

3 讨 论

近年来,随着全自动免疫分析仪的普及,很大程度上减轻了工作人员的工作强度,达到加样、洗涤、分析的标准化,减少了人为误差,提高了检测的灵敏度。目前,国内检验科还较多采用加样针的免疫分析仪从事传染性疾病的检测,高浓度抗体导致酶免分析仪携带污染已多见报道^[1-5]。但化学发光分析仪携带污染的报道尚少^[6-7]。本院使用的化学发光仪是一款采用 4 根吸样针进行标准品吸取、加样、分配试剂,用 detergent-90 作为系统冲洗液的仪器,本院曾发现 1 例高浓度 HCV、HIV 同时阳性并导致携带污染的情况^[7]。之后,又发现在乙型肝炎两对半检测时,高浓度 HBsAg,尤其“大三阳”标本对其后的结果产生影响甚至出现假阳性。为此,本研究收集“大三阳”标本,设计试验,对携带污染进行分析。结果发现所有“大三阳”标本对其后的标本均有一定程度的污染,但被污染标本的 HBsAg 测定值与“大三阳”标本的 HBsAg 水平无相关关系;16.67%的“大三阳”标本导致其后测定结果出现假阳性,但分析认为是否能导致假阳性与 HBsAg 的水平无关。所以笔者推测,导致携带污染的程度可能与血清的黏度有关,有文献报道 HBV DNA 阳性乙型肝炎患者的血浆黏度明显增高^[8]。

正常情况下,由于加样针内外壁均镀一层聚四氟乙烯(TEFLON)——一种吸附性比较弱的化学惰性物质来保障吸样后内外壁最低的吸附,防止污染,使交叉污染率小于 10^{-6} ^[9]。但“大三阳”标本 HBsAg 为 $(81\ 171.14 \pm 47\ 749.15)$ ng/mL,有相当部分标本 HBsAg $> 10^{-6}$ 。鉴于“大三阳”标本携带污染导致的假阳性率高,这提示在用化学发光仪进行乙型肝炎两对半检测时,要关注“大三阳”之后标本的结果,对于可疑、少见模式、HBsAg 弱阳性的结果要进行分析,并进行复检。另外,要做好仪器的日常保养,保证管道系统的通畅,根据实验耗时情况尽可能加大吸样针的冲洗时间和力度。建议改用惰性液做系统冲洗液以减少携带污染的情况^[10],尽可能减少由

• 个案与短篇 •

于携带污染而导致假阳性结果的出现。

参考文献

- [1] 朱金平,方丽婉,张莉.全自动酶标加样仪的携带污染分析[J].中国输血杂志,2015,28(8):914-915.
- [2] 林丽文,吕慧.关于全自动酶联免疫分析仪的携带污染分析[J].临床医学研究与实践,2016,1(13):81.
- [3] 王永胜.关于全自动酶联免疫分析仪加样携带污染的探讨[J].检验医学与临床,2011,8(16):2029.
- [4] 夏挺,胡伟,毕永春.高浓度抗 HIV 抗体阳性标本致跨板携带污染 1 例[J].临床检验杂志,2012,30(1):77.
- [5] 田真辉,张金栓,宋丽娟.高浓度梅毒抗体标本导致携带污染的分析[J].宁夏医学杂志,2008,30(12):1155-1156.
- [6] 焦玉东,张猛. IMMULITE 全自动化学发光免疫分析仪探针携带污染率的探讨[J].放射免疫学杂志,2007,20(4):374-375.
- [7] 魏寿忠,阮琳玲,刘光惠.高浓度人类免疫缺陷病毒抗体阳性及丙型肝炎病毒抗体阳性致全自动化学发光免疫分析仪探针携带污染 1 例[J].检验医学与临床,2014,11(4):574-575.
- [8] 杨燕,王凯,韩利岩,等.慢性乙型肝炎患者血液流变学的研究[J].中华实验和临床病毒学杂志 2005,19(1):61-63.
- [9] 陶义训,吴文俊.现代医学检验仪器导论[M].上海:上海科技出版社,2002:137.
- [10] 顾光煜,张葵.临床化学自动分析的携带污染和解除[J].临床检验杂志,2007,25(6):401-403.

(收稿日期:2017-02-02 修回日期:2017-04-07)

淋巴细胞亚群分析在慢性肾脏病分期中的作用

王汉敏¹,赵 妍¹,韩四萍²

(湖北省中医院/湖北中医药研究院:1.检验科;2.肾内科,武汉 430061)

关键词:慢性肾脏病分期; 淋巴细胞亚群; 肾小球滤过率; 免疫功能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.15.065

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2017)15-2172-03

淋巴细胞是构成免疫系统和执行免疫功能的主要细胞群体,进行淋巴细胞亚群分析对于了解机体免疫功能状态有重要意义^[1]。淋巴细胞亚群包括总 T 淋巴细胞(CD3⁺),T 辅助细胞(CD3⁺/CD4⁺),T 抑制细胞(CD3⁺/CD8⁺),B 淋巴细胞,自然杀伤(NK)细胞等。本文通过比较不同慢性肾脏病(CKD)分期患者的淋巴细胞亚群水平,旨在了解淋巴细胞亚群分析在监测 CKD 患者免疫状态中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 2 月至 2016 年 10 月湖北省中医院肾病门诊规律随访和住院 CKD 患者 209 例纳入研究组,符合下列要求:(1)年龄在 18~74 岁的 CKD 患者;(2)符合 2012 年改善全球肾脏病预后组织(KDIGO)关于 CKD 定义的标准^[2],运用美国慢性肾脏病流行病合作工作组(CKD-EPI)新开发的 CKD-EPI 方程^[3]估算肾小球滤过率(eGFR)。根据 KDIGO 关于 CKD 定义的标准,对 CKD 分期。CKD I 期:肾损伤,GFR

正常或亢进,eGFR ≥ 90 mL/(min $\cdot$ 1.73 m²);CKD II 期:eGFR 为 60~90 mL/(min $\cdot$ 1.73 m²);CKD III 期:eGFR 为 30~60 mL/(min $\cdot$ 1.73 m²);CKD IV 期:eGFR 为 15~30 mL/(min $\cdot$ 1.73 m²);CKD V 期:eGFR < 15 mL/(min $\cdot$ 1.73 m²)。纳入本研究的患者共 209 例,其中男 95 例,平均(51.9 $\pm$ 13.3)岁,女 114 例,平均(49.1 $\pm$ 11.8)岁。CKD I 期 98 例,CKD II 期 25 例,CKD III 期 30 例,CKD IV 期 35 例,CKD V 期 21 例。同时选取体检中心体检健康的成年人 20 例纳入对照组,其中男 10 例,女 10 例,平均(42.2 $\pm$ 12.5)岁。

1.2 方法 采集患者空腹静脉血标本 3 mL,用 Roche Modular P800 全自动生化仪采用肌酐酶比色法检测患者血清肌酐(Cr),使用 CKD-EPI 方程估算 eGFR。用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝采集患者空腹静脉血 2 mL,用美国 BD 公司的 FAC-SCalibur 流式细胞仪,采用流式细胞术测定总 T 淋巴细胞、T 辅助细胞、T 抑制细胞、B 淋巴细胞和 NK 细胞。

1.3 统计学处理 呈正态分布、方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,2 组间比较采用 SNK-*q* 检验,相关分析采用 Pearson 相关, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同分期 CKD 患者淋巴细胞亚群水平比较 CKD 各期患者 CD3⁺、CD4⁺ 细胞与对照组比较均有不同程度下降,其中 CKD Ⅲ、CKD Ⅵ期患者 CD3⁺ 细胞明显低于对照组,CKD Ⅲ

期患者 CD4⁺ 明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。CKD Ⅳ、Ⅵ期患者 NK 细胞明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。在 209 例 CKD 患者中 CD4⁺/CD8⁺ > 2.5 有 15 例,占 7.1%,CD4⁺/CD8⁺ < 1.0 有 66 例,占 31.6%。

表 1 不同分期 CKD 患者淋巴细胞亚群水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	B(%)	NK(%)
对照组	20	72.3±9.9	42.1±11.6	27.4±7.26	1.69±0.80	14.6±9.0	11.4±6.3
研究组	209						
CKD Ⅰ期	98	73.0±15.5	38.0±11.8	32.2±12.7	1.40±0.80	13.5±13.1	11.8±9.5
CKD Ⅱ期	25	75.0±9.5	39.7±12.2	32.4±14.5	1.63±1.12	9.0±5.3	13.7±9.3
CKD Ⅲ期	30	64.3±17.1*	33.2±13.9*	28.5±11.3	1.68±2.43	16.9±17.0	16.7±11.3
CKD Ⅳ期	35	64.2±14.5*	37.4±9.4	24.4±13.8	1.94±0.96	10.5±4.0	23.2±13.4*
CKD Ⅵ期	21	66.4±11.6	37.5±8.9	26.6±12	1.77±0.96	11.0±4.8	18.7±10.2*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.2 eGFR 与淋巴细胞亚群的相关性 CD4⁺/CD8⁺、NK 与 eGFR 呈负相关,CD3⁺、CD8⁺ 与 eGFR 呈正相关。见表 2。

表 2 eGFR 与淋巴细胞亚群的相关性

参数	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	B	NK
<i>r</i>	-0.152	0.270	0.094	0.201	0.02	-0.359
<i>P</i>	0.028	0.000	0.200	0.004	0.7461	0.000

3 讨 论

淋巴细胞是白细胞的一种。由淋巴器官产生,是机体免疫应答功能的重要细胞成分,是免疫反应和免疫调节的基础,在免疫调节中起重要作用^[4-5]。淋巴细胞功能的异常将导致一系列免疫功能的异常。淋巴细胞包括 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞等亚类,分别介导机体的细胞免疫、体液免疫,以及对肿瘤细胞和病毒感染细胞的杀伤作用等免疫学功能^[6-7]。淋巴细胞亚群的检测是判断机体免疫功能的重要指标,有助于疾病的鉴别诊断^[8-10]。

目前,细胞免疫和体液免疫在肾炎发病机理中的作用已得到公认。CKD 患者存在免疫功能缺陷,淋巴细胞总数下降,免疫反应削弱^[11],临床表现为易感性增加,肿瘤发生率高,对肝炎、流感等病毒疫苗反应性低等^[12]。

本研究通过对 CKD 患者的淋巴细胞亚群分析发现,CKD Ⅰ、Ⅱ期患者存在 T 细胞功能紊乱,表现在 T 抑制细胞数目增多、功能增强,T 细胞活化可能在疾病早期起启动作用。CKD 各期患者 T 辅助细胞细胞呈下降趋势,以 CKD Ⅲ期下降尤为明显($P < 0.05$),导致 T 淋巴细胞总数降低,患者细胞免疫功能下降。其机制可能与毒性物质储留、脂质代谢紊乱、营养不良有关。本研究发现,CKD 各组 NK 细胞均有不同程度升高,且 CKD Ⅳ、Ⅵ期升高明显($P < 0.05$),这可能与随着 CKD 肾功能的恶化,免疫功能紊乱进一步加重有关。虽然各组外周血 CD4⁺/CD8⁺ 与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),但约有 7.1% 的 CKD 患者细胞免疫功能处于过度活跃状态,约有 31.6% 的 CKD 患者细胞免疫功能处于免疫抑制状态,说明 CKD 患者存在免疫激活和免疫抑制并存的状态。另外 CD4⁺/CD8⁺、NK 细胞与 eGFR 呈负相关,T 淋巴细胞、T 抑制细胞与 eGFR 呈显著正相关。

综上所述,本研究结果提示 CKD 患者外周血淋巴细胞亚群水平与 CKD 分期有密切关系。随着肾病的进展,T 辅助细

胞、T 淋巴细胞呈下降趋势,且在进入 CKD Ⅲ期后表现明显,免疫功能异常和 CKD 进展密切相关。NK 细胞百分比随着肾功能的减退而明显上升。因此,淋巴细胞亚群分析对评估 CKD 患者免疫状态有重要意义,监测该指标可能对肾脏病的进展、并发症的发生有预测作用。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T360-2011 流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群指南[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,2011: 11-14.

[2] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease [J]. Kidney Int,2012,2(2)3:5-6.

[3] Levey AS,Stevens LA,Schmid CH,et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate[J]. Ann Intern Med, 2009,150(9):604-612.

[4] Fogo AB. Mechanisms of progression of chronic kidney disease[J]. Pediatric Nephrology, 2007, 22 (12): 2011-2022.

[5] 方均燕,张薇. 慢性肾病免疫功能的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志,2009,29(3):388-391.

[6] 陈烨. 流式细胞术检测 T 细胞亚群在 2 型糖尿病及糖尿病肾病患者中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33 (4):491-492.

[7] 张林娟,王琳,翟小琳,等. 肾小球肾炎患者血清自由基与免疫指标检测的临床分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016,26(15):3431-3432.

[8] 钟琼,刘尧娟,欧超伟,等. 慢性肾功能衰竭患者血清腺苷脱氨酶活性与淋巴细胞亚群的关系[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7):625-626.

[9] 龙腾翔,叶琨. 特发性膜性肾病外周血淋巴细胞亚群的免疫学研究进展[J]. 中国临床新医学,2016,9(5):449-452.

[10] 顾凤娟,刘新华,热衣汗·西里普,等. 肾移植患者急性排斥反应中 T 淋巴细胞亚群的作用研究[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2015,8(21):42-45.

[11] 鲍蕴文,张智贤,欧敏华. T 淋巴细胞亚群在原发性肾病综合征发病中的意义[J]. 医学信息, 2015, 29(35):51.

[12] 马东红,郭明好,许清玉,等. 原发性膜性肾病患者外周血淋巴细胞亚群的变化及其与蛋白尿的关系[J]. 检验医学 • 个案与短篇 •

与临床, 2015, 12(1):55-57.

(收稿日期:2017-02-12 修回日期:2017-04-21)

降低不规则抗体对输血安全影响的相关性分析

何 杜,周 颢,阳 勇
(湘潭市一医院输血科,湖南湘潭 411101)

关键词:不规则抗体筛查; 抗原表型确认; 交叉配血
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 15. 066 文献标识码:C 文章编号:1673-4130(2017)15-2174-02

随着输血医学的发展,人们逐渐认识到血型不规则抗体对输血安全和输血疗效所产生的影响,其不仅干扰 ABO 血型的鉴定,还可引起溶血性输血不良反应的发生和输注无效^[1]。因此,对有输血史、妊娠史及短时间内需要反复输血患者常规做不规则抗体筛查,可以有效降低输血不良反应的发生。以下是本院 2015 年 1 月至 2016 年 6 月 6 875 例不规则抗体筛查及阳性标本的交叉配血结果统计分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 1 月至 2016 年 6 月住院输血患者 6 875 例(以住院号统计,同一住院号多次住院按 1 例计算),其中男 3 358 例,女 3 517 例,采集输血前乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝标本 2~3 mL。

1.2 仪器与试剂 微电脑控制离心机(BaSo 2005-2)及凝聚胺均为台湾 BaSo 公司产品;血型血清学多用离心机(TD-3A)、37℃免疫微柱孵育器(FYQ 型)为长春博研公司产品;不规则抗体筛查细胞、抗体鉴定谱细胞、抗-C、抗-c、抗-E、抗-e、抗-M、抗-Jka、抗-Lea、抗-Leb 及抗人球蛋白微柱凝胶卡均为上海血液生物公司产品。

1.3 检测方法

1.3.1 不规则抗体筛查 将 I、II、III 号筛选细胞分别用低离子液稀释至 0.8%,患者 EDTA 抗凝标本离心分离血浆与红细胞,分别吸取 0.8%浓度的 I、II、III 号细胞悬液 50 μL 加入抗人球微柱凝胶卡,每孔加入分离血浆 50 μL。

1.3.2 不规则抗体鉴定 将 1~10 号谱细胞及自身细胞采用低离子溶液稀释至 0.8%浓度细胞悬液,分别吸取 50 μL 加至对应抗人球微柱凝胶卡,每孔加入经抗体筛查为阳性患者的 EDTA 抗凝血浆 50 μL。

1.3.3 交叉配血 对已经确定抗体特异性的标本,随机找 ABO、Rh(D)同型血液用盐水、凝聚胺、微柱凝胶卡 3 种方法做交叉配血。(1)盐水法:主侧加入患者 EDTA 抗凝血浆 2 滴和供者 3%~5%红细胞悬液 1 滴,次测加入供者血浆 2 滴和患者 3%~5%红细胞悬液 1 滴,1 000×g 离心力离心 10 s 后观察结果。(2)凝聚胺法:在盐水法阴性的基础上加入低离子介质(LIM)0.7 mL,混匀后加入 Polybrene 液 2 滴,混匀后以 1 000 r/m² 离心力离心 10 s,倾倒入清液后加入 Resuspnding 液 2 滴,轻轻摇动试管,在 1 min 内观察结果。(3)微柱凝胶卡式法:主侧加入供者经低离子溶液稀释的 0.8%红细胞悬液 50 μL 和受者血浆 50 μL,次侧加入受者经低离子溶液稀释的 0.8%红细胞悬液 50 μL 和供者血浆 50 μL。

1.3.4 交叉配血阴性确认 对 3 种方法配血结果均阴性的供者血液,做患者不规则抗体对应抗原的表型确认,以不含有对应抗原为最终配血结果阴性。

1.3.5 结果判断 以上实验均按说明书操作,微柱凝胶卡式法采用 37℃孵育 15 min,900 r/min 离心 2 min 后转至 1 500 r/min 离心 3 min,依据《全国临床检验操作规程》^[2],红细胞沉于管底为阴性,红细胞悬浮于凝胶中或凝胶表面为阳性;不规则抗体鉴定:在自身对照阴性的前提下,根据谱细胞格局,结合患者抗原表型确定不规则抗体特异性;盐水法和凝聚胺法以肉眼无凝集,镜下红细胞呈游离状态判断为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,不规则抗体阳性率、抗体特异性以百分数(%)表示;不同性别不规则抗体检出率比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不规则抗体筛查结果 6 875 例患者中筛查出不规则抗体阳性 32 例,其中有 3 例女性患者否认输血史和妊娠史,2 例男性患者否认输血史,其余均有输血史和(或)妊娠史,见表 1。

表 1 不规则抗体筛查阳性检出率及不同性别阳性率

性别	<i>n</i>	阳性例数 (<i>n</i>)	不规则抗体 检出率(%)	阳性构成比 [%(<i>n</i> / <i>n</i>)]
男性	3 358	12	0.36	37.5(12/32)
女性	3 517	20	0.57	62.5(20/32)
合计	6 875	32	0.47	100.0(32/32)

2.2 不规则抗体鉴定结果 32 例阳性标本中鉴定出抗体特异性并经已知抗体确认无对应抗原 25 例,自身抗体 3 例,未确定抗体特异性 4 例,见表 2。

表 2 32 例阳性标本的不规则抗体特异性分布[%(*n*)]

抗体名称	例数及构成比
抗-E	8(25.0)
抗-Ec	5(15.6)
抗-Ce	1(3.1)
抗-C	1(3.1)
抗-M	6(18.8)
抗-Jka	1(3.1)
抗-Lea	1(3.1)
抗-Leb	2(6.3)
自身抗体	3(9.4)
未确定特异性	4(12.5)

2.3 交叉配血阴性确认结果 25 袋经 3 种方法配血均阴性的供者血液,经特异性抗体确认有 22 袋不含有对应抗原,最终结果为阴性,有 2 例抗-E 和 1 例抗-Jka 配血阴性的供者红细胞有含有抗体对应的 E 抗原和 Jka 抗原,确认为交叉配血结果