

敏感, 临床治疗反应好, 早期可获得完全缓解, 复发率低, 易获二次缓解^[9]。本例患儿确诊后, 给予 VDLP 诱导缓解治疗, CAM、6-MP+大剂量甲氨蝶呤等巩固治疗后, 早期治疗效果佳, 均能达到骨髓完全缓解, 在一定程度上证实了 TEL/AML1 阳性患儿对化疗敏感, 完全缓解率高, 是儿童 ALL 中预后较好的亚型。

综上所述, TEL/AML1 融合基因阳性患儿总体预后良好, 是 ALL 低危标志之一, 早期检测可指导治疗方案及预后。但本例患儿远期疗效还待进一步观察。

参考文献

- [1] 陈小文, 文飞球, 吕荣钰, 等. 一步法多重 RT-PCR 对儿童急性淋巴细胞白血病常见融合基因的检测及意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 17(4): 332-336.
- [2] 张小珍, 乐萍, 霍小春, 等. 178 例儿童急性淋巴细胞白血病细胞与分子遗传学特征研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(9): 33-35.
- [3] 沈伟, 韦永琼, 于霞, 等. 儿童急性淋巴细胞白血病 MICM 检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(19): 2808-2810.
- [4] 徐肿, 何妙侠, 郑建明, 等. 儿童急性淋巴细胞白血病微小

残留病检测及其进展 [J]. 检验医学, 2013, 28(4): 342-347.

- [5] Saw in ska M, Ladon D. Mechanism, detection and clinical significance of the reciprocal translocation (12;21)(p12;q22) in the children suffering from acute lymphoblastic leukaemia [J]. Leuk Res, 2004, 28(1): 35-42.
- [6] 帖利军, 顾龙君, 宋得莲, 等. 儿童急性淋巴细胞白血病治疗早期白血病细胞及微量残留病监测的预后价值 [J]. 中华血液学杂志, 2005, 26(1): 6-9.
- [7] 顾敏儿. TEL/AML1 融合基因阳性的急性淋巴细胞白血病患儿的临床特点及预后 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(46): 20-21.
- [8] 王凯玲, 梅研研, 崔蕾, 等. 两种化疗方案对于 TEL-AML1 融合基因阳性儿童急性淋巴细胞白血病的疗效比较 [J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(2): 285-290.
- [9] 王晓东, 陈静. AML1 基因异常与儿童急性白血病相关研究进展 [J]. 中国实验血液学杂志 2009, 17(4): 1078-1082.

(收稿日期: 2017-02-12 修回日期: 2017-05-06)

• 个案与短篇 •

酶联免疫法临床检测中假阳性现象分析

乔秀真¹, 艾冬梅², 郭九玲¹, 李亚昭³

(衡水市第二人民医院: 1. 检验科; 2. 肿瘤内科; 3. 急诊科, 河北衡水 053000)

关键词: 乙型肝炎表面抗原; 丙型肝炎病毒抗体; 酶联免疫法; 假阳性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 19. 057

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2017)19-2975-03

酶联免疫法即酶联免疫吸附试验, 是目前临床实验室和血站应用最广泛的检测抗原抗体的成熟技术, 在酶免疫分析技术中, 酶联免疫法是发展最快、应用最广, 也是最成功的技术^[1]。该技术具有灵敏度高、特异性强、准确性好、酶标记物有效期长、试剂价格低廉等优点。酶联免疫法在临床应用中一直占据领先地位, 然而实际应用中一直受出现假阳性这一现象的困扰。众所周知, 乙型肝炎是我国广泛流行的一种公众危害性疾病, 乙型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg) 检测结果阳性是诊断乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的重要依据。丙型肝炎是一种广泛流行的病毒学疾病, 丙型肝炎病毒抗体 (抗-HCV) 阳性结果是诊断丙型肝炎病毒 (HCV) 感染的重要标志。本文就本院临床实验室应用酶联免疫法检测 HBsAg、抗-HCV 出现假阳性现象进行分析。

1 酶联免疫法检测 HBsAg 假阳性案例

1.1 临床资料 患者甲, 男, 54 岁, 主因饮食欠佳腹部不适就诊于本院门诊。

1.1.1 现病史 5 d 前不思饮食, 乏力在当地社区门诊咨询, 口服健胃消食片 3 d 效果不明显。肝功能不详, 乙型肝炎五项不详, 为进一步检查于 2015 年 4 月 20 日来本院就诊。

1.1.2 既往史 患者为食道癌患者, 半年前手术后进行过放疗, 效果良好, 目前病情稳定, 有输血史, 无长期大量饮酒史, 否认家族中有类似病患者。

1.1.3 入院的诊疗经过 患者神志清楚, 皮肤巩膜无黄染, 心

肺无异常发现, 腹平软, 肝脾未触及, 体温正常。门诊医生开具乙型肝炎系列 (定性) 检验及肝功能检验, 肝功能经检测各项指标均为正常值。

1.2 实验室检测 检验工作人员抽取患者肘动脉血 2 mL 置于肝素锂抗凝管中, 乙型肝炎系列检测标本管充分混匀后送往免疫室, 3 000 r/min 离心 10 min 后利用北京万泰生物药业股份有限公司提供的 HBV 检测试剂盒用于酶联免疫法检测, 试验 4 h 内完成。结果显示: HBsAg (+)、乙型肝炎表面抗体 (HBsAb) (-)、乙型肝炎 e 抗原 (HBeAg) (-)、乙型肝炎 e 抗体 (HBeAb-e) (-)、乙型肝炎核心抗体 (HBcAb) (-)。核对患者血样无误, 标本抗凝好, 无溶血, 无残留血渍, 室内质控在控, 检查操作步骤无误, 且试验过程排除了外源性过氧化物酶类似物与氧化还原物质的影响。另一工作人员采用原管血样, 采用北京万泰酶联免疫试剂盒复查乙型肝炎系列, 结果同上, 乙型肝炎五项中仅 HBsAg 一项阳性; 同时应用胶体金快速法检测 HBV (胶体金法检测时间短, 检测效率较高^[2]) HBsAg 为 (-), 安图全自动化学发光仪 A2000 定量检测 HBsAg 0.008 ng/mL (正常值 0~0.15 ng/mL)。由此可见以上 3 种方法检测 HBsAg 结果均不一致; 查得各试剂盒均在有效期内, 酶联免疫法 HBsAg 试剂盒由北京万泰提供 (批号 B20140927, 有效期至 2015 年 8 月); 胶体金 HBsAg 检测试剂条由杭州艾博生物医药有限公司提供 (批号 201310094/2.5, 有效期至 2015 年 9 月); 全自动定量检测 HBsAg 试剂盒由郑州安图生物工程股

份有限公司提供(批号 20150117,有效期至 2016 年 1 月 6 日)。初步确定 HBsAg(+)问题出现在酶联免疫法应用肝素锂抗凝剂方面,即对患者标本进一步进行 HBV-DNA 检测,检测结果为阴性。试验排除了仪器及人为操作误差,HBV-DNA 测试是探测血液中 HBV 的实际存在情况,患者并未检测到 HBV-DNA。更加怀疑肝素锂抗凝管血浆标本酶联免疫法检测为假阳性。实验室工作人员与患者及家属沟通嘱患者第 2 天再次抽血复查,于 2015 年 4 月 21 日抽取患者肘静脉血 4 mL,分别注入促凝管与肝素锂抗凝管各 2 mL,3 000 r/min 离心 10 min 后,酶联免疫法测试结果显示:肝素锂抗凝管血浆标本:HBsAg(+);促凝管血清标本 HBsAg(-)。遂证实肝素锂抗凝管血浆标本 HBsAg(+)为假阳性,发出乙型肝炎五项均为阴性正常报告。

2 酶联免疫法检测抗-HCV 假阳性案例

2.1 临床资料 患者乙,男,12 岁,因高烧、剧烈呕吐、腹痛 1 d 入院。

2.1.1 现病史 入院查体温 39.3 °C,1 d 前曾剧烈打球出汗后淋雨,夜间遂高热伴呕吐,同时腹痛难忍。

2.1.2 既往史 患者无手术史,无献血及输血史,无吸毒史。父母双方、祖父母、外祖父母均无丙型肝炎史。

2.1.3 入院后诊疗经过 患者神志清楚,皮肤巩膜无黄染,心肺无异常发现,腹平软,肝脾未触及,体温正常。门诊医生开具血、尿常规,红细胞沉降率,乙、丙型肝炎定性及肝、肾功能检查。

2.1.4 辅助检查 血常规:白细胞 $28.16 \times 10^9/L$,中性粒细胞绝对值 $24.86 \times 10^9/L$,血红蛋白 150 g/L,血小板 $298 \times 10^9/L$,红细胞沉降率 55 mm/h,肝、肾功能正常。

2.2 实验室检测 检验工作人员抽取患者肘动脉血 3 mL 置于肝素锂抗凝管中,检测标本管充分混匀后送往免疫室,3 000 r/min 离心 10 min 后利用酶联免疫法检测乙、丙型肝炎,HBV 两对半均为(-),抗-HCV(+).回顾检测过程血标本均为合格标本,无溶血,无脂血,无污染,室内质控在控,并排除人为操作误差。在征得患者同意后,重新顺利抽取患者静脉血 2 mL,置于促凝管中,3 000 r/min 离心 15 min,重新酶联免疫法复查,并重新加做质控孔与阴性对照孔、阳性对照孔。患者血清标本收缩完好,无脂血,无溶血,无微生物污染,实验过程排除了叠氮钠及氧化还原物质干扰,复查结果:室内质控在控,患者抗-HCV 仍为(+).抗-HCV 诊断试剂盒由上海荣盛生物药业有限公司提供(批号 20150203202,有效期至 2016 年 2 月 19 日),试剂在有效期内,排除了试剂对检测结果的影响,促凝与肝素抗凝标本检测结果均(+),但考虑到酶联免疫法的局限性,方法学原理的限制,为进一步进行确证,再次同临床医生及患者沟通,建议患者病情稳固后检测 HCV-RNA 来确诊,医生积极处理患者临床症状,先不针对丙型肝炎阳性应用药物。5 d 后患者抽血检测 HCV-RNA,测试回报结果:未检测到 HCV-RNA。证实酶联免疫法检测患者抗-HCV 假阳性。患者 7 d 后机体恢复正常出院,1 个月后,患者来本院再次以酶联免疫法复查抗-HCV,结果为(-)。

3 讨 论

北京万泰生物药业股份有限公司提供的 HBV 诊断试剂盒标本要求为人血清或含有乙二胺四乙酸、枸橼酸钠或肝素等抗凝剂的人血浆样品。一直以来应用肝素抗凝的血浆标本检测效果良好,独本研究中患者甲的肝素抗凝血浆标本 HBsAg 检测出现假阳性,实属罕见;可能与该患者经手术、输血、放化

疗后血液中产生了某种特殊蛋白质物质有关,该蛋白与肝素结合生成了一种具有与 HBsAg 结构、反应性相似的非特异性物质。北京万泰 HBsAg 诊断试剂盒采用了双抗体夹心法原理,在微孔条上预包被纯化 HBsAb,配以酶标记抗体及 TMB 显色剂等,检测人 HBsAg,可能患者肝素抗凝血浆中的这种非特异性物质被反应孔中双抗体捕获发生反应从而出现假阳性现象,此现象还有待进一步探讨。

丙型肝炎是一种广泛流行的病毒性疾病,HCV 是含脂类蛋白包膜的正链 RNA 病毒,为丙型肝炎的病原体,主要由输血传播。HCV 刺激机体产生抗-HCV 抗体(IgM 和 IgG 类)均为非保护性抗体,抗-HCV 阳性结果是诊断 HCV 感染的重要标志^[3],我国一般人群抗-HCV 阳性率为 3.2%^[4],抗-HCV 诊断试剂盒反应板预包被的酶标兔/羊抗人 IgG 抗体,易受人体内非特异蛋白等因素影响。对本研究中患者乙抗-HCV 出现假阳性进行了分析,本实验按标准操作规程进行操作,在 4 h 内完成测定标本,试验排除了仪器及人为操作误差,HCV-RNA 测试是探测血液中 HCV 的实际存在情况,患者并未检测到 HCV-RNA。考虑患者高热、呕吐,机体应激反应可能产生了某种急性免疫反应球蛋白。患者体内这种蛋白与抗-HCV 可能具有相类似的结构与反应性,抗-HCV 诊断试剂盒(酶联免疫法)反应孔内预包被有丙型肝炎抗原,这种蛋白在微孔板表面与丙型肝炎抗体结合,形成抗原-抗体复合物,再与酶标抗人 IgG 结合,形成抗原-抗体-酶标抗体复合物,经显色系统显色后,被判定有抗-HCV 存在,而呈假阳性。此现象有待进一步探讨。

肝脏是人体内最主要的代谢器官,乙型肝炎患者随着 HBV 的不断复制,对肝功能侵害会越来越严重,导致其生物化学指标进行性升高或降低,肝功能衰竭,会损伤肝实质性细胞^[5]。在中国,HBV 感染是引起肝衰竭的主要病因之一^[6]。HBV 感染呈世界流行^[7],HBV 复制是引起肝炎活动和肝脏损伤的重要原因^[8]。慢性乙型肝炎目前尚缺乏彻底治愈的药物,治疗效果差^[9]。HCV 是导致慢性肝炎,并进一步发展为肝硬化和肝癌等晚期肝病的一个主要致病因子^[10],慢性丙型肝炎是导致肝脏疾病进展、肝硬化和肝细胞癌发生最主要的因素之一^[11],因此,乙、丙型肝炎的检测越来越受到临床医生和广大患者的重视。实验室日常工作中,要严格的遵守美国临床和实验室标准协会(NCCLS)操作规程来进行标准化的质量管理,并按照 NCCLS 操作规程要求在 4 h 内测定标本^[12],临床实验室的检验后质量保证包括检验结果的审查与复核,对异常结果要重视,及时与临床医生和患者进行沟通,必要时重新采集标本进行复查。乙型肝炎、丙型肝炎的诊断有赖于 HBV 抗原和抗-HCV 的血清学检定及病毒学检测,血清学酶联免疫法适用于血液筛查和临床 HBV、HCV 感染的辅助诊断,由于酶联免疫方法学原理的限制,单一血清学检测结果阳性并不能判定患者一定就是 HBV 或 HCV 感染,阳性结果须结合临床信息及其他指标判断。酶联免疫法 HBV、HCV 诊断试剂盒作为诊断的辅助手段之一,阳性结果的临床诊断应与临床检查、病史及其他检测相结合,同时及时与临床医生和患者沟通,必要时进行动态监测,保证检测结果的正确性,这样才能保证检测结果正确回归临床,给临床以帮助。

参考文献

[1] 陈成进. 肝素导致抗-HCV 假阳性 1 例分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(12):1486-1487.

- [2] 张巧安. 酶联免疫法与胶体金法检测乙型肝炎表面抗原的优缺点总结[J]. 中国社区医师, 2016, 5(5):142-143.
- [3] Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures[J]. J Viral Hepat, 2004, 11(2):97-107.
- [4] Lok ASE, McMahon BJ. AASID practice guidelines: chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2004, 34:1225-1241.
- [5] 王相麟. 乙型肝炎患者血浆同型半胱氨酸水平与肝功能指标的相关性[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2015, 7(1):105-107.
- [6] 慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家委员会. 慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家共识:2015 年更新[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2015, 7(1):115-122.
- [7] 张怡青, 常静霞, 王洁, 等. 慢性乙型肝炎患者核苷(酸)类似物耐药位点多变性分析[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2015, 7(3):70-73.
- [8] 陈竹, 曾义岚, 唐玉珍, 等. HBeAg 阳性与 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎的临床特点及免疫状态分析[J/CD]. 中国肝病杂志(电子版), 2015, 7(3):56-58.
- [9] 陈立荣, 周靖, 刘明书, 等. 人文关怀在树突细胞治疗中青年慢性乙型肝炎患者中的应用[J]. 河北医科大学学报, 2014, 35(4):400-403.
- [10] Zhong J, Tao WY. The challenges to hepatitis C research in era of direct antiviral agents[J]. J Clin Hepatol, 2014, 30:481-484.
- [11] 谢尧. 中国慢性丙型肝炎抗病毒治疗 DAA 时代与 PegIFN/RBV 标准治疗[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2015, 7(3):40-41.
- [12] National committee for clinical laboratory standards. Collection, transport and processing of blood specimens for coagulation testing and general performance systems: approved guideline-third edition: EPP-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, EP, 1998.

(收稿日期:2017-02-11 修回日期:2017-05-02)

Am 亚型致血型鉴定困难 1 例病例分析

李 兰, 陈涌泉, 吕小英, 王厚照

(中国人民解放军第一七四医院/厦门大学附属成功医院检验科, 福建厦门 361001)

关键词: Am 亚型; 正反定型不符; 吸收放散试验**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.19.058**文献标识码:**C**文章编号:**1673-4130(2017)19-2797-03

ABO 血型系统因红细胞膜抗原分布不同,有多种亚型。其共同的血清学特点是正反定型不符,与抗-A 或抗-B 无凝集或凝集很弱,血清中有时含有不规则抗-A1 或抗-B^[1],极易给血型鉴定带来困难,单一的检测手段也容易造成亚型等特殊血型的漏检,给临床输血工作带来安全隐患。因此,本科在进行临床血型鉴定时必须坚持正反定型结果一致的原则,当遇到正反定型不符的情况,综合分析原因,逐个排除,增加检测手段,提高血型检测的准确性。现就 1 例血型正反定型不符患者的进一步鉴定情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,男,35 岁,2017 年 1 月来本院泌尿外科就诊,患者主诉无输血史、骨髓移植史及任何手术史,近期末服用过任何药物。

1.2 试剂 抗 AB(荷兰三坤)、抗 H(上海血液);抗人球蛋白卡(西班牙 Diagnostic Grifols, S. A)、血型鉴定卡及中性卡(西班牙 Diagnostic Grifols, S. A)、单克隆抗 A(效价 ≥ 128)、单克隆抗 B(效价 ≥ 128)(长春博德公司);抗体筛选细胞、标准 ABO 血型反定型试剂盒(4%)、标准 ABO 血型反定型试剂盒(1%)及低离子强度盐溶液(长春博德公司);健康者 A、B、O 洗涤红细胞、人源抗 B 血清(≥ 64)、人源抗 A 血清(≥ 64)(实验室自备)。试剂均在有效期内。

1.3 标本制备 取患者乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝全血 10 mL,离心,分离出血浆及红细胞,将红细胞洗涤 3 次,取洗涤后红细胞配成 5% 及 1% 红细胞悬液并留取部分洗涤红细胞备用。嘱患者漱口,留取唾液 5 mL,离心取上清,装入玻璃试管

中,沸水煮 10 min,再次离心取上清备用。以下检测方法均参照有关标准进行^[2-3]。

1.4 血型血清学鉴定

1.4.1 红细胞 ABH 血型抗原检测(试管法) 取 5 支洁净的试管,分别加入抗-A、抗-B、抗-AB、抗-A1 及抗-H 抗体各一滴,并做好标记,再向每支试管中加入 5% 患者洗涤红细胞一滴;另取 2 支洁净试管,加入 4% 标准 B、O 反定红细胞,并加入一滴抗 H,作为患者红细胞 H 抗原强弱对照;再取 3 支洁净试管加入离心好的患者血浆各两滴,然后分别加入 4% 标准 A、B、O 反定红细胞各一滴,做好标记;将所有加完样品的试管于 1 000 r/min 离心 1 min,离心 3~4 次增强反应,观察反应结果,再分别于 4 °C、37 °C 两种反应温度下反应 15 min,离心观察结果。

1.4.2 ABO 血型鉴定(微柱凝胶法) 取 ABO 血型确认卡每孔加入患者 1% 洗涤红细胞各 50 μ L;取中性卡每孔加入 1% 标准 A、B、O 反定红细胞及患者血浆各 50 μ L,专用离心机离心,观察结果。

1.4.3 患者不规则抗体及自身抗体测定 取 1% 抗体筛选 I、II、III 细胞,1% 患者洗涤红细胞及 1% 标准 A、B、O 反定红细胞各 50 μ L 加入抗人球蛋白卡,并做好标记,再加入等量的患者血浆,温育 15 min,离心观察结果;再取一张抗人球蛋白卡,于其中一孔中加入 1% 患者洗涤红细胞 50 μ L,做好标记,直接离心观察结果。

1.4.4 红细胞吸收放散试验 取两支洁净试管,一支试验管,一支对照管,试验管中加入同体积的患者洗涤红细胞与抗 A