

两种流式细胞仪检测 T 细胞亚群的比对分析

李 睿(成都中医药大学附属医院检验科 610000)

【摘要】 目的 由于在测定全血 T 细胞亚群中 CD3、CD4、CD8 比例实验室可以使用 BD 与 Beckman 2 台流式细胞仪,为了保证两台仪器测定能提供一致的结果,于是对这两台仪器测定全血中 CD3、CD4、CD8 比例进行了比对。**方法** 美国临床实验室标准化委员会提供了一套方案,来确保不同仪器测定能提供一致的结果。采用荧光免疫和流式细胞术相结合,新鲜肝素抗凝血,在两台仪器双份重复测定。首先检查方法内两次重复测定的离群点,然后检查仪器间离群点,随后检查方法的测定范围是否足够宽,最后是将预期偏差与允许偏差相比较。**结果** CD3、CD4、CD8 均未超过可允许偏差。**结论** 实验室不用建立 BD FACScan 的正常参考值范围。

【关键词】 流式细胞仪; 比对; T 细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.004 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)13-1543-02

The comparison of two types of flow cytometry on detection of T lymphocyte subsets LI Rui (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of University of TCM of Chengdu, Chengdu, Sichuan 610000, China)

【Abstract】 Objective For detection on proportion of CD3, CD4, and CD8 in the T lymphocytes subsets, laboratory may use two types of flow cytometry including BD and the Beckman. In order to guarantee two instruments determinations with consistent result, we compare the proportion of CD3, CD4 and CD8 in blood by two types of flow cytometry. **Methods** NCCLS has provided a scheme to guarantee the mensuration on different instrument with consistent result. We used the fluoroimmunoassay with flow cytometry, and the sample was flesh blood of patients. We inspected the outlier of repeated measures and outlier between the two types of equipment; Then we checked wether the range of measurement was wide enough. Finally we compared the anticipated deviation and allowable deviation. **Results** The deviation of CD3, CD4, CD8 was not over the controlling limit. **Conclusion** The laboratory should not establish the normal reference value scope for BD FACScan.

【Key words】 flow cytometry; comparison; T lymphocyte

在测定全血 T 细胞亚群中 CD3、CD4、CD8 比例可以使用 XL-2(coulter)和 Canto(BD)2 台流式细胞仪,为了保证 2 台仪器测定能提供一致的结果,带着这个问题对此 2 台仪器测定全血中 CD3、CD4、CD8 比例进行比对,报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 仪器与试剂 XL-2(coulter)流式细胞仪以及 Canto(BD)流式细胞仪。所有试剂均为相应厂家配套试剂,所有试剂均在有效期内使用。

1.1.2 质控物 均为原装配套质控物

1.1.3 抗凝管及新鲜抗凝全血 肝素抗凝真空采血管购至美国 BD 公司。新鲜肝素抗凝血,来自健康体检者和住院患者。

1.2 方 法 (1)检验人员熟悉每一检测系统各个实验环节,熟悉评价方案。(2)以 XL-2(coulter)流式细胞仪分析系统为比较系统,Canto(BD)流式细胞仪分析系统为试验系统,试验系统和比较系统分别测定质控物,各项指标在控后检测试验样

本。(3)每天检测 8 例样本,连续检测 5 d,共检测 40 例。(4)所有标本执行双份测定,将标本按 1~8 的顺序排列先测 1 遍,然后将顺序颠倒再测 1 次。

1.3 统计学方法 将各相结果分别测出(包括 CD3、CD4、CD8 比例)求出均值。以 XL-2(coulter)流式细胞仪分析系统为比较系统,才用 Excel 软件建立回归方程,以医学决定水平或参考值作为自变量,计算偏倚。

2 结 果

2.1 2 台仪器比对 CD3 的结果 见表 1。2 台仪器的相关系数 $r=0.94$,因为 $r<0.975$,故测定范围不够宽。将预期偏差与允许偏差相比较。前述得到的线性回归方程为 $Y=0.92X+5.01$ 。 $Bc=a+(b-1)Xc$, Xc 分别取 40、50、60、70、80。计算 Bc 分别为 1.18、1.01、0.21、-0.59、-1.39。根据美国 CAP 的空间质评的标准 Coulter cytomics 可允许误差为 $1/2TEa$ 为 7.5%,BD FACScan 可允许误差为 $1/2TEa$ 为 7.5%。

表 1 CD3 检测的重复性分析结果(%)

NO	Xi1	Xi2	Yi1	Yi2	Dxi	Dyi	Xbar	Ybar	Dxi'	Dyi'
1	82.6	80.3	81	77.1	2.3	3.9	81.45	79.05	0.0282382	0.049335863
2	45.0	44.3	50.5	47.8	0.7	2.7	44.65	49.15	0.0156775	0.054933876
...
40	81.7	78.7	78.2	74.7	3.0	3.5	80.20	76.45	0.0374065	0.045781557

表 2 CD4 检测的重复性分析结果 (%)

NO	Xi1	Xi2	Yi1	Yi2	Dxi	Dyi	Xbar	Ybar	Dxi'	Dyi'
1	38.3	35.9	36.7	34.5	2.4	2.2	37.10	35.6	0.064690027	0.061797753
2	24.4	25.4	25.2	23.3	1.0	1.9	24.90	24.25	0.040160643	0.078350515
...
40	48.2	56.3	51.9	50.7	8.1	1.2	52.25	51.30	0.155023923	0.023391813

表 3 CD8 检测的重复性分析结果 (%)

NO	Xi1	Xi2	Yi1	Yi2	Dxi	Dyi	Xbar	Ybar	Dxi'	Dyi'
1	40.4	39.8	43.9	44.1	0.6	0.2	40.1	44.0	0.014962594	0.004545455
2	18.0	17	21.8	21.4	1.0	0.4	17.5	21.6	0.057142857	0.018518519
...
40	30.4	30.0	25.8	24.2	10.4	1.6	25.2	25.0	0.412698413	0.064

2.2 2 台仪器比对 CD4 的结果 见表 2。2 台仪器的相关系数 $r=0.95$, 因为 $r < 0.975$, 故测定范围不够宽。将预期偏差与允许偏差相比较, 前述得到的线性回归方程为 $Y=0.98X-1.76$, $Bc=a+(b-1)Xc$, Xc 分别取 40、50、60、70、80。计算 Bc 分别为 -2.56、-2.76、-2.96、-3.16、-3.36。Coulter cytomics 可允许误差范围为 $1/2TEa$ 为 7.5%, BD FACScan 可允许误差范围 $1/2TEa$ 为 7.5%。

2.3 2 台仪器比对 CD8 的结果 见表 3。2 台仪器的相关系数 $r=0.92$, 因为 $r < 0.975$, 故测定范围不够宽。将预期偏差与允许偏差相比较, 前述得到的线性回归方程为 $Y=1.07X+1.77$ 。 $Bc=a+(b-1)Xc$, Xc 分别取 40、50、60、70、80。计算 Bc 分别为 4.57、5.27、5.97、6.67、7.37。Coulter cytomics 可允许偏差为 $1/2TEa$ 为 7.5%, BD FACScan 可允许偏差 $1/2TEa$ 为 7.5%。CD3、CD4、CD8 均未超过可允许偏差, 结果具有很好的一致性。两种仪器可替换使用, 采用相同的参考值范围。

3 讨 论

随着科技的迅速发展, 流式细胞分析技术不断得到完善。

美国临床实验室修正法案以及国际标准化组织颁布的医学实验室认可标准 ISO15189 均要求临床实验室对临床检验分析系统或方法的分析性能进行评价, 并提供性能指标, 其中就包括正确度性能评价^[5]。我国政府发布的《医疗机构临床实验室管理办法》公报亦明确规定不用流式细胞分析仪需进行比对。

实验室 2 台流式细胞仪: XL-2(coulter) 和仪器 Canto(BD) 在测定 T 淋巴细胞表面标志物 CD3、CD4、CD8 的原理均是荧光免疫和流式细胞术相结合。为了保证这 2 台流式细胞仪在检测相同项目时候结果的一致性, 根据 NCCLS 提供的一套方案, 进行了这次比对分析^[1]。但是由于标本的限制, CD3、CD4、CD8 所占的比例的范围较一致, 并且不可通过稀释或浓

缩来解决, 故而造成实验结果测定范围不够宽, 只能通过尽量选择比例相差较大, 范围相对较宽的标本来解决这个问题。最后通过预期偏差与允许偏差的比较, 得出结论为 CD3、CD4、CD8 的预期偏差均未超过可允许偏差, 2 台仪器在检测 T 淋巴细胞表面标志物 CD3、CD4、CD8 具有很好的一致性, 两种仪器可替换使用, 采用相同的参考值范围。

建立流式细胞分析仪比对程序并定期执行比对试验, 存在不可比项目时进行整改, 包括对仪器进行必要的维护, 保养以及检修或校准乃至更新仪器, 找出不可比的本质原因, 采取相应措施解决寻在的问题后重新比对, 直至实现可比, 这已成为确保临床实验室为临床疾病诊疗及预后提供准确、可靠检验数据的有力措施之一^[5-6]。

参考文献

[1] National Committee for Clinical Laboratory standards. EP9-A : mothod comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wayner, PA: NCCLS, 1995: 1520.

[2] 高强, 赵颖. 三种葡萄糖检测方法的可比性研究[J]. 天津医科大学学报, 2005, 11(4): 634.

[3] 何愿民. 滴定法、速率法、电极法测定血浆碳酸氢根的比较[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(4): 210.

[4] 王爱红. Roche OMNIC 血气分析仪和 Beckman Lx20 生化仪测定的钾钠结果比较[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(4): 661.

[5] 张成禄, 谢建敏. 不同血细胞分析仪检测结果的比对研究[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(15): 1795-1797.

[6] 米忠勇. 实用医学检验学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1997: 261.

(收稿日期: 2012-01-03)

(上接第 1542 页)

of available methods of simulation training to facilitate surgical education[J]. Surg Endosc, 2011, 25(1): 28-35.

[8] Okuda Y, Bryson EO, DeMaria S Jr, et al. The utility of simulation in medical education: what is the evidence[J]. Mt Sinai J Med, 2009, 76(4): 330-343.

[9] Amitai Ziv, Shaul Ben-David & Margalit Ziv. Simulation-based Medical education: an opportunity to learn from errors[J]. Medical Teacher, 2005, 27(3): 193-199.

(收稿日期: 2011-12-28)