

EDTA-K₂抗凝剂致血小板假性减少的原因及纠正方法探讨

李 艳,孙家祥

(德阳市人民医院检验科,四川 德阳 618000)

【摘要】 目的 探讨乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝剂对假性血小板减少(PTCP)的影响及纠正方法。方法 对82例PTCP者用EDTA-K₂、枸橼酸钠分别抗凝重新抽血送检,EDTA-K₂抗凝管在15 min、1 h及2 h,枸橼酸钠抗凝管在15 min以内分别用血细胞分析仪检测,同时取末梢血人工显微镜血小板计数。另设健康对照组20例分别用EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝采静脉血,在0 min、5 min、15 min、30 min、60 min用血细胞分析仪计数血小板。结果 PTCP组EDTA-K₂抗凝血15 min血小板计数结果明显低于枸橼酸钠抗凝和显微镜计数结果($P<0.001$);1 h及以后更低。枸橼酸钠抗凝和显微镜计数结果比较,差异无统计学意义($t=1.646, P=0.103$);对照组EDTA-K₂抗凝结果和枸橼酸钠抗凝15 min以内计数结果比较差异无统计学意义($P>0.05$),30 min及以后结果差异有统计学意义($P<0.001$)。EDTA-K₂抗凝标本0 min与60 min检测结果比较差异无统计意义($t=0.857, P=0.402$)。PTCP组EDTA-K₂抗凝标本血涂片可见大量血小板聚集或卫星现象,随时间延长聚集加剧。结论 EDTA-K₂对血小板可产生聚集作用,引起PTCP。在一定条件下,用枸橼酸钠替代EDTA-K₂抗凝静脉血做血小板计数或采末梢血用草酸胺稀释液显微镜人工计数,可以纠正PTCP。

【关键词】 血小板假性减少;血小板计数;乙二胺四乙酸;枸橼酸钠

【中图分类号】 R446.11 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2013)21-3187-03

Cause and correction of pseudothrombocytopenia caused by anticoagulant EDTA-K₂. Li Yan, SUN Jia-xiang. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Deyang City, Deyang 618000, Sichuan, CHINA

【Abstract】 Objective To study the effect of anticoagulant ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)-K₂ on pseudothrombocytopenia (PTCP), and to investigate the correction methods. **Methods** Eighty-two PTCP cases used EDTA-K₂, sodium citrate as anticoagulants and the blood samples were drawn for examination. EDTA-K₂ anticoagulant tubes at 15 min, 1 h and 2 h, sodium citrate anticoagulant tubes within 15 min were detected by automatic hematology analyzer. At the same time, the peripheral blood was taken, and the platelets were counted through microscope. Another 20 healthy people were selected as the control group, with EDTA-K₂, sodium citrate anticoagulation, in which platelets were counted at 0 min, 5 min, 15 min, 30 min, 60 min by automatic hematology analyzer. **Results** The platelet count results of PTCP group with EDTA-K₂ anticoagulation at 15 minute was significantly lower than that of PTCP group with sodium citrate anticoagulation and microscopic counting ($P<0.001$), even lower at 1 h. The results of sodium citrate anticoagulation within 15 minutes had no statistically significant difference with that of microscopic counting ($t=1.646, P=0.103$). The results of EDTA-K₂ anticoagulation in the control group and sodium citrate anticoagulation within 15 minutes showed no statistically significant difference ($P>0.05$), with statistically significant difference at 30 min and later ($P<0.001$). EDTA-K₂ anticoagulant specimens of 0 min and 60 min detection results has no statistically significant difference ($t=0.857, P=0.402$). The blood smears of PTCP group with EDTA-K₂ anticoagulation specimens showed large amounts of blood aggregation or satellite phenomenon, aggregation increased with the extension of time. **Conclusion** EDTA-K₂ can induce aggregation of platelets and cause PTCP. Under certain conditions, the replacement of EDTA-K₂ with sodium citrate for anticoagulation for platelets counting or artificial microscopic counting of peripheral blood with oxalic acid amine dilution, can correct PTCP.

【Key words】 Pseudothrombocytopenia; Platelet count; Ethylenediamine tetraacetic acid; Sodium citrate

血小板不仅在机体止血和凝血方面发挥重要作用,近年来研究表明,其相关参数的变化还和某些疾病的发生发展密切相关,对疾病诊疗及预后评估意义重大。血小板计数目前国内广泛采用乙二胺四乙酸

二钾(EDTA-K₂)抗凝剂在血细胞分析仪上进行自动计数检测。EDTA-K₂对血细胞计数影响较小,但有时可诱导血小板聚集粘附,引起EDTA依赖性假性血小板减少症(PTCP),致血小板计数发生严重误差,而血细胞分析仪不能自动识别处理,往往给患者造成不必要的经济负担甚至严重后果。自Mant1975年首次发现EDTA-K₂可致血小板假性减少以来^[1],国内近几年偶有报道。本文通过对我院发现的82例PTCP者进行分析,以探讨选择科学的方法排除干扰,保证血小板计数的准确性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 PTCP组 2012年1~12月共检测体检和住院患者85 000个标本,约32 000人,发现血小板聚集导致血小板假性减少并最终确认为PTCP者82例。其中男性35例,女性47例,年龄15~76岁,平均(45.5±18.3)岁。

1.1.2 对照组 我院健康体检者20例,排除心、肝、肺、肾、脑等重要脏器及免疫性疾病,血小板直方图正常。年龄20~68岁,平均(42.5±16.2)岁。

1.2 仪器与材料 Sysmex-XE2100血细胞分析仪及配套试剂;Olympus双目显微镜;抗凝剂为EDTA-K₂、109 mmol/L枸橼酸钠;草酸胺血小板稀释液^[2];瑞-姬染色液。

1.3 检测与分析 参照国际自动CBC和DC复检规则^[3]与血小板直方图,对血小板低于 $70 \times 10^9/L$ 可疑样本推片,发现血小板聚集者,确定为假性血小板减少。排除采血因素及其他原因干扰,对确认的82例PTCP用EDTA-K₂、枸橼酸钠分别抗凝重新抽血送检,EDTA-K₂抗凝管在15 min、1 h及2 h,枸橼酸钠抗凝管在15 min以内分别用血细胞分析仪检测;并同时采末梢血加入草酸胺稀释液显微镜人工计数。EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝血每份标本涂血片经瑞-姬染色观察血小板分布情况。对照组分别用枸橼酸钠、EDTA-K₂抗凝抽血,在即刻(0 min)、5 min、15 min、30 min、60 min上机血小板计数。所有数据为两次计数均值。

1.4 统计学方法 采用SPSS11.0软件包进行数据统计。数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用配对 t 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTCP组EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝及显微镜

计数结果比较 EDTA-K₂抗凝15 min血小板计数结果明显低于枸橼酸钠抗凝和显微镜计数结果(EDTA-K₂管与枸橼酸钠管比较: $t=7.142, P<0.01$; EDTA-K₂管与显微镜计数结果比较: $t=7.190, P<0.01$); 1 h及以后结果更低。枸橼酸钠抗凝和显微镜计数结果比较,差异无统计学意义($t=1.646, P=0.103$),见表1。

表1 PTCP患者EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝及显微镜计数结果比较($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)

时间(min)	EDTA-K ₂	枸橼酸钠	显微镜计数
15	108±25	146±29 ^a	145±28 ^a
60	65±12		
120	30±11		

注:与EDTA-K₂抗凝管比较,^a $P<0.01$ 。

2.2 对照组血小板计数结果 20例健康体检者EDTA-K₂抗凝和枸橼酸钠抗凝血小板在15 min以内计数结果差异无统计学意义($P>0.05$),30 min及以后结果差异有统计学意义($P<0.01$)。EDTA-K₂抗凝标本0 min与60 min检测结果比较差异无统计意义($t=0.857, P=0.402$),说明枸橼酸钠抗凝血小板在15 min以后不稳定逐渐降低,EDTA-K₂抗凝标本血小板稳定,见表2。

表2 20例健康体检者EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝血小板计数结果比较($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)

时间(min)	EDTA-K ₂	枸橼酸钠	t 值	P 值
0	219±49	218±53	0.68	0.505
5	219±48	217±53	1.27	0.219
15	218±48	215±50	1.637	0.118
30	218±49	195±46	7.447	<0.01
60	218±49	172±35	8.764	<0.01

2.3 血涂片镜检情况 PTCP组EDTA-K₂抗凝标本血涂片在镜下可见大量血小聚集或卫星现象,随时间延长聚集加剧,部分成团状。对照组EDTA-K₂抗凝标本和15 min以内枸橼酸钠抗凝标本血小板散在均匀分布,30 min时枸橼酸钠抗凝标本有微聚集表现,60 min时可见聚集明显增加。

3 讨论

EDTA致血小板计数假性减少的机制目前尚不清楚,其可能与血小板表面存在某种隐匿性抗原有关,在EDTA作为抗凝剂的前提下,出现免疫介导的血液中冷抗血小板自身抗体的产生^[4],导致血小板聚集。也有可能是某些患者血浆中本身就存在抗血小板抗体、抗心磷脂抗体、自身抗体等因素^[5],EDTA存在时加剧血小板聚集或卫星现象的产生,致血细

胞分析仪计数血小板时减低。宓庆梅等^[6]报道PTCP的发生率为0.09%~0.21%,我们的统计约为0.26%,略有增高,有可能跟我们统计的病例主要来自住院患者有关。本资料只关注了血小板计数低于 $70 \times 10^9/L$ 的病例,对这些病例才特别进行了血小板直方图观察和显微镜涂片检查血小板有无聚集。而对于一些血小板数量较高即使因EDTA原因未降至 $70 \times 10^9/L$ 以下的病例就有可能漏检,实际的发生率可能更高。

在实际工作中,由于血细胞分析国内普遍使用EDTA-K₂抗凝静脉血上机检测,如未对PTCP引起足够重视,对血小板减低病例,如显微镜人工计数复查仍用原标本稀释,对PTCP患者会导致错误报告。即使发现有血小板聚集,如只考虑到采血因素重新抽血仍用EDTA-K₂抗凝,对于住院患者尤其是普通病例标本通过流通渠道送达实验室时间往往较长,血小板聚集会随时间延长加剧,即使多次复查也无实际意义,给临床造成血小板减少的假象,这也是PTCP容易被忽略的原因。

对PTCP的处理方式及纠正措施目前有多种报道。马春芳等^[7]报道利用血液分析仪警示信息可有效筛查EDTA依赖性假性血小板减少症。血液分析仪中非白细胞域异常散点图对检出PTCP敏感性为100%,特异性为95.9%,出现血小板聚集警示信息对检出PTCP敏感性为92.6%,特异性为97.6%。但由于血细胞分析仪型号差异,检测血小板原理各不相同,实际工作中可能提示信息的反应也不一致。张伟红等^[8]研究表明抽血后放置1 h内加入6.5 mg/ml丁胺卡那霉素,能抑制患者血小板膜表面CD_{62p}、PAC-1和IgG的表达,有效解离EDTA抗凝剂依赖性血小板凝集,且不影响其他血

细胞的计数,有助于解决EDTA所致的血小板计数的假性减少。也有文献报道用肝素钠抗凝对PTCP患者在抽血后15 min以内进行复查,也可获得准确结果^[9]。

我们的实验表明,虽然枸橼酸钠抗凝血小板在15 min以后其稳定性逐渐降低,但在15 min内检测结果是可靠的,只要掌握好时间可以消除血小板聚集的影响,该方法适用于住院病例的复查。对于门诊患者,采用末梢血草酸胺稀释液显微镜计数,虽然精密度不如血细胞分析仪,但对于异常结果的复检仍不失为一种简单有效的方法。

参考文献

- [1] 邝妙欢, 陆青云, 钟义富, 等. 假性血小板减少的相关因素[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2009, 30(4): 121-124.
- [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] Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, et al. The International Consensus Group for Hematology Review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis [J]. Lab Hematol, 2005, 11: 83-90.
- [4] 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.
- [5] 王苏平, 周金, 吴静, 等. EDTA抗凝血检测血小板计数变化一例分析[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(2): 39.
- [6] 宓庆梅, 施巍宇, 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.
- [7] 马春芳, 王剑超, 陈雪静. 利用血液分析仪警示信息筛查EDTA依赖性假性血小板减少症[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(3): 181-187.
- [8] 张伟红, 周小棉, 巫小莉, 等. 抗凝剂依赖假性血小板减少症凝集血小板解离及机理研究[J]. 现代医院, 2010, 10(2): 24-27.
- [9] 马雨东. 血细胞分析仪测定血小板时抗凝剂等影响因素分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(11): 1078-1080.

(收稿日期:2013-04-25)