

• 检验技术与方法 •

核酸检测技术在无锡地区无偿献血者检测中的初步应用

许友山, 高 犁, 胡 越, 钱惠忠, 夏 卫
(无锡市红十字中心血站检验科, 江苏无锡 214021)

摘 要:目的 了解该地区无偿献血输血残留风险, 以及罗氏诊断公司第一代与第二代核酸联合检测试剂的简单比对。方法 选择 2013 年 5~7 月经该站常规检测合格血液(血清学酶免检测结果均阴性)的标本采用罗氏诊断公司第一代和第二代核酸联合检测试剂在罗氏 COBAS s 201 操作系统进行 6 标本混样试验, 如试验有反应性, 则进行核酸鉴别试验和其他补充血清学检测。结果 该次研究共检测标本 9 417 份, 筛查出 8 例核酸阳性, 阳性率为 0.85%, 经过核酸鉴别试剂检测, 其中有 4 例标本确认为 HBV 核酸阳性, 1 例为 HCV 核酸阳性, 其余 3 例为 HBV 阳性不确定。另外, 如果以第一代试剂(参比试剂)为相对标准, 第二代试剂(考核试剂)总的阳性符合率为 66.67%, 阴性符合率为 99.98%, 总符合率为 99.96%。另外, 试验未发现 HIV 核酸阳性标本。结论 核酸检测技术能有效缩短“窗口期”, 能进一步提高输血安全性, 同时罗氏公司第一代核酸联合检测试剂与第二代试剂总体符合情况良好, 但在检测 HBV 上有较小差异。

关键词:无偿献血者; 核酸检测; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)15-2067-02

Preliminary application of nucleic acid detection technique in detection of unpaid blood donors in Wuxi region

Xu Youshan, Gao Li, Hu Yue, Qian Huizhong, Xia Wei

(Department of Laboratory, Red Cross Blood Center, Wuxi, Jiangsu 214021, China)

Abstract: **Objective** To understand the residual risk of transfusion blood donation in the native region and to conduct the simple comparison of Roche diagnostic company's first generation and second generation nucleic acid combined detection reagents. **Methods** The menstrual blood specimens qualified by the routine test in this center (serology test and enzyme immunodetection assay results were negative) from May to July 2013 were selected and performed the 6-specimen mixed sample test by adopting the Roche Diagnostics company's first-generation and second-generation nucleic acid combined detection reagents in the United Roche COBAS s 201 operating system, if the test had the reactivity, the nucleic acid identification tests and other complementary serological testing were performed. **Results** 9 417 specimens were detected, 8 cases of nucleic acid positive were screened out with the positive rate of 0.85%, through the detection of nucleic acid identification reagents, 4 specimens were confirmed as positive for HBV nucleic acid, 1 case was positive for HCV nucleic acids and the rest 3 cases of uncertain HBV-positive. In addition, with the first generation reagent (reference reagents) as the relative standard, the second generation reagents (assessment reagent) had the overall positive coincidence rate of 66.67%, the negative coincidence rate of 99.98% and the total coincidence rate of 99.96%. In addition, no HIV nucleic acid positive specimens was found by the nucleic acid test. **Conclusion** The nucleic acid detection technique can effectively shorten "window period", further improve the safety of blood transfusions, at the same time the overall conformance situation of the Roche's first-generation nucleic acid combined detection reagents and the second generation combined detection reagents is good, but there are still lesser differences in the detection of HBV.

Key words: unpaid blood donors; nucleic acid detection; enzyme-linked immunosorbent assay

输血相关传染病的预防和控制已经成为全社会关注的焦点, 新的检测技术的引进是进一步提高血液安全性的重要方法^[1], 而核酸检测技术(NAT)是一项与传统的酶联免疫吸附试验方法原理完全不同的血液筛查技术, 笔者现将本站自 2013 年 5~7 月使用罗氏公司 COBAS s 201 系统对 9 417 份血液常规检测都合格的无偿献血者标本进行核酸检测的结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选择 2013 年 5~7 月于本站采集且经过血液常规检测都合格的血液标本 9 417 份作为研究对象。核酸标本和血清学标本的采集、保存和离心都严格按照《血站技术操作规程》(2012 版)进行。

1.2 仪器与试剂 STAR 全自动加样仪(瑞士 Hamilton 公司); 全自动酶免分析仪 F. A. M. E. (瑞士 Hamilton 公司);

COBAS s 201 全自动核酸检测系统(美国罗氏诊断公司); 核酸联合检测试剂[(cobas TaqScreen MPX Test, 批号: R01528, R01527)、(cobas TaqScreen MPX Test v2.0, 批号: 114278, 国内尚未注册)]; 全自动荧光 HIV-1 定量检测试剂盒(COBAS AmpliPrep/ COBAS TaqMan HIV-1 test, 批号: R12428); 全自动荧光 HCV 定量检测试剂盒(COBAS AmpliPrep/ COBAS TaqMan HCV test, 批号: 101166); 罗氏 ECL 电化学发光血清学检测试剂: HBsAg (批号: 17075505), Anti-HBs (批号: 17116503), HBeAg (批号: 17108002), Anti-HBe (批号: 17120001), Anti-HBc-IgM (批号: 17197301), 所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 核酸检测 常规各项检测都合格的标本在罗氏 COBAS s 201 操作系统分别采用罗氏 MPX、MPXv2.0 试剂进行

6 样本混样检测,如混样管呈反应性则进行样本拆分试验,拆分试验阳性的标本在 COBAS/CAD/CTM 平台进行 HBV、HCV、HIV 病毒定量测试。

1.3.2 电化学发光检测 对 HBV-DNA 阳性的标本,采用电化学发光法测定 HBsAg、Anti-HBs、HBeAg、Anti-HBe、Anti-HBe-IgM 5 项指标。

2 结 果

2.1 NAT 阳性结果 罗氏公司 MPX v1、MPX v2 试剂共检测出 8 例核酸阳性,试验 Ct 值及定量情况见表 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.2 血清学结果 HBV-DNA 核酸呈阳性的 7 例标本进行电化学法发光补充试验结果见表 2,其中 3 例标本编码为 9001913321428、9001913317903、9001913323745 因样本量不足未做该试验。

表 2 核酸呈阳性反应的标本进行电化学发光检测汇总情况

标本编码	Roche ECL 电化学发光方法(COD)				
	HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBe-IgM
9001913314771	—	—	—	+	+
9001913315542	—	—	—	+	+
9001913320065	—	—	—	+	+
9001913318706	—	—	—	+	+

2.3 两代试剂比对情况 在现有样本量的检测中,罗氏第一代、第二代试剂在不考虑具体哪个项目(HIV、HBV、HCV)为阳性的前提下,MPX v2 与 MPX v1 检测结果见表 3。相对阳性符合率为 66.67%(4/6),相对阴性符合率为 99.98%(9 409/9 411),相对总符合率为 99.96%[(9 409+4)/9 417]。

表 3 MPX v2 与 MPX v1 检测结果(n)

MPX v2(考核试剂)	MPX v1(参比试剂)		合计
	阳性	阴性	
阳性	4	2	6
阴性	2	9 409	9 411
合计	6	9 411	9 417

2.4 核酸检测阳性标本跟踪随访结果 8 例核酸阳性标本成功随访,发现 HCV“窗口期”1 例,4 例 HBV 为隐匿性感染(OBI),另 3 例 HBV-DNA 阳性仍未定量出病毒载量。

3 讨 论

输血传播疾病是输血重要风险之一,在我国目前最主要的就是输血传播 HIV、HBV 和 HCV。尽管当前输血残留风险已经很低^[2-3],但仍有资料表明显示,90%以上 HBV 和 HIV 及 75%以上 HCV 的输血传播风险是来自“窗口期”病毒感染^[4-6],所以为了进一步提高血液安全,本站自 2013 年 5~7 月试采用罗氏诊断公司的 COBAS s 201 操作系统对常规血清学检测合格 9417 份的血液进行 HBV、HCV 和 HIV 核酸检测,两代试剂共检出 8 例核酸阳性标本,经过核酸鉴别试剂检测,其中有 4 例标本经确认为 HBV 核酸阳性,1 例为 HCV 核酸阳性,3 例为 HBV 阳性不确定。经跟踪试验证实,1 例 HCV 为“窗口期”感染,而 HBV 大都为 OBI,同时经补充试验也发现,这些 HBV-DNA 阳性的血清的抗-HBe 和抗 HBc 抗体也呈阳性反应,这点值得关注。另外,大量研究也表明,OBI 通过输血

传播病毒的风险不容忽视,输血安全仍不能轻视^[7-9]。

同时本次研究是采用罗氏诊断公司第一代与第二代核酸联合检测试剂同时平行检测,从表 3 也可以看出,以一代为相对标准,二代试剂总的阳性符合率为 66.67%,阴性符合率为 99.98%,总符合率为 99.96%。通过计算也得到,二代试剂总的检测灵敏度为 80.00%,特异性为 99.98%,总符合率为 99.97%,但由于研究样本量有限,所以,本次统计结果的可靠性仍值得商榷,而第二代试剂在 HBV 项目上与第一代有所差异,这可能与厂家在引物片段或灵敏度上有所不同有关。总体来说,罗氏“HBV、HCV、HIV(1+2 型)核酸联合检测试剂(PCR-荧光法)(cobas TaqScreen MPX Test,v2.0)”敏感性高、特异性好、可靠性强,且以 6 个样本混合为一组,并能直接分辨出病毒类型,可以有效地为输血安全性增加一层保障。

总之,通过 NAT 检测,本地区核酸阳性率为 0.85%,这与有些地区结果比较接近^[10-12],输血仍残余较低的风险。而 NAT 技术是直接检测病原体核酸的一种新技术,敏感性高,不受个体免疫反应差异的影响,可检出标本中极微量的核酸,可大大缩短“窗口期”^[13-14],因此,NAT 的引入可使目前输血传播疾病的危险性降到最低,值得应用和推广。

参考文献

[1] 容莹,郑欣,叶贤林,等.无偿献血者乙型肝炎病毒 PRE-S/S 区变异的研究[J].中国输血杂志,2011,24(7):565-570.

[2] 谢云峥,陈凌燕,蔡茵,等.核酸检测技术在上海地区血液筛查的初步应用[J].中国输血杂志,2011,24(9):764-766.

[3] 李新建.病毒核酸检测在献血者保留中的应用[J].国际检验医学杂志,2013,34(10):1230-1231.

[4] 何亚琴,张建伟,杨爱华,等.核酸检测技术在常州地区献血筛查中的应用[J].中国输血杂志,2011,24(17):560-562.

[5] 王东,于原,臧亮.单人份核酸检测在血液乙型肝炎病毒筛查中的应用[J].国际检验医学杂志,2012,33(7):780-781.

[6] 欧阳玲,华建国,谢秀华,等.核酸检测技术在深圳地区献血者血液病毒筛查中的应用[J].国际检验医学杂志,2010,31(7):764-765.

[7] 桑列勇,傅立强,方放,等.绍兴市无偿献血者中隐匿性 HBV 感染的基因性别及突变类型分析[J].中华实验和临床病毒学杂志,2011,25(6):470-473.

[8] 陈长荣,袁权,葛胜详,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.

[9] 邹峥嵘,谢云峥,任晓菲,等.上海地区无偿献血者乙型肝炎病毒隐匿性感染情况和突变分析[J].中国输血杂志,2013,26(8):701-703.

[10] 李建华,王倩,肖鲲,等.核酸检测技术在洛阳市血液筛查的初步应用与研究[J].中国输血杂志,2013,26(7):628-629.

[11] 朱永宝,张妍,李英莲,等.2010-2012 年济南地区无偿献血者核酸检测结果分析[J].中国输血杂志,2013,26(8):722-724.

[12] 夏云峰.张家港地区献血者血液核酸检测结果分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(16):2174-2175.

[13] Phikulsod S,Oota S,Tirawatnapong T,et al. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations[J]. Transfusion, 2009, 49(6):1126-1135.

[14] 车嘉琳,黄志森,王德文,等. COBAS S201 核酸检测系统在献血者血液筛查中的应用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2010, 24(4):311-313.