

# Sysmex 血细胞分析仪 白细胞分类计数校准方法的建立与验证\*

孟欣<sup>1,2</sup>, 王刚<sup>1</sup>, 袁莉<sup>1</sup>, 王威<sup>1</sup>, 张宁<sup>1</sup>, 李强<sup>2</sup>

(1. 西安交通大学第一附属医院检验科, 西安 710061; 2. 西安交通大学医学部, 西安 710061)

**摘要:**目的 对 Sysmex 五分类血细胞分析仪白细胞分类计数进行校准, 并通过仪器之间比对验证, 使检测结果准确可靠。方法 采用手工显微镜计数法作为白细胞分类计数参考方法对 5 份新鲜全血白细胞分类计数百分比进行定值, 用定值新鲜全血对 Sysmex XE-2100, XS-800i 和 XN-20(A1) 血细胞分析仪的分类系数进行校准, 之后用 20 份新鲜全血进行仪器间比对实验。结果 各仪器白细胞分类计数结果均在手工显微镜白细胞分类计数结果 95% 可信区间内。与参比仪器 XE-2100 相比, XS-800i NEUT%, LYM%, MON%, EOS% 和 BASO% 相关系数  $r$  分别为 0.99, 0.99, 0.98, 0.98 和 0.59; XN-20(A1) NEUT%, LYM%, MON%, EOS% 和 BASO% 相关系数  $r$  分别为 0.99, 0.99, 0.97, 0.98 和 0.55; XS-800i 和 XN-20(A1) 白细胞分类计数 NEUT%, LYM%, MON% 和 EOS% 均 100% 在可信区间之内, XS-800i 白细胞分类计数 BASO% 结果 95% 在可信区间之内, XN-20(A1) 白细胞分类计数 BASO% 结果 90% 在可信区间之内。结论 该校准验证方案及比对结果满足 WS/T 246-2005《白细胞分类计数参考方法》各项指标要求。为了保证血细胞分析仪白细胞分类计数结果的准确性以及不同实验室间白细胞分类计数的结果互认, 要定期对仪器白细胞分类计数结果与手工显微镜分类计数结果进行比对分析。

**关键词:** 血细胞分析仪; 白细胞分类计数; 校准

中图分类号: R446.111 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)01-101-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.01.029

## Establishment of Method and Verification for Leukocyte Differential Count of Sysmex Hematology Analyzer

MENG Xin<sup>1,2</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>, YUAN Li<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>1</sup>, ZHANG Ning<sup>1</sup>, LI Qiang<sup>2</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; 2. Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

**Abstract:** **Objective** To calibrate the leukocyte differential counts and compare between all sysmex hematology analyzers, making the results accurate and reliable. **Methods** Used the manual visual microscope method as a reference method for leukocyte differential count to detect the fresh blood and then did assignment. The target value, calibrating the leukocyte differential counts of Sysmex XE-2100, XS-800i and XN-20 (A1) with the manual value fresh blood, was calibrated and then compared hematology analyzers with another fresh blood. **Results** The leukocyte differential counts of all hematology analyzers were within the 95% confidence interval of the manual visual microscope method. Comparing with the reference system, the correlation coefficient ( $r$ ) of NEUT%, LYM%, MON%, EOS% and BASO% of XS-800i analyzer were 0.99, 0.99, 0.98, 0.98 and 0.59, respectively. The correlation coefficient ( $r$ ) of NEUT%, LYM%, MON%, EOS% and BASO% of XN-20 (A1) analyzer were 0.99, 0.99, 0.97, 0.98 and 0.55, respectively. XS-800i and XN-20 (A1) NEUT%, LYM%, MON% and EOS% were within confidence interval 100%. XS-800i BASO% were within confidence interval 95%. XN-20 (A1) BASO% were within confidence interval 90%. **Conclusion** This scheme could meet the WS/T 246-2005 demands. In order to ensure the accuracy and the results of mutual recognition of the leukocyte differential counts, the comparison analysis of the results of the manual visual microscope method and hematology analyzer were made.

**Keywords:** hematology analyzer; leukocyte differential counts; calibration

外周血白细胞分类计数是疾病诊断和治疗以及疗效观察的可靠指标, 但是血细胞分析仪白细胞分类计数缺乏具有溯源性的校准物, 如何保证实验室内和实验室间不同仪器间白细胞分类计数的准确性和一致性, 以及不同血细胞分析系统间测定结

果的溯源性和可比性是当前实验室面临的重要问题<sup>[1]</sup>。因此, 应及时、准确地对血细胞分析仪白细胞分类计数进行校准和验证, 以保证仪器对各类细胞的正确识别。

我国 2005 年颁布的中华人民共和国卫生行业

\* 基金项目: 西安交通大学第一附属医院院基金项目(2013YK29)。

作者简介: 孟欣(1980-), 女, 硕士在读, 主管检验师, 从事临床血液学检验与研究, E-mail: 468237221@qq.com。

标准 WS/T 246-2005《白细胞分类计数参考方法》为白细胞分类计数的溯源提供了依据,此参考方法还提出了血细胞分析仪白细胞分类计数的性能评价。依据 WS/T 246-2005,本研究采用白细胞计数分类参考方法(手工目视显微镜计数法)定值的新鲜全血对血细胞分析仪 DIFF 系数进行校准,以实现日常检测的量值溯源,保证分类结果的准确性。自参加 ISO 15189 医学实验室认可以来,科室完善了血细胞分析仪校准操作程序,补充了人工分类与仪器分类的比对、仪器间结果比对以及人员之间手工分类能力比对的的标准操作程序(standard operating procedure, SOP),保证了血细胞分析仪白细胞分类计数结果的准确性和一致性。现将白细胞分类计数校准和仪器间的比对方法报告如下:

## 1 材料与方 法

1.1 仪器和试剂 日本 Sysmex 株式会社 XE-2100 血细胞分析仪, XS-800i 血细胞分析仪, XN-20(A1)全自动血细胞体液一体机, SP1000i 全自动推片机, 奥林巴斯 CX-21 光学显微镜。日本 Sysmex 原装进口配套试剂、校准物、质控物。BASO 瑞氏-吉姆萨染液, 山东威高集团生产的 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝试管。

1.2 比对标本 无已知影响白细胞形态的临床疾病; 无溶血、黄疸、脂血; 白细胞散点图无异常报警, 取 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝全血 2 ml, 4 h 内完成。

### 1.3 方 法

1.3.1 仪器状态确认: 检测仪器工作环境、压力单元、内部温度, 光路调节, 用配套质控物/校准物进行灵敏度调节, 将 DIFF-X, DIFF-Y, BASO-X, BASO-Y 调整在要求范围内。上述确认完成后, 进行仪器空白计数、精密度、携带污染等试验及全血细胞计数(complete blood count, CBC)的校准及验证等, 此验证通过后进行白细胞分类计数结果的校准。

1.3.2 白细胞分类计数(手工法)靶值确定: 取 5 位患者新鲜抗凝全血, 在 SP1000i 全自动推片机上按标准程序, 每份全血分别制作三张血涂片并瑞氏染色。由三名形态学经验丰富的人员(从事血细胞形态学检验三年以上)通过双盲法进行白细胞分类计数, 每人每张血涂片计数 200 个白细胞, 三人之间的白细胞分类结果须在可接受的可信限范围内。取三人结果的均值作为该份全血白细胞分类人工计数的靶值。

1.3.3 仪器法白细胞分类计数: 将上述 5 份新鲜全血标本分别在每台血细胞分析仪上进行白细胞分类计数, 手工模式连续检测 2 次, 计算每份全血各项的均值。

1.3.4 计算白细胞分类计数的 95% 可信区间: 依据标准误  $SE_p = \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$ ,  $p =$  均值(三位形态学人员计数百分率结果);  $q = 100 - p$ ; 95% 可信区间的 t 分布因子(St) = 1.96, 计算白细胞分类计数的 Rümke 表<sup>[2]</sup>, 根据人工镜检所得出的 95% 可信区间作为判断标准, 判断比对是否通过。如果白细胞分类仪器检测结果均落在 95% 可信区间, 则比对通过, 说明仪器法的白细胞分类计数结果在允许误差范围内, 仪器不需要校准。反之则需要再次调整仪器光路、确认灵敏度和(或)调整仪器校准系数。直至仪器法白细胞分类计数结果均落在人工法的 95% 可信区间内。

1.3.5 校准系数的计算: 当白细胞分类计数仪器结果未能全部落入人工结果 95% 可信区间内和(或)出现系统偏倚时, 首先检查仪器光路、确认灵敏度, 保证激光光路在正常范围内调整仪器校准系数。新校准系数 = (人工均值/测定均值) × 旧校准系数。人工均值即上述 5 份新鲜全血白细胞分类手工计数总体均值; 测定均值即上述 5 份新鲜全血白细胞分类计数仪器测定总体均值。调整校准系数后, 应重新进行比对验证。

1.3.6 白细胞分类计数仪器间比对试验: 当一个实验室有多台血细胞分析仪时, 在进行人工显微镜分类法和仪器分类法白细胞分类计数比对验证通过后还要进行仪器间比对试验。

1.3.6.1 确定参比仪器: 以参加室间质评成绩优秀、白细胞分类计数校准后验证合格的仪器 XE-2100 作为实验室参比仪器。XS-800i 和 XN-20(A1)血细胞分析仪为比对仪器。

1.3.6.2 选取 20 份新鲜全血, 中性粒细胞百分比、淋巴细胞百分比、单核细胞百分比均含高、中、低值, 严格按照作业指导书要求, 在参比仪器和比对仪器上分别检测 2 次(正反序列各 1 次), 计算其均值。以参比仪器测定结果均值计算 95% 可信区间, 其它仪器测定均值的结果 ≥ 80% 落在此可信区间, 则比对通过。反之对待比对仪器应重新进行校准后再进行比对试验, 直至结果 ≥ 80% 落在参比仪器的 95% 可信区间内。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。比对仪器与参比仪器相关性分析采用 Pearson 相关分析法, 线性回归分析, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义, 即建立的回归方程有效。

## 2 结 果

2.1 三台仪器白细胞分类计数结果均值和手工显微镜白细胞分类计数均值 95% 可信区间结果 见表 1。

表1 手工法和仪器法白细胞分类计数比对结果(%)

分类参数	标本编号	仪器			手工法	95%可信区间
		XE-2100	XS-800i	XN-20(A1)		
NEUT	1	63.95	61.20	63.25	62.53	55.82~69.24
	2	59.60	61.00	60.25	61.90	55.17~68.63
	3	82.39	83.10	81.45	80.93	75.49~86.37
	4	23.64	23.90	23.25	24.60	18.63~30.57
	5	53.80	53.30	51.05	54.23	47.33~61.13
LYM	1	29.55	31.75	30.30	29.87	23.53~36.21
	2	32.30	31.35	32.45	30.43	24.05~36.81
	3	11.57	10.00	12.85	13.20	8.51~17.89
	4	65.39	65.20	66.60	64.86	58.24~71.48
	5	31.20	30.80	36.20	30.80	24.40~37.20
MON	1	5.25	5.95	5.30	5.87	2.61~9.12
	2	5.70	5.40	5.40	5.83	2.58~9.08
	3	5.30	5.90	5.05	4.70	1.77~7.63
	4	5.99	5.55	5.10	5.00	1.98~8.02
	5	14.05	14.60	11.65	14.10	9.28~18.92
EOS	1	0.75	0.80	0.50	1.20	0~2.71
	2	2.05	2.05	1.60	1.34	0~2.93
	3	0.54	0.50	0.45	1.00	0~2.38
	4	4.60	5.15	4.60	4.87	1.89~7.85
	5	0.65	1.00	0.80	0.33	0~1.12
BASO	1	0.50	0.30	0.65	0.53	0~1.54
	2	0.35	0.20	0.30	0.50	0~1.48
	3	0.34	0.50	0.20	0.17	0~0.74
	4	0.50	0.20	0.45	0.67	0~1.80
	5	0.30	0.30	0.30	0.53	0~1.54

2.2 不同仪器间比对结果 以参比仪器 XE-2100 分类结果计算 95%可信区间, 比对仪器 XS-800i 和 XN-20(A1) 白细胞分类计数中性粒细胞(NEUT%)、淋巴细胞(LYM%)、单核细胞(MON%)、嗜酸性粒细胞(EOS%)均 100%在可信区间之内, 血细胞分析仪 XS-800i 嗜碱性粒细胞(BASO%)95%在可信区间之内, 血细胞分析仪 XN-20(A1)嗜碱性粒细胞(BASO%)90%在可信区间之内。

2.3 参比仪器 XE-2100 与比对仪器 XS-800i 和 XN-20(A1)白细胞分类计数相关性 见表2。

表2 仪器间白细胞分类计数相关性

分类参数	XS-800i			XN-20(A1)		
	r	回归方程	P	r	回归方程	P
NEUT	0.998	$Y=0.990X+0.767$	0.000	0.996	$Y=0.983X+1.916$	0.000
LYM	0.997	$Y=1.031X+0.253$	0.000	0.997	$Y=0.995X-0.192$	0.000
MON	0.977	$Y=0.888X-0.480$	0.000	0.986	$Y=0.868X+0.413$	0.000
EOS	0.981	$Y=1.031X+0.128$	0.000	0.989	$Y=1.041X+0.020$	0.000
BASO	0.552	$Y=0.614X+0.170$	0.012	0.594	$Y=0.445X+0.110$	0.006

3 讨论 白细胞计数和白细胞分类计数在临床诊断和疗效观察上有着同等重要的地位, 以前仅关注白细胞计数是否准确, 白细胞分类计数的质量未引起检验工作者和实验室的足够重视, 对其评价标准和验证方法了解的甚少<sup>[3]</sup>。Sysmex 五分类血细胞分析仪在白细胞分类上采用半导体激光流式细胞技术结合核酸荧光染色技术进行白细胞计数和分

类。激光光路准确与否严重影响仪器白细胞分类结果的准确度和精密度。日常工作中应在以下情况时对血细胞分析仪白细胞分类计数进行校准和验证: ①血细胞分析仪投入使用前(新安装或旧仪器重新启用); ②更换部件进行维修后, 可能对白细胞分类检测结果的准确性有影响时; ③仪器搬动后, 需要确认检测结果的可靠性时; ④室内质量控制显示检测系统结果有漂移时(排除仪器故障和试剂的影响因素); ⑤比对结果超出允许范围; ⑥实验室认为需进行仪器光路检测的其他情况<sup>[4]</sup>。

目前临床只有白细胞计数商品校准物, 尚无白细胞分类计数商品校准物, 采用手工显微镜计数法测定结果对血细胞分析仪白细胞分类计数进行校准和验证, 是保证检验结果准确可靠的前提<sup>[5,6]</sup>。手工显微镜分类计数测定的结果直接影响仪器白细胞分类计数的校准和验证, 根据 WS/T 246-2005 对镜检的操作人员进行培训并定期进行人员血细胞形态学比对及考核, 保证人工法结果的可靠性和一致性。三台仪器白细胞分类结果均在人工分类结果 95%可信区间内, 满足 WS/T246-2005 和 ISO 15189《医学实验室质量和能力的专用要求》的规定。各仪器间白细胞分类结果与参比仪器结果的一致性均>80%, 说明各检测系统之间的白细胞分类计数结果有较好的一致性, 仪器之间结果的误差符合 WS/T246-2005 及 ISO 15189《医学实验室质量和能力的专用要求》的规定, 完全满足临床诊断的要求。血细胞分析仪 XS-800i, XN-20(A1)白细胞分类计数与参考系统相关性结果 NEUT%, LYM%, MON%, EOS% 相关系数  $r > 0.95$ , 各仪器间相关性良好; 而 BASO% 相关系数  $r$  分别为 0.59, 0.55, 仪器间相关性差, 因此当白细胞分类计数 $\leq 1\%$ 时, 采用 95%可信区间作为仪器比对通过判定标准不适用。

由于仪器白细胞分类的手动模式和自动进样模式共用同一激光检测单元和校准系数, 且白细胞分类百分比与标本吸取量差异无关, 因此只需选择一种模式的校准和比对分析, 无需进行手动进样模式和自动进样模式之间的校准和比对。

通过建立与验证血细胞分析仪白细胞分类计数校准和比对方法, 确保了检验质量, 完善了血细胞分析仪比对程序, 满足了临床诊疗的需求。

参考文献:

[1] 廖扬, 张蓉, 石玉玲. 两种血细胞分析系统测定结果的可比性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(10): 1238-1239, 1241.

Liao Y, Zhang R, Shi YL. Comparison and bias estimation on the results produced by different hematology testing systems[J]. (下转 107 页)

- women cervical secretions with bacteria distribution and drug resistance analysis[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2011, 29(2): 155-156.
- [12] 陈慧慧, 范建霞, 陆庭嫣, 等. 孕妇B族溶血性链球菌感染对母婴的影响[J]. 上海医学, 2009, 32(2): 128-130.  
Chen HH, Fan JX, Lu TY, et al. Effect of group B *Streptococcus* infection on pregnant women and their infants[J]. Shanghai Medical Journal, 2009, 32(2): 128-130.
- [13] 何国才, 白清, 李高, 等. 桂林地区孕晚期孕妇B族链球菌检测及药敏分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(15): 2006-2007.  
He GC, Bai Q, Li G, et al. Guilin area pregnant women late in pregnancy group B *Streptococcus* detection and drug susceptibility analysis[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2013, 34(15): 2006-2007.
- [14] 黄永健, 陈波, 张勇, 等. 孕晚期妇女B族链球菌PCR检测结果分析[J]. 江西医药, 2013, 48(7): 581-584.  
Huang YJ, Chen B, Zhang Y, et al. Analysis of group B *Streptococcus* detection results by real-time polymerase chain reaction in 445 late pregnant women[J]. Jiangxi Medical Journal, 2013, 48(7): 581-584.
- [15] 孙丹华, 王李利, 张磊, 等. 妊娠35~37周孕妇B族链球菌带菌与妊娠结局[J]. 中国妇产科临床杂志, 2013, 14(4): 312-314.  
Sun DH, Wang LL, Zhang L, et al. Study on perinatal group B *Streptococcus* carriers in late pregnancy and the pregnancy outcome[J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2013, 14(4): 312-314.
- [16] 季修庆, 陆根生, 胡平, 等. 荧光定量PCR检测南京地区孕晚期妇女生殖道B族链球菌的带菌情况[J]. 检验医学, 2014, 29(6): 628-630.  
Ji XQ, Lu GS, Hu P, et al. Colonization of group B *Streptococcus* in late pregnancy by fluorescence quantitation PCR in Nanjing area[J]. Laboratory Medicine, 2014, 29(6): 628-630.
- [17] 王彦春, 何三军. 汉中地区孕妇生殖道B族链球菌定植和防御素水平的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(5): 87-88, 92.  
Wang YC, He SJ. Correlation between the colonization of group B *Streptococcus* and the level of defensins in pregnant women in Hanzhong[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(5): 87-88, 92.
- [18] Verani JR, McGee L, Schrag SJ, et al. Prevention of perinatal group B *Streptococcal* disease: revised guidelines from CDC, 2010[J]. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2010, 59(RR-10): 1-36.
- [19] 丁茜, 李超强, 张丽华, 等. B群链球菌的耐药性及其感染的临床特点[J]. 中国医药, 2011, 6(4): 434-435.  
Ding X, Li CQ, Zhang LH, et al. Analysis of the resistance of antibiotics and characteristics clinical infection of group B *Streptococcus*[J]. Chinese Medicine, 2011, 6(4): 434-435.
- [20] 陈惠玲, 邓家德, 叶惠芬, 等. 围产期生殖道感染B族溶血性链球菌的耐药性及耐药基因检测[J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45(9): 701-703.  
Chen HL, Deng JD, Ye HF, et al. Perinatal genital tract infection group B hemolytic *Streptococcus* resistance and resistance gene detection[J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2010, 45(9): 701-703.
- [21] 高晶, 刘晓艳. 女性泌尿生殖道无乳链球菌的耐药性分析[J]. 检验医学, 2015, 30(1): 13-16.  
Gao J, Liu XY. Drug resistance analysis on the drug resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from female urogenital tract[J]. Laboratory Medicine, 2015, 30(1): 13-16.

收稿日期: 2015-05-07

修回日期: 2015-06-13

(上接 103 页)

- Int J Lab Med, 2013, 34(10): 1238-1239, 1241.
- [2] Rümke CL. The statistically expected variability in differential leukocyte counting[M]. Chicago: College of American Pathologists, 1977: 39-45.
- [3] 李强. 五分类血液细胞分析仪白细胞分类参数的校准及验证[J]. 北方药学, 2013, 10(5): 156.  
Li Q. The calibration and verification of the white blood count and differential by 5 differential hematology analyzer[J]. Journal of North Pharmacy, 2013, 10(5): 156.
- [4] 谷小林, 周文宾. 校准血液分析仪保证检测结果准确—《血细胞分析的校准指南》标准解读[J]. 中国卫生标准管理, 2012, 3(1): 26-29.  
Gu XL, Zhou WB. Calibration hematology analyzer guaranteeing the accuracy results—《Guideline for the calibration of blood cell assays》standard interpretation[J]. China Health Standard Management, 2012, 3(1): 26-29.
- [5] 朱新勤, 韩秀华, 曾素根, 等. 五分类血液分析仪白细胞分类参数的校准及验证[J]. 现代预防医学, 2009, 36(19): 3725-3726, 3728.  
Zhu XQ, Han XH, Zeng SG, et al. The calibration and verification of the white blood count and differential by 5-differential hematology analyzer[J]. Modern Preventive Medicine, 2009, 36(19): 3725-3726, 3728.
- [6] 李明勇, 李焱鑫, 陈梅, 等. 血细胞分析仪白细胞分类计数量值溯源性的建立[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(6): 150-152.  
Li MY, Li YX, Chen M, et al. Measurement traceability establishment for leukocyte differential count of hematology analyzer[J]. J Mod Lab Med, 2011, 26(6): 150-152.

收稿日期: 2015-05-26

修回日期: 2015-10-25