

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20206436

. COVID-19 专栏 .

热灭活对输血相关感染标志物的影响

余宇奇¹, 刘琼², 周俭辉¹, 戴立忠³, 邓勇³, 李宁¹

(1. 中南大学湘雅医院输血科, 湖南长沙 410008; 2. 湖南师范大学附属第一医院检验科, 湖南长沙 410006; 3. 湖南圣湘科技股份有限公司研发部, 湖南长沙 410205)

[摘要] **目的** 探讨热灭活对血清和全血两种不同类型标本中输血相关感染标志物结果的影响。**方法** 收集乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)、人类免疫缺陷病毒抗体(抗-HIV)、梅毒螺旋体抗体(抗-TP)、乙型肝炎病毒(HBV) DNA 和丙型肝炎病毒(HCV) RNA 阳性血清标本共 57 份, HBsAg、抗-HCV、抗-TP 和 HBV DNA 阳性全血标本共 38 份。将标本 56℃ 水浴加热 30 min 灭活(可有效灭活冠状病毒)处理后, 采用化学发光和荧光定量聚合酶链式反应(PCR)分别检测相应的项目, 比较热灭活前后各指标的差异。**结果** 血清灭活后 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP、HBV DNA 和 HCV RNA 检测结果与灭活前相比, 差异均无统计学意义(均 $P>0.05$); 全血灭活后 HBsAg、抗-HCV、抗-TP 和 HBV DNA 检测值与灭活前相比, 差异亦均无统计学意义(均 $P>0.05$); Bland-Altman 散点图显示所有的差值数据均位于 95% 一致性界限(95% LoA)内, 各指标灭活后与灭活前存在较好的一致性。**结论** 56℃ 水浴加热 30 min 的处理方法对输血相关感染标志物的检测无明显影响, 在新型冠状病毒疫情期间可考虑推广使用。

[关键词] 新型冠状病毒; 热灭活; 全血; 血清; 输血相关感染

[中图分类号] R446.6

Effect of heat inactivation on blood transfusion-related infection markers

SHE Yu-qi¹, LIU Qiong², ZHOU Jian-hui¹, DAI Li-zhong³, DENG Yong³, LI Ning¹

(1. Blood Transfusion Department, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital, Hunan Normal University, Changsha 410006, China; 3. Research and Development Department, Hunan Sansure Biotech Inc., Changsha 410205, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of heat inactivation on blood transfusion-related infection markers in serum and whole blood specimens. **Methods** A total of 57 positive serum specimens of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg), anti-hepatitis C virus antibody (anti-HCV), anti-human immunodeficiency virus antibody (anti-HIV), anti-Treponema pallidum antibody (anti-TP), HBV DNA and HCV RNA as well as a total of 38 positive whole blood specimens of HBsAg, anti-HCV, anti-TP and HBV DNA were collected. After specimens were inactivated in a water bath at 56℃ for 30 minutes (which can effectively inactivate coronavirus), chemiluminescence and fluorescence quantitative polymerase chain reaction were adopted to detect the corresponding markers, differences among indicators before and after heat inactivation were compared. **Results** After serum was inactivated, detected results of HBsAg, anti-HCV, anti-HIV, anti-TP, HBV DNA and HCV RNA were not significantly different from those before inactivation (all $P>0.05$); after whole blood was inactivated, detection results of HBsAg, anti-HCV, anti-TP and HBV DNA were not statistically different from those before inactivation (all $P>0.05$); Bland-Altman scatterplot showed that all the difference data were within 95% limits of agreement (95% LoA), there was a good consistency in each indicator before and after inactivation. **Conclusion** The treatment method of heating at 56℃

[收稿日期] 2020-02-26

[基金项目] 长沙市新型冠状病毒肺炎疫情的应急专题科技计划项目(kq2001053)

[作者简介] 余宇奇(1985-),男(汉族),湖南省邵东市人,主管技师,主要从事临床输血相关研究。

[通信作者] 李宁 E-mail:nxli1970@126.com

water bath for 30 minutes has no obvious effect on the detection of blood transfusion-related infection markers, and can be widely used during the epidemic of coronavirus disease 2019.

[Key words] 2019-nCoV; heat inactivation; whole blood; serum; blood transfusion-related infection

2019 年 12 月以来,湖北武汉市暴发多例新型冠状病毒(2019-nCoV)肺炎^[1],随后迅速席卷全国。截至 2020 年 2 月 21 日 24 时,中国大陆累计确诊 2019-nCoV 肺炎 76 288 例,死亡 2 345 例^[2]。2019-nCoV 主要经呼吸道飞沫和密切接触传播,在相对封闭的环境中长时间暴露于高浓度气溶胶情况下存在经气溶胶传播的可能^[3],有报道在粪便中也检出 2019-nCoV^[4-5]。新型冠状病毒肺炎潜伏期 1~14 d,也有文献报道最长为 24 d,人群普遍易感^[6]。2019-nCoV 与严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)同属于 β 属的冠状病毒,灭活 SARS-CoV 的方法同样能够灭活 2019-nCoV^[7]。SARS-CoV 病毒对紫外线和热敏感,56℃ 30 min、丙醇、乙醇等均可有效灭活病毒^[8-9]。

2019-nCoV 传染性很强,对未经培养的感染性材料的操作要求在生物安全二级实验室进行,同时采用生物安全三级实验室的个人防护^[10]。在临床实验室检测过程中需要多次接触患者标本,如编号、离心、混匀、开盖、加样和转移等,同时操作中会产生大量气溶胶,每多一次操作均会增加实验室工作人员感染的概率。减少与病毒的接触是降低实验室工作人员感染最简单、有效的办法。实验室可以通过增加防护物资,提高防护等级阻断病毒向工作人员传播。但 2019-nCoV 疫情的发生临近春节长假,防护装备生产厂家都已停工,防护装备紧缺,特别是 2019-nCoV 疫情发源地武汉。若安全防护不到位,很大程度上增加实验室工作人员感染的风险。数据显示截至 2 月 11 日,已有 1 716 名医务人员确诊 2019-nCoV 肺炎,并导致 5 名医务人员死亡^[11]。如何减少医源性感染是我们面临的一个重要课题。若对患者血标本进行病毒灭活处理,再对灭活后的血标本进行实验室检测,能够有效减少实验室工作人员与病毒的接触,降低医源性感染的发生。本研究对乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)、人类免疫缺陷病毒抗体(抗-HIV)、梅毒螺旋体抗体(抗-TP)、乙型肝炎病毒(HBV) DNA 和丙型肝炎病毒(HCV) RNA 阳性血清和全血标本进行 56℃ 加热 30 min 灭活病毒处理,分析灭活前后 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP、HBV DNA 和 HCV RNA 水平的差异,为特殊情况下减少实验室

工作人员医源性感染提供参考经验。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 57 份阳性血清标本,其中 HBsAg 阳性、抗-HCV 阳性、抗-HIV 阳性和抗-TP 阳性标本各 10 份,HBV DNA 阳性标本 9 份,HCV RNA 阳性标本 8 份;收集 38 份用分离胶促凝管采集的阳性全血标本,其中 HBsAg 阳性、抗-HCV 阳性和抗-TP 阳性标本各 10 份,HBV DNA 阳性标本 8 份。

1.2 研究方法 血清标本直接放入 56℃ 水浴箱加热 30 min 灭活病毒;全血标本首先 3 000 r/min 离心 10 min,不分离血清,直接将标本放入 56℃ 水浴箱加热 30 min 灭活病毒。采用美国雅培公司 HBsAg 定量测定试剂盒、HCV 抗体测定试剂盒、HIV 抗原及抗体联合测定试剂盒和 TP 抗体测定试剂盒(化学发光微粒子免疫检测法)分别检测 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 和抗-TP;采用圣湘生物公司 HBV 核酸检测试剂盒和 HCV 核酸检测试剂盒(PCR-荧光法)测定 HBV DNA 和 HCV RNA,比较热灭活前后各指标检测水平的差异,并分析灭活前后两者的一致性。HBsAg 以 IU/mL 表示,抗-HCV、抗-HIV 和抗-TP 结果以 S/CO 值表示,HBV DNA 和 HCV RNA 结果以循环阈值(Ct)表示。

1.3 仪器 雅培全自动化学发光免疫分析仪 i2000SR(美国),恒温水浴箱(中国上海),宏石 PCR 仪 SLAN-96P(中国上海)。

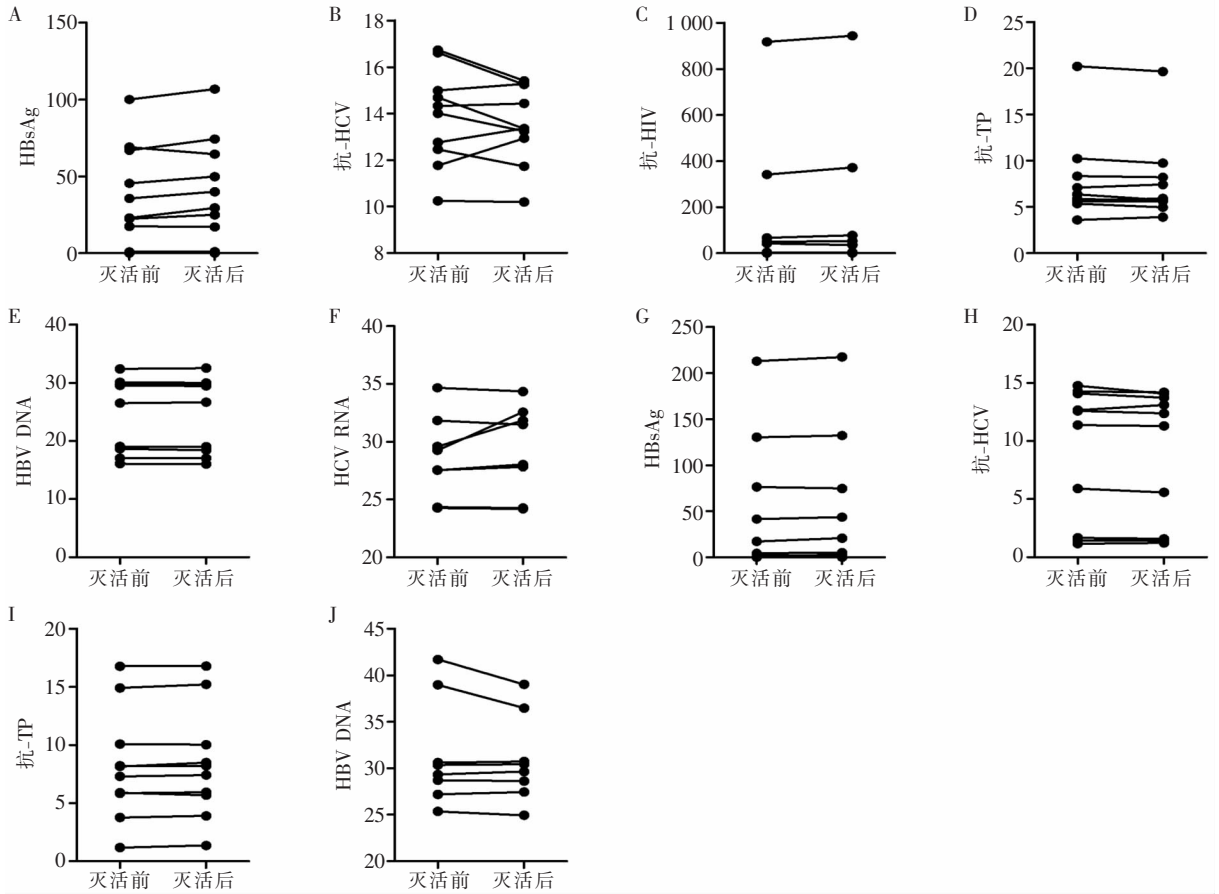
1.4 统计学方法 应用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析,数据的比较采用配对 t 检验。以灭活后与灭活前的差值作纵轴,灭活后与灭活前的均值作横轴,作 Bland-Altman 图分析灭活前后的一致性。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清标本灭活对输血相关感染标志物检测的影响 血清标本 56℃ 加热 30 min 灭活前后 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP、HBV DNA 和 HCV RNA 的结果如图 1 所示,采用配对 t 检验,热灭活前后每个指标比较差异均无统计学意义(均 P

>0.05)。Bland-Altman 图分析见表 1 和图 2,所有的点均位于 95%LoA 上限与下限之间,符合至少

95%的点在 95%LoA 范围内,表明血清灭活前后输血相关感染标志物的水平一致性较好。



A—F 为血清标本,G—J 为全血标本。

图 1 输血相关感染标志物热灭活前后的结果

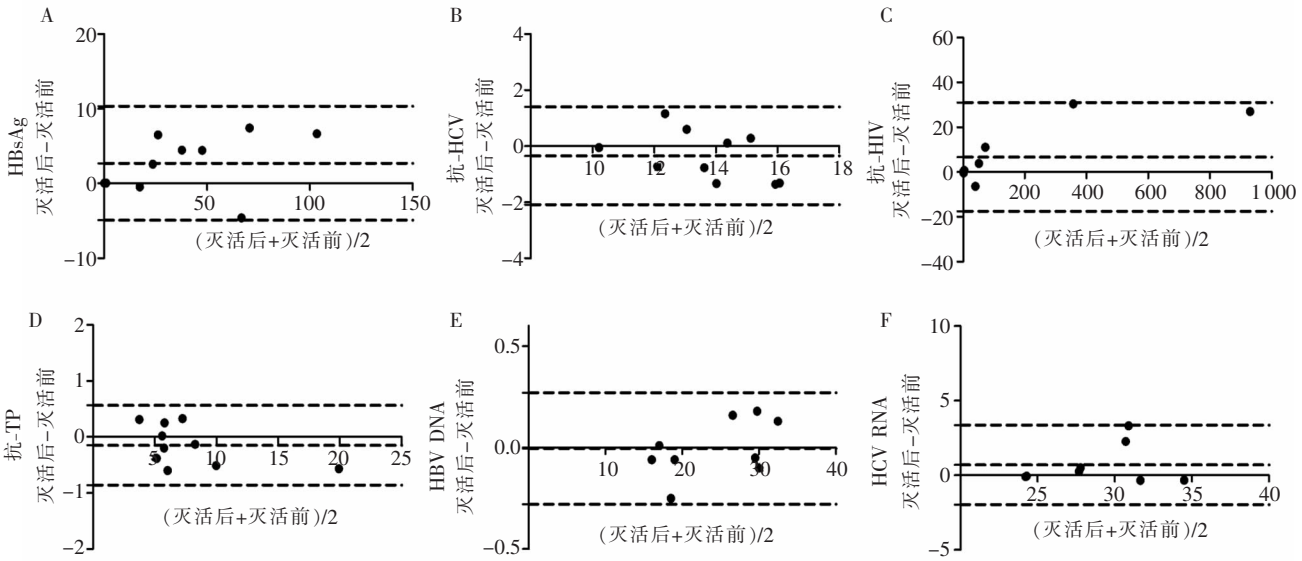
Figure 1 Detection results of blood transfusion-related infection markers before and after heat inactivation

表 1 输血相关感染标志物热灭活前后 Bland-Altman 图参数

Table 1 Parameters of Bland-Altman diagram of blood transfusion-related infection markers before and after heat inactivation

项目	标本	例数	灭活前后 差值均数	差值 标准差	95%LoA 范围
HBsAg	血清	10	2.715	3.891	(-4.912, 10.342)
抗-HCV	血清	10	-0.342	0.891	(-2.088, 1.404)
抗-HIV	血清	10	6.731	12.393	(-17.559, 31.020)
抗-TP	血清	10	-0.148	0.364	(-0.862, 0.566)
HBV DNA	血清	9	-0.004	0.140	(-0.279, 0.270)
HCV RNA	血清	8	0.690	1.358	(-1.972, 3.352)
HBsAg	全血	10	1.243	1.894	(-2.470, 4.956)
抗-HCV	全血	10	-0.133	0.302	(-0.725, 0.459)
抗-TP	全血	10	0.090	0.168	(-0.239, 0.419)
HBV DNA	全血	8	-0.619	1.242	(-3.054, 1.816)

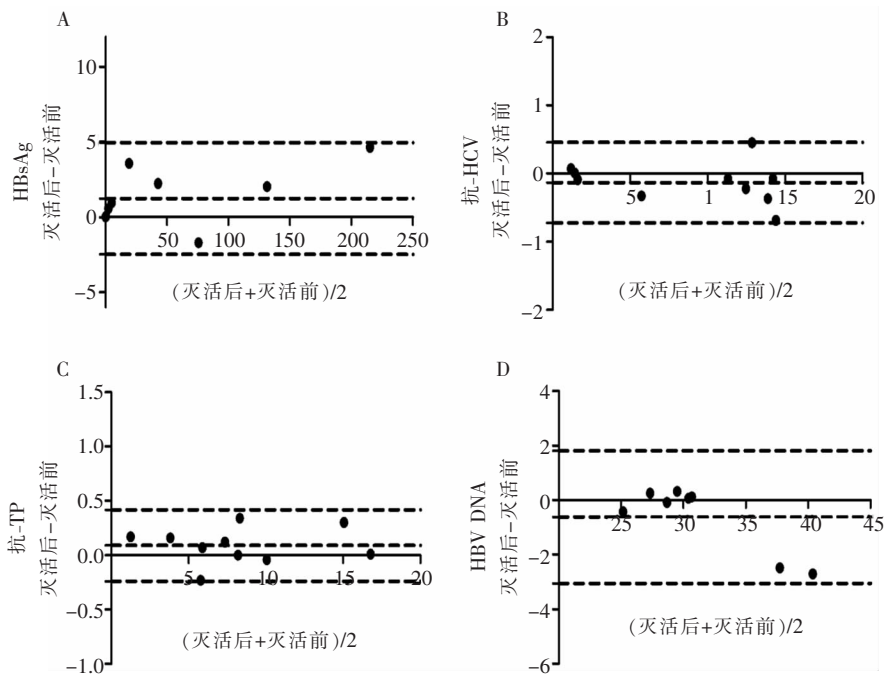
2.2 全血标本灭活对输血相关感染标志物检测的影响 全血标本 56℃ 加热 30 min 灭活前后 HBsAg、抗-HCV、抗-TP 和 HBV DNA 的结果如图 1 所示,采用配对 *t* 检验,热灭活前后每个指标比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。Bland-Altman 图分析见表 1 和图 3,所有的点均位于 95%LoA 上限与下限之间,符合至少 95%的点在 95%LoA 范围内,表明全血灭活前后输血相关感染标志物的水平一致性较好。



“- - - -”线从上至下依次为 95%LoA 上限、差值平均值和 95%LoA 下限。

图 2 血清热灭活前后输血相关感染标志物 Bland-Altman 图

Figure 2 Bland-Altman diagram of blood transfusion-related infection markers before and after heat inactivation of serum



“- - - -”线从上至下依次为 95%LoA 上限、差值平均值和 95%LoA 下限。

图 3 全血热灭活前后输血相关感染标志物 Bland-Altman 图

Figure 3 Bland-Altman diagram of blood transfusion-related infection markers before and after heat inactivation of whole blood

3 讨论

国家卫生健康委员会将 2019-nCoV 肺炎纳入法定传染病乙类管理,但采取甲类传染病的预防、控制措施。有报道表明,2019-nCoV 比 SARS-CoV、

中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)更具有传染性^[12-13]。为减少临床实验室医源性感染的发生,本研究对血清和全血标本加热灭活病毒,分析灭活前后输血相关感染标志物水平的差异,结果表明 56℃ 加热 30 min 灭活血清标本,检测 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP、HBV DNA 和 HCV RNA,

结果与灭活前无差异;56℃ 30 min 灭活全血标本,检测 HBsAg、抗-HCV、抗-TP 和 HBV DNA,结果与灭活前无差异,灭活前后具有较好的一致性。该热灭活的方法操作简单,仅需 56℃ 恒温水浴箱,可考虑作为一种减少实验室工作人员医源性感染的方法。

类似研究^[14-15]采用血清标本进行热灭活,但实践中分离 2019-nCoV 肺炎患者血清或血浆的操作有暴露的风险,故设计不分离患者血清,而直接采用全血进行 56℃ 热灭活的方法。全血热灭活时血标本内红细胞发生严重溶血,释放血红蛋白和细胞碎片,干扰试验结果^[16-18],故选用带分离胶的促凝管采集全血。血液分离胶是一种黏性流体,将标本离心后,分离胶在血清和细胞之间形成隔离层,该隔离层可以牢固的黏附在采血管内壁,阻止血清层与细胞层间的相互扩散^[19-20]。在分离胶的作用下,56℃ 热灭活造成的细胞溶血基本对试验结果没有干扰。本组试验结果证实,热灭活全血标本不会影响 HBsAg、抗-HCV、抗-TP 和 HBV DNA 的检测结果。相比于灭活血清标本,灭活全血标本操作更简单,而且减少了实验室工作人员暴露的风险,可考虑作为实验室工作人员防止医源性感染的首选方法。

开展输血相关感染标志物检测不仅能够区分患者是否为输血后感染经血传播疾病,还可以发现潜在的传染源,有助于医务人员加强操作隔离防护^[21]。在疫情期间,疑似或者确诊 2019-nCoV 感染患者需要检测输血相关感染性标志物,建议采用含分离胶的促凝管收集全血标本。血液凝固后离心,停止后等待不少于 15 min,待气溶胶自然沉降下来后打开离心机盖,用 75% 乙醇喷雾消毒^[22]。取出后不分离血清直接将全血 56℃ 热灭活 30 min,然后进行实验室检测。这样能够在病毒被灭活前最大程度减少实验室工作人员的暴露,减少医源性感染的发生^[23]。实际上,在 2019-nCoV 肺炎流行的时候,本院输血科一直采用热灭活的方法处理疑似或确诊患者的输血相关感染标志物标本,但由于其检测结果均为阴性,所以未纳入本研究。本研究还存在一些局限,新冠肺炎疫情发生后,一方面全国各地采取了交通管制、限制人员流动等管控措施;另一方面医院暂停了门诊和择期手术。导致未收集到抗-HIV、HCV RNA 和 HIV RNA 阳性的全血标本及 HIV RNA 阳性的血清标本,需要在以后继续收集样本。核酸具有良好的热稳定性,56℃ 热灭活后,病毒的酶活性、结构蛋白和膜结构遭到破坏,失去复制

能力,但是通过 PCR 的方法还能够检测到核酸物质^[24]。结合前面的试验结果,可以推测热灭活的方法也同样适用于 HIV RNA 和全血 HCV RNA 的检测,文献^[24-26]结果与此推测一致。此外,该方法有一定的限制性,如针对红细胞的实验室项目、血清酶学、凝血功能和补体检测不适合做热灭活,其他的实验室项目则需要进一步的验证。

[参 考 文 献]

- [1] Huang CL, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497-506.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 截至 2 月 21 日 24 时新型冠状病毒肺炎疫情最新情况[EB/OL]. (2020-02-22) [2020-02-25]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/yqtb/202002/543cc508978a48d2b9322bdc83daa6fd.shtml>.
- [3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知:国卫办医函[2020]145 号[EB/OL]. (2020-02-19)[2020-02-25]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [4] Zhang H, Kang Z, Gong H, et al. The digestive system is a potential route of 2019-nCoV infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes[J]. *bioRxiv*, 2020; 2020-2021.
- [5] Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(10): 929-936.
- [6] Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China[J]. *medRxiv*, February 09, 2020; 2020-2022.
- [7] Henwood AF. Coronavirus disinfection in histopathology[J]. *J Histotechnol*, 2020 Mar 1; 1-3. DOI:10.1080/01478885.2020.1734718.
- [8] Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, et al. Stability and inactivation of SARS coronavirus[J]. *Med Microbiol Immunol*, 2005, 194(1-2): 1-6.
- [9] Duan SM, Zhao XS, Wen RF, et al. Stability of SARS coronavirus in human specimens and environment and its sensitivity to heating and UV irradiation[J]. *Biomed Environ Sci*, 2003, 16(3): 246-255.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎防控方案(第五版)的通知:国卫办疾控函[2020]156 号[EB/OL]. (2020-02-21)[2020-02-25]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/a5d6f7b8c48e451c87dba14889b30147.shtml>.
- [11] 中国疾病预防控制中心新型冠状病毒肺炎应急响应机制流行病学组. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(2): 145-151.

- [12] Liu T, Hu J, Kang M, et al. Transmission dynamics of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) [J]. bioRxiv, January 26, 2020; 2020-2021.
- [13] Chan JF, Yuan S, Kok K, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster [J]. Lancet, 2020, 395(10223): 514-523.
- [14] Chong YK, Ng WY, Chen SP, et al. Effects of a plasma heating procedure for inactivating Ebola virus on common chemical pathology tests [J]. Hong Kong Med J, 2015, 21(3): 201-207.
- [15] 晓东, 廖昊, 刘妍, 等. 60℃加热 1 小时灭活病毒方法对常规临床检测指标的影响研究 [J]. 传染病信息, 2016, 29(3): 160-163.
- [16] 陈英剑, 胡成进, 齐法莲, 等. 溶血对荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 结果的影响 [J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2004, 25(6): 563-564.
- [17] 刘小敏, 唐恒锋, 李文郎, 等. 高脂血、溶血标本对荧光定量聚合酶链反应测定低水平 HBV-DNA 的影响 [J]. 检验医学与临床, 2015, 12(21): 3217-3218.
- [18] 王立军, 林丹丽, 王毅轩. 分析化学发光法检测梅毒螺旋体抗体的结果误差因素及解决办法 [J]. 中国实用医药, 2019, 14(7): 192-193.
- [19] 张丽萍, 罗啸秋, 白洪强. 血液分离胶制备研究现状及展望 [J]. 化工新型材料, 2013, 41(2): 7-8, 26.
- [20] 王永安, 吉本秋雄, 徐维家. 血清分离胶促凝采血管的理论基础及临床应用 [J]. 中国检验医学与临床, 2003, 4(3): F003-F004.
- [21] 李宁, 王家兴, 舒象武, 等. 102 175 例拟受血者输血感染性疾病血清标志物检出资料分析 [J]. 中国感染控制杂志, 2008, 7(6): 409-411.
- [22] 中国输血协会临床输血管理学委员会. 2019 新型冠状病毒肺炎防控期间临床输血血型血清学实验室生物安全防护指南(第一版) [EB/OL]. (2020-02-24) [2020-02-25]. <https://www.hnsrmyy.net/OfficeNewsDetail-20545.html>.
- [23] Ball MJ. Effect of two disinfectant treatments on laboratory analyses [J]. J R Soc Med, 1987, 80(8): 482-484.
- [24] Chantry CJ, Abrams BF, Donovan RM, et al. Breast milk pasteurization: appropriate assays to detect HIV inactivation [J]. Infect Dis Obstet Gynecol, 2006, 2006: 95938.
- [25] Pfaender S, Brinkmann J, Todt D, et al. Mechanisms of methods for hepatitis C virus inactivation [J]. Appl Environ Microbiol, 2015, 81(5): 1616-1621.
- [26] Giles M, Mijch A. Breast milk pasteurisation in developed countries to reduce HIV transmission. Do the benefits outweigh the risks? [J]. Infect Dis Obstet Gynecol, 2005, 13(4): 237-240.

(本文编辑:左双燕)

本文引用格式: 余宇奇, 刘琼, 周俭辉, 等. 热灭活对输血相关感染标志物的影响 [J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(6): 498-503. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20206436.

Cite this article as: SHE Yu-qi, LIU Qiong, ZHOU Jian-hui, et al. Effect of heat inactivation on blood transfusion-related infection markers [J]. Chin J Infect Control, 2020, 19(6): 498-503. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20206436.