

• 论 著 •

两种报警信息联合应用在改进血小板准确计数流程中的价值评估

程 翔, 王刚强, 郑善奎

(第四军医大学第一附属医院全军临床检验医学中心, 西安 710032)

摘要:目的 探讨联合应用血小板聚集(PLT 聚集)和血小板异常直方图(PLT 异常直方图)报警提示在血小板(PLT)计数流程中的应用价值,并以此为依据改进实验室工作流程。方法 应用 Sysmex XN 血细胞分析仪,对比单独使用 PLT 聚集报警与联合应用 PLT 聚集和 PLT 异常直方图报警在 PLT 准确计数中的应用价值。使用荧光染色(PLT-F)通道计数 PLT,对比电阻抗法(PLT-I 通道)与 PLT-F 通道计数结果。结果 联合应用 PLT 聚集和 PLT 异常直方图报警的灵敏度、特异度、总一致性均高于单独使用 PLT 聚集报警。与 PLT-F 通道结果相比,小红细胞组 PLT-I 通道结果明显偏高($P < 0.05$);巨大血小板组 PLT-I 通道结果明显偏低($P < 0.05$);PLT 聚集组两通道结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 联合应用 PLT 聚集与 PLT 异常直方图报警可作为 PLT 聚集标本的筛查依据。电阻抗法 PLT 计数时小红细胞易造成结果假性升高,巨大血小板易造成结果假性减低,应以 PLT-F 通道结果作为 PLT 计数最终结果。

关键词:血小板聚集; 血小板异常直方图; 血小板计数

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.05.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)05-0621-03

Value evaluation of combined application of two kinds of alarm information during process of improving platelet accurate counting

CHENG Xiang, WANG Gangqiang, ZHENG Shanluan

(PLA Center for Clinical Laboratory Medicine, First Affiliated Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China)

Abstract: Objective To investigate the value of combined application of platelet(PLT) aggregation and PLT abnormal histogram(PLT abn) alarm prompt during PLT counting flow process for improving the laboratory work flow process based on it. **Methods** The Sysmex XN blood cells analyzer was used to contrast the application value of using PLT aggregation alarm alone and combined use of PLT aggregation and PLT abn alarm in PLT accurate counting. PLT was counted by PLT-F channel. Then the PLT counting results were compared between by PLT-I and PLT-F. **Results** The sensitivity, specificity and overall consistency in the combined use of PLT aggregation and PLT abn alarm were higher than that in the use of PLT aggregation alarm. Compared with the results of PLT-F channel, the PLT-I results in the small RBC group were obviously higher($P < 0.05$), while which in the giant PLT group were obviously lower($P < 0.05$); the results in the PLT aggregation group had no statistical difference between the two kinds of channel($P > 0.05$). **Conclusion** The combined use of PLT aggregation and PLT abn alarm can serve as the screening basis of PLT aggregation sample. PLT counting by PLT-I is easy to cause the false increase of results and giant PLT is easy to cause the false decrease of results. Therefore PLT-F channel results should serve as the final results of PLT counting.

Key words: PLT aggregation; PLT abnormal histogram; platelet counting

血细胞分析仪在测定血小板(PLT)计数时常会受到多种原因的干扰,从而出现假性减低或增高,可能影响仪器计数的准确性^[1-2]。若不能及时发现并纠正,可能导致临床发生误诊,甚至造成较为严重的后果。Sysmex XN 系列血细胞分析仪在电阻抗法(PLT-I 通道)的基础上,开发出了荧光染色(PLT-F)通道对 PLT 进行更为准确地计数。同时对检测到的直方图、散点图异常进行报警信息的提示,包括血小板聚集(PLT 聚集)和血小板异常直方图(PLT 异常直方图)。结合 PLT 计数结果及异常报警信息,有助于实验室根据自身需要制订更为合适的复检规则,完善实验室的流程,从而在减少工作人员工作强度的基础上为临床提供准确的 PLT 计数结果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 12 月至 2016 年 3 月本院住院、门诊患者中 PLT 异常血液标本共 1 157 例,其中男 499 例,女 658 例。根据 PLT 计数结果及仪器报警信息将研究对象分为以下几组:(1)单纯 PLT 减低组(307 例), $PLT \leq 125 \times 10^9/L$ ^[3],未出现 PLT 聚集或 PLT 异常直方图报警;(2)PLT 聚集报警组

(327 例),其中 $PLT \leq 125 \times 10^9/L$ 142 例, $PLT > 125 \times 10^9/L$ 185 例;(3)PLT 异常直方图报警组(323 例), $PLT \leq 125 \times 10^9/L$ 184 例, $PLT > 125 \times 10^9/L$ 139 例;(4)PLT 正常组,另选择 $PLT > 125 \times 10^9/L$,且无任何相关报警提示的血液标本,共 200 例,其中男 93 例,女 107 例。

1.2 仪器与试剂 采用日本 Sysmex 公司生产的 XN 系列全自动血细胞分析仪及配套原装试剂检测血常规。其他仪器及试剂还包括 SP-100 全自动推片机(日本 Sysmex 公司),瑞氏-吉姆萨染色液(贝索生物技术公司),显微镜(奥林巴斯 CX53)。试剂和质控品均为日本 Sysmex 公司原装配套产品。

1.3 检测方法

1.3.1 仪器检测 所有标本均在采集后 4 h 内使用 Sysmex XN 自动进样模式完成检测。在 PLT 异常直方图报警组中所有标本的 PLT 计数均使用 PLT-I 和 PLT-F 两个通道检测。

1.3.2 推片镜检 所有标本均由自动推片机制备,瑞氏-吉姆萨染色的血涂片各 2 张,并由 2 名有丰富工作经验的检验人员对其进行镜检。

1.4 异常形态结果判断

1.4.1 PLT 聚集 目前国内还没有针对镜下 PLT 聚集程度判断标准的相关规定。本研究参考国内相关文献[4],油镜下至少观察 20 个视野,将 3 个以上成团且出现 2 次或 2 次以上的标本认为镜检 PLT 明显聚集标本;将出现少量聚集,但未达到上述标准的标本认为镜检 PLT 微聚集标本。

1.4.2 巨大血小板 镜下以大于红细胞直径 1/2 作为判断巨大血小板的标准[5]。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 PLT 聚集与巨大血小板阳性结果 各组患者所有标本自动推片后镜检,根据镜检结果,将其分类为未聚集、微聚集、明显聚集和出现巨大血小板,分别统计其数量及百分比。见表 1。

表 1 各组标本 PLT 聚集与巨大血小板阳性结果统计

组别	n	未聚集	微聚集	明显聚集	巨大血小板*	红细胞
单纯 PLT 减低组	307	299(97.39)	8(2.61)	0(0.00)	32(10.42)	—
PLT 聚集报警组	327	54(16.51)	127(38.84)	146(44.65)	35(10.70)	—
PLT ≤ 125 × 10 ⁹ /L	142	35(24.65)	42(29.58)	65(45.77)	24(16.90)	—
PLT > 125 × 10 ⁹ /L	185	19(10.27)	85(45.95)	81(43.78)	11(5.95)	—
PLT 异常直方图报警组	323	282(87.31)	35(10.84)	6(1.86)	226(70.00)	47(14.50)
PLT ≤ 125 × 10 ⁹ /L	184	157(85.33)	21(11.41)	6(3.26)	149(81.00)	5(2.70)
PLT > 125 × 10 ⁹ /L	139	125(89.93)	14(10.07)	0(0.00)	77(55.40)	42(30.20)
PLT 正常组	200	187(93.50)	13(6.50)	0(0.00)	8(4.00)	—

注:巨大血小板标本不包括巨大血小板聚集标本,本研究将其归类为聚集标本;—表示无数据,因红细胞出现标本的阳性率仅在 PLT 异常直方图报警组进行统计,其余各组未做统计。

2.2 Sysmex XN 系列 PLT 聚集报警的受试者工作特征(ROC)曲线 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.746(95% CI: 0.686~0.806)。本仪器 PLT 聚集的最佳报警阈值为 125。见图 1。

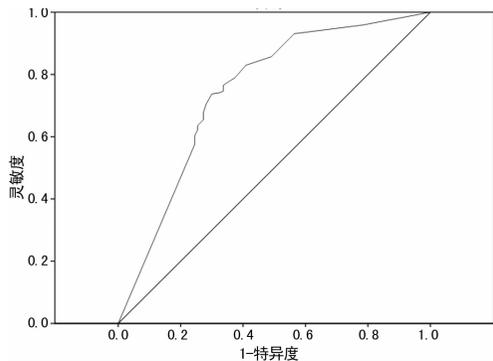


图 1 Sysmex XN 系列 PLT 聚集报警的 ROC 曲线

2.3 不同通道 PLT 聚集报警的镜检符合率 Sysmex XN 系列 PLT 聚集报警可由白细胞计数通道(WNR)、白细胞分类计数通道(WDF)、PLT-F 3 个通道提供,分别统计其镜检符合率,见表 2。

表 2 不同通道 PLT 聚集报警的镜检符合率

报警通道	镜检阳性(n)	仪器报警(n)	镜检符合率(%)
WNR	137	179	76.5
WDF	63	68	92.6
PLT-F	73	80	91.3

表 3 单独使用 PLT 聚集报警与显微镜结果比较(n)

仪器结果	镜检		合计
	聚集	未聚集	
聚集报警	273	54	327
未聚集报警	62	768	830
合计	335	822	1 157

2.4 仪器检测结果与显微镜结果比较 按照仪器是否出现 PLT 聚集报警与镜检是否发现 PLT 聚集,将结果进行统计,见表 3。按照仪器是否出现 PLT 相关报警(包括 PLT 聚集报警、PLT 异常直方图报警)与镜检是否出现阳性(包括发现 PLT 聚集、巨大血小板及出现红细胞),将结果进行统计,见表 4。分别统计其灵敏度、特异度和总一致性,见表 5。

表 4 联合使用 PLT 聚集报警及 PLT 异常直方图报警与显微镜结果比较(n)

仪器结果	镜检		合计
	阳性	阴性	
报警	622	28	650
未报警	61	446	507
合计	683	474	1 157

表 5 两种方法灵敏度、特异度、总一致性比较(%)

方法	灵敏度	特异度	总一致性
PLT 聚集报警	81.3	93.4	90.0
PLT 相关报警	90.1	94.1	94.7

表 6 各组 PLT-I 与 PLT-F 通道计数均值比较(×10⁹/L)

组别	PLT-I	PLT-F
红细胞组	223.2	210.7*
巨大血小板组	138.0	157.9*
PLT 聚集组	89.1	91.3

注:与同组 PLT-I 比较,* $P < 0.05$ 。

2.5 各组 PLT-I 与 PLT-F 通道计数结果比较 将 PLT 异常直方图报警组中的所有标本,即出现 PLT 异常直方图报警的所有标本使用 PLT-I 和 PLT-F 两个通道计数 PLT,依据镜检结果,将其分为红细胞组[平均红细胞体积(MCV)中位数为 69.5 fL,范围 60.0~80.2 fL]、巨大血小板组及 PLT 聚集组。分别统计各组 PLT-I 与 PLT-F 通道计数 PLT 的均值。红细胞组中,PLT-I 通道的结果明显高于 PLT-F 通道结果($P <$

0.05);而在巨大血小板组中,PLT-I 通道 PLT 计数结果明显低于 PLT-F 通道结果($P < 0.05$);PLT 聚集组两通道结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 6。

3 讨论

本研究首先探讨了单一使用 PLT 聚集报警信息在判断 PLT 聚集中的可靠性。AUC 为 0.746,说明单一使用 PLT 聚集报警信息在判断 PLT 聚集时有一定价值,最佳 Q-Flag 报警阈值为 125。Sysmex XN 系列血液细胞分析仪的 PLT 聚集报警信息可分别由 WNR、WDF、PLT-F 3 个通道提供,每个通道的报警原理及灵敏度不同。本研究结果显示,WNR 通道报警次数最多,但阳性符合率较低;WDF 及 PLT-F 通道的阳性符合率可达 90.0%以上,因此当出现 WDF 及 PLT-F 通道提示的 PLT 聚集报警信息时,应引起重视,尽可能镜镜检查。当出现 PLT 聚集报警时,在 $PLT \leq 125 \times 10^9/L$ 组中,阳性符合率(表 1,包括微聚集及明显聚集)为 75.35%;在 $PLT > 125 \times 10^9/L$ 组中,阳性符合率(表 1,包括微聚集及明显聚集)达 89.73%。但单一使用 PLT 聚集报警灵敏度仅为 81.3%,且在出现假阴性的标本中,有 6 例经镜镜检查确认出现了明显聚集,其中有 4 例经重新抽血确认为乙二胺四乙酸依赖性 PLT 聚集^[6]。但值得庆幸的是,此 6 例标本均出现了 PLT 异常直方图报警。因此,笔者认为仅使用 PLT 聚集报警作为 PLT 聚集的筛查提示是不够可靠的,还应同时参考 PLT 异常直方图的报警提示。

可能造成 PLT 出现异常直方图的原因有巨大血小板、PLT 聚集和小红细胞的干扰^[5],同时也干扰了阻抗法计数 PLT 的结果。本研究结果显示,以上 3 种阳性结果的标本在出现 PLT 异常直方图报警提示的所有标本中,占 95.34%。与单一使用 PLT 聚集报警信息相比,PLT 聚集报警与 PLT 异常直方图报警联合应用的灵敏度、特异度和总一致性均明显提高。其中灵敏度由 81.3%升高为 90.1%,且对出现假阴性的所有标本经镜镜检查分析后发现,未出现一例 PLT 明显聚集标本。而在本试验所选择的单纯 PLT 减低组和 PLT 正常组共 507 例标本中,也未出现一例 PLT 明显聚集标本。因此,联合应用 PLT 聚集与 PLT 异常直方图报警可作为 PLT 聚集标本的筛查依据。

PLT-F 通道是由 Sysmex XN 系列最新提供的 PLT 荧光染色通道,与其他通道计数方法相比更为准确;与流式细胞方法相比有良好的相关性^[7],并能明确的区分 PLT 和其他的血细胞^[8],能排除小红细胞和巨大血小板对 PLT 准确计数的干扰。因此,本试验以 PLT-F 的结果作为 PLT 异常直方图报警组检测 PLT 的金标准(PLT 聚集标本除外)。将出现 PLT 异常直方图报警提示的所有标本使用 PLT-F 通道进行检测,将 PLT 计数结果与 PLT-I 结果相比较后发现,小红细胞组中,PLT-I 通道的结果明显高于 PLT-F 通道结果($P < 0.05$);而在巨大血小板组中,PLT-I 通道 PLT 结果明显低于 PLT-F 通道结果($P < 0.05$);PLT 聚集组两通道结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。即在阻抗法计数时,小红细胞易造成结果假性升高,而巨大血小板易造成结果假性减低,应以 PLT-F 通道结果作为其 PLT 最终结果。PLT-F 通道不能用于对 PLT 聚集标本的纠正,针对 PLT 聚集患者,应分析原因后采取相应措施进行纠正^[9]。

基于以上研究结果,联合应用 PLT 聚集和 PLT 异常直方图报警信息,结合 Sysmex XN 系列特有的 PLT-F 通道 PLT 计数,对本实验室 PLT 准确计数的实验流程进行了如下改进:

(1)首先对本标本使用 PLT-I 通道进行检测。(2)当 $PLT \geq 125 \times 10^9/L$ 时,①若未出现 PLT 聚集或 PLT 异常直方图报警,可直接报告结果;②若出现 PLT 异常直方图报警且红细胞平均体积(MCV) < 80 fL,启用 PLT-F 通道检测后报告结果。(3)当 $PLT < 125 \times 10^9/L$ 时,①若未出现 PLT 聚集或 PLT 异常直方图报警,启用 PLT-F 通道检测后报告结果;②若出现 PLT 聚集或 PLT 异常直方图报警,应涂片镜检,若显微镜下确认发生血小板聚集现象,应通知临床重新抽血进行纠正;若显微镜下确认出现巨大血小板或小红细胞,启用 PLT-F 通道检测后报告结果;若显微镜下确认未出现任何形态学异常,可直接报告结果。

根据 2005 年国际血液学组织提出的显微镜复检的 41 条建议性标准,其中 $PLT < 100 \times 10^9/L$ 需复检^[10]。本实验室流程增加和细化了其他需要复查的条件,在提高 PLT 计数准确性的基础上,减轻了实验室人员的工作压力。本研究仍有一定的局限性,尤其在对 PLT 聚集和巨大血小板标本的确认过程中,目前暂无明确的形态学标准,因此识别过程具有明显的主观性。究竟何种程度的 PLT 聚集和多少比例的巨大血小板、小红细胞会对 PLT 的准确计数产生干扰,仍有待进一步研究确认。

参考文献

- [1] 孙克. 电阻抗法血小板计数的影响因素及对策[J]. 医学综述,2012,18(15):2470-2472.
- [2] 胡恩亮,赵媛,王妍,等. 血小板聚集影响因素在血细胞计数中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(6):749-750.
- [3] 尚红,陈文祥,潘柏申,等. 中国成人常用肝功能和电解质及血细胞分析项目参考区间[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(5):393-394.
- [4] 徐玉兵,衣常红,高春芳. Sysmex XE-2100D 血液细胞分析仪各类报警信息可信度评价[J]. 检验医学,2013,28(11):1044-1047.
- [5] 薛飞平,孙瑞雪,吴礼锋. 三种方法对巨大血小板的检测分析[J]. 检验医学,2010,25(5):398-400.
- [6] 张家明,韩日成,洪流. 血小板异常直方图在判断血小板计数结果中的应用价值[J]. 检验医学与临床,2008,5(12):713-714.
- [7] Seo JY, Lee ST, Kim SH. Performance evaluation of the new hematology analyzer Sysmex XN-series[J]. Int J Lab Hematol,2015,37(2):155-164.
- [8] 孙朝晖,林艳艳,杭建峰,等. PLT-F 通道在低值血小板测定中的意义[J]. 医学临床研究,2014,31(11):2110-2112.
- [9] Lippi G, Plebani M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: further insights and recommendations for prevention of a clinically threatening artifact[J]. Clin Chem Lab Med,2012,50(8):1281-1285.
- [10] 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.