

血细胞分析仪未检出血小板分布宽度的原因分析及该类标本血小板计数准确性评价*

王培昌, 郑宇佳, 高世超 (首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053)

摘要:目的 对全自动血细胞分析仪未检出血小板分布宽度(PDW)的标本进行原因分析,并评价该情况下全自动血细胞分析仪计数血小板的准确性。方法 对全自动血细胞分析仪未检出PDW的标本,采用涂片观察血小板形态大小、聚集、小红细胞及细胞碎片等;对该类标本行手工血小板计数,并比较其与血细胞分析仪计数结果的一致性;复查PDW。结果 在200例PDW未检出的标本中104例(52%)可见大血小板,36例(18%)可见血小板聚集,28例(14%)可见小红细胞或红细胞碎片,32例(16%)无明显形态异常;大血小板、血小板聚集或细胞碎片标本血小板手工计数结果与全血细胞分析仪计数结果有统计学差异($P < 0.05$);全血细胞分析仪复检PDW,有64例(32%)标本有结果,其中以大血小板标本为主(50例)。结论 全自动血细胞分析仪未检出PDW的原因主要有大血小板、血小板聚集、小红细胞或细胞碎片等,该类标本血细胞分析仪血小板计数异常,应行血小板手工计数校正。

关键词:血小板;细胞;分析仪;聚集;碎片

中图分类号:R446.111 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2016)01-117-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.01.034

Analysis of the Causes on PDW Results Disappeared in Automatic Hematology Analyzer and the Evaluation of Platelet Result

WANG Pei-chang, ZHENG Yu-jia, GAO Shi-chao (Department of Clinical Laboratory, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China)

Abstract: **Objective** To investigate the causes on platelet distribution width (PDW) results not shown in the automatic hematology analyzer and evaluate the accuracy of the platelet results of these samples with the automatic hematology analyzer. **Methods** The platelet morphology was observed in microscope for the specimen which PDW were not shown in the automatic hematology analyzer. And the platelet results counted in microscope were statistically compared with that in the automatic hematology analyzer. **Results** In the 200 specimens which PDW were not shown in automatic hematology analyzer, there were 104 specimens(52%) in which large platelet was found, 36 cases(18%) in which platelet aggregation was visible, 28 cases(14%) in which the microcytes or erythrocyte debris could be seen, 32 cases(16%) in which the obvious abnormal was not found. The platelet results counted in microscope for the specimens, in which large platelets, platelet aggregation or microcytes were found, were very different with the results counted with the automatic hematology analyzer($P < 0.05$). The PDW of the 200 specimens were rechecked in the automatic hematology analyzer. And 64 cases (32%) PDW results were got, of which 55 cases(85.9%) PDW results were beyond the normal range. **Conclusion** The main causes for the PDW not shown in automatic hematology analyzer includes large platelets, platelets aggregation and microcytes etc. The platelet results in these specimens by automatic hematology analyzer were different with that counted in microscope. Therefore, the platelet of these specimens should be counted in microscope.

Keywords: platelet; cell; analysis; aggregation; debris

目前血细胞分析仪因其检测方便快捷、易于标准化、重复性好等优点而被广泛应用。其血小板检测一般采用鞘流电阻抗法,通过增高感应区内电阻,引起瞬间电压变化形成脉冲信号,用脉冲振幅和数量表示血液中血细胞的体积值和数量^[1]。该法可有效避免细胞重叠、侧向或返流产生的脉冲误差,使检测结果更准确。但因其原理是根据细胞微粒的大小来区分血小板和其他细胞的,所以在检测当中存在一定的局限性。对于血小板数量及形态正常的标本结果比较可靠,但对于血小板和/或红细胞形态异常者,测定结果误差甚大,有时甚至难

以计数^[2]。比如,血细胞分析仪法血常规检验结果中常见血小板压积(PCT)、血小板平均体积(MPV),血小板分布宽度(PDW)未出数的情况^[3]。基于血小板数量、形态、体积等在血栓及出血疾病诊治中的重要作用,其数量、分布宽度等指标的准确性问题已引起广泛关注^[4]。本文将对200例全自动血细胞分析仪未检出PDW的标本通过涂片镜检结合血小板直方图进行原因分析,并评价该类标本血小板自动分析仪法计数的准确性,为临床实验室自动血细胞分析结果显微镜复检规则的制定奠定部分基础。

* 作者简介:王培昌(1965—),男,博士,主任技师,主要从事检验方法学与标准化研究,E-mail:pcw1905@126.com。

郑宇佳(1993—),女,学士,检验师,主要从事临床血液学方法研究。

通讯作者:王培昌(1965—),男,教授,博士生导师,主要从事衰老及老年病标志物筛选及分子机制研究。

1 材料与方法

1.1 实验样本 从首都医科大学宣武医院 2015 年 1 月~4 月住院患者的 4 015 个血常规结果中选取 PDW 未出结果的 200 例标本。受检者空腹 8~12 h,抽取静脉血 2 ml 置 EDTA-K₂ 抗凝管,混匀,所有检测均在采集标本后 2 h 内完成。

1.2 试剂和仪器 Sysmex XE-2100 原装全套试剂,低值质控品批号 QC-50800810,中值质控品批号 QC-50810811,有效期至 2015 年 6 月 14 日;草酸铵稀释液、瑞氏或吉姆萨染液及缓冲液均按《全国临床检验操作规程》第三版要求配置^[5];Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪(希森美康公司,日本),LEICA DM500 双目显微镜(徕卡公司,德国)。

1.3 方法

1.3.1 全自动血细胞分析仪操作:按 SOP 文件行 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪操作。

1.3.2 血小板形态观察:对 Sysmex XE-2100 PDW 未出数的 200 例血常规标本,推片后瑞氏或吉姆萨染色,先以低倍物镜观察选取视野,再转换成 100×浸油高倍物镜观察血小板形态特点,每张血片观察 20 个高倍视野。

1.3.3 目视计数法计数血小板:对 SysmexXE-2100 PDW 未出数的 200 例血常规标本,均行目视显微镜法计数,具体操作如下:取清洁小试管 1 支加入配置好的草酸铵稀释液 0.38 ml,准确吸取上述标本血 20 μl,置于草酸铵稀释液内,充分混匀。待完全溶血后再次混匀 1 min。取上述均匀的血小板悬液 1 滴,冲入计数池内,静置 10~15 min。用高倍镜计数中央大方格内四角和中央共五个中方格内血小板数。每份标本计数三次,取平均值^[5]。

1.3.4 血小板和 PDW 全自动血细胞分析仪复查:对 Sysmex XE-2100 PDW 未出数的 200 例患者,当日二次采集患者血常规样本,以相同 SysmexXE-2100 检测系统、相同人员按 SOP 文件再次行血小板和 PDW 检测。

1.3.5 质量控制方法:sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪采用低、中两个水平质控,分析批长度 24 h;血小板形态观察及血小板计数结果与 2 名副主任技师所做结果行双盲平行比对(≥1 次/天)。

1.4 统计学分析 应用 SPSS16.0 统计学软件对目视计数法结果与血细胞分析仪计数法结果进行数据分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 200 例血细胞分析仪 PDW 未出数样本患者

的年龄及病因分布 见表 1,表 2。200 例全自动血细胞分析仪 PDW 未出数标本患者年龄及病因分布。

表 1 200 例血液分析仪 PDW 未出数样本患者的年龄分布

年龄(岁)	例 数		总例数	构成比(%)
	男(<i>n</i> =96)	女(<i>n</i> =104)		
30 岁以下	4	0	4	2
30~39	4	8	12	6
40~49	8	20	28	14
50~59	20	28	48	24
60~69	16	28	44	22
70~79	24	16	40	20
80 岁以上	20	4	24	12

表 2 200 例血细胞分析仪 PDW 未出数样本患者的病因分布

病因	例 数		总例数	构成比(%)
	男(<i>n</i> =96)	女(<i>n</i> =104)		
肿瘤	32	20	52	26
血液病	20	20	40	20
出血性疾病	8	12	20	10
其他	36	52	88	44

2.2 血细胞分析仪 PDW 未检出样本涂片显微镜检查结果 200 例血细胞分析仪 PDW 未检出的标本经手工推片镜检,104 例(52%)可见血小板体积偏大,并且存在体积大小悬殊现象,36 例(18%)可见血小板聚集,28 例(14%)可见小红细胞或红细胞碎片,32 例(16%)无明显形态异常。

2.3 血细胞分析仪 PDW 未检出样本血小板目视计数法与血细胞分析仪法测定结果比较 见表 3。200 例血细胞分析仪 PDW 未检出的标本,分别经目视计数法复检血小板数量,其均值与血细胞分析仪法结果的比较。

表 3 200 例血细胞分析仪 PDW 未检出标本血小板目视计数法与仪器计数法平均结果比较(×10⁹/L)

分类	<i>n</i>	目视法血小板均数	分析仪法血小板均数	<i>P</i> 值
大血小板	104	75.27±44.90	60.85±44.95	<0.05
血小板聚集	36	65.89±28.46	51.67±27.44	<0.05
小红细胞或碎片	28	165.71±57.60	182.71±57.95	<0.05
无明显异常	32	169.38±60.83	169.12±64.95	>0.05

2.4 血细胞分析仪 PDW 未检出样本患者第二次抽血复查结果 见表 4。对于 200 例血细胞分析仪 PDW 未检出样本患者,当日重新采样,以相同系统再次行 PDW 检测,同时行涂片镜检结果。

表 4 200 例 PDW 未出数样本血液分析仪留样复检及涂片观察结果

分类	第二次复查 PDW 有结果		总例数
	超出参考范围(例)	未超出参考范围(例)	
大血小板	50	0	50
血小板聚集	3	1	4
小红细胞或碎片	2	1	3
无明显异常	0	7	7
总例数	55	9	64

3 讨论 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪

在红细胞/血小板检测通道采用鞘流电阻抗法、在网织红细胞检测通道采用荧光染色结合流式法两种方法计数血小板,分别表示为 PLT-I 和 PLT-O^[6]。鞘流电阻抗法是通过增高感应区内电阻,引起瞬间电压变化形成脉冲信号,用脉冲振幅和数量表示血液中血细胞的体积值和数量。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,使检测结果更准确。对于血小板数量及形态正常的标本其结果比较可靠,但对于血小板和/或红细胞形态异常者,结果误差甚大,有时甚至难以计数。网织红细胞检测通道的激光流式法因采用了 DNA/RNA 核酸荧光染色,因此对一些临床特殊样本如细胞碎片、小红细胞、巨大血小板样本等有较强的抗干扰能力^[7,8]。但基于成本原因,多数实验室未开通网织红细胞通道,加之其它多种原因,采用上述全自动血细胞分析仪检测血常规样本时,常见 PDW 未检出现象。

血小板分布宽度(PDW)是反映血小板体积大小的异质性参数,以血小板体积变异系数(CV%)来表示的,该值越大说明血小板大小越不均匀。本研究选择全自动血细胞分析仪 PDW 未检出的血常规标本 200 例,根据血涂片镜检结果将标本分为 4 类,即大血小板(104 例)、血小板聚集(36 例)、小红细胞或细胞碎片(28 例)及无明显异常(32 例),大血小板、血小板聚集、小红细胞或细胞碎片占上述全部样本的 86%,可能是血细胞分析仪 PDW 未检出的主要原因。而 32 例血小板形态及大小正常、且无血小板聚集及细胞碎片标本 PDW 未检出的原因,尚待进一步深入讨论。

在 200 例分析样本中,肿瘤、血液病、其他出凝血相关疾病共占 56%。除白血病患者细胞碎片增多外,上述患者化疗药物的使用可能加速了细胞凋亡,导致细胞碎片进一步增加;而溶栓治疗或抗凝治疗药物的使用以及其它原因^[9]可能导致了血小板聚集;另外,在再生障碍性贫血(AA)、缺铁性贫血(IDA)等血液病患者中,以小红细胞为主;在粒/单系白血病以及其他肿瘤化疗过程中,亦会出现大

血小板且大小不均现象。总之,大血小板、血小板聚集、小红细胞或细胞碎片多见于上述疾病谱,提示该疾病谱患者全自动血细胞分析仪行血常规检测时,PDW、血小板两个参数应引起充分重视。

如上所述,全血细胞分析仪 PDW 未检出多见于大血小板、血小板聚集、小红细胞或细胞碎片等,上述情况下,全血细胞分析仪血小板检测结果是否准确呢?本研究进行了血小板手工计数、全血细胞分析仪自动血小板计数的双盲平行比对,结果发现,大血小板、血小板聚集两种情况下,全血细胞分析仪血小板测定结果显著低于手工计数;而小红细胞、细胞碎片情况下,仪器计数血小板结果显著高于手工计数;而血小板、红细胞正常且无细胞碎片标本,仪器计数血小板结果与手工计数结果无显著差异。提示:大血小板、血小板聚集、小红细胞或细胞碎片标本,血小板须经手工计数校正。

通常情况下,对于全血细胞分析仪 PDW 未检出的标本,临床实验室常常使用相同检测系统二次复查,这种复查是否有意义呢?本研究对上述 200 例患者当日二次采样,使用同一台全血细胞分析仪复查 PDW,结果发现 64 例样本(32%)PDW 有结果,其中大血小板标本占 50 例(25%),血小板聚集、小红细胞或细胞碎片标本 7 例,其他标本 7 例,提示:全血细胞分析仪对于大血小板标本 PDW 复查有一定价值。

此外,本研究观察了该 200 例血细胞分析仪 PDW 未检出标本的血小板直方图,发现若直方图形状正常(图 1A),镜下观察细胞形态无明显异常;若直方图显示血小板曲线达峰值后,稍微降低,又向上升起,呈“骆驼峰”状(图 1B),镜下观察可见血小板聚集、小红细胞等;若直方图显示血小板曲线达峰值后,下降不明显,没有右边界而直接下降到最低值(图 1C),镜下可见血小板聚集。上述结果提示:对于全血细胞分析仪 PDW 未检出标本,可通过血小板直方图先行判断原因,再行涂片显微镜观察和血小板手工计数,在此基础上决定是否进行 PDW 二次复查。

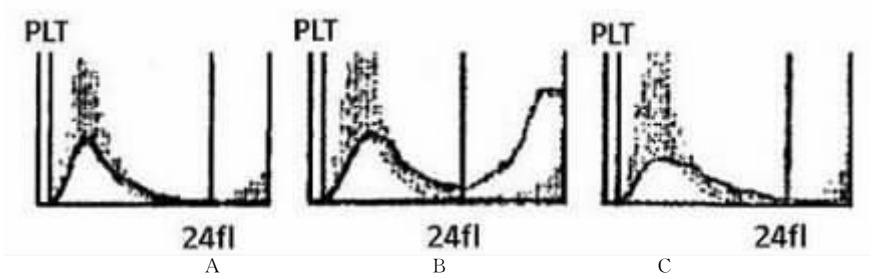


图 1 部分全血细胞分析仪 PDW 未出数标本血小板直方图

参考文献:

[1] 刘 非,梁绮华,姜志勇,等.血小板分布异常原因分析及对血小板计数的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2014,35(6):726-728.

Liu F,Liang QH,Jiang ZY,et al. The reasons of abnormal platelet distribution and the effects on the platelet count[J]. Int J Lab Med, 2014, 35(6): 726-728.

[2] 肖 芸,王小中,李 静,等. Sysmex XE-2100 测定血小板体积分布宽度参考区间的调查[J]. 国际检验医学杂志, 2010,31(11):1238-1239,1241.

Xiao Y,Wang XZ,Li J,et al. Investigation of reference interval of platelet volume distribution width examined by hematology analyzer Sysmex XE-2100[J]. Int J Lab Med, 2010,31(11):1238-1239,1241.

[3] 李友琼,覃桂芳,阳文辉,等. 血细胞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.

Li YQ,Tan GF,Yang WH,et al. The discussion of the cause of normal platelet count and abnormal parameters in the blood cell analyzer[J]. Int J Lab Med, 2012,33(12):1490-1491.

[4] 戴晓云. 肝硬化患者血小板参数检测及其临床意义[J]. 中外医学研究, 2011,9(33):9-11.

Dai XY. Clinical significance of platelet parameters in patients with cirrhosis[J]. Chinese and Foreign Medical Research, 2011,9(33):9-11.

[5] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[S]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:10.

Ye YW,Wang YS,Shen ZY. National guide to clinical laboratory procedures[S]. 3th Ed. NanJing:Publishing House of Southeast University, 2006:10.

[6] 瞿 珍. 血细胞分析仪检测红细胞、白细胞、血小板、血红蛋白的性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(22):3055-3056.

Qu Z. The performance evaluation of the red blood cells, white blood cells, platelets, hemoglobin tests by Blood cell analyzer[J]. Int J Lab Med, 2013, 34(22): 3055-3056.

[7] 王宜海. 仪器法血小板计数假性减少的相关性分析及对策[J]. 中国医药指南, 2014,12(29):48-49.

Wang YH. Analysis and countermeasures of reducing platelet count by pseudo correlation instrument[J]. Guide of China Medicine, 2014,12(29):48-49.

[8] 王修石,何思春,邹立新,等. EDTA 依赖性血小板聚集成因及对策[J]. 现代检验医学杂志, 2010,25(1): 154-155.

Wang XS,He SC,Zou LX,et al. Causes and countermeasures of EDTA dependent platelet aggregation [J]. J Mod Lab Med, 2010,25(1):154-155.

[9] 秦学文. 血小板直方图异常对计数结果的影响[J]. 吉林医学, 2012,33(1):80-81.

Qin XW. The influence of abnormal platelet histogram on the counting results[J]. Jilin Med J, 2012, 33(1):80-81.

收稿日期:2015-07-17

修回日期:2015-08-12

(上接 116 页)

Clin Microbiol Infect, 2003,9(4):247-262.

[3] 陈美芳,高 燕,丛 旭,等. 成人散发性病毒性胃肠炎的病原学分析[J]. 中华医学杂志, 2008,88(4): 265-267.

Chen MF,Gao Y,Cong X,et al. Etiological study on sporadic viral gastroenteritis among adult in Beijing [J]. Natli Med J China, 2008,88(4):265-267.

[4] 叶卉初,刘玉华. 2010~2012 年北京地区儿童轮状病毒腹泻的流行病学研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012,26(6):432-434.

Ye HC,Liu YH. Epidemiological study of rotavirus diarrhea in Beijing area from 2010 to 2012[J]. Chinese J Exp Clin Viro, 2012,26(6):432-434.

[5] 陈军政. 免疫胶体金法快速检测轮状病毒腹泻的结果分析[J]. 现代预防医学, 2007,34(9):1763-1764.

Chen JZ. Results analysis of rotavirus diarrhea by immune colloidal gold rapid test method[J]. Mod Pre Med, 2007,34(9):1763-1764.

[6] Bhattacharya R,Sahoo GC,Nayak MK,et al. Detection of genogroup I and II human picobirnaviruses showing small genomic RNA profile causing acute watery diarrhoea among children in Kolkata, India [J]. Infection Genetics and Evolution, 2007, 7(2): 229-238.

[7] 刘泽滨,王 琼,胡 琴,等. 四种腹泻病毒抗原联检技术在临床儿童腹泻诊断中的应用价值[J]. 现代检验医学杂志, 2014,29(3):91-93.

Liu ZB,Wang Q,Hu Q,et al. Application value of antigen detection technology of four kinds of diarrhea virus in clinical diagnosis of children diarrhea[J]. J Mod Lab Med, 2014,29(3):91-93.

[8] 刘爱胜,陈荣贵,郭强忠,等. 深圳宝安地区婴幼儿腹泻大便中轮状病毒检出率及临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2012,27(2):134-136.

Liu AS,Chen RG,Guo QZ,et al. Positive rate and clinical significance of human rotavirus with infants diarrhea stool in Bao'an district of Shenzhen[J]. J Mod Lab Med, 2012,27(2):134-136.

收稿日期:2015-08-12

修回日期:2015-08-17