

血细胞分析仪性能评价及对脐带血造血干细胞检测功能研究^{*}

索明环, 黄福达[△](中山大学附属中山医院检验医学中心, 广东中山 528403)

【摘要】目的 对 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪的手动与自动进样模式进行分析性能评价, 并初步评价其对脐带血造血干细胞的检测功能。**方法** 通过对 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪的手动与自动进样模式的总重复性、精密度、线性范围、污染携带率、不正确度的性能进行评价, 来评估该仪器的可靠性。通过其 IMI 通道检测 10 例脐带血中的幼稚细胞(HPC), 同时用流式细胞术检测 CD34⁺ 细胞数, 观察二者的相关性。**结果** 手动和自动进样模式的总重复性、批内和批间精密度、不正确度都小于判断标准, 符合要求。线性验证试验结果显示, 白细胞、红细胞、血红蛋白、血细胞比容、血小板的相关系数(r)分别为 0.999 6、0.999 7、0.999 4、0.999 6、0.999 8, 线性范围均符合厂家要求。各指标的携带污染率均小于 1%, 符合厂家小于或等于 1% 的要求。相同脐带血中的 HPC 数比 CD34⁺ 细胞数少, 但二者具有良好的线性相关, $r^2=0.975 4$ 。**结论** Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪具有良好的总重复性、精密度、线性范围、低携带污染率及不正确度, 适合临床应用。IMI 通道可以初步评估脐带血造血干细胞数量, 为进一步评估外周血造血干细胞数量提供了基础支持。

【关键词】 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪; 总重复性; 精密度; 线性范围; 污染携带率; 偏倚; 干细胞; CD34⁺

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.14.027 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)14-1951-03

Sysmex XE-2100 血细胞分析仪是一种五分类全自动血细胞分析仪, 可提供 25 个血液学参数和 6 个散射图、2 个直方图; 检测速度每小时最高达 150 个标本。采用电阻抗法、射频法和流式细胞技术, 结合特殊化学试剂及荧光染料对外周血 5 种白细胞进行分类; 并可分析出原始和幼稚粒细胞、有核红细胞。可灵活选择手动或自动模式, 本文对其不同模式下检测系统的方法学性能的可靠性进行验证, 并评价其 IMI 通道对脐带血中造血干细胞的检测功能, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本采集 采用住院和门诊患者及健康体检者的乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血。

1.2 仪器与试剂 Sysmex 公司生产的 XE2100 血细胞分析仪及其配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 总重复性试验^[1] 随机取标本 20 份, 1 h 内测定一次, 放置 2 h 及 4 h 后再分别测定一次。将 3 次测定结果以变异分析法做统计学处理。

1.3.2 精密度试验^[2] 分别取高、中、低值血液标本各 10 份, 测定项目白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、血细胞比容(HCT)、血小板(PLT), 仅用中值血液标本测定项目平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞分布宽度标准差(RDW-SD)、红细胞分布宽度变异系数(RDW-CV)。上述指标 1 h 内重复测定 3 次。标本放置室温 2 h 后重复上述测定。

1.3.3 线性范围试验^[3-4]

1.3.3.1 标本准备 (1)RBC、Hb、HCT: 取新鲜全血, 室温下倾斜 45°放置 2 h, 分离血浆, 将剩余血细胞作为高值标本, 将其与生理盐水按 0%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100% 的比例进行稀释制备不同浓度血细胞;

(2)WBC: 取新鲜全血, 以 800 r/min 离心 20 min, 弃血浆, 将剩余部分用 3 000 r/min 离心 10 min, 收取血浆和红细胞之间的白膜部分移至另一试管, 如此反复收集直至足够量的 WBC, 将此作为高值标本, 与生理盐水按上述比例进行稀释制备不同浓度 WBC; (3)PLT: 取抗凝血, 先以 800 r/min 离心 5 min, 取血浆再 3 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 如此反复收集直至足够量的 PLT, 将此作为高值标本, 将其与生理盐水按上述比例进行稀释制备不同浓度 PLT。

1.3.3.2 标本检测 将上述标本混匀后, 每种浓度测定 3 次。

1.3.4 污染携带率试验^[5-6] 取一份高值标本, 连续测定 3 次, 结果记为高 1、高 2、高 3; 随后立即取一份低值标本连续测定 3 次, 结果记为低 1、低 2、低 3。按以下公式计算: 携带污染率 = (低 1 - 低 3) / (高 3 - 低 3) × 100%。

1.3.5 不正确度(偏倚)评估试验^[7-8] 手动模式: 以参加 Sysmex 公司的实时网络系统的室内质控数据室间对比的靶值均值作为靶值, 以实验室仪器测定值均值为测定值计算相对偏倚。按下列公式计算: 偏倚 = (测定值 - 靶值) / 靶值 × 100%。按此方法统计 WBC、RBC、Hb、HCT、PLT、MCV、MCH、MCHC、RDW-SD、RDW-CV 的不正确度。自动模式: 以一份标本在手动模式测定 4 次的结果均值作为靶值, 以自动模式测定 4 次结果均值作为测定值计算相对偏倚。按下列公式计算: 偏倚 = (测定值 - 靶值) / 靶值 × 100%。统计指标同上。

1.3.6 判断标准 以上实验所有的判断标准均由厂商给定。

1.4 统计学方法 用 SPSS11.5 软件进行统计学分析, 回归分析若呈非线性则进行二元二次、二元三次方程回归分析。

2 结果

2.1 总重复性试验 手动模式和自动模式总重复性结果见表 1。通过统计 WBC、RBC、Hb 等项目的总重复性, 所有项目的 CV 都小于判断标准, 符合厂商要求。

* 基金项目: 广东省中山市卫生局资助课题(2010042)。

△ 通讯作者, E-mail: smhuan0525@126.com。

2.2 精密度试验 WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 的批内批间精密度是通过高、中、低 3 种不同值标本结果统计出来,其中高值标本的 CV 最小,低值标本的 CV 最大,但全部都小于判断标准(厂商提供),符合要求。而 MCV、MCH、MCHC 等项目是仅通过中值标本统计,无论是批内还是批间 CV 都符合要求。手动模式和自动模式批内批间 CV 结果见表 2。

2.3 线性范围试验 见表 3。由于手动与自动进样模式的线性范围是一样的,故评价仅采用一种模式即可。该试验采用手动模式进样,结果显示,WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 的线性范围都包含了厂家声明的范围。

2.4 携带污染率试验结果 见表 4。无论手动模式还是自动模式通过公式计算 WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 的携带污染率均小于 1%,符合厂家声明的标准。

2.5 不正确度(偏倚)评估试验 见表 5。该实验是判断仪器检测结果是否存在偏倚的一项重要指标。通过本试验室内质控的均值与实时网络系统室内质控均值的比对可以评估结果的正确度。由表 5 可知,XE-2100 血细胞分析仪检测项目的不

正确度(偏倚)符合厂商声明的标准。

表 1 XE-2100 血细胞分析仪手、自动模式总重复性结果

项目	总重复性 CV(%)		判断标准 CV(%)	结论
	手动模式	自动模式		
WBC	1.22	1.37	≤5.00	合格
RBC	0.41	0.62	≤2.00	合格
Hb	0.39	0.81	≤2.30	合格
HCT	0.48	0.61	≤2.00	合格
MCV	0.24	0.48	≤8.30	合格
MCH	0.57	0.76	≤2.00	合格
MCHC	0.59	0.78	≤2.30	合格
RDW-SD	1.26	1.26	≤2.30	合格
RDW-CV	0.91	0.81	≤2.67	合格
PLT	1.84	2.27	≤2.67	合格

表 2 手、自动模式批内、批间 CV 结果(%)

项目	批内 CV						判断 标准	批间 CV						判断标准	结论
	手动模式			自动模式				手动模式			自动模式				
	高值	中值	低值	高值	中值	低值		高值	中值	低值	高值	中值	低值		
WBC	1.33	1.60	3.07	1.85	1.39	3.14	≤3.75	1.31	1.66	3.02	1.82	1.44	3.10	≤5.00	合格
RBC	0.49	0.40	0.57	0.54	0.46	0.68	≤1.50	0.67	0.39	0.63	0.55	0.57	0.68	≤2.00	合格
Hb	0.47	0.34	0.99	0.51	0.49	0.73	≤1.75	0.68	0.36	0.98	0.57	0.49	0.75	≤2.30	合格
HCT	0.43	0.43	0.53	0.54	0.43	0.74	≤1.50	0.71	0.47	0.53	0.57	0.49	0.74	≤2.00	合格
PLT	2.83	1.63	2.19	1.89	1.75	2.98	≤6.25	3.11	1.81	3.52	1.86	1.76	3.07	≤8.30	合格
MCV	—	0.47	—	—	0.17	—	≤1.50	—	0.49	—	—	0.62	—	≤2.00	合格
MCH	—	0.43	—	—	0.77	—	≤1.75	—	0.57	—	—	0.93	—	≤2.30	合格
MCHC	—	0.33	—	—	0.56	—	≤1.75	—	0.37	—	—	0.57	—	≤2.30	合格
RDW-SD	—	0.45	—	—	0.51	—	≤2.00	—	0.48	—	—	1.08	—	≤2.67	合格
RDW-CV	—	0.39	—	—	0.41	—	≤2.00	—	0.65	—	—	0.70	—	≤2.67	合格

表 3 线性范围试验结果

项目	线性范围	相关系数	仪器声称范围
WBC(×10 ⁹ /L)	0.00~107.00	0.999 6	0.00~100.00
RBC(×10 ¹² /L)	0.48~9.67	0.999 7	0.00~8.00
Hb(g/L)	11.00~233.00	0.999 4	0.00~250.00
HCT(%)	9.40~92.00	0.999 6	0.00~60.00
PLT(×10 ⁹ /L)	0.00~1 337.00	0.999 8	0.00~1 000.00

表 4 手、自动模式携带污染率结果

项目	携带污染率(%)		标准	结论
	手动模式	自动模式		
WBC	0.08	0.30	≤1.00	合格
RBC	0.00	0.00	≤1.00	合格
Hb	0.84	0.00	≤1.00	合格
HCT	0.00	0.00	≤1.00	合格
PLT	-0.44	0.84	≤1.00	合格

表 5 手、自动模式偏倚评估结果

项目	偏倚(%)		判断标准	结论
	手动模式	自动模式		
WBC	-2.47	-0.42	≤7.50	合格
RBC	-1.02	0.00	≤3.00	合格
Hb	-1.37	-0.43	≤3.50	合格
HCT	-0.25	2.03	≤3.00	合格
MCV	0.78	2.04	≤3.00	合格
MCH	-0.29	-0.43	≤3.50	合格
MCHC	-1.12	-2.44	≤3.50	合格
RDW-SD	-1.05	-1.29	≤4.00	合格
RDW-CV	-0.27	-0.68	≤4.00	合格
PLT	-1.50	0.67	≤12.50	合格

2.6 HPC 细胞与 CD34⁺细胞的相关性 见表 6。HPC 细胞总数低于 CD34⁺ 细胞总数,但二者呈正相关,相关系数为 0.975 4。

表 6 脐带血中 CD34 ⁺ 细胞和 HPC 细胞检测结果(%)										
项目	样本									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CD34 ⁺	0.43	0.13	0.77	0.28	0.37	0.15	0.62	0.26	0.30	0.56
HPC	0.26	0.06	0.57	0.13	0.21	0.07	0.49	0.13	0.15	0.36

3 讨 论

按照 ISO15189 质量体系认可的要求,在仪器应用于临床前必须对仪器的可靠性进行评估,这是 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪应用于临床的质量基础。作者实验室通过试验设计,对 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪手动与自动模式进行了性能评估。从试验结果看, Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪具有良好的稳定性。首先 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪重复性、批内批间精密度都达到性能标准。其次线性良好, WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 相关系数全部在 0.999 0 以上。再是 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪携带污染率小,项目 WBC、RBC、Hb、HCT、PLT 的携带污染率均小于 1%。该性能降低了样本间的交叉污染,使检测结果更加稳定。更重要的是 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪不正确度(偏倚)小,可确保检测标本的正确性。

目前常用检测外周血干细胞的方法是用流式细胞仪检测 CD34⁺ 细胞,因其是对造血干细胞的直接检测,可得到高度可靠的数据。然而采用流式细胞仪对 CD34⁺ 细胞进行检测成本高,需要特殊的仪器,用 IMI 通道检测外周血干细胞是间接通过检测原始细胞、幼稚细胞实现的。本试验初步判断二者具有很好的相关性,IMI 通道可以用来评估 CD34⁺ 细胞的数量,(由于本试验样本量较少,相关性可能还需长期评估)这对判断外周血干细胞的数量可提供帮助。

(上接第 1950 页)

操作较复杂、耗时,且阳性率较低。胶体金法操作简单、快速,阳性率较高,但人为判断结果可能会产生误差。蛋白芯片法吸取了前两种方法的优点,而且同时能检测 3 种抗体。因此,在耐多药肺结核患者中开展结核金标法和蛋白芯片法联合检测血清中结核抗体具有较高的辅助诊断价值。

参考文献

[1] 刘尚武,李王平,邹远妩,等. 胶体金与蛋白芯片结核抗体检测方法在结核病辅助诊断中的临床价值[J]. 中华肺部疾病杂志:电子版,2011,4(5):388-391.

[2] 陈红兵,吴丽霞,张娟,等. 蛋白芯片联合检测多种结核抗体在结核病诊断中的应用价值[J]. 中国实验诊断学,2011,15(2):259-262.

[3] 赵雁林,刘志敏. 结核病实验室标准化操作与网络建设[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:73-76.

[4] Salch MT, Belisle JT. Secretion of an acid phosphatase (Sap M) by Mycobacterium tuberculosis that is similar to eukaryotic acid phosphatases [J]. J Bacteriol, 2000, 182(23):6850-6853.

[5] 赵庆蓉,罗涛,朱帆,等. 血清结核分枝杆菌 TB-SA 抗体在结核病诊断中的临床价值[J]. 华西药学杂志,2007,22

综上所述, Sysmex XE-2100 五分类全自动血细胞分析仪性能符合要求,为临床结果的可靠报告提供了坚实的基础。IMI 通道可用来评估脐带血造血干细胞的数量,为其进一步评估外周血造血干细胞数量提供了基础支持。

参考文献

[1] 丛玉隆,乐家新. 现代血细胞分析技术与临床[M]. 北京:人民军医出版社,2005:50-54.

[2] Waiters J, Patricia G. Performance evaluation of the Sysmex XE-2100 hematology analyzer [J]. Lab Hematol, 2000,6(1):83-92.

[3] Lehto T, Hedberq P. Performance evaluation of Abbott CELL-DYN Ruby for routine use [J]. Lab Hematol, 2008,30(5):400-407.

[4] 李彬,陈泽琴. BC-5300 全自动血细胞分析仪性能评价[J]. 检验医学与临床,2012,9(6):644-645.

[5] 中国实验室国家认可委员会技术委员会医学分委员. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北京:中国计量出版社,2004:148-149.

[6] Nakul AD, Sudaka SL, Ferrero VC, et al. Evaluation of the Sysmex XE-2100 hematology analyzer in hospital use [J]. Clin Lab Anal, 2003,17(4):113-123.

[7] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:142-167.

[8] 毕波,吕元. 定量检测方法学性能验证的系统设计[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145.

(收稿日期:2013-12-23 修回日期:2014-02-03)

(5):591-593.

[6] 莫凤明,刘爱菊,张璐. 血清结核杆菌抗体胶体金法的应用价值[J]. 检验医学与临床,2012,9(9):1118-1119.

[7] 董梅,郭宁,匡铁吉,等. 结核病感染状况与抗体特征研究[J]. 中国实验诊断学,2007,11(9):1186-1187.

[8] 朱同华. 血清结核抗体蛋白芯片检测与痰抗酸染色实验室分析[J]. 实验与检验医学,2010,28(5):496.

[9] 林秋,温先勇,张春红. 蛋白芯片法检测结核分枝杆菌抗体及其临床应用[J]. 医学理论与实践,2011,24(17):2095-2096.

[10] 张贺秋,赵雁林. 现代结核病诊断技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:93-96.

[11] 黄绍梅,邱薇,许柳清. 蛋白芯片法检测结核抗体在儿童结核病中的诊断价值[J]. 广东医学,2012,33(16):2421-2422.

[12] 李奇志,朱朝敏,詹学,等. 检测血清中抗结核抗体辅助诊断儿童结核病[J]. 重庆医学,2005,34(2):206-207.

[13] 竺澎波,陈虹,高鸣. 结核蛋白芯片在肺结核诊断中的应用价值[J]. 实用医学杂志,2012,28(15):2593-2595.

(收稿日期:2014-01-04 修回日期:2014-03-10)