

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.12.012

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210607.1512.013.html\(2021-06-07\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210607.1512.013.html(2021-06-07))

核酸检测在血液传染病筛查的应用价值^{*}

李广波, 轩乾坤, 羽晓瑜, 温冬华, 杨思敏[△]
(同济大学附属东方医院检验科, 上海 200123)

[摘要] **目的** 探讨核酸检测在血液传染病筛查[乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)]的应用价值。**方法** 选取 2018—2019 年在该院住院因手术或输血需要检测乙肝五项和抗 HCV、HIV 抗原抗体的 500 例患者血清标本。化学发光法检测乙肝五项、抗 HCV、HIV 抗原抗体,提取核酸定性检测 HBV DNA、HCV RNA、HIV RNA。比较两种方法的检测结果,不一致的标本检测病毒载量确认最终结果。**结果** 检测出 11 例 HBV 化学发光与核酸定性结果不一致标本,未检出 HCV 和 HIV 化学发光与核酸定性结果不一致标本。2 例 HBsAg 阳性 HBV DNA 定性阴性检测标本检测载量均小于 20 IU/mL。9 例 HBsAg 阴性 HBV DNA 定性阳性样品中 2 例未检测到 HBV DNA 载量,6 例标本检测到 HBV DNA 载量小于 20 IU/mL,1 例标本 HBV DNA 载量为 23.6 IU/mL。**结论** HBV、HCV、HIV 病原体核酸检测有利于检测出窗口期和免疫状态异常的感染者。

[关键词] 血液传染病核酸筛查;乙型肝炎;HCV RNA 检测;HIV RNA 检测
[中图法分类号] R446.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)12-2034-04

Application value of nucleic acid detection in screening blood infectious diseases^{*}

LI Guangbo, XUAN Qiankun, YU Xiaoyu, WEN Donghua, YANG Simin[△]
(Department of Clinical Laboratory, Affiliated East Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200123, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the application value of nucleic acid detection in screening blood infectious diseases (HBV, HCV and HIV). **Methods** A total of 500 serum samples needing to detect hepatitis B 5 items, anti-HCV and HIV antigen and antibody due to hospitalization surgery or blood transfusion in this hospital during 2018—2019 were collected. The chemiluminescence method was used to detect the hepatitis B 5 items, anti-HCV, HIV antigen and antibody. The nucleic acid was extracted to qualitatively detect HBV DNA, HCV RNA and HIV RNA. The detection results were compared between the two methods. The viral load in the samples of inconsistent results was detected for confirming the final results. **Results** Eleven samples of HBV inconsistent results by chemiluminescence and nucleic acid qualitative methods were detected. There was no samples with inconsistent results of HCV and HIV detected by the chemiluminescence and nucleic acid qualitative methods. The loads detected in 2 samples of HBsAg positive and HBV DNA qualitative negative were all less than 20 IU/mL. Among 9 samples of HBsAg negative HBV DNA qualitative positive, HBV DNA load was not detected in 2 samples. The detected HBV DNA load was less than 20 IU/mL in 6 samples. The HBV DNA load in 1 sample was 23.6 IU/mL. **Conclusion** The pathogen nucleic acid detection of HBV, HCV and HIV is conducive to detect the infected persons with window period and immune state abnormality.

[Key words] nucleic acid screening for blood infectious diseases; hepatitis B; HCV RNA detection; HIV RNA detection

乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)是经血液传播的主要病原体,其感染亦是目前较为严重的公共卫生问题。医疗单位常将这 3 种病原体 and 梅毒作为有创诊疗和输血前

^{*} 基金项目:上海市公共卫生体系建设三年行动计划(2020—2022 年)项目(GWV-10.1-XK04)。 作者简介:李广波(1978—),主管技师,硕士,主要从事病原体的分子检测、个体化用药分子机制研究。 [△] 通信作者, E-mail: yang_kisa@hotmail.com。

常规检测的病原体。目前常用 ELSIA 或电化学发光等检测这些病原体的抗原或抗体。新发感染后抗原或抗体的检测需要较长的窗口期,而病原体核酸检测可明显缩短窗口期。文献报道 HIV 感染后 1~2 周(平均 11 d)可检测到 HIV RNA,3~4 周(平均 22 d)可检测到抗 HIV;HCV 感染后 1~2 周(平均 12 d)可检测到 HCV RNA,2~3 个月(平均 70 d)可检测出抗 HCV;HBV 感染后最早 33 d 可检测出 HBV DNA,2 个月(平均 56 d)可检测出 HBsAg^[1]。因此病毒核酸检测可明显提前确认患者的感染状态,能有效控制传染病,预防疾病传播的发生。目前医院很少将核酸检测应用于手术前和输血前筛查,本文探讨核酸检测在血液传染病筛查的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018—2019 年在本院住院因手术或输血需要检测乙肝五项和抗 HCV、HIV 抗原抗体的 500 例患者血清标本。分离血清,留取 1.5 mL 做核酸检测,其余用于化学发光检测抗原抗体。

1.2 方法

1.2.1 核酸筛查检测下限验证

阴性血清将 WHO 标准物质(HBV: NIBSC code10/266,HCV: NIBSC code 14/150,HIV: NIBSC code 16/194)稀释到试剂说明书注明的检出限浓度,即 HBV DNA 5 IU/mL、HCV RNA 50 IU/mL、HIV RNA 50 IU/mL。每批试验重复检测 4 次,重复检测 5 批,分别统计 5 批试验样品阳性检出率,阳性样品统计 CT 值的 CV 值,阳性检出率大于或等于 90%,CT 值 CV<5%为验证通过。

1.2.2 病毒抗原抗体检测

使用罗氏 cobas e602 免疫化学发光仪及罗氏配套试剂检测患者血清乙肝五项,抗 HCV、HIV 抗原抗体。

1.2.3 病毒核酸定性检测

使用上海科华公司的 HBV、HCV、HIV(1 型)核酸检测试剂盒(PCR-荧光法)的提取试剂盒和扩增检测试剂盒。使用 HAMILTON 的 MICROLAB STAR 核酸提取仪提取核酸,伯乐 CFX Connet PCR 仪定性检测 HBV DNA、HCV RNA、HIV RNA。结果判定标准按照试剂盒说明书。

1.2.4 病毒核酸定量检测

比对每份样品 HBsAg、抗 HCV、HIV 抗原抗体的结果与核酸定性检测结果是否一致。结果不一致的原始标本使用罗氏 COBASAmpliPrep-COBAS TaqMan(CAP-CTM)系统定量检测核酸水平。

2 结果

2.1 检测下限验证

HBV DNA、HCV RNA、HIV RNA 检测下限分别为 5 IU/mL、50 IU/mL、50 IU/mL,见表 1。

2.2 化学发光和核酸检测结果比较

检测出 11 例 HBV 化学发光与核酸定性结果不一致标本,未检出 HCV、HIV 化学发光与核酸定性结果不一致标本,见表 2。

表 1 检测下限验证结果			
项目	HBV DNA	HCV RNA	HIV RNA
检测阳性率	100%	100%	95%
Ct 值均值	30.95	30.94	35.45
Ct 值 SD	0.76	1.39	1.01
Ct 值 CV	2.45%	4.50%	2.86%
检测下限	5 IU/mL	50 IU/mL	50 IU/mL

2.3 确认实验

2 例 HBsAg 阳性 HBV DNA 筛查阴性标本,确认实验显示 HBV DNA 定量小于检测限。9 例(1.8%)HBsAg 阴性 HBV DNA 筛查阳性标本,1 例定量为 23.6 IU/mL,6 例可见扩增曲线定量小于检测限,2 例无扩增曲线,见表 3。

表 2 化学发光和核酸检测结果比较

序号	化学发光							核酸定性		
	HBsAg	HBsAb	HBcAg	HBcAb	HBcAb	anti-HCV	HIV	HBV DNA(Ct 值)	HCV RNA	HIV RNA
1	+	-	-	+	+	-	-	29.32	-	-
2	+	-	-	+	+	-	-	28.15	-	-
3	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
4	+	-	-	+	+	-	-	31.15	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	35.55	-	-
6	-	-	-	+	+	-	-	34.33	-	-
7	-	+	-	+	+	-	-	35.59	-	-
8	-	-	-	-	+	-	-	32.60	-	-
9	-	+	-	-	+	-	-	33.65	-	-

续表 2 化学发光和核酸检测结果比较

序号	化学发光							核酸定性		
	HBsAg	HBsAb	HBcAg	HBcAb	HBcAb	anti-HCV	HIV	HBV DNA(Ct 值)	HCV RNA	HIV RNA
10	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	—	+	—	—	+	—	—	29.24	—	—
12	—	—	—	+	+	—	—	31.35	—	—
13	—	—	—	+	+	—	—	32.38	—	—
14	—	—	—	—	+	—	—	33.25	—	—

表 3 乙肝五项、HBV DNA 定性及定量结果

序号	化学发光					HBV DNA 定性	HBV DNA 定量 (IU/mL)
	HBsAg	HBsAb	HBcAg	HBcAb	HBcAb		
3	+	—	—	+	+	—	<20
5	—	—	—	—	—	36.75	<20
6	—	—	—	+	+	34.33	/
7	—	+	—	+	+	35.59	<20
8	—	—	—	—	+	35.08	<20
9	—	+	—	—	+	36.44	/
10	+	—	—	—	—	—	<20
11	—	+	—	—	+	29.24	23.6
12	—	—	—	+	+	34.48	<20
13	—	—	—	+	+	35.38	<20
14	—	—	—	—	+	31.32	<20

/:无数据。

3 讨 论

目前临床常用化学发光或 ELISA 方法检测乙肝五项、抗 HCV、HIV 抗原抗体确认患者的感染情况。因病毒复制周期及感染者免疫状态个体差异,从感染到检测阳性存在长短不一的窗口期。随着分子诊断技术的发展,有效利用 PCR 的高灵敏度和高特异性,可大大缩短窗口期。目前 HBV DNA 和 HCV RNA 定量检测在临床已广泛应用,但其检测下限较高,常见试剂检测下限 HBV DNA 为 100 IU/mL, HCV RNA 为 1 000 IU/mL,可用于治疗监测,但不适合常规感染筛查。HIV RNA 定量或定性检测未普遍应用于临床。本研究定性检测下限 HBV DNA、HCV RNA、HIV RNA 分别为 5、50、50 IU/mL,较定量检测大幅降低,这种极低的检测下限能更好地检测处于窗口期和低拷贝感染者。

本研究共检测 500 例血清标本,共检测出 HB-sAg 阴性 HBV DNA 筛检阳性 9 例(1.8%),远高于血站检测的阳性率。上海地区的 HBsAg 阴性献血人群中 HBV DNA 阳性感染率为 0.049%^[2],北京地区无偿献血者感染率为 0.05%^[3],闽南地区同类研究报道为 0.2%^[4]。其原因可能为研究对象不同,本研究样本量较小,地区人群 HBsAg 流行差异及检测 HB-

sAg 和 HBV DNA 所采用的检测试剂不同。献血者多为身体健康的青年人,本研究患者多为重病需要手术或输血的中老年患者。HCV RNA 和 HIV RNA 未检出阳性样品,与这两种病原体在人群中的流行率较低及本试验检测样品数量较少有关。目前公认的 HBV DNA 定量检测“金标准”是罗氏公司 COBAS-AmpliPrep-COBAS TaqMan (CAP-CTM) 定量检测系统,其检测下限为 20 IU/mL。本研究检出 1 例 23.6 IU/mL 标本,8 例可见扩增曲线但定量低于 20 IU/mL。2 例 HBsAg 阳性 HBV DNA 定性阴性标本可见扩增曲线但定量低于 20 IU/mL,分析原因可能为定性检测下限(5 IU/mL)附近的低拷贝样品。HB-sAg 阴性 HBV 定量检测阳性的 7 例标本中 1 例乙肝五项全部阴性疑似 HBV 感染窗口期,其余 6 例为 HBsAb、HBcAb、HBcAb 中 1 项或多项阳性的多种不同组合,与文献报道结果相似^[5-6]。若 HBV 患者和无症状携带者血清中 HBsAg 检测结果呈阴性,而血清或肝脏中 HBV DNA 检测结果呈阳性,被称为隐匿性 HBV 感染(occult HBV infection,OBI)^[7-8]。本研究低于定量检测下限(20 IU/mL)的 6 例患者疑似为 OBI,1 例患者(5 号病例)为疑似窗口期感染,但并未进一步追踪并确认。

手术因有创操作等可能增加患者院内感染 HBV、HCV、HIV 的风险,临床通常要求手术或输血患者输血前检测乙肝五项、抗 HCV、HIV 抗原抗体以避免不必要的医疗纠纷,评估对患者实施创伤操作医务人员感染的风险。医务工作者发生职业暴露后可根据暴露源病毒核酸检测结果评估风险,为紧急药物处理等提供更准确而及时快速的支持。研究表明我国 1~59 岁普通人群 HBsAg 阳性率为 7.18%^[9]。血液透析人群由于经常暴露在血液环境、频繁穿刺、共用透析设备及免疫力降低等原因,成为 HBV 感染的高危人群,我国血液透析人群 HBsAg 阳性率为 11.9%,远高于普通人群^[10-11]。HBV、HCV、HIV 病原体核酸检测的高灵敏度和避开窗口期为透析患者的分区隔离管理提供了有力保障。1996—2016 年国内有关 HCV 感染暴发事件的文献报道因血液透析发生 HCV 感染暴发事件 10 起,不安全注射导致 HCV 感染暴发事件 3 起,输血或单采血浆导致 HCV 感染暴发事件 4 起^[12]。抗 HCV 检测是目前国内筛查 HCV 感染的主要方法,在临床工作中,通常对抗 HCV 筛查阳性者才进行 HCV RNA 检测,很大程度上可能漏检了一部分处于血清转换期的 HCV 感染者,而给其他透析患者带来了很大的风险^[13-14]。HBV、HCV、HIV 病原体核酸检测可缩短窗口期,减少此类不良事件的发生。

临床医生可根据实际需求选择各有优缺点的血清学和核酸检测筛查血液传染病,实现优势互补,还原患者病原体感染的真实状况,有助于疾病诊断、病情监测、疗效评价、判断预后,有利于评估有创操作职业暴露的风险。

参考文献

- [1] 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查中的应用[J].中国输血杂志,2010,23(6):413-417.
- [2] 伍晓菲,刘晓颖,张博,等. HBsAg 阴性、HBV DNA 阳性献血者病毒感染特征研究[J].临床输血与检验,2014,16(3):232-236.
- [3] 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):1513-1516,1519.
- [4] 陈长荣,林永财,陈清瑞,等.无偿献血者中隐匿性乙型肝炎病毒感染及表面抗原突变分析[J].病毒学报,2009,25(3):178-184.
- [5] 周怡,史恩溢,曹谊,等. HBsAg 阴性献血者隐匿性 HBV 感染的血清学特征及其与病毒载量的关系[J].临床输血与检验,2017,19(6):570-573.
- [6] 李仲平,王误,郑优荣,等.广州地区 HBsAg 阴性无偿献血血液输血传播 HBV 残余风险评估[J].广东医学,2014,35(3):442-445.
- [7] ALLAIN J P, CANDOTTI D, ISBT HBV Safety Collaborative Group. Hepatitis B virus in transfusion medicine: still a problem[J]. Biologicals, 2012, 40(3):180-186.
- [8] SAMAL J, KANDPAL M, VIVEKANANDAN P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection[J]. Clin Microbiol Rev, 2012, 25(1):142.
- [9] 中华医学会感染病学分会. 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J]. 肝脏, 2019, 24(12):1335-1356.
- [10] WANG C Y, SUN J H, ZHU B, et al. Hepatitis B virus infection and related factors in hemodialysis patients in China: systematic review and meta-analysis[J]. Ren Fail, 2010, 32(10):1255-1264.
- [11] 王童,成军. 慢性 HBV 感染者 HBsAg 低水平表达形成机制的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(10):768-772.
- [12] 李新芳,张晓飞,陈燕明,等. 从我国 HCV 感染暴发事件探讨 HCV 经血传播感染的风险[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(10):969-970.
- [13] 赵小英. 维持血液透析患者丙型肝炎抗-HCV ELISA 检测灰区标本确认的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(10):1392-1393.
- [14] 秦伟斐,毕蕾静,李维,等. 重庆市无偿献血者血液核酸筛查效果分析[J]. 重庆医学, 2019, 48(17):2992-2995.

(收稿日期:2020-08-28 修回日期:2021-01-30)