

抗凝新鲜血在血细胞分析仪校准和比对中的应用探讨

黄海燕, 李雪宏, 张淑贞, 江少莉 (广东省深圳市龙岗区葵涌人民医院检验科 518119)

【摘要】 目的 探讨用抗凝新鲜血在血细胞分析仪校准和比对的应用价值。**方法** 选择 Sysmex TX-2000i 血液分析仪为参比仪, 迈瑞 BC-3000 血液分析仪为比对仪。(1) 采集体检健康人用乙二胺四乙酸二钾抗凝新鲜血在参比仪按规范的操作方法进行定值, 然后用该血液校准比对仪。(2) 每天选择无细胞聚集和碎片的新鲜血标本, 在参比仪和比对仪分别测试 3 次并记录均值结果, 为期 2 个月共检测 180 例标本, 采用直线回归分析检验结果的相关性和一致性。**结果** (1) 比对仪经定值新鲜血校准后其测定结果与参比仪测定结果的偏差比校准前明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。(2) 参比仪与比对仪测定结果各参数之间相关密切 ($r^2 > 0.95$), 一致性良好。**结论** 利用抗凝新鲜血用于血细胞分析仪的校准和比对, 经济有效, 可以提高血液分析仪结果的准确性和可比性。

【关键词】 血细胞分析仪; 校准; 偏差; 比对

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.12.021 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)12-1452-03

To discuss the application of anticoagulant fresh blood in hematology analyzer calibration and comparison HUANG Hai-yan, LI Xue-hong, ZHANG Shu-zhen, JIANG Shao-li (Department of Clinical laboratory, Kuizhong People's Hospital of Longgang District, Shenzhen, Guangdong 518119, China)

【Abstract】 Objective To explore the application value of anticoagulant fresh blood in hematology analyzer calibration and comparison. **Methods** We used the Sysmex TX-2000i hematology analyzer as the reference instrument, Mindray BC-3000 hematology analyzer as comparison instrument. (1) We collected anticoagulant EDTA-K₂ fresh blood of health people in physical examinations to measure the value with the reference instrument according to standard operating procedure, and then used the blood to calibrate the comparison instrument. (2) We selected the fresh blood sample without cell aggregation and fragmentation every day, measured 3 times and recorded the results through the reference instrument and the comparison instrument respectively, totally 2 months with 180 samples, using linear regression analysis to determine the relevance and consistency. **Results** (1) After calibration with fresh blood, the results deviation between the comparison instrument and the reference instrument were significantly lower than before calibration ($P < 0.01$). (2) Various parameters of the results between reference instrument and comparison instrument were closely related ($r^2 > 0.95$), with good consistency. **Conclusion** Using anticoagulant fresh blood for calibration and comparison is economic and effective, which can improve the accuracy and comparability in hematology analyzer.

【Key words】 hematology analyzer; calibration; deviation; comparison

血液分析仪是医院检验科使用率很高的仪器之一, 许多检验科同时拥有多台血液分析仪, 而且常常是不同品牌、不同型号、三分群、五分类、进口机、国产机同时混杂存在, 其检测结果的准确性及可比性直接影响患者疾病的诊断、治疗和观察, 但直至目前血液分析仪配套的校准物和质控物都存在着价格昂贵、保存时间短的问题, 为探索解决问题的途径, 确保同一标本在本科内检验结果的准确性和可比性, 本文使用 Sysmex TX-2000i 血液分析仪对正常新鲜抗凝血进行定值后校准迈瑞 BC-3000 血液分析仪, 并对 2 台仪器进行比对试验和偏差评估, 了解利用抗凝新鲜血用于血细胞分析仪的校准和比对的应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器及试剂 Sysmex TX-2000i 血液分析仪及进口配套试剂, Sysmex TX-2000i 配套校准物 SCS-1000, 批号 03480525。迈瑞 BC-3000 血液分析仪及配套试剂。

1.1.2 新鲜血液标本 用乙二胺四乙酸二钾 (EDTA-K₂) 真空抗凝管, 广州阳普公司生产, 校准用新鲜全血采自体检健康人, 比对用新鲜全血采自门诊患者, 标本在室温中保存, 并保证

4 h 内完成检测。

1.2 方法

1.2.1 参比仪校准及质控 选择性能良好、规范操作的 Sysmex TX-2000i 血液分析仪作为参比仪 (以下称为参比仪), 该分析仪使用原装配套试剂, 定期保养, 以具有溯源性的校准品 Sysmex SCS-1000^[1] 由 Sysmex 技术服务部技术人员进行定期校准。每天用配套低、中、高 3 个水平的全血质控物进行室内质量控制, 结果良好并定期参加室间质控, 确保仪器结果精密度和准确度。

1.2.2 新鲜全血定值及比对仪校准 取体检健康人各项指标正常, 无异常警示 EDTA-K₂ 抗凝新鲜血在参比仪按规范的操作方法测定新鲜全血 11 次, 取后 10 次结果分别计算血红蛋白 (Hb)、红细胞 (RBC)、白细胞 (WBC)、血小板 (PLT)、平均红细胞体积 (MCV) 5 个参数的均值, 以此作为新鲜全血的定值。

以迈瑞 BC-3000 血液分析仪为比对仪 (以下称为比对仪), 取经参比仪定值后的新鲜全血在比对仪测定 11 次, 用 2-11 次结果分别计算 Hb、RBC、WBC、PLT、MCV 5 个参数的均数和变异系数及与定值的偏差 (不计正负号), 再与表 1 中的标准进行比较判别是否需要调整仪器。偏差计算公式: 偏差 = (均值 -

定值)/定值×100%。

当参数均值与定值的差异全部等于或小于表 1 中的第 1 列数值时,仪器不需进行调整,记录检测数据即可;若各参数均值与定值的差异大于表中的第二列数值时,需请维修人员核查原因并进行处理;若各参数均值与定值的差异在表中第 1 列与第 2 列数值之间时,需对仪器进行调整,调整方法可按说明书的要求进行^[2]。

表 1 仪器校准判别标准 (%)

参数	1 列	2 列
WBC	1.5	10
BRC	1.0	10
Hb	1.0	10
MCV	1.0	10
PLT	3.0	15

从表 1 可以看出,当需校准时用均值与定值进行比较,计

表 2 参比及比对仪重复测定结果比较

仪器	WBC(×10 ⁹ /L)		RBC(×10 ¹² /L)		Hb(g/L)		MCV(fL)		PLT(×10 ⁹ /L)	
	参比	比对	参比	比对	参比	比对	参比	比对	参比	比对
均值($\bar{x}$)	7.30	7.29	3.60	3.51	112	115	89.3	91.7	295	250
标准差(s)	0.09	0.11	0.02	0.04	0.6	0.9	0.13	0.38	2.2	8.9
变异系数(CV%)	1.30	1.51	0.44	1.17	0.58	0.82	0.15	0.41	0.74	3.56

2.2 比对仪校准结果 比对仪校准前后结果见表 3,除 WBC 外其余各参数结果与定值的偏差均处于表 1 中 1 列和 2 列之间,提示仪器必须进行校准,经校准后测定结果与定值的偏差均处于表 1 中 1 列之内,结果表明用定值新鲜全血对比对仪的校准后其检测结果与定值的偏差比校准前明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 对比试验结果 经 2 个月共检测 180 例标本,其实验数据采用配对样本 t 检验,各参数均 $P>0.05$,显示参比仪与比对仪所测的各个参数总体均数差异无统计学意义(表 4)。用拟合直线回归方程分析,分析中将比对仪测定结果作应变量 Y ,参比仪测定结果作自变量 X ,结果各参数均 $r^2>0.95$,结果表明各参数之间相关密切,直线回归统计的斜率和截距可靠,

算各参数的校准系数,将新的校准系数输入仪器替换原校准系数。校准系数的计算公式为:新校准系数=原校准系数(定值/均值)。

1.2.3 比对试验 每天选择无异常警示的新鲜血标本,分别在参比仪和比对仪分别进行 3 次测试,记录均值结果,二者测试相差时间不超过 1 h,为期 2 个月共检测 180 例标本。

1.3 统计学方法 用 Excel2007 记录实验结果并进行偏差等简单计算;统计软件用 SPSS13.0 for Windows,仪器各参数检测结果总体均数间的差别用配对样本 t 检验,一致性检验采用直线回归分析。

2 结 果

2.1 参比仪及比对仪的重复性测定 新鲜全血重复测定结果见表 2。从表 2 可知,参比仪的重复性良好,其重复性优于比对仪,综合仪器各方面状态,其均值可做为校准比对仪的定值。

一致性良好,其相关程度依次为 WBC = Hb>RBC>PLT>MCV(表 5)。

表 3 比对仪校准前后结果比较

参数	校准前			校准后		
	系数(%)	均值	偏差(%)	系数(%)	均值	偏差(%)
WBC(×10 ⁹ /L)	94.3	7.29	-0.14	94.2	7.3	0.0
RBC(×10 ¹² /L)	105.4	3.51	-2.50	102.8	3.58	-0.6
Hb(g/L)	91.5	115	2.68	93.9	113	0.9
PLT(×10 ⁹ /L)	137.0	252	-14.58	117.0	287	-2.7
MCV(fL)	102.3	91.7	2.69	105.1	90.1	0.9

表 4 比对试验各参数结果比较($n=180$)

仪器	WBC(×10 ⁹ /L)		RBC(×10 ¹² /L)		Hb(g/L)		MCV(fL)		PLT(×10 ⁹ /L)	
	参比	比对	参比	比对	参比	比对	参比	比对	参比	比对
均值($\bar{x}$)	7.045	7.02	4.664	4.655	133.4	133.6	86.84	87.39	281.4	275
标准差(s)	2.17	2.15	0.526	0.573	19.98	19.94	6.43	6.19	86.9	75.4
t	0.661		0.422		-0.612		-0.24		1.02	
P	0.525		0.683		0.555		0.563		0.335	

表 5 参比仪及对比仪测定结果的一致性检验

项目	r	r^2	回归方程
WBC	0.999	0.997	$Y=0.990X+0.046$
RBC	0.996	0.992	$Y=1.085X-0.405$
Hb	0.999	0.997	$Y=0.997X+0.638$
MCV	0.974	0.951	$Y=0.939X+5.850$
PLT	0.980	0.961	$Y=0.850X+35.76$

3 讨 论

随着科学技术的进步,近年来国产的血液分析仪,其性能已接近或达到进口仪器的水平,但如何校准和实现检测结果可比性,已成为目前血液分析仪存在的较大问题。

根据国际血液学标准化委员会颁布文件的要求,血细胞分析的检测结果只有直接或间接地溯源至参考方法,才能保证结果的准确性和不同实验室检测结果的可比性。血液分析仪的校准只能使用配套的校准物,校准物的定值只适用于特定类型

的血液分析仪,但对非配套仪器的校准结果较差。但血液分析仪的校准物少,价格贵,不易保存,且实验室内仪器种类型号较多,甚至一些血液分析仪无配套的校准物,因此要保证血细胞分析仪检测结果的准确性和可比性,除了要有完善的质量控制体系,还必须建立合理实用可行的校准程序,使实验室内所有仪器的检测结果校准到偏差控制在一定范围内,各台仪器具有可比性^[3-5]。本实验使用性能良好、规范操作并经具有溯源性的校准品 Sysmex SCS-1000 校准的 Sysmex TX-2000i 血液分析仪作为参比仪定值 EDTA-K₂ 抗凝的新鲜血作为校准物,校准迈瑞 BC-3000 血液分析仪,实验表明用 Sysmex TX-2000i 血液分析仪定值的新鲜全血对 BC-3000 血液分析仪校准后的检测结果与参比值的偏差比较前明显降低。用新鲜全血校准仪器虽较麻烦,但适用于所有仪器,且经济易得,适用性强,适用于同一实验室多台不同型号血细胞分析仪的校准。

实验室内有多台血液分析仪时,应进行结果的比对^[6]。本科实验室内有多台不同品牌及不同型号的血液分析仪,本文选择了 Sysmex TX-2000i 和 BC-3000 血液分析仪两台仪器为例,进行了为期 2 个月较长时间共 180 例标本的比对试验,根据实验结果用 SPSS13.0 统计软件对 2 台仪器各参数采用拟合直线回归方程分析,分析中将比对仪测定结果作应变变量 Y,参比仪测定结果作自变量 X,计算 2 台仪器 5 组参数的相关系数和回归方程,结果 r^2 均大于 0.95,表明各参数之间密切相关,一致性良好,完全符合临床需要。但相比较而言 MCV、PLT 一致性相对较差,这可能是由于仪器的原理不同,精密度差异等因素所致,如出现偏差过大,必须及时进行校准。

虽然使用抗凝新鲜全血用于校准血液分析仪比直接使用商品化校准物较为繁杂,但新鲜全血是临床实验室易得物质,控制得当,经济可靠,也有人采用新鲜全血应用于血液分析仪的室内质控,也取得了较好的效果^[7-8]。

通过本实验,作者体会到为了保证实验室内多台血细胞分

析仪检测结果的准确性和可比性,对仪器的校准和比对及室内和室间质控都是血细胞分析质量控制必不可少的环节,使用新鲜血定期对不同品牌及不同型号进行校准比对,是目前比较经济有效的办法。

参考文献

- [1] Kutzner M. Metrological traceability of values assigned to sysmex SCS-1000 haematology calibrator[J]. Sysmex J International, 2002, 12: 49-55.
- [2] 丛玉隆. 血液学体液学检验与临床释疑[M]. 北京:人民军医出版社, 2004: 294.
- [3] 彭明婷, 申子瑜. 血细胞分析溯源体系的建立及有关问题的探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(3): 132-133.
- [4] 彭明婷, 岳育红, 申子瑜, 等. 北京市三级医院全血细胞计数结果可比性和准确性调查[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(9): 987-991.
- [5] 彭黎明, 王伟鑫, 聂李平, 等. 用参考方法验证多台血液分析仪的校准结果[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(6): 463-465.
- [6] 彭明婷. 血液分析仪质量控制的问题与对策[J]. 检验医学, 2008, 23(6): 551-552.
- [7] 王文娟, 王佩佩, 李雪芬, 等. 新鲜血比对方法在血液分析仪室内质量控制中的应用[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2008, 37(1): 88-91.
- [8] 段秋林, 殷海燕, 樊超英, 等. 新鲜全血标本在多台血细胞分析仪间室内质控中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2): 187-188.

(收稿日期: 2011-03-15)

(上接第 1451 页)

目前, HbA_{1c} 的测定方法主要有 IE-HPLC 法、亲和层析法、胶乳免疫测定、电泳法等, 有些方法需要贵重的仪器, 有些方法手工操作太不方便, 有些方法有反应杯污染情况, 本文采用的酶化学反应法测定, 是基于比色法操作简单, 仪器设备要求不高, 能在实验室原有各种生化仪进行检测, 经方法学性能验证均显示该实验是一种精密度高, 重复性好, 线性范围宽, 与 TOSOH G7 IE-HPLC 法进行方法学比较相关性良好, 且收费低廉, 从降低患者医疗费用方面具有较高的社会效益, 完全能满足临床对糖尿病患者的监测要求, 可在使用自动生化分析仪的各级医院使用。

参考文献

- [1] International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, IFCC Scientific Division, Nordin G, et al. Recommendation for term and measurement unit for “HbA_{1c}”[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(8): 1081-1082.
- [2] American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus [J]. Diabetes Care, 2003, 26: 533.
- [3] 毕波, 吕元. 定量检测方法学性能验证的系统设计[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(5): 143-145.

- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. EP5-A2, CLSI, 2004: 80.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry[S]. EP7-A2, CLSI, 2005: 75.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. EP9-A2, CLSI, 2002: 109.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement Procedures[S]. EP6-A2, CLSI, 2003: 75.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory[S]. C28-A2, CLSI, 2000: 40.
- [9] 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: 66.
- [10] Krishnamuety U, Stelfes MW. Glycohemoglobin: a primary predictor of development or reversal of complications of diabetes mellitus[J]. Clin Chem, 2001, 47(5): 1157-1165.

(收稿日期: 2011-01-23)