

不同检测方法检测免疫球蛋白轻链比值的比较

夏永泉,王 贤,张 葵
(南京大学医学院附属鼓楼医院检验科,南京 210008)

摘 要:目的 比较流式细胞术法和散射比浊法的轻链 κ/λ 比值结果是否具有一致性。方法 用流式细胞术法和散射比浊法分别对 32 例患者的外周血 B 淋巴细胞膜上 κ 、 λ 轻链的表达率、血清和尿液中的游离 κ 、 λ 轻链含量进行测定,并分别计算 κ/λ 比值。结果 3 个不同组别的标本两两分组,分别进行检测方法的一致性比较,用 Kappa 检验进行统计分析,结果为 B 细胞组和血清组的 κ 值为 0.881,血清组和尿液组的 κ 值为 0.885,B 细胞组和尿液组的 κ 值为 0.885。结论 两种检测方法结果的 κ/λ 比值有极高的一致性。对于血清和尿液中 κ/λ 比值异常的标本,建议同时检测 B 淋巴细胞膜上的 κ/λ 比值,以确定该标本是否有 B 淋巴细胞克隆性表达的存在。

关键词:免疫球蛋白; 轻链比值; 流式细胞术; 散射比浊法
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.038 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)08-0971-01

通过对慢性淋巴细胞性白血病及原发性肾病综合征患者外周血细胞膜上 κ 、 λ 轻链表达率、血清及尿液中的游离 κ 、 λ 轻链的检测,探讨不同检测方法结果中 κ/λ 比值是否具有一致性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 32 例患者为 2009~2011 年间该院住院的已确诊患者,其中 12 例为慢性淋巴细胞性白血病患者,男 2 例,女 10 例,年龄 45~77 岁,平均年龄 58.4 岁;20 例慢性肾病患者,男 12 例,女 8 例,年龄 34~71 岁,平均年龄 47.3 岁。

1.2 仪器与试剂 (1)美国 Beckman Coulter 公司 Immage 特种蛋白仪,试剂为其原装试剂: κ 轻链检测试剂盒(批号:446440), λ 轻链检测试剂盒(批号:446470),稀释液、缓冲液、标准品及质控品等均为该公司提供的进口配套试剂。(2)美国 BD 公司 FACSCalibur 流式细胞仪,试剂为其原装试剂:BD Oncomark Anti-Kappa/Anti-Lambda/CD19 Reagents(批号:44045),IgG1b-FITC、IgG2a-PE、CD19-PerCP、鞘液、溶血素及质控品等均为该公司提供的进口配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 散射比浊法 血清及尿液中的 κ 、 λ 轻链的测定按美国 Beckman Coulter 公司 Immage 特种蛋白仪说明书进行操作,采用散射比浊法来检测轻链 κ 、 λ 的含量,并计算 κ/λ 比值。

1.3.2 流式细胞术法 外周血 B 淋巴细胞膜表面免疫球蛋白轻链的测定:用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞(PBMCs),以无菌生理盐水洗涤 3 次,备用。取 10 μ L Anti-Kappa/Anti-Lambda/CD19 试剂加入流式细胞术专用试管底部,对照管为 10 μ L CD19-PerCP、10 μ L IgG2a-PE 和 10 μ L IgG1b-FITC,每管中加入洗涤后的 PBMCs 50 μ L,轻轻混匀后,置室温避光反应 15 min;加入 1 mL 溶血素,混匀,室温避光溶血 10 min,以裂解残留的红细胞。之后以 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入生理盐水 1 mL 洗涤 1 次,再以 1 500 r/min 离心 5min,弃去上清液。加入 250 μ L 1%多聚甲醛,混匀后用流式细胞仪检测。以 Cell Quest 软件收集和分析数据,以 CD19 阳性细胞为所分析的目标细胞群,分析其中 κ 与 λ 表达水平。 κ 和 λ 的表达率为其阳性细胞占总 B 淋巴细胞的百分比,并计算 κ/λ 比值。

1.4 统计学处理 用 SPSS 17.0 软件对所有实验数据进行统计分析。

2 结 果

通过对 32 例患者外周血 B 淋巴细胞膜上 κ 和 λ 表达率的

测定、血清和尿液中免疫球蛋白游离轻链 κ 和 λ 含量的测定,对所得数据进行处理。B 淋巴细胞膜上 κ/λ 的参考范围为 1.03~1.59,血清中轻链 κ/λ 的参考范围为 1.53~3.29,尿液中轻链 κ/λ 的参考范围为 1.40~2.76^[1-3]。本组将 κ/λ 值为正常的结果设为正常,低于参考范围的结果设为异常 I,高于参考范围的结果设为异常 II,并对分组数据进行 Kappa 一致性检验。见表 1~3。

表 1 B 淋巴细胞组和血清组 κ/λ 比值一致性的结果比较

血清 κ/λ 比值	B 淋巴细胞 κ/λ 比值		
	正常(n)	异常 I (n)	异常 II (n)
正常(n)	18	0	0
异常 I (n)	2	3	0
异常 II (n)	0	0	9

表 2 血清组和尿液组 κ/λ 比值一致性的结果比较

尿液 κ/λ 比值	血清 κ/λ 比值		
	正常(n)	异常 I (n)	异常 II (n)
正常(n)	18	0	0
异常 I (n)	0	3	0
异常 II (n)	2	0	9

表 3 B 淋巴细胞组和尿液组 κ/λ 比值一致性的结果比较

尿液 κ/λ 比值	B 淋巴细胞 κ/λ 比值		
	正常(n)	异常 I (n)	异常 II (n)
正常(n)	18	0	0
异常 I (n)	0	3	0
异常 II (n)	2	0	9

3 个不同组别的标本两两分组,分别进行检测方法的一致性比较。B 淋巴细胞组和血清组的 κ 值为 0.881;血清组和尿液组的 κ 值为 0.885;B 淋巴细胞组和尿液组的 κ 值为 0.885。结果显示,速率散射比浊法与流式细胞术检测技术的 κ/λ 比值,在检测结果上具有高度一致性。

3 讨 论

免疫球蛋白由一对轻链及一对重链组成,其中轻链有 κ 、 λ 两种,每种免疫球蛋白或含 κ 轻链或含 λ 轻链。骨髓 B 淋巴细胞在发育至前 B 细胞阶段时出现 Ig 轻链基(下转第 981 页)

下,检修或更换压力泵。

7 Sipper Nozzle Up/Down

7.1 原因 Sipper Nozzle 移动异常,不能归位。

7.2 处理方法 (1)清洁 Sipper Nozzle 相关传感器;(2)给 Sipper Nozzle 齿轮轨道上油;(3)保养 ISE Reagent 针、Sample 针、Reagent R1 和 R2 针的轨道。

8 R1(或 R2)Reagent Probe Up/Down

8.1 原因 R1(或 R2)试剂针上下移动异常,不能归位。

8.3 处理方法 (1)观察除去障碍物,执行[Utility]-[Maintenance]-[Reset],复位后启动仪器,重新操作;(2)检查试剂针加样臂是否有灰尘等物质集聚,阻碍了加样臂上下移动和从试剂到样品杯间的移动,给摆动臂涂抹适量的专用润滑油,加强摆动臂的维护^[8]。若故障经常发生,则通知仪器维修工程师进行保养及维修。

9 清洗水从反应盘溢出

9.1 原因 可能为仪器水压过高。

9.2 处理方法 检查仪器后方仪表水压,正常应为 0.4 左右,若过高,调节水压表旁边的旋钮至 0.4 左右。

10 反应杯未吸干

10.1 原因 可能为冲洗机构的冲洗喷嘴堵塞或冲洗机构的弹簧弹性差,导致不能充分吸干反应杯。

10.2 处理方法 (1)用不绣钢丝(或者配合使用稀释的“84”溶液)疏通喷嘴,再用蒸馏水清洗;(2)更换弹簧。

11 小 结

检验仪器的正常使用、维护和保养是保证仪器正常运行的关键,对日常检验工作的顺利开展有着重要意义^[9]。Cobas C501 全自动生化分析仪的保养及维修菜单设计合理齐全,功能强大,在维修过程中必须先要理解各系统的基本工作原理和工作方法,以及它们之间的相互关系,充分利用诊断菜单中的

各项功能和数据,结合仪器的工作状态,判断所怀疑的部件是否工作及其工作状态来解决故障,若不能自行解决,则应及时与仪器维修工程师联系进行维修。此外,还应定期(每天、每周、每两周、每月、每季度和每半年)或按需要对仪器进行保养才能减少故障的发生^[10]。平时尽可能详尽地做好维修记录,这对于今后遇到同样或类似的问题的及时处理有重要作用。

参考文献

- [1] 彭黎明,王兰兰. 检验医学自动化及临床应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:426-427.
- [2] 罗氏公司. Cobas 6000 分析仪系列使用操作手册[S]. 2006:59.
- [3] 庞智睿. 日立 7600-010 生化仪特殊故障检修[J]. 实用医技杂志, 2007,14(36):4998-4999.
- [4] 王新元,祝峰. 全自动生化分析仪的操作规律[J]. 现代检验医学杂志,2007,22(5):30-31.
- [5] 魏锡安,贾春榕,庄伟龙. 罗氏 MODULAR 生化分析仪故障维修 5 例[J]. 医疗装备,2009,22(5):57-58.
- [6] 虞国其. 罗氏 Modular P800 与 E170 联机故障检修实例分析[J]. 实用医技杂志,2008,15(19):2525.
- [7] 周菁楠,郭爱群. 罗氏 MODULE P800 生化分析仪定标故障检修[J]. 设备维修,2009,24(8):126-127.
- [8] 王勇,庄伟龙,魏锡安. 罗氏 MODULAR 全自动生化分析仪常见故障维修[J]. 设备维修,2009,24(10):95-96.
- [9] 程峰. TBA-40FR 全自动生化分析仪故障及处理方法[J]. 国际检验医学杂志,2001,32(15):1743-1744.
- [10] 张春梅. 浅谈 ROCHE Modular P 的维护与保养[J]. 医疗装备, 2009,4(3):77-78.

(收稿日期:2012-01-03)

(上接第 971 页)

因重排,待细胞成熟后,Ig 轻链可表达于细胞表面。健康者 B 淋巴细胞膜表面,有一部分表达 κ 轻链,另一部分表达 λ 轻链。肿瘤性 B 细胞来源于一个共同的 B 细胞株,其主要特征为 Ig 轻链限制性,即全部肿瘤性 B 细胞仅表达 κ 轻链或者仅表达 λ 轻链,也称为克隆性表达。 κ/λ 比例的异常,成为反应性 B 淋巴细胞增生和肿瘤性慢性 B 淋巴细胞增生的鉴别诊断的有效指标^[4-5]。

本研究中 B 淋巴细胞组和血清组的比较,30 例(93.75%) κ/λ 的结果相同,其中 12 例慢性 B 淋巴细胞性白血病,18 例肾病综合征患者;2 例(6.25%) κ/λ 的结果不同,表现为比值下降,2 例均为尿毒症患者。B 淋巴细胞和尿液、血清和尿液的比较中,均出现 30 例(93.75%) κ/λ 的结果相同,2 例(6.25%) κ/λ 的结果不同,表现为比值上升。其原因可能与 κ 轻链相对分子质量小,易通过肾小球滤过膜从尿中排出的速度快于 λ 轻链,所以血清中 λ 轻链含量相对增高、 κ/λ 比值下降。此结果与国内学者报道基本一致^[6]。

流式细胞术检测采用的试剂是单克隆荧光抗体,特异性强,因此多用于鉴别 B 淋巴细胞是否有克隆性表达。血清和尿液中游离 κ 、 λ 轻链的测定,是浆细胞性疾病、肾脏疾病等的诊断指标之一^[7]。在本实验研究中,结果显示两种检测方法的结果在 κ/λ 比值上有高度的一致性。在轻链检测中,流式细胞术检测技术与散射比浊法相比,因其更多的为手工操作,因此在实际工作中的应用不如散射比浊法普及。但对于有血清和尿液中 κ/λ 比值异常的标本,本组建议同时检测 B 淋巴细胞膜

上的 κ/λ 比值,以确定该患者血液中是否有 B 淋巴细胞克隆性表达的存在。

参考文献

- [1] 叶树俊,张葵,陈军浩,等. 流式细胞术检测 B 淋巴细胞表面免疫球蛋白轻链及临床意义[J]. 临床检验杂志,2007,25(6):432-434.
- [2] 美国 Beckman Coulter 公司. Kappa 轻链检测试剂盒说明书[S]. 2006:1-4.
- [3] 程艳杰,郝赅妍,朱鸿,等. 尿蛋白谱及尿轻链水平的检测在慢性肾脏损伤中的诊断意义[J]. 大连医科大学学报,2010,32(5):580-585.
- [4] Costa ES,Arroyo ME,Pedreira CE,et al. A new automated flow cytometry data analysis approach for the diagnostic screening of neoplastic B-cell disorders in peripheral blood samples with absolute lymphocytosis[J]. Leukemia,2006,20(7):1221-1230.
- [5] Chizuka A,Kanda Y,Nannya Y,et al. The diagnostic value of kappa/lambda ratios determined by flow cytometric analysis of biopsy specimens in B-cell lymphoma[J]. Clin Lab Haematol,2002, 24(1):33-36.
- [6] 曹先伟,鞠北华,宋丙杭. 血清中游离 κ 、 λ 轻链水平测定[J]. 实用临床医学,2004,5(1):13-15.
- [7] 扶云碧,卢汉波. 血(尿) 游离轻链升高的临床意义[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册,2002,23(3):151-152.

(收稿日期:2012-02-17)