

血细胞分析仪比对试验应用的评价

赵陆伍(江苏省盐城市第一人民医院检验科 224001)

【摘要】 目的 验证不同血细胞分析仪检测结果之间的可靠性和可比性,规范操作血细胞分析仪的比对试验。**方法** 选择一台可溯源的血细胞分析仪作为参考比对仪器。在各仪器的精密度检测合格后,用新鲜高、中、低抗凝全血分别在各仪器上检测,收集白细胞、红细胞、血红蛋白、红细胞比容、血小板 5 个项目的数据,应用差异百分率方法将各仪器检测数据与参考仪器数据进行比对。**结果** 各比对仪器携带污染率正常;检测指标的变异系数以及在不同血细胞分析仪上的总体变异系数均小于 5%;各检测项目的差异百分率符合 ICSH 制定的标准;20 例标本在不同血细胞分析仪上检测的各项指标经两两比较的 q 检验(Newman-Keuls 法),各配伍组总体均数差异无统计学意义($P>0.05$);连续 7 d 测得的各项指标与参考样机之间的相关系数均大于 0.97,其相对偏差在实验允许误差范围内。**结论** 当同一实验室使用不同的血细胞分析仪时,应定期对仪器进行比对分析,发现问题及时校准,保证检测结果的准确性。

【关键词】 血细胞分析仪; 比对试验; 规范化

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)13-1545-03

Evaluation on a comparative test of hematology analyzers ZHAO Lu-wu (Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Yancheng City, Jiangsu 224001, China)

【Abstract】 Objective To analyze the reliability and comparability of different hematology analyzers and standardize the operation of a comparative test. **Methods** We selected one analyzer which can be cast back to precision value as a standard comparative instrument. After precision of different analyzers were qualified, fresh high-, mid- and low-value anticoagulant blood were detected by these analyzers, then we compared results of WBC, RBC, HB, HCT and PLT with those of the standard analyzer by average variation percentage respectively. **Results** The carry-over rate of all contrast hematological analyzers were normal. Coefficient of the variation of the detective items and the total coefficient of variation of different hematological analyzers were all less than 5%. The test results of 20 blood samples detected by different hematological analyzers were analyzed by a q test which indicated that there were no statistical differences between blocks($P>0.05$). The correlative coefficient was over 0.97 and the relative deviation was within the range of allowable error. **Conclusion** When there are different hematology analyzers in a laboratory, we should compare their results periodically to make calibration in time and guarantee accuracy of the results.

【Key words】 hematology analyzer; comparative test; standardization

随着检验医学的发展,电子技术、流式细胞技术、激光技术、电子计算机等多种高科技技术在医学检验仪器上的广泛应用,使血细胞分析仪的自动化程度不断提高并广泛应用于临床^[1]。同一实验室同时使用不同厂家或同一厂家不同型号的血细胞分析仪的现象已很普遍。而不同的血细胞分析仪因分析系统的差异对同 1 例标本的测定结果间可以存在着误差^[2]。因此,规范操作血细胞分析仪的比对试验成为临床实验室亟待解决的问题。本科室自 2008 年以来试用新鲜抗凝全血在 4 台血细胞分析仪之间进行结果比对,取得了较为满意的效果,多年来不断改进和完善实验操作,现已形成了一套较为规范的操作程序,并制定了不同血细胞分析仪比对试验的 SOP 文件,现将较为满意的一次比对试验报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 仪器与试剂 血细胞分析仪 4 台,分别为 Beckman Coulter LH-750 型(简称 LH-750)2 台(编号为 LH750-A、LH750-B),SysmexXE-2100 型(简称 XE-2100)1 台,Beckman Coulter MAXM(简称 MAXM)1 台。试剂均为原装配套或进口分装。选择多年来使用的 Beckman 系列 LH750-A 血细胞分析仪作为比对试验的参考样机。

1.1.2 质控物 原装配套全血细胞质控物。

1.1.3 校准品 原装配套全血细胞校准品。

1.1.4 抗凝管及抗凝全血 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)真空抗凝管购自四川成都瑞琦科技实业公司,EDTA-K₂抗凝全血来自健康志愿者或临床测定标本。为了避免抗凝剂、温度等各方面的影响,所有标本的检测均在 2 h 内完成。

1.2 方 法

1.2.1 试验前的准备 为保证结果的准确性和重复性,要求室温 20~25 ℃,湿度小于 80%。试验前每台血细胞分析仪进行日保养,以确保管路通畅和清洁,然后做空白计数和携带污染率测定。携带污染率采用 ICSH 制定的规程^[3],将高浓度样本连续测定 3 次(H1、H2、H3)后,接着进行 3 次低浓度样本(L1、L2、L3)的测定,通过公式计算:携带污染率(%)=[(L1-L3)/(H3-L3)]×100%。

1.2.2 仪器稳定性监控 实验期间密切关注室内质控情况,发现失控及时查找原因。实验结束分别计算试验期间各仪器室内质控检测项目的均值、标准差和变异系数。

1.2.3 精密度测定 随机选取门诊患者 EDTA-K₂ 抗凝新鲜全血 8 例,每台仪器选用 2 例标本分别采用手动和自动方法各测试 11 次,去掉第 1 次结果,分别统计 20 次结果的白细胞

(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、红细胞比容(HCT)和血小板(PLT)的 S 及 CV。

1.2.4 靶值设定及差异百分率测定 血细胞分析仪比对的靶值设定非常严格,一般要求选择高、中、低 3 份新鲜抗凝全血,分别在经过校准的血细胞分析仪上连续测定 11 次,去掉第 1 次结果,以 10 次的均值作为靶值。本研究经 LH750-A 血细胞分析仪定值后,分别在 LH750-B、XE-2100、MAXM 上进行测定,与靶值比较计算差异百分率。

1.2.5 日内比对试验 任意选择 20 例新鲜抗凝全血,在不同血细胞分析仪上检测,统计比较各项指标在不同血细胞分析仪之间的差异。

1.2.6 日间比对试验 结合血细胞检测的特点,参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)中 EP9-A2 文件^[4],每日取高、中、低 3 例新鲜抗凝全血(低于参考范围的低限到高于参考范围的高限),按照“高-中-低-低-中-高”的顺序,分别在 4 台仪器上平行检测 2 次,取平均值,连续比对 7 d,共测定 28 例标本。分别比较各项指标与 LH750-A 测定结果之间的相关性。

1.2.7 相对偏差估计 根据回归方程估计相对偏差:相对偏差=(计算值-测定值)/测定值×100%。

1.2.8 评价标准 各仪器性能参数参照血细胞分析仪应用说明书;室内质量控制遵循多规则判断标准;仪器精密度评价依据美国临床实验室改进修正法案(CLIA'88)规定的室间质量评价标准允许误差的 1/4 作为判定规则^[5],即 CV 值满足:WBC≤3.75%,RBC≤1.5%,Hb≤1.75%,HCT≤1.5%,PLT≤6.25%;各指标检测的差异百分率采用 ICSH^[3]和 NCCLS^[4]制定的标准作为判定规则:WBC±5%、Hb±2%、PLT±9%。仪器比对的相关系数参照 ICSH 和 NCCLS 制定的标准作为判定规则: $r > 0.95$;不同血细胞分析仪之间各指标的评价依据 CLIA'88 规定的允许误差的 1/2 作为判定规则,即 CV 值满足:WBC≤7.5%,RBC≤3.0%,Hb≤3.5%,HCT≤3.0%,PLT≤12.5%。

1.3 统计学方法 精密度测定用变异系数,各项指标在不同血细胞分析仪之间的比较用方差分析,各配伍组总体均数间的差异用两两比较的 Newman-Keuls 法 q 检验,日间 LH750-A

测定结果与其他仪器间的对比比较用相关和回归分析。

2 结 果

2.1 空白计数及携带污染率测定结果 各比对仪器空白计数:WBC≤0.02×10⁹/L、RBC≤0.02×10¹²/L、Hb≤0.5 g/L、HCT≤0.2%、PLT≤1×10⁹/L,符合仪器使用要求。携带污染率:WBC≤0.85%、RBC≤1.34%、Hb≤1.22%、HCT≤0.84%、PLT≤1.53%,均符合要求。

2.2 仪器稳定性观察结果 实验期间,4 台血细胞分析仪室内质控各项参数的均值、标准差和变异系数均在可控制范围内,说明试验期间各仪器性能稳定。

2.3 仪器精密度测定结果 随机选取门诊患者 EDTA-K₂ 抗凝新鲜全血 8 例,每台仪器选用 2 例标本测试了 20 次,各项指标的 s 及 CV 见表 1。结果显示,4 台仪器测定的 WBC、RBC、Hb、HCT 和 PLT 的精密度均在仪器规定的范围内,说明各仪器测定结果的精密度高,重复性好。

2.4 仪器准确度测定结果 以经过严格校准的 LH750-A 血细胞分析仪上测得的均值作为靶值,在各仪器上测定的各项指标的差异百分率见表 2。

表 1 各仪器的精密度

项目	操作方式	LH-750A		LH-750B		XE-2100		MAXM	
		x	CV(%)	x	CV(%)	x	CV(%)	x	CV(%)
WBC	自动	0.190	2.63	0.680	1.32	0.048	0.84	0.170	2.98
	手动	0.960	1.70	0.110	1.09	0.140	1.65	0.060	0.93
RBC	自动	0.070	1.50	0.052	1.16	0.047	1.12	0.060	1.28
	手动	0.320	0.66	0.052	1.16	0.032	1.05	0.050	1.11
Hb	自动	1.380	0.96	1.080	0.83	1.030	0.75	1.400	0.98
	手动	0.570	0.39	1.070	0.84	0.570	0.67	0.700	0.47
HCT	自动	0.005	1.16	0.003	0.81	0.004	1.03	0.003	0.71
	手动	0.003	0.77	0.005	1.26	0.003	0.98	0.005	1.04
PLT	自动	5.200	2.52	2.780	1.30	0.960	0.80	6.410	2.62
	手动	4.720	1.98	2.420	1.22	4.490	2.14	4.320	2.31

表 2 4 台仪器各指标检测的差异百分率比较(%)

项目	LH-750A			LH-750B			XE-2100			MAXM		
	高	中	低	高	中	低	高	中	低	高	中	低
WBC	0.59	0.93	-1.67	3.10	2.02	-3.06	0.66	-1.46	-1.50	2.67	1.28	-4.55
RBC	1.16	0.00	0.82	-0.72	-1.64	-1.61	-1.92	-1.18	-1.75	0.90	1.27	-1.89
Hb	-1.55	0.00	-1.07	0.69	0.00	-1.96	1.70	1.59	1.69	-1.61	-1.37	1.43
HCT	1.79	1.11	1.34	0.00	-0.41	-1.37	-1.68	-1.16	-1.85	0.52	1.51	-0.91
PLT	-2.72	-3.11	3.23	-0.16	0.99	0.00	4.28	5.83	-5.19	-2.05	3.93	-5.56

表 3 各项指标在不同血细胞分析仪上检测结果的比较

项目	LH-750A	LH-750B	XE-2100	MAXM
WBC(×10 ⁹ /L)	6.48	6.55	6.53	6.46
RBC(×10 ⁹ /L)	4.22	4.19	4.2	4.27
Hb(g/L)	130.1	130.6	131.0	130.70
HCT(%)	37.94	37.51	37.50	37.65
PLT(×10 ⁹)/L	208.9	213.6	211.9	207.70

2.5 日内比对试验结果 20 例标本在不同血细胞分析仪上检测的各项指标的结果见表 3。经方差分析,尚不能认为各处理组总体均数不相等,各配伍组总体均数经两两比较的 q 检验(Newman-Keuls 法)差异也无统计学意义。

2.6 日间比对试验结果 以 LH750-A 血细胞分析仪为参考样机,4 台仪器测得的各项指标分别与之比较的相关系数(r)和回归方程见表 4。4 台仪器经连续 7 d 高、中、低检测共 28 例标本,LH750-B、XE-2100、MAXM 3 台血细胞分析仪测得的

结果与 LH750-A 比较, WBC、RBC、Hb、HCT 和 PLT 的 *r* 值均大于 0.97。

2.7 3 台仪器与 LH750-A 比对的相对偏差 依据 CLIA'88

规定允许误差的 1/2 作为判定标准, 3 台仪器与 LH750-A 血细胞分析仪之间 WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 的相对偏差均在临床可接受范围内, 见表 5, 故暂不必对仪器进行校准。

表 4 各项指标与 LH-750A 测定结果之间相关性比较

项目	LH-750B		XE-2100		MAXM	
	<i>r</i>	线性方程	<i>r</i>	线性方程	<i>r</i>	线性方程
WBC	0.997 4	Y=1.470X-0.787 0	0.996 1	Y=1.006 6X-0.091 3	0.998 7	Y=0.987 6X+0.008 7
RBC	0.998 7	Y=1.005 6X-0.078 2	1.000 0	Y=1.001 9X-0.063 5	0.998 7	Y=1.003 9X+0.023 3
Hb	0.996 1	Y=0.998 5X+1.034 7	0.997 1	Y=1.021 6X-0.887 8	1.000 0	Y=1.034 3X-4.239 9
HCT	0.992 2	Y=1.014 4X-0.997 0	0.997 4	Y=0.996 4X-0.713 0	0.996 1	Y=0.980 8X+0.306 6
PLT	0.994 8	Y=1.024 5X-0.658 9	0.989 6	Y=0.974 7X-0.713 0	0.997 4	Y=0.970 4X-3.108 3

表 5 3 台仪器与 LH-750A 比对的相对偏差

项目	测定值	LH-750B	XE-2100	MAXM
WBC	8.98	3.19	-0.36	-1.44
RBC	4.32	-1.25	-1.28	0.93
Hb	133.20	0.63	1.49	0.25
HCT	39.09	-1.11	-2.22	-1.14
PLT	211.80	3.18	-2.87	-4.43

3 讨 论

3.1 血细胞分析仪比对的必要性 近年来, 血细胞分析仪的校准、质量控制以及不同仪器测定结果间的比对是血细胞分析仪研究的热点, 虽然室内质控和室间质评在有效避免偶然误差和系统误差方面发挥了重要作用, 但室内质控和室间质评却难以满足不同型号仪器之间的结果比对, 如何规范操作仪器之间结果的比对试验是检验界亟待解决的问题。多年实践证明, 通过以上方法用新鲜抗凝全血定期在不同血细胞分析仪之间进行比对, 可敏感发现仪器的系统误差, 从而将结果控制在可接受范围内。本科室现拥有 6 台 5 个型号血细胞分析仪, 工作中发现, 即使同一型号的仪器, 使用统一配套试剂, 也可能出现同一患者先后结果的偏差。为防止实际工作中由于不同人员的操作和仪器使用中出现较大偏移等诸多情况, 使用多台血细胞分析仪时, 在对仪器进行定期校准、质量控制的基础上, 必须建立仪器之间的比对制度。定期用抗凝新鲜全血在实验室内不同型号的仪器上进行结果比对, 既确保检验结果的可比性, 同时也有利于不同级别医院检验结果互认制度的推广应用。

3.2 比对结果的评价 不同血细胞分析仪比对结果的评价应包括比对期间室内质量控制的监测, 以及比对试验前对每台仪器进行的日保养、空白计数、携带污染率、精密度和差异百分率测定。在保证仪器正常运行的情况下, 综合评价日内及日间比对结果。每一项检测指标不合格, 均应查找原因, 在排除试剂及偶然误差的情况下, 必要时对仪器进行检修或校准(溯源至国际标准或使用溯源至国际标准的二级标准检测系统)后重新测定^[6]。本次试验结果显示, 各比对仪器空白计数符合要求, 所有检测项目携带污染率均小于 1.53%。4 台仪器检测的 WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 的精密度均在 CLIA'88 规定的 1/4 允许误差的可接受范围内, 说明各仪器测定结果的精密度高, 同一标本在 4 台仪器上的重复性良好。各检测项目的差异百分率符合 ICSH 制定的标准, 说明各仪器检测的准确性较

高。经方差分析, 20 例标本在不同血细胞分析仪上检测的 WBC、RBC、Hb、HCT 和 PLT 尚不能认为各处理组总体均数不相等, 各配伍组总体均数经两两比较的 *q* 检验 (Newman-Keuls 法) 差异无统计学意义。连续比对 7 d 共 28 例标本, 在 3 台仪器上测得的结果与 LH750-A 比较, WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 均呈显著性正相关, 相关系数均大于 0.97。通过回归方程计算获得的相对偏差均在 CLIA'88 规定允许误差的 1/2 范围内。

3.3 需要解决的问题及建议 血细胞分析仪的比对试验亟待规范化, 制约比对试验的关键问题, 一是血细胞分析仪的比对尚没有规范化文件, 使许多单位盲目操作, 无从下手, 起不到比对的真正价值, 有的甚至从未进行过仪器的比对。二是血细胞分析仪定期校准比较困难, 致使比对试验中没有参考样机。血细胞分析仪的比对中还常常遇到高低标本难以获取的问题, 通过对新鲜血适当离心浓缩得到高值标本, 同型血浆、血细胞稀释液或适量等渗盐水稀释得到低值标本, 可获得较满意的效果。相信随着血细胞分析仪的校准, 一个单位甚至一定区域范围内血细胞分析结果的比对试验会逐步完善, 并不断规范化、制度化。

参考文献

- [1] 姜穗. 血细胞分析仪的工作原理及其近期发展[J]. 医疗设备信息, 2004, 4(19): 36-39.
- [2] 胡晓波, 李泳, 吴驾浦, 等. 上海地区血液分析仪准确性的研究和探讨[J]. 上海医学检验杂志, 2001, 16(16): 355-357.
- [3] 梅敏. 血细胞分析仪的校准与质控[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(1): 120-122.
- [4] NCCLS. EP9-A2; Evaluation of the Linearity of quantitative measurement procedures: A Statistical approach; approved guideline[S]. Wayner, PA: NCCLS, 2002: 320.
- [5] NCCLS. H20-2A ; Reference leukocyte differential count (Proportional) and evaluation of instrument methods [S]. Wayner, PA: NCCLS, 1992: 543.
- [6] 万颖蕾, 王剑飏, 张景全, 等. 全自动血球计数仪的比对分析[J]. 诊断学理论与实践, 2011, 10(6): 553-556.