

血细胞分析仪对外周血有核红细胞计数性能的评价

朱建锋, 张 莉, 王蓓丽, 张春燕, 郭 玮, 潘柏申(复旦大学附属中山医院检验科, 上海 200032)

【摘要】 目的 评价 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪计数外周血有核红细胞(NRBC)的性能。**方法** 选择门诊与住院患者乙二胺四乙酸二钾抗凝血标本,采用 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪与手工显微镜方法计数 NRBC,并对结果进行比较。**结果** 血细胞分析仪与手工显微镜方法之间相关性良好,相关系数为 0.938 4;58 份标本仪器法 NRBC 在 0.00%~0.99% 标本中 14 份(24.1%)手工法 NRBC 结果为 0.00%。24 份仪器法 NRBC 结果为 0.00% 的标本中 22 份(91.2%)手工法小于或等于 1.00%;仪器法重复性明显好于手工法,NRBC 平均 CV 为 8.0%。**结论** Sysmex XE-2100 血细胞分析仪与手工显微镜法之间相关性较好;仪器法重复性明显好于手工法;尽管出现少量仪器法与镜检法不一致结果,但均伴有其他白细胞和(或)血小板异常报警提示,也进行了显微镜复核。

【关键词】 血细胞分析仪; 有核红细胞; 血细胞计数

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)13-1764-03

Evaluation of the performance of Sysmex XE-2100 for detection of nucleated red cells in peripheral blood ZHU Jian-feng, ZHANG Li, WANG Bei-li, ZHANG Chun-yan, GUO Wei, PAN Bai-shen (Clinical Laboratory, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the performance of Sysmex XE-2100 analyzer for detection of nucleated red cells (NRBC) in peripheral blood. **Methods** Peripheral blood samples, collected from in-patients and out-patients and anticoagulated by ethylene diamine tetraacetate dipotassium, were detected by Sysmex XE-2100 analyzer and manual method using microscope and Wright-Giemsa stained smear. Then the results were analyzed. **Results** Correlation coefficient of the results detected by analyzer and manual method was 0.938 4. Among the 58 samples, with the NRBC percentage of 0.00%—0.99% detected by analyzer, there were 14 samples with NRBC percentage of 0.00%, detected by manual method, accounting for 24.1%. Among the 24 samples, with the NRBC percentage of 0.00% detected by analyzer, there were 22 samples with NRBC percentage less than or equal with 1.00%, accounting for 91.2%. The reproducibility of analyzer was better than manual method, and the coefficient of variability of the former was 8.0%.

Conclusion There could be fine correlation between the Sysmex XE-2100 analyzer and manual method. The reproducibility of analyzer might be better than manual method. A few samples could be with different results, detected by analyzer and manual method, but the analyzer could supply warning flag to perform manual review.

【Key words】 blood cell analyzer; nucleated red blood cells; blood cell counting

血液中出现有核红细胞(NRBC)是由于骨髓中的幼稚红细胞释放入外周血液所致。健康成人外周血中无 NRBC,但正常胎儿、新生儿出生及之后几天时的外周血中可出现多少不一的 NRBC^[1-2]。成人外周血出现 NRBC 或新生儿外周血中出现超过一定量的 NRBC 时多为病理状态,主要与机体缺氧或其他恶性疾病引起的骨髓损伤有关,因此准确计数 NRBC 具有重要临床意义。

NRBC 计数常作为白细胞(WBC)手工分类计数(DLC)内容的一部分,即分类 100 个 WBC 时所见到 NRBC 数量,报告形式为每 100 个 WBC 中多少个 NRBC(NRBC/100WBC),并手工校正 WBC 计数。现很多自动血细胞分析仪具有 NRBC 检测、计数功能。尽管已有数据显示仪器法与人工法 NRBC 结果相关性良好,且仪器法具有更高的批内精密密度^[3]。然而实际工作中却遇见以下问题:NRBC 为个位数时,仪器法与手工法相关性是否依然良好;两种方法对同份标本 NRBC 结果差异在多少范围是可接受的,尤其是 0.1%~10.0% 低值范围时;对无 NRBC 的标本仪器检测出 NRBC 的情况分析,或相反

情况;仪器法检测 NRBC 的重复性。本文对上述情况进行血细胞分析仪 NRBC 计数性能评价,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取门诊、住院患者标本 186 份(143 例患者),均为 BD 真空管(1 mg 乙二胺四乙酸二钾抗凝剂)采集 3 mL 血液,其中血液病患者 55 例,非血液病患者 88 例。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪及其配套试剂;使用核酸荧光染色法,采用荧光与光散射特殊通道检测并计数 NRBC,成熟红细胞与 NRBC 胞膜溶解,NRBC 裸核、WBC 进行荧光染色。利用流式细胞术前向散射角测量细胞大小,侧向荧光测量荧光强度区分 NRBC 与 WBC,随后计数 NRBC。仪器法结果包括 NRBC%、NRBC#,并校正 WBC 数。

1.3 NRBC 计数 XE-2100 仪器法:2 台 XE-2100 仪器使用 E-cal (Sysmex America Inc)校准,每日进行 3 种水平 E-check (Sysmex America Inc)质控。收集每日标本进行仪器测定,所有标本在 4 h 内检测 2 遍,求 NRBC 均值,检测完自动推片染色。手工显微镜法:仪器检测完毕,由有经验的技术人员使用

油镜计数瑞-姬氏染色的血涂片 200 个 WBC 获得 NRBC(无需分类)。每份标本进行 2 次计数,求 NRBC 均值。最后进行仪器法与手工法 NRBC 计数对比。WBC 少的标本可计数小于或等于 100 个细胞。

2 结 果

2.1 仪器法与手工法 NRBC 计数的相关性分析 186 份标本(143 例患者)仪器法与手工计数法相关系数(r)为 0.938 4,斜率 0.952,轴截距为 0.256 9(图 1)。为进一步研究相关程度与 NRBC 数量的关系,将 NRBC 范围分成高、低两组(表 1)。第 1 组手工法 NRBC 范围为 0.25%~10.00%(151 份标本),第 2 组范围为 10.50%~241.00%(35 份标本),线性回归分析两组结果 r 分别为 0.766 2、0.905 1(图 2、3)。

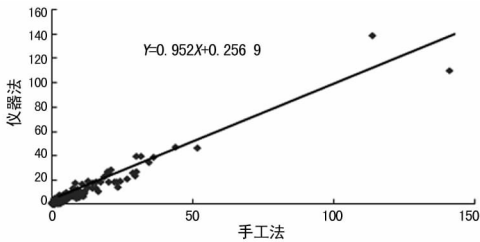


图 1 仪器法与手工法 NRBC 计数对比试验

表 1 仪器法与手工法 NRBC 计数的相关性($n=186$)						
组别	n	手工 NRBC (%)	平均 NRBC (%)	r^2	平均差(仪器法—手工法)	
					偏差值	偏差(%)
第 1 组	151	0.25~10.00	2.68	0.766 2	0.074	2.60
第 2 组	35	10.50~241.00	27.74	0.905 1	-0.839	-3.11

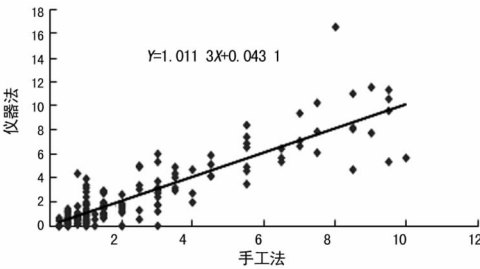


图 2 NRBC 低值范围内仪器法与手工法对比试验

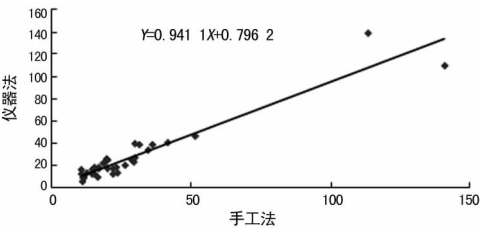


图 3 NRBC 高值范围内仪器法与手工法对比试验

2.2 两种方法检测同份标本 NRBC 结果差异分析 观察两种方法对同 1 份标本 NRBC 检测差异的可接受程度,尤其在 NRBC 为低值时。将 154 份标本按仪器 NRBC 范围 0.00%~10.00%分成 7 组,相应手工法结果分布见表 2。将 156 例标本按手工法 NRBC 0.00%~10.00%(NRBC%≠0)分成 10 组,观察分布情况。除少量(12 例/156 例)仪器法未检测到 NRBC 外,92.3%的标本仪器法与手工法相比较符合,范围为 0.50%~16.60%,见表 3。

2.3 仪器法与手工法计数 NRBC 的重复性比较 见表 4。取 3 例 NRBC 为高、中、低值的标本在 4 h 内重复进行仪器法检测与手工法分类 10 次,计算 NRBC 百分比及变异系数(CV)。

表 2 仪器法 NRBC 低值范围时手工法 NRBC 分布情况[n (%)]						
仪器法 NRBC(%)	n	手工法 NRBC 分布情况(%)				
		0.00	<1.00	1.00~<2.00	≥2.00	
0.00~1.00	58	14(24.1)	23(39.7)	17(29.3)	4(6.9)	
>1.00~2.00	34	0(0.0)	6(17.6)	16(47.1)	12(35.3)	
>2.00~3.00	11	0(0.0)	0(0.0)	6(54.5)	5(45.5)	
>3.00~4.00	13	0(0.0)	0(0.0)	3(23.1)	10(76.9)	
>4.00~5.00	12	0(0.0)	1(8.3)	0(0.0)	11(91.7)	
>5.00~6.00	9	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	9(100.0)	
>6.00~10.00	17	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	17(100.0)	

表 3 手工法 NRBC 低值范围时仪器法 NRBC 分布情况		
手工法 NRBC(%)	n	仪器法 NRBC(%)
0.00~≤1.00	68	0(9 例),0.04~4.35(59 例)
1.00<~≤2.00	29	0(3 例),0.5~2.95(26 例)
2.00<~≤3.00	19	0.50~5.95
3.00<~≤4.00	8	2.00~4.90
4.00<~≤5.00	4	4.10~5.85
5.00<~≤6.00	7	3.45~8.35
6.00<~≤7.00	6	5.30~9.35
7.00<~≤8.00	4	6.10~16.60
8.00<~≤9.00	6	4.64~11.60
9.00<~≤10.00	5	5.35~11.40

表 4 NRBC 计数重复性比较						
方法	NRBC(%)			CV(%)		
	低值	中值	高值	低值	中值	高值
仪器法	0.87	41.60	138.90	16	5	3
手工法	0.95	43.20	117.20	46	12	10

2.4 手工法 NRBC 结果为 0.00%的标本进行仪器法检测 35 份标本手工法 NRBC 为 0.00%的标本进行仪器法检测,其中 14 份标本 NRBC 为 0.00%,17 份标本 NRBC<1.00%,3 份标本 NRBC 为 1.00%~2.00%,余 1 份标本 NRBC 为 4.10%。相反情况下将 24 份仪器法 NRBC 结果为 0.00%的标本进行手工法 14 份标本 NRBC 为 0.00%,8 份标本 NRBC≤1.00%,余 2 份 NRBC 分别为 2.00%、4.00%。

3 讨 论

通过 186 份标本数据比较显示,XE-2100 仪器法和手工法计数 NRBC,其中相关性较好, r 为 0.938 4,该结论与其他研究结果相似^[4-5]。本文显示两种方法相关程度与血液中 NRBC 高低程度有关,即 NRBC 为 0.25%~10.00%时相关性为 0.766 2,而 NRBC% 为 10.50%~241.00%时相关性为 0.905 1。此外,手工法 NRBC 范围在 0.25%~10.00%时仪

器法出现 2.60% 的正偏差,而手工法 NRBC 范围为 10.50%~241.00% 时仪器法显示-3.11% 的负偏差。

健康成人外周血片中找到 1 NRBC/100 WBC 就有意义,但过去认为大于或等于 2 NRBC/100 WBC 时临床才有意义且需要报告,大于或等于 10 NRBC/100 WBC 时需校正 WBC 总数。本研究结果表明,仪器法 NRBC≥3.00% 时,有 76.9% 以上的标本手工法结果大于或等于 2 NRBC/100 WBC。按照临床实际情况需要考虑 XE-2100 可选择 NRBC 在 0.00%~3.00% 任何数值作为报警阈值。本研究结果显示,仪器法 NRBC≥2.00% 时,91.7%~100.0% 的标本手工法大于或等于 1.00%,故可选择 NRBC≥2.00% 作为仪器法 NRBC 报警阈值。仪器采用全血细胞计数(CBC)+DLC 模式时只有 NRBC 报警,如果有 NRBC 报警提示时就需要进行 CBC+NRBC 模式重新检测,从而计数 NRBC 及自动校正 WBC 总数。

手工法 NRBC 在 0.00%~10.00% 的标本经 XE-2100 仪器检测得到的 NRBC 范围与先前报道相关性很好^[6]。本研究结果表明,手工法 NRBC 为 1.00% 的标本 XE-2100 仪器法 NRBC 为 0.04%~4.35%。NRBC 手工法为 5.00% 的标本仪器法 NRBC 为 4.10%~5.85%。

仪器法 NRBC 结果重复性明显好于手工法(表 4)。XE-2100 高、中、低值 NRBC 平均 CV 为 8.0%,手工法平均 CV 为 22.7%。数据表明仪器法计数 NRBC 的数量较手工法多,且能较客观地分析 NRBC 的参数,具有较好的重复性,高值 NRBC 时更明显。

35 份手工法分类 200 个 WBC 未发现 NRBC 的标本,仪器法检测有 21 份(60%)NRBC 为 0.04%~4.10%。分析原因可能:(1)存在一些与 NRBC 形态相似的细胞,如小淋巴细胞、固缩/退化细胞、浆细胞;其他非特异性原因,如纤维蛋白丝或血小板聚集,导致仪器法出现一定的假阳性结果,这时必须要有手工显微镜检查核片,以判断仪器法是否为假阳性结果^[7]。(2)尽管显微镜分类计数常作为“金标准”来判断有无 NRBC,但因显微镜手工分类仅计数 100~200 个细胞,远远少于仪器法计数量,同时由于血涂片上有核细胞分布区域差异,引起显微镜手工法分类的固有偏差^[8-9]。本文遇到计数 100 或 200 个 WBC 时未见到 NRBC,但全片(尤其是片尾或片边缘)浏览时偶尔会发现 NRBC,因手工计数细胞量限制了镜检结果的准确性,此时必须以仪器结果为参考,尽可能全片观察以查找 NRBC。另一方面,将 XE-2100 仪器法 NRBC 为 0.00% 的标本通过手工镜检法对仪器法结果核实,24 份标本中 14 份(58.3%)手工法未发现 NRBC,8 例(33.3%)显示小于或等于 1 NRBC/100 WBC,1 例(4.2%)发现 2 NRBC/100 WBC,余 1 例

(4.2%)发现 4 NRBC/100 WBC。由此表明仪器法会漏检少部分标本,引起仪器法假阴性的原因不甚清楚,分析这些标本均来自恶性肿瘤患者(乳腺癌、肺癌、胰腺癌、淋巴瘤),可能与化疗、免疫抑制治疗导致 WBC 总数减少有关,标本 WBC 最低为 1 000/μL。但对于这部分标本,仪器法均伴有其他异常 WBC 和(或)血小板异常报警,也进行了显微镜检法复核。

总之对伴有其他异常报警的标本,仍需仔细进行手工镜检法核实,防止 NRBC 遗漏。

参考文献

[1] de Keijzer MH, van der Meer W. Automated counting of nucleated red blood cells in blood samples of newborns [J]. Clin Lab Haematol, 2002, 24(6): 343-345.

[2] Philip AG, Tito AM. Increased nucleated red blood cell counts in small for gestational age infants with very low birth weight[J]. Am J Dis Child, 1989, 143(2): 164-169.

[3] Walters J, Garrity P. Performance evaluation of the Sysmex XE-2100 hematology analyser [J]. Lab Hematol, 2000, 6(1): 83-92.

[4] Ruzicka K, Veitl M, Thalhammer-Scherrer R, et al. The new hematology analyzer Sysmex XE-2100; performance evaluation of a novel white blood cell differential technology[J]. Arch Pathol Lab Med, 2001, 125(3): 391-396.

[5] Fernandez B. Identification and enumeration of nucleated red blood cells in peripheral blood [J]. Sysmex J Int, 2002, 12(2): 56-62.

[6] 强克萍, 侯兴宁. 血细胞分析仪自动计数外周血有核红细胞的临床应用[J]. 宁夏医学院学报, 2007, 29(4): 388-389.

[7] Schaefer M, Rowan RM. The clinical relevance of nucleated red blood cell counts[J]. Sysmex J Int, 2000, 10(2): 59-63.

[8] 李建英. 血细胞分析仪自动计数外周血有核红细胞的应用研究[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(6): 606-609.

[9] Danise P, Maconi M, Barrella F, et al. Evaluation of nucleated red blood cells in the peripheral blood of hematological diseases[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 50(2): 357-360.

(收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2014-02-10)

(上接第 1763 页)

Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel[J]. N Engl J Med, 2009, 360(4): 354-362.

[10] Geng DF, Liu M, Jin DM, et al. Cilostazol-based triple antiplatelet therapy compared to dual antiplatelet therapy in patients with coronary stent implantation; a meta-analysis of 5,821 patients[J]. Cardiology, 2012, 122(3): 148-157.

[11] Wiviott SD, White HD, Ohman EM, et al. Prasugrel versus clopidogrel for patients with unstable angina or non-ST-segment elevation myocardial infarction with or with-

out angiography: a secondary, prespecified analysis of the TRILOGY ACS trial[J]. Lancet, 2013, 382(9892): 605-613.

[12] James SK, Roe MT, Cannon CP, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes intended for non-invasive management; substudy from prospective randomised PLATelet inhibition and patient Outcomes (Plato) trial[J]. BMJ, 2011, 342: d3527.

(收稿日期: 2013-10-25 修回日期: 2014-02-21)