

全自动核酸检测分析系统 在无偿献血者病毒检测中的应用

刘永霞, 刘欢, 刘燕, 赵妮

(延安大学附属医院 输血科, 陕西 延安, 716000)

摘要: **目的** 观察全自动核酸检测分析系统在无偿献血者血液乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)和人类免疫缺陷病毒(HIV)检测中的应用效果。**方法** 选取无偿献血者1 229例作为研究对象,每位献血者采集2管静脉血,1管用于酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,另1管用于核酸检测。**结果** 核酸检测、ELISA检测的HBV阳性率分别为2.03%、0.98%,差异有统计学意义($P < 0.05$);核酸检测、ELISA检测的HCV阳性率分别为1.22%、1.14%,差异无统计学意义($P > 0.05$);核酸检测、ELISA检测的HIV阳性率分别为0.24%、1.06%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 全自动核酸检测分析系统应用于无偿献血者血液HBV、HCV和HIV检测中具有较高的筛查准确率,与ELISA检测方法比较各具优势,2种方法联合应用可提高病毒检测的准确性。

关键词: 全自动核酸检测;无偿献血者;乙型肝炎病毒;丙型肝炎病毒;人类免疫缺陷病毒

中图分类号: R 446.6; R 512.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2020)23-113-03 **DOI:** 10.7619/jcmp.202023034

Role of automatic nucleic acid detection analysis system in detecting of virus in voluntary blood donors

LIU Yongxia, LIU Huan, LIU Yan, ZHAO Ni

(Department of Blood Transfusion, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an, Shaanxi, 716000)

Abstract: Objective To observe the effect of automatic nucleic acid detection analysis system in detection of hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) in blood samples of blood donors. **Methods** A total of 1 229 volunteer blood donors were selected, two copies of blood in each donor were collected, 1 copy was used for Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and another one was used for nucleic acid detection. **Results** The positive rates of HBV by nucleic acid test and ELISA test were 2.03% and 0.98%, respectively, there was significant difference ($P < 0.05$). The positive rates of nucleic acid test and ELISA in detecting HCV were 1.22% and 1.14%, there was no significant difference ($P > 0.05$). The positive rates of nucleic acid test and ELISA in HIV detection were 0.24% and 1.06%, there was significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** Automatic nucleic acid detection analysis system has higher accuracy rate in screening HBV, HCV and HIV in voluntary blood donors, nucleic acid detection and ELISA detection have their own advantages, and the combination of the two methods can improve the accuracy of virus detection.

Key words: automatic nucleic acid detection; voluntary blood donors; hepatitis B virus; hepatitis C virus; human immunodeficiency virus

保证血液及血液制品的安全性和提高输血相关传染病的防控能力等是目前临床广泛关注的焦点^[1]。中国常用的血液筛查方法是以检测血液中病毒抗原或抗体滴度为原理的酶联免疫吸附试

验(ELISA)法,但该方法具有较长的病毒感染检测窗口期,使得窗口期病毒检测结果呈假阴性,降低了对血液病毒的有效防控能力^[2-3]。核酸检测法是一种利用核酸扩增技术直接检测病原体核酸

的新型血液病毒筛查检测技术,该方法敏感度高,可检测出微量病毒,并将乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染窗口期分别缩短 9~36 d、25~60 d 和 7~15 d,大大降低了血液传播病毒的感染风险^[4-6]。2010年起中国将核酸检测法应用于血液病毒筛查工作中,为加强临床输血安全和降低输血相关传染病发生率提供了可能^[7]。为了探讨核酸检测法在血液筛查中的临床应用价值,本研究将全自动核酸检测分析系统应用于无偿献血者血液 HBV、HCV 和 HIV 检测中,并与 ELISA 法检测结果进行比较,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 1—5 月在延安市中心血站献血的 1 229 例无偿献血者作为研究对象,其中男 658 例、女 571 例,年龄 20~55 岁,平均(41.14±6.49)岁。每位献血者均采集 2 管静脉血,1 管(7 mL 真空抗凝管)用于 ELISA 检测,另外 1 管(5 mL EDTA-K2 抗凝带分离胶真空采血管)用于核酸检测。

1.2 检测方法

1.2.1 ELISA 检测:收集 7 mL 静脉血转移至真空抗凝管中,室温条件下,离心 20 min 后保存于 2~8 °C 冰箱中备用。采用全自动加样仪自动加样,全自动酶免分析仪分析血液,详细记录检测结果。

1.2.2 核酸检测:将经离心处理的 5 mL 血样应用全自动核酸提取仪进行处理。汇集管中样本总量为 1 440 μL 加入 1 000 μL 裂解液和 40 μL 磁珠,加 100 μL 去抑制剂裂解血液样本,注意防止血样污染。分别加 950 μL 的 A、B、C 洗液洗脱后,加入 120 μL 结合液,核酸提取仪从 96 孔深孔板中提取核酸,同时配备扩增核酸的反应液。核酸扩增步骤为加入核酸提取液及新配制的核酸扩增液反应液,随后置于 ABI7500 PCR 仪进行扩增分析,详细记录结果,并根据阳性血液样本数目计算血液样本阳性率。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计学软件分析本研究数据,计数资料的比较使用 McNemar 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 种方法的 HBV 检测结果比较

核酸检测的 HBV 阳性率为 2.03% (25/1 229),高于 ELISA 检测的 HBV 阳性率 0.98% (12/1 229),差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 核酸检测与 ELISA 检测的 HBV 检测结果比较

核酸检测	ELISA 检测		合计
	阳性	阴性	
阳性	2	23	25
阴性	10	1 194	1 204
合计	12	1 217	1 229

ELISA:酶联免疫吸附试验;HBV:乙型肝炎病毒。

2.2 2 种方法的 HCV 检测结果比较

核酸检测的 HCV 阳性率为 1.22% (15/1 229),高于 ELISA 检测的 HCV 阳性率 1.14% (14/1 229),但差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 核酸检测与 ELISA 检测的 HCV 检测结果比较

核酸检测	ELISA 检测		合计
	阳性	阴性	
阳性	7	8	15
阴性	7	1 207	1 214
合计	14	1 215	1 229

ELISA:酶联免疫吸附试验;HCV:丙型肝炎病毒。

2.3 2 种方法的 HIV 检测结果比较

核酸检测的 HIV 阳性率为 0.24% (3/1 229),低于 ELISA 检测的 HIV 阳性率 1.06% (13/1 229),差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 核酸检测与 ELISA 检测的 HIV 检测结果比较

核酸检测	ELISA 检测		合计
	阳性	阴性	
阳性	3	0	3
阴性	10	1 216	1 226
合计	13	1 216	1 229

ELISA:酶联免疫吸附试验;HIV:人类免疫缺陷病毒。

3 讨论

目前,经血液传播疾病有 20 多种,其中包括艾滋病、乙型肝炎、丙型肝炎等传染性较强的疾病。无偿献血者血液中存在 HBV、HCV、HIV 的概率不断升高^[8],因此做好血液病毒筛查工作对于保证血液及血液制品的质量至关重要。临床上常选用特异性较高的 ELISA 法进行血液病毒筛

查,但该方法的影响因素较多^[9-11]: ① 血样污染。非一次性全自动酶免分析仪使用自动加样针,若加样针被阳性血样污染后未彻底清洗,会导致下一次血样检查出现假阳性。② 抗原试剂质量不达标也可能影响检测结果。国产抗原试剂一般纯度较低,易造成假阳性,而进口试剂纯度较高,假阳性率相对较低,2 种试剂联合检测可提升血样结果的真阳性概率。相关研究^[12]显示,应用国产抗原试剂进行 ELISA 检测时,由于试剂质量不高,检测结果假阳性率可高达 0.18%。③ 样本溶血、自身免疫性抗体和有交叉反应的物质等也会影响检测结果。病毒进入体内至能够被检测到的时间为病毒感染的窗口期,ELISA 检测窗口期较长,可使窗口期血液病毒的检查结果呈假阴性,但实际上此时已存在病毒感染,且病毒具有一定复制能力,传染能力较强。

病原体核酸检测技术简称核酸检测技术,利用生物、物理、化学技术对微量靶核酸及其附带的信号进行扩增并转化成光电和可视信号来反映病毒阳性情况。本研究结果显示,核酸检测技术对 HBV 的检测阳性率高于 ELISA 检测,差异有统计学意义($P < 0.05$),与何培元等^[13]研究结论一致。李天驹等^[14]报道,核酸检测技术能检测极微量病毒感染几天后的感染情况,灵敏度较高。相关研究^[15]显示,核酸检测法不仅能使 HBV 检测窗口期缩短 25 d,还能避免 ELISA 法的 HBV 筛查假阳性率高现象。虽然核酸检测法并不能完全消除窗口期的影响,但未能被此法检测到时的 HBV 传染能力较弱,故采用核酸检测法筛查 HBV 可大大降低 HBV 输血传播风险。本研究结果显示,相较于核酸检测技术,ELISA 法对血液 HIV 具有更高的筛查阳性率,说明 ELISA 法更适用于血液 HIV 筛查,这可能与病毒载量低、未能达到核酸检测水平有关。但当机体长期处于病毒感染状态时,血液中抗原和抗体滴度较高,不影响 ELISA 检测。尽管如此,本研究中 ELISA 法的 HIV 检测阳性率仅 1.06%,出现漏诊现象的原因主要是窗口期的影响,且 HIV 属于 RNA 病毒,结构不稳定,故采用 ELISA 法检测易出现假阴性。核酸检测法是检测病毒核酸,ELISA 法则是检测抗原或抗体,2 种检测方法的应用原理不同,联合应用时可有效提高血液病毒筛查的灵敏性和特异性,进而提升血液筛查的准确性。相较于 ELISA 法,核酸检测法需要更高的样本处理和操

作技术,实验室条件要求和检测成本更高,且检测载量低的病毒时易出现假阴性,此时采用 ELISA 法检测血液中抗原或抗体滴度可提高血液病毒筛查阳性率。

综上所述,全自动核酸检测分析系统在无偿献血者血液 HBV、HCV、HIV 检测中具有重要作用,与 ELISA 法比较各具优势,2 种方法联合应用可提高病毒检测结果的准确性,进而提升血液筛查的安全性。

参考文献

- [1] 赵棉,张力,赵亚妮. HBV DNA 定量与乙肝血清学标志物定量联合检测乙肝病毒感染的效果分析[J]. 实用临床医药杂志, 2018, 22(15): 37-40.
- [2] 杨松,朱秋华,羊柳. 乙肝病毒感染诊断中乙肝血清学标志物定量与 HBV DNA 定量联合检测的应用研究[J]. 临床检验杂志, 2019, 8(2): 49-50.
- [3] 康文玉,田子颖,李琼芬,等. 云南省 2006 年和 2014 年 1~29 岁人群乙型肝炎血清流行病学调查[J]. 中华流行病学杂志, 2017, 38(4): 518-521.
- [4] 门守山,吕连智,陈元锋,等. 血站核酸检测实施后献血者血液检测模式的研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(6): 1815-1819.
- [5] 何子毅,陈庆恺,陈少彬,等. 四种血液安全筛查模式对经血传播病毒残余风险的评估[J]. 中国输血杂志, 2018, 11(2): 45-48.
- [6] 徐晓燕,翟小琳,吕涛,等. 不同血液病患者 EB 病毒和人巨细胞病毒核酸检测阳性率与年龄的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(7): 1500-1503.
- [7] 张锋,张琼,林碧,等. 血清学联合核酸检测在献血者血液筛查中的互补性[J]. 中国艾滋病性病, 2016, 22(3): 197-199.
- [8] 曹振环,柳雅立,鲁俊峰,等. 干扰素联合核苷(酸)类似物治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎 48 周临床研究[J]. 传染病信息, 2016, 29(2): 77-80.
- [9] 陈雅红,洪思让,陈明春,等. 2015 年泉州市 1~59 岁人群乙型肝炎血清流行病学特征及影响因素[J]. 中国疫苗和免疫, 2017, 23(5): 512-516.
- [10] 陈珍珍,赵越,王占黎,等. 自制胶体金试剂盒对布鲁氏菌病的诊断效果评价[J]. 现代预防医学, 2016, 43(15): 2802-2805.
- [11] 唐玥,杨益,孙走南,等. 新兵(学员)预防接种 20 μ g 重组乙型肝炎疫苗(酿酒酵母)的免疫效果分析[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(3): 356-359.
- [12] 郭兆富,尹以靖,王付能,等. 德宏地区 HBsAg 阴性 HBV/HCV/HIV 核酸联检反应性献血者 HBV 感染特征研究[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(2): 173-177.
- [13] 何培元,侯志平,王春青,等. 河北汉族人群白介素-17 血清表达水平及基因多态性与乙型肝炎病毒感染的关系[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(2): 227-230.
- [14] 李天驹,秦波,李朋. microRNA-206 单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒相关原发性肝癌关系的初步研究[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(16): 1843-1848.
- [15] 邢同京,徐洪涛,陆欣星,等. 微小核糖核酸-548ah 靶向组蛋白去乙酰化酶 4 对乙型肝炎病毒复制和表达的影响[J]. 中华传染病杂志, 2016, 34(5): 274-279.