

及主动脉并产生炎症^[2]。康金锁等^[3]对 255 例梅毒血清阳性患者进行分析(研究的对象多为中老年人或自觉无任何梅毒相关症状者),在 TPPA 阳性患者中,主动脉疾病及心力衰竭患病率显著升高。病毒性心血管病多数在梅毒感染 10~25 年后发病,一旦出现症状多属晚期,并发症较多,故早期诊断尤为重要。心血管梅毒的患病率与梅毒的早期及时治疗有密切的关系,如果在早期能及时治疗,病毒性心血管病的患病率仅为 0.4%,未经治疗或是治疗不充分的梅毒患者患病率高,尸检时可有 75%~85% 的患者有心血管病变^[4]。因此笔者对隐性梅毒患者的心功能、血脂、血糖常用生化指标进行了分析,以期能初步了解隐性梅毒患者这些生化指标的特点,提高临床医生对隐性梅毒的重视。已有大量实验数据表明,螺旋体对主动脉滋养血管更具偏好,特别是近端主动脉。经梅毒螺旋体入侵后,主动脉内膜出现弥漫性病变,粥样硬化性改变几乎波及受累主动脉的整个内膜面。粥样硬化斑大量形成,即所谓“树皮剥脱征”。胆固醇,特别是 LDL-C 是形成动脉硬化的主要物质^[5],临床测定 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 对心脏事件的危险评估是非常重要的。经过两组结果比对可以发现,试验组的 TG、TC、LDL-C 的异常率及结果范围均高于对照组,这提示隐性梅毒患者体内可能已经出现血脂代谢紊乱。

通过同时测定心肌酶谱发现,试验组的 CK、AST、 α -HB-DH 异常率与对照组也存在显著的统计学意义。这与罗平等^[6]的报道非常相似,他们发现老年梅毒患者心肌标志物异常以 CK、AST 较为常见,其发生率分别为 37.9%、29.1%。而众所周知,这三个指标是在心肌损伤时均会有不同程度的升高,是心肌损伤的标志物。此结果提示在隐性梅毒患者中可能有一部分已出现心肌损伤,因心血管有较强的代偿机制,故不显示症状,只有当病变严重,妨碍血液循环时才出现症状,引起患者重视而就医。另外,值得注意的是,试验组的 GLU 异常率较正常组显著增高($P=0.000$)。笔者推测隐性梅毒患者发生心血管病变可能与梅毒螺旋体入侵导致机体糖脂代谢紊乱有

• 检验技术与方法 •

一定关系,其具体发生机制还有待于进一步考证。

从以上这些研究笔者发现尽管隐性梅毒患者的心功能、血脂、血糖方面部分血清生化指标结果显示与对照组出现差异,但其数值基本都是在正常参考范围波动,或是轻度增高或降低。这可能是因为隐性时期,梅毒螺旋体隐藏在组织或淋巴系统内,虽然临床上没有症状,但心血管系统还是会出现一些早期不易被察觉的病变,当机体抵抗力降低时便会出现临床症状。对隐性梅毒患者进行血生化指标检测不仅反映了这些组织器官自身的健康与功能状态,而且往往还预示了隐性梅毒患者相关并发症的发生、发展及预后,对辅助临床对该类病患的诊疗及判断预后起到了积极作用。应该注意的是在临床上对每一项血生化指标的分析都不应孤立地进行,而必须结合多个指标及梅毒血清学试验甚至多种辅助检查结果进行综合评价,只有这样才能正确把握该项指标所体现的实际临床意义,更科学地反映隐性梅毒患者的病理生理状态,及时准确地制定出正确合理的诊疗策略。

参考文献

- [1] 孙晓燕,刘波,党倩丽,等. 2008~2010 年住院患者隐性梅毒的调查与分析[J]. 中国皮肤性病杂志,2012,26(2):135-136.
- [2] 姚民强,王兴民,王佩显. 病毒性心血管病早期诊断的研究现状[J]. 中国心血管杂志,2006,11(1):74-76.
- [3] 康金锁,王恺隽,刘哲,等. 心血管疾病患者梅毒血清学检测阳性结果分析[J]. 中国分子心脏病学杂志,2010,10(5):261-264.
- [4] 张晓东,赵玉铭. 梅毒的诊断与治疗[M]. 北京:人民军医出版社,2005:209-220.
- [5] 彭玉芳,汪宏良. 血脂及载脂蛋白检测在心血管病中的应用进展[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(5):592-594.
- [6] 罗平,刘志华,赵业萍. 老年梅毒患者心肌酶、cTn-I 及 CRP 检测的意义[J]. 放射免疫学杂志,2008,21(5):462-463.

(收稿日期:2013-06-15)

相差显微镜计数血小板方法的建立和评价^{*}

彭玉莲,马 骥,吕国全,马 艳,郑智明,郑松柏[△]

(广东省中医院检验医学部,广东广州 510120)

摘 要:目的 建立和评价相差显微镜血小板(PLT)计数法。方法 用相差显微镜法(许汝和法:PLT 稀释液 0.38 mL 加 20 μ L 血液,混匀,充池,镜检计数)计数 3 次取平均值。同时,将其计数的 84 例 PLT 与电阻抗法、光散射法的检测结果进行比较。结果 相差显微镜手工计数法计数 PLT 高值($895 \times 10^9/L$)、中值($233 \times 10^9/L$)、低值($10 \times 10^9/L$)标本的变异系数(CV)分别为 2.9%、2.7%、14.8%。PLT 在 $40 \times 10^9/L \sim 828 \times 10^9/L$ 范围内线性良好($r=0.999\ 3$)。PLT 计数在标本采集后 4.5 h 内稳定。与电阻抗法、光散射法计数 PLT 的比较:当 $100 \times 10^9/L < PLT \leq 300 \times 10^9/L$ 时其他两种方法测定结果与相差显微镜计数法计数的结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。而 $PLT < 100 \times 10^9/L$ 或 $PLT > 300 \times 10^9/L$ 时,其他两种方法测定结果与相差显微镜计数法计数的结果比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 相差显微镜手工计数法特异、准确、精密、线性和稳定性较好,是作为 PLT 异常时进行复核的可靠方法。

关键词:血小板计数; 相差显微镜; 自动分析; 方法建立和评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)17-2295-03

目前,大部分地区已经引进了全自动血液分析仪用来替代手工操作方法,全自动血液分析仪具有效率高、重复性好、检测

结果准确性高等优点,可以避免手工操作时由于操作人员操作水平和习惯不同对结果造成的误差。但大部分学者认为,在血

液分析中三分类的血液分析仪或者是更高档次的五分类血液分析仪都不能取代一个熟练的检验科技人员的手工操作^[1], 因为血小板(PLT)容易黏附、聚集、破碎,而且计数时容易受到小红细胞、红细胞碎片、非 PLT 颗粒(简称 NPPs)等的影响,血细胞分析仪因不能识别这些异常颗粒而导致计数结果不准确,出现 PLT 计数结果假性减低或假性增高。相差显微镜计数能清楚的将 PLT 与其他非 PLT 的各种干扰成份区分开来,保证 PLT 计数的准确性^[2]。因此研究者建立该计数法并对其进行评价,同时将该方法与其他两种 PLT 计数方法——电阻抗法、光散射法的结果进行比较。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集门诊、住院患者和健康体检者新鲜血标本共 84 例,该标本为真空采血管(购自广州阳普公司)采集的静脉血,由 EDTA-K₂ 抗凝,室温下放置。根据 Sysmex 1000i (简称 XS-1000i)的检测结果,将 PLT 分为:低值组($1\times 10^9/L\sim 99\times 10^9/L$)20 例,中值组($100\times 10^9/L\sim 300\times 10^9/L$)33 例,高值组($>300\times 10^9/L$)31 例共 3 组。每例标本均作涂片染色,在显微镜下观察有没有巨大 PLT、细胞碎片、PLT 聚集等异常情况。

1.2 血细胞计数仪计数 PLT 计数 PLT 时,XS-1000i 血液分析仪采用电阻抗法,以及其原装配套的试剂、校准品和质控全血,温度 15~30℃。ADVIA-2120 血细胞分析仪采用的是二维激光法,其原装配套的试剂、校准品和质控全血,运行环境为温度 15~30℃,相对湿度 45%~85%,仪器法计数 3 次,取其计数结果平均数。

1.3 相差显微镜计数法计数 PLT 按《全国临床检验操作规程》第 3 版^[3]操作。用 EDTA-K₂ 抗凝,取 20 μ L 全血,加入到 0.38 mL 草酸铵稀释液(草酸铵 10 g/L EDTA-Na₂ 0.12 g/L)中,振荡混匀,静置 15 min,混匀再充入牛鲍式计数板,在湿盒中静置 20 min 后在相差显微镜下计数 PLT。所用加样器均经过校准。所有标本在 2 h 内计数完毕。

1.4 统计学处理 利用 SPSS Statistics 17.0 对结果进行统计学分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 稳定性 取一份新鲜血标本,在不同放置时间内分别用相差显微镜计数 PLT,结果见表 1。结果显示标本在 4.5 h 内测定结果稳定,CV=4.07%。

表 1 不同放置时间内 PLT 计数结果										
放置时间(h)	0	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	
PLT($\times 10^9/L$)	162	158	167	160	147	170	165	156	160	

2.2 线性分析 以一高值标本($828\times 10^9/L$)用草酸铵稀释液作系列稀释:100%、80%、40%、20%、10%、5%,相差显微镜手工计数法计数 PLT 各 3 次,取平均值。结果显示相差显微镜手工计数结果在 $40\times 10^9/L\sim 828\times 10^9/L$ 范围内线性良好,与期望值具有较高的相关性($r=0.9975$)。

2.3 不精密度 取高值($895\times 10^9/L$)、中值($233\times 10^9/L$)、低值($10\times 10^9/L$)标本各一份,每份标本连续重复测定 10 次,结果显示 CV 分别为 2.9%、2.7%、14.8%。

2.4 各种 PLT 计数方法结果比较 当 PLT 在 $100\times 10^9/L<PLT\leq 300\times 10^9/L$ 范围内时其他 2 种方法测定结果与相差显微镜计数法计数的结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

而 $PLT<100\times 10^9/L$ 或 $PLT>300\times 10^9/L$ 时,其他 2 种方法测定结果与相差显微镜计数法计数的结果比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2~4。

表 2 低值组 3 种方法对比计数结果的比较($\times 10^9/L$)					
方法	<i>n</i>	测定范围	平均值	<i>t</i>	<i>P</i>
手工计数法	20	12~93	45.50	—	—
XS-1000i	20	6~95	37.75	-4.939	<0.01
ADVIA-2120	20	9~97	42.65	-2.54	0.02

—:无数据。

表 3 中值组 3 种方法对比计数结果的比较($\times 10^9/L$)					
方法	<i>n</i>	测定范围	平均值	<i>t</i>	<i>P</i>
手工计数法	33	100~289	203.85	—	—
XS-1000i	33	101~290	205.24	1.75	0.09
ADVIA-2120	33	109~307	206.55	1.592	0.121

—:无数据。

表 4 高值组 3 种方法对比计数结果的比较($\times 10^9/L$)					
方法	<i>n</i>	测定范围	平均值	<i>t</i>	<i>P</i>
手工计数法	31	210~844	342.03	—	—
XS-1000i	31	303~895	410.61	5.892	<0.01
ADVIA-2120	31	227~962	401.48	5.458	<0.01

—:无数据。

3 讨论

准确计数外周血的 PLT,是目前血液学和检验医学界的热门话题,但要准确计数 PLT 实非易事^[4-5]。目前 PLT 计数方法主要有手工计数法、电阻抗法和光散射法,还有 PLT/RBC 比值法^[6]。尽管血细胞分析仪在原理和技术上已经有了很大的进步,但在许多临床实验室,PLT 计数结果仍然难以令人满意。这是因为 PLT 计数的干扰因素较多,如 EDTA 依赖性 PLT 假性减少、细胞碎片、颗粒杂质、PLT 聚集和黏附等都可对计数结果产生较大干扰。如何选择一种准确、快速和实用的 PLT 计数方法,是当今急需解决的问题。因此本文的目的就是建立一种能够准确计数、经济实惠、易于普及的 PLT 计数方法并且可以作为评价其他 PLT 计数方法的标准。

本文通过实验分析显示相差显微镜法在 4.5 h 内计数结果稳定,线性良好,精密度较好。当血 $100\times 10^9/L<PLT\leq 300\times 10^9/L$ 时,3 种方法计数结果比较差异无统计学意义($P>0.05$),而 $PLT>300\times 10^9/L$ 时 3 种方法结果比较差异有统计学意义($P<0.01$),仪器法计数结果明显高于相差显微镜手工法,其原因主要是小红细胞和红细胞碎片的干扰导致仪器法计数结果偏高^[7-8]。红细胞碎片的干扰常出现在体内有溶血的患者中,比如地中海贫血,由于反复溶血刺激骨髓释放不成熟红细胞,产生的红细胞碎片和有核红细胞干扰 PLT 和白细胞的检测,使 PLT 和白细胞的检测结果假性增高,这种现象可以采取手工计数 PLT 加以矫正。而 $PLT\leq 100\times 10^9/L$ 时仪器法计数结果低于相差显微镜手工法,主要原因是 EDTA 依赖性 PLT 假性减少导致计数结果偏低^[9],PLT 发生黏附聚集,体积增大超过了仪器对 PLT 计数阈值设定的范围,使血细

胞计数仪无法识别而不被计数,导致 PLT 假性减少。这种情况需要人工计数 PLT 来进行校正处理,或者使用枸橼酸盐、草酸盐抗凝血液、EDTA 抗凝血中加入丁胺卡那霉素^[4]的办法来获得最准确的 PLT 数值。另外大 PLT 的干扰和小 PLT 的干扰也会导致仪器法计数结果偏低。相差显微镜是利用相差板的光栅作用引起位相差,并显示出光强度的明暗对比,使 PLT 在暗视野中易于识别,从而能清楚的将 PLT 与其他非 PLT 的各种干扰成份明显地区分开来,保证 PLT 计数的准确性^[10]。

总之,相差显微镜计数法计数 PLT 具有准确性、精密度、线性和稳定性好,方法简单实用、经济实惠,适合各种大小医院的普及等优点。同时,与其他 PLT 自动分析法检测结果间有良好的一致性,不失为一种可以在临床实验室建立的准确计数 PLT 的可靠方法并用于评价其他 PLT 计数方法。

参考文献

[1] Harrison P, Ault KA, Chapman S, et al. An interlaboratory study of a candidate reference method for platelet counting[J]. Am J Clin Pathol, 2001, 115(3): 448-459.

[2] 巩惠芸, 顾晓菁. 相差显微镜血小板计数法对血液分析仪测定“血小板计数减少”结果的复核作用[J]. 检验医学, 2004, 22(6): 524-

527.

[3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 136-137.

[4] Kunz D. Possibilities and limitations of automated platelet counting procedures in the thrombocytopenic range[J]. Semin Thromb Hemost, 2001, 27(3): 229-235.

[5] 刘非, 杨红玲, 梁绮华, 等. 红细胞体积分布宽度引起光学法和电阻抗法血小板计数的差异分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(14): 1750-1752.

[6] Ault KA. Platelet counting: is there room for improvement? [J]. Lab Hematol, 1996, 2(1): 139-143.

[7] 梁瑞莲, 周远青, 唐跃华, 等. 小红细胞对不同原理血液分析仪的血小板计数的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7): 698-699.

[8] 吴辉. 血标本放置时间对白细胞及血小板计数的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(18): 2148-2149.

[9] 谢秀萍, 张志, 胡春梅. 6 例血小板计数假性减少结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(6): 565-566.

[10] 巫小莉, 周小棉, 邓穗德, 等. EDTA 抗凝剂依赖性假性血小板减少症血小板计数的研究[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(4): 578-580.

(收稿日期: 2013-05-28)

• 检验技术与方法 •

呼吸道非典型病原体抗体实验室检测及病原分析

单咏梅, 周 宏, 杨 凡, 万海英
(上海同济大学附属同济医院检验科, 上海 200065)

摘要:目的 了解 9 种非典型呼吸道病原体抗体的检测对呼吸道感染疾病的诊疗价值。方法 采用间接免疫荧光法(IFA), 检测肺炎支原体(MP)、肺炎衣原体(CP)、嗜肺军团菌(LP)、Q 热立克次体(CB)、腺病毒(ADV)、呼吸道合胞病毒(RSV)、甲型流感病毒(influenza A virus)、乙型流感病毒(influenza B virus)、副流感病毒(HPIVs)等 9 种呼吸道病原体 IgM 抗体, 分析其在呼吸道感染性疾病中的检出情况及临床意义。**结果** 2 990 例呼吸道感染患者, 9 种常见非典型病原体抗体(IgM)均有阳性检出, 总阳性率为 29.67%(887/2 290); 其中以肺炎支原体、乙型流感病毒、嗜肺军团菌感染最为常见, IgM 抗体阳性率分别为 13.7%、4.6%和 4.4%; 嗜肺军团菌好发于夏秋季, 第 3、4 季度 IgM 抗体阳性率分别为 6.3%、6.9%; 肺炎支原体感染未见明显季节性变化; 呼吸道合胞病毒感染率最高为第 1 季度, IgM 抗体检出阳性率为 4.2%; 乙型流感病毒感染以第 4 季度高发, 阳性率为 9.1%; 成人与儿童患者均以肺炎支原体、乙型流感病毒、嗜肺军团菌检出率较高, 儿童患者阳性率分别为 10.7%、10.3%和 5.6%; 成人患者阳性率分别为 15.0%、2.2%和 4.0%; 其中乙型流感病毒感染率较成人显著增高($\chi^2=9.56, P<0.01$), 其余非典型病原体 IgM 检出阳性率较低, 且成人与儿童阳性率差别不大。**结论** 呼吸道感染的病原体复杂多样, 应该使用不同的诊断方法同时检测, 以获得最佳的诊断结果。采用间接免疫荧光法(IFA)同时检测 9 种非典型呼吸道病原体 IgM 抗体, 简便、快速、适合于常规临床诊疗要求, 具有重要临床意义。

关键词: 呼吸道病原体; IgM; 肺炎支原体; 嗜肺军团菌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.041 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2013)17-2297-03

呼吸道感染分为上呼吸道感染和下呼吸道感染, 上呼吸道感染常见病因为病毒, 少数由细菌引起; 下呼吸道感染是最常见的感染性疾病, 包括急性气管支气管炎、慢性支气管炎、肺炎、支气管扩张等, 由病毒、细菌、支原体、衣原体、军团菌等微生物引起, 其防治应遵循预防为主、准确诊断、及时治疗的原则, 治疗时必须明确引起感染的病原体以选择有效的抗生素。非典型病原体的感染, 主要是指肺炎链球菌等常见细菌以外的病毒、衣原体、支原体等病原体引起的感染, 明确病原体、早期诊断、合理用药是治疗非典型病原体的感染的关键。已报道的非典型呼吸道病原体有很多, 最常见的有肺炎支原体(MP)、肺

炎衣原体(CPn)、嗜肺军团菌(Lp)、及 Q 热立克次体等^[1]。这些非典型呼吸道病原体因其临床的非特异性症状, 大部分依靠实验室检查方法, 而检查方法多种多样。然而这些病原体的共同特点是分离培养困难, 因而缺乏所谓的诊断“金标准”。为了解本院呼吸道感染患者中非典型病原体的感染状况, 研究者对 2012 年 1~12 月全年 2 990 例呼吸道感染患者进行非典型病原体(MP、CPn、Lp、Q 热立克次体、腺病毒、呼吸道合胞病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒、副流感病毒)IgM 检测, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选自同济大学附属同济医院 2012 年 1~12