

• 检验技术与方法 •

血小板计数准确性研究及对策

华江¹, 潘扬², 马涛²

(1. 苏州市立医院(北区)检验科, 江苏苏州 215008; 2. 苏州大学附属第二医院检验科, 江苏苏州 215006)

摘要:目的 探讨临床常规血小板(PLT)计数不准确的原因,并提出纠正措施。方法 收集 PLT 计数异常标本 180 例,分为 4 组,分别为低值 PLT 组($PLT \leq 20 \times 10^9/L$)72 例,小红细胞组 54 例,大 PLT 组 33 例,PLT 聚集组 21 例,分别采用光学法(PLT-O)、阻抗法(PLT-I)、手工镜检法(PLT-M)3 种方法同时计数 PLT,用配对 t 检验进行分析。结果 低值 PLT 组、小红细胞组、大 PLT 组光学法与 PLT 计数 PLT-M 法比较差异无统计学意义($P>0.05$),而 PLT-I 法与 PLT-M 法 PLT 计数比较差异有统计学意义($P<0.05$)。PLT 聚集组的标本,PLT-I 法和 PLT-O 法计数结果比较,PLT-O 法结果更接近真实值。结论 PLT-I 法 PLT 计数的影响因素很多,主要有小红细胞干扰导致计数偏高,大 PLT 漏检导致 PLT 结果偏低,PLT 聚集等,当 PLT 计数结果异常时应根据复检规则复检,采用手工 PLT-M 法或者 PLT-O 法纠正,必要时重新采血测定。

关键词:血小板计数; 光学法; 影响因素; 复检规则

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.041 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2014)20-2816-02

Study and countermeasures on platelet count accuracy

Hua Jiang¹, Pan Yang², Ma Tao²

(1. Department of Clinical Laboratory, North Branch Hospital of Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, Jiangsu 215008, China;
2. Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 215006, China)

Abstract: **Objective** To investigate the inaccurate causes of platelet(PLT) count and to propose the correcting measures. **Methods** 180 specimens of abnormal PLT count were collected and divided into 4 groups: low PLT count group ($PLT \leq 20 \times 10^9/L$, 72 cases), microcyte group (54 cases), large platelets group (33 cases) and platelet aggregation group (21 cases). The PLT count was simultaneously performed by using the three ways of the optical method (PLT-O), impedance method (PLT-I) and manual microscopy method (PLT-M). The detection results were analyzed by the paired t test. **Results** The PLT count in the low PLT group, microcyte group and large platelets group had no statistical differences between PLT-O and PLT-M ($P>0.05$), and had statistical differences between the PLT-I and PLT-O ($P<0.05$). The PLT count of PLT-O in the platelet aggregation group was more close to actual value than that of PLT-I ($P<0.05$). **Conclusion** The PLT count by PLT-I has many influencing factors, which are mainly the microcytes interference leading to higher PLT count, missed detection of large PLT leading to lower PLT count, PLT aggregation, etc. When the PLT count appears abnormal, the re-detection should be conducted according to the re-detection regulation, which can be corrected by adopting PLT-M or PLT-O, in necessity, the blood specimen could be re-collected for detection.

Key words: platelet count; optical method; influencing factors; re-detection regulation

血小板(PLT)在生理性止血过程中起着重要作用。PLT 降低是临床引起出血的常见原因。低于 $20 \times 10^9/L$ 时,可有较严重的出血,是传统临床 PLT 输注指征。近年来,临床上预防性 PLT 输注出现逐渐减少的趋势,研究表明,如果临床医生对出血风险评估项目 PLT 计数结果充分信任,则预防性 PLT 输血的医学决定水平可以降低至 $5 \times 10^9/L$,为了保证做出正确和安全的临床决策,PLT 计数不仅要精密度高,而且更要准确^[1]。目前 PLT 计数主要采用血细胞分析仪,仪器法检测 PLT 具有快速、方便、参数多、精度高、重复性好等优点,但目前临床所用血细胞分析仪多采用电阻抗原理计数 PLT,不能将 PLT 与小红细胞、红细胞碎片、白细胞碎片、细菌和真菌以及免疫复合物等非 PLT 颗粒分开,导致 PLT 计数不准确,给临床医生提供错误信息,造成误诊、误治,也会增加医患矛盾,尤其以低值 PLT 的计数结果不准确为甚。为提高 PLT 计数的准确性,近年来,光学法(PLT-O)PLT 计数逐渐被临床应用。本研究同时采用阻抗法(PLT-I)与 PLT-O 法进行 PLT 计数并与人工镜检(PLT-M)法进行对比,以探讨 PLT 计数异常的原因,并提出纠正措施。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 2~5 月苏州大学附属第二医院

门诊及住院标本 180 例, Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪提示 PLT 计数不可靠标本(PLT 计数出现“*”或直方图异常)。PLT 显微镜计数用的草酸铵稀释液严格按照《全国临床检验操作规程》第 2 版配制^[2]。

1.2 仪器与试剂 仪器 Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪由日本西森美康公司提供, Olympus CX 31 型双目显微镜由日本 Olympus 公司提供。试剂、校准物和质控品均为日本西森美康公司提供。

1.3 方法

1.3.1 标本分组 本实验室所有标本均用 EDTA-K2 真空采血管,按标准采血规程抽取并混匀,在 2 h 内完成测定。从日常工作中收集,由 Sysmex XE-2100 型全自动血液分析仪分析,采用 PLT-I 法检测血常规时 PLT 显示“*”以及 PLT 直方图异常,结果为不可靠标本有 180 例,分为 4 组。其中低 PLT 组 72 例, $PLT \leq 20 \times 10^9/L$, PLT 直方图显示低平的曲线,仪器报警提示“PLT Abn Dst/Thrombo-”。小红细胞组 54 例,仪器报警提示“PLT Abn Dst”和“Micro/Fragments”, $MCV < 70 fL$, PLT 直方图在 PLT 与红细胞交界处有抬高现象,经血涂片染色镜检见小红细胞及碎片。大 PLT 组 33 例,仪器报警

作者简介:华江,女,副主任检验技师,主要从事血液学研究。

“PLT Abn Dst”, PLT 直方图曲线右侧右移,有多峰出现,分布低而宽,部分图形尾巴上翘,经涂片染色镜检,有大 PLT。PLT 聚集组 21 例,仪器报警提示“PLT Clumps?”,或 PLT 直方图显示曲线呈波浪状,不平滑,经涂片染色镜检有 PLT 聚集。记录这些标本的 PLT 计数值。PLT-I 法结果记为 PLT-I 组,PLT-M 法测定结果记为 PLT-M 组,PLT-O 法结果记为 PLT-O 组。

1.3.2 仪器和显微镜 PLT 计数 用上述分组样本先在 Sysmex XE-2100 上用 PLT-O 法重新检测 PLT。然后进行 PLT-M 法测定(草酸铵 PLT 稀释液 0.38 mL 加 20 μ L 血液,混匀,充池,严格按《全国临床检验操作规程》第 2 版操作)。镜检计数 PLT,每份标本计数 2 次,取平均值与 PLT-I 组和 PLT-O 组结果比较。

1.4 统计学处理 将所得数据采用统计学软件 SPSS12.0 处理。两种方法结果比较采用配对 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

3 种方法计数 PLT 的结果见表 1。

表 1 180 例标本三种方法结果统计分析($\bar{x}\pm s, \times 10^9/L$)

组别	低值 PLT(PLT $\leq 20 \times 10^9/L$)	小红细胞	大 PLT	PLT 聚集
PLT-I 组	8.7 $\pm$ 4.6*	228.0 $\pm$ 99.3*	69.2 $\pm$ 31.4*	57.9 $\pm$ 25.6
PLT-O 组	11.0 $\pm$ 3.9	210.0 $\pm$ 98.1	81.0 $\pm$ 34.0	66.3 $\pm$ 29.0
PLT-M 组	10.8 $\pm$ 4.3	210.4 $\pm$ 98.2	78.4 $\pm$ 35.2	—

*:*P*<0.05,与 PLT-M 组比较。—:无数据。

3 讨 论

准确计数外周血 PLT 对临床诊疗具有重要意义。随着血液分析仪 PLT 计数技术的不断优化,外周血 PLT 计数的准确性得到了较大的提高,但在某些特殊病例中,如低值 PLT,某些干扰因素(小红细胞、红细胞碎片、大和/或巨大 PLT 等)存在,以及出现 PLT 聚集时,其结果的不准确性会带给临床很大困扰。

本实验采用 Sysmex XE-2100 全自动五分群血液分析仪测定低值 PLT 标本,结果 PLT-I 法和 PLT-M 法差异有统计学意义(*P*<0.05),而 PLT-O 法与 PLT-M 法差异无统计学意义(*P*>0.05)。本文结果低值标本 PLT-O 法普遍较 PLT-I 法高,在显微镜下可见体积很小的 PLT,提示 PLT-I 法对这部分 PLT 漏检。PLT-O 法用 RET/PLT-O 专用通道,采用半导体激光和流式细胞仪流式细胞技术,纵坐标(Y 轴)表示前向散射光强度,反映 PLT 的大小,横坐标(X 轴)表示荧光强度,反映亚甲基染料对 PLTDNA 和 RNA 的染色强度,能更准确地将 PLT 鉴别出来^[3]。所以当 PLT 计数极低或直方图显示低平时,PLT-O 法的准确性更高。这类低值 PLT 标本的计数准确性对于血液科、放、化疗患者的治疗以及临床 PLT 输注都有其重要的意义。

当患者血液中存在小红细胞时,也会造成 PLT-I 法 PLT 计数的不准确。本研究小红细胞采用(MCV<70 fL)PLT-I 法有显著差异,而 PLT-O 法和 PLT-M 法则无显著性差异。本文认为造成小红细胞 PLT-I 法和 PLT-M 法差异显著性的原因是血中会出现一些大小近似 PLT 的小红细胞,被当作 PLT 加以计数,直方图在 PLT 与红细胞交界处有抬高现象,尽管仪器具有浮动定界和模拟曲线的功能,但由于血液中红细胞数量

远远大于 PLT 数量,即使有小部分小红细胞混入 PLT 计数范围内,也会给 PLT 结果造成很大的影响,从而使 PLT 数量假性增多。PLT-O 法可以通过荧光强度提供的 RNA 信息对微粒进行内部结构的确认来区分小红细胞和 PLT,从而排除干扰,得到更可靠的 PLT 结果。对于 PLT 计数正常的标本,这种不准确因不会带来不良后果而很容易被临床忽视。但有些患者 PLT 本身很低,由于小红细胞的混入导致得到正常的 PLT 计数结果,便会给临床带来误诊,值得重视。这类标本的判断主要是通过 PLT 直方图的曲线峰右侧右移抬起并上扬,不与横坐标重合,且 MCV 的降低以及仪器如“micro”“fragments”等的报警提示,可以初步判断标本血样中含有小红细胞,PLT 计数可能不准确。

大 PLT 对计数结果的影响:对于大 PLT 组,PLT-I 法和 PLT-M 法差异有显著性,而 PLT-O 法和 PLT-M 法则差异无显著性。本文认为采用电阻抗原理计数 PLT 时,是根据体积大小来计数 PLT 的,当样本中出现大型 PLT 体积与红细胞相似时,仪器不能准确计数这部分与红细胞体积重叠的 PLT,造成 PLT 假性减少。而 PLT-O 法除了体积大小还通过微粒的内部结构可以将红细胞与 PLT 区分,从而得到更可靠的 PLT 结果。

PLT 的聚集是影响 PLT 计数准确性的常见原因。当血液分析仪 Q-Flags 中出现“PLT Clumps?”报警时,表示存在 PLT 聚集现象。但在实验中研究者观察到并非所有的“PLT Clumps?”报警均会有 PLT 聚集现象。本实验收集的 21 例 PLT 聚集标本不仅有仪器报警并且经显微镜观察确实发生了聚集现象。这类标本 3 种方法均无法得到准确的结果。必须排除聚集因素,如抗凝剂引起的聚集、采血不顺利等,需要通过重新采集标本、更换抗凝剂等方法重新测定。

综上所述,临床 PLT 计数存在很多的不准确因素。本文提出的 PLT 不准确因素主要有小红细胞、大 PLT、低值 PLT、PLT 聚集等,有些内容比如针对小红细胞标本的 PLT 计数问题即使《国际血液学 41 条复检规则》^[4-5]也并未涉及,临床容易忽视,在实验室制定复检规则时必须充分考虑上述 PLT 不准确因素。为避免这些因素的影响,使 PLT 计数更加准确可靠,建议在 PLT 计数时,应综合考虑 PLT 影响因素,采用 PLT-O 法或进行复检,从而保证 PLT 的计数准确。

参考文献

[1] Kunicka JE, Fischer G, Murphy J, et al. Improved platelet counting using two-dimensional laser light scatter[J]. Am J Pathol, 2000, 114(2):283-289.

[2] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京:东南大学出版社,1997:22-23.

[3] Harrison P, Horton A, Grant D, et al. Immunoplatelet counting: a proposed new reference procedure[J]. Br J Haematol, 2000, 108(2):228-235.

[4] Barnes PW, Mcfadden SL, Machin SJ, 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.

[5] XE-2100 血细胞分析复检标准制定协作组. Sysmex XE-2100 自动血细胞分析和白细胞分类的复检规则探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(2):752-757.