

# 血液核酸检测降低经血传播疾病风险的研究

方奎明, 孙昂, 吴晓晋, 祝青, 黄志翔, 鲁红霞, 易玲, 符凯, 李轶

岳阳市中心血站, 湖南 岳阳 414000

**摘要:** **目的** 探讨血液核酸检测在降低经血传播疾病风险的意义。 **方法** 对岳阳血站 2015 年 1-12 月采集的 40 833 份血液, 均采用 2 次血清学检测和 1 次核酸检测, HIV 有反应性标本同时送市疾控中心确诊。 **结果** 40 833 份血液标本, 经 2 次血清学检测, 39 571 份标本无反应性, 408 份标本 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 有反应性; 经 1 次核酸检测, 39 571 份标本中 18 份有反应性, 408 份标本中 214 份有反应性。 **结论** 血液核酸检测能降低经血传播疾病的风险, 提高血液安全性。

**关键词:** 核酸检测; ELISA; 经血液传播疾病; 血液安全; 检测策略

**中图分类号:** R446.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2016)10-1188-03 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.011

## Reducing the risk of blood-transmitted diseases by nucleic acid test

FANG Kui-ming, SUN Ang, WU Xiao-jin, ZHU Qing, HUANG Zhi-xiang, LU Hong-xia, YI Ling, FU Kai, LI Yi

The Central Blood Station of Yueyang City, Yueyang, Hunan 414000, China

Corresponding author: SUN Ang, E-mail: sunang1992@163.com

**Abstract:** **Objective** To explore the significance of nucleic acid test in reducing the risk of blood-transmitted diseases.

**Methods** A total of 40,833 blood samples collected from the Central Blood Station of Yueyang City from January to December 2015 were detected by two times enzyme linked immunoassay tests and one-time nucleic acid test. The samples with HIV positive reaction were sent to Yueyang Municipal Center for Disease Control and Prevention for confirmatory test. **Results** Among the 40,833 blood samples subject to two times of enzyme linked immunosorbent assay, there were 39,571 samples with negative response and 408 with positive hepatitis B surface antigen (HBsAg), anti-HCV and anti-HIV. Among the 39,571 samples subject to one-time nucleic acid test, there were 18 samples with positive HBV-DNA. Among the 408 samples with one-time nucleic acid test, there were 214 samples with positive HBsAg, anti-HCV and anti-HIV results. **Conclusions** Nucleic acid test can reduce the risk of blood-transmitted diseases and improve the safety of blood.

**Key words:** Nucleic acid test; ELISA; Blood-transmitted disease; Blood safety; Test strategy

输血目前仍是临床无法替代的重要治疗手段,但血液安全问题又给患者带来风险,如何降低经血液传播疾病的风险,保证血液的安全一直是血站人员持续改进的目标。试剂的灵敏度、病毒感染的“窗口期”、病毒亚型、病毒变异和隐匿性感染等都对检测结果有很大的影响,核酸检测技术(nucleic acid test, NAT)能有效缩短病毒感染窗口期,检测隐匿性的病毒感染及病毒变异等,提高血液安全<sup>[1]</sup>。按照国家卫计委的要求,岳阳市中心血站于 2015 年起开展献血者的病毒核酸检测,采用实时荧光扩增 PCR 法,在原有的传统 2 次血清抗体 ELISA 方法的基础上,增加 1 次核酸检测,并对两种方法的检测结果进行比较分析。

**基金项目:**岳阳市自然科学基金(2014-3-22)

**作者简介:**方奎明(1965-),男,湖南岳阳人,研究生,主任医师,主要从事公共卫生检验、传染病防治等工作。

**通讯作者:**孙昂(1972-),男,湖南岳阳人,硕士,副主任技师,主要从事血液检测、HLA 分型、亲子鉴定、疑难血型鉴定等工作, E-mail: sunang1992@163.com。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源和处理** 2015 年 1-12 月无偿献血者体检和健康征询合格,现场使用干式生化分析仪筛查 ALT 及乙肝金标试纸条筛查合格后,采集 40 833 份血液后留取的标本。每位献血者留取 5 ml 血液 2 管,1 管为 EDTA-K2 抗凝的真空采血管,用于酶免、ALT 和血型的检测;1 管为无菌、无 DNA 酶、无 RNA 酶带分离胶的含 EDTA-K2 抗凝的科华厂家配套真空采血管,用于核酸检测。标本留取后 2 ℃~8 ℃保存,核酸检测标本采集后,4 h 内离心,分离细胞和血浆。标本在 2 ℃~10 ℃运输,72 h 内完成检测。

**1.2 试剂与仪器** ALT 检测试剂(深圳迈瑞和上海科华);ELISA 检测试剂:HBsAg(珠海丽珠和厦门新创),抗-HCV(厦门新创及上海科华);抗-HIV-1/2(厦门新创及北京万泰),抗-TP(上海科华及北京万泰),所有试剂均为国家批批检合格产品,有效期内使用;质控物(北京康彻思坦)。深圳爱康 URANUS

AE200 全自动加样酶免一体机及 URANUS AE288 全自动加样酶免一体机,科华全自动生化分析仪。核酸检测试剂:HBV、HCV、HIV (1+2 型)联合试剂(上海科华,批号:20141113、20150407、20150809)。Humilton Star 汇集和核酸提取仪,ABI7500 荧光定量 PCR 仪,科华 2.0 版核酸检测系统。

1.3 检测方法

1.3.1 血清学检测方式 所有标本均使用不同厂家试剂、由不同人员操作进行 2 次 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP 的 ELISA 检测和 ALT 速率法检测,严格按照仪器和试剂操作说明书进行血清学检测。

1.3.2 血清学检测判定规则 ALT≥40 U/L 为不合格;ELISA 检测 S/CO 值≥1.0 为有反应性,判为不合格;ELISA 检测 0.7≤S/CO 值<1.0 为灰区,双孔复试,复试任 1 孔为有反应性或灰区判为不合格。抗-HIV 有反应性标本送市 CDC 确诊。

1.3.3 核酸检测方式及判定规则 血清学检测合格的标本 8 份混样进行 HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA 三联检测,每批检测均设置 1 个阴性对照、1 个阳性对照和 3 个阳性质控,每个 pool 均含内对照。pool 检测为阴性,8 份标本合格;pool 检测为反应性,对该 pool 中的 8 份标本进行拆分单人份检测,拆分试验阴性判定该标本核酸检测阴性,拆分试验有反应性直接判定为 HBV、HCV、HIV 核酸检测阳性。血清学检测不合格标本直接进行单人份核酸检测,判定规则同拆分试验。HBV、HCV、HIV 核酸检测阳性标本送上海科华生物工程有限公司确诊。

2 结果

2.1 40 833 份标本血清学检测情况 40 833 份血液标本,39 571 份血清学检测合格,1 262 份标本血清学检测不合格,其中有 408 份 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV ELISA 检测(简称 ELISA 三项检测)不合格,检测结果见表 1。

表 1 40 833 份标本血清学检测结果

血清学检测项目	单试剂		双试剂		血清学检测	
	阳性数	阳性率(%)	双试剂阳性	双试剂阳性率(%)	合格数	合格率(%)
ALT	0	0.00	674	1.65	40159	98.35
抗-TP	62	0.15	207	0.52	40626	99.48
HBsAg	66	0.16	173	0.42	40594	99.42
抗-HCV	71	0.17	70	0.17	40692	99.65
抗-HIV	24	0.06	8	0.02	40801	99.92

注:标本血清学检测不合格有同时几项不合格,故不合格总数小于单项不合格之和。

2.2 39 571 份血清学检测合格标本核酸检测情况 39 571 份血清学检测合格血液,核酸检测结果见表 2。

表 2 39 571 份标本核酸检测结果

指标	NAT 检测阳性			NAT 检测阴性	
	阳性数	阳性率(%)	确认阳性数	阴性数	阴性率(%)
HBV-DNA	18	0.05	11	39553	99.95
HCV-RNA	0	0.00	0	39571	100.00
HIV-RNA	0	0.00	0	39571	100.00

2.3 408 份 ELISA 三项检测不合格标本核酸检测情况 408 份 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV ELISA 检测(简称 ELISA 三项检测)不合格标本,核酸检测结果见表 3。

表 3 408 份血清学检测不合格标本核酸检测结果

标本类型	标本数	NAT 检测阳性			NAT 检测阴性	
		阳性数	阳性率(%)	确认阳性数(%)	阴性数	阴性率(%)
HBsAg 单试剂不合格	66	5	7.58	1(20.00)	61	93.85
HBsAg 双试剂不合格	173	151	87.28	102(67.55)	22	12.72
抗-HCV 单试剂不合格	71	3	4.23	0(0.00)	68	95.77
抗-HCV 双试剂不合格	70	49	70.00	30(42.86)	21	30.00
抗-HIV 单试剂不合格	24	0	0.00	0(0.00)	24	100.00
抗-HIV 双试剂不合格	8	6	75.00	6(100.00)	2	25.00
合计	408	214	51.94	139(64.95)	198	48.06

注:ELISA 检测,2 份标本 HBsAg、抗-HCV 同时不合格,1 份标本 HBsAg、抗-HIV 同时不合格,1 份标本、抗-HCV、抗-HIV 不合格。

3 讨论

降低经血液传播疾病的风险是采供血机构及医疗行业共同的话题,也是每个血站不断持续改进的目标,随着科技的发展和研究的深入,尤其是 PCR 技术的发展和应用于血液检测技术研究的深入,已研究证实,血液病毒核酸检测,能明显缩短 HIV、HCV、HBsAg 感染后的“窗口期”<sup>[12]</sup>,采用血清学方法和核酸技术联合检测,能提高经血液病毒的检出率<sup>[3]</sup>。目前,全国血站的检测策略是:采血之前采用金标法快速检测 ALT 和 HBsAg,大多血站在血液回站后采用 2 种不同厂家的血清学试剂由不同人员做血清学检测、血清学检测合格标本再进行 HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA 三项核酸检测,少数血站采用 1 次血清学检测和 1 次核酸检测的方式。岳阳市中心血站自 2015 年 1 月份开始,采用 2 次血清学检测和 1 次核酸检测的方式,检测所采血液。

2015 年该站采集了 40 833 份血液,因采集前进行了 ALT 和 HBsAg 快速检测,39 571 份血清学检测合格,其中 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV ELISA 检测不合格 408 份,ALT 和抗-TP 不合格 854 份,血液血清学检测报废率为 3.09%,较之前调查的有所降低<sup>[4]</sup>,与北京通州献血者血液血清学检测报废率相近<sup>[5]</sup>。这充分

# 58 对母婴麻疹抗体水平衰减的研究

唐广心<sup>1</sup>, 连昌虎<sup>2</sup>, 刘晓军<sup>1</sup>

1. 深圳市宝安区疾病预防控制中心, 广东 深圳 518101; 2. 深圳市坪山新区疾病预防控制中心

**摘要:** **目的** 通过配对研究母亲及其分娩新生儿的麻疹抗体水平的动态变化过程, 探询低月龄婴儿麻疹高发的原因, 为制定麻疹免疫策略提供理论依据。 **方法** 采用横断面研究的方式, 采集母亲外周血 2 ml 和分娩时脐带血(代表新生儿出生时的水平) 2 ml, 同时在婴儿 3、5、7 月龄时随访动态观察, 采用德国 IBL 公司试剂 ELESIA 方法测定血清中麻疹 IgG 抗体水平。 **结果** 孕产妇及新生儿脐带血的麻疹抗体滴度分别是:  $\text{Max}_{\text{孕产妇}} = 6\,522$ ,  $\text{Min}_{\text{孕产妇}} = 62$ ,  $\text{Med}_{\text{孕产妇}} = 834.5$  和  $\text{Max}_{\text{脐带}} = 6\,233$ ,  $\text{Min}_{\text{脐带}} = 61$ ,  $\text{Med}_{\text{脐带}} = 760.5$ , 两者差异无统计学意义 ( $t = 0.87$ ,  $P = 0.39$ )。母亲及婴儿脐带血麻疹血清抗体阳性率分别为 84.48% 和 86.21%, 血清抗体保护率分别为 50.00% 和 46.55%。母婴麻疹血清抗体水平具有正相关性 ( $r = 0.83$ ,  $P < 0.01$ ), 婴儿脐带血抗体水平随母亲抗体水平的升高而升高 ( $\chi^2 = 42.85$ ,  $P < 0.01$ )。婴儿麻疹抗体阳性率 3 月龄时为 29.27%, 5 月龄时为 5.88%, 7 月龄及以后全阴。母亲保护性抗体阳性者的婴儿脐带血保护性抗体阳性率 (89.66%) 比母亲保护性抗体阴性者的 (3.45%) 高 ( $\chi^2 = 20.06$ ,  $P < 0.01$ )。不论母亲是否有保护性抗体, 3 月龄及以后各月龄时婴儿的麻疹保护性抗体阳性率均为 0。 **结论** 目前新生儿麻疹抗体水平低且衰减速度快, 7 月龄时已经全部转阴, 3 月龄时婴儿胎传抗体已无保护性。育龄期妇女孕前麻疹抗体水平对婴儿麻疹抗体水平有直接影响, 孕前接种麻疹疫苗可在一定程度上提高婴幼儿麻疹抗体水平。

**关键词:** 胎传麻疹抗体; 新生儿; 保护性抗体

**中图分类号:** R511.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2016)10-1190-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.012

**基金项目:** 深圳市宝安区科技局立项课题(2013091)

**作者简介:** 唐广心(1978-), 男, 安徽太和县人, 硕士, 副主任医师, 主要从事疾病预防控制工作。

说明血液采集前对献血者进行体检、健康征询和 ALT 和 HBsAg 快速检测, 是保证血液质量的第一关<sup>[6]</sup>。39 571 份血清学检测合格的血液中, 经 HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA 三项核酸检测, 检出 18 份 HBV-DNA 阳性, 占 0.05%, 与盐城市献血者血液筛查结果<sup>[7]</sup>相似, 低于安徽血液中心的筛检结果<sup>[8]</sup>。408 份 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV ELISA 检测不合格血液, 核酸检测 214 份阳性, 证实了核酸检测与血清学检测互为补充、同等重要, 病毒血清学检测和核酸检测技术联合应用, 能提高 HIV、HCV、HBsAg 的检出率, 这与专家论证核酸检测技术在输血传染病筛子中的作用相一致<sup>[9]</sup>; 18 份血清学检测合格而核酸检测 HBV-DNA 阳性标本, 经上海科华公司确诊, 11 份为 HBV-DNA 阳性, 这说明核酸检测在病毒感染的“窗口期”、病毒亚型、病毒变异和隐匿性感染方面的检出率<sup>[10]</sup>较 ELISA 检测方法灵敏。

核酸检测技术具有高度敏感性, 对检测操作的各个环节和实验室环境都有很高的要求, 必须从实验室规划与设计、实验耗材和标本等方面严加质量管理<sup>[11]</sup>, 才能避免交叉污染、控制假阴性的发生, 从而保证检测结果的准确性; ELISA 检测方法也要严加质量

管理, 才能保证检测结果的准确性。目前, 采供血机构只有从献血者征询、健康体检、血液快速检测、标本合理处理, 再到高质量血清学和核酸联合检测, 才能提高血液质量<sup>[12]</sup>, 进一步降低经血液传播疾病的风险。

## 参考文献

- [1] 任芙蓉. 血液病毒核酸筛查的研究进展[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(11): 890-892.
- [2] 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.
- [3] 于志军, 邓雪莲, 高慧卉, 等. 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]. 实用预防医学, 2014, 21(5): 532-534.
- [4] 孙昂, 苏湘晖. 岳阳市无偿献血者 4 项传染病指标检测结果分析[J]. 实用预防医学, 2012, 28(12): 1817-1820.
- [5] 杨思佳, 刘瑾红, 佟雪莲, 等. 北京通州区地区不同人群无偿献血血液检测结果分析[J]. 实用预防医学, 2015, 22(12): 1475-1476.
- [6] 李双, 谢毓滨. 2012-2013 年长沙市无偿献血者结构与血液检测结果分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(1): 75-78.
- [7] 梁启忠, 程玉根, 等. 核酸检测技术在献血者血液筛查中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(22): 3265-3270.
- [8] 吕蓉, 盛琪琪, 赵阳, 等. 核酸检测技术在安徽血液中心血液筛查中的应用分析[J]. 安徽医学, 2014, 35(5): 572-575.
- [9] 季阳, 郑忠伟, 蔡辉, 等. 病毒血清学检测与核酸检测技术在输血传染病筛检中的应用[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(6): 413-417.
- [10] 王芳, 金钊, 林松峰, 等. 核酸检测在血液 HBV 筛查中的应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(4): 795-796.
- [11] 王宏, 张宇, 王芳, 等. 对献血者血液进行 HIV、HBV 和 HCV 病毒核酸检测质量管理的初探[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(8): 1204-1207.
- [12] 韩婷婷, 刘鱼, 李玲, 等. 输血传染性残余风险评估方法研究进展[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(10): 1061-1064.

收稿日期: 2016-04-20