

• 论 著 •

不同群体无偿献血者核酸检测的结果分析及应用

李俊英,葛文超,王艺芳,方建华[△]

(河南省红十字血液中心检验科,郑州 450053)

摘要:目的 通过对献血者血液标本核酸检测(NAT)的结果分析,评价不同献血者的血液安全性及核酸检测的必要性,同时针对献血者性别、年龄和职业差异的特点,完善无偿献血宣传和人群筛选策略,保证血液安全。方法 对郑州地区 2012 年 9 月至 2014 年 8 月 259 329 例无偿献血者 NAT 结果进行分析,并对阳性献血者依据不同性别、年龄及职业进行回顾性统计。结果 在 259 329 例经酶联免疫吸附试验(ELISA)阴性的献血者中检出 144 例核酸阳性标本,核酸阳性率为 0.056%。不同性别、年龄和职业的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其中,男性献血者核酸阳性率(0.075%)比女性献血者(0.023%)明显偏高($P < 0.01$);核酸阳性率以 36~45 岁最高(0.088%),18~25 岁最低(0.022%);不同职业人群中以农民的核酸阳性率(0.095%)较高,公务员(0)、医务工作者(0)、学生的核酸阳性率(0.018%)较低。结论 实施 NAT 能更好地保证血液的安全性;学生、公务员及女性血液 NAT 阳性率较低,应为血站重点招募人群。

关键词:核酸检测; 献血者; 核酸阳性率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.24.014

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)24-3421-03

Analysis and application of nucleic acid testing results among different groups of blood donors

LI Junying, GE Wenchao, WANG Yifang, FANG Jianhua[△]

(Department of Clinical Laboratory, Henan Provincial Red Cross Blood Center, Zhengzhou, Henan 450053, China)

Abstract: **Objective** To analyze the results of nucleic acid testing(NAT) and to evaluate the blood safety of different blood donors and necessity of NAT, meanwhile to perfect the voluntary blood donation propaganda and population screening strategy for ensuring the blood safety. **Methods** The results of NAT in 259 329 voluntary blood donors in Zhengzhou area from September 2012 to August 2014 were analyzed. Then the positive blood donors were retrospectively analyzed according to different genders, ages and occupations. **Results** Among 259 329 negative blood donors detected by ELISA, 144 cases of NAT positive samples were detected, the nucleic acid positive rate was 0.056%. The different genders, ages and occupations had statistically significant difference in the NAT results. Among them, male donors had a significantly higher NAT positive rate than female(0.075% vs. 0.023%, $P < 0.01$). The NAT positive rate was highest in the age group of 36—45 years old(0.088%) and lowest in the age group of 18—25 years old(0.022%); in different occupational groups, the NAT positive rate in the farmers group was higher(0.095%), but which in civil servants, medical workers and students group(0, 0, 0.018%). **Conclusion** The NAT implementation can better ensure the blood safety, students, civil servants and the females should serve as the focus recruited populations due to lower NAT positive rate.

Key words: nucleic acid testing; blood donors; NAT positive rate

输血在临床救治中发挥着不可替代的作用,但输血亦存在风险^[1],尤其是可导致乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)的传播。目前,核酸检测(NAT)技术是最先进、最精确的疾病检测手段。人体感染了病毒,体内就会不断复制并产生大量病毒,这一过程要先于体内对病毒的识别和产生免疫反应^[2]。此外,NAT 还可以检出因病毒变异、免疫静默感染而漏检的血液,因此,开展 NAT 是保障血液安全的重要手段。目前,欧美、日本等发达国家的采供血机构已经全面使用 NAT 技术结合 1 遍血清学方法进行血液筛查^[3]。我国自 2010 年 6 月在全国 15 家采供血机构开展第 1 批 NAT 试点工作以来,成效显著。为了解郑州地区不同性别、年龄、职业的献血者 NAT 阳性率的流行特点,对 2012~2014 年本中心无偿献血者 NAT 结果进行回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 9 月至 2014 年 8 月郑州市无偿献血者经酶联免疫吸附试验(ELISA)检测为阴性的标本

259 329 例。

1.2 仪器与试剂 全自动 Hamilton STAR 加样仪;全自动 Hamilton Microlab FAME 酶免分析仪;两套核酸检测系统:Roche Cobas s 201 血液核酸筛查系统(包括 Hamilton STAR 全自动混样仪、Cobas Ampliprep 核酸提取仪和 Taqman Analyzer 核酸扩增检测仪)及上海科华血液核酸筛查系统(包括 Hamilton STAR 全自动混样、提取仪及 ABI 7500 实时荧光扩增仪)。酶免试剂:乙肝表面抗原(HBsAg)(北京万泰和珠海丽珠),丙肝抗体(抗-HCV)(北京万泰和上海科华);艾滋抗原抗体(HIV Ag/Ab)(北京万泰和法国 BIO-RAD 公司);NAT 试剂:Cobas TaqScreen MPX 1.0 test NAT 试剂盒(批号 R01528, R07643, S00983);科华 HBV、HCV、人类免疫缺陷病毒-1 型(HIV-1) NAT 试剂盒(批号 20111110、20130610、20131020)。以上试剂均批检合格,且在有效期内使用。

1.3 检测方法 当日采用两种不同厂家的 ELISA 试剂对献血者的标本进行常规检测,次日从核酸组挑除 ELISA 反应性标本,ELISA 阴性标本随机采用一种核酸筛查系统进行检测。

NAT 混检有反应性、拆分亦有反应性的标本判为阳性。

1.4 质量控制 通过阴性质控品和阳性质控品来控制试剂盒的质量和检测的有效性,标本的采集、运输到检测均严格按照 SOP 进行操作,核酸实验人员均参加过国家卫生和计划生育委员会临检中心举办的 NAT 培训班且考核成绩合格。此外本实验室每年定期参加省卫生和计划生育委员会临检中心和中国国际输血感染预防和控制(CITIC)举办的血站核酸扩增检测项目的室间质评,成绩均合格。

1.5 核酸阳性献血者的分组比较 本血液中心核酸阳性献血者以性别、年龄、职业进行统计分析。

1.6 统计学处理 应用 SPSS21.0 统计学软件处理数据,组间率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 核酸阳性率情况 2012 年 9 月至 2014 年 8 月本中心共进行 NAT 标本 259 329 例,检出核酸阳性标本 144 例,阳性率为 0.56‰。

2.2 不同性别、年龄及职业人群 NAT 阳性率的比较 见表 1~3。男性献血者核酸阳性率高于女性,36~45 岁核酸阳性率最高,农民的核酸阳性率较其他职业人群偏高。

表 1 不同性别 NAT 阳性率的比较

性别	<i>n</i>	NAT 阳性(<i>n</i>)	NAT 阳性率(%)
男	161 136	121	0.075
女	98 193	23	0.023
合计	259 329	144	0.056

注:不同性别 NAT 阳性率的比较, $\chi^2=29.35,P<0.01$ 。

表 2 不同年龄组 NAT 阳性率的比较

年龄(岁)	<i>n</i>	NAT 阳性(<i>n</i>)	NAT 阳性率(%)
18~<25	66 679	15	0.022
25~<35	68 986	25	0.036
35~<45	74 622	66	0.088
≥45	49 042	38	0.077
合计	259 329	144	0.056

注:不同年龄组 NAT 阳性率的比较, $\chi^2=36.57,P<0.01$ 。

表 3 不同职业 NAT 阳性率的比较(%)

职业	<i>n</i>	NAT 阳性(<i>n</i>)	NAT 阳性率(%)
农民	36 953	35	0.095
服务人员	2 639	2	0.076
技术人员	9 785	7	0.070
其他	84 554	57	0.067
工人	23 723	14	0.059
职员	23 414	10	0.043
自由职业	37 087	14	0.038
学生	28 197	5	0.018
公务员	8 571	0	0
医务工作者	4 406	0	0
合计	259 329	144	0.056

注:因公务员、医务工作者 NAT 阳性数均为 0,采用 Fisher 确切概率法,不同职业人群 NAT 阳性率的比较, $\chi^2=32.15,P<0.01$ 。

3 讨 论

输血相关病毒性传染病不仅成为输血界的重要议题,而且

成为整个卫生界甚至全社会的焦点^[4]。目前,国内采供血机构普遍采用两遍 ELISA 检测,由于该试剂和方法上的局限性,存在一定的漏检,给临床用血安全造成了隐患。近年来,我国越来越多的采供血机构开展了灵敏度、特异度较高的 NAT 技术,更好地保障了临床用血安全。

从本研究的结果来看,本中心在 259 329 例 ELISA 阴性标本中共检出 144 例 NAT 阳性标本,阳性率为 0.056%。根据其乙肝五项及对献血者追踪的结果可知,大多数为原发性隐匿性乙型肝炎病毒感染(OBI)病例^[5],而输注含有 OBI 血液的受血者则有可能导致感染 HBV 的风险^[6]。144 例 NAT 阳性标本中,有 1 例为 HIV RNA 阳性,1 例 HCV RNA 阳性,初步推测本地区的 HIV RNA 和 HCV RNA 阳性率约为 1/25.9 万,低于深圳市 HCV RNA 阳性率(1/13.1 万)、辽宁省血液中心 HIV RNA 阳性率(1/17.7 万)^[7],以及任芙蓉等^[2]报道的合格血液中 HCV 的漏检率 1/4.4 万。各地阳性率的差异,可能与 ELISA 筛查试剂、NAT 试剂、本地区的疾病流行水平,以及研究样本量的大小有关,尤其是研究样本量的大小,在低阳性率时样本量对阳性率的影响更加明显^[8]。尽管以上研究报道的 NAT 阳性率不尽相同,但是均说明无偿献血者中存在 ELISA 的漏检,NAT 是一种强有力的筛查补充。

将 259 329 例 ELISA 阴性但 NAT 阳性的献血者按性别、年龄及职业分别分组进行比较,发现 3 种分类方法的组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。从表 3 可以发现:(1)郑州地区男性献血者 NAT 阳性率远高于女性。估计与男性的生活不规律、饮酒较多、身体状况很多处于亚健康,更易受到病毒的感染有关。(2)从不同年龄组间 NAT 阳性率差异来看,36~<45 岁年龄组献血者的 NAT 阳性率最高,其次为≥45 岁的年龄组。估计该两组年龄段的人群出生在中国六七十年代的生育高峰期,当时国家未实施新生儿乙型肝炎疫苗接种,医疗卫生条件和防范意识差,导致该年龄段 NAT 阳性率较高。而 35~<45 岁年龄组的人群,他们社会活动多,应酬多,接触传染源的机会也多,所以也更容易感染,阳性率最高。而 18~<25 岁年龄组的人群,可能与我国从 1992 年开始实施 HBV 计划免疫有关,HBV 婴幼儿免疫大大降低了低年龄组人群中的 HBV 流行率,并且其中有很大一部分是在校学生,生活单纯,接触病原感染的机会较少,所以该年龄段的人群 NAT 阳性率最低。(3)从不同职业分布来看,农民的 NAT 阳性率最高,估计由于他们平时生活条件较差,工作压力较大,对卫生意识和健康不够重视,其次为技术人员和其他。其中其他(不明职业)献血者在无偿献血中发挥主力军的作用,是献血比例最高的人群,因为由于社会分工越来越细,有些职业范畴难以确定,再者他们可能由于某些原因不愿透露自己的职业。本研究显示公务员、医务工作者的 NAT 阳性率为 0,估计该群体平时注重自己的身体,经常体检,合格率较高,同时也可能因该群体献血人数太少有关。除了公务员、医务工作者,学生的 NAT 阳性率最低(0.018%),可能学生因生活单纯,注射过乙型肝炎疫苗,因此阳性率较低,因此这部分人群可以作为重点目标人群进行献血招募。针对以上情况分析,本中心已定期与郑州市区的高校和机关事业单位联系,献血车进校园、进机关、进医院、进企事业单位为他们提供更方便的献血服务,进一步扩大该团体的招募献血,目前该部分人群比例正在不断提高;同时加强工作人员培训,强化征询技巧与策略,从低危人群(下转第 3425 页)

也均为阳性,而 1 株 IMP 型的厄他培南、亚胺培南和美洛培南的敏感率均为 100%,且 ESBL 为阴性,这 5 株菌对其他常用抗菌药物均高度耐药,由资料可推测,产 KPC 酶可能是本院的肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药的主要机制,文献报道 KPC-2 型的肺炎克雷伯菌在我国广泛存在,但产金属酶的报导相对较少^[3-4]。而本研究所检测到的 5 株耐碳青霉烯类的肺炎克雷伯菌中,KPC-2 型的有 4 株,占 80%,IMP-4 型的有 1 株,仅占 20%,这一结果也与该报导相一致。由于本研究先用改良 Hodge 试验筛选出产碳青霉烯酶的耐药株,而改良 Hodge 试验是美国临床实验室标准化委员会(CLSI)推荐的碳青霉烯酶表型检测方法,有研究结果显示,改良 Hodge 试验检测碳青霉烯酶的敏感度为 100%,特异度为 79%,阳性预测值为 70%,阴性预测值为 100%,准确率为 86%^[5]。另外,也有研究表明,改良 Hodge 试验常用来证实是否产 KPC,其灵敏度和特异度均为 100%^[6]。对于本研究的 151 株肺炎克雷伯菌中,改良 Hodge 试验阳性菌有 12 株,但最终经 PCR 确证为产碳青霉烯酶的菌株只有 5 株,并且其中 1 株经双纸片协同试验和组合纸片法筛选金属酶时,两个试验同时为阳性且为 IMP-4 型,其他菌株以上 3 个试验均为阴性。由以上数据可推测改良 Hodge 试验筛选产碳青霉烯酶的耐药株存在一定的假阳性,又或者由于碳青霉烯酶种类很多^[3],PCR 扩增是未能完全涵盖,未能完全排除其他未检测到的碳青霉烯酶引起耐药机制存在。另外,当酶的量极少时也可以造成结果的假阴性,易造成漏检。

对产碳青霉烯酶菌株引起的感染治疗起来比较困难,需要根据药敏结果综合分析选用适合的抗菌药物。部分病例需使用多黏菌素,产酶株体外即使对碳青霉烯类抗菌药物敏感,也不宜应用碳青霉烯类抗菌药物^[7]。还要提高耐药株的检出率,加强实验室的管理。另外,还要避免院内感染的暴发流行。在

防止细菌流行的同时,还必须高度重视质粒的流行,警惕耐药基因在不同属、种细菌之间或是同一菌种的不同生物型、血清型之间传播。

参考文献

- [1] 洪秀华,刘运德.临床微生物学检验[M].2 版.北京:中国医药科技出版社,2010:318-320.
- [2] 苏丹虹,沈苹,杜小幸,等.肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌产 KPC 酶的检测研究[J].中国抗生素杂志,2009,11(34):684-687.
- [3] Poirel L, Walsh TR, Cu villier V, et al. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 70(1):119-123.
- [4] 黄支密,糜家睿,盛以泉,等.携带 blaKPC2 型碳青霉烯酶基因泛耐药肺炎克雷伯菌院内感染暴发的病原学分析[J].中华流行病学杂志,2010,31(5):559-562.
- [5] 杨启文,郑瑞,王辉,等.改良 Hodge 试验检测肠杆菌科细菌碳青霉烯酶的性能评估[J].中华检验医学杂志,2010,33(12):1122-1127.
- [6] Anderson KF, Lons way DR, Rasheed JK, et al. Evaluation of methods to identify the Klebsiella pneumoniae carbapenemase in Enterobacteriaceae[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(8):2723-2725.
- [7] 俞云松.细菌 β -内酰胺酶检测的临床意义[J].中华结核和呼吸杂志,2008,31(6):475-477.

(收稿日期:2016-09-11 修回日期:2016-10-29)

(上接第 3422 页)

中招募献血志愿者。

为消除不同检测试剂对不同人群 NAT 阳性率差异的影响,作者针对两种 NAT 试剂各自筛查出的 NAT 阳性献血者,依照不同性别、年龄、职业做了单独分析比较,发现罗氏试剂的结果分析与表 3 结果一致;科华试剂在献血者不同性别、年龄组的差异,与整体联合分析的结果一致,均为男性献血者 NAT 阳性率高于女性;36~45 岁献血者的 NAT 阳性率最高,18~<25 岁献血者的 NAT 阳性率最低,但在职业分布上,以技术人员阳性率最高,其次为农民,估计与科华试剂检出的阳性标本数较少,而职业分类较多,受检测样本量的影响较大有关。

综上所述,通过对献血者的标本实施 NAT,能使输血感染相关病毒的风险降到最低,极大程度地保障血液安全;另外从以上数据的统计分析可以看出:郑州地区献血者人群的人口学特征是,45 岁以下占主体、男性为主、其他职业人群为主,女性、18~<25 岁及公务员、医务工作者、学生的 NAT 阳性率较低,这为有针对地动员更多女性和年轻的献血者参加献血,及时调整招募策略,以及采取措施鼓励更多献血者重复献血,提供了一定的参考数据。

参考文献

- [1] Sachs UJ. Recent insights into the mechanism of transfusion-related acute lung injury[J]. Curr Opin Hematol,

2011,18(6):436-442.

- [2] 任芙蓉,王憬惺,赵海燕,等.我国 5 城市合格献血者血液 HIV 及 HCV 残余风险研究[J].中国输血杂志,2007,20(6):469-475.
- [3] 张龙穆,冯秋霞.杨忠思,等.核酸检测对 HIV 筛查的影响[J].临床输血与检验,2015,17(3):249-251.
- [4] 冯秋霞,侯云,刘丽,等.1 遍 ELISA+1 遍 NAT 血液筛查模式的应用研究[J].中国输血杂志,2014,27(9):920-922.
- [5] 涂东晋,赵亮,林授,等.福州地区献血者人群隐匿性乙型肝炎病毒感染及其基因型与 S 区突变的研究[J].中国输血杂志,2015,28(5):523-527.
- [6] Satake M, Taira R, Yugi H, et al. Infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in a lookback program[J]. Transfusion, 2007, 47(7):1197-1205.
- [7] 王芳,栾燕,刘显智.核酸检测技术(NAT)在献血者人类免疫缺陷病毒筛查中的应用[J].中国输血杂志,2010,23(10):892-894.
- [8] 李俊英,王艺芳,葛文超,等.2 种核酸筛查系统应用于病毒核酸检测的比较[J].中国输血杂志,2015,28(6):720-723.

(收稿日期:2016-09-01 修回日期:2016-10-20)