

核酸联检反应性鉴别非反应性献血者的追踪分析

朱守兵 孙建杨 陆盈

为保障血液安全,阻断疾病的输血传播途径,我国采供血系统除了要求对采集的血液检测乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)抗原、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)抗体、人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)抗体和梅毒螺旋体(*treponema pallidum*, TP)抗体外,还需要使用核酸检测技术(nucleic acid testing, NAT)检测HBV脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)、HCV核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)和HIV RNA,这使得我国血液安全水平显著提升^[1-6]。目前全球血液筛查中使用的NAT主要有基于聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术和基于转录介导的扩增(transcriptional mediated amplification, TMA)技术的两套系统,其中基于TMA技术的NAT使用广泛,该系统首先对单个标本同时检测HBV DNA、HCV RNA和HIV RNA,单个标本检测反应性后进行进一步实验,鉴别具体反应性项目,实际使用中会出现一定比例的首次检测反应性但鉴别实验非反应性的献血者,即联检反应性鉴别非反应性献血者^[7-10],由于具体感染情况未确定,继续献血会给血液安全带来一定风险,同时还会给献血者带来一定的心理压力。因此为了解核酸联检反应性鉴别非反应性献血者真实感染情况及其特征,掌握其存在的风险,本次研究对绍兴地区核酸联检反应性鉴别非反应性献血者进行了追踪检测,现对追踪检测情况分析如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择2016年1月至2022年6月在绍兴地区(包括绍兴市区、诸暨、嵊州和新昌)参加过无偿献血,且分别使用两种酶联免疫吸附试验

(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂检测乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)、HCV抗体、HIV抗原和抗体、TP抗体均阴性,NAT结果为核酸联检反应性鉴别非反应性献血者;同时从2021年至2022年绍兴地区无偿献血者中随机挑选HBsAg阴性而且HBV DNA阴性的合格献血者76名和隐匿性乙型肝炎病毒感染(occult hepatitis B virus infection, OBI)献血者52名,从追踪到的核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中随机挑选16名。

1.2 检测方法 核酸联检反应性鉴别非反应性6个月以后可以进行追踪检测,追踪到的献血者按照试剂说明书采集标本,分别使用两种ELISA试剂同时检测HBsAg、HCV抗体、HIV抗原和抗体、TP抗体,NAT检测HBV DNA、HCV RNA和HIV RNA,使用化学发光免疫试验(chemiluminescence immunoassay, CLIA)补充检测HBsAg、乙型肝炎病毒e抗原(hepatitis B virus e antigen, HBeAg)、乙型肝炎病毒e抗体(hepatitis B virus e antibody, HBeAb)、HBsAb、免疫球蛋白M型乙型肝炎病毒核心抗体(hepatitis B virus core antibody immunoglobulin M, HBcAb IgM)。经ELISA和CLIA检测HBsAg均阴性同时HBV DNA检测阳性且低于200 IU/mL者确定为OBI^[11],随机挑选的合格献血者、OBI献血者和核酸联检反应性鉴别非反应性献血者使用ELISA法检测HBcAb,所有实验均按照试剂说明书操作。

1.3 仪器和试剂 瑞士HAMILTON FAME酶联免疫反应分析仪;德国Behring BEPI II酶联免疫反应分析仪;瑞士TECAN RSP标本加样仪;美国罗氏核酸检测仪和核酸检测试剂盒;美国GRIFOLS核酸检测仪和核酸检测试剂盒;美国雅培化学发光检测仪和检测试剂;英国DiaSorin HBsAg ELISA试剂盒;厦

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2025.003.022

作者单位:312000 浙江绍兴,绍兴市中心血站质量管理科(朱守兵、孙建杨);浙江省血液中心质量法规部(陆盈)

门英科新创 HBsAg ELISA 试剂盒;英国 Ortho HCV 抗体 ELISA 试剂盒;厦门英科新创 HCV 抗体 ELISA 试剂盒;法国 BIO-RAD HIV 抗原和抗体 ELISA 试剂盒;北京万泰 HIV 抗原和抗体 ELISA 试剂盒;北京万泰 TP 抗体 ELISA 试剂盒、厦门英科新创 TP 抗体 ELISA 试剂盒;北京万泰 HBcAb ELISA 试剂盒。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计学软件对不同人群 HBcAb 阳性率进行 χ^2 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 核酸联检反应性鉴别非反应性献血者 HBV 血清学补充实验结果

血清学模式	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb IgM	合计/例	比例 /%
1	-	-	-	-	-	7	12.96
2	-	-	-	+	+	2	3.70
3	-	-	-	+	-	4	7.41
4	-	+	-	-	-	24	44.44
5	-	+	-	+	+	5	9.26
6	-	+	-	+	-	12	22.22

由表1可见,7例HBcAb IgM阳性献血者分别为血清学模式2和血清学模式5,且HBV DNA均阴性,23例HBeAb阳性献血者发现HBV DNA阳性1例,此例为血清学模式6,41例HBsAb阳性献血者中发现HBV DNA阳性4例,其中3例为血清学模式4。

2.3 不同人群 HBcAb 阳性率比较见表2

表2 不同人群 HBcAb 阳性率比较

人群	HBcAb 阳性/例	HBcAb 阴性/例	HBcAb 阳性率/%
HBsAg(-)、HBV DNA (-)献血者	46	30	60.53
核酸联检反应性鉴别非 反应性献血者	12	4	75.00
OBI献血者	46	6	88.46

由表2可见,HBsAg阴性且HBV DNA阴性合格献血者、OBI献血者和核酸联检反应性鉴别非反应性献血者HBcAb阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 12.07, P < 0.05$)。

2.4 核酸联检反应性鉴别非反应性献血者经追踪再次核酸检测结果分析 对追踪到的核酸联检反应性鉴别非反应性献血者标本再次进行核酸检测, HCV RNA 和 HIV RNA 均阴性,其中4例经ELISA和CLIA检测HBsAg均阴性同时HBV DNA检测阳性且低于200 IU/mL,确定为OBI,比例为7.41%,再次出现核酸联检反应性鉴别非反应性的6例,比例

2 结果

2.1 追踪到的核酸联检反应性鉴别非反应性献血者基本特征 共追踪到核酸联检反应性鉴别非反应性献血者54名,最小年龄26岁,最大年龄57岁,中位数年龄42岁;其中男性44名,女性10名。

2.2 核酸联检反应性鉴别非反应性献血者血清学检测结果分析 54名核酸联检反应性鉴别非反应性献血者经血清学检测HBsAg、HCV抗体、HIV抗原和抗体、TP抗体均阴性,HBV血清学补充实验结果见表1。

为11.11%,核酸检测阴性的44例,比例为81.48%。

3 讨论

由于核酸联检反应性鉴别非反应性献血者总体感染状况未知,为保障血液安全,本研究对绍兴地区核酸联检反应性鉴别非反应性献血者进行了追踪检测。追踪到的54名年龄普遍偏大,以男性为主,女性非常少,与正常献血人群的性别和年龄结构不太一致,与OBI的人群特征较为一致^[12,13],猜测核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中可能会存在比例较高的OBI。根据前期研究^[7,14]HBcAb阳性人群OBI比例较高,本次研究对核酸联检反应性鉴别非反应性献血者HBcAb阳性率进行了分析,发现核酸联检反应性鉴别非反应性献血者HBcAb阳性率明显高于HBsAg阴性且HBV DNA阴性合格献血者,但明显低于OBI献血者,鉴于此,有必要通过核酸检测进一步确认核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中的具体OBI情况。本次研究后续对追踪到的献血者开展了核酸检测,结果证实核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中存在7.41%的OBI,同时还出现了11.11%的再次核酸联检反应性鉴别非反应性,由于未继续追踪检测确认,无法确定再次核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中OBI情况。已有的研究表明OBI人群血液中HBV DNA含量一般比较低^[8,9,15,16],推测可能部分OBI献血者血液中HBV DNA含量非常低,甚至低至核酸检测试剂的检

测值限附近,造成了核酸联检反应性鉴别非反应性。鉴于核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中存在着一定比例的 OBI,同时还存在着比例较高的再次核酸联检反应性鉴别非反应性情况,因此继续正常献血存在着比较大的风险。2019版《血站技术操作规程》规定:HBV、HCV和HIV任意一项中血清学检测和核酸检测同时呈反应性,则永久屏蔽,TP血清学检测双试剂呈反应性,则永久屏蔽,而核酸联检反应性鉴别非反应性献血者未规定需要屏蔽,国内还有采供血机构采取本次所献血液报废,后续可以正常献血的策略,此策略存在较大的风险,建议应及时调整。

为了解核酸联检反应性鉴别非反应性献血者血清学感染特征,本研究开展了HBsAg、HCV抗体、HIV抗原和抗体、TP抗体检测,检测结果均为阴性。本研究还进行了HBV血清学补充实验,其中未发现HBeAg阳性个体,HBsAb单独阳性的比例最高,其次为HBsAb和HBeAb同时阳性,发现的4例OBI均为HBsAb阳性,其中有1例为HBsAb和HBeAb同时阳性,正常情况下HBsAb可以保护机体免受HBV感染,但核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中HBsAb阳性率高和HBV感染率高同时存在,且HBsAb和HBV DNA共存的情况明显,王社梁等^[17]研究认为HBsAb和HBV同时存在与HBV preS/S基因变异有关,推测核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中可能也存在着一定比例的HBV preS/S基因变异。本次研究还发现7例HBeAb IgM阳性献血者,但7例HBV DNA均为阴性,推测核酸联检反应性鉴别非反应性献血者中可能部分为新近感染并康复的个体,可能是由于康复过程中体内还有非常低水平HBV DNA,造成联检反应性鉴别非反应性。

参考文献

- 1 朱守兵,孙建杨,陆盈.血液筛查反应性献血者归队探讨[J].北京医学,2024,46(10):873-877.
- 2 孙平,袁淑绘,陈秀莲,等.两种不同核酸检测系统用于血液筛查核酸检测结果分析[J].中国输血杂志,2021,34(4):411-414.
- 3 魏润葵,余霖,陈少彬,等.某单检模式血液筛查核酸检测系统的性能验证研究[J].中国输血杂志,2022,35(4):449-452.
- 4 蔡淑锋,张锋,朱紫苗,等.浙南地区2018年-2021年无偿献血人群血液核酸检测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2022,32(12):1514-1518.
- 5 陈旭东.血清学检测与核酸检测在献血者血液筛查中的相关性研究[J].临床检验杂志,2019,8(4):232-233.
- 6 许守广,黄文杰,孙海英,等.扬州地区2015-2018年无偿献血者血液核酸检测结果分析[J].临床血液学杂志,2019,32(10):805-807.
- 7 Ye XL,Zhao Y,Li R,et al.High frequency occult hepatitis B virus infection detected in non-resolved donations suggests the requirement of anti-HBc test in blood donors in southern China[J].Front Immunol,2021,28(12):699217.
- 8 Charlewood R,Flanagan P.Ultrio and ultrio plus non-discriminating reactives:False reactives or not?[J].Vox Sang,2013,104(1):7-11.
- 9 Kiely P,Hoad VC,Wood EM.False positive viral marker results in blood donors and their unintended consequences[J].Vox Sang,2018,113(6):530-539.
- 10 李凤园,潘彤,王霞施,等.联检阳性鉴别非阳性献血者血浆标本乙型肝炎病毒感染情况的研究[J].中国输血杂志,2022,35(11):1117-1120.
- 11 Saitta C,Pollicino T,Raimondo G.Occult hepatitis B virus infection: An update[J].Viruses,2022,14(7):1504.
- 12 朱守兵,陶建华,刘祎,等.绍兴地区无偿献血者隐匿性HBV感染现状研究[J].中国预防医学杂志,2019,20(4):326-329.
- 13 莫艳萍,施旭斌,费静娴.浙江省湖州地区献血人群隐匿性乙型肝炎病毒感染状况研究[J].上海预防医学,2022,34(3):197-200.
- 14 杜晓明,钱江,华重千,等.HBsAg阴性HBV DNA阳性样本300例补充试验结果分析[J].全科医学临床与教育,2022,20(6):506-510.
- 15 Vermeulen M,Coleman C,Mitchel J,et al.Sensitivity of individual-donation and minipool nucleic acid amplification test options in detecting window period and occult hepatitis B virus infections[J].Transfusion,2013,53(10):2459-2466.
- 16 洪淑芳,吴昕,杜晓明,等.HBV DNA阳性献血者感染标志物定量分析[J].全科医学临床与教育,2023,21(12):1083-1085.
- 17 王社梁,章金丽,邹伟华.儿童乙肝表面抗原和表面抗体共阳性者病毒 preS/S基因变异特征[J].中国卫生检验杂志,2023,33(6):1354-1387.

(收稿日期 2024-05-03)

(本文编辑 葛芳君)