

0.9 g/dl 生理盐水稀释解决 EDTA 依赖性血小板假性减少的方法研究*

刘爱胜¹, 文艳² (1. 深圳市龙华新区人民医院检验科, 广东深圳 518109;
2. 深圳市光明新区人民医院 ICU, 广东深圳 518106)

摘要:目的 探讨 0.9 g/dl 生理盐水稀释仪器法解决乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝剂依赖性血小板假性减少症(PTCP)的可行性,为临床实验室提供解决 PTCP 检测更为有效的方法。方法 对 2014 年 8~10 月深圳市龙华新区人民医院检验科确诊为 PTCP 案例共 3 例,采集静脉血 2 ml 二份分别于 EDTA-K₂ 和枸橼酸钠抗凝管内混匀,于即刻,10,30,40 及 60 min 上机检测;同时分别采集末梢血于血细胞稀释液、0.9 g/dl 生理盐水中混匀,于即刻,10,30,40 及 60 min 上机检测,并与草酸铵手工法比较。结果 EDTA 法、枸橼酸钠法、血细胞稀释液法及 0.9 g/dl 生理盐水稀释仪器法即刻检测 PTCP 血中血小板(PLT)结果与草酸铵法比较,差异均无统计学意义($t=0.943\sim1.537$, $P>0.05$),10~60 min 内 EDTA-K₂ 抗凝血 PLT 结果明显降低,与草酸铵法比较差异有统计学意义($t=12.413\sim49.162$, $P<0.01\sim0.001$);枸橼酸钠法于 30 min 后 PLT 开始下降,与草酸铵法比较,结果差异有统计学意义($t=4.915\sim20.164$, $P<0.05\sim0.01$);血细胞稀释液法于 30~40 min PLT 检测结果开始出现下降,但不明显,与草酸铵法比较差异无统计学意义($t=1.315\sim1.715$, $P>0.05$),40~60 min PLT 检测结果出现明显下降,与草酸铵法比较差异有统计学意义($t=3.175\sim3.865$, $P<0.05$);0.9 g/dl 生理盐水法于 0~60 min 内检测 PTCP 血中 PLT 结果与草酸铵法之间差异均无统计学意义($t=0.694\sim1.062$, $P>0.05$)。结论 EDTA 法、枸橼酸钠法、血细胞稀释液法及 0.9 g/dl 生理盐水稀释仪器法即刻检测 PTCP 患者 PLT 结果与草酸铵法相一致。30 min 内枸橼酸钠法和血细胞稀释液法对 PTCP 患者 PLT 检测可达到较理想的效果,但仍有少量 PLT 聚集而导致 PLT 小幅下降;0.9 g/dl 生理盐水稀释仪器法 0~60 min 内与草酸铵法检测 PLT 结果之间无差异性。

关键词: 0.9 g/dl 生理盐水;稀释仪器法;乙二胺四乙酸二钾依赖性血小板假性减少症

中图分类号: R446.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2015)02-128-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.040

Study on the Method of 0.9 g/dl Normal Saline Dilution to Solve EDTA Dependent Pseudothrombocytopenia

LIU Ai-sheng¹, WEN Yan² (1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Longhua
New District People's Hospital, Guangdong Shenzhen 518109, China;

2. ICU, Shenzhen Guangming New District People's Hospital, Guangdong Shenzhen 518106, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of 0.9 g/dl NaCl diluting instrument method to solve the ethylenediamine tetraacetic acid dipotassium (EDTA) anticoagulant dependency pseudo reduce platelet syndrome (PTCP) feasibility, provides solutions to clinical laboratory PTCP more effective method. **Methods** From August to October of 2014 in their laboratory for PTCP cases in all 3 cases, 2 ml venous blood in EDTA and citric acid sodium anticoagulation in-line blending, in the immediate, 10, 30, 40 and 60 min computer detection. Collected of peripheral blood in blood thinners, respectively, 0.9 g/dl NaCl solution blending, in the immediate, 10, 30, 40 and 60 min computer detection, and compared with the manual method of ammonium oxalate. **Results** EDTA, citric acid sodium, blood thinners and 0.9 g/dl NaCl diluting instrument immediately detected PTCP blood PLT result compared with ammonium oxalate method, there were no statistically significant difference ($t=0.943\sim1.537$, $P>0.05$), 10 min~60 min anticoagulant blood PLT results significantly decreased, compared with ammonium oxalate method difference had statistical significance ($t=12.413\sim49.162$, $P<0.01\sim0.001$). Citric acid sodium PLT began to decline after 30 min, compared with ammonium oxalate method, the difference was statistically significant ($t=4.915\sim20.164$, $P<0.05\sim0.01$). Blood dilution method in 30~40 min PLT test results began to decline, but not obvious, there was no statistically significant difference with the method of ammonium oxalate ($t=1.315\sim1.715$, $P>0.05$), 40~60 min PLT test results appear significantly decreased, and the method of ammonium oxalate difference was statistically significant ($t=3.175\sim3.865$, $P<0.05$); Within 0~60 min 0.9 g/dl NaCl method to detect the PLT differences between the results with the method of ammonium oxalate had no statistical significance ($t=0.694\sim1.062$, $P>0.05$). **Conclusion** EDTA, citric acid sodium, blood thinners and 0.9 g/dl saline diluting instrument immediately detected PLT PTCP patients were consistent with ammonium oxalate method. Citric acid sodium within 30 minutes and blood dilution method in patients

* 作者简介:刘爱胜(1973-),男,本科,学士,副主任技师,主要从事临检工作, E-mail: curious1998@163.com。

with PTCP PLT detection could achieve ideal effect, but there were still a small amount of PLT gathered and led to a slight drop in PLT. 0.9 g/dl saline diluting instrument method with ammonium oxalate within 0~60 minutes method to detect the PLT result had no difference.

Keywords: 0.9 g/dl NaCl solution; diluting instrument method; ethylenediamine tetraacetic acid dipotassium dependent platelet pseudo reduce disease

血小板(PLT)计数是临床最常用的实验检测指标之一,为止血和血栓性疾病的诊断和治疗提供了重要依据^[1],其结果的准确性直接影响患者的诊断和治疗。近年来,随着全自动血细胞计数仪的普及及EDTA盐抗凝剂真空采血管的大量应用,出现了EDTA抗凝剂依赖性血小板检测假性减少的现象,临床上称为EDTA依赖性假性血小板减少症(EDTA dependent pseudothrombocytopenia, PTCP)。虽这种案例发生率极低(0.09%~0.21%)^[2],也有文献报道发生率约为1.26%^[3],却给实验室的检验工作带来很大困扰,甚至导致错误结果而造成临床上的误诊,那如何才能准确报告PTCP患者PLT正确结果呢?就此,笔者采用0.9 g/dl生理盐水稀释仪器法为患者进行PLT检测取得了满意的结果,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床病例 2014年8~10月深圳市龙华新区人民医院门诊确诊的PTCP案例共3例。其中,男性1例,女性2例,年龄13~61岁。血常规PLT低,PLT直方图报警提示有PLT聚集,推片染色镜检片的两边及片尾可见PLT聚集,血常规其它指标均无异常,凝血功能PT,APTT及TT均为正常;经临床检查,患者均无皮肤瘀点、瘀斑、鼻出血及胃肠道和泌尿系统出血等表现。

1.2 仪器与试剂 BC-5300全自动血细胞仪及配套的试剂、校准品和室内质控品均由深圳汇松公司提供,0.9 g/dl生理盐水由四川科伦药业股份有限公司提供,涂片染色机(SP)及配套的染液由Sysmex公司提供,草酸铵稀释液由上海纪宁实业有限公司提供,1.8 mg/ml的EDTA-K₂真空采血管、109 mmol/L枸橼酸钠真空采血管及采血针均购自上海碧迪医疗器械公司,双目显微镜为Olympus公司提供。

1.3 方法 ①仪器法:待仪器校准通过及室内质控在控后,采集PTCP患者外周静脉血2.0 ml分别于EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝管内混匀后于即刻、10、30、40及60 min分别用BC-5300全自动分析仪的全血模式进行PLT检测,同时采集末梢血20 μ l分别于0.18 ml血细胞稀释液和0.9 g/dl生理盐水内混匀后用BC-5300全自动分析仪的稀释模式进行PLT检测。②手工法:按《全国临床检验操

作规程》第3版^[4]的操作步骤,采患者指血20 μ l于0.38 ml草酸铵稀释液中,充分混匀后显微镜下计数PLT。③每份标本计数2次,取平均值。④血涂片染色由Sysmex公司提供的涂片染片自动进行,显微镜下观察PLT分布情况。

1.4 统计学分析 采用SPSS13.0软件进行统计学分析,计数资料差异比较用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果 五种不同检测方法于不同时间内同时检测3例PTCP血中PLT检测结果比较:EDTA、枸橼酸钠法、血细胞稀释液及0.9 g/dl生理盐水稀释仪器法即刻检测PTCP血中PLT结果与草酸铵法比较,差异均无统计学意义($t=0.943\sim1.537$, $P>0.05$);放置10~60 min后检测,EDTA法PLT结果明显下降,与草酸铵法比较结果之间差异有统计学意义($t=12.413\sim49.162$, $P<0.01\sim0.001$);枸橼酸钠法于30 min后PLT开始下降,与草酸铵法比较,结果差异有统计学意义($t=4.915\sim20.164$, $P<0.05\sim0.01$);血细胞稀释液法于30~40 min PLT检测结果开始下降,但不明显,与草酸铵法结果比较差异无统计学意义($t=1.715$, $P>0.05$),40~60 min PLT检测结果出现明显下降,与草酸铵法结果比较差异有统计学意义($t=3.175\sim3.865$, $P<0.05$);0.9 g/dl生理盐水法于0~60 min内检测PLT结果与草酸铵法之间比较差异均无统计学意义($t=0.694\sim1.062$, $P>0.05$),结果见表1。

3 讨论 PTCP是一种发生于体外EDTA抗凝剂诱导的PLT假性减少症,本身无任何病理意义,多数情况下伴发于某种严重疾病如脓毒症、癌症、自身免疫性疾病、传染性单核细胞增多症、心脏外科、烧伤等^[5~7]。PTCP的发生机制至今未明,可能与PLT表面存在的某种隐匿性抗原有关,EDTA盐可导致PLT活化,活化的PLT与存在于血浆中的自身抗体结合后使PLT形态发生改变,导致血小板膜表面某种隐匿性抗原表位构象的改变,激活了细胞膜中的某些能活化PLT纤维蛋白原受体的活性物质,促使血小板与纤维蛋白原聚集成团;或可能与血液中冷抗PLT自身抗体有关,这种EDTA依赖的冷抗PLT自身抗体直接作用于PLT膜糖蛋白IIb/IIIa上,同时这种与血小板结合

的自身抗体Fc端可与单核细胞或淋巴细胞上Fc受体结合,出现卫星聚集现象^[10];或与某些药物有关,如国外文献报道(如抗生素^[8]、奥氮平^[9])可诱导EDTA依赖性PTCP的发生,这可能与药物或外界因素导致PLT表面结构发生变化,从而导致

对EDTA或其它抗凝剂的敏感性增加等诸多理论有关。但为何这种凝集只发生在极少数人身上以及PTCP发生的各种变化机制,有待进一步研究验证。

表1 五种检测方法于不同时间内同时检测3例PTCP血中PLT检测结果($\times 10^9/L$)

时间 (min)	1					2					3				
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
0	167	172	159	165	168	251	267	259	264	268	154	146	165	158	162
10	102	169	165	162	165	149	243	268	272	250	71	140	159	163	153
30	59	127	145	159	157	82	195	240	259	256	39	106	135	152	159
40	43	95	138	151	146	45	113	216	247	261	22	74	124	149	152
60	19	87	101	156	153	24	84	177	253	256	10	61	92	155	160

备注:A:EDTA法;B:枸橼酸钠法;C:血细胞稀释液法;D:0.9g/dl生理盐水法;E:草酸铵法。

表1结果显示,EDTA法检测PTCP患者血中PLT 10 min后就出现明显降低,与其它方法比较差异有统计学意义($t=12.413\sim 49.162$, $P<0.01\sim 0.001$);枸橼酸钠法30 min内检测PTCP血中PLT结果可靠,但稍后PLT结果出现下降,且随着标本放置时间的延长PLT结果下降越明显^[11],与草酸铵法比较,结果差异有统计学意义($t=4.915\sim 20.164$, $P<0.05\sim 0.01$),这可能与EDTA及枸橼酸钠能诱导PLT相关IgG抗体的异常增高有关^[12],具体的机制还有待进一步研究;血细胞稀释液法检测PTCP血中PLT结果随着标本放置时间的延长而逐步降低,但下降的速度明显低于全血法,却大于0.9 g/dl生理盐水稀释仪器法和草酸铵法,这可能与血细胞稀释液中所含的0.2 mg/ml EDTA- K_2 浓度远低于全血真空管2.0 mg/ml EDTA- K_2 浓度有关^[13],但草酸铵稀释液内也含有极少量的EDTA- K_2 ,可其检测PTCP血中PLT结果降低不明显,其中的原因还有待进一步研究;0.9 g/dl生理盐水稀释仪器法稀释液中不含EDTA- K_2 及枸橼酸钠,60 min内检测PTCP患者血中PLT结果无明显变化,与草酸铵法之间比较差异均无统计学意义($t=0.694\sim 1.062$, $P>0.05$),这也正好说明了PTCP患者血中PLT降低与EDTA- K_2 及枸橼酸钠浓度有关。

只要能确诊为PTCP患者,用任何一种方法采集标本后即刻进行PLT检测就可得到正确的结果,各方法即刻检测PLT结果之间差异均无统计学意义($t=0.943\sim 1.537$, $P>0.05$),但就各方法检测PLT的稳定性来说,0.9 g/dl生理盐水法和草酸铵法最为理想。EDTA法、枸橼酸钠法及血细胞稀释液法随着标本放置时间的延长PLT均有

不同程度的聚集导致PLT降低,以EDTA法PLT降低出现最早,降低幅度最为明显;草酸铵稀释液破坏红细胞能力强,PLT形态清晰易辨,操作简单,成本低廉,是进行质量评价的首选^[14];0.9 g/dl生理盐水稀释仪器法操作简便,重复性好,在0~60 min内检测PTCP患者血中PLT结果与草酸铵法比较差异均无统计学意义($t=0.694\sim 1.062$, $P>0.05$),与黄胜等^[15]报道的不用抗凝剂的即刻法比较虽然结果无明显差异,但不抗凝法很快会出现凝集,无法复查,稳定性不好,而0.9 g/dl生理盐水稀释仪器法稳定性很好(0~60 min),值得临床实验室推广利用。

参考文献:

- [1] 丛玉隆,王昌富,乐家新.血细胞自动化分析后血涂片复审标准制定的原则与步骤[J].中华检验医学杂志,2008,31(7):729-732.
Cong YL, Wang CF, Yue JX. Principles and procedure of determining criteria for smear review following automated complete blood count and leukocyte differential count[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2008, 31(7): 729-732.
- [2] 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.
Mi QM, Shi WY, Hao WY, et al. A case EDTA dependent pseudothrombocytopenia[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2004, 27(10): 719.
- [3] 张学英,王素平,李玲玲. 204例假性血小板减少实验分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2): 166-167.
Zhang XY, Wang SP, Li LL. 204 cases of pseudo thrombocytopenia experimental analysis[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2009, 30(2): 166-167.

- [4] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[S].3版.南京:东南大学出版社,2006:136-143.
Ye YW, Wang YS, Shen ZY. The national clinical laboratory operation rules[S]. 3th Ed. Nanjing: Southeast University Press, 2006:136-143.
- [5] Carrillo-Esper R, Contreras-Dominguez V. Pseudothrombocytopenia induced by ethylenediaminetetraacetic acid in burned patients[J]. *Cir Cir*, 2004(72):335.
- [6] Satoh M, Hirose Y, Gamo M, et al. Sudden onset of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient scheduled for open heart surgery[J]. *Mazui*, 2003, 52(4):402-405.
- [7] Hsieh AT, Chao TY, Chen YC. Pseudothrombocytopenia associated with infectious mononucleosis[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2003(127):17-18.
- [8] Kinoshita Y, Yamane T, Kamimoto A, et al. A case of pseudothrombocytopenia during antibiotic administration[J]. *Rinsho Byori*, 2004, 52(2):120-123.
- [9] Tucc H, Yang S. Olanzapine-induced EDTA-dependent pseudothrombocytopenia[J]. *Psychosomatics*, 2002, 43(5):421-423.
- [10] 张建萍. EDTA依赖性假性血小板减少症及检测方法分析[J]. *重庆医学*, 2010, 39(20):2782-2784.
Zhang JP. EDTA dependency pseudo thrombocytopenia and detection method analysis[J]. *Chongqing Medical*, 2010, 33(20):2782-2784.
- [11] 邝妙欢,刘晓华,钟义富,等. EDTA依赖性血小板假性减少症血小板的检测[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(11):1224-1225.
Kuang MH, Liu XH, Zhong YF, et al. The analysis of PLT count in EDTA dependent pseudothrombocytopenia[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2010, 31(11):1224-1225.
- [12] 杨军. EDTA抗凝剂引起假性血小板减低的分析[J]. *中国医学研究与临床*, 2007(5):59-60.
Yang J. EDTA anticoagulant cause sham platelet reduce analysis[J]. *China Medical Research and Clinical*, 2007(5):59-60.
- [13] 邵永生,郑宏伟.组合检验法在EDTA依赖性假性血小板减少症中的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(16):2036-2037.
Shao YS, Zheng HW. Combination test in the application of EDTA dependency pseudo thrombocytopenia[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2012, 33(16):2036-2037.
- [14] 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.
Cong YL, Yin YB, Chen Y. Laboratory medicine advanced tutorial[M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2010:123.
- [15] 黄胜,梁华英,曾梦如,等. EDTA-K₂依赖性血小板假性减少现象分析及纠正方法探讨[J]. *现代检验医学杂志*, 2011, 26(3):136-138.
Huang S, Liang HY, Zeng MR, et al. Analysis the phenomenon anticoagulants EDTA-K₂ led to false platelet reducing and research the correcting method[J]. *Journal Modern Laborator Medical*, 2011, 26(3):136-138.
- 收稿日期:2015-01-06 修回日期:2015-01-30
-
- (上接127页)2013, 28(2):39-43, 47.
- [6] 黄燕,张珏,余洲海,等.科宝XS全自动尿有形成分分析仪检测尿沉渣的性能评价[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2011, 21(5):399-401.
Huang Y, Zhang J, Yu ZH, et al. Evaluation of the application of COMBI-SCAN XS urine formed element analyzer[J]. *Journal of Jiangsu University(Medical Edition)*, 2011, 21(5):399-401.
- [7] 沈薇,顾怡,张乐乐,等.科宝XS型全自动尿有形成分分析仪相关参数的研究[J]. *诊断学理论与实践*, 2010, 9(6):592-593.
Shen W, Gu Y, Zhang LL, et al. Division of XS type automatic urine tangible composition analyzer related parameters study[J]. *J Diagn Concepts Pract*, 2010, 9(6):592-593.
- [8] 魏运梅,明亮,易光明,等.科宝XS尿液有形成分分析仪筛检结果分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(10):1248-1249.
Wei YM, Ming L, Yi GM, et al. Division XS tangible composition analyzer urine screening results analysis[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2012, 33(10):1248-1249.
- [9] 梁敏华,吴英.科宝尿分析系统Combi Scan XS/XL尿液检验分析及性能评价[J]. *现代医药卫生*, 2013, 29(11):1632-1633.
Liang MH, Wu Y. Urine check analysis and performance assessment of cobb urinalysis system Combi Scan XS/XL[J]. *Journal of Modern Medicine and Health*, 2013, 29(11):1632-1633.
- [10] 杜丕波. Combi Scan500尿沉渣分析仪、干化学法与显微镜镜检法在尿液分析红细胞中的应用[J]. *医疗装备*, 2011, 24(7):29-30.
Du PB. Combi Scan500 urinary sediment analyzer, urine dry chemistry method and microscope method in the analysis of the application of the red blood cells[J]. *Chinese Journal of Medical Device*, 2011, 24(7):29-30.
- 收稿日期:2014-12-19 修回日期:2015-01-26