

• 检验技术与方法 •

血小板分布异常原因分析及对血小板计数的影响*

刘 非, 梁绮华[△], 姜志勇, 刘丽燕

(广州市妇女儿童医疗中心检验部, 广东广州 510623)

摘要:目的 对血常规标本报告血小板分布异常的影响因素进行研究,并探讨这些因素对电阻抗法和核酸荧光染色法血小板计数结果差异的影响。方法 采用 Sysmex-XE5000 全自动血液分析仪电阻抗法和核酸荧光染色法对 340 例血常规标本参数进行研究分析,通过非配对 *t* 检验比较血小板分布异常和血小板分布正常分组红细胞平均容量(MCV)、血小板分布宽度(PDW)、电阻抗法血小板计数(PLT-I)和未成熟血小板比率(IPF%)4 项参数之间的差异,发现血小板分布异常标本血常规参数的一般特征;采用配对 *t* 检验比较血常规分布异常标本 PLT-I 和核酸荧光染色法血小板计数(PLT-O)结果的差异并分析差异与以上 4 项参数之间的关系。结果 血小板分布异常与正常组比较 MCV、RDW、IPF% 和 PLT-I 差异有统计学意义($P < 0.05$),以 $MCV \leq 65.0$ fL、 $RDW \geq 25.9$ 、 $PLT-I \leq 50 \times 10^9/L$ 或 $IPF\% \geq 7.0\%$ 作为临界值,预测血小板分布情况与仪器报告实际报告情况的符合关系,敏感度为 83.1%,特异度为 87.2%。血小板分布异常组 PLT-I 与 PLT-O 法血小板计数结果有极显著差异,以 PLT-I 减低、IPF% 升高为主,PLT-I 一般小于 PLT-O,以 MCV 减低、RDW 升高为主,则 PLT-I 大于 PLT-O。结论 以上数据说明血小板分布异常与样本本身存在红细胞体积明显减小、红细胞大小显著不均或破碎、血小板减少和未成熟血小板比例升高有关,而这些因素又会干扰 PLT-I 法计数结果的准确性。血小板计数减低、未成熟血小板比率升高易造成电阻抗法血小板计数假性降低;小红细胞、红细胞大小不一、红细胞碎片易造成电阻抗法血小板计数假性升高。临床上为提高血小板计数的准确性,对血小板分布异常标本应使用核酸荧光染色法报告结果,电阻抗法易受以上因素干扰。

关键词:血小板计数; 核酸荧光染色法; 血小板减少

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.06.031

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)06-0726-03

The reasons of abnormal platelet distribution and the effects on the platelet count*

Liu Fei, Liang Qihua[△], Jiang Zhiyong, Liu Liyan

(Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Women and Children's Medical Centre, Guangzhou, Guangdong 510623, China)

Abstract: Objective To find the influence factors of Sysmex XE-5000 reporting abnormal platelet distribution, and discuss the relevance between the factors and the platelet count difference from two kinds of methods. **Methods** Compared the four parameters, MCV, RDW, PLT-I and IPF%, between normal and abnormal platelet distribution group by unpaired *t*-test, and find the general characteristics of abnormal distribution specimens. Compared the counting difference between impedance (PLT-I) and nucleic acid fluorescent staining (PLT-O) methods by paired *t*-test within the abnormal distribution group. **Results** MCV, RDW, IPF% and PLT-I all had significant differences between normal and abnormal platelet distribution groups ($P < 0.05$). Set $MCV \leq 65.0$ fL, $RDW \geq 25.9$, $PLT-I \leq 50 \times 10^9/L$ or $IPF\% \geq 7.0\%$ as a critical value to predict the abnormal platelet distribution, the sensitivity was 83.1% and the specificity was 87.2%. The platelet count results had significant differences between PLT-I and PLT-O methods within abnormal distribution group. The count of PLT-I was less than that of PLT-O when the specimen mainly has low PLT count and high IPF%, conversely, the count of PLT-I was more than that of PLT-O when the sample mainly had low MCV and high RDW. **Conclusion** The data above shows that abnormal platelet distribution is related to the sample itself in which MCV decrease, RDW increase, thrombocytopenia or immature platelet increase. These factors may interfere with the accuracy of PLT-I platelet count results. The platelet count decreases, immature platelet ratio increases may reduce platelet count falsely, otherwise small red blood cells, cell fragments may rise platelet count falsely. In conclusion, to improve the accuracy of the platelet count on specimens with abnormal platelet distribution, PLT-O method should be used to report PLT count results.

Key words: platelet count; nucleic acid fluorescent staining; thrombocytopenia

血小板计数是临床常用的检验项目之一,其结果的准确性对于血栓性疾病和出血性疾病的诊断与治疗起着决定性作用。希森美康公司的血球计数仪在我国具有最大的市场占有率,其血小板计数检测采用电阻抗法(PLT-I)和核酸荧光染色法(PLT-O),使血小板检测避免了细胞碎片、小红细胞的干扰,并对巨大血小板检测具有特异性^[1]。有多项研究表明,血小板计

数采用核酸荧光染色法可以纠正电阻抗法由于小红细胞干扰引起的假性升高,提供的计数结果与 ICSH 推荐参考方法手工法无差异^[2]。在日常工作中,会发现仪器报告“血小板分布异常”时,大型血小板比率(P-LCR)、血小板平均体积(MPV)和血小板分布宽度(PDW)三项数据不能报告,与之关联的红细胞报警常见红细胞碎片、红细胞大小不均等,与之相应的小

* 基金项目:广州市医药卫生科技资助项目(20121A011062)。作者简介:刘非,男,主管技师,主要从事临床检验相关研究。△ 通讯作者, E-mail: liubushi@163.com。

板直方图变化常见曲线右侧尾部呈异常上翘伸展状,提示有比正常血小板体积大的颗粒存在。本文针对此类仪器报告“血小板分布异常”标本的特征及 PLT-I 和 PLT-O 法的计数差异进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本实验所用样本均为本中心检验部常规标本。受检者清晨空腹采集静脉血 2 mL,置于 EDTA-K₂ 真空抗凝采血管,混匀,室温放置,所有检测均在采集标本后 2 h 内完成。随机选取 2012 年 1 月至 2012 年 9 月,血常规检测样本 340 例,性别年龄不限。根据能否报告 P-LCR、MPV 和 PDW 三项数据分为两组,其中不能报告以上三项数据的血小板分布异常标本 83 例,可报告以上三项数据标本 257 例。

1.2 仪器与试剂 Sysmex-XE5000 全自动血细胞分析仪及原装配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 检测方法 按要求对 Sysmex-XE5000 血液分析仪进行校准,并进行每日质控,结果在控。PLT-I 采用仪器第 3 模式(CBC+DIFF)进行检测,PLT-O 采用仪器第 4 模式(CBC+DIFF+RET)进行检测。

1.3.2 血小板分布异常标本特征分析 将 83 例血小板分布异常标本和 257 例血小板分布正常标本的 MCV、RDW、PLT-I 和未成熟血小板比率(IPF%)4 项进行非配对 t 检验,观察有无统计学差异,从而得到血小板分布异常标本的一般特征。将有统计学差异的项目组合,设定临界范围,分析此临界值预测血小板分布异常的敏感度和特异度。

1.3.3 血小板分布异常标本 PLT-I 和 PLT-O 计数差异分析 血小板分布异常标本 PLT-I 法和对应的 PLT-O 法血小板计数值进行配对 t 检验,观察有无统计学差异。进一步按照 PLT-I<PLT-O 和 PLT-I≥PLT-O 进行分组,非配对 t 检验比较两组间 MCV、RDW、PLT-I 和 IPF% 的差异,初步评价 PLT-I 法与 PLT-O 法血小板计数值的差异与以上 4 项参数之间的关系。

1.4 统计学处理 全血细胞数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS15.0 统计软件进行分析,对各组间细胞参数采用配对 t 或独立样本 t 检验,以 P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 血小板分布异常标本特征 将 MCV、RDW、PLT-I 和 IPF% 这 4 项可能与血小板分布异常有关的参数在血小板异常分布和正常分布的分组进行非配对 t 检验。结果见表 1,两组 MCV、RDW、IPF% 和 PLT-I 非配对 t 检验后 P<0.000 1 或等于 0.000 2。这表明血小板分布异常可能与红细胞、红细胞分布不均、红细胞碎片、PLT 减低和网织血小板计数升高有关。

表 1 血小板分布异常与正常标本项目差异

项目	血小板分布异常 (n=83)	血小板分布正常 (n=257)	P
MCV(fL)	73.78±11.63	83.19±9.51	<0.000 1
RDW(%)	18.62±5.40	15.70±2.96	<0.000 1
PLT-I(10 ⁹ /L)	180.0±197.1	253.3±137.1	0.000 2
IPF%(%)	5.029±3.691	1.823±1.561	<0.000 1

IPF%≥7.0%作为临界值,预测血小板分布情况与仪器报告实际报告情况的关系,结果见表 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。预测的敏感度为 69/83=83.1%,特异度为 224/257=87.2%且同时满足两项或以上条件的样本,血小板分布均报告异常。

2.2 血小板分布异常标本 PLT-I 和 PLT-O 法计数差异 由于以测量颗粒大小为基础的电阻抗法容易受到以上影响血小板异常分布的几项因素的影响,而核酸荧光染色法因采用了 DNA/RNA 核酸荧光染色,对细胞碎片、小红细胞、巨大血小板有较强的抗干扰能力^[3]。因此,针对血小板分布异常样本进行电阻抗法 PLT-I 和光学法 PLT-O 计数差异分析。结果如图 1,两种方法 PLT 值进行配对 t 检验,结果具有极显著差异(P<0.000 1),PLT-I 法计数结果平均比 PLT-O 法高约 20。然而,在 83 例样本中,存在 29 例样本其 PLT-I 计数结果小于 PLT-O,与 83 例样本的统计结果趋势并不相符。在分析该 29 例样本及另外 54 例样本的特征后,见表 3,发现 MCV、RDW、PLT-I 和 IPF% 比较差异有统计学意义(P<0.05)。29 例 PLT-I 小于 PLT-O 的样本,血小板计数值(PLT-I)更低,IPF% 更高;54 例 PLT-I≥PLT-O 的样本,MCV 更低、RDW 更高。

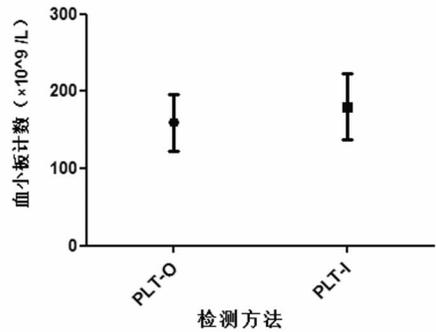


图 1 血小板分布异常样本两种方法血小板计数差异

表 3 血小板分布异常标本项目差异与不同方法计数结果的关系

项目	PLT-I< PLT-O (n=29)	PLT-I≥ PLT-O (n=54)	P
MCV(fL)	79.31±10.85	70.81±11.02	0.001 2
RDW(%)	16.81±4.198	19.59±5.754	0.024 6
PLT-I(10 ⁹ /L)	58.59±117.7	245.1±201.0	<0.000 1
IPF%(%)	7.259±3.306	3.831±3.335	<0.000 1

3 讨论

临床工作中,常常会遇到 P-LCR、MPV 和 PDW 这三项血小板参数不能报告的情况,通常提示为血小板分布异常^[4]。针对影响血小板计数和分布异常的几项参数,包括 MCV、RDW、PLT 计数值和 IPF% 进行了血小板分布异常组和正常组的比较。发现与血小板分布正常组相比,血小板分布异常组的平均 MCV 更低、RDW 更高、PLT 值更低、IPF% 更高,差异均极显著。

为了进一步证实以上 4 项参数与血小板分布异常的关系,在 4 个项目均设定临界值并组合,满足任一条件则预测为血小板分布异常,4 项条件均不满足,则预测为血小板分布正常,预测结果与实际仪器输出结果进行比较。以 MCV≤65.0 fL、RDW≥25.9、PLT-I≤50×10⁹/L 和 IPF%≥7.0%作为临界

以 MCV≤65.0 fL、RDW≥25.9、PLT-I≤50×10⁹/L 和

值,预测的敏感度为 83.1%,特异度为 87.2%。并且当样本同时满足两项或以上条件时,血小板分布均报告异常。这表明血小板分布异常确实与样本本身存在红细胞体积明显减小、红细胞大小显著不均或破碎、血小板明显减低和网织血小板比例升高有关。

Sysmex XE-5000 在红细胞/血小板检测通道采用鞘流电阻抗(PLT-I)、在网织红细胞检测通道采用核酸荧光染色结合流式法两种方法(PLT-O)计数血小板。鞘流电阻抗法每次可检测 20~25 万个细胞,能有效避免细胞重叠、侧向或返流通过检测部产生的脉冲误差,使检测结果重复性好,精密度高,成本低,并可得出直方图报告。但不能分辨颗粒内部结构和形态,如小红细胞、红细胞和白细胞碎片使结果假性增高、大血小板增多、血小板凝血凝块形成可假性减低。因此,电阻抗法血小板计数的准确性受到的干扰因素较多。激光流式法因采用了 DNA/RNA 核酸荧光染色,能在一定程度上通过检测颗粒细胞内部结构和形态分辨不同性质的颗粒细胞提高了血小板计数的准确性。对血小板的形态鉴别能力强,临床样本如出现较多的细胞碎片、小红细胞、巨大血小板样本时有较强的抗干扰能力^[5-6]。

造成血小板分布异常的 4 项参数,同时也会影响电阻抗法血小板计数的准确性。因此,对血小板分布异常标本进行了 PLT-I 法和 PLT-O 法血小板计数值的配对 t 检验,发现两者存在极显著差异。进一步比较发现,其中 29 例样本 PLT-I 计数结果小于 PLT-O,其 PLT-I 更低,IPF% 更高;而其余 54 例 PLT-I \geq PLT-O 的样本,MCV 更低、RDW 更高。因此,以上 4 项参数在不同方向上造成 PLT-I 法与 PLT-O 的差异,影响 PLT-I 法计数的准确性。PLT 减低、未成熟血小板比率升高易

造成电阻抗法 PLT 假性降低;小红细胞、红细胞大小不一、红细胞碎片易造成电阻抗法 PLT 假性升高^[7]。临床上为提高 PLT 的准确性,对血小板分布异常标本应使用核酸荧光染色法报告结果,以排除小红细胞、红细胞碎片、未成熟血小板、PLT 减低对电阻抗法 PLT 的干扰。

参考文献

- [1] Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count[J]. Int J Lab Hematol, 2007, 29(2): 77-91.
- [2] 梁瑞莲,周远青,唐跃华,等. 小红细胞对不同原理血液分析仪的血小板计数的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7): 698-699.
- [3] 元幼红,徐卫益,陈保德. XE-2100 血液分析仪光学法血小板计数的临床应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(10): 2526-2527.
- [4] 李友琼,覃桂芳,阳文辉,等. 血小板分析仪检测血小板计数正常而其他参数不显示的原因探讨 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(12): 1490-1491.
- [5] Field D, Taube E, Heumann S. Performance evaluation of the immature granulocyte parameter on the sysmex XE-2100 automated hematology analyzer[J]. Lab Hematol, 2006, 12(1): 11-14.
- [6] Trabuio E, Valverde S, Antico F. Performance of automated platelet quantification using different analysers in comparison with an immunological reference method in thrombocytopenic patients[J]. Blood Transfus, 2009, 7(1): 43-48.
- [7] 杨学敏,李光迪. 未成熟血小板比率、平均血小板体积与血小板计数方法比较研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(7): 867-868.

(收稿日期: 2013-11-22)

(上接第 725 页)

恶性卵巢肿瘤的敏感度和准确度,同时对恶性卵巢肿瘤的诊断,鉴别诊断具有重要的临床意义。因此,联合检测 CA125、CA19-9、CEA、 β -HCG、AFP 比单项检测肿瘤标志物更有意义。

随着诊断技术的不断发展,近几年通过各种分子生物学方法发现新的血清肿瘤标志物,如载脂蛋白 A1、B7-H4 等,但还没有被临床广泛接受^[13]。今后对卵巢恶性肿瘤早期诊断的研究大致集中在寻找特异度、灵敏度高的肿瘤标志物及联合多种检测方法对高危人群筛查,通过对肿瘤标志物的联合检测,提高肿瘤的检出率,协助早期诊断、早期治疗,进而提高患者的生存率。

参考文献

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2009: 278-280.
- [2] Moore RG, Maclaughlan S, Bast RC Jr. Current state of biomarker development for clinical application in epithelial ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2010, 116(2): 240-245.
- [3] Whitehouse C, Solomon E. Current status of the molecular characterization of the ovarian cancer antigen CA125 and implications for its use in clinical screening [J]. Gynecol Oncol, 2003, 88(1): 152-157.
- [4] 连利娟,林巧雅. 妇科肿瘤学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2006: 410-416.
- [5] 刘海燕,李雪飞,王斌. 肿瘤标志物联合检测对卵巢肿瘤的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(7): 830-831.

- [6] 喜贺热,张凤兰,郭春霞. 卵巢肿瘤与相关肿瘤标志物[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2007, 10(11): 1249-1252.
- [7] 吴琳. 肿瘤标志物的检验学研究及临床应用价值[J]. 临床合理用药, 2010, 3(3): 119-120.
- [8] Kim YW, Bae SM, Lim H, et al. Development of multiplexed bead-based immunoassays for the detection of early stage ovarian cancer using a combination of serum biomarkers[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44960.
- [9] Kim YW, Bae SM, Kim IW, et al. Multiplexed bead-based immunoassay of four serum biomarkers for diagnosis of ovarian cancer [J]. Oncol Rep, 2012, 28(2): 585-591.
- [10] Dong L, Chang XH, Ye X, et al. The values of serum human epididymis secretory protein 4 and CA(125) assay in the diagnosis of ovarian malignancy [J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2008, 43(12): 931-936.
- [11] Yurkovetsky ZR, Linkov FY, Malehom D, et al. Multiple biomarker panels for early detection of ovarian cancer [J]. Future Oncol, 2006, 2(6): 733-741.
- [12] Rocconi RP, Matthews KS, Kemper MK, et al. Chemotherapy related myelosuppression as a marker of survival in epithelial ovarian cancer patients [J]. Gynecol Oncol, 2007, 104(1): 176-180.
- [13] 辛亚兰,王卡娜,何荣霞. 血清肿瘤标志物在上皮性卵巢癌早期诊断中研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(10): 1575-1578.

(收稿日期: 2013-11-20)