

- [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]. 中国肝脏病杂志(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)

• 个案与短篇 •

## 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<sup>[1]</sup>,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 $\geq 128$ )、单克隆抗 B(效价 $\geq 128$ )(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( $\geq 64$ )、人源抗 A 血清( $\geq 64$ )(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<sup>[2-3]</sup>。

### 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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

单克隆抗体试剂,对照管中加入同体积健康人 A 型洗涤红细胞及单克隆抗 A 抗体。将两支试管混匀后,在 4 ℃ 冰箱中吸收 1 h,每隔 5 min 轻轻振摇,使其充分混匀。吸收完毕后 3 000 r/min 离心 5 min,留取两管上清液测吸收后的抗 A 抗体效价。用生理盐水洗涤两管吸收后的红细胞 4 次(末次洗涤上清液留作洗涤效果对照)。于两管中加入与红细胞等量的生理盐水,56 ℃ 水浴,热放散 10 min,离心取放散液。采用试管法分别在室温及 4 ℃ 与 4% 标准 A 型反定红细胞反应,检测吸收后上清液、放散液及末次洗液中抗 A 效价,并记录。

**1.4.5 唾液血型物质检测** 把抗 H 抗体、人源抗 A 血清及人源抗 B 血清按呈现(++)凝集强度的最高稀释倍数稀释备用,将患者的唾液离心取上清,上清液加入玻璃试管,沸水浴 10 min,煮沸后离心,离心后的上清液与稀释后的抗 H 抗体、人源抗 A 血清、人源抗 B 血清及 4% 标准 A、B、O 红细胞各一滴作凝集抑制试验(试管法)<sup>[3]</sup>,同时,用盐水替代唾液分别与稀释后的抗 H 抗体、人源抗 A 血清、人源抗 B 血清及 4% 标准 A、B、O 红细胞反应,作为阴性对照。检测该患者唾液中是否含有 H、A、B 型血型物质。

**2 结 果**

被测者 ABO 血型试管法结果正定型为 O 型,反定型为 A 型,见表 1。微柱凝胶法鉴定结果显示,抗 A(-)、抗 B(-)、抗 D(++++)、对照(-)、反定 A(-)、反定 B(++++)、反定 O(-)。对照 O 细胞与抗 H 抗体显示++++强凝集,B 细胞与抗 H 抗体显示++凝集。该患者不规则抗体筛查试验、自身抗体检测及直接抗人球蛋白试验结果均为(-)。该患者红细胞吸收放散试验结果显示该被测者红细胞含有极弱的 A 抗

原,见表 2。被测者唾液血型物质测定结果提示该被测者唾液中含有 H 型血型物质和较强 A 型血型物质,见表 3。

**表 1 患者血型鉴定结果(试管法)**

温度	正定型				反定型			
	抗 A	抗 B	抗 AB	抗 H	抗 A1	A1	BC	OC
4 ℃	-	-	-	++++	-	-	++++	-
室温	-	-	-	++++	-	-	++++	-
37 ℃	-	-	-	++++	-	-	++++	-

注:-、+、++、+++、++++表示凝集强度,-表示不凝集,++++表示最强凝集。

**表 2 吸收放散液抗体效价检测结果**

A 型红细胞	检测液倍比稀释倍数					
	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
吸收后上清液						
试验管	++++	++++	+++	++	+	-
对照管	-	-	-	-	-	-
末次洗涤液						
试验管	-	-	-	-	-	-
对照管	-	-	-	-	-	-
放散液						
试验管	++++	++++	++	+	-	-
对照管	++	+	-	-	-	-

**表 3 唾液凝集抑制试验结果分析**

反应体系	待检唾液	生理盐水(阴性对照)	结果分析
4%O 细胞加稀释后抗 H	±	++++	唾液中含有 H 型物质
4%A 细胞加稀释后人源抗 A	-	++++	唾液中含有 A 型物质
4%B 细胞加稀释后人源抗 B	++++	++++	唾液中不含有 B 型物质

注:指示红细胞与相应抗体发生凝集反应,说明唾液中不含有相应血型物质;相反指示红细胞与相应抗体不发生凝集反应,或发生较弱凝集,说明唾液中不含有相应血型物质<sup>[3]</sup>。

**3 讨 论**

ABO 血型系统有多种亚型主要是因为红细胞膜抗原分布不同,基本血清学特点是正反定型不符,需根据红细胞与抗-A、抗-A1、抗-B、抗-H 及抗-AB 的凝集强弱程度,患者唾液中 A、B、H 血型物质,血浆中是否存在抗-A、抗-B,以及吸收放散等一系列试验进行 ABO 亚型的准确鉴定<sup>[1]</sup>。AB 亚型对应的 A 抗原、B 抗原减弱,血清中常常伴有不规则抗-A1、抗 B,若亚型定型错误,同时又未能检出相应不规则抗体,很容易导致输血反应<sup>[4]</sup>。据报道,有一例因为对患者血型检测不规范,漏检亚型,血型鉴定为 O 型,实际是 Am 亚型伴抗 C 抗体,输入血型不合的血液,发生免疫应答,刺激机体产生同种抗体,再次输入 RhC 抗原阳性的血液时,最后导致患者发生同种免疫性溶血性输血反应<sup>[5]</sup>。

A 亚型根据其血清学特征分为 A2、A3、Aend、Ax、Ay、Am、Ael 等,ABO 血型抗原减弱受多种因素的影响,其中 ABO 基因酶催化活性区域编码序列的错义突变最为常见,它是形成

ABO 亚型的主要原因<sup>[6]</sup>。Am 细胞不能被抗-A 和抗-AB 凝集或仅发生很弱凝集,抗-A 可以被 Am 细胞吸收放散,唾液中含有正常水平的 A 型和 H 型物质,Am 血清中一般无抗 A1 抗体<sup>[7]</sup>。一般认为,疑难血型是需排除人为因素、技术故障、试剂效期等情况下,血型正反定型出现差异才能确定为疑难血型。有报道在 114 例正反定型不符的标本中,ABO 亚型占 19%,抗原减弱占 4%,抗体减弱占 27%,自身冷抗体占 28%,同种抗体占 10%,血浆异常占 6%,输入 O 洗涤 3 例 3%,骨髓移植 3 例 3%<sup>[8]</sup>。老年人、严重感染、肿瘤等均可导致血型抗原减弱,但不涉及血型基因改变。本例中,被测者血型鉴定分别在 4 ℃、室温及 37 ℃ 条件下,结果均正定为 O 型,反定为 A 型,排除温度(冷凝集素)、人为因素、技术故障、试剂效期等影响因素。进一步分析考虑,即红细胞抗原减弱不易被检出或血清中抗 A 滴度太低而未被检出。考虑到患者血型微柱凝胶法检测未检出抗 A 抗体,推测被测者 A 抗原减弱的可能性更大。患者血清抗体筛查、直接及间接抗人球蛋白试验结果均为

(一),说明患者血清中不存在 ABO 血型系统以外的不规则抗体及自身抗体。从吸收放散试验结果可以看出,患者红细胞表面存在极弱的 A 抗原,结合病史,可以得出因为 Am 亚型红细胞本身 A 抗原减弱,才导致血型鉴定正定出现 O 型,反定 A 型的表现。但是从血清学反应格局来看,Am 与 Ay 表现型非常相似,所以血液中是否容易检出 A 转移酶<sup>[9]</sup>(条件限制,目前无法操作)及唾液中是否含有较强的 A 血型物质(结果证明确实有较强 A 血型物质),成为 Am 区别 Ay 的鉴别方法<sup>[7]</sup>,但是最有意义和决定性的区别在于它们的遗传模式不同,Am 作为 ABO 位点上一个稀有的等位基因可以被遗传,Ay 不是由 ABO 位点上的稀有等位基因所致<sup>[7]</sup>。Am 已明确是血型基因改变引起,可通过分子生物学方法或家系调查进行确认<sup>[1]</sup>。

近年来,血清学分子生物方面检测的应用大大降低了亚型的漏检率,也为临床输血工作提供了更加安全的保证<sup>[10]</sup>。综合运用血清学方法对疑难血型进行检测,正确认识 ABO 亚型产生的分子机制,不断改进 ABO 亚型检测方法,可以有效提高血型检测的准确性,保证鉴定血型准确无误及临床安全输血。

#### 参考文献

- [1] 陈剑,朱凯,凤婧,等. Am 亚型患者的血型检测与家系调查及输血治疗[J]. 中国输血杂志,2011,24(11):956-957.
- [2] 吴勇,吴远军,陈宝婵,等. 1 名 Am 亚型患者的血型血清

学鉴定及输血策略[J]. 中国生物制品学杂志,2008,21(5):393-394.

- [3] 汪德清. 输血技术操作规程[M]. 北京:人民卫生出版社,2016:125-128.
- [4] 刘乐霞,梁俊杰,肖玮,等. 沧州地区患者 ABO 血型正反定型不符调查研究[J]. 临床血液学杂志,2014,27(2):90-93.
- [5] 张亚清. Am 亚型伴同种抗体抗 C 引起血型鉴定及配血困难 1 例分析[J]. 临床检验杂志,2002,20(4):253.
- [6] 池泉,张爱,任本春. B 抗原减弱表型的表型频率与 ABO 基因分析[J]. 检验医学,2013,28(12):1128-1131.
- [7] 杰夫. 丹尼尔. 人类血型[M]. 朱自严,译. 2 版. 北京:科学出版社,2007:39-40.
- [8] 杨槐波,陈喜哲,赵琪. 114 例 ABO 正反定型不一致原因分析[J]. 临床血液学杂志,2010,23(8):483-484.
- [9] Gartron JP, Badet J, Mulet C, et al. Study of the a-N-acetylgalactosaminyltransferase in sera and red cell membrane of human A sub-groups[J]. J Immunogenet, 1978, 5:107-116
- [10] 张峰. 226 例疑难血型鉴定及处理对策分析[J]. 中国输血杂志,2016,29(1):88-90.

(收稿日期:2017-02-26 修回日期:2017-05-06)

## 甲状腺球蛋白检测诊断分化型甲状腺癌的临床应用价值

黄少珍,薛雄燕,李炜焯<sup>△</sup>

(广东省佛山市第一人民医院检验科,广东佛山 528000)

**关键词:**甲状腺球蛋白; 分化型甲状腺癌; 超声引导下淋巴结细针穿刺

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.19.059

**文献标识码:**C

**文章编号:**1673-4130(2017)19-2799-02

为探讨甲状腺球蛋白(TG)检测诊断分化型甲状腺癌的临床应用价值,本研究于 2014 年 1 月至 2016 年 1 月对收治的分化型甲状腺癌患者采用超声引导下淋巴结细针穿刺(FNA)洗脱液进行 TG 检测,并与颈部反应性增生淋巴结患者(对照)的洗脱液标本进行 FNA-TG 水平比较,现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2014 年 1 月至 2016 年 1 月在本院接受颈部超声检查并怀疑淋巴结存在甲状腺乳头状术后患者 124 例为研究对象,其中男 34 例,女 90 例;年龄 21~72 岁,平均(43.24±12.82)岁。另选择同期在本院接受检查的颈部反应性增生淋巴结患者 25 例作为对照组,其中男 8 例,女 17 例;年龄 23~71 岁,平均(45.01±11.92)岁。

**1.2 方法** 本研究采用 ESAOTE MyLab 90 彩色多普勒超声引导下淋巴结 FNA 细胞学检查,超声实时引导进针,直至显示针尖到达病灶区,拔出针头前消除负压,将吸出物喷打在载玻片上制成细胞涂片进行细胞学检查。然后将穿刺的注射器

及针头采用生理盐水进行反复冲洗,将冲洗获得的洗脱液进行离心,取上清采用化学发光法进行 TG 水平测定。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较先采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料以率表示,采用  $\chi^2$  检验进行比较,并绘制 FNA-TG 的受试者工作特征曲线(ROC 曲线), $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 不同组之间 FNA-TG 水平比较** 124 例洗脱液标本经 FNA-TG 水平测定,其淋巴结病理检查结果显示 105 例患者为转移性淋巴结,19 例为阴性反应性淋巴结。比较转移性淋巴结组、阴性反应性淋巴结组、对照组 3 组之间的 FNA-TG 水平可以发现,转移性淋巴结组的 FNA-TG 水平明显高于阴性反应性淋巴结组和对照组,且差异有统计学意义( $t = 98.23$ 、 $87.46$ ,  $P < 0.05$ )。而阴性反应性淋巴结组和对照组之间比较,差异无统计学意义( $t = 0.55$ ,  $P > 0.05$ )。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: lwx21cn@163.com.