

Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪临床应用评价

金宁娟,朱习海,王 刚(江苏省响水县人民医院检验科 224600)

【摘要】 目的 对 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪的技术性能进行初步评价。**方法** 应用 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪对全血标本的白细胞、红细胞、血红蛋白、红细胞比容、血小板、及白细胞分类计数等参数进行检测,并与显微镜目测结果进行比较。**结果** ACT 5diff 血细胞分析仪的精密度高,准确度表现优异,线性范围宽,交叉污染率低,白细胞分类与显微镜人工分类结果有较好的相关性。**结论** ACT 5diff 血细胞分析仪的性能指标良好,是一种较为理想的血细胞分析仪。

【关键词】 血细胞分析仪; 性能; 应用评价
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)20-2442-02

Clinical application evaluation of Coulter ACT 5diff hematology analyzer JIN Ning-juan, ZHU Xi-hai, WANG Gang (Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Xiangshui County, Jiangsu 224600, China)

【Abstract】 Objective To evaluate preliminarily the technical function of Coulter ACT 5diff hematology analyzer. **Methods** Coulter ACT 5diff hematology analyzer was used to measure the parameters of WBC, RBC, Hb, HCT, PLT and differential leukocyte count from whole blood specimens. And the result was compared with manual analysis. **Results** ACT diff5 hematology analyzer had high preciseness and accuracy, wide linear range, and low carryover. It was fairly well correlated with microscope assay in WBC classification. **Conclusion** The performance of Coulter ACT 5diff hematology analyzer is excellent, and it is a fairly ideal instrument.

【Key words】 hematology analyzer; function; application evaluation

血细胞分析仪是临床实验室重要仪器之一。Coulter ACT 5diff 血细胞分析是由美国 Beckman Coulter 公司生产的全自动多参数血细胞计数仪,其检测原理是:红细胞(RBC)和血小板(PLT)采用电阻法检测,血红蛋白(Hb)测定用氰化高铁血红蛋白法,白细胞(WBC)分类采用细胞化学光吸收、聚焦流体阻抗、差别溶解、电阻法进行五分类测定。它可以同时测定 RBC、Hb、PLT、WBC 及其五群分类等 26 项参数(包括幼稚细胞和异型淋巴细胞)。现参照有关文件对 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪的技术性能进行临床应用评价。

1 材料与方法

1.1 仪器 (1)Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪:美国 Beckman Coulter 公司生产。(2)Olympus 光学显微镜:日本奥林巴斯光学工业株式会社生产。

1.2 试剂 (1)Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪使用的试剂、质控品(分高、中、低 3 级)、校准品均为配套专用试剂。(2)乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝真空采血管由安徽赫尔生物医学检验科技有限公司提供。

1.3 标本采集 标本来源于体检未发现异常的健康人及各种临床患者[包括 WBC 分类计数(DC)异常者],静脉采血 2 mL, EDTA-K₂ 抗凝。

1.4 仪器校准及质控 由仪器厂家工程师对 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪用其原装配套校准品按校准程序校准,测试前均做本底及质控,各检测指标在控后严格按照 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪的操作说明书进行样本测试。

1.5 统计学方法 采用配对 *t* 检验和直线相关分析。

2 结 果

2.1 批内精密度测定 随机选择高、中、低值各 3 份全血样

本,每份连续重复测定 20 次,统计不同浓度下的精密度^[1]。结果见表 1。

表 1 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪批内精密度检测结果(*n*=20, $\bar{x}\pm s$)

项目	低值	CV%	中值	CV%	高值	CV%
WBC($\times 10^9/L$)	2.69 $\pm$ 0.05	1.92	7.56 $\pm$ 0.10	1.44	22.36 $\pm$ 0.30	1.32
RBC($\times 10^{12}/L$)	1.99 $\pm$ 0.01	0.56	4.05 $\pm$ 0.06	1.49	6.99 $\pm$ 0.05	0.66
Hb(g/L)	59.00 $\pm$ 0.43	0.73	121.00 $\pm$ 0.58	0.48	214.00 $\pm$ 1.32	0.62
Hct(%)	25.00 $\pm$ 0.28	1.12	43.00 $\pm$ 0.45	1.04	55.00 $\pm$ 0.54	0.98
PLT($\times 10^9/L$)	49.00 $\pm$ 1.8	3.62	139.00 $\pm$ 4.50	3.26	419.00 $\pm$ 6.70	1.59

注:仪器设定精密度(CV%)为 WBC $\leq$ 2.0%;RBC $\leq$ 2.0%;Hb $\leq$ 1.0%;血细胞比容(Hct) $\leq$ 2.0%;PLT $\leq$ 5%。

2.2 批间精密度测定 使用高、中、低值全血质控物,每天重复测定 2 次,连续测定 20 d,统计不同浓度下的精密度。结果见表 2。

表 2 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪批间精密度检测结果(*n*=20, $\bar{x}\pm s$)

项目	低值	CV%	中值	CV%	高值	CV%
WBC($\times 10^9/L$)	2.00 $\pm$ 0.03	1.73	5.29 $\pm$ 0.06	1.09	25.49 $\pm$ 0.30	1.17
RBC($\times 10^{12}/L$)	1.97 $\pm$ 0.01	0.69	3.99 $\pm$ 0.04	0.89	6.08 $\pm$ 0.05	0.76
Hb(g/L)	61.00 $\pm$ 0.35	0.56	118.00 $\pm$ 0.72	0.61	209.00 $\pm$ 1.80	0.87
Hct(%)	27.00 $\pm$ 0.33	1.23	41.00 $\pm$ 0.39	0.94	56.00 $\pm$ 0.60	1.08
PLT($\times 10^9/L$)	61.00 $\pm$ 1.90	3.05	141.00 $\pm$ 3.30	2.34	400.00 $\pm$ 10.30	2.59

2.3 准确性测定 用全血质控物在 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪上连续测定 20 d,取其平均值,并与靶值进行比较,结果见表 3。

2.4 携带污染率 先取 1 例高值标本连续测定 3 次(H1、H2、H3),接着用 1 例低值标本连续测定 3 次(L1、L2、L3),按公式计算:携带污染率(%)=(L1-L3)/(H3-L3)×100%。其中 L1、L3 分别为第 1 次和第 3 次低值标本的测定结果,两者相减所得的差值取其绝对值,H3 为第 3 次高值标本的测定结果。结果见表 4。

表 3 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪准确性

项目	靶值	测定值	设计指标%
WBC(×10 ⁹ /L)	7.4	7.3	±3
RBC(×10 ¹² /L)	4.4	4.3	±2
Hb(g/L)	133.0	132.0	±2
Hct(%)	37.7	38.3	±3
PLT(×10 ⁹ /L)	276.0	278.0	±5

表 4 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪携带污染情况

项目	L1	L3	H3	携带污染率(%)
WBC(×10 ⁹ /L)	2.35	2.43	39.24	0.22
RBC(×10 ¹² /L)	1.19	1.52	5.89	0.68
Hb(g/L)	39.00	40.00	189.00	0.67
Hct(%)	22.90	22.60	62.90	0.74
PLT(×10 ⁹ /L)	47.00	53.00	443.00	1.35

注:仪器设定携带污染率(%)为 WBC≤2.0%;RBC≤2.0%;Hb≤1.0%;Hct≤2.0%;PLT≤5%。

2.5 线性分析 将高浓度全血样本,用生理盐水稀释为 100%、80%、60%、40%、20%、10% 不同浓度,每份样本用 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪各测定 2 次,取平均值为测定值,测得值与稀释浓度理论值经 Excel 进行线性回归相关分析。结果见表 5。

表 5 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪的线性分析结果

项目	截距(a)	回归系数(b)	相关系数(r)
WBC(×10 ⁹ /L)	0.993	0.202	0.999
RBC(×10 ¹² /L)	0.115	1.311	0.995
Hb(g/L)	0.998	0.275	0.999
Hct(%)	-0.314	1.018	0.998
PLT(×10 ⁹ /L)	18.34	0.985	0.998

2.6 WBC 分类评价 (1)重复性:取 1 例静脉抗凝血重复测定 10 次,分别计算中性粒细胞(NEU),嗜酸性粒细胞(EOS),嗜碱性粒细胞(BAS),淋巴细胞(LYM),单核细胞(MON)的变异系数(CV)值。结果见表 6。表中 MON、EOS、BAS 的 CV 值偏大,是由于它的百分率偏低所致,与仪器本身因素无关。(2)WBC 分类相关性:同时由 2 名具有丰富临床血液学检验经验的中级技术人员取体检未发现异常的健康静脉血标本 100 份,用 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪检测 1 次,同时每份标本

推 2 张血片,瑞氏染色后用 Olympus 光学显微镜进行白细胞分类计数。每张血片各分类计数 200 个 WBC,共计 400 个 WBC,取平均值与仪器 WBC 分类结果进行比较。手工操作按《全国临床检验操作规程》(第 3 版)^[2]进行。结果见表 6。

表 6 WBC 分类的重复性及相关性

参数	NEU	LYM	MON	EOS	BAS
重复性	0.32	2.66	6.29	7.71	21.30
相关性	0.977	0.954	0.735	0.948	0.901

2.7 形态异常血细胞的检出能力 取住院患者抗凝静脉血 30 份,以 ACT 5diff 血细胞分析仪进行测定;同时每份标本推 1 张血片,显微镜目测进行观测,并比较两者形态异常血细胞的检出情况。结果:在这 30 份样本中,仪器分类阴性占 20 份,人工分类阴性占 25 份。阴性标本的显微镜镜检均未查见异常细胞,其灵敏度为 100%,阴性预示值为 100%,假阴性(仪器显示为阴性结果,而人工镜检可见异常细胞)为 0%。阳性标本的显微镜镜检,其中假阳性(仪器显示为阳性结果,而人工镜检未见异常细胞)占 5 例,假阳性率为 16.6%。因仪器计数细胞的量是人工计数量的数十倍,有一定差异,与文献报道一致^[3]。

3 讨 论

随着各级医院日就诊量的提高,在门诊使用测试速度快、准确度高、重复性好的血细胞分析仪已是必然,在保证质量的同时可大大提高检验人员的工作效率。门诊患者情况较为复杂,特别是婴幼儿抽取静脉血较为困难,Coulter ACT 5diff 血细胞分析可以用静脉和末梢血进行测试。可以分析输出 26 项参数、3 个直方图和 1 个 WBC 散点图。通过以上性能测试结果可以看出,该仪器的精密度高、准确度高、仪器携带污染率低、线性相关性好,对异常血细胞具有一定的检出能力。但迄今为止,尚未有任何一种血细胞分析仪可以完全取代人工染色镜检,只能作为一种过筛工具^[4-5]。通过对仪器细胞分类和显微镜法细胞分类进行相关性分析,可见 NEU、EOS、BAS 的相关性较好($r>0.9$),两种分类方法差异无统计学意义($P>0.05$),而 MON 为 0.735,差异有统计学意义($P<0.01$)。由于染色的血涂片可以提供许多其他的重要信息,特别是能识别各种异常细胞及寄生虫,因此,对于计数过高或过低以及直方图或散点图显示异常,出现各种信号报警时,尤其是当单核细胞分类高于正常范围时要以显微镜镜检确定细胞类型为准,仪器的细胞分类仅为过筛作用。

通过以上对 Coulter ACT 5diff 血细胞分析仪性能的评价,作者认为其性能良好,测试速度快,特别是 WBC 分类异常提示信息在日常工作中起着重要作用,是一种较为理想的血细胞分析仪,可用于各型医院实验室。

参考文献

[1] Kresie L, Benavides D, Bollinger P. Performance evaluation of the application of body fluids on the Sysmex XE-2100 series automated hematology analyzer[J]. Lab Hematol, 2005,11(1):24-30.

[2] 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,2006:121.

[3] 杨晏. Diana-5 全自动血液分析仪测定(下转第 2445 页)

21 例梅毒疑似阳性患者中糖尿病 4 例,肠梗阻 1 例,脑梗死 2 例,心脏病 1 例,类风湿 2 例,肾衰竭 1 例,高血压 1 例,感染 4 例,动脉粥样硬化 1 例,骨折 1 例,肿瘤 3 例。

3 讨 论

试验结果显示普通人群梅毒抗体筛查不符合比率为 3%,并随着年龄的增大,不符合比率也随之增大;80 岁以上老年人梅毒不符合比率可达 20%以上,与文献报道老年人梅毒不符合率在 20%左右相同^[2]。21 例不符合率患者患有其他基础病,包括类风湿病、肿瘤、糖尿病、肾衰竭、感染等,另有 1 例 85 岁患者骨折后检测梅毒抗体阳性。

梅毒螺旋体感染机体后可产生抗梅毒螺旋体抗体,即特异性抗体,主要有 IgM 和 IgG。梅毒血清学试验包括非梅毒螺旋体和梅毒螺旋体试验,前者操作容易且便宜。然而,由于非特异性的原因,假阳性概率较高^[3](而且定性和定量准确度也较差^[4],不适合作为过筛试验,但可用作疗效监测)。梅毒螺旋体试验是用梅毒抗原检测其特异性抗体,常用方法有梅毒螺旋体血凝试验(TPHA)、梅毒螺旋体粒子凝集试验(TPPA)、基于 ELISA 原理的方法、荧光抗体吸收试验(FTA-ABS)和蛋白印迹法(Western blotting)等。近年来又相继有化学发光法的推出^[5],其中雅培公司所开发的 ARCHITECT i2000 全自动免疫分析仪采用微粒子化学发光免疫技术测定梅毒抗体(TP-CMIA)的方法已被广泛使用,其原理为:标本与包被有重组抗原(TpN15、TpN17 和 TpN47)的微粒子及稀释液混合后,标本中的抗体同微粒子上包被的梅毒抗原结合,通过清洗程序后,加入标记有 acridinium 的抗人-IgM 或 IgG,孵育并洗涤后,加入预激发液和激发液,通过测定反应液的相对光强度(RLU)可反映血清中梅毒抗体的水平。该方法敏感性和特异性较高,但其检测梅毒时的不符合问题也逐渐受到重视,总结出现不符合的原因,应该有下面几个方面:试剂盒主要是选自梅毒螺旋体外膜的脂蛋白 47、17、15×10³ 为分子抗原。用基因重组表达得到多肽抗原,再用人血清清蛋白与之联接,而且合成后的多肽一般不作提纯,直接作为试剂抗原使用^[5]。如片段过长,非特异性反应增高,即出现不符合;同时 CMIA 法所用的重组抗原可能包含引起不符合的序列使检测结果为不符合。并且重组抗原存在着不纯的问题,而且使用了人血清清蛋白,增加了意外假阳性抗原位点的可能^[6]。患者的标本中,有可能含有干扰免疫测定导致不符合的干扰因素,干扰因素一般包括类风湿因子(RF)、补体、高浓度的非特异免疫球蛋白、异嗜性抗体、某些自身抗体、交叉反应物质等^[7]。有报道恶性肿瘤患者梅毒螺旋体生物学不符合比较高^[8]。在类风湿患者、糖尿病感染或其他疾病及健康人血清中,常含有较高或不同浓度的 RF 或其他抗体,这就为梅毒不符合提供了基础。同时,当患感染、糖尿病、类风湿关节炎、肿瘤或其他疾病时可使患者体内含有治疗

性抗体、嗜异性抗体、自身抗体、类风湿因子、甲胎蛋白等,这些特殊成分在反应过程中可产生不符合^[6]。同时,老年人更容易出现免疫功能的异常,易产生一些抗体、异常蛋白质而干扰检测结果出现不符合^[6]。

综上所述,梅毒血清学试验虽然对梅毒筛查、诊断、预后具有临床价值,但也存在临床症状、不洁性生活史和既往史不符合的现实状况。如微粒子化学发光法梅毒血清检测显示实验室阳性,但病例没有病史和梅毒有关症状,此时流行病学的调查就显得尤为重要,除要认真分析检验的全过程有否出现错误外,关键是了解是否有感染性疾病、免疫功能紊乱等其他疾病。在此基础上,作出正确的判断,避免给患者造成不必要的心理负担。

参考文献

- [1] 李振荣,刘迪.梅毒螺旋体检测方法的临床评价[J].北京医学,2007,29(8):497-498.
- [2] 武建国.老年人抗梅毒螺旋体抗体测定假阳性率偏高[J].临床检验杂志,2006,24(6):241-243.
- [3] Marangoni A, Sambri V, Accardo S, et al. Evaluation of LIAISON treponema screen, a novel recombinant antigen based chemiluminescence immunoassay for laboratory diagnosis of syphilis[J]. Clin Dia Lab Immunol, 2005, 12(10):1231-1234.
- [4] Muller I, Brade V, Hagedorn HJ, et al. Is serological testing a reliable tool in laboratory diagnosis of syphilis? Meta-analysis of eight external quality control surveys performed by the german infection serology proficiency testing program[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(4):1335-1341.
- [5] 傅均星,周潇,曾铁兵.基因重组抗原 ELISA 法在梅毒螺旋体抗体检测中的评价[J].南华大学学报:医学版,2004,32(3):305-306.
- [6] 王柳溪. TP-ELISA 法检测老年人梅毒抗体易产生假阳性原因分析[J].医学理论与实践,2008,21(9):1085-1086.
- [7] Ismail AA. A radical approach is needed to eliminate interference from endogenous antibodies in immunoassays[J]. Clin Chem, 2005, 51(1):25-26.
- [8] 廖朝晖,陈明,黄进华,等.恶性肿瘤患者梅毒螺旋体抗体生物学假阳性分析[J].实用预防医学,2004,11(1):63-64.

(收稿日期:2011-05-27)

(上接第 2443 页)

- 参数的临床研究[J].国外医学临床生物化学与检验学分册,2005,25(1):8-10.
- [4] 丛玉隆.检验与临床诊断:质量管理和常规检验分册[M].北京:人民军医出版社,2006:266.

- [5] 陈宏础.重视血细胞分析仪检查后的复检工作[J].检验医学与临床,2006,3(2):49-50.

(收稿日期:2011-05-23)