

• 检验技术与方法 •

BC-6800 全自动血液细胞分析仪复检规则的建立与评估

谢鸿飞¹, 朱巧玲¹, 倪 红^{2△}

(1. 四川省成都市第三人民医院检验科 610031; 2. 四川省成都市铁路分局医院检验科 610081)

摘要:目的 参考国际血液学复检专家组推荐的血细胞复检规则,结合迈瑞 BC-6800 全自动血液细胞分析仪的性能特点,探讨适用于本实验室的血细胞复检规则。方法 随机检测患者标本 1 690 例(其中首检标本 1 352 例,复检标本 338 例),同时涂片做显微镜检查。按照国际血细胞复检规则和涂片镜检阳性规则进行评估,计算出真阳性、真阴性、假阳性和假阴性的概率。通过对结果的分析,并结合迈瑞 BC-6800 全自动血液细胞分析仪的性能特点与本实验室的实际情况,制定出改良的血细胞复检规则。其后,随机检测 200 例患者标本对改良的复检规则进行验证。结果 根据国际血液学复检专家组推荐的 41 条复检规则涂片镜检阳性规则对检测结果进行统计学处理,真阳性率为 15.7%(266/1 690),假阳性率为 25.4%(429/1 690),真阴性率为 56.6%(957/1 690),假阴性率为 2.2%(38/1 690)。采用改良的复检规则和镜检阳性规则评估结果,真阳性率为 13.5%(228/1 690),假阳性率为 7.6%(128/1 690),真阴性率为 75.1%(1 269/1 690),假阴性率为 3.8%(65/1 690)。验证实验真阳性率为 16.5%(33/200),假阳性率为 8.0%(16/200),真阴性率为 72.5%(145/200),假阴性率为 3.0%(6/200)。结论 本实验室采用改良复检规则后,在保证关键病理细胞没有漏检,并且假阴性率低于国际血液学复审专家组认可的 5.0%的基础上,复检率下降到 21.1%,保证检测质量同时提高了工作效率。

关键词:血细胞计数; 显微镜检查; 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.02.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)02-0213-03

Establishment and evaluation on the blood re-examination rules for BC 6800 fully automatic hematology analyzer

Xie Hongfei¹, Zhu Qiaoling¹, Ni Hong^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu,

Sichuan 610031, China; 2. Department of Clinical Laboratory,

Chengdu Railway Branch Hospital, Chengdu, Sichuan 610081, China)

Abstract: Objective Based on the international hematology panel's recommendation for the blood cells re-examination, to investigate the ways of the blood cells re-examination in our lab by the MaiRui BC-6800 auto hematology analyzer. **Methods** 1690 cases of patient specimens (1352 cases of the first inspection and 338 cases of retest) were randomly selected, and the smears were observed by the microscopy. The true positive, true negative, false positive and false negative rates were calculated according to the international standards and the smear positive rules. From the results, the improved blood cells re-examination rules were established and they were used to test another 200 blood samples. **Results** According to international blood smear criteria, we analyzed the testing and found that the true positive rate was 15.7% (266/1690), false positive rate was 25.4% (429/1690), true negative rate was 56.6% (957/1690) and false negative rate was 2.2% (38/1690). While under our new improved re-examination rules, the true positive rate was 13.5% (228/1690), false positive rate was 7.6% (128/1690), true negative rate was 75.1% (1269/1690) and false negative rate was 3.8% (65/1690). **Conclusion** Under our new improved reexamination ways, there is no missed key pathological cells. Besides the false negative rate is 5.0% lower than the international hematology review panel's standard, the re-examination rate drops to 21.1%. So it not only assures the quality but also improves the efficiency.

Key words: blood cell count; microscopy; laboratory techniques and procedures

尽管自动血细胞分析仪不断改进、发展,可是在鉴别血细胞形态和结构等方面的能力一直差强人意,特别是对幼稚细胞和异常细胞的识别能力有限,因此,人工镜检必不可少。人工镜检会降低工作效率;而复检不足则会承担更多的临床风险。因此,如何制定适宜的血细胞复检规则就至关重要。国际血液学复检专家组于 2005 年推荐了 41 条自动血细胞分析和分类复检规则,同时还提供了确认这些规则有效性的操作程序^[1]。该规则具有重要临床参考价值,成为实验室建立复检规则的通则,但实际执行则发现复检率高,国内多个实验室均有报道^[2-3]。为探讨适合实验室自身特点的复检规则,许多学者都对此问题进行了深入的研究^[4-7],以期在保证不会因误诊而承担风险的情况下,尽量降低复检率。本文旨在根据本实验室自

身的具体情况与迈瑞 BC-6800 的性能特点,探讨适用于本实验室的血细胞复检规则。

1 材料与方法

1.1 标本 (1)2013 年 3 月至 2013 年 7 月本院门诊和住院患者 EDTA-K₂ 标本 1 690 例,其中,首检标本 1 352 例,复检标本 338 例。

1.2 仪器与试剂 迈瑞 BC-6800 全自动血液细胞分析仪及配套试剂、校准品和质控品;Olympus 显微镜(Olympus 公司);瑞氏染液(成都瑞琦科技公司)。

1.3 方法 BC-6800 血细胞分析仪由厂家进行校准,确保仪器正常运行,质控在控。用 EDTA-K₂ 抗凝真空管采集静脉血标本,2 h 内上机测定,同时对每份标本进行涂片,用瑞氏染液

染色,按照标准操作规程进行分析^[8]。依据全国血液学复检专家小组释义的国际涂片镜检阳性规则^[9]进行判断:(1)红细胞明显大小不均(大小相差 1 倍以上),中空淡染(大于 1/2 淡染区的红细胞多于 30%),只要发现疟原虫即为阳性;(2)巨大血小板多于 15%;(3)见到血小板聚集;(4)有 Dohle 小体的粒细胞大于 10%;(5)有中毒颗粒的中性粒细胞大于 10%;(6)空泡变性粒细胞大于 10%;(7)原始和幼稚细胞大于或等于 1%;(8)早幼和中幼粒细胞大于或等于 1%;(9)晚幼粒细胞大于 2%;(10)异型淋巴细胞大于 5%;(11)有核红细胞大于或等于 1%;(12)浆细胞大于或等于 1%。镜检结果符合上述 12 条中任何一条即为阳性。

1.4 改良复检规则的建立 参照国际血液学复检专家组制定的 41 条血细胞复检规则,结合迈瑞 BC-6800 血细胞分析仪自身的报警信息、仪器特点与本实验室实际工作情况,在保证检验结果可靠的前提下,尽量减少复检率,制定出本实验室的适合于迈瑞 BC-6800 血细胞分析仪的复检规则(表 1)。

表 1 改良血细胞分析仪复检规则			
编号	参数	复检条件	复检要求
1	新生儿	首次检测标本	涂片镜检
2	WBC($\times 10^9/L$)	首次结果小于 2.5 或大于 30.0	涂片镜检
3	PLT($\times 10^9/L$)	首次结果小于 70 或大于 1 000	涂片镜检
4	Hb(g/L)	首次结果小于 70 或大于参考范围上限 20	涂片镜检
5	无白细胞分类计数结果或结果不全	无条件复检	涂片镜检并人工分类
6	PLT 聚集报警	任何结果	涂片镜检
7	PLT 直方图异常	阳性报警	涂片镜检
8	变异淋巴细胞	首次结果出现阳性报警	涂片镜检
9	原始细胞报警	首次结果出现阳性报警	涂片镜检
10	未成熟粒细胞报警	首次结果出现阳性报警	涂片镜检
11	红细胞大小不均	阳性报警	涂片镜检
12	RBC 碎片	阳性报警	涂片镜检
13	中性粒细胞比率	首次结果大于 90%	涂片镜检
14	单核细胞比率	首次结果大于 20%	涂片镜检
	淋巴细胞比率	首次结果大于 60%	涂片镜检
15	嗜酸粒细胞比率	首次结果大于 20%	涂片镜检
16	嗜碱粒细胞比率	首次结果大于 2%	涂片镜检
17	RDW-CV(%)	首次结果大于 22%	涂片镜检
18	WBC 直方图异常	阳性报警	涂片镜检
19	WBC、PLT	前后两次结果相差一倍以上	涂片镜检,重新检测
20	Hb	前后两次结果相差 40%以上	涂片镜检,重新检测

复检规则要求涂片镜检的标本,如有异常病理细胞则行人工分类。

1.5 改良复检规则的验证 对 200 例新标本运用改良复检规则进行分析,计算真阳性、真阴性、假阳性和假阴性比率。

2 结 果

2.1 两种规则评估 分别运用国际复检规则与改良复检规则

对检测结果进行分析,计算出真阳性、真阴性、假阳性和假阴性比率。如果某条例被涉及而血涂片复审发现异常为真阳性,未发现异常为假阳性;如果某条例未被涉及而血涂片复审发现异常为假阴性,未发现异常即为真阴性;复审率为真阳性与假阳性之和。比较结果见表 2。

表 2 改良前后复检规则应用结果比较				
指标	国际复检规则		改良复检规则	
	标本数(<i>n</i>)	百分率(%)	标本数(<i>n</i>)	百分率(%)
真阳性	266	15.7	228	13.5
假阳性	429	25.4	128	7.6
真阴性	957	56.6	1 269	75.1
假阴性	38	2.2	65	3.8
复检率	695	41.1	356	21.1

2.2 验证实验结果 对验证标本进行血液分析和涂片镜检,验证改良的血细胞分析仪复检规则。真阳性率为 16.5%(33/200),假阳性率为 8.0%(16/200),真阴性率为 72.5%(145/200),假阴性率为 3.0%(6/200)。两例急性白血病没有漏检。

3 讨 论

血细胞复检规则的制定应根据不同实验室的实际情况及使用仪器的性能特点制定。迈瑞 BC-6800 血细胞分析仪将流式细胞仪普遍采用的荧光技术引入到白细胞、网织红细胞和有核红细胞的检测中^[10]。实际工作中确认该仪器对幼稚细胞与异常细胞的检测报警能力较强。在迈瑞 BC-6800 仪器上检测的标本中,单独中性粒细胞、单独淋巴细胞、单独单核细胞以及单独嗜酸粒细胞比率超限报警的标本均为假阳性。而真阳性结果中如包含有上述分类信息,则必定伴有原始、未成熟粒细胞或者变异淋巴细胞等其他复检规则提示。因此将上述几类细胞比率报警调整为中性粒细胞比率大于 90%、淋巴细胞比率大于 60%、单核细胞比率大于 20%、嗜酸粒细胞比率大于 20%以期降低复检率。与此同时,对于伴随有原始、未成熟粒细胞或者变异淋巴细胞等其他报警信息,同时有上述几类细胞比率超限报警的信息提示则必须给予充分重视,并着重对仪器提示异常的细胞类型进行重点分析。

如果仪器无白细胞形态异常提示,血片浏览检查未见异常细胞,可不必再进行白细胞分类计数,仅报告血片浏览未见异常。这样即保证了结果的准确性,也提高了工作效率。许多专家认同采用浏览血片方式取代传统的白细胞分类计数^[11-13]。

国际血液学复检专家组推荐的白细胞分类复检规则都是按绝对值计算,但国内实际工作中习惯使用白细胞比率结果。因此,白细胞分类复检规则修改为以比率确定。

另外由于成都市成人血白细胞计数下限较低,与其他城市比较差异有统计学意义($P<0.05$)^[14]。由于本实验室所用数据来自成都地区人群,将白细胞复检规则做出相应调整,复检下限定为首次结果小于 $2.5\times 10^9/L$ 。

在 1 690 例标本中,有 2 例标本镜检发现有原幼细胞,均诊断为急性白血病(原幼细胞大于 50%),这 2 例有原幼细胞的标本在规则修改前后均为真阳性,没有漏检。修改后的假阴性仍在国际血液学专家组确定的 5%的可接受范围内^[1]。由此可见,所建立的新规则确保了血细胞分析的准确性和复检规则的实用性和可信性。复检规则建立以后,并非一成不变,而需要在实际工作中不断印证、逐步改进。(下转第 216 页)

口病患者中,ICA 法和 ELISA 法均未检出阳性标本。ICA 法和 ELISA 法的灵敏度分别为 21.48%和20.0%,特异性均为 100%,两种方法的灵敏度和特异性比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 两种不同方法检测 EV71 的灵敏度和特异性比较(%)

项目	ICA 法	ELISA 法
灵敏度	21.48	20.0
特异性	100	100

3 讨 论

手足口病是由 EV71 等病毒引起的一种常见的传染病。EV71 属小 RNA 病毒科肠道病毒属,该病毒的传染性较强^[8]。EV71 主要通过接触传播及飞沫传播,故可在短期内造成较大范围的流行^[9]。该病毒一年四季均可引起手足口病,其中以夏、秋季多见。轻者表现为发热和手足口部疱疹,重者可累及神经、呼吸、循环等系统,甚至引起死亡。目前对于该病尚无有效的治疗措施。所以,早期诊断手足口病对于预防和控制该病具有重要意义。

传统的病毒分离、培养是诊断手足口病的金标准,但该法对实验设备、技术要求较高,且周期长、阳性率低,并不适合临床上对 EV71 的检测,该法主要用于实验室研究。目前,RT-PCR 技术已成为诊断 EV71 感染的一种常用方法,但该法造成的假阳性和假阴性率均较高。近几年发展起来的荧光定量 PCR 法(FQ-PCR)检测 EV71,不仅能大大减少假阳性和假阴性率,而且与常规 RT-PCR 技术相比,无论从敏感性和特异性上都更具有优势^[10-11]。但由于该法需要的仪器昂贵,且对实验室条件要求较高,不适宜于基层单位开展。本研究中比较了 ICA 法和 ELISA 对 EV71 的检测情况。结果表明,ELISA 法检测阳性标本 27 例,ICA 法检测阳性标本 29 例,两种方法的检测结果比较差异无统计学意义($P>0.05$)。此外,进一步研究证实,ICA 法和 ELISA 法的灵敏度分别为 21.48%和 20.0%,特异性均为 100%。二者的灵敏度和特异性比较差异无统计学意义($P>0.05$)。而 ICA 法与 ELISA 法相比,操作更为简单,更加适于基层卫生医疗机构检测 EV71。有文献报道 ELISA 法检测 EV71 的灵敏度可达到 96.2%^[12],明显高于作者的检测结果,这可能与作者的采血时间有关。

(上接第 214 页)

参考文献

[1] 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(1): 83-90.

[2] 王悦,刘汝峰,任颖佳,等.肿瘤专科血液复检规则的初步建立和评价[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(1): 1-3.

[3] 魏峰,潘扬.国际血液分析仪 41 条复检规则的临床应用及实验室复检标准的建立[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(25): 2727-2729.

[4] 王银峰,吕娟.实验室全自动血液分析仪复检规则的建立及应用[J]. 宁夏医科大学学报, 2012, 34(6): 747-750.

[5] 陈桂兰,罗雪林. SYSMEX XT-1800i 血细胞分析仪复检规则的探讨和评估[J]. 分析仪器, 2012, 2(1): 69-71.

[6] 孙燕,鲜玉萍. XS-800i 血细胞分析仪显微镜复检规则的建立与评价[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(2): 207-209.

[7] 朱建未,朱芳. 血液分析仪复检规则的建立和临床应用[J]. 山东医药, 2012, 52(1): 105-106.

综上所述,ICA 法与 ELISA 法虽然均具有较高的特异性,但其灵敏度均较低。对这两种方法检测 EV71 为阴性的患者,如果临床症状与手足口病相符,建议进一步采用 FQ-PCR 进行检测,这样可以避免患者漏检。

参考文献

[1] Lum LC, Wong KT, Lain SK, et al. Neurogenic pulmonary edema and enterovirus 71 encephalomyelitis [J]. Lancet, 2008, 352(9137): 1391.

[2] 崔爱利,许文波,李秀珠. 肠道病毒 71 型的 RT-PCR 诊断及基因特征[J]. 病毒学报, 2004, 20(2): 16-165.

[3] Prager P, Nolan M, Andrews IP, et al. Neurogenic pulmonary edema in enterovirus 71 encephalitis is not uniformly fatal but causes severe morbidity in survivors[J]. Pediatr Crit Care Med, 2003, 4(3): 377-381.

[4] 张育才,李兴旺,朱晓东,等. 儿童危重肠道病毒 71 型脑炎及神经源性肺水肿的临床特征与救治叨[J]. 中华急诊医学杂志, 2008, 17(12): 1250-1254.

[5] 茹维平,康错,尤爱同,等. EV71 感染重症病例的临床表现及流行病学特征分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2010, 24(6): 448-450.

[6] 徐之良. 手足口病研究进展[J]. 临床内科杂志, 2009, 26(8): 509-510.

[7] 谢欣城,张永乐,张思泉,等. 肠道病毒 71 型核酸检测在诊断手足口病中的意义[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2010, 37(5): 303-305.

[8] 杨秀惠,何家鑫,严延生,等. 一起手足口病爆发的病原学诊断与分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(4): 323-326.

[9] 邓莉,张艳玲. 手足口病的流行与防治[J]. 北京医学, 2008, 30(6): 354-355.

[10] 陈宗波,董永绥,方峰,等. 应用逆转录聚合酶链反应检测肠道病毒感染[J]. 中华儿科杂志, 1997, 35(11): 597-600.

[11] 徐大鹏,刘建荣,宋淑娥,等. 实时荧光 PCR 技术在手足口病病毒核酸检测中的应用[J]. 首都公共卫, 2010, 4(6): 243-245.

[12] 夏明. ELISA 方法检测肠道病毒 71 型抗体效果分析[J]. 中国现代医生, 2012, 50(19): 132-133.

(收稿日期:2013-09-16)

[8] 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, 2006:123-124, 133-135.

[9] 中华检验医学杂志编辑委员会. 全国血液学复检专家小组工作会议纪要暨血细胞自动计数复检规则释义[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 380-382.

[10] 孙克. BC6800 血细胞分析仪性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(14): 1579-1580.

[11] Pierre RV. Peripheral blood film review, the demise of the eye-count leukocyte differential[J]. Clin Labmed, 2002, 22(3): 279-296.

[12] 孙苒,王厚芳,于俊峰,等. 血细胞显微镜复检规则的制定及临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(2): 155-157.

[13] 严能兵,李俊枫,陈斌,等. 血液分析仪分析后复检标准的建立和临床应用[J]. 新乡医学院学报, 2007, 24(4): 586-587.

[14] 丛玉隆,金大鸣,王鸿利,等. 中国人群成人静脉血细胞分析参考范围调查[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(10): 1201-1205.

(收稿日期:2013-09-15)