

表 1 90 份血浆 EV71-IgM 检测结果 (n)			
ELISA 法结果	GICA 法结果		合计
	阳性	阴性	
<0.100	13	39	52
0.100~<0.150	7	7	14
≥0.150	23	1	24
合计	43	47	90

2.2 GICA 与 ELISA 法检测结果比较 90 份血浆抗 EV71-IgM 抗体结果进行配对列表,见表 2。临床诊断一致性 Kappa 检测,Kappa 值为 0.523, $P<0.05$ 。说明用 GICA 法检测抗 EV71-IgM 抗体结果与 ELISA 法结果一致性一般。两法的符合率为 76.7%(69/90)。两配对样本的 McNemar χ^2 检验,GICA 法检测抗 EV71-IgM 抗体结果与 ELISA 法结果, $P=0.000$, $P<0.05$ 认为两法检验结果不一样,GICA 法阳性结果高于 ELISA 法。

表 2 GICA 与 ELISA 法检测 90 份血浆抗 EV71-IgM 抗体结果比较 (n)			
ELISA	GICA		合计
	阳性	阴性	
阳性	23	1	24
阴性	20	46	66
合计	43	47	90

3 讨 论

HFMD 由超过多种肠道病毒可引起。胶体金免疫层析法(GICA)测定具有简便、快速、特异性高、试剂稳定等优点^[3],为传染病的早诊断、早分类隔离治疗提供了依据。

目前 GICA 法检和 ELISA 法检测抗 EV71-IgM 抗体已在临床检测中使用。特别在基层医疗单位得以开展。从本实验两种方法检测 90 份标本对比的结果看,一致性一般,Kappa 值

• 检验技术与方法 •

为 0.523, $P<0.05$;两法的符合率为 76.7%(69/90)。差异有统计学意义($P<0.05$),GICA 法的阳性率 47.8%(43/90)明显高于 ELISA 法的阳性率 26.7%(24/90)。本研究的结果与 GICA 法试剂说明书“产品性能指标”中给出的两法符合率 96.50%,Kappa 值为 0.92 不一致。这可能是由于本实验研究对象特殊,都是临床症状上已经诊断为 HFMD,71.1%(64/90)患者的标本是在发病 24 h 内采集,28.9%(26/90)是在发病 48 h 内的标本。而抗 EV71-IgM 抗体在手足口病发病的第 1 天即可出现,至第 5 天阳性率达到峰值^[4],虽有抗 EV71-IgM 抗体产生,但未达到 ELISA 法的 cut-off A 值(0.150),但目测 GICA 试条,测试区已经可以分辨出色带。对于两种方法阴性性标本,应对患者随后再次复查以免漏检。

综上所述,GICA 法检测抗 EV71-IgM 抗体对手足口病患者及时诊断、分类收治提供了一种简便、快速的检测方法。对于发病初期的患儿 GICA 法检出阳性率要高于 ELISA 法,两法一致性一般。应相对标准化对 GICA 试条结果的目测方法,减少人为因素,同时希望试剂生产厂家对试剂做出相应优化,使结果更易判读。

参考文献

[1] 胡亚美,江载芳.诸福棠使用儿科学[M].7 版.北京:人民卫生出版社,2002:808.
[2] 蒋晓清,邢学森,官旭华,等.湖北省 2011 年手足口病流行特征分析[J].中国预防医学杂志,2012,13(5):5.
[3] 曾章新,刘文星,朱忠勇,等.胶体金免疫层析法检测乙型肝炎表面抗原的评价[J].中华医学检验杂志,1999,22(6):327.
[4] 赵静,徐军,陈威巍,等.肠道病毒 71 型 IgM 抗体检测在手足口病早期诊断中的价值[J].中华实验和临床病毒学杂志,2011,25(2):140.

(收稿日期:2013-04-18)

纠正 EDTA-K₂ 抗凝剂致假性血小板减少方法的探讨

梁培松,王结珍,杨山虹,孙各琴,陈 颖,韩登科
(广东省中山市人民医院检验医学中心,广东中山 528400)

摘 要:目的 探讨纠正 EDTA-K₂ 抗凝剂致假性血小板减少的方法。方法 用 Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪检测 20 例健康体检者不同时间 3 种抗凝血血小板数值及 11 例 EDTA 依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)患者不同抗凝血在 15 min 血小板数值,同时作手工血小板计数。结果 15~30 min 内健康体检者 EDTA-K₂ 抗凝血血小板数值与手工血小板计数数值相比差异无统计学意义($P>0.05$),不同时间的枸橼酸钠和肝素锂抗凝血血小板数值与手工血小板计数数值相比差异有统计学意义($P<0.05$)。EDTA-PTCP 患者枸橼酸钠和肝素锂抗凝血在 15 min 内测定的血小板数值与手工血小板计数数值相比差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 枸橼酸钠和肝素锂抗凝剂不可替代 EDTA-K₂ 抗凝剂用于全自动血液分析仪血小板的检测,手工血小板计数是目前最为理想的纠正 EDTA-K₂ 抗凝剂致假性血小板减少的方法。

关键词:枸橼酸钠; 肝素; 血小板假性减少
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.046 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)18-2448-02

血小板(PLT)在体内具有止血、凝血等重要生理功能,使得 PLT 计数在临床诊疗中有重要的作用。因不同的抗凝剂对血小板及其参数的影响不一样,所以抗凝剂的选择非常重要。虽 EDTA 作为国际血液学标准化委员会认定对血细胞影响较小的血液抗凝剂,被广泛推广和应用,但其抗凝的静脉血在全

自动血液分析仪检测时,由于仪器自身检测原理的局限性偶会引起血小板的假性减少,如不能及时诊断和鉴别可导致增加其他不必要的检查,甚至误诊误治。因此本实验旨在研究用不同抗凝剂,不同时间检测对血小板的影响及探讨纠正 EDTA 盐抗凝剂致假性血小板减少的方法。本实验报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选择 20 例健康体检者,男、女比例为 1∶1;11 例 EDTA 依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)患者,其中男 4 例,女 7 例。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪及配套试剂和质控品。EDTA-K₂ 真空抗凝管、枸橼酸钠真空抗凝管、肝素锂真空抗凝管均由广州阳普医疗用品有限公司生产;按照《全国临床检验操作规程》配制草酸铵稀释液。

1.3 方法 按要求采集规定量静脉血,分别置于 EDTA-K₂ 抗凝管、枸橼酸钠抗凝管、肝素锂抗凝管内。健康体检者不同抗凝血分别于 5、15、30、60 min 用 Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪检测 PLT 板数值。EDTA-PTCP 患者不同抗凝血于抽血后 15 min 内用 Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪检测 PLT 数值;按照《全国临床检验操作规程》要求完成手工 PLT 计数。每个测量进行两次,取均值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 进行统计分析,采用作配

对资料比较 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同时间 3 种抗凝血的 PLT 计数结果比较 健康体检者手工 PLT 计数的均值为 $(227.25\pm44.81)\times10^9/L$ 。EDTA-K₂ 抗凝血 PLT 在 15 min 测得值最高,枸橼酸钠抗凝血和肝素锂抗凝血 PLT 以 5 min 测得值最高。EDTA-K₂ 抗凝血在 60 min 内 PLT 测得值变化小,而枸橼酸钠抗凝血和肝素锂抗凝血变化大,且随着时间的延长而显著降低。15~30 min 内 EDTA-K₂ 抗凝血 PLT 计数值与手工 PLT 计数值相比差异无统计学意义($P>0.05$)。5、15、30、60 min 肝素锂和枸橼酸钠抗凝血 PLT 计数值与手工 PLT 计数值相比差异有统计学意义($P<0.05$)。5、15、30、60 min 肝素锂和枸橼酸钠抗凝血 PLT 计数值与 EDTA-K₂ 抗凝血 PLT 计数值相比差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 不同时间 3 种抗凝血的血小板结果比较($\bar{x}\pm s, \times 10^9/L$)

项目	5 min	15 min	30 min	60 min
EDTA-K ₂ 抗凝管	223.25±44.08	229.70±44.19	225.45±44.33	220.70±43.50
枸橼酸钠抗凝管	218.00±44.57	210.95±46.68	178.15±48.68	148.10±50.56
肝素锂抗凝管	184.10±47.23	171.55±45.51	149.95±41.76	141.05±45.34

2.2 15 min 内 11 例 EDTA-PTCP 患者不同抗凝血血小板检测结果 2 例为健康体检者;4 例癌症患者;1 例系统性红斑狼疮患者;1 例肺部感染患者;1 例妊娠妇女;1 例肾功能衰竭患者;1 例慢性肝炎患者。EDTA-PTCP 患者血小板严重减少,其 EDTA-K₂ 抗凝血血涂片在显微镜下可见大片血小板聚集;其肝素锂和枸橼酸钠抗凝血 PLT 计数值均在正常范围之内,但与手工血小板计数相比差异有统计学意义($P<0.05$)。各患者检测结果见表 2。

表 2 11 例病例不同抗凝血的血小板检测结果($\times 10^9/L$)

病例	EDTA	肝素	枸橼酸钠	手工法
1	19	121	172	179
2	7	150	185	199
3	16	106	138	146
4	17	118	146	185
5	10	143	180	194
6	25	130	168	177
7	21	124	169	186
8	16	112	154	167
9	37	100	137	158
10	12	147	179	204
11	9	165	191	215

3 讨 论

枸橼酸钠是一种钙的螯合物,呈碱性,可与钙离子形成可溶性螯合物。其抗凝性弱,易使 PLT 聚集而致总数减少。肝素锂抗凝主要作用是抑制凝血活酶与凝血酶形成,并激活纤溶酶。由于肝素能引起 PLT 聚集及肿胀,过量的肝素导致 PLT

破坏,对 PLT 计数影响大。枸橼酸钠和肝素锂抗凝导致聚集的 PLT 通过微孔,由于体积较大,不易识别^[1]。EDTA-K₂ 能与血液中钙离子结合成螯合物,使 Ca²⁺ 失去凝血作用,阻止血液凝固。其抗凝性强,可抑制血小板凝聚,使离体后的血小板离散成为单个颗粒,对血小板计数的影响较小。因此抗凝剂的选择,对血小板的准确计数非常重要。在本研究中可以看到,枸橼酸钠抗凝血和肝素锂抗凝血血小板数值与手工法计数值有显著的差异。此两种抗凝剂并非应用于血小板计数的首选抗凝剂。而 EDTA-K₂ 抗凝血与手工计数值相比较差异小。EDTA 作为血常规检测的抗凝剂已得到了广泛应用,但 EDTA-K₂ 偶尔可导致血小板发生聚集,引起 EDTA-PTCP,发生率为 0.09%~0.20%^[2]。引起 EDTA-PTCP 的原因尚未完全明确,目前有研究认为由于在 EDTA-K₂ 作为抗凝剂的前提下出现的免疫介导血液中冷抗血小板自身抗体,使血小板互相发生凝集现象。EDTA 可导致血小板活化,因而改变血小板膜表面某种隐匿性抗原构象,与存在于血浆中的自身抗体结合,激活 PLA、PLC、AA、ADP、5-HT 等活性物质。这些活性物质又能活化血小板纤维蛋白原受体,促使血小板与纤维蛋白原聚集成团,出现使血小板互相凝集现象。这种 EDTA 依赖的冷抗血小板自身抗体直接作用于血小板膜糖蛋白Ⅱb/Ⅲa 上,同时这种与血小板结合的自身抗体 Fc 端可与单核细胞或淋巴细胞膜上 Fc 受体结合,出现卫星现象。其可能与血浆中的抗血小板抗体和抗心磷脂抗体等自身抗体有关^[3-6]。从本院发现的病例可见,EDTA 抗凝剂致假性 PLT 减少可发生在肿瘤患者、自身免疫病患者、肝病患者及肾病患者等身上,也可发生在健康体检者当中,并未发现任何病理及生理意义。本研究选取 15 min 内计数血小板,是因为一般医院从抽血到运送至检验医学中心完成检测要 10 多分钟。从 EDTA-PTCP 患者血小板的计数可知,肝素锂抗凝剂与枸橼酸钠抗凝剂都对血小板的计数有一定的影响,其结果只能作为发现血小板假(下转第 2483 页)

LIS 已被越来越多的医院认可,广泛应用于检验科科室工作、管理的方方面面,成为检验科必不可少的组成部分^[3-5]。目前,泰安市三级医院检验科已全部使用 LIS 进行科室管理,二级医院也已部分应用。TAT 已经被作为反映检验科服务质量的重要指标,各医院的重视程度越来越高,在保证检验质量的基础上缩短 TAT 已成为检验科提高工作质量的目标^[6-8]。统计结果显示,利用 LIS 系统的自动审核功能与人工审核相比在血常规结果异常提示上无显著差异,而且自动审核的提示的数量较人工审核还高。不仅如此,自动审核的引入将血常规的 TAT 提高了近 10 min,减少了患者检验报告的等待时间,极大地方便了患者就诊。危急值是指可能危及患者生命的检验结果,如果不给予及时、有效的干预,患者将处于危险的状态。缩短危急值标本的回报时间对保证患者的安全显得尤为重要^[9]。检验危急值的报告已经在等级医院评审中被列为一项评价临床实验室重要条款,对临床实验室工作的要求进一步提高。在繁忙的日常工作中,检验人员每天要通过人工审核上万项检验项目,要做到既保证危急值的报告,又保证结果的及时发放,实在勉为其难。缩短危急值回报时间是一项复杂的工作,涉及教育培训、仪器设备、工作流程等,从申请到报告每一个步骤都可能影响回报时间,要缩短回报时间,可以通过实验室自动化系统,加快标本的处理速度,加强实验室信息化系统的管理,还可以通过完善的质量保证体系来改进限速的步骤或流程^[10]。通过 LIS 自动审核危急值的功能,大大减轻了检验人员的工作量,检验人员仅需从已自动审核出的危急值中进行判断,是否真实危急值然后报告即可。因此,LIS 自动审核的功能,减少了异常结果的漏报,缩短了 TAT 时间,同时对还能对危急值报告

进行自动审核。但是,在实际工作中,要根据工作需要不断对自动审核公式进行修改和完善,在通过自动审核减轻工作量的同时,也要保证避免检验结果漏报、错报的发生。

参考文献

- [1] 姚洁,黄花,孙雪梅,等. 实验室信息系统在检验科应用的沟通问题[J]. 河北医药,2012,34(2):596-598.
- [2] 李广权,周卫东. LIS 系统的优化改进在实验室管理中的作用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(2):250-252.
- [3] 张然蓉,张庆侠,龙寿斌,等. 急诊生化检验报告时间分析[J]. 检验医学教育,2011,18(4):40-41.
- [4] 刘保东. 实验室内质量持续改进对缩短急诊生化检验回报时间的影响[J]. 中国药物与临床,2012,12(6):837-838.
- [5] 邵松,王嘉. 检验科信息化管理[J]. 现代检验医学杂志,2005,20(5):65-66.
- [6] 陈涛,郑定容,黄龙,等. 检验条形码系统开发和应用[J]. 中国热带医学,2006,6(11):2080-2081.
- [7] 陆怡德,施新明,杨帆. 临床化学审核规则的制定及计算机自动确认的应用[J]. 检验医学,2011,26(4):277-280.
- [8] 曾蓉,王薇,王治国. 临床实验室报告周转时间的监测[J]. 临床检验杂志,2012,30(4):301-302.
- [9] 刘玉兰,董振南,郭广宏,等. 临床实验室检验自动化[J]. 标记免疫分析与临床,2012,19(1):63-64.
- [10] 杨大千,郭希超,徐根云,等. 危急值项目的应用评估[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(6):695-696.

(收稿日期:2013-03-28)

(上接第 2449 页)

性减少的参考,不能用作临床报告值,特别是肝素类抗凝剂。作多次手工血小板计数取均值,是目前较为理想的发现和纠正血小板减少的有效方法。

随着全自动血液分析仪的广泛应用,PTCP 的报道也日渐增多^[7-9]。血小板的检测是临床最为常用的检验项目之一,EDTA-K₂ 所致的血小板假性减少如未及时发现会给临床疾病诊断带来误诊,因此及时发现尤为重要。当发现患者血小板计数值偏低,但其凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)等凝血系列指标均正常,并且患者没有任何出血倾向;此外,可引起血小板减少的疾病的相关检查指标在正常范围之内,应高度怀疑为 EDTA-PTCP。通过本研究可知,如果怀疑 EDTA-PTCP 发生时,可以采用以下方法进行复检:(1)用肝素锂及枸橼酸钠等非 EDTA-K₂ 抗凝剂进行血小板计数复检,虽然计数结果与手工计数结果仍存在一些差异,不能作为最后结果报告临床,但其对于排除 EDTA-K₂ 引起的血小板聚集是一种非常可取的快捷方法。(2)直接用 EDTA-K₂ 抗凝血标本进行血涂片,经瑞氏染色剂染色,镜下直接观察血小板分布情况,如见大量血小板聚集可再作进一步复查。(3)手工血小板计数法是血小板测定的参考方法,虽精密度较差,但可经多次计数取均值减少误差,对异常血小板结果的复检是一种方便有效的方法。

参考文献

- [1] 邵永生,郑宏伟. 组合检验法在 EDTA 依赖性假性血小板减少症

中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(16):2036-2037.

- [2] 宓庆梅,施魏宇,郝婉莹,等. EDTA 依赖性假性血小板减少症 1 例[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(10):719.
- [3] Shimizu M, Yamamoto M, Miyachi H, et al. Simple, rapid, and automated method for detection of hyperaggregability of platelets using a hematology analyzer[J]. Am J Hematol, 2003, 72(4):282-283.
- [4] Dabadie M, VaUi N, Jacobin MJ, et al. Characterisation, cloning and sequencing of a conformation-dependent monoclonal antibody to the alpha- II b beta 3 integrin; interest for use in thrombus detection[J]. Platelets, 2001, 12(7):395-405.
- [5] Ruiz López JJ, Rosado Caracena T, Sanabria Carretero P, et al. Ethylenediaminetetraacetic-acid -dependent pseudothrombocytopenia[J]. Rev Esp Anestesiol Reanim, 2009, 56(2):119-120.
- [6] Maslanka K, Marciniak-Bielak D, Szczepinski A. Pseudothrombocytopenia in blood donors[J]. Vox Sang, 2008, 95(4):349.
- [7] 张学英,王素平,李玲玲. 204 例假性血小板减少实验分析[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(2):166-167.
- [8] 张文艳,包广杰. EDTA-K₂ 抗凝致血小板减少 6 例原因分析[J]. 郑州大学学报:医学版,2011,46(2):296-297.
- [9] 常玉芝. EDTA 依赖血小板减少结果分析和纠正措施[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(14):1631-1632.

(收稿日期:2013-06-08)