

血推片检测对乙二胺四乙酸二钾盐依赖性血小板假性减少症的临床意义

茅俊翔, 茅蔚[△] (上海交通大学医学院附属仁济医院检验科, 上海 200001)

【摘要】 目的 探讨乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)诱导血小板聚集的原因并加以纠正,为临床提供准确的实验室数据。**方法** 采用迈瑞 BC-5800 全自动血细胞分析仪对 2012 年 1 月至 2014 年 10 月该院门诊患者标本中的血小板计数低于 $100 \times 10^9/L$ 的标本进行人工推片染色镜检,发现存在血小板聚集现象的标本 33 例。**结果** 33 例 EDTA 依赖性血小板减少症(PTCP)患者改用枸橼酸钠抗凝,综合血涂片检查,血小板假性减少全部得到纠正。**结论** EDTA-PTCP 的标本仅凭仪器检测无法与真正血小板减少的标本进行区分,必须进行人工推片镜检,并用枸橼酸钠抗凝重新检测加以纠正。

【关键词】 血小板聚集; EDTA-K₂ 抗凝; 枸橼酸钠抗凝

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.11.041 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)11-1597-02

目前全血细胞分析检测已经全面使用各种自动血细胞分析仪,国际血液学标准委员会(ICSH)于 1993 年提出把乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)作为血细胞分析的最佳抗凝剂,因其对血细胞形态影响很小,被临床广泛使用。但 EDTA-K₂ 有时也会导致血小板聚集,使自动血细胞分析仪计数血小板时出现的结果假性减低,称为 EDTA 依赖性血小板减少症(EDTA-PTCP)^[1]。本组在临床检验工作中发现存在少数的 EDTA-PTCP 标本,在人工推片染色镜检时可以发现有明显的血小板聚集现象,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1 月至 2014 年 10 月该院门诊患者全血细胞标本共 298 634 例,对其中血小板计数低于 $100 \times 10^9/L$ 的标本进行人工推片染色镜检,发现存在血小板聚集现象的标本 33 例,其中男 13 例,女 20 例,年龄 26~79 岁。

1.2 仪器与试剂 (1)迈瑞公司生产的 BC-5800 全自动血细胞分析仪,原厂配套试剂及质控品。(2)EDTA-K₂ (1.5 mg 抗凝全血 1 mL)和枸橼酸钠抗凝管(1:9 抗凝)(浙江拱东医疗科技有限公司)^[2]。(3)瑞氏-姬姆萨染色液(珠海贝索生物技术有限公司)。(4)Axio Scope A1 显微镜(蔡司公司)。

1.3 方法 (1)迈瑞 BC-5800 使用原厂配套试剂及质控品,按说明书提供的标准操作程序检测质控品,结果均在允许范围内。(2)全血细胞标本检测使用 EDTA-K₂ 抗凝的血标本,抽取 2 mL 全血,充分与抗凝剂混匀,将 EDTA-K₂ 抗凝的血标本按标准操作流程上机检测。(3)对血小板计数低于 $100 \times 10^9/L$ 的标本进行人工推片,血膜应呈舌状,头、体、尾清晰可分^[3]。瑞氏-姬姆萨染色后用油镜($\times 1\,000$ 倍)观察血小板分布情况,如发现存在血小板聚集现象则再次抽取患者血液,EDTA-K₂ 和枸橼酸钠抗凝血各 1 管,分别上机检测并推片。

1.4 统计学处理 使用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,计量资料应用($\bar{x} \pm s$)表示,EDTA-K₂ 抗凝和枸橼酸钠抗凝结果采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 枸橼酸钠与血液抗凝比为 1:9,将枸橼酸钠抗凝管的血小板结果乘以 1.1 为准确结果^[3]。EDTA-K₂ 抗凝和枸橼酸钠

抗凝结果进行比较,分别为 $57\,19.68 \times 10^9/L$ 和 $178\,68.35 \times 10^9/L$,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 同一患者使用 2 种抗凝剂的血液样本,分别推片染色镜检。EDTA-K₂ 抗凝血推片可见血小板聚集现象;枸橼酸钠抗凝血推片的水小板无明显聚集现象。见图 1、2。

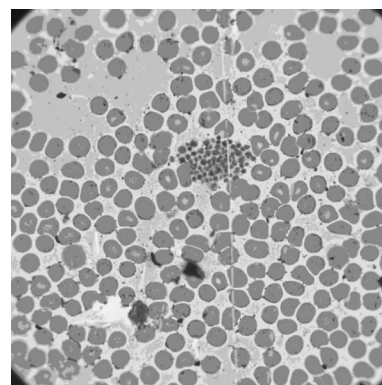


图 1 EDTA-K₂ 抗凝血推片

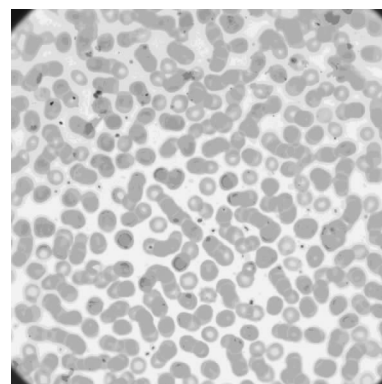


图 2 枸橼酸钠抗凝血推片

3 讨论

EDTA-K₂ 作为血细胞分析的最佳抗凝剂,其抗凝机制是与血液中凝血因子Ⅳ(钙离子)结合成螯合物,从而使其失去凝血作用,阻止血液凝固。因其对血细胞形态影响较小,被临床广泛使用。但 EDTA-K₂ 有时也会导致血小板聚集,造成自动

[△] 通讯作者, E-mail: maowei@renji.com。

血细胞分析仪计数血小板时出现假性减低的结果,称为 EDTA-PTCP,但患者临床上并无血小板减低的症状。虽然其发生率很低,国外有研究报道为 0.07%~1%,本组结果显示为 0.011%,但却极易致使临床出现误诊、误治^[4]。因此建立必要的人工推片镜检制度,对发现 EDTA-PTCP 具有重要的临床意义。

BC-5800 血细胞分析仪检测血小板的原理是采用电阻抗法,根据血细胞相对非导电性质悬浮在电解质溶液中的细胞颗粒,通过计数小孔时可引起电阻的变化为基础,对血细胞进行计数和体积测定。血小板数量由血小板直方图推导,在红细胞/血小板计数池中计数 2~20 fL 的颗粒,再用电子拟合曲线拟合出 0~70 fL 范围的所有血小板数量。因此如果出现 EDTA-PTCP,聚集的血小板体积便会超出仪器计数范围,从而使仪器不将其计数为血小板,引起报告结果的假性减低。因此 EDTA-PTCP 标本会在血小板直方图上出现翘尾等异常情况,但是最后的确定只有通过人工推片镜检,才能发现血小板聚集现象。

有学者认为 EDTA-PTCP 形成的主要原因是与血小板表面存在某种隐匿性抗原有关,EDTA-K₂ 可导致血小板活化,从而改变血小板膜表面某种隐匿性抗原结构,与存在血浆的自身抗体结合,激活磷脂酶 A2(PLA2)、磷脂酶 C(PLC)、花生四烯酸(AA)、ADP、5-TH 等活性物质。这些活性物质能活化血小板纤维蛋白原受体,促进血小板与纤维蛋白原聚集成团,从而出现血小板聚集现象^[5]。但是绝大多数情况下都无法与具体疾病建立联系,可见于健康者,也可伴发某些疾病(如癌症、自身免疫性疾病等)^[6]。而临床如果收到血小板减低的报告,极其可能会导致误诊、误治。本组 1 例患者(女,36 岁)在其他医院诊断为血小板减低,但本组结果显示无任何血小板减低的表证(如皮下出血点增多等),凝血功能也正常,并不需要进行相关治疗。使用枸橼酸钠作为抗凝剂则不会引起血小板聚集,故在人工推片镜检后如发现血小板聚集现象,应采用枸橼酸钠抗凝(但需严格控制抽血量,保证 1:9 的比例)检测血小板后,按照结果乘以 1.1 校正可以反映患者的真实血小板计数结果^[7-8]。

虽然自动血细胞分析仪已经承担了全血细胞分析标本的

检测工作,但是对于血小板异常减低的情况还是不能完全依赖仪器^[9]。EDTA-PTCP 的发现就来自人工推片镜检,这是任何仪器无法取代的,虽然其临床发生率极低,但是一旦漏检就可能造成临床误诊、误治,给患者带来严重的身体伤害和经济损失,也容易导致医疗纠纷。所以建立全血细胞分析标本的人工推片复检规则是每个实验室的重要工作。

参考文献

- [1] Onder O, Weinstein A, Loyer LW. Pseudothrombocytopenia caused by platelet that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents[J]. Blood, 1980, 56(2): 177-182.
- [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,2006:122.
- [3] 鲁家才,程正江,姚汝. 两种药物对 EDTA 依赖性血小板聚集的抑制作用[J]. 临床检验杂志,2004,22(16): 198-199.
- [4] Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia; a clinical and epidemiological study of 11 cases with 10-year follow up[J]. Am J Hematol, 1995, 50(2): 103-109.
- [5] Bragnani G, Bianconcini G, Brogna R, et al. Pseudothrombocytopenia clinical comment on 37 cases[J]. Minerva Med, 2001, 92(1): 13-17.
- [6] 欧阳华. 乙二醇四乙酸依赖性假性血小板减少症发病机制的研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(11): 1942-1944.
- [7] 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.
- [8] 莫筠,陈俭荣. 32 例 EDTA 依赖性血小板减少症患者浅析[J]. 国际医药卫生导报, 2009, 15(12): 90-91.
- [9] 李惠卿,赖馨,蔡洁丹,等. 血细胞分析仪计数血小板假性减少原因分析及对策探讨[J]. 临床检验杂志, 2014, 13(9): 764-767.

(收稿日期:2014-12-20 修回日期:2015-02-18)

(上接第 1596 页)

fatty acid impairment of nitric oxide production in endothelial cells is mediated by IKKbeta[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(11): 989-994.

- [10] Yang N, Wang C, Xu M, et al. Interaction of dietary composition and PYY gene expression in diet-induced obesity in rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2005, 25(21): 243-246.
- [11] Roberts CK, Barnard RJ, Sindhu RK, et al. A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction and oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression[J]. J Appl Physiol, 2005, 98(10): 203-210.

- [12] Molnar J, Yu S, Mzhavia N, et al. Diabetes induces endothelial dysfunction but does not increase neointimal formation in high-fat diet fed C57BL/6J mice[J]. Circ Res, 2005, 96(43): 1178-1184.
- [13] 杨凌辉,邹大进. 肥胖致胰岛素抵抗的机制[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2002, 18(3): 244-246.
- [14] 田德润,李晓东,石玉顺,等. 肥胖大鼠血浆摄食相关肽和血脂水平变化[J]. 天津医科大学学报, 2004, 3(2): 10-11.
- [15] 郭云红,李秀钧,李宏亮. 高脂饮食肥胖大鼠胰岛细胞胰岛素抵抗机制的探讨[J]. 中华医学杂志, 2005, 27(9): 1607-1610.

(收稿日期:2014-12-25 修回日期:2015-02-18)