

XN-9000 全自动血液细胞分析仪 有核红细胞计数与手工方法验证的探讨*

李 勤, 石 佳, 卢兴兵, 毛志刚, 朱新勤, 江 虹, 曾素根

(四川大学华西医院实验医学科, 成都 610041)

摘要:目的 探讨日本 Sysmex 公司生产的 XN-9000 全自动血液细胞分析流水线有核红细胞(nucleated red blood cell, NRBC)计数,与手工方法进行比较,验证仪器计数结果的准确性。方法 对 60 例全自动血液细胞分析流水线检测出 NRBC 大于 1% 的患者的血液标本,制作血液涂片染色后通过传统的显微镜手工方法镜检,验证仪器结果。结果 60 例临床标本的 NRBC 与显微镜计数的结果比较,所有检测值的可信度分析均在可信范围内;相关性比较中, NRBC(%) 在 1~10 和 >10 两组的仪器与手工方法的相关系数(r)分别为 0.972 1 和 0.996 2,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 无论 NRBC 值的高低, XN-9000 全自动血液细胞分析流水线检测 NRBC 计数,与手工方法结果比较,均在可信范围内,相关性也较好。仪器检测的 NRBC 准确可靠,可应用于临床标本的检测。

关键词:血液细胞分析流水线;有核红细胞计数;手工验证

中图分类号:R446.111 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)01-124-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.01.034

Evaluation of the Nucleated Red Blood Cells Count of Sysmex XN-9000 Automatic Hematology Analyzer and the Validation of Manual Method

LI Qin, SHI Jia, LU Xing-bing, MAO Zhi-gang,

ZHU Xin-qin, JIANG Hong, ZENG Su-gen (Department of Clinical Laboratory,
Huaxi Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the nucleated red blood cell (NRBC) count of Sysmex XN-9000 automatic hematology analysis lines comparing with manual method, and verify the accuracy of the analyzer results. **Methods** 60 blood samples with more than 1% of NRBCs detected by XN-9000 were counted NRBCs by traditional manual microscopy in blood smears, and verified the analyzer results. **Results** According to the reliability analysis, the results of total 60 samples were all within the range of the reliability; correlation analysis showed that correlation coefficient (r) of group NRBC (%) 1~10 and >10 were 0.972 1 and 0.996 2, respectively. There were no significant differences between them ($P>0.05$). **Conclusion** Compared with manual method, the results of NRBC count of XN-9000 were within the range of reliability, and showed good correlation. The analyzer test results of NRBC were accurate and reliable and could be applied to the detection of clinical samples.

Keywords: automatic hematology analysis line; NRBC count; manual validation method

除新生儿和幼儿外,有核红细胞(nucleated red blood cell, NRBC)在正常人群的外周血中不会出现。成年人外周血中出现 NRBC 时常和许多血液病(如溶血性贫血、急慢性白血病、骨髓纤维化症等)或恶性肿瘤有关,有文献报道还与某些疾病的不良预后有关^[1]。目前 NRBC 的检测已经广泛应用于临床,许多厂家的血细胞分析仪都可进行外周血 NRBC 的检测。我室新近引进日本 Sysmex 公司最新型号 XN-9000 全自动血液细胞分析流水线,该流水线可自动对外周血进行 NRBC 计数。因目前全世界均无 NRBC 的校准品,厂家仅通过对其参数的灵敏度进行校准。为检测 NRBC 结果是否准确,需要用什么方法来验证,我们进行了以下探讨,现介绍如下:

1 材料和方法

1.1 标本来源 选取本院门诊、急诊、住院患者标本共计 60 例,其中血液病患者 32 例,实体肿瘤患者 28 例。血液标本均使用美国 BD 公司生产的 EDTA-K₂ 紫头抗凝管。

1.2 仪器与试剂 仪器: Sysmex 公司生产的 XN-9000 全自动血液细胞分析流水线及 SP-10 全自动血液涂片染色机。Lysercell WNR(WBC 和 NRBC 溶血剂,批号 A6008)及 XN CHECK 质控品(批号 61931102, 61931103)均为 Sysmex 公司原装配套产品。

1.3 方法

1.3.1 选取在 XN-9000 全自动血液细胞分析流水线检测的 NRBC 计数 $\geq 1.0\%$ 的上述临床标本

* 作者简介:李 勤(1989-),女,本科,检验技师,主要从事临床血液方面的研究, E-mail: 476807260@qq.com。

通讯作者:曾素根,高级实验师, E-mail: zsg8077118@163.com。

江 虹,教授, Tel: 028-80298017。

60份,每份标本重复检测一次,计数其平均值。

1.3.2 手工显微镜计数方法:将上述60份标本使用SP-10全自动血液涂片染色机制作血涂片及染色(在2h内完成),分别由两名有丰富工作经验的工作人员采用盲分法,在油镜下分类计数200个白细胞(WBC)遇到的NRBC数,计算出NRBC占100个WBC的百分比,再计数其平均值,有报道分类400个白细胞,计数NRBC^[2]。

1.4 数据处理 用Microsoft Excel软件进行统计学处理。可信范围的计算^[3]应用标准误计算公式:

$$SEp = \sqrt{\frac{p \times q}{n}}, \text{例:如果 NRBC 计数结果 } 30\%,$$

$$SEp = \sqrt{\frac{0.3 \times 0.7}{200}} = 0.0324, 2SEp = 2 \times 0.0324$$

表1 有核红细胞计数可信范围表(百分率%)

靶值	可信范围	靶值	可信范围	靶值	可信范围	靶值	可信范围	靶值	可信范围	靶值	可信范围
0	0~0.3	15	10.0~20.0	32	25.4~38.6	49	41.9~56.1	66	59.3~72.7	83	77.7~88.3
0.1	0~0.5	16	10.8~21.2	33	26.4~39.6	50	42.9~57.1	67	60.4~73.6	84	78.8~89.2
0.5	0~1.5	17	11.7~22.3	34	27.3~40.7	51	43.9~58.1	68	61.4~74.6	85	80.0~90.0
1	0~2.4	18	12.6~23.4	35	28.3~41.7	52	44.9~59.1	69	62.5~75.5	86	81.1~90.9
2	0.0~4.0	19	13.5~24.5	36	29.2~42.8	53	45.9~60.1	70	63.5~76.5	87	82.2~91.8
3	0.6~5.4	20	14.3~25.7	37	30.2~43.8	54	47.0~61.0	71	64.6~77.4	88	83.4~92.6
4	1.2~6.8	21	15.2~26.8	38	31.1~44.9	55	48.0~62.0	72	65.7~78.3	89	84.6~93.4
5	1.9~8.1	22	16.1~27.9	39	32.1~45.9	56	49.0~63.0	73	66.7~79.3	90	85.8~94.2
6	2.6~9.4	23	17.0~29.0	40	33.1~46.9	57	50.0~64.0	74	67.8~80.2	91	87.0~95.0
7	3.4~10.6	24	18.0~30.0	41	34.0~48.0	58	51.0~65.0	75	68.9~81.1	92	88.2~95.8
8	4.2~11.8	25	18.9~31.1	42	35.0~49.0	59	52.0~66.0	76	70.0~82.0	93	89.4~96.6
9	5.0~13.0	26	19.8~32.2	43	36.0~50.0	60	53.1~66.9	77	71.0~83.0	94	90.6~97.4
10	5.8~14.2	27	20.7~33.3	44	37.0~51.0	61	54.1~67.9	78	72.1~83.9	95	91.9~98.1
11	6.6~15.4	28	21.7~34.3	45	38.0~52.0	62	55.1~68.9	79	73.2~84.8	96	93.2~98.8
12	7.4~16.6	29	22.6~35.4	46	39.0~53.0	63	56.2~69.8	80	74.3~85.7	97	94.6~99.4
13	8.2~17.8	30	23.5~36.5	47	39.9~54.1	64	57.2~70.8	81	75.5~86.5	98	96.0~100
14	9.1~18.9	31	24.5~37.5	48	40.9~55.1	65	58.3~71.7	82	76.6~87.4	99	97.6~100

表2 60例NRBC≥1.0%仪器检测均值与手工计数均值

序号	仪器检测均值	手工计数均值	序号	仪器检测均值	手工计数均值	序号	仪器检测均值	手工计数均值
1	1.0	1	21	4.3	4.3	41	16.6	18.5
2	1.1	1	22	4.5	4.5	42	17.1	15
3	1.3	1	23	4.8	4.8	43	13.2	15.5
4	1.3	0.5	24	5.2	5.2	44	14.9	15
5	1.4	1	25	5.0	5	45	15.8	14.5
6	1.5	2	26	5.9	5.9	46	17.2	16
7	1.7	2	27	6.6	6.6	47	17.2	20
8	2.0	2.5	28	6.8	6.8	48	17.8	17
9	2.0	2	29	7.0	7	49	18.5	18
10	2.5	3	30	7.1	7.1	50	20.9	20
11	2.8	2	31	7.3	7.3	51	20.9	19.5
12	2.9	3	32	8.8	8.8	52	23.5	23
13	3.0	4	33	9.6	9.6	53	28.4	24.5
14	3.1	3	34	9.7	9.7	54	36.2	34
15	3.1	4	35	9.8	9.8	55	38.2	38
16	3.5	3	36	10.7	13	56	43.9	38.5
17	3.7	3.5	37	11.8	12	57	56.3	60
18	4.0	3	38	12.8	11	58	77.3	81.5
19	4.0	5	39	14.3	15.5	59	102.6	110
20	4.2	5	40	15.4	12	60	155.4	150

2.2 相关性比较 全自动XN-9000血液细胞分析流水线计数NRBC, NRBC≥1.0%的临床标本共计60例,分成NRBC(%)1~10和>10两个组。将仪器重复检测结果计算出平均值,同时对标

本进行全自动涂片染色,双盲法对血液涂片进行手工显微镜分类计数NRBC,并计算均值,两组相关性比较结果显示仪器检测NRBC%与手工计数的结果相关系数(r)分别为0.9273和0.9713,差异

2 结果

2.1 血细胞分析结果 全自动XN-9000血液细胞分析流水线计数NRBC, NRBC≥1.0%的临床标本共计60例,将仪器重复检测结果计算出平均值;同时对标本进行全自动涂片染色,双盲法对血液涂片进行手工显微镜分类计数NRBC,并计算均值作为NRBC靶值,确定其相应的可信范围,见表1。全自动XN-9000血液细胞分析流水线检测NRBC与手工计数均值(靶值)见表2,通过在表1的范围查询,均在可信范围内。

均无统计学意义($P>0.05$)见表3,图1和2。

表3 手工计数与 XN-9000 血液细胞分析流水线
检测 NRBC 结果分组比较

NRBC (%)	1~10($n=35$)		>10($n=25$)	
	手工计数	仪器检测	手工计数	仪器检测
$\bar{x}\pm s$	4.29±2.58	4.36±2.62	32.48±34.03	32.68±33.78
P值	0.927 3		0.971 3	
r	0.972 1		0.996 2	

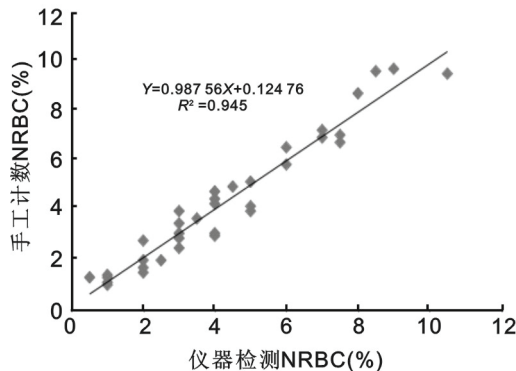


图1 NRBC(%)1~10组手工计数和仪器检测结果相关性比较

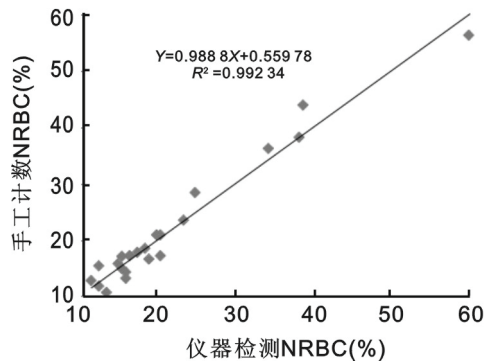


图2 NRBC(%)>10组手工计数和仪器检测结果相关性比较

3 讨论 XN-9000 全自动血液细胞分析流水线是日本 Sysmex 公司生产的最新型号,该流水线除检测 WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC 及 PLT 等主要参数外,还提供 NRBC, IG 等参数定量分析。WNR 通道(WBC/BASO 和 NRBC 通道)通过 Lysercell WNR(WBC 和 NRBC 溶血剂)中的表面活性剂使成熟红细胞(RBC)溶解;Fluorocell WNR(WBC 和 NRBC 染色剂)可对有核细胞进行染色;再使用流式细胞术原理,测定有核细胞的前向散射光(FSC)、侧向散射光(SSC)、侧向荧光(SFL)等强度,根据其强度的不同将 NRBC 与其它白细胞区分,并增加了 NRBC 对白细胞计数干扰的修正功能。

目前全世界均无 NRBC 的校准品,厂家通过对其参数的灵敏度进行校准,仪器检测 NRBC 结果是否准确,需要有什么方法来验证以及两种不同方法如何进行对比,为此我们做了一些探讨。众所周知,手工显微镜分类计数是 NRBC 计数的金标准,虽然目前全世界均无 NRBC 参数的校准品,但

厂家通过对其参数的灵敏度调校后,仪器检测结果与手工计数方法(金标准)进行校准后的验证是切实可行的,也是十分必要的。仪器检测 NRBC 与白细胞分类计数的方法和校准方法类似,故我们采取对白细胞分类进行校准验证的方法来对 NRBC 进行验证,即以人工计数 NRBC 的值为靶值,然后计数出可信范围,如果仪器检测的值在可信范围之内,说明仪器计数的值是正确的,这种方法实用、易掌握、简便快捷;计算相关性相对复杂。

近年来, Sysmex 公司致力于研究简便、快速、准确的检测体液、NRBC 及白细胞五分类的血液细胞分析仪器流水线系统^[4~6],可以快速为临床提供检测数据。对于常规性的大量临床标本来说,由于手工计数的细胞数相对较少,而且计数的准确性、精密度受技术人员的主观因素影响较大,检查步骤繁琐、耗时,难快速为临床提供实验数据;仪器检测比人工镜检存在较大优势,仪器检测标本的数量大,速度快,结果重复性较好,受人为影响因素较少等,得到了全球一些大中型医院的认可和应用^[7~10]。笔者认为,虽然正常成年人群的外周血中不出现 NRBC,但在某些病理状态下可出现 NRBC,不仅与多种疾病有关,还与一些疾病的不良预后有关,因此 NRBC 的检测有较为广泛的临床意义。NRBC 参数的检测不仅可协助临床诊疗相关疾病,判断某些疾病的预后,还可使 NRBC 对 WBC 计数的干扰(使其假性增高)得到及时修正,使仪器检测的 WBC 结果更准确可靠。

参考文献:

- [1] 慕悦意,李筱梅,李 勇,等. XE-5000 血液分析仪检测有核红细胞的评价[J]. 检验医学, 2012, 27(8): 667-670.
Mu YY, Li XM, Li Y, et al. Evaluation on nucleated red blood cell detection by XE-5000 automated hematology analyzer [J]. Laboratory Medicine, 2012, 27(8): 667-670.
- [2] Kim SJ, Kim YJ, Shin S, et al. Comparison study of the rates manual peripheral blood smear review from automated hematology analyzers, Unicel DxH800, ADVIA2120i, and XE, using international consensus group guidelines[J]. Arch Pathol Lab Med, 2012, 136(11): 1408-1413.
- [3] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Calibration and quality control of automated hematology analyzer; Approved guideline[S]. Wayne: PA, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999: H38-P.
- [4] 郑 恬,郑善鑫,胡恩亮,等. Sysmex XE-5000 全自动血液细胞分析仪有核红细胞检测的临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(18): 2666-2668, 2671.
Zheng T, Zheng SL, Hu EL, et al. Clinical application and evaluation of Sysmex XE-5000 automated blood cell analyzer for detecting nucleated red blood cells

- [J]. Int J Lab Med, 2015, 36(18):2666-2668, 2671.
- [5] Ho G, Keutgens A, Huwart A, et al. Evaluation of the Sysmex XE-5000 for automated body fluid and cerebrospinal fluid analysis[J]. Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée, 2012, 27(1):256-263.
- [6] Perné A, Hainfellner JA, Womastek I, et al. Performance evaluation of the Sysmex XE-5000 hematology analyzer for white blood cell analysis in cerebrospinal fluid[J]. Arch Pathol Lab Med, 2012, 136(2):194-198.
- [7] Lippi G, Cattabiani C, Benegiamo A, et al. Evaluation of white blood cell count in peritoneal fluid with five different hemocytometers[J]. Clin Biochem, 2013, 46(1/2):173-176.
- [8] 赵媛, 胡恩亮, 郑恬, 等. Sysmex XN-3000 血液分析仪检测外周血有核红细胞的应用评估[J]. 检验医学, 2015, 30(4):356-358.
- Zhao Y, Hu EL, Zheng T, et al. Application evaluation on peripheral blood nucleated red blood cell determination by SYSMEX XN-3000 automatic blood cell analyzer[J]. Laboratory Medicine, 2015, 30(4):356-358.
- [9] 王礼法. Sysmex XN-9000 全自动血液分析仪性能评价[J]. 中国医学装备, 2014, 11(12):38-40, 41.
- Wang LF. Research on performance evaluation of sysmex XN-9000 automatic blood fluid analyzer[J]. China Medical Equipment, 2014, 11(12):38-40, 41.
- [10] 王也飞, 周怡, 丁磊, 等. Sysmex XN-1000 全自动血液分析仪计数有核红细胞的准确性评价[J]. 检验医学, 2014, 29(3):262-265.
- Wang YF, Zhou Y, Ding L, et al. The accuracy evaluation of nucleated red blood cell count determined by SYSMEX XN-1000 automatic hematology analyzer[J]. Laboratory Medicine, 2014, 29(3):262-265.
- [11] 王志群, 张雁. XN-1000 全自动血液分析仪检测有核红细胞的评价及影响因素分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2014, 14(29):99-100.
- Wang ZQ, Zhang Y. Evaluation and influence factors analysis of SYSMEX XN-1000 automatic hematology analyzer in detection of nucleated red blood cell [J]. World Latest Medicine Information, 2014, 14(29):99-100.

收稿日期:2016-07-17

修回日期:2016-10-27