

实验耗材,如真空采血管、注射器、离心管、一次吸管等质量不合格,也可导致染色体制备实验失败,如细胞培养失败、细胞收获失败或显带困难等。因此,在更换实验耗材后,应对新的耗材进行质量检测,检测合格方可使用。耗材质量检测也可采用平行实验,且每次实验最好只针对某一种耗材进行检测,以便于发现问题。

外周血染色体检测作为细胞遗传学检测方法之一,存在一定的局限性,多为手工检测,从标本采集到发出报告实验过程步骤繁多,人为影响因素较多,任何一个环节的失误都可能造成实验失败,甚至导致结果错误或漏诊^[9]。影响检验结果的检验前因素较多,涉及各个方面,而检验前质量控制往往容易被忽视。要解决外周血染色体检测检验前质量问题,首先应提高分析前阶段的质量保证工作,提高对标本质量重要性的认识,尤其应注意患者信息采集和患者准备^[10]。

染色体检测的检验前质量控制是确保检测结果准确性的重要前提与基础,细胞遗传实验室应重视影响染色体检测的检验前因素,并严格加以控制。

参考文献

[1] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2012.

• 个案与短篇 •

[2] 张路,王薇,王治国. 临床检验前和检验后阶段的管理[J]. 中国医院管理,2015,35(8):34-36.

[3] 丛玉隆. 临床分析前质量管理及对策[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(8):483.

[4] 闫慧,郭旭霞,白杨. 临床渗及信息反馈路径对检验前质量控制的作用[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2016,10(1):155-158.

[5] 吴永岳,曹龙翎,邓珠连. 血液标本采集对生化检验结果的影响探讨[J]. 吉林医学,2014,35(8):1581-1582.

[6] 唐文娟,左毅,徐真. 862 例遗传咨询者外周血染色体分析及实验室内质控[J]. 中国优生与遗传杂志,2015,23(2):25-26.

[7] 黄克斌,杨喜民,叶明,等. 检验医学分析前质量控制分析[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(3):428-429.

[8] 邱惠国,林晖,侯喜琴,等. 人体外周血染色体 G 显带制备的影响因素[J]. 中国实用医药,2011,6(27):225-227.

[9] 龙志高,邢恩鸿,王玉琢. 细胞遗传学产前诊断技术与规范[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2015,31(9):811-814.

[10] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2015:1003-1012.

(收稿日期:2016-11-18 修回日期:2017-01-24)

抗-HCV 酶免法检测结果在临界值附近的风险探讨

王 涛¹,张春雷^{2△},曾学辉²,张书楠²,陈桂冰²

(1. 南京军区总医院门诊部,南京 210002;2. 深圳市中医院检验科,广东深圳 518083)

关键词:丙型肝炎病毒; 核酸扩增微流芯片分析法; 化学发光免疫分析法; 酶免疫分析法; 胶体金法
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.11.061 文献标识码:C 文章编号:1673-4130(2017)11-1583-03

酶免疫分析法(简称酶免法)抗丙型肝炎病毒(HCV)抗体(简称抗-HCV)检测广泛应用于血液筛查。不同品牌试剂使用的 HCV 基因重组抗原质量及包被工艺有所不同,在检测特异性和灵敏度方面存在一定的差异,有可能导致检测结果不一致。病毒核酸扩增检测灵敏度高,使检测“窗口期”大大缩短,有利于实现 HCV 感染的早期诊断,避免传染性疾病的输血传播^[1-3]。本研究对酶免法抗-HCV 检测临界值结果标本进行了核酸扩增微流芯片法、化学发光免疫分析法(CLIA)和胶体金法检测,并对检测结果进行了比较分析。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 19 例酶免法抗-HCV 检测结果标本吸光度值与临界值比值(S/CO)为 0.4~2.0 的外周血标本。

1.2 仪器与试剂 上海科华公司、北京万泰公司酶免法抗-HCV 检测试剂(S/CO<1.00 判为阴性,S/CO≥1.00 判为阳性)。美国雅培公司 Axsym 型 CLIA 分析系统及配套抗-HCV 检测试剂(S/CO<1.00 判为阴性,S/CO≥1.00 判为阳性)。英科新创公司胶体金法 HCV 检测试剂。上海浩源生物科技公司 HCV 核酸检测试剂。美国 Caliper 公司 DNA 1000 型微流芯片仪。美国 Bio-Rad 公司聚合酶链免疫反应(PCR)扩增仪。上海科华公司 ST-36W 型洗板机及 ST-360 型酶标仪。

1.3 方法 按仪器和试剂说明书的要求,对 19 例标本进行酶免法、CLIA 法、胶体金法和核酸扩增微流芯片法检测。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2010 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同方法检测阳性率比较 19 例酶免法抗-HCV 检测 S/CO 0.4~2.0 血清标本核酸扩增微流芯片法、CLIA 法、酶免法、胶体金法检测阳性结果见表 1。

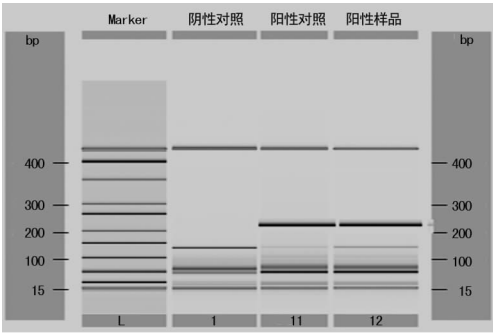
表 1 不同方法检测阳性结果比较(n=19)

方法	阳性数(n)	阳性率(%)
酶免法(上海科华公司)	5	26.32*
酶免法(北京万泰公司)	9	47.37*
胶体金法	0	0.00*
CLIA 法	16	84.21
核酸扩增微流芯片法	16	84.21

注:与核酸扩增微流芯片法检测阳性率比较,* $P<0.05$ 。

2.2 核酸扩增微流芯片法电泳图 核酸扩增微流芯片法扩增产物电泳图见图 1,扫描结果见图 2。

△ 通信作者,E-mail:czhang0755@163.com。



注:L 为 DNA 分子标记物;1 号为阴性对照;11 号为阳性对照;12 号为阳性标本。

图 1 核酸扩增微流芯片法 HCV DNA 检测凝胶电泳图

4~2.0 血清标本酶免法、胶体金法、CLIA 法和核酸扩增微流芯片法检测结果见表 2。

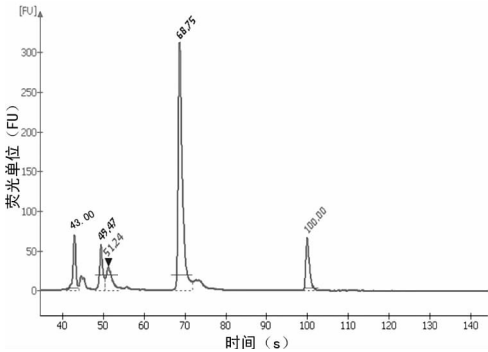


图 2 12 号标本核酸扩增微流芯片法 HCV DNA 检测电泳扫描图

2.3 不同方法检测结果 19 例酶免法抗-HCV 检测 S/CO 0.

表 2 不同方法检测结果

标本编号	核酸扩增微流芯片法	CLIA 法(S/CO)	酶免法		胶体金法
			上海科华(S/CO)	北京万泰(S/CO)	
1	阳性	20.42	0.78	1.57	阴性
2	阳性	13.32	1.45	0.57	阴性
3	阳性	4.43	1.77	0.62	阴性
4	阳性	2.19	0.77	1.61	阴性
5	阳性	2.11	1.07	0.49	阴性
6	阳性	1.76	0.47	0.48	阴性
7	阳性	1.79	0.57	1.44	阴性
8	阳性	1.51	0.52	1.27	阴性
9	阳性	1.76	0.46	0.91	阴性
10	阳性	1.62	0.68	1.73	阴性
11	阳性	1.68	0.61	1.74	阴性
12	阳性	1.57	0.55	0.86	阴性
13	阳性	1.81	0.83	0.69	阴性
14	阳性	1.71	0.18	1.14	阴性
15	阳性	1.83	0.58	0.77	阴性
16	阳性	1.79	0.33	1.84	阴性
17	阴性	0.86	1.78	0.13	阴性
18	阴性	0.67	0.37	1.67	阴性
19	阴性	0.29	1.23	0.41	阴性

3 讨 论

HCV 属于 RNA 病毒,感染机体后主要通过免疫介导机制导致丙型肝炎,转阴率和治愈率较低,危害较大。因丙型肝炎早期症状不明显,易延误治疗,因此提高早期诊断率尤为重要。HCV 传播途径主要为通过输血、手术、吸毒、针刺等途径导致含有 HCV 的血液进入机体,其次是母婴传播、性行为传播等。各种传播途径中,输血引起的 HCV 感染可通过血液筛查而避免。

核酸扩增微流芯片法采用毛细管电泳技术分离 DNA 片段,通过检测荧光信号识别不同的 DNA 片段,最终以数字化形式输出 PCR 产物大小等信息。该方法通常采用两对特异性

引物,可很好地避免假阳性检测结果^[4]。CLIA 法综合应用化学发光技术和抗原抗体免疫反应原理,具有化学发光技术灵敏度高和抗原抗体反应特异性强的优点,多用于抗原、半抗原、抗体、激素、酶等物质的检测。胶体金法操作便捷,无需特殊设备,广泛使用于单标本检测。酶免法操作较复杂,耗费时间长,多用于批量标本检测。酶免法抗-HCV 检测试剂多采用基因工程表达抗原作为包被抗原,检测特异性和灵敏度较高,可达 99%^[5]。然而,不同品牌试剂采用的 HCV 重组抗原质量和包被抗原片段及比例有所不同,具有不同的检测灵敏度和特异性,因此抗-HCV 检测结果存在一定的差异^[5-6]。本研究中,两种酶免法试剂盒检测灵敏度存在差异,且均出现假(下转插Ⅱ)

(上接第 1584 页)

阴性和假阳性结果。

本研究选择酶免法抗-HCV 检测 S/CO 值为 0.4~2.0 的血清标本,采用多种方法进行检测。以核酸扩增微流芯片法检测结果作为参考,结果显示,上海科华公司酶免法试剂出现假阴性 13 例、假阳性 2 例,北京万泰公司酶免法试剂出现假阴性 10 例、假阳性 1 例。CLIA 法检测结果与核酸扩增微流芯片法完全一致,而胶体金法无法检出所有阳性标本。由此可见,如果完全按照 S/CO 值判断检测结果,有可能导致酶免法抗-HCV 检测 S/CO 为临界值的标本检测结果判断错误,导致假阳性或假阴性结果。

综上所述,临床应至少采用两种方法进行 HCV 感染检测。金标法因敏感性太低,不适用于标本筛查,可用于其他方法检测阳性标本的复查。对于酶免法抗-HCV 检测结果 S/CO 值在临界值附近的标本,应采用核酸扩增微流芯片法、CLIA 法进行检测^[7-9]。若无法进行核酸扩增微流芯片法或 CLIA 法检测,应采用金标法对酶免法检测阳性标本进行复查,同时参考试剂说明书,并结合受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析结果确定最佳诊断临界值,以保证结果的准确性^[10]。

参考文献

[1] Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, et al. Detection of HIV and HCV infections among antibody-negative US blood donors by nucleic acid amplification testing[J]. N Engl J Med, 2004, 351(8): 760-768.

[2] Pisani G, Marino F, Cristiano K, et al. External quality assessment for the detection of HCV RNA, HIV RNA and HBV DNA in plasma by nucleic acid amplification technology: a novel approach[J]. Vox Sang, 2008, 95(1): 8-

12.

[3] Vermeulen M, Lelie N, Sykes W, et al. Impact of individual-donation nucleic acid testing on risk of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission by blood transfusion in South Africa[J]. Transfusion, 2009, 49(6): 1115-1125.

[4] Graffin CG, Lesage G, Kousignian I, et al. Use of an anti-hepatitis C virus(HCV) IgG avidity assay to identify recent HCV infection[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(9): 3281-3287.

[5] Duru MU, Aluyi H, Anukam K. Rapid screening for co-infection of HIV and HCV in pregnant women in Benin City, Edo State, Nigeria[J]. Afri Health Sci, 2009, 9(3): 137-142.

[6] 谢立, 吴晓东. 丙型肝炎病毒检测方法的研究进展及其临床意义[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(7): 884-886.

[7] 姚仁南, 陈复兴, 陈玲, 等. 化学发光法检测 HCV 在献血者体检中的应用评价[J]. 中华全科医学, 2011, 9(3): 450-453.

[8] 姚仁南, 张建辉, 黄晓静, 等. 在安全输血中应用丙型肝炎病毒核心抗原检测技术的初步探索[J]. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(3): 617-618.

[9] 赵小英. 维持血液透析患者丙型肝炎抗-HCV 酶免检测灰区标本确认的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(10): 1392-1393.

[10] 卢香云, 程江. 酶免法检测丙型肝炎病毒抗体最佳临界值的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(9): 1171-1172.

(收稿日期: 2016-12-17 修回日期: 2017-02-23)

(上接第 1581 页)

带教时,应注意以下几个方面。(1)用全面的眼光看待细胞:每个细胞都各有特点,有其相应的大小、形状和颜色,在细胞浆、细胞核、胞浆颗粒等方面也各有不同。因此,一定要全面、系统地认识细胞,不能仅凭某一方面的特点判断细胞的类型和阶段。刚进入实习阶段的实习生有可能受限于知识掌握程度,无法全面认识细胞,对细胞的判断和鉴别出现偏差,因此带教老师需给予适当的辅导。(2)用发展的眼光认识细胞:细胞发育阶段是人为划分的,划分依据包括细胞大小、细胞浆和细胞核等的特点。但对于介于两个阶段之间的细胞,难以划分时,需要以发展的眼光认识细胞,正确划分细胞的发育阶段。(3)学会用质控细胞:质控是保证临床检验工作质量的重要因素,但形态学中的质控细胞却常被忽略。在观察血涂片或骨髓涂片时,需要选择适当的质控细胞,从而保证获得正确的细胞形态学检查结果。一般而言,可采用成熟红细胞作为判断涂片染色酸碱性的质控细胞。在涂片染色过程中,有时难免出现偏酸或偏碱的情况,此时若无成熟红细胞作为涂片酸碱度的质控,很难判断幼稚细胞的分类和阶段。可采用成熟淋巴细胞作为判断细胞核细致程度的质控细胞。此外,在细胞化学染色中,质控细胞也十分重要。例如,在急性淋巴细胞白血病的过氧化物酶(POX)染色中,可通过观察成熟粒细胞细胞浆中的颗粒判断染色成功与否。

5 充分利用外部资源

现如今,可通过互联网的各种渠道获得大量的信息来解决遇到的各类难题。对于刚进入实习阶段的实习生,可通过各种交流软件互通信息,同时可建立各种兴趣群、讨论群等进行信

息交流。带教老师也可将真实病例融入兴趣性、讨论群中,让实习生进行充分的讨论,将被动的学习变为积极主动的探索。

《临床血液学检验》是检验医学的必修课程和主干课程之一,细胞形态学实习教学难度较大,教学内容较其他课程也更为枯燥^[6]。带教老师需要在教学过程中以学生为中心,使其充分认识到细胞形态学的重要性,同时注重自身专业素质的提高,不断更新、补充专业前沿知识,采用合适的教学方法及手段,充分利用各类资源,调动实习生的学习主动性和积极性,就能取得较好的实习教学效果,培养合格的检验医学人才。

参考文献

[1] 杨燕, 徐金莲. 血液形态学检验临床实习教学的体会[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 885-886.

[2] 张峰群, 关明. 检验项目的选择和优化[J/CD]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2015, 5(3): 65-67.

[3] 卢鉴财, 陈务华. 对医学检验实习生的带教体会[J]. 检验医学与临床, 2011, 4(8): 1010-1011.

[4] 闫玲, 马萍. PBL 教学模式在临床血液学与检验教学中的应用研究[J]. 继续医学教育, 2014, 2(28): 82-83.

[5] 吴晓莉, 彭来君. 基于 CBS 的《临床血液学检验》教学模式改革与实践[J]. 高等教育研究, 2012, 18(2): 74-75.

[6] 许文荣, 王建中. 临床血液学检验[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012.

(收稿日期: 2016-11-16 修回日期: 2017-01-22)