

• 诊治分析 •

温州地区献血者人细小病毒 B19 感染状况分析

朱紫苗,蔡淑锋,刘燕飞,林佩佩,林碧

【关键词】 献血者;人细小病毒 B19;病毒感染;ELISA;实时荧光 PCR

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.09.028

【中图分类号】 R446.5;R373 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)09-1214-04

人细小病毒 B19 是细小病毒科细小病毒属一种单链、无包膜的规模最小的 DNA 病毒,其通常通过上呼吸道飞沫传播,也可以通过输血传播,感染可引起人类多种疾病,如免疫功能低下、长期的纯红细胞发育不全、慢性溶血性贫血患者可出现短暂的再生障碍性危象,胎儿贫血及死亡等,且该病毒对灭活或清除具有一定抗性,被认为是血液制品的一个危险因素^[1-3]。该病毒的存在对临床用血存在隐患,且我国未将 B19 检测纳入献血者筛查项目中,尚缺乏感染的基础数据。为掌握温州地区献血者中 B19 的感染情况,本研究对温州地区一定数量的无偿献血者开展 B19 抗体(IgG+IgM)和核酸(B19 DNA)检测,为今后输血安全管理政策的制订提供参考依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机抽取温州地区 2022 年 10 月至 2023 年 2 月自愿参与无偿献血的 18~60 岁者血液标本 5 241 份,均符合《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)。本研究获得温州市中心血站伦理审查委员会批准,所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 试剂与仪器 细小病毒 B19 抗体 IgG 和 IgM 检测试剂盒(北京新兴四寰生物技术有限公司,批号:202208002,202301001),细小病毒 B19 核酸提取 A 套试剂盒(上海浩源生物科技有限公司,批号:BA20220703,BA20220904),细小病毒 B19 核酸扩

增 B 套 HEV/HAV/B19 三联试剂盒(苏州新波生物技术有限公司,批号:20220815,20230227),Accu VL 人细小病毒 B19 病毒载量核酸检测试剂盒(苏州新波生物技术有限公司,批号:20230502),FAME 24/20 全自动酶免分析仪(HAMILTON 公司),Sunrise 酶标仪(奥地利 Tecan 公司),Pre-NAT II(上海浩源核酸检测系统提取仪),ABI 7500 扩增仪(美国 ABI 公司),SLAN 96S 扩增仪(上海宏石医疗科技有限公司)及 ABI 3730XL 测序仪(美国 ThermoFisher)。

1.3 方法 (1)细小病毒抗体检测:用 ELISA 法对献血者血液中 B19 IgG 和 IgM 抗体行单人份检测,操作步骤严格按照试剂说明书要求,检测结果 S/CO < 1 为阴性, S/CO ≥ 1 为阳性。标本来源与酶免检测项目(乙型肝炎病毒表面抗原 HBsAg、丙型肝炎病毒抗体 Anti-HCV、人类免疫缺陷病毒抗原/抗体 HIV Ag/Ab、梅毒螺旋体特异性抗体 Anti-TP)相同。(2)细小病毒核酸检测:采用实时荧光 PCR 法检测 B19 DNA。按照说明书的程序提取血浆核酸,洗脱 50 μl 靶核酸,并进行 PCR 反应程序。如 CT 值 ≤ 45 判定为阳性,否则为阴性。标本来源与核酸检测项目(HBV-DNA、HCV-RNA、HIV-RNA)相同。(3)细小病毒载量检测:采用实时荧光定量 PCR 法测定。按照说明书的程序提取血浆核酸,并进行 PCR 反应程序:50℃ 2 min,94℃ 10 min;45 个循环:94℃ 10 s,50℃ 10 s,65℃ 35 s,在 65℃ 收集荧光信号,荧光通道:FAM 和 VIC。本试验 B19 DNA 定量检测下限为 2.3 IU/ml。(4)细小病毒基因测序:采用巢式扩增法^[4]进行测序,扩增阳性的献血者标本进行 B19 DNA 测序。

1.4 统计方法 采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,计数资料以频数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

基金项目: 温州市科研项目(Y20220314)

作者单位: 325000 浙江省温州,温州市中心血站

通信作者: 朱紫苗,Email: 13587623108@163.com

2 结果

2.1 B19 抗体检测情况 B19 IgG 阳性 453 份, 阳性率 8.64%; B19 IgM 阳性 4 份, 阳性率 0.08%; B19IgG 和 IgM 抗体阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=461.25, P < 0.05$)。不同性别、血型、献血次数献血者 B19 IgG 和 IgM 抗体阳性率差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 不同年龄段献血者人群 B19 IgG 抗体阳性率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), B19 IgM 抗体阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

2.2 B19 DNA 在不同年龄段献血者中的阳性率 5 241 份献血者标本中检出 B19 DNA 阳性标本 25 份, 阳性率 0.48%; 不同年龄段献血者 B19 DNA 阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2=3.68, P > 0.05$), 见表 2。

2.3 B19 DNA 和 B19 抗体阳性献血者中的检出情况 453 份 B19 IgG 抗体阳性标本中 B19 DNA 阳性 19 份, 阳性率 4.19%; 4 份 B19 IgM 抗体阳性标本中 B19 DNA 均为阴性。B19 IgG 抗体阳性和 B19 IgM 抗体阳性标本中 B19 DNA 阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2=0.18, P > 0.05$)。

2.4 B19 DNA 阳性标本检测结果 25 份 B19 DNA 阳性标本中, CT 值最低为 38.11, 最高为 44.72, CT 值普遍偏低; B19 定量结果显示 16 份阳性标本检测值, 最低为 3.74 IU/ml, 最高为 12.04 IU/ml, 提示阳性

标本病毒载量均较低。对 16 份 B19 DNA 定量检测阳性标本进行 B19 基因测序, 结果显示 2 份基因型 1 型标本, 见表 3。

3 讨论

本研究显示温州地区献血者 B19 IgG 抗体阳性率 8.64%, 低于吉林省^[5]和广州市^[6]等大部分地区; B19 IgM 抗体阳性率 0.08%, 与 Francois 等^[7]报道的南非地区接近, 处于 Farahmand 等^[8]计算多个国家阳性率范围的低水平, 说明本地区 B19 存在的既往感染率和急性感染率较低。这可能与季节性、有无地区流行病、人口年龄和地理区域及检测方法的敏感性等有关。

本研究不同年龄段 B19 IgG 抗体阳性率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与既往研究^[6,9]基本一致。本研究女性阳性率 8.66% 与男性阳性率 8.63% 相近, 与文献^[9-10]报道一致, 与周玉洁等^[11]报道存在差异。本研究首次献血人群 B19 IgG 抗体阳性率高于 2 ~ 3 次献血人群和 4 次以上人群, 与陆荣等^[12]报道存在差异, 这可能与不同献血次数的献血人群年龄分布不同有关。

本研究 B19 DNA 阳性率为 0.48%, 低于山东鲁西地区^[14](6.33%)。本文 B19 IgG 抗体阳性组与 B19

表 1 温州地区献血者 B19 IgG 和 IgM 抗体检测结果分类比较

指标		例数	B19 IgG (n=453)	χ^2 值	P 值	B19 IgM (n=4)	χ^2 值	P 值
性别	男	3 152	272(8.63)	0.00	> 0.05	2(0.06)	0.17	> 0.05
	女	2 089	181(8.66)			2(0.10)		
年龄段(岁)	18 ~ 25	1 077	94(8.73)	15.97	< 0.05	0	5.24	> 0.05
	26 ~ 35	1 798	122(6.79)			0		
	36 ~ 45	1 544	144(9.33)			3(0.19)		
	≥46	822	93(11.31)			1(0.12)		
血型	A	1 592	132(8.29)	0.94	> 0.05	1(0.06)	0.52	> 0.05
	B	1 303	114(8.75)			1(0.08)		
	O	1 951	176(9.02)			2(0.10)		
	AB	395	31(7.85)			0		
献血次数	1	2 481	229(9.23)	2.19	> 0.05	2(0.08)	2.31	> 0.05
	2 ~ 3	1 512	120(7.94)			0		
	≥4	1 248	104(8.33)			2(0.16)		

表 2 B19 DNA 在温州地区不同年龄段献血者中的检出情况

年龄	例数	阳性数	阳性率(%)
18 ~ 25 岁	1 077	9	0.84
26 ~ 35 岁	1 798	7	0.39
36 ~ 45 岁	1 544	6	0.39
≥46 岁	822	3	0.36

IgM 阳性组 B19 DNA 阳性检出率差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与郑优荣等^[6]、王志效等^[14]研究结果不同。这可能是 B19 IgM 阳性献血者处于急性感染期向恢复期发展的阶段, B19 DNA 水平降低, 甚至消

表3 25份B19 DNA阳性标本检测结果

序号	性别	年龄(岁)	血型	献血次数(次)	CT值	B19定量结果(IU/ml)	B19基因测序结果
1	男	39	A	3	38.78	4.51	—
2	女	37	B	3	38.11	3.74	—
3	女	43	A	4	38.79	8.34	—
4	男	20	A	2	38.95	10.42	检出1型
5	女	43	O	3	38.29	8.93	—
6	男	34	O	1	39.75	—	—
7	男	30	B	3	39.86	5.82	—
8	女	44	AB	1	39.51	—	—
9	女	59	O	4	40.75	—	—
10	男	30	B	5	40.55	3.92	—
11	女	18	O	1	40.44	—	—
12	女	35	O	4	41.21	5.93	—
13	男	25	O	2	41.52	—	—
14	女	18	A	1	40.55	6.31	—
15	男	56	O	20	39.65	8.39	检出1型
16	男	25	O	1	40.92	12.04	—
17	女	21	AB	1	42.04	—	—
18	男	54	B	1	40.85	7.53	—
19	男	23	B	1	41.43	9.42	—
20	女	29	B	4	39.72	10.46	—
21	男	22	O	2	39.32	8.55	—
22	男	38	O	1	39.64	—	—
23	女	35	A	3	44.72	—	—
24	男	30	O	2	40.45	—	—
25	男	22	A	1	40.37	5.92	—

注：“—”表示无法检出

失；献血者既往感染过B19，或再次感染B19所致；不同研究使用方法不同造成。本研究4份B19 IgM标本S/CO值较低，其中2份标本追踪检测结果未发生变化，特异性B19 IgG抗体仍未出现，推测可能是假阳性结果或者慢性感染患者不能产生特异性IgG抗体。本研究B19 IgG抗体阳性标本中B19 DNA阳性比例高于广州地区(1.8%)，且B19 DNA阳性标本中，IgG抗体S/CO值均较高。高抗体滴度与低病毒载量的中和抗体可在降低输血传播风险^[7]。目前尚无直接的研究数据可确定B19抗体达到何种程度能保证产品中无可传播的B19^[15]。

本研究25份B19 DNA阳性标本CT值均偏低，与南通地区^[16]相近，进一步检测病毒载量，其中有16份标本检出，定量检测值均小于100 IU/ml，经巢氏PCR扩增后，2份标本测序结果均为基因型1型。分析其差异可能是反应途中DNA结构重复序列，造成测序用引物和模板之间有两个以上结合位点，出现套峰现象，无法检出；同时，标本的病毒载量浓度低

于20 IU/ml，导致巢氏扩增未得到阳性结果，无法测序。B19 DNA的存在被认为病毒持续感染的发生^[17]。在某些情况下，病毒血症持续存在，是慢性B19感染的原因^[18]。本研究6份B19 DNA阳性标本B19 IgM和IgG抗体均为阴性，这可能因为病毒慢性持续感染、B19抗体低于免疫分析方法的检测阈值或者免疫功能低下者未能产生特异性抗体。

综上所述，温州地区献血者B19既往感染率相较于其他地区不高，急性感染较低，慢性感染者中B19病毒载量低，但病毒血症持续的时间仍是未来研究的一个方向。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] JUHL D, STEPPAT D, GORG S, et al. Parvovirus b19 infections and blood counts in blood donors[J]. Transfus Med Hemother, 2014, 41(1): 52-59.

[2] CNC GARCIA R, LEON L A. Human parvovirus B19: A review of clinical and epidemiological aspects in Brazil[J]. Future Microbiol, 2021, 16(1): 37-50.

- [3] IKEGAWA M, OHASHI S, MINAGI T, et al. Screening for parvovirus B19 antigen through chemiluminescent enzyme immunoassay is equivalent to B19 nucleic acid amplification test-based screening of pooled plasma[J]. *Transfusion*, 2021, 61(8): 2240-2244.
- [4] CORCORAN C, HARDIE D, YEATS J, et al. Genetic variants of human parvovirus B19 in South Africa: Cocirculation of three genotypes and identification of a novel subtype of genotype 1[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(1): 137-142.
- [5] 魏强,李岩,王健伟,等.吉林省供血者人类细小病毒B19 IgG抗体的调查[J].*中华实验和临床病毒学杂志*,2006,20(2):60-62.
- [6] 郑优荣,李仲平,梁浩坚,等.广州地区献血人群人类细小病毒B19感染情况及病毒载量分析[J].*中国输血杂志*,2009,22(7):549-551.
- [7] FRANCOIS K L, PARBOOSING R, MOODLEY P. Parvovirus B19 in South African blood donors[J]. *J Med Virol*, 2019, 91(7): 1217-1223.
- [8] FARAHMAND M, TAVAKOLI A, GHORBANI S, et al. Molecular and serological markers of human parvovirus B19 infection in blood donors: A systematic review and meta-analysis[J]. *Asian J Transfus Sci*, 2021, 15(2): 212-222.
- [9] 秦伟斐,廖红梅,谭茜茜,等.重庆市无偿献血者人细小病毒 B19 的感染状况研究[J].*重庆医学*,2015,44(35):4968-4971.
- [10] 欧山海,谢金镇,张雅丽,等.中国厦门地区献血者细小病毒B19感染情况研究[J].*中国实验血液学杂志*,2016,24(5):1572-1576.
- [11] 周玉洁,张亚,徐秀兰,等.无偿献血人群人疱疹病毒 8 型和巨细胞病毒及细小病毒 B19 感染流行情况调查[J].*中华医院感染学杂志*,2017,27(3):514-517.
- [12] 陆荣,郑雪琼,徐子豪,等.无偿献血人群人微小病毒B19感染状况调查[J].*中国输血杂志*,2023,36(7):622-626.
- [13] 张念华,杜振兰,赵英会.山东鲁西地区部分献血员人细小病毒 B19 流行病学调查[J].*现代预防医学*,2009,36(1):17-18.
- [14] 王志效,周贝贝,张娜,等.济宁地区无偿献血者人细小病毒B19感染的相关研究[J].*公共卫生与预防医学*,2015,26(3):4-7.
- [15] 邱晓,白玉.人类细小病毒B19与血液制品安全[J].*中国生物制品学杂志*,2019,32(11):1298-1300,1304.
- [16] 王克成,丁颖周.南通地区无偿献血者 HPV B19、HAV 和 HEV 感染状况研究[J].*中国输血杂志*,2023,36(5):444-447.
- [17] GALLINELLA G. The clinical use of parvovirus B19 assays: Recent advances[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018, 18(9): 821-832.
- [18] JACQUOT R, GERFAUD-VALENTIN M, MEKKI Y, et al. Parvovirus B19 infections in adults[J]. *Rev Med Interne*, 2022, 43(12): 713-726.

收稿日期:2024-05-07

(本文编辑:孙海儿)