· 论著 ·

献血者未鉴别反应性标本的 HBV 检测优化

——基于重复检测及不同原理 NAT 系统的交叉验证

张强[1] 周源[1] 张柳明[1] 原维宇[1] 陕柏峰[1] 李之烨[1] 窦丽霞[1] 褚爱春[1] 贺雪花[2]

(1. 太原市血液中心 太原市输血技术研究所,山西 太原 030024;2. 山西白求恩医院,山西 太原 030032)

摘要:目的 探讨采用不同原理核酸检测(NAT)系统重复检测并交叉验证的检测策略,以提高未鉴别反应性(NDR)标本中隐匿性 HBV 感染(OBI)的检出率。**方法** 选取太原市血液中心 2024 年 8 月—2025 年 5 月的 89 份 NDR 标本作为研究对象。所有标本均经 HBsAg ELISA 检测和罗氏系统(PCR 法)NAT;对所有 HBsAg-,MP-NAT+/ID-NAT-(NDR)的标本,进一步采用罗氏系统重复 ID-NAT 及基立福系统(TMA 法)dHBV 重复鉴别试验进行交叉验证,同时检测 HBV 血清学标志物,并经荧光定量 PCR 及巢式 PCR 测序分型确认。采用 NAT 单阳性率-窗口期比率模型评估罗氏单一系统实际应用的 HBV 输血残余风险,同时以理论推算方式评估假设基立福系统用于全体献血者单人份筛查时的残余风险水平。**结果** NDR 标本检出率为 0.99‰(89/90 115),与全国平均水平一致。89 份 NDR 标本中,4 份经巢式 PCR 确认为 HBV DNA+(病毒载量 15-20 IU/mL),其中 3 份基因型为 C1、1 份基因型为 B2。血清学标志物分析显示:NDR 标本中抗-HBc 阳性率达 24.7%(22/89),4 份 OBI 标本均为抗-HBc+标本(18.2%),且均未检出抗-HBs。单一 NAT 系统中,罗氏系统与基立福系统的初次献血者残余风险(RR_{FD})分别为 48.98/10^6 py 和 21.01/10^6 py,均高于其重复献血者残余风险(RR_{RD})15.23/10^6 py 和 9.80/10^6 py,但差异无统计学意义(P>0.05)。**结论** 实施重复检测联合不同原理 NAT 系统交叉验证,可有效提高低病毒载量 OBI 的检出率,减少漏检风险。

关键词:输血安全;隐匿性乙型肝炎;未鉴别反应性;双重检测策略;残余风险分析

中图分类号:R457 R446 R373.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2026)9-1223-08

DOI:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2026.09.009

Optimization of HBV detection in NDR samples from blood donors: cross-validation based on repetitive testing and NAT systems with different principles

ZHANG Qiang[1], *ZHOU Yuan*[1], *ZHANG Liuming*[1], *YUAN Weiyu*[1], *SHAN Baifeng*[1], *LI Zhiye*[1], *DOU Lixia*[1], *CHU Aichun*[1], *HE Xuehua*[2].

1. *Taiyuan Institute of Blood Transfusion, Taiyuan Blood Center, Taiyuan* 030024, *China*; 2. *Shanxi Bethune Hospital, Taiyuan* 030032, *China.*

Corresponding author: HE Xuehua, Email: 13593135976@163.*com*

Abstract: Objective To evaluate the effect of repeated testing combined with cross-validation using different principles of NAT systems on improving the detection rate of occult HBV infection (OBI) in HBsAg-negative/NDR samples. **Methods** A total of 89 NDR samples from the Taiyuan Blood Center between August 2024 and May 2025 were enrolled. All samples were tested for HBsAg by ELISA and subjected to NAT screening using the Roche system (PCR method). For all HBsAgnegative, MPNAT+/IDNAT(NDR) samples, further crossvalidation was performed using repeat IDNAT with the Roche system and the Grifols system (TMAbased) dHBV discriminatory assay; in addition, HBV serological markers were detected, and the results were confirmed by realtime quantitative PCR and nested PCR with sequencing genotyping. The NAT yield/window period ratio model was used to estimate the residual risk of HBV transfusion for the Roche single system in actual use, and the theoretical residual risk was calculated by assuming that the Grifols system was applied to individual screening of all blood donors. **Results** The detection rate of HBsAg-negative/NDR was 0.99‰ (89/90 115), consistent with the national average. Among the 89 NDR samples, 4 were confirmed as HBV DNA-positive by nested PCR (viral load 15 - 20 IU/mL), including 3 of genotype C1 and 1 of genotype B2. Serological analysis showed that the anti-HBc positivity rate in NDR samples was 24.7% (22/89); all 4 OBI samples were antiHBcpositive (18.2%) and none were antiHB-

基金项目:太原市“六个一批”专项行动(Z2024007)

第一作者简介:张强(1981-),男,副主任技师,Email:fengxing0316@qq.com;**通信作者:**贺雪花,Email:13593135976@163.com

spositive. In the single-NAT system, the residual risk for first-time donors (RR_FD) was 48. 98/10^6 person-years for the Roche system and 21. 01/10^6 person-years for the Grifols system, both higher than the corresponding residual risk for repeat donors (RR_RD: 15. 23/10^6 and 9. 80/10^6 person-years, respectively), but the differences showed no statistical significance (P>0. 05). **Conclusion** Implementing repeated testing combined with cross-validation using different principles of NAT systems can effectively increase the detection rate of low-viral-load OBI and reduce the risk of missed detection.

Key words: blood safety; occult hepatitis B; non-discriminated reactive; dual detection strategy; residual risk analysis

隐匿性乙型肝炎病毒感染(occult hepatitis B virus infection,OBI)是 HBV 持续感染的 1 种特殊类型,其核心特征为 HBsAg 持续阴性(HBsAg-),血清和/或肝组织中可检出低水平 HBV DNA(HBV DNA+,通常<200 IU/mL),可能伴有抗-HBc 阳性(抗-HBc+),且无典型肝炎临床症状[1-2]。全球献血者人群中,每年因 OBI 漏检导致的输血传播风险约为 3.1 例/百万[3]。我国华东地区献血者 OBI 检出率为 0.1%[4]。然而,现有以 HBsAg ELISA 联合核酸检测(nuclear acid testing,NAT)为主的筛查体系,对极低病毒载量标本及 S 区逃逸突变株的检出能力仍显不足。

目前采供血机构的 NAT 筛查策略主要有 2 种:1)基于聚合酶链式反应(PCR)技术,先通过多人份标本混合检测(minipool,MP),再对反应性结果进行单人份检测(individual donation,ID)明确反应性标本(如罗氏 Cobas® S201 系统);另 1 种基于转录介导的核酸扩增检测技术(TMA),首先通过联合检测模式进行单人份检测,反应性标本再配合特异性鉴别试剂进行鉴别试验(如基立福 Procleix Panther®系统)。上述 2 种 NAT 筛查策略均存在的初始检测反应性而后续检测无反应性的现象,定义为未鉴别反应性(non-discriminated reactive,NDR)[5]。这里需要指出,不同 NAT 平台对 NDR 的具体判定流程存在差异:基于 TMA 技术的基立福系统中,NDR 指联检反应性但鉴别试验阴性;而基于 PCR 技术的罗氏系统中,NDR 指混检反应性但拆分单检无反应性。本文所述 NDR 均采用后一定义。全国多中心研究显示,NDR 在全体献血者中的检出率约为 0.1%,且在高流行区 NDR 人群中 HBV DNA 阳性率可达 15%,成为 OBI 传播的潜在风险源[6-7]。

李梦凡等[8]采用 2 种 NAT 平台对 NDR 标本进行了大规模重复检测,发现首轮 2 个平台各检测 12 次(共 24 次)后,HBV DNA 确认率为 40.2%,2 轮累计检测后确认率仅升至 47.1%。该研究提示单纯增加重复检测次数存在效率瓶颈。在此基础上,本研究进一步关注不同原理 NAT 系统(PCR 与 TMA)在检出上的互补性,并引入巢式 PCR 作为独立确认方法,以评估有限次数重复检测联合交叉验证策略对 NDR 标本中 OBI 的检出价值。

1 对象

1.1 对象

选取 2024 年 8 月—2025 年 5 月太原市血液中心常规筛查的 90 115 份献血者标本中,初筛结果为 NDR 的 89 份标本作为研究对象。

1.2 试剂与仪器

ELISA 试剂:HBsAg 检测试剂盒(华大吉比爱公司,批号:20240101、20240403、20240705、20241108;伯乐公司,批号:4C0337、4F0340、4H0343);NAT 试剂:HBV DNA 检测试剂盒(罗氏公司,批号:K16745、K25198、M11245、M17104;基立福公司,批号:706740、707321、707682);CLIA 试剂:HBsAg 检测试剂盒(批号:1224151)、HBsAb 检测试剂盒(批号:1224101)、HBeAg 检测试剂盒(批号:1224091)、抗-HBe 检测试剂盒(批号:1224111)、抗-HBc 检测试剂盒(批号:1124121),均为迈克生物公司产品;HBV DNA 定量检测试剂盒[圣湘生物公司,批号:24020(内含 HBV DNA 国家标准品,批号:300022-201601)]。FAME 酶免分析系统、STAR 全自动加样仪(Hamilton 公司);Cobas® S201 核酸检测系统(罗氏公司);Procleix Panther®核酸检测系统(基立福公司);I3000 全自动化学发光分析仪(迈克生物公司);7500 实时荧光定量 PCR 仪(ABI 公司)。

1.3 方法

1.3.1 献血者标本检测流程

见图 1。

1.3.2 标本初筛检测

标本首先采用 2 个不同厂家的 HBsAg ELISA 试剂检测。ELISA 双试剂检测阳性标本判为不合格并淘汰;ELISA 双试剂检测阴性标本直接进行 NAT;ELISA 单试剂阳性标本同步进行 NAT 和 ELISA 双孔复试,ELISA 双孔复试阳性标本判为不

合格并淘汰。NAT 采用罗氏系统(PCR 法)进行 6 人份混检(MP-NAT),混检阴性标本对应的血液予以放行;混检反应性标本进行拆分单人份检测(ID-NAT)。拆分检测阳性标本判为不合格并淘汰;拆分检测阴性标本记为 NDR 标本(HBsAg-/MP-NAT+、ID-NAT-)。

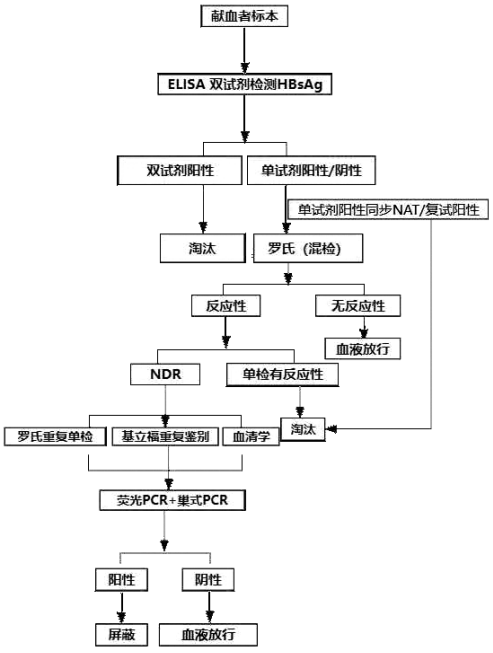


图 1 献血者标本检测流程图

Figure 1 Flowchart of blood donor sample testing

1.3.3 NDR 标本不同 NAT 系统重复检测

对 NDR 的标本进行重复罗氏系统 ID-NAT 和基立福系统 dHBV 重复鉴别试验(交叉验证)。每套系统各检测 2 次。罗氏系统 ID-NAT 和基立福系统 dHBV 鉴别试验任 1 结果为反应性,则立即对该份标本对应的血液实施拦截(不入库),无需等待确认检测结果。若任 1 确认检测结果为阳性,则对相应献血者实施永久屏蔽,报废对应血液;若所有确认检测结果均为阴性,则血液正常放行,后续对献血者随访观察。NDR 纳入标准为:MP-NAT+、全部 ID-NAT-,方将该混检池内的全部标本纳入研究。当最后 1 批混检池不足 6 人份时,系统通过调整加样方式确保检测正常进行,因此 NDR 总数并非必须为 6 的倍数。本研究所有 89 份 NDR 标本均符合上述标准。

1.3.4 NDR 标本确认检测

1.3.4.1 血清学标志物检测

采用化学发光法(CLIA)检测 HBV 血清学标志物(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc),试验操作与结果判读均按试剂盒说明书进行。

1.3.4.2 HBV DNA 病毒载量检测

采用实时荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 载量。使用 HBV DNA 国家标准品梯度稀释检测后制做标准曲线,HBV DNA 定量检测试剂盒检测下限为 10 IU/mL,线性范围为(20-5.64×10^8) IU/mL。

1.3.4.3 HBV DNA 扩增与基因分型

参照文献[9-10]方法采用巢式 PCR 扩增 HBV S 区和 BCP/PC 区。S 区引物序列为:第 1 轮外引物正向 S1-F 5'-CATCAGGATTCCTAGGACCCCT-3'(nt 168-189),反向 S3-R 5'-AGGACAAACGGGCAACATAC-3'(nt 478-458);第 2 轮内引物正向 S2-F 5'-CTTGTTGACAAGAATCCTCACA-3'(nt 214-235),反向 S4-R 5'-CCAACAAGAAGATGAGGCATA-3'(nt 442-420)。BCP/PC 区引物序列为:第 1 轮外引物正向 C5-F 5'-TCACCTCTGCCTAATCATC-3'(nt 1825-1843),反向 C7-R 5'-GAGGGAGTTCTTCTTCTAGG-3'(nt 2391-2371);第 2 轮内引物正向 C6-F 5'-TTCAAGCCTCCAAGCTGTGCC-3'(nt 1862-1882),反向 C8-R 5'-AGGAGTGCGAATCCACACTCC-3'(nt 2277-2267)。反应条件:95℃预变性 5 min;95℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 45 s,共 35 个循环;72℃终延伸 7 min。第 2 轮 PCR 以第 1 轮产物为模板,使用内引物,循环数减为 30 个。第 2 轮产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳鉴定、回收后,进行双向 Sanger 测序。测序结果通过 BLAST 与 GenBank 中已知 HBV 基因型参考序列(如登录号 AB033550、AB033556 等)比对。使用 MegAlign 软件进行序列同源性分析,同一基因型内序列变异<4%者判定为该型。

1.3.5 HBV 残余风险评估方法

采用 NAT 单阳性率-窗口期比率模型(NAT yield/WP ratio model)评估 HBV 输血传播残余风险(residual risk,RR)[11-12]。计算公式:$RR = WP_{NAT}/(WP_{HBsAg} - WP_{NAT}) \times (N_{WPNAT\ yield}/N_{donations}) \times 1\ 000\ 000$。RR:残余风险度,单位为人年(py),表述为每年每百万献血人次中可能发生输血传播 HBV 的估算次数;WP_{HBsAg}:HBsAg ELISA 检测窗口期,参照文献[13]报道参数为 59 d;WP_{NAT}:NAT 窗口期,根据检测模式确定:罗氏系统 MP-NAT 取 24.5 d[14],基立福系统 ID-NAT 取 18.5 nd[14-15]。窗口期比率:罗氏系统按 MP-NAT 取 0.71(对应其筛查阶段实际采用的 6 人份混检),基立福系统按 ID-NAT 取 0.46(假设其应用于全体献血者筛查的理论推算值)。为保守评估组合系统风险,当同一血站同时

采用 MP-NAT 与 ID-NAT 策略时，WP_{NAT} 统一按较长窗口期（24.5 d）计算；$N_{WPNAT\ yield}$：HBsAg-/HBV DNA+的献血者人次；$N_{donations}$：NAT 的总检测献血者人次。为评估初次献血者（first-time donor，FD）、重复献血者（repeated donor，RD）和全体献血者（total donor，TD）在不同 NAT 系统下的 HBV 输血传播 RR，分别计算各 NAT 系统的 $N_{WPNAT\ yield}$ 和 $N_{donations}$，进而推导出各检测体系对应的初次献血者残余风险（RR_{FD}）、重复献血者残余风险（RR_{RD}）及全体献血者综合残余风险（RR_{TD}）。率的 95% 置信区间（CI）基于泊松分布精确计算。

1.4　统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.5.1 进行统计学分析。计数资料以频数和百分比表示。RR_{FD} 与 RR_{RD} 比较采用 Fisher 精确检验（双侧）。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　献血者标本初筛检测情况

初筛共检测 90 115 份献血者标本，其中初次献血者标本 43 490 份（48.3%），重复献血者标本 46 625 份（51.7%）。共检出 HBsAg-/NDR 标本 89 份，检出率为 0.99‰。其中，初次献血者 NDR 检出率为 1.13‰（49/43 490），重复献血者 NDR 检出率为 0.86‰（40/46 625）。初次献血者 NAT 阳性率为 6.90/10 万（3/43 490），重复献血者 NAT 阳性率为 2.14/10 万（1/46 625）。

2.2　NDR 标本不同 NAT 系统重复检测结果

2 次重复检测罗氏系统检出 4 份反应性标本，基立福系统检出 3 份反应性标本（均在这 4 份标本中）。罗氏系统检出的 4 份反应性标本中有 1 份基立福系统检出为无反应性，见表 1。

表 1　NDR 标本不同 NAT 系统检出结果

Table 1　Comparison of detection results of different NAT systems for NDR samples

		反应性标本数	
		第 1 次	第 2 次
罗氏系统	ct≤36.5	0	0
	36.5<ct≤37.5	1	0
	37.5<ct≤38.5	2	0
	38.5<ct≤39	0	1
基立福系统	s/co≤5	0	0
	5<s/co≤10	1	0
	10<s/co≤15	1	0
	s/co>15	0	1

注：2 次检测罗氏系统均为 ID-NAT，基立福系统均为 dHBV 鉴别试验。

2.3　NDR 标确认检测结果

NDR 标本确认检测结果见表 2。所有标本 HBsAg 及 HBeAg 均为阴性。抗-HBc 总阳性（单独及联合阳性模式）率为 24.7%（22/89），单独抗-HBs 阳性率为 24.7%（22/89），5 项全阴占 50.6%（45/89）。4 份标本的病毒载量为 15-20 IU/mL，经巢式 PCR 扩增后测序，结果确认为 HBV DNA 阳性。3 份标本基因型为 C1、1 份标本基因型为 B2。4 份标本均为抗-HBc 阳性：2 份为抗-HBc+抗-HBe 双阳性，2 份为抗-HBc 单独阳性。4 份标本均为抗-HBs 阴性。4 份标本罗氏系统 ID-NAT 均呈反应性，基立福系统 dHBV 鉴别试验仅 3 份呈反应性（1 份无反应性标本为 HBcAb 单独阳性）。4 份标本对应的献血者中，3 名初次献血者，1 名虽为重复献血者，但献血间隔已超过 3 年。

表 2　NDR 标本确认检测结果

Table 2　Confirmatory detection results for NDR samples

		反应性标本数			
		罗氏系统 ID-NAT	基立福系统 dHBV 鉴别试验	巢式 PCR	荧光定量 PCR
血清学模式	抗-HBc+（n=4）	2	1	2	2
	抗-HBc+/抗-HBe（n=3）	2	2	2	2
	抗-HBc+/抗-HBs+（n=10）	0	0	0	0
	抗-HBc+/抗-HBe+/抗-HBs+（n=5）	0	0	0	0
	单独抗-HBs+（n=22）	0	0	0	0
	5 项全阴（n=45）	0	0	0	0
	合计（n=89）	4	3	4	4

2.4　HBV 输血传播残余风险评估模型结果

2 种 NAT 系统的 RR_{FD} 数值上均高于 RR_{RD}，但因 NAT 单阳性例数较少，经 Fisher 精确检验，差异均无统计学意义（均为 $P>0.05$）。基立福系统的理论 RR_{TD} 低于罗氏系统的实际 RR_{TD}。见表 3。

表 3　不同 NAT 系统献血者人群 HBV 输血残余风险比较

Table 3　Comparison of residual risk of HBV transfusion in blood donors under different NAT detection modes

	阳性标本数（FD/RD）	RR_{FD}（/10^6 py）（95% CI）	RR_{RD}（/10^6 py）（95% CI）	RR_{TD}（/10^6 py）（95% CI）	P
罗氏系统	4（3/1）	48.98（10.11-143.18）	15.23（0.39-84.86）	31.52（8.59-80.71）	0.35
基立福系统	3（2/1）	21.01（2.54-75.88）	9.80（0.25-54.60）	15.21（3.14-44.45）	0.61

3　讨论

3.1　NDR 标本检出情况及 OBI 存在的证实

本研究 NDR 标本检出率为 0.99‰，与全国平

均水平一致[6]。最终确认的 4 份 HBV DNA+标本病毒载量 15-20 IU/mL,均是罗氏系统重复 ID-NAT 呈反应性的标本。4 份标本中 3 份对应的献血者为初次献血者,1 份对应的献血者为重复献血者(献血间隔>3 年,属于长间隔重返献血者,表明其感染风险可能高于因定期筛查而具有低风险优势的活跃重复献血者)[16]。血清学分析显示 NDR 标本中抗-HBc 阳性率为 24.8%,且 4 例 OBI 均来自抗-HBc+标本,提示抗-HBc 可作为 NDR 标本中 OBI 风险排查的重要血清学指标[17]。

4 份经巢式 PCR 确认的 OBI 献血者标本,其血清学模式均为抗-HBc+/抗-HBs-(抗-HBs 滴度均低于检测下限,<2 mIU/mL),提示其处于无保护性抗体状态。这一模式具有重要的临床和输血安全提示意义。OBI 的形成是病毒与宿主复杂相互作用的结果,抗-HBc+/抗-HBs-状态可由以下 2 大核心机制解释:第一,病毒 S 区免疫逃逸突变(如 G145R)。有文献报道,sG145R 突变可明显降低 HBsAg 的表达,导致常规 ELISA 无法检出 HBsAg 且感染者难以产生有效的抗-HBs 应答[18]。本研究的测序数据主要用于基因分型鉴定,未对 S 区突变位点进行系统性分析,但上述文献证据为抗-HBc+/抗-HBs-状态的形成提供了合理的机制解释。第二,宿主免疫功能抑制或应答低下。在持续的免疫压力下,宿主无法建立有效的体液免疫应答来清除病毒,导致 HBV 以低水平复制状态持续存在[19]。

从输血安全角度看,单独抗-HBc+/HBV DNA+状态被认为可能具有传染性,而含有抗-HBs 的血液成分在免疫功能正常的受血者中未见传播证据,提示抗-HBs-是 OBI 传播的重要风险因素[20]。国内研究亦证实 HBsAg-合格献血者中,抗-HBs-人群存在较高的输血传播 HBV 风险[17]。因此,在 NDR 献血者的后续管理和归队评估中,应将抗-HBc+/抗-HBs-者作为重点观察人群,建议延长屏蔽期或采用更灵敏的 NAT 方法跟踪检测。

3.2 单一 NAT 系统的局限性及重复检测的价值

本研究中,罗氏系统通过 2 次 ID-NAT 检出反应性标本 4 份,而基立福系统 dHBV 鉴别试验检出其中 3 份。2 个系统检出结果的差异,可能源于以下几点原因:

首先,不同原理的 NAT 系统在检测性能上存在客观差异。既往研究已证实罗氏系统与基立福系统的 95%检出限(LOD)分别为 3.8 IU/mL 和 4.3 IU/mL,检测方法本身是影响检出率的重要因素[21]。罗氏系统采用 PCR 法,基立福系统采用 TMA 法,2 者在靶标区域、扩增效率和检测灵敏度方面有所不同。这一结果提示,2 个 NAT 系统在检测能力上并非简单的优劣之分,而更可能表现为对同 1 批标本的检出窗不完全重叠,存在互补性。

其次,混检模式的固有局限不容忽视。感染早期的携带者血浆中病毒 DNA 含量极低,其血浆分布遵循泊松分布规律,混检模式会因稀释效应而漏检低载量标本[22]。本研究中残余风险评估结果亦反映了这一影响:初筛阶段罗氏系统采用 6 人份混检,因稀释效应降低了低病毒载量标本的检出能力,窗口期相应延长至 24.5 d(窗口期比率 0.71);基立福系统若直接用于全体献血者筛查则可采用单人份检测,无稀释效应,检出能力更高,窗口期相应缩短至 18.5 d(窗口期比率 0.46)[12]。

尽管 2 个 NAT 系统检出结果有差异,但本研究的关键发现是:罗氏系统对 NDR 标本进行 2 次重复 ID-NAT 检出的 4 份 OBI 标本中,其中 1 份是第 2 次重复 ID-NAT 时才检出反应性。基立福系统亦有 1 份标本是在第 2 次重复 dHBV 鉴别试验时才检出反应性。有研究表明,当 HBV DNA 载量极低(如 15-20 IU/mL)时,其在标本中的分布遵循泊松分布规律,单次检测因泊松抽样误差可能导致“零模板”采样,漏检概率不可忽视;重复检测通过对标本进行多次独立取样,可提高低载量 HBV DNA 的捕获概率,从而增强 OBI 的检出能力。因此,该策略的必要性得以验证[23]。同时,基立福系统的交叉验证进一步确认了其中 3 份反应性标本,增强了检测结果的可靠性,体现了不同原理系统交叉验证的价值。因此,对 NDR 标本实施“重复检测+不同原理系统交叉验证”策略,可有效降低单一系统漏检风险,提高 OBI 标本的检出率。

李梦凡等[8]基于筛查平台重复检测(以累计反应性≥2 次为判定标准)的研究结果提示单纯依靠增加检测次数存在效率瓶颈。同时,该研究指出,NDR 标本中抗-HBc 阳性率高达 88.2%,补充抗-HBc 检测能最大程度地排除 OBI 风险;该研究亦采用定量方法检测抗-HBs,发现不能排除 HBV 感染的献血者中存在单独抗-HBs+者,且其抗-HBs 水平通常<200 IU/L,提示低水平抗-HBs 并不能完全排除 OBI 可能。本研究中 4 份标本经巢氏 PCR 确认均为抗-HBc+,且其抗-HBs 滴度均低于检测下限(<2 mIU/mL),与李梦凡等的结论相互印证——抗-HBc+(尤其是合并抗-HBs-或极低水平)是 NDR

标本中 OBI 的高危信号。

在此基础上,本研究发现,通过有限次数的重复检测(2 种 NAT 系统各最多 2 次)及不同原理 NAT 系统的交叉验证,即可从 NDR 标本中有效检出 OBI 者。该策略与抗-HBc 检测相结合,尤其对于抗-HBc+/抗-HBs-的 NDR 标本,可为 OBI 风险排查提供更可靠的确认依据,同时避免了大量重复检测带来的成本增加和效率下降问题。

3.3 重复检测联合交叉验证对降低残余风险的潜在价值

本研究基于 NAT 单阳性率-窗口期比率模型评估了不同检测系统的 HBV 输血残余风险。单一 NAT 系统中,罗氏系统与基立福系统的 RR_{FD} 均高于 $RR_{RD,}$ 但差异无统计学意义($P>0.05$),与国内外多数研究观察到的趋势一致[11,24]。尽管差异未达到统计学显著性,但数值上初次献血者残余风险更高,提示其可能是 HBV 感染的高危人群。重复检测联合交叉验证策略有助于识别潜在的漏检风险,其机制可能包括:1)不同原理 NAT 系统(PCR 与 TMA)的检出结果不完全重叠,存在互补性,联合应用可提高总检出率;2)双重检测增加了对低病毒载量标本的识别机会;3)对 NDR 标本的重复检测和交叉确认有效降低了假阴性率。

值得注意的是,本研究模型计算结果(罗氏 RR_{TD} 为 $31.52/10^6$ py 和基立福 RR_{TD} 为 $15.21/10^6$ py)与侯云等[12]对国内 35 家血站的研究结果(RR_{TD} 范围为 $273.55/10^6$–$1188.77.05/10^6$ py)相比明显偏低。本研究中确认的 4 名 OBI 献血者(病毒载量 15–20 IU/mL)中有 1 名为献血间隔超过 3 年的重复献血者,提示长间隔重返献血者可能具有较高的 HBV 残余风险,需要重点关注。

3.4 本研究的局限性与未来方向

本研究存在一定局限性:第一,标本仅来源于太原市血液中心 10 个月的数据,时间跨度及地域覆盖范围有限,后续可扩大样本量和采样周期。第二,基立福系统仅对 NDR 标本进行了检测,未对全体献血者独立平行筛查,其残余风险为理论推算值。此外,本研究中 NAT 单阳性例数较少(仅 4 例),导致初次献血者与重复献血者的残余风险差异无统计学意义($P>0.05$),统计效能不足,需扩大样本量进一步验证。第三,本研究因研究周期限制未对 NDR 献血者进行追踪随访,难以明确其 HBV DNA+是来源于急性感染的窗口期还是隐匿性感染状态,后续可结合随访数据进一步确定感染状态。第四,本研究对 4 份 OBI 标本的 Sanger 测序主要用于基因分型鉴定,研究设计之初未涵盖 S 区免疫逃逸突变位点的系统性分析。因此,讨论中关于 S 区突变的机制解释主要基于文献报道,而非本研究的直接数据。未来研究可通过靶向 S 区全序列测序或扩大样本量,进一步明确 OBI 献血者中病毒基因 S 区突变的谱系及其与血清学模式的关联。第五,本研究未对上述标本检测模式的经济可行性进行系统评估,重复检测所增加的试剂与人力成本尚待进一步核算,其与减少血液报废、避免输血传播风险的收益比较亦有待后续研究验证。

利益冲突说明/Conflict of Interests

所有作者均声明不存在利益冲突。

伦理批准及知情同意/Ethics Approval and Donor/Patient Consent

本研究已通过太原市血液中心伦理委员会审批[批准号:2026-09-18(IIT)];本研究纳入的所有献血者均已签署知情同意书。

作者贡献/Authors' Contribution

张强:研究设计、数据分析、论文撰写;周源、张柳明、原维宇:试验实施、数据收集和分析;陕柏峰、李之烨:试验实施、数据分析;窦丽霞、褚爱春:论文撰写、文献查找;贺雪花:研究指导、论文审核。

[参考文献]

[1] MINUK G Y, SUN D F, UHANOVA J, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American community based population[J]. JHepatology, 2005, 42(4): 480-485.

[2] HUANG L, He B, Mo Q, et al. Transfusion-transmitted occult hepatitis B virus infection: current understanding, challenges, and its implication in blood safety[J]. Front Immunol, 2025, 16:1663306.

[3] HARVALA H, REYNOLDS C, GIBNEY Z, et al. Hepatitis B infections among blood donors in England between 2009 and 2018: Is an occult hepatitis B infection a risk for blood safety[J]. Transfusion, 2021, 61(8): 2402-2413.

[4] 蒋菲菲,吕蓉,李敏,等. 华东地区献血者人群隐匿性乙型肝炎病毒感染及 S 区变异分析[J]. 中国输血杂志,2017,30(7):762-766.
JIANG F F, LYU R, LI M, et al. Study on prevalence and mutation of amino acid sequence in S gene of OBI blood donors in three blood centers in China[J]. Chin J Blood Transfusion, 2017, 30(7):762-766.

[5] 胡一钦,黄纪红,王敏,等. 乙肝酶免无反应而核酸未鉴别反应性结果分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2023,37(4):422-428.
HU Y Q, HUANG J H, WANG M, et al. Analysis of the results with hepatitis B seronegative and nucleic acid testing non-discriminated reactive[J]. Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology, 2023, 37(4):422-428.

[6] DENG X, GUO X, LI T, et al. Alternative hepatitis B virus DNA confirmatory algorithm identified occult hepatitis B virus infection in Chinese blood donors with non-discriminatory nucleic acid testing[J]. Blood Transfus, 2022, 20(1):8-17.

[7] LELIE N, VERMEULEN M, VAN DRIMMELEN H, et al. Direct comparison of three residual risk models for hepatitis B virus window period infections using updated input parameters[J]. Vox Sang, 2020, 115(3):133-145.

[8] 李梦凡,邓雪莲,臧亮,等. 血液核酸筛查平台的重复检测对 NAT NDR 确认的价值评估[J]. 中国输血杂志,2026,39(4):458-464.
LI M F, DENG X L, ZANG L, et al. Evaluation of repeated testing with blood screening platform in confirmation of NAT non-discriminatory reactive samples[J]. Chin J Blood Transfusion, 2026,39(4):458-464.

[9] CANDOTTI D, GRABARCZYK P, GHIAZZA P, et al. Characterization of occult hepatitis B virus from blood donors carrying genotype A2 or genotype D strains[J]. J Hepatol, 2008, 49(4):537-547.

[10] ESLAMI N, POORTAHMASEBI V, SADEGHI J, et al. Occult hepatitis B infection among hemodialysis patients in Tabriz, Northwest of Iran: prevalence and mutations within the S region[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2022, 2022:3838857.

[11] 黄敏,白林,卢长春,等. 血站核酸筛查模式对输血传播 HBV 残余风险影响的评估研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2022,36(4):429-435.
HUANG M, BAI L, LU C C, et al. Evaluation and study on the effect of nucleic acid testing in blood screening on the residual risk of transfusion transmitted HBV infection[J]. Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology, 2022, 36(4):429-435.

[12] 侯云,王振兴,鲍琳,等. 利用单阳性率窗口期模型评估 2019-2023 年我国 35 家血站应用不同核酸检测系统的血液 HBV 检测残余风险[J]. 北京医学,2025,47(8):685-690.
HOU Y, WANG Z X, BAO L, et al. Evaluation of residual risk for HBV in blood donations using different nucleic acid testing systems at 35 blood centers in China from 2019 to 2023 based on the NAT yield/WP Model[J]. Beijing Medical Journal, 2025, 47(8):685-690.

[13] 李英莲. 核酸检测技术在山东省济南地区献血者血液筛查中的应用效果[J]. 实用临床医药杂志,2020,24(15):8-10,13.
LI Y. Application efficiency of nucleic acid testing in blood screening of blood donors in areas of Ji´nan City in Shandong Province[J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2020, 24(15):8-10,13.

[14] WEUSTEN J, VERMEULEN M, VAN DRIMMELEN H, et al. Refinement of a viral transmission risk model for blood donations in seroconversion window phase screened by nucleic acid testing in different pool sizes and repeat test algorithms[J]. Transfusion, 2011, 51(1):203-215.

[15] DODD R Y, CROWDER L A, HAYNES J M, et al. Screening blood donors for HIV, HCV, and HBV at the American Red Cross:10-year trends in prevalence, incidence, and residual risk, 2007 to 2016[J]. Transfus Med Rev, 2020, 34(2):81-93.

[16] SCHREIBER G B, GLYNN S A, DAMESYN M A, et al. Lapsed donors: an untapped resource[J]. Transfusion, 2003, 43(1):17-24.

[17] 倪德群,王婷婷,王婷,等. HBsAg 不同状态下 NAT 反应性献血者血清学标志物特征分析[J]. 中国输血杂志,2023,36(1):69-72.
NI D Q, WANG T T, WANG T, et al. Characteristics analysis of HBV serological markers of NAT reactive blood donors under different HBsAg status[J]. Chin J Blood Transfusion, 2023, 36(1):69-72.

[18] 刘辉,刘新,娄金丽. HBV C 基因型有关的 HBsAg 阴性 HBV DNA 阳性患者 S 区突变对 HBsAg 的影响[J]. 标记免疫分析与临床,2024,31(4):727-731,747.
LI H, LIU X, LOU J L. Effect of S-region mutation on HBsAg in HBsAg negative HBV DNA positive patients associated with HBV C genotype[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2024, 31(4):727-731,747.

[19] LIU B, YANG H, LIAO Q, et al. Altered gut microbiota is associated with the formation of occult hepatitis B virus infection[J]. Microbio Spec, 2024, 12(7):e0023924.

[20] FU M X, FADDY H M, CANDOTTI D, et al. International review of blood donation screening for anti-HBc and occult hepatitis B virus infection[J]. Transfusion, 2024, 64(11):2144-2156.

[21] WU D, FENG F, WANG X, et al. The impact of nucleic acid testing to detect human immunodeficiency virus,

hepatitis C virus, and hepatitis B virus yields from a single blood center in China with 10-years review[J]. BMC Infectious Diseases, 2022, 22(1):279.

[22] HO H Y, DAI C Y, FENG I J, et al. Advances in rapid nucleic acid diagnostics for hepatitis B and C viruses:a comprehensive review[J]. Rev Med Virol, 2026, 36(2):e70110.

[23] DU R, GAO W, LI Z, et al. Comprehensive evaluation of NAT+/HBsAg-blood donors: confirmation strategies, serial testing outcomes, and S gene mutations associated with occult HBV infection[J]. BMC Infectious Diseases, 2025, 25(1):1349.

[24] BEYKASO G, AGDE Z D, GEBRE S, et al. Unrecognized transmission risks of occult hepatitis B virus infection among blood donors in Central Ethiopia[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2026,2026:3706202.

(2026-05-25 收稿,08-01 修回,08-24 接收)

本文编辑:闻欣

(上接第 1222 页)

LI R, LI Y R. Interference of endogenous antibody in clinical immunoassay and its countermeasure[J]. Chin J Lab Med, 2016,39(11):811-813.

[11] 刘香萍,汪小娟,李碧云. 乙型肝炎病毒表面抗原弱反应性标本的确认与分析[J]. 检验医学与临床,2009,6(22):1899-1900.
LIU X P, WANG X J, LI B Y. Confirmation and analysis of weak reactive hepatitis B surface antigen[J]. Lab Med Clin,2009,6(22):1899-1900.

[12] JOSE M, RODRIGD G, JUAN J. Stability of HCV, HIV-1 and HBV nucleic acids in plasma samples under long-term storage[J]. Biologicals,2005,33(1): 9-16.

[13] WANG Y P, YANG S W, JIA F, et al. Effect of concentration, temperature, and time on the stability of hepatitis C virus nucleic acid in serum[J]. Microbiol Spectr,2024,12(10):e0076924.

[14] KRAJDEN M, MINOR J M, RIFKIN O, et al. Effect of multiple freeze-thaw cycles on hepatitis B virus DNA and hepatitis C virus RNA quantification as measured with branched-DNA technology[J]. J Clin Microbiol,1999, 37(6):1683-1686.

[15] 尹云弟,李玲,孙玉娟,等. 不同储存条件和时间对 HCV RNA 检测结果的影响[J]. 中国输血杂志,2018,31(6):613-616.
YIN Y D, LI L, SUN Y J, et al. The effects of different storage conditions and testing time on the result of HCV RNA testing[J]. Chin J Blood Transfusion, 2018, 31(6): 613-616.

[16] 江雅平,李智慧,李志艳,等. 不同保存条件及反复冻融对血清 HCV 抗体检测的影响[J]. 检验医学,2021,36(10):1060-1063.
JIANG Y P, LI Z H, LI Z Y, et al. Effects of different storage conditions and repeated freeze-thaw cycles on the detection of serum HCV antibodies [J]. Lab Med,2021, 36(10):1060-1063.

(2026-06-01 收稿,06-10 修回,06-15 接收)

本文编辑:闻欣