

分析仪的不精密度、正确度、携带污染率、临床可报告范围、仪器模式间比对、生物参考区间及仪器分类与人工分类比对等性能指标进行验证,得出以下结论:(1)该仪器精密度高、重复性好,本次精密度验证试验血常规各项指标的批内不精密度和总不精密度均符合评价标准,精密度良好。(2)本检测系统室内质评成绩合格。(3)携带污染率小,各项携带污染率均符合仪器的性能要求。(4)各检测指标的线性试验结果表明,检测系统具有良好的线性, a 值均在 1.00 ± 0.05 范围内, $r^2 \geq 0.95$,符合要求,各指标线性范围有效。(5)仪器自动模式与手动模式之间比对结果符合要求,验证通过。(6)检测系统结果均至少有 95% 数据分布在现行生物参考区间内,验证通过。(7)仪器分类与人工分类比对结果符合要求,验证通过。

综上所述,本室西门子 ADVIA 2120i 全自动五分类血细胞分析仪通过对不精密度、可比性、线性范围、临床可报告范围、携带污染率、生物参考区间、不同进样模式间比对、仪器分类与手工分类比对等性能指标的验证,性能良好,可用于临床标本的检测。

参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. ISO15189 医学实验室质量和能力认可准则[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会,2012.
- [2] Hedley BD, Keeney M, Chin-Yee I, et al. Initial performance evaluation of the UniCel(R) DxH 800 Coulter(R) cellular analysis

system[J]. Int J Lab Hematol, 2011, 33(1): 45-56.

- [3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社, 2006: 496.
- [4] National Committee for Clinical Laboratory. EP5-A2 Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices[S]. Wayne, PA, USA: NCCL, 1999.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. WS/T406-2012 临床血液学检验常规项目分析质量要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [7] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP10-A2 Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods [S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- [8] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.

(收稿日期: 2015-10-26)



• 临床研究 •

EB 病毒 6 项抗体联合检测在临床诊断中的应用

伍 玉, 高向阳, 张晓阳[△], 刘 萍, 苏芳芳

(昆明理工大学附属普洱市人民医院检验科, 云南普洱 665000)

摘要:目的 探讨酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 EB 病毒抗体谱的临床应用价值。方法 采用 ELISA 法对 2 526 例该院住院患者进行 EB 病毒 6 项抗体联合检测, 结合病理诊断结果对 EB 病毒 6 项抗体联合检测结果进行统计分析, 探讨 EB 病毒感染与疾病的关系。**结果** 2 526 例住院患者中有 32 例经病理诊断为鼻咽癌, 占 1.27%。抗 EB 病毒衣壳抗原抗体 IgA (EBVCA-IgA)、抗 EB 病毒早期抗原抗体 IgG (EBVEA-IgG)、抗 EB 病毒早期抗原抗体 IgA (EBVEA-IgA) 阳性共 18 例, 阳性率为 56.25%; EBVCA-IgA、EBVEA-IgG 阳性 10 例, 阳性率为 31.25%; EBVCA-IgA、EBVEA-IgA 阳性 3 例, 阳性率为 9.38%。2 526 例住院患者中有 52 例为儿童患者, 上述 3 种抗体阳性模式所涉及的主要疾病为呼吸、消化、血液等系统疾病, 且以呼吸系统疾病为主 (57.7%), 但均未诊断为鼻咽癌。**结论** EB 病毒抗体阳性模式中 EBVCA-IgA、EBVEA-IgG、EBVEA-IgA 阳性或 EBVCA-IgA、EBVEA-IgG 阳性或 EBVCA-IgA、EBVEA-IgA 阳性在成年人中可诊断为鼻咽癌, 而在儿童中出现以上检测结果, 则不一定能诊断为鼻咽癌。但 EB 病毒 6 项抗体联合检测对儿童 EB 病毒感染引起的相关疾病具有参考价值。

关键词: EB 病毒; 酶联免疫吸附试验; 鼻咽癌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.048

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)05-0683-03

EB 病毒属疱疹病毒 γ 亚科淋巴隐病毒属, 由 Epstein 和 Barr 于 1964 年在 Burkitt 淋巴瘤的体外培养细胞中发现, 故名 EB 病毒, 它是一种能普遍感染人类且与多种疾病发病有密切关系的 DNA 病毒。既往大量资料显示, EB 病毒感染与鼻咽癌密切相关^[1], 绝大多数鼻咽癌患者血清中有抗 EB 病毒抗体存在, 通过检测血清中 EB 病毒特异性抗体早期诊断鼻咽癌, 是提高鼻咽癌患者存活率的一个重要手段^[2], 而在儿童中 EB 病毒感染所致的临床表现复杂多样, 可累积全身多个系统引发多种疾病, 据国外资料显示, 50% 的患者发展为传染性单核细胞增多症^[3]。为进一步做好 EB 病毒感染的防治工作, 本

研究对本院 2 526 例住院患者进行了 EB 病毒 6 项抗体检测, 就 EB 病毒感染与疾病的关系进行了深入分析和探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 1 月至 2015 年 5 月本院住院患者 2 526 例, 男 1 485 例, 女性 1 041 例; 其中儿童 1 187 例, 年龄 0~14 岁, 平均 (3.9 ± 1.5) 岁; 成年人 1 339 例, 年龄 14~77 岁, 平均 (46.2 ± 18.5) 岁。

1.2 仪器与试剂 EB 病毒 6 项抗体酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (德国欧蒙实验诊断有限公司), 仪器采用 Anthos fluido 全自动洗板机 (奥地利安图斯公司) 和 KHB ST-360

酶标仪(上海科华实验系统有限公司)。所有试剂、质控品及校准品均在使用有效期内,所有检验项目室内质控在试验期间均显示在控。

1.3 方法 采集所有受试者清晨空腹静脉血 3 mL,用低速离心机以 $1\,999\times g$ 离心 10 min,分离血清标本检测,采用 ELISA 法对患者 6 项 EB 病毒抗体进行测定。6 项抗体包括:抗 EB 病毒衣壳抗原抗体 IgA(EBVCA-IgA)、抗 EB 病毒衣壳抗原抗体 IgG(EBVCA-IgG)、抗 EB 病毒衣壳抗原抗体 IgM(EBVCA-IgM)、抗 EB 病毒早期抗原抗体 IgG(EBVEA-IgG)、抗 EB 病毒核抗原抗体 IgG(EBVNA-IgG)、抗 EB 病毒早期抗原抗体 IgA(EBVEA-IgA)。试验严格按照欧蒙医学实验诊断有限公

司试剂说明书操作,标本吸光度值(A 值)与校准品 A 值的比值大于或等于 1.1 判为阳性。

2 结 果

2.1 鼻咽癌患者 EB 病毒抗体谱的阳性模式 2 526 例住院患者中有 32 例经病理诊断为鼻咽癌,占 1.27%(32/2 526),其 EB 病毒抗体谱的阳性模式,见表 1。病理确诊为鼻咽癌的 32 例患者中最小年龄为 22 岁,最大为 77 岁,其中男 21 例,女 11 例。EBVCA-IgA、EBVEA-IgG、EBVEA-IgA 阳性 18 例,阳性率为 56.25%(18/32);EBVCA-IgA、EBVEA-IgG 阳性 10 例,阳性率为 31.25%(10/32);EBVCA-IgA、EBVEA-IgA 阳性 3 例,阳性率为 9.38%(3/32)。

表 1 32 例鼻咽癌患者 EB 病毒抗体谱的阳性模式

阳性模式	男(n)	女(n)	总阳性例数(n)	总阳性率(%)
EBVCA-IgA、EBVCA-IgG、EBVNA-IgG、EBVEA-IgA 均阳性	1	2	3	9.38
EBVCA-IgA、EBVCA-IgG、EBVEA-IgG、EBVNA-IgG、EBVEA-IgA 均阳性	14	2	16	50.00
EBVCA-IgA、EBVCA-IgG、EBVEA-IgG、EBVNA-IgG 均阳性	5	4	9	28.12
EBVCA-IgA、EBVCA-IgG、EBVEA-IgG、EBVEA-IgA 均阳性	1	1	2	6.25
EBVCA-IgA、EBVCA-IgG、EBVEA-IgG 均阳性	0	1	1	3.12
EBVCA-IgA、EBVCA-IgG、EBVNA-IgG 均阳性	0	1	1	3.12
合计	21	11	32	100.00

2.2 EB 病毒感染患儿疾病谱 儿科患者中出现 EBVCA-IgA、EBVEA-IgG、EBVEA-IgA 阳性或 EBVCA-IgA、EBVEA-IgG 阳性或 EBVCA-IgA、EBVEA-IgA 阳性的患者共 52 例,占儿科患儿的 4.3%(52/1 187)。患儿疾病以呼吸系统疾病最为多见,占 57.7%(30/52)。患儿疾病谱,见表 2。

表 2 52 例 EB 病毒患儿疾病谱

疾病名称	阳性例数(n)	构成比(%)
传染性单核细胞增多症	9	17.3
咽炎	3	5.8
支气管炎	4	7.7
上呼吸道感染	12	23.1
扁桃体炎	5	9.6
肺炎	6	11.5
病毒性脑膜脑炎	1	1.9
特发性血小板减少性紫癜	6	11.5
过敏性紫癜	2	3.8
川崎病	2	3.8
噬血细胞综合征	1	1.9
脓毒血症	1	1.9
合计	52	100.0

3 讨 论

研究发现,鼻咽癌的发生与 EB 病毒感染密切相关,鼻咽癌患者血清中含有高水平的 EB 病毒壳抗原和早期抗原抗体^[4]。而 EBVCA-IgA、EBVEA-IgG 和 EBVEA-IgA 抗体的联合检测更能有效地提高 EB 病毒血清学检测在鼻咽癌诊断中的价值^[5]。这与本文中 32 例鼻咽癌患者均检测到 EB 病毒抗

体的结果相符。但并非 EBVCA-IgA、EBVEA-IgG 和 EBVEA-IgA 阳性就患有鼻咽癌,这与年龄也有一定的关系。本文研究的儿童患者中上述 3 项抗体阳性者均未诊断为鼻咽癌。52 例 EB 病毒感染患儿的相关疾病涉及呼吸、消化、血液、循环等系统,以呼吸系统疾病最为多见,占 57.7%(30/52),与蒋陵岚等^[6]研究结果一致。其中上呼吸道感染 12 例(23.1%)、肺炎 6 例(11.5%)、扁桃体炎 5 例(9.6%)、支气管炎 4 例(7.7%)、咽炎 3 例(5.8%)、传染性单核细胞增多症 9 例(17.3%)。此外,还有病毒性脑膜脑炎、特发性血小板减少性紫癜、过敏性紫癜、川崎病、噬血细胞综合征、脓毒血症等,与相关文献^[7]显示的全身各个系统均可累及大致相符。所以,临床上儿童患者更多的是考虑 EB 病毒的感染,不考虑鼻咽癌,而成年人上述 3 项抗体阳性则要高度怀疑鼻咽癌,这对成年人辅助诊断鼻咽癌或初筛鼻咽癌都有一定的临床价值。

本研究 2 526 例患者中,EBVCA-IgG、EBVNA-IgG 抗体同时阳性者,在儿童中占 65.2%,在成年人中占 82.8%,均未诊断为与 EB 病毒感染相关的疾病,表明 80%以上的成年人曾感染过 EB 病毒。EBVCA-IgG、EBVNA-IgG 抗体出现后可持续多年甚至终身,是既往感染的标准,与我国其他地区监测结果一致^[8]。

综上所述,EBVCA-IgA、EBVEA-IgG 和 EBVEA-IgA 抗体阳性对确诊成年人鼻咽癌有辅助的临床意义,而在儿童中上述 3 项抗体阳性并不考虑鼻咽癌,但 EB 病毒 6 项抗体联合检测更能准确地判断儿童 EB 病毒感染,为临床提供更多信息,避免造成漏诊与误诊。

参考文献

[1] 潘建基,陆嘉德.常见恶性肿瘤诊治进展丛书:鼻咽癌[M].上海:上海科技教育出版社,2010.
[2] 李艳华,黄启洪.EB 病毒抗体与鼻咽癌发病风险的前瞻性研究

- [J]. 中国肿瘤, 2012, 21(9): 670-672.
- [3] Macsween KF, Crawford DH. Epstein-Barr virus-recent advance [J]. Lancet Infect Dis, 2003, 3(3): 131-140.
- [4] 宗永生, 杨伟民, 张昌卿, 等. 用原位杂交技术探讨 EB 病毒在鼻咽癌发生中的作用[J]. 中华病理杂志, 1993, 22(6): 330-333.
- [5] 周涛, 邓永高. EB 病毒三项血清学联合检测与鼻咽癌诊断的相关性探讨[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5(11): 3308-3309.
- [6] 蒋陵岚, 李启宇. 71 例婴幼儿 EB 病毒感染的临床特征分析[J]. 实用预防医学, 2010, 17(7): 1369-1370.
- [7] 王亚军, 王尚昆. 519 例小儿 EB 病毒感染临床分析[J]. 中国医学工程, 2011, 19(1): 128.
- [8] 蒋卫红, 赵素萍, 尹志华, 等. 定量和定位检测 EB 病毒在鼻咽癌组织中的感染状态[J]. 癌症, 2005, 24(7): 796-800.

(收稿日期: 2015-10-26)

• 临床研究 •

宫颈癌患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 淋巴细胞与 白细胞介素-17 水平及其相关性研究

周勇军, 李龙平, 王新华
(益阳市中心医院检验科, 湖南益阳 413000)

摘要:目的 探讨外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 淋巴细胞(Tr 细胞)和白细胞介素-17(IL-17)水平在宫颈癌患者中的变化及其相关性。方法 选取 2014 年 1 月至 2015 年 3 月该院确诊宫颈癌患者 60 例(宫颈癌组)和查体的健康女性 60 例(健康对照组), 采用流式细胞仪检测外周血 Tr 细胞数量及占 CD4⁺ 细胞百分比, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 IL-17 水平。结果 宫颈癌组外周血 Foxp3⁺ Tr、Tr、CD4⁺ T 淋巴细胞百分比, Foxp3⁺ Tr/Tr、Tr/ CD4⁺ T 淋巴细胞比值及血清 IL-17 水平均较健康对照组明显升高, 而 IL-17/Tr 比值明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。宫颈癌组患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ Tr 细胞水平与血清 IL-17 水平呈正相关($r = 0.768, P < 0.05$)。结论 宫颈癌患者存在细胞免疫功能紊乱, IL-17 与 Tr 细胞比值失衡可能在宫颈癌发病机制中起一定的作用。

关键词: 宫颈癌; CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 淋巴细胞; 白细胞介素-17
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.049 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2016)05-0685-03

宫颈癌是妇科常见的生殖系统恶性肿瘤之一, 其发病率仅次于乳腺癌。越来越多的研究表明, 肿瘤的发生、发展与肿瘤免疫逃逸密切相关, CD4⁺CD25⁺调节性 T 淋巴细胞(Tr 细胞)是一种新型免疫抑制细胞, 能维持自身耐受和免疫稳定, 同时抑制免疫系统对肿瘤的免疫应答, 其独特的免疫抑制作用可能在肿瘤免疫逃逸中起了“主干”作用^[1]。有研究表明, 宫颈癌患者体内存在 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞比例失调, 肿瘤负荷与宫颈癌患者体内 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞水平有关, 提示 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞表达异常参与了宫颈癌的发生、发展^[2]。炎症和肿瘤之间可能存在一定的关系, 慢性感染和炎症能介导一系列炎性介质(如细胞因子、酶、趋化因子等)一起造成炎症微环境, 被认为是宫颈癌发生、发展的重要原因之一。白细胞介素-17(IL-17)是辅助性 T 淋巴细胞 17(Th17)分泌的前炎性细胞因子, 作为细胞核心的炎性因子具有强有力的诱导能力, 可促进细胞增殖和血管生成, 从而发挥促进慢性炎症和肿瘤生长的作用^[3]。本研究通过检测 60 例, 宫颈癌患者外周血中 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞及 IL-17 水平的表达, 旨在进一步探讨 IL-17 和 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞在宫颈癌发生、发展中的作用及其发病机制, 为宫颈癌的临床免疫调节治疗提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 1 月至 2015 年 3 月本院妇科收治的经临床妇科检查诊断和活检后病理确诊的初次就诊宫颈癌患者 60 例, 纳入宫颈癌组, 年龄 32~79 岁, 平均(40.57±15.62)岁, 所有患者无其他系统恶性肿瘤及转移性肿瘤, 未经放、化疗治疗及内分泌治疗和免疫治疗, 取材前 3 d 内无阴道冲洗及阴道用药史。另选取本院查体的健康女性 60 例作为健康对照组, 年龄 26~75 岁, 平均(38.73±12.23)岁, 均有性生活史, 均为非妊娠状态, 均无子宫切除和宫颈手术史, 均排除近期感染

和自身免疫病史, 均未使用糖皮质激素和非甾体类药物。所有标本的收集均经患者或其家属同意, 签署知情同意书。两组年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 具可比性。

1.2 仪器与试剂 荧光素标记的单克隆抗体: 异硫氰酸荧光素标记 CD4(CD4-FITC)、藻红蛋白标记 CD25(CD25-PE)、异硫氰酸荧光素标记 IgG1(IgG1-FITC)和藻红蛋白标记 IgG1(IgG1-PE)均购自美国 BD 公司; 淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品有限公司; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒购自美国 Linco 公司。Beckman Coulter EP-ICS XL 流式细胞仪购自美国 Beckman Coulter 公司。

1.3 方法

1.3.1 外周血 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Tr 细胞检测 取健康女性查体当日和患者入院第 2 天清晨静脉新鲜血液 5 mL, 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝, 以淋巴细胞分离液得淋巴细胞, 取分离的 T 淋巴细胞悬液 100 μ L, 分别加入抗 CD4-FITC、抗 CD25-PE 的单克隆抗体各 20 μ L, 同型对照分别为 IgG1-FITC、IgG1-PE, 混匀, 避光孵育 25~30 min。1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清。加入 2 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)混匀, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清。将细胞悬浮于 0.5 mL PBS 中, 振荡混匀后待测。应用流式细胞仪检测宫颈癌组和健康对照组外周血单个核细胞(PBMC)中 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Tr 细胞。

1.3.2 IL-17 检测 所有受试者清晨空腹抽取静脉血 5 mL, 3 000 r/min 离心 5 min, 血清分离后放-20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。采用 ELISA 试剂盒测定血清 IL-17 水平, 严格按试剂说明书进行测定。

1.3 统计学处理 采用的 SPSS16.0 统计学软件进行数据处理与统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用完全随机设计的 t 检验, 组内比较采用配对 t 检验; 相关分析采用 Pear-