

人群 MMP-3 参考值范围。该参考值范围的建立,可能对其他地区实验室建立 MMP-3 参考值范围提供一定的依据。

参考文献

[1] 范列英. 类风湿性关节炎血清早期诊断指标的研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(10): 59-61.
 [2] ARNETT F C, EDWORTHY S M, BLOCH D A, et al. The American rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 1988, 31(3): 315-324.
 [3] WIJK A S, VAN VENROOIJ W J, PRUIJN G J. All you wanted to know about anti-CCP but were afraid to ask[J]. Autoimmun Rev, 2010, 10(2): 90-93.
 [4] PAVET J, GOULVESTRE C, BIALE L, et al. Anticyclic-citrullinated peptide antibodies in rheumatoid and non-rheumatoid rheumatic disorders: experience with 1 162 patients[J]. J Rheumatol, 2014, 41(12): 2395-2402.
 [5] MYERS A, LAKEY R, CAWSTON T E, et al. Serum

MMP-1 and TIM-1 levels are increased in patients with psoriatic arthritis and their siblings[J]. Rheumatology (Oxford), 2004, 43(3): 272-276.
 [6] AVDEEVA A S, ALEKSANDROVA E N, KARATEEV D E, et al. Relationship between matrix metalloproteinase-3 levels and articular destructive changes in early and extended rheumatoid arthritis[J]. Ter Arkh, 2016, 88(5): 13-18.
 [7] TUNCER T, KAYA A, GULKESEN A, et al. Matrix metalloproteinase-3 levels in relation to disease activity and radiological progression in rheumatoid arthritis[J]. Adv Clin Exp Med, 2019, 28(5): 665-670.
 [8] TOKAI N, YOSHIDA S, KOTANI T, et al. Serum matrix metalloproteinase 3 levels are associated with an effect of iguratimod as add-on therapy to biological DMARDs in patients with rheumatoid arthritis[J]. PLoS One, 2018, 13(8): e0202601.

(收稿日期: 2019-01-22 修回日期: 2019-04-26)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 18. 027

网织红细胞检测通道检测 EDTA 依赖性假性血小板减少症患者血小板的准确性*

周振忠, 汪永强, 袁平宗, 张 丹

内江市第二人民医院检验科, 四川内江 641000

摘要:目的 探讨网织红细胞检测通道即荧光染色法(PLT-O 法)检测乙二胺四乙酸(EDTA)依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)患者血小板的准确性。方法 选取 2016 年 2 月至 2018 年 2 月诊治的 38 例 EDTA-PTCP 患者作为试验组, 并选取同期健康体检人员共 50 例作为对照组。两组研究对象的血液标本均经过 EDTA-K₂ 抗凝, 应用电阻抗法(PLT-I 法)及 PLT-O 法进行血小板计数; 同时采集两组研究对象末梢血并用草酸铵进行抗凝, 应用手工草酸铵法(PLT-M 法)进行血小板计数。以 PLT-M 法为标准检测方法, 并以涂片观察血小板形态为辅助方法, 分析 PLT-O 和 PLT-M 两种方法检测血小板的一致性。结果 在试验组中, PLT-I、PLT-O、PLT-M 法检测血小板计数结果分别为 $(25.34 \pm 9.54) \times 10^9/L$ 、 $(190.74 \pm 56.12) \times 10^9/L$ 、 $(199.08 \pm 54.32) \times 10^9/L$, PLT-O 与 PLT-M 法具有更高的相关性($r = 0.996$); 对照组中, PLT-M、PLT-I、PLT-O 法检测结果分别为 $(204.14 \pm 56.51) \times 10^9/L$ 、 $(205.43 \pm 56.67) \times 10^9/L$ 、 $(204.21 \pm 58.59) \times 10^9/L$, 3 种方法检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 PLT-O 法在 EDTA-PTCP 患者血小板检测中有较高的准确性和较强的抗血小板聚集干扰的作用。

关键词:网织红细胞; EDTA 依赖性假性血小板减少症; 血小板

中图分类号: R446.11+1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)18-2677-03

血小板计数的检测是临床上最常见的检测项目之一。血小板在体内主要参与凝血与血栓形成, 具有非常重要的生理功能。当患者血小板水平出现降低时, 临床可能进行骨髓穿刺检查或血小板输注治疗, 因此, 准确检测血小板水平并诊断血小板是否减少具有重要的临床意义。由乙二胺四乙酸(EDTA)依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)所致的血小板假性

减少如未被及时发现, 将为临床提供错误的检测结果而导致误诊、误治, 不仅浪费医疗资源, 同时易引起医疗纠纷。为保证检验质量, 向临床提供更加真实客观的检验结果, 本研究以手工草酸铵法(PLT-M 法)为评价标准, 涂片观察血小板形态为辅助方法, 探讨全自动血细胞分析仪网织红细胞检测通道即荧光染色法(PLT-O 法)对 EDTA-PTCP 患者血小板检测的准

* 基金项目: 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(18PJ109)。

确性,从而为实验室寻找到快速准确的复检方法提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2016 年 2 月至 2018 年 2 月在本院诊治的 38 例 EDTA-PTCP 患者(试验组)的临床资料。患者中男 20 例,女 18 例;年龄 21~67 岁,平均(40.4±4.1)岁。纳入标准:患者两次乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血常规检查提示血小板计数低于 100×10⁹/L(触发复检规则);涂片观察血小板呈明显聚集状;患者抽血顺畅,无出血症状,骨髓象无异常,凝血机制正常。选取同期健康体检者 50 例作为对照组,其中男 36 例,女 14 例;年龄 23~59 岁,平均(35.4±6.1)岁。对照组研究对象 EDTA-K₂ 抗凝血常规检查血小板计数正常,涂片观察血小板无聚集现象。两组研究对象性别构成、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 迈瑞 BC-6800 全自动血细胞分析仪,试剂为仪器配套原装试剂。采用 BD 公司 EDTA-K₂ 抗凝真空采血管和 Olympus 双目显微镜观察血小板。

1.3 方法

1.3.1 PLT-M 法 按《全国临床检验操作规程(第 4 版)》标准配制 1%草酸铵稀释液^[1]。以 1%草酸铵稀释液作为末梢血抗凝剂,采用 PLT-M 法进行血小板检测。严格按照《全国临床检验操作规程(第 4 版)》进行操作^[1];在 380 μL 的 1%草酸铵稀释液中加入研究对象末梢血 20 μL,充分混匀后,充池于改良牛鲍计数板中,静置 5 min 后在显微镜下计数。每份标本进行 2 次计数,且 2 次计数结果差异<10%时,取平均值。同时对每份血液标本进行涂片,采用瑞-吉染色法进行染色,自然干燥后在显微镜下观察血小板分布情况。

1.3.2 仪器法 采集研究对象肘静脉血 3.0 mL,置入 EDTA-K₂ 抗凝管中,在采血 30 min 后应用迈瑞 BC-6800 全自动血细胞分析仪进行分析,模式选择全血细胞计数+分类+网织计数模式(CDR 模式)进行自动检测,该模式下同时完成电阻抗法(PLT-I 法)及 PLT-O 法的检测,所有检测在 2 h 完成;同时,记录 PLT-I 及 PLT-O 法检测血小板计数的结果。对每份血液标本采用瑞-吉染色法进行血涂片染色,干燥后在显微镜下观察血小板分布情况。

1.4 统计学处理 将数据录入 Microsoft Excel2010 进行分析整理,再通过 SPSS24.0 软件进行统计分析处理。正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用方差分析;相关性采用 Pearson 相关分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种方法检测试验组及对照组血小板结果及涂片镜检结果 试验组 PLT-I 与 PLT-M 法检测血小板水平比较,差异有统计学意义($P<0.001$);PLT-O 与

PLT-M 比较差异无统计学意义($P=0.512$)。3 种方法检测对照组血小板水平比较,差异无统计学意义($P=0.953$),见表 1。试验组 EDTA-K₂ 抗凝标本涂片镜检易见血小板成堆聚集,1%草酸铵稀释液抗凝标本涂片镜检未见血小板明显聚集;对照组 EDTA-K₂ 抗凝标本及 1%草酸铵稀释液抗凝标本涂片镜检均未见血小板明显聚集。

表 1 3 种方法检测试验组及对照组血小板水平比较(×10⁹/L, $\bar{x}\pm s$)

检测方法	试验组	对照组
PLT-I 法	25.34±9.54	204.14±56.51
PLT-O 法	190.74±56.12	205.43±56.67
PLT-M 法	199.08±54.32	204.21±58.59
<i>P</i>	<0.001	0.953

2.2 相关性分析 以 PLT-M 法为标准,将 PLT-I、PLT-O 法检测血小板计数结果进行相关性分析,其中试验组 PLT-O 与 PLT-M 法的相关性良好,相关系数 r 为 0.966($P<0.05$),而 PLT-I 与 PLT-M 法相关性较差,相关系数 r 为 0.151($P>0.05$);对照组 PLT-I、PLT-O 与 PLT-M 法相关性良好,相关系数 r 分别为 0.994 和 0.996($P<0.05$)。

3 讨论

EDTA-PTCP 是由于在抗凝血过程中,EDTA 诱导血小板中的特殊蛋白使血小板发生凝集,且在全自动血细胞计数仪上检测时,血小板计数发生假性减少的现象^[2]。目前,国际血液学标准化委员会(ICSH)认为 EDTA 是对血细胞计数影响较小的一种抗凝剂,是临床检验科广泛应用的血常规标本抗凝剂。但 EDTA 偶可诱导血小板发生体外异常聚集,使血细胞自动分析仪不能识别,导致血小板计数低于真实值,从而出现血小板假性减少现象^[3-5]。MANT 等^[6]报道,EDTA-PTCP 的发生率并不高,根据统计,其发生率为 0.09%~0.21%^[7],而国内报道为 0.77%^[8]。本研究结果表明,PLT-I 法在 EDTA-PTCP 患者血小板计数中与 PLT-M 法相比,准确性及相关性较差,表明对于 EDTA-PTCP 患者标本,采用 PLT-I 法检测血小板计数不准确。从检测原理上分析,血细胞分析仪 PLT-I 法不能计数凝集的血小板,因此导致在正常范围内的血小板可能的检测结果为 20×10⁹/L^[9]。在目前的检验工作中,自动化仪器取代了许多基本的手工检验方法,检验人员已过多地依赖仪器的检测,对血细胞分析仪检测出血小板计数降低的审核方式,常常采用将原标本或重新抽取标本进行复查,复查结果相差不大就将结果报于临床,这样出具的检测报告将大大增加血小板“错报”的风险。而这种情况的出现一方面是由于检验人员没有严格遵守血常规复检规则,另一方面是忽视了血小板假性减少的可能性,从

而造成对患者疾病的误诊或延缓对病情的诊治。这种血小板假性减少症会导致患者增加其他不必要的辅助检查,甚至引起临床误诊、误治^[10]。

PLT-O 法即荧光染色激光散射法,该方法的原理为利用荧光染料(聚次甲基和噁嗪)透过细胞膜对细胞内 RNA、DNA 进行染色,采用前向散射光和侧向荧光对血小板内部 DNA 和 RNA 成分进行鉴别计数,可以准确区分含有极少量核酸的血小板^[11-13]。血小板体积较红细胞小,在散点图中分布于红细胞下方;而血小板内含极少量的核酸,其侧向荧光的强度较成熟红细胞稍大,因此能有效区分红细胞和血小板^[14]。本研究结果表明,PLT-O 法与 PLT-M 法相关性良好,与 PLT-I 法相比有较强的抗血小板聚集干扰的能力。从检测方法学上分析,PLT-O 法与 PLT-I 法各有其优缺点。PLT-I 法经济、快速、重复性好,每次可检测 200 000~250 000 个颗粒,精密度高,但局限性在于会将一些非血小板小颗粒错误地归入血小板,使血小板计数假性升高,而将巨大血小板或者聚集血小板错误地归入红细胞中,使血小板计数降低。PLT-O 法由于采用了核酸信息的确认,增强了对血小板形态的鉴别能力,可将异常标本中的小红细胞、红细胞碎片等更准确地从血小板中鉴别分离出来,但是无法分离同样含有核酸信息的白细胞碎片,且光学法每次仅检测 60 000 个颗粒,远远少于 PLT-I 法,且重复性和精密度较低^[15-16]。本研究结果表明,PLT-O 法的抗血小板聚集干扰能力完全可以满足临床初步报告血小板计数的需要。在临床实际工作中,对血小板计数明显降低但是又无其他出血表现的患者,应先进行血常规标本涂片染色镜检,从而掌握血小板的分布情况,如果在片尾及周边观察到有明显的血小板聚集,则可初步判定为 EDTA-PTCP,然后可以采用血细胞分析仪 CDR 模式进行快速检测,并向临床报告初步检测结果,在情况允许条件下可嘱咐患者现场采集末梢血进行 PLT-M 检测,可提升临床血小板计数检测的准确性,确保临床诊断的安全性和有效性。

综上所述,PLT-I 法适用于常规标本的筛检,当有血小板聚集等情况存在时,该方法会导致血小板计数不准确。因此,当仪器有血小板聚集报警提示时,标本必须通过其他方法复检。利用 1%草酸铵稀释液进行末梢血检测的 PLT-M 法可以有效辨别 EDTA-PTCP,但需要患者现场采血,耗时长,操作较烦琐,不能将结果快速反馈给临床。而 PLT-O 检测快速,结果较准确,可以短时间内进行初步结果报告,可作为 PLT-M 法的必要补充。

参考文献

[1] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4版.

北京:人民卫生出版社,2012:136-143.

- [2] 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.
- [3] 邱景伟,张绍刚,卢彪.乙二胺四乙酸依赖性假性血小板减少误诊一例报告[J].临床误诊误治,2017,30(5):16-18.
- [4] 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.
- [5] WHITE J G, KRUMWIDE M D, ESCOLAR G. EDTA induced changes in platelet structure and function: influence on particle uptake[J]. Platelets, 1999, 10(5): 327-337.
- [6] MANT M J, DOERY J C, CAULDIE J, et al. Pseudothrombocytopenia due to platelet aggregation and degranulation in blood collected in EDTA[J]. Scand J Hematol, 1975, 15(3):161-170.
- [7] KURATA Y, HAYASHI S, JOUZAKI K, et al. Four cases of pseudothrombocytopenia due to platelet cold agglutinins[J]. Rinsho Ketsueki, 2006, 47(8): 781-786.
- [8] 蔡民,徐继芹,王雪银. EDTA 依从性假性血小板减少——应用血细胞自动计数仪时需注意的问题[J].安徽医科大学学报,1999,34(3):237.
- [9] COHEN A M, CYCOWITZ Z, MITTELMAN M, et al. The incidence of pseudothrombocytopenia in automatic blood analyzers[J]. Haematologia (Budap), 2000, 30(2): 117-121.
- [10] 徐芬,罗洁,徐钿,等. EDTA 依赖性假性血小板减少症 1 例及实验室解决思路[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(24): 3526-3527.
- [11] 华江,潘扬.不同检测方法计数血小板的准确性评价[J].临床检验杂志,2015,33(1):12-13.
- [12] 梁坤铃,张德力,林城.平均红细胞体积和红细胞分布宽度引起不同血小板计数方法的差异分析[J].国际检验医学杂志,2016,37(10):1436-1437.
- [13] 王晓贤,刘洁,周永红. XT-4000i 血液分析仪血小板两种测定方法与血涂片复检的对比[J].中国实用医药,2012,7(26):106-107.
- [14] 郭谦,王晓健,曹荣,等.对 EDTA-K₂ 依赖性假性血小板减少不同检测方法结果的比较[J].山西职工医学院学报,2018,28(1):17-20.
- [15] UMASHANKAR T, THOMAS B M, SAHANA P. Estimation of platelet count in unstained peripheral blood smears in comparison with stained smears and evaluation of its efficacy[J]. Malaysian J Pathol, 2014, 36(3): 195-199.
- [16] 陈伟,涂慧英,李月.3种血小板计数方法的比较研究[J].重庆医学,2015,44(26):3677-3679.

(收稿日期:2019-03-10 修回日期:2019-06-12)