

表 2 各试剂与镁试剂交叉污染确认结果 (mmol/L)				
项目	Mg-1	Mg-2	Mg-3	偏差 (Mg-1/Mg-3) %
Glu	1.70	1.23	1.08	157
CHE	1.07	1.06	1.06	100
D-Bil	1.06	1.07	1.06	100
ALT	1.09	1.07	1.07	102

3 讨 论

检验工作以准确、及时为准则,全自动生化分析仪为检验科日常工作提供很大的帮助。然而在试验过程中可能有许多问题不被发现或被一种倾向所掩盖,交叉污染就是生化检验中的一项重要课题,是导致误差、误诊非常重要的一个环节^[3-5]。日立 7600-110 全自动生化分析仪分为电解质模块、D 模块和 P 模块。其 D 模块检测原理与 P 模块一样,均是采用吸收光谱分析法,但是工作方式却与 P 模块大不相同。P 模块只有一根样本加样针而 D 模块却有 4 根样本加样针分别由 4 个吸量器控制。P 模块的试剂加样针只有 2 根,分别探针式吸取 R1、R2 试剂,D 模块中 16 种试剂通道都有专门的管路及试剂喷嘴,由于每个检测通道都设置了 R1 和 R2 两个试剂管路,所以 D 模块总共有 32 个试剂喷嘴,比较起来,D 模块似乎不应存在试剂间的交叉污染。然而 D 模块的试剂吸量器却只有 4 只,R1、R2 试剂各用 2 只,其 1 号分管通道均有 2 组,分别为 1、5、9、13 和 2、6、10、10;2 号分管通道也有 2 组,分别为 3、7、11、15 和 4、8、12、16。试剂交叉污染的来源就是 4 种试剂通道共用的复杂的试剂切换阀。

要消除试剂的交叉污染,常用的方法有 2 种:(1)可以在仪器的程序中设置特殊清洗程序,因为 D 模块特殊的加样原理,没有特殊清洗程序,所以该方法排除。(2)可以合理安排检测项目的顺序,在有交叉污染的检测项目中间插入一个或者 2 个非污染项目^[6-8]。因为 Mg 为单试剂,二甲苯胺蓝反应颜色变化由蓝色试剂生成红色络合物,因此,在确认 Glu 对 Mg 有污染后,笔者用小试管分别取 Mg 试剂及少许 Glu 试剂 R1,轻轻振荡,混合物颜色由蓝色转为红色,进一步确认了 Glu 试剂能

• 经验交流 •

和 Mg 发生反应引起红色络合物生成的增加。为消除试剂交叉污染,我们将 ALT 试剂与 Glu 试剂交换位置,在交换之前,仍先用小试管混合少量 ALT 的 R1 试剂与 Mg 试剂,无颜色变化再修改参数,此举可减少参数修改后交叉污染仍存在的麻烦,并用试剂交叉污染的确认试验来验证 ALT 是否对 Mg 有污染,结果显示,ALT 与 Mg 试剂组合,Mg 相对偏差为 102%,交叉污染消除。

日常在生化检验工作中,交叉污染导致检测结果异常所占比例远大于仪器故障。因患者检测项目组合的不同,导致受污染项目测定结果为偶发性的增高或是降低,不易发现,容易导致对病情的误诊。因此,生化检验工作不能完全依赖仪器,检验人员要完全熟悉仪器的工作原理,对检测结果审核时要有高度的警觉性,一旦发现异常要仔细检查直到找到原因,不能抱有侥幸心理,才能保证检测结果的准确性。

参考文献

[1] 覃彦平,柯柳华. 浅析生化分析仪试剂间交叉污染及解决方法[J]. 中国医学创新,2012,9(1):152.

[2] 于嘉屏. 全自动生化分析仪及其试剂间化学污染对检测结果的影响[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(11):1301-1302.

[3] 祁宏英,刘翔. HITACHI7180 全自动生化分析仪项目间交叉污染的排除[J]. 医疗装备,2005,12(1):61-62.

[4] 田勇光,李继婉,陶红. HITACHI7180 全自动生化分析仪试剂交叉污染及解决方案[J]. 中国卫生检验杂志,2010,10(20):2641-2642.

[5] 陈茹,张波,王永新,等. 日立 7180 全自动生化分析仪项目间交叉污染实验研究[J]. 检验医学与临床,2010,7(18):1973-1975.

[6] 蒋文英,李泽孟,樊雪英. 日立 7170A 全自动生化分析仪防交叉污染程序的设置[J]. 现代检验医学杂志,2003,18(1):36-37.

[7] 于雷. 生化自动分析仪项目间试剂的交叉污染及其避免方法[J]. 临床检验杂志,2003,21(2):168.

[8] 李浩,缪应业,郭昭静. 生化自动分析仪分析顺序对测定结果的影响[J]. 临床检验杂志,2001,19(2):212.

(收稿日期:2014-06-07)

住院患儿血清巨细胞病毒核酸与 IgM 抗体检测比较研究

朱建康¹,李耀军^{2△}

(1. 陕西中医学院第二附属医院产前诊断室,陕西咸阳 712000;
2. 西安医学院第二附属医院检验科,陕西西安 710038)

摘 要:目的 比较荧光定量 PCR 法检测人巨细胞病毒核酸(HCMV-DNA)与酶联免疫法检测人巨细胞病毒 IgM 抗体(HCMV-IgM)在住院患儿巨细胞病感染诊断中的价值。方法 采用 2 种不同方法对 217 例住院患儿血清标本进行同步检测,然后进行结果分析。结果 住院患儿 HCMV-DNA 阳性率为 22.1%(48/217),HCMV-IgM 阳性率为 27.2%(59/217),2 种方法检测总符合率为 87.6%。结论 HCMV-DNA 和 HCMV-IgM 检测对于住院患儿 CMV 感染的诊断有较高的符合率,对 IgM 抗体检测阴性而临床疑似 CMV 感染的患儿,可进行 HCMV-DNA 检测,以提高 CMV 感染的诊断准确率。

关键词:巨细胞病毒; 核酸; IgM 抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.24.065 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2014)24-3437-02

人巨细胞病毒(HCMV)在人群中感染相当普遍,感染率 随年龄增长逐渐提高,原发感染主要发生在儿童时期,成年人

△ 通讯作者,E-mail:953067233@qq.com。

群中感染率高达 80%~100%^[1-3]。一旦发生 HCMV 感染常终身带毒,免疫功能正常时,感染常无症状,病毒潜伏持续存在,当机体抵抗力下降时,可引起病毒激活感染,导致严重损伤和疾病。儿童 CMV 感染相关疾病几乎涉及全身各个系统,临床表现多种多样,有呼吸道感染、神经系统损害、肝炎、心肌炎、贫血、血小板减少性紫癜、噬血细胞综合征和血尿等,易误诊为急性白血病、骨髓增生异常综合征等^[4-5],因此早期、快速、精确地诊断 HCMV 急性感染十分重要。目前临床检测巨细胞病毒急性感染方法主要包括病毒分离法、HCMV-DNA、HCMV-PP65 抗原及 IgM 检测,其中 IgM 抗体的检测由于操作简便、快速,所以普及率最高,但 IgM 抗体的检测不是直接检测巨细胞病毒,且受免疫反应灵敏度和特异性的影响。随着技术的进步,病毒核酸 DNA 的检测越来越受到重视。本研究对本院儿科 2013 年 1 月至 5 月收治的 217 例住院患儿进行 HCMV-DNA 和 IgM 抗体的检测,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 217 例血清标本均来自于本院 2013 年 1~6 月住院患儿 217 例,年龄 1 个月到 8 岁,平均年龄 5 个月。同一个住院患儿,按照核酸和 IgM 抗体检测的要求,同时抽取 2 管血液标本,平行检测。

1.2 试剂仪器与方法 HCMV-DNA 荧光定量检测试剂盒及实时荧光定量 PCR 仪(型号 DA7600)均由中山大学达安基因股份有限公司生产;HCMV-IgM 抗体测定试剂盒(ELISA 法),为潍坊康华生物工程有限公司生产,使用 StatFax-2100 酶标仪和 DEM-Ⅲ型自动酶标洗板机。严格按照试剂盒和仪器说明书操作。

1.3 统计学处理 采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

217 例住院患儿血清标本用 2 种不同方法检测的结果见表 1。HCMV-DNA 阳性率为 22.1%(48/217),HCMV-IgM 抗体阳性率为 27.2%(59/217),48 例 HCMV-DNA 阳性样本中 HCMV-IgM 阳性 40 例,符合率 83.3%,169 例 HCMV-DNA 阴性的样本中 HCMV-IgM 阴性 150 例,符合率 88.8%,2 种检测方法总符合率为 87.6%。经统计学处理,2 种检测方法比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 HCMV-DNA 与 HCMV-IgM 检测结果比较(n)			
HCMV-IgM	HCMV-DNA		
	阳性	阴性	合计
阳性	40	19	59
阴性	8	150	158
合计	48	169	217

3 讨论

巨细胞病毒的自然感染非常普遍,主要危害婴幼儿和免疫缺陷者,由于 HCMV 感染缺乏特异的临床症状和体征,且大多数呈隐性感染,故确诊 HCMV 感染主要依靠实验室检测。荧光定量 PCR 检测技术融汇了 PCR 高灵敏性、DNA 杂交的高特异性和光谱技术的精确定量的优点,在检测低病毒含量标本时有很高的应用价值,是目前诊断 HCMV 感染的最敏感方法^[6-7]。人感染 CMV 后可产生特异性抗体 IgM、IgG、IgA 和 IgE,通过检测血清中的 IgM、IgG 抗体可间接证实体内

HCMV 的存在。IgM 特异性抗体一般在 HCMV 原发性感染或潜伏期感染后 10~14 d 可检出,6~8 周达高峰,12~16 周消失。血清中特异性抗体 IgM 阳性提示近期 HCMV 活动性感染或潜伏的病毒被激活,可作为 HCMV 活动性感染的指标。IgM 抗体检测虽快速、方便、费用低,为目前临床常用的方法,但由于 HCMV-IgM 抗体与疱疹科其他病毒感染所产生的抗体存在交叉反应,检测结果易出现假阳性。IgM 抗体产生本身具有滞后性,即 HCMV 感染约 2 周后 IgM 抗体才能达到被检测水平,且 IgM 检测结果受检测时间窗、机体免疫状态等多种因素的影响,易造成假阴性结果。因此,不能单独依靠血清 IgM 检测结果判断是否存在 HCMV 活动性感染^[8]。

本研究用 2 种不同的方法检测了 217 例住院患儿血清标本,阳性率在 20%~30%,提示巨细胞病毒的急性感染。其中,HCMV-DNA 阳性率为 22.1%(48/217),高于文献的报道^[9];检测阳性的 48 例标本中有 40 例,HCMV-IgM 同时阳性,8 例检测为阴性,对这 8 例样本 2 周后重新取样检测,均出现 IgM 抗体阳转,提示 HCMV 感染在发病早期,HCMV-DNA 检测的灵敏度高于 HCMV-IgM 抗体检测。在 HCMV-IgM 抗体阳性的 59 例样本中,有 40 例为 HCMV-DNA 阳性,19 例检测为阴性,这种情况可能为 IgM 抗体检测的假阳性,或为 HCMV 感染恢复后 IgM 抗体的持续阳性。

从数据上可以看出,血清 IgM 抗体与 DNA 检测结果间有较高的符合率(87.6%),对于早期感染者 DNA 检测能够体现出更高的灵敏度,而 IgM 抗体的检测方法成熟,易于操作,成本低廉,适合在各级医院开展,因此是性价比较高的筛查方法。建议对于 HCMV-IgM 抗体检测阴性,而临床又疑似巨细胞病毒感染的患儿,可以结合患者感染的严重程度,进行 HCMV-DNA 检测,提高 CMV 感染的诊断准确率,以便及时给予治疗。

参考文献

[1] 王万海,王庆芳,李建丽,等.河南省 3 084 例育龄男女弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒感染状况调查分析[J]. 中华临床感染病杂志,2012,5(5):270-273.

[2] 盛楚华,黄蓝生,林美珊,等.汕头地区健康献血者人巨细胞病毒抗体及 DNA 检测结果的评价[J]. 汕头大学医学院学报,2009,22(1):37-40.

[3] 余菁,张莉,张昕明,等.某市妇女 TORCH 感染调查分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(9):984-985.

[4] 吴美玲,陈洁,钟天鹰,等.南京 0~8 岁儿童巨细胞病毒感染流行病学调查[J]. 中华实用儿科临床杂志,2012,28(4):298-300.

[5] 倪语星,尚红 主编.临床微生物学与检验[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2012:201-203.

[6] 金艳.人巨细胞病毒先天性感染实验室诊断的研究进展[J]. 安徽医科大学学报,2011,46(3):282-285.

[7] 刘萍,张坚磊,王珏,等.荧光定量 PCR 检测项白血病化疗后患者巨细胞病毒感染[J]. 天津医药,2008,36(10):814-815.

[8] 吴满武.7 832 例孕妇 HCMV-IgM 的检测分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15(1):53.

[9] 贾伟,师志云,赵志军,等.荧光定量聚合酶链反应技术检测儿童患者人巨细胞病毒结果分析[J]. 检验与临床,2012,9(13):1568-1569.