

[2] 高玉琴,范明亮,王浩,等. POCT 血糖仪在临床科室全面质量管理中的实践与研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 9(25):1476-1478.

[3] 杜显峰,李涛,李世俊. 便携式血糖仪测量准确性评价研究[J]. 中国医学装备, 2014, 11(1):33-35.

[4] 王华梁,吕元,钟建明. 检验医学实验室质量管理指南[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2014:152-154.

[5] 王海英,王凯锋. 便携式血糖仪与全自动生化分析仪血糖检测结果分析[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(33):3148-3149.

[6] 李雪峰. 便携式血糖仪与全自动生化分析仪测定血糖比对分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 7(10):1871-1872.

[7] 蒙泽彬,杨剑萍. 便携式血糖仪与全自动生化分析仪测定血糖结果的差异分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1):90-91.

[8] 林鸿,杨文明,叶满. 快速血糖仪与全自动生化分析仪检测测血糖葡萄糖结果比对研究[J]. 现代诊断与治疗, 2014, 25(22):5179-5180.

[9] 孟凡飞,刘飞,蒲晓允. 两种快速血糖仪与全自动生化分析仪检测血糖的比对分析[J]. 第三军医大学学报, 2014, 25(22):2495-2510.

[10] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 2 版. 上海:上海科学技术文献出版社, 2007:56-72.

(收稿日期:2017-02-04 修回日期:2017-05-01)

• 检验科与实验室管理 •

显微镜人工计数比对的考核与评价体系探索

张娟安¹, 胡友明^{2△}, 彭长华¹, 肖秀林¹, 王长征¹

(1. 湖北省荆州市中心医院医学检验部, 湖北荆州 434020;

2. 湖北省荆州市沙市区人民医院检验科, 湖北荆州 434020)

摘要:目的 建立临床标本的显微镜人工计数质量考核与评价体系, 并使用 Excel 快速实现。方法 建立比对模型数据库, 以两差比值法和 Poisson 分布法分别评价; 建立评价体系后运用到 2016 年荆州市中心医院医学检验部显微镜人工计数考核与评价中。结果 Poisson 分布评价法不仅能评价计数的重复性, 也能评价准确性, 在低值和高值标本的比对中均得到满意结果。结论 确立以 Poisson 分布评价法结合 Excel 快速实现来建立临床标本的显微镜人工计数质量考核与评价体系。

关键词:显微镜人工计数质量考核与评价体系; 两差比值评价法; Poisson 分布评价法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.19.055

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2017)19-2791-03

显微镜人工计数在血液及体液检验中应用广泛, 它是一项最基础的技术, 也是各类自动化血液、尿液分析仪复核规则中的重要环节^[1]。由于器材、操作、人员等方面的差异, 显微镜人工计数质量难以得到保障。因此, 加强显微镜人工计数技术, 并实施行之有效的比对和考核, 既很重要, 也很必要。但是, 显微镜人工计数法尚无公认或比较完善的质量保证与考核办法^[2], 也没有比较简便快速的判断方法。

医学实验室质量和能力认可准则在血液体液学检验领域的应用说明对形态学检验人员的结果比对提出了明确要求^[3-4]: 应定期进行形态学检验人员的结果比对、考核并记录, 其中临床样品显微镜人工计数要求每次至少 5 份。荆州市中心医院医学检验部在申请 ISO 15189 认可工作中, 探索、建立了一套临床标本的显微镜人工计数质量考核与评价体系, 并使用 Excel 快速实现, 在 2016 年临床标本计数比对中获得满意结果。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用一次性带塞刻度尿液试管收集荆州市中心医院医学检验部住院患者洁净中段尿样, 以及乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝全血标本。

1.2 仪器与试剂 显微镜, 洁净玻璃试管, 改良牛鲍计数板, 一次性 20 μ L 定量取血管; 贝克曼库尔特公司生产的尿液有形成分分析用校准品 iQ Calibrator, 主要成分为戊二醛化的红细胞, 效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 建立比对模型数据库 取 iQ Calibrator 醛化红细胞液, 以生理盐水稀释成 5 种不同浓度的红细胞悬液标本 A、B、C、D、E, 由 3 位经验丰富的检验人员进行红细胞计数。每份标本计数中央 4 个大方格的红细胞数, 得到 19 组共 76 个计数数据(单位: 个/大方格), 每份标本于 1.5 h 内完成。结果分别记录在表格上。

1.3.2 2016 年全科显微镜人工计数质量考核与评价 全年考核频次为 2 次, 每次考核取 5 份临床标本进行细胞计数, 包括正常和异常的血液或尿液标本。所有基础检验室和夜班值班人员均参与比对, 红细胞和白细胞项计数改良牛鲍计数板的 4 大方格(单位: 个/大方格), 血小板项计数 5 个中方格(单位: 个/5 个中方格)并记录每个方格的测定值。

1.4 统计学处理

1.4.1 两差比值评价法 抽取某标本的重复计数值, 短时间内两次计数值之差与二次细胞数之和的标准差平方根之比, 即为两差比值。公式如下: $r = \text{ABS}(x_1 - x_2) / \text{SQRT}(x_1 + x_2)$, 式中 ABS 为绝对值, SQRT 为平方根函数, 公式中, r 为两差比值, x_1 、 x_2 分别为前后两次数得的细胞数。荆州市中心医院医学检验部以某一标本由经验丰富的检验人员计数的第一个结果为 x_1 , 同一标本其他次的计数结果为 x_2 进行评价。质量得分 = $100 - (r \times 20.1)$, 根据统计学理论, 两差比值 > 1.99 , 则再次结果有显著性差异, 故失分系数为 $(100 - 60) / 1.99 = 20.1$ 。考核要求为质量得分 ≥ 60 分。

1.4.2 Poisson 分布评价法 由于血细胞在计数池内的随机

△ 通信作者, E-mail: 741161236@qq.com.

分布符合 Poisson 分布^[2], 可以进行 Poisson 分布总体的区间估计。以 3 位经验丰富的检验人员的测定为参考方法, 每份标本各计数 4 大方格的细胞数, 求得均值为参考值(单位: 个/大方格), 其他计数结果为测定值进行评价。计算参考值的 99% CI, 将测定值与参考值的 99% CI 进行比较, ≤99% CI 上限, 且 >99% CI 下限的判定为合格, 否则判定为不合格。Excel 软件可快速实现参考值的 99% CI 的计算, 并可自动判定比对结果是否满足要求。Poisson 分布总体的区间估计方法如下。

1.4.2.1 直接概率法 当标本均数 $m \leq 50$ 时, 采用直接概率法计算总体均数 λ 的可信区间, Excel 计算过程如下: 设 $P_T = \text{Poisson}(3, \lambda, \text{TRUE})$, 则 P_T 是总体为 λ 时抽样 $x \leq m(3)$ 的概率, 当总体分别是 0、1、2……时, $P_T = 1.000\ 0$ 、 $0.981\ 0$ 、 $0.857\ 1$ ……渐减小。

当 $P_T \geq 0.005$ 时对应的最大的 λ 为 99% CI 上限。

设 $P_F = \text{Poisson}(3, \lambda, \text{FALSE})$, 则 P_F 是总体为 λ 时抽样 $x = m(3)$ 的概率。

设 $P_D = 1 - P_T + P_F$, 则 P_D 是总体为 λ 时抽样 $x \geq m(3)$ 的概率, 当总体分别是 0、1、2……时, $P_T = 0.000\ 0$ 、 $0.080\ 0$ 、

$0.323\ 3$ ……渐增大。

当 $P_D \geq 0.005$ 时对应的最小的总体 λ 是 99% CI 下限。

1.4.2.2 正态近似法 当标本均数 $m > 50$ 时, Poisson 分布近似正态分布, 总体均数 λ 的可信区间可按正态分布近似原理计算如下: $m \pm u_{\alpha} \times \text{SQRT}(m)$ 。

当取 99% CI 时, $u_{\alpha} = \text{NORMSINV}(0.5 + 0.99/2) = 2.58$, 其中 NORMSINV 是返回标准正态分布累积函数的逆函数。

1.4.3 统计推断的 Excel 快速实现 按彭小娟等^[5]介绍的方法, 利用 Excel 的某单元格调用另一单元格的数据, 经合理部署原始数据、中间计算数据及最终统计分析之间的互相调用, 将原始数据与两差比值评价法及 Poisson 分布评价法的最终统计分析结论部署在同一界面, 中间计算数据的单元格隐藏。使用时只需要在指定单元格录入原始数据即可立即得到统计结论。

2 结 果

2.1 模型数据库的两差比值评价法和 Poisson 分布评价法的评价 结果见表 1。

表 1 两差比值评价法和 Poisson 分布评价法的评价结果

标本	参考值*	测定值*	n	两差比值评价法		Poisson 分布评价法	
				质量得分	符合率(%)	99%CI	符合率(%)
A 液	130.3	99~151	76	46.8~100.0	96.1	100.8~159.7	96.1
B 液	61.3	43~89	76	57.4~100.0	97.4	41.1~81.5	96.1
C 液	43.0	26~58	76	56.7~97.8	96.1	27.9~62.9	96.1
D 液	14.3	6~23	76	47.7~100.0	98.7	6.2~26.8	96.1
E 液	1.3	0~4	76	59.8~100.0	100.0	0.0~7.4	100.0

注: * 表示单位为: 个/大方格。

2.2 Excel 的快速实现 Poisson 分布评价法的 Excel 快速实现, 见图 1(Excel 表格中各计算公式略)。

A B C D E N O P Q R S T U V W X Y Z									
1	1. 总体均数: 的估计 (n < 50)								
2	样本均数 m	43.0							
3	置信度 1-α	0.99		0.99					
4	双侧 α/2	0.005		0.005					
5	总体 λ		下限 L	上限 U					
6		31.1	57.9	27.9	62.9				
7									
8	2. (当 n > 50 时, 可采用正态近似法估计总体)								
9	样本均数 m	130.3							
10	置信度 1-α	0.99		0.99					
11	双侧 α/2	0.005		0.005					
12	总体 λ		下限 L	上限 U					
13		107.9	152.6	100.8	159.7				
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22	注: 删除线加粗字体为不符合者, 斜体为符合者。								

图 1 Poisson 分布评价法的 Excel 快速实现

2.3 比对结果 2016 年使用 Poisson 分布评价法结合 Excel 快速实现的质量考核与评价体系对全科比对人员进行比对, 所有人员的符合率 ≥ 80%, 比对合格。

3 讨 论

器材、操作、人员等各方面因素均干扰显微镜人工计数质量。在模型数据库中, 为保证计数质量, 减小误差, 采取的措施有: (1) 保证检验人员的素质; (2) 使用醛化红细胞, 避免器材、操作等原因造成溶血; (3) 使用同一吸管和计数板, 减小器械因素的偏差。即便如此, 单次计数值仍然相差很大, 低浓度标本如 E 液 (6~23 个/大方格) 的测定最大值与最小值甚至相差数

倍。如何考核与评价显微镜人工计数、建立行之有效的评价体系, 是每个实验室, 特别是 ISO15189 现场评审必须解决的问题。

表 1 可见 5 种浓度的红细胞悬液经两差比值评价法和 Poisson 分布评价法的符合率均在 96.0% 以上。两差比值评价法用于同一标本重复计数的评价, 只能评价重复性, 而不能评价计数的准确性。而 Poisson 分布评价法计算参考值的 99% CI, 不仅能反映计数的重复性, 也能反映准确性, 在低值标本的比对中也得到满意结果, Excel 的快速实现使之简捷直观, 更适合多标本、多计数项目、多人参与的质量考核与评价判断, 因此, 选择用 Poisson 分布评价法结合 Excel 快速实现来建立临床标本的显微镜人工计数质量考核与评价体系。

5 种红细胞悬液的 76 份比对数据经 Poisson 分布评价法, 符合率仍达不到 100.0%。相关文献亦未见对比对的符合率为具体要求, 荆州市中心医院医学检验部依照中国合格评定国家认可委员会对室间比对的判定标准^[2-3], 以符合率 ≥ 80% 为比对合格。

结果显示, A 液的所有同次计数所得到的 5 个大方格计数值中, 离散程度最大的一组中最小值为 99, 最大值为 151。经计算 99% CI 为 73.3~124.7, 151 的 99% CI 为 119.3~182.7, 在 119.3~124.7 区间内重合, 说明该次计数中, 细胞充池不够均匀, 但仍然符合 Poisson 分布, 其计数质量考核与评价可以使用 Poisson 分布评价法。

为消除各种误差对评价造成的困扰,荆州市中心医院医学检验部对基于 Poisson 分布的显微镜人工计数质量考核与评价体系进行规范。(1)每次比对取 5 份临床标本进行细胞计数,包括正常和异常的血液或尿液标本。(2)计数操作统一化、标准化。首先,低倍视野观察所有计数区域细胞分布是否均匀,不均匀则重新充池,选取充池满意者计数。(3)所有基础检验室和夜班值班人员均参与比对,红细胞和白细胞计数 4 个大方格(单位:个/大方格),血小板计数 5 个中方格(单位:个/5 个中方格)并记录每个方格的测定值。取 3 位经验丰富的检验人员的均值为参考值。(4)用 Excel 快速实现表格计算出参考值的 99%CI,评价比对人员的测定值符合与否,某个检验人员所有测定值符合率 $\geq 80\%$ 为考核合格,否则需要查找原因并整改,再次比对,直到合格。2016 年使用该质量考核与评价体系对荆州市中心医院医学检验部比对人员进行比对,所有人员的符合率 $\geq 80\%$,比对合格。

综上所述,荆州市中心医院医学检验部建立的显微镜人工计数质量考核与评价体系,既能满足国家实验室认可中关于形态学检验人员的能力比对要求,又能客观反映检验人员的计数能力,设计科学,操作性强,通过 Excel 快速实现使数据比对更简洁直观。

荆州市中心医院医学检验部在显微镜人工计数质量考核与评价体系的运用体会到,当选用正常尿液标本进行比对时,细胞数太少,计数域误差过大(变异系数为多次计数的均值平方根之倒数),过高则难以计数,建议比对标本的细胞数以 51~150 个/大方格为宜(血小板可选用 51~250 个/5 个中方格),计算 99%CI 选用正态近似法;细胞数过少的正常尿液标本比

对采用直接概率法计算,或增加计数方格,直到细胞总数在 50 个以上后,用正态近似法计算。进行 Poisson 分布进行推断时观察单位只能将大单位化为小单位,而不能将小单位扩大为大单位^[4-5],因此,荆州市中心医院医学检验部用实际的计数单位进行评价,将每大/中方格细胞数乘以稀释倍数和(或)换算成报告单位是不合适的。

参考文献

- [1] 张娟安,王昌富,彭长华,等.尿液整体化分析中镜检复查规则的建立与评估[J].国际检验医学杂志,2011,32(3),324-326.
- [2] 熊立凡,刘成玉.临床检验基础[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2007:44.
- [3] 中国合格评定国家认可委员会.2012 医学实验室质量和能力认可准则在临床血液学检验领域的应用说明:CNAS-CL43[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2012.
- [4] 中国合格评定国家认可委员会.2012 医学实验室质量和能力认可准则在临床体液学检验领域的应用说明:CNAS-CL43[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2012.
- [5] 彭小娟,肖秀林,周治年.统计分析的 Excel 快速实现[M].武汉:武汉大学出版社,2012:56.

(收稿日期:2017-02-22 修回日期:2017-05-11)

(上接第 2786 页)

参考文献

- [1] 吴芹,高瑾乡.以能力为本位的医学检验技术专业课程设置[J].检验医学与临床,2010,7(19):2150-2151.
- [2] 沈鑫烽,吴怡春,褚美芬,等.以项目为引导的医学检验技术综合实训课程构建[J].中国高等医学教育,2015,4(4):65-66.
- [3] 韩志红.我院高职高专医学检验专业《血液学检验》课程教学存在的问题及改革探索[J].医学理论与实践,2016,29(12):1670-1671.
- [4] 马桂芳,潘红宁,杨李,等.以“盐卫金域医学检验所”为平台,构建“检教合一·项目驱动”的实践教学体系[J].检验医学与临床,2017,14(4):588-589.
- [5] 沈崇灵.法理学[M].北京:北京大学出版社,1994:51-52.
- [6] 孙金霞,杨李,吴芹,等.高职医学检验生产性实训基地建设实践探索[J].医学理论与实践,2016,29(24):3433-3435.
- [7] 孙金霞,李启松,马桂芳,等.项目化教学在医学检验技术专业临床生化检验课程的应用探索[J].齐齐哈尔医学院学报,2015,36(32):4937-4938.
- [8] 马桂芳,潘红宁,杨李,等.基于工作过程的微生物检验项目化教学实践与探索[J].国际检验医学杂志,2016,37

- (24):3510-3511.
- [9] 李启松,史新惠,黄思怡,等.项目化教学在临床基础检验课程中的应用[J].教育教学论坛,2017,5(2):186-187.
- [10] 吴芹.卫生高职院校人文素质教育的实践探索[J].卫生职业教育,2011,29(22):13-14.
- [11] 黄慧芳,徐建萍,林东红.项目教学法在临床血液学检验教学中的尝试[J].基础医学教育,2014,16(8):634-636.
- [12] 闭雄杰,韦忠厅,陶静,等.病例教学在高职高专血液学检验教学改革中的应用[J].国际检验医学杂志,2015,36(23):3497-3498.
- [13] 张晓丽,潘静,司维柯,等.多渠道网络教学在《临床血液学检验》教学中的应用探讨[J].国际检验医学杂志,2014,35(20):2852-2853.
- [14] 牟凤林,王静,邓晶荣,等.基于建立骨髓细胞教学图谱资源库的高职高专《血液学检验技术》形态学教学模式改革探索[J].国际检验医学杂志,2017,38(2):279-281.
- [15] 马桂芳,崔玉宝.医学检验技术专业实训室的建设方案与实施效果[J].医学理论与实践,2011,24(20):2512-2514.
- [16] 崔玉宝,马桂芳.开展技能大赛对培养医学检验专业技术人才的意义[J].国际检验医学杂志,2014,35(5):645-646.

(收稿日期:2017-02-12 修回日期:2017-05-06)