

Sysmex XE-2100 对未成熟粒细胞临界值的确定

吴军录,戴 燕,万海英(同济大学附属同济医院检验科,上海 200065)

【摘要】 目的 对 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪的白细胞分类报警系统(Q-Flags)中提示的“未成熟粒细胞? (Imm Gran?)”报警信息的可信度进行分析,选择最佳临界值以确定手工镜检复查的标准。**方法** 选择本院门、急诊及住院患者的 1 200 例标本,根据仪器分类报警系统中“Imm Gran?”不同提示值的标本进行分类、染色、镜检,计数 200 个白细胞,以查见原始和幼稚细胞细胞大于或等于 1%,早幼粒和中幼粒细胞大于或等于 1%,晚幼粒细胞大于 2%为阳性标准。把 Imm Gran 的临界值分别设为 10、20、30……290、300,通过数据分析确定最佳临界值。其中假阴性率的最大可接受限不能超出 5%。最后选择 744 例标本验证新确定临界值的可信度。**结果** (1)通过比对确定临界值为 150 是最佳临界值。修改后,在假阴性不超过 5.00%(4.51%)的情况下,假阳性率由 56.36%降到 35.64%,真阴性率由 43.64%提高到 64.36%,总符合率由 57.00%提高到 71.83%。(2)验证试验显示无初发白血病细胞漏检。**结论** (1)重新建立了合适的 Imm Gran 临界值后,在保证检验质量的同时,减少了镜检复片数量,又提高了工作效率。(2)Imm Gran 报警提示值在 150~300 范围时应进行手工分片镜检复查。(3)Q-Flags 中临界值应根据自己实验室的实际情况重新修定。

【关键词】 血常规; Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪; 报警信息; 临界值

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.23.003 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)23-2822-02

The ascertainment of the threshold value of naive neutrophil in Sysmex XE-2100 WU Jun-lu, DAI Yan, WAN Hai-ying (Department of Clinical Laboratory, Tongji Hospital, Tongji University, Shanghai 200065, China)

【Abstract】 Objective To select the best threshold value to define the standard of manual re-examination by reliability analysis of "naive neutrophil? (Imm Gran?) " alarm information presented in leukocyte differential alarm system (Q-Flags) on the Sysmex XE-2100. **Methods** 1 200 cases were included in this study. Samples were processed with differential counting, staining, and microscope examination according to "Imm Gran?" information of Q-Flags. 200 leukocytes were counted in a randomly selected portion of the slide under light microscopy. Positive standard was determined by results of myeloblast with naive cells $\geq 1\%$, promyelocyte and neutrophilic myelocyte $\geq 1\%$ as well as neutrophilic metamyelocyte $> 2\%$. The best threshold value was defined by data analysis of Imm Gran through adjusting threshold value to 10, 20, 30 ... 290, 300, respectively. Maximum acceptance limit for false negative rate was not more than 5%. At last, 744 samples were selected for the ascertainment of threshold value reliability. **Results** (1) 150 was the best threshold value. After the adjustment of the threshold value, with false negative rate less than 5% (4.51%), Imm Gran increased from 100 to 150, while the false positive rate decreased from 56.36% to 35.64%. The true negative rate and total consistent rate increased from 43.64% to 64.36% and 57.00% to 71.83%, respectively. (2) Verification test showed that no primary leukemic cells were omitted. **Conclusion** (1) After the re-building of a proper threshold value of Imm Gran, this new threshold value guarantees the test quality, and not only reduces the number of manual re-examination but also increases work efficiency. (2) Manual re-examination should be performed when Imm Gran alarm information ranges between 150 and 300. (3) Threshold value of Q-Flags should be revised according to actual situation in laboratory.

【Key words】 blood routine test; Sysmex XE-2100; alarm information; threshold value

全自动血细胞分析仪在血液常规检验中的广泛使用,使血细胞检验的速度、精度都有了大幅度提高。随着新技术的不断开发与运用,使得仪器对异常细胞的提示能力越来越强,检验人员根据这些提示信息进行针对性的涂片显微镜镜检,能大幅度的提高工作效率,所以仪器的阳性报警临界值的设立就显得尤为重要。作者在使用 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪(以下简称 XE-2100)时发现白细胞分类报警系统(Q-flags)中假阳性率较高,导致了较高的复检率,针对此现象作者选择了其中一类报警提示信息“未成熟粒细胞? (Imm Gran?)”设定合适的临界值,以确定手工镜检复查的标准,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 检测对象 所有标本均来自 2010 年 6~12 月本院门急

诊及住院患者 1 200 例,所有血常规标本均用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝。

1.2 仪器与试剂 日本希森美康公司生产的 XE-2100 及配套试剂。日本奥林巴斯光学株式会社生产的 Olympus CX31 光学显微镜。自行配制瑞氏-姬姆萨染液(按《全国临床检验操作规程》要求配制^[1])。

1.3 标本采集 EDTA-K₂ 真空抗凝采血管取肘静脉血 2 mL,轻轻混匀。

1.4 临界值的设定 仪器为每个可疑报警信号设置一个直方图来表达“Yes/No”可疑信号^[2]。XE-2100 将 Q-flags 的阳性临界值设为 100,若报警信息提示值低于 100 则定义为阴性,若报警信息提示值大于或等于 100 则定义为阳性。对厂家设定的

Imm Gran 临界值进行重新定义,把 Imm Gran 的临界值分别设为 10、20、30……290、300,通过数据分析确定最佳临界值。

1.5 检测方法 标本上机检测,按照仪器 Imm Gran 的提示值留取标本,每个界限范围内收集 40 例标本,推制血片并进行瑞氏-姬姆萨染色后镜检,所有标本均在 4 h 内处理完毕。

1.6 镜检判断标准 按许文荣和王建中^[3]描述的粒细胞形态来判定。油镜下观察 200 个白细胞,以查见原始和幼稚细胞大于或等于 1%,早幼粒和中幼粒大于或等于 1%,晚幼粒细胞 2%为阳性标准^[4]。

1.7 阳性判断 仪器提示阴性且镜检阴性者为“真阴性”,仪器提示阳性且镜检阳性者为“真阳性”,仪器提示阴性而镜检阳性者为“假阴性”,仪器提示阳性而镜检阴性者为“假阳性”^[5]。真阳性率=真阳性/(真阳性+假阴性)×100%;真阴性率=真阴性/(真阴性+假阳性)×100%;假阳性率=假阳性/(真阴性+假阳性)×100%;假阴性率=假阴性/(真阳性+假阴性)×100%;总符合率=(真阳性+真阴性)/(真阳性+真阴性+假阳性+假阴性)×100%^[6]。

1.8 修正后的验证评估 采用修订后的临界值对新采集 744 例标本(主要包括血液病、肿瘤放化疗、外科术后、小儿科及急诊患者)结果进行验证,评估规则的可信度,计算真阳性率(%)、假阳性率(%)、真阴性率(%)、假阴性率(%)。

2 结 果

2.1 作者共选取仪器提示 Imm Gran 报警信息的标本 1 200 例。把 Imm Gran 临界值分别设为 10、20、30……290、300,以 10 为一个界限,每个界限范围内收集 40 个标本,将这 30 组标本信息进行分析来确定最佳临界值,并与手工镜检结果对照,在假阴性率不能超出 5%前提下,最终把 Imm Gran 报警信息的最佳临界值修定为 150。Imm Gran 报警提示值范围与手工镜检结果比较见表 1。

表 1 Imm Gran 报警提示值范围与手工镜检结果比较[n(%)]

阳性临界值	假阴性	假阳性	真阴性	真阳性	总符合率
80	0(0.00)	592(64.91)	320(35.09)	288(100)	608(50.67)
90	1(0.35)	553(60.64)	359(39.36)	287(99.65)	646(53.83)
100	2(0.69)	514(56.36)	398(43.64)	286(99.31)	684(57.00)
110	3(1.04)	475(52.08)	437(47.92)	285(98.96)	722(60.17)
120	5(1.74)	437(51.86)	475(48.14)	283(98.26)	758(63.17)
130	8(2.78)	400(43.88)	512(56.14)	280(97.22)	792(66.00)
140	10(3.17)	362(39.69)	550(60.31)	278(96.53)	828(69.00)
150	13(4.51)	325(35.64)	587(64.36)	275(95.49)	862(71.83)
160	18(6.25)	290(31.80)	622(68.20)	270(93.75)	892(74.33)
170	26(9.03)	258(28.29)	654(71.71)	262(90.97)	916(76.33)

注:阳性临界值小于 80 时假阳性率大于 64.91%,过高;阳性临界值大于 170 时假阴性率大于 9.03%,超出了假阴性率的最大可接受限 5%,结果无意义。

2.2 Q-flags 中 Imm Gran 阳性临界值由 100 修改为 150 后,在假阴性率不超过 5.00%(4.51%)的况下,假阳性率由 56.36%降到 35.64%,真阴性率由 43.64%提高到 64.36%,总符合率由 57.00%提高到 71.83%。

2.3 修正后的验证评估 为了验证修订后的 Q-flags 中 Imm Gran 临界值的可信度,采集了 744 例(主要包括血液病、肿瘤

放化疗、外科术后、小儿科及急诊患者)血常规标本在 XE-2100 按标准操作程序测定,然后涂片、镜检、比对,按照 150 为临界值进行数据统计,结果为真阳性率 53.23%(396/744)、假阳性率 16.13%(120/744)、真阴性率 27.02%(201/744)、假阴性率 3.63%(27/744),无初发白血病细胞漏检。

3 讨 论

在使用自动化血细胞分析仪检测血液标本的同时,辅之以手工涂片镜检的形态学检测,可以提高血细胞分析结果的准确性^[7]。然而,手工推片镜检操作繁琐,费时费力,操作者的技术水平对结果的影响很大。同时,对所有结果都进行推片镜检肯定会影响检验科的工作效率,尤其是对门急诊量大的医院不是理想的方法,更不现实。因此,国际实验血液学会(ISLH)提出:在保证血细胞分析检验结果质量的前提下,应尽量减少涂片检查标本的数量^[8]。根据血细胞分析仪的异常提示信息,有选择、针对性地对血液标本进行涂片观察,也是 ISLH 的建议之一。所以,熟悉血细胞分析仪的性能,尤其是异常提示信息的可靠性,就显得尤为重要^[9]。

XE-2100 具有核酸荧光染色技术(DIFF 通道)和激光流式分析技术(WBC/BASO 通道)两种方法检测白细胞总数和分类的优点,并拥有幼稚细胞专用检测技术(IMI 通道)。当激光照射到被检细胞时,依据每个细胞产生的 3 种信号来分辨细胞,前向散射光反映细胞的体积,侧向散射光反映细胞内容物,如核和颗粒等,侧向荧光反映细胞内 DNA 和 RNA 的含量,以此得到细胞散点图和细胞直方图,从而保证了白细胞分类的准确性。

Q-flags 是 XE-2100 的报警系统,其提示信息来源于内在特定电脑程序对原始检测参数的解读和综合分析,通过计算得到 Q-flags 值。该界限值厂家设定为 100,最大可读值为 300。通过对 Q-flags 中 Imm Gran 报警信息提示值的分析,作者发现,仪器报警提示值越高,手工镜检阳性率越高。同时,也发现住院患者的假阳性率高于门诊患者,可能是由于药物的作用使白细胞的形态和结构发生了改变,导致仪器误报,特别是肿瘤放化疗患者的血常规,假阳性报警尤为明显。白血病患者报警提示值与手工镜检结果完全相符,说明 XE-2100 对白血病的筛选有较高的可靠性。

由于仪器的假阳性率较高,增加了手工镜检的工作量。因此,作者把 Q-flags 中 Imm Gran 临界值由 100 修定为 150。修改后,在假阴性率不超过 5.00%(4.51%)的况下,假阳性率由 56.36%降到 35.64%,真阴性率由 43.64%提高到 64.36%,总符合率由 57.00%提高到 71.83%。这就使 XE-2100 的筛选能力更加突出,重新建立了合适的 Imm Gran 临界值后,在保证检验质量的同时,减少了镜检复片数量,使复片工作针对性更加明显,提高了工作效率。在实际工作中,最好把 Imm Gran 的报警提示值与其他 Q-flags 报警提示值并结合白细胞散点图一起分析,并同时注意临床诊断,更有助于异常细胞的检出。

XE-2100 Q-flags 中的 Imm Gran 报警信息具有良好的可信度,报警信息提示值越大,手工镜检阳性率越高;建议把 Imm Gran 报警信息的临界值修改为 150,其提示值在 150~300 范围内时应进行镜检复查。Q-flags 中临界值应根据自己实验室的实际情况重新修定。Imm Gran 报警信息提示值为阴性结果时,也不能完全排除未成熟粒细胞存在的可能。

参考文献

[1] 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,2006:124.(下转第 2825 页)

2.2 按不同年龄组计算 3 台仪器 RBC 与 PLT 比率的总均值,同年龄组 3 台仪器总体均值比较差异均无统计学意义($P>0.05$),但大于 15~50 岁组与大于 50 岁组的总体均值均比小于或等于 15 岁组高,且差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 3 台仪器检测不同年龄组 RBC 与 PLT 比率的总均值($n=400$)			
年龄(岁)	diff II	Gen. s	2100E
≤15	20.10±5.22	21.10±6.20	21.75±4.21
>15~50	24.78±5.02	24.55±5.78	23.73±5.03
>50	26.06±7.11	26.48±8.61	24.85±5.92

3 讨 论

早在 1965 年 Hoffman 和 Waid 就描述了使用患者数据均值(正态均值)进行质量控制的方法。目前使用较为广泛的是 Bull 报道的 X-B 浮动均值法,其基本原理是人群中平均红细胞体积、平均血红蛋白含量、平均血红蛋白浓度检测结果的均值应稳定在较窄的范围内($\pm 3\%$)。若均值超出范围,提示红细胞系的相关检测参数的结果可能异常,用于室内质控既“敏感”又“即时”^[3]。与此相类似,由于人体 RBC 与 PLT 在体内的稳定性较高,因而患者的 RBC 与 PLT 比率均值也应相对稳定在一定的范围内。许蕾等^[4]在对 79 例女性和 120 例男性检测后得到了上海地区人群 RBC 与 PLT 比率(未分男、女组),使用流式细胞仪为 21.91±4.32,血细胞分析仪检测为 22.32±4.46,国外报道为 21.57±5.13,二者报道的数据非常接近。

本研究结果显示,在同年龄组男女均值在不同仪器组间差异无统计学意义。在不同年龄组,当年龄小于或等于 15 岁时,男、女性别间均值差异无统计学意义,在大于 15~50 岁组中,男性的均值显著高于女性,差异有统计学意义($P<0.01$),而在大于 51 岁组中男性也显著高于女性,差异有统计学意义($P<0.05$)。由于受到生理因素的影响,成年女性的 RBC 数普遍低于男性,而男、女间的 PLT 则较为接近,直接导致了成年男性的 RBC 与 PLT 比率显著高于女性。本研究结果显示,男女总均值均略高于许蕾等^[4]数据,是性别构成比不同、地区差异、仪器差异还是由于许蕾等未对列入统计的患者数据进行初筛或是其他原因有待进一步探讨。

临床对于准确计数 PLT 的需求越来越高,如 PLT 输注及疗效评估^[5],而 PLT 计数受到的影响因素则相对较多,传统的

显微镜直接计数法显然有许多缺陷,血细胞分析仪结果是否准确也只能依赖厂商提供的标准,因而要建立血细胞计数的参考方法^[6]。2001 年国际血液学标准化委员会推荐了间接 PLT 计数参考方法,即采用流式细胞分析仪测定经单克隆抗体标记的全血 RBC 与 PLT 比率,然后用颗粒计数仪或经校准的血液分析仪准确计数 RBC,最后计算血液中 PLT 参考值,由于是对细胞做特异性标记后分析,因而影响因素较少,检测结果可靠,推荐作为参考方法并为临床逐步接受。

鉴于研究对象全血 RBC 与 PLT 比率相对稳定,其临床应用至少应体现在几个方面:(1)用于间接 PLT 计数;(2)用于不同仪器间结果的比对,若在不同分析仪间该比率的值有明显差异或某阶段比率失控,应寻找原因并对仪器进行校准溯源;(3)由于血细胞质控物存在有效期短且难于分装的问题,该指数可用于监控其稳定性与均匀性;(4)相对于患者样本,全血细胞质控物 RBC 与 PLT 比率应更为稳定,日常应用时很难界定质控物是否混匀,该指数若变化过大,则提示可能混匀不均,识别假失控。

参考文献

[1] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:224-225.

[2] International Council for Standardization in Haematology Expert Panel on Cytometry; International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. Platelet counting by the RBC/platelet ratio method. A reference method[J]. Am J Clin Pathol, 2001, 115(3): 460-464.

[3] 钱厚明,赵江燕.应重视血细胞分析仪中 X-B 的意义[J]. 临床检验杂志,1996,14(2):97.

[4] 许蕾,胡晓波,李冰,等.上海地区人群红细胞血小板比率的实验研究[J]. 检验医学,2006,21(6):621-624.

[5] 钱厚明,黄成垠,徐士云,等.血小板凝血活性对预防性血小板输注预示价值的研究[J]. 临床检验杂志,2009,27(1):50-52.

[6] 彭明婷,谷小林,陆红,等.我国血细胞分析参考系统的建立[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(3):196-198.

(收稿日期:2011-06-22)

(上接第 2823 页)

[2] Herklotz R, Huber AR. Precision and accuracy of the leukocyte differential on the Sysmex XE-2100 [J]. Sysmex J Int, 2001, 11(1):8-21.

[3] 许文荣,王建中.临床血液学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007:37-43.

[4] Jones RG, Faust AM, Matthews RA. Quality team approach in evaluating three automated, hematology analyzers with five part differential capability [J]. Am J Clin Pathol, 1995, 103(2):159-161.

[5] 陈树辉,黎绍仕. BC-5500 全自动血液分析仪异常报警信息的分析及临床应用[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(8):93.

[6] 李萍. 生物化学检验[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,

2004:39-41.

[7] 陈梅,方伟祯,傅玉如. Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪分析网织红细胞性能评价[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(2):268-270.

[8] Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, et al. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis [J]. Lab Hematol, 2005, 11(2):83-90.

[9] 孔立新,杨波,孙黎,等. Sysmex SE9500“NRBC”异常提示信息可靠性分析[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(18): 2945.

(收稿日期:2011-08-30)