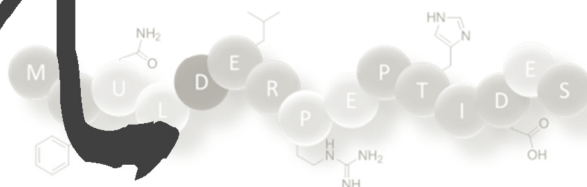


雙北



檢驗醫學雜誌

Greater Taipei Journal of Laboratory Medicine

卅七

ISSN 2313-3015

台北市醫檢師公會 | 新北市醫檢師公會

雙北檢驗醫學雜誌 Greater Taipei Journal of Laboratory Medicine

宗旨

雙北檢驗醫學雜誌主要報導檢驗醫學相關的學術刊物,包含原著,綜說,臨床案例報告,檢驗新知,檢驗技術及實驗室管理等,提供檢驗醫學相關之學術交流平台

發行人 高全良 | 廖皓宏

主編 張錦標

副主編 劉兆偉 王敦仁

編輯委員 余芳蘭

執行編輯 陳瑞川 林純娟 謝芷霖

編審委員 朱益民 呂旭峰 李詩益
林亮音 林淑華 施勇綸
胡忠怡 高全良 孫俊仁
徐慧貞 張志昇 張錦標
莊雅惠 彭成立 湯勝輝
黃仰仰 楊雅倩 鄧麗珍
鍾心怡

排版美編 黃舜熙 顏瓊姿 鄭詠慈

發行日期 2014 年 3 月 30 日



聯絡處 台北市中正區忠孝西路一段 7 號 9 樓 900 室

聯絡電話 TEL : 02-2312-2698/FAX : 02-2312-2625

雜誌網址 <http://www.mt.org.tw/taipeicity/periodical.php>

聯絡方式 taipeimt@ms31.hinet.net

目 錄

醫檢學術專題

題目	第一作者	頁次
流產與染色體異常	黃閔輝	4
案例報告: RhD 陰性病人輸血產生抗體報告	林真如	9
以品質改善方法提高抗酸染色抹片陽性率	陳奕龍	13

附錄

「雙北檢驗醫學雜誌」投稿須知	編輯部	18
----------------	-----	----

流產與染色體異常

黃閔輝^{1,2,3}、賴惠玲^{2,3}、何素鵬¹

¹ 國立中興大學獸醫學系、² 優氏醫事檢驗所、³ 台北市李婦產科診所

摘要

流產給每一對期待新生命誕生的夫婦身心靈的打擊是沉重的。習慣性流產系指婦女經歷三次(或以上)自發性流產。目前已知引起自發性流產的原因,除了孕婦本身子宮結構異常、黃體素不足或感染之外,胚胎染色體異常也是造成流產很重要的因素之一。其中因為婦女年紀越大,卵子減數分裂發生不分離現象的機會也越大,導致胚胎染色體數目異常而致流產的機率也隨之增加。如以流產的胚胎組織進行染色體分析,在染色體數目異常中以非整倍體(Aneuploid)異常最常見,這其中又以體染色體之三染色體(autosomal trisomy)出現頻率最高,其次為單 X 染色體(45,X);在染色體結構異常中則以染色體相互轉位(translocation)最常見,這類染色體異常大部分為家族性遺傳。

關鍵詞：習慣性流產、細胞遺傳學、染色體異常、體染色體三染色體

前言

自發性流產是婦科常見的疾病,常導致孕婦夫妻身心極大的創傷和痛苦。自發性流產的定義:懷孕滿 20 週以前,在子宮內的胚胎或胎兒的自然死亡,或出生體重小於 500 公克的胎兒,因非人為因素導致脫離母體者;倘若婦女連續經歷三次(或以上)自發性流產,即稱為「習慣性流產」[1, 2]。自發性流產也是一種自然淘汰,當精子與卵子順利受精後,準備孕育胚胎的子宮發育是否異常,還有受精卵的染色體是否異常、營養素、內分泌、自體免疫及感染等因素,都會影響胚胎的著床及發育;其中約有 40%的發病原因不明[3]。根據 Warburton 等統計調查,流產發生的時間越早,胚胎染色體異常的頻率越高[4]。一般在第一孕期(前三個月)大約有 10%~16%產生自發性流產[5],其中因染色體異常造成胎兒流產約佔 50%~60%[5, 6],

從流行病學角度看,流產發生率隨著婦女年齡的增加而升高,根據 Warburton 報導,卵母細胞進行減數分裂,因染色體不分離現象導致染色體數目異常的機率,估計在 25 歲時約 2%,在 35 歲時約 6%,而在婦女 35 歲以後發生頻率明顯增加,到 40 歲時可達 18%[7],而染色體不分離現象是造成胎兒染色體數目異常最主要的因素,因此婦女懷孕時的年齡與胎兒染色體數目異常有直接關係。

流產

婦女懷孕時導致胚胎發育不良而致流產,已知的原因很多,一般可分為以下幾個方面:(一)、內分泌功能失調和代謝原因,如甲狀腺功能亢進或不足、泌乳素太高因而影響下視丘,干擾濾泡的形成和卵子的成熟,或黃體素不足等。(二)、子宮發育異常,如子宮頸閉鎖不全、子宮腔

通訊作者:黃閔輝

連絡電話:02-23935949

e-mail:volvo2663@hotmail.com

聯絡地址:台中市東區國光路 250 號

台北市大安區金山南路二段 31 巷 9 號 6 樓

民國 104 年 8 月 20 日受理;105 年 2 月 20 日受理刊登

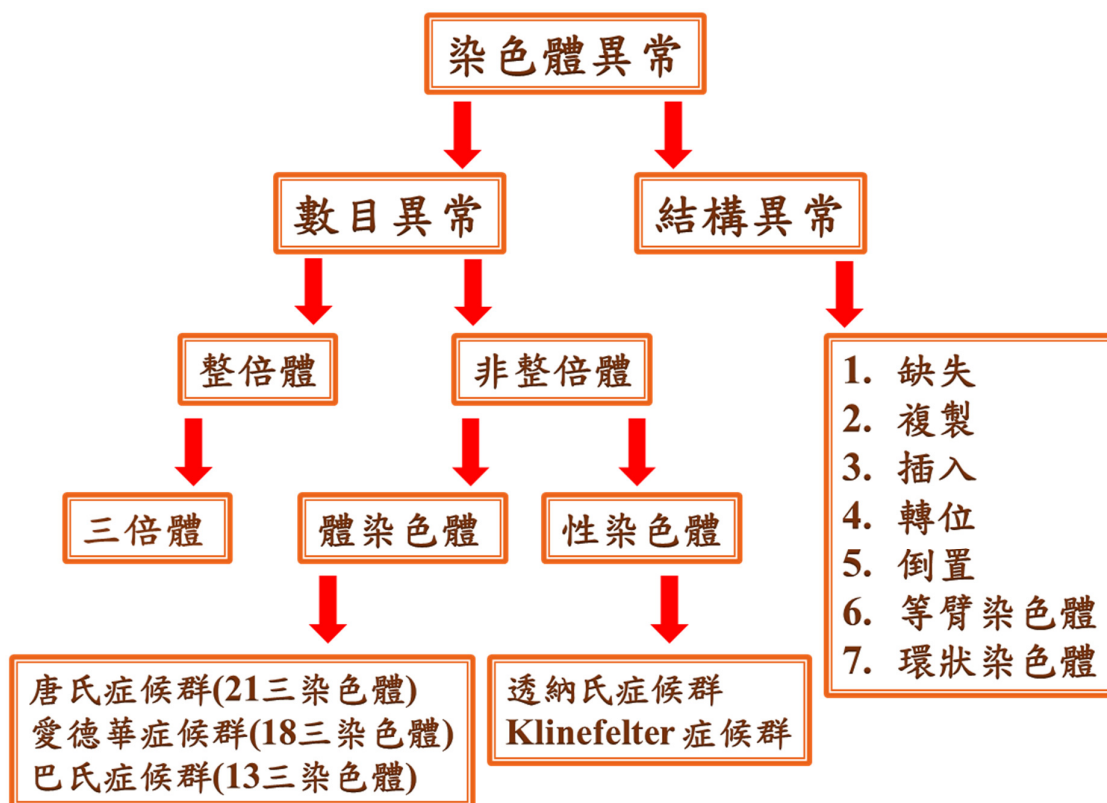
中隔、雙子宮、單角子宮、雙角子宮、子宮腔黏連或子宮肌瘤等。(三)、生殖道感染，如披衣菌、細菌或病毒感染等。(四)、生殖道局部或全身自體免疫異常，如抗磷脂脂質抗體(anti-cardiolipin)和抗甲狀腺過氧化酶抗體(anti-TPO)等。(五)、營養素不足，如 B6 和葉酸缺乏，導致血中同型半胱氨酸升高，而產生血栓，並在子宮與胎盤的血管引發血塊凝結，繼而阻斷供應胎兒氧氣和營養的血液循環，將可誘導自發性流產[8]。(六)、婦女的年齡，根據 Nybo Andersen 於 2000 年的一份研究報告，婦女年齡在 20~24 歲間懷孕約有 8.9% 自然流產的機率，到 42 歲時則有超過二分之一自然流產的機會，當婦女年齡到 45 歲時，自然流產的機率將可達 74.4%[9]。(七)、夫婦中之一方染色體異常，根據文獻記載[3, 10]，以重複性流產的夫婦進行血液染色體核型分析，約有 3.5% 左右是因為夫婦一方之染色體異常所致。Dutta 等人於 2011 年針對 1,162 對習慣性流產的夫婦進行血液染色體檢查，其中 33 個個案顯示為染色體結構異常，占總數 1.41%，其中又以相互轉位(reciprocal translocation)所佔比率最高(表一)，其次為羅伯遜轉位(Robertsonian translocation)；因此習慣性流產的夫婦進行周邊血液染色體檢查有其必要性。

自發性流產時多數為胚胎先死亡，接著發生蛻膜出血(decidual bleeding)，造成

胚胎的絨毛與蛻膜層分離，進而引起子宮收縮而將胚胎排出。而以流產組織物或胚胎組織進行染色體核型分析，是評估流產原因至關重要且最直接的方法，在自發性流產中，因染色體異常造成胎兒流產約佔 50%~60%，但染色體分析必須在細胞進行有絲分裂中期階段才能看見，倘若胚胎死亡多時，流產組織已壞死時，將有可能導致培養失敗，根據統計資料顯示，一般以流產組織物培養進行染色體分析的成功率約為 75 % 左右[5, 11]，針對無法以細胞培養進行染色體分析的檢體，自 2000 年以後，開始應用螢光定量聚合酶鏈反應(QF-PCR)分析，以補足及提高自發流產細胞遺傳學檢驗的成功率[12]；而 QF-PCR 技術是針對染色體上特定 DNA 的短串聯重複序列(Short tandem repeat; STR)片段，以螢光標記再進行擴增，所得的產物再以自動基因分析儀進行定量分析，此技術有靈敏、特異性高等優勢，但對低比率的鑲嵌型(mosaic)和染色體平衡轉位型(balance translocation)有檢測的侷限性。另外，傳統的染色體分析方法雖然可以分析染色體的數目異常、鑲嵌型及染色體結構異常，尤其是染色體平衡轉位時；但染色體分析畢竟是透過光學顯微鏡來檢查，它受限於顯微鏡的解析度，當染色體結構異常，如有微小缺失(micro-deletion)、微小重複(micro-duplication)或染色體轉位造成

表一：1,162 對夫婦染色體檢查異常表[10]

異常結構	個案數
相互轉位 Reciprocal translocation	21
羅伯遜轉位 Robertsonian translocation	6
倒轉 Inversion	2
刪除 Deletion	2
複製 Duplication	1
標記染色體 Marker chromosome	1
非整倍體 Aneuploidy	1
多態性變異 Polymorphic variants	44
總數	78



▲ 圖一：染色體異常分類

DNA 的片段小於1,000 萬個鹼基對(10Mb) 的增加或減少時就不易被察覺，因此近年來又導入陣列比較基因組雜交法(array Comparative Genomic Hybridization；array-CGH)，或簡稱基因晶片檢測，以補足這部分的缺憾，但基因晶片也有它的不足之處，也就是當染色體為平衡轉位或染色體為鑲嵌型(mosaic)且低於 10%時是無法檢測出來的[13]，因此，截至目前為止，QF-PCR 和 array-CGH 仍然無法完全取代傳統細胞遺傳學的診斷技術。

流產與染色體異常

染色體異常可概分為數目異常和結構異常等二大類(圖一)，其中數目異常又可分为整倍體(Euploid)或多倍體(Polyploidy)，如染色體數目為 69 個的三倍體(Triploid)；非整倍體(Aneuploid)又分为體染色體異常(如唐氏症候群；trisomy 21)和性染色體異常(如透納氏症候群；

45,X)兩類；結構異常又可分为缺失(deletion)、複製(duplication)、轉位(translocation)、倒置(inversion)等等。在自發性流產染色體數目異常中，以非整倍體最常見(表二)[11]，非整倍體又以體三染色體異常(autosomal trisomy)居第1位，佔 66%，其中以 16 號三染色體(trisomy 16)占全部染色體異常 14.7%為最多，依序還有 22 號三染色體(trisomy 22)、21 號三染色體(trisomy 21)、15 號三染色體(trisomy 15)、18 號三染色體(trisomy 18)、13 號三染色體(trisomy 13)等，其中 1 號三染色體(trisomy 1)和 19 號三染色體在文獻報導出現頻率最少[11]；另外非整倍體中，性染色體異常以單 X 染色體(45,X)占 14%，是僅次於體染色體三染色體以外的染色體異常，此類型異常個案約僅 1%能存活(表三)[14]，當足月分娩後即是所謂透納氏綜合症(Turner syndrome)的病患；在體三染色體(autosomal trisomy)中 21 號三染色

體(trisomy 21)個案約有 22%能存活下來，這種個案出生後即為唐氏兒(Down's syndrome)。三染色體異常的產生，衍生自母體卵母細胞減數分裂不分離現象所致，所以三染色體異常是與產婦年齡有直接關係。三倍體(Triploidy)、四倍體(tetraploid)、第 16 號三染色體、22 號三染色體和 15 號三染色體，絕大多數在懷孕早期流產，未曾見活產嬰兒，如有活產嬰兒都是和正常染色體鑲嵌性呈現，胎兒發育也常伴有多發畸形；而多倍體發生主要來源於多精子受精或卵子減數分裂錯誤所致[15]。在自發性流產染色體結構異常中，主要是染色體轉位型(3.8%)、鑲嵌型(1.5%)等最常見，然而染色體倒置、缺失和重複也曾在相關文獻報導中出現；隨著父母親年齡越大，這類型染色體異常發生的機率也越高，因而引發自發性流產的機會也越高，而這類染色體結構異常大部

分為家族性遺傳。

結論

婦女懷孕時機應及時，年齡越大越容易造成卵母細胞減數分裂發生不分離現象，導致受精卵染色體異常而發生流產。流產對任何一對夫婦均是一件非常不愉快的經驗，倘若在第一孕期發生流產，其中約有 1/2 的個案是因為胚胎染色體異常所致，所以當婦女發生重複性流產時，適時取得胚胎組織進行細胞遺傳學分析，提供妊娠婦女造成流產有關之醫學事實與認知。但我們建議，在遺傳學分析裡，應以傳統染色體核型分析為主，必要時再搭配使用基因晶片檢驗，以獲得更多臨床訊息，提供臨床醫師對於自發性流產之病患及家屬給予適當的諮詢服務及下一次懷孕時之專業建議。

表二：流產組織染色體異常的頻率(n=1872)[11].

染色體異常核型	異常比率
非整倍體(aneuploid)	
體三染色體(autosomal trisomy)	1236(66%)
體單染色體(autosomal monosomy)	19(1%)
性單染色體(45,X)	243(13%)
三倍體(triploidy)	262(14%)
四倍體(tetraploidy)	75(4%)
其他(倒置、轉位等)[other (inversions, translocations, etc.)]	37(2%)

表三：自然流產與活產兒染色體異常率[14].

染色體核型圖	流產率(%)
三倍體/四倍體(Triploid/ Tetraploid)	100
X 單染色體(45,X)	99
16 號三染色體(Trisomy 16)	100
18 號三染色體(Trisomy 18)	95
21 號三染色體(Trisomy 21)	78
其他三染色體(Other trisomies)	99.5
性三染色體三體(47,XXY/ 47,XXX/ 47,XYY)	21
不平衡性染色體結構異常(Unbalanced rearrangements)	85
平衡性染色體結構異常(Balanced rearrangements)	16

參考文獻

1. Stirrat, G.M. (1990). Recurrent miscarriage. *Lancet* 336, 673-675.
2. Ansari, A.H., and Kirkpatrick, B. (1998). Recurrent pregnancy loss. An update. *The Journal of reproductive medicine* 43, 806-814.
3. Stephenson, M.D. (1996). Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertility and sterility* 66, 24-29.
4. Warburton, D., Susser, M., Stein, Z., and Kline, J. (1979). Genetic and epidemiologic investigation of spontaneous abortion: relevance to clinical practice. *Birth defects original article series* 15, 127-136.
5. Jenderny, J. (2014). Chromosome aberrations in a large series of spontaneous miscarriages in the German population and review of the literature. *Molecular cytogenetics* 7, 38.
6. Goddijn, M., and Leschot, N.J. (2000). Genetic aspects of miscarriage. *Bailliere's best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* 14, 855-865.
7. Warburton, D. (1987). Reproductive loss: how much is preventable? *The New England journal of medicine* 316, 158-160.
8. 黃閔輝, and 賴惠玲 (2015). 淺談同型半胱氨酸與自發性流產. *雙北檢驗醫學雜誌*, 4-9.
9. Nybo Andersen, A.M., Wohlfahrt, J., Christens, P., Olsen, J., and Melbye, M. (2000). Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *Bmj* 320, 1708-1712.
10. Dutta, U.R., Rajitha, P., Pidugu, V.K., and Dalal, A.B. (2011). Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in southern region of India: report and review. *Journal of assisted reproduction and genetics* 28, 145-149.
11. Wang, B.T., Chong, T.P., Boyar, F.Z., Kopita, K.A., Ross, L.P., El-Naggar, M.M., Sahoo, T., Wang, J.C., Hemmat, M., Haddadin, M.H., et al. (2014). Abnormalities in spontaneous abortions detected by G-banding and chromosomal microarray analysis (CMA) at a national reference laboratory. *Molecular cytogenetics* 7, 33.
12. Schmidt, W., Jenderny, J., Hecher, K., Hackeloer, B.J., Kerber, S., Kochhan, L., and Held, K.R. (2000). Detection of aneuploidy in chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 by QF-PCR in 662 selected pregnancies at risk. *Molecular human reproduction* 6, 855-860.
13. Hodge, J.C., Hulshizer, R.L., Seger, P., St Antoine, A., Bair, J., and Kirmani, S. (2012). Array CGH on unstimulated blood does not detect all cases of Pallister-Killian syndrome: a skin biopsy should remain the diagnostic gold standard. *American journal of medical genetics. Part A* 158A, 669-673.
14. Zneimer, S.M. (2014). *Cytogenetic abnormalities*, (Wiley Blackwell).
15. Simpson, J.L. (2007). Causes of fetal wastage. *Clinical obstetrics and gynecology* 50, 10-30.

案例報告：RhD 陰性病人輸血產生抗體報告

林真如、林秀真、蔡佩君
臺北醫學大學附設醫院 實驗診斷科

摘要

本院血庫輸血前的常規檢測標準流程為：(1)先確認病人 ABO 及 RhD 血型，(2)有血型報告後再送血液申請單及檢體至血庫作第二次血型確認，及不規則抗體篩檢，(3)當抗體篩檢呈陽性反應時再進行抗體鑑定，抗體鑑定使用 sanquin 的 Makropanel 16 套組檢測，鑑定出抗體為何？(4)篩選對應抗原為陰性且交叉配合試驗相合的血袋。若為 RhD 陰性，則會加做 Weak D test 確認，並盡量給予 RhD 陰性血球輸用。國人 RhD 陰性者只佔 0.33%，有時候會有供應不足的狀況，在緊急之情形下，醫師必須思考其他的替代方式，本文是探討 RhD 陰性病人因輸血後疑似產生 Anti-D 的案例報告，因病人為孕婦，亦有接觸胎兒血球而產生 Anti-D 的風險，而增加此案例的複雜度。

關鍵詞：RhD 血型、Anti-D、Anti-D (rh) immunoglobulin、Anti-LW

前言

RhD 陰性血型病人臨床上輸血，一直是讓臨床醫師與血庫困擾的問題，除了擔心捐血中心 RhD 陰性血源不夠，血庫還要與臨床溝通替代的選擇方案。雖然馬偕醫院在 1988 年即全面停做輸血前病人 RhD 的測定，RhD 陰性病人產生 Anti-D 的頻率並無增加，在輸血醫學的理論與臨床經驗的支持，RhD 陰性病人輸血仍有許多方式可選擇，但在現今醫病關係有些緊張的狀況下，臨床醫師大多傾向較保守的處置，以避免衍生出不必要的問題 [1]。

國人 RhD 陽性比率約：99.5~99.65%，其中的 0.35~0.5% RhD 陰性者有約三分之一事實上是屬於東方人的微弱 RhD 陽性-Del，因此人口中可被免疫的人少。若未做 D 抗原測試，直接給予 Rh 陽性血液，被免疫機會約為 0.0025。比其他血型系統抗原免疫的機會來得低，如：E 及 e 為 0.1819；C 及 c 為 0.2073；Mia 為 0.0677；

M 及 N 為 0.2440；S 及 s 為 0.0500；Fya 及 Fyb 為 0.0466 等 [2]。

RhD 陰性血型婦女遇到的另一個問題是懷孕生產過程中，可能因接觸 RhD 陽性紅血球而對 RhD 致敏產生 Anti-D，在下次懷孕生產時，發生新生兒溶血的問題。Anti-D (rh) immunoglobulin (RhD 免疫球蛋白)從帶有 Anti-D 捐血者之血漿中分離得到的。全量(300 μ g)能中和 15ml 的 RhD 陽性紅血球，微量(50 μ g)則能中和 2.5ml 的 RhD 陽性紅血球。RhD 陰性的婦女在懷孕的頭三個月若發生流產或子宮外孕的手術，應注射微量的 Anti-D (rh) immunoglobulin (RhD 免疫球蛋白) [3]。

許多 RhD 陰性的懷孕婦女常可偵測到相當弱反應的 Anti-D，尤其在第三期妊娠期，多數是因為他們曾接受過 Anti-D (rh) immunoglobulin (RhD 免疫球蛋白)，大致是在懷孕 28 週時或有任何胎兒母親出血的危機時(如羊膜、絨毛穿刺、流產、腹部

通訊作者：林真如

連絡電話：02-27372781#8461

e-mail：864084@h.tmu.edu.tw

連絡地址：台北市吳興街 252 號實驗診斷科

民國 104 年 6 月 15 日受理；民國 105 年 1 月 30 日受理刊登

外傷等)。這種被動免疫(Passive immunization)的 Anti-D 給予(RhD IG 注射)後病人體內會有弱 Anti-D 反應,可以持續維持 2 個月或更久。但這種被動獲至 Anti-D 的力價低〔4〕。

另外介紹與 Anti-D 容易混淆的抗體 Anti-LW:

1. LW 血型系統是在 Landsteiner 和 Weiner 二氏發現此系統後命名的。Levine 和 Stetson 二氏首先敘述 Anti-D。
2. Anti-LWa 是用恆河猴紅血球(rhesus monkey red cells)接種天竺鼠產生的。最初認為這些抗體和 Levine 和 Stetson 二氏所敘述的 Anti-D 相同,因為兩種抗體與 85%白種人有反應,而發表承認為同一種抗原。因此,含有 D 抗原的此系統錯誤地稱為 Rh(Rhesus)系統。其後發現 LW 抗原和 D 抗原不相同。LW 抗原強表現在所有 RhD 陽性紅血球上及弱表現在 RhD 陰性紅血球上,以解釋此 LW 抗原呈現 85%的頻率。白種人實際的 LWa 頻率幾乎為 100%。
3. LW 不被酶所破壞,但 DTT 處理後會破壞其活性。
4. LW 系統抗原的抗體不會固定補體且不會引致血管內容血。它們是 IgG 抗體,不會引發臨床意義的溶血性輸血反應或新生兒溶血病。
5. LW 系統抗原皆強表現在胎兒紅血球上,包括 RhD 陰性紅血球。這類試劑能被用於區別 Anti-LW 與

Anti-D。

6. 此 LW 抗原系統含有三種抗原: LWa(白種人 100%), LWb(白種人<1%)及 LWab(白種人 100%)。
7. LW 抗原在懷孕期間及某些疾病如 Lymphoma 和 Leukemia 可能被抑制。
8. LW 抗原的自體抗體曾報告於某些惡性病〔5,6〕。

此案例為 RhD 陰性病人輸用 RhD 陰性血品,卻產生 Anti-D 抗體的案例討論,我們提出疑問與假設並找出可能的答案,藉此與大家經驗分享。

案例報告內容

病人是一位 34 歲女性孕婦,血型為 B 型 RhD 陰性,有第二型糖尿病病史,且因肥胖在兩年前曾做腹腔鏡胃切除手術,也因婦科問題用藥,導致子宮壁增厚,曾進行多次子宮刮除手術;此次因懷孕約 10 周胎死腹中(第一胎),要進行子宮刮除手術而入院,因病人為 B 型 RhD 陰性,捐中並無庫存血液,因此等到兩天後才進行手術,術後因失血量較多,Hb:7.8g/dL,因此向血庫叫血 B 型 RhD 陰性 PRBC2U,血庫的檢驗結果(表 1):

當時不規則抗體篩檢為陰性,而且也輸用 RhD(-)的血品,一週之後,病人再次入院作子宮肌瘤切除手術,手術前的血庫檢驗(表 2):

很令人訝異的是,病人的不規則抗體篩檢竟出現陽性反應,經過鑑定,出現疑似 Anti-D 的反應,為了區分 Anti-LW 與

表 1

Anti-serum	Anti-A	Anti-B	Anti-D	Anti-A,B	A cell	B cell	血型
Result	0	4+	0 weak D(-)	+	4+	0	B/-
Screening cell	SCI	SCII	SCIII	Autocontrol	Crossmatch:		
MP Result	0	0	0	0	compatible		

RBC phenotype test : C,c,E,e(3+, 3+, 0, 3+)

Anti-D，於是以 DTT treat panel cell 來鑑定，得到結果與前面結果一致，鑑定為 Anti-D。

表 2

Anti-serum	Anti-A	Anti-B	Anti-D	Anti-A,B	A cell	B cell	血型
Result	0	4+	0 weak D(-)	4+	4+	0	B/-
Screening cell	SC I	SC II	SC III	Auto	Crossmatch:		
MP	1+	1+	1+	0			
Result							
AHG	0	0	0	0			
Result							

RBC phenotype test : C,c,E,e(3+, 3+, 0, 3+)

Antibody screening:MP : (+), 傳統法 AHG : (-)(表 3)

Antibody identification :

Panel cell(MP 法) : Anti-D

DTT treat panel cell(MP 法) : Anti-D (表 4)

表 3

	Rh-Hr					Kell		Duffy		Kidd		Lewis		MNS				P	Other		MP	IS	37℃	AHG
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁	Mi ^a	Di ^a				
SC I	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	1+	0	0	0
SC II	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	1+	0	0	0
SC III	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	1+	0	0	0
Autocontrol																					0	0	0	0

表 4

	Rh-Hr										Kell				Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luther	Xg		MP	DTT treat
	C	D	E	C ^u	E ^c	f	V	K	k	Kp	Kp	J ^s	J ^s	Fy	Fy	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg ^a			
1	R ₁ R ₂	+	+	0	+	+	+	/	/	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Co(b+)	1+	1+
2	R ₁ R ₂	+	+	0	0	+	0	/	/	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Bg(a+)	1+	1+
3	R ₁ R ₂	0	+	+	+	0	0	/	/	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	Bg(a+)	1+	1+
4	R ₂	0	+	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	Co(b+)	1+	1+
5	rr	+	+	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+		0	0
6	rr	0	0	+	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Bg(a+)	0	0
7	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+		0	0
8	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0		0	0
9	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+		0	0
10	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	Bg(a+)	0	0
11	R ₁ R ₂	+	+	+	0	+	+	/	/	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0		1+	1+
12	RZE2	W	+	+	+	0	0	/	/	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+		1+	1+
13	r1r1	0	0	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	Bg(a+)	0	0
14	r2r2	0	+	+	+	0	0	/	/	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	Co(b+)	1+	1+
15	R1R1	0	+	+	+	0	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+		1+	1+
16	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	Wt (a+) Bg(a+)	0	0
17	Auto																													

討論

我們將兩次檢體再次操作，排除檢驗失誤的可能，為何在短短一週，病人的不規則抗體篩檢從陰性變成陽性？而且病人產生的抗體是我們提供 D 抗原陰性血品的 Anti-D？

因此，我們將我們的疑問做了假設：

- (一) 病人若為初次免疫，抗體生成的時間約為 3 week(21~28 天)後，是否在懷孕過程中因不穩定而造成媽媽被胎兒免疫產生 Anti-D，而抗體生成時間恰巧落在兩次檢驗中間，而有兩次不一樣的抗體篩檢結果？
- (二) 若為二次免疫，抗體生成的時間約為 1 week(7-8 天)，因病人並未提及是否

曾有輸血病史，是否病人曾經輸過血被免疫，抗體的效價減弱造成第一次抗體篩檢呈陰性，雖然輸了 2U 的 B 型 RhD 陰性紅血球，但因捐血中心的血袋未經 Elution 方法確認是否為 Del(-)，因此可能輸了 Del(+)血球而造成二次免疫？

(三) 病人是否有注射 Anti-D (rh) immunoglobulin (RhD 免疫球蛋白)，以中和母體內胎兒 RhD 陽性紅血球，因此造成血漿中有弱反應的 Anti-D？

(四) 另懷疑抗體可能為 Anti-LW 而不是常見的 Anti-D；因為 LW 抗原強表現在所有 RhD 陽性紅血球上及弱表現於 RhD 陰性紅血球上，當遇 LW 抗原就易產生 Anti-LW。因此，使用 DTT treat cell 來做抗體鑑定，以區分 Anti-D 或 Anti-LW。測定結果，DTT treat panel cell 與一般 panel cell 反應結果一致，應可排除是 Anti-LW 的可能。

病人在該次子宮肌瘤切除術中，血庫有預先保留 B 型 RhD 陰性血品，因出血量不大，醫師評估狀況穩定，暫不用輸血，四日後病人隨即出院。經與臨床醫師詢問討論後，確認病人在做完子宮刮除術後，曾注射 Anti-D (rh) immunoglobulin (RhD 免疫球蛋白) 50 μ g，以中和母體內胎兒 Rh 陽性紅血球，在一星期後，我們偵測到血

漿的 Anti-D，應是注射 Rh 免疫球蛋白所致。

參考文獻

1. 林媽利。2010。第三章 Rh 血型系統，86-90 頁，林媽利著，輸血醫學，第三版。健康文化事業股份有限公司，台北。
2. 孫建峰。2009。第 4 章 Rh 血型，97-103 頁，孫建峰著，新編輸血醫學。合記圖書出版社，台北。
3. 林媽利。2010。第十三章血液的成分及輸血療法，290 頁，林媽利著，輸血醫學，第三版。健康文化事業股份有限公司，台北。
4. 孫建峰。2009。第 20 章新生兒及胎兒溶血症，469 頁，孫建峰著，新編輸血醫學。合記圖書出版社，台北。
5. 雍建輝。2008。第四章人類蛋白質血型系統，238 頁，雍建輝著，新世紀輸血醫學 問題導向，合記圖書出版社，台北。
6. Denise M. Harmening. Blood Group Terminology and the Other Blood Groups. Modern Blood Banking & Transfusion Practices SIXTH EDITION 2012；PART II(8):204-5.

以品質改善方法提高抗酸染色抹片陽性率

陳奕龍¹、張歐亮¹、陳麗秋¹、郭佳宜¹、朱彩雲¹、吳雪穎¹、蔡承遠²
汐止國泰綜合醫院 檢驗科¹、國泰綜合醫院 臨床病理科²

摘要

抗酸染色是診斷結核菌感染最快速且方便的方法，同時可以藉此評估患者傳播結核菌的能力。因此，提高抗酸染色抹片陽性率以即早篩選出可能的感染者與傳播者，是臨床實驗室的重要課題。統計本實驗室 2012 年 1-9 月抗酸染色結果，抹片陽性率平均為 3.65%，相較於同期同儕實驗室 5.2% 為低。以此作為改善前期數據，組成品質改善小組進行改善計畫。依操作流程逐步審視後擬定改善對策，並分為三個對策逐步實施，包括以下改善措施：檢體離心後盡可能移除上清液(2012 年 10 月起實施)、加熱 65°C 固定至隔日(2013 年 4 月起實施)、陰性抹片覆查(2013 年 9 月起實施)等三項。統計改善三個對策的抗酸染色抹片陽性率平均為：6.63%、7.29%、7.98%。於改善後進行一年的效果追蹤(2013 年 12 月-2014 年 11 月)，抗酸染色抹片陽性率平均為 6.06%。總結本次品質改善計畫目標達成率為 155.48%，進步率為 66.03%，顯示擬定之對策能確實提高抗酸染色抹片陽性率。

關鍵詞：抗酸染色、結核菌、品質改善

前言

結核病是一種歷史十分悠久的疾病，是由結核分枝桿菌(*Mycobacterium tuberculosis*)所引起，世界衛生組織(WHO)亦於 2006 年宣告執行全球結核病防治計畫，我國衛生福利部亦配合推動「結核病十年減半計畫」至今。結核病的診斷方式包含依據臨床表現與 X 光，結核菌素試驗、組織病理切片、抗酸染色、結核菌培養、核酸試驗等，而一般臨床微生物實驗室主要的常規方法為抗酸染色(Acid-Fast Stain, AFS)及結核菌培養。由於分枝桿菌的生長速度非常緩慢，傳統培養法在疾病的診斷上緩不濟急，所以抗酸染色抹片檢查即成為最快速、方便的方法，而在評估患者是否具有傳染性時，是以患者痰液中有無結核菌存在做為判斷依據，且經過研究顯示，同樣

是培養陽性的病患，抹片陽性者的傳染性是抹片陰性者二倍以上；而同樣是抹片陰性，培養陽性者的傳染性只比培養陰性者增加少許且不具統計學意義，所以痰抹片陽性的病人，傳染性最高，是最優先治療管理的對象【1,2】。因此，提高抗酸染色抹片陽性率及早篩選出可能的感染者與傳播者，是臨床實驗室的重要課題。

現況說明

本實驗室自 2005 年成立以來，便負責受理本醫療體系內其他院區及本院所有結核菌學檢驗項目業務，亦於 2006 年通過疾病管制署結核菌實驗室督考，目前本實驗室平均檢體量為 1000 件/月，而抗酸染色陽性率所設立的監控閾值為 3%，但根據 2012 年第四次全國結核病認可實驗

通訊作者：陳奕龍

連絡電話：02-26482121#2166

e-mail：long20208@gmail.com

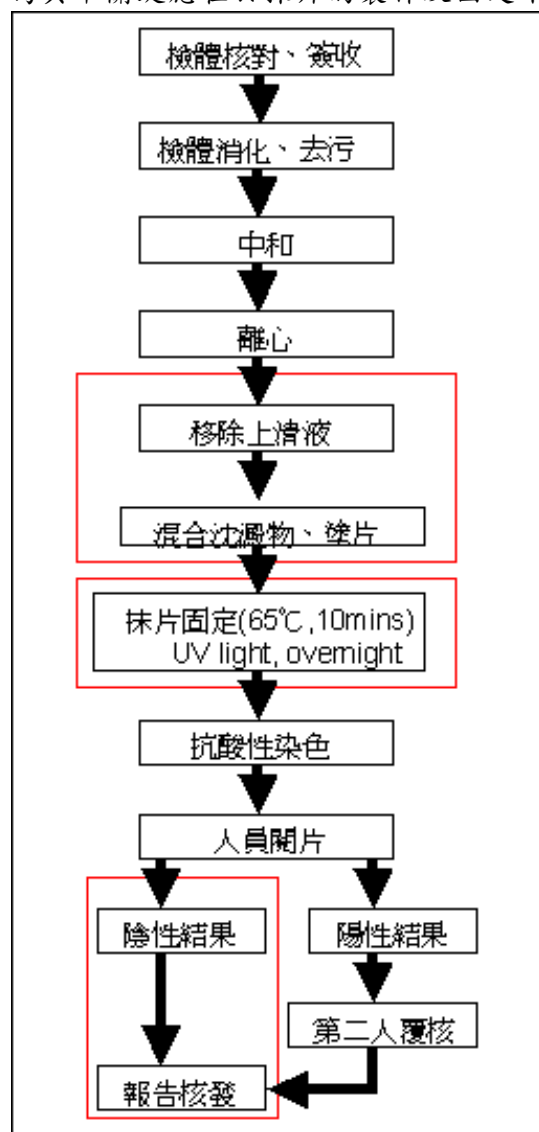
連絡地址：(221-74)新北市汐止區建成路 59 巷 2 號

民國 105 年 12 月 10 日受理；民國 105 年 03 月 20 日受理刊登

室品質監測及人員認證計畫之會議簡報，品質指標中的抹片陽性率全國平均值為 5.2%，而本實驗室 2012 年 1~9 月的抹片陽性率平均值為 3.65%，低於全國平均值。故以此作為改善前期數據，組成品質改善小組利用 PDCA 手法【3】進行改善計畫。

對策擬定與實施

品質改善小組經過討論及諮詢同儕實驗室後，審視抗酸染色的操作流程(圖一)，排除了試劑可能造成的影響後，認為其中關鍵應在於抹片的製作及固定不



▲ 圖一 抗酸染色操作流程(修改前)紅色框線為對策實施之項目

佳，影響了抹片的品質，進而造成抗酸染色抹片陽性率未達理想，故本實驗室將改善計畫進行分段實施。

1. 抹片製作(對策一): 離心後的檢體盡可能移除上清液; 原先為避免誤將離心後的沈澱物倒掉, 所以會有過多的殘留液體, 導致結核菌量在無意中被稀釋, 可能使得原先抹片價數較低的檢體呈現偽陰性。實施日期: 自 2012 年 10 月起。
2. 抹片固定(對策二): 在染色過程中, 時常會有抹片脫落(掉片)的情形發生, 在閱片時較低價數的抹片可能因此而誤判, 故經討論後, 決定更改固定方式, 將烘乾的抹片由原先置於 UV light 下照射至隔日, 改為置於 65°C 溫箱中加熱。實施日期: 自 2013 年 4 月起。
3. 報告核發(對策三): 原先對於陽性結果的抹片會有第二人進行覆核, 而陰性結果則直接發出報告, 經改善小組討論後決定為避免閱片同仁在疏漏下發錯報告, 在不增加人員工作負荷下, 每日針對陰性抹片至少抽檢 10%, 由第二人進行覆查(圖二), 若覆查不合格, 則在未來幾天進行全部覆查的動作, 確認完全合格後, 始恢復 10% 抽檢, 減少誤判的機率。實施日期: 自 2013 年 9 月起。

改善成效

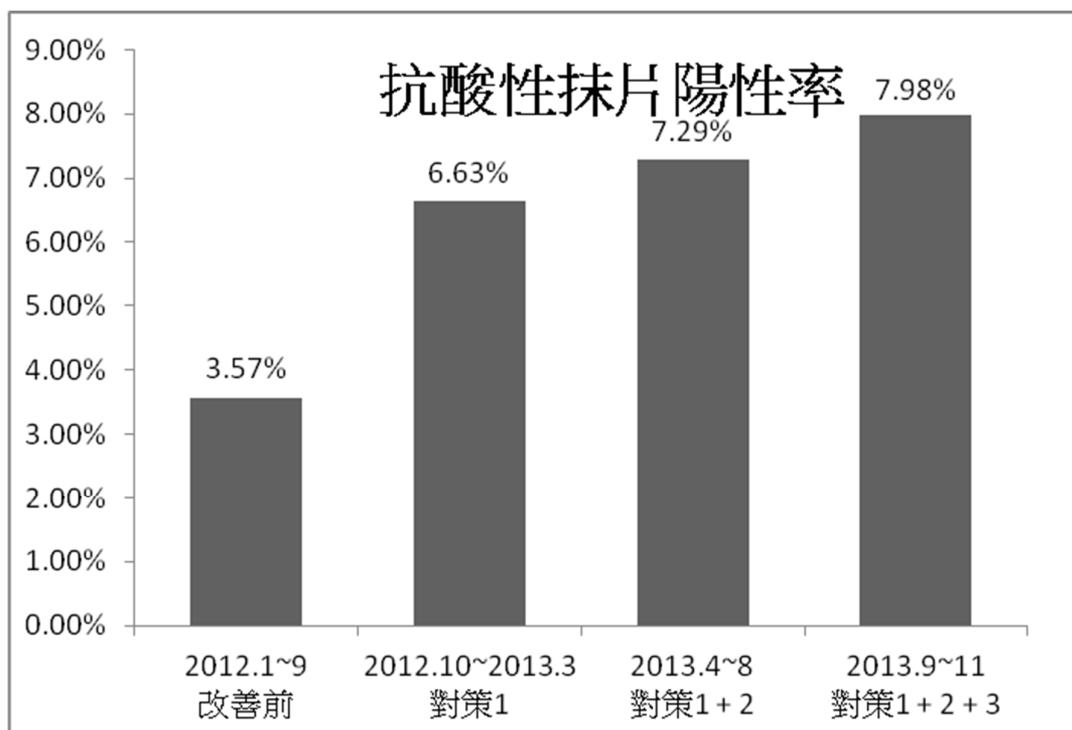
在經過三種改善對策實施後, 抗酸抹片陽性率平均由 3.57% 提升至 7.98%(圖三)。在抹片製作時, 將上清液移除乾淨使沈澱物濃度提升後塗片, 確實可顯著增加抹片陽性率, 平均提升至 6.63%; 而在抹片固定方面, 在不影響報告時效下, 改為 65°C 加熱固定至隔日後, 減少掉片的發生, 也減少重新製作抹片的次數及時間, 提高了染片的成效, 使得抹片陽性率平均小幅上升至 7.29%; 另外, 針對陰性抹片進行抽檢, 則微幅提升陽性率至 7.98%。

抗酸染色品管記錄表

螢光每批（每日一批）操作、抗酸每日操作

日期	品管片價數		操作結果			覆核結果（至少為陰性 10%）		
	MTB	E.coli	總件數	陽性數	操作者	覆核數	判定	覆核者
月 日							<input type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格	
月 日							<input type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格	
月 日							<input type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格	
月 日							<input type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格	
月 日							<input type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格	
月 日							<input type="checkbox"/> 合格 <input type="checkbox"/> 不合格	

▲ 圖二 抗酸染色品管表 增加陰性覆核(紅色框線處)



▲ 圖三 對策實施後抗酸染色抹片陽性率之變化(月平均值)

對策 1：濃縮塗片

對策 2：加熱固定

對策 3：陰性結果覆查

而此次改善活動的主要步驟實施流程則如(圖四)所示,在對策實施的過程中,依照操作方式的差異程度來決定施行時間的長短,並採取疊加的方式來確認每個對策的施行效果。

效果追蹤

經過一年的改善活動,我們再進行效果追蹤(圖五),2013 年 12 月~2014 年 11 月的抗酸染色抹片陽性率平均為 6.06%,其目標達成率為 155.48%;進步率為 66.03%,達到當初所設立之目標。

結論

在結核病的臨床檢驗中,抗酸染色抹片是時效最快也最方便的方法【4-6】,其結果可供臨床醫師評估患者的傳染性,進而降低傳染風險,其重要性不言而喻,此次藉由品質改善方法提高本實驗室抗酸染色抹片陽性率,亦是為了能夠減少患者罹病卻未檢出的可能性,提供合乎臨床所需的數據供臨床醫師參考。

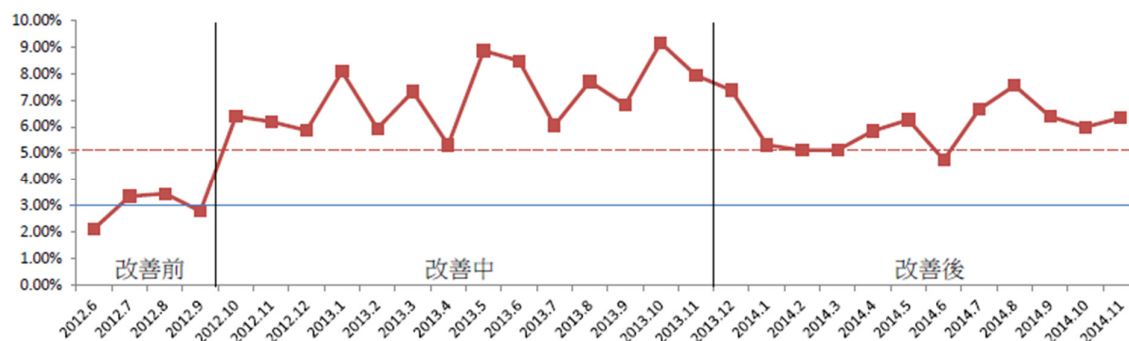
經過對策實施,確認對策之有效性後,

我們修改了抗酸染色的操作流程(圖六),供人員遵循,以維持改善效果。然而,抹片陽性率的提高也有可能造成偽陽性上升,故本實驗室亦積極發展結核菌分子生物學之試驗,使臨床醫師可針對疑似首次罹病的患者進行快速且正確的診斷,以利及時治療,再配合之後的鑑定及藥敏結果進行治療上的調整。

在整個操作流程中,由於完成的抹片是以濃縮法處理後的檢體製成,所以抹片的固定效果除了影響後續染色時的掉片問題外,亦在此過程中利用物理方式殺死結核菌,降低人員感染風險。而結核菌對於濕熱(62~63°C, 15 分鐘)、紫外線(日光下 2~3 小時)、酒精(75%Alc, 數分鐘)的抵抗力弱,在這些條件下,都能造成結核菌的死亡,而本實驗室原先使用 UV light 照射至隔日,雖能有效殺死結核菌,降低感染風險,但固定效果不佳,時有掉片情形發生;而改為加熱固定後,除了不影響報告時效且依舊可降低感染風險外,亦能提升固定效果,大幅減少重新製片的次

年度	102												103												104											
月份	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11						
現況把握及對策擬定																																				
對策 1																																				
對策 1+2																																				
對策 1+2+3																																				
效果追蹤																																				

▲ 圖四 改善活動實施流程 ■ 為施行時間



▲ 圖五 抗酸染色陽性率效果維持圖 — 本實驗室閾值(3%) --- 目標值(5.2%)

數。

本實驗室修改操作流程後，每月陽性率由原來平均 3.65 %提昇至 6.06 %，陽性率提昇了約 2.4%，而抹片陽性率的增加，使得更多結核病患者能於送檢二十四小時內得知抗酸染色陽性結果，讓臨床醫護人員可在第一時間啟動隔離防護措施，降低延遲隔離導致院內或院外群聚感染的風險。因此提高抹片陽性率不僅對結核病的診斷具有意義，更能夠符合「結核病十年減半計畫」的宗旨。

參考文獻

1. 衛生福利部疾病管制署：結核病防治工作手冊-第二版
2. ASM：Acid-fast Stain Procedures. p.550-551. Manual of Clinical Microbiology-11th edition.
3. 楊平吉。民國 89 年。第三章問題解決型 QC STORY 關鍵之一—QC 的想法，35-36 頁，問題解決型 QC STORY，初版。中衛發展中心，台北。
4. JCM 2012：A Highly Efficient Ziehl-Neelsen Stain: Identifying De Novo Intracellular Mycobacterium tuberculosis and Improving Detection of Extracellular M. tuberculosis in Cerebrospinal Fluid. Apr; 50(4): 1166 - 1170
5. Comparison of fluorescence microscopy with Ziehl-Neelsen stain for demonstration of acid-fast bacilli in smear preparations and tissue sections. Am. Rev. Respir. Dis. 91:283-284
6. Ulrichs T, et al. 2005. Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl-Neelsen-negative Mycobacterium tuberculosis organisms and their precise localization in human tissue. J. Pathol. 205:633-640

「雙北檢驗醫學雜誌」刊投稿須知

99/4/20 制定醫檢學術會刊
101/1/31 修訂醫檢學術會刊
102/4/28 修訂醫檢學術會刊
103/5/27 更名雙北檢驗醫學雜誌

「雙北檢驗醫學雜誌」主要報導檢驗醫學之相關學術刊物，包括：原著(original study)、綜說(review article)、臨床案例報告(case report)、醫檢新知、醫檢技術、及實驗室管理等。醫檢學術會刊自 103 年 5 月更名改「雙北檢驗醫學雜誌」，為雙月出刊，每月刊登 3 篇，主要以網路刊登發行。雙北檢驗醫學雜誌編輯委員對來稿有刪改權及刊載決定權，以下為本會刊之投稿須知

雙北檢驗醫學雜誌**相關稿件**：

1. 歡迎檢驗醫學相關報導或其他論述文章，以未曾刊登其他雜誌者為限，文稿以中文撰寫為原則。
2. 撰寫格式
 - (1) 原著：題目、作者、服務單位、關鍵詞(3~5 個)、摘要(200~300 字內)、前言、材料與方法、結果、討論、參考文獻。
 - (2) 綜述：題目、作者、服務單位、關鍵詞(3~5 個)、摘要(200~300 字內)、前言、內容(段落主題)、結論、參考文獻。
 - (3) 案例報告：題目、作者、服務單位、關鍵詞(3~5 個)、摘要(200~300 字內)、前言、案例報告內容、討論、參考文獻。
 - (4) 其他如實驗室管理、檢驗醫學倫理等：比照綜述格式。

首頁：包括題目、作者、摘要(200~300 字內)、關鍵詞(3~5 個)、服務單位、連絡作

者姓名、服務單位、連絡地址及電話、e-mail 信箱網址。

本文（第二頁）：依上述各屬性文章撰寫格式撰寫主文。

表格及圖片說明頁：依本文順序置於本文之後。

3. 版面設定：上：2.54cm、下：2.54cm、左：3.17cm、右：3.17cm。文章內容規定：
中文字體以標楷體、英文以 Times New Roman；字型大小 12，標題字型大小 14，
行間距為二空格(double spaced)。
4. 「雜誌」內容以電腦打字黑白稿方式呈現，所附圖片及圖表必須清晰、圖、表備
註說明以中文方式撰寫。
5. 「雜誌」內容引用他人資料要註明出處；參考資料按引用(參考)先後順序列出。
6. 參考資料的書寫方式，依照 CBE(Council of Biological Editors)手冊原則。期
刊：請按(a)作者姓名。(b)發表年份。(c)篇名。(d)期刊名稱包括：卷數、號數
及起訖頁數，依序撰寫。書籍：請按(a)著者姓名。(b)出版年度。題目，起訖頁
數，編者姓名，(c)書名，卷數或版數。(d)出版商(發行所)，出版地。依序撰寫，
五位作者以上時請列出前四位作者，後加上 et al.(斜體字)。作者人數在四位以
內者，則全部列出。參考文獻必須標示於句尾[*]。

範例：

- (1) Benamer H, Steg PG, Benessiano J, Vicaute E, et al.1998.
 - (2) Comparison of the Prognostic value of C-reactive Protein and Troponin
I in patients with unstable angina pectoris. Am J Cardiol. 82: 845-850.
 - (3) 何敏夫。2000。第七章醣類，250-258 頁，何敏夫著，臨床化學，第三版。
合記圖書出版社，台北。
7. 一般稿件篇幅約為 3000 字內。
 8. 投稿稿件範例如附件。

附件：投稿稿件範例

首頁

投稿題目

作者

服務單位(XX 醫院 XX 科)

摘要

(200~300 字)

關鍵詞：3~5 個

通訊作者：

連絡電話：

e-mail：

連絡地址：

民國??年?月?日受理；民國??年 ? 月 ???日受理刊登

第二頁

原著：依序撰寫

前言

XXXXXx [1]

引用文獻

材料與方法

結果

討論

參考文獻

綜述：依序撰寫

前言

XXXXXx [1]

引用文獻

內容(段落主題)

主題一

主題二

主題三


以此類推

結論

參考文獻

案例報告：依序撰寫

前言
XXXXXx [1]



引用文獻


案例報告內容

討論

參考文獻

其他如實驗室管理、檢驗醫學倫理：依序撰寫

前言
XXXXXx [1]



引用文獻

內容(段落主題)

主題一

主題二

主題三

以此類推

結論

參考文獻