

月至 2007 年 12 月 31 日 19 882 例无偿献血者进行了统计和分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

对 2005 年 1 月 1 日至 2007 年 12 月 31 日到本站及献血点的 19 882 例自愿无偿献血者的年龄进行统计分析。

2 结果

无偿献血者的性别与年龄调查 见表 1。19 882 例献血者中,男性占 51.50%(10 239/19 882),女性占 48.85%(9 643/19 882);年龄 18~30 岁的占 43.98%,31~40 岁的占 30.12%,41~55 岁的占 25.90%。

表 1 无偿献血者的性别与年龄分布(n)

年度	性别	年龄(岁)			合计
		18~30	31~40	41~55	
2005	男	1 204	946	691	2 841
	女	993	758	770	2 521
2006	男	1 473	1 049	771	3 293
	女	1 213	923	906	3 042
2007	男	1 936	1 227	942	4 105
	女	1 925	1 085	1 070	4 080
合计		8 744	5 988	5 150	19 882

3 讨 论

本州实行无偿献血制度以来,献血人群发生了根本性的改变,主体人群已由原来较为固定的农民卖血者转变为年龄跨度大、覆盖面广、更近自然人群的“健康”无偿献血者^[1]。

从表 1 中可以看出,2006 年采血人数比 2005 年增加了 973 例,比上年增长 18.15%;2007 年采血人数比 2006 年增加了 1 850 例,比上年增长 29.20%;男、女所占的比例没有大的变化。而在同一年度女性献血者较男性献血者要少,这可能是因为:女性较男性在生理上易紧张、恐惧,且较男性要胆小,在是否献血上容易犹豫不决,影响了参加无偿献血的比例;其次女性所特有的生理因素,也使得女性献血的比例小于男性。因此,适时的对某些犹豫不决的女性加以鼓励,打消其顾虑,以动

员更多的女性加入到无偿献血的行列。

从年龄上来看,18~30 岁组所占的比例最大,2005 年为 40.97%(2 197/5 362),2006 年为 42.99%(2 686/6 335),2007 年为 47.17%(3 861/8 185)。这是由于青年人对新事物接受能力强,身体状况也较其他年龄组好,因而参加无偿献血积极性高,所占的比例也就大。而 31~40 岁所占比例少于 18~30 岁组;41~55 岁组所占比例又少于 31~40 岁组,这是因为:随着年龄的增长,其身体状况与 18~30 岁组相比稍差,可因某种疾病的影响不能参加无偿献血;另外因年龄的关系,考虑问题较多,接受程度也就低,对无偿献血仍存有某些顾虑,使得所占比例也就随之减少。这就需要大家在今后的工作中加大宣传力度,从中年人更应参加无偿献血这个角度,多讲解献血有益健康的生理知识,促使中年组献血比例加大。

2007 年与 2006 年相比,在 31~40 岁、41~55 岁组又有较明显的增长。31~40 岁组 2006 年较 2005 年增加 898 例,而 41~55 岁组则增加了 216 例;31~40 岁组 2007 年较 2006 年增加 340 例,而 41~55 岁组增加了 340 例,说明随着无偿献血的顺利开展,参加无偿献血的人群构成也在发生变化,标志着无偿献血正逐步为广大市民所接受。数据也证明了加强献血更有益于中年人健康血液生理知识的宣传大有必要,并切实可行。

参考文献

[1] 毛瑞. 2005~2010 年拉萨地区无偿献血者血液检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(8): 875-876.
[2] 李娅娜, 王晓华, 斯景萍, 等. 西安市无偿献血动态分析[J]. 临床输血与检验, 2005, 7(1): 59.
[3] 何敏. 固定无偿献血者队伍的建立与思考[J]. 实用心血管杂志, 2010, 18(4): 527-528.

(收稿日期: 2011-02-14)

人类免疫缺陷病毒检测方法及流程

张斯恩, 尹家丽, 杨海清(云南省第三人民医院医学检验中心, 昆明 650011)

【关键词】 人类免疫缺陷病毒; 酶联免疫法; 金标法; 检验
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 13. 082 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)13-1662-03

自从 1983 年法国巴斯德研究所首次分离出引起获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的病原体人类免疫缺陷病毒(HIV)以来^[1], HIV 感染迅速在世界各地蔓延。据世界卫生组织(WHO)和联合国艾滋病规划署(UNAIDS)统计到 2003 年底, 全球感染 HIV/AIDS 活着的成人和儿童数达到 4 000 万, 其中 2003 年将近 500 万感染 HIV^[2]。1985 年我国首次发现了 HIV 感染者, 以后每年新发现的 HIV 感染者逐年增加, 云南省毗邻世界毒品生产地“金三角”, 面临境外毒品侵袭, 是艾滋病重灾区。截止 2010 年 10 月本省共报道 HIV 感染者 62 233 例, 艾滋病患者 20 072 例, 死亡 11 609 例。2010 年 1~10 月全省报道新增 HIV 感染者和艾滋病患者 8 670 例, 其中 HIV 感染者 6 892 例, 艾滋病患者 1 778 例, 死亡 2 035 例。随着艾滋病流行的日益严重, 来医院就诊的患者中艾滋病患者或

HIV 感染者日益增多, 医务人员感染 HIV 的概率也随之增加。因艾滋病潜伏期较长, 大多数感染了 HIV 的人在很长时期内可以不出任何临床症状, 但其血液、体液等已具有传染性, 可将 HIV 传染给他人, 并且终生有传染性。临床医护人员在对急症患者的抢救或手术过程中, 难免会接触到患者的血液或分泌物, 因此, 及早、准确地检验出就诊患者是否携带 HIV 也就成为了医学检验人员的当务之急。目前检测 HIV 的方法有 100 多种^[3], 总体来说可以分为病原检测和抗体检测两大类。本文就目前较为常用的几种艾滋病检测方法及其优劣叙述如下。

1 病原检测

常用的包括细胞培养(病毒分离)、P24 抗原检测和病毒核酸检测。

1.1 病毒分离 一般采用培养外周血单个核细胞(PBMC)的方法进行 HIV 的诊断^[4]。目前常用的方法是将受检者淋巴细胞与植物血球凝集素(PHA)激活 3 d 的正常人外周血淋巴细胞共培养,培养基中加入 10 U/mL 的白细胞介素-2(IL-2)。检测是否存在病毒,可通过镜检观察有无细胞病变。细胞培养的方法检测 HIV 专一性强,不会出现假阳性,对于确认那些抗原/抗体检测不确定的个体和阳性母亲新生儿是否感染 HIV 有着重要的意义。但是需要有一定数量的感染细胞存在才能培养和分离出病毒来,因而敏感性差、操作时间长、操作复杂,必须在特定的 P3 实验室中才能进行,且费用较高(每次培养需要约 200~500 美元),不适用于临床^[5]。

1.2 P24 抗原检测 主要是检测核心抗原 P24,一般在感染 HIV 后 1~2 周即可检出。随相应抗体产生而减少,一般维持 1/2~5 个月。如持续存在及再度出现,提示预后不良。待抗体出现时,抗原与抗体形成免疫复合物而不易检出,可采用免疫复合物解离法,即用甘氨酸(pH:7~2)使抗原抗体复合物分离,再用 Tris 缓冲液中和后就易检出抗原。应用双位点免疫复合物转移酶免疫试验,可以检出微量 P24 抗原。P24 抗原检测能够在病毒开始复制后检测到血液中的可溶性 P24 抗原,但易出现假阳性。因此,阳性结果必须经中和试验确认,该结果才可作为 HIV 感染的辅助诊断依据。HIV-1 P24 抗原检测阴性,只表示在本试验中无反应,不能排除 HIV 感染^[6]。

1.3 病毒核酸检测 通常是通过检测 HIV RNA 水平来反映病毒载量,具有很高的灵敏度,使用适时荧光聚合酶链反应(PCR)技术,能够在 HIV 感染的前 2 周检测到病毒核酸。病毒核酸检测方法可用于 HIV 的早期诊断,如窗口期辅助诊断、病程监控、指导治疗方案及疗效测定、预测疾病进程等。目前常用的测定方法有逆转录 PCR 实验(RT-PCR)、核酸序列扩增实验(NASBA)、分支 DNA 杂交实验(bDNA)等。使用高灵敏度的适时荧光 PCR 技术,能够在 HIV 感染的前 2 周检测到病毒核酸^[7-8]。病毒核酸检测方法具有很高的灵敏度,对疾病进展的监测,抗病毒疗效观察和耐药性监测非常重要。但是,由于 HIV 基因的多样性,没有一套引物可以覆盖所有的 HIV 序列,使检测的敏感性又受到限制;此外现有的病毒核酸检测方法或是检测仪器、检测试剂昂贵,或是操作复杂,对操作人员要求高,既难以在一般实验室推广,又不适用于对大量患者的快速检测,同样不适合广泛应用临床。

2 抗体检测

常用的 HIV 抗体检测技术包括初筛试验和确证试验,酶联免疫吸附试验(ELISA)、快速检测(RT)等试验仅作为筛查试验,免疫印迹(WB)试验、放射免疫沉淀实验(RIPA)等作为确认试验。

2.1 ELISA ELISA 的基本原理是免疫反应物通过化学或免疫学方法形成酶结合物,酶结合物能与待测样品中相应的抗原或抗体结合成为免疫复合物,然后加入酶底物,经酶的催化或水解作用,无色底物产生颜色,用肉眼、分光光度计观察结果。酶联免疫法检测敏感性和特异性均理想,但需要酶标仪、洗板机等设备辅助,要求专业人员操作,步骤较多,检测所花时间较长,不宜于单份标本的检测,而适用于大批量标本的检测。

2.2 RT RT 包括金标法及硒标法,试剂是以胶体金或硒为标记物,硝酸纤维素膜为载体,采用层析形式进行固相免疫测定的技术为原理制备的。该类试剂敏感性较 ELISA 试剂低,其使用范围受到一定限制。但该类试剂比较稳定,可以在室温

下保存一年或更长的时间,且操作简单,不需要仪器设备,尤其适用于单份标本的测定。快速检测试剂一般在 10~30 min 内测出结果,敏感性在 91.48%~99.15%。

2.3 WB WB 或免疫转印技术是在 DNA 印迹术发展而来的新型免疫生化技术,WB 是将 HIV 病毒蛋白通过 SDS-PAGE 把相对分子质量大小不等的蛋白带分离开来,再把这些已经分离的不同蛋白转移到硝酸纤维素膜上,再将此膜切割成条状,每一条硝酸纤维素薄膜上均含有经电泳分离过的 HIV 病毒抗原。待检血清样本用稀释液稀 100 倍,将其加到硝酸纤维素膜上,恒温震荡,使其充分接触反应。血清中若含有抗-HIV,就会与膜上的抗原结合,冲洗掉多余的抗体,然后加入抗人免疫球蛋白 G(IgG)酶结合物并温育,洗涤后加入底物,有反应的抗原抗体结合带呈现紫褐色,根据出现条带情况来判断结果。WB 是目前最特异、最敏感的证实 HIV 感染的方法,也是国内 HIV 确认的首选方法。WB 实验方法比 ELISA 复杂,要求高,检测必须在确认实验室进行,该方法诊断的准确率大于 99%,假阳性率约为 0.000 6%,造成错误诊断的概率几乎是零^[9]。

2.4 RIPA 本法是将病毒的蛋白与待测血清混合,如有 HIV 抗体,则同位素标记的 HIV 蛋白与之结合产生沉淀,沉淀物用配套的缓冲液和十二烷基硫酸(SDS)洗脱,即可将病毒抗原分离,最后病毒蛋白用放射自显影鉴定,同时用已知的分子标记物比较。此方法敏感性和特异性比 WB 实验方法高,但费时且技术难度大,目前难以普及推广。

综上所述,目前艾滋病诊断方法种类繁多,各有利弊。在临床实践中各医院应该根据自身规模、技术力量、设备条件等选择适合自己的检验检测方法及流程。以 400~800 张床位的中型医院为例,每日艾滋病检测标本量在 30~60 份。应首选 ELISA,对标本进行批量检测,对检测结果呈阳性的标本,在排除污染、洗板机故障等因素的基础上还应运用金标法及硒标法进行复查,如果检测结果均为阳性,应首先电话通知临床医生初筛试验检测结果,然后出具初筛试验阳性检测报告,患者血液标本外送当地疾控中心,在国家卫生部审定的确证实验室内进行 WB 试验或 RIPA 等确证实验,并负责出具阳性检测报告。如金标法复查为阴性而 ELISA 结果为阳性,至少应重复检测一次,每次可复核两孔,以避免加错标本和周围孔污染等人为错误。对复核结果仍然阳性的标本送确证实验室进行确证实验。由于 ELISA 不适合单个标本检查,且耗时较长,对于夜间单个急诊患者,或急需手术患者可先用金标法进行检测,电话告知临床医生结果,暂不出具检查报告。血液标本用 ELISA 进行复查后再出具报告,以最大程度减少漏诊率。

参考文献

- [1] Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome(AIDIS)[J]. Science, 1983, 220(4599): 868-871.
- [2] 龚震宇. 2003 年底全球 HIV/AIDS 流行状况[J]. 疾病监测, 2004, 19(3): 115-117.
- [3] Weber B, Berger A, Rabenau H, et al. Evaluation of a new combined antigen and antibody human immunodeficiency virus screening assay, VIDAS HIV DUO Ultra[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(4): 1420-1426.
- [4] Zhao Y, Yu M, Miller JW, et al. Quantification of human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA by using

TaqMan technology[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(2): 675-678.

[5] Gurtler L, Michl U. Reduction of the diagnostic window with a new combined p24 antigen and human immunodeficiency virus antibody screening assay[J]. J Virological Methods, 1998, 75(1): 27-38.

[6] Weber B, Rabenau H, Rabenau H. Evaluation of a New Combined Antigen and Antibody Human Immunodeficiency virus screening assay, VIDAS HIV DUO ULTRA [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(4): 1420-1426.

[7] O'Doherty U, Swiggard WJ, Jeyakumar D, et al. A sensitive, quantitative assay for human immunodeficiency virus type 1 integration[J]. J Virol, 2002, 76(21): 10942-10950.

[8] Todd J, Pachl C, White R, et al. Performance characteristics for the quantitation of plasma HIV-1 RNA using branched DNA signal amplification technology[J]. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol, 2005, 10(2): 35-44.

[9] Suligoi B, Galli C, Massi M, et al. Precision and accuracy of a procedure for detecting recent human immunodeficiency virus infections by calculating the antibody avidity index by an automated immunoassay-based method[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(11): 4015-4020.

(收稿日期: 2011-02-15)

建立一项避免配血错误复核机制

盛茂地(湖南省永州市第三人民医院检验科 425000)

【关键词】 床旁血型鉴定; 配血复核机制; 配血错误
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 13. 083 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)13-1664-01

2010 年卫生部发文公布了一起临床输血致人死亡案例, 致死原因竟是血型不合, 输错血液, 与此相关的责任人和管理者均受到了不同程度的处罚。痛定思痛, 为了防范输血差错少发或不发, 医务人员除了要加工作责任心之外, 还应该在输血机制上进行反思^[1]。例如, 三查七对是否具体有效, 各段工作之间的复核是否彼此关联。就这个问题, 作者下面作一些探讨, 并拟建避免配血错误复核机制。

1 现行的输血机制存有瑕疵

- 1.1 护师在采集配血样本的过程当中, 若发生差错, 例如, 抽错血样, 且又未能及时发现, 那么这个错误将被隐匿在整个输血治疗的过程之中。
- 1.2 技师在对血样做血型鉴定和交叉配合试验的过程当中, 若发生差错, 例如, 验错血型, 且又未能及时发现, 那么这个错误也将被隐匿在整个输血治疗的过程之中^[2]。
- 1.3 护师执行输血时, 只能核查到配血单上的表面信息。而采血护师和配血技师的隐匿错误, 此时已无法甄别, 往往要在输血执行当中, 患者有溶血反应时, 才能知道配错血型(人)。

2 拟建一项避免配血错误复核机制

- 2.1 标本采集环节 配血样本采集管应制有 3 条相同且可撕下的条形码, 其中 1 条由采血护师贴在患者佩戴的信息圈上, 另外 2 条由配血技师分别贴在配血单和血袋上。
- 2.2 血型鉴定及交叉配血环节 用两种不同的试剂做血型鉴定; 做交叉配血试验的同时, 加做供受者的血型鉴定。
- 2.3 输血执行环节 护师执行输血前: (1) 核对条形码; (2) 做床旁血型鉴定。

3 床旁血型鉴定试验

- 3.1 床旁血型鉴定的可行性 (1) 试验操作简单, 护师已具备该技能; (2) 常规设备, 医院均有配置; (3) 工作量小, 成本低, 患者能够接受。
- 3.2 床旁血型鉴定的最大优点是输血前发现错误。由于是在床旁采集血液且立即进行血型鉴定。因此, (1) 鉴定结果不会出现张冠李戴现象; (2) 鉴定结果与血袋上的血型信息吻合, 则可以给患者输血; 鉴定结果与血袋上的血型信息不吻合, 则不

能给患者输血。

4 建立避免配血错误复核机制的人文规则

- 4.1 医疗行政部门要建章立制 由于现行的输血复核机制, 护师只参与纸质信息核对, 并没有进行实验核对。因此, 需要医疗行政部门将床旁血型鉴定列为护师执行输血前的必须工作内容, 并以文件的形式规范化, 订下来。
- 4.2 护师应转变思想观念 将现行的照单输血, 改为加做床旁血型鉴定试验, 复核血型匹配无误后再输血。这虽增加了 1% 的工作量, 但可减少 99% 的输血差错。
- 4.3 各段工作责任的划分 医院职能部门应对临床输血这一医疗行为的整个过程, 将其阶段化, 并制定各段工作的责任比例。本文拟荐按 100 : 100 : 10 的比例划分, 即护师送错配血样本负 100% 的责任; 技师配错血液负 100% 的责任; 执行输血的护师, 床旁血型鉴定做错负 10% 的责任。依此划分, 没有给采血护师和配血技师减责或免责, 但增加了输血护师的责任, 从而使输血复核客观实在, 更具实际意义。

5 推行避免配血错误复核机制的条件

避免配血错误复核机制的核心内容是实施床旁血型鉴定, 最大的好处是输血前发现错误。实现这一目标必须满足 3 个条件: (1) 有医疗行政部门针对避免配血错误复核机制的操作规程。 (2) 有合格的血型鉴定试验操作平台。 (3) 有业精技高的执业护师。其中第 1 条是政策性的, 第 2 条是商业性的, 第 3 条是技术性的。政策是根本, 有了政策支持, 其他事情应该很容易解决。

参考文献

- [1] 倪剑红. 临床输血质量管理与控制略析[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(9): 145-146.
- [2] 魏寿忠, 李晓红, 陈依平. 对医护人员实施输血相关知识岗前教育的内容和体会[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(23): 2668-2669.

(收稿日期: 2011-02-15)