

• 论 著 •

## 27 例乙二胺四乙酸依赖性假性血小板减少特点及临床分析

于 明, 靳海龙, 张宝秋<sup>△</sup>

(首都医科大学附属北京胸科医院/北京市结核病胸部肿瘤研究所检验科, 北京 101149)

**摘要:**目的 分析乙二胺四乙酸(EDTA)导致血小板聚集的特点,探讨与此现象有关的危险因素。方法 用 Sysmex XN-3000 对 2014 年 1 月至 2015 年 8 月间的 30 700 例 EDTA-K<sub>3</sub> 抗凝标本测定,其中 27 例发生 EDTA 依赖性假性血小板减少(EDTA-PTCP)。再次采集 27 例患者的 EDTA-K<sub>3</sub> 和枸橼酸钠抗凝血标本进行测定并制作血涂片,显微镜检观察血小板分布,同时采集指血手工计数血小板。分析 27 例患者的生化指标,并与 50 例非 EDTA-PTCP 体检健康者结果对比。结果 EDTA 抗凝血血小板数明显低于枸橼酸钠抗凝血,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而枸橼酸钠抗凝血与手工法结果相近( $P > 0.05$ )。EDTA-PTCP 患者丙氨酸氨基转移酶(ALT)、血糖(Glu)、三酰甘油(TG)比健康者高,而高密度脂蛋白(HDL)要比健康者低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 EDTA 引起假性血小板减少的程度取决于患者对 EDTA 的敏感度,该现象的存在可能与高血脂、高血糖有关。当发生 EDTA-PTCP 时,应更换抗凝剂或者手工计数血小板,从而避免漏诊。

**关键词:**乙二胺四乙酸; 假性血小板减少; 血小板聚集; 高血糖症; 高脂血症

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)09-1200-03

### Analysis of characters and biochemical profiles of 27 cases with EDTA-Dependent Pseudothrombocytopenia

Yu Ming, Jin Hailong, Zhang Baoqiu<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Beijing Chest Hospital affiliated to Capital Medical University/  
Beijing Tuberculosis and Thoracic Tumor Research Institute, Beijing 101149, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the characters about anticoagulation EDTA on the platelet aggregation, and discuss the risk factors about EDTA-PTCP by analyzing the biochemical parameters. **Methods** 30 700 EDTA-K<sub>3</sub> blood samples were collected from January 2014 to August 2015. WBC was performed using Sysmex XN-3000 and 27 cases were identified of EDTA-PTCP. The blood samples of 27 subjects were recollected and WBC was repeated using EDTA-K<sub>3</sub> and sodium citrate blood, respectively. Manual platelet counting and smear microscope examination on periphery blood were also performed. Biochemical parameters of 27 subjects with EDTA-PTCP were compared with 50 randomly selected non EDTA-PTCP controls. **Results** Platelet counts in citrated blood were significantly higher than EDTA blood, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ), but similar to manual platelet counting ( $P > 0.05$ ). ALT, Glu and TG in patients with EDTA-PTCP were significantly higher than normal people, but HDL was significantly lower than control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia varies from people with different disease or using different medicine. It may be relative to hyperglycemia and hyperlipidemia. Another approach for rectifying, changing anticoagulant or manual platelet counting is a better way lead to correctly diagnose when EDTA-PTCP occurred.

**Key words:** ethylene diamine tetraacetic acid; pseudothrombocytopenia; platelet aggregation; hyperglycemia; hyperlipidemia

乙二胺四乙酸(EDTA)依赖性假性血小板减少(EDTA-PTCP)是一种发生在体外的血小板聚集现象,这种现象导致血细胞计数仪无法准确计数而出现血小板数量明显减少<sup>[1]</sup>。虽然 EDTA 被认为是全血细胞计数及分类的最理想抗凝剂,但同时也是引起假性血小板减少最常见的原因<sup>[2]</sup>。研究报道 EDTA-PTCP 患者的发生率为 0.07%~0.2%<sup>[2-4]</sup>。而在恶性肿瘤、慢性肝病、孕妇、自身免疫病及心血管疾病的患者中发生率较健康者高<sup>[5]</sup>。因此,本文主要分析 EDTA 依赖性血小板减少特点,并通过生化指标的分析,探讨与 EDTA-PTCP 发生相关的危险因素。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2014 年 1 月至 2015 年 8 月本院住院患者 EDTA-K<sub>3</sub> 抗凝血细胞标本 30 700 例,排除存在冷凝集和不可见凝块标本,最终确认 27 例 EDTA-PTCP(EDTA-PTCP 组),其中男性 16 例,年龄 24~81 岁,女性 11 例,年龄 15~85 岁。

EDTA-PTCP 的筛选标准在 Lin 等<sup>[6]</sup>的基础上还有两处改进。(1)初诊血小板计数小于  $100 \times 10^9/L$  或者 3 d 内血小板数值较历史结果减少 30% 以上,同时未见出血或出血倾向等临床表现或症状。(2)血细胞分析仪报警信息提示血小板聚集。对照组 50 例标本全部来自于本院体检健康者,按照筛选标准无 EDTA-PTCP 及其他疾病。

**1.2 仪器与试剂** Sysmex XN-3000 全自动血细胞分析仪(日本希森美康公司)、Beckman Coulter AU2700 全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)以及原厂配套试剂和质控品。EDTA-K<sub>3</sub>、枸橼酸钠(3.2%)抗凝剂真空采血管以及生化促凝管(美国 BD 公司)。瑞氏-吉姆萨染液(珠海贝索生物技术有限公司)。血小板计数稀释液,参照《全国临床检验操作规程》配制<sup>[7]</sup>。Olympus CX-21 显微镜(日本 Olympus 公司)。

**1.3 方法** 使用 Sysmex 及 Olympus 配套试剂及质控品,按照实验室标准操作程序(SOP)进行质控品测定,结果均在允许

范围内。将 EDTA-K<sub>3</sub> 和枸橼酸钠抗凝标本充分混匀,按照标准流程上机检测。对符合 EDTA-PTCP 任意筛选标准的标本,在排除标本质量问题和检测偶然误差外,行血涂片检查,瑞氏-吉姆萨染色后油镜(×100 倍)观察血小板分布情况。确认血小板聚集的患者再次采集 EDTA 和枸橼酸钠抗凝血各 1 管,同时采集指血,稀释后行血小板手工计数,测定方法参照《全国临床检验操作规程》进行操作,枸橼酸钠抗凝血测定的血小板数值应乘以 1.1<sup>[8]</sup>。对符合 EDTA-PTCP 筛选标准的样本采集血样于生化促凝管中,充分凝固后离心(3 000×g,离心 10 min),按照标准流程对生化指标进行检测。

**1.4 统计学处理** 所有结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 GraphPad Prism 6.0 进行处理,3 种不同方法检测血小板的比较采用配对 *t* 检验,EDTA-PTCP 组与对照组生化指标的比较采用 Mann-Whitney 秩和检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 3 种方法检测血小板结果** 在 30 700 例标本中,初诊血小板低于  $100 \times 10^9/L$  的有 1 564 例(5.09%),血细胞分析仪报警血小板聚集有 77 例(0.25%),经涂片复检,最终确定 EDTA-PTCP 为 27 例(0.09%)。其中 7 例血小板数值在正常范围内,显微镜下血小板呈 5~10 个聚集成簇分布于片中见图 1A、C(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”),20 例血小板数值明显减少,显微镜下呈几十至上百个聚集成片状分布于尾部及边缘两侧见图 1B、D(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”),而在枸橼酸抗凝剂中则都呈均匀散在分布。经血细胞分析仪测定枸橼酸钠抗凝血血小板数量( $182 \pm 64.3$ ) $\times 10^9/L$  与 EDTA 抗凝血血小板数量( $74 \pm 31.2$ ) $\times 10^9/L$  比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而与手工计数血小板( $183 \pm 63.3$ ) $\times 10^9/L$  比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

**2.2 EDTA-PTCP 组和对照组生化指标分析** 两组总胆红素(TBiL)、尿素氮(Ure)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而两组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、血糖(Glu)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

| 表 1 EDTA-PTCP 组与对照组生化指标比较( $\bar{x} \pm s$ ) |                                 |                     |          |
|----------------------------------------------|---------------------------------|---------------------|----------|
| 指标                                           | EDTA-PTCP 组<br>( <i>n</i> = 27) | 对照组( <i>n</i> = 50) | <i>P</i> |
| ALT(U/L)                                     | 16.7 ± 5.9                      | 13.5 ± 7.0          | 0.005 8  |
| T-BiL(μmol/L)                                | 14.7 ± 7.6                      | 12.3 ± 3.6          | 0.363 2  |
| Glu(mmol/L)                                  | 6.6 ± 2.2                       | 4.8 ± 0.4           | 0.000 3  |
| Ure(mmol/L)                                  | 6.3 ± 4.2                       | 4.7 ± 1.3           | 0.116 7  |
| Cr(μmol/L)                                   | 70.3 ± 22.7                     | 64.6 ± 10.5         | 0.399 7  |
| UA(μmol/L)                                   | 307.7 ± 177.6                   | 276.3 ± 67.5        | 0.627 7  |
| TC(mmol/L)                                   | 4.4 ± 1.5                       | 4.1 ± 0.4           | 0.603 3  |
| TG(mmol/L)                                   | 1.6 ± 1.3                       | 0.9 ± 0.4           | 0.024 4  |
| HDL(mmol/L)                                  | 1.1 ± 0.3                       | 1.3 ± 0.2           | 0.021 8  |
| LDL(mmol/L)                                  | 2.7 ± 1.0                       | 2.6 ± 0.3           | 0.746 9  |

3 讨 论

EDTA-PTCP 是由 EDTA 抗凝剂引起的发生在体外的血

小板聚集现象。目前认为 EDTA 引起血小板聚集的原因是由于存在能够识别血小板细胞膜糖蛋白 II b/III a(GP II b/III a)受体的 EDTA 依赖性自身抗体。正常情况下抗原抗体结合位点隐藏在复合物内部,当遇到 EDTA 时,其位点发生改变,血小板被激活,导致聚集发生<sup>[9-10]</sup>。EDTA 引起的小血小板聚集程度并不相同,本实验中有 20 例血小板明显减少,7 例血小板检测在正常范围,血涂片表现为局部聚集,而在枸橼酸钠抗凝剂中均无聚集现象,由此推断患者对 EDTA 的敏感度存在个体差异,这种差异与患者接受治疗的药物和自身疾病有关。有研究指出针对血小板 GP II b/III a 抗体的药物阿昔单抗能够引起约 2% 的患者发生 EDTA-PTCP<sup>[11]</sup>,0.07% 的恶性肿瘤患者接受化疗药物治疗后出现 EDTA-PTCP<sup>[12]</sup>,国内也曾报道抗结核药物诱导 EDTA-PTCP 的发生<sup>[13]</sup>,而对于抗磷脂抗体阳性的自身免疫病患者其发生 EDTA-PTCP 概率要比健康者和同种疾病中抗磷脂抗体阴性的患者高<sup>[14]</sup>。出现 EDTA-PTCP 时一般更换抗凝剂就能解决,本文中 27 例更换抗凝剂后均未再发生血小板聚集。而对于某些患者枸橼酸钠、肝素等多种抗凝剂均能引起血小板聚集<sup>[15]</sup>,此时需要手工计数血小板。

虽然 EDTA-PTCP 与多种疾病状态有关,但至今未有证实哪种疾病能够直接引起该现象的产生。曾有针对健康人群 EDTA-PTCP 发生因素的调查<sup>[16]</sup>,而对住院患者 EDTA-PTCP 的危险因素尚未见报道。研究者对 27 例患者的生化指标进行了分析,并与 50 例体检健康者比较,发现两组 ALT、Glu、TG、HDL 间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。分析其原因,可能由于高三酰甘油血症时,肝脏脂代谢负担增加,肝细胞易受损,出现转氨酶增高,而且血液呈高凝状态,纤溶活性降低,血小板凝集性增高,易出现假性减少;长期高血糖易损伤血管内皮,导致血小板凝集不易解散<sup>[11]</sup>;而 HDL 作为公认的心血管保护因子,能促进胆固醇的逆转运和组织细胞内胆固醇的清除,减少高脂血症的发生。

EDTA 作为抗凝剂在血常规分析中有着不可替代的优势,但同时也要注意 EDTA-PTCP 的发生。虽然 EDTA-PTCP 并非一种疾病状态,但会导致不必要的过度检查和治疗。虽然高血糖症、高脂血症可能与 EDTA-PTCP 的发生有关,但其作用机制还有待于进一步研究。

参考文献

[1] Lippi G, Plebani M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: further insights and recommendations for prevention of a clinically threatening artifact[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(8): 1281-1285.

[2] Garcia SJ, Merino JL, Rodriguez M, et al. Pseudothrombocytopenia: incidence, causes and methods of detection[J]. Sangre (Barc), 1991, 36(3): 197-200.

[3] Bartels PC, Schoorl M, Lombarts AJ. Screening for EDTA-dependent deviations in platelet counts and abnormalities in platelet distribution histograms in pseudothrombocytopenia[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1997, 57(7): 629-636.

[4] Yoneyama A, Nakahara K. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia—differentiation from true thrombocytopenia[J]. Nihon Rinsho, 2003, 61(4): 569-574.

[5] Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up[J]. Am J Hematol, 1995, 50(2): 103-109.

[6] Lin J, Luo Y, Yao S, et al. Discovery and correction(下转第 1204 页)

**2.3 术中输血及术后随访情况** 自体血回输组的平均异体血量(40±15)mL、平均回输血量(363±142)mL 和急性等容量血液稀释组的平均异体血量(63±16)mL、平均回输血量(642±134)mL,与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。术后随访所有患者,对照组有患者死于肺部感染,而其他两组患者随访均未出现并发症。

**2.4 各组患者不同时间点 IL-6、TNF-α 及 WBC 水平比较** 见表 3。

3 讨 论

众所周知,输异体血所带来的并发症相当严重,为避免输血并发症及缓解血资源是当今急需解决的问题。然而脊柱外科手术是出血较多的手术,自体血回输和急性等容量血液稀释在脊柱外科中是比较常用的血液保护方法<sup>[4]</sup>。自体血回输是指在手术过程中经血液回收机收集失血,经自动处理后去除血浆及有害物资,从而得到 HCT 高达 50%~60%的浓缩红细胞,然后输入机体,具有获的大量的游离 Hb,除去细胞碎片、抗凝剂、肝素等有害物质的优点,缺点是术中使用自体血液回收机在回收的过程中各种管道和与空气接触可以引起全身炎症反应;回收装置费用高<sup>[5]</sup>。急性等容量血液稀释是指在术前先输入一定的晶体液或胶体液然后缓慢的经大静脉回抽一定的血量,在需要的时候回输入机体,血液稀释后术中血液的有形成分丢失减少,从而使术中出血量减少。优点:防止术中栓塞及血栓形成;在血容量足够的前提下,Hb 不低于 70 g/L,即可向组织提供足够的氧供;外周血管阻力降低,微循环得到改善;有助于减少对冠脉疾病的不利影响;回收的过程中各种管道与空气接触的面积和时间明显减少,从而减少全身炎症反应;节约血资源。缺点:有报道可引起局部肾功能损坏。

IL-6 和 TNF-α 由多种细胞合成和分泌,具有中性粒细胞和单核细胞趋化作用,活化和释放炎性介质。在手术时 IL-6 和 TNF-α 有所改变,尤其与手术刺激、血液与空气接触时间长短<sup>[6]</sup>,以及血液与管道接触面积的大小等有关,本实验通过检

测 IL-6、TNF-α 来判断术中及术后全身炎症反应情况。本实验证明,通过自体血回输组和急性等容量血液稀释组回收血 WBC 计数均高于术前,这两组回收的血液经洗涤和过滤后 WBC 计数下降;各组患者在 T2~T5 时间点的血清 IL-6、TNF-α 及 WBC 水平与 T1 比较显著增高,但均明显低于对照组,说明自体血回输组和急性等容量血液稀释组均能有效地减轻患者的全身炎症。通过术中收集的血液回输量和输异体血量明显看出,自体血回输组和急性等容量血液稀释组能够节约大量的血资源。

综上所述,自体血回输组和急性等容量血液稀释组易操作、简单、安全,减少输异体血的并发症,节约血资源,减少全身炎症反应,进行有效的血液保护,促进患者早日康复,在临床中值得推广。

参考文献

[1] 周宏莉,吕建春. 自体 and 异体输血对严重创伤患者凝血功能的影响分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(18):2287-2288.  
[2] 张振,林研,吴德升,等. 术中自体血回输在脊柱外科手术中的应用及其并发症[J]. 中国骨与关节损伤杂志,2011,26(11):1028-1029.  
[3] 周芬娜. 术中自体血回输在脊柱手术中的应用及对围术期血液指标的影响[J]. 全科医学临床与教育,2012,10(6):636-639.  
[4] Butler JS,Burke JP,Dolan RT,et al. Risk analysis of blood transfusion requirements in emergency and elective spinal surgery[J]. Eur Spine J,2011,20(5):753-758.  
[5] 刘建忠,何静,陈方祥,等. 术中自体血回输在脊柱手术中的应用[J]. 重庆医学,2007,36(21):2150-2151.  
[6] 张志永. 术中自体血回输对患者全身炎症反应的影响及其防治[D]. 北京:北京协和医学院博士论文,2013.

(收稿日期:2015-12-22)

(上接第 1201 页)

of spurious low platelet counts due to EDTA-Dependent pseudothrombocytopenia[J]. J Clin Lab Anal,2015,29(5):419-426.  
[7] 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,2006:122.  
[8] 刘春生,柳发虎,浦春,等. 不同抗凝剂对血小板检测结果的影响[J]. 检验医学与临床,2011,8(8):899-900.  
[9] Lippi G,Guidi G,Nicoli M. Platelet count in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia[J]. Eur J Haematol,1996,56(1/2):112-113.  
[10] Ozcelik F,Arslan E,Serdar MA,et al. A useful method for the detection of ethylenediaminetetraacetic acid-and cold agglutinin-dependent pseudothrombocytopenia[J]. Am J Med Sci,2012,344(5):357-362.  
[11] 周小棉,邹晓. 假性血小板减少症研究进展[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(9):1065-1068.  
[12] 邝妙欢,欧阳文婷,林建华,等. 肿瘤患者 EDTA 依赖性假性血小板减少的临床分析[J]. 中华医学杂志,2010,90(44):3144-3146.

[13] 杨澄清,陆兰英,黄海. 抗结核药物诱导乙二胺四乙酸依赖性血小板假性减少 3 例[J]. 医药导报,2012,20(8):1098-1099.  
[14] Bizzaro N,Brandalise M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. Association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies[J]. Am J Clin Pathol,1995,103(1):103-107.  
[15] 周小棉,赖金甜,张伟红,等. 丁胺卡那霉素对 EDTA 依赖性凝血血小板的解离及其机制[J]. 临床检验杂志,2008,26(6):429-431.  
[16] Xiao Y,Yu S,Xu Y. The prevalence and biochemical profiles of EDTA-Dependent pseudothrombocytopenia in a generally healthy population[J]. Acta Haematol,2015,134(3):177-180.

(收稿日期:2015-10-28)

