

XE-5000 流水线两种检测血小板方法的比较及性能评价

杨学敏, 李光迪(兰州大学第二医院检验科, 兰州 730030)

【摘要】 目的 对流水线 XE-5000 血细胞分析仪两种血小板(PLT)测定方法,即电阻抗法(PLT-I)和激光流式荧光法(PLT-O)进行性能评价。**方法** 通过 XE-5000 两种 PLT 测定方法,进行测试方法精密性与准确度、线性、携带污染率、红细胞(RBC)干扰实验、未成熟血小板比率(IPF)与平均血小板体积(MPV)对血小板计数影响,并以显微镜计数法作为参照。**结果** 平均批内精密性为 PLT-I 3.20%,PLT-O 1.73%;批间精密性为 PLT-I 2.46%,PLT-O 2.06%;携带污染率范围为 PLT-I 0-1.11%,PLT-O 0-0.99%;在线性稀释试验中测试值与理论值的平均相关系数(r)分别是 PLT-I 0.992,PLT-O 0.997;在 RBC 碎片干扰试验中,PLT-O 法对低浓度 RBC 干扰显示出较强抗干扰能力($t=1.37, P>0.05$);PLT-I 法在低值血小板($<60 \times 10^9/L$)容易受血小板 IPF 与 MPV 对血小板计数影响与显微镜法比较具有统计学意义。**结论** XE-5000 两种血小板测定方法均有各自较好精密性与准确度,线性和抗干扰能力,常规使用 PLT-I 法计数血小板,但是当所计数血小板数目少于正常且有干扰时,可用显微镜计数法或 PLT-O 法复查血小板数。

【关键词】 XE-5000 流水线; 推片机 SP-1000i; 血小板计数方法; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.04.023 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)04-0431-03

XE-5000 流水线由 XE-5000 全自动血细胞分析仪与 SP-1000i 推片机组成。其血小板计数的方法有两种,即电阻抗法(PLT-I)和激光流式荧光法(PLT-O)。一般日常血小板计数采用电阻抗法计数血小板,具有快速、准确、精密度高等优点,而血小板数目少于正常或遇有干扰因素时准确度、精密性会受到影响。激光流式荧光法可对细胞大小,细胞内的核酸 DNA/RNA 进行准确的荧光定量。本研究设计采用 PLT-I 和 PLT-O 两种方法进行血小板计数测定,并对两者血小板检测性能进行评价,检测批内精密性、检测批间精密性、线性范围、携带污染率、红细胞(RBC)碎片干扰及准确性进行评估,以显微镜计数法为参考标准,从多个方面评价 Sysmex XE-5000 分析仪两种血小板检测方法临床应用价值。

1 材料与方 法

1.1 仪器与材料 XE-5000 全自动血细胞分析仪(日本);SP1000i 推片机(日本);Olympus CH 20 双目显微镜(日本);XE-5000 流水线原装配套试剂及配套全血质控物(日本);ED-TA-K₂ 真空抗凝管(BD);血小板稀释液按《全国临床检验操作

规程》^[1]。

1.2 标本来血 本院 2011 年 3~7 月住院患者清晨空腹 EDTA-K₂ 血标本。

1.3 方法 选取 2011 年 3~7 月血常规,电阻抗法(PLT-I)检测采用仪器第 3 检测模式(CBC+DIFF)进行检测;光学法(PLT-O/RET)检测用仪器第 4 检测模式(CBC+DIFF+RET)进行检测,以显微镜计数法为参考标准判断其结果。每日进行 XE-5000 配套的质控物测试。

1.4 临床评价标准 用两次显微镜检测结果均值作为临床评价标准。

1.5 统计学方法 数据采用 SPSS11.0 软件作统计学分析。

2 结 果

2.1 批内精密性实验 取高、中、低值水平 PLT 标本各 1 例,共 3 例,以 XE-5000 两种测试方法 PLT-I、PLT-O 连续测定 10 次。PLT-I 法平均精密性 3.20%,PLT-O 法平均精密性 1.73%。符合 XE-5000 仪器 PLT 精密性设置要求小于或等于 4%,见表 1。

表 1 XE-5000 PLT-I 法和 PLT-O 法血小板批内精密性测定结果

组别	低值($\times 10^9/L$)		中值($\times 10^9/L$)		高值($\times 10^9/L$)	
	$\bar{x} \pm s$	CV(%)	$\bar{x} \pm s$	CV(%)	$\bar{x} \pm s$	CV(%)
PLT-I 法	17.8 \pm 0.98	5.52	133.8 \pm 2.95	2.20	520.8 \pm 9.75	1.87
PLT-O 法	15.8 \pm 0.45	2.83	128.4 \pm 1.95	1.52	511.6 \pm 4.33	0.85

2.2 批间精密性实验 取 SysmexXE 系列配套质控品每日定时检测,连续 20 d。符合 XE-5000 仪器 PLT 精密性设置要求小于或等于 4%,见表 2。

表 2 XE-5000 PLT-I 法和 PLT-O 法血小板批间精密性测定结果

组别	$\bar{x}(\times 10^9/L)$	s	CV(%)
PLT-I 法	208.2	5.12	2.46
PLT-O 法	200.3	4.12	2.06

2.3 PLT-I、PLT-O 线性实验 PLT 显微镜计数均值是 $576 \times 10^9/L$ 标本 1 例,再以稀释度计算值为理论值,各稀释度(至少 5 点法)以 PLT-I、PLT-O 两种测试各作 2 次测试取均值与理论值作回归分析,同时又按 $PLT < 100 \times 10^9/L$ 、 $PLT \geq 100 \times 10^9/L$ 分组进行相关性分析。以稀释理论值为 X,测试值为 Y,PLT 在 $(9 \sim 576) \times 10^9/L$ 范围内斜率、截距、相关系数。在 $(9 \sim 576) \times 10^9/L$ 范围内 PLT-I、PLT-O 与理论值间均有很好的相关性,在 PLT 低值时 PLT-O 与理论值之间拟合性较 PLT-I 好,见表 3。

表 3 XE-5000 PLT-I 法和 PLT-O 法测试血小板线性实验

组别	范围($\times 10^9/L$)	斜率	截距	r
PLT-I	9~576	1.009	8.31	0.992
PLT-I	<100	1.132	4.23	0.988
PLT-I	≥ 100	0.964	11.98	0.996
PLT-O	9~576	0.987	2.31	0.997
PLT-O	<100	1.022	0.45	0.996
PLT-O	≥ 100	0.956	5.36	0.997

2.4 携带污染率实验 取 $PLT > 500 \times 10^9/L$ 高值血液标本,混合均匀后连续测定 3 次 H1、H2、H3,随即取 $PLT < 60 \times 10^9/L$ 低值血液标本,混合均匀连续测定 3 次 L1、L2、L3,按公式 $(L1-L3)/(H3-L3) \times 100\%$,分别计算 PLT-I、PLT-O 携带污染率。高值与低值各取 10 例标本,PLT-I 携带污染率 0~1.11%,平均 0.56%;PLT-O 携带污染率 0~0.99%,平均 0.50%,结果符合仪器 XE-5000 携带污染率 PLT 设置要求小于或等于 1%,见表 4。

表 4 XE-5000 PLT-I 法和 PLT-O 法携带污染率实验(%)

组别	污染率范围	平均污染率
PLT-I 法	0~1.11	0.56
PLT-O 法	0~0.99	0.50

2.5 RBC 碎片干扰实验 取一管血,高速离心后,取 RBC 层 0.5 mL 加入蒸馏水破坏 RBC,高速离心,取 RBC 碎片层洗涤 3 次并稀释至 0.5 mL,作为高浓度 RBC 悬液(用时取 20 μL 加入测试血管内),再取 0.5 mL 稀释到 5 mL 作为低浓度 RBC 悬液(用时取 20 μL 加入测试血管内)。在 $PLT \geq 100 \times 10^9/L$

表 6 XE-5000 PLT-I 法和 PLT-O 法与显微镜法血小板结果比较($\bar{x} \pm s$)

IPF%	N	MPV(fL)*	显微镜计数($\times 10^9/L$)		(PLT-I) $\times 10^9/L$		(PLT-O) $\times 10^9/L$	
			PLT<60	PLT>60	PLT<60	PLT>60	PLT<60	PLT>60
20 \leq IPF	100	2	38 \pm 21	190 \pm 89	37 \pm 17	187 \pm 80	36 \pm 17	185 \pm 80
20 \leq IPF \leq 25	23	20	26 \pm 20	90 \pm 26	25 \pm 20	88 \pm 23	24 \pm 18	83 \pm 25
IPF \geq 25	33	30	29 \pm 17	79 \pm 25	15 \pm 14	78 \pm 23	28 \pm 15	75 \pm 23

注:* 未能测出体积大血小板。

2.7 准确性实验 用 PLT-I 法和 PLT-O 法两种血小板计数法,同一时间完成 5 个质评物,各分别连续测定 5 次,所测得均值与靶值的对应关系,PLT 均在 $\pm 5\%$ 范围内,准确度亦符合仪器设定要求,见表 7。

表 7 XE-5000 PLT-I 法和 PLT-O 法血小板准确度比较

组别	52	141	185	176	500
PLT-I 法	54	144	187	174	507
CV(%)	3.85	2.13	1.08	1.14	1.4
PLT-O 法	50	139	182	173	492
CV(%)	3.85	1.42	1.62	1.7	1.6

3 讨论

XE-5000 流水线在 PLT 计数上采用 PLT-I 并结合鞘流技

术,容易受到细胞碎片、小 RBC 及大 PLT 计数损失的影响^[2];而 PLT-O 采用侧向散射光(测体积),细胞内核酸与荧光染料结合并被激光激发后产生的荧光定量(测核酸含量),据 PLT 与 RBC 核酸含量及体积差异对两者进行区分,该法有抗 RBC 碎片、小 RBC 干扰的能力,同时对大 PLT 也有良好的识别能力。

表 5 XE-5000 PLT-I 法和 PLT-O 法 RBC 碎片干扰实验($\bar{x} \pm s$)

组别	范围($\times 10^9/L$)	t	P
PLT-I 对照组	279 \pm 126	—	—
PLT-I 高浓度组	380 \pm 140	2.82	<0.05
PLT-I 低浓度组	310 \pm 131	3.69	<0.05
PLT-O 对照组	271 \pm 121	—	—
PLT-O 高浓度组	330 \pm 130	3.25	<0.05
PLT-O 低浓度组	285 \pm 123	1.37	>0.05

注:—表示无数据。

2.6 IPF 与 MPV 对血小板计数影响 血小板计数正常且 MPV 与 IPF 正常时,PLT-O 和 PLT-I 的计数值与显微镜法比较,三者差异无统计学意义($P > 0.05$);当血小板计数少于正常($< 60 \times 10^9/L$ 是本次试验判断复检低值标准)且 MPV 与 IPF 均异常时($IPF > 25\%$,MPV 偏大未测出)PLT-I 法计数值与显微镜法比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$),而 PLT-O 法计数值与显微镜法比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 6。

通过 XE-5000 流水线与系列临床标本,比较 PLT-O、PLT-I 两种测试方法的批内精密性与批间精密性,PLT-I 法平均精密性是 3.20%,PLT-O 法平均精密性是 1.73%,均符合仪器精密性要求小于 4%,但在 PLT 数目过低时出现精密性超出范围大于 4%;其中 PLT-O 法精密性好于 PLT-I 法。对于 PLT-I 法和 PLT-O 法两种计数方法准确度,用 2011 年卫生部上半年室间质评靶值对两种方法可以进行准确度评价。XE-5000 两种方法在一定 $(9 \sim 576) \times 10^9/L$ 范围内,测试值与理论值之间具有很好的相关性,并且在 PLT 低值时 PLT-O 与

理论值之间拟合性较 PLT-I 好。在携带污染率实验中,两种 PLT 测试方法均符合 PLT 携带污染率设置要求小于或等于 1%。红细胞碎片干扰实验中,选取 $PLT \geq 100 \times 10^9/L$ 时,在高浓度 RBC 干扰时 PLT-O、PLT-I 方法均受到影响,但在低浓度 RBC 干扰时,证实了 PLT-O 在一定范围内抗干扰能力较 PLT-I 好。当血小板低值时($< 60 \times 10^9/L$ 是本次试验判断复检低值标准)且 MPV 与 IPF 均异常时 PLT-I 法计数值与显微镜法比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$),而 PLT-O 法计数值与显微镜法比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。说明 PLT-O 法能够通过细胞核酸荧光染色识别大 PLT。在没有启动 PLT-O 通道时需要复检 PLT 标本通常经 SP-1000i 推片机推片染色后先用显微镜观察血小板情况,多与少,大与小,与 PLT-I 法计数值是否符合,在 PLT 水平较低的情况下常伴 PLT 体积偏大的异常情况常见,在 $PLT < 60 \times 10^9/L$ 标本中出现大 PLT 情况较多,往往同时伴随 IPF 与 MPV 两项指标异常,大 PLT 的比例相对增加^[3]。

血常规通常用流水线 XE-5000 全自动血细胞分析仪阻抗抗

法 PLT-I 计数血小板,当 $PLT < 60 \times 10^9/L$ 标本且有干扰因素又与镜检估计不符合时,通过以上分析,可用显微镜计数法或 PLT-O 法复查血小板数目^[4]。

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,2006:22-23.
 [2] 凌励,周道银,惠小阳,等. 激光染色法与电阻抗法检测血小板方法的比较[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(10):93-94.
 [3] 罗丽贞,叶金锋,刘伟阳. XE-5000 血细胞分析仪血小板计数性能评价[J]. 检验医学与临床,2011,8(4):400-402.
 [4] 陈梅,黄丽云,方伟祯,等. XE-2100 全自动血细胞分析仪两种血小板计数方法与显微镜法计数血小板的比较[J]. 临床和实验医学杂志,2008,7(3):99-100.

(收稿日期:2011-09-28)

• 临床研究 •

外周血细胞形态学检查结果分析与临床应用

叶巧国(广东省佛山市顺德区陈村医院检验科 528300)

【摘要】 目的 探讨血细胞形态学检查在临床诊治中的重要性。**方法** 对本院住院和门诊患者对白细胞(WBC) $> 25 \times 10^9/L$ 或 $WBC < 4.0 \times 10^9/L$ 及血细胞分析仪报警结果有异常的 761 例血液标本进行外周血涂片检查。**结果** 中性粒细胞出现核左移 33 例,核右移 4 例,中性粒细胞毒性变化 95 例,异型淋巴细胞大于 5% 的有 62 例,幼稚细胞 7 例,有核红细胞 20 例,小细胞低色素性贫血 17 例,大细胞性贫血 3 例,疟原虫 2 例,血小板计数异常 9 例。**结论** 细胞形态学检查具有重要的临床价值,在疑似血液病和血液学检查异常情况时,必须同时进行外周血涂片检查。

【关键词】 外周血; 血细胞形态; 血液病; 异型淋巴; 血细胞分析仪

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 04. 024 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)04-0433-02

随着科学技术的迅猛发展,各种自动化血细胞分析仪在临床检验的广泛应用,使得血细胞分析结果更精确,大大地提高了检验的工作效率,为临床的诊断和治疗提供了重要的依据。但是,各类细胞分析仪仍有其不足之处,如对幼稚细胞、有核红细胞不能准确分类和计数等,如过度依赖全自动血液分析仪,忽视外周血形态学检查,必将引起临床的漏诊、误诊,影响对患者的诊断和治疗。因此,作者对 $WBC > 25.0 \times 10^9/L$ 或 $WBC < 4.0 \times 10^9/L$ 及血细胞分析仪报警提示结果有异常的标本同时进行了外周血涂片检查,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 11 月至 2010 年 10 月本院住院和门诊患者的血常规结果 $WBC > 25 \times 10^9/L$ 或 $WBC < 4 \times 10^9/L$,以及血细胞分析仪报警结果有异常的标本共 761 例,其中男 437 例,女 324 例,年龄 2 个月至 93 岁,大多数为发热、出血、贫血、黄疸或淋巴结肿大的患者。

1.2 方法 对异常的 761 例标本同时进行外周血细胞形态学检查,血液涂片、染色严格按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)进行。

2 结果

在 761 例涂片中,外周血形态异常的有 247 例,其中中性粒细胞核左移 33 例(4.34%),核右移 4 例(0.51%),中性粒细

胞毒性变化 95 例(12.48%),异型淋巴细胞 62 例(8.15%),幼稚细胞 7 例(0.92%),有核红细胞 20 例(2.63%),疟原虫 2 例(0.26%),大细胞性贫血 3 例(0.39%)(经骨髓检验证实为巨幼细胞性贫血),小细胞低色素性贫血 17 例(12.23%)(经骨髓铁染色、血清铁进一步检测证实为缺铁性贫血),血小板计数异常 9 例(1.18%)。

3 讨论

外周血形态学检查主要是检查 WBC、红细胞(RBC)、血小板形态和数量的改变情况。在正常情况下,骨髓按一定的规律将成熟的细胞释放于外周血,在造血系统疾病发生造血功能紊乱时,可引起外周血细胞形态学质和量的改变,如出现幼稚细胞、有核红、细胞内部出现异常结构等,血细胞分析仪不能对上述细胞进行识别、准确分类和计数,因此,必须重视外周血细胞形态学的检查。

WBC 形态异常改变主要有中性粒细胞出现核左移、核右移、毒性变化(如细胞大小不均,中毒颗粒,空泡变性, Döhle 体,核变性)及出现幼稚细胞等。在各种病原体所致的感染,特别是急性化脓性细菌感染时,WBC 明显升高,以中性粒细胞中毒性改变最为多见,且常伴有核左移;而在病毒性感染中,如传染性单核细胞增多症,病毒性肺炎,肺炎支原体等感染时^[1],异型淋巴细胞明显增多。如 WBC 总数异常增高或淋巴、单核细