

SYSMEX XE-5000 血细胞分析仪血小板计数性能评价分析

刘 纹, 郑 妍[△], 刘晓敏(中山大学肿瘤防治中心检验科, 广州 510060)

【摘要】 目的 评价 SYSMEX XE-5000 全自动血细胞分析仪对血小板(PLT)检测结果的可靠性。**方法** 取 257 份乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉全血标本,使用鞘流电阻抗法(impedance, PLT-I)进行血小板检测,根据血小板直方图、血小板平均体积(MPV)、红细胞平均体积(MCV)及血涂片法复查,按不同形态分组,分为正常血小板体积组、大血小板组、小红细胞组,分别用荧光法(optical, PLT-O)与显微镜目测法(microscopic, PLT-M)作对比试验。以及另取 30 份健康体检者的 EDTA-K₂ 抗凝静脉全血标本做红细胞碎片干扰试验,运用 SPSS16.0 及 Excel 对相关数据进行统计分析。**结果** 正常体积血小板分布组 3 种方法之间结果无统计学差异;大血小板组 PLT-I 结果假性降低,PLT-I 与 PLT-M 法结果差异有统计学意义,PLT-O 与 PLT-M 法结果差异无统计学意义;小红细胞组 PLT-I 结果假性增高,PLT-I 与 PLT-M 法结果差异有统计学意义,PLT-O 与 PLT-M 法结果差异无统计学意义;RBC 碎片干扰试验中,PLT-O 对红细胞碎片显示出较强的抗干扰能力。**结论** 正常血小板体积标本 SYSMEX XE-5000 全自动血细胞分析仪常规使用 PLT-I 血小板计数结果正确可靠,但血小板直方图、MPV、MCV 异常时标本仪器计数血小板不可靠,需与 PLT-O 或显微镜手工计数法相结合加以纠正。

【关键词】 SYSMEX XE-5000; 血细胞分析仪; 血小板计数

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.030 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)20-2492-03

The performance evaluation of platelet counting in Sysmex XE-5000 LIU Wen, ZHENG Xin[△], LIU Xiao-min (Department of Clinical Laboratory, Cancer Therapy Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the platelet (PLT) counting performance quality of Sysmex XE-5000 automatic hematology analyzer. **Methods** 257 EDTA-K₂ blood samples were counted by XE-5000 with electric impedance (PLT-I). According to PLT histogram, MPV and MCV, we separated the results to normal platelet, large platelet and microcytes from different PLT shape, and used electric impedance (PLT-I) and microscopic (PLT-M) methods to compare with them. Another blood samples from 60 healthy people were tested with RBC fragment interference experiment. All data were analyzed by SPSS 12.0 and Excel. **Results** There were significant correlations in the results among the three methods in normal PLT. In large platelet group, PLT-I pseudo reduced. PLT-I and PLT-M method results were statistically significant and PLT-O with the PLT-M method showed no significant difference. Microcytes group increased false in PLT-I. PLT-I and PLT-M method results were statistically significant. The result showed that the PLT-O method had great ability of anti-interference in RBC fragment interference experiment. **Conclusion** Sysmex XE-5000 automatic hematology analyzer is of high accuracy for normal PLT. PLT-O and PLT-M are better than PLT-I in counting abnormal PLT which PLT histogram, MPV, MCV are unusual.

【Key words】 SYSMEX XE-5000; hematology analyzer; platelet count

血液分析仪是医学实验室重要仪器之一,血小板(PLT)检测是临床血液检验中一项重要的分析指标之一,外周血中血小板的准确计数一直是临床上的难题之一,传统电阻抗法的血细胞分析仪测定血小板与显微镜目测法相比,具有检测速度快、精密密度高的优点,但不能将血小板与“非血小板颗粒”(nonplatelet particles, NPPs) 区别,如小红细胞、血细胞碎片、细菌等,使得血小板计数会假性增高。SYSMEX XE-5000 全自动血细胞分析仪是 SYSMEX 公司推出的全自动五分类血细胞分析仪,它在红细胞/血小板检测通道采用鞘流电阻抗、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。为对其血小板检测结果的可靠性进行评价,本实验分别以 SYSMEX XE-5000 两种血小板计数方法(PLT-I, PLT-O) 及显微镜目测法(PLT-M) 对分为正常体积血小板组、大血小板组和小红细胞干扰组以及红细胞碎片干扰组的临床标本进行计数,并将结果进行统计学处理。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 2011 年 2 月本院的住院和门诊患者或健康体检者。

1.2 仪器与试剂 日本 SYSMEX 公司提供的 XE-5000 全自动血细胞分析仪,序列号为 A1636(使用前已进行原厂校准及质控,校准品批号为 03200525,质控品批号为 QC-10300810、QC-10300811、QC-10300812,结果均在控);日本生产 OLYMPUS-CX31 显微镜。XE-5000 均使用原厂试剂及质控品,手工计数血小板稀释液(草酸铵法)按《全国临床检验操作规程》^[1]第 3 版配制,于 4℃ 冰箱保存。EDTA-K₂ 抗凝管由阳普公司生产。

1.3 方法

1.3.1 仪器检测 严格按照《SYSMEX XE-5000 标准操作手册》进行,采血后 2 h 内完成检测。257 份标本根据血小板直方图和血小板平均体积(MPV)、红细胞平均体积(MCV)等参数以及手工血涂片复查的方法,从中筛选出正常体积血小板者 188 例、大血小板者 30 例、小红细胞干扰者 49 例,立即进行 PLT-O 通道检测。

1.3.2 手工计数 参照《全国临床检验操作规程》^[1]进行,采用单盲法同时由经验丰富的 3 位检验师进行手工镜检计数求平均值(如一人结果比其他二人明显高或低,则剔除过高或过

[△] 通讯作者, E-mail: zhengxin@sysucc.org.cn.

低数据)。分别将 PLT-I、PLT-O 计数结果与 PLT-M 作配对 t 检验。

1.3.3 红细胞碎片干扰试验 取 1 份血样分装 3 管(每管 3 mL),第 1 管高速离心后,取压积红细胞层 0.5 mL,加入蒸馏水破坏红细胞后高速离心,留取底层红细胞碎片,以生理盐水洗涤 3 次后稀释至 5 mL,取上述红细胞碎片悬液 40 μ L,加入第 2 管血样中,第 3 管加入 40 μ L 生理盐水(自身对照组)。上述第 2、第 3 管分别作 PLT-I、PLT-O 计数,以第 2 管 PLT-I、PLT-O 测定值与第 3 管 PLT-I、PLT-O 测定值作配对 t 检验。

2 结 果

2.1 正常体积血小板组 该组血小板直方图正常(见图 1:呈左偏态分布,主要分布在 2~20 fL,且有明显主峰^[2]);并且报告提示 MPV、MCV、红细胞体积分布(RDW)及血涂片提示细胞形态正常。将具有以上特点的 188 例标本根据血小板数分为高、中、低 3 组,分别将 PLT-I、PLT-O 计数结果与 PLT-M 作配对 t 检验。由表 1 可见,当血小板直方图正常时,无论血小板计数是正常、减少或增高,PLT-I、PLT-O 计数结果与 PLT-M 差异均无统计学意义($P>0.05$)。

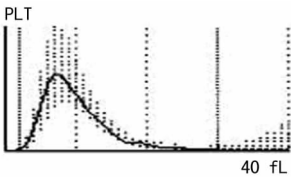


图 1 正常血小板直方图

表 1 正常体积血小板组 PLT-I、PLT-O 与 PLT-M 结果比较

血小板数($\times 10^9/L$)	n	PLT-I 与 PLT-M		PLT-O 与 PLT-M	
		t	P	t	P
<100	41	0.21	>0.05	0.80	>0.05
$100\sim300$	92	1.00	>0.05	0.01	>0.05
>300	55	1.17	>0.05	0.25	>0.05

2.2 大血小板组 本组血小板直方图图形宽大、平坦,分布峰右移,35 fL 处才接近横坐标(图 2);MPV 明显升高,一般大于 12 fL^[3];同时,报告提示 MCV 和 RDW 正常,排除小红细胞干扰;而在白细胞直方图 35 fL 处,常可见一个 0.5 cm 小峰;血涂片上可见大血小板存在^[2]。将具有以上特点的 30 例标本的 PLT-I 与 PLT-O 计数结果和 PLT-M 进行配对 t 检验,由表 2 可知,大血小板组 PLT-I 计数结果和 PLT-M 计数具有统计学差异($P<0.05$),PLT-I 法计数结果均值偏低;PLT-O 与 PLT-M 结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

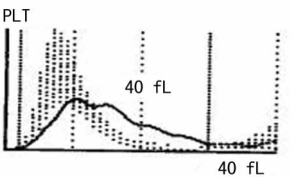


图 2 大血小板直方图

表 2 大血小板组 PLT-I、PLT-O 与 PLT-M 结果比较($n=30$)

方法	PLT 均值	s	t	P
PLT-M	115.37	33.47		
PLT-I	94.27	35.76	10.57	<0.05
PLT-O	115.00	34.09	0.44	>0.05

2.3 小红细胞干扰组 血小板分布峰的右侧有一鸟翼样上翘

峰,峰的起始位置在 25 fL 以内^[4](图 3),报告提示血小板分布异常,参数分析 MCV <60 fL 白细胞直方图分布正常,血涂片上可见较多的小红细胞^[5]。对具有以上特点的 49 例标本的 PLT-I 与 PLT-O 计数结果和 PLT-M 进行配对 t 检验。由表 3 可知,PLT-I 计数结果和 PLT-M 计数结果差异具有统计学意义($P<0.05$),PLT-I 法计数均值偏高;PLT-O 与 PLT-M 计数结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

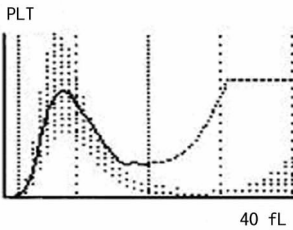


图 3 小红细胞直方图

表 3 小红细胞组 PLT-I、PLT-O 与 PLT-M 结果比较($n=49$)

方法	PLT 均值	s	t	P
PLT-M	243.37	96.79		
PLT-I	272.39	110.42	5.15	<0.05
PLT-O	243.10	93.40	0.16	>0.05

2.4 红细胞碎片干扰组 共作 30 组红细胞碎片干扰试验,PLT-I、PLT-O 计数结果分别与自身对照组作配对 t 检验。由表 4 和表 5 可以发现,PLT-I 组: $t=12.40$, $P<0.05$;PLT-O 组: $t=0.35$, $P>0.05$,显示在红细胞碎片干扰的情况下,PLT-I 与对照组之间有统计学差异,而 PLT-O 则有较强的抗红细胞碎片干扰能力。

表 4 PLT-I 红细胞碎片干扰试验结果($n=30$)

组别	PLT 均值	s	t	P
PLT-I	240.03	56.03	2.40	<0.05
PLT-I 对照组	186.30	57.01		

表 5 PLT-O 红细胞碎片干扰试验结果($n=30$)

组别	PLT 均值	s	t	P
PLT-O	187.57	57.28	0.35	>0.05
PLT-O 对照组	187.37	59.96		

3 讨 论

近年来,准确计数外周血中的血小板,已成为血液学和检验医学界的热门话题,其原因有二:(1)血小板是由骨髓造血组织中的巨核细胞产生的一种多功能的细胞,在止血、伤口愈合、炎症反应、血栓形成及器官移植排斥等生理和病理过程中有重要作用,对放疗与化疗患者的监测也有着重要意义,尤其在血液系统疾病的诊断上更是一个重要指标。(2)临床上需要输注血小板的患者日益增多,仅在美国,每年输注血小板就高达 700 多万单位以上。由于输注血小板价格高昂,且易发生免疫性输血反应和存在感染的风险。因此,准确测定血小板数量对临床来说是非常重要的^[6]。目前计数血小板的方法主要有三类:(1)目视法,采用草酸铵溶液作溶血稀释液,在相差显微镜下计数血小板。该方法容易受到充池、血小板在计数板上的分布、技师的主观判断等误差因素影响^[1,4],重复性较差且费时,已不适用于临床工作的需求,但因为是直接计数,仍作为世界卫生组织推荐的参考方法。(2)流式细胞仪法:用荧光标记的血小板抗体标记血小板,通过流式细胞仪检测荧光计数,但该方法麻烦且昂贵、仪器需求高、操作复杂、成本高,因此难以在

临床上推广使用^[6-7]。(3)传统血细胞分析仪法:因其具有稳定性好、重复性好、精密度高、计数准确、测定速度快等优点,已广泛应用于临床^[8-10]。但传统的电阻抗法不能将血小板与 NPPs 如小红细胞、红细胞碎片、白细胞碎片、细菌和真菌以及免疫复合物区分开来,造成计数不准。另外还有一种间接法,即血涂片法;该法是用抗凝血液推片,经染色后,在厚薄适中处计数 1 000 个红细胞并同时计数所见到的血小板,求得血小板/红细胞之比值。再将此比值×红细胞数(通过一般血液分析仪数得),求得血小板数。该法可以直观地“间接”计数血小板,还可观察血小板的大小、形态、有无聚集等,但此法的缺点就是不能定量,无法精确计数血小板。SYSMEX XE-5000 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。但由于 PLT-I 法中血小板与红细胞是在同一个通道内通过颗粒大小来加以鉴别的,PLT-I 分别在 25~250 fL 和 2~35 fL 范围内分析红细胞和血小板。因此,血小板与“非血小板颗粒”测量的信号常有交叉误判,影响其计数,造成计数不准,在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,能通过荧光辨认其内含的 DNA 和 RNA 等物质,因此对一些临床特殊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。但是 PLT-O 法的缺点就是试剂成本昂贵,如果临床常规标本都使用 PLT-O 法测定的话,检验成本会很高,阻碍其在临床上的推广。

根据本实验表明:在正常体积血小板组中无论血小板的数量是正常、增高还是减低,PLT-I 和 PLT-O 与 PLT-M 之间的结果都不具有统计学差异。所以笔者建议,常规标本可以使用 PLT-I 通道检测,当血小板直方图、MPV、MCV 出现异常时,建议使用 PLT-O 通道复查,以在节约试剂成本的同时保证血

小板结果的可靠性。

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,2006:123-137.

[2] 丛玉隆.当代血液分析技术与临床[M].北京:人民卫生出版社,1997:33-39.

[3] 肖木洲,杨平英,郑惠红,等.血细胞分析仪测定血小板影响因素分析[J].现代医药卫生,2009,25(18):2836.

[4] 李果,粟军,彭黎明.血小板直方图与计数结果影响因素探讨[J].华中医杂志,2004,28(2):125-126.

[5] 王金芳,杜再娥.仪器法与手工法对低血小板计数的对比分析[J].宁夏医学杂志,2005,27(9):629-630.

[6] 朱忠勇.准确计数血小板方法学研究进展[J].国外医学临床生物化学与检验学分册,2002,23(3):131-132.

[7] 林顺宝,郑德柱,刘文星,等.血小板检测及临床意义探讨[J].临床检验杂志,2003,21(1):17-18.

[8] 郭玉娥,赵洪泉,赵志明.血细胞分析仪计数血小板的影响因素[J].中国误诊学杂志,2006,5(1):152-153.

[9] Ruzicka K, Veitl M. The new hematology analyzer Sysmex XE-2100: performance evaluation of a novel white blood cell differential technology[J]. Arch Pathol Lab Med, 2001, 125(3):391.

[10] Briggs C, Harrison P, Grant D, et al. New quantitative parameters on a recently introduced automated blood cell counter-the XE-2100[J]. Clin Lab Haematol, 2000, 22(6):345-350.

(收稿日期:2011-05-11)

(上接第 2491 页)

ER、PR 表达呈负相关,与 HER2 呈正相关。可推测低细胞级别的乳腺癌主要为腺腔型,而 HER2 过表达型主要出于高细胞学级别组中,因而术前细胞学分级可能成为术前预测肿瘤预后的一个有用的指标,而且细胞学分级无需额外的取材及花费,在任何医院都可以施行。

综上所述,术前细胞学分级简单易行,利用免疫细胞化学对 ER、PR、HER2 的检测结果可靠,细胞学分级联合分子分型可更准确地了解乳腺癌细胞的形态学及生物学特性,对术前了解患者乳腺癌的恶性程度及预后提供必要的参考指标,从而为乳腺癌患者制订个体化的治疗方案,提高乳腺癌患者生存率。

参考文献

[1] Tanaka K, Shoji T, Tominaga Y, et al. Statistical analysis of diagnostic failure of fine needle aspiration cytology (FNAC) in breast cancer[J]. J Surg Oncol, 2001, 76(2): 100-105.

[2] Robinsin IA, McKee G, Nicholson A, et al. Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas[J]. Lancet, 1994, 343(8903):947-949.

[3] Emiko T, Yang Q, Tang W, et al. Cytologic grading of invasive breast carcinoma: correlation with clinicopathologic variables and predictive value of nodal metastasis [J]. Acta cytol, 2000, 44(4):587-591.

[4] 《乳腺癌 HER2 检测指南》编写组. 乳腺癌 HER2 检测指南[J]. 中华病理学杂志, 2006, 35(10):631-633.

[5] Rita N, Cecilia B, Pellegrino C, et al. Immunocytochemical evaluation of HER-2/neu on fine-needle aspirates from primary breast carcinomas[J]. Diagn Cytopathol, 2003, 28(3):142-146.

[6] Ariga R, Bloom K, Reddy VB, et al. Fine-needle aspiration of clinically suspicious palpable breast masses with histopathologic correlation[J]. Am J Surg, 2002, 184(5):410-413.

[7] Sneige N. Utility of cytologic specimens in the evaluation of prognostic and predictive factors of breast cancer: current issues and future directions[J]. Diagn Cytopathol, 2004, 30(3):158-165.

[8] 王超,周小鸽,余小蒙.细胞块免疫细胞化学和原位杂交在针吸细胞学中应用[J].临床与实验病理学杂志,2006,22(1):96-97.

[9] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumors[J]. Nature, 2000, 406(17):747-752.

[10] Liu H, Fan Q, Zhang Z, et al. Basal-HER-2 phenotype shows poorer survival than basal-like phenotype in hormone receptor-negative invasive breast cancers[J]. Hum Pathol, 2008, 39(2):167-174.

[11] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study[J]. JAMA, 2006, 295(21):2492-2502.

(收稿日期:2011-05-25)