

• 临床研究 •

HBV DNA阳性献血者感染标志物定量分析

洪淑芳 吴昕 杜晓明 钱江

[摘要] 目的 探究乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)阳性献血者感染标志物含量特征。方法 收集2019年9月至2021年5月金华市市中心血站HBV DNA阳性献血者标本,运用时间分辨荧光免疫分析(TRFIA)定量检测乙肝五项和实时荧光PCR技术定量检测HBV DNA,并按照HBsAg阴性和HBsAg阳性进行分组比较感染标志物含量。结果 共检测46 324例标本,发现HBV DNA阳性124例,阳性率0.27%,平均HBV DNA浓度 (1.82 ± 0.94) lgIU/mL。其中,HBsAg阴性组64例、HBsAg阳性组60例。HBsAg阴性组HBcAb阳性率为93.75%,主要以HBeAb(+) + HBcAb(+)及单独HBcAb(+)血清学模式为主,HBcAb平均浓度9.01(6.10, 11.51)PEIU/mL,HBsAb平均浓度为3.18(1.06, 14.86)mIU/mL,HBV DNA平均浓度为1.33(0.90, 1.70)lgIU/mL。HBsAg阳性组HBcAb阳性率为100%,主要以HBeAb(+) + HBcAb(+)模式为主,HBcAb平均浓度14.85(9.90, 18.48)PEIU/m,HBsAb平均浓度为0.80(0.17, 1.46)mIU/mL,HBV DNA平均浓度为2.15(1.70, 3.06)lgIU/mL。两组HBcAb浓度、HBsAb浓度、HBV DNA定量比较,差异均有统计学意义(Z 分别=-4.87、-5.43、-6.67, P 均<0.05)。结论 HBV DNA阳性献血者中,HBsAg阴性率略高于HBsAg阳性率,HBsAg阳性献血者的HBcAb浓度和HBV DNA浓度高于HBsAg阴性献血者,核酸浓度与HBcAb浓度呈正相关关系。

[关键词] 乙型肝炎病毒核酸; 乙肝核心抗体; 乙肝表面抗原; 献血者

Quantitative analysis of infection markers in HBV DNA-positive blood donors HONG Shufang, WU Xin, DU Xiaoming, et al. Department of Laboratory, Jinhua Central Blood Station, Jinhua 321000, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the characteristics of infection markers in nucleic acid positive hepatitis B virus blood donors. **Methods** Specimens of hepatitis B virus nucleic acid-positive blood donors were collected from Jinhua central blood station from September 2019 to May 2021, and further quantified by time-resolved fluorescence immunoassay (TRFIA) for hepatitis B five parameters and real-time fluorescence PCR for HBV DNA, and they were divided into HBsAg-negative and HBsAg-positive groups to compare these indexes. **Results** A total of 46324 specimens were tested and 124 cases were found to be positive for hepatitis B virus DNA, with a positive rate of 0.27% and an average HBV DNA concentration of (1.82 ± 0.94) lgIU/mL, of which 64 cases in the HBsAg negative group and 60 cases in the HBsAg positive group. The HBcAb positivity rate in the HBsAg negative group was 93.75%, mainly based on the serological pattern of HBeAb(+) and HBcAb(+) or HBcAb(+) alone, with a mean HBcAb concentration of 9.01 (6.10, 11.51) PEIU/mL, HBsAb concentration of 3.18 (1.06, 14.86) mIU/mL and HBV DNA concentration of 1.33 (0.90, 1.70) lgIU/mL. In the HBsAg positive group, the HBcAb positivity rate was 100%, mainly in the HBeAb(+) + HBcAb(+) pattern, with a mean HBcAb concentration of 14.85 (9.90, 18.48) PEIU/m, HBsAb concentration of 0.80 (0.17, 1.46) mIU/mL and a mean HBV DNA concentration of 2.15 (1.70, 3.06) lgIU/mL. The differences in HBcAb concentration, HBsAb concentration, and HBV DNA quantification between the two groups were statistically significant (Z = -4.87, -5.43, -6.67, P < 0.05). **Conclusion**

Among the hepatitis B virus nucleic acid-positive blood donors, the percentage of HBsAg-negative was higher than that of HBsAg-positive. HBsAg-positive donors had higher HBcAb and HBV DNA concentrations than HBsAg-negative donors, and the nucleic acid concentrations were positively correlated with HBcAb concentration.

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2023.012.008

基金项目:浙江省血液安全研究重点实验室开放课题资助项目(2021KF002)

作者单位:321000 浙江金华,金华市市中心血站输血研究所

通讯作者:杜晓明, Email:2810573159@qq.com

[Key words] hepatitis B virus DNA; HBcAb; HBsAg; blood donors

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个重大的公共卫生问题,是肝硬化和肝细胞癌发生的主要危险因素,2019年全球估计有2.96亿人HBV慢性感染,造成82万人死亡。HBV可通过血液传播,产生急性或慢性感染,大多数急性感染都是无症状的^[1]。因此,输血前HBV检测对保障血液安全至关重要。采供机构筛查献血人群中的HBV感染主要通过双厂家酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)检测乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和核酸扩增试验检测(nucleic acid amplification, NAT)HBV DNA。本研究通过分析血站HBV DNA阳性献血者HBV感染标志物定量特征,旨在探索HBsAg阴性乙肝献血者与HBsAg阳性乙肝献血者诊断标志物的区别,为相关标志物发掘提供有价值的研究基础,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2019年9月至2021年5月金华市中心血站核酸阳性献血者标本46 324例,所有标本均排除丙型肝炎、艾滋、梅毒感染。献血者均符合《献血者健康检查要求》,按照《血站技术操作规程(2019版)》和质量体系文件的规定,献血前经过必要的征询、一般检查和血液初筛检测,合格后采血。

1.2 仪器与试剂 Cobas S 201 核酸血液筛查系统(由美国罗氏公司生产)、EasyCuta全自动时间分辨荧光分析仪(由苏州新波公司生产)、EZbead System-32核酸提取仪(由上海浩源公司生产)。HBV-

HCV-HIV(1+2型)核酸检测试剂盒(cobas@TaqScreen MPX Test,由美国罗氏公司生产)、乙肝五项[HBsAg;乙肝表面抗体(hepatitis B surface antibody, HBsAb);乙肝e抗原(HBeAg);乙肝e抗体(HBeAb);乙肝核心抗体(HBcAb)]检测试剂盒(由苏州新波公司生产)、HBV DNA检测试剂盒(由上海浩源公司生产)。

1.3 方法

1.3.1 时间分辨免疫荧光分析法(timed-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA) 采用EasyCuta全自动时间分辨荧光分析仪对NAT检测HBV DNA阳性的标本进行乙肝五项定量检测,通过剂量-反应曲线得出定量值。

1.3.2 实时荧光定量PCR法(real-time PCR, RT-PCR) 采用EZbead System-32核酸提取仪对NAT检测HBV DNA阳性的标本进行HBV DNA定量检测。

1.4 统计学方法 采用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。计数资料两组间比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率法,计量资料两组间比较采用独立样本 t 检验或秩和检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 金华地区HBV DNA阳性基本情况 46 324例标本中,发现HBV DNA阳性124例,阳性率0.27%,平均HBV DNA浓度(1.82 ± 0.94) lgIU/mL。其中HBsAg阴性有64例,占51.61%;HBsAg阳性有60例,占48.38%。

2.2 两组不同乙肝血清学模式比较见表1

表1 两组不同乙肝血清学模式比较/例(%)

HBV 模式	DNA 阳性				HBsAg 阴性组	HBsAg 阳性组
	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb		
1	-	-	-	-	2(3.13)	0
2	-	-	-	+	18(28.12)	3(5.00)
3	-	-	+	+	24(37.50)	53(88.33)
4	-	+	-	+	1(1.56)	1(1.67)
5	+	-	-	+	10(15.63)	0
6	+	-	-	-	2(3.13)	0
7	+	-	+	+	7(10.93)	3(5.00)

由表1可见,HBsAg阴性组HBcAb阳性率为93.75%,主要以血清学模式3(HBeAb与HBcAb共同阳性)为主,占37.50%;其次为模式2(单独HBcAb阳

性),占28.12%。HBsAg阳性组HBcAb阳性率为100%,主要以血清学模式3(HBeAb与HBcAb共同阳性)为主,占88.33%,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。

2.3 两组血清学标志物 HBcAb、HBsAb 浓度比较见表2

表2 两组血清学标志物 HBcAb、HBsAb 浓度比较

组别	HBcAb/PEIU/mL	HBsAb/mIU/mL
HBsAg 阴性组	9.01(6.10, 11.51)*	3.18(1.06, 14.86)*
HBsAg 阳性组	14.85(9.90, 18.48)	0.80(0.17, 1.46)

注: *: 与 HBsAg 阳性组比较, $P < 0.05$ 。

由表2可见, HBsAg 阴性组 HBcAb 浓度明显低于 HBsAg 阳性组, 差异有统计学意义($Z = -4.87, P < 0.05$)。HBsAg 阴性组 HBsAb 浓度明显高于 HBsAg 阳性组, 差异有统计学意义($Z = -5.43, P < 0.05$)。

2.4 两组 HBV DNA 定量比较 HBsAg 阴性组 HBV DNA 定量为 1.33(0.90, 1.70)lgIU/mL, 明显低于 HBsAg 阳性组 2.15(1.70, 3.06)lgIU/mL, 差异有统计学意义($Z = -6.67, P < 0.05$)。

3 讨论

HBV 是一种嗜肝性 DNA 病毒, 可导致终身慢性感染, 进而发展成为肝硬化和肝癌^[2]。目前严格的献血者 HBV 检测是降低输血传播 HBV 风险的唯一方法。HBV DNA 是 HBV 的基因组, 其检测是判断献血者体内 HBV 复制状态的金标准, 具有很高的灵敏度和特异性, 能有效缩短 HBV 检出的窗口期。

由于检测方法的局限性、HBV S 基因突变等原因, 存在 HBsAg 假阴性的情况^[3]。张菊萍等^[4]研究发现, TRFIA 法定量检测 HBV 感染准确度较核酸检测高, 在 HBV-M 多次检测中差异极其微小。本研究对 HBV DNA 阳性献血者进一步运用 TRFIA 定量检测乙肝五项, 其中 HBsAg 检测阴性标本的 HBcAb 阳性率为 93.75%, HBsAg 检测阳性标本的 HBcAb 阳性率为 100%。HBcAb 是 HBV 既往感染的指标, 在 HBV 感染时具有很高的阳性率。Esposito 等^[5]研究发现 HBcAb 可辅助诊断 HBsAg 阴性的 HBV 感染, 给免疫抑制或免疫缺陷的受血者输注 HBcAb 阳性的成分血时需谨慎, 极易引起输血后 HBV 再激活。本研究发现 HBsAg 阴性组 HBcAb 浓度低于 HBsAg 阳性组, 表明高浓度的 HBcAb 增加了 HBV 感染风险。

HBsAb 是具有保护功能的中和抗体, 可与 HBsAg 特异性结合, HBsAb 中的 Fab 成分可以通过阻止 Pre-S1 和 NTCP 结合位点之间的相互作用来阻断 HBV 进入肝细胞, 也可以阻断 HBsAg 的“a”决定因子与低亲和力细胞受体 HSPG 之间的相互作用清除 HBV 感染, 低浓度的 HBsAb 增加了 HBV 感染风

险^[6]。本研究通过对 HBV DNA 阳性献血者 HBsAb 浓度定量分析, 发现 HBsAg 阳性组 HBsAb 阳性仅为 5%, 且 HBsAb 浓度较低为 0.80(0.17, 1.46) mIU/mL。HBsAg 阴性组 HBsAb 阳性率和 HBsAb 浓度略高于 HBsAg 阳性组, 但 HBsAb 浓度仍然较低。因此加强人群乙肝疫苗宣传与补种有利于切断 HBV 输血传播。

本研究中 HBsAg 阴性组 HBV DNA 定量低于 HBsAg 阳性组。可能是因为在 HBV 感染早期、HBV 感染康复期、血清学无症状的慢性肝炎或 HBsAg 发生突变时, 血浆中无法检测到 HBsAg, HBV 处于低复制状态, 血浆 HBV DNA 浓度较低^[7], 即使是灵敏度较高的核酸检测也无法持续检测到血浆中的 HBV DNA, 当输注大剂量血液制品或受血者免疫低下时, 易造成 HBV 感染^[3]。因此, 即便开展了核酸检测, 也应注意全过程的质量控制, 保持检测的灵敏度。

综上所述, 本研究初步表明在 HBV DNA 献血者中, HBsAg 阳性献血者的 HBcAb 浓度和 HBV DNA 浓度高于 HBsAg 阴性献血者, HBcAb 与 HBV DNA 具有一定的正相关性, 输注 HBcAb 阳性成分血时需更加谨慎。

参考文献

- 1 王俊仙. 慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗的研究进展[J]. 现代诊断与治疗, 2021, 32(12): 1871-1872, 1908.
- 2 Roth W K. Hepatitis B and blood transfusion[J]. Isbt Science, 2010, 2(1): 178-183.
- 3 Candotti D, Assennato SM, Laperche S, et al. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: Revising the minimal infectious dose[J]. Gut, 2019, 68(2): 313-321.
- 4 张菊萍, 王珍. FQ-PCR、TRFIA 方法检测乙肝标志物的临床价值[J]. 山东医药, 2014, 54(5): 45-46.
- 5 Esposito A, Sabia C, Iannone C, et al. Occult hepatitis infection in transfusion medicine: Screening policy and assessment of current use of anti-HBc testing[J]. Transfus Med Hemother, 2017, 44(4): 263-272.
- 6 Warner N, Locarnini S, Xu H. The role of hepatitis B surface antibodies in HBV infection, disease and clearance[J]. Future Virology, 2020, 15(5): 293-306.
- 7 Iudicone P, Miceli M, Palange M, et al. Hepatitis B virus blood screening: Impact of nucleic amplification technology testing implementation on identifying hepatitis B surface antigen non-reactive window period and chronic infections[J]. Vox sanguinis, 2009, 96(4): 292-297.

(收稿日期 2023-08-23)

(本文编辑 葛芳君)