

# 无偿献血者 ALT 水平异常与 HBI,OBI,HCI 和 OCI 的相关性研究

郭燕, 贺晨, 段勇, 现红斌, 张欢, 李锦 (陕西省血液中心, 西安 710061)

**摘要:** 目的 探讨无偿献血人群丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 水平异常与乙型肝炎病毒感染 (hepatitis B virus infection, HBI), 隐匿性乙型肝炎病毒感染 (occult hepatitis B virus infection, OBI), 丙型肝炎病毒感染 (hepatitis C virus infection, HCI), 隐匿性丙型肝炎病毒感染 (occult hepatitis C virus infection, OCI) 的相关性。方法 分析陕西省血液中心 2019 年 1~6 月 98 697 份血液标本 ALT, HBV, HCV 检测结果; 对其中 ALT 单项异常标本进行核酸检测 (nucleic acid testing, NAT)。此外, 收集 ALT 初筛不合格血样 125 份, 合格血样 112 份, 实验室检测 ALT, HBsAg 和抗-HCV, 分离外周血淋巴细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 并检测 HCV RNA。结果 98 697 份血液标本中 ALT 水平异常者 654 份, 其中 ALT 单项异常者 641 份, ALT 合并 HBsAg/抗-HCV 阳性 8 份, 仅占 ALT 异常者的 1.22%; HBsAg 阳性组, 抗-HCV 阳性组与对应阴性组的 ALT 异常率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); ALT 初筛不合格者 HBV, HCV 感染率高于 ALT 初筛合格者 (4.8% vs 0.86%) 和 ALT 复检不合格者 (4.8% vs 1.22%), 差异有统计学意义 ( $\chi^2=22.78, 7.61$ , 均  $P < 0.05$ ); 641 份 ALT 单项异常者 NAT 检测发现 HBV DNA 阳性一例; ALT 初筛不合格血样中的 119 例 ALT 单项异常者检出 OCI 一例, 112 例合格献血者未检出 OCI。结论 ALT 筛查献血者 OBI, HBI, HCI 及窗口期的意义并不大, ALT 对 OCI 筛查有一定意义。

**关键词:** 无偿献血者; 丙氨酸氨基转移酶; 乙型肝炎病毒感染; 丙型肝炎病毒感染; 隐匿性乙型肝炎病毒感染; 隐匿性丙型肝炎病毒感染

中图分类号: R457.12 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 02-018-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.02.006

## Investigating the Correlation of Abnormal ALT Level and HBI, OBI, HCI, OCI in Volunteer Blood Donors

GUO Yan, HE Chen, DUAN Yong, XIAN Hong-bin, ZHANG Huan, LI Jin

(Shaanxi Blood Center, Xi'an 710061, China)

**Abstract: Objective** To discuss the correlation of abnormal ALT level and hepatitis B virus infection(HBI), occult hepatitis B virusinfection (OBI), hepatitis C virus infection(HCI) and occult hepatitis C virusinfection (OCI) in volunteer blood donors. **Methods** The blood screening results of ALT, HBV and HCV of 98 697 blood donors from January to June 2019 were analyzed.NAT was conducted on ALT single unqualified donors. 125 and 112 samples that had abnormal and normal ALT level in preliminary screening were collected, ALT, HBsAg and anti-HCV were detected, peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were extracted and HCV RNA were detected. **Results** Among 98 697 donors, 654 were ALT abnormal, 641 were ALT single abnormal and 8(1.22%) were found to have unqualified results with both ALT and HBV/HCV markers.No statistically differences was found between hepatitis markers positive and negative groups( $P>0.05$ ). The positive rate of HBV/HCV was higher in ALT unqualified donors than qualified donors in ALT preliminary screening (4.8% vs 0.86%), and which was higher than the donors who were ALT unqualified in second test either (1.22%), the differences were statistically significant ( $\chi^2=22.78, 7.61$ , all  $P < 0.05$ ).one HBV DNA was detected in 641 ALT single abnormal donors, one OCI was detected in 119 ALT single abnormal blood donors and none was in 112 eligible blood donors. **Conclusion** It is meaningless to screen OBI, HBI or HCI and their window periods through ALT, but ALT screening is helpful to eliminate OCI.

**Keywords:**volunteer blood donors; ALT; HBI;OBI;HCI;OCI

丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 水平异常是肝脏损伤的敏感标志, 曾被当作筛选肝炎病毒, 尤其是丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染的替代指标, 一定程度上保障了

输血安全。随着酶免筛查试剂灵敏度的不断提高及核酸检测技术 (nucleic acid testing, NAT) 的广泛开展, 美英等发达国家以及我国港澳台地区, 在常规开展血液 NAT 后即取消了 ALT 检测<sup>[1]</sup>。ALT 虽

基金项目: 陕西省自然科学基金研究计划 (2015JM8393)。

作者简介: 郭燕 (1980-), 女, 医学博士, 副主任技师, 主要从事输血医学相关研究, E-mail: 20524988@qq.com。

通讯作者: 李锦 (1972-), 女, 理学硕士, 副主任技师, 主要从事输血医学相关研究, E-mail: 1105416391@qq.com。

然目前仍是我国《无偿献血健康体检要求》(GB18647-2011)规定的必检项目,但大量学者研究结果显示献血人群中ALT水平异常与HBV, HCV感染并无相关性<sup>[2-4]</sup>,认为取消ALT检测或提高ALT检测域可以有效降低献血者淘汰率和血液报废率。

然而,也有研究提示ALT对HCV检出有辅助作用,如CASTILLO等<sup>[5]</sup>在100例抗-HCV阴性,血清HCV RNA阴性,肝功能持续异常的患者中检测到HCV RNA,命名为“隐匿性丙型肝炎病毒感染(occult hepatitis C virus infection, OCI)”<sup>[6]</sup>;LIN等<sup>[6]</sup>在113例ALT水平异常献血者中检出9例(7.96%)OCI,对照组并未检出。ALT水平异常与献血人群HBV, HCV感染是否相关? ALT对OCI献血者是否有筛查作用?本文针对上述问题开展研究,现报告如下:

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 98 697份血液标本来自陕西省血液中心2019年1~6月初筛合格的无偿献血者,男性61 814人,女性36 883人,年龄18~60周岁。此外,随机选择2019年7~9月初筛合格的无偿献血者112例,ALT初筛>50U/L的无偿献血者125例,男性176例,女性61例,年龄18~60周岁。每个献血者同时留取3管标本(EDTA-K<sub>2</sub>抗凝真空管),2管用于血型、酶联免疫检测和外周血淋巴细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)提取,1管用于核酸检测。本研究经陕西省血液中心医学伦理委员会批准,所有参与研究的献血者均自愿签署知情同意书。

1.2 试剂和仪器 HBsAg,抗-HIV-1和抗-HIV-2,抗-HCV,抗-TP检测试剂盒分别购自北京万泰,美国伯乐,珠海丽珠,上海科华和意大利索灵公司;PBMCs提取和HCV RNA检测试剂包括天津灏洋人PBMCs分离液(LTS1077-1);先锋生物RNAfast1000总RNA提取试剂盒(RN03);PromegaGoScript™逆转录试剂盒(A5001)。实验仪器包括olympus AU640全自动生化分析仪;Hamilton Fame全自动酶免分析仪;COBAS S 201核酸检测系统;ABI 2720 PCR仪;BIO RAD GelDoc EZ凝胶成像系统。

## 1.3 实验方法

1.3.1 血液检测:陕西省血液中心对无偿献血者血液样本采用献血前初筛和实验室检测两个步骤。初筛项目包括Hb, HBV, HIV, ALT( $\leq 50$ U/L为合格),合格者继续完成献血,不合格者延缓/停止献血。实验室则采用两个不同厂家酶联免疫检测试剂对HBsAg,抗-HIV-1和抗-HIV-2,抗-HCV,

抗-TP进行两轮检测,ALT采用速率法进行1次检测(ALT复检),任一项目阳性者视为不合格,无需进行NAT检测。合格样本采用COBAS S 201核酸检测系统(6样本混样模式,6×167μl)继续进行HCV, HIV, HBV核酸检测,有反应性的混样池进行拆分试验,鉴定出阳性标本。

1.3.2 PBMCs分离提取:从3ml外周血中分离PBMCs,严格参照说明书操作,血液自采集至PBMCs收集不超过6h。分离的PBMCs经500μl 1×PBS洗涤两遍后加入500μl细胞冻存液,立即冻存于-80℃冰箱,每管细胞数为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 。

1.3.3 HCV RNA提取和检测:PBMCs 37℃迅速融化,500μl 1×PBS洗涤两次,细胞总RNA提取及cDNA合成严格按照试剂盒说明书进行。Nested PCR检测HCV RNA 5'非编码区<sup>[6]</sup>,两轮PCR引物分别是F1: 5'-CTGTGAGGAACTACTGTCT-3'(nt45~63), R1: 5'-GTGCACGGTCTACGAGACCT-3'(nt321~302); F2: 5'-GAAAGCGTCTAGCCATGGCGT-3'(nt71~91), R2: 5'-CCCTATCAGGCAGTACCACAA-3'(nt301~281)。4μl cDNA为模板,反应条件为95℃ 3min; 95℃ 30s, 58℃ 30s, 72℃ 30s; 72℃ 8min, 40个循环,第二轮PCR吸取4μl第一轮PCR产物为模板,扩增条件相同。

慢性丙型肝炎患者PBMCs HCV RNA阳性标本;抗-HCV阴性且血浆及PBMCs HCV RNA阴性标本;ddH<sub>2</sub>O分别作为阳性、阴性和空白对照以排除污染。目的产物230bp,切胶回收后送金唯智生物技术有限公司测序。

1.4 统计学分析 应用SPSS19.0统计学软件对实验数据进行分析,计数资料运用 $\chi^2$ 检验,均数组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 无偿献血者ALT, HBV, HCV检测结果 98 697份血液标本中ALT水平异常者654份(0.66%),其中ALT单项水平异常641份(98.01%);ALT异常并发HBsAg阳性5份,占ALT不合格总数的0.76%(5/654);ALT异常并发抗-HCV阳性3份,占ALT不合格总数的0.46%(3/654);ALT并发肝炎病毒标志物阳性者,仅占ALT不合格标本的1.22%(8/654)。HBsAg单项阳性388份(0.39%),抗-HCV单项阳性448份(0.45%)。

2.2 肝炎病毒标志物阳性组与阴性组ALT异常率比较 见表1。HBsAg阳性组和阴性组,抗-HCV阳性组和阴性组的ALT异常率差异均无统计学意义( $\chi^2=2.23, 0.00$ , 均 $P>0.05$ )。HBsAg阴性组、抗-HCV阴性组ALT均值高于对应阳性组,差异无



统计学意义 ( $t=0.662, 0.282$ , 均  $P>0.05$ )。

表1 肝炎病毒标志物阳性组与阴性组

ALT 均值及异常率比较

组别	n	$\bar{x} \pm s$ (U/L)	异常率[n (%)]
HBsAg 阳性组	393	$51.88 \pm 0.62$	5 (1.27)
HBsAg 阴性组	98 304	$56.14 \pm 14.38$	649 (0.66)
抗-HCV 阳性组	451	$53.8 \pm 1.54$	3 (0.67)
抗-HCV 阴性组	98 246	$56.12 \pm 14.36$	651 (0.67)

2.3 ALT 初筛不合格献血者 HBV, HCV 感染率及 ALT 水平比较 见表2。125 例初筛 ALT 不合格的无偿献血者 HBsAg 阳性组 ALT 水平小于 HBsAg 阴性抗-HCV 阴性组, 抗-HCV 阳性组 ALT 大于 HBsAg 阴性抗-HCV 阴性组, 组间比较差异均无统计学意义 ( $t=0.527, 1.396$ , 均  $P>0.05$ )。ALT 初筛不合格者 HBV/HCV 感染率 (4.8%, 6/125) 大于 ALT 初筛合格者 (0.86%, 844/98 697) 和复检 ALT 不合格者 (1.22%, 8/654), 差异有统计学意义 ( $\chi^2=22.78, 7.61$ , 均  $P<0.05$ )。

表2 ALT 初筛不合格献血者 HBV, HCV 感染率[n (%)] 及 ALT 水平 ( $\bar{x} \pm s$ , U/L) 比较

组别	感染率	ALT
HBsAg+	3 (2.46)	$64.73 \pm 13.96$
抗-HCV+	3 (2.46)	$149.47 \pm 94.71$
HBsAg- 抗-HCV-	119 (95.20)	$73.05 \pm 27.13$

2.4 NAT 检测结果 酶免及 ALT 检测均合格样品中, NAT 检出 HBV DNA 阳性 46 份 (0.05%, 46/96 585); ALT 单项异常的样品 NAT 检出 HBV DNA 阳性 1 份 (0.16%, 1/641), 两组 HBV DNA 检出率差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.98, P>0.05$ )。收集的 125 例 ALT 初筛单项不合格样品, 酶免检测排除 HBV, HCV 阳性后, 剩余 119 例样品和 112 份 ALT 初筛合格样品 NAT 检测结果均为阴性。

2.5 无偿献血者中 OCI 筛查结果 119 例 ALT 单项异常者 PBMCs 中检出 1 例 HCV RNA 阳性, 112 例合格献血者 PBMCs 中未检出 HCV RNA。

### 3 讨论

ALT 是病毒性肝炎的一项非特异性检测指标, 除病毒性肝炎、肝硬化、肝癌、药物性肝炎等病理因素外, 与年龄、体重、饮酒、剧烈运动、疲劳、药物服用等非病理因素也有一定相关性<sup>[7]</sup>。我们的检测结果显示, ALT 初筛合格的无偿献血人群中 ALT 水平异常与 HBV, HCV 感染并无关联性。然而, 由于初筛往往会排除 ALT 较高的献血者, 只利用 ALT 初筛合格样品作为研究对象存在一定局限性。本研究中, 初筛 ALT 不合格样品的 HBsAg/ 抗-HCV 阳性率 (4.8%) 高于 ALT 初筛合格献血者 (0.86%)

及 ALT 复检不合格者 (1.22%), 一定程度上体现了 ALT 初筛对于防止血液资源浪费的必要性。此外, 对不同组别 ALT 均值分析说明, HBV/HCV 检出与一定范围内的 ALT 水平并无严格的关联性, 如何设定更合理的献血人群 ALT 检测限来体现 ALT 与 HBV/HCV 相关性, 需要多中心, 大样本检测数据的不断积累和探索。

NAT 具有较高的敏感度和特异度, 可缩短病毒检测的“窗口期”, 能有效检出隐匿性乙肝病毒感染 (occult hepatitis B virus infection, OBI)。OBI 是一种特殊的 HBV 感染形式, 基本特征为血清 HBsAg 阴性而肝细胞/血清 HBV DNA 阳性, 通常血清中 HBV DNA 滴度  $\leq 200$  IU/ml<sup>[8]</sup>。ALT 单项异常标本可检出 HBV DNA, 说明 HBV 感染者 ALT 水平异常出现的时间可能早于 HBsAg 阳转时间; 而酶免和 ALT 检测均合格的血液标本可检出 HBV DNA, 说明 HBV DNA 的出现早于 ALT 水平异常时间。可见 NAT 已能发现 HBV 前期感染或者 OBI, 绝大多数 ALT 水平异常者被误排除。

OCI 是一种特殊的 HCV 感染形式, 仅能在患者肝组织和/或外周血淋巴细胞中检测到 HCV RNA, 而血浆/血清中 HCV RNA 阴性<sup>[9]</sup>。OHCV 具有 HCV 相似的传染性<sup>[10]</sup>, 可能与肝脏坏死性炎症活动及纤维化相关<sup>[5]</sup>。采供血机构现行的 ELISA 和 NAT 技术并不能检出 OCI, 是输血安全面临的潜在风险。由于 OCI 可表现为抗-HCV 阴性、血清 HCV RNA 阴性、仅肝功能异常的临床状态<sup>[11]</sup>, ALT 水平异常对 OCI 检出可能有一定的辅助作用。本研究在 ALT 单项不合格献血者 PBMCs 中检出 OCI, 合格献血者未检出 OCI, 一定程度上证明了 ALT 对 OCI 的筛查作用。

综上所述, 在酶免和 NAT 双重检测制度普及下, ALT 筛查 OBI, HBV, HCV 及其窗口期的意义并不大。然而, 由于 ALT 初筛不合格献血者 HBV/HCV 感染率远高于初筛合格者, ALT 对 OCI 具有一定的筛查作用, 对其他已知或未知肝炎病毒乃至肝脏疾病可能具有一定的辅助诊断作用, 目前简单取消献血者 ALT 这一经济实惠的筛查方法并不合适。如何在减少血液浪费和保障血液安全之间取得理想平衡是值得每一个采供血机构认真思考并不断探讨的命题。

### 参考文献:

- [1] 季阳, 王迅, 郑忠伟, 等. 重新评估献血者 ALT 检测的意义[J]. 中国输血杂志, 2009, 22 (7): 521-522.
- JI Yang, WANG Xun, ZHENG Zhongwei, et al. Reassessment the significance of ALT detection in blood donors[J]. Chinese Journal of Blood Transfusion,

- 2009, 22(7): 521-522.
- [2] 周艳, 李晶, 冯卓, 等. 结合核酸检测探讨 ALT 与 HBV、HCV 相关性[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(1): 51-52.  
ZHOU Yan, LI Jing, FENG Zhuo, et al. Study on the correlation between ALT, HBV and HCV considering nucleic acid detection[J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2013, 26(1): 51-52.
- [3] 程玉根, 梁启忠, 掌友湖. 献血者血液筛查中 ALT 与 HBV, HCV 的相关性研究[J]. 临床输血与检验, 2014, 16(1): 64-65.  
CHENG Yugen, LIANG Qizhong, ZHANG Youhu. Study on the correlation between ALT, HBV and HCV in blood screening of blood donors[J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2014, 16(1): 64-65.
- [4] 陈锦艳, 黄伯全, 黎世杰, 等. 开展 HBV 和 HCV 检测条件下献血者 ALT 筛查意义的探讨[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(6): 669-671.  
CHEN Jinyan, HUANG Boquan, LI Shijie, et al. Investigation on the significance of ALT screening in volunteer blood donors under the condition of performing HBV/HCV nucleic acid testing[J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2015, 28(6): 669-671.
- [5] CASTILLO I, PARDO M, BARTOLOMÉ J, et al. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2004, 189(1): 7-14.
- [6] LIN Hong, CHEN Xian, ZHU Shaowen, et al. Prevalence of occult hepatitis C virus infection among blood donors in Jiangsu, China[J]. Intervirology, 2016, 59(4): 204-210.
- [7] ZHENG Larang, LI Xiaoyan. Blood test strategy of blood donors, ALT and HBsAg, HCV-Ab correlation study[J]. Minerva Medica, 2019, 110(1): 18-26.
- [8] 郭燕, 蔡斌, 段勇, 等. HBsAb 阳性隐匿性乙型肝炎病毒感染 HBV PreS-S 区基因突变研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(4): 16-20.  
GUO Yan, CAI Bin, DUAN Yong, et al. Study on PreS-S gene mutation of HBV in occult hepatitis B virus infected persons with positive HBsAb[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(4): 16-20.
- [9] CARREÑO V. Occult hepatitis C virus infection: a new form of hepatitis C[J]. World Journal of Gastroenterology, 2006, 12(43): 6922-6925.
- [10] CASTILLO I, BARTOLOMÉ J, QUIROGA J A, et al. Hepatitis C virus infection in the family setting of patients with occult hepatitis C[J]. Journal of Medical Virology, 2009, 81(7): 1198-1203.
- [11] DE MARCO L, MANZINI P, TREVISAN M, et al. Prevalence and follow-up of occult HCV infection in an Italian population free of clinically detectable infectious liver diseases[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43541-e43550.  
收稿日期: 2020-01-06  
修回日期: 2020-01-30
- 
- (上接 14 页)
- [7] YADAV M K, MANOLI N M, MADHUNAPANTULA S V. Comparative assessment of vitamin-B12, folic acid and homocysteine levels in relation to p53 expression in megaloblastic anemia[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0164559.
- [8] BRIANI C, DALLA TORRE C, CITTON V, et al. Cobalamin deficiency: clinical picture and radiological findings[J]. Nutrients, 2013, 5(11): 4521-4539.
- [9] BITO T, MISAKI T, YABUTA Y, et al. Vitamin B12 deficiency results in severe oxidative stress, leading to memory retention impairment in *Caenorhabditis elegans*[J]. Redox Biol, 2017, 11: 21-29.
- [10] DARDIOTIS E, ARSENIU S, SOKRATOUS M, et al. Vitamin B12, folate, and homocysteine levels and multiple sclerosis: A meta-analysis[J]. Mult Scler Relat Disord, 2017, 17: 190-197.
- [11] GANGULY P, ALAM S F. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease[J]. Nutr J, 2015, 14(1): 6.
- [12] 吴曼莉, 赵敏, 袁媛. 妊娠期高血糖患者血浆同型半胱氨酸水平和脐动脉血流参数改变的相关性[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3): 96-98, 103.  
WU Manli, ZHAO Min, YUAN Yuan. Correlation analysis of homocysteine and changes in umbilical arterial with color doppler ultrasound with gestational diabetes mellitus[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(3): 96-98, 103.
- [13] 韩振, 杨莉. 中老年人尿酸水平检测与血清脂类及同型半胱氨酸水平的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(6): 77-79.  
HAN Zhen, YANG Li. Correlation between uric indicant level and serum lipids and homocysteine levels in middle-aged and elderly persons[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(6): 77-79.
- [14] 彭玉凤, 张扬南, 黄常洪, 等. 鼻咽癌患者血清同型半胱氨酸水平与临床病理特征的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2): 115-118.  
PENG Yufeng, ZHANG Yang'nan, HUANG Changhong, et al. Correlation analysis between serum homocysteine level of nasopharyngeal carcinoma patients and clinical pathological features[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(2): 115-118.
- [15] 段侠霞, 陈英, 沈德华, 等. 儿童及青少年精神分裂症患者血清同型半胱氨酸、叶酸水平与 PANSS 评分的关系研究[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1): 104-106.  
DUAN Xiaxia, CHEN Ying, SHEN Dehua, et al. Correlation study between serum homocysteine, folic acid levels and PANSS score in children and adolescents patients with schizophrenia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(1): 104-106.  
收稿日期: 2019-12-03  
修回日期: 2019-12-25