

• 检验仪器与试剂评价 •

光学法与电阻抗法血小板计数差异及仪器报警信息分析

唐玉凤¹, 尚晓泓¹, 花蕾², 王凤梅¹, 郭盼¹, 魏永毅^{1△}

(1. 中国中医科学院西苑医院检验科, 北京 100091; 2. 保定市第二中心医院检验科, 河北保定 072750)

摘要:目的 以手工显微镜计数法为参考, 比较光学法与电阻抗法计数血小板的差异, 并对仪器报警信息进行分析。方法 应用 Sysmex XE-2100 全自动血液分析仪, 同时采用光学法、电阻抗法检测 468 例患者的血小板计数 (PLT-O、PLT-I), 并与手工显微镜计数法检测的血小板计数 (PLT-M) 进行比较, 同时镜检观察红细胞与血小板的数量及形态, 并记录仪器的红细胞和血小板的报警信息。结果 非血液病组中, PLT-M、PLT-I、PLT-O 差异无统计学意义 ($P=0.071$)。血液病组中, PLT-I 与 PLT-M、PLT-O 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), PLT-M 与 PLT-O 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。血液病组仪器出现血小板报警信息者 149 例, 出现红细胞报警信息者 127 例, 与镜检结果较符合。结论 当血小板计数低于正常参考范围内时, PLT-I 计数误差较大, 需 PLT-M 和 PLT-O 方法复检或校正; 当出现血小板或红细胞报警信息时, 均需涂片复检。

关键词: 光学法; 电阻抗法; 显微镜计数法; 血小板计数; 报警信息

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)22-3105-03

Analysis of the platelet counting difference between optical method and electrical impedance method and the alarm information of instrument

Tang Yufeng¹, Shang Xiaohong¹, Hua Lei², Wang Fengmei¹, Guo Pan¹, Wei Yongyi^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the Second Center Hospital of Baoding, Baoding, Hebei 072750, China)

Abstract: **Objective** To compare the differences of platelet (PLT) count between the optical method (PLT-O) and electrical impedance method (PLT-I), using microscopic method (PLT-M) as a standard method, and to analyze the alarm information of instrument. **Methods** Both of PLT-O and PLT-I of 468 cases of patient specimens were detected by Sysmex XE-2100 automatic hematology analyzer, and which were compared with PLT-M. The counts and morphology of red blood cells and platelets were detected by microscopic method. The alarm information of red blood cells and platelets were recorded. **Results** In non-hematopathy group, there was no significant difference among PLT-M, PLT-I and PLT-O ($P=0.071$). In hematopathy group, PLT-I was significantly different from both PLT-M and PLT-O ($P<0.05$), however, there was no significant difference between PLT-M and PLT-O ($P>0.05$). There were 149 cases occurring platelets alarm and 127 cases occurring red blood cells alarm in hematopathy group, which was consistent with the results of microscopic method. **Conclusion** When the value of PLT is below the normal reference range, counting error of PLT-I is large and the value of PLT should be rechecked or corrected using PLT-M and PLT-O. Re-examination should be performed when alarm information is displayed.

Key words: optical method; electrical impedance method; microscope count method; platelet counting; alarm information

近年来,随着血液分析仪自动化程度的提高,手工显微镜检查法计数血小板 (PLT-M) 逐渐被仪器法取代。目前大多数实验室的血液分析仪采用电阻抗法检测血小板数量 (PLT-I)、血小板平均体积 (MPV)、血小板体积分布宽度 (PDW)、血小板压积 (PCT) 及大血小板比率 (P-LCR) 等参数, 因其具有高效、快捷、重复性好等优点, 适合批量检测, 是目前计数血小板的常规方法。但因为血小板和红细胞在同一通道检测, 因此当标本中存在小红细胞、红细胞碎片、大血小板、巨大血小板或血小板聚集时, 易造成血小板计数的假性增高或减低, 误导临床诊断及治疗。目前, 某些型号的全自动血液分析仪除电阻抗法外, 还同时具备光学法检测血小板 (PLT-O) 的功能, 因 2 种血小板计数方法的原理不同, 计数结果也存在差异, 为了有效减少血小板计数差异对临床工作的影响, 本研究以手工显微镜计数法为参考, 比较了光学法与电阻抗法计数血小板的差异, 并通过涂片镜检观察红细胞与血小板的数量及形态, 并结合仪器报警信息, 分析引起血小板计数差异的影响因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集中国中医科学院西苑医院检验科 2012 年 9 月 7 日至 2013 年 2 月 4 日检测网织红细胞计数的患者 468 例, 其中男 264 例, 女 204 例, 年龄 10~97 岁, 平均 (60±19) 岁。将标本分为 2 组: 血液病组和非血液病组。血液病组 165 例, 其中再生障碍性贫血 (AA) 51 例、骨髓增生异常综合征 (MDS) 31 例、白血病 37 例、特发性血小板减少性紫癜 (ITP) 31 例、其他血液系统疾病 15 例; 非血液病组 303 例, 其中心血管疾病患者 109 例、肺部疾病 43 例、肾病及风湿免疫病 28 例、脾胃及肛肠疾病 28 例、糖尿病 27 例、恶性肿瘤 16 例、门诊未明确诊断患者 52 例。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪及其配套试剂、质控品、校准品; Olympus 光学显微镜; 改良牛鲍氏血细胞计数板; 微量吸管、玻片; 1% 草酸铵血小板稀释液; 瑞氏染液。

1.3 方法 所有标本均采用光学法、电阻抗法、显微镜计数法

计数血小板。为排除 EDTA-K₂ 抗凝剂依赖导致的血小板计数假性减低,凡涂片镜检有血小板聚集现象或仪器报警提示血小板聚集的标本均重新采集末梢血计数血小板,其中血液病组 6 例,非血液病组 4 例。

1.3.1 仪器法 采集 EDTA-K₂ 抗凝静脉血 2.0 mL,检查标本无凝血、溶血及乳糜血后,于 2 h 内上机检测完毕,操作步骤严格按仪器说明书进行,开通网织红细胞检测通道,同时用电阻抗法和光学法检测血小板数量;每天检测标本前、中、后均用其厂家配套质控物进行质量控制,检测完成后记录患者的相关信息及仪器的红细胞和血小板的报警信息。

1.3.2 手工显微镜计数法 按照《全国临床检验操作规程》^[1],取抗凝静脉血 20 μL 加入 380 μL 1% 草酸铵血小板稀释液中,混匀后放置 10~15 min,待红细胞充分破坏后,充入计数池中,计数中央大方格内 4 角及中央共计 5 个中方格内的血小板数,即为每升血液内的血小板数。

1.3.3 血涂片观察血小板、红细胞形态及分布 用抗凝静脉血标本制成血涂片,血涂片要求厚薄适中、头体尾分明,血膜边缘整齐,推好的血涂片要在空气中迅速晾干,以免影响红细胞形态。瑞氏染色后,油镜下观察红细胞与血小板的数量及形态(有无红细胞碎片、小红细胞、红细胞大小不一、血小板聚集、大血小板、巨大血小板等),并估计血小板数量(体尾交界处红细

胞分布均匀的血膜部位平均每油镜视野的血小板数乘以 10 大约相当于每升血液的血小板数)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,首先分析光学法、电阻抗法、显微镜计数法对血小板计数结果的频数分布,经正态分布检验,非血液病组 3 种计数方法的血小板频数分布为正态分布,组内和组间比较采用方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧);血液病组 3 种计数方法的血小板频数分布均为正偏态分布,数据以中位数(四分位数间距)表示,采用多个相关样本的秩和检验进行组内和组间比较。

2 结 果

非血液病组 303 例标本采用 3 种方法计数血小板的结果分别为:PLT-M(190.42 ± 83.10) $\times 10^9$ /L、PLT-I(204.68 ± 88.25) $\times 10^9$ /L、PLT-O(191.52 ± 83.77) $\times 10^9$ /L,差异无统计学意义($P>0.05$)。血液病组 165 例标本采用 3 种方法计数血小板的结果分别为:PLT-M [$43(147)$] $\times 10^9$ /L、PLT-I [$44(153)$] $\times 10^9$ /L、PLT-O [$41(115)$] $\times 10^9$ /L,PLT-I 与 PLT-M、PLT-O 的差异均有统计学意义($P<0.05$),而 PLT-M 与 PLT-O 相比差异无统计学意义($P>0.05$),以 PLT-M 为标准,PLT-O 与 PLT-M 差异小,而 PLT-I 较前两者偏高。血液病组仪器出现血小板报警信息者 149 例,出现红细胞报警信息者 127 例,具体提示内容见表 1。

表 1 血液病组标本检测出现仪器报警信息的内容

项目	血小板报警信息			红细胞报警信息		
	异常直方图+ 血小板减少	血小板减少	血小板聚集	贫血	贫血+ 大小不均	贫血+大小 不均+碎片
仪器法异常例数(n)	57	88	4	63	31	33
镜检法异常结果	36 例存在大或巨大血小板;2 例血小板聚集	82 例存在数量不等的血小板减少	3 例存在血小板聚集	实际检测 95 例 Hb 低于 110 g/L	28 例红细胞大小不一或形态异常	29 例存在数量不等的红细胞碎片
仪器法与镜检法的符合率(%)	63.2	93.2	75.0	66.3	90.3	97.9

3 讨 论

血小板的功能主要是促进止血和加速凝血,同时还具有维持血管内皮完整性的功能,因此血小板计数的准确性对于患者的诊断、治疗、合理用药及手术前后监控均有重要的临床意义。目前计数血小板的方法主要有 3 种,它们各具优缺点。电阻抗法检测血小板具有计数细胞多,重复性、准确性好,而且经济等优点,是各种血液分析仪常用的方法,但因电阻抗法识别血小板仅根据颗粒大小,因此当血液中存在病理形态的血细胞时,就可能导致血小板计数的假性偏高或减低。光学法检测血小板是通过分析细胞大小、内部结构及 DNA、RNA 载量综合判断,因此血小板的计数更客观。目视显微镜计数法虽因计数血小板少,重复性较差,但因为是直接计数,仍是世界卫生组织推荐的血小板计数国际参考方法^[2],对于 EDTA-K₂ 抗凝剂依赖造成的血小板假性减低的标本更是必不可少。

本研究结果显示,非血液病组 303 例标本 PLT-M、PLT-I、PLT-O 的范围均在健康人血小板计数的参考范围内,且差异无统计学意义($P>0.05$)。说明非血液系统疾病细胞形态变异较小,对血小板计数影响较小,在血小板生物参考区间内,3 种方法都是可靠的。血液病组 165 例标本 PLT-M、PLT-I、

PLT-O 的中位数均低于健康人血小板计数的生物参考值,PLT-I 与 PLT-M、PLT-O 相比,差异均有统计学意义($P<0.05$),而 PLT-M 与 PLT-O 相比差异无统计学意义($P>0.05$),以 PLT-M 为标准,PLT-O 与 PLT-M 的差异小,而 PLT-I 较前两者偏高。说明电阻抗法检测血液系统疾病患者血液标本的血小板计数结果误差较大,可能会对疾病的诊断或治疗产生影响,这主要是由于血液系统疾病因造血功能紊乱出现小红细胞、红细胞碎片、大血小板及巨大血小板、血小板聚集的概率较高的缘故。而光学法检测血液系统疾病标本的血小板计数结果是可靠的。这与车轶群等^[3]和陈小剑等^[4]的研究结果一致。

仪器出现血小板报警信息的血液病组 149 例标本中,出现红细胞报警信息者 127 例,出现报警信息的比例明显高于非血液病组。血小板报警信息与手工涂片镜检复核后发现,仪器报警提示“异常直方图+血小板减少”的 57 例标本中有 36 例存在大血小板或巨大血小板,2 例存在血小板聚集;提示“血小板聚集”的 4 例标本中,有 3 例存在血小板聚集现象,由此可见仪器报警信息对涂片复检具有较大提示作用,对初步纠正由大血小板、血小板聚集引起的血小板假性降低有(下转第 3109 页)

续表 5 加强清洗效果确认

污染相关项目	TP/CK-MB	ALP/CK-MB	ALP/Mg	CK-MB/Mg	HEBDH/Mg	LDL-C/Mg	APOB/Mg	TP/Zn	Mg/LPS	TG/LPS
测定值 4	14.0	15.0	0.88	0.91	0.87	0.94	0.92	19.4	61.2	58.9
试剂针污染(测定值 1/4,%)	100.0	100.0	102.2	101.1	101.1	98.9	98.9	98.4	98.7	102
搅拌棒污染(测定值 3/4,%)	100.0	100.0	101.1	98.9	100.0	101.0	97.8	101.0	100.5	160.9

3 讨 论

生化分析仪的携带污染种类很多,一般包括比色杯的污染,试剂针或搅拌棒的污染,或者既有试剂针也有搅拌棒的污染。携带污染的形成通常是前一个检测项目的试剂中含有下一个检测项目的待测成分或者是前一测试项目的反应产物或试剂中的某一成分直接参与了下一测试的反应过程,从而对后续检测项目产生或正或负的影响。不同的生化分析仪工作流程、比色杯、试剂针、搅拌棒的数量和制造工艺各不相同,所以在携带污染的报道上也不完全一致^[2-4]。本研究发现 TG 对 LPS 的正干扰主要体现在搅拌棒的携带污染:第 1 次影响率为 334.0%,第 2 次为 160.9%,其影响可持续到后续的第 3 次检测,影响率仍然高达 110.1%。本研究通过设置交叉污染避免程序加强清洗 3 次搅拌棒(碱性洗液 2 次+水洗 1 次)后,其携带污染才成功消除。

对待生化分析仪的携带污染问题,可以通过调整项目的分析顺序或将有污染的项目设置在不同的内外反应转盘上^[5],也可以采用简单的加强清洗程序来消除,虽然加强清洗对仪器的检测速度不可避免地带来影响。本研究通过对 Beckman AU5800 的检测流程入手制定了以上的标准分析模式,并摸索出一套采用固定的表格计算的方法,应用这种方式可以方便地一次性检测出分析仪的所有项目相互间的试剂针和搅拌棒的交叉污染情况,检测人员只需要根据试验结果设置污染避免程序即可。按照以上的试验设计,也能很容易地把所有内圈比色杯上的项目间交叉污染分析清楚,从而省去了花费大量时间去

更改试验项目的编程和反复调整测试项目的顺序,对于与 Beckman AU5800 工作流程相似的生化分析仪也同样可以采用这套方法,与同类研究报道相比,本试验方法的可操作性更强,并且能节约试剂成本^[6-7]。

参考文献

- [1] 程晓军,荆成宝,赵斌. OLYMPUS AU2700 全自动生化分析仪精密度和交叉污染率评价[J]. 现代检验医学杂志, 2006, 20(6): 45-47.
- [2] 林霞. 全自动生化分析仪试剂添加方式对实验结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(8): 1010-1012.
- [3] 李春妹. 生化分析仪交叉污染的评价[J]. 中国医药指南, 2013, 11(9): 96-97.
- [4] 周丽敏,陈毅聪. 全自动生化分析仪试剂针携带污染对脂肪酶测定的影响[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(3): 288-290.
- [5] 毛盛尧,高国生,周尧东. OLYMPUS AU2700 全自动生化分析仪携带污染检出及解决措施[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(3): 479-481.
- [6] 尚晓泓,胡晓丽,王海龙,等. 日立 7600-020 型全自动生化分析仪干扰,交叉污染的实验研究[J]. 中国医学装备, 2007, 4(11): 17-22.
- [7] 李浩,张卉,秦晓燕,等. 浅析 OLYMPUS AU640 自动生化分析仪交叉污染的具体原因[J]. 医疗卫生装备, 2010, 31(8): 106-107.

(收稿日期:2014-04-08)

(上接第 3106 页)

重要意义^[5]。与血小板报警信息相比,红细胞报警信息也有一定的提示意义。仪器报警提示“贫血+细胞大小不均”的标本有 31 例,而手工涂片镜检发现其中有 28 例存在红细胞大小不一或异常形态红细胞,可见对于大小不一红细胞数目较多的标本,仪器的提示作用是比较可靠的。仪器报警提示“贫血+大小不均+碎片”的 33 例标本中,涂片镜检发现 29 例存在多少不等的红细胞碎片,有文献报道光学法在一定范围内可有效地排除小红细胞和细胞碎片对血小板计数的影响,能较准确地检出大血小板及异常血小板^[6-7],这与本研究的结论是一致的。因此,在诊断血液系统疾病特别是白血病、MDS、ITP、缺铁性贫血或溶血性贫血时,最好采用光学法或手工显微镜计数法检测血小板。

综上所述,当血小板计数在正常参考范围内且仪器无红细胞或血小板的报警信息时,PLT-M、PLT-I、PLT-O 均可靠;当血小板计数低于正常参考值时,PLT-I 误差较大,需采用手工镜检法和光学法复检或矫正;当仪器出现红细胞或血小板报警信息时,应进行涂片复检,查找引起血小板计数误差的原因,及时采取必要的纠正措施,为临床诊治提供可靠依据。

参考文献

- [1] 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: 136-137.

- [2] England JM, Rowan RM, Bins M, et al. Recommended methods for the visual determination of white cell and platelet counts[J]. World Health Organ LAB, 1988, 3: 1.
- [3] 车铁群,沈迪,董莹莹,等. 3 种方法检测血小板的对比分析[J]. 北京医学, 2011, 33(7): 593-594.
- [4] 陈小剑,王晓欧,舒旷怡,等. 三种检测血小板数方法的初步评价[J]. 检验医学, 2006, 21(1): 61-63.
- [5] 刘善凤,王利民,曾筱倩,等. 涂片镜检对初步纠正血小板假性降低的意义[J]. 临床血液学杂志, 2010, 23(4): 193-195.
- [6] 陈梅,黄丽云,方伟祯,等. XE-2100 全自动血细胞分析仪两种血小板计数方法与镜检法计数血小板的比较[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(3): 99-100.
- [7] 茅蔚,熊立凡,于嘉屏. XE-2100 血液分析仪两种血小板计数方法的准确性在血液疾病中的观察[J]. 检验医学, 2007, 22(4): 459-462.

(收稿日期:2014-06-20)