

- [14] 左奇玉,匡希斌. 血清胰岛素样生长因子-1 和一氧化氮水平与原发高血压关系的临床研究[J]. 实用预防医学, 2012,19(2):282-285.
- [15] 周文平,张琳琳. 胰岛素样生长因子 1 与妊娠期高血压疾病产后遗留高血压相关性研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2016,30(6):594-595.
- [16] 许志威,张媛媛,陶军等. 原发性高血压患者血浆 ghrelin 水平的改变及其影响因素[J]. 中山大学学报(医学科学版),2011,(5):606-611.
- (收稿日期:2016-11-28 修回日期:2017-01-20)

• 临床研究 •

HIV/AIDS 患者外周血状态对 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞检测结果的影响

吴 敏¹,龙 静¹,杨 瑶²

(1. 海口市第三人民医院检验科 571100;2. 海口市人民医院检验科 570208)

摘 要:目的 探究 HIV/AIDS 患者外周血状态对 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞检测结果的影响。方法 选择 35 例 HIV/AIDS 患者作为研究对象,每名患者采集 3 份血液样本,第一份直接注入抗凝管作为正常抗凝样本(正常组),第二份先注入普通采血管待血液部分凝固时注入至抗凝管作为部分凝血样本(凝血组),第三份在加入抗凝管完全抗凝后,高速振荡 3~5 min 后作为部分溶血样(溶血组)。就凝血组、溶血组血样的 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数分别与正常组血样进行对比性分析。结果 凝血组样本的 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数水平分别为 (303.47±104.59)、(927.64±421.62) 个/ μ L,明显低于正常组 (456.21±126.34)、(1 376.18±684.28) 个/ μ L,同时凝血组样本的 CD3⁺ T 细胞计数水平也明显低于正常组,两组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。溶血组样本的 CD4⁺ T 细胞计数为 (523.16±132.11) 个/ μ L,明显大于正常组 (303.47±104.59) 个/ μ L,同时其 CD8⁺ T 细胞计数 (1 089.27±436.39) 个/ μ L 则显著低于正常组 (1 376.18±684.28) 个/ μ L ($P<0.05$),而两组样本的 CD3⁺ T 细胞计数水平比较则差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 对于 HIV/AIDS 患者来说,部分出现溶血、凝血血液样本都会使 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞检测结果出现偏差。

关键词: HIV/AIDS 患者; 外周血状态; 血液样本检测; T 淋巴细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.07.034 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2017)07-0958-02

准确地检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数能够及时反映 HIV/AIDS 感染者的机体免疫状态,是临床判定 HIV/AIDS 感染者病程、病情发展、是否给予抗病毒治疗以及评价抗病毒治疗的重要指标^[1]。目前,应用流式细胞术对 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数进行检测的单位和医院越来越多,但由于条件的限制以及其他原因,采集的血液样本通常不能做到立即检测,血液样本一旦长时间放置未予以检测,血液样本则会出现凝血、溶血现象^[2-3],从而对 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数检测结果造成影响。本研究选择凝血、溶血样本与正常血液样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数测定结果进行对比性分析,以明确 HIV/AIDS 患者血液样本的质量控制对 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数测定结果的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1 月至 2016 年 3 月经海口市第三人民医院确诊并在该院进行住院治疗的 35 例 HIV/AIDS 患者作为研究对象,上述所有患者均经 Western blot 试剂检测确诊为 HIV 阳性,且均未接受过任何抗病毒治疗,其中男 21 例,女 14 例,患者年龄在 23~68 岁,平均 (42.47±5.18) 岁。研究开始前,首先经该院伦理委员会批准后,所有患者均在知情同意书上签字同意后开始实施。对上述 35 例患者均接受 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD8⁺ T 淋巴细胞计数检测,每例患者采集 3 份血样,每份血样约 5 mL,其中第一份直接注入 (EDTA-K₃) 抗凝管后混合均匀,为正常抗凝血样,作为正常组;第二份血氧首先注入普通采血试管,待血液出现部分凝固后缓慢倒入至 EDTA-K₃ 抗凝管后混合均匀,为部分凝固血样,作为凝血组;第 3 份直接注入至 EDTA-K₃ 抗凝管,待其完全抗凝后高速震荡 3~5 min,为部分溶血血样,作为溶血组。

1.2 仪器与试剂 仪器:FACSCanto 流式细胞仪(美国 BD 公

司生产);试剂:CD4 FITC、CD8 PE、CD3 preCP 三色荧光标记抗体(由美国 BD 公司提供)。

1.3 方法 将 3 组血液样本在采集后 24 h 内进行染色、裂解红细胞,应用美国 BD FACSCanto 流式细胞仪进行检测,选择 CD4 FITC、CD8 PE、CD3 preCP 三色荧光标记抗体(由美国 BD 公司提供)对单克隆抗体进行标记,同时配以绝对计数荧光微球。使用 MultiSET 软件对检测结果进行分析,从而获取 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞的绝对计数,每次检测均采用 IMMU-NOTROL 对整个全血检测的重复性和准确性进行质量控制。

1.4 统计学处理 本研究采用 SPSS20.0 对各组样本 T 细胞计数结果进行统计学比较,各组数据均为计量资料,均采用 $\bar{x}\pm s$ 的形式表示,组间比较则采用 t 检验进行,对比结果以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 凝血样本与正常样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞检测结果 凝血组样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数水平均显著低于正常组样本,两组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$),见表 1。

表 1 凝血样本与正常样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞检测结果比较 ($\bar{x}\pm s$, 个/ μ L)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ T 细胞计数	CD4 ⁺ T 细胞计数	CD8 ⁺ T 细胞计数
凝血组	35	1 316.55±678.54	303.47±104.59	927.64±421.62
正常组	35	1 946.83±737.59	456.21±126.34	1 376.18±684.28
<i>t</i>		3.720 5	5.509 4	3.301 6
<i>P</i>		0.000 4	0.000 0	0.001 5

2.2 溶血样本与正常样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞检测结果 溶血组样本的 CD4⁺T 细胞计数较正常组样本明显增加,而溶血组样本的 CD8⁺T 细胞计数则明显低于正常组,组间差异比较有统计学意义($P<0.05$),两组血液样本的 CD3⁺T 细胞计数水平比较并差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 溶血样本与正常样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞检测结果比较($\bar{x}\pm s$,个/ μ L)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ T 细胞计数	CD4 ⁺ T 细胞计数	CD8 ⁺ T 细胞计数
溶血组	35	1 704.27±588.45	523.16±132.11	1 089.27±436.39
正常组	35	1 946.83±737.59	456.21±126.34	1 376.18±684.28
<i>t</i>		1.520 8	2.166 8	2.091 4
<i>P</i>		0.132 9	0.033 8	0.040 2

3 讨 论

随着 HIV 感染的发生,HIV/AIDS 患者的 CD4⁺T 淋巴细胞遭受了不同程度上的损耗,其 CD4⁺T 淋巴细胞数目呈进行性减少^[4]。根据 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞的数目能够对 HIV 感染的发展做出较为客观的评判,因此,准确检测 HIV/AIDS 患者的 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞计数对于 HIV/AIDS 患者的临床用药、疗效评价及预后判断发挥着极其重要的作用。目前对 CD4⁺、CD8⁺等 T 淋巴细胞计数的检测主要采用流式细胞仪进行^[5-7],但由于检验人员对采血技术掌握不熟练、采血管不能达到要求以及采集血样后未能及时送检等众多因素的影响,送检至该院检验科的 HIV/AIDS 患者的血液样本经常出现溶血、凝血状况。本研究抽取了在我院进行住院治疗的 35 例 HIV/AIDS 患者的血液样本,通过人为造成部分血液样本和部分溶血样本,在同等条件下进行上机检测,并与正常抗凝的血液样本进行对比性分析,以了解在同等条件下,溶血及凝血样本对 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞检测结果的影响。

据相关调查发现,绝大多数的血液样本溶血的发生是由于采集血液样本时血液注入试管的速度较快^[8]。本研究结果显示,部分溶血的血液样本的 CD4⁺T 细胞计数水平明显高于正常抗凝的血液样本,同时其 CD8⁺T 细胞计数水平则显著低于正常抗凝的血液样本,血液标本发生溶血时对 HIV/AIDS 患者的 CD4⁺以及 CD8⁺T 细胞检测结果有明显影响。在本研究中,溶血样本的 CD3⁺T 细胞计数与正常抗凝血液样本比较并未见明显差异,这可能是由于溶血血液样本增加的 CD4⁺T 细胞数目与减少的 CD8⁺T 细胞数目互相抵消有关^[9-10]。

通过分析发现,造成血液样本出现凝血状况的原因有:(1)采集血样时间较长,血液在注射器内已发生凝固;(2)血液样本加入抗凝管后并未与抗凝剂混合均匀^[11],导致部分血样发生凝固;(3)注入抗凝管的血液样本过多,抗凝剂过少或抗凝剂过期失效等^[12-14]。本研究结果发现,部分凝血的血液样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞计数水平平均明显低于给予正常抗凝操作的血液样本。

从本研究结果可以看出,凝血、溶血样本与正常血液样本的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞计数测定结果存在一定差异,采用不合格的血液样本进行检测,检测结果与真实结果存在极大误差,对临床评判 HIV/AIDS 感染的病情发展和抗感染疗效造成较大影响^[15]。因此,在临床检测过程中要加强检验人员的责任心,在采集血液过程中严格掌握各种注意事项,尽可能排除对检测结果有干扰的因素,使血液样本采集能够规范化进行,以确保检测结果的准确性和可靠性。

参考文献

[1] 李洋,曾吉,叶景荣,等. 2013 年北京市新发现 HIV/AIDS 病人首次 CD4⁺T 淋巴细胞检测状况及影响因素[J]. 中国艾滋病性病,2015,21(2):103-106.

[2] 冯倩,任伟宏,仝岩,等. HIV/AIDS 患者外周血 CD4⁺T 细胞亚群及中性粒细胞 CD64 的变化及临床意义[J]. 免疫学杂志,2015,31(7):595-598,607.

[3] 杨坤,黄新宝. 2005-2013 年贵港市无偿献血者血液检测不合格结果分析[J]. 中国输血杂志,2014,27(6):636-637.

[4] 董婷,彭琳,何勤英,等. HIV 感染者/AIDS 患者接受高效抗逆转录病毒治疗后 CD4⁺T 细胞计数长期变化趋势[J]. 中华疾病控制杂志,2015,19(9):913-917.

[5] 王万海,明亮,阚全程. 人免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)感染者 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2016,32(5):699-702.

[6] 裴丽健,张辉,梁君,等. 国产流式 T 淋巴细胞检测试剂的精确性和准确性研究[J]. 中国艾滋病性病,2016,22(10):779-782.

[7] Xie J, Qiu Z, Han Y, et al. The correlation between HLA-DR or CD38 expression in CD8⁺T cells and CD4⁺T cells count in treatment-naive HIV/AIDS patients[J]. Zhong-hua Nei Ke Za Zhi, 2016, 55(1):36-39.

[8] 朱晓娟,吴晓芳,徐德顺,等. HIV/AIDS 病人 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞检测结果与标本存放时间的相关性研究[J]. 中国艾滋病性病,2014,20(12):937-938.

[9] 邱涛,丁萍,刘晓燕,等. 江苏省 HIV 感染者和艾滋病患者抗病毒治疗 1 年后 CD4⁺T 淋巴细胞检测结果分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(3):425-429.

[10] 陈岚,金静芬. 留置静脉针联合采血器采血标本溶血相关因素的研究[J]. 中华护理杂志,2014,49(6):739-742.

[11] 袁小玲,吴立炯,杨卫红,等. 宜春市非检测因素引起血液报废原因分析及对策[J]. 中国输血杂志,2014,27(8):865-867.

[12] Mummert C, Hofmann C, Huckelhoven A, et al. T-cell receptor transfer for boosting HIV-1-specific T-cell immunity in HIV-1-infected patients[J]. Int J Med Microbiol, 2013, 303(01):23-24.

[13] 李强,李杰,桑锋,等. HIV 感染者和 AIDS 患者外周血 T 淋巴细胞活化亚群与病毒载量的相关性[J]. 中国全科医学,2016,19(8):869-872.

[14] Jiang H, Zhu Q, Lan G, et al. Analysis on dynamic variations of CD4-Positive T-Lymphocytes counts and influencing factors among patients receiving highly active antiretroviral therapy in Guangxi Zhuang autonomous region[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2015, 36(10):1125-1128.

[15] 张亚兰,郑海潮,卫晓丽,等. 标本的凝血和溶血对 HIV/AIDS 患者外周血 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞计数的影响[J]. 中国卫生检验杂志,2015,25(20):3531-3533.