

1378 例角膜移植供体四种监控指标的 总结分析

黄强 许丽英 王琪 马璇 张艳丽 吴开力

【摘要】 目的 初步探讨角膜移植供体的血液监测的安全指标。**方法** 使用 ELISA 和胶体金法检测 1378 份角膜供体的血清中 HBsAg、抗-HCV、抗-HIV 和梅毒抗体。**结果** 在 272 份阳性血样中,共发现 6 份 HIV 初筛阳性、64 份抗-HCV 阳性、193 份 HBsAg 阳性和 39 份梅毒抗体阳性;除 244 份为单一感染外,其它为 2~3 种病原体混和感染。**结论** 角膜移植供体应进行 HIV、HCV、HBV 及梅毒检测,以预防这些疾病,特别是艾滋病的传播,保证受体安全,

【关键词】 角膜移植;供体;血液检测;ELISA

Detection of four kinds of pathogens in 1378 cornea donors

HUANG Qiang XU Li-ying WANG Qi MA Xuan ZHANG Yan-li WU Kaili

State Key Laboratory of Ophthalmology,Zhongshan Ophthalmic Center,Sun Yat-sen University,Guangzhou 510060,China.

【Abstract】 Purpose To investigate the distribution patterns of four kinds of pathogens in cornea donors and the value of the applied measuring methods.**Methods** One thousand and three hundred seventy eight sera of cornea donor were used to detect the HbsAg,anti-HCV,anti-HIV and anti-Treponema Pallidum (anti-TP)by ELISA(for four pathogens)and colloidal gold immunochromatographic assay(only for anti-TP).**Results** Two hundred and seventy two out of 1378 serum samples showed positive immuno-reaction with the assayed markers of four pathogens.Of them,6 were positive against HIV,64 positive against HCV,193 positive against HbsAg and 39 positive against TP.There were 244 sera infected with only one pathogen and 28 sera were infected with two to three pathogens.**Conclusion** There are high of HIV,HCV,HBV and TP in cornea donor.The measurement of these four pathogens should be applied in clinical practice.

【Key words】 Cornea transplantation;Donor;ELISA;Blood measurement

异体角膜移植供体的许多疾病有可能通过移植手术传染给受体并造成严重危害。为了保护受体患者的健康,应对每个供体进行必要检测,以防止感染性疾病的传播。美国眼库协会(Eye Bank Association of America, EBAA)和 FDA 等机构对角膜移植供体材料均进行严格的血清学试验,并不断增加和完善供体筛选标准^[1, 2]。目前国内还没有完善的相关法律法规及行业规范规定角膜供体筛选标准^[3, 4]。国内眼库也不可能对所有的病原体进行检测,我们参照国外眼库标准及我国国情,对 2004 年 7 月至 2006 年 12 月期间 1378 例角膜供体血清进行了人类

免疫缺陷病毒(HIV)抗体、丙型肝炎病毒(HCV)抗体、乙型肝炎病毒表面抗原(HbsAg)和梅毒螺旋体(TP)抗体的快速检测。本文对相关结果进行总结分析拟初步探讨国内角膜移植供体的安全监控。

材料和方法

1. 材料:采集中山眼科中心 2004~2006 年 1378 例角膜供体所附带全血样本,经离心收集血清成分,立即进行下述指标检测。所有样本均能在供体死后 12 小时内进行检测。

2. 仪器与试剂:芬兰雷勃 MK3 自动酶标仪、芬兰雷勃 MK2 自动洗板机。

珠海丽珠试剂有限公司和英科新创(厦门)科技有限公司的人类免疫缺陷病毒(HIV)1+2 诊断试剂盒、上海实业科华生物技术有限公司立可测乙型肝炎

基金项目:国家自然科学基金(30572002)资助

作者单位:510060 广州,中山大学中山眼科中心,眼科学重点实验室

通讯作者:吴开力 E-mail: wukaili@mail.sysu.edu.cn

炎病毒表面抗原(HBsAg)试剂盒、英科新创(厦门)科技有限公司丙型肝炎病毒(HCV)抗体诊断试剂盒。梅毒螺旋体(*Treponema Pallidum*, TP)抗体检测先使用蓝十字生物药业(北京)有限公司的胶体金梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒(胶体金法), 确证试验则用英科新创(厦门)科技有限公司提供的梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒。上述试剂均为“中国药品生物制品检定所检定合格”产品。

3. 方法: 人类免疫缺陷病毒抗体和梅毒螺旋体抗体确证试验采用双抗原夹心酶联免疫法(双抗原夹心 ELISA 法), 乙型肝炎病毒表面抗原丙型肝炎病毒抗体则采用酶联免疫法, 梅毒螺旋体抗体快速先采用胶体金法, 若阳性则继续用双抗原夹心 ELISA 法确诊。所有操作均按生产厂家所附的操作说明书进行。HIV 检测为获得 HIV 抗体初筛实验室资格的单位完成。

结 果

在所检测的 1378 例血样中, HIV、HCV、TP 和 HBsAg 分别呈现阳性的样本数为 6、64、39、193 例(表 1), 共有 302 个阳性结果。在 1378 份血样中没有 4 个指标同时在一份血样都呈阳性, 但部分血样中同时有 3 个指标(2 份)和 2 个指标(26 份)阳性, 共有 272 份血样出现检测到 1~3 个指标阳性(占 19.7%), 相应的供体材料不能被用于角膜移植。表 2 显示, 在 272 份阳性血样中, 有 244 份呈现单一指标阳性, 同时有 2 或 3 个指标阳性的血样中, 除 HIV 外, 易于出现混合感染的次序分别是 TP>HCV>HBV。

表 1 血样中四种检测指标阳性的分布

	HIV*	HCV	TP**	HBsAg
阳性样本数	6	64	41	193
阳性百分率(%)	0.4	4.6	3.0	14.0

*HIV 阳性是指经双抗原夹心 ELISA 法初筛呈阳性, 未行确诊检测; **41 个 TP 阳性样本全部是胶体金阳性和双抗原夹心 ELISA 法也呈阳性结果。

表 2 1378 例血样中四种检测指标的阳性反应数

	单一阳性 (%)	2 指标阳性 *		3 指标阳性 *	总计
		HCV	TP	HCV+TP	
HBsAg	169(87.6)	10	12	2	193
HCV	48(75.0)	-	3	-	64
TP	22(56.4)	(3)	-	-	39
HIV	5(83.3)	1	-	-	6
合计	244	11	15	2	

* 其它未列出的 2 或 3 指标混和阳性均未出现。

讨 论

我国角膜供体材料来源困难等客观原因使得对其选择有限, 对角膜移植供体材料中高危传染病传播的风险也尚未像血液制品那样受到监控和重视。由于供体有可能为 HIV、HBV 和 HCV 等感染的高危人群, 且这类疾病有数月或数年的窗口期及潜伏期, 临床及常规免疫监测有一定困难。迄今我国对角膜移植供体材料的高危传染性进行科学地监测与风险评估的研究还非常有限^[4-6]。角膜移植供体材料中 HIV、HBV、HCV 等高危传染病病原体污染的情况尚缺乏足够调查资料, 也缺乏相关的条例或标准来规范对角膜移植供体材料中高危传染病的监测。

为防止供体疾病对受体病人的损害, 眼科一直在不断增加和完善对供体的筛选标准。目前眼库用于筛选的病原体或严重疾病主要有 HIV、HBV、HCV、巨细胞病毒(CMV)、梅毒、狂犬病、克-雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease, CJD)等^[1, 3, 7]。相关的筛选措施无疑最大限度地保证了供体材料的安全, 所确立的角膜移植供体材料实验室监控指标, 对全面而安全的开展角膜移植手术, 避免因角膜移植手术传播严重传染病具有重要意义, 但同时也在很大程度上限制了供体的来源, 并延长了角膜移植的时间和增加了经济负担。

艾滋病、乙型肝炎、丙型肝炎病原体常被用于角膜移植供体材料安全性的监测^[1, 3], 且它们也是我国危害最大的主要医源性传播疾病。建立快速可靠的供体组织中 HIV、HBV 和 HCV 等传染病病原体的最佳监测技术和方法, 明确角膜移植供体材料中病原污染情况, 才能保证受体的安全与健康。既往有采用 PCR 对眼组织直接进行病原体检测而用于角膜供体筛选的报告^[6, 8, 9], 因考虑到眼组织中病原体存在的数量、实验室认可和检测时间等因素, 尤其是研究表明约 60% 艾滋病人眼组织存在病毒基因, 且 PCR 检测眼组织中 HIV 并不能保证用于移植的角膜不含有病毒^[10]。故本单位自 2003 年开始, 利用临床较成熟 ELISA、胶体金试纸法和合格的临床应用试剂盒, 对供体的血清进行四种病原体的监测。一般认为, 利用角膜供体死后血清进行病原体筛选的假阳性率较高, 这样可能更有助于保证受体安全。

本文总结分析了 1378 份血样中的 HIV、HCV、HBV 及梅毒的检测检测结果, 其中有约 20% 的供体因为存在其中的 1~3 种病原体感染而不能为临床用于角膜移植手术。美国眼库委员会对 1986 年北美地

区各眼库角膜供体进行了回顾性调查, 被调查的 8787 例供体中有 60 例 HIV 抗体阳性(0.68%), 5187 例供体中 HBV 阳性 69 例(1.3%)^[11]。加拿大 Ontario 眼库对 1993 年 5 月至 1996 年 5 月收集的 3228 例角膜供体资料进行了回顾性研究, 发现尽管进行了生活和医疗病史的筛查, 但供体中的 HBV 感染者占 0.25%, HCV 感染者占 0.93%, HIV 感染者占 0.031%^[12]。国内周善璧等对 117 例供体检测了 3 种病原体(HBV、HCV 和 HIV), 观察到 7 例 HBsAg、5 例 HCV 抗体、3 例同时有 HBsAg 和 HCV 抗体阳性^[5]。最近 Challine 等对 565 例角膜供体死后血清监测报告中, 有 21.5% 的角膜因存在对 HIV1+2、HTLV1、HBV 和/和 HCV 血清学反应而不能用于移植手术^[13]。比较而言, 我们的研究与 Challine 的相似, 供体受感染的百分率也相近, 较其它报告高, 这估计与我们的供体群体分布不均, 缺乏良好的全社会捐献机制有关。

在所检测的四种病原体中, 虽然目前尚未有经角膜移植传播 HIV 的报道, 但在 AIDS 患者的角膜、结膜、泪液中可检测到 HIV^[1, 14, 15], 表明通过角膜移植传播 HIV 的可能性是存在的。研究表明乙型肝炎患者及乙型肝炎病毒(HBV)携带者的角膜、结膜、葡萄膜、泪液中存在 HBV-DNA 或其表面抗原^[16-18], 已有因接受乙型肝炎表面抗原阳性死者的角膜供体材料而感染 HBV 的报道^[1, 19]。同时, 迄今还未发现因角膜移植感染 HCV 的报道, 但研究表明丙型肝炎病原体通过角膜移植使受体感染的可能性非常大^[1, 20, 21]。梅毒感染能引起角膜间质炎症, 有人将梅毒检测作为监测 HIV 感染的间接指标, 但也有怀疑眼库检测梅毒的必要性的观点^[22, 23]。本文供体中梅毒的感染率达 3%, 并且几近一半为混和感染。综上所述, 所选四个指标对于最大限度地筛出安全供体角膜是非常有帮助的。

本文结果表明相当比例的供体存在 2~3 种病原体混和感染, 其中以 TP 最甚, 近一半的供体有 TP 和其它病原体共同感染, HCV 次之。另外, 我们的检测中有 6 例为 HIV 初筛阳性, 虽然未作进一步确诊检测, 均作阳性样品按传染性病原体要求而处理。艾滋病是一种致命的传染病, 预后不良, 是目前可防难治的传染病, 而且艾滋病的最主要传染途径是血源性, 与临床有很大的关联。另外, 我国狂犬病发病率相对较高, 且该病几乎无法医治, 排除供体中可能存在的狂犬病病原体也是非常有意义的。我们将进一步开展针对其的筛查, 以更好地防止人群中医源性播散。

参考文献

- 1 Glasser DB: Serologic testing of cornea donors. *Cornea*, 1998, 17: 123-128.
- 2 Guidelines for preventing transmission of human immunodeficiency virus through transplantation of human tissue and organs. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep*. 1994, 43(RR-8):1-17.
- 3 中华医学会: 临床技术操作规范(眼科学分册). 北京: 人民军医出版社, 2007: p244.
- 4 谢立信: 我国角膜手术的现状和发展策略. *中华眼科杂志*, 2005, 41(8):702-704.
- 5 周善璧, 彭俊超, 赵敏, 等. 117 例眼球或角膜捐献者安全性评价. *中国实用眼科杂志*. 2004, 22: 728-730.
- 6 张艳敏, 鲍玉洲, 张郑民, 等. 从角膜组织中快速检测 HBV、HCV 的方法探讨. *实用诊断与治疗杂志*, 2006, 20:442-443.
- 7 Eastlund T: Infectious disease transmission through cell, tissue, and organ transplantation: reducing the risk through donor Selection. *Cell Transplant*. 1995, 4:455-77.
- 8 Lee HM, Naor J, Alhindi R, et al: Detection of hepatitis C virus in the corneas of seropositive donors. *Cornea*. 2001, 20:37-40.
- 9 张岩, 张显峰, 李勤, 等. 新型分子生物学方法快速诊断眼库供体角膜病毒感染. *中国实验诊断学*. 2007, 11:96-99.
- 10 Garcia-Ferrer FJ, Laycock KA, Buerger DG, et al: Screening corneas for HIV1 proviral DNA by polymerase chain reaction. *Am J Ophthalmol*. 1995, 119:7-13.
- 11 Conway MD, Insler MS. The identification and incidence of human immunodeficiency virus antibodies and hepatitis B virus antigens in corneal donors. *Ophthalmology* 1988, 95:1463-7.
- 12 Armstrong SA, Ganganm N, Chipman ML, et al. The prevalence of positive hepatitis B, hepatitis C, and HIV serology in cornea donors prescreened by medical social history in Ontario, Canada. *Cornea* 1997, 16:512-6.
- 13 Challine D, Roudot-Thoraval F, Sabatier P, et al: Serological viral testing of cadaveric cornea donors. *Transplantation*. 2006, 82:788-793.
- 14 Cantrill HL, Henry K, Jackson B, et al. Recovery of HIV from ocular tissues in patients with acquired immune deficiency syndrome. *Ophthalmology* 1988, 95:1458-62.
- 15 Shimazaki J, Tsubota K, Sawa M, et al. Detection of HIV, hepatitis B virus, and hepatitis C virus in donor eyes using polymerase chain reaction. *Br J Ophthalmol*, 1994, 78:859-62.
- 16 Khalil A, Ayoub M, el-Din Abdel-Wahab KS, et al. Assessment of the infectivity of corneal buttons taken from hepatitis B surface antigen seropositive donors. *Br J Ophthalmol* 1995, 79:6-9.
- 17 李贵仁, 张少斌, 陶元勇, 等. 防治角膜移植传播乙型肝炎病毒的研究. *潍坊医学院学报*. 1996, 18: 100-102.
- 18 Su CS, Bowden S, Fong LP, et al. Detection of hepatitis B virus DNA in tears by polymerase chain reaction. *Arch Ophthalmol* 1994; 112:621-5.
- 19 Hofst RH, Pflugfelder SC, Forster PK, et al. Clinical evidence for hepatitis B transmission resulting from corneal transplantation. *Cornea*, 1997, 16: 132-7.
- 20 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 Med Virol* 1997, 51:231-3.
- 21 Donor. Tugwell BD, Patel PR, Williams IT, et al. Transmission of hepatitis C virus to several organ and tissue recipients from an antibody-negative. *Ann Intern Med*. 2005, 143:648-54.
- 22 李绍伟, 谢立信: 眼库对严重传染性疾病供体的筛选. *眼科研究* 1998, 16: 238-240.
- 23 Goldberg MA, Laycock KA, Kinard S, et al. Poor correlation between reactive syphilis serology and human immunodeficiency virus testing among potential cornea donors. *Am J Ophthalmol*. 1995, 119:1-6.

(收稿时间: 2007-06)