·调查研究·

广州市番禺地区HBsAg阴性/HBV DNA阳性献血者追踪结果及归队分析

洪飞芳，陈平萍，李义强，谢敬文，蓝文莉，马伟文

【摘要】目的 通过对广州市番禺地区HBsAg⁻/HBV DNA⁺献血者的追踪检测及分析，判定其HBV感染类别，并探讨其归队可行性。方法 2021年1月1日至2023年7月11日期间，在84 865例献血者标本中共检测出47例HBsAg⁻/HBV DNA⁺献血者，对其中42例进行追踪检测，根据其HBV DNA定量和乙肝五项结果，进行HBV感染类别的判定及分析。结果 共有42例献血者经知情同意完成1次追踪检测，7例完成2次，17例完成3次。从中鉴别出隐匿性HBV感染（Occult hepatitis B infection，OBI）30例（71.4%），HBV一过性感染6例（14.3%），核酸筛查假反应性6例（14.3%）。30例OBI检出时，HBcAb⁺占73.3%（22/30），单HBsAb⁺占10%（3/30），OBI的病毒载量较低，多集中于低值区域。结论 番禺地区HBsAg⁻/HBV DNA⁺献血者多为OBI，有6例核酸筛查假反应性献血者建议归队。采用高灵敏检测方法、增加随访次数、补充血清学乙肝五项检测有利于降低归队风险。

【关键词】 核酸检测；HBV DNA；献血者追踪；OBI；献血者归队
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.01.014
【中图分类号】 R512.6+2 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)01-0053-04

血液筛查是防止乙型肝炎、丙型肝炎、艾滋病及梅毒等传染性疾病在输血时交叉感染的重要手段，保障临床用血安全。为进一步降低输血传播风险，采供血机构从2010年起逐步试点实行病毒核酸筛查（nucleic acid test，NAT），该方法在有效降低乙型肝炎病毒输血传播风险上的作用尤为突出[1-2]，筛查出了一定比例HBsAg⁻/HBV DNA⁺献血者，其血液被报废，该类献血者被屏蔽。但由于血站的血液核酸检测为筛查试验，筛查出HBsAg⁻/HBV DNA⁺并不代表一定是隐匿性HBV感染，还可能是HBV窗口期感染、一过性感染或核酸筛查假反应性。因此本文对该类献血者进行追踪随访，做进一步确认试验，了解其真实感染情况，并探讨其归队可行性，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 标本来源 对2021年1月至2023年7月于广州市番禺区中心血站献血的HBsAg⁻/HBV DNA⁺献血者进行追踪随访，召回并采集血样。每次召回留取2支核酸专用无菌真空试管供乙肝五项和HBV DNA定量检测，标本离心后放－25℃冰箱保存，1周内完成检测，检测过程严格按照说明书标准。本研究经番禺区中心血站伦理委员会审查，研究内容和研究结果不存在利益冲突。

1.1.2 感染类别的判定标准 （1）HBV窗口期感染：追踪检测出HBV DNA、HBsAg阴转阳[3]；（2）隐匿性HBV感染（occult hepatitis B infection，OBI）：排除HBV窗口期感染，追踪检出HBV DNA，HBsAg始终阴性[4-5]；血清学前后无明显变化[6]。根据是否存在血清学标记物HBcAb和/或HBsAb分为血清学阳性OBI与血清学阴性OBI[4]；（3）HBV一过性感染：HBV DNA追踪结果转阴，HBsAg始终阴性，HBsAb和/或HBcAb转阳[7]；（4）NAT假反应性：初次核酸筛查为HBV DNA反应性，追踪标本无法检出HBV DNA，乙肝五项全阴或仅HBsAb⁺且有乙肝疫苗接种史[8]。

1.2 试剂与仪器

乙型肝炎病毒核酸检测试剂盒（PCR-荧光法，Roche）；全自动核酸提取纯化及医用PCR分析系统（COBAS 6800，Roche）。此方法为高灵敏HBV DNA定量方法，其EDTA血浆的分析灵敏度为2.7 IU/ml，特异性100%（单边95%置信区间：99.5%），当血液标本中能定量检测出HBV DNA，则可确认该标本含HBV DNA。乙肝五项检测试剂盒（HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb和HBcAb）均用

基金项目： 广州市番禺区科技计划项目（2021-Z04-108）
作者单位： 511406 广州，广州市番禺区中心血站
通信作者： 马伟文，Email：applehong2005@sina.com

厦门新创试剂盒；全自动酶免仪（Uranus AE150，深圳爱康）。

1.3 方法 采取先酶免检测（HBsAg、Anti-HCV、HIVAg/Ab、Anti-TP、ALT），再将酶免合格的标本进行 NAT 的方式，若 NAT 显示 HBV DNA，即认为该标本为 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$。84 865 例中检测出 47 例 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$献血者。对其中 42 例在其献血后间隔 3 个月以上进行电话回访并召回采集血样，用更灵敏特异的核酸定量检测方法确认 HBV DNA 感染，并补充检测乙肝五项。每次召回间隔 3 个月以上。

2 结果

47 例 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$中有 42 例献血者经知情同意完成追踪检测。其中 7 例完成 2 次，17 例完成 3 次。从中鉴别出 OBI30 例（71.4%），未检出 HBV 窗口期感染，HBV 一过性感染 6 例（14.3%），NAT 假反应性 6 例（14.3%）。30 例 OBI 检出时，5 例为血清学阴性型（16.7%），25 例血清学阳性型（83.3%），其中 HBcAb$^+$占 73.3%（22/30），单 HBsAb$^+$占 10%（3/30）。OBI 的病毒载量较低，30 例中的 29 例均＜200 IU/ml，63.3%＜20 IU/ml（19/30），多集中于低值区域。OBI 中男性高于女性（23∶7），人群年龄偏高，平均年龄 43 岁，见表 1。

3 讨论

OBI 定义为血液中的 HBsAg 为阴性，但其肝脏和/或血清中仍存在 HBV DNA（cccDNA）[4]；根据是否存在血清学标志物 HBcAb 和/或 HBsAb 分为血清学阳性 OBI 与血清学阴性 OBI。OBI 患者血液中的 HBV 可以通过输血传播给受血者，为了提高血液安全，HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$献血者的血液被报废，该类献血者被屏蔽。但由于血站的血液核酸检测为筛查试验，筛查出 HBV DNA，并不代表一定是 OBI，也可能是 HBV 窗口期感染、一过性感染或 NAT 假反应性。对于非 OBI 的此类献血者是否能归队、如何归队，无论是从对献血者负责的层面出发，还是从无偿献血推广和发展的层面出发，都有必要探讨。

2021 年 1 月 1 日至 2023 年 7 月 11 日期间，本血站在 84 865 例献血者标本中共筛检出 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$献血者 47 例，检出率为 0.055%。该数据略低于广州地区 0.061%[1]和苏州地区 0.058%[2]，明显低于厦门地区 0.09% [9]。其差异性可能和不同地区间的乙肝流行情况、献血人群结构和检测灵敏度有关。

本研究每次召回间隔 3 个月以上，3 个月的时间基本覆盖 HBV 的窗口感染期[10]，42 例召回的 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$献血者中，30 例追踪检出 HBV DNA，但其 HBsAg 均未转阳，故本研究未检出 HBV 窗口期感染。30 例追踪检出 HBV DNA 的献血者，HBsAg 持续阴性，血清学前后无明显变化，判定为 OBI，说明番禺地区 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$献血者多为 OBI，这与许多研究发现的 OBI 是导致 HBsAg 筛查后输血传播 HBV 残余风险的重要原因基本相符 [11]。30 例 OBI 中，5 例为血清学阴性型，25 例为血清学阳性型，其中 HBcAb$^+$占 73.3%（22/30），说明 OBI 血清学标志物主要以 HBcAb 为主，这与国内其他地区的情况基本一致[3,12]。

OBI 献血者因病毒颗粒在标本中呈 Poisson 分布 [13]，吸取样本的随机性导致检测结果呈现非重复反应性，因此低病毒浓度标本存在漏检风险。本研究采用高灵敏 HBV DNA 定量方法进行多次确认，可以提高低病毒载量标本的检出率，第 1 次追踪检测确认了 28 例 OBI，第 2 次追踪检测新增 1 例，第 3 次再增 1 例。30 例中有 29 例的病毒载量均＜200 IU/ml，且 19 例＜20 IU/ml，多集中于低值区域，这一感染特征令低浓度 OBI 的核酸检测结果存在不确定性，成为 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$献血者归队面临的主要风险[6]，因此采用高灵敏检测方法、增加随访次数可提高 OBI 检出率，有利于降低归队风险。

我国虽已由乙肝高流行率国家转变成中流行率国家[14]，但乙肝急性感染的人群仍然较大。95%的成年人 HBV 感染后能发生自限性清除[15]，并产生特异性抗体，成为感染恢复人群，即 HBV 一过性感染，其特征为 HBV DNA 转阴，HBsAg 始终阴性，HBsAb 和/或 HBcAb 转阳（本文中仅 HBsAb$^+$且有乙肝疫苗接种史的除外，例 14、18、23、28、36 及 39 均有乙肝疫苗接种史）。按此特征 12 例 HBV DNA 转阴的献血者有 6 例可判定为 HBV 一过性感染。研究显示我国 47.7%的合格献血者 HBcAb$^+$[16]，有曾经 HBV

表 1　42 例 HBsAg⁻/HBV DNA⁺献血者的追踪结果明细

序号	性别	年龄	HBV DNA 定量检测(IU/ml)			乙肝五项结果(ELISA 法)			感染类别
			第一次	第二次	第三次	第一次	第二次	第三次	
1	男	34	＜10.00	＜10.00	＜10.00	2、5(+)	2、5(+)	2、5(+)	OBI
2	男	53	未检出	未检出	未检出	4、5(+)	4、5(+)	4、5(+)	一过性感染
3	男	41	38.70	/	/	全(－)	/	/	OBI
4	男	50	未检出	未检出	未检出	5(+)	5(+)	5(+)	一过性感染
5	男	40	未检出	未检出	未检出	4 、5(+)	4、5(+)	4、5(+)	一过性感染
6	男	56	未检出	＜10.00	未检出	2(+)	2(+)	2(+)	OBI
7	男	47	未检出	未检出	/	5(+)	5(+)	/	一过性感染
8	男	52	未检出	未检出	未检出	2、4、5(+)	2、4、5(+)	2、4、5(+)	一过性感染
9	女	52	未检出	未检出	＜10.00	2、5(+)	2、5(+)	2、5(+)	OBI
10	女	51	11.40	18.60	17.80	4 、5(+)	4 、5(+)	4、5(+)	OBI
11	男	49	171.00	未检出	未检出	2(+)	2、5(+)	2、5(+)	OBI
12	男	35	11.80	42.90	40.20	4 、5(+)	4、5(+)	4、5(+)	OBI
13	男	33	30.10	18.10	52.40	2 、5(+)	5(+)	2、5(+)	OBI
14	女	37	未检出	未检出	未检出	2(+)	2(+)	2(+)	NAT 假反应性
15	男	54	＜10.00	/	/	4、5(+)	/	/	OBI
16	男	36	29.90	/	/	4 、5(+)	/	/	OBI
17	男	42	＜10.00	＜10.00	＜10.00	2、5(+)	2、5(+)	2、5(+)	OBI
18	男	36	未检出	未检出	/	2(+)	2(+)	/	NAT 假反应性
19	男	50	23.90	/	/	4、5(+)	/	/	OBI
20	女	51	＜10.00	未检出	未检出	2(+)	2(+)	2(+)	OBI
21	男	32	＜10.00	未检出	未检出	2、4、5(+)	2、4、5(+)	2、4、5(+)	OBI
22	男	22	＜10.00	＜10.00	/	全(－)	全(－)	/	OBI
23	男	21	未检出	未检出	未检出	2(+)	2(+)	2(+)	NAT 假反应性
24	男	47	＜10.00	/	/	4、5(+)	/	/	OBI
25	男	45	＜10.00	/	/	5(+)	/	/	OBI
26	女	52	52.80	83.70	37.40	4 、5(+)	4、5(+)	4、5(+)	OBI
27	男	49	＜10.00	未检出	/	2、4 、5(+)	2、4、5(+)	/	OBI
28	男	52	未检出	/	/	2(+)	/	/	NAT 假反应性
29	男	41	14.70	未检出	/	5(+)	4、5(+)	/	OBI
30	男	42	＜10.00	/	/	2(+)	/	/	OBI
31	女	28	370.00	/	/	全(－)	/	/	OBI
32	男	23	＜10.00	/	/	全(－)	/	/	OBI
33	男	36	＜10.00	/	/	5(+)	/	/	OBI
34	男	35	＜10.00	/	/	2、4 、5(+)	/	/	OBI
35	男	52	57.60	24.60	/	4 、5(+)	4、5(+)	/	OBI
36	女	45	未检出	/	/	2(+)	/	/	NAT 假反应性
37	男	53	56.60	＜10.00	/	4、5(+)	4 、5(+)	/	OBI
38	女	43	10.10	/	/	2、5(+)	/	/	OBI
39	男	52	未检出	/	/	2(+)	/	/	NAT 假反应性
40	女	52	＜10.00	/	/	全(－)	/	/	OBI
41	男	48	56.60	/	/	2、4、5(+)	/	/	OBI
42	女	35	未检出	/	/	2、4 、5(+)	/	/	一过性感染

注：乙肝五项结果中“1、2、3、4、5”分别代表 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb，“－”表示非反应性，“+”表示反应性，“/”表示尚未抽血检测，“未检出”表示没有检测到 HBV DNA

暴露的经历，如果效法美、法等一些国家把 HBcAb 作为OBI的普筛指标[17-18]，则可能会导致我国血液资源更为紧张，因此如何解决血液安全与血液紧张这一矛盾，需要更进一步的研究，制定出适合我国国情的归队策略。

因为低浓度 OBI 的核酸检测结果存在不确定性，因此仅以 HBsAg 和 HBV DNA 作为 HBsAg⁻/HBV DNA⁺献血者归队的血液检测项目仍然存在一

定的输血感染风险[19]。本站 12 例无法追踪检出 HBV DNA 的标本仍有可能部分为病毒含量更低的 OBI。因此，为降低归队风险，本文补充检测了血清学乙肝五项。HBeAb$^+$说明血液仍有较弱的传染性[20]，不建议归队。HBcAb 作为 HBV 既往感染最敏感的指标，可长期存在，但是否效法国外把其作为 OBI 的普筛指标，仍需要进一步的讨论。HBsAb 被认为是保护性抗体，HBV 感染或注射乙肝疫苗均可使体内获得。有文献报道，使用含 HBsAb 血液制品的受血者感染 HBV 的风险较低，尤其是 HBsAb ＞ 200 IU/L 时，被认为具有完全保护性 [3]，归队检测时有条件可加做 HBsAb 定量。单 HBsAb$^+$且注射过乙肝疫苗或 HBsAb ＞ 200 IU/L 的可考虑归队。NAT 假反应性是指献血者献血时的标本核酸筛查为 HBV DNA 反应性，追踪标本无法检出 HBV DNA，乙肝五项全阴或仅 HBsAb+且有乙肝疫苗接种史，本研究有 6 例符合此特征（其中例 28、36、39 虽然只追踪了 1 次，但均为重复献血者），此 6 例献血者建议归队。

综上所述，番禺地区 HBsAg$^-$/HBV DNA$^+$献血者多为 OBI，有 6 例核酸筛查假反应性献血者建议归队。采用高灵敏检测方法、增加随访次数、补充血清学乙肝五项检测有利于降低归队风险。制定合理的归队策略，既要保障血液安全，又要兼顾归队机制的便利性，更要符合我国国情。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 洪飞芳：实验操作、论文撰写、数据整理、统计学分析；陈平萍、李义强：实验操作、数据整理；谢敬文、马伟文：研究指导、经费支持；蓝文莉：论文修改

参 考 文 献

[1] 李仲平,王溟,郑优荣,等.广州地区 HBsAg 阴性无偿献血血液输血传播 HBV 残余风险评估[J].广东医学,2014,35(3):442-445.

[2] 周怡,蒋靓,王凯,等.HBsAg阴性HBV阳性无偿献血者的血清学模式及其相关特征研究[J].临床血液学杂志,2017,30(2):86-89.

[3] 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.

[4] RAIMONDO G, LOCARNINI S, POLLICINO T, et al. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis b virus infection[J]. J Hepatol,2019,71(2):397-408.

[5] 吴洁,潘洁,余国庆,等.芜湖地区 HBsAg 无反应性/HBV DNA 反应性献血者的感染状态及追踪结果分析[J].中国输血杂志,2023,36(1):64-68.

[6] 安万新,邓雪莲,梁晓华,等.大连市血液中心 HBsAg 阴性献血者 HBV 感染的确认与 HBV 核酸检出效率的评估 [J]. 中国输血杂志,2014,27(3):268-272.

[7] 于志军,邓雪莲.一过性 HBV 感染献血者的追踪观察[J].实用预防医学,2013,20(4):488-489.

[8] 程卫芳,周学勇,崔伟娅,等.单核酸 HBV DNA/联检反应性献血者归队可行性分析[J].中国输血杂志,2019,32(12):1250-1253.

[9] 欧山海,谢金镇,林永财,等.厦门地区 HBsAg-/HBV DNA+献血者的流行病学调查[J].中国实验血液学杂志,2015,23(5):1483-1487.

[10] 郑欣,许晓绚,曾劲峰,等.深圳地区 HBV,HCV 反应性献血者归队检测结果分析与策略探讨[J].中国输血杂志,2019,32(10):1024-1027.

[11] ALLAIN J P.Occult hepatitis B virus infection:implications in transfusion[J].Vox Sang,2004,86(2):83-91.

[12] 邹峥嵘,谢云峥,伍晓菲,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):701-704.

[13] SHYAMALA V.Nucleic acid technology (NAT) testing for blood screening impact of individual donation and mini poo-l NAT testing on analyt-i cal sensitivity,screening sensitivity and clinical sensitivity[J].ISBT Sci Series,2014,9(2):315-324.

[14] 蒋昵真,林红,朱绍汶,等.江苏地区 461165 例无偿献血者乙型肝炎流行状况分析[J].临床输血与检验,2015,17(4):292-294.

[15] 蒋昵真,王金花,濮云峰,等.江苏省血液检测阳性献血者保留和归队经验探讨[J].中国输血杂志,2019,32(11):1155-1159.

[16] YE X, LI T, XU X, et al. Characterisation and follow-up study of occult hepatitis B virus infection in anti-HBc-positive qualified blood donors in southern China[J].Blood Trans,2017,15(1):6.

[17] ESPOSITO A,SABIA C, IANNONE C, et al.Occult hepatitis infection in transfusion medicine:screening policy and assessment of current use of anti-HBc testing [J].Transfus Med Hemother, 2017,44(4):263-272.

[18] SEO D H,WHANG D H,SONG E Y, et al.Occult hepatitis B virus infection and blood transfusion[J].World J Hepatol,2015,7:600-606.

[19] 杨转笑,肖慧芬,肖忠,等.深圳地区 HBV 核酸检测反应性献血者两种归队模式风险评估研究[J]. 中国卫生质量管理,2020,27(3):111-113.

[20] 张双元.ELISA 法检测乙肝两对半的意义及临床应用[J].当代医学, 2013, 26: 66-67.

收稿日期：2023-09-26

（本文编辑：吴迪汉）