

• 论 著 •

资阳市无偿献血者乙型肝炎病毒核酸筛查阳性人群特点研究

王裕红¹, 王华国²

(1. 四川省资阳市中心血站质管科 641300; 2. 四川省资阳市第一人民医院检验科 641301)

摘要:目的 研究无偿献血者乙型肝炎病毒(HBV)核酸筛查(NAT)阳性人群特点。方法 选取该市 2015 年 12 月至 2016 年 10 月的无偿献血者 20 000 例,对其进行核酸混样定性检测、拆分单检及补充血清学检测,然后对其进行跟踪随访。结果 20 000 例无偿献血者中,HBV 表面抗原(HBsAg)采用酶联免疫吸附试验法检测 178 例(0.890%)为 HBsAg 反应性,其中初次献血者的 HBsAg 反应性率明显高于重复献血者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HBsAg、抗丙型肝炎病毒抗体(-HCV)、抗-人类免疫缺陷病毒(HIV1/2)结果阴性 18 000 例,17 例(0.094%)为混合检测(MPX)反应性,其中初次献血者和重复献血者的 MPX 反应率之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。17 例 MPX 反应性标本中,11 例(0.061%)为 HBV DNA,其中初次献血者和重复献血者的 HBV DNA 比例之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。11 例 HBV DNA 阳性标本中,10 例做乙型肝炎补充试验,乙型肝炎补充血清学试验均为阴性 2 例,单纯抗-HBs 阳性 1 例,抗-HBc 阳性 7 例,其中单纯抗-HBc 阳性 6 例,抗-HBs 阳性 1 例。结论 无偿献血者 HBV 核酸筛查能够使血液安全得到进一步保证。HBV 核酸检测阳性献血者中抗-HBc 阳性比例较高,为降低 HBV 经血传播的风险,建议未开展核酸检测的血站增加对血液检测抗-HBc 项目。

关键词:无偿献血者; 乙型肝炎病毒; 核算筛查

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.20.020 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)20-3029-03

Study of characteristics of HBV nucleic acid screening positive population among voluntary blood donors in Ziyang City

WANG Yuhong¹, WANG Huaguo²

(1. Department of Quality Control, Ziyang Municipal Central Blood Stations, Ziyang, Sichuan 641300, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Ziyang the First People's Hospital, Ziyang, Sichuan 641301, China)

Abstract: **Objective** To study the characteristics of hepatitis B virus(HBV) nucleic acid test(NAT) positive population in voluntary blood donors. **Methods** A total of 20 000 voluntary blood donors in the Ziyang Municipal Central Blood Stations from May 2015 to May 2016 were selected and performed the nucleic acid mixed sample qualitative detection, split and single detection, and supplementary serologic detection, then performed the follow up. **Results** Among 20 000 voluntary blood donors, 178 cases (0.890%) were HBsAg reactive by HBsAg ELISA detection, in which the HBsAg reactivity rate of the first time blood donors was significantly higher than that of the repeated donors, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Among 18 000 cases of HBsAg anti-HCV and anti-HIV1/2 results negative, 17 cases (0.094%) were MPX reactive, the MPX reactivity rate had no statistical difference between the first time blood donors and repeated donors ($P > 0.05$). Among 17 cases of MPX reactive samples, 11 cases (0.061%) were HBV DNA, the HBV DNA ratio had no statistical difference between the first time blood donors and repeated donors ($P > 0.05$). Among 11 cases of HBV DNA positive samples, 10 cases conducted hepatitis B supplementary test and hepatitis B supplementary serological tests, 2 cases were negative, 1 case was simple anti-HBs positive, 7 cases were anti-HBc positive, among them 6 cases were anti-HBc positive and 1 case was anti-HBs positive. **Conclusion** Hepatitis B virus nucleic acid testing positive for anti-HBc positive ratio is higher in blood donors, in order to reduce the risk of blood transmission of hepatitis b virus, suggest not to carry out the nucleic acid detection of blood stations increase blood tests for detecting anti-HBc project.

Key words: voluntary blood donors; hepatitis B virus; nucleic acid screening positive population; characteristics

经血传播病毒血清学检测对于保证输血安全具有十分重要的意义,现阶段,我国筛查无偿献血者乙型肝炎病毒(HBV)感染的主要手段就是 HBV 表面抗原(HBsAg)血清学检测。很多相关医学研究表明,献血者在献血时处于 HBV 感染的免疫“窗口期”、隐匿性 HBV 感染等,是输血后乙肝感染发生的主要原因^[1-3]。这个时期献血者体内有 HBV 核酸存在于其血液中,但是常规血清学检测技术不能将病毒标志物检测出来。在病毒感染后数天,HBV 核酸检测就能够检测出标本中微量的 HBV 核酸,使“窗口期”缩短,寻找出隐匿性病毒感染,促进输血后 HBV 感染的极大减少^[4-6]。本研究分析了无偿献血者

HBV 核酸筛查阳性人群特点,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取四川省资阳市中心血站 2015 年 12 月至 2016 年 10 月的无偿献血者标本 20 000 例,所有无偿献血者均符合国家《献血者健康检查要求》^[7],均知情同意。其中男 12 000 例,女 8 000 例;年龄 18~55 岁,平均(40.3±10.2)岁;13 000 例为初次献血者,7 000 例为重复献血者。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 仪器 Hamilton-MSS 自动化混样提取系统(瑞士 Hamilton);实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪(ABI7500,美

国); Hamilton-STAR(瑞士 Hamilton); Hamilton-FAME24/20(瑞士 Hamilton); 全自动化学发光仪(IS1200, 四川迈克)。

1.2.2 试剂 HBsAg 检测试剂(批号:2015075121, 2015115141, 2016065111, 厦门英科新创); HBsAg 检测试剂(批号:D329510, D374910, D402910, 南非索灵); HBV/丙型肝炎病毒(HCV)/人类免疫缺陷病毒(HIV)(1+2)核酸检测试剂盒(PCR-荧光法)核酸检测试剂(批号:MA20151210, MA20160101, MA20160404, 苏州华益美); 乙肝补充血清学试验试剂(化学发光法试剂): 抗-HBc(批号:1015031), HBeAg(批号:1015031), 抗-HBe(批号:1015031), HBsAg(批号:1015031), 抗-HBs(批号:1015041)。

1.3 方法

1.3.1 献血者血液标本 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂检测, 由不同的人员操作、用不同厂家的试剂做 2 次检测, 2 次检测均为阳性或只要有一种试剂结果呈阳性反应或可疑均视为 ELISA 检测不合格。只有 2 次 ELISA 检测结果均为合格的标本, 才能进行核酸检测。

1.3.2 核酸定性检测 HBV DNA 最低检测限 95% 可信度为 4.2 U/mL, HCV RNA 最低检测限 95% 可信度为 12.5 U/mL, HIV RNA-1 最低检测限 95% 可信度为 42.3 U/mL, 在此过程中运用 HBV/HCV/HIV(1+2)核酸检测试剂盒(PCR-荧光法)混合检测(MPX)方法。

1.3.3 混样、拆分单检、核酸鉴别检测 分别将 150 μL 血浆从 8 份标本中取出来, 汇集成 1 份 1.2 mL 的混样标本, 应用 HBV/HCV/HIV(1+2)核酸检测试剂盒(PCR-荧光法) MPX 对其 Hamilton-MSS 平台, 完成该批标本检测的标准为 8 份标本组成的汇集池具有非反应性的检测结果。拆分单检组成汇集池的 8 份标本的标准为汇集池具有反应性的检测结果。拆分单检的具体操作: 单个检测组成汇集池的 8 份标本, 将 1.2 mL 血浆从每个标本中取出来进行 NAT 检测, 位置为 Hamilton-MS 平台, 进行核酸鉴别检测, 以将标本中感染的病毒准确区分出来。

1.3.4 补充血清学检测 将核酸检测确认为 HBV DNA 阳性的标本, 用四川迈克化学发光法试剂进行 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc 等项目检测, 位置为全自动化学发光仪 IS1200。

1.3.5 跟踪随访 对 ELISA 检测阴性、HBV DNA 阳性献血者进行跟踪随访, 采集其血样, 然后筛查常规血压, 补充 MPX、HBV DNA 以及 HBV 的血清学试验。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件对数据进行分析, 计数资料以[n(%)]表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 20 000 例无偿献血者 HBsAg 检测结果比较 20 000 例无偿献血者中, HBsAg ELISA 检测 178 例(0.890%)为 HBsAg 反应性; 13 000 例初次献血者中, 135 例(1.040%)为 HBsAg 反应性; 7 000 例重复献血者中, 43 例(0.610%)为 HBsAg 反应性。初次献血者的 HBsAg 反应性率明显高于重复献血者, 比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 20 000 例无偿献血者 HBsAg 阴性标本 MPX 检测结果比较 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV1/2 结果阴性 18 000 例, 其中 17 例(0.094%)为 MPX 反应阳性, 其中 12 000 例初次献血者中, 9 例(0.075%)为 MPX 反应阳性; 6 000 例重复献血者中, 8

例(0.133%)为 MPX 反应阳性。初次献血者和重复献血者的 MPX 反应性率之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 17 例 MPX 反应性标本鉴别结果比较 17 例 MPX 反应性标本中, 11 例(0.061%)为 HBV DNA, HBsAg、抗-HCV、抗-HIV1/2 结果阴性 18 000 例。12 000 例初次献血者中, 6 例(0.051%)为 HBV DNA, 5 972 例重复献血者中, 5 例(0.083%)为 HBV DNA。初次献血者和重复献血者的 HBV DNA 比例之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 11 例 HBV DNA 阳性标本 HBV“两对半”检测结果比较 11 例 HBV DNA 阳性标本中, 10 例做 HBV 补充试验, HBV 补充血清学试验均为阴性 2 例, 单纯抗-HBs 阳性 1 例, 抗-HBs、抗-HBc 均为阳性的 1 例, 抗-HBc 阳性 7 例, 其中单纯抗-HBc 阳性 6 例, 抗-HBs 阳性 1 例。

2.5 11 例 ELISA 阴性、HBV DNA 阳性献血者随访结果 11 例 ELISA 阴性、HBV DNA 阳性献血者中, 8 例在献血后 1.5~3.0 个月参与随访, 见表 1。

表 1 8 例 ELISA 阴性、HBV DNA 阳性献血者随访结果

序号	MPX (CT)	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc
1	36.2	-	+	-	+	+
	35.0	-	+	-	+	+
2	37.3	-	+	-	+	+
	35.1	-	+	-	+	+
3	33.1	-	-	-	+	+
	37.0	-	-	-	+	+
4	34.4	-	-	-	-	+
	37.3	-	-	-	-	+
5	35.7	-	+	-	+	+
	33.7	-	+	-	+	+
6	34.0	-	-	-	+	+
	34.4	-	-	-	+	+
7	41.0	-	-	-	-	+
	38.1	-	-	-	-	+
8	40.1	-	-	-	+	+
	35.3	-	-	-	+	+

注: + 表示阳性; - 表示阴性

3 讨论

20 世纪 80 年代初发现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重视, 其中 HIV、HBV 和 HCV 这 3 种病毒感染危害尤其严重, 被世界各国列为献血者血液的必检项目。乙型肝炎及 HBV 携带者在我国广泛流行, 人群感染率高, 是当前危害我国人民健康较严重的传染病之一。我国血液安全主要依靠对献血者的筛选和采用 ELISA 对血液中输血相关病毒抗体和(或)抗原的检测。由于病毒感染“窗口期”的存在, 以及 ELISA 检测方法的局限性等因素, 输血传播疾病的风险依然存在。虽然随着检测技术的进一步提升, HBsAg 水平有了明显提高, 但临床由输血而感染 HBV 的现象还是时有发生。

本研究表明,20 000 例无偿献血者中,HBsAg ELISA 检测 178 例(0.89%)为 HBsAg 反应性,其中初次献血者的 HBsAg 反应性率明显高于重复献血者,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明和初次献血者相比,重复献血者具有较高的安全性。

大量相关医学研究表明,一些献血者具有隐匿性 HBV 感染或处于 HBV“窗口期”,即血清 HBsAg 阴性、HBV DNA 阳性,极易造成 HBsAg 筛查后输血传播感染 HBV 残余风险^[8-10]。近年来,很多显示研究了 HBV DNA 检测 HBsAg 阴性献血者的效果,研究显示应用 HBsAg 筛查试剂、HBV DNA 鉴别试剂的灵敏度等在极大程度上决定着其 HBV DNA 阳性率^[11-12]。从本研究可以看出,ELISA 检测阴性的标本中核酸检测发现 17 例(0.094%)为 MPX 反应性。本市血清 HBsAg 阴性、HBV DNA 阳性献血人群的血清学两对半检测存在 4 种模式:一是单纯抗-HBc 阳性,二是单纯抗-HBs 阳性,三是抗-HBc 和抗-HBs 均阳性,四是两对半全阴。其中以单纯抗-HBc 阳性为主。从献血者跟踪随访数据可以看出,8 例献血者中有 1 例献血者 3 个月后 HBV DNA 阴转,其余均仍为血清 HBsAg 阴性、HBV DNA 阳性,只是体内各抗体产生不同,有 3 种模式:一是抗-HBe、抗-HBc 合并阳性,二是抗-HBs、抗-HBe、抗-HBc 合并阳性,三是单纯抗-HBc 阳性。通过跟踪随访数据可以看出,献血者献血时处于 HBV 急性感染期,体内病毒水平太低,导致 ELISA 漏检。

从总体上来说,无偿献血者 HBV 核酸筛查能够使血液安全得到进一步保证,值得临床充分重视。HBV 核酸检测阳性献血者中抗-HBc 阳性比例较高,为降低 HBV 经血传播的风险,建议在未开展核酸检测的血站可增加对血液检测抗-HBc 项目,确保血液安全。

参考文献

[1] 容莹,郑欣,叶贤林,等.无偿献血者隐匿性乙型肝炎病毒 Pre-S/S 区变异的研究[J].中国输血杂志,2011,24(7):565-571.

[11] Coban N, Onat A, Kömürçü BE, et al. Gender specific association of ABCA1 gene R219K variant in coronary disease risk through interactions with serum triglyceride elevation in Turkish adults [J]. Anadolu Kardiyol Derg, 2014,14(1):18-25.

[12] Mokuno J, Hishida A, Morita E, et al. ATP-binding cassette transporter A1(ABCA1) R219K(G1051A,rs2230806) polymorphism and serum high-density lipoprotein cholesterol levels in a large Japanese population; cross-sectional data from the Daiko Study[J]. Endocr J,2015,62(6):543-549.

[13] Kolovou V, Marvaki A, Boutsikou M, et al. Effect of ATP-binding Cassette Transporter A1(ABCA1) Gene Polymor-

[2] 欧山海,林永财,倪宏英,等.闽南地区无偿献血者隐匿性乙型肝炎病毒感染研究[J].中国输血杂志,2010,23(12):1033-1037.

[3] 车嘉琳,黄志森,王德文,等.cobas s 201 核酸检测系统在献血者血液筛查中的应用[J].中国试验和临床病毒学杂志,2010,24(4):311-313.

[4] 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(输血与检验),2017,30(1):86-89.

[5] 曹谊,陆荣,王凯,等. HBsAg 阴性献血者核酸检测结果分析及其降低 HBV 残余风险效果研究[J].中国输血杂志,2015,28(11):1348-1351.

[6] 樊璐.隐匿性乙肝病毒血液核酸筛查及血清学特性分析[J].实验与检验医学,2015,33(5):584-587.

[7] 王迅.采供血机构开展血液病毒核酸检测的条件及意义[J].中国输血杂志,2008,21(11):825-826.

[8] 张金萍,白旭华,鹿新红. HBsAg 阴性作为献血者发生输血后 HBV 感染的探讨[J].临床输血与检验,2010,12(3):262-263.

[9] 李桂云,胡文俊.随州市 2008~2009 年无偿献血者血液检测结果分析[J].检验医学与临床,2010,7(20):2189-2190.

[10] 余红玲,李桂云.随州地区无偿献血者血液传染性指标检测结果分析[J].检验医学与临床,2013,10(3):265-266.

[11] Xiong H, Huang J, Rong X, et al. HLA-B alleles B* 15:01 and B* 15:02; opposite association with hepatitis C virus infection in Chinese voluntary blood donors[J]. Intervirology,2015,58(2):80-87.

[12] Gajjar M, Patel T, Bhatnagar N, et al. Partial phenotyping in voluntary blood donors of Gujarat State[J]. Asian J Transfus Sci,2016,10(1):67-70.

(收稿日期:2017-03-09 修回日期:2017-05-18)

(上接第 3028 页)

phisms on Plasma Lipid Variables and Common Demographic Parameters in Greek Nurses[J]. Open Cardiovasc Med J, 2016,10(1):233-239.

[14] 罗丹,冯戟,马红雨,等.ATP 结合盒转运子 A1R219K 基因多态性与飞行员血脂异常的关系[J].武警医学,2013,24(9):754-757.

[15] 田慧,韩越,吴秀萍,等. ABCA1 和 PPAR γ 与糖尿病动脉粥样硬化关系的研究[J].现代生物医学进展,2013,13(3):452-455.

[16] Deger O, YANDI YE, AYVAZ M, et al. Polymorphisms in ABC transporters(ABCA1 and ABCC8) in metabolic syndrome[J]. Turk J Med Sci,2013,43(2):214-221.

(收稿日期:2017-02-16 修回日期:2017-05-01)