

• 论 著 •

抗凝剂对血小板计数结果的影响分析

黄 亮, 梁瑜金

(肇庆市第二人民医院检验科, 广东肇庆 526060)

摘要:目的 分析不同抗凝剂对血小板计数结果的影响。方法 选择 5 例乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝全血标本血细胞分析仪计数血小板结果重度减低的患者,采集 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血标本和手指末梢血标本,分别采用血细胞分析仪(仪器法)和显微镜计数法(手工法)计数血小板,并同时制备涂片标本,经瑞氏-姬姆萨染液染色后显微镜镜检。结果 5 例患者 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂及氟化钠抗凝静脉血标本仪器法、手工法血小板计数结果均明显低于手指末梢血标本,血涂片标本镜检均可见血小板大片聚集;手指末梢血标本仪器法、手工法血小板计数结果均正常,血涂片标本镜检可见血小板分布正常,无聚集现象。结论 多种抗凝剂均有可能诱导血小板发生聚集,从而引起血小板假性减少。发生抗凝剂依赖性血小板假性减少时,应采用不加抗凝剂的手指末梢血标本进行血小板计数,从而获得准确结果。

关键词:乙二胺四乙酸二钾; 枸橼酸钠; 氟化钠; 肝素锂; 血小板假性减少

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)08-1104-02

Influence of anticoagulants on platelet count

Huang Liang, Liang Yujin

(Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Zhaoqing, Zhaoqing, Guangdong 526060, China)

Abstract: Objective To analyze the influence of anticoagulants on platelet count. **Methods** A total of 5 patients with decreased platelet level, detected by using haemocyte analyzer and samples anticoagulated by ethylene diamine tetraacetic acid dipotassium (EDTA-K₂), were enrolled, and EDTA-K₂, sodium citrate, heparin lithium, sodium fluoride anticoagulated venous blood samples and fingers peripheral blood samples were collected and detected for platelet by using haemocyte analyzer and microscopic detection. Wright-Giemsa's stained cell smears were prepared and observed by using microscope. **Results** Platelet levels of anticoagulated samples, detected by haemocyte analyzer and microscopic detection were obviously decreased, and with large platelet aggregation observed under microscope. Platelet levels of finger peripheral blood samples detected by haemocyte analyzer and microscopic detection were normal, and without platelet aggregation observed under microscope. **Conclusion** Various anticoagulants could cause pseudo-thrombocytopenia, and fingers peripheral blood samples, without anticoagulants, should be used for platelet count to obtain accurate results.

Key words: ethylene diamine tetraacetic acid dipotassium; citrate sodium; sodium fluoride; heparin lithium; pseudo-thrombocytopenia

采用血细胞分析仪进行血小板计数检测,极易受检测原理、抗凝剂的使用及血小板易于黏附、聚集等因素影响,出现检测结果较理论值偏低的情况。乙二胺四乙酸(EDTA)导致血小板聚集从而引起血小板假性减少的现象国内已有较多报道^[1-7]。近年来,笔者在临床工作中发现,除 EDTA 以外,枸橼酸钠、肝素锂及氟化钠等抗凝剂也可导致血小板聚集,从而引起血小板假性减少。本研究分析了多种抗凝剂对血小板检测结果的影响,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 5 例乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉血标本血小板检测结果重度减低的患者,外周血标本涂片镜检均可见大量血小板在涂片尾部聚集,但患者体表无出血、瘀点、瘀斑等血小板减少体征。

1.2 仪器与试剂 深圳迈瑞公司 BC-5180 型血细胞分析仪及配套试剂、质控品。日本奥林巴斯公司光学显微镜。EDTA-K₂ 抗凝管、枸橼酸钠抗凝管、肝素锂抗凝管、氟化钠抗凝管均购自广州阳普医疗科技股份有限公司。瑞氏-姬姆萨染液购自珠海贝索公司。参照《全国临床检验操作规程》的要求配制草酸铵血小板稀释液^[2]。

1.3 方法 征得患者同意后,再次采集 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血标本各 1 份,同时采集手指末梢血

标本,分别采用手工法和仪器法进行血小板计数,同时采用涂片法镜检观察血小板聚集程度。

1.3.1 手工法 用微量吸管取 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血及手指末梢血标本各 20 μL,分别置草酸铵血小板稀释液中,按文献[2]的方法在显微镜下计数血小板,每例标本各计数 3 次,计算平均值。

1.3.2 仪器法 (1)取患者手指末梢血标本 20 μL 加入 0.38 μL BC-5180 型血细胞分析仪配套稀释液中,混匀后静置 5 min,采用血细胞分析仪封闭-预稀释模式进行血小板计数。(2)在 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血标本采集后 30 min 内,颠倒混匀,采用 BC-5180 血细胞分析仪进行血小板计数。枸橼酸钠为液体抗凝剂,其用量与静脉血体积之比为 1:9,故本文中所有枸橼酸钠抗凝静脉血标本血小板计数结果均为校正后的数值。

1.3.3 涂片法 每份 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血标本及手指末梢血标本均制作 1 张合格的血涂片标本,瑞氏-姬姆萨染液染色后显微镜下观察血小板数量、大小、形态及聚集情况。

2 结 果

2.1 仪器法及手工法血小板计数结果比较 每例患者 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血标本仪器法和手

工法血小板计数结果均低于手指末梢血标本计数结果, 见

表 1。

表 1 各类型标本仪器法和手工法血小板计数结果($\times 10^9/L$)

患者编号	仪器法					手工法				
	EDTA-K ₂	枸橼酸钠	氟化钠	肝素锂	手指末梢血	EDTA-K ₂	枸橼酸钠	氟化钠	肝素锂	手指末梢血
1	13	21	18	15	131	15	19	19	14	126
2	11	17	26	13	143	13	18	23	15	139
3	33	39	30	39	212	39	36	33	31	236
4	38	33	39	30	161	42	38	35	32	170
5	21	28	26	20	199	26	29	24	25	187

2.2 血涂片镜检结果 5 例患者 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血标本及手指末梢血涂片标本染色镜检血小板分布状况见表 2。患者 1 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂、氟化钠抗凝静脉血标本及手指末梢血涂片标本镜下所见, 见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

表 2 不同类型标本染色镜检血小板分布状况

患者编号	EDTA-K ₂	枸橼酸钠	氟化钠	肝素锂	手指末梢血
1	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	聚集成大片状	散在分布
2	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	散在分布
3	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	散在分布
4	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	散在分布
5	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	大量成堆聚集	散在分布

3 讨 论

多种抗凝剂均可诱导血小板聚集, 其中以 EDTA 引起的血小板聚集最为常见^[3]。EDTA-K₂ 作为全血细胞分析最常用抗凝剂, 对血细胞形态影响很小, 但偶尔可导致血小板聚集, 使血细胞分析仪无法正确识别血小板, 出现血小板假性减少和白细胞假性升高的现象, 即为 EDTA 依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)。EDTA-PTCP 为发生在体外的 EDTA 诱导的、非稳定性血小板聚集现象, 患者通常无浅表及黏膜出血倾向。在抗凝剂的诱导作用下, 血小板大量聚集, 形成的细胞团体积和白细胞体积相当, 而血细胞分析仪不能辨别聚集的血小板与白细胞, 从而将前者作为白细胞进行计数, 导致血小板计数结果假性降低, 白细胞计数结果假性升高^[4]。EDTA-PTCP 发生率约为 0.09%~0.21%, 但除了假性血小板减少以外, 并无其他重要临床意义^[3]。有学者认为, 当发生假性血小板减少时, 应采用手指末梢血标本直接涂片计数血小板的方法, 或将手指末梢血经 37℃ 稀释液稀释后采用相差显微镜计数血小板的方法, 从而获得正确的结果^[3]。也有文献报道可用其他抗凝剂, 如枸橼酸钠^[4,6]、氟化钠^[6]、肝素钠^[7]抗凝标本进行血小板计数, 或向 EDTA-K₂ 抗凝标本中加入浓度为 5 mg/mL 的丁胺卡那霉素后计数血小板的方法避免血小板假性减少的问题^[8]。本研究结果则显示 EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素锂及氟化钠均可诱导血小板聚集反应, 导致血细胞分析仪血小板计数结果假性降低, 而且抗凝静脉血标本涂片染色镜检均可见血小板聚集成堆, 而未抗凝手指末梢血标本涂片染色镜检则呈散在分布。周小棉等^[8]也报道了 1 例 EDTA、枸橼酸钠、肝素锂等多种抗凝剂诱导血小板聚集的患者。EDTA-K₂、枸橼酸钠、肝素钠、氟化钠等多种抗凝剂同时诱发假性血小板减少症的机制尚未明确。在本研究纳入的 5 例患者中, 3 例患者外周血三酰甘

油、胆固醇水平异常升高, 1 例患者镁离子水平升高, 但高镁血症、高胆固醇血症和高三酰甘油血症是否可导致抗凝剂依赖性假性血小板减少症尚待进一步分析验证^[9]。

血小板计数是与造血系统疾病密切相关的检验指标, 对判断患者病情严重程度及预后, 以及血栓形成、出血性疾病等的诊断与治疗也有重要的参考价值^[10]。本研究结果显示, 抗凝剂引起的血小板假性减少的标本, 其血小板计数结果与真实值相差甚大, 且与患者临床症状不符, 虽然抗凝剂依赖性假性血小板减少不会增加血栓形成和出血风险, 但存在掩饰真正的血小板减少症而导致误诊、误治的可能^[11]。因此, 一旦出现血小板计数结果明显降低时, 实验室工作人员应及时与临床沟通, 询问患者病史, 并同时涂片观察血小板聚集情况, 从而保证检验结果的准确性。对于存在抗凝剂依赖性假性血小板减少的标本, 可用手指末梢血代替抗凝全血进行血小板计数, 从而纠正血小板计数结果。

参考文献

- 刘学斌, 邹雪松, 黄冬梅, 等. 两种抗凝剂对血小板的影响因素临床分析[J]. 河北医学, 2013, 19(10): 1595-1597.
- 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: 123-124.
- Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, 等. 威廉姆斯血液病学手册 [M]. 陈方平, 钟美佐, 赵谢兰, 等, 译. 6 版. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2003: 424-425.
- Bragnain G, Bianconcini G, Brogna R, et al. Pseudothrombocytopenia: clinical comment on 37 cases[J]. Minerva Med, 2001, 92(1): 13-17.
- 张之南, 单渊东, 李蓉生, 等. 协和血液病学[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2004: 631.
- Lambarts AJ, Zijlstra JJ, Peters RH, et al. Accurate platelet counting in an insidious case of pseudothrombocytopenia[J]. Clin Chem Lab Med, 1999, 37(6): 1063-1066.
- 郑云. 三种方法对 EDTA-K₂ 抗凝剂引起血小板假性减少的检测及分析[J]. 临床医学工程, 2011, 18(12): 1924-1925.
- 周小棉, 小莉, 李结秋, 等. 丁胺卡那霉素抑制和解离抗凝剂依赖的假性血小板聚集作用研究[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 88-92.
- 彭晓蓉. 浅谈血液分析影响血小板检测的因素[J]. 长江大学学报, 2011, 8(6): 212.
- 周玉平, 朱传新. 382 例机做血小板减少患者手工复检及涂片分析[J]. 临床血液学杂志, 2011, 24(8): 486-487.
- 李盛龙, 赵丹. 乙二胺四乙酸盐依赖性假性血小板减少症研究进展[J]. 基层医学论坛, 2012, 16(19): 2551-2553.

(收稿日期: 2014-12-15)