

筛酶联免疫吸附法 HIV/HBV/HCV 阴性标本再行核酸检测的安全性分析

张齐敏

衡阳市中心血站 湖南衡阳 421000

【摘要】目的 探讨酶联免疫吸附法(ELISA)筛查 HIV(人类免疫缺陷病毒)/HBV(乙肝病毒)/HCV(丙肝病毒)阴性标本再行核酸检测(NAT)的安全性。**方法** 选取衡阳市中心血站核酸实验室2021年1月01日起至2021年12月31日收集的51433例无偿献血者血样标本为研究对象,对血液样本行ELISA法检测,并用不同试剂的ELISA法检测2次结果均为阴性样本行NAT,观察ELISA法检测阴性标本NAT检查结果阳性的出现几率。**结果** 51433份ELISA检测结果阴性样本再行HBV,HCV,HIV核酸联合检测(PCR荧光法),结果显示混样pool阳性共106份,混样pool阳性检出率为0.21%,其中单检拆分出来的HBV阳性是58份,阳性检出率为0.11%,HCV和HIV阳性均为0,检出率为0.00%。**结论** ELISA法检测不能完全确保血液安全,NAT与ELISA法检测方法互补则可以大大提高血液筛查质量,确保临床用血安全。

【关键词】 血液;酶联免疫吸附法;人类免疫缺陷病毒;乙肝病毒;丙肝病毒;核酸检测

【中图分类号】 R44

【文献标识码】 A

【文章编号】 1000-8039(2022)05-030-02

前言:

HCV、HIV及HBV是现目前血液传播疾病中最常见的三种病原体,均可通过输血渠道传播,世界卫生组织(WHO)统计数据表示,全球每年HIV、HBV、HCV感染率仍呈不断上升的趋势,其中由于输血过程中输入携带这三种病毒的血液感染渠道是原因之一。为了降低输血致感染性疾病的发生,保证临床用血安全,采供血机构工作者对实行血液抗体/抗原检测给予了高度关注。目前,血站检验科采用酶联免疫检测法和核酸检测两种方法互为补充,单一的某方法受诸多因素影响,如:试剂、温度、人员操作、病毒本身的“窗口期”“量浓度高低”等影响,出现一定几率的漏检。2015年全国血站实验室管理办法,血液筛查检验都应用了ELISA和NAT,核酸检测应用在全国血液中心和血站已广泛与普遍,为了明确其临床价值,本文以54331例无偿献血者核酸血样标本为研究对象,展开了对照研究,取得了显著成效,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月01日起至2021年12月31日收集的51433例无偿献血者为研究对象,年龄18-55周岁。纳入研究的无偿献血者均符合《献血者健康检查要求》。

1.2 方法

对本次研究中的51433例无偿献血者的血液标本进行不同的ELISA试剂筛查2次,对ELISA筛查结果阴性标本再进行NAT。

ELISA:使用新创和万泰两种厂家的试剂盒,进行了乙肝病毒表面抗原,丙肝病毒抗体,HIV人类免疫缺陷病毒抗体,TP梅毒螺旋体抗体的检测。使用全自动酶联免疫系统检测,标本放在全自加样器上处理:按已编程参照标板孔分布表分别加入样品和对照品。加样效检查:加样完成的微孔,人工确认标本加注完全,阴阳性对照和质控品加注位置正确,制定相关工作计划,实施FAME程序,经过孵育、洗板、加酶工作液,比色读板判断结果等完成相关检查。

NAT:实验室操作人员负责核酸的提取、扩增与检测,并做好CAP、CTM的使用、维护,检测环境要求:温度:18℃-25℃,相对湿度:30%-60%。所需材料、试剂、设备:由罗氏

公司提供的Cobas AmpliPrep设备和Cobas TaqMan分析仪、一次性加样尖,SPU管等提取扩增过程中会用的一次性耗材,75%酒精,一次性无粉手套。PCR混样操作:PP6混样:仪器随机每份标本取等体积血浆共1ML混合成1个POOL。(如6个标本混样一个POOL,每个标本取167uL血浆),PP1单检或SecondaryPool:(适用于拆分)仪器自动在标本中取1ML血浆,混样不成功标本查明原因,排除影响因素后重新检测。提前将Cobas TaqScreen MPX v2.0试剂在COBASAmpliPrep设备中平衡30分钟到室温,不能加载不同批次的试剂。提前加载足够的试剂和耗材^[2]。

1.3 观察指标

观察衡阳市中心血站新创和万泰两种试剂盒ELISA法检测出的阴性标本再进行PCR核酸检查结果阳性的出现几率。

2 结果

2021年衡阳市中心血站核酸实验室51433份ELISA检测结果阴性样本再行NAT结果显示混样阳性共106份,混样阳性检出率为0.21%,其中拆分出来的HBV阳性是58份,阳性检出率为0.11%,HCV和HIV阳性均为0,检出率为0.00%。详见表1。

表1:51433份血样标本ELISA检测结果阴性样本再行NAT结果

项目	阳性例数	阳性率
HBV	58	0.11
HCV	0	0.00
HIV	0	0.00
合计	58	0.11

3 讨论

输血,为传染病传播的渠道之一,艾滋病、丙型肝炎、乙型肝炎等作为临床常见的病毒性疾病,其均可经输血传播病毒,因此,需对无偿献血者的血液进行相关病毒抗原/抗体检测,以便评判其是否存在血液病毒,从而降低血液病毒传播风险,减少临床输血医疗纠纷。当前,血液病毒检测方法以酶联免疫检测和核酸检测互为补充,由于酶联免疫吸附法因其自身方法学的局限性,其中遇到病毒隐匿携带者、试剂灵敏度、样品及操作、气温因素以及“窗口期”等一系列

(下转第32页)

得早产、低体重儿的可能性较高,但分娩孕周一般在37周左右,新生儿出生体重在2.5kg以上^[3]。因宫缩对称性、极性等方面的异常,导致阴道难以顺产,增加了剖宫产发生率,进而也造成产后出血率高,尤以双子宫、完全中隔两种异常明显,但临床上绝大多数子宫异常合并妊娠孕晚期的孕妇的分娩预后较好。从本研究结果看,观察组的分娩孕周、新生儿出生体重相对低于对照组,不良孕产史、先兆流产率高于对照组。原因在于子宫发育异常,宫腔容积狭小,再因子宫局部供血不足,难以满足胎儿的生长发育需要,以致于出现先兆流产、分娩孕周短、出生体重轻等结果。有报道称,双子宫、双角子宫相比其他子宫异常的胎儿生长空间更小,所以新生儿体重更低。同时,子宫发育异常合并妊娠后,因子宫肌无法有效延展,使得妊娠晚期胎活动空间减小,更易出现胎位异常,且胎膜早破可能性增高^[4]。从结果看,中隔子宫的胎盘粘连率较高,原因可能是胎盘附着处的子宫壁某个内膜未能良好发育,进而造成部分胎盘粘连。此外,观察组剖宫产率显著高于对照组,主要是因为宫腔容积小影响到胎儿生长及活动,

且还易造成胎位异常,进而增加胎膜早破发生率。

针对子宫发育异常合并妊娠的处理需要根据实际情况进行。在妊娠早期出现先兆流产倾向的,可进行积极的保胎治疗。到妊娠中期,有学者指出,不管是否出现宫颈机能不全,都需要实施防治性宫颈环扎术,但当前学界尚未统一,仍存在争议,还需进一步深入临床研究证实^[5-6]。到妊娠晚期,有报道称子宫发育异常出现子宫扭转引起急腹症患者,在进行剖腹探查术中同时实施圆韧带缩短术。在分娩期,因往往会出现胎位异常、新生儿窒息等情况,所以,临床剖宫产率比较高。因子宫发育异常,导致子宫肌层未能良好发育,需要警惕子宫破裂。在确定子宫切口时,必须选择子宫肌层弹性较好的位置,切口要满足手术需要,以免出现娩头困难,最后采取内倒转术。如果采取臀牵引术,则需要依照常规分娩机制流程娩出,不得强行牵拉,以免损伤到胎儿,增大切口损伤。此外,还需对子宫输卵管进行全面检查,同时掌握宫颈、阴道等组织的发育状况,更好的明确子宫异常类型,制定相应的处理措施,提高妊娠安全性。

表2:不同子宫发育异常合并妊娠的临床特征比较[n(%)]

临床特征	子宫中隔(n=41)	残角子宫(n=20)	单角子宫(n=1)	双子宫(n=19)	鞍状子宫(n=4)	总数(n=85)
先兆流产	1(2.4)	1(5.0)	0(0.0)	4(0.2)	1(25.0)	7
剖宫产	27(0.7)*	13(65.0)	0(0.0)	3(0.2)	4(100.0)	47
胎膜早破	10(0.2)	5(25.0)	0(0.0)	6(0.3)	0(0.0)	21
胎盘粘连	6(14.6)	1(5.0)	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	8
胎位异常	17(41.5)	7(35.0)	0(0.0)	10(0.5)	2(5.0)	36
早产	3(7.3)	1(5.00)	0(0.0)	5(0.3)	0(0.0)	9
小于胎龄儿	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(0.2)	0(0.0)	3
新生儿窒息	2(4.9)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2
围产儿死亡	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0
产后出血	4(9.8)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.1)	0(0.0)	5

注:子宫中隔与其他子宫异常比较,*P<0.05

参考文献:

- [1] 于哲.妊娠合并子宫肌瘤分娩方式的临床分析[J].白求恩医学杂志,2022,01:55-56.
- [2] 耿慧珍,柯珮琪,沈宏伟,费慧,黄佳明,刘田雨.妊娠合并子宫发育异常125例妊娠结局分析[J].实用妇产科杂志,2020,08:621-624.
- [3] 陈慧.妊娠合并子宫肌瘤的临床处理分析[J].中国妇幼

保健,2020,19:2761-2762.

- [4] 胡菁.综合化护理干预在妊娠合并子宫肌瘤中的临床分析[J].中国现代药物应用,2021,03:263-264.
- [5] 王微,杜鹏,李婵,潘丽华.子宫畸形合并妊娠41例临床分析[J].宁夏医学杂志,2021,09:852-854.
- [6] 贺淑珍.晚期妊娠合并子宫肌瘤临床观察[J].基层医学论坛,2020,22:2982-2983.

(上接第30页)

漏检问题无法完全避免,不能完全排除血液HIV、HCV和HBV传播的风险。

在90年代初期,欧美部分较为发达的国家证实了NAT技术筛查后,可以极大的降低血液传染病参与风险的发生,进而提升血液输送的安全性^[2]。2010年我国开始核酸检测试点运行,经过5年不断的技术成熟和操作规程完善,于2015年开始在全国的血液中心和中心血站进行了核酸检测,核酸检测方法被广泛应用于采供血机构的血液检测方面。需要注意事项:我国核酸检验技术的应用时间较晚,和国外比较,在检测水平方面的差异仍比较大,医学人员需予以深入研究、分析,从而合理运用这一检验技术,充分发挥其最大的应用价值^[3]。本次研究结果显示,51433份ELISA检测结果阴性样本再行NAT结果显示混样阳性共106份,混样pool阳性率为0.21%,其中拆分出来的HBV阳性是58份,阳性检出率为0.11%,HCV和HIV阳性均为0,检出率为0.00%。数据说明

ELISA检测能够检查出一部分血液病毒阳性标本,但是对血液标本进行ELISA检测2次结果显示阴性的血液,仍然不是完全安全的,通过NAT还可以检查出阳性标本。这是因为核酸检测缩短了窗口期,诊断敏感度较高,可提高诊断结果准确性。

综上所述,ELISA法检测不能确保血液安全,NAT与ELISA法检测互为补充,可以大大提高血液筛查质量,已经广泛应用于采供血机构血液中心和中心血站等机构。

参考文献:

- [1]2019版中心血站工作手册技术操作规程HBV,HCV,HIV ELISA SOP和HBV,HCV,HIV核酸联合检测(PCR荧光法)SOP中提供的检测方法。
- [2]董航,黄雪原,贺理等.多中心HBV,HCV,HIV血清学检测弱反应性标本的核酸检测结果分析[J].临床输血与检验,2020(6):579-582.
- [3]梁俊,张辉,魏兰华等.ELISA与核酸检测在无偿献血者血液筛查中的联合应用[J].福建医药杂志,2020(4):96-98.