

# 血栓与止血临床检验的影响因素

上海第二医科大学附属瑞金医院

上海血液学研究所

王鸿利 王学锋

在血栓与止血检验的全过程中，实验结果会受到诸多因素的影响。常见的有受检者状态、标本采集、抗凝剂与检测试剂盒、设备和仪器、实验方法、操作者技术以及血小板聚集等七个方面的因素。现分别简述如下。

## 一、受检者状态的影响

受检者的状态，如被测者生理变化、饮食改变、环境因素、服用药物等引起变化，在采集血标本时若未注意到这些因素也会对结果做出错误的判断。例如剧烈运动和月经期纤溶活性增高，高脂肪食物造成血脂升高可抑制纤溶活性，吸烟可使血小板聚集性增高，饮酒可抑制血小板聚集性。口服避孕药可增加凝血活性、降低纤溶活性，ticlopidine、阿司匹林等抑制血小板功能，肝素和口服抗凝剂等抑制凝血机制，尿激酶（UK）和葡激酶（SK）等可促进纤溶功能等。目前国内应用这些药物者较多，均应注意。

在实验研究中应用动物血标本，除一般注意事项外，要明了种属差异，尤其在筛选药物和用动物模型进行药理学研究时更应特别注意。

## 二、标本采集的影响

标本必须按照规定方法采集（详情参照 NCCLS H21-A2 文件，1991），以保存凝血因子的全部特性，严格防止凝血因子和血小板被激活。

（一）采血方法 采血前首先要确认病人的身份，并在容器上注明病人的姓名、性别和病历号，然后再次确认，若可能的话，对于多次反复采血的病人最好在同一条件下采血，如病人处于静息状态的早晨或早餐前。

对于大多数止凝血试验最好采用双筒注射器采血，但不能使用血气用注射器，因内含肝素会使凝血试验的结果延长。通常，第一管血液用于其他化学试验，第二管血液用于止凝血项目的检验。另外，止血带不应扎得太紧，最好不要超过 5 分钟，并应强调采血顺利，若采血速度缓慢或采血困难，会激活凝血机制，使凝血因子活性增高、血小板假性降低。为保证实验结果的准确性，最好采用硅化或塑料注射器，其容量误差要求小于 10%。针头必须采用 21 号以上（外径 0.8mm 以上），儿童可用 23 号。采完血后应拔掉针头，沿管壁将血液缓缓注入试管，要避免产生气泡，因为泡沫的产生可使纤维蛋白原、因子 V 和因子 VII 变性。然后迅速将血液和抗凝剂轻轻的颠倒混匀，避免用力振荡而破坏凝血蛋白。

（二）标本的贮存 血液要求采集于塑料或硅化试管中，并采用塑料移液管分离

血浆。血浆最好贮存在塑料或硅化、带塞子的试管中，因为玻璃可以激活凝血过程，影响试验结果。未加塞子的试管放置室温会使血液中的 CO<sub>2</sub> 丢失，PH 增高，使凝血酶原时间（PT）或活化部分凝血活酶时间（APTT）的结果延长。

全血贮存在 4~10℃ 不超过 2 小时，最好在 1 小时内分离血浆。富血小板血浆（PRP）要求在室温 20~25℃ 下，以 200~400g 离心 10 分钟分离，我国采用 800rpm，离心 5 分钟分离。在室温 22~24℃ 下，富血小板血浆可存放 3 小时。大多数凝血试验采用乏血小板血浆，应以 1000g 以上离心 20 分钟，我国采用 2000~2500rpm，离心 30 分钟分离，以去除全血中的血小板第 3 因子（PF3）、血小板第 4 因子（PF4）和某些凝血因子。乏血小板血浆在室温 22~24℃ 下可存放 2 小时，不同存放温度和时间对凝血因子活性的检测会有不同程度的影响，尤其是对因子 VIII、因子 IX 和因子 XI 活性会有较明显影响，结果见表 1。总的看来，冷冻血浆中的凝血因子在越低温度下越稳定。

全部试验不能在 4 小时内完成，应将血浆分装在小试管（0.5~1.0ml）中快速冷冻，贮存于 -20℃ 或 -70℃ 冰箱中。若不冷冻保存可使凝血因子活性异常，导致试验结果延长，而冷冻过的标本不能再次冷冻，否则结果会不准确。

冷冻血浆融化时，不能在室温中让其自然融化，这样会使纤维蛋白原析出和凝血因子消耗。应将盛冷冻血浆的容器置 37℃ 水浴中，并轻轻摇动，使其迅速融化。

用于 DNA 分析标本，可以用枸橼酸钠或 EDTA 抗凝，采血量 10ml，离心后去除血浆，留取 500ul 血浆，然后取白细胞、血小板和红细胞层混合液 500ul 移至冷冻管中，-70℃ 或 -80℃ 保存。

（三）标本的运送 止凝血检验标本最好在室温下运送，因为低温会损伤血小板、活化因子 VII 和因子 XI，使 PT 和 APTT 结果缩短。但是，有些止凝血检验，如 β<sub>2</sub>-血小板球蛋白、血小板第 4 因子和部分凝血因子检测标本，要求在 4℃ 以下运送，防止因子 V 和因子 II 降解。有些检测，如测定 t-PA 活性和抗原、PAI-1 抗原时，要求稳定血中的血小板，标本采集后避免体外活化纤溶酶原。

表 1-1 温度和时间对凝血因子活性检测结果的影响（单位：活性%）

保存温度与时间 (°C) (h)	VIII因子		IX因子		XI因子		XII因子	
	X	(%)*	X	(%)*	X	(%)*	X	(%)*
32°C (水箱内)								
即刻	134		125		102		85	
6	65	48	82	70	87	85	84	98
12	55	41	73	58	82	80	85	100
24	7	5	37	29	63	62	82	96
20°C (室温)								
即刻	134		125		102		85	
6	122	94	121	96	101	99	87	102
12	56	42	104	83	99	97	83	97
24	41	30	93	74	91	89	86	101
4°C (冰箱内)								
即刻	134		125		102		85	
6	127	95	121	97	103	100	86	101
12	61	45	112	90	100	99	85	100
24	39	29	106	88	98	96	87	102

\*表示此时结果相当于即刻试验结果百分比

表 1-2 温度和时间凝血因子活性检测结果的影响（单位：活性%）

因子		II	V	VII	X
-20°C	即刻	101	105	92	105
	4h	100	104	92	100
	6h	99	106	104	95
	8h	99	95	94	95
	24h	90	93	90	94
4°C	即刻	101	105	92	105
	4h	105	104	93	103
	6h	105	104	92	106
	8h	101	99	94	82
	24h	103	95	91	83
20°C	即刻	101	105	92	105
	4h	101	100	93	105
	6h	101	85	93	105
	8h	110	65	72	102
	24h	104	46	63	98
32°C	即刻	101	105	92	105
	4h	98	79	88	99
	6h	100	63	70	97
	8h	106	59	51	69
	24h	72	23	23	54

表 2 不同抗凝剂对测定结果的影响 (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

	0.109mol/L 枸橼酸钠	26.86mmol/L EDTA-Na <sub>2</sub>	0.1mol/L 草酸钠
PT(s)	11.5±0.4	14.4±0.6*	6.2±0.4**
FIB(g/L)	3.43±0.28	3.82±0.31*	5.13±0.42**
APTT(s)	25.3±2.2	36.1±4.0**	26.0±2.9
TT(s)	21.5±1.8	27.8±2.7*	4.6±0.4**
F II (%)	115±6.5	117±8.0	112±12.0
F V (%)	123±14.3	93±11.8*	47±9.2**
F VII (%)	138±12.0	120±15.5*	74±12.8**
F X (%)	118±7.0	107±6.8*	100±11.5*
F VIII (%)	159±22.5	114±18.7*	106±20.3**
F IX (%)	119±17.0	206±20.4*	98±17.2*
F XI (%)	103±15.1	147±16.3*	78±12.6
F XII (%)	94±12.6	103±9.5	56±13.7**

注：与枸橼酸钠抗凝组比 \*P<0.05 \*\*P<0.01

### 三、抗凝剂与检测试剂盒的影响

#### (一) 抗凝剂

1、抗凝剂 常用抗凝剂有 0.109mol/L 枸橼酸钠、26.86mmol/L EDTA-Na<sub>2</sub> 和 0.1mol/L 草酸钠等。应用这些常用抗凝剂对实验结果有影响。用上述抗凝剂分别与血液严格按 1:9 抗凝，平行测定 3 次取其结果的均值，见表 2。由表 2 所见，较理想的抗凝剂应首选枸橼酸钠。因为因子 V 和因子 VIII 在枸橼酸盐溶液中稳定性比在草酸盐溶液中为好。研究表明，在标本采集后的 15 分钟因子 V 活性就可降低。另外，采集于枸橼酸盐溶液中的标本对肝素敏感性高于草酸盐溶液的标本，这对于应用肝素的病人做 APTT 试验作为实验室监测就很重要。凝血试验一般推荐的枸橼酸钠抗凝剂的浓度是 0.109mol/L 或 0.13mol/L (即 3.2% 的 Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 溶液或 3.8% Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 5H<sub>2</sub>O 溶液)，抗凝剂与血液比例严格按 1: 9。有研究表明，血细胞比容 (Hct) 45% 的病人，以抗凝剂与血液比例分别为 1: 9 和 1: 5 采血，其 PT 的结果分别为 11.7 秒和 18.7 秒，存在显著差异。不应使用变质的枸橼酸盐溶液，否则会使 PT、APTT 试验的结果缩短。研究也表明，非缓冲枸橼酸钠溶液 pH 若 >8.0，可破坏贮存标本的硅化试管的硅层，同时也破坏因子 V 和因子 VIII 的活性，从而影响实验结果，所以最佳 pH 条件为 5.8。

着重指出，血细胞比容的高低能引起血浆与抗凝剂之间比例的变化。所以当 Hct 增高 >55% 或 <25% 时，务必用 MacGann 推荐的公式计算抗凝剂的用量，公式如下：抗凝剂的用量(m1)=0.00185×全血量(m1)× [1-Hct (%) ]。否则检测结果不可信。丛玉

隆等研究显示，血细胞比容(Hct)增高的病人因抗凝剂含量过高可使 PT、APTT 结果延长；Hct 减低的病人因抗凝剂含量过低可使 PT、APTT 结果缩短，结果见表 3。

表 3 不同 Hct 对 PT、APTT 测定结果的影响（单位：秒）

Hct(%)	PT	APTT
10	10.0±0.58	24.3±3.2
20	10.4±0.17	28.2±1.4
45	11.1±0.66	33.3±4.3
60	13.5±1.46	37.2±4.0
70	14.9±0.98	38.5±3.1
80	52.5±7.74	60.5±10.3

2、抗凝剂+抗聚剂 已证实，枸橼酸钠抗凝剂不能完全抑制血小板活化，活化血小板会释放 $\beta$ -TG、PF4、vWF 和 PAI 等，所以测定这些因子应选用抗凝剂+抗聚剂的抗凝剂。通常选用 CTAD 液 [内含：枸橼酸钠 0.11mol/L、茶碱 (theophylline) 15mmol/L、腺苷(adenosine)3.7mmol/L 和潘生丁(dipyridamol)0.198mmol/L]，其中腺苷作用是活化腺苷酸环化酶，增加血小板内环磷酸腺苷(c-AMP)浓度，减少体外血小板活化；茶碱和潘生丁通过抑制磷酸二酯酶的活性，在一定程度上能阻止 c-AMP 的降解；潘生丁还能阻止红细胞摄入腺苷，从而有效的增加血小板腺苷应用量，活化腺苷酸环化酶，抑制血小板聚集和 $\alpha$  颗粒内容物的释放。CTAD 抗凝的优点，采血后血小板很少活化，且保存时间可超过 15 小时，这很实用。

3、抗凝剂+抗纤溶剂 在溶栓治疗的实验室监测中，若用常用抗凝剂会使纤溶系统持续激活可致纤维蛋白原及其降解产物(FDP)的定量出现差异。应该使用“抗凝剂+抗纤溶剂”的抗凝剂，抗纤溶剂可选用抑肽酶，它可以抑制激肽释放酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、凝血因子和纤溶活性，能精确的测定纤维蛋白原，但会引起凝血酶时间(TT)的延长。

(二) 检测试剂 目前，商品化的凝血活酶和活化部分凝血活酶试剂的品种繁多。因各种凝血活酶试剂对因子VII的敏感性不同，故导致 PT 检测的结果也不相同；同样，活化部分凝血活酶试剂对因子VIII、因子IX的敏感性不同，故导致 APTT 检测的结果也不相同。因此，检测试剂的选择应掌握下列原则：

1、根据试剂的重复性和敏感性，按照实验操作方法的要求选择合理的试剂。以 APTT 为例，APTT 试验通常以磷脂作为接触表面，用白陶土、硅藻土或鞣花酸作为激活剂，这些激活剂对肝素、狼疮抗凝物、因子VIII和因子IX的敏感性各不相同，在检测中就应根据不同的对象选择合理的激活剂，结果见表 4。

表 4 不同激活剂对 APTT 的敏感性比较

激活剂	对因子敏感性	对肝素敏感性	对狼疮抗凝物敏感性
白陶土	++++	++	+
硅藻土	+++	+++	++
鞣化酸	++	+	+++

2、按照仪器性能选用匹配的试剂，某些凝血活酶和活化部分凝血活酶试剂不适用于部分仪器：如浑浊的或含颗粒的凝血活酶和活化部分凝血活酶试剂就不能用在光学法判断终点的仪器上，有些试剂为了保证其中的颗粒处于悬浮状态，在使用前必须充分混合。

3、使用商品试剂必须严格遵循产品说明，用于口服抗凝剂监测的 PT 试剂必须按 WHO 的要求进行标化，用国际参照制剂校准凝血活酶，提供国际敏感度指数 (ISI)，结果以国际标准化比值 (INR) 报告。例如，同一标本在两个实验室分别用 ISI 为 2.8 和 1.2 的组织凝血活酶试剂检测，其 PT 的结果分别为 20.5 秒和 42 秒（正常对照值为 12 秒）；凝血酶原时间比值 (PTR) 分别为 1.71 和 3.50，上述两种表示 PT 结果的方法相差非常悬殊。但是，经过计算 INR 见其结果却都在 3.0~4.5 范围内，口服抗凝剂的用量属于同一水平，无显著差异。

(三) 正常对照血浆 许多实验都需要正常对照，以避免实验操作造成的误差。正常对照血浆要求采集 20 份以上，年龄在 18~55 岁间的健康男女个体，删除服药者，须在平静状态下采血。血液经抗凝离心后，分离血浆等量混匀，分装小瓶，冻存于 -80℃ 备用或冷冻干燥。

(四) 标准品 标准化是质量控制的重要组成部分，方法标准化对不同的实验室来说是有困难的。为了使检测结果在同一实验室或不同实验室的不同时期有可比性，就要使用标准品。WHO 已建立了十多种血栓与止血的国际标准品，如  $\beta$ -TG (83/501)、PF4 (83/505)、vWF (87/718)、蛋白 C (86/622)、t-PA (86/670)、FVIII (80/511)、AT-III (72/1)、HBPM/LMWH (85/600)、纤维蛋白原 (89/644) 等，可以选用。

#### 四、设备和仪器的影响

(一) 设备的影响 检测所用的设备，主要是试管、注射器、离心机和温育箱等，现以不同品种的试管对测定结果的影响为例说明。

有人取 10 份用 0.109mol/L 枸橼酸钠抗凝的血样本，每份分别用硅化试管、塑料试管和普通玻璃试管盛装，平行测定 3 次取检测的均值，结果见表 6。实验结果表明，以硅化试管为最佳，凝血因子损耗最少；塑料试管除因子 XII 与硅化试管有显著性差异 ( $P < 0.01$ ) 外，其余差异不显著 ( $P > 0.05$ )。普通玻璃试管最差，与硅化试管的差异显著 ( $P < 0.05$ )。因此，在检测出凝血试验中，要求使用硅化试管或塑料试管，不用普通玻璃试管。

表 5 不同试管对测定结果的影响 (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

	硅化试管	塑料试管	普通玻璃试管
PT (S)	11.3±0.4	11.4±0.4	11.3±0.6
FIB (g/L)	3.79±0.25	3.69±0.31	3.58±0.36*
APTT (s)	25.3±2.5	25.6±2.4	25.9±3.5
TT (s)	20.5±1.4	21.1±1.5	19.9±1.8
FII (%)	120±10.3	112±8.6	108±14.2*
FV (%)	111±8.8	104±14.0	107±16.6
FVII (%)	128±13.4	131±14.0	120±17.0*
FX (%)	118±9.6	113±12.2	100±13.6*
FVIII (%)	132±19.7	128±18.7	83±21.9*
FIX (%)	104±12.7	97±13.6	108±17.2
FXI (%)	105±14.1	97±13.6*	83±15.1*
FXII (%)	106±11.7	59±17.3**	34±15.2**

注：与硅化试管组比 \*P<0.05 \*\*P<0.01

(二) 仪器的影响 目前多种自动化的仪器, 广泛应用于检测出凝血试验。仪器的检测原理有①光学法(比浊法); ②生物化学法(比色法); ③免疫学法(透射比浊法、散射比浊法和胶乳比浊法); ④干化学技术法; ⑤超声分析法等。不同品牌和不同原理的仪器对检测的结果也有不同。有研究表明, 在 ACL、Cobas Fibro 和 Coag-a-Pet 三台血液凝固分析仪上, 使用同一种 ISI 为 1.12 的 Thromborel S 试剂, 测定 PT 的正常值分别为 10.7 秒、12.1 秒和 11.0 秒, 但若用同一 ISI 值计算 INR, 得出数值也存在不同程度的差异。所以, 近年有人提出区域性 ISI (Local ISI) 的概念, 认为每台仪器上使用的凝血活酶试剂都应有特定 ISI 值, 而不应使用厂商标定的 ISI 值, 重新标定 ISI 值的做法是购买标有 INR 的冻干血浆, 然后在自己所用的仪器上再标定凝血活酶试剂的 ISI 值, 这样才能使病人 INR 的结果具有可比性和可信性。

## 五、实验方法的影响

理想的实验方法要求准确性和精密度较好, 又简便、快速能适合常规应用: 因所用实验方法的不同, 其所得的结果也可不相同。例如, 测定血浆纤维蛋白原的方法可归为四类, 它们各具优缺点, 目前推荐用 Clauss (凝血酶凝固时间法) 法。

1、功能测定法 又可分为测重法、酚试剂比色法、紫外光度法、测氮法、浊度法和凝血酶凝固时间法等。这类方法的优点是有凝血功能的纤维蛋白原, 又称为可凝固蛋白 (clottable protein), 故特异性较好。方法可简可繁, 常规使用中, 多采用较简便的 Clauss 法。据 1975 年美国调查, 1939 个临床实验室中, 用此法者占 1824 家 (94%)。

2、理化测定法 又可分为盐析法（用亚硫酸钠、硫酸铵或氯化钠盐析，用蛋白质显色或比浊法测定），热变性沉淀法和电泳法等。这类方法都比较简单、快速，但缺点是本法的特异性不高。所测的不仅有凝固功能的纤维蛋白原，还可能包括部分的降解产物和/或其他蛋白。而电泳法又太繁琐，不适于常规工作。

3、免疫学测定法 是将纯纤维蛋白原作为抗原免疫动物，制成多克隆或单克隆抗体。然后用免疫胶乳、被动血凝或反向血凝、单向免疫扩散、火箭电泳以及 ELISA 等方法测定。优点是方法相对简便，但缺点是所测的不仅是可凝固的纤维蛋白原，可能包括了它的降解产物，也可能包括了异常纤维蛋白原(dysfibrinogens)。

4. PT-Der 法 即凝血酶原时间（PT）衍生纤维蛋白原法。本法的理论依据是当 PT 测定完成时，全部纤维蛋白原均变成纤维蛋白，其形成的浊度与纤维蛋白的含量成正比，可由浊度直接推算出纤维蛋白原的含量。当血浆纤维蛋白原含量在正常范围时，PT-Der 法与经典的 clauss 法无显著差异或略高于 clauss 法；但当纤维蛋白原减低时，PT-Der 法往往偏高（ $P<0.001$ ），故此法用于纤维蛋白原减低者应慎重。有人用 clauss 法、双缩脲法和 PT-Der 法对纤维蛋白原含量作了比较，结果是：双缩脲法在纤维蛋白原正常组（2.0-4.0g/L,  $n=32$ ）、纤维蛋白原增高组（ $>4.0g/L$ ,  $n=8$ ）和纤维蛋白原减低组（ $<2.0g/L$ ,  $n=29$ ）均显示测定值偏高。然而，PT-Der 法在正常组与 Clauss 法相比，无差异（ $P>0.05$ ）；但是增高组和降低组均有显著差异（ $P<0.05$ 、 $P<0.01$ ），表 7。

表 6 不同方法测定纤维蛋白原含量的比较（单位：g/L）

	Clauss法	双缩脲法	PT-Der法
增高值（n=8）	4.68±0.84	4.88±1.07*	4.94±1.12**
正常值（n=32）	2.87±0.92	2.94±1.24	2.92±1.01
减低值（n=29）	1.14±0.83	1.21±0.78*	1.25±0.57**

注：与 clauss 法比较，\* $p<0.05$ ，\*\* $p<0.01$

## 六、操作者技术的影响

操作者的技术，有的熟练，有的生疏。有人比较了一个技术熟练的专业技术人员与一个技术生疏的实习学生，对同一份标本，用同样的试剂、仪器和方法，检测 PT、APTT、凝血酶时间(TT)和纤维蛋白原(FIB)，其结果出现了差异(表 7)。因此，对技术熟练者精益求精，不断提高；对技术生疏者，应加强上岗前培训，不断操练，由生疏变熟练。



表 7 操作者技术对检测结果的影响

	n	技术生疏者		技术熟练者	
		手工法	仪器法	手工法	仪器法
PT (s)	15	14.6±1.2*	13.8±0.9*	12.6±0.7	12.1±0.6
APTT (s)	15	72.5±15.3*	68.1±10.6	66.7±10.1	66.3±9.2
TT (s)	15	23.2±8.4**	19.6±4.3*	18.2±4.4	17.9±4.5
FIB (g/L)	12	3.84±1.01**	2.76±0.84	3.02±0.94	2.84±8.8

注：二者手工法比较 \*P<0.05 \*\*P<0.01；二者仪器法比较 \*P<0.05 \*\*P<0.01

### 七、血小板聚集试验的影响因素

血小板的相互粘附则为聚集。体外多种物质如 ADP、肾上腺素、胶原、凝血酶和花生四烯酸等均可引起血小板聚集。在富含血小板的血浆（PRP）中加入上述诱导剂来检测血小板的聚集功能即为血小板聚集试验。影响血小板聚集试验的因素有：

1、诱导剂：常用的二磷酸腺苷（简称 ADP）、肾上腺素、胶原、凝血酶、5-HT 和花生四烯酸等。不同诱导剂以及不同浓度均可导致不同结果。

由于不同诱导剂引起的聚集机制不同，因此不同诱导剂的应用反映了血小板不同的缺陷。根据不同的实验目的选用不同的诱导剂也很重要。我们曾对服用阿司匹林的受检者的血浆用花生四烯酸、ADP、胶原和瑞斯托霉素四种不同诱导剂进行血小板聚集功能的测定，发现最敏感的是花生四烯酸，而瑞斯托霉素则没有反应。

ADP 的浓度影响着血小板聚集的速度和强度，低浓度产生可逆性聚集，高浓度 ADP 产生不可逆性聚集。一般报道的最低浓度与临界浓度为  $3 \times 10^{-8} \text{mol/L} \sim 3 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ 。胶原引起的聚集是通过血小板释放引起的。在加入胶原后有一段明显的延迟相，然后才有透光度急剧的增加。它的活性随原料和制作方法不同可有很大差异。肾上腺素可引起双相型聚集曲线，第一相变化与肾上腺素浓度有关，第二相变化与 ADP 释放有关，其作用浓度为  $5 \times 10^{-8} \text{mol/L} \sim 5 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ 。

2、PRP 中的血小板数 PRP 中的血小板决定了血小板的碰撞率，影响到聚集的速度、程度和性质。因此测定中必须固定 PRP 中的血小板数，一般选用  $200 \times 10^9/\text{L} \sim 500 \times 10^9/\text{L}$  范围。不过这种影响在 ADP 中较明显，用肾上腺素时小些。

3、搅拌条件指搅拌速度和搅拌的形状，二者均影响血小板碰撞率，搅拌速度为 120rpm，不出现聚集，500rpm 时，聚集程度虽与 1000rpm 时相同，但聚集速度较慢。目前使用的血小板聚集仪搅拌速度都固定为 1000rpm，搅拌棒的粗细长短均已选定。

4、采血后测定时间 采血后不及时测定会影响聚集强度和速度，特别是释放反应。引起聚集反应下降的原因可能与一种“血浆不稳定”性因素增加有关。如采血后 30~120 分钟内的 PRP，在低浓度 ADP 引起的聚集速度和高浓度 ADP 引起的第一、第二聚集相，解聚速度均有下降。因此应当固定和限定测定时间，一般认为采血后 2~3 小时测

定对结果影响不大。

5、放置 PRP 的温度 血小板在冷的环境下可发生外形改变及粘附、聚集能力增加，或出现自发性聚集。其原因可能与有利于 ADP 释放及阻止解聚有关，或是阻止一种原因不明的体外破坏作用以及影响诱导剂作用之故。故血标本采集后置于室温即可。

6、抗凝剂 钙是血小板聚集中重要的因素，由于种种原因造成枸橼酸在 PRP 中浓度的变化均可影响聚集结果。一般用 0.13mol/L 枸橼酸抗凝。

7、pH 值 由于病理性的酸中毒或碱中毒，以及由于 CO<sub>2</sub> 的弥散使暴露于空气的 PRP 的 PH 值变动，均可影响聚集结果。当血浆标本偏酸时，肾上腺素引起的聚集受抑，偏碱性时聚集增强。

8、红细胞的混杂、溶血及血浆脂类 这类因素的存在主要是降低悬液的透光度，从而掩盖血小板聚集变化。当 PRP 中混入的红细胞过量时，即可产生这种影响。

9、白细胞 白细胞对 ADP、5-HT 和凝血酶引起的聚集和解聚有影响，它能迅速灭活 ADP。

10、月经和妊娠雌性激素对聚集和释放功能有影响，如妊娠时第二相速度加快，排卵期时 ADP 和肾上腺素引起的第二相却很常见，而经期和黄体期则罕见。

11、种属差异 各种哺乳动物的血小板聚集特性及对诱导剂的反应是十分不同的。而且血浆对外源性 ADP 聚集活性速度也有种属差异。此外，不同地区人的血小板聚集功能也不同。

12、抑聚剂 有许多种抑聚剂，如腺苷、前列腺素、阿司匹林、潘生丁、保泰松和低分子右旋糖苷等，其中有的药物抑制聚集第一相，有的抑制聚集第二相，有的仅在大剂量时出现抑制作用。

综上所述，影响血栓与止血检测因素众多，不仅临床医师需要了解，特别是检测人员更需要熟知，做到在检测的全过程中，处处和环环都必须倍加注意，才能保证检测结果有最大的准确性和可靠性。