

· 临床研究 ·

应用 CLSI EP9-A2 文件对不同血细胞分析仪进行比对

张 磊,任晓艳,何 超,李 琳,李燕平[△]

(兰州大学第一医院检验科 730000)

摘要:目的 通过对不同血细胞分析仪检测结果的方法学比对,探讨不同检测系统各参数测定结果间的可比性。方法 参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)的 EP9-A2 文件,以 SYSMEX XE-2100 血细胞分析仪为参比仪器,2 台迈瑞 BC-5380 仪器为待评仪器,用临床新鲜抗凝全血对白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、血小板计数(PLT)进行检测,计算相关系数(r)和回归方程,以及各项目在不同医学决定水平(X_c)处的偏差,以 1/2CLIA'88 相对允许误差($TEa\%$)作为标准判断偏差是否可接受。结果 2 台 BC-5380 分别与 XE-2100 仪器间测定结果的相关系数 $r > 0.975$ 。在不同的 X_c 处,其中 WBC 为 $2.0 \times 10^9/L$ 和 $4.0 \times 10^9/L$; RBC 为 $3.5 \times 10^{12}/L$ 、 $5.5 \times 10^{12}/L$ 、 $6.0 \times 10^{12}/L$; Hb 为 160 g/L,偏差均大于 1/2CLIA'88 $TEa\%$; 但 these 项目 1/2CLIA'88 绝对允许误差(TEa)均落在偏差的 95% 可信区间内,说明是由抽样误差所引起,表明待评方法的偏差可接受;其余项目偏差均可接受。结论 2 台迈瑞 BC-5380 血细胞分析仪分别与 XE-2100 在 WBC、RBC、Hb、PLT 等 4 个项目的检测结果具有可比性。

关键词:血细胞分析仪; 比对试验; EP9-A2 文件

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)14-1988-03

目前,随着检验医学的不断发展,血细胞分析仪已经成为临床实验室最常用的分析仪器之一。同一实验室拥有多种品牌、不同型号、不同分析原理的血细胞分析仪已非常普遍,而不同仪器对同一标本检测项目的测定结果不可避免地存在系统误差,以致对临床的诊疗工作造成影响^[1]。《医疗机构临床实验室管理办法》要求对实验室内不同的检测系统进行定期比对,以保证检测结果的一致性^[2]。本文参照 2002 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)批准的 EP9-A2 文件要求^[3],对本实验室 3 台血细胞分析仪进行了比对分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用真空采血管采集临床患者新鲜全血标本 2 mL,以 EDTA-K₂ 抗凝。按照 CLSI EP9-A2 文件提供的推荐测定范围,选择标本(高、中、低值),分析物浓度尽可能在报告的浓度范围内均匀分布,所有标本从采集到检测完成时间均在 2 h 内。

1.2 仪器与试剂 日本 SYSMEX XE-2100 1 台(用 X 表示)、深圳 MINDRAY BC-5380 2 台(分别编号为 BC-5380-1、BC-5380-2,用 Y1、Y2 表示)。各台血细胞分析仪所用试剂、校准物和质控品均为原装配套。

1.3 方法

1.3.1 比对项目 白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、血小板计数(PLT)。

1.3.2 确定参比仪器 按照 CLSI EP9-A2 文件,选取 XE-2100 血细胞分析仪为参比仪器,该仪器使用配套试剂,定期用原装配套校准物进行校准;每个工作日用配套低、中、高 3 个浓度的全血质控物进行室内质量控制,结果良好;定期参加卫生部和本省临检中心的室间质量评价结果优秀。

1.3.3 试验条件 依据相关文件要求,参与比对的 3 台仪器至少每半年进行 1 次校准^[4],各仪器均按使用说明书定期维护、保养。每天开机后进行空白允许值及各自质控检测,并保证均在控。

1.3.4 试验方法 每天选取 8 份样本,同时用各仪器按常规样本检测方法测定其各项参数,每份样本测 2 次,其测定顺序为 1~8、8~1。连续测定 5 d,共 40 份样本,记录测定结果。

各仪器的检测模式均为全血模式。

1.4 统计学处理

1.4.1 离群值 依据 CLSI EP9-A2 规定,进行方法内、方法间离群值检查,以 4 倍的绝对差值均值($4 \overline{DX}$)和 4 倍相对差值均值($4 \overline{DX}^{\%}$)作为控制限,若没有 2 份差值超出控制限,则判断无离群值。若有 1 个离群值则删除该值,用剩余值再做 1 组数据;若离群值多于 1 个,则需扩大调查范围查找原因。

1.4.2 样本浓度(X 值)合适范围 取 2 次测定的平均值,对不同检测系统进行相关性分析,计算相关系数(r)。EP9-A2 文件要求 $r \geq 0.975$ 时,则认为 X 分布范围合适,直线回归统计的斜率和截距可靠; $r < 0.975$ 时,则必须分析更多的样品以扩大数据浓度分布范围,再重新分析全部数据。

1.4.3 线性回归 计算斜率 b、截距 a 及线性回归方程 $Y = bX + a$ 。

1.4.4 方法间相对偏差 根据临床使用要求,将各项目给定的医学决定水平(X_c)代入回归方程,计算 Y 与 X 之间预期偏差(B_c), $B_c = |Y - X_c|$,相对偏差($B_c\%$)= $(B_c/X_c) \times 100\%$ 。以 $B_c\% \leq 1/2 CLIA'88$ 相对允许总误差($TEa\%$)作为判断标准。

1.4.5 方法间绝对偏差 按该文件所给公式计算 B_c 的 95% 可信区间(95%CI),即在 X_c 处的绝对偏差, $E_a = 1/2 TEa$,绝对允许误差 $TEa = TEa\% \times X_c$,以 1/2 CLIA'88 绝对允许 TEa 作为判断标准。

1.4.6 临床可接受性能判断 $B_c\% \leq 1/2 TEa\%$,表明待评方法的检测结果与参比方法一致;反之,则不具可比性。 $1/2 TEa$ (可接受误差, E_a)落在 B_c 的 95%CI 内,表明待评方法的偏差可接受; E_a 大于 B_c 的 95%CI 上限,表明预期偏差很可能($> 97.5\%$)小于 E_a ,说明待评方法的性能等同于参比方法; E_a 小于 B_c 的 95%CI 下限,表明预期偏差很可能($> 97.5\%$)大于 E_a ,说明待评方法的性能和参比方法不相等。

2 结 果

2.1 离群值 各仪器 4 个项目在 2 次重复测定方法内、方法间均无离群值,提示仪器有较好的精密性,见表 1、2,其中 $4 \overline{DX}$ 表示 4 倍 X 绝对差值均值; $4 \overline{DX}^{\%}$:4 倍 X 相对差值均值;4

[△] 通讯作者,E-mail:liyanping814@sina.com。

$\overline{DY1}$: 4 倍 Y_1 绝对差值均值; $\overline{DY1'}$: 4 倍 Y_1 相对差值均值; $4\overline{DY2}$: 4 倍 Y_2 绝对差值均值; $4\overline{DY2'}$: 4 倍 Y_2 相对差值均值。

表 1 各项目方法内测定结果的离群值筛查对照表

项目	$4\overline{DX}$	$4\overline{DX'}$	$4\overline{DY1}$	$4\overline{DY1'}$	$4\overline{DY2}$	$4\overline{DY2'}$
WBC	0.818	0.119	0.944	0.103	1.249	0.150
RBC	0.124	0.030	0.285	0.072	0.431	0.100
Hb	2.500	0.020	6.800	0.051	8.400	0.065
PLT	23.300	0.133	27.800	0.225	28.400	0.142

表 2 各项目方法间测定结果的离群值筛查对照表

项目	$4\overline{E1}$	$4\overline{E1'}$	$4\overline{E2}$	$4\overline{E2'}$
WBC	2.206	0.269	1.440	0.188
RBC	0.323	0.075	0.827	0.183
Hb	8.950	0.065	18.850	0.139
PLT	57.700	0.312	52.450	0.297

2.2 仪器的相关性 所有项目参比方法与待评方法间相关系数(r)均大于 0.975, 表明 X 的分布范围合适, 数据满足要求, 直线回归统计的斜率 b 和截距 a 可靠, 见表 3、4。

表 3 BC-5380-1 各项目相关系数及直线回归方程

项目	r	r^2	a	b	$Y_1 = bX + a$
WBC	0.998	0.996	0.248	1.025	$Y_1 = 1.025X + 0.248$
RBC	0.998	0.995	-0.140	1.035	$Y_1 = 1.035X - 0.140$
Hb	0.999	0.998	0.410	1.011	$Y_1 = 1.011X + 0.410$
PLT	0.995	0.991	3.520	0.934	$Y_1 = 0.934X + 3.520$

表 4 BC-5380-2 各项目相关系数及直线回归方程

项目	r	r^2	a	b	$Y_2 = bX + a$
WBC	0.998	0.997	0.302	0.985	$Y_2 = 0.985X + 0.302$
RBC	0.994	0.987	-0.182	1.089	$Y_2 = 1.089X - 0.182$
Hb	0.998	0.996	-1.475	1.046	$Y_2 = 1.046X - 1.475$
PLT	0.998	0.995	3.842	1.031	$Y_2 = 1.031X + 3.842$

2.3 可接受性评估 结果见表 5~7。

表 5 不同仪器的临床可接受性能评价

项目	1/2 CLIA'88	医学决定水平 X_c	BC-5380-1			BC-5380-2			
			Y	B_c	$B_c\%$	Y	B_c	$B_c\%$	
WBC	7.5	2	2.298	0.298	14.9*	2.277	0.277	13.6*	
			4	4.348	0.348	8.7*	4.247	0.247	6.05
			10	10.498	0.498	5.0	10.157	0.157	1.52
RBC	3.0	3.5	3.48	0.02	0.5	3.63	0.13	3.7*	
			5.5	5.55	0.05	1.0	5.81	0.31	5.6*
			6	6.07	0.07	1.2	6.35	0.35	5.9*
Hb	3.5	80	81.29	1.29	1.6	82.21	2.21	2.8	
			120	121.70	1.70	1.4	124.00	4.00	3.4
			160	162.20	2.20	1.4	165.90	5.90	3.7*
PLT	12.5	50	50.22	0.22	0.4	55.39	5.39	10.8	
			100	96.92	3.08	3.1	106.90	6.90	6.9
			300	283.70	16.30	5.4	313.10	13.10	4.4

注: * 表示临床不可接受。

表 6 BC-5380-1 的临床可接受性能评价

项目	$TEa\%$	X_c	TEa	$B_c\ 95\%CI$		Ea	能否接受
				下限	上限		
WBC	15	2	0.3	0.15	0.45	0.15	能
			4	0.22	0.48	0.30	能

表 7 BC-5380-2 的临床可接受性能评价

项目	$TEa\%$	X_c	TEa	$B_c\ 95\%CI$		Ea	能否接受
				下限	上限		
WBC	15	2	0.30	0.145	0.409	0.150	能
RBC	6	3.5	0.21	-0.065	0.325	0.105	能
			5.5	0.066	0.554	0.165	能
			6.0	0.047	0.653	0.180	能
Hb	7	160	11.2	5.230	6.57	5.600	能

3 讨论

血细胞分析仪具有操作简单、结果准确、精密度高、性能稳定及报告结果快捷等特点, 已经逐渐取代传统手工方法, 成为临床实验室的重要检测手段。目前, 许多医院都有数台血细胞分析仪, 因此, 如何保证不同检测系统间测定结果的可比性成为实验室管理的热点问题^[5]。血细胞分析仪之间的比对研究已经不少^[6-8], 血细胞分析结果只有溯源至参考方法, 才能保证检测结果的准确性和不同仪器间的可比性^[9]。

本试验按照 CLSI EP9-A2 文件要求, 选择可溯源的 XE-2100 血细胞分析仪作为参比仪器, 对 3 台血细胞分析仪进行比对分析。研究结果表明, 各仪器间 WBC、RBC、Hb、PLT 等 4 个比对项目在 2 次重复测定方法内及方法间均无离群值, 提示仪器有良好的精密度; 且所有项目参比方法与待评方法间 r 均大于 0.975, 表明 X 的分布范围合适, 样本数据满足要求, 直线回归统计的斜率和截距均可靠; BC-5380-1 的 WBC, BC-5380-2 的 WBC、RBC、Hb 分别在各自不同医学决定水平处 $B_c\% > 1/2TEa\%$, 但这些项目 $1/2TEa$ 均落在 $B_c\ 95\%CI$ 内, 说明是抽样误差所造成, 表明待评方法的偏差可接受, 其余项目均 $B_c\% \leq 1/2TEa\%$ 。总之, XE-2100 分别与 BC-5380-1、BC-5380-2 血细胞分析仪之间具有可比性, 可以为临床提供准确可靠的报告, 满足临床要求。

综上所述, 比对试验是目前实现检验结果可比性的重要途径。定期对不同血细胞分析仪进行比对试验是保证各仪器间检测结果具有可比性的重要手段^[10]。《医疗机构内定量检验结果的可比性验证指南》^[11]和《临床血液学检验常规项目分析质量要求》^[12]中均要求每个检测系统在实施比对前应按照 CLSI EP9-A2 文件进行全面的性能评价或验证。通过对不同血细胞分析仪的比对分析, 可以对其进行校准、保养、维护及建立科室比对制度。用参比仪器监测其他仪器, 及时避免系统误差, 有效保证不同仪器间测定结果的可比性, 确保临床实验室为临床医师提供可靠稳定的检验数据。

参考文献

[1] Takubo T, Tatsumi N, Satoh N, et al. Evaluation of hematological values obtained with reference automated hematology analyzers of six manufacturers[J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2002, 33(Suppl 2): 62-67.

[2] 段满乐, 王治国. 现代临床实验室管理学[M]. 北京: 中国

科学技术出版社, 2005.

[3] CLSI. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. 2nd ed. Wayne PA: CLSI, 2002.

[4] 申子瑜. 我国临床实验室质量管理的基本要求[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(11): 700-701.

[5] 汪艳, 朱敏, 张静. 同型号全自动细胞分析仪的比对试验[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2): 166-167.

[6] 侯霞, 邓德耀, 李增安, 等. 新鲜全血在不同血细胞分析仪比对及倚倚评估中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(22): 3099-3101.

[7] 沈观樵, 金海勇, 童海江. 不同血细胞分析仪比对分析及偏差评估[J]. 现代实用医学, 2014, 26(11): 1448-1449.

[8] 吴志平, 唐吉斌, 王传发, 等. 医疗机构内不同血细胞分析仪的结果比对与溯源性评价[J]. 安徽医学, 2014, 35(6): 713-716.

[9] 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] England JM, Rowan RM, Van Assendelft OW, et al. Protocol for evaluation of automated blood cell counters. International Committee for Standardization in Haematology (ICSH)[J]. Clin Lab Haematol, 1984, 6(1): 69-84.

[11] 中华人民共和国卫生部. WS/T 407-2012 医疗机构内定量检验结果的可比性验证指南[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.

[12] 中华人民共和国卫生部. WS/T 406-2012 临床血液学检验常规项目分析质量要求[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.

(收稿日期: 2016-01-22 修回日期: 2016-04-13)

• 临床研究 •

血小板相关免疫球蛋白的检测在妊娠合并免疫性血小板减少性紫癜患者中的应用

田 笑, 李明亮

(中国人民解放军第二〇二医院, 沈阳 110000)

摘要:目的 探讨应用流式细胞术(FCM)检测血小板相关免疫球蛋白(PAIg)在妊娠合并免疫性血小板减少性紫癜(ITP)患者中的应用价值。方法 选取 100 例妊娠合并 ITP 的患者作为试验组, 同时选取 100 例健康妊娠妇女作为对照组, 依据血小板计数(PLT)结果, 将试验组分为 4 组(1~4 组), 再用 FCM 检测各组 PAIg 水平。结果 试验组患者 PLT < 70 × 10⁹/L 时, PAIgA、PAIgG 和 PAIgM 显著高于对照组, 差异有统计学意义(P < 0.05)。PLT 与 PAIgA、PAIgG 和 PAIgM 的阳性率呈负相关性(r < 0, P < 0.05)。结论 FCM 检测 PAIg 具有快速、灵敏、简便、可靠等特点, 可用于妊娠合并 ITP 的辅助诊断。

关键词:妊娠; 血小板; 免疫球蛋白; 紫癜; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)14-1990-03

产后出血是产科的严重并发症, 引起产后出血的原因很多而且很复杂, 其中凝血功能障碍是重要原因之一, 而妊娠合并免疫性血小板减少性紫癜(ITP)又是造成孕产妇凝血功能障碍的原因之一。虽然妊娠和 ITP 的发生没有绝对的联系, 但有 ITP 病史的女性一般认为妊娠合并 ITP 发生率较健康人群高^[1], 提示雌激素可能参与 ITP 的发病。ITP 是一种免疫性血小板破坏过多造成的疾病^[2]。其中一部分抗体针对血小板表面多种抗原抑制血小板功能, 使出血严重; 一部分能活化血小板, 加剧血小板的减少^[3]。由于患者机体免疫系统异常, 体内产生血小板相关免疫球蛋白(PAIg)增多导致血小板破坏增加, 血小板生存时间缩短, 其特点是广泛的皮肤、黏膜、内脏出血; 骨髓中巨核细胞幼稚化; 出血时间延长, 血块收缩不良, 束臂试验阳性等。PAIg 是由机体免疫调节系统紊乱而产生的一种自身免疫性抗体, 它可以引起多种临床疾病或者症状, 比如血小板减少症、ITP, 输血后紫癜等^[4], PAIg 的检测是 ITP 诊断的重要指标。目前临床多采用流式细胞术(FCM)来检测患者血液中的 PAIg, 包括 PAIgA、PAIgG 和 PAIgM^[5]。本试验通过检测妊娠合并 ITP 患者血小板计数(PLT)和 PAIg 水平, 以探讨在妊娠合并 ITP 患者预防产后出血中的作用及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 试验组 100 例, 来自 2015 年 3~9 月在本院住院、门诊和优生优育中心就诊的妊娠合并血小板减少的妇

女, 入选标准: 初产妇, 无其他合并症, 排除其他病史及继发性血小板减少性因素, 且未服用过影响 PLT 功能及凝血功能的药物, 所有患者均符合妊娠合并 ITP 的诊断标准。年龄 24~35 岁, 平均 27 岁。对照组 100 例均来自健康产检的健康妊娠妇女, 年龄 24~32 岁, 平均 28 岁。

1.2 仪器与试剂 主要仪器是美国 BD 公司生产的 BD Calibur 流式细胞仪, 采用其原装数据处理系统, 试剂采用的是 BD Pharmingen IgM-APC、BD Pharmingen IgG-PE 和 BD Pharmingen IgA-FITC、PBS 缓冲液。辅助仪器是德国西门子 ADVIA2120 全自动细胞分析仪。所有仪器原装质控品测试结果均在控。

1.3 方法

1.3.1 采血 用真空采血管采集受试者肘静脉血 2 管, 每管各 3 mL, 一管用 EDTA-K₂ 抗凝, 用于全血细胞分析; 另一管用枸橼酸钠按 1:9 抗凝, 用作 PAIg 的检测。

1.3.2 全血细胞分析检测 应用德国西门子 ADVIA2120 全自动细胞分析仪检测 PLT, 并依据 PLT 结果进行分组。

1.3.3 PAIg 的测定 应用 BD Calibur 流式细胞分析仪进行测定。取受试者富血小板血浆, 用 PBS 缓冲液洗涤后, 免疫荧光染色, 同时设同型对照管, 以下步骤均按流式细胞仪操作规程操作。将处理好的样本盖好, 避光保存于 2~8 °C, 以待上机检测。仪器自带软件分析结果以百分率表示, 比例超过 5.0% 为阳性。