

- [4] 许承斌,柴晓文. Th1/Th2 细胞的免疫功能变化与抗肿瘤免疫[J]. 现代诊断与治疗, 2009, 20(3): 162.
- [5] Yothda P, Mintz P, Grigoriadou K, et al. Analysis of T-cell defects in the specific immune response against acute lymphoblastic leukemia cells[J]. *Exper Hematol*, 1999, 27(12): 1375-1383.
- [6] Nakase K, Kita K, Shirakawa S, et al. Induction of cell surface interleukin-2 receptor alpha chain expression on immature acute myelocytic leukemia cell[J]. *Leuk Res*, 1994, 18(8): 855-859.
- [7] 胡永生, 张庆林, 田志刚, 等. 脑胶质瘤 Th1/Th2 类细胞因子的漂移及意义[J]. 中华外科杂志, 2001, 39(1): 92.
- [8] 胡章勇, 章廉, 文维, 等. 慢性乙型肝炎病人 Th1/Th2 细胞因子应答状况[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2001, 21(1): 8.
- [9] 王国兵, 李成荣, 李长钢, 等. 儿童急性 ITP Th1/Th2 细胞功能状态初步研究[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2008, 13(2): 156-160.
- [10] Grutta SL, Richirsa P, Pizzolanti G, et al. CD4<sup>+</sup>IL-13<sup>+</sup> cells in peripheral blood well correlates with the severity of atopid dermatitis in children[J]. *Allergy*, 2005, 60(3): 391-395.

(收稿日期: 2014-06-03)

## • 经验交流 •

EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂依赖性血小板减少的分析与解决方案

刘爱华

(泰州市姜堰区城中社区卫生服务中心检验科, 江苏泰州 225500)

**摘要:**目的 对临床 EDTA 依赖性血小板假性减少症(EDTA-PTCP)样本采用不同的方法进行检测, 为 EDTA-PTCP 寻找一种可靠的检测血小板的方法, 从而寻找一种 EDTA-PTCP 的有效处理方法和手段, 为实验室工作提供依据。方法 针对检验工作中遇到的 EDTA-PTCP 样本, 分别采用手工法、EDTA-K<sub>2</sub>、枸橼酸钠、EDTA-K<sub>2</sub>+氟化钠(NaF)方法对 EDTA-PTCP 进行检测, 分析比较 3 种方法的检测效果。结果 临床检验工作中, 部分血小板减少是由于 EDTA-K<sub>2</sub> 导致血小板聚集引起的。针对临床血小板减少的样本需进行复查, 复查方法可采用手工法、枸橼酸钠、EDTA-K<sub>2</sub>+氟化钠(NaF)方法均可, 如果采用枸橼酸钠抗凝复检时, 需在 10 min 内完成检测。结论 各实验室可针对具体情况选择适合的复查方法。

**关键词:**乙二胺四乙酸二钾; 抗凝剂; 血小板减少

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 23. 060

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2014)23-3277-03

血小板计数是临床常规检测项目, 其对临床疾病的诊断、疗效观察有着非常重要的指导价值。在临床检验中, 血小板假性降低常造成临床的误诊、误治, 给患者及其家庭造成极大的精神和经济的负担。

目前, 临床检验工作中, 最常用的血小板计数为仪器法, 国际血液学标准委员会(ICSH)推荐使用的抗凝剂是乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)。在一些特殊情况下, EDTA-K<sub>2</sub> 可以引起血小板的聚集, 从而导致血小板检测结果的偏低, 即 EDTA 依赖性血小板假性减少症(EDTA-dependent pseudothrombocytopenia, EDTA-PTCP)。EDTA-PTCP 的出现, 如果检验科不能很好的处理, 会给临床造成很大的困扰<sup>[1-2]</sup>。

EDTA-PTCP 的发生原因极其复杂, 据报道肿瘤、自身免疫疾病、败血症、抗血小板治疗的患者以及样本在低温环境下, 均可能发生 EDTA-PTCP<sup>[3]</sup>。EDTA-PTCP 发生率极低, 临床报道发生率大约为 0.09%~0.20%<sup>[4]</sup>, EDTA-PTCP 发生本身并无任何病理学意义, 但一旦发生极易造成误诊、误治, 给临床诊治带来很大的麻烦, 甚至有的严重患者会出现不必要的 PLT 输注。因此, 及时发现 EDTA-PTCP, 与其他原因引起的水小板减少进行鉴别, 并及时处理, 为临床提供准确的检测结果, 非常重要。

在我国使用 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血分析血常规时间还不长, 对 EDTA 依赖性血小板假性减少的原因分析和解决办法的相关报道约 50 多篇, 多为个案报道。而选择的处理方法也较多, 有采用枸橼酸钠抗凝重新检测, 有的在 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂中加入 NaF 的方法重新检测, 得到结论也不一致。有报道认为 EDTA-PTCP 用枸橼酸钠抗凝后, 有 72% 的病例还存在血小板聚集<sup>[5]</sup>。也有部分报道认为枸橼酸钠抗凝对血小板检测结果无影响<sup>[6-7]</sup>。徐志明等<sup>[8]</sup>认为, 对 EDTA-PTCP 可采用在 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂中加入 NaF 的方法加以处理, 可达到较好的效果。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013 年血常规检测工作中发现的血小板减少样本共计 26 例, 通过血涂片分析, 有血小板聚集的样本 6 例, 将定为 EDTA-PTCP, 其中 4 例为健康体检人员, 男女各 2 例, 查其病史, 均无血小板减少症病史, 皮肤黏膜均无出血症状。另 2 例为住院患者, 1 例为女性, 65 岁, 病案号 20130169, 诊断为慢支肺气肿。1 例为男性, 74 岁, 病案号 20130495, 诊断为糖尿病。2 例均无临床出血倾向。涂片中未出现聚集的样本 20 例, 定为非 EDTA-PTCP 样本。20 例血小板减少患者中有 8 例为门诊患者, 12 例为住院患者, 20 例患者均有引起血小板减少的各种病史。

**1.2 仪器与试剂** 迪瑞 BF6800 全自动血细胞分析仪, EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝真空管和枸橼酸钠抗凝真空管均由湖南省浏阳市医用器具厂生产。迪瑞 BF6800 血细胞分析仪配套试剂, 全血质控品由长春迪瑞公司生产, 各批次检测的室内质控结果均在控。

氟化钠配制: 将氟化钠 0.5 g 溶于 10 mL 双蒸馏水, 过滤后取 100 μL 置于 EDTA-K<sub>2</sub> 真空管中, 使其在血中的终浓度为 5 g/L。草酸胺稀释液配制: 按照第 3 版《全国临床检验操作规范》配制<sup>[9]</sup>。

**1.3 方法** 由于病例血小板值已达危急值, 立即联系临床医生沟通病情, 并将抗凝血进行瑞氏染色镜检, 排除分析前多种因素影响, 重新规范采集标本进行复检。复检方法如下:

仪器全血法: 采静脉血 2 mL 分别置于含 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝管、枸橼酸钠抗凝、EDTA-K<sub>2</sub>+NaF 管中振荡、混匀, 上机检测。

手工法: 同时取静脉血 20 μL, 加到装有 0.38 mL 的草酸胺稀释液试管中振荡、混匀, 待 5 min 完全溶血后, 再次混匀, 冲池、计数。

1.4 统计学处理 统计学处理采用 SigmaPlot 12.0 软件进行分析,EDTA-PTCP 样本比较采用配对资料的 *t* 检验进行分析,非 EDTA-PTCP 样本比较采用 *t* 检验进行统计分析,以  $P < 0.05$  亦差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同方法检测 EDTA-PTCP 的结果分析 手工法、EDTA-K<sub>2</sub>、枸橼酸钠、EDTA-K<sub>2</sub>+NaF 法对 6 例 EDTA-PTCP 样本分析结果显示(见表 1):与手工法检测血小板的结果比较,EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂样本的检测结果显示显著降低,差异有统计学意义( $t = 13.615, P < 0.01$ );枸橼酸钠抗凝剂检测结果差异无统计学意义( $t = 1.597, P = 0.171$ ),EDTA-K<sub>2</sub>+NaF 检测结果差异亦无统计学意义( $t = 0.166, P = 0.875$ )。

表 1 不同方法检测血小板的计数结果( $\times 10^9/L$ )

样本号	手工法	EDTA-K <sub>2</sub>	枸橼酸钠	EDTA-K <sub>2</sub> +NaF
1	220	32	218	221
2	180	54	178	177
3	216	72	220	214
4	176	63	163	170
5	200	44	198	206
6	190	50	182	196

2.2 不同方法检测排除 EDTA-PTCP 的结果分析(见图 1) 对 20 例非 EDTA-PTCP 的血小板减少的样本分析显示:与手工法比较[(60.4±37.1) $\times 10^9/L$ ],EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂[(59.8±38.5) $\times 10^9/L$ ]、枸橼酸钠抗凝剂[(59.4±40.8) $\times 10^9/L$ ]、EDTA-K<sub>2</sub>+NaF[(59.5±39.2) $\times 10^9/L$ ]检测差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

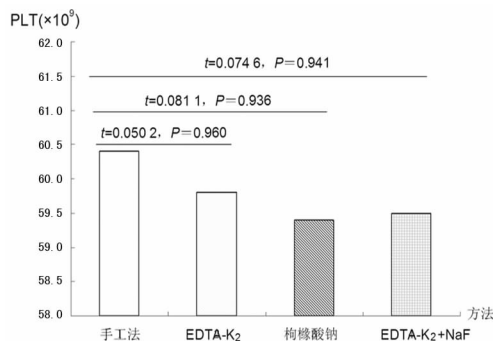


图 1 不同检测方法检测非 EDTA-K<sub>2</sub> 相关性血小板减少比较

3 讨 论

手工计数法是计数血小板最经典的方法,其利用草酸胺稀释液能破坏红细胞,使血小板形态清晰,易于分辨,该方法成本低廉,仍是临床血小板复检最为常用的方法<sup>[10]</sup>。但该方法为手工操作,过程繁琐,在临床大样本量检测时,难以推广使用。随着血液自动化分析仪的使用,临床检验工作更多依赖血球计数仪,但在血球计数仪检测发现血小板结果异常时,需仔细复检、核查。

EDTA-PTCP 是指血常规检测时 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂使大量血小板聚集在一起,从而导致血小板计数假性减少<sup>[11]</sup>。EDTA-PTCP 发生的原因可能是因为血小板表面存在某种隐匿性抗原<sup>[12]</sup>。而 EDTA 能活化血小板,导致血小板形态结构发生变化,使血小板膜表面隐匿性抗原的表位构象发生改变,与血浆中的自身抗体结合,从而激活细胞膜中的磷脂酶 A2 和磷脂酶 C,水解血小板膜磷脂并释放花生四烯酸、胶原、凝血酶

原、内源性钙离子等活性物质。这些物质能活化纤维蛋白原受体,使血小板与纤维蛋白原聚集成团、凝集。NaF 是一种磷脂酶活性抑制剂,它能促使血小板胞内钙离子内流,提高 cAMP 的水平,抑制血小板聚集和释放。因此,在 EDTA-PTCP 中 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂检测的血小板结果显著低于手工法( $P < 0.05$ ),而在 EDTA-K<sub>2</sub> 加入 NaF 后,血小板计数结果就与手工法比较无差异( $P > 0.05$ )。

枸橼酸钠抗凝是针对 EDTA-PTCP 临床处理的另一种方法,但有文献报道 EDTA-PTCP 用枸橼酸钠抗凝后,有很大一部分病例会出现血小板聚集,从而导致检测结果假性下降。本文对 6 例 EDTA-PTCP 患者检测结果显示枸橼酸钠抗凝检测结果与手工法并无显著性差异( $P > 0.05$ )。究其原因可能是在社区医院中样本量本来就比较少,一旦出现异常结果,马上抽取血液进行复检,从样本采集到检测间隔时间较短,所以两者检测结果无显著性差异。邝妙欢等<sup>[13]</sup>报道,提示 EDTA-PTCP 样本用 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝时从开始就出现血小板聚集现象,而采用枸橼酸钠抗凝时,10 min 内,血小板很少聚集,而随着时间的延长,血小板聚集会逐渐增多。在对 EDTA-PTCP 样本采用枸橼酸钠复检时,采血后立即上机检测,所以测定结果与手工法比较并无差异。

另外,对 20 例非 EDTA-PTCP 的血小板减少的样本分析显示:与手工法比较,EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂、枸橼酸钠抗凝剂、EDTA-K<sub>2</sub>+NaF 检测差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。提示对非 EDTA-PTCP 的血小板减少的样本也可采用上述几种方法进行复查。

临床检验工作中,部分血小板减少是由于 EDTA-K<sub>2</sub> 导致血小板聚集引起的。针对临床血小板减少的样本需进行复查,复查方法可采用手工法、枸橼酸钠、EDTA-K<sub>2</sub>+NaF 方法均可,如果采用枸橼酸钠抗凝复检时,需在 10 min 内完成检测。各实验室可针对具体情况选择适合自己的复查方法。

参考文献

- [1] Kocum TH, Katircibasi TM, Sezgin AT, et al. An unusual cause of mismanagement in an acute myocardial infarction case: pseudothrombocytopenia[J]. Am J Emerg Med, 2008, 26(6): 740.
- [2] Lau LG, Chng WJ, Liu TC. Transfusion medicine illustrated. Unnecessary transfusions due to pseudothrombocytopenia[J]. Transfusion, 2004, 44(6): 801.
- [3] Wu W, Guo Y, Zhang L, et al. Clinical utility of automated platelet clump count in the screening for ethylene diamine tetraacetic acid dependent pseudothrombocytopenia [J]. Chin Med J, 2011, 124(20): 3353-3357.
- [4] 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.
- [5] García Suárez J, Merino J, Rodríguez M, et al. Pseudothrombocytopenia: incidence, causes and methods of detection [J]. Sangre (Barc), 1991, 36(3): 197-200.
- [6] 邢忠海, 刘东声. EDTA 依赖性血小板减少的分析与对策[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(3): 507-508.
- [7] 李荣辉, 梁金花, 高莉莉. 2 例 EDTA 依赖性假性血小板减少结果分析[J]. 微量元素与健康研究, 2012, 29(1): 12-13.
- [8] 徐志明, 祁慧, 李丰平. 乙二胺四乙酸三钾导致血小板假性减少分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 9(5): 539-540.
- [9] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 东南大学出版社, 2006: 136-143.
- [10] 丛玉隆, 尹一兵, 陈瑜. 检验医学高级教程[M]. 北京: 人民军医出

版社, 2010:123.

[11] Putare K, Vuk T, Soldo D, et al. Pseudothrombocytopenia caused by ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)(casereport)[J]. Liječnik, 1997, 119(1):19-21.

[12] Bragnaain G, Bianconcini G, Brogna R, et al. Pseudothrombocytopenia. clinical comment on 37 cases [J]. Minerva Med, 2001, 92

(1):13-17.

[13] 邢妙欢, 刘晓华, 钟义富, 等. EDTA 依赖性假性血小板减少症血小板的检测[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11):1224-1228.

(收稿日期:2014-07-09)

• 经验交流 •

## 婴幼儿腹泻感染轮状病毒情况分析

刘佩娟

(天津市滨海新区汉沽中医院检验科 300480)

**摘要:**目的 观察轮状病毒季节性变化和儿童感染轮状病毒年龄分布情况。以便了解轮状病毒感染规律, 提供临床诊断依据。**方法** 胶体金法检测轮状病毒抗原。**结果** 由表 1 轮状病毒检测发现第四季度明显高于其他 3 个季度, 第一季也有显著的升高趋势。呈秋季冬季季节性分布。年龄分布趋势由表 2 可见 2 岁以内患病儿童轮状病毒阳性率较高, 说明随着年龄的增大, 机体的抵抗力也逐渐加强, 感染轮状病毒的机会逐渐减小。**结论** 轮状病毒感染致腹泻、呕吐、发热, 由于脱水和电解质紊乱而致酸中毒, 不及时纠正是致死的主要原因。所以临床上要注意在高发季节, 年龄较小的腹泻儿童检测粪便中的轮状病毒非常重要。

**关键词:** 婴幼儿腹泻; 轮状病毒; 季节性变化; 年龄分布

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.061

**文献标识码:** B

**文章编号:** 1673-4130(2014)23-3279-01

轮状病毒(RV)是全球范围婴幼儿腹泻的主要原因, RV 为双股 RNA 病毒, 有 11 个 RNA 片段, 分 A-G7 组, A 组致婴幼儿腹泻。轮状病毒是呼吸道感染的病原之一, 可以通过呼吸道传播。也可以通过分口传播。由于轮状病毒对 PH 稳定, 传播的轮状病毒经过胃部时不但不会被破坏, 反而能经过胃蛋白酶的消化提高其感染性。轮状病毒主要感染小肠上部, 侵犯绒毛远端带刷状缘的上皮细胞, 在胞内繁殖, 引起细胞病变, 导致酶活性下降, 绒毛功能失调, 引起腹泻。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 回顾分析 2013 年 1 月至 2013 年 12 月儿科门诊学龄前患儿, 粪便要求检测轮状病毒计 780 例, 观察轮状病毒季节性变化和儿童感染轮状病毒年龄分布情况, 以便了解轮状病毒感染规律, 提供临床诊断依据。表格按季度划分 1、2、3 月为第一季度; 4、5、6 月为第二季度; 7、8、9 月为第 4 季度; 10、11、12 月为第四季度。年龄按小于 1 岁、1~2 岁、2~5 岁和大于 5 岁来划分。

**1.2 方法** 轮状病毒抗原检测-胶体金法。原理: 检测板包括金标结合物鼠单克隆抗轮状病毒抗体胶体金结合物; 免抗轮状病毒抗体。首先鼠单克隆抗轮状病毒抗体-胶体金与患儿粪便中存在的 A 组轮状病毒反应, 然后此混合物再与薄膜上的免抗轮状病毒抗体反应。标本采集、操作过程严格按照说明操作。显示窗内出现 2 条彩色线, 结果为阳性。试剂来源: Standard Diagnostics, Inc.

### 2 结果

按统计学方法统计结果, 结果保留一位小数, 见表 1、2。

表 1 不同季度轮状病毒检测结果

季度	n	阳性	阳性率%
第一季度	170	51	30.0
第二季度	205	25	21.2
第三季度	185	30	16.2
第四季度	220	124	56.4
合计	780	230	29.5

表 2 不同年龄组轮状病毒检测结果

年龄组	n	阳性	阳性率%
小于 1 岁	102	45	44.1
1~2 岁	278	144	51.8
2~5 岁	312	97	31.1
大于 5 岁	88	11	12.5
合计	780	297	38.1

### 3 讨论

由表 1 轮状病毒检测发现第四季度明显高于其他 3 个季度, 第一季也有显著的升高趋势。这和费燕楠等<sup>[2]</sup>的观察结果有一致性, 呈秋季冬季季节性分布。年龄分布趋势由表 2 可见 2 岁以内患病儿童轮状病毒阳性率较高, 说明随着年龄的增大, 机体的抵抗力也逐渐加强。自 1993 年发现轮状病毒(RV)以来, 其已成为世界范围内儿童急性腹泻最重要的病毒病原之一。幼儿受到轮状病毒感染后, 经过 1~3 d 的潜伏期便开始发病, 早期的主要症状是呕吐、体温在 38℃~39℃之间, 继而出现腹泻, 每天大便在 10 次左右, 个别孩子可达 20 次。早期可有粪便, 经数次腹泻后, 大便呈水样或稀米汤样, 无脓血且量较多。轮状病毒感染致腹泻、呕吐、发热, 由于脱水和电解质紊乱而致酸中毒, 不及时纠正是致死的主要原因。此外, 轮状病毒感染后致肠道外器官和系统受累, 其中呼吸系统、中枢神经系统、心血管系统易受侵犯。所以临床上要注意在高发季节, 年龄较小的腹泻儿童检测粪便中的轮状病毒非常重要<sup>[3-4]</sup>。

### 参考文献

[1] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006:636.

[2] 费燕楠, 刘行超, 曾桂芬, 莫姍. 腹泻婴幼儿轮状病毒结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 11(22):2788.

[3] 孔小玲, 刘勇安, 黄慧君, 郑桂芬. 婴幼儿急性腹泻粪便轮状病毒检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(20):2774-2775.

[4] 张开通. 小儿轮状病毒感染致肠道外损害 80 例临床分析[J]. 中国中西医结合儿科学, 2009, 4(2):198-199.

(收稿日期:2014-06-21)