

• 临床研究 •

60 例假性血小板减少原因分析

赵 华¹,李代渝²,林 江¹

(泸州医学院附属医院:1. 检验科;2. 输血科,四川泸州 646000)

摘 要:**目的** 探讨与全血细胞分析仪有关造成假性血小板(PLT)减少的影响因素,以提高检验结果的准确性。**方法** 采用手工计数血小板和血涂片复检法对全血细胞分析仪检测血小板直方图异常且部分血小板减少的 60 例全血标本进行复检。**结果** 电阻抗法 PLT 直方图正常组结果与手工计数和血涂片法相比差异无统计学意义($P>0.05$);电阻抗法 PLT 直方图异常组结果与手工计数和血涂片法相比差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 在日常工作中,大批量样本检测时可选用成本低廉的电阻抗法,而当出现 PLT 直方图和计数结果减少时必须用手工计数和血涂片复检核对,以保证检验结果的准确性。

关键词:血小板计数;全血细胞分析仪;影响因素
doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.12.029 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2011)12-1207-02

Reason analysis of 60 cases pseudo-platelet reduce

Zhao Hua¹,Li Daiyu²,Lin Jiang¹

(1. Department of Medical Laboratory;2. Department of Blood Transfusion ,Affiliatal Hospited of Luzhou Medical College ,Luzhou,Sichuan 646000,China)

Abstract:**Objective** To study and analysis of the impact factors blood cells caused by the pseudo-platelet reduce,improve the accuracy of results.**Methods** Manual count of platelets and blood smears on platelet histogram rechecked of the 60 cases of abnormal and part of reduced blood platelet count specimens.**Results** PLT histogram normal electrical impedance of the results of manual and platelet count of blood smears and recheck of no significant difference ($P>0.05$), PLT histogram abnormal electrical impedance of the results of manual and platelet count of blood smears and recheck of significant difference($P<0.05$).**Conclusion** In the daily work,the bulk sample testing at the choice of low-cost electrical impedance,and when there is abnormal PLT histogram must be manually counted and blood smears recheck and check to ensure the accuracy of the results.

Key words:platelet count;analysis instrument of blood cells;influencing factor

血小板计数检测是研究血栓与止血障碍的重要指标之一,也是其他血小板参数可靠性的基础,其检测结果至关重要^[1]。全血细胞分析仪由于自身检测原理的限制以及血小板易于黏附、聚集、破坏等特点,测定血小板时常常会出现假性减少现象^[2],这样对临床医师是否对患者进行抽骨髓检查诊断或输入血小板治疗、可否进行手术等带来麻烦,甚至引起医疗纠纷,及时发现并予以纠正尤为重要。因此,必须综合分析全血细胞分析仪检测血小板的影响因素,寻求对策,以便为临床提供更为准确的检验结果。本文就 60 例患者血小板检测的几种影响因素进行分析和探讨。

1 材料与方 法

1.1 仪器 日本希森美康公司 Sysmex XE2000 全自动血液分析仪;OLYMPUS 显微镜。

1.2 试剂 Sysmex XE2000 全自动血液分析仪原装配套试剂;PLT 草酸铵稀释液,其配置方法参照全国临床检验操作规程(第 3 版)^[3];瑞姬染液。

1.3 标本 本院 2009 年 2 月至 2009 年 10 月住院患者静脉血标本 2 mL,用乙二胺四乙酸二钾盐(EDTA-K₂)抗凝。

1.4 检测方法 对患者抗凝全血标本选择电阻抗法和光散射模式检测,对出现 PLT 直方图异常的 60 例标本用 WHO 推荐的草酸铵稀释液法^[3]进行手工计数,严格按操作规程进行。每份标本计数 2 次取均值统计,在采血后 2 h 内完成检测,并推血涂片瑞氏染色油镜镜检。核准计数方法为用同 1 份标本制备血涂片染色镜检观察血小板数量(正常可见 8~15 个/油镜

视野),有无大量血小板凝块、有无大量大型血小板等^[2]。然后将两种方法计数的血小板结果进行配对 *t* 检验,采用 SPSS 15.0 统计软件进行数据处理。

2 结 果

2.1 正常和异常直方图 见图 1~3。

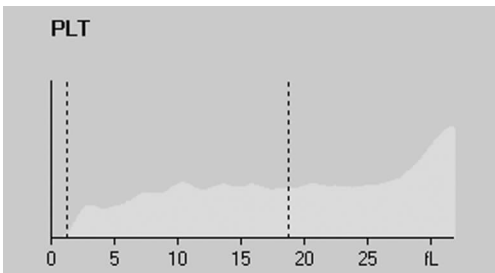


图 1 有血小板聚集、小红细胞碎片的直方图

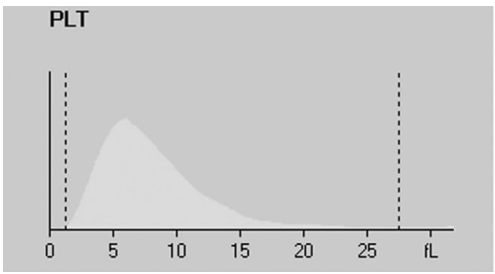


图 2 正常直方图

2.2 电阻抗法、手工计数和涂片镜检法对 60 例 PLT 正常和

异常直方图标本的计数结果 见表 1。

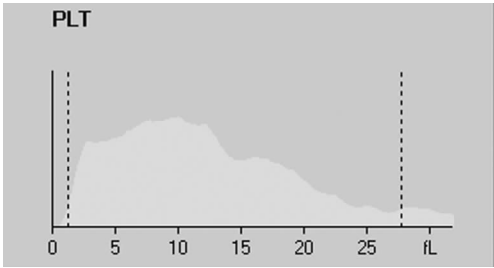


图 3 血小板大小不均的直方图

表 1 全血细胞分析仪和手工检测结果比较($\bar{x}\pm s$)					
项目	<i>n</i>	电阻抗法 ($\times 10^9$ /L)	手工计数法 ($\times 10^9$ /L)	血涂片法 (个/油镜视野)	<i>P</i>
红细胞	12	71.77±15.85	115.67±17.31	12	<0.05
大血小板	6	59.43±10.84	97.83±11.51	15	<0.05
正常血小板	24	192.63±45.04	194.92±43.21	20	>0.05
采血不顺	2	64.52±21.68	92.83±22.96	11	<0.05
其他因素	16	66.95±10.89	98.00±8.68	10	<0.05

从表 1 可以看出,电阻抗法血小板直方图正常组结果与手工计数和血涂片法相比差异无统计学意义($P>0.05$);电阻抗法血小板直方图异常组结果与手工计数和血涂片法相比差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨 论

3.1 红细胞和细胞碎片影响 在正常情况下,全血细胞分析仪对血细胞的识别有明显的界限,通常红细胞阈值在 25~250 fL,血小板阈值在 2~24 fL,仪器只识别颗粒大小,不能识别颗粒的性质^[4]。电阻抗法根据颗粒体积大小通过检测小孔产生的脉冲来区别和计数,而正常人的血小板体积有一定的差异,范围可达 2~20 fL,其体积分布直方图不是对称的,而是明显地向右延伸,即都存在一定数量的大血小板。由于 Sysmex-2000 全自动血液分析仪红细胞与血小板测定在同一个通道,红细胞和大血小板的存在对血小板及血小板体积(MPV)检测有很大干扰。当测定标本中小细胞增多或出现细胞碎片及血小板聚集致血小板体积大于 24 fL 时会影响检测结果,由于大部分血液分析仪不能将大血小板与红细胞区分出来,致使许多大血小板被当成红细胞而未计入血小板总数中,从而使血小板计数结果偏低^[5]。血小板体积直方图在一定程度上能反映各影响因素的变化。因此,审核结果时应先观察直方图形是否正常。

3.2 大血小板影响 在正常或许多病理情况下,很多血小板有较大的体积,全血细胞分析仪将体积为 1~30 fL 或 36 fL 的颗粒误认为是血小板。按照仪器和血样品,有些大的血小板(大于 30~40 fL)可能被遗漏或被计数。在病理情况下,如原发性血小板减少性紫癜、急性心肌梗死、糖尿病等,大血小板会增多,似白细胞大小的血小板很难鉴别,所以,其血小板可能被计为白细胞或红细胞^[6]。而对出血的患者而言,准确的血小板计数是至关重要的。在某些情况下,如果大血小板数量很多时,可采用免疫标记的流式细胞仪或有流式功能的血细胞分析仪进行计数。也可通过核酸荧光染色法测定血小板^[7],血小板含有 RNA,故能被荧光着色,而成熟红细胞没有 RNA,不被染色,红细胞和其他细胞碎片也不会对荧光着色,因此,根据细

胞大小和荧光强度可以把红细胞及其他杂质与血小板区分开^[8]。目前,常用血液分析仪计数血细胞,红细胞和血小板在同一通道进行计数。如 SYSMEX-2000 全自动血液分析仪,用鞘流电阻抗法测定血小板结果异常时,仪器转换至核酸荧光染色法检测网织红细胞/血小板检测通道进行检测^[9]。从而能很好地消除细胞碎片、红细胞和大血小板等因素对准确计数血小板的影响,得以在体积大小和核酸染色上与血小板鉴别。但核酸荧光染色法成本高,不宜广泛应用,存在一定的局限性。最简单的方法是手工计数和血涂片染色镜检。

3.3 抗凝剂 EDTA 影响 由于 EDTA 盐抗凝血中 EDTA 可诱导血小板中的特殊蛋白使血小板发生凝集,且用全血细胞分析仪检测时,其血小板计数发生假性减少^[10]。全血细胞分析仪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计数减低。假性血小板减少症机制与纤维蛋白受体、糖蛋白有关^[11]。在糖蛋白中存在一种单克隆抗体,当此抗体遇到 EDTA 抗凝剂时会引起血小板凝集^[12]。抗凝血采集 30 min 后这种凝集能自发解聚,所以,可采血静置 30 min 后检测,以消除这种 EDTA 所致的假性血小板减少,或采用不含抗凝剂的稀释液、利用含草酸铵抗凝剂的真空采血系统采集标本、加其他种类的抗凝剂可避免这种干扰,如枸橼酸钠保养液等。血小板的卫星现象可见于 EDTA 抗凝血,因 EDTA 和免疫球蛋白相互作用、非特异结合血小板之故,被抗体包被的血小板与中性粒细胞结合,血小板被误计为白细胞使血小板计数减少^[13]。

3.4 采血不顺影响 多次穿刺采集静脉血引起水肿及皮下出血时,组织凝血因子混入血标本中形成血凝块,如果血凝块细小,肉眼不易看见,就会造成血小板计数假性减少^[14]。常见于新生儿、肥胖症患者的标本。可采取重抽一次或用末梢血处理。且采血时应在相同条件下进行,患者应处于平静和空腹状态,采血人员应技术熟练,“一针见血”,一旦采血完毕应立即与抗凝剂充分混合,但也要避免用力震荡而出现溶血现象。

3.5 其他影响 储存时间过久、血小板凝集、异常蛋白血症均可导致血小板计数减低。此外,低温可激活血小板,也会导致血小板假性减少^[15]。

综上所述,在日常工作中,大批量样本检测时可选用成本低廉的电阻抗法,但无论是阻抗法还是光散射法血细胞分析仪均为过筛试验。因此,在仪器检测过程中,当出现静脉抗凝血检测血小板减少,应重视异常结果的判断,出现异常数值或直方图形的异常,以及出现报警信号时应进行镜复查^[16],或核酸荧光染色法进行检测,切实提高异常样本血小板计数的准确性,为临床提供可靠的检测数据。

参考文献:

[1] 朱忠勇.准确计数血小板方法学研究进展[J].国外医学临床生物化学与检验学分册,2002,23(3):131-133.
[2] 李明,鲁家才.血细胞分析时假性血小板减少原因分析[J].现代中西医结合杂志,2004,13(6):791-793.
[3] 叶应妩,王毓三,申兹瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.中华人民共和国卫生部医政司,2006:136-137.
[4] 廖忠.血细胞分析仪测定血小板的影响因素分析[J].广东医学院学报,2005,23(5):611-615.
[5] 李峻.浅析血细胞分析时血小板假性减(下转第 1211 页)

多,白细胞滤除率几乎都在 90%以上。本研究中所用白细胞滤器为美国 PALL 公司新一代 SQ40SK 型滤器,其由聚脂无纺布制成的 40 μm 超微滤过孔径可以有效滤除脂肪滴、骨质碎屑、白细胞,以及白细胞与血小板形成的微血栓等物质,净化回输红细胞质量^[16-17],所以,LDF 组加用白细胞滤器后,几乎彻底阻挡白细胞再次进入患者机体,减少了免疫抑制因子 IL-10 分泌,而相应提高了 IL-6 和 IL-8 的含量,减轻了术后免疫抑制程度。

参考文献:

[1] 邓梅英,陈宇,王锦恒,等. 6 036 例输血患者不规则抗体检测临床观察[J]. 重庆医学,2010,39(7):839-840.

[2] 张东,赵砚丽,刘新平,等. 患者术中回收血与麻醉前外周血红细胞携氧及供氧能力和生存能力的比较[J]. 中华麻醉学杂志,2008,28(1):57-58.

[3] 杜彦茹,张东,赵砚丽. 术中自体血液回收对红细胞 pH 值和电解质的影响[J]. 中国全科医学,2007,10(24):2049-2051.

[4] 李艳萍,王旭东,钟亮. 术中回收自体输血的应用[J]. 国外医学麻醉学与复苏学分册,2001,22(2):197-198.

[5] 孙艳红,王俊科,刘海梅. 自体血回输及异体输血前后患者血浆 IL-2 及 IL-6 的变化[J]. 临床麻醉学杂志,2002,18(4):195-198.

[6] Abe H, Ikebuchi K, Shimbo M, et al. Hypotensive reactions with a white cell-reduction filter; activation of kallikrein-kinin cascade in a patient[J]. Transfusion,1998,38(7):411-416.

[7] Webb D, altenbern C, Tritt C, et al. Pulmonary implications of filtering various mediators of morbidity found in salvaged blood[J]. J Extra-corp Technol, 1998, 30(1): 108-112.

[8] 蔡诚毅,马武华,沙雪帆,等. 川芎嗪在自体血回输对 NK 细胞功能的影响[J]. 中国临床实用医学,2009,3(2):78-79.

[9] Sandoval S, Alrawi S, Samee M, et al. A cytokine analysis of the effect of cell saver on blood in coronary bypass surgery[J]. Heart Surg Forum,2001,4(11):113-117.

[10] 张玉美,顾卫东,沈丽娜,等. 术中自体血回吸收对红细胞免疫功能及其免疫受体的影响[J]. 国际麻醉学与复苏学杂志,2008,29(3):307-309.

[11] Helen WT, Armstrong MA. Cytokine blance and immune suppressive changes at cardiac surgery[J]. Br J Anesthesia,1995,75(3):724-733.

[12] 孙艳红,王俊科,傅文. 全麻手术中自体血液回输和异体输血患者 T 淋巴细胞及其亚群改变的比较[J]. 中华麻醉学杂志,2000,20(5):721-723.

[13] 何文一,覃 数,张冬颖. 白细胞介素 8 与冠状动脉病变程度的关系[J]. 重庆医学,2010,39(1):31-33.

[14] Tietz M. Immune responsiveness in orthopedic surgery patients after transfusion of autologous or allergenic blood[J]. Transfusion,1995,35(5):378-383.

[15] 伍虹飞,李水清,王军. 自体血液回输对脊柱手术患者术后 IL-6、IFN-γ 和 TNF-α 的影响[J]. 中华微创外科杂志,2008,8(9):837-840.

[16] MH Cross. Cell salvage and leucodepletion[J]. Perfusion, 2001,16(1):61-66.

[17] 金明珠,万年青,刘丽丹,等. 白细胞滤器滤除血液中白细胞的时效性及临床意义[J]. 临床血液学杂志:输血与检验版,2007,4(6):121-123.

(收稿日期:2010-10-16 修回日期:2010-11-17)

(上接第 1208 页)

少原因[J]. 当代医学,2006,8(5):78-80.

[6] Norberg B, Nilsson TK. Platelet clumping in Ph-negative myeloproliferative syndromes[J]. Acta Med Scand,1987,222:459-464.

[7] 柳光芬. 两种血液分析仪血小板测定结果比较[J]. 重庆医学,2009,38(16):2059-2060.

[8] 钟伟萍,姜艳丽,宋丽妍. 血细胞分析时假性血小板减少的原因及处理[J]. 医学检验与临床,2008,5(2):131-132.

[9] 刑辉,郭学霖. 光学法血小板计数在血小板计数中的应用评估[J]. 现代医学检验杂志,2007,3(22):70-71.

[10] 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):181-183.

[11] 姚新洁,张长庚,严香菊,等. 乙二胺四乙酸盐依赖性血小板假性减少症与获得性自身免疫的关系[J]. 临床血液学杂志,2009,22(12):151-153.

[12] Dabadie M, Valli N, Jacobin MJ, et al. Characterisation, cloning and sequencing of a conformation-dependent monoclonal antibody to the alpha-2b bera3 integrin; interest for use in thrombus detection[J]. Platelets,2001,12: 395-405.

[13] 熊立凡,刘成玉. 临床检验基础[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007:67-69.

[14] 李水红,钟步云. 血细胞分析仪测定血小板结果偏低的原因及纠正方法[J]. 临床检验杂志,2001,19(2):112-113.

[15] Bragagni G, Bianconcini G, Brogna R, et al. Pseudothrombocytopenia; clinical comment on 37 cases[J]. Minerva MED,2001,92(1):13-15.

[16] 吕国全,顾耀松,罗燕玲. 影响血细胞分析仪检测血小板的特点分析[J]. 临床工程,2009,24(8):118-119.

(收稿日期:2010-10-19 修回日期:2010-11-17)