. Chin J Blood Transfus, 2014, 27(2): 204-208.  
 [9] 郑优荣, 梁浩坚, 李仲平, 等. 核酸检测技术在广州地区献血者血液筛查中的应用[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(12): 1211-1212.  
 [10] 邓雪莲, 安万新, 梁晓华, 等. 大连市血液中心血清学检测与核酸检测并行的效果观察[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(1): 38-40.  
 [11] 何亚琴, 张建伟, 杨爱龙, 等. 核酸检测技术在常州地区献血筛查中的应用[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(7): 560-562.  
 [12] 王霞, 潘彤, 李娜, 等. 天津市无偿献血者 HBV、HIV 和 HCV 核酸检测分析[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(10): 1008-1009.  
 [13] 张红霞, 李仲平, 梁浩坚, 等. 广州市 2000~2010 年无偿献血状况及血液检测不合格原因分析[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(7): 680-681.  
 [14] 宁振全, 黄广, 李进才. 无偿献血者 ALT 阳性追踪调查分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(21): 2492-2493.  
 [15] 陈云光, 李聚林. 隐匿性 HBV 感染与输血安全策略[J]. 临床输血与检验, 2010, 12(4): 371-372.

(收稿日期:2015-04-21 修回日期:2015-07-15)