

• 检验仪器与试剂评价 •

Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪计数网织红细胞与手工法结果的比对分析

吴小梅¹, 张秋萍²

(1. 湖南省长沙市中心医院检验科 410004; 2. 广东省深圳市罗湖区妇幼保健院 518019)

摘要:目的 比对 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪网织红细胞(RET)计数的结果与手工法结果。方法 同一标本同时用 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪与传统的显微镜手工法进行 RET 计数, 对结果进行比较分析。结果 2 种方法的结果无统计学差异, 正常值、高值还是低值 RET 计数结果的变异系数均在允许范围内。结论 用 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪计数 RET 准确性好, 精密度高, 标准化程度高, 为临床医师申请仪器法进行 RET 计数提供有力的证据。

关键词: 血细胞分析仪; 网状细胞计数; 显微镜检查**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.046**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2012)16-2013-03

显微镜手工计数法目前仍然是国内外网织红细胞(RET)计数的经典方法, 其操作简便, 试剂成本低廉, 镜下细胞形态直观, 因而仍然被广泛应用, 但显微镜计数法因个体差异难以标准化, 其技术精密度, 批内重复性相差较大, 变异系数(CV)可高达 20%, 结果准确性也容易受到计数细胞少、血涂片的厚薄、核糖核酸(RNA)染色效果及染色温度、时间等的影响^[1]。随着全自动血细胞分析仪的发展, RET 计数也实现了高程度的自动化检测, 而且检测速度快, 不受人为因素影响, 易于标准化, 为 RET 计数提供了更先进的检测手段和更多的相关检测系数。本院在 2010 年底引进了 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪, XE-5000 是 Sysmex 公司 X 系列全自动血细胞分析仪中最新和最高端的产品, 目前国内还没有关于评价 Sysmex XE-5000 计数 RET 性能方面的相关文献, 而且仪器终究在鉴别血细胞形态和结构方面还不够完善, 不能过分依赖于自动化分析仪而忽略了手工血涂片检查, 否则将导致临幊上相当一部分的误报、误诊,会在一定程度上影响疾病治疗方案,因此迫切需要将仪器法和手工法结果进行系统比较分析。本组通过与传统的煌焦油蓝活体染色手工计数法结果的对比,得出了 Sysmex XE-5000 计数 RET 结果的可信度,为临幊提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据血红蛋白(Hb)高、中、低值 3 个水平分为 Hb >120 g/L, Hb 90~120 g/L, Hb <90 g/L 3 组。所有标本均来自于本院 2011 年 2~4 月份门诊、住院患者和健康体检者, 随机选取 Hb 高、中、低值 3 个水平各 100 例标本, 共 300 例标本用于可比性试验。标本均为空腹静脉血, 取血后迅速放入含 EDTA-K₂ 的干燥真空抗凝管中, 混匀后当天完成检测。

1.2 仪器与试剂 日本 Sysmex 公司生产的 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪及其原装配套试剂、全血质控物及校准

物;10% 煌焦油蓝试剂,按《全国临幊检验操作规程第 3 版》配制^[2]; Olympus 显微镜。

1.3 方法 (1) 仪器法: 严格按照仪器操作规程, 每天均随机进行室内质控, 标本均使用 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪的自动进样模式进行检测。(2) 手工法: 参照卫生部《全国临幊检验操作规程》, 对仪器法计数后剩余标本进行煌焦油蓝活体染色。用同一份标本取少量血与等量的煌焦油蓝试剂于试管内混匀, 于室温染色 20 min 后制片, 每份标本油镜下计数 1 000 个红细胞(RBC)内的 RET 百分数, 取均值。标本观察时于显微镜下选取细胞分布均匀、残渣少、RET 染色较好的区域, 无核 RBC 胞浆内含 2 粒以上 RNA 着色颗粒者计为阳性^[3]。

1.4 质量控制 按照仪器操作规程, 用配套校准品作仪器校正; 当日用配套的全血质控物(低、中、高)进行室内质控, 各参数结果均在其靶值允许的范围内。

1.5 统计学处理 数据使用 SPSS 17.0 软件处理, 采用配对 t 检验和相关性分析, 显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 重复性试验 取 RET 高、中、低值标本 3 份, 2 种方法分别处理分析 10 次, 求得均值(\bar{x})、标准差(s)、CV 结果见表 1。数据表明, 仪器法的重复性好, 精确度高于人工显微镜目测法。

表 1 高、中、低值 2 种方法网织红细胞计数结果

组别	仪器法		手工法	
	$\bar{x} \pm s (\times 10^9 / L)$	CV(%)	$\bar{x} \pm s (\times 10^9 / L)$	CV(%)
高值	4.53 ± 0.08	1.77	5.27 ± 0.45	8.54
中值	1.84 ± 0.06	3.26	2.24 ± 0.38	16.96
低值	1.29 ± 0.03	2.32	1.43 ± 0.26	18.18

表 2 300 例标本两种方法 RET 计数结果的比较

方法	n	最小值($\times 10^9 / L$)	最大值($\times 10^9 / L$)	$\bar{x} \pm s (\times 10^9 / L)$	r	t	P	偏差(%) [*]
仪器法	300	0.32	11.29	2.25 ± 1.92	0.957	-1.981	0.048	3.38
手工法	300	0.20	17.40	2.32 ± 2.20				
仪器法(Hb < 90 g/L)	100	0.50	11.29	3.83 ± 2.54	0.948	-1.858	0.066	4.97

续表 2 300 例标本 2 种方法网织红细胞计数结果的比较

方法	n	最小值($\times 10^9/L$)	最大值($\times 10^9/L$)	$\bar{x} \pm s(\times 10^9/L)$	r	t	P	偏差*
手工法(Hb<90 g/L)	100	0.70	17.40	4.02±3.03				
仪器法(Hb 90~120 g/L)	100	0.34	3.67	1.64±0.74	0.867	-0.793	0.430	1.97
手工法(Hb 90~120 g/L)	100	0.40	4.50	1.67±0.81				
仪器法(Hb>120 g/L)	100	0.32	3.56	1.28±0.57	0.855	-0.177	0.860	0.44
手工法(Hb>120 g/L)	100	0.20	4.20	1.29±0.60				

* : 偏差=(仪器法-手工法)/手工法×100%。

2.2 对照试验 对 300 例标本用 2 种方法计数结果进行比较(见表 2)。以上数据表明,两种方法计数 RET 相关性好($r=0.957$),总体上差异有统计学意义($P=0.048<0.05$),分组比较则无统计学意义(3 个组别 P 值均大于 0.05)。

3 讨 论

RET 是尚未完全成熟的 RBC,其胞浆内尚存在有嗜碱性的 RNA 物质,经煌焦油蓝或新亚甲蓝活体染色后呈浅蓝或深蓝色的网状结构^[2]。RET 计数是对各种贫血诊断,鉴别诊断和治疗效果评价的一个最常用的手段。目前国内医院 RET 计数普遍采用显微镜手工法,而且采用 EDTA-K₂ 抗凝血,先作血细胞分析,再用剩余血作 RET 检查,有资料报道室温下抗凝血随着放置时间的延长,RET 计数结果逐渐降低^[4]。对于仪器系统,温度和染色时间相对恒定,避免了人为因素的影响,而且也消除了抗凝剂的影响^[5]。本院于 2010 年底引进了 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪,开展了 RET 的全自动计数。两种不同的方法对同一标本的检测结果是否存在差异,尤其是 RET 明显增高的贫血患者,检测结果是否在允许误差范围内,通过比对分析,本文表 2 显示,两种方法计数 RET 相关性好($r=0.957$),但差异有统计学意义($P<0.05$),仪器法高于手工法 3.38%,而且偏差随 RET 数量的增加而增加。

大量的实验数据说明,手工镜检法操作费时,主观因素影响大,其重复性较差,准确性也容易受染色时间与温度^[6-7]等多种因素的影响,温度过高或过低都会影响 RET 的着色,从而导致计数结果精密度较差,CV 值较大。而且,在实验过程中还能发现个别标本染色涂片检查时细胞表面有染料残渣颗粒沉积现象,影响了计数结果。但手工镜检法能直接观察细胞形态,且不需要昂贵的仪器、设备和试剂等。Sysmex XE-5000 全自血细胞分析仪应用了“高精度专用检测通道+半导体激光器+射频/电阻抗检测+核酸染色”联合检测技术^[8],测定聚次甲基荧光染料与 RET 内存在的 RNA 结合的侧向荧光信号和前向散射光信号,分别反映 RET 的 RNA 含量和体积大小,不但能客观地计数 RET 的数量而且还能将其分为高荧光强度(HFR)、中荧光强度(MFR)、低荧光强度(LFR)三类,并可计算未成熟 RET 比率和 RET 成熟度指数,以上新的参数可敏感、准确地反映 RBC 生成状况,对各种贫血的诊断、疗效评价及预后判断起着重要的作用,同时对估计肿瘤放疗、化疗后骨髓造血功能的恢复及器官移植效果的评价有较重大的意义^[9]。Sysmex XE-5000 通过分析悬浮液中的细胞可避免由于细胞在血涂片中分布不均匀所致的误差,其检测结果重复性明显好于手工镜检法。自动测定标准的客观性和统一性代替了试验者主观性和可变性,因而结果更加可靠。而且,通过血细胞分析仪进行网织红计数时更方便质量控制。

但在本实验进行过程中发现 3 例异常标本(异常标本的数据未纳入对照试验中)。例 1:患者女性,37 岁,溶血性贫血,

Coomb's 试验阳性,目测法结果为 43.0%,而仪器对标本取样后,规定时间内未能显示出结果,并出现 Error 的提示。重复两次结果相同,仪器均未能显示出具体的数据。例 2:患者男性 25 岁,中度贫血,目测法结果为 45.0%,仪器运行过程同例 1。例 3:患者女性,门诊患者,具体情况不详,目测法结果为 19.0%,而仪器显示结果为 34.86%,结果带 * 号。随后两种方法重复两次,结果均差异较大,仪器结果均带 * 号,提示结果不可信。

分析的可能原因是,例 1、例 2 标本 RET 数超过了仪器的线性范围,考虑是由于 RET 数量大、密度高,RNA 物质多,使得仪器在规定时间内染料与被染物质未能充分接触并着色便开始计数,造成结果显示错误。例 3 可能是仪器内部的原因使大血小板或有核 RBC 被计入 RET,使结果出现较大的误差。

综上所述,Sysmex XE-5000 计数 RET 染色时间短,结果判定不受主观因素的影响,可敏感、准确地反映 RBC 的生成状况,具有快速(从进样到出结果仅需 1 分钟)、准确、重复性好、精密度高、干扰少、线性好等优点,与手工法有较好的相关性,是测定 RET 的良好方法,特别适用于临幊上大批量标本的检测。而且,Sysmex XE-5000 计数网织红细胞提供 RET 相关检测参数多,可为临幊更好地提供相关疾病诊断及治疗转归信息,其在临幊上普及将是一个必然的趋势。但一部先进的仪器的正常运转,还需要准确的仪器校正、良好的质控物以,随时检测仪器的状态,而且在全自动分析过程中还存在一些干扰因素(如有核 RBC、疟原虫等)造成的干扰,有干扰时应结合其他散点图共同分析。同时,建议仪器操作人员对超出仪器线性范围的标本,或机器出现异常结果提示的标本均采用手工法进行复查^[10]。为了更好地服务临幊,全自动分析仪应与手工显微镜目测法相互结合使用,取长补短,使实验结果更加准确、科学。

参考文献

- [1] 罗春丽. 临幊检验基础 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 34.
- [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临幊检验操作规程 [M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 130-131.
- [3] 陈宝梁. 国际血液学标准委员会推荐的网织红细胞活体染色显微镜计数法 [J]. 中华医学检验杂志, 1993, 16(4): 196-198.
- [4] 王琳, 滕佩红. EDTA-K₂ 抗凝血对网织红细胞染色的影响 [J]. 临幊军医杂志, 2003, 31(2): 119-120.
- [5] 钟静英, 陆玉霞, 羽晓瑜. 抗凝剂对网织红细胞检测的影响 [J]. 中国医药导报, 2009, 6(19): 121-122.
- [6] 王永明, 王兆宁, 王佳, 等. 温度和时间对网织红细胞的影响 [J]. 临幊检验杂志, 1997, 19(6): 371.
- [7] 扑文娟. 时间温度对网织红计数的影响分析 [J]. 青海医药杂志, 2008, 38(10): 56-57.
- [8] Novis DA, Walsh M, Wilkinson D, et al. Laboratory productivity

and the rate of manual peripheral blood smear review; a College of American Pathologists Q-Probes study of 95,141 complete blood count determinations performed in 263 institutions [J]. Arch Pathol Lab Med, 2006, 130(5): 596-601.

[9] Bock A, Herkner KR. Reticulocyte maturity pattern analysis as a predictive marker of erythropoiesis in paediatrics [J]. Clin Lab

Haemat, 1994, 16(3): 343-348.

[10] 赵燕田. 仪器法与目测法网织红细胞计数的比较[J]. 现代检验医学杂志, 2005, 20(5): 38.

(收稿日期: 2011-12-13)

• 检验仪器与试剂评价 •

氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管在血糖中的应用评价

邝桂星¹, 刘伟旗¹, 赖韶钦¹, 刘伟玲², 魏国梁¹

(1. 广州市番禺区南村医院检验科, 广东广州 511440; 2. 广州中医药大学祈福医院, 广东广州 511492)

摘要: 目的 探讨氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管对保存标本血糖检测的稳定性。方法 同一体检者分别抽取氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管静脉血各 1 支, 连续测定即时及 24、48、72、96、120、144 h 血糖浓度, 观察两种采血管保存标本不同时间段血糖浓度的变化。结果 检测即时及 24、48、72、96、120、144 h 氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管中血糖浓度, 两种采血管之间结果差异无统计学意义($P > 0.05$); 同时分别对两种采血管即时与 144 h 血糖浓度进行比较, 结果显示两者差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 以氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管保存的血液标本血糖浓度具有较好的稳定性。

关键词: 氟化钠; 分离胶; 血糖

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.047

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2012)16-2015-02

血糖检测在工作中越来越受到临床医生的重视,但在实际操作过程中,不管是住院患者、门诊患者或是体检者,血糖离体后如果没有及时送检,血细胞仍会进行糖酵解而引起血糖偏低,尤其是新生儿和白血病患者下降速度更快,从而不能准确反映受检者的情况。本文对健康体检者分别以氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管采集静脉血,连续测定即时及 24、48、72、96、120、144 h 的血糖浓度,了解其保存标本血糖浓度的稳定性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 健康体检者 75 例,其中男 29 例,女 46 例;年龄为 19~48 岁,平均年龄 31 岁;每人分别抽取氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管各 1 支。标本采集后室温 3 000 r/min 离心 10 min,1 h 内完成即时血糖测定,检测完成后原管保留标本置 4 ℃冰箱保存。

1.2 采血管来源 氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管由广州阳普医疗有限公司提供,批号分别为 110707 与 120216,有效

期 2 年。氟化钠抗凝管由氟化钠与 EDTA-K₂ 组成,浓度分别为 3.5% 与 3%;分离胶真空采血管内含促凝剂。

1.3 仪器与试剂 测定仪器为日立 7180,采用已糖激酶法测定,试剂由上海丰汇医学科技有限公司提供,批号为 110667;质控品由美国伯乐公司提供,水平 1 批号为 14191,水平 2 批号为 14192。

1.4 统计学处理 检测数据用 SPSS 17.0 统计软件进行 *t* 检验,同时对即时与 144 h 的血糖浓度进行比较,显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 不同时间段血糖检测结果 连续检测即时及 24、48、72、96、120、144 h 氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管中血糖结果见表 1,配对 *t* 检验显示 2 种采血管之间结果差异无统计学意义($P > 0.05$);同时分别对 2 种采血管即时血糖结果与 144 h 结果进行 *t* 检验分析(见表 2),结果显示二者差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 不同时间段血糖检测结果(mmol/L)

项目	即时	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h
氟化钠抗凝管(mmol/L)	5.30±0.86	5.21±1.04	5.38±0.86	5.29±0.92	5.22±0.90	5.46±0.94	5.32±0.95
分离胶真空采血管(mmol/L)	5.34±0.89	5.22±0.89	5.42±0.85	5.32±0.84	5.24±0.82	5.47±0.96	5.36±0.89
<i>t</i>	1.349	0.229	1.298	1.894	1.472	0.597	1.428
<i>P</i> *	0.181	0.819	0.198	0.062	0.145	0.552	0.157

表 2 2 种采血管即时与 144 h 检测血糖浓度结果比较(mmol/L)

采血管	即时(mmol/L)	144 h(mmol/L)	<i>t</i>	<i>P</i>
氟化钠抗凝管	5.30±0.86	5.32±0.95	0.523	0.603
分离胶真空采血管	5.34±0.89	5.36±0.88	1.794	0.077

2.2 2 种采血管血糖测定的稳定性 用氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管检测后原管保留标本,密封置 4 ℃冰箱保存,在 144 h 内血糖的结果并没有随时间延长出现明显变化,见图 1。

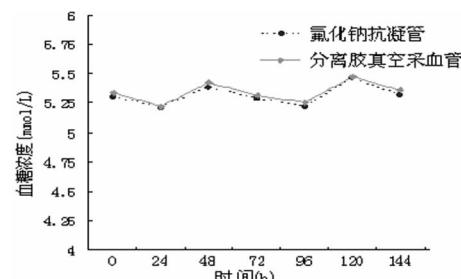


图 1 血糖浓度随标本保存时间的变化曲线