

电率 $0 \sim \leq 20$ 、 $> 20 \sim \leq 40$ 、 $> 40 \sim \leq 60$ 、 $> 60 \sim \leq 80$ $\text{US} \cdot \text{cm}^{-1}$ 下, ALT 试剂空白符合使用说明性能指标[试剂空白 $A_{340\text{ nm}}(10\text{ mm}) \geq 1.500\ 0$]; 25 反应测试点: 在导电率 $0 \sim \leq 20$ 、 $> 20 \sim \leq 40$ 、 $> 40 \sim \leq 60$ 、 $> 60 \sim \leq 80$ $\text{US} \cdot \text{cm}^{-1}$ 下, ALT 试剂空白符合使用说明性能指标[试剂空白 $A_{340\text{ nm}}(10\text{ mm}) \geq 1.500\ 0$]。以上数据说明, 在纯水导电率 $0 \sim 80$ $\text{US} \cdot \text{cm}^{-1}$ 范围, ALT 试剂空白吸光度符合使用说明试剂性能指标[试剂空白 $A_{340\text{ nm}}(10\text{ mm}) \geq 1.500\ 0$], 不影响 ALT 试剂空白吸光度。

表 3 不同反应点的 $\bar{x}$ 、s 值					
组别		A	B	C	D
15 反应点	$\bar{x}$	1.527 9	1.526 1	1.530 1	1.520 4
15 反应点	s	0.266 3	0.192 2	0.020 2	0.147 5
25 反应点	$\bar{x}$	1.531 2	1.523 4	1.527 2	1.526 7
25 反应点	s	0.294 4	0.184 7	0.022 0	0.012 9

表 4 不同反应点的 P 值						
组别	AB	AC	AD	BC	BD	CD
15 反应点	0.849	0.812	0.427	0.669	0.544	0.304
25 反应点	0.424	0.680	0.646	0.697	0.732	0.962

3 讨 论

3.1 有报道, $0 \sim 40$ $\text{US} \cdot \text{cm}^{-1}$ 导电率的纯水不影响钙试剂空白, 当纯水导电率大于 41 $\text{US} \cdot \text{cm}^{-1}$ 时钙试剂空白不符合试剂性能指标。钙检测原理是偶氮肿Ⅲ终点比色法, 用偶氮肿选择性结合钙离子后引起变色的染料结合物分光光度法测定钙是临床上最常用的方法, 钙离子对偶氮肿结合力受到缓冲液、pH 值和钠浓度的影响^[5]。导电率值越小说明水中杂质越少, 水的纯净度越高^[6]。随着纯水导电率的升高, 水中所含溶解物质的离子浓度也升高^[7], 水中钙离子也会与偶氮肿Ⅲ结合, 所以钙试剂空白吸光度也升高, 影响检验结果。同时, AU2700 生化分析仪的清洗液是仪器自动加入纯水稀释的, 当纯水质量下降, 所含离子增多和洗液中的碱性物质反应, 生成盐类结晶, 容易堵塞清洗管路和电磁阀^[8], 影响仪器的正常运行。在实际工作中, 除应注意实验用纯水制备时的质量外, 还应重视纯水的

• 检验仪器与试剂评价 •

贮存、运输和使用过程, 否则会使纯水等级下降而不符合实验要求^[9]。一般选用聚乙烯或聚丙烯桶贮存, 贮存时间不宜太长, 使用时应避免污染。

3.2 以 NADH 为指示酶, 采用下降速率法检测原理的 ALT, 在导电率 $0 \sim 80$ $\text{US} \cdot \text{cm}^{-1}$ 之间试剂空白吸光度均符合试剂性能指标。表明在导电率 $0 \sim 80$ $\text{US} \cdot \text{cm}^{-1}$ 之间纯水中所含的溶解物质, 对 ALT 酶速率法检测干扰反应少, 不影响 ALT 试剂性能。

3.3 ALT 试剂为双试剂, 试剂 I 的成分为 Tris-Hcl 缓冲液、L-丙氨酸、NADH、磷酸吡哆醛、LDH。试剂 II 的成分为 α -酮戊二酸。ALT 试剂空白吸光度应在 $1.500\ 0$ 左右, 如果试剂空白吸光度降至 1.0 , 表明 NADH 下降 50% , 不能保证 ALT 测定的线性范围, 为保证和检测试剂性能必须做试剂空白吸光度测定^[5]。

参考文献

[1] 钱国华. 大型医院实验室建设的探讨[J]. 中国医疗设备, 2009, 24 (2): 86-87.

[2] 王斌章. 浅析全自动生化分析仪维护、故障分析[J]. 中国医疗设备, 2009, 24(1): 98-99.

[3] 中华医学会检验分会. 临床实验室自动生化分析仪应用建议[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(5): 590-591.

[4] 周炳华, 王志新. 纯水质量对全自动生化分析仪检测的影响[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 2(1): 150-152.

[5] 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: 408.

[6] 赵作宁, 薛小红. 血液透析用水处理系统的监测[J]. 中国医疗设备, 2009, 24(5): 98-99.

[7] 李萍, 刘彬. 生物化学检验[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 14.

[8] 于德军, 李惠. 生化分析仪的纯水系统常见故障分析及排除对策[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(4): 12-13.

[9] 程勇江, 李丽, 陈海鸣. 检验科超纯水制备系统的构建[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 796.

(收稿日期: 2012-01-05)

Beckman Coulter LH750 血细胞分析仪异常细胞报警提示功能的评价

余洲海, 杨 辉, 章晓鹰, 张 珏
(上海中医药大学附属曙光医院检验科 200021)

摘 要: 目的 通过对 Beckman Coulter LH750 血细胞分析仪所提示的异常细胞报警信息与手工镜检的对比, 评价其在实际工作中的作用。方法 采集静脉全血 2 mL , 检测 448 例有异常细胞报警提示的样本及 400 例无异常提示的样本, 并同步进行手工镜检白细胞分类。结果 仪器对异常细胞报警提示功能的诊断特异性为 75.8% , 灵敏度为 98.5% , 阳性预测值为 75% , 阴性预测值为 98.5% 。结论 该仪器具有较高的灵敏度及特异性, 能较好地大批量检测临床样本。但在实际工作中对其异常提示应加以分析并制定合理的复检规则, 最终以手工镜检分类为准。

关键词: 血细胞分析仪; 异常细胞; 报警提示; 设备失效
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.049 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2012)13-1646-03

Beckman Coulter LH750 血细胞分析仪是一台全自动五分类血细胞分析仪, 具有完善的计算机分析功能。在血常规测定时, 如发现异常细胞仪器就会自动报警提示, 如原始细胞、幼稚细胞、异型淋巴细胞、有核红细胞等。通过与手工镜检对比,

笔者对仪器异常细胞报警提示功能进行评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采集住院及门诊患者经 EDTA-K₂ 抗凝的静脉全血 2 mL。经 LH750 全自动血细胞分析仪检测有异常细胞报警提示的样本 448 例及无异常细胞报警提示的样本 400 例。

1.2 仪器与试剂 美国 Beckman Coulter LH750 血细胞分析仪及其原装配套试剂及质控品(伯乐公司提供)、Olympus CX21 显微镜、瑞氏染液。

1.3 仪器异常细胞报警系统 可疑警报提示类型及含义见表 1。

表 1 可疑警报提示类型及含义	
警报提示类型	含义
Imm NE1	中性杆状核粒细胞和(或)幼粒细胞
Imm NE2	早/中/晚幼粒细胞
Blast	原始细胞
Variant LY	异型淋巴细胞
NRBC	有核红细胞

1.4 方法 所有样本按本科室的样本检测流程和方法对血常规样本进行检测,将仪器显示有异常报警信息的样本进行手工推片、染色,并由 2 位具有形态学经验的技师双盲镜检,镜检方法按《全国临床检验操作规程》进行^[1]。

1.5 结果判断 以镜检法为金标准。镜检结果符合下列标准之一即判为阳性^[2]:中性杆状核粒细胞大于 5%,原始、幼稚细胞大于或等于 1%,有核红细胞大于或等于 1%,异型淋巴细胞大于或等于 2%。

2 结 果

2.1 仪器法与手工镜检法检出异常细胞的结果 448 例有异常细胞报警提示的样本(共出现 512 项报警)及 400 例无异常细胞报警的样本,仪器法与手工镜检法检测的结果见表 2。据此得出本次实验仪器报警对异常细胞检测能力为:诊断灵敏度 98.5%,特异性 75.8%,阳性预测值 75%,阴性预测值 98.5%。

表 2 848 例样本仪器和手工镜检法检出异常细胞的结果(n)			
仪器法	手工镜检法		合计
	阳性	阴性	
阳性	386	126	512
阴性	6	394	400
合计	392	520	912

2.2 各异常细胞报警提示出现次数及其假阳性率 448 例出现异常细胞提示的样本中共出现 512 个报警提示(部分样本出现 2 个以上报警提示),各报警提示出现的次数及其镜检假阳性率见表 3。

表 3 各异常细胞报警提示出现次数及其假阳性率					
项目	Imm NE1	Imm NE2	Blast	Variant LY	NRBC
可疑信号出现(n)	275	85	55	52	45
镜检阳性(n)	217	75	52	22	20
假阳性(%)	21.1	11.7	5.5	57.7	62.5

3 讨 论

3.1 LH750 全自动血细胞分析仪采用 Coulter 电阻抗原理和

智能微数技术对血细胞进行计数,基于 VCS(细胞体积、高频传导、激光散射)技术,结合更优化的计算机软件系统对白细胞进行分类,可提供 31 个血细胞分析参数和 30 多个怀疑/限定旗标^[3],其电脑主机上显示各种有用信息,如直方图、散点图等。实验室人员可根据这些信息,从大量的样本中挑出需要显微镜复检的样本。虽然全自动五分类血细胞分析仪对正常白细胞分类能力比肉眼分析要精确得多,但在病理情况下,仪器分析只是依靠检测细胞几种物理特性,很难提供完全准确的分析结果^[4]。因此,实验室人员应根据血细胞分析仪提供的各种警报信息,通过筛检进行显微镜复检。这样既保证了结果的准确性又大大降低了工作强度,提高了工作效率。

3.2 粒系报警提示(Imm NE1、Imm NE2)最为常见,与镜检符合率也较高,特别是白细胞轻、中度增高的样本,仪器与手工镜检结果基本符合。病例中以感染、术后、肿瘤、化疗后使用升白药及慢性粒细胞白血病多见。在制定实验室复检规则时可以适当放宽要求,笔者认为在仪器计数 WBC<20×10⁹/L 同时 NE≥70%,且仅有 Imm NE1 和(或)Imm NE2 提示并不伴有嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞升高时,可以结合病史将仪器给出的核左移信息提示临床。

3.3 55 例出现 Blast 警报提示的样本中有 52 例镜检发现原始、幼稚细胞(急性白血病 42 例、慢性粒细胞白血病 8 例、骨髓增生异常综合征 2 例),另 3 例镜检发现无明显异常,被镜检者无任何血液病体征及症状,身体状况良好。故仪器对 Blast 警示的灵敏度和特异性都非常好。由于 Blast 的临床意义较大,对仪器提示 Blast 的样本均应仔细人工镜检,不能遗漏。仪器 Blast 报警分为 NE Blast、MO Blast 及 LY Blast,分得比较细,但笔者在临床实践中发现已确诊某种特定类型的急性白血病患者,在测定其血常规时警报提示不一定和已确定的原始细胞类型相吻合。可能是药物或其他因素使细胞形态发生改变,导致仪器无法正确识别,其具体机制有待进一步研究。故不建议使用上述报警功能来确定原始细胞类型。

3.4 异型淋巴细胞的仪器报警提示与镜检符合率为 42.3%。显微镜复检阳性 22 例(传染性单核细胞增多症 5 例,呼吸道感染 10 例,肿瘤放化疗 4 例,病毒性肝炎 2 例,肝硬化 1 例)。镜检阴性样本 30 例,涂片镜检单核细胞或淋巴细胞比例大,且大淋巴细胞及单核细胞与异型淋巴细胞的体积、颗粒及染色质疏松程度上有部分相似,并在百分比比较少的情况下,仪器鉴别细胞程度上存在较大困难^[5]。某些形态不典型的中、晚幼红细胞与大淋巴细胞可能使仪器误认为异型淋巴细胞^[6]。值得一提的是,笔者发现像急、慢性淋巴细胞白血病及幼稚淋巴细胞白血病等淋巴细胞增殖性疾病多有 Variant LY 报警提示出现,但镜检是阴性的。故异型淋巴细胞检测仍应以镜检为准。

3.5 出现 NRBC 报警 45 例镜检检出阳性 20 例,与镜检符合率不高。最终临床确诊溶血性贫血 6 例,骨髓增生异常综合征 5 例,急性髓细胞白血病 3 例,急性上消化道出血 6 例,但对于中、重度贫血患者样本,尤其是溶血性贫血患者,两者符合程度较好。此外,部分样本还同时伴有 Platelet Clumps 及 Gaint Platelet 警报提示,镜检有血小板聚集和巨大血小板的此类样本大多无有核红细胞的检出,这可能是与仪器将聚集的血小板和大血小板误认为有核红细胞有关。笔者发现在许多 Blast 及 NE2 报警提示并伴有贫血且经镜检证实确有相应异常细胞的样本中,多可检出有核红细胞,但仪器少有 NRBC 提示,可见这部分样本的假阴性较高,与王剑飏等^[7]的报道一致。

3.6 实验中报道假阴性样本 6 例,其中 2 例检出中性晚幼粒

细胞,3 例检出异型淋巴细胞,1 例慢性淋巴细胞白血病患者样本检出幼稚淋巴细胞。由此可见,在平时的工作中结合临床资料对仪器虽未报警但可疑的病例进行镜检复片还是很有必要的。

本研究表明,Beckman Coulter LH750 五分类血细胞分析仪有较好的灵敏度与特异性,适合大批量检测样本,基本满足临床要求,但又存在假阴性和假阳性。为了保证血常规检测的快速、准确,实验室必须熟悉血细胞分析仪的性能特点,正确评价仪器对异常细胞警报提示功能,制定合理的复片规则,通过仪器给出的各种信息(计数结果、直方图、散点图警报提示等)并结合临床资料进行综合分析判断是否需要镜检复片。然而镜检不一定要分类,如果浏览血涂片未见异常白细胞可以不进行分类,国外也提倡采用浏览血片的方式取代传统的白细胞百分比分类计数^[8-9]。国际血液学会(ISLH)提出,在保证血细胞分析仪质量的前提下,应减少涂片检查的样本数量^[10]。根据血液分析仪的提示,有选择性地涂片观察也是 ISLH 的建议之一^[11]。因此,熟悉血细胞分析仪的性能特点,特别是在异常细胞警报提示的可信性方面,对提高检验质量,为临床提供有价值的报告尤为重要。

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,2006:10.

• 检验仪器与试剂评价 •

[2] 陈文彬.诊断学[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2001:241-251.
[3] 王文娟,王佩佩,陈保德,等. LH750 血液分析仪临床应用评价[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(3):319-321.
[4] 孙芾,王原芳,于俊峰,等. 血细胞显微镜复检标准的制定及临床应用[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(2):155-157.
[5] 姜波,吴红,陈世锋,等. 全自动分析仪异常报警的分析及临床应用[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(11):1013-1016.
[6] 朱立华. 实验诊断学[M]. 北京:北京医科大学出版社,2002:46-50.
[7] 王剑飏,金叶,牟皎月,等. Beckman Coulter LH750 血液分析仪复检规则的制定和评价[J]. 检验医学,2008,23(6):570-573.
[8] Michael WS. The atypical lymphocyte[J]. International Pediatrics, 2003,18(1):10-12.
[9] Pierre RV. Peripheral blood film review the demise of the eye-count leukocyte differential[J]. Clin Lab Med,2002,22(1):279-296.
[10] Bames PW,McFadden SL,Machin SI,et al. The international consensus group for hematology review: suggest criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis[J]. Laboratory Hematology,2005,11(2):83-90.
[11] 范丽萍,王剑超,王寅,等. LH750 全自动血液分析仪异常细胞报警的评价与分析[J]. 检验医学,2009,24(4):321-322.

(收稿日期:2011-12-30)

临床检验中乙型肝炎病毒检测方法的应用评价

方志红

(江苏省苏州市中医医院检验科 215006)

摘要:目的 比较临床检验中乙型肝炎病毒检测方法,并探讨其临床应用价值。**方法** 收集 2011 年 12 月期间临床酶免 HBV 阳性样本共 50 例,使用 PCR 荧光探针法进行确证;同时用新创、Ortho 两种 HBV 酶免试剂以及 Architect HBV Reagent 化学发光试剂进行检测,比较三者结果的差异。**结果** 统计学分析显示,三种检测方法的检测结果有差异。PCR 实验测出 HBV 阳性 44 例,阴性 6 例,与 Architect 化学发光法结果相符,新创酶免法测 50 例全为阳性,Ortho 酶免法测阳性 42 例,阴性 8 例。**结论** Ortho 试剂对 HBV 检测的特异性高于新创试剂,化学发光法对 HBV 检测的特异性高于酶免法,化学发光法与酶免法联合检测能提高临床检验中 HBV 的阳性检出率,对可疑样本再作 PCR 实验分析。

关键词:肝炎病毒,乙型; 酶联免疫吸附测定; 聚合酶链反应; 免疫化学发光
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.050 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)13-1648-02

乙型肝炎病毒(HBV)感染是世界范围内严重的公共卫生问题之一,约 5% 的世界人口现为慢性感染患者。中国 HBV 的感染率比较高,目前乙型肝炎感染血清学标志物是临床实验室最主要的检测项目。HBV 的病原体不仅具有传染性,还可能发展成肝硬化,甚至肝癌,所以,对 HBV 进行早期诊断对乙型肝炎临床诊断、疗效观察及预防具有重要意义。但由于 HBV 感染窗口期的存在以及某些耐受人 群未发生血清转化等,使其血清学检测未能准确反映患者体内 HBV 的感染状态;而用于确证及定量检测 HBV 感染的技术也有各自的局限性。因此,分析 HBV 的检测技术对 HBV 感染的早期诊断有着重大的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 12 月期间临床酶免 HBV 阳性样本(两对半检测中任一项目阳性即为阳性样本)50 例,该检测样本由检验科工作人员采血检测后留取,-20℃ 保存。

1.2 仪器与试剂 Ortho HBV ELISA(简称 Ortho)试剂,英科新创(Intec)HBV ELISA 试剂,Architect HBV Reagent Kit 化学发光试剂,科华生物的 HBV 核酸定量检测试剂盒。以上所有检测试剂均有国家批准文号并有批批检合格标志,且在有效期内使用。HBV 室内质控血清(卫生部临床检验中心)。TECAN 全自动加样仪和 FAME2430 全自动酶免分析系统(澳斯邦公司),科华 KHB 实时 PCR 仪,雅培 Architect i2000SR 免疫发光检测系统。
1.3 方法 收集 2011 年 12 月期间临床酶免 HBV 阳性样本(两对半检测中任一项目阳性即为阳性样本)共 50 例,使用 PCR 荧光探针法进行确证;同时,用新创、Ortho 两种 HBV 酶免试剂以及 Architect HBV 化学发光试剂进行两对半中相应阳性项目检测,比较三者结果的差异。检测过程严格按试剂说明书进行,阳性及阴性对照和室内质控值均在允许范围内时,判定实验结果有效。血液检验时 ELISA 检测报告为正式报告。