

· 临床检验研究论著 ·

EDTA 诱导假性血小板减少症的临床检验诊断

冯 戟, 罗 丹[△], 王照峰, 赵瑞敏, 刘晓莉

(空军总医院临床检验中心, 北京 100142)

摘要:目的 通过研究 EDTA 依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)患者的临床实验室特征以避免临床的误诊。方法 采集 EDTA-PTCP 患者 EDTA 与枸橼酸钠抗凝的静脉血,在全血细胞分析仪上检测这些标本的 PLT,另外将 EDTA 与枸橼酸钠抗凝血制成的血涂片用于显微镜检。采集所有患者的指血用于手工 PLT 计数。结果 EDTA 抗凝法计数 PLT 与枸橼酸钠抗凝法及手工法进行比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。EDTA 抗凝法计数 PLT 明显低于枸橼酸钠抗凝法及手工法($P < 0.05$)。枸橼酸钠抗凝法与手工法计数 PLT 相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 EDTA 可导致 PLT 假性减少。当 PLT 减少时,应采用枸橼酸钠抗凝血检测及人工计数 PLT 进行确认,以避免 EDTA-PTCP 的误诊与误治。

关键词:血小板减少; 依地酸; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)21-2592-02

Clinical laboratory diagnostics of ethylenediaminetetraacetic acid-dependent pseudothrombocytopenia

Feng Ji, Luo Dan[△], Wang Zhao Feng, Zhao Ruimin, Liu Xiaoli

(Department of Clinical Laboratory, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical laboratory features of patients with ethylenediaminetetraacetic acid-dependent pseudothrombocytopenia(EDTA-PTCP) to avoid incorrect diagnosis. **Methods** Venous blood samples of patients with EDTA-PTCP were collected with dipotassium EDTA and sodium citrate respectively. PLT counting of which were measured on hematology analyzer, and blood smears of which were made for microscope observation. Finger blood samples were also collected, which were used for manual PLT counting. **Results** There were significant difference of platelets counting among EDTA and citrate anticoagulants and manual methods($P < 0.05$). For EDTA-K₂ anticoagulated-blood, PLT is significantly lower than citrate anticoagulated blood and finger blood and there were no significant difference between citrate anticoagulated-blood and finger blood($P > 0.05$). **Conclusion** EDTA-K₂ can accelerate the PLT aggregation and cause PTCP. When platelet reduction is discovered, sodium citrate anticoagulant blood sample and peripheral blood manual PLT counting should be taken to verify PLT counting and to avoid patients with EDTA-PTCP misdiagnosis and mistreatment.

Key words: thrombocytopenia; edelic acid; diagnosis

EDTA 依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)是由于用 EDTA 盐作为抗凝剂在全血细胞分析仪检测过程中,发生假性 PLT 计数减少的现象,在临床发病率非常低,约为 0.1%^[1]。此种假性 PLT 减少无任何病理与生理意义,不需要治疗,但在实际工作中极易被诊断为 PLT 减少,使患者进行许多不必要的辅助检查和治疗,因此研究 EDTA-PTCP 正确的诊断方法具有重要的临床意义。本研究报道了近 2 年住院患者中发现 EDTA-PTCP 的临床实验室特征及解决方案,为避免检验及临床工作者对 EDTA-PTCP 的误诊与误治提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2011 年 12 月期间,住院患者血常规中 PLT 减少,且全血细胞分析仪报警提示 PLT 聚集的患者,其中男 16 例,女 14 例,年龄 13~81 岁。

1.2 仪器与试剂 仪器为美国贝克曼库尔特公司 GEN. S SYSTEM2。试剂包括 GEN. S 仪器配套进口试剂、配套 3 水平质控、PLT 稀释液(南京建成生物工程研究所)、血球计数板 0.1 mm(上海求精生化试剂仪器有限公司)、一次定量取血管 20 μ L(北京红星医疗设备厂)、EDTA-K₂ 及枸橼酸钠抗凝管(广州阳普医疗科技股份有限公司)、瑞氏-姬姆萨 A、B 染液(台湾贝索公司)。

1.3 方法

1.3.1 仪器检测 贝克曼库尔特公司 GEN. S SYSTEM2 全

血细胞分析仪检测住院患者用 EDTA-K₂ 抗凝的血标本(2 mL),对于仪器出现 PLT 低于正常值($100 \sim 350$) $\times 10^9/L$ 且显示 PLT 聚集报警的患者再抽取患者枸橼酸钠抗凝血(3 mL)进行测试。

1.3.2 血涂片染色 分别取 EDTA 抗凝血、枸橼酸钠抗凝血各 1 滴,推制成厚薄适宜的血膜片,风干后,滴加瑞氏-姬姆萨 A 染液 3~5 滴,约 1 min 后,滴加 B 液(缓冲液)5~10 滴,5~10 min 后用缓慢流水冲去染液,待干镜检。

1.3.3 PLT 计数 严格按照全国临床检验操作规程进行 PLT 计数^[2]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS10.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析检验 EDTA 抗凝法、枸橼酸钠抗凝法以及手工法计数 PLT 的差异是否存在统计学意义, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EDTA 抗凝法结果:PLT 计数为(47.4 ± 24.0) $\times 10^9/L$ 。EDTA-PLT 直方图:PLT 峰呈锯齿状分布,显示 PLT 有聚集。血涂片结果:所有血涂片均存在 PLT 聚集现象,片中 PLT 以 20~30 个聚集一起,成堆分布。

2.2 枸橼酸钠抗凝法结果 PLT 计数为(157.0 ± 53.0) $\times 10^9/L$ 。枸橼酸钠抗凝法直方图:PLT 峰呈光滑分布,显示 PLT 无聚集现象。血涂片结果:所有血涂片均无 PLT 聚集现象,全部单个散在分布。

[△] 通讯作者, E-mail: luodan319@yahoo.com.cn.

2.3 手工 PLT 结果 PLT 计数为 $(160.6 \pm 52.8) \times 10^9/L$ 。

2.4 三种方法相比较, EDTA 抗凝法计数 PLT 明显低于枸橼酸钠抗凝法及手工法 ($P < 0.01$)。枸橼酸钠抗凝法及手工法计数 PLT 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果见表 1。

表 1 三种方法计数 PLT 的比较 ($\bar{x} \pm s, 10^9/L$)

方法	计数结果
EDTA 抗凝法	47.4 ± 24.0
枸橼酸钠抗凝法	157.0 ± 53.0*
手工法	160.6 ± 52.8*

*: $P < 0.01$, 与 EDTA 抗凝法比较。

3 讨论

本研究中所有 EDTA-PTCP 患者标本 EDTA 抗凝 PLT 直方图均异常, 仪器均显示 PLT 聚集报警, 血涂片均见 PLT 聚集现象。改用枸橼酸钠抗凝剂重新抽血检测 PLT 计数均正常, PLT 直方图均正常, 仪器无 PLT 聚集报警, 血涂片未见聚集现象。末梢血手工 PLT 计数与枸橼酸钠抗凝血比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明本研究中所有 EDTA-PTCP 患者改用枸橼酸钠抗凝血计数 PLT 结果可信。但有研究报道枸橼酸钠抗凝血也可引起 PLT 计数假性减少^[3]。因此, 对于枸橼酸钠抗凝血进行 PLT 计数时, 应注意采血后立即检测。

本研究中 EDTA-PTCP 见于健康查体 4 例、发热 4 例、贫血 1 例、腰椎间盘突出 1 例、糖尿病坏疽 1 例、慢支 1 例、高血压 1 例、低血压 1 例、色素痣 1 例、白内障 1 例、肺脓肿 1 例、精原细胞瘤 1 例、肺部感染 3 例、淋巴结肿大 1 例、前列腺增生 1 例、肝炎 1 例、肝硬化 1 例、肿瘤化疗 1 例、肿瘤放疗 4 例, 即可见于健康者和患者。其中肝炎、肝硬化、肿瘤患者可出现 EDTA-PTCP, 与其他文献报道一致^[4-6]。肝炎、肝硬化、肿瘤患者等常出现 PLT 数目减少, 一些检验工作者会因与临床诊断相符而直接确认报告, 不会进行复检, 易导致临床医生的误诊误治, 甚至会引引起医疗纠纷, 因此尽早发现此类患者 EDTA-PTCP 尤为重要。本研究提醒广大检验及临床工作者对于肝炎、肝硬化、肿瘤患者 PLT 明显减少, 一定要慎重, 应结合 PLT 直方图、仪器的报警信号及血涂片综合分析, 建议改用枸橼酸钠抗凝剂重新采血且立即检测。

EDTA-PTCP 产生的机制可能包括^[7-9]: (1) EDTA 盐作为抗凝剂诱导 PLT 膜糖蛋白暴露, 糖蛋白与嗜异性抗体反应, 形成聚集、堆积和发生卫星现象, PLT 聚集成较大颗粒时, 仪器只识别颗粒大小而不能去辨别颗粒性质, 致使多个 PLT 被当成单个计数, 或被误认为小红细胞而不纳入 PLT 计数范围, 致使全血细胞分析仪计数 PLT 偏低。(2) 可能与自身免疫性疾病相关, 因为 EDTA-PTCP 患者的血清免疫球蛋白的水平普遍高于健康人, 而且他们中的大部分人血清抗 PLT 抗体和/或抗心磷脂抗体阳性。(3) 此现象为一种温度依赖性抗体所致, 其依据是在室温条件下出现 PLT 聚集现象。而在 37℃ 时则无此现象的发生。

临床上 EDTA-PTCP 误诊的原因可能有: (1) 临床检验标本量大, 忽视与临床的沟通; (2) 标本采集到检测的放置时间较长, 尤其见于住院患者。许多研究表明 EDTA PLT 减少与血液样本采集和 PLT 计数间搁时间延长有关^[3,10], EDTA-K₂ 抗凝血采血 5 min 涂片, 瑞-姬染色 PLT 呈正常散在分布, EDTA-K₂ 抗凝血在采血 5 min 仪器法检测与手工法检测 PLT 结果一致^[11], 说明 EDTA-K₂ 抗凝血采血后短时间内测定, 可以得到准确结果。(3) 由于 EDTA-PTCP 发生率极低, 部分检验工作者与临床医生对其认识不足或重视不够等。因此, 针对临床上单纯 PLT 计数降低, 与临床沟通无皮肤紫癜、牙龈出血、

鼻出血、胃肠道与泌尿系出血等 PLT 减少病症, 且凝血项目正常, 检验工作者应考虑假性 PLT 减少的可能性, 建议用枸橼酸钠抗凝重新采血, 并尽快检测。值得注意的是, 本研究中 EDTA 抗凝剂所致 PLT 假性减少的病例中, 仪器均提示 PLT 聚集及 PLT 直方图异常, 但一些医院的仪器没有 PLT 聚集提示功能。所以对于首次检测 PLT 减低的标本对于仪器无提示或报警的, 也需要将抗凝血涂片染色后显微镜检查, 观察是否有 PLT 聚集成堆的现象, 尽早发现假性 PLT 减少。

有研究报道 PTCP 患者血常规样品抽血后 1 h 内加入丁胺卡那霉素能有效解离凝集的 PLT, 作用机制可能与抑制患者 PLT 膜表面 CD62p、PAC-1 和 IgG 的表达有关, 此法有助于解决 EDTA 所致的 PLT 计数的假性减少^[12], 此法也可能成为一种解决办法。

综上所述, 检验医师对于 PLT 显著减少的病例应与临床进行沟通, 对于无任何出血症状, 应考虑假性 PLT 减少的可能性。首先, 观察仪器是否有 PLT 聚集及 PLT 直方图异常的报警信号, 同时进行血涂片染色镜检观察是否有 PLT 聚集成堆的现象, 即结合仪器报警信号、PLT 直方图、血涂片综合分析。然后, 建议临床改用枸橼酸钠抗凝管采集静脉血并立即进行仪器检测, 同时, 检验工作者应采集末梢血进行手工 PLT 计数进行复核, 尽一切可能避免由于 EDTA-PTCP 引发的医疗差错。本研究认为为了避免误诊与误治, EDTA 诱导的 PLT 减少症应当受到广大检验工作者以及临床医生的高度重视。

参考文献

- [1] Lothar Thomas. 临床实验诊断学[M]. 吕元, 译. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 474.
- [2] 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: 136.
- [3] 刘立军. 枸橼酸钠、EDTA 依赖性假性血小板减少 1 例[J]. 中国热带医学, 2006, 6(12): 2216.
- [4] 江必武, 刘浩, 王顺, 等. 慢性肝炎患者发生乙二胺四乙酸依赖性假性血小板减少症的诊治体会[J]. 血栓与止血学, 2010, 16(3): 133-134.
- [5] 魏娟, 左红. EDTA 抗凝剂引起的血小板减少和白细胞增多[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(15): 1948-1949.
- [6] 姚新洁, 张长庚, 严香菊, 等. 乙二胺四乙酸盐依赖性血小板假性减少症与获得性自身免疫的关系[J]. 临床血液学杂志, 2009, 22(6): 646-647.
- [7] 郑军. EDTA 依赖性假性血小板减少症血小板表面糖蛋白活化的研究[J]. 中国血液流变学杂志, 2007, 17(3): 481-482.
- [8] 姚新洁, 李平, 东利平, 等. 乙二胺四乙酸盐依赖性血小板假性减少症与自身免疫性疾病的关系[J]. 临床血液学杂志, 2008, 21(1): 75-76.
- [9] De Caterina M, Fratellanza G, Grimaldi E, et al. Evidence of a cold immunoglobulin M autoantibody against 78-kD platelet glycoprotein in a case of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia[J]. Am J Clin Pathol, 1993, 99(2): 163-167.
- [10] 顾挺, 苏娜. 20 例 EDTA-K₂ 致假性血小板减少动态分析[J]. 新疆医科大学学报, 2009, 32(9): 1366-1367.
- [11] 刘英华, 李振燕, 李清源. EDTA 依赖性假性血小板减少症及纠正方法探讨[J]. 中国医师进修杂志, 2008, 31(5): 68-69.
- [12] 周小棉, 赖金甜, 张伟红, 等. 丁胺卡那霉素对 EDTA 依赖性凝集血小板的解离及其机制[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(6): 429-431.