

· 调查报告 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.03.030

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201204.1716.021.html\(2020-12-05\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201204.1716.021.html(2020-12-05))

布鲁氏菌经血传播的潜在风险研究*

李美霖¹,李琳琳¹,王 侠²,李天君³,王 鹏¹,张会颖¹,张燕华^{1△}

(1.北京市通州区中心血站,北京 101100;2.河北省张家口市中心血站 075300;

3.国家卫生健康委员会科学技术研究所,北京 101100)

[摘要] **目的** 调查北京部分地区健康献血人群布鲁氏菌病感染情况,探究布鲁氏菌病经血传播的潜在风险。**方法** 选取 2019 年 4—12 月北京市通州区中心血站采集的大兴、平谷、顺义、通州、朝阳地区健康献血者的血液标本 2 657 份,采用虎红平板试验(RBPT)初筛,试管凝集试验(SAT)对布鲁氏菌抗体进行检测,并对两种方法阳性的标本应用 ELISA 检测。**结果** 2 657 份健康献血者血液标本中,布鲁氏菌病阳性 4 例(0.15%),凝集程度均为“++”。SAT 阳性 4 例(0.15%),3 例血清效价大于或等于 1:100(+++),1 例血清效价大于或等于 1:200(++++) ,其中 SAT 及布鲁氏菌病双阳 2 例。SAT 另检出 22 例可疑标本,血清效价大于或等于 1:50(++)。ELISA 阳性标本 1 例(0.04%),光密度(A)值为 120.0,浓度为 470.875 ng/L。SAT 阳性及可疑标本中女性多于男性,牧区多于其他地区,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 布鲁氏菌病存在经血传播的潜在风险。

[关键词] 布鲁杆菌病;血液传播;虎红平板试验;试管凝集试验;酶联免疫吸附测定

[中图分类号] R826.2+6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)03-0491-04

Study on the potential risk of transfusion-transmitted brucellosis*

LI Meilin¹,LI Linlin¹,WANG Xia²,LI Tianjun³,WANG Peng¹,ZHANG Huiying¹,ZHANG Yanhua^{1△}

(1. Beijing Tongzhou Center Blood Station, Beijing 101100, China; 2. Zhangjiakou

Center Blood Station, Zhangjiakou, Hebei 075300, China; 3. Institute of Science and Technology,

National Health and Family Planning Commission, Beijing 101100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the prevalence of brucellosis among healthy blood donors in some areas of Beijing, and preliminary explore the potential risk of transmission of brucellosis. **Methods** Selected 2 657 healthy donors, collect by Tongzhou District blood center from April to December 2019. Rose bengal plate agglutination test (RBPT) and standard tube agglutination test (STAT) were used to detect brucella antibody, and positive samples of the two methods were detected by ELISA. **Results** In 2 657 samples, RBPT was positive in 4 cases (0.15%), degree of aggregation are “++”. SAT was positive in 4 cases (0.15%), 3 cases with SAT titer $\geq 1:100$ (+++), 1 case SAT titer $\geq 1:200$ (++++) , including 2 cases of SAT/RBPT positive. The other 22 cases detected by SAT were suspicious samples, SAT titer $\geq 1:50$ (++) . One cases with ELISA positive (0.04%), optical density (A)=120.0, the concentration is 470.875 ng/L. Among SAT positive and suspicious samples, female>male, pastoral areas>other areas, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Brucellosis has the potential risk of transfusion-transmitted.

[Key words] brucellosis; blood transmission; rose bengal plate agglutination tests; agglutination tests; enzyme-linked immunosorbent assay

* 基金项目:北京市通州区卫生和计划生育工作委员会项目(北京市通州区“两高”人才工程专项基金:2017B0400247);北京市通州区卫生发展科研专项(TWKY-2016-QN-03-26);河北省张家口市科技计划项目(1521085D)。 作者简介:李美霖(1981—),主管检验师,硕士,主要从事血型血清学及输血研究。 △ 通信作者, E-mail: wzl040616@163.com。

布鲁氏菌病是由布鲁氏杆菌引起的一种人畜共患慢性传染病,是《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病^[1]。布鲁氏杆菌是革兰阴性兼性细胞内寄生细菌,可通过消化道、呼吸道和接触传播等多种途径侵入人体淋巴结并在其内寄生繁殖形成病灶,细胞破裂入血,经血播散,血液中的细菌留在淋巴结、肝、脾和骨髓等处,继而出现多发性病灶,常累及多个器官,病程较长,反复发作,不易愈合,严重者丧失劳动和生活能力^[2-3]。近年来随着布鲁氏菌病的增多,出现多例输血传播感染布鲁氏菌病的病例^[4],使其成为输血传播疾病中一个潜在的危险源。北京献血者多为周边地区外来人口,山西、内蒙古、河北是我国布鲁氏菌病发病的重点疫区,密云、平谷、昌平、怀柔等区布鲁氏病感染率也呈增加趋势^[5]。为调查北京部分地区健康献血人群布鲁氏菌病感染情况,了解布鲁氏菌病经血传播的潜在风险,本研究对 2 657 份健康献血者血液标本布鲁氏菌病感染情况进行了调查和分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源

选择 2019 年 4—12 月北京市通州区中心血站采集的大兴、平谷、顺义、通州、朝阳 5 个区 2 657 份健康献血者血液标本为研究对象,留取乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血浆 1 mL,4 ℃ 保存后于第 2 天进行布鲁氏菌抗体检测。

1.1.2 试剂与仪器

虎红平板试验(RBPT)和试管凝集试验(SAT)抗原、阴阳性对照血清(均由赛诺利康生物技术有限公司提供,所有试剂均在有效期内),凝血酶时间(TT)测定试剂盒(上海太阳生物技术有限公司,批号 121167),人布鲁氏菌抗体 IgG 酶联免疫分析试剂盒(森贝伽生物科技有限公司,批号 201810),0.5%苯酚(西陇科学股份有限公司,批号 190614),0.9%生理盐水(石家庄四药有限公司,批号 1905243201)。全自动酶标仪(奥地利,型号 Zenyth340),37 ℃ 恒温水浴箱(北京市医疗设备厂,型号 BHW-IV)。

1.2 方法

1.2.1 血清学检查

参照 WS269-2007《布鲁氏菌病诊断标准》进行试验操作和结果判断。

1.2.2 RBPT

检出的抗体是 IgG 类,RBPT 必须使用人血清进

行检测,为消除 EDTA-K₂ 抗凝剂对试验结果的干扰,参照文献^[6]在血浆标本中 1:1 加入 TT 测定试剂,(37±1)℃ 孵育 1 h,待血浆凝固去除 Fg 后,用微量加样器枪头挤压凝块后 3 000 r/min 离心 5 min,吸出上清液 30 μL 进行 RBPT。结果判定:用“+”表示凝集程度,即++++、+++、++、+。

1.2.3 SAT

主要用于检测布鲁氏菌 IgM 类抗体。效价:以产生 50%凝集的(凝集程度++)血清最高稀释倍数为受检血清的效价;确认标准:≥1:100(+++)为阳性,≥1:50(++)为可疑。

1.2.4 ELISA

RBPT 和 SAT 两种方法阳性的标本采用双抗原夹心法测定标本中布鲁氏菌 IgG 抗体水平,严格按照试剂盒说明书操作,使用酶标仪在 450 nm 波长下测定光密度(A)值,通过标准曲线计算标本中人布鲁氏菌 IgG 抗体浓度。Cut-off 值为 0.990。正常人浓度为 100~398 ng/L。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件进行数据分析,计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RBPT 检测结果

RBPT 阳性 4 例(0.15%),凝集程度均为“++”。

2.2 SAT 检测结果

SAT 阳性标本中女性比男性多,牧区比其他地区多,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。SAT 阳性 4 例(0.15%),3 例血清效价大于或等于 1:100(+++),1 例血清效价大于或等于 1:200(+++),其中 SAT 及 RBPT 双阳 2 例。SAT 另检出 22 例可疑标本,血清效价大于或等于 1:50(++)。

表 1 26 例 SAT 阳性及可疑标本献血者资料统计

项目	总数(n)	阳性数[n(%)]	χ^2	P
性别			18.649	0.00
男	1 848	8(0.43)		
女	809	18(2.22)		
民族			0.027	0.087
汉族	2 540	25(0.98)		
少数民族	117	1(0.85)		
年龄			4.550	0.208
18~<26 岁	879	13(1.48)		

续表 1 26 例 SAT 阳性及可疑标本献血者资料统计

项目	总数(n)	阳性数[n(%)]	χ^2	P
26~<36 岁	970	7(0.72)	9.551	0.002
36~<46 岁	469	2(0.43)		
46~<56 岁	339	4(1.18)		
地区				
牧区	306	8(2.61)		
其他地区	2 351	18(0.77)		

2.3 ELISA 检测结果

检测出阳性标本 1 例(0.04%), A 值为 120.0, 浓度为 470.875 ng/L。标准品浓度及 A 值见表 2, 标准曲线见图 1。

表 2 标准品浓度及 A 值

标准品	浓度(ng/L)	A 值
S1	120	110.940
S2	80	89.293
S3	40	51.623
S4	20	19.162
S5	10	7.218

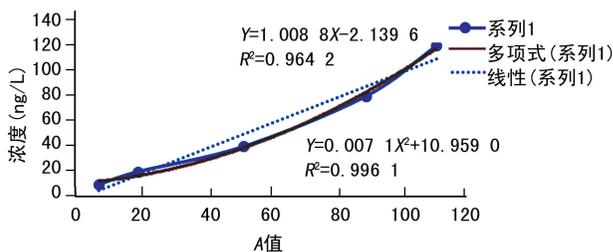


图 1 ELISA 标准曲线

2.4 3 种方法检出阳性标本结果比较

2 657 份健康献血者血液标本中, RBPT 检出 IgG 类抗体阳性 4 例, SAT 检出 IgM 抗体阳性 4 例, 其中 IgM 及 IgG 双阳 2 例, SAT 效价均大于或等于 1 : 100(++++)。ELISA 检测出 IgG 抗体阳性标本 1 例, 浓度为 470.875 ng/L, 此例标本 SAT 效价大于或等于 1 : 200(++++), RBPT 结果为阴性, 见表 3。

表 3 3 种方法检出阳性标本结果比较

标本序号	RBPT	SAT	ELISA(ng/L)
1	++	阴性	150.721
2	++	阴性	107.487
3	++	1 : 100(++++)	75.018
4	++	1 : 100(++++)	78.179
5	阴性	1 : 200(++++)	470.875
6	阴性	1 : 100(++++)	109.054

3 讨 论

布鲁氏菌病主要通过食用未经高温消毒的牛奶和奶制品的消费者传播, 有研究报道高浓度布鲁氏菌感染菌血症具有较高的输血传播风险。1994—1995 年墨西哥血站的 18 490 名献血者中, 有 317 名(1.71%)布鲁氏菌阳性。ANTONIO 等在 1999 年提出布鲁氏菌抗体阳性及无症状者均不应参加献血。2014 年, MOHAMMED 等^[7]报道苏丹献血者中布鲁氏菌阳性占 15.3%, 而苏丹血液中心的献血者健康检查中并未包括布鲁氏杆菌感染的风险。美国食品药品监督管理局(FDA)为减低输血风险, 强调应对潜在感染布鲁氏病者进行献血前健康征询。我国《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)规定布鲁氏菌病愈未两年暂时不能献血, 但尚未将布鲁氏菌检测列入献血者血液筛查项目。

自 20 世纪 50 年代中期以来, 中国人布鲁氏菌病疫情经历了多次高低起伏, 给国民健康带来了危害, 而且影响畜牧业的发展。国内关于献血人群布鲁氏菌病筛查的报道较少, WANG 等^[8]对来自新疆喀什地区的 3 896 名献血者进行布鲁氏菌病筛查, RBPT 检测出 135 例(3.5%)阳性标本, 经 PCR 基因测序 15 例为确认阳性, 同时对来自深圳地区的 399 名献血者进行布鲁氏菌病筛查, 未筛查出阳性病例。本研究结果显示, 北京部分地区健康献血者经献血前征询均无流行病学及临床表现, SAT 阳性及可疑标本女性比例多于男性, 牧区比例多于其他地区, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在北京大兴、平谷、顺义、通州、朝阳 5 个区 2 657 份健康献血者血液标本中, RBPT 检出 IgG 类抗体阳性 4 例, SAT 检出 IgM 抗体阳性 4 例, 其中 IgM 及 IgG 双阳性 2 例, SAT 效价均大于或等于 1 : 100(++++)。ELISA 检测出 IgG 抗体阳性标本 1 例, 浓度为 470.875 ng/L, 此例标本 SAT 效价大于或等于 1 : 200(++++), RBPT 结果为阴性。本次血清学检测结果显示, IgM 抗体阳性提示为急性感染期, IgG 阳性者多提示慢性感染或既往感染, 血液进行保密性弃血处理。由于布鲁氏菌病的发生、发展和转归比较复杂, 临床表现多种多样, 因此对人布鲁氏菌病的诊断还应结合患者流行病学接触史、临床表现和实验室检查。如果布鲁氏菌抗体阳性献血者隐瞒流行病学或临床表现不明显, 很容易造成输血感染布鲁氏菌病的风险。

近年来, 由于新发人畜共患病如疯牛病、寨卡病毒等出现人因输血感染的病例, 世界卫生组织和 FDA

均制订了血液行业相关病毒检测法规和推荐意见。我国政府于 2016 年 3 月发布重新修订的《血站技术操作规程(2015 版)》明确了国家和省级卫生计生行政部门规定的地方性、时限性输血相关传染病标志物可纳入血液检测的范围。目前,布鲁氏菌病已在我国 25 个省(直辖市)流行,在牧区尤为严重^[9-11]。血清学诊断是布鲁氏菌病诊断最常用的手段, RBPT 为初筛试验,阳性者采用 SAT 确诊^[12-13]。本研究使用的 3 种方法检出率分别为 0.15%、0.15%、0.04%。RBPT 和 SAT 灵敏度相同,高于 ELISA。RBPT 和 SAT 操作简单,费用较少,但均为手工法,不适合献血人群大规模初筛。ELISA 更符合采供血机构实际工作需要,但仍需综合采用多种检测方法对布病进行鉴定,这样才能提高诊断的准确性^[14-15]。

综上所述,为降低输血性传播疾病的风险,应对潜在感染布鲁氏菌病的献血者进行严格的健康征询,并于布鲁氏菌病流行区域开展布鲁氏菌的血液筛查,对保障血液安全有重要意义。

参考文献

- [1] 卫生部. 全国人间布鲁氏菌病监测方案[S]. 北京:卫生部,2005.
- [2] 任清明,汪春晖,杨义军,等. 布鲁氏菌病的流行特点与防治对策[J]. 中华卫生杀虫药械,2020,26(2):97-102.
- [3] 董益闻,郭文洁. 布氏杆菌病的临床诊断与防控策略[J]. 今日畜牧兽医,2020,36(4):19.
- [4] 冀国霞,袁芳,李泽园. 青州市 2011—2014 年布鲁氏菌病疫情的分析[J]. 微生物学免疫学进展,2016,44(3):54-56.
- [5] 陈永亮,王小梅,郑兰紫,等. 北京市密云区 2013—2017 年布鲁氏菌病流行特征及调查结果分析[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2020,31(1):100-104.
- [6] 苏良,欧新华,张如胜,等. 虎红平板凝集试验检测人血浆布氏菌抗体干扰来源分析及处理对策[J]. 现代预防医学,2014,41(24):4486-4488.
- [7] MOHAMMED A H A, YOUSIF F H E. Sero-prevalence of brucellosis among Blood donors in Khartoum State[D]. Sudan: Sudan University of Science and Technology, 2014.
- [8] WANG W, LIAO Q, WU X, et al. Potential risk of blood transfusion-transmitted brucellosis in an endemic area of China [J]. Transfusion, 2015, 55(3): 586-592.
- [9] 林代华,韩腾伟,肖方震,等. 福建省 2004—2018 年人间布鲁氏菌病疫情特征及防控对策[J]. 海峡预防医学杂志,2020,26(2):1-3.
- [10] 贯长辉,王吉顺,杨年忠. 浙江省台州市椒江区 2011—2018 布鲁氏菌病监测结果分析[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2020,31(3):350-352.
- [11] 王舒,陈宝宝,范锁平,等. 2008—2018 年陕西省人间布鲁氏菌病流行特征分析[J]. 中国人兽共患病学报,2020,36(6):491-495.
- [12] 曹付龙. 不同凝集方法对人间布鲁氏菌检测的影响[J]. 检验检疫学刊,2020,30(2):21-23
- [13] 张国庆,刘恩才,韩福强,等. 实时荧光定量 PCR 方法在布鲁氏菌病诊断中应用[J]. 疾病监测与控制杂志,2019,13(1):34-36.
- [14] 陈俊杰,王占军,杨晓雯,等. 外周血淋巴细胞布鲁氏菌核酸 DNA 检测的实验研究[J]. 疾病监测,2020,35(5):421-424.
- [15] 丁雪,王岩,刘丽蓉,等. 布鲁氏菌病检测和防治方法研究进展[J]. 中国动物检疫,2019,36(5):43-48.

(收稿日期:2020-03-18 修回日期:2020-08-02)