

• 个案与短篇 •

ELISA 方法检测 HBeAg 假阳性 1 例

梁新宇, 段正军, 田鹏飞

(兰州市第二人民医院肝病研究所, 甘肃兰州 730046)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.06.068

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2013)06-0765-02

应用 ELISA 法检测乙型肝炎标志物的结果受诸多因素的影响往往出现一些少见模式^[1], 分析探讨这种少见模式的原因对正确判读 HBVM 的结果指导临床是有一定意义的。

1 资料与方法

1.1 一般资料 检测健康体检者, 女 26 岁, 身高 160 cm, 体重 57 kg, 血压 110/85 mmHg (1 mmHg = 0.133 kpa), 心率 75 次/分, 内、外、妇、五官科体察未见异常; 心电图、超声检查肝、胆、脾、双肾、甲状腺、胸透均未见异常。曾接种过乙肝疫苗, 就诊时近一星期双腿微有酸痛感但未服用过任何药物。

1.2 方法 清晨空腹静脉采集 EDTA 抗凝血迈瑞-3000 血细胞分析仪检测血常规, 真空干管采血并及时分离血清用贝克曼全自动生化分析仪及配套试剂检测生化指标; ELISA 法检测病毒肝炎血清标志物: 甲型肝炎试剂由北京万泰工程有限公司; 乙、丙型肝炎试剂由上海厦门新创有限公司提供, 丁、戊型肝炎试剂由潍坊三维工程有限公司, EB 病毒、CMV 试剂由北京贝尔生物工程技术有限公司提供。ST-360 型酶标仪由上海科华提供, 实验结果按操作说明书判读; 荧光定量 PCR 仪检测 HBV-DNA, 时间分辨荧光免疫分析法 (广州丰华工程有限公司泰莱-1 型及配套试剂) 及化学发光法 (北京科美东雅生物技术有限公司) 定量检测 HBVM。血清无溶血, 黄疸及乳糜等情况。

2 结果

血常规、尿液干化学分析及沉渣检测无异常, 甲、丙、丁、戊型肝炎病毒、EB、CMV 肝炎病毒指标均为阴性, HBVM 定性检测结果: HBsAg 阴性 (S/CO = 0.51)、抗-HBs 弱阳性 (S/CO = 3.80)、HBeAg 阳性 (S/CO = 15.12)、抗-HBe 阴性 (S/CO = 2.66)、抗-HBc 阴性 (S/CO = 2.41)。时间分辨荧光免疫检测 HBVM 结果为: HBsAg 阴性 (0.07 ng/mL, 参考值 0~0.5 ng/mL)、抗-HBs 弱阳性 (11.02 mIU/mL, 参考值 0~30 mIU/mL)、HBeAg 阴性 (0.012 PEIU/mL, 参考值 0~0.03 PEIU/mL)、抗-HBe 阴性 (0.087, 参考值 0~2 PEIU/mL)、抗-HBc 阴性 (0.231 ng/mL, 参考值 0~0.6 PEIU/mL)。化学发光法检测结果: HBsAg 阴性 (0.03 ng/mL, 参考值 0~0.5 ng/mL)、抗-HBs 弱阳性 (15.10 mIU/mL, 参考值 0~10 mIU/mL)、HBeAg 阴性 (0.01 NCU/mL, 参考值 0~0.05 NCU/mL)、抗-HBe 阴性 (0.47 NCV/mL, 参考值 0~5.0 NCV/mL)、抗-HBc 阴性 (0.03 NCV/mL, 参考值 0~1.5 NCV/mL)。HBV DNA < 1 × 10³ copy/mL (参考值 1 × 10³ copy/mL), 生化肝功能 ALT 25 U/L、AST 29 U/L; (参考值小于 50 U/L)、Tbil 12.7 μmol/L (参考值小于 30.1 μmol/L)、DBil 3.01 (参考值小于 0.68 μmol/L)、TP 78.1 g/L (参考值 60~82 g/L)、ALB 45.0 g/L (参考值 32~55 g/L)、A/G 1.36 (参考值 1.2~12.5)。

3 讨论

HBVM 标志物的检测是诊断乙型肝炎病毒感染及治疗的重要依据^[2]。HBeAg 是 HBV 基因组中前核心区域的附属蛋白, 通常在血清中的出现稍晚于 HBsAg, 往往与 HBsAg 共存,

是病毒复制产物^[3]。应用 ELISA 法在检测 HBVM 时, 对于出现的特殊 HBVM 模式应首先排除假阴性或假阳性, 或者用更先进的化学发光法检测并结合 HBV-DNA 的结果及肝功能指标进行判断^[4]。在 HBVM 少见模式中 HBeAg 单项阳性更较为少见, 较常见的有 HBsAg 与 HBeAg 共存模式。部分大三阳的母亲在产前虽经母婴阻断但其新生儿乙型肝炎病毒血清学指标 HBVM 的检测结果表明为 HBeAg 阳性和/或抗-HBc 阳性模式。对于母婴传播引起的单独 HBeAg 阳性, 李金明等^[5]认为 HBeAg 可通过胎盘传给胎儿, 周丽敏^[6]也曾在 2 431 例乙型肝炎病毒标志物模式汇总中有单独 HBeAg 阳性的报道。HBeAg 阳性和抗-HBc 阳性模式及单独 HBeAg 阳性模式, 辛华和朱小东^[7]的报道认为此模式的出现, 首先排除 HBsAg 高浓度引起的钩状效应表现的假阴性, 其次考虑实验受类风湿因子等自身抗体的干扰因素的影响。同上述报道一致的是黄喜顺等^[8]报道认为, HBsAg 不能检出还应考虑到窗口期的感染, HBsAg 与抗-HBs 形成免疫复合物及 HBV 基因组 S 区基因的变异。而本文报道的 ELISA 法检测 HBeAg 较强阳性而中和试验不被抗-HBe 中和和实属少见。同时经两种定量试验即时间分辨法和化学发光法检测证实 HBeAg、HBsAg 及抗-HBc 为阴性从而判断 HBeAg 为假阳性, 且 HBVDNA 检测为小于 1 × 10³。由于被检者为女性且近期有双腿微有酸痛感的症状因而很有必要追踪检查类风湿因子 (RF)、红细胞沉降率 (ESR)、C-反应蛋白 (CRP) 及免疫球蛋白 IgM、IgG、IgA 和自身抗体等可能给临床提供此标本产生假阳性的依据。

ELISA 方法在成人中检测到 HBeAg 单独一项假阳性还较少见, 血清标本假阳性有外源性、内源性因素。严格按操作规程排除分析前 (如: 接受、处理、保存) 和操作技术中因素外, 内源性干扰物引起的假阳性是不易避免的^[9], 如类风湿因子 (RF)。自身抗体、补体及交叉反应物等往往是免疫检测中的主要干扰因素。由于此患者是门诊病例没能追踪也是本文的不足之处, 此类假阳性模式具体由什么因素引起还有待研究探讨。因此笔者认为在分析乙型肝炎病毒标志物检测到的少见特殊模式时, 还应考虑排除乙型肝炎病毒感染以外的疾病, 包括一定年龄段和性别的因素易患的自身免疫性疾病, 此类患者的血清在检测乙型肝炎病毒标志物时有可能受到影响, 因而在今后的工作中对乙型肝炎病毒标志物少见模式应引起足够的重视^[10], 追踪复查是一种有效可行的方法。

参考文献

- [1] 唐古生, 吴豫, 沈茜. 免疫检测干扰因素的分析、识别和对策[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(7): 725-729.
- [2] 李兰娟. 努力提高我国病毒性肝炎的实验室诊断水平[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(8): 845-849.
- [3] 陈紫榕. 病毒性肝炎[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [4] 孙焕英, 迟珊, 谈春荣. 酶联免疫吸附试验检测乙型肝炎病毒血清

学标志物五项的结果模式分析[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5):472-474.

[5] 李金明, 张瑞. 常用乙型肝炎血清学标志物检测结果报告解释及临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(4):296-300.

[6] 周丽敏. 乙肝病毒标志物 2431 例检测模式汇总及分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2012, 11(1):65, 67.

[7] 辛华, 隋少玉, 牟洪香, 等. 用 ELISA 方法检测乙型肝炎病毒血清标志物少见模式的分析[J]. 黑龙江医药科学, 2010, 33(5):46.

[8] 黄喜顺, 朱小东. 乙型肝炎两对半少见模式的特征分析及影响检测结果因素的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(19):2297.

[9] 叶千红, 张丽霞. 关于标本因素对 ELISA 检测结果影响分析[J]. 中国实验诊断学, 2003, 7(5):440-441.

[10] 陈瑜. 基于医院人群的乙型肝炎病毒血清学标志物阳性率调查的重要性[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(3):193-195.

(收稿日期:2012-10-09)

• 个案与短篇 •

曲霉菌检测诊断外耳道感染病 1 例

董宁艳, 李 岩, 路 蔓, 袁 晖, 李 斌, 张周良, 张惠中
(西安市第四军医大学唐都医院检验科, 陕西西安 710038)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.06.069

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2013)06-0766-02

笔者用革兰染色的方法,对一例门诊患者的外耳道分泌物进行真菌检测。在显微镜下,进行了霉菌和曲霉菌之间鉴别诊断性观察,结果显示该外耳道分泌物真菌检测呈现曲霉菌为主的报告;并提示是由于两种真菌在结构上的异同点极易混淆而造成误诊。协助临床提出了曲霉菌感染的正确诊断,与诊断结果相一致,准确可靠的保证了患者及时治疗,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者为女性,26岁,3月前,因外耳道发痒,流清水,以夜间为甚,并有少量水样分泌物,期间无蚊虫叮咬、无创伤。曾到多家医院就诊,医生用达克宁、红霉素外用治疗,未见好转,两周前,患者自觉症状加重来本院耳鼻喉科就诊,经医生检查发现,患者耳道内可见白色的浸软膜状霉苔,患者体温正常,身体其他部位未见异常。用棉签清拭后,皮肤充血、糜烂、有渗液,医生当即在无菌条件下采集外耳道分泌物进行真菌检测。

1.2 方法 标本取自患者耳道分泌物。革兰染色法一般包括初染、媒染、脱色、复染等 4 个步骤,具体操作方法是:(1)分泌物涂片固定在火焰上微火加热以杀死菌种并使其黏附固定。(2)用草酸铵结晶紫初染 1 min;(3)小水冲洗,去掉浮色;(4)再用碘化钾溶液媒染 1 min,倒去多余溶液;(5)小水冲洗后用乙醇(95%)脱色 1 min;(6)小水冲洗后用稀释复红复染半分钟,自然风干后留待镜检;(7)细菌培养后菌落涂片镜下观察,鉴别真菌类型。

2 结 果

2.1 在镜下观察细胞的形态结构 菌丝较粗,有分隔,菌丝顶端有球形或椭圆形结构,孢子柄上着生成串的小分生孢子(见图 1)。菌体圆形或卵圆形,革兰染色阳性。出芽繁殖时,称为芽生孢子。孢子可伸长成芽管,不与细胞脱离而形成假菌丝(见图 2)。图 1 与图 2 结构形态相近像真菌,但不能确认图 1 是哪种类型的真菌,故再留取分泌物进行细菌培养,在沙包培养基上,室温培养,生长迅速,形成丝状菌落,始为白色,逐渐变为灰黑色或黑色,表面呈粉末状。将少量菌落移至载玻片上用 10% 的 KOH 处理后,镜下观察结果呈现菌丝较粗,有分隔,分生孢子头呈放射状,梗壁光滑,为褐色,壁较厚,顶囊近球形,小梗双层,密生于顶囊全部表面;分生孢子呈球形,有褐色素沉积,在内壁和外壁之间,整个孢子粗糙有刺,确定为黑曲霉菌。与医生联系告知医生,医生确诊为曲霉菌性中耳炎,改用抗真菌药物治疗,1 周后患者明显好转,两周后恢复健康,至今无反复。

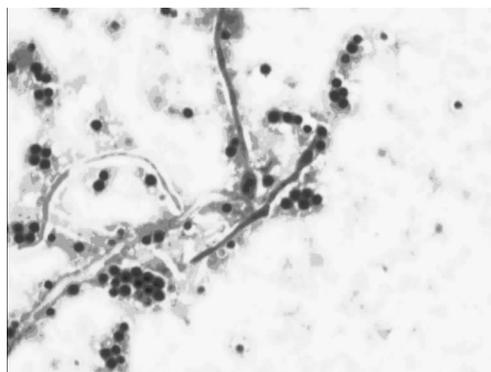


图 1 革兰染色后镜下观察



图 2 革兰染色的真菌

3 讨 论

曲霉菌是人体的常驻真菌,易在温暖潮湿环境生长繁殖,正常外耳道可有细菌存在,当外耳道进水后,皮肤变潮湿,上皮软化,角质层被破坏,另外也改变了耳道皮肤 pH 值,从偏酸性转为碱性,大大降低了耳道的抵抗力有利于真菌的生长^[1]。耳道要存积分泌物如耳垢,也利于真菌的生长。耳垢有抑制白喉棒状杆菌及链球菌,助长真菌生长的作用^[2],还有常滴用抗菌药物等,长期滥用抗菌药物会使人体正常菌群失调引起真菌大量繁殖^[3]。在这些情况下,都比较易受真菌感染,故外耳道感染可由曲霉菌引起^[4]。警示人们应该当外耳道进水后,用同侧的手牵拉耳廓,头偏向下,用同侧下肢单足站立,跳动数次,耳内的水自会流出,耳道慢慢干燥,或用消毒棉签轻轻擦净即可。耳道要存积分泌物时要用干净的棉团挖耳戒除用不洁之物挖耳的习惯;抗菌药物也不能滥用,一定要遵循医生的处方来用