

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.16.016

不同血液筛查核酸检测模式检测结果的分析

刘 淼,潘 彤,王 霞

天津市血液中心检验科,天津 300110

摘 要:**目的** 分析不同血液筛查核酸检测系统的初筛及鉴别/拆分阳性率,探讨不同系统间实验过程的差异和影响因素,为血站制订血液筛查策略,降低输血传播疾病的残余风险提供依据。**方法** 采用核酸单检模式和核酸混检模式分别对 512 267、172 254 份标本进行核酸检测,对两种不同模式初筛阳性率和鉴别/拆分阳性率进行统计分析,比较两种检测模式的差异及不同年度间阳性率的变化情况。**结果** 采用核酸单检模式检测的 512 267 份标本中,单检初筛阳性率为 0.17%,鉴别阳性率为 36.45%;2019 年初筛阳性率最高,为 0.19%,2021 年最低,为 0.14%;不同年度间鉴别阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。核酸混检模式检测的 172 254 份标本(约 23 700 pool)中,混检阳性率为 0.58%,拆分阳性率为 40.15%;2018 年初筛阳性率最高,为 0.84%,大于 2020 年初筛阳性率的两倍;不同年度间拆分阳性率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),2020 年拆分阳性率最高为 68.00%,2021 年最低,为 31.58%。核酸混检模式初筛阳性率大于核酸单检模式初筛阳性率的 3 倍,而二者鉴别/拆分阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 不同核酸检测模式初筛阳性率和鉴别/拆分阳性率的比较可以有效评估实验室核酸检测系统的稳定性,分析探讨产生差异的原因并寻求解决方案,可达到质量持续改进的目的。

关键词: 核酸检测; 核酸混检; 核酸单检

中图法分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)16-2375-04

Analysis of detection results of different nucleic acid detection modes for blood screening

LIU Miao, PAN Tong, WANG Xia

Tianjin Blood Center, Tianjin 300110, China

Abstract: Objective To analyze the preliminary screening results and identification/resolution positive rates of different nucleic acid detection systems for blood screening, and to explore the differences in the experimental process and influencing factors among different systems, so as to provide evidence for blood stations to formulate blood screening strategies and reduce the residual risk of transfusion-transmitted diseases. **Methods** Due to the different detection requirements, 512 267 and 172 254 samples were performed by single detection mode and mixed detection mode respectively in the samples of unpaid blood donors in Tianjin. The positive rate of the preliminary screening results and the positive rate of the identification/resolution results of the two different modes were statistically analyzed, the differences between the two detection modes and the changes of the positive rate of detection in different years were compared. **Results** Among 512 267 samples detected by nucleic acid single detection mode, the positive rate of single detection was 0.17%, and the positive rate of identification was 36.45%, the positive rate of screening was the highest in early 2019 (0.19%), and the lowest in 2021 (0.14%), there was no significant difference on positive rate between different years ($P>0.05$). The positive rate of mixed detection was 0.58% and the positive rate of resolution was 40.15% in 172 254 samples (about 23 700 pool) detected by mixed detection mode. The positive rate of screening in early 2018 was the highest, with a positive rate of 0.84%, which was more than twice of 2020, the difference of resolution positive rate among different years was statistically significant ($P<0.05$), the highest resolution positive rate was 68.00% in 2020, and the lowest was 31.58% in 2021. The initial screening positive rate of mixed nucleic acid test was almost 3 times that of single nucleic acid test, but there was no significant difference in identification/resolution positive rate between the two modes ($P>0.05$). **Conclusion** The comparison between the positive rate of initial screening and the positive rate of identification/resolution of different nucleic

作者简介:刘淼,女,主管技师,主要从事临床检验研究。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20230727.1749.012.html\(2023-07-28\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20230727.1749.012.html(2023-07-28))

acid detection modes can effectively evaluate the stability of laboratory nucleic acid detection systems, analyze and discuss the causes of differences, and seek solutions to achieve the purpose of continuous quality improvement.

Key words: nucleic acid detection; nucleic acid mixed detection; nucleic acid single assay

输血作为一种不可替代的医学治疗手段,已被广泛应用于临床,随着医疗技术的发展,各种血液制品的临床需求也在日益增加。然而,输血同时也存在一定感染经血液传播疾病(TTI)的风险^[1]。近年来,输血安全一直是全球关注的重点问题,2015 年底我国实现了血站核酸检测全覆盖^[2],使 TTI 的发生率明显下降。本中心核酸检测实验室根据检测需求的不同采用两种核酸检测模式,即核酸单检模式和核酸混检模式[聚合酶链反应(PCR)],本研究对两种检测模式的初筛阳性率和鉴别/拆分阳性率的数据进行分析,客观评价两种检测模式检测结果的差异性,为血站制订血液筛查策略,降低 TTI 感染率提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取天津市血液中心 2018—2021 年无偿献血者共计 684 521 份标本为研究对象,其中采用核酸单检模式检测标本 512 267 份,核酸混检模式检测标本 172 254 份(约 23 7 00 pool)。

1.2 仪器与试剂 盖立复 Procleix Tigris System 核酸检测系统和相应 Procleix Ultrio Plus 分析试剂;盖立复 Procleix Panther System 核酸检测系统和相应 Procleix Ultrio Elite 分析试剂;上海浩源 ChiTaS BSS1200 核酸检测系统和配套试剂;罗氏 Cobas S201 核酸检测系统和配套 Cobas TaqScreen MPX Test, version 2.0 试剂;盖立复核酸检测试剂孵育器。

1.3 方法 根据血站采供血业务系统 SHINOW V9.0 对检测数据进行回顾性分析,计算两种检测模式初筛的阳性率和鉴别/拆分阳性率,比较两种模式检测结果的差异,以及同一种检测模式不同年度间阳性率,对结果进行综合分析,找出造成差异的原因。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行数据处理及统计分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种检测模式初筛结果和鉴别/拆分结果的比较 2018—2021 年共检测标本 684 521 份,其中采用核酸单检模式检测标本 512 267 份,单检初筛阳性率为 0.17%,鉴别阳性率为 36.45%;核酸混检模式检测标本 172 254 份(约 237 00 pool),混检初筛阳性率为 0.58%,拆分阳性率为 40.15%。两种模式初筛阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 202.475, P <$

0.001),核酸混检模式初筛阳性率为核酸单检模式的 3 倍。两种模式鉴别/拆分阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.695, P = 0.405$)。见表 1。

表 1 两种核酸检测模式初筛及鉴别/拆分结果比较[% (n/n)]

模式	初筛阳性	鉴别/拆分阳性
核酸单检模式	0.17(867/512 267)	36.45(316/867)
核酸混检模式	0.58(137/23 700)	40.15(55/137)

2.2 2018—2021 年核酸单检模式初筛和鉴别结果比较 核酸单检模式中,不同年度间初筛阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 14.694, P = 0.002$),2019 年初筛阳性率最高,为 0.19%,2021 年初筛阳性率最低,为 0.14%;不同年度间鉴别阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 3.806, P = 0.283$)。见表 2。

表 2 不同年度间核酸单检模式初筛及鉴别结果比较[% (n/n)]

年度(年)	初筛阳性	鉴别阳性
2018	0.18(254/140 874)	40.55(103/254)
2019	0.19(274/141 379)	35.77(98/274)
2020	0.16(175/109 014)	31.43(55/175)
2021	0.14(164/121 000)	36.59(60/164)

2.3 2018—2021 年核酸混检模式初筛和拆分结果比较 核酸混检模式中,不同年度间初筛阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 13.613, P = 0.003$),2018 年初筛阳性率最高,为 0.84%,大于 2020 年初筛阳性率的两倍;不同年度间拆分阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 10.140, P = 0.017$),2020 年拆分阳性率最高,为 68.00%,2021 年拆分阳性率最低,为 31.58%。见表 3。

表 3 不同年度间核酸混检模式初筛及拆分结果比较[% (n/n)]

年度(年)	初筛阳性	拆分阳性
2018	0.84(33/3 942)	36.36(12/33)
2019	0.49(22/4 487)	36.36(8/22)
2020	0.35(25/7 123)	68.00(17/25)
2021	0.70(57/8 184)	31.58(18/57)

3 讨 论

随着核酸检测与酶联免疫吸附试验技术在血液

筛查中的互补应用,人类免疫缺陷病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒等病原体感染的献血者被最大限度检出,为临床输血安全提供了重要保障。与酶联免疫吸附试验相比,核酸检测技术抗干扰能力弱,但对环境、人员及设备要求更高^[3]。《血站实验室质量管理规范》规定,血站实验室必须建立和持续改进实验室质量体系,并负责组织实施和严格监控^[4]。通过对血站核酸实验室核酸检测初筛阳性率及鉴别/拆分阳性率的统计分析,可以有效评估两种核酸检测系统的稳定性及所使用核酸试剂的性能,同时,阳性率的统计也是评价核酸检测实验室检测能力的重要工具之一^[5]。

基于自身检验流程和成本控制等因素综合考虑,本中心采用核酸单检模式和核酸混检模式相结合的核酸检测模式。2018—2021 年共检测标本 684 521 份,其中采用核酸单检模式检测标本 512 267 份,单检阳性率为 0.17%,略低于广州地区的 0.23%^[6],鉴别阳性率为 36.45%,低于王素玲等^[7]报道的京津冀地区检测结果;2018—2021 年初筛阳性率总体有所下降,2019 年核酸单检模式初筛阳性率最高,2021 年最低,鉴别阳性率 4 年间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。核酸混检模式检测标本 172 254 份(约 23 700 pool),混检初筛阳性率为 0.58%,高于河北地区的 0.12%^[8]、宝鸡地区的 0.15%^[9],拆分阳性率为 40.14%,低于张丽等^[5]报道的京津冀地区检测结果的平均值 48.94%,2020 年核酸混检模式初筛阳性率最低,且拆分阳性率最高。核酸混检模式初筛阳性率大于核酸单检模式初筛阳性率的 3 倍,而二者鉴别/拆分阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

不同检测模式、不同地区、不同时间阳性率的差异可能与以下因素有关:(1)核酸单检模式初筛阳性率远低于核酸混检模式,但二者鉴别/拆分阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),可以说明单人份核酸检测灵敏度高于混样核酸检测,符合试剂说明书内容。(2)由于核酸检测系统反应原理不同,系统设计和操作流程各有差异。核酸单检系统是集成核酸提取、扩增和检测于一体的全自动检测系统,干扰因素少;PCR 系统的提取与扩增检测是两个独立的系统,人工操作环节较多,易造成污染和核酸的降解,导致检测结果出现波动。美国临床和实验室标准协会(CLSI)-GP35D 文件指出,若混检阳性率出现升高,应观察拆分阳性率,若拆分阳性率出现降低,提示实验室在检测过程中存在污染的风险,此时应排查造成污染的可能性,对各个操作步骤进行规范^[10]。本研究发现本中心 2021 年核酸混检模式初筛阳性率较高,但拆分阳性率明显低于其他年份,对当年混检结果进行分析发

现 2021 年 6 月开始连续存在混检阳性但拆分无反应的现象,并且混检 Ct 值均在 40 左右,提示实验过程可能存在污染,在对实验室和环境进行消杀后此现象有所缓解。(3)核酸单检模式初筛阳性标本的鉴别周期不同,标本的保存温度、时间与病毒核酸载量有关,标本保存及处理环节不当或干扰物质的存在,可能导致病毒降解,降低鉴别试验中病毒的检出率。因此,在综合实验室条件和成本效率的情况下,应尽量缩短单检阳性标本的鉴别周期。本中心自 2019 年末,将核酸单检模式鉴别周期由 7 d 缩短为 3~4 d。(4)因病毒颗粒在标本中呈 Poisson 分布^[11],吸取标本的随机性导致检测结果呈现非重复性反应,如果病毒处于试剂检测限以下或极低水平,吸取到病毒的概率就会更低,从而可能会出现初筛有反应性,鉴别/拆分假阴性的可能,此时应结合初筛阳性值和曲线分析是否需要重新进行鉴别或拆分检测^[12]。(5)不同年度间的标本基数不同,人群分布的地域性差异导致病毒检出率有所不同。(6)与当地的病毒感染情况相关,有研究证明初筛有反应性而鉴别/拆分无反应性标本中,有一定比例的低载量病毒标本^[13-14]。(7)人为差错造成假阳性,核酸检测人员的责任心、工作熟练度可直接影响核酸检测结果的真实性和准确性。因此,血站应对实验室检测人员定期进行理论知识和技术培训。核酸检测实验室应从人员、仪器、物料和环境等多个方面防治污染,保证检测结果的可靠性。

本研究通过对两种模式核酸检测技术进行分析发现,无论是两种模式初筛阳性率,还是相同模式不同年度间的阳性率比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。因此,实验室应对每批检测结果进行有效监控,从“人、机、料、法、环”等方面对影响试验结果的不稳定因素进行及时干预,保障检测结果的可靠性和稳定性,最大限度地保证血液安全。

参考文献

- [1] 曹华琳,刘亚军,等.核酸检测与酶联免疫检测对输血相关传染疾病的检测效果对比分析[J].心脑血管病防治,2019,19(2):171-173.
- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.血站技术操作规程(2019 版):国卫医发[2019]98 号附件[S].北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,2019.
- [3] 中国输血协会.血站血液检测实验室质量检测指标:T/CSBT004-2019[S].北京:中国输血协会,2019.
- [4] 中华人民共和国卫生部.血站实验室质量管理规范:(卫医发:[2006]183 号)[S].北京:中华人民共和国卫生部,2006.
- [5] 张丽,张毓,王学刚,等.京津冀血站实验室核酸混检模式拆分阳性率分析[J].中国输血杂志,2020,33(4):299-302.

(下转第 2382 页)

和展望[J]. 器官移植, 2022, 13(1): 105-110.

[4] MASUDA Y, YOSHIZAWA K, OHNO Y, et al. Small-for-size syndrome in liver transplantation: definition, pathophysiology and management[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2020, 19(4): 334-341.

[5] LARSEN F S. Artificial liver support in acute and acute-on-chronic liver failure[J]. Curr Opin Crit Care, 2019, 25(2): 187-191.

[6] MOREAU R, GAO B, PAPP M, et al. Acute-on-chronic liver failure: a distinct clinical syndrome[J]. J Hepatol, 2021, 75(Suppl 1): S27-S35.

[7] LARSEN F S. Artificial liver support in acute and acute-on-chronic liver failure[J]. Curr Opin Crit Care, 2019, 25(2): 187-191.

[8] LE BERRE C, SANDBORN W J, ARIDHI S, et al. Application of artificial intelligence to gastroenterology and hepatology[J]. Gastroenterology, 2020, 158(1): 76-94.

[9] 甘亮亮, 张金周, 王贤东, 等. 人工肝支持系统治疗慢加急性肝衰竭效果的网状 Meta 分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(1): 135-140.

[10] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2018 年版)[J]. 中华传染病杂志, 2019, 37(1): 1-9.

[11] JAYALAKSHMI V T, BERNAL W. Update on the management of acute liver failure[J]. Curr Opin Crit Care, 2020, 26(2): 163-170.

[12] TAN E X, WANG M X, PANG J, et al. Plasma exchange in patients with acute and acute-on-chronic liver failure: a systematic review[J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(2): 219-245.

[13] BERGER T, REISLER I, SHOCHAT T, et al. Post-liver

transplantation anemia and its correlation with mortality and graft failure[J]. Dig Dis Sci, 2020, 65(10): 3040-3051.

[14] 田冰, 李范, 邓宝成. 人工肝支持系统治疗药物性肝衰竭临床效果的 Meta 分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2020, 36(4): 823-828.

[15] 吴春波, 周明雪, 孟彦, 等. 非生物型人工肝的应用及研究进展[J]. 生物医学工程与临床, 2021, 25(5): 634-638.

[16] 刘师伟, 梁静, 唐飞, 等. 人工肝支持系统与糖皮质激素治疗重度急性药物性肝损伤的疗效[J]. 天津医药, 2021, 49(7): 723-726.

[17] JOHNSON P J, BERHANE S, KAGEBAYASHI C, et al. Assessment of liver function in patients with hepatocellular carcinoma: a new evidence-based approach-the ALBI grade[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(6): 550-558.

[18] 罗皓, 周静, 黄君. 术前 ALBI 分级对肝细胞癌患者术后预后的预测价值的 meta 分析[J]. 中国医药导报, 2020, 17(29): 89-93.

[19] ZOICA B S, DEEP A. Extracorporeal renal and liver support in pediatric acute liver failure[J]. Pediatr Nephrol, 2021, 36(5): 1119-1128.

[20] VERMA N, DHIMAN R K, CHOUDHURY A, et al. Dynamic assessments of hepatic encephalopathy and ammonia levels predict mortality in acute-on-chronic liver failure[J]. Hepatol Int, 2021, 15(4): 970-982.

[21] 薛祥, 谢东辉, 黄昌保, 等. NLR 与 CRP 对急性甘油三酯血症性胰腺炎病情严重程度的预测价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(2): 249-252.

(收稿日期: 2022-12-11 修回日期: 2023-04-11)

(上接第 2377 页)

[6] 李仲平, 林诗雅, 郑优容. 广州市单项核酸检测阳性无偿献血者追踪结果分析[J]. 广东医学, 2019, 40(4): 597-601.

[7] 王素玲, 韩卫, 葛红卫, 等. 京津冀血站实验室核酸单检模式鉴别阳性率分析[J]. 中国输血杂志, 2022, 35(1): 57-60.

[8] 张丽, 孙国栋. 核酸实验室混样筛查检测过程的拆分阳性率分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(6): 748-750.

[9] 王健康, 周艳, 李晶, 等. 宝鸡市 2010—2016 年无偿献血者核酸检测结果分析[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(6): 642-644.

[10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Development and use of quality indicators for process improvement and monitoring of laboratory quality. Proposed Guideline: CLSI-GP35P[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2009.

[11] SHYAMALA V. Nucleic acid technology (NAT) testing for blood screening impact of individual donation and mini

pool-NAT testing on analytical sensitivity, screening sensitivity and clinical sensitivity[J]. ISBT Sci Series, 2014, 9(2): 315-324.

[12] 周磊, 刘颖, 邓雪莲, 等. 核酸筛查中混检阳性拆分单检阴性血液标本的 HBV 残余风险分析[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(9): 985-989.

[13] YOODA A P, SAWADOGO S, SOUBEIGA S T, et al. Residual risk of HIV, HCV and HBV transmission by blood transfusion between 2015 and 2017 at the Regional Blood Transfusion Center of Ouagadougou, Burkina Faso [J]. J Blood Med, 2019, 35(10): 53-58.

[14] YE X, LI T, LI R, et al. Molecular characteristics of HBV infection among blood donors tested HBsAg reactive in a single ELISA test in southern China[J]. BMC Infect Dis, 2021, 21(1): 83-85.

(收稿日期: 2023-02-01 修回日期: 2023-05-25)