

有重要意义。

ELISA 抗-HCV 检测是目前国内筛查 HCV 感染的主要方法^[3],该测定虽有良好的特异性,但由于干扰因素太多,如不同厂家试剂所使用的 HCV 抗原来源、质量及包被浓度差异可能会导致假阴性或假阳性反应的出现。李金明^[4]认为,ELISA 抗-HCV 检测结果处于灰区的标本均应确认。但国内外不同厂家的抗-HCV ELISA 试剂盒对弱阳性标本的检测结果差异较大,假阴性率从 25.0%~82.1%不等^[5],造成漏检的风险较高。本研究检测的 95 份抗-HCV 初筛处于灰区的标本中,PR-PCR 定量确认阳性的只有 27 份。其中阴性灰区(S/CO<1.0)的 13 份标本 PR-PCR 确认 2 份,说明 ELISA 阴性灰区中存在着一定数量的假阴性结果,假阴性率 15.4%(2/13)远低于文献报道,究其原因,可能因为本次试验使用了两种试剂进行筛选,避免了由于试剂的不同而造成的漏检。如何减少抗-HCV ELISA 检测的漏检,最大限度地减少 MHD 患者之间的院内感染,谷金莲等^[6]研究认为,对于 0.5<S/CO<1.0 的高值阴性标本应注意是否为假阴性,必要时做确认试验或 HCV-RNA 检测。假阴性结果又可导致输血性感染,究其原因,主要是由于 ELISA 本身的局限性,而使部分“窗口期”的 HCV 感染者漏检。另外,由于 HCV 抗体检测试剂本身存在相当数量的临界值结果,给结果判断造成一定困难。对长期 MHD 患者,由于免疫低下或抑制造成检测结果 S/CO 值落在灰区的可能性更大,HCV 感染漏检风险也大;阳性灰区(S/CO>1.0)的 82 份标本,PR-PCR 确认阳性 25 份,阴性 57 份。表明 ELISA 阳性灰区中还存在着相当数量的假阳性标本。美国疾病预防控制中心曾对 Abbott HCV ELISA2.0 及 Ortho3.0 试剂盒进行研究,发现初筛检测反应性标本 S/CO≥3.8 的有 95% 以上是真阳性,S/CO≤3.8 者则有较高的假阳性率,尤其在抗-HCV 阳性率低于 10% 的各类人群中,假阳性率平均为 35%^[7]。

• 临床研究 •

川崎病患儿外周血淋巴细胞亚群变化及临床意义

祝 绚,王雪梅,刘成桂,曹登成

(成都市妇女儿童中心医院,四川成都 610091)

摘 要:目的 通过检测川崎病(KD)患儿不同阶段外周血中淋巴细胞亚群绝对值的变化,分析其临床意义。方法 采用流式细胞术分别检测 31 例 KD 急性期(急性期组),30 例 KD 恢复期患儿(恢复期组)和 35 例健康儿童(对照组)外周血中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺ 和 CD56⁺ 水平,并对结果进行比较。结果 急性期组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 明显低于对照组,CD19⁺ 明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);恢复期组 CD3⁺、CD8⁺ 明显低于对照组,CD19⁺ 明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);恢复期组 CD3⁺、CD8⁺ 明显高于急性期,CD19⁺ 明显低于急性期,差异具有统计学意义($P<0.05$);CD4⁺/CD8⁺ 和 CD56⁺ 在三组间差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 检测淋巴细胞亚群对评估 KD 患儿免疫状况、诊断和治疗具有重要的临床价值。

关键词:川崎病; 淋巴细胞亚群; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.10.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)10-1393-03

川崎病(KD)是一种急性、自限性全身血管炎性疾病,1967 年首次被日本川崎富所报道,好发于 6 个月至 5 岁的婴幼儿,临床表现为高烧、皮疹、淋巴结肿大和结膜充血,其发病机制尚不明确^[1]。川崎病可引起免疫紊乱,累及冠状动脉,诱发心血管疾病和后天性心脏病等严重后遗症,是导致婴幼儿死亡的重要因素之一。随着发病率的日益增长,长期以来 KD 缺乏特异、有效的诊断方法^[2]。本文通过对 KD 患儿急性期、恢复期外周血淋巴细胞亚群的测定,并和正常儿童进行比较,评估

以上种种表明,MHD 患者抗-HCV ELISA 检测灰区标本确证非常必要。在临床工作中,通常将抗 HCV 筛查阳性者,才行 HCV-RNA 检测,无疑很大程度上可能漏检了一部分处于血清转换期的 HCV 感染者,而给其他透析患者带来了很大的风险。同样,以 ELISA S/CO≥1.0 作为 HCV 阳性结果并作为判断 HCV 是否感染的依据,其误诊的后果将会造成患者及家属沉重的经济负担和不必要的心理压力。

参考文献

- [1] 韩呈武,于雪莹.维持性血液透析患者丙型肝炎病毒血清学及核酸的检测与评估[J].现代检验医学杂志,2008,23(3):81-83.
- [2] 张红,张丽敏,张炳华,等.2009~2013 年医院感染丙型肝炎暴发流行调查分析[J].中华医院感染学杂志,2014,24(10):2503-2504.
- [3] Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L, et al. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention [J]. MMWR Recomm Rep, 2003, 52(RR-3):1-13.
- [4] 李金明.感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):577-580.
- [5] 李金明.临床酶联免疫测定技术[M].北京:人民军医出版社,2006.
- [6] 谷金莲,祁自柏,王尊文,等.丙型肝炎病毒抗体试剂检测结果的可信度分析[J].中华检验医学杂志,2005,28(6):580-583.
- [7] Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, et al. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study[J]. N Engl J Med, 1996, 334(2):319-325.

(收稿日期:2016-01-15)

KD 患儿免疫功能变化,为临床对 KD 诊断、治疗和预后提供一定帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1 月至 2014 年 12 月本院儿科收治的 KD 患儿 61 例,其中男 39 例,女 22 例,年龄 5 个月至 8 岁,平均(4.1±1.3)岁。采用 2002 年日本川崎病研究委员会第 5 次修订的诊断标准^[3],按病程将 61 例 KD 患儿分为急性期组(病程 10 d 内未经治疗)和恢复期组(病程 21~28 d),急

性期组 31 例,恢复期组 30 例;对照组 35 例为同期门诊健康体检儿童,两组性别和年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 分别于急性期和治疗恢复期检测外周血淋巴细胞亚群。

1.3 仪器和试剂 采用美国 BECKMAN COULTER 公司 CYTOMICS FC 500 流式细胞仪检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺ 和 CD56⁺ 水平。试剂盒由美国 BECKMAN COULTER 公司提供,严格按照操作说明进行。

1.4 统计学处理 运用 SPSS13.0 统计学软件对实验数据进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,三组间淋巴细胞亚群水平

比较采用方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

研究结果显示,急性期组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 明显低于对照组,CD19⁺ 明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);恢复期组 CD3⁺、CD8⁺ 明显低于对照组,CD19⁺ 明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);恢复期组 CD3⁺、CD8⁺ 明显高于急性期,CD19⁺ 明显低于急性期,差异具有统计学意义($P<0.05$);CD4⁺/CD8⁺ 和 CD56⁺ 在三组中差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 外周血细胞亚群比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4/CD8 ⁺	CD19 ⁺	CD56 ⁺
急性期组	31	48.68±0.76 [*]	28.71±1.16 [*]	18.03±0.73 [*]	1.76±0.16	32.98±1.51 [*]	12.61±0.90
恢复期组	30	58.60±0.59 ^{*△}	32.20±1.13	21.77±0.76 ^{*△}	1.59±0.13	26.17±1.02 ^{*△}	12.04±0.78
对照组	35	64.83±0.74	33.11±1.19	26.11±1.97	1.37±0.09	17.91±0.90	13.51±1.12

^{*}: $P<0.05$,与对照组比较;[△]: $P<0.05$,与急性期组比较。

3 讨 论

川崎病是一种以高烧、皮疹、黏膜炎、淋巴结肿大伴冠状动脉损害和免疫紊乱为特征的婴幼儿急性血管炎,可诱发冠状动脉扩张、心肌炎、后天性心脏病等严重并发症,是威胁婴幼儿健康的重要疾病之一。日本和美国做了大量流行病学调查发现,发病率呈逐年上升趋势,但其发病机制至今尚未清楚,也没有特异性的检测手段^[2,4],这对 KD 患儿的疾病诊断、病程评估、治疗和预后造成一定困扰。

川崎病的早诊断、早治疗对减少川崎病及其并发症具有重要意义。虽然川崎病的发病机制尚不清楚,但很多研究都显示 KD 发病与淋巴细胞感染密切相关。近年研究发现,病毒、细菌、超抗原、遗传因素等都可能参与了 KD 的病理机制^[1]。Burns 等^[4]认为,KD 患儿的血管炎和免疫紊乱可能与亲淋巴细胞性病毒同时对内皮细胞和淋巴样细胞存在亲和性有关。通过检测 KD 患儿和健康儿童外周血单个核细胞培养的上清液颗粒部分发现,KD 患儿的外周血单个核细胞上清液颗粒部分有逆转录病毒活化,而这种逆转录病毒的活化传达到固定的 T 细胞系,从而证明了 KD 与淋巴细胞的外源感染有关。丙种球蛋白是目前治疗 KD 的主要方法之一^[2],其作用机制可能与延缓了淋巴细胞的凋亡时间,降低了淋巴细胞凋亡比例和 DNA 片段有关,提示 KD 与自身免疫性疾病和无功能淋巴细胞凋亡相关^[5]。而 Lee 等^[6]的研究表明,免疫球蛋白和阿司匹林联合治疗组的患者比单独用阿司匹林治疗组的患者 CD4⁺、CD8⁺ 和 T 细胞总数上升更明显,B 细胞下降更明显,认为丙种球蛋白对 KD 患儿的治疗可修复 T、B 细胞的紊乱,特别是 B 细胞的紊乱。因此,外周血淋巴细胞水平变化与 KD 患儿病程发展密切相关,不容忽视。

淋巴细胞是机体免疫系统功能中最重要的细胞群,是反映机体免疫状态的重要指标。当淋巴细胞亚群的数量和功能发生异常或变化时,就会导致机体免疫紊乱并产生病理变化,尤其是 T 淋巴细胞以及 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 的数量和相对比值的变化在免疫系统中占主导地位^[7]。本研究结果显示,KD 急性期与恢复期 CD3⁺、CD8⁺ 明显低于正常组,CD19⁺ 明显高于对照组。CD3⁺ 的降低说明了 T 淋巴细胞总数的减少导致了 KD 患儿 T 细胞的异常,免疫应答使机

体免疫系统处于失衡状态,特别是 CD8⁺ 的明显减少,提示作为 Ts 细胞减少可能导致机体免疫系统的过度激活,引起细胞免疫的紊乱。另一方面,Th 细胞和 Ts 比例在机体正常情况下维持一个相对平衡状态,一旦这个平衡打破,机体免疫系统也会出现紊乱。虽然三组中 CD4⁺/CD8⁺ 的差异无统计学意义($P>0.05$),但在急性期 CD4⁺ 是明显低于正常组,到了恢复期 CD4⁺ 与正常组并无差别,说明 CD4⁺ 降低的速度相对 CD8⁺ 速度慢,说明 Th 细胞相对 Ts 细胞增加,B 细胞的激活又依赖于 Th 细胞和 Ts 细胞的调节,CD19⁺ 的明显增高可能与 Ts 的减少伴有 Th 的增加有关,从而造成 B 细胞抑制降低,活化增加,导致 B 淋巴细胞功能亢进,并产生大量抗体,使得患儿的体液免疫发生紊乱。此外,处于恢复期的患儿 CD3⁺、CD8⁺ 明显高于急性期,CD4⁺ 恢复到正常,CD19⁺ 也明显降低,说明细胞免疫和体液免疫的紊乱无论在 T 淋巴细胞总数,还是 Th/Ts 细胞的比例以及 B 淋巴细胞的总数在恢复期都处于一个逐渐修复平衡的状态,这对病程的判断和治疗有重要意义。

综上所述,动态检测淋巴细胞亚群对评估患儿的免疫状况、病理进程、疗效和预后有一定的帮助。

参考文献

[1] Ashrafi AH, Wang J, Stockwell CA, et al. Kawasaki disease: four case reports of cardiopathy with an institutional and literature review[J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2007, 10(6): 491-499.

[2] Pinna G, Kafetzis D, Tselkas O, et al. Kawasaki disease: an overview[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2008, 21(3): 263-270.

[3] Levison ME, Thomas M, Pallasch J, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a statement for health professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association[J]. *Pediatrics*, 2004, 114(6): 1708-1733.

[4] Burns JC, Geha RS, Schneeberger EE, et al. Polymerase activity in lymphocyte culture supernatants from patients with Kawasaki disease[J]. *Nature*, 1986, 323(6091): 814-816.

[5] Yi QJ, Li CR, Yang XQ. Effect of intravenous immunoglobulin on inhibiting peripheral blood lymphocyte apoptosis in acute Kawasaki

ki disease[J]. Acta Paediatr, 2001, 90(6): 623-627.

[6] Lee HK, Kim DS, Noh GW, et al. Effects of intravenous immune globulin on the peripheral lymphocyte phenotypes in Kawasaki disease[J]. Yonsei Med J, 1996, 37(5): 357-363.

[7] Santana MA, Esquivel-Guadarrama F. Cell biology of T cell activation and differentiation[J]. Int Rev Cytol, 2006, 250(250): 217-274.

(收稿日期: 2016-01-23)

• 临床研究 •

4 项肾小球滤过功能检测指标在肾功能不全中的临床应用分析

张兴宗, 林 云, 邹映东, 张清文
(云南省中医医院检验科, 云南昆明 650021)

摘 要:目的 通过对 4 项肾小球滤过功能生化检测指标进行统计分析, 探讨其测定在肾功能不全中的临床应用。方法 收集同时检测内生肌酐清除率(Ccr)、血清胱抑素 C(CysC)、血肌酐(Scr)、尿素(BUN)4 项肾小球滤过功能检测指标病例 763 人, 选取同时体检中心健康体检者 43 例作为对照组, 根据肾功能不全分期标准进行分组统计分析。结果 各项检测指标在肾功能不全代偿期组、肾功能不全失代偿期组、肾衰竭组、尿毒症组随着肾功能损害程度增加浓度明显升高。肾功能不全代偿期组血清 CysC 与对照组相比较, 差异有统计学意义($P<0.01$), 而 Scr、BUN 与对照组相比较则差异无统计学意义($P>0.05$); 其余组间各项检测指标相比较, 检测结果差异均有统计学意义($P<0.01$), 且结果随着肾小球滤过功能的下降, 浓度明显升高。结论 血清 CysC 作为反映肾小球滤过功能的敏感指标, 在肾小球损害早期优于 Scr 和 BUN, CysC 检测对肾小球损害程度评估具有重要临床价值。

关键词: 肾功能不全; 内生肌酐清除率; 胱抑素 C; 尿毒症
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.10.040 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2016)10-1395-02

慢性肾病的鉴别、分类和治疗都要求对患者的肾小球滤过率(GFR)作精确的评估^[1]。目前临床上常用血肌酐(Scr)、尿素(BUN)和内生肌酐清除率(Ccr)等指标来判断肾小球滤过功能但前两项指标在肾功能损害代偿期不升高, 而 Ccr 检测由于易受到个体饮食、尿液标本收集、标本保存等多种因素影响检测结果的准确性, 在临床实际应用过程中受到一定的限制。本文通过对血清胱抑素 C(CysC)及上述 3 项用于肾小球滤过功能生化检测指标进行统计分析, 探讨肾小球滤过功能生化检测指标在肾功能不全中的临床应用, 为临床医生肾小球滤过功能生化检测指标提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集同时检测 Ccr、CysC、Scr、BUN 4 项肾小球滤过功能生化检测指标患者 763 例, 主要来自医院肾病科、内分泌科、心肺科及老年病科; 其中男 401 例, 女 362 例, 年龄 23~81 岁, 平均 61.2 岁。对照组为体检中心健康体检者 43 例, 4 项检测指标全部正常, 年龄 21~70 岁, 平均 56.1 岁。根据我国制定的肾功能不全分期标准进行分组^[2]: (1) 对照组($Ccr>80\text{ mL/min}$) 43 例; (2) 肾功能不全代偿期组($50\text{ mL/min}\leq Ccr<80\text{ mL/min}$) 178 例; (3) 肾功能不全失代偿期组($20\text{ mL/min}\leq Ccr<50\text{ mL/min}$) 206 例; (4) 肾衰竭组($10\text{ mL/min}\leq Ccr<20\text{ mL/min}$) 163 例; (5) 尿毒症组($Ccr<10\text{ mL/min}$) 216 例。

1.2 方法

1.2.1 仪器 检测仪器为罗氏 Cobas-702 全自动生化分析仪。

1.2.2 试剂 CysC 检测方法为胶乳颗粒增强免疫透射比浊法, Scr、BUN 为酶法, 试剂、质控品、校准品均为罗氏原装配套。

1.2.3 样本收集 在严格控制饮食后, 收集 24 h 尿液标本, 温度低于 25℃ 不使用防腐剂可保存 2 d, 使用防腐剂可保存 3 d。若收集环境温度较高时尿液应进行冷藏保存, 并测量尿液

总量、患者身高、体质量用于 Ccr 检测; 同时于送检尿液的当天清晨, 空腹采集静脉血 2~3 mL 用于检测 Ccr、CysC、Scr、BUN。

1.3 统计学处理 应用 SPSS19.0 软件包作统计学分析, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

研究结果显示, 肾功能不全代偿期组血清 CysC 检测结果与对照组比较, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。而 Scr、BUN 与对照组相比较, 差异则无统计学意义($P>0.05$); 其余组间各项检测指标相比较, 检测结果差异均具有统计学意义($P<0.01$), 且随着肾小球滤过功能的下降, 浓度明显升高。见表 1。

表 1 各组 Ccr、CysC、Scr 和 BUN 测定结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Ccr (mL/min)	CysC (mg/L)	Scr (μmol/L)	BUN (mmol/L)
对照组	43	108.1±20.9	0.78±0.22	74.1±19.2	5.57±1.42
代偿期组	178	69.6±13.7	1.40±0.26	90.3±17.2	6.61±1.67
失代偿期组	206	41.7±10.3	2.23±0.59	119.7±44.3	10.76±4.32
肾衰竭组	183	13.5±2.7	4.83±1.81	508.7±119.3	18.79±7.86
尿毒症组	196	4.6±1.3	7.77±1.16	1 076.7±333.6	31.57±9.97

3 讨 论

肾功能常用生化检测指标中 GFR 能够反映肾功能的改变, 是发现肾功能改变的重要指标, Ccr 在反映肾脏损害时比 Scr、BUN 敏感, 能较早地反映肾小球滤过功能并估计损害程度^[3]。Scr、BUN 也能够反映肾功能改变但由于肾脏有强大的储备能力, 只有当 GRF 下降超过 50% 以下时, Scr、BUN 才出现轻度上升^[4]。但因实际检测过程中, Ccr 的测定易受饮食习惯的影响, 必须严格控制饮食, 且收集 24 h 尿液过程中, 在尿液收集、保存、测量、冷藏、使用防腐剂等方面, 某一环节出现差