

(15):83-85.

(2):266-269.

[17] 吴贤丽,李靖,敖茂程,等. 2015 年—2018 年四川地区 WhireUnion 细菌耐药监测网葡萄球菌属细菌耐药性研究[J]. 华西医学,2019,34(8):900-906.

[19] 陈兴英,楼永良. 血培养标本中病原菌的分布特征,耐药性变迁和耐药基因分型[J]. 中国微生态学杂志,2018,30(7):72-79.

[18] 陈国敏,王东辰,许会彬,等. 3 889 份住院患者血培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国抗菌药物杂志,2019,44

(收稿日期:2021-11-10 修回日期:2022-04-11)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.15.027

无偿献血人群 HBV-DNA 混样反应性孔位拆分 2 次结果分析

王 欢,陈 雪,赵 欣,季茂胜,张蓝江,董玉芳,魏彩冰,李 文[△]

成都市血液中心血液筛查实验室,四川成都 610041

摘 要:目的 探讨在血站核酸检测系统中,对混样检测结果呈反应性的孔位进行 2 次拆分的必要性。方法 筛选酶联免疫吸附试验检测合格标本在 COBAS s 201 系统上进行核酸检测。对混样检测呈反应性的孔位进行常规拆分的同时,加做 1 次拆分,以达到双孔复试的目的。分析混样 CT 值与拆分结果的关系。结果 2015—2020 年该系统上共 725 孔混样检测呈 HBV-DNA 反应性,2 次拆分共有 543 例 HBV-DNA 反应性标本。其中 340 孔在 2 次拆分时均拆出同一 HBV-DNA 反应性标本;108 孔仅在第 1 次拆分有 1 例 HBV-DNA 反应性标本;41 孔仅在第 2 次拆分有 1 例 HBV-DNA 反应性标本;210 孔 2 次拆分结果均为非反应性;26 孔拆出不止 1 例 HBV-DNA 反应性标本。结论 在 COBAS s 201 系统上对混样反应性孔位进行 2 次拆分,拆分反应性率达 74.90%。混样 CT 值<35 且首次拆分结果呈非反应性孔位,有必要进行再次拆分。

关键词:核酸检测; 混样反应孔; 2 次拆分; CT 值

中图分类号:R446.11

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)15-2123-04

自 2010 年我国实行献血者标本核酸检测试点工作以来,输血安全问题在很大程度上得到了改善^[1]。核酸检测能缩短检测窗口期,降低经输血传播疾病的发病率^[2-3]。2015 年血站实行核酸检测全覆盖,我国所有血站的血液标本均需进行核酸检测,更大程度保障了输血安全^[4]。

目前,血站核酸检测原理主要基于转录介导的扩增(TMA)和实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)两种方法^[5]。后者的检测模式是先将标本进行混样检测,结果为非反应性的孔位中所含标本视为检测合格;结果为反应性的孔位进行拆分,拆分结果为反应性的标本被判定为核酸检测不合格。

本中心自 2010 年参加血站核酸检测试点工作以来,对 COBAS s 201 核酸系统混样检测呈反应性的孔位,在按照既定程序进行拆分的同时,均加做一次拆分,以达到双孔复试的目的。上述拆分模式在全国范围内少见。2 次拆分的结果可能出现 2 次均未拆出、2 次均拆出、仅第 1 次拆出、仅第 2 次拆出,以及同一孔位拆出不止 1 例反应性标本等几种情况。本研究统计近 6 年来该核酸系统的检测结果,回顾性分析 2 次拆分结果,分析混样和拆分 CT 值的相关性,并探讨对反应性孔位进行 2 次拆分的必要性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2015—2020 年 COBAS s 201 核酸系统上混样检测呈反应性的 725 孔位及拆分出的 543 例乙型肝炎病毒(HBV)-DNA 反应性标本作为研

究对象。献血者中男 365 例,女 100 例;年龄 18~60 岁,平均(46.61±8.50)岁。所有标本均来自经体检合格的无偿献血者。

1.2 仪器与试剂 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测采用全自动酶联免疫分析系统(Microlab FAME,瑞士 Hamilton 公司),血型检测采用全自动加样仪(深圳市爱康生物科技股份有限公司),转氨酶检测采用全自动生化分析仪(日本奥林巴斯公司)。转氨酶试剂(美国贝克曼库尔特公司),乙型肝炎表面抗原(HBsAg)试剂(意大利索灵诊断和上海科华生物工程股份有限公司),抗-丙型肝炎病毒(HCV)(美国奥森多医疗和上海科华生物工程股份有限公司),抗-人类免疫缺陷病毒(HIV)1/2(美国伯乐公司和北京万泰生物药业股份有限公司),抗-梅毒螺旋体(TP)(北京华大吉比爱生物技术有限公司和北京万泰生物药业股份有限公司)。核酸检测为罗氏 COBAS s 201 核酸检测系统及配套试剂盒。

1.3 方法 标本采集前,对献血者进行乙型肝炎表面抗原(胶体金法)和转氨酶初筛检测。体检和初筛检测结果合格的献血者再进行采血并留样。2 管留样标本,1 管是乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝的真空采血管(科华),用于 ELISA、转氨酶和血型检测。1 管是无 DNA 酶,RNA 酶带分离胶的 EDTA-K₂ 抗凝的 BD 试管,用于核酸检测。标本处理方法符合国家要求。

在完成转氨酶、血型和 ELISA 检测后,筛选合格标本进行核酸检测。对所有在 COBAS s 201 系统混

[△] 通信作者,E-mail:474890281@qq.com。

样(6 混 1)检测呈反应性孔位,均采取 2 次拆分的检测模式。第 1 次拆分选用系统上“load secondary”的加样模式,仪器根据混样结果识别样本条码,自动进行拆分加样。第 2 次拆分选择“pool of 1”的加样模式。系统不能识别重复条码,在第 2 次拆录入条码时,采取“原条码”+“=”的输入方式。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2017 处理数据及绘制图表。用 SPSS23.0 数据分析软件进行数据处理及统计分析。计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Spearman 相关分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2015—2020 年混样反应性孔位 2 次拆分结

表 1 2015—2020 年混样反应性孔位 2 次拆分结果[n(%)]

年份	混样反应性孔数(n)	2 次拆分为同一反应性	2 次拆分均呈非反应性	仅第 1 次拆分呈反应性	仅第 2 次拆分呈反应性	拆出 2 例及以上反应性
2020	141	67(47.52)	39(27.66)	28(19.86)	1(0.71)	6(4.26)
2019	167	75(44.91)	53(31.74)	17(10.18)	14(8.38)	8(4.79)
2018	135	64(47.41)	40(29.63)	21(15.56)	7(5.19)	3(2.22)
2017	117	54(46.15)	31(26.50)	17(14.53)	11(9.40)	4(3.42)
2016	25	14(56.00)	7(28.00)	3(12.00)	1(4.00)	0(0.00)
2015	140	66(47.14)	40(28.57)	22(15.71)	7(5.00)	5(3.57)
总计	725	340(46.90)	210 (28.95)	108(14.90)	41(5.67)	26(3.59)

注:6 年间未检测出 HIV-RNA 和 HCV-RNA 反应性标本,表中反应性标本均为 HBV-DNA 反应性。

表 2 拆出 2 例及以上反应性标本的孔位拆分结果(n)

拆分结果分类	第 1 次拆分结果	第 2 次拆分结果	反应性孔数
1	A + B	A + B	4
2	A	A + B	7
3	A + B	A	6
4	A + B+ C	A + B	2
5	A	B	2
6	A + B	0	5
总计			26

注:表中字母表示每次拆分出的反应性标本,A 表示拆出第 1 例反应性标本,B 表示拆出的第 2 例反应性标本,C 表示拆出的第 3 例反应性标本。

2.2 混样结果与拆分 CT 值之间的关系 混样 CT 值 <35 的 30 孔,拆出反应性率为 100.00%。且除 1 孔仅第 1 次拆分呈反应性结果外,其余 29 孔均是 2

果 对 725 孔混样反应性孔位进行 2 次拆分,共有 543 例 HBV-DNA 反应性标本,拆出反应性率为 74.90%。拆分结果见表 1。340 孔(46.90%)在 2 次拆分中均拆出同一 HBV-DNA 反应性标本;210 孔(28.90%) 2 次拆分结果均为非反应性;108 孔(14.90%)只在第 1 次拆分出 1 例 HBV-DNA 反应性标本;41 孔(5.67%)仅第 2 次拆分出 1 例 HBV-DNA 反应性标本。26 孔(3.59%)拆出 2 例以上反应性标本,其中 19 孔(CT 值 35.2~44.6)在 2 次拆分均有相同反应性标本拆出(表 2 中第 1~4 类),7 孔(CT 值 36.7~39.6)虽然拆出不止 1 例反应性标本,但 2 次拆分的结果不相同(表 2 第 5~6 类),见表 2。

次拆分为同一反应性。见表 3。当混样 CT 值 <40 时,两次拆分均为同一反应性标本的比例随着混样 CT 值降低而增加;当混样 CT 值 <45 时,两次拆分均为非反应性的比例随着混样 CT 值降低而降低;混样 CT 值与拆分结果之间关系的线性趋势见图 1。

2.3 混样 CT 值与拆分 CT 值的相关性分析 分析 4 种不同拆分结果对应的混样 CT 值(拆出 2 例及以上反应性标本的 26 孔因数据少不纳入统计分析),2 次拆分为同一反应性、2 次拆分均呈非反应性、仅第 1 次拆分呈反应性、仅第 2 次拆分呈反应性标本的 CT 值分别是(37.82 $\pm$ 3.38)、(39.55 $\pm$ 3.60)、(38.73 $\pm$ 3.46)、(38.44 $\pm$ 2.14)。混样 CT 值与拆分 CT 值呈正相关($r=0.243,P<0.05$)。见表 4。

表 3 混样 CT 值与拆分结果[n(%)]

混样 CT 值	混样反应性孔数(n)	2 次拆分为同一反应性	2 次拆分均呈非反应性	仅第 1 次拆分呈反应性	仅第 2 次拆分呈反应性	拆出 2 例及以上反应性
≥ 45	46	18(39.13)	19(41.13)	7(15.22)	2(4.35)	0(0.00)
42~ <45	32	10(31.25)	18(56.25)	3(9.38)	0(0.00)	1(3.13)
40~ <42	39	14(35.90)	19(48.72)	2(5.13)	2(5.13)	2(5.13)
39~ <40	58	16(27.59)	22(37.93)	14(24.14)	4(6.90)	2(3.45)
38~ <39	124	44(35.48)	42(33.87)	20(16.13)	12(9.68)	6(4.84)
37~ <38	210	95(45.24)	55(26.19)	38(18.10)	16(7.62)	6(2.86)
36~ <37	135	78(57.78)	29(21.48)	18(13.33)	4(2.96)	6(4.44)
35~ <36	51	36(70.59)	6(11.76)	5(9.80)	1(1.96)	3(5.88)
<35	30	29(96.67)	0(0.00)	1(3.33)	0(0.00)	0(0.00)
总计	725	340(46.90)	210 (28.95)	108(14.90)	41(5.67)	26(3.59)

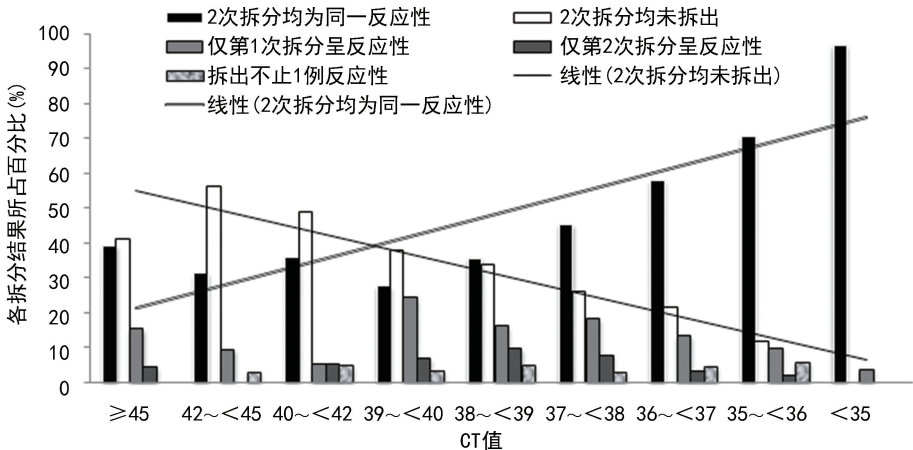


图 1 混样 CT 值与拆分结果关系图

表 4 混样与拆分 CT 值统计分析

拆分结果	检测方式	均值	标准差	中位数	最大值	最小值
2 次拆分为同一反应性	混样	37.82	3.38	37.20	54.70	28.40
	第 1 次拆分	35.69	2.47	35.80	49.20	25.71
	第 2 次拆分	35.94	3.02	35.90	51.30	25.81
2 次拆分均呈非反应性	混样	39.55	3.60	38.30	54.10	35.12
仅第 1 次拆分呈反应性	混样	38.73	3.46	37.65	53.50	33.51
	拆分	37.73	2.01	37.60	44.60	31.22
仅第 2 次拆分呈反应性	混样	38.44	2.14	38.00	47.90	36.31
	拆分	38.63	2.87	37.70	47.30	35.21

3 讨 论

本中心核酸检测实验室从建立至今,对在 COBAS s 201 核酸系统上混样检测呈反应性的孔位均进行 2 次拆分,以达到双孔复试的目的,为保障输血安全投入了大量的财力和人力。其中,2016 年混样反应性孔位数量明显少于其他年份,是因当年在该系统上进行核酸检测的标本总量较少所致。

2015—2020 年该系统 725 孔反应性孔位进行 2 次拆分后,共拆分出 543 例 HBV-DNA 反应性标本,拆出反应性率为 74.90%,高于深圳、无锡和东莞地区(拆出反应性率分别是 66.7%、66.67%、61.25%)^[6-8]。本研究共有 41 例 HBV-DNA 反应性标本来自第 2 次拆分,拆分 CT 值最大 47.30,最小 35.21。姚凤兰等^[9]对 63 例隐匿性 HBV 感染标本的感染状态分析发现,49 例(77.78%)标本 HBV-DNA 水平低于 20 IU/mL。陈少彬等^[10]研究发现,在单检模式下,HBV 水平为 20 IU/mL 时的漏检率为 7.55%,低于混样模式下的漏检率 81.4%($P < 0.05$)。低病毒拷贝标本在进行混样检测时,漏检的概率较单检更高。根据泊松分布原则,低病毒拷贝标本在取样时,可能会由于病毒颗粒分布不均导致病毒检测呈非反应性。因此,对于低病毒拷贝标本,2 次拆分可以增加反应性标本的检出率,减少经输血传播疾病的发生,更保障了输血安全。

有研究指出,CT 值大小与标本中病毒的原始拷贝数呈线性反比关系^[11]。但当标本中病毒拷贝数低或者接近检测下限时,定性检测的混检与拆分 CT 值

相关性较差,定性检测的 CT 值分析难以得出准确的趋势关系^[8]。本研究中,混样 CT 值较高(>40)时,出现混样与拆分结果线性关系不强的情况,可能与上述原因有关。

拆出 2 例及以上反应性标本的 26 孔中,19 孔(CT 值 35.2~44.6)在 2 次拆分均有相同反应性标本拆出,说明在上述孔位中,可能同时存在 2 例病毒拷贝数较高的标本,才能在 2 次拆分中均呈反应性结果;7 孔(CT 值 36.7~39.6)2 次拆分的反应性标本不相同,可能原因是标本仅含有低拷贝数 HBV-DNA,根据泊松分布原则,存在病毒分布不均匀的情况,导致 2 次拆分结果不一致,此外,也存在假阳性的可能^[11]。

除同时拆出 2 例及以上的 26 孔(未纳入分析),其余 4 种拆分结果的混样 CT 值与拆分 CT 值呈正相关($r=0.243, P < 0.05$),即混样 CT 值越小,拆分出的反应性标本 CT 值越小;混样 CT 值越大,拆分出的反应性标本 CT 值越大,当 2 次拆分均呈非反应性时,混样 CT 值最大。从理论上讲,每经过 3.3 个热循环靶模板总量增加一个数量级^[12]。混样 CT 值 <35 的 30 孔,拆出反应性率是 100.0%,且除 1 孔外,其余全是 2 次拆分均呈反应性。只有第 1 次拆分呈反应性的 108 孔(1 例除外)和只有第 2 次拆分呈反应性的 41 孔,混样 CT 值均 ≥ 35 。因此,笔者认为混样 CT 值为 35 是一个关键点。在 COBAS s 201 核酸系统检测献血者标本时,若混样 CT 值 <35 且首次拆分结果呈非反应性,需重点关注,最好进行复查,避免标本漏检或

者假阴性情况的出现,从而导致输血感染等严重后果。

同时,核酸检测假阳性结果也值得注意。采用标准化的程序检测献血者标本,规范工作人员的操作,保持仪器设备良好的运行状态,加强实验室的环境监控等措施能有效减少假阳性结果的出现。另外,本研究缺少反应性标本的确认结果,在未来应对可疑标本进行追踪,确认其真实的感染状态,从而保障血液安全,减少血液浪费。

参考文献

[1] 梁浩坚,汪传喜,许结仪,等. 2011—2014 广州地区无偿献血者核酸检测结果分析[J]. 中国医药科学,2016,6(10):138-141.

[2] STRAMER S L,WEND U,CANDOTTI D,et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors[J]. N Engl J Med,2011,364(3):236-247.

[3] 李金明. 血站核酸检测可降低输血风险[N]. 健康报,2015-05-26(4).

[4] 徐传国. 血液病毒核酸检测技术在我国的应用现状[J]. 现代临床医学,2016,42(6):403-404.

[5] 任芙蓉. 血液核酸检测技术[J]. 北京医学,2008,30(10):624-627.

[6] 朱为刚,王立林,聂冬梅,等. 核酸检测试剂 cobas MPX

v2.0 降低输血 HBV 残余风险的评估[J]. 中国输血杂志,2016,29(6):574-577.

[7] 高犁,钱惠忠,许友山,等. MPX V2.0 试剂在血液核酸筛查中的应用[J]. 临床输血与检验,2016,18(1):66-70.

[8] 陈少彬,何子毅,陈庆恺. 献血者核酸检测 HBV DNA 反应性 Ct 值分析[J]. 中国输血杂志,2018,31(11):1305-1308.

[9] 姚凤兰,汪德海,查祎,等. 核酸检测单反应性无偿献血者 HBV 感染状态分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(11):1513-1516.

[10] 陈少彬,何子毅,陈庆恺,等. 不同浓度 HBV DNA 和 HIV-1RNA 对多重 PCR 检测 HCV RNA 的干扰验证分析[J]. 中国输血杂志,2019,32(10):992-996.

[11] TYNELL E,NORDA R,EKERMÖ B,et al. False-reactive microbiologic screening test results in Swedish blood donors-how big is the problem? A survey among blood centers and deferred donors[J]. Transfusion,2007,47(1):80-89.

[12] VAERMAN J L,SAUSSOY P,INGARGIOOLA I. Evaluation of real-time PCR data[J]. J Biol Regul Homeost Agent,2004,18(2):212-214.

(收稿日期:2021-12-10 修回日期:2022-04-12)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.15.028

加味参苓白术散对哮喘缓解期肺脾气虚型患儿肺功能及复发率的影响

张 稳

新乡医学院第三附属医院,河南新乡 453003

摘 要:目的 探究加味参苓白术散联合常规西医治疗对哮喘缓解期肺脾气虚型患儿肺功能及复发率的影响。方法 选取该院儿科 2020 年 1 月至 2021 年 1 月收治的肺脾气虚型哮喘缓解期患儿 118 例作为研究对象,采用随机数字表法按照 1:1 配对原则分为观察组(59 例)、对照组(59 例)。对照组采用布地奈德混悬液雾化治疗,观察组采用加味参苓白术散联合布地奈德混悬液治疗,两组持续用药 3 个月。对比两组临床效果、治疗前后肺功能指标[第 1 秒用力呼气容积(FEV1)、最高呼气流量(PEF)、用力肺活量(FVC)]、炎症反应介质[肿瘤坏死因子(TNF-α)、一氧化氮(NO)、内皮素(ET)、嗜酸性粒细胞(EOS)]水平及复发情况。**结果** 观察组总有效率(94.92%)明显高于对照组(83.05%)($P<0.05$);治疗后,观察组 FEV1、PEF、FVC 均高于对照组($P<0.05$);治疗后,观察组血清 TNF-α、NO、ET、EOS 水平均低于对照组($P<0.05$);观察组复发率(3.39%)明显低于对照组(13.56%)($P<0.05$)。**结论** 对肺脾气虚型哮喘缓解期患儿采用加味参苓白术散联合常规西医治疗效果明显,能减轻炎症反应,促进肺功能恢复,降低复发风险。

关键词:加味参苓白术散; 布地奈德; 哮喘缓解期; 肺脾气虚型

中图分类号:R259 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2022)15-2126-04

哮喘是临床常见的慢性呼吸道疾病,以气道慢性炎症、高反应性及可逆气流为病理特征,多发于青少年和儿童,其发病常伴随咳嗽、胸闷、呼吸急促等,且病情反复发作、迁延难愈,严重影响患儿生长发育^[1-2]。西医目前针对缓解期哮喘多采用糖皮质激素类药物,起效迅速,使用简单,能有效缓解临床症状,但长期应用可能影响患儿发育^[3];传统医学早期便有哮喘记载,其发病多因脏腑亏虚,外邪侵袭所致,治疗上强调标本兼治,祛邪兼以扶正固本,从根本改善哮

喘症状,但中药起效慢,患儿依从性较差^[4-5]。基于此,本研究选取 118 例肺脾气虚型哮喘缓解期患儿,旨在分析加味参苓白术散结合西医治疗的临床效果及优势。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院儿科 2020 年 1 月至 2021 年 1 月收治的肺脾气虚型哮喘缓解期患儿 118 例作为研究对象,采用随机数字表法按照 1:1 配对原则分为观察组(59 例)、对照组(59 例)。观察组中男 30