

论著 • 临床研究

严重血小板减少症患者血小板计数结果准确性评价*

陈玲娟,李珊珊,潘瑞琪,廖明星,胡琼英,艾承锦[△]
(成都中医药大学附属医院检验科,成都 610072)

摘要:目的 评价血液分析仪 XE2100、LH780、BC6600 对严重血小板减少症患者 EDTA-K₂ 抗凝全血血小板计数准确性。方法 按患者就诊顺序选取 XE2100 血液分析仪血小板计数 $\leq 30 \times 10^9/L$ 的患者标本 60 例,分别用 XE2100、LH780、BC6600 血液分析仪和显微镜计数血小板,并做涂片镜检观察有无血小板聚集和形态异常,以显微镜计数结果为对照,参照 CLSI EP9 的方法评估 3 台血液分析仪对严重血小板减少症患者标本血小板计数的准确性。结果 XE2100、LH780、BC6600 血液分析仪与显微镜计数血小板差值的均值分别为 4.9×10^9 、 4.8×10^9 、 $5.4 \times 10^9/L$,差值范围分别为 $(-8.0 \sim 20.2) \times 10^9$ 、 $(-12.1 \sim 17.2) \times 10^9$ 、 $(-4.2 \sim 35.5) \times 10^9/L$;3 台血液分析仪血小板计数结果分别与显微镜计数结果作配对 *t* 检验,结果显示差异有统计学意义($P < 0.01$);与显微镜计数结果作线性回归分析,相关系数(*r*)分别为 0.831、0.788、0.783($P < 0.01$)。结论 对于可能需要预防性输注血小板的患者应采用显微镜计数法复核血小板计数结果。血小板计数 $\leq 30 \times 10^9/L$ 的标本不能直接根据患者 delta 值审核报告,应采用显微镜计数法复核血小板计数结果。建议增加血小板数 $(5.0 \sim 30.0) \times 10^9/L$ 的低值血小板室间质评物和室内质控品。

关键词:血小板计数; 准确性; 血小板减少症; 显微镜计数
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.005 **中图法分类号:**R446.11+1
文章编号:1673-4130(2018)20-2484-04 **文献标识码:**A

Accuracy of haematology analysers platelet counting in severe thrombocytopenia*

CHEN Lingjuan, LI Shanshan, PAN Ruiqi, LIAO Mingxing, HU Qiongying, AI Chengjin[△]
(Department of Laboratory Medicine, Teaching Hospital of Chengdu University of
Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: **Objective** To determine the accuracy of haematology analysers in current routine practice for platelet counts equal to $30 \times 10^9/L$ or less. **Methods** Sixty patients with XE2100 hematology analyser platelet counts $\leq 30 \times 10^9/L$ were selected according to the patient visit order. Platelet counts estimated by XE2100, LH780 and BC6600 hematology analysers were compared with the microscopic direct platelet counting method. The accuracy of haematology analysers platelet counting in severe thrombocytopenia was evaluated with the CLSI EP9 method. **Results** Compared with microscopic direct platelet counting method, the average difference of XE2100, LH780 and BC6600 hematology analysers were $4.9 \times 10^9/L$ (ranged from $-8.0 \times 10^9/L$ to $-20.2 \times 10^9/L$), $4.8 \times 10^9/L$ (ranged from $-12.1 \times 10^9/L$ to $17.2 \times 10^9/L$) and $5.4 \times 10^9/L$ (ranged from $-4.2 \times 10^9/L$ to $35.5 \times 10^9/L$) respectively. It was found that there were statistically significant difference between the platelet counts of hematology analysers and the microscopic direct platelet counting method ($P < 0.01$). There were significant correlation coefficients between the microscope counting results and the platelet counts obtained with XE2100, LH780 and BC6600 ($r = 0.831, 0.788$ and $0.783, P < 0.01$). **Conclusion** It's recommend that patients with probable prophylactic transfusions should be re-examined for their platelet count by microscopy. It re-emphasizes the need for external quality control to improve analyser calibration for samples with low platelet counts. We can not directly report the platelet counts based on the patient's delta value if the platelet counts are $30 \times 10^9/L$ or below and it should be validated by microscopic direct platelet counting method. We suggest increasing the low-value platelet interstitial assessment $(5.0 - 30.0) \times 10^9/L$

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81601835)。
作者简介:陈玲娟,女,技师,主要从事输血方向的研究。 [△] 通信作者, E-mail:58678012@qq.com。
本文引用格式:陈玲娟,李珊珊,潘瑞琪,等.严重血小板减少症患者血小板计数结果准确性评价[J].国际检验医学杂志,2018,39(20): 2484-2487.

and laboratory quality control materials.

Key words: platelet count; accuracy; thrombocytopenia; microscopic count

血小板计数是判断患者是否需要进行血小板预防性输注的关键指标。我国血小板预防性输注的阈值为 $5 \times 10^9/\text{L}$ ^[1]，英、美等国血小板预防性输注的阈值为 $10 \times 10^9/\text{L}$ ^[2-3]，这就要求血小板计数有足够的精密度和准确性，而血液分析仪厂家尚未对血小板计数 $\leq 30 \times 10^9/\text{L}$ 的准确性做出声明。

英国国家实验室间质量评价服务体系 (UK NEQAS) 2012 年室间质评结果显示，同型号血液分析仪检测血小板计数 $(5 \sim 10) \times 10^9/\text{L}$ 的质评标本，血小板计数结果变异系数为 $15\% \sim 43\%$ ^[4]，PARKER-WILLIAMS^[5] 报道室间质评的变异系数为 $22.5\% \sim 66.2\%$ 。临床上血小板减少的患者往往伴有异常血小板等干扰因素，若比较不同血液分析仪对临床标本血小板检测结果的差异，其变异系数将进一步增大，甚至接近 100% ^[6]。当前对 $(60 \sim 1\,000) \times 10^9/\text{L}$ 范围血液分析仪血小板计数准确性评价文献较多^[7-8]，血小板 $\leq 30 \times 10^9/\text{L}$ 时仪器准确性的评价鲜有报道^[6,9]。

因此本实验选取临床标本，参照 CLSI EP9 文件的方法通过比较血液分析仪 XE2100、LH780、BC6600 与显微镜计数血小板的结果差异来评估当前临床常用血液分析仪对低值血小板计数的准确性^[10]。显微镜计数法具有准确、快速、廉价、设备简单、操作简便等优势，在目前国内医疗条件下大多数医院检验科和输血科可以常规使用该方法进行低值血小板计数结果的复检和确认。

1 资料与方法

1.1 标本选择 按患者就诊顺序选取 XE2100 血小板计数 $\leq 30 \times 10^9/\text{L}$ 的临床检测后剩余 EDTA- K_2 抗凝新鲜全血标本 60 例 (共收集 5 d 的标本，同一患者的标本只选取 1 次)。所有检测在采血后 4 h 内完成。采血后 2 h 内涂片染色，排除标本量不足或血小板聚集的标本。

1.2 仪器与试剂 SYSMEX XE2100 血液分析仪及其原装配套试剂，Beckman Coulter LH780 血液分析仪及其原装配套试剂，迈瑞 BC6600 血液分析仪及其原装配套试剂，血小板稀释液 (成都凯诺威生物科技有限公司，批号：20170106)，细胞计数板 (实用医疗器材有限公司，批号：1050629)，Olympus CX31 显微镜，瑞氏姬姆萨染液 (贝索公司，批号：160725)。所有仪器均采用厂家原装配套校准品和质控品。

1.3 方法

1.3.1 血液分析仪计数血小板 各标本按患者就诊顺序作为盲样与日常标本一起分别使用 SYSMEX XE2100、Coulter LH780、迈瑞 BC6600 血液分析仪检

测一次，各仪器均使用五分类加网织红细胞模式进行检测，采用仪器默认判断的计数结果。所有仪器在实验前均已完成精密度、线性评价、校准和验证，参加全国室间质评合格，当日质控在控。

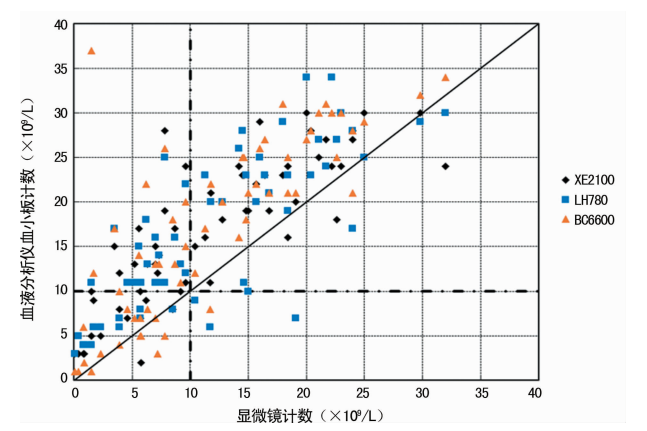
1.3.2 显微镜计数 参照《全国临床检验操作规程》第 4 版操作。用毛细管移液器准确吸取 EDTA- K_2 抗凝全血标本 $20 \mu\text{L}$ ，擦去管外余血，加入 $0.18 \text{ mL } 1\%$ 草酸铵稀释液 (草酸铵 10 g/L ，EDTA- Na_2 0.12 g/L) 中，吸取上清液洗 3 次，充分混匀，密封静置 15 min ；混匀后充入细胞计数板，在湿盒内静置 15 min ，立即使用显微镜计数血小板，充池后 30 min 内必须完成计数。所用加样器均经过校准。由 2 位经过培训且技术熟练的资深工作人员分别进行 2 次计数，至少计数 200 个血小板。对于血小板数低于 $5 \times 10^9/\text{L}$ 的标本，采用 5 倍稀释，以保证至少计数 200 个血小板。同时延长红细胞破解时间至 20 min ，并经过镜下观察确认红细胞完全破解。

1.3.3 血涂片镜检 瑞-吉染色后，镜下观察是否有巨/大血小板、细胞碎片、血小板聚集等。

1.4 统计学处理 使用 SPSS18.0 和 Excel2016 进行统计分析和绘图。以显微镜计数法为参比，使用 Excel2016 作散点图比较各仪器血小板检测结果与显微镜计数方法之间的差异。使用 SPSS18.0 作配对 t 检验比较各仪器和显微镜计数法之间的差异，并作相关和回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

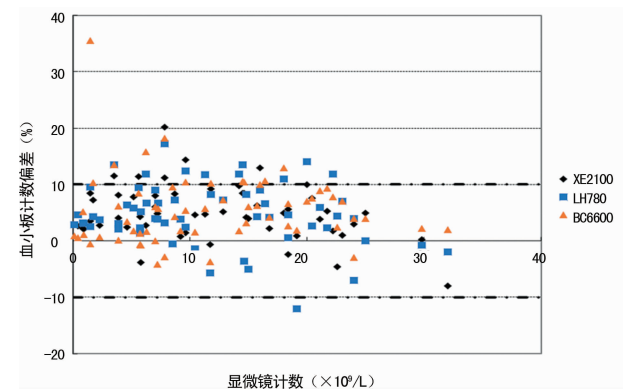
2.1 血液分析仪血小板检测结果的散点图 以显微镜计数结果为横坐标，XE2100、LH780、BC6600 血小板计数结果为纵坐标作散点图，可以看出 3 台血液分析仪的血小板计数结果比显微镜计数结果高。见图 1。



注：图中——表示血小板预防性输注阈值 $10 \times 10^9/\text{L}$

图 1 XE2100、LH780、BC6600 检测结果散点图

2.2 血液分析仪与显微镜计数血小板检测结果差值的散点图 以显微镜计数结果为横坐标, XE2100、LH780、BC6600 检测结果与显微镜计数结果的差值为纵坐标作散点图。XE2100 检测结果与显微镜计数结果差值的范围为 $(-8.0 \sim 20.2) \times 10^9/L$, 均值为 $4.9 \times 10^9/L$; LH780 检测结果与显微镜计数法结果差值的范围为 $(-12.1 \sim 17.2) \times 10^9/L$, 均值为 $4.8 \times 10^9/L$; BC6600 检测结果与显微镜计数法结果差值的范围为 $(-4.2 \sim 35.5) \times 10^9/L$, 均值为 $5.4 \times 10^9/L$ 。见图 2。



注: 图中—•—表示血小板预防性输注阈值 $10 \times 10^9/L$

图 2 血液分析仪与显微镜计数血小板检测结果差值的散点图

2.3 血液分析仪与显微镜计数结果差值百分比散点

图 以显微镜计数结果为横坐标, XE2100、LH780、BC6600 检测结果与显微镜计数结果差值的百分比为纵坐标作散点图。XE2100 检测结果与显微镜计数结果差值的范围为 $-65.5\% \sim 2900.0\%$, 中位数为 50.0% ; LH780 检测结果与显微镜计数结果差值的范围为 $-63.4\% \sim 2900.0\%$, 中位数为 56.3% ; BC6600 检测结果与显微镜计数结果差值的范围为 $-58.3\% \sim 2366.7\%$, 中位数为 40.0% 。见图 3。

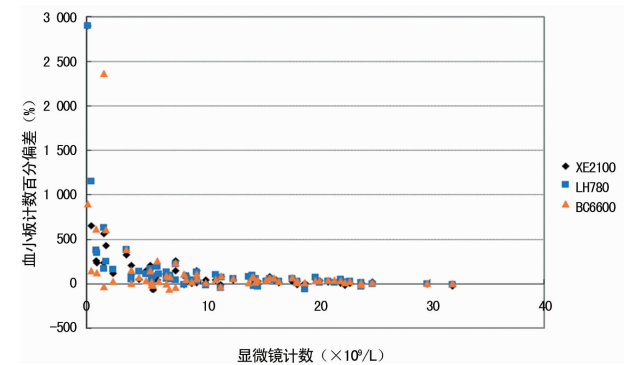


图 3 血液分析仪与显微镜计数结果差值百分比散点图

2.4 血液分析仪与显微镜计数结果配对 *t* 检验和线性回归分析结果 分别以 XE2100、LH780、BC6600 血液分析仪血小板计数结果与显微镜计数结果作配对 *t* 检验和线性回归分析, 结果见表 1。

检测方法	范围($\times 10^9/L$)	均值($\times 10^9/L$)	配对 <i>t</i> 检验		线性回归分析				
			差值的均值	<i>P</i>	常量	斜率	<i>R</i> ²	<i>P</i>	
显微镜计数	0.1~32.0	11.85	—	—	—	—	—	—	—
XE2100	2.0~30.0	16.75	4.899	<0.01	6.697	0.848	0.690	<0.01	
LH780	3.0~34.0	16.62	4.766	<0.01	6.407	0.861	0.621	<0.01	
BC6600	1.0~37.0	17.28	5.433	<0.01	5.711	0.977	0.612	<0.01	

注: *R*² 为决定系数; —表示无数据

3 讨 论

血小板数是血小板预防性输注的关键指标, 血小板预防性输注的阈值通常定为 $20 \times 10^9/L$ 、 $10 \times 10^9/L$ 甚至低至 $5 \times 10^9/L$, 而当前血液分析仪声明的准确度通常为 $\pm 10 \times 10^9/L$ 。有文献指出, 目前血液分析仪对此范围的血小板计数准确性不能满足输血的要求^[11]。多数临床医生并不了解血液分析仪的局限, 会根据血液分析仪血小板计数结果来判断患者是否需要输注血小板。因此本实验通过比较血液分析仪与显微镜计数血小板的差异来评价血液分析仪在血小板计数 $\leq 30 \times 10^9/L$ 时的血小板计数准确性。

实验结果显示, XE2100、LH780、BC6600 3 台血液分析仪血小板计数结果与显微镜计数结果存在统

计学差异, 其差值的均值分别为 4.9×10^9 、 4.8×10^9 、 $5.4 \times 10^9/L$, 差值的范围为 $(-12.1 \sim 35.5) \times 10^9/L$, 差异甚至超过 $20 \times 10^9/L$, 并不适合作为血小板输注的检测方法。因此, 笔者建议对于需要预防性输注血小板的患者或者血小板严重减少(血小板计数 $\leq 30 \times 10^9/L$) 的患者采用显微镜计数的方法进行血小板计数。

此次实验结果显示 3 台血液分析仪血小板计数结果均比显微镜计数结果偏高, 与文献报道血液分析仪高于流式细胞仪血小板计数结果相一致^[12]。若采用血液分析仪血小板计数结果来判断是否需要输注血小板, XE2100、LH780、BC6600 3 台血液分析仪的假阴性率分别为 56.7%、60.0%、46.7%, 将导致

需要预防性输注血小板的患者未能及时输血,增加临床出血风险。

目前复检规则在国内医学实验室得到了广泛应用,多数实验室以国际血液学复检专家组推荐的 41 条自动复检规则为基础制定了自己的复检规则^[13]。41 条复检规则对于血小板减少标本复检要求:初诊患者血小板计数 $<100 \times 10^9/L$ 时涂片镜检;有历史记录的患者则根据 Δ 值判断。本实验结果提示对于血小板计数 $\leq 30 \times 10^9/L$ 的标本,可能其血小板数已经低于血小板输注限,存在自发性出血风险,而血液分析仪血小板计数结果偏高,临床实验室对这部分标本应在进行涂片镜检的同时采用显微镜计数予以确认。

本实验采用了显微镜计数的方法作为参比方法^[14],据国际实验血液学会血小板计数参考专家组报道,流式细胞仪比显微镜计数方法有更高的精密度^[15],若有条件的实验室能常规使用流式细胞仪法进行复检可以提供精密度更高的结果。

4 结 论

临床使用的血液分析仪型号多种多样,由于实验有限,本课题组未能把所有型号的血液分析仪都与显微镜计数结果进行比较,但是从本实验结果可以看出,对于血小板 $\leq 30 \times 10^9/L$ 的临床标本,血液分析仪与显微镜计数血小板结果存在显著差异。此次实验中使用的所有血液分析仪均是全国室间质评合格、室内质控在控的仪器,这反映当前的室间质评和室内质控品,并不能监测血小板 $\leq 30 \times 10^9/L$ 时血液分析仪血小板计数的准确性,有必要增加血小板 $\leq 30 \times 10^9/L$ 的室间质评物和室内质控品,通过大范围的比对来监测当前国内自动血液分析仪对血小板严重减少患者检测结果的可靠性,为临床血小板输注提供可靠的判断依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 关于印发《临床输血技术规范》的通知[EB/OL]. 2000-06-02[2018-02-20]. <http://www.nhfp.gov.cn/zwgkzt/wsbyjsj/200804/18676.shtml>.
- [2] KAUFMAN R M, DJULBEGOVIC B, GERNSHEIMER T, et al. Platelet transfusion: a clinical practice guideline from the AABB[J]. Ann Intern Med, 2015, 162(3): 205-213.
- [3] ESTCOURT L J, BIRCHALL J, ALLARD S, et al. Guidelines for the use of platelet transfusions[J]. Br J Haematol, 2017, 176(3): 365-394.
- [4] DE LA SALLE B J, MCTAGGART P N, BRIGGS C,

et al. The accuracy of platelet counting in thrombocytopenic blood samples distributed by the UK National External Quality Assessment Scheme for General Haematology[J]. Am J Clin Pathol, 2012, 137(1): 65-74.

- [5] PARKER-WILLIAMS J. Immunoplatelet counting: platelet transfusions[J]. Br J Haematol, 2003, 123(4): 750-751.
- [6] LORI A C, PAUL H S, CECILIA U S, et al. Accuracy in the low platelet count range: a comparison of automated platelet counts on beckman coulter with the ISLH/ICSH platelet reference method[J]. Lab Hematol, 2001, 7: 236-244.
- [7] SCHAPKAITZ E, RABURABU S. Performance evaluation of the new measurement channels on the automated Sysmex XN-9000 hematology analyzer[J]. Clin Biochem, 2018, 53: 132-138.
- [8] SEO J Y, LEE S T, KIM S H. Performance evaluation of the new hematology analyzer Sysmex XN-series[J]. Int J Lab Hematol, 2015, 37(2): 155-164.
- [9] 张蕾, 李晶华, 李智, 等. Sysmex XE2100 全自动血液分析仪对低值血小板检测应用探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(5): 457-459.
- [10] BRIGGS C, CULP N, DAVIS B, et al. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting[J]. Int J Lab Hematol, 2014, 36(6): 613-627.
- [11] KUNZ D. Possibilities and limitations of automated platelet counting procedures in the thrombocytopenic range[J]. Semin Thromb Hemost, 2001, 27(3): 229-235.
- [12] NORRIS S, PANTELIDOU D, SMITH D, et al. Immunoplatelet counting: potential for reducing the use of platelet transfusions through more accurate platelet counting[J]. Br J Haematol, 2003, 121(4): 605-613.
- [13] BARNES P W, MCFADDEN S L, MACHIN S J, et al. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis[J]. Lab Hematol, 2005, 11(2): 83-90.
- [14] 彭玉莲, 马骥, 吕国全, 等. 相差显微镜计数血小板方法的建立和评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(17): 2295-2597.
- [15] HARRISON P, AULT K A, CHAPMAN S, et al. An interlaboratory study of a candidate reference method for platelet counting[J]. Am J Clin Pathol, 2001, 115(3): 448-459.

(收稿日期: 2018-02-21 修回日期: 2018-05-08)