

• 临床研究 •

2013—2015 年某地区献血者 HBsAg 漏检情况及 HBV 基因测序分析*

吕岳峰¹, 朱志斌², 黄升中², 高 兰², 唐 瑶³, 谭梅娟¹, 杨丽华¹

(1. 湖南省脑科医院, 长沙 410007; 2. 常德市中心血站, 湖南 4150003;

3. 湖南圣湘生物科技有限公司, 长沙 410013)

摘要:目的 研究分析献血者乙肝表面抗原(HBsAg)酶联免疫吸附测定(ELISA)筛查阴性血液中乙型肝炎病毒(HBV) DNA 检出情况及 HBV DNA 阳性者基因序列, 分析漏检与基因突变之间的关系, 寻找漏检原因。方法 对 31 184 例 HBV HBsAg ELISA 检测为阴性的献血者血液进行 HBV DNA 基因扩增技术检测, 对 HBV DNA 阳性样本进行测序分析。结果 31 184 份标本中, 检测到 HBV DNA 82 例阳性, 阳性率为 0.26%(82/31 184), 对其使用测序方法检测, 确认 82 例样本均存在 HBV DNA 片段, 其中有 27 份[32.9%(27/82)]存在 HBV DNA S 区基因变异。结论 ELISA 漏检的原因除去方法学灵敏度以及 HBV 感染“窗口期”等因素外, HBV S 区基因变异引起免疫学检测靶标变化也是主要的原因。

关键词:乙型肝炎病毒; 乙肝表面抗原; 漏检; 基因变异; 输血感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)06-0815-02

血液安全是血站质量的不变主题。乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)是输血传播疾病的主要病原体, 为防止因输血引起的 HIV、HBV 及 HCV 感染, 血站实验室质量管理不断加强, 仪器设备投入持续增加, 血液检测水平有很大提高。但是, 传统的酶联免疫吸附测定(ELISA)技术仍存在“窗口期”长、病毒变异与静默感染漏检^[1]的问题, 影响血液安全。我国是肝病大国, HBV 有将近 1 亿的感染者, 预防输血所引起的 HBV 感染及分析查找其漏检原因尤为重要。本研究对献血者 HBsAg ELISA 筛查阴性的血液以核酸扩增技术进行检测后对其中 HBV DNA 阳性者进行了基因序列测定, 旨在了解 ELISA 筛查的漏检情况及分析漏检与基因突变之间的关系, 研究漏检原因。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本次研究共收集 2013 年 11 月至 2015 年 10 月湖南省常德市中心血站检测的 HBsAg 阴性献血者血液标本 31 184 份。献血者年龄 18~60 岁, 其中男性 19 147 名, 占 61.4%, 女性 12 037 名, 占 38.6%。

1.2 仪器与试剂 检测试剂: HBsAg ELISA 试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司及厦门英科新创公司产品; HBsAg 及 HBV DNA 质控品, 购自北京康彻思坦生物技术有限公司; Taq 酶购自大连宝生物工程有限公司; DNA 提取试剂购自北京金麦格生物公司; PCR 产物胶回收试剂盒为德国 QIA-GEN 公司产品; HBV 核酸检测试剂为罗氏公司产品。检测仪器: 瑞士 Sias 公司 Xantus150 型加样器, 瑞士 Hamilton 公司 FAME24/20 型全自动酶联免疫后处理系统后处理系统; Uranus AE 200 全自动酶免分析仪(深圳爱康生物科技有限公司); Roche cobas s 201 HBV/HCV/HIV 和 HIV-1/HCV 核酸检测系统(罗氏公司); Biomek NX96 通道核酸提取工作站(美国/Beckman Coulte); C1000TM Thermal Cycler 及 T100 TM Thermal Cycler(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 基因扩增检测 对 HBsAg ELISA 检测阴性的献血人群进行高敏 HBV DNA 基因扩增检测。

1.3.2 获得 HBV DNA 全长 S 区序列的检测数据 先以

HBsAg ELISA 检测试剂对血液标本进行初筛, 对 HBsAg 阳性者淘汰, 对 HBsAg 阴性者进行 HBV DNA 核酸扩增检测, 其中 HBV DNA 阳性的样本进行 HBV S 区基因测序, 分析其 S 区基因变异情况。

1.3.3 多态性位点及变异的定义 所有序列在某一位点若仅有 1 种野生型氨基酸, 则该位点被定义为保守位点; 若有 2 种以上可能的野生型氨基酸, 则被定义为多态性位点, 这种现象则被称为氨基酸多态性^[2]。例如, 位于 HBsAg 第 126 位的氨基酸在 HBV 基因 B 型野生株为 T, 而在基因 C 型为 I, 那 HBsAg 第 126 位氨基酸位点就被视为多态性位点。若在某位点上出现野生共有序列上未曾出现过的氨基酸, 则被定义为变异^[3]。

1.3.4 序列分析 对核苷酸序列和氨基酸序列采用 Bioedit5.0、DNASTar 软件及 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 中的生物信息学工具进行分析。

2 结果

HBsAg、HBV DNA、HBV DNA 突变的检测情况见表 1。

表 1 HBsAg、HBV DNA、HBV DNA 突变的检测情况

项目	阴性(n)	阳性(n)	阳性(突变)率(%)
HBsAg	31 184	0	—
HBV DNA	31 102	82	0.26
HBV DNA 突变	55	27(变异)	32.9

注: —表示该项无数据。

3 讨论

本次检测到 82 份 HBV-DNA 阳性标本, 阳性率达 0.26%(82/31 184), 明显高于其他省份 0.13%~0.17% 的报道^[4-5]。这种情况, 既与乙型肝炎患者分布情况有关, 也与使用的核酸检测试剂灵敏度不同有关。但它们均提示 ELISA 检测在血筛中存在较为严重的漏检情况, 再一次印证了核酸扩增检测技术在血液筛查中的必要性。对 HBV DNA 基因序列进行分析的 82 例标本中, 32.9%(27/82) 的标本 HBV DNA S 区存在变异, 说明 ELISA 检测漏检的原因除去方法学灵敏度以及 HBV

* 基金项目: 湖南省科技厅资助项目(2011sk3185)。

感染“窗口期”等问题外,HBV DNA S 区基因变异引起免疫学检测靶标变化,导致 ELISA 检测漏检也是主要的原因^[6],因为 HBV DNA S 区基因变异可引起免疫学检测靶标变化,导致 ELISA 漏检。

综上所述,与采用 ELISA 单独检测相比,加入核酸检测技术这种更先进更灵敏的检测技术,能避免 ELISA 筛查中因 HBV S 区基因变异引起免疫学检测靶标变化而导致的漏检,还可进一步缩短检测的“窗口期”,降低输血中乙型肝炎传播的风险^[7-8]。

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检中的应用[J].中国输血杂志,2010,23(6):413-416.

[2] Echevarría JM, Avellón A. Hepatitis B virus genetic diversity[J]. J Med Virol, 2006, 78(Suppl 1): S36-42.

[3] Borroto-Esoda K, Miller MD, Arterburn S. Pooled analy-

• 临床研究 •

sis of amino acid changes in the HBV polymerase in patients from four major adefovir dipivoxil clinical trials[J]. J Hepatol, 2007, 47(4): 492-498.

[4] 陈红,王亚彬,倪龙凤,等.核酸与 ELISA 检测联合应用于血液筛查的结果分析[J].中国输血杂志,2014,27(8): 847-848.

[5] 徐晶.核酸检测技术在南昌地区无偿献血血液筛查中的应用[J].实验与检验医学,2012,30(5):437-438.

[6] 卢姗姗,徐东平,李进,等.HBV 前 S/S 基因突变的研究进展[J].传染病信息,2016,29(2):112-116.

[7] 刘胡敏,陶传敏,高加良,等.ELISA 结合核酸检测技术对献血者作血液筛查结果分析[J].中国输血杂志,2012,26(5):456-458.

[8] 张妍,朱海峰,孙波,等.核酸检测技术在血液筛查中的应用及分析[J].中国输血杂志,2012,25(12):1298-1300.

(收稿日期:2016-10-23 修回日期:2017-01-22)

鼓浪屿综合疗养对高原脱适应官兵血液流变学参数的影响*

刘庆春,陈永安,陈谨猷,刘大鹏,周 敏,陈 明,韩峭青[△]
(南京军区鼓浪屿疗养院疗养一科,福建厦门 361002)

摘 要:目的 探讨短期鼓浪屿疗养休息对高原脱适应官兵血液流变学参数的影响。方法 高原脱适应官兵组分别于入院的第 2、11 天清晨空腹采血,检测全血高切相对指数、全血中切相对指数、全血低切相对指数、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞变形指数、血细胞比容,观察疗养前后血液流变学参数的变化。并设立了对照组。结果 高原脱适应官兵组疗养前及疗养后与平原对照组全血高切相对指数、全血中切相对指数、全血低切相对指数、血细胞比容比较,差异有统计学意义($P<0.05$);血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞变形指比较,差异无统计学意义($P>0.05$);高原脱适应官兵组经过 10 d 的疗养,血液流变学各项参数较疗养前下降,但差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 短期海滨疗养对高原脱适应官兵组血液流变学参数无明显影响。

关键词:疗养; 高原脱适应; 血液流变学
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.034 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2017)06-0816-03

了解移居高原人群返回平原后高原脱适应的病理、生理学变化规律,有利于移居高原者返回平原后更好地适应平原生活,对于防治高原脱适应证,提高高原移居人群的生活质量及生存率具有实际意义^[1]。如何促进脱适应官兵生理机能的恢复,备受大家关注^[2]。血液流变学主要反映由于血液成分变化而带来的血液流动性、凝滞性和血液黏度的变化,血液黏度主要由全血黏度、血浆黏度、红细胞的变形性和聚集性 4 个特性参数反映。本研究监测了高原脱适应官兵的血液流变学指标变化,旨在探讨鼓浪屿疗养休息对脱适应高原官兵健康转归的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 观察组:选择乘飞机来南京军区厦门鼓浪屿疗养院疗养的驻青藏高原某部官兵 76 名,驻守高原 5~10 年,年龄 25~42 岁,平均年龄(30.76±3.56)岁,驻地海拔 3 100~3 500 m,平均(3 326.32±134.03)m。对照组:选择驻厦门某部官兵 70 名,年龄 23~38 岁,平均年龄(29.37±3.81)岁。两组均为男性,两组间年龄、身高、体质量、军龄比较,差异均无统

计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器 检测仪器为全自动血液流变仪 FASCO-3020B。

1.3 方法 观察组:当天乘机到达厦门,入住鼓浪屿疗养院进行为期 14 d 的海滨疗养休息,分别于入住的第 2、11 天清晨(6:00—6:30),在空腹、静息状态下,采取前臂肘静脉血 5 mL,肝素钠抗凝。检查项目为全血高切相对指数、全血中切相对指数、全血低切相对指数、血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞变形指数、血细胞比容。对照组:于观察组入院的第 2 天同时检查,检查项目与观察组相同。全部实验室检测项目均由专人负责。受检人员均知情同意。

1.4 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,所有数据采用 SPSS19.0 软件包进行统计学处理,两组间比较采用独立样本 t 检验,自身前后比较采用配对 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

高原脱适应官兵组疗养前及疗养后血液流变学参数:全血高切相对指数、全血中切相对指数、全血低切相对指数、血细胞比容高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而血浆黏度、

* 基金项目:南京军区医学科技创新经费资助项目(10MA089)。
[△] 通信作者, E-mail: lqc1631@163.com。