

酶联免疫吸附试验、核酸扩增技术检测在无偿献血者血液筛查中的应用

穆丽

山东省临沂市中心血站 山东临沂

【摘要】目的 分析酶联免疫吸附试验、核酸扩增技术检测在无偿献血者血液筛查中应用效果。**方法** 挑选2022年5月-2023年5月在血站进行无偿献血人员共计500例，设为本次研究对象。所有对象均开展酶联免疫吸附(ELISA)试验检测，对血液样本中是否有抗-HIV(人类免疫缺陷病毒抗体)、抗-HCV(丙型肝炎抗体)、HBsAg(乙型肝炎表面抗原)进行筛查，然后对筛查合格样本进行进一步核酸扩增技术(NAT)检测，最终观察对象的血液筛查指标情况。**结果** 500例无偿献血者中，ELISA血清学检测中献血合格者495例、占比99.00%，不合格5例、占比1.00%；而在联合NAT检测技术后，500例无偿献血者中发现献血合格者490例，占比98.00%，不合格10例、占比2.00%。而在490例对象NAT检测下发现HBV-DNA(乙肝病毒基因)阳性3例，占比0.61%。在490例献血样本合格者中，不同性别的HBV-DNA阳性结果检出率相近，无差异统计意义 $P>0.05$ 。**结论** 无偿献血者的血液筛查中ELISA、NAT检测应用可灵敏检出感染性指标，保障病人输血安全。

【关键词】 无偿献血；血液筛查；酶联免疫吸附试验；核酸扩增技术

【收稿日期】 2024年1月17日

【出刊日期】 2024年2月23日

【DOI】 10.12208/j.ijcr.20240054

Application of enzyme-linked immunosorbent assay and nucleic acid amplification technique in blood screening of unpaid blood donors

Li Mu

Linyi Central Blood Station, Linyi, Shandong

【Abstract】Objective To analyze the application effect of ELISA and nucleic acid amplification technology in blood screening of unpaid blood donors. **Methods** A total of 500 unpaid blood donors from May 2022 to May 2023 were selected as the subjects of this study. All subjects were tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to screen the blood samples for anti-HIV (human immunodeficiency virus antibody), anti-HCV (hepatitis C antibody), HBsAg (hepatitis B surface antigen), and then the qualified samples were further tested by nucleic acid amplification technology (NAT). The blood screening indexes of the subjects were finally observed. **Results** Among the 500 unpaid blood donors, there were 495 qualified blood donors, accounting for 99.00%, and 5 unqualified blood donors, accounting for 1.00%. After the combination of NAT detection technology, 490 of the 500 unpaid blood donors were found to be qualified, accounting for 98.00%, and 10 were unqualified, accounting for 2.00%. Among 490 subjects, 3 cases (0.61%) of HBV-DNA (Hepatitis B virus gene) were found positive by NAT test. Among 490 qualified blood donors, the positive rates of HBV-DNA were similar in different genders, with no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** The application of ELISA and NAT in blood screening of unpaid blood donors can sensitively detect infectious indicators and ensure the safety of blood transfusion.

【Keywords】 Unpaid blood donation; Blood screening; Enzyme-linked immunosorbent assay; Nucleic acid amplification technique

无偿献血是医院获得血液来源从而对临床就诊患者施治的特殊医学救治方式，在紧急情况下能够挽救多

数患者的生命，因此也是医学行业非常重视的内容之一。输血供给的保证前提是民众对血站进行的无偿献血

行为支持,我国虽然人口基数庞大,但能够符合献血标准的人却相对较少,其一便是无偿献血者必须要求身体健康,无传染性疾病,后续被输血者才能确保生命安全。但血站每日接收的无偿献血者人数较多、来源复杂,若自愿献血人员患有疾病或本身并未察觉患病,会导致血液中残留大量的危险病原体,直接输入人体轻则合并感染,重则危及生命^[1]。

因此,血液的合格使用不仅要求采集过程中时刻确保操作及时规范,还要确保血液样本来源清晰、健康,具备详细来源记录,通过有效检测手段来确定血液样本中是否有病毒感染迹象,例如乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)等,以免血液中存在病原体最终影响被献血者生命健康。目前较为常用的检测办法包括核酸扩增技术、酶联免疫吸附试验等,可以筛查出血液异常情况降低误诊率^[2-3]。而供血机构或血站应全面实施ELISA、NAT的单项、双项检查作用,努力推动NAT的检测重视性和全覆盖性,以求最大程度控制感染风险。对此,本研究现对ELISA、NAT检测表现做如下统计。

1 资料和方法

1.1 基本资料

实验时间段选取2022年5月-2023年5月,期间挑选到血站无偿献血对象共计500例被纳入实验统计中,收集对象检查基本资料,并对其开展血液样本筛查检查。500例无偿献血样本中,男性252例、女性248例;年龄范围18-55岁、平均年龄(35.25±4.68)岁;体重范围46-68kg,平均体重(52.88±4.72)kg;文化程度:高中及以上231例、大专及以上269例。所有献血对象已知晓献血相关注意事项和风险,初步筛查符合无偿献血要求,自愿签署相关知情同意书,统计研究符合《赫尔辛基宣言》。

纳入标准:①所有献血对象均为18-55岁的成年人;②献血成功后留取血液样本;③献血者健康状况已达到《献血者健康检查要求》相关标准。

排除标准:①献血样本已出现溶血现象,无备用血液;②确诊HIV(人类免疫缺陷病毒)感染;③自身患有严重凝血功能障碍,合并献血禁忌症;④血液检查样本已污染、严重脂浊。

1.2 方法

对所有血站获取的无偿献血样本做抗-HIV、抗-HCV、HBsAg等感染性因素检查,在ELISA项目中乙肝、丙肝检测分别使用英科新创(厦门)科技有限公司、北京万泰生物药业有限公司所提供的试剂、仪器,NAT项目中使用北京万泰生物药业有限公司提供的试剂、仪

器。经使用前均获得校验检查,在有效期内可以使用。至血站进行无偿献血者,相关医务人员的操作必须符合规范,保证样本留存时间正常不会损坏,在留取血液标本时,应该使用血清学检测专用的EDTAK2非抗凝管、真空抗凝采血管(核酸检测),提前将献血者预留出一部分血液存放于2-8℃环境中,使用常规血清学检测样本应尽快做基本检测,而具有核酸检测作用的样本应在四小时内尽快完成离心处理,设定离心时间、转速、半径分别为20min、1500r/min、5cm,然后需要在72h内完成核酸检测。

ELISA试验即为针对同一血液样本使用不同试剂检测,围绕不同感染因素做初筛、复筛的检测,使用全自动免疫分析仪对血液中的HIV、HBsAg等进行检查,初检、复检由不同的检验人员操作。判断标准:样本吸光度值/临界值(S/CO)≥1.0即为阳性、>0.7且<0.1即为灰区、≤0.7即为阴性。NTA检测是前者检验中选取部分阴性标本进行混检,若出现反应性,便可集中于一组完成后续的单检结果。

1.3 观察指标

观察无偿献血对象在血站血液筛查工作中的献血合格表现,检测HBV-DNA阳性分布情况以及性别差异在HBV-DNA的检测差异表现。

1.4 统计

采用SPSS23.0统计软件对数据进行分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用T检验;计数资料用率表示,采用 χ^2 检验;差异无统计学意义(P>0.05),差异具有统计学意义(P<0.05)。

2 结果

2.1 献血合格检测

针对500例血液样本中围绕是否有感染因素风险调查发现:经ELISA联合NAT检测技术的对象献血合格率明显高于单一应用ELISA血清学检测,虽无明显差异性,但可以进一步降低输血感染参与风险,详情如下表1。

2.2 合格血液样本NAT检测情况

在490例对象NAT检测下发现HBV-DNA(乙肝病毒基因)阳性3例,占比0.61%。可见酶联免疫吸附试验、核酸扩增技术检测技术的配合使用,能确切检出病毒物质避免血站无偿献血中存在使用风险,技术准确性很高。

在490例献血样本合格者中,男性HBV-DNA阳性2例、占比4.08%;女性HBV-DNA阳性1例、占比2.04%。可见结果相近且对比无差异 $\chi^2=0.334$, P>0.05。

表1 献血合格检测统计表 (n%)

| 组别 | 例数 | 献血合格 | 献血不合格 | 总合格率 (%) |
|-----------|-----|-------------|-----------|----------|
| ELISA | 500 | 495 (99.00) | 5 (1.00) | 99.00 |
| ELISA+NAT | 500 | 490 (98.00) | 10 (2.00) | 98.00 |
| χ^2 | | | | 1.692 |
| P | | | | >0.05 |

3 讨论

医疗机构救治工作的开展针对各种患病人群,其中因各种原因引起的大型伤病者,尤其外伤患者因机体受损而常常出现严重失血情况,大多数离不开输血治疗。人体血液总储存量大约是体重的百分之7%~8%,若失血过多会造成休克反应并导致患者病情加重,故而输血治疗是挽救患者生命的关键手段。而血站则是非常重要的血液供给部门,是集中献血者的健康血液进行科学存放管理,然后根据医疗机构的临床输血需求供给血液的场所^[4-5]。但因我国献血人数较多,血液来源较为复杂,多数情况下为无偿志愿献血者自愿参与献血活动,虽然可在实际治疗中对患病者有挽救生命的重要意义,但仍需警惕血液中原体的存在可能对患病者而言可能会产生的影响,必须通过有效的检测手段做血液筛查,保证献血者所提供的血液健康、安全。常规所用的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒虽检验灵敏度较高,但人体血液中所含病毒从感染至发病,引起不良病理反应直到死亡是一个循序的过程,人体在不断受到病菌侵袭后会逐渐形成抗体长期存在,而在抗体浓度相对较低时使用ELISA检验办法无法获得相对精准的结果,会形成感染诊断误差,虽然随着血站工作管理优化使无偿献血者的献血质量有所提升,ELISA检测特异性也在不断提高,但仍存在漏诊风险。因此,配合NAT检验办法旨在严格筛查经血液传播的HIV、肝炎疾病,提高血液使用安全性。NAT检验是在分子生物学基础上将血液中微小的病毒DNA或RNA采用PCR技术扩增,以荧光信号等进行识别,可作为ELISA的互补性试验,有效检出窗口期感染病毒变异或亚型感染等ELISA试验漏检标本^[6-7]。NAT能够有效且直接的捕捉病原体,核酸标本回收率相对较高并且操作方法便捷,具有自动化技术优势,补充ELISA的检测局限性形成互补作用。而且NAT能够有效检测出病毒载体相对较低的标本,检查结果基本不会受无偿献血者自身免疫状况的影响,即便存在静默感染情况也可以保持相对理想的检出率,综合诊断效能好^[8]。从整体应用效果上看,两种检测办法配合使用,

输血感染传播风险可降至最低,确保血站工作质量,避免了不良输血事件的发生。现今,除了需要进行技术优化的筛查活动,血站还应努力完善无偿献血前准备管理,做好征询工作保证受检对象的安全认知,强化低危、固定献血队伍建设。

结果可见,500例无偿献血者中,单一实施ELISA血清学检测的献血合格者495例,占比99.00%;联合实施ELISA与NAT检测技术的献血合格者490例,占比98.00%,可见辅以NAT检测办法后对血液合格筛查更精准。而在490例对象NAT检测下发现HBV-DNA阳性3例,占比0.61%,其中男性筛查率4.08%、女性筛查率2.04%($P>0.05$)。说明两种检测方式配合筛查,具有较高准确性。

综上所述,酶联免疫吸附试验、核酸扩增技术检测在无偿献血者血液筛查中应用效果显著,值得推广。

参考文献

- [1] 周斌,黄小珍,蓝新,曾宾,魏颖. 核酸扩增技术在血清HIV、HBV、HCV检测中的应用[J]. 海南医学,2022,33(10):1308-1310.
- [2] 李海斌. 运用核酸扩增技术对22326名献血者的检测情况分析[J]. 实用医技杂志,2020,27(03):323-325.
- [3] 黄戊燕. 探讨核酸检测与酶联免疫吸附试验技术在血液筛查工作中的应用[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(55):367+370.
- [4] 孙春玲. 核酸检测联合酶联免疫吸附试验在献血者血液感染性指标筛查中的应用[J]. 实用临床医学,2018,19(08):29-31.
- [5] 史小武,文关良,杨小勇. 电化学免疫发光分析法联合核酸检测定量法在ELISAHBsAg-NAT+血液样本中的应用价值[J]. 临床医学研究与实践,2021,6(11):125-127.
- [6] 张红,杨真一,李彤,李然,郭林枫,曾雪珍,叶贤林. 献血者血液筛查HBsAg ELISA与NAT结果不一致标

- 本的检测分析[J]. 中国输血杂志, 2018, 31 (11): 1243-1246.
- [7] 王宋兴, 熊文, 古醒辉, 刘衡, 徐筠娉, 曾劲峰. 运用单样本核酸扩增检测技术对提高深圳地区 HIV 检出率的效果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39 (13): 1562-1565.
- [8] 郑剑婷. 核酸检测与酶联免疫吸附检测在无偿献血血液标本乙型肝炎病毒筛查中的应用比较[J]. 按摩与康复医学, 2018, 9 (03): 91-92.

版权声明: ©2024 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS