

· 实验研究 ·

爱尔眼库角膜供体血清学检测结果分析

龙文秀 杨丽红 徐婕 何圣玉 李绍伟 王丛香 王科华 冉茹秋 唐建

410015 长沙,中南大学爱尔眼科学院(龙文秀、何圣玉);410015 长沙爱尔眼科医院(杨丽红、王丛香、王科华);610041 成都康桥爱尔眼科医院(徐婕、冉茹秋、唐建);100021 北京爱尔英智眼科医院(李绍伟)

通信作者:李绍伟,Email:shaoweili2005@vip.163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.05.006

【摘要】 目的 对长沙爱尔眼库和成都康桥爱尔眼库共 640 例角膜供体血清学检测结果进行分析,评价角膜供体的安全性。**方法** 对 2011 年 1 月至 2015 年 12 月长沙爱尔眼库和成都康桥爱尔眼库角膜捐献者的血清学检测结果进行回顾性分析,采用胶体金法或酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎病毒(HCV)、梅毒螺旋体(TP)和人免疫缺陷病毒(HIV)。**结果** 640 例角膜捐献者中有 83 例传统病血清学检测结果阳性,阳性率为 12.97%。其中,60 例角膜供体 HBsAg 阳性(占 9.38%),3 例角膜供体 HCV 抗体阳性(占 0.47%),11 例角膜供体 TP 抗体阳性(占 1.72%),2 例角膜供体 HIV 抗体阳性(占 0.31%),3 例角膜供体 HBsAg 和 HCV 抗体同时阳性,2 例 HCV 抗体和 TP 抗体同时阳性,1 例角膜供体 HBsAg 和 HIV 抗体同时阳性,1 例角膜供体 HBsAg 和 TP 抗体同时阳性。**结论** 血液传染病检测结果阳性比例较高,对角膜受体以及眼库工作者都是一个潜在的威胁。因此,对角膜供体进行严格的血清学检测非常重要。

【关键词】 角膜供体;血清学检测;乙型肝炎表面抗原;安全性

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2017JJ2001);爱尔眼科医院集团科研基金项目(AM164D05)

Analysis of the serological testing results from Aier Eye Bank Long Wenxiu, Yang Lihong, Xu Jie, He Shengyu, Li Shaowei, Wang Congxiang, Wang Kehua, Ran Ruqiu, Tang Jian

Aier School of Ophthalmology, Central South University, Changsha 410015, China (Long WX, He SY); Changsha Aier Eye Hospital, Changsha 410015, China (Yang LH, Wang CX, Wang KH); Chengdu Cambridge Eye Hospital, Chengdu 610041, China (Xu J, Ran RQ, Tang J); Beijing Aier Intech Eye Hospital, Beijing 100021, China (Li SW)

Corresponding author: Li Shaowei, Email: shaoweili2005@vip.163.com

[Abstract] Objective This study was to evaluate the safety of 640 corneal donors by analysing the serological testing results. **Methods** We retrospectively analyzed the serological testing results from Changsha Aier Eye Bank and Chengdu Kangqiao Aier Eye Bank from January 2011 to December 2015, hepatitis B virus surface antigen (HBsAg), hepatitis C virus (HCV), treponema pallidum (TP) and human immunodeficiency virus (HIV) were detected by colloidal gold or enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** There were 83 out of 640 serum samples showed positive immuno-reaction assayed markers, the positive rate was 12.97%, including HBsAg ($n=60, 9.38\%$), HCV ($n=3, 0.47\%$), TP ($n=11, 1.72\%$) and HIV ($n=2, 0.31\%$). Moreover, 3 corneal donors were both positive against HBsAg and HCV, 2 donors positive against HCV and TP, 1 donor positive against HBsAg and HIV, 1 donor positive against HBsAg and TP. **Conclusions** There is a high proportion of positive results of blood-borne diseases in cornea donors, which is a potential threat to corneal receptors and eye bank workers. Therefore, it is very important to detect serological test strictly for corneal donors.

[Key words] Corneal donors; Serological testing; Hepatitis B virus surface antigen; Safety

Fund program: Hunan Natural Science Foundation Project (2017JJ2011); Aier Eye Hospital Group Foundation Project (AM164D05)

眼库的主要任务是收集、筛选、处理和保存捐献者角膜,为角膜移植手术提供安全、高质量的角膜供体材料。目前已经证实狂犬病和乙型肝炎会通过角膜移植传播导致受体死亡^[1-2]。其他传染性疾病,如梅毒、丙

型肝炎、获得性免疫缺陷综合征等也有可能通过供体传播。这些疾病会严重威胁受体的健康和生命,因此保证供体组织的安全性至关重要。目前,我国眼库现代化发展刚刚起步,尤其应该重视角膜供体的安全性

检测。本研究中对长沙爱尔眼库和成都康桥爱尔眼库 2011 年 1 月至 2015 年 12 月的角膜供体血清学检测传染病的结果进行回顾性分析,以了解眼库中角膜供体传播传染性疾病的风险。

1 材料与方法

1.1 材料

收集长沙爱尔眼库和成都康桥爱尔眼库 2011 年 1 月至 2015 年 12 月 640 例角膜供体的全部血清学检测资料,分析眼库供体禁忌证中的严重传染性疾病,包括乙型肝炎病毒表面抗原 (hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)、丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 抗体、梅毒螺旋体 (treponema pallidum, TP) 抗体及人免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) I/II 型抗体化的阳性率。

1.2 方法

以捐献者去世前 1 个月内所在医院的化验报告单为依据;捐献前未做检测或无合格检测资料的捐献者于去世前采集肘静脉或去世后 24 h 内采集锁骨下静脉血送至长沙爱尔眼科医院或成都康桥眼科医院检验科检查。长沙爱尔眼库 276 例角膜捐献者的乙型肝炎的检测采用胶体金法,丙型肝炎、梅毒和获得性免疫缺陷综合征的检测采用酶联免疫吸附测定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 检测试剂盒分别为 HBsAg 诊断试剂盒、TP 抗体诊断试剂盒、HIV 抗体诊断试剂盒和 HCV 抗体诊断试剂盒 (珠海丽珠试剂股份有限公司)。成都康桥爱尔眼库 364 例角膜捐献者的血清学检测均采用 ELISA 法,诊断试剂盒为 HBsAg 诊断试剂盒、TP 抗体诊断试剂盒、HIV 抗体诊断试剂盒和 HCV 抗体诊断试剂盒 (厦门英科新创科技有限公司)。其中,长沙爱尔眼科医院检验科初筛的 7 例梅毒阳性和 3 例 HIV 阳性的血清标本未进行二次确认,均做阳性处理。成都康桥眼科医院检测的 7 例梅毒可疑阳性的血清标本再送至四川大学华西医院检验科进行二次确认 (其检测试剂由成都艾迪康生物检测公司提供)。所有操作均按生产厂家所附的操作说明书进行。对所有供体角膜采集前的体表检查、性别、死亡原因、年龄和职业等相关情况进行分析。

2 结果

2.1 角膜供体的体表检查及血清学检测

640 例角膜供体均无传染病高危因素,其尸体体表检查均未发现感染病灶和纹身图案,无毒品注射后留下的针眼痕迹。血清学检测结果发现,640 例角膜

捐献者中有 83 例传染病血清学检测结果阳性,阳性率为 12.97%。其中,60 例角膜供体 HBsAg 阳性 (占 9.38%),3 例角膜供体 HCV 抗体阳性 (占 0.47%),11 例角膜供体 TP 抗体阳性 (占 1.72%),2 例角膜供体 HIV 抗体阳性 (占 0.31%),3 例角膜供体 HBsAg 和 HCV 抗体同时阳性,2 例 HCV 抗体和 TP 抗体同时阳性,1 例角膜供体 HBsAg 和 HIV 抗体同时阳性,1 例角膜供体 HBsAg 和 TP 抗体同时阳性。血清学检测结果阳性的角膜均按生物危险品处理,不用于手术和教学。

2.2 不同性别捐献者中传染病阳性捐献者的比例

从性别比例来看,所有捐献者中男性 408 例,传染病阳性捐献者 61 例,阳性率为 14.95%。女性 232 例,传染病阳性捐献者 22 例,阳性率为 9.48%。

2.3 角膜捐献者死亡原因

角膜捐献者死亡原因的关系如表 1 所示,其中在恶性肿瘤阳性供体中,HBsAg 阳性率为 78.31% (65/83),肝癌的 HBsAg 阳性率为 100% (15/15)。

表 1 角膜捐献者的死亡原因分布 [n(%)]

死亡原因	总捐献者	血清学阳性捐献者
恶性肿瘤	288 (45.00)	40 (48.19)
心脑血管疾病	117 (18.28)	12 (14.46)
意外死亡	68 (10.63)	9 (10.84)
其他原因	167 (26.09)	22 (26.51)
总计	640 (100.00)	83 (100.00)

2.4 血清学检测结果阳性与年龄的关系

83 例血清学检测为阳性的角膜捐献者中,年龄为 13~92 岁,平均 (48.49±17.91) 岁。其中,HBsAg 阳性捐献者在各个年龄段均有分布,40 岁以上者占 73%。TP 阳性捐献者也集中在 40 岁以上,占 90.91%。HCV、HIV 阳性捐献者年龄为 20~30 岁。

2.5 阳性捐献者职业分布

将捐献者的生前职业分为居民、农民、工人、干部、学生及学龄前儿童和其他职业,其职业分布情况如表 2 所示,结果显示血清学检测阳性捐献者中学生及学龄前儿童的阳性率最低,其他各种职业阳性率的差别不十分明显。

表 2 血清学检测结果阳性捐献者的职业分布

职业	总例数	阳性例数	阳性率 (%)
居民	130	13	10.00
农民	128	23	17.97
工人	81	8	9.88
干部	27	6	22.22
学生及学龄前儿童	105	1	0.95
其他	169	32	18.93
总计	640	83	12.97

注:其他:其他职业或职业不详

3 讨论

角膜移植可能传播多种传染性疾病,已经有相关文献明确报道,狂犬病和乙型肝炎可以通过角膜移植传播^[1-2],研究还表明 HCV 通过角膜移植使受体感染的可能性非常大^[3],其他疾病虽未明确报道,但并非说明不会传播,可能是因为目前条件难以检测,或者未做相关的检测。眼库的重要职责之一就是提供安全、合格的供体组织,我国眼库对于角膜供体传染病监测指标标准尚不统一^[4],因此,眼库对于供体的严重传染性疾病必须严格检测。

本研究中调查的 2 个眼库都是国家批准的标准眼库,在供体采集之前均进行了严格的病史等筛查,已经排除了明显的传染病高危供体。但是从本研究统计的 2 个眼库的化验结果可以看出,这些角膜捐献者常见传染病的患病率为 12.97%,与以前报道的 8.8%^[5]、12.84%^[6]相比有所增加。而这一比例还是在眼库已经预先排除了供体有高危因素的情况下,如果在筛查角膜供体前未做相关病史的采集,而是将所有可获取的供体角膜均纳入眼库,其阳性率将会更高,传播疾病的风险将更大。因此对角膜供体进行血液化验的工作必不可少,这对保护眼库工作人员和角膜受体的安全至关重要。

目前对供体材料检测的方法有很多,国内眼库主要采用血清免疫学方法。长沙爱尔眼库和成都康桥爱尔眼库采用的是胶体金法和 ELISA,胶体金免疫层析法检测的最大优点是操作简单、快速、方便,但由于胶体金显色需要较高浓度的标志物,故其灵敏度会受到一定限制^[7];ELISA 法具有很高的灵敏度和特异性,不仅可以对 HBV 进行定性检测,还能够进行半定量测定^[8],但是 ELISA 法在传染病检测准确性的影响因素有很多,如反应速度、反应时间、加样控制、洗涤是否彻底等,而且该方法检测步骤较多,所需时间较长,因此,对检测人员的技术要求较高,选择有经验的检测员是减少误差的关键。另外,角膜供体在感染 HBV 和 HCV 最初约 82 d 内无法检测到抗体,被称为窗口期,ELISA 法检测角膜供体 HBV 和 HCV 筛选存在窗口期假阴性问题,用此期间的角膜供体移植仍然可造成角膜移植接受者的感染^[9]。而实时荧光定量 PCR 检测的窗口期仅约为 14 d,可以显著降低假阴性率^[10-11],PCR 技术还具有检测灵敏度高、快速、可定量、多位点检测、成本低廉、易于推广等优点,可作为今后传染病检测的新方法。

在这些传染病检测阳性的供体中,HBsAg 阳性率

最高,高达 9.38%。值得注意的是,在肝癌捐献者中 HBsAg 阳性率达 75% (15/20),阳性供体中的肝癌捐献者均为 HBsAg 阳性。全国乙型肝炎血清流行病学调查表明,中国人群 HBsAg 携带率为 7.18%^[12-13]。本研究中眼库供体 HBsAg 阳性率为 9.38%。HBsAg 阳性率高的原因与我国 HBsAg 阳性携带者比例高有关,另外也与本研究中眼库目前不得不采用一些肝癌等肿瘤患者供体的情况有关。众所周知,乙型肝炎、肝硬化与肝癌的发病密切相关,所以我们不仅要关注肝癌捐献者 HBsAg 的阳性率,也要关注肝炎和肝硬化捐献者的血清学检测。

本研究中两家眼库的第二大传染病检出率是梅毒,共 11 例(占 1.72%) TP 阳性供体被检测到。据 WHO 统计,世界每年仍有 1 200 万的梅毒新发病例,且 90% 以上发生在发展中国家^[14],是危害人类健康和生命的主要性传播疾病之一。中国的梅毒发病率近年有上升趋势,应引起注意。本研究中 30 岁以上的年龄组中均发现 TP 阳性者,且 3 例 TP 抗体阳性捐献者合并 HCV 抗体、HBsAg 阳性,因此梅毒血清学检测应该作为眼库的常规检测,发现 TP 抗体阳性时也不应忽视对其他常见传染病病毒学的检测。

丙型肝炎是本研究中检测到的另一个严重传染性疾病,其预后较乙型肝炎更差。本组供体中,HCV 抗体阳性捐献者占 0.47%,丙型肝炎易与其他传染性疾病共存,在爱尔眼库近 5 年的角膜捐献者中,HCV 与 HBV、TP 同时阳性的捐献者占所有阳性捐献者的 6.02%。

获得性免疫缺陷综合征是一种现代医学尚无法治愈的疾病,尽管没有证据证明可以通过角膜移植传播,但是不能保证其不会传播。国家卫生健康委员会(原国家卫生和计划生育委员会)在 2013 年 9 月 30 日公布数据显示,中国现存活 HIV 感染和获得性免疫缺陷综合征患者约有 43.4 万例。本研究眼库中也检测到 2 例 HIV 阳性供体,1 例 HIV 阳性捐献者同时伴有 HBsAg 阳性,说明获得性免疫缺陷综合征的威胁已经不容忽视。这 3 例供体年龄均为 20~30 岁并意外身亡,这也可能与年轻人吸毒、多个性伴侣等原因有关,这些病史在筛查中并没有发现,也没有发现相关体征,因此在对 HIV 的检测中,除了常规检查外,血清学检测至关重要,尤其对于青壮年捐献者应该重点关注。

本研究中还注意到,640 例捐献者中恶性肿瘤死亡者 288 例,占 45%,为最常见的死因;传染病阳性供体中也是恶性肿瘤患者占比最高,占 48.12%,其中,36 例供体 HBsAg 阳性,HBsAg 阳性率高达 90%

(36/40)。在这些恶性肿瘤中,肝癌数量最多,占 37.50% (15/40),且肝癌供体均为 HBsAg 阳性。由此可以看出,恶性肿瘤供体的阳性率达 13.89% (40/288),肝癌最多,达 5.21% (15/288),其次为肺癌,占 2.43% (7/288)。因此,对于一些肿瘤供体,尤其是肝癌和肺癌,应该谨慎使用。另外,男性阳性率比女性高 5.47%。在职业分类上,本研究结果显示血清学检测阳性捐献者中学生及学龄前儿童的阳性率最低,其他各种职业阳性率的差别不十分明显。

总之,从目前眼库血清学检查,中国角膜供体筛查过程中乙型肝炎、梅毒、获得性免疫缺陷综合征等严重传染病检出率较高,其中以乙型肝炎为主,应该引起大家的重视,提高警惕,严格实施血清学检测,保证眼库供体的安全性。

参考文献

[1] Javadi MA, Fayaz A, Mirdehghan SA, et al. Transmission of rabies by corneal graft [J]. *Cornea*, 1996, 15(4): 431-433.

[2] Hoft RH, Pflugfelder SC, Forster RK, et al. Clinical evidence for hepatitis B transmission resulting from corneal transplantation [J]. *Cornea*, 1997, 16(2): 132-137.

[3] Mendel I, Muraine M, Riachi G, et al. Detection and genotyping of the hepatitis C RNA in tear fluid from patients with chronic hepatitis C [J]. *J Med Virol*, 1997, 51(3): 231-233.

[4] 李素霞, 谢立信. 我国眼库现状调查 [J]. *中华眼科杂志*, 2011, 47(9): 837-840. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2011. 09. 016.

Li SX, Xie LX. Investigation of eye bank status quo in China [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2011, 47(9): 837-840. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2011. 09. 016.

[5] 周善璧, 彭俊超, 赵敏, 等. 28 例眼球自愿捐献者材料分析 [J]. *重庆医科大学学报*, 2002, 27(4): 449-450, 460. DOI: 10. 3969/j. issn. 0253-3626. 2002. 04. 025.

Zhou SB, Peng JC, Zhao M, et al. Information analysis of eyeball voluntary donors of 28 cases [J]. *J Chongqing Med Univer*, 2002, 27(4): 449-450, 460. DOI: 10. 3969/j. issn. 0253-3626. 2002. 04. 025.

[6] 周善璧, 彭俊超, 赵敏, 等. 117 例眼球或角膜捐献者安全性评价 [J]. *中国实用眼科杂志*, 2004, 22(9): 728-730.

Zhou SB, Peng JC, Zhao M, et al. An evaluation on the safety of eyeball

or corneal tissue of 117 volunteer donors [J]. *Chin J Pract Ophthalmol*, 2004, 22(9): 728-730.

[7] 王力达, 马悦, 刘牟林. 不同方法检测乙肝表面抗原的结果分析 [J]. *临床输血与检验*, 2013, 15(1): 42-44. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-2587. 2013. 01. 013.

Wang LD, Ma Y, Liu ML. Analysis of the results of hepatitis b surface antigen detected by different methods [J]. *J Clinic Transfus Laborat Med*, 2013, 15(1): 42-44. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-2587. 2013. 01. 013.

[8] 陈桂山, 张秀明, 熊继红, 等. 酶联免疫技术检测乙肝表面抗原的分析性能评价 [J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(9): 932-933. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 09. 005.

Chen GS, Zhang XM, Xiong JH, et al. Performance evaluation of ELISA in the detection of HBsAg [J]. *Int J Laborat Med*, 2011, 32(9): 932-933. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 09. 005.

[9] Heim A, Wagner D, Rothämel T, et al. Evaluation of serological screening of cadaveric sera for donor selection for cornea transplantation [J]. *J Med Virol*, 1999, 58(3): 291-295.

[10] 鲍玉洲, 王丽娅. 拓展眼库角膜来源, 重视供体材料检测 [J]. *中华移植杂志: 电子版*, 2009, 3(3): 184-186. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3903. 2009. 03. 003.

Bao YZ, Wang LY. To enhance the donor pool of cornea and to emphasize quality assessment [J]. *Chin J Transplanat (Electronic Version)*, 2009, 3(3): 184-186. DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-3903. 2009. 03. 003.

[11] 黄杰, 李金明, 王露楠, 等. 含内质控的新型检测 HIV-1 感染的双特异性探针实时荧光 RT-PCR 方法的建立 [J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(8): 929-933.

Huang J, Li JM, Wang LN, et al. A novel real-time multiplex reverse transcriptase PCR to detect HIV-1 RNA using dual-specific armored RNA as internal control [J]. *Chin J Laborat Med*, 2007, 30(8): 929-933.

[12] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China—declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination [J]. *Vaccine*, 2009, 27(47): 6550-6557. DOI: 10. 1016/j. vaccine. 2009. 08. 048.

[13] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Evaluation of the impact of hepatitis B vaccination among children born during 1992-2005 in China [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(1): 39-47. DOI: 10. 1086/599332.

[14] Stamm LV. Global challenge of antibiotic-resistant *Treponema pallidum* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(2): 583-589. DOI: 10. 1128/AAC. 01095-09.

(收稿日期: 2017-09-21 修回日期: 2018-03-06)

(本文编辑: 刘艳)

广告目次

- 止血祛瘀明目片 陕西摩美得气血和制药有限公司……封二
- 同息通(曲安奈德注射液) 广东省医药进出口公司珠海公司……前插页
- 普诺特(预装式非球面人工晶状体) 爱博诺德(北京)医疗科技有限公司……前插页
- 普罗纳克(0.1% 溴芬酸钠滴眼液) 千寿制药株式会社……前插页
- 露达舒(氯替泼诺混悬滴眼液) 博士伦(上海)贸易有限公司……前插页
- 沃丽汀(卵磷脂络合碘片) 广东泰恩康医药股份有限公司……前插页
- 拓普康 OCT(全能真彩扫频源 OCT) 北京拓普康医疗器械有限公司……前插页
- 灵光(复方樟柳碱注射液) 华润紫竹药业有限公司……前插页
- 见康(拉坦前列素滴眼液) 华润紫竹药业有限公司……前插页
- 可乐必妥(左氧氟沙星滴眼液) 参天制药(中国)有限公司……封三
- 迈达科技 天津迈达科技股份有限公司……封底