

[7] Gopinath B, Flood VM, Rohtchina E, et al. Serum homocysteine and folate but not vitamin B12 are predictors of CHD mortality in older adults[J]. Eur J Prev Cardiol, 2012, 19(6):1420-1429.

[8] Yakub M, Schulze KJ, Khatry SK, et al. High plasma homocysteine increases risk of metabolic syndrome in 6 to 8 year old children in rural Nepal [J]. Nutrients, 2014, 21(14):1649-1661.

[9] Zhao JY, Qiao B, Duan WY, et al. Genetic variants reducing MTR

gene expression increase the risk of congenital heart disease in Han Chinese populations[J]. Eur Heart J, 2014, 35(11):733-742.

[10] 姜玉章, 沈冲, 李前辉, 等. C 反应蛋白基因多态性与缺血性卒中患者血浆高敏 C 反应蛋白水平的相关性[J]. 中华老年医学杂志, 2014, 33(4):337-341.

(收稿日期:2015-03-08)

• 临床研究 •

迈瑞 BC-6900 全自动血细胞分析仪体液模式的性能验证和评价

寿 爽, 谭焕腾, 张 敏, 王晓君, 李静云, 成 军, 孙长贵
(解放军第一一七医院检验科, 浙江杭州 310013)

摘 要:目的 验证和评价迈瑞 BC-6900 血球仪体液模式的主要性能指标。方法 按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准对 BC-6900 血球仪体液模式白细胞(WBC-BF)、红细胞(RBC-BF)的空白计数、携带污染率、精密度、线性范围和相关性等性能指标进行验证和评价。结果 BC-6900 血球仪 2 个项目空白计数与携带污染率均较低,符合厂家的技术指标要求;不同水平的精密度均符合临床要求,变异系数(CV)均小于 15%;临床标本 2 个项目的检测结果与稀释倍数呈良好的线性关系(均 $r>0.99$);BC-6900 血球仪体液模式 2 个项目测定结果与显微镜下手工计数比较具有良好的相关性(均 $r>0.99$);分类结果与显微镜下手工分类比较,有核细胞计数大于 $0.1\times 10^9/L$ 时,单个核细胞、多个核细胞分类结果相关系数为 0.984,而有核细胞计数在 $0.1\times 10^9/L$ 以下时 2 种细胞的相关系数分别为 0.893 和 0.811。结论 BC-6900 血球仪体液模式性能指标良好,能较好地满足临床体液常规的检测要求。

关键词:血细胞分析仪; 体液常规; 性能评价; 细胞计数; 细胞分类
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.064 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)14-2096-03

一直以来,胸腔积液腹水、脑脊液等常规细胞学检测采用传统的显微镜手工计数及分类,这种方法受检测者的经验和技
术差异影响,结果的重复性较差,造成实验之间可比性差。随着医学科学技术的发展,深圳迈瑞公司生产的 BC-6900 全自动血细胞分析仪(BC-6900 血球仪)在原有的血液分析模式基础上增加了体液分析模式,其不但可以进行体液红细胞(RBC-BF)、白细胞(WBC-BF)计数,还可以提供有核细胞计数、分类及一些高荧光细胞比例。为了解该机体检模式的性能,笔者以美国临床实验室标准化协会(CLSI)的相关指南,对体液模式各性能指标进行验证和评价,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本 40 例患者的胸腔积液腹水、脑脊液标本。
1.2 仪器与试剂 BC-6900 血球仪及配套检测试剂,OLYMPUS CX-21 显微镜、牛鲍尔计数池。
1.3 方法 严格按照仪器说明书及《全国临床检验操作规程》^[1]进行操作,判断标准参照厂家提供的技术指标要求。
1.3.1 空白计数 BC-6900 血球仪开机后,以稀释液为标本,连续用体液模式检测 3 次,取 3 次结果的最大值。
1.3.2 携带污染率 选择高值和低值的标本,分别在 BC-6900 血球仪上连续用体液模式检测高值标本 3 次(H1、H2、H3),并立即检测低值标本 3 次(L1、L2、L3),计算 2 个项目(WBC-BF, RBC-BF)的携带污染率(%),其携带污染率计算公式:携带污染率 = $\frac{L1-L3}{H3-L3} \times 100\%$

1.3.3 精密度评价 用相应的胸腔积液腹水高、中、低值标本连续检测 5 d,每天测 2 批次,每批次间隔 2 h 以上,每批次测 2 次。计算 WBC-BF, RBC-BF 的精密度,用 S_r 表示批内精密度, S_{rr} 表示批间精密度, S_{dd} 表示日间精密度, S_{r^2} 表示总不精密度^[2],如果 S_{rr}^2 为负数,说明批间变异几乎都由批内变异形成,因此取值为 0;如果 S_{dd}^2 为负数,说明日间变异几乎都由

批间变异形成,因此也取值为 0。

1.3.4 线性范围 将 WBC-BF、RBC-BF 高值标本按 100%、80%、60%、40%、20%、10%比例稀释,每个浓度检测 2 次取均值,计算 WBC-BF、RBC-BF 测定值与样品浓度的直线回归方程及相关系数^[3]。

1.3.5 相关性比较 在仪器可检测的范围内,随机收集包括高、中、低值胸腔积液腹水、脑脊液标本共 40 份,标本收到后及时检测。把 40 份患者标本在 BC-6900 血球仪上用体液模式重复测定 2 次取均值;同时分 3 次在牛鲍尔计数池中计数红细胞和有核细胞,计算均数,与仪器结果比较相关性;然后将对应的胸腹水标本 1 500 r/min 离心 5 min,取沉渣制片 3 张,2 张瑞氏染色后由 2 名经验丰富的技师在双盲情况下进行有核细胞分类,1 张备用。每张血涂片每人分类 3 次,计算 2 张涂片单个核细胞(MN)、多个核细胞(PMN)百分比均值,并与仪器结果比较相关性。

1.4 统计学处理 应用 Excel2007 软件中的统计学函数及 SPSS19.0 统计软件包对数据进行线性回归分析。仪器法与手工法计数、分类的相关数据依据细胞数的多少分组,并以中位数(分布范围)表示。

2 结 果

2.1 空白计数 2 个项目的空白计数结果均为 0,符合 WBC-BF $\leq 0.003 \times 10^9/L$, RBC-BF $\leq 0.003 \times 10^{12}/L$ 的要求。

2.2 携带污染率 2 个项目的携带污染率分别为 WBC-BF: 0.109%; RBC-BF: 0.182%,均在 0.3%以下。

2.3 精密度评价 按照 CLSI 指南要求进行精密度测定和计算,变异系数(CV)等精密度评价结果见表 1。

2.4 线性范围 2 个项目的线性回归方程及相关系数结果见表 2。

2.5 相关性 BC-6900 和显微镜下手工计数及分类比较的相

关性结果见表 3。

表 1 精密度评价结果

项目		平均数	批间标准差	批内标准差	日间标准差	总标准差	CV(%)	判断标准	结论
高值	WBC-BF($10^9/L$)	19.450 0	1.183 0	1.072 0	1.498 0	4.794	9.10	≤ 30	合格
	RBC-BF($10^{12}/L$)	0.297 8	0.003 5	0.003 2	0.018 7	0.019 2	6.00	≤ 40	合格
中值	WBC-BF($10^9/L$)	1.810 0	0.017 0	0.032 0	0.049 0	0.057 0	3.15	≤ 30	合格
低值	RBC-BF($10^{12}/L$)	0.077 8	0.000 0 [#]	0.002 0	0.004 4	0.004 5	5.79	≤ 40	合格
	WBC-BF($10^9/L$)	0.035 0	0.000 0 [#]	0.002	0.003 2	0.003 7	10.62	≤ 40	合格
	RBC-BF($10^{12}/L$)	0.003 7	0.000 0 [#]	0.000 1	0.000 4	0.000 4	10.82	≤ 40	合格

[#]:批间不精密度几乎由批内不精密度构成,所以为 0。

表 2 WBC-BF 和 RBC-BF 线性范围评价

项目	范围	回归方程	r 值	线性误差	允许误差
WBC-BF($10^9/L$)	1.991~19.914	$Y=0.989\ 8X-0.082\ 7$	0.999 7	$\leq 6.4\%$	$\leq 20\%$
RBC-BF($10^{12}/L$)	0.034 5~0.345 0	$Y=0.996\ 7X-0.002\ 2$	0.999 9	$\leq 1.9\%$	$\leq 3\%$

表 3 BC-6900 与显微镜下手工结果的相关性

项目	n	细胞计数范围	仪器法	手工法	r 值	判断标准	结论
WBC-BF	16	0.00~0.05($10^9/L$)	0.029(0.000~0.108)	0.010(0.000~0.049)	0.912	≥ 0.90	合格
	14	0.05~1.00($10^9/L$)	0.431(0.159~1.494)	0.140(0.056~0.820)	0.962	≥ 0.90	合格
	10	$>1.0(10^9/L)$	3.102(1.20~8.044)	2.84(1.04~6.50)	0.971	≥ 0.90	合格
RBC-BF	20	0.0~0.1($10^{12}/L$)	0.003 8(0.000~0.078)	0.002 5(0.000~0.061)	0.986	≥ 0.80	合格
	15	0.1~5.0($10^{12}/L$)	1.233(0.200~5.936)	1.0(0.4~4.1)	0.961	≥ 0.80	合格
	5	$>5(10^{12}/L)$	21.0(8.6~58.0)	18.0(5.0~45.0)	0.945	≥ 0.80	合格
MN(%)	22	有核细胞 0.0~0.1($10^9/L$)	31.0(0~88)	5(0~100)	0.893	≥ 0.90	不合格
PMN(%)	22	有核细胞 0.0~0.1($10^9/L$)	40.6(0.0~88.0)	18.5(0~100)	0.811	≥ 0.90	不合格
MN(%)	18	有核细胞大于 0.1($10^9/L$)	48.1(5.6~99.5)	48.5(10~95)	0.984	≥ 0.90	合格
PMN(%)	18	有核细胞大于 0.1($10^9/L$)	51.9(0.5~94.4)	57.5(5~90)	0.984	≥ 0.90	合格

3 讨 论

胸腔积液腹水、脑脊液等体液中 RBC 计数、有核细胞计数及分类对临床相关疾病的诊断、治疗有较重要的意义。BC-6900 血球仪采用激光流式细胞术结合荧光染色的技术手段,对体液中的有核细胞进行识别和检测,采用鞘流阻抗通道检测体液中的 RBC。该仪器体液模式可提供 7 项报告参数和 7 项研究参数,并给出 RBC 分布直方图及有核细胞分类散点图,可较准确、快速得到结果。

从保证检验质量考虑,检验工作者在使用新的仪器和检测系统进行患者标本检测前,应当评价和验证检测系统的基本性能指标,只有检测系统的各项性能指标符合临床使用要求,才可以将检测系统用于常规工作。本次评估试验 BC-6900 血球仪 WBC-BF、RBC-BF 2 项参数空白计数结果为 0,可为细胞数极少的体液标本提供良好的本底;携带污染率均在允许范围内,达到了厂家的技术要求。其 5 d 内 2 个项目参数的精密度,均大大低于厂商提供的精密度,说明仪器的重复性较好,基本符合仪器的设计标准,低值的重复性相对稍差但也小于 15%,而且主要由批内不精密度较大造成。本次试验采用临床标本评价线性范围,2 个项目的相关系数均大于 0.99,线性误差均小于厂家提供的标准,表明仪器实测值和理论值具有良好的相关性(检测浓度与稀释倍数呈线性相关)。本试验中与显微镜下手工进行细胞计数比较时,高、中、低值标本仪器对 RBC、有核细胞计数的相关系数均大于 0.9,说明 2 种方法对细胞计数相关性高,特别是细胞数高的标本,仪器法更为快捷、重复性好,可以代替传统的手工计数,但是检测数据显示仪器

的测定值一般高于手工法,可能与仪器分析的细胞数多而手工计数受视觉及景深不足限制有关^[4]。对有形成分类与手工分类进行比较时,有核细胞计数大于 $0.1\times 10^9/L$ 时,MN%、PMN%相关性较好,有核细胞计数在 $0.1\times 10^9/L$ 以下时 2 种细胞百分比的相关系数为 0.893、0.811 未达标准,主要因为有核细胞数量太少时,手工分类重复性差、误差较大造成,一般不建议报分类结果,仪器分类是否可靠值得探讨。

综上所述,通过对 BC-6900 血球仪体液模式空白计数、携带污染率、精密度、线性范围、仪器和手工细胞计数及分类相关性比较的性能评价,笔者认为该仪器具有良好的性能。其可以为临床诊断提供快速、准确的体液分析结果,特别是手工分类时容易将少量的肿瘤细胞漏检,而仪器法提供了高荧光细胞计数和百分比,其出现提示应注意标本中有肿瘤细胞存在,可提高检出率。但仪器对体液中一些特殊成分如真菌、寄生虫、细菌等无法检测,在实际工作中还要结合人工镜检,必要时对仪器法的结果进行修正。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2013:132-135.
[2] National Committee for Clinical Laboratory standards. EP5-A2 Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition [S]. Wayne, PA USA:CLSI,2002.
[3] National Committee for Clinical Laboratory standards. EP6-A E-

valuation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline[S]. Wayne, PA USA: CLSI, 2003.

因分析[J]. 中华医学检验杂志, 2005, 28(7): 753-754.

(收稿日期: 2015-03-18)

[4] 赵玉德, 张显达, 张文陆, 等. 两种尿沉渣定量检测方法结果差异原

• 临床研究 •

血清色素上皮衍生因子与乙型肝炎后肝硬化患者血小板活化状态的关系

李龙平¹, 唐爱国¹, 周勇军²

(1. 中南大学湘雅医学院附二医院, 湖南长沙 410011; 2. 中南大学湘雅医学院益阳临床学院, 湖南益阳 413500)

摘要:目的 探讨肝硬化患者血清色素上皮衍生因子(PEDF)水平与血小板活化状态的相关性。方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和流式细胞术检测 140 例不同 Child-Pugh 分级的肝硬化患者和 30 例体检健康者(对照组)的血清 PEDF、 α 颗粒膜蛋白(CD62P)和血小板膜糖蛋白 II b/III a 复合物纤维蛋白受体(PAC-1)水平。结果 乙型肝炎后肝硬化患者血清 PEDF 水平明显低于对照组, 而 CD62P 和 PAC-1 阳性百分率明显增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 随着 Child-Pugh 肝功能分级的增加, 其血清 PEDF 水平逐步降低, 而 CD62P 和 PAC-1 阳性百分率均逐步升高, 各组间差异有统计学意义($P < 0.05$); 肝硬化患者血清 PEDF 水平与 CD62P 和 PAC-1 呈明显负相关(r 分别为 -0.643 、 -0.505 , $P < 0.05$)。结论 乙型肝炎后肝硬化患者血清 PEDF 水平降低与血小板异常活化标志物密切相关, 可能共同参与了肝硬化的发生和发展。

关键词: 乙型肝炎; 肝硬化; 色素上皮衍生因子; 血小板活化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.065 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2015)14-2098-02

乙型肝炎后肝硬化是一种由慢性乙型肝炎病毒感染引起的慢性进展性肝病, 具有较高的发病率和病死率, 严重影响患者生活质量, 目前是我国的一个主要公共健康问题。色素上皮衍生因子(PEDF)是一种属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族的可溶性糖蛋白, 具有抗氧化应激、抗血管生成和抗炎等多种生物学效应。近年来研究发现, 氧化应激与肝硬化、肝癌密切相关, 是其最重要的危险因素^[1-2]。血小板异常活化是导致肝硬化时凝血功能障碍的主要原因之一, 在肝硬化的发生、发展过程中起重要作用^[3]。目前国内有关血清 PEDF 与肝硬化血小板活化功能状态的相关性研究较少。笔者通过观测 140 例不同 Child-Pugh 肝功能分级肝硬化患者的血清 PEDF 和血小板异常活化标志物水平, 旨在分析两者与乙型肝炎肝硬化的关系及相互之间的作用, 以期临床上乙型肝炎肝硬化的诊疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 3 月至 2014 年 3 月入住本院消化内科的乙型肝炎肝硬化患者 140 例, 男 105 例, 女 35 例, 年龄 38~81 岁, 平均(56.8 $\pm$ 15.2)岁。其诊断符合 2000 年 9 月西安全国传染病和寄生虫病学术会议制订标准。除外冠心病、严重肝肾功能障碍、凝血功能异常、血栓性疾病、甲状腺疾病、肿瘤、血液病和近期应用过影响血凝、纤溶功能药物的患者。按 Child-Pugh 肝功能分级, 其中 A 级 60 例, B 级 40 例, C 级 40 例。另选择同期本院体检健康者 40 例作为对照组。各组在性别构成、年龄、体质量、血压和吸烟史等方面差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 检测方法 所有受试对象均空腹 10 h 后抽血, 分别加入含 3.2% 的枸橼酸钠抗凝剂和促凝剂的采血管, 离心后分离血清置 -80°C 保存备测, 分离血浆于 1 d 内检测完毕。(1) PEDF 测定: 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组血清 PEDF 水平, 试剂盒由 Millipore 公司提供, 严格按说明书操作;(2) 血小板活化标志物测定: 按文献[4]所述方法采用流式细胞术检测 α 颗粒膜蛋白(CD62P)和血小板膜糖蛋白 II b/III a 复合物纤维蛋白受体(PAC-1)阳性活化血小板百分率, 试剂盒由美国

BD 公司提供。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计分析软件处理数据。PEDF、CD62P 和 PAC-1 等计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间数据比较采用 ANOVA 方差检验, 两组间多重比较采用 LSD 检验, 相关性分析采用 Spearman 相关分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同分级肝硬化患者与对照组血清 PEDF 和血小板活化标志物水平比较 乙型肝炎后肝硬化患者血清 PEDF 水平明显低于对照组, 而 CD62P 和 PAC-1 阳性百分率明显增高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 随着 Child-Pugh 肝功能分级的增加, 其血清 PEDF 水平逐步降低, 而 CD62P 和 PAC-1 阳性百分率依次逐步升高, 各组间差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 不同分级肝硬化患者与健康对照组血清 PEDF 和血小板活化标志物水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PEDF(ng/L)	CD62P(%)	PAC-1(%)
对照组	40	203.6 $\pm$ 15.1	4.9 $\pm$ 2.4	7.7 $\pm$ 2.5
A 级	60	178.4 $\pm$ 12.6*	9.8 $\pm$ 4.3*	10.9 $\pm$ 2.8*
B 级	40	161.5 $\pm$ 10.5*#	13.1 $\pm$ 2.2*#	17.2 $\pm$ 4.4*#
C 级	40	151.2 $\pm$ 13.8*# Δ	16.4 $\pm$ 3.5*# Δ	21.2 $\pm$ 5.3*# Δ
F		123.701	86.322	106.613
P		<0.05	<0.05	<0.05

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与 A 级比较; Δ : $P < 0.05$, 与 B 级比较。

2.2 肝硬化患者血清 PEDF 和血小板活化标志物的关系 肝硬化患者血清 PEDF 水平与 CD62P 和 PAC-1 呈明显负相关(r 分别为 -0.643 、 -0.505 , $P < 0.05$)。

3 讨论

氧化应激时所蓄积的活性氧(ROS)可激活肝细胞内多种信号传导通路, 导致肝星状细胞活化和增殖, 生成大量的细胞外基质成份, 继而引起肝纤维化乃至肝硬化。PEDF 是在视网膜色素上皮细胞培养液中分离出的一种多功能蛋白, 具有抗抗氧化应激、抗炎、抗血管生成和抗肿瘤等多种生物学功能。陈