

• 检验技术与方法 •

血细胞分析仪与手工法 RET 计数结果比对及其临床意义

李 琳, 张 磊, 李 伟

(兰州大学第一医院检验中心, 甘肃兰州 730000)

摘 要:目的 对 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪计数网织红细胞(RET)与手工显微镜法结果对比,并浅析 RET 参数的临床价值。**方法** 用 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪与传统手工法同时检测 RET 计数,且对两种检测方法的结果进行比对分析,并对仪器测定 RET 的各项参数的临床意义进行分析。**结果** 两种方法的结果对比无显著性差异,且相关性良好;健康组与贫血组 RET 各项参数比较,贫血组中除低荧光强度 RET(LFR)指标低于健康组外,其他各项参数结果均明显高于健康组。**结论** Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪检测 RET 操作简便,检测速度快,准确性好,精密度高,其检测参数可以用于临床贫血性疾病的诊断。

关键词:RET; 血液分析法; 显微镜镜检法; 临床意义

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.047

文献标识码:A

7 文章编号:1673-4130(2014)14-1928-03

Comparison of reticulocyte count results detected by blood cell analyzer and manual method and its clinical significance

Li Lin, Zhang Lei, Li Wei

(Clinical Laboratory Center, First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China)

Abstract: Objective To compare the results of reticulocyte(RET) count detected by the Sysmex XE-5000 automatic blood cell analyzer and the manual microscopy method and to simply analyze the clinical value of RET parameters. **Methods** The RET count was simultaneously detected by the Sysmex XE-5000 automatic blood cell analyzer and the traditional manual method. The detection results were compared between the two methods and the clinical significance of RET parameters detected by the instrument was analyzed. **Results** The detection results had no statistically significant difference between the two methods and their correlation was good; the index of low fluorescent reticulocyte(LFR) in the anemia group was lower than that in the health group, but other parameters were significantly higher than those in the health group. **Conclusion** The Sysmex XE-5000 automatic blood cell analyzer for detecting RET is easy to operate and fast in the detection speed with good accuracy and high precision, its detected parameters can be used for diagnosing clinical anemia diseases.

Key words: Reticulocyte; blood analyzer method; method under microscope; clinical significance

近年来,随着医院检验科标本量的不断增加,一些传统的检测手段,已经远远不能满足临床快速诊疗的需求。在众多血液样本分析产品中,XE-5000 是 Sysmex 公司 X 系列全自动血液分析仪中的高端产品,其每小时可测定 150 份标本,且可以自动测定网织红细胞(RET),并通过核酸染色得到的荧光信号强度,可将 RET 分为低荧光强度 RET(low fluorescent reticulocyte, LFR),中荧光强度 RET(middle fluorescent reticulocyte, MFR),高荧光强度 RET(high fluorescent reticulocyte, HFR)三部分,并且可以报告 RET 绝对值(RET#),RET 百分比(RET%),未成熟 RET 指数(Immature reticulocyte fraction, IRF%)等。RET 是反映骨髓造血功能的重要指标,对贫血疾病的诊断,疗效观察和预后具有重要的临床价值^[1]。本文用 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪与传统显微镜手工法同时检测 RET,选出健康成人与贫血患者 RET 参数,并对两种方法的检测结果进行比对分析^[2-3],现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 125 例标本来源于我院住院患者及健康体检者,其中男性 75 例,女性 50 例,年龄均在 18~65 周岁。其中健康对照组 45 例,男 27 例,女 18 例,体检正常,无血液疾病,

无出血性疾病,近期无服药史、出血史和献血史。患者组 80 例,男 48 例,女 32 例,其中按贫血诊断标准和依据^[4]筛选如下:男性 Hb(血红蛋白)<120g/L, RBC(红细胞)< 4.0×10^{12} , HCT(血细胞比容)<0.37, 女性 Hb<110 g/L, RBC< 3.5×10^{12} , HCT<0.35。

1.2 仪器与试剂 日本 Sysmex 生产的 XE-5000 全自动血细胞分析仪及其配套试剂;OLYMPUS-31 显微镜;珠海贝索生物技术有限公司生产的 RET 染色液。

1.3 方法 (1)仪器法:采集静脉血 2mL 于 EDTA-K2 抗凝管内混匀,用 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪的自动加样模式进行检测。(2)手工法:依据文献^[5]对仪器法计数剩余的标本进行煌焦油蓝活体染色,同一份标本取少量与等量 RET 染色液于试剂试管中混匀,室温染色 20 min 制片,由两名经验丰富的检验人员于油镜下计数 1000 个红细胞内的 RET 数并求百分数取均值,全部试验在 2 h 内完成。

1.4 质量控制 Sysmex 公司配套的全血质控物,(低中高)做室内质控,各项检测参数结果均在允许范围内。

1.5 统计学处理 数据使用 IBM SPSS Statistics 21 软件处理,采用配对 *t* 检验和相关性分析。

2 结 果

2.1 RET 检测方法比较 表 1 中数据表明,RET 手工法与仪器法比较,差异无统计学意义($P>0.05$), $r=0.931$,相关性良好,分

组比较中值和低值,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。
2.2 RET 参数比较 表 2 中数据表明,贫血组除 LRF%外,其余 RET 各参数均高于健康组,见表 2。

表 1 两种 RET 检测方法计数结果比较

组别	<i>n</i>	最小值	最大值	$\bar{x}\pm s$	<i>r</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	偏差 *
手工法	125	0.0	19.0	2.33±2.74				
仪器法	125	0.1	16.3	2.58±3.25	0.931	1.696	0.095	-9.6
手工法<0.5	24	0.0	0.4	0.27±0.13				
仪器法对照	24	0.1	0.8	0.41±0.20	0.741	-4.995	<0.01	-34.1
手工法 0.5~1.5	40	0.5	6.0	0.88±0.23				
仪器法对照	40	0.7	1.9	1.19±0.36	0.531	-6.475	<0.01	-26.0
手工法>1.5	61	1.6	19.0	4.10±3.49				
仪器法对照	61	1.0	16.3	3.69±2.90	0.912	2.054	0.054	10.0

* :偏差=人工法 \bar{x} -仪器法 \bar{x} /仪器法 $\bar{x}\times 100\%$ 。

表 2 健康成人组与贫血患者组 RET 参数比较

组别	<i>n</i>	RET #	RET%	LRF%	MRF%	HRF%	IRF%
健康组	45	48.9±17.5	1.03±0.4	95.8±2.95	3.76±2.68	0.08±0.21	3.77±2.89
贫血组	80	84.4±9.8	2.76±2.7	88.2±8.05	9.49±5.12	2.13±3.59	11.40±7.69

3 讨 论

RET 是有核红细胞刚刚失去核的阶段,属于未完全成熟的红细胞,胞浆内尚残留 RNA,嗜碱性,经煌焦油蓝活体染色后,在包体内可见蓝色点状或网状结构,RET 是判断骨髓红系造血情况和疗效观察的重要指标^[6]。
显微镜手工计数法目前仍然是国内外 RET 计数的经典、常用方法,其试剂成本低廉,操作简便,目前仍然被广泛使用,但人工计数法因个体差异难以标准化,其精密度、重复性相差较大,变异系数(cv)可高达 20%,结果准确性容易受到计数细胞数量,血涂片的厚薄,染色温度、时间等的影响^[7],而相对全自动血细胞分析系统,温度和染色时间相对恒定,避免了人为因素的干扰,而且消除了抗凝剂的影响^[8]。表 1 显示两种方法计数 RET 无显著性差异($P>0.05$),且相关性好($r=0.931$),总体分析仪器法测定结果高于手工法,原因可能是计数区域误差,染色深浅判断 RET 误差,染色液与血液的比例不恰当等因素造成。RET 内的网织物质随细胞成熟程度增加而减少,接近完全成熟的 RET 中,只有极少量的点状或细丝物质,如不仔细辨认,往往易被忽略,这也是造成手工法结果偏低的原因之一,但是偏差却随 RET 数的减少而明显增加。从实验结果来看,两种方法比较无显著差异,而分组比较,在低值和中值测定结果中有显著性差异,而当 RET 增多时,两组无显著差异,相关性也好($r=0.912$),说明仪器法计数并不随 RET 数的增加而成比例增加。Sysmex XE-5000 对每份标本计数和分类细胞数可高达 10 000~30 000 多个,且通过分析悬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,其检测结果的重复性明显高于手工镜检法。
实验结果表 2 显示,在贫血组 RET 各项参数除 LRF%值低于健康成人组以外,其余各项参数均高于健康组,尤其是

MRF、HRF 和 IRF 的百分比明显增高。Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪应用了“高精密度专用检测通道+半导体激光器+射频/电阻抗检测+核酸染色”联合检测技术^[9],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,能客观的计数 RET 的数量,而且还能将其分为 LFR、MFR 和 HFR 三类,红细胞生成正常时 MFR 和 HFR 水平很低,在造血受刺激时,大量较为幼稚的 RET 从骨髓释放入外周血,使得 MFR 和 HFR 水平显著增高,因此 MFR 和 HFR 更能反映红细胞生成的开始^[10]。并可计算未成熟 RET 比率和 RET 成熟指数,准确的反映红细胞生成状况,对各种贫血的诊断,疗效评估及贫血的预后判断起着重要的作用。同时对估计肿瘤放疗后骨髓造血功能的恢复及器官移植效果的评价有着重大的意义^[11]。
综上所述,传统的 RET 检测具有参数单一、费时和重复性差,不能反映 RET 成熟程度等缺点,Sysmex 的 XE-5000 计数 RET 具有结果快速(检测结果不足一分钟)准确、重复性好、精密度高、线性好等优点^[12],同时操作简便,标本用量少,消除了人为误差,实验结果表明 Sysmex 的 XE-5000 计数 RET 与手工法有较好的相关性,是测定 RET 较好的方法之一。适用于临床大批量标本的检测,同时提供 RET 相关参数,这些参数及其分类有助于判断红细胞生成和成熟情况,对多种贫血诊断疗效的观察具有重要的临床意义,特别是 IRF、MFR、HFR 参数比 RET 更敏感,这些幼稚的 RET 参数的变化是反映骨髓造血功能的关键参数。但是任何一种检测方法都要与临床实际相结合,对于一些基层医院,仪器法检测 RET,相对仪器的要求较高,试剂昂贵,而手工法不需特殊仪器,试剂廉价。同时,我们要对仪器法检测有异常干扰以及超出仪器(下转第 1967 页)

布包装或特卫强纸塑包装袋^[4],正确放置低温灭菌包内指示卡。

2.2.3 金属类管腔器械内径大于或等于 1 mm,长度小于或等于 500 mm。非金属类管腔器械内径大于或等于 1 mm,长度小于或等于 2 000 mm,应盘绕放置,保持管腔通畅,器械盒必须用专用无纺布分两次包装,外用低温灭菌指示胶带封口,应注明名称、包装者、核查者、灭菌日期、失效期,灭菌批次。

2.3 注重灭菌过程监管

2.3.1 在灭菌舱内合理摆放待灭菌物品 器械盒内放置的物品不能交叉、重叠,只能平铺。专用纸塑包装袋包装的灭菌物品必须统一透明面朝下放置,不能重叠,装载物品不能接触灭菌舱壁或电极,装载量不能超过舱容积的 80%。

2.3.2 放置卡匣时必须经双人核查,准确知晓卡匣放置方向,正确放入卡匣输入口,杜绝人为操作不当而出现的运行故障。

2.3.3 观察显示器上各种运行参数是否正常 每次灭菌结束,打印机记录灭菌全过程:包括温度、压力、真空度、等离子所用时间,最后提示灭菌是否成功并保留打印结果。一旦灭菌过程出现异常,系统会自动报警并终止灭菌过程同时提示终止原因,自动记录前一次事件,为检修提供方便。

2.3.4 每个灭菌包外粘贴包外胶贴,包内放置化学指示卡,经低温灭菌后指示卡颜色由蓝色变为紫红色提示灭菌过程合格。

2.3.5 为确保灭菌质量,作者每天对灭菌第一锅进行生物监测,将一支生物指示剂(内含嗜热脂肪芽孢杆菌)纸塑包装放入灭菌舱下层最内侧消毒剂不易扩散到的地方,灭菌完毕,再取一支未经灭菌的生物指示剂作为阳性对照,放入 55~60 ℃ 的培养箱内,48 h 观察并记录结果,灭菌后的指示剂仍显示紫色表示灭菌合格。同时每个月对灭菌物品随机抽样送检,实验室细菌培养结果均无细菌生长。并将各种监测记录保留存档^[5]。

2.4 出现过氧化氢灼伤手指皮肤 4 例均在设备使用的前 2 个月内发生。对发生原因进行分析讨论,积极采取处理措施,开展现场职业防护操作培训,并在醒目位置张贴防灼伤的警示标识,提高员工的风险意识^[6]。

3 讨 论

过氧化氢低温等离子体灭菌器使用过程中出现灭菌循环取消,主要是操作人员没有按照器械处理流程和设备使用说明完成物品的清洗、包装和灭菌操作所引起。经过易路公司专业人员的培训指导,科室定期开展专业知识的学习,实行设备的专人管理和操作,对每次出现的问题,通过科室质量分析会开展讨论,积极制定整改措施,员工的质量意识及责任意识明显增强,大大降低了灭菌循环被取消的现象。

参考文献

[1] 朱爱群,赵录琳,魏萍. 过氧化氢低温等离子体灭菌技术全程质量控制[J]. 中国消毒学杂志,2012,29(5):456-457.
[2] 骆如香,陈云超,苏庆娇,等. 低温等离子灭菌器的故障与处理[J]. 中国消毒学杂志,2011,28(4):524-525.
[3] 陈贵秋,宋江南,李世康,等. 过氧化氢低温等离子灭菌器灭菌效果及其影响因素研究[J]. 中国消毒学杂志,2011,28(3):265-269.
[4] 丑利花,黄莉,林惠芳,等. 过氧化氢低温等离子灭菌器灭菌质量控制及持续质量改进的探讨[J]. 中外医学研究,2012,10(17):151-152.
[5] 刘玉红,许多朵,董薪,等. 低温等离子体灭菌方式在手术室的应用与管理[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(3):356-357.
[6] 沈蓉蓉,陈菊红,杨玲英,等. 风险管理在消毒供应中心的应用[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(10):2220-2221.

(收稿日期:2014-02-02)

(上接第 1930 页)

线性范围的标本,可以仪器法和手工法相结合,取长补短,使实验结果更准确。

参考文献

[1] Karagülle M, Gündüz E, Mutlu FS, et al. Clinical significance of reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency anemia[J]. Turk J Hematol, 2013, 30(2):153-156.
[2] Oustamanolakis P, Koutroubakis I E, Messaritakis I, et al. Measurement of reticulocyte and red blood cell indices in the evaluation of anemia in inflammatory bowel disease[J]. J Crohn Colitis, 2011, 5(4):295-300.
[3] 程阳升,张国英,郭一迪. Sysmex XT-2000i 全自动血液分析仪与手工法计数 RET 的相关性分析[J]. 中国误诊学杂志,2012,12(2):334-335.
[4] 武永吉. 血液系统疾病诊断与诊断评析[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2004:9.
[5] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 东南大学出版社,2006:11.
[6] 祝丙华,张金树,李安全. RET 检测进展及其临床应用[J]. 国际检

验医学杂志,2010,31(2):191-193.
[7] 罗春丽. 临床检验基础[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2007:34.
[8] 褚静英,羽晓瑜,陆玉霞,等. RET 镜检法与全自动法比较分析[J]. 检验医学,2010,25(011):841-843.
[9] 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.
[10] 丛玉隆,王淑娟. 今日临床检验学[M]. 北京:中国科学技术出版社,1997:15.
[11] Bock A, Herkner KR. Reticulocyte maturity pattern analysis as a predictive marker of erythropoiesis in paediatrics. Part II: pilot study for clinical application[J]. Clin Lab Haematol, 1994, 16(4):343-348.
[12] 许慧,谭雅玲. Sysmex XT-2000i 全自动血液分析仪与手工法计数 RET 的比较[J]. 实验与检验医学,2010,28(1):86-86.

(收稿日期:2014-01-28)