

Возможности и ограничения методов подсчета тромбоцитов

Т. Г. Цветкова, А. А. Калашникова

ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова»
МЧС России, Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

В настоящее время использование гематологических анализаторов позволяет осуществить быстрый и точный подсчет количества тромбоцитов в подавляющем большинстве образцов крови. В некоторых случаях автоматическое определение этого показателя может быть некорректным, что связано с ограничениями используемых методов. Контроль результатов автоматического подсчета тромбоцитов необходим при получении патологических значений и осуществляется при микроскопическом исследовании мазка периферической крови. В статье изложены способы и ограничения автоматического определения количества тромбоцитов, возможные причины ошибочного подсчета и пути коррекции результата. Представлены морфологические описания наиболее часто встречающихся артефактов, влияющих на правильное определение этого показателя. Освещены современные методические подходы к решению задачи корректного подсчета тромбоцитов при ЭДТА-зависимой псевдотромбоцитопении.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: подсчет тромбоцитов, псевдотромбоцитопения, ЭДТА-ассоциированная агрегация тромбоцитов, иммунологический метод подсчета тромбоцитов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Possibilities and limitations of platelet counting methods

T. G. Tsvetkova, A. A. Kalashnikova

The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine (NRCERM EMERCOM of Russia),
Saint Petersburg, Russia

SUMMARY

Currently, the use of hematology analyzers makes it possible to quickly and accurately count the number of platelets in the vast majority of blood samples. In some cases, the automatic determination of this indicator may be incorrect, due to the limitations of the methods used. Monitoring the results of automatic platelet count is necessary when obtaining pathological values and is carried out by microscopic examination of a peripheral blood smear. The article describes the methods and limitations of automatic determination of the number of platelets, possible causes of erroneous counting and ways to correct the result. Morphological descriptions of the most common artifacts that affect the correct definition of this indicator are presented. Modern methodological approaches to solving the problem of correct platelet counting in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia are highlighted.

KEY WORDS: platelet count, pseudothrombocytopenia, EDTA-associated platelet aggregation, immunological platelet count.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

В настоящее время современные высокотехнологичные гематологические анализаторы, которыми оснащено подавляющее большинство клинических лабораторий, обеспечивают корректное определение количества клеточных элементов крови в значительной части случаев. Однако подсчет тромбоцитов, особенно в патологических образцах, остается трудной задачей, при валидации результата этого параметра необходимо знать пределы возможностей используемых методов.

Количество тромбоцитов является одним из жизненно важных параметров клинического анализа крови. Референсное значение количества тромбоцитов колеблется от 150 до $400 \times 10^9/\text{л}$ [1]. Важно понимать, что всегда при получении патологических значений этого показателя необходимо убедиться в правильности результата исследования и исключить различные преаналитические и аналитические ошибки, которые могут повлиять на корректный анализ.

В современных гематологических анализаторах реализуются различные методы подсчета тромбоцитов: импедансный, оптический, флуоресцентный и иммунологический. Как правило, результаты использования этих методов сопоставимы между собой, однако при некоторых патологиях возможно получение некорректных результатов,

связанное с методическими ограничениями.

Принцип импедансного (метод Культера или кондуктометрический) метода заключается в оценке количества и качества частиц (клеток) на основании анализа импульсов, возникающих при их прохождении в растворе электролита через отверстие малого диаметра между двумя электродами. Полученные импульсы пропорциональны объему частиц, что позволяет сформировать гистограммы их распределения по размеру. В нормальной периферической крови человека частицы в пределах от 20 до 60 мкл являются тромбоцитами. Нижний порог исключает нетромбоцитарные частицы, а верхний – мелкие эритроциты и их фрагменты [2]. Таким образом, при наличии в патологическом образце частиц, сопоставимых по размеру с тромбоцитами, высока вероятность завышения количества тромбоцитов, что имеет место, к примеру, при талассемии [3], криоглобулинемии или фрагментации эритроцитов, выраженном микроцитозе эритроцитов, наличии фрагментов цитоплазмы клеток, микроорганизмов, липидов и т.д. [4]. И, напротив, при появлении тромбоцитов, превышающих 60 мкл, как при наследственной макротромбоцитопении, отмечается занижение количества тромбоцитов [5].

Оптический и флюоресцентный методы основаны на учете показателей рассеяния света лазерного луча после его прохождения через гидродинамически сфокусированный поток клеток. Рассеянный свет напрямую связан с размером, неровностями поверхности и показателем преломления освещенной частицы или клетки [6]. По сравнению с импедансным, оптический метод позволяет точнее дифференцировать клетки, сходные по размерам, но отличные по мембранным структурам. Дополнительный сигнал от флюоресцентного красителя, связывающего РНК, улучшает распознавание и подсчет тромбоцитов. Тем не менее в случаях тромбоцитопении менее $20 \times 10^9/\text{д}$, оптимальным является иммунологический способ, поскольку при использовании других методов возрастает вероятность завышения числа тромбоцитов [2, 7].

В 2001 году Международным комитетом по стандартизации в гематологии и Международным обществом лабораторной гематологии (The International Society of Laboratory Hematology, ISLH) был рекомендован иммунологический метод подсчета тромбоцитов [8]. Этот метод подразумевает визуализацию тромбоцитов после их связывания с моноклональными антителами к специфичным для тромбоцитов антигенам с помощью проточной цитометрии. Используют антитела к двум различным эпитопам интегрина $\alpha\text{IIb}\beta 3$ (CD41 и CD61). Антитела могут быть конъюгированными с одним и тем же [9] или с различными [2] флюорохромами. Учитывая соотношение тромбоцитов к эритроцитам, полученное на проточном цитометре (рис. 1), и абсолютное количество эритроцитов, полученное импедансным методом на гематологическом анализаторе, рассчитывают абсолютное количество тромбоцитов.

Одновременное использование двух линейных тромбоцитарных маркеров необходимо для диагностики тромбастении Гланцмана (синдром Гланцмана – Нигели) – редкого генетического заболевания с аутосомно-рецессивным типом наследования. Тромбастения Гланцмана встречается с частотой один случай на миллион человек [10]. В основе патогенеза заболевания лежит мутации генов *ITGA2B* и *IFGB3*, кодирующих альфа (CD41) и бета (CD61) цепи гликопротеина IIb/IIIa на поверхности тромбоцитов, обеспечивающего их агрегацию. Экспрессия генов *ITGA2B* и *IFGB3* независима друг от друга, и у пациентов различных подгрупп тромбастении Гланцмана может преобладать недостаточность той или иной цепи гликопротеина IIb/IIIa [11].

Иммунологический метод подсчета тромбоцитов в полном объеме с визуализацией CD41 и CD61 редко реализуется в клинической практике. Необходимость использования двух приборов, один из которых проточный цитофлюориметр, как правило, не входит в оснащение клинических лабораторий, дорогостоящие реактивы и трудозатраты ограничивают применение этого метода. На сегодняшний день иммунологический метод является калибровочным инструментом, позволяющим оценивать точность других способов оценки количества тромбоцитов, реализуемых в гематологических анализаторах различных производителей, а также проводить межлабораторные сличения, но не методом выбора для рутинной работы [12].

В настоящее время ведутся активные разработки, направленные на расширение возможности использования иммунологического метода в небольших лабораториях.

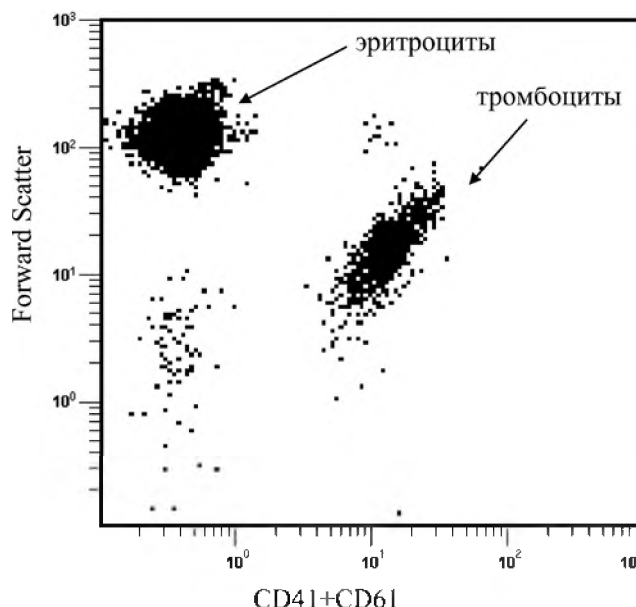


Рисунок 1. Типичная цитометрическая гистограмма при подсчете тромбоцитов и эритроцитов (собственные данные). По вертикали – распределение событий по прямому светорассеянию (Forward Scatter); по горизонтали – распределение событий по каналу флюоресценции, соответствующей флюорохрому, конъюгированному с антителами к CD41 и CD61.

Исследования выполняются в лаборатории клинической иммунологии Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России. Цитофлюориметр Cytomics FS 500, моноклональные антитела – CD41FITC, CD61PE (Beckman Coulter, США).

В 2021 году появилось сообщение об успешной апробации портативного цитометра gHEALTH ONE, обеспечивающего точный подсчет тромбоцитов с визуализацией клеток по двум поверхностным маркерам CD41 и CD61 [13]. Вместе с тем при использовании gHEALTH ONE сохраняется необходимость привлечения данных гематологического анализатора для расчета абсолютного количества тромбоцитов, то есть способ остается двухплатформенным.

Модификацией референсного иммунологического метода является визуализация тромбоцитов по одному поверхностному маркеру CD61, используемая в некоторых гематологических анализаторах. Значительным преимуществом в этих случаях становится одноплатформенная технология расчета абсолютного количества тромбоцитов, сокращающая трудозатраты персонала и возможность ошибки. Использование этого метода при определении количества тромбоцитов у пациентов с выраженной тромбоцитопенией позволяет получить наилучшие результаты по сравнению с импедансным и оптическим способами [2, 14, 15].

В современных гематологических анализаторах, как правило, используется несколько методов детекции тромбоцитов. Так, в LH 750 (Beckman Coulter) реализованы импедансный и оптический методы [16], в Sysmex XN-300 (Sysmex Corporation) – импедансный, оптический и флюоресцентный [3], в Cell-Dyn Sapphire (Abbott Diagnostics) – импедансный, оптический и иммунный [14].

Благодаря развитию и совершенствованию автоматических методов подсчета тромбоцитов ручной метод фазово-контрастной микроскопии мазка периферической крови, основанный на отношении количества тромбоцитов к эритроцитам (по Фонию), в настоящее время является ориентировочным вследствие низкой точности и может

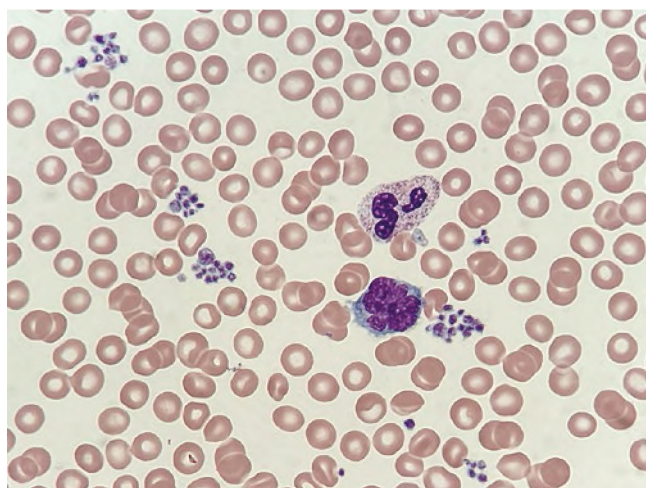


Рисунок 2. ЭДТА-ассоциированные агрегаты тромбоцитов (мазок периферической крови), ув. 1000 $\times$. Между эритроцитами видны тромбоцитарные агрегаты.

быть использован в редких случаях. Он полезен, например, при анализе крови пациентов с диагнозом «МДС-5q» на стадии, когда в периферической крови на фоне истинной тромбоцитопении присутствуют преимущественно гигантские формы тромбоцитов. Оптический контроль количества тромбоцитов с использованием ручной фазово-контрастной микроскопии обязателен при диагностике первичной иммунной тромбоцитопении [17].

Автоматизация приготовления мазков с равномерным распределением клеток повышает точность ручного подсчета тромбоцитов.

Вместе с тем микроскопическое исследование мазка периферической крови является хорошим инструментом контроля качества образца и позволяет выявить артефакты или варианты, когда тромбоциты ускользают из зоны детекции анализатора. Таким образом исключаются все возможные факторы, влияющие на корректность анализа, на основании чего возможно валидировать результат подсчета тромбоцитов. Контроль результатов автоматического подсчета тромбоцитов необходим при получении патологических значений.

Согласно рекомендациям Франкоговорящей группы по клеточной гематологии (French-Speaking Cellular Hematology Group, GFHC), в тех случаях, когда автоматически определяемое количество тромбоцитов ниже $150 \times 10^9/\text{л}$, необходимо исключить псевдотромбоцитопению, возможными причинами которой могут быть наличие в образце сгустка или нитей фибрина, макроформ тромбоцитов, агрегатов тромбоцитов, тромбоцитарного сателлизма [6]. Рекомендовано выбраковывать пробу, содержащую сгусток. Желательно ретроспективно оценить динамику количества тромбоцитов. Значительная разница в количестве тромбоцитов, по сравнению с предыдущим подсчетом, должна натолкнуть на мысль о псевдотромбоцитопении. Анализ мазка крови является обязательным, если у взрослого пациента при первичном исследовании обнаружено менее $100 \times 10^9/\text{л}$ тромбоцитов или прошло больше 3 месяцев после первоначального результата, а у ребенка – менее $150 \times 10^9/\text{л}$ тромбоцитов первично или если прошло более месяца после получения первоначального результата [18, 19].

Остановимся подробнее на возможных причинах занижения числа тромбоцитов при автоматическом подсчете.

ЭДТА-зависимая псевдотромбоцитопения – редкое явление, возникающее только *in vitro* (от 0,07 до 0,20% населения в целом и от 0,10 до 2,00% госпитализированных пациентов) [20]. ЭДТА-ассоциированная агрегация тромбоцитов в вакутейнере с соответствующим стабилизатором связана с наличием у пациента антитромбоцитарных антител против цепей интегрина GPIIb/IIIa, которые в присутствии ЭДТА при температуре от 0 до 25 °C способствуют активации тромбоцитов с образованием разного размера тромбоцитарных агрегатов и возникновению ложной тромбоцитопении *in vitro*. На сегодняшний день не существует достоверных данных о связи ЭДТА-зависимой псевдотромбоцитопении с диагнозами пациентов.

Наличие ЭДТА-ассоциированных агрегатов можно заподозрить в следующих случаях [21]:

- 1) флаги анализатора – аномальное распределение тромбоцитов, агрегаты тромбоцитов, гигантские тромбоциты. Необходимо учитывать, что наличие в образце агрегатов тромбоцитов, сопоставимых по размеру с лейкоцитами, может привести к некорректному подсчету лейкоцитов (ложный лейкоцитоз);
- 2) анамнестические данные о наличии агрегации в предыдущих анализах;
- 3) снижение количества тромбоцитов более чем на 50% для взрослого и $\geq 30\%$ для ребенка по сравнению с предыдущим результатом;
- 4) в случае обнаружения у пациента первичной тромбоцитопении (менее $150 \times 10^9/\text{л}$).

Ниже в качестве иллюстраций приведены микрофотографии мазков крови, полученные в отделе лабораторной диагностики Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России. Для приготовления мазков используется станция автоматического приготовления и окраски мазков UniCel DxH (Beckman Coulter, США), для окраски препаратов применяют реактивы «Диахим-Гемистейн-М-Г», «Диахим-Гемистейн-Р», «Диахим-Буфер-ГРН-6.8–7.2» (НПФ «Абрис+», Россия).

ЭДТА-ассоциированные агрегаты тромбоцитов и тромбоцитарный сателлизм хорошо визуализируются в мазках периферической крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе (рис. 2). В соответствии с консенсусом GFHC агрегатом считается скопление по крайней мере пяти тромбоцитов [22].

Необходимо учитывать, что в анализаторе фибрин (микрогустки) может генерировать те же флаги, что и агрегаты тромбоцитов. Микроскопическое исследование позволяет визуализировать филаменты фибрина (рис. 3), которые следует упомянуть при написании заключения.

В случае наличия ЭДТА-ассоциированных скоплений тромбоцитов в заключении следует отметить агрегацию тромбоцитов. В дальнейшем необходимо повторить исследование с ЭДТА и другим антикоагулянтом (цитрат натрия, СТАД [цитрат натрия, теофиллин, аденозин и дипиридамол], сульфат магния и т.д.) параллельно, в зависимости от лабораторной практики и имеющихся пробирок [23]. Альтернативные антикоагулянты используются только для уточнения количества тромбоцитов. Изредка агрегация тромбоцитов возникает и в пробирке с ЭДТА, и в пробирке с альтернативным антикоагулянтом. Одним из вариантов

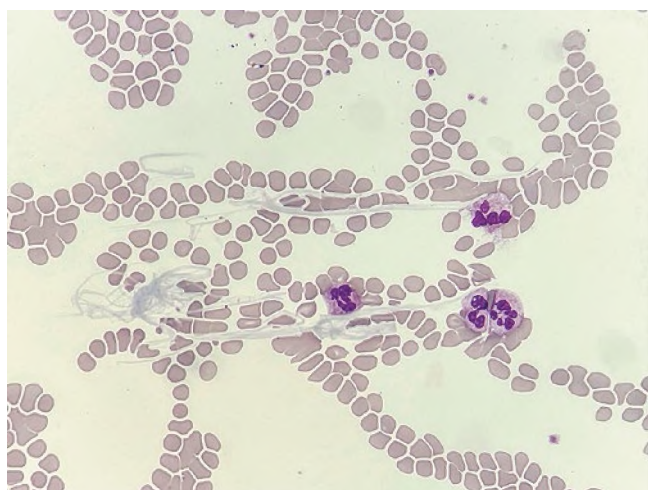


Рисунок 3. Филаменты фибрина (мазок периферической крови), ув. 1000 $\times$. Визуализируются нежные голубоватые нити фибрина, нередко с агглютинированными тромбоцитами.

решения вопроса в такой ситуации будет анализ теплой крови, выполненный максимально быстро после взятия, при условии сохранения крови при 37 °C [24] или использование сульфата магния в качестве стабилизатора.

Существуют публикации о наличии веществ, способных предотвращать образование агрегатов или вызывать их диссоциацию. Среди них – хлорид кальция [20], анти-тромбоцитарные препараты (ацетилсалициловая кислота, простагландин E 1, аспирин, моноклональные антитела, направленные против интегрина GpIIb/IIIa), азид калия, канамицин, амикацин или другие аминозиды [25, 26, 27].

Наиболее часто используемым альтернативным антикоагулянтом является цитрат натрия, однако необходимо учитывать коэффициент разведения, так как цитрат натрия в пробирке находится в жидкой форме. У некоторых пациентов (от 15 до 20%) агрегация тромбоцитов может присутствовать и в пробе с цитратом Na [28, 29]. Обычной практикой является корректировка количества тромбоцитов с учетом фактора разведения, вносимого антикоагулянтом (один объем на девять объемов крови). Однако исследование показало, что этот поправочный коэффициент занижает количество тромбоцитов по сравнению с ЭДТА [30]. При использовании цитратной крови рекомендуется анализировать образец в течение 3 часов после взятия. Интересной альтернативой является использование в качестве антикоагулянта сульфата магния. Сульфат магния исторически был первым антикоагулянтом, используемым для подсчета тромбоцитов, он обеспечивает наилучшую стабильность образца в течение 12 часов [24].

Макроформы тромбоцитов – клетки, размер которых составляет от половины до целого эритроцита (4–8 мкм). Гигантские тромбоциты по размеру не меньше эритроцитов (≥ 8 мкм) [5, 31, 32]. Макротромбоциты или даже гигантские тромбоциты обнаруживаются при различных состояниях независимо от того, существует ли тромбоцитопения, и часто приводят к недооценке количества тромбоцитов [22] (рис. 4).

Тромбоцитарный сателлитизм – редкое (один из 12 000 образцов крови) явление *in vitro*, обычно наблюдаемое в крови с антикоагулянтом ЭДТА и вызываемое прилипанием тромбоцитов к зрелым нейтрофилам с образованием розеток [4] (рис. 5).

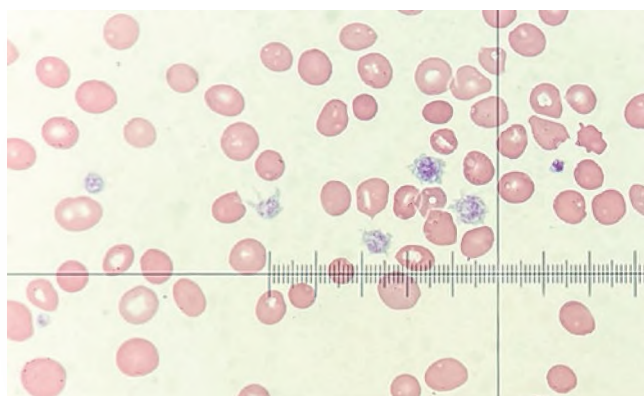


Рисунок 4. Макроформы тромбоцитов (мазок периферической крови), ув. 1000 $\times$.

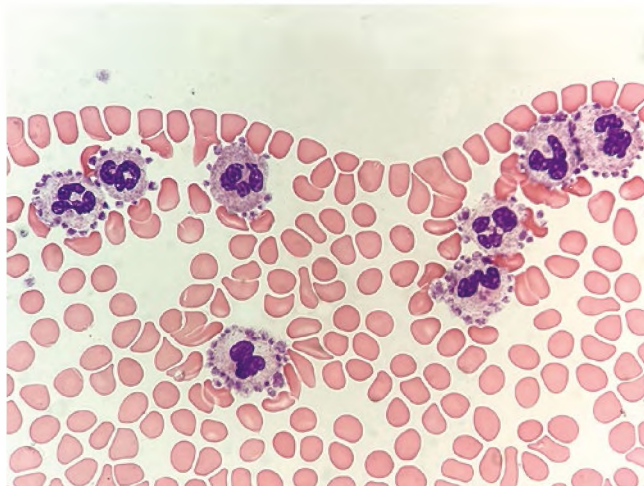
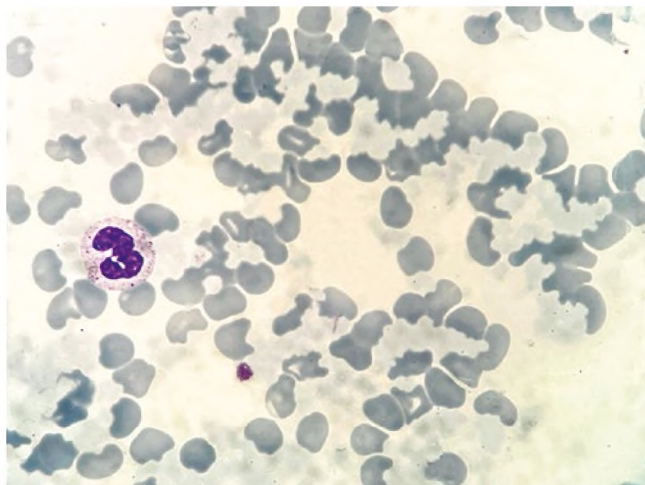


Рисунок 5. Тромбоцитарный сателлитизм (мазок периферической крови), ув. 1000 $\times$. Тромбоциты расположены вокруг нейтрофилов (сателлиты).

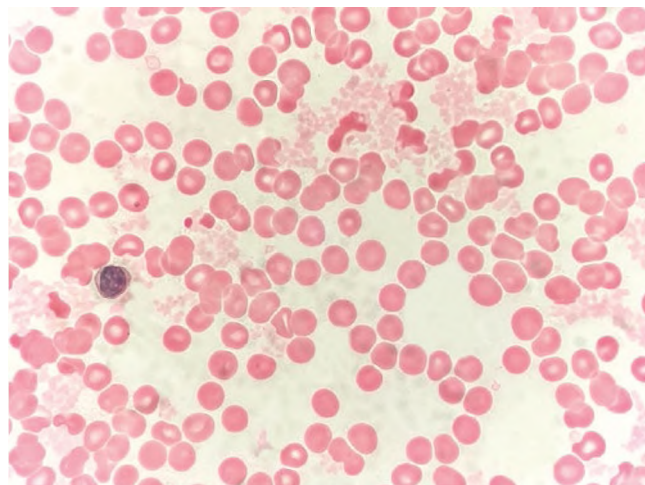
До сих пор не сообщалось о сателлитизме в пробах с цитратом Na. Снижение количества тромбоцитов при сателлитизме незначительно, и им можно пренебречь, но в любом случае сателлитизм необходимо отметить в заключении.

Если при автоматическом подсчете количество тромбоцитов выше $400\text{--}450 \times 10^9/\text{л}$, то необходимо исключить ложный тромбоцитоз, с которым можно столкнуться в случае неспособности анализатора различить тромбоциты и нетромбоцитарные частицы сопоставимого размера, такие как мелкие эритроциты, цитоплазматические фрагменты, криоглобулины. Часто ложный тромбоцитоз маскирует истинную тромбоцитопению. В таком случае наиболее корректно проведение подсчета тромбоцитов оптическим, флуоресцентным или иммунологическим методом [33]. Наличие в пробе очень мелких эритроцитов ожидаемо при тяжелой микроцитарной анемии, микроангиопатическом гемолизе с многочисленными шизоцитами или микросфероцитозе из-за обширных острых ожогов [31]. Цитоплазматические фрагменты чаще встречаются при онкогематологических заболеваниях [34]. Криоглобулины в пробе можно визуализировать при окраске мазка крови эозином или заподозрить их наличие по характерному признаку – «ямкам» на поверхности эритроцитов (рис. 6).

Подводя итог, хотелось бы отметить важность грамотного принятия решения на этапе валидации результата по количеству тромбоцитов в пробе. Описанные выше случаи должны помочь не допустить ошибку, которая повлечет за собой неверную терапевтическую тактику.



А – Изменения мембран эритроцитов.



Б – Визуализация криоглобулинов с использованием эозина.

Рисунок 6. Морфологическая картина при криоглобулинемии (мазок периферической крови), ув. 1000х.

Список литературы / References

1. Клиническое руководство по лабораторным тестам. Под редакцией Н. Тица. Перевод с англ. под редакцией В.В. Меньшикова. М.: Издательство «ЮНИМед-пресс». 2003. 960 с. Clinical guidelines for laboratory tests. Edited by N. Titz. Translated from English, edited by V.V. Mentshikov. M.: Publishing house 'UNIMED-press'. 2003. 960 p.
2. Trabulo E., Valverde S., Antico F., et al. Performance of automated platelet quantification using different analysers in comparison with an immunological reference method in thrombocytopenic patients. *Blood Transfus.* 2009; [7]: 43–48. DOI: 10.2450/2008.0039-08.
3. Tantanate C., Khowwisetsut L., Pattanapanyasat K. Performance evaluation of automated impedance and optical fluorescence platelet counts compared with international reference method in patients with thalassemia. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2017; [141]: 830–836. DOI: 10.5858/arpa.2016-0222-OA.
4. Zandeck M., Genevieve F., Gerard J., Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: A review. Part I: Platelets. *Int. J. Lab. Hematol.* 2007; [29]: 4–20. DOI: 10.1111/j.1365-2257.2006.00670.x.
5. Naris P., Bilu G., Pecci A., et al. Platelet diameters in inherited thrombocytopenias: Analysis of 376 patients with all known disorders. *Blood.* 2014; [124]: e 4–e 10. DOI: 10.1182/blood-2014-03-564328.
6. Baccini V., Genevieve F., Jacquin H., et al. Platelet counting: ugly traps and good advice. Proposals from the French-Speaking Cellular Hematology Group (GFHC). *J. Clin. Med.* 2020; [9]: 1–27. DOI: 10.3390/jcm9030808.
7. Segal K., Badrinath Y., Tembhare P., et al. Comparison of platelet counts by CellDyn Sapphire (Abbot Diagnostics), LH750 (Beckman Coulter), ReaPanThrombo (immunoplatelet method (ReaMetric)), and the international flow reference method, in thrombocytopenic blood samples. *Cytometry B. Clin. Cytom.* 2010; [78]: 279–285. DOI: 10.1002/cyto.b.20515.
8. International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. Platelet Counting by the RBC/Platelet Ratio Method: A Reference Method. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001; [115]: 460–464. DOI: 10.1309/91pr-e4g6-xbaf-n8dy.
9. Harrison P., Ault K.A., Chapman S., et al. An interlaboratory study of a candidate reference method for platelet counting. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001; [115]: 448–459. DOI: 10.1309/91pr-e4g6-xbaf-n8dy.
10. Кумскова М.А., Демина И.А., Подоплева Н.А. Диагностика тромбоцитопатии Гланцмана с помощью исследования показателей плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2015; [14]: 17–24. <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2015-14-4-17-24>.
11. Kumskova M.A., Demina I.A., Podopleva N.A. Diagnosis of Glanzmann's thrombasthenia by examining the parameters of plasma and platelet hemostasis. *Issues of hematology/oncology and immunopathology in pediatrics.* 2015; [14]: 17–24. <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2015-14-4-17-24>.
12. Saraymen B., Muhtaroglu S., Koker M.Y., et al. Flow cytometric analysis of platelet surface glycoproteins in the diagnosis of thirty Turkish patients with Glanzmann thrombasthenia: a multicenter experience. *Turk. J. Med. Sci.* 2021; [51]: 2135–2141. DOI: 10.3906/sag-2006-107.
13. van der Meer P.F., Karsing-van Leeuwen W., Kurtz J., et al. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. A flow cytometric method for platelet counting in platelet concentrates. *Transfusion.* 2012; [52]: 173–180. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03261.
14. Dickerson W.M., Yu R., Westergren H.U., et al. Point-of-care microvolume cytometer measures platelet counts with high accuracy from capillary blood. *PLoS One.* 2021; [16]: e0256423. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256423>.
15. Cid J., Nascimento J., Vicent A., et al. Evaluation of low platelet counts by optical, impedance, and CD61-immunoplatelet methods: estimation of possible inappropriate platelet transfusion. *Transfusion.* 2010; [50]: 795–800. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2009.02504.x.
16. Latzer-Cannard V., Hoarau M., Salgnac S., et al. Mean platelet volume: Comparison of three analysers towards standardization of platelet morphological phenotype. *Int. J. Lab. Hematol.* 2012; [34]: 300–310. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2011.01396.x.
17. Мининкова И.А. Аналитические возможности гематологических анализаторов в оценке тромбоцитов [обзор литературы]. *Медицинская лабораторная диагностика.* 2012; [3]: 27–34. Mininkova A.I. The analytical possibilities of hematology analyzers in evaluation of thrombocytes: a literature review. *Klin. Lab. Diagn.* 2012 Mar; [3]: 27–34.

17. Мелихан А.А., Пустова Е.И., Цветаева Н.В., и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (редакция 2016 г.). *Гематология и трансфузиология.* 2017; 62 (1, прил. 1): 1–60. <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-1-60>.
18. Genevieve F., Galois A.C., Mercier-Bataille D., et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura (primary immune thrombocytopenia) in adults (2016 edition). *Hematology and transfusion.* 2017; 62 (1, suppl. 1): 1–60. <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-1-1-60>.
19. Barnes P.W., McFadden S.L., Machin S.J., Simson E. The international consensus group for hematology review: Suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab. Hematol. Off. Publ. Int. Soc. Lab. Hematol.* 2005; [11]: 83–90. DOI: 10.1532/LH96.03019.
20. Genevieve F., Galois A.C., Mercier-Bataille D., et al. Revue microscopique du froit sangin: propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC). *Feuilles Biol.* 2014; [317]: 7–14.
21. Chae H., Kim M., Lim J., et al. Novel method to dissociate platelet clumps in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia based on the pathophysiological mechanism. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012; [50]: 1387–1391. DOI: 10.1155/clin-2011-0892.
22. Sasi M., Dibe W., Abd B., et al. Diagnostic performance of graphical anomalies in the detection of large platelets and platelet clumps. *Pathol. Biol. (Paris).* 2015; [63]: 248–251. DOI: 10.1016/j.patbio.2015.09.003.
23. Baccini V., Alessi M.C. Diagnosis of inherited thrombocytopenia. *Rev. Med. Interne.* 2016; [37]: 117–126. DOI: 10.1016/j.revmed.2015.10.346.
24. Francois D., Masure A., Atallah N., Touli L., Vasse M. Underestimation of platelet count on magnesium salt-anticoagulated samples. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014; [52]: e 95–e 97. DOI: 10.1515/clin-2013-1016.
25. Schuff-Werner P., Steiner M., Fenger S., et al. Effective estimation of correct platelet counts in pseudothrombocytopenia using an alternative anticoagulant based on magnesium salt. *Br. J. Haematol.* 2013; [162]: 684–692. DOI: 10.1111/bjh.12443.
26. Lin J., Luo Y., Yao S., et al. Discovery and correction of spurious low platelet counts due to EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *J. Clin. Lab. Anal.* 2015; [29]: 419–426. DOI: 10.1002/jcla.21818.
27. Sakurai S., Shiojima I., Tanigawa T., Nakahara K. Aminoglycosides prevent and dissociate the aggregation of platelets in patients with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Br. J. Haematol.* 1997; [99]: 817–823. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1997.4773280.x.
28. Zhou X., Wu X., Deng W., et al. Amikacin can be added to blood to reduce the fall in platelet count. *Am. J. Clin. Pathol.* 2011; [136]: 645–652. DOI: 10.1309/ajcpmon79qkqrbt.
29. Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: A clinical and epidemiological study of 112 cases with 10-year follow-up. *Am. J. Hematol.* 1995; [50]: 103–109. DOI: 10.1002/ajh.2830500206.
30. Lippi G., Plebani M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: Further insights and recommendations for prevention of a clinically threatening artifact. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012; [50]: 1281–1285. DOI: 10.1515/clin-2012-0081.
31. Vedy S., Boom B., Perez P., et al. Automatic platelets numbering with citrate as anticoagulant: Is the result valid? *Ann. Biol. Clin. (Paris).* 2011; [69]: 453–458. DOI: 10.1684/abc.2011.0596.
32. Lawrence C., Atac B. Hematologic changes in massive burn injury. *Crit. Care Med.* 1992; [20]: 1284–1288. DOI: 10.1097/00003246-199209000-00015.
33. Palmer L., Briggs C., McFadden S., et al. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int. J. Lab. Hematol.* 2015; [37]: 287–303. DOI: 10.1111/jlth.12327.
34. Briggs C., Harrison P., Machin S.J. Continuing developments with the automated platelet count. *Int. J. Lab. Hematol.* 2007; [29]: 77–91. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2007.00909.x.
35. Kakkor N., Garg G. Cytoplasmic fragments of leukemic cells masquerading as platelets in an automated haematology analyser. *J. Clin. Pathol.* 2005; [58]: 224–229. PMID: PMC1770578.

Статья поступила / Received 18.08.2022
Получена после рецензирования / Revised 20.08.2022
Принята в печать / Accepted 20.08.2022

Сведения об авторах

Цветкова Татьяна Геннадьевна, врач КЛД, зав. лабораторией гематологических и общеклинических методов исследования. E-mail: tsvetkova@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4464-6367

Калашникова Анастасия Андреевна, к.б.н., с.н.с. НИО лабораторной диагностики НИЦ. E-mail: petkova_nas@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5338-0866

ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург

Автор для переписки: Калашникова Анастасия Андреевна. E-mail: tsvetkova@yandex.ru

About authors

Tsvetkova Tatiana G., doctor of KLD, head of the Laboratory of Hematology and General Clinical Research Methods. E-mail: tsvetkova@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-4464-6367

Kalashnikova Anastasia A., PhD Med, senior researcher at Research Dept of Laboratory Diagnostics, National Research Centre. E-mail: petkova_nas@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5338-0866

The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine (NRCERM EMERCOM) of Russia, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Kalashnikova Anastasia A. E-mail: tsvetkova@yandex.ru

Для цитирования: Цветкова Т.Г., Калашникова А.А. Возможности и ограничения методов подсчета тромбоцитов. *Медицинский алфавит.* 2022; (19): 44–48. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-44-48>.

For citation: Tsvetkova T.G., Kalashnikova A.A. Possibilities and limitations of platelet counting methods. *Medical alphabet.* 2022; (19): 44–48. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-19-44-48>.

