维普资讯 http://www.cqvip.com

[11] Kennedy S. Proteomic profiling from human samples: the body fluid alternative[J]. Toxicol Lett, 2001, 120 (123): 379 - 384.
[12] Ahmed N, Oliva K, Wang Y, et al. Proteomic profiling of proteins associated with urokinase plasminogen activator receptor in a colon cancer cell line using an antisense approach[J]. Proteomics, 2003, 3 (3): 288 - 298.
[13] Chaurand P, DaGue BB, Pearsall RS, et al. Profiling proteins from azoxymethane induced color tumors at the molecular level by matrix2assisted laser desorption/ ionization mass spectrometry[J]. Proteomics, 2001, 1(10): 1320 - 1326.
[14] Adam BL, Qu Y, Davis JW, et al. Serum protein fingerprinting coupled with a patternmatching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostae hyperplasia and healthy men[J]. Cancer Res, 2002, 62(13): 3609 - 3614.

(编辑:蒋登金)

自动血细胞计数质量标准的研究进展

Research progress in quality specification of the automated blood cell count

汤桂丽 (解放军第324医院检验科,重庆 400020)

[关键词] 血细胞; 计数; 质量标准
[中图分类号] R446.111 [文献标识码] B [文章编号] 1672 - 5042(2006)03 - 0199 - 02

任何实验室检测的主要目的是得出足够准确的结果供临床使用。自动血细胞计数包括全血细胞计数(CBC),分类白细胞计数(DLC),及网织红细胞计数等分类计数。现在,关注的焦点问题是数字结果的可靠性,自动分析的效率,以及对病理标本(包括幼稚或非典型细胞)提供临床诊断的敏感性。一个完整的质量规划还应考虑分析前和分析后阶段的其他方面,以下几个方面是将来发展要重点考虑的论题:抗凝剂的影响、样品保存时间和温度是分析前阶段的焦点问题;分析阶段的不精密性和偏倚;分析后阶段的医学考查标准和标准的报告。下面,本文就抗凝剂的选择、标本保存、分析的不精密性、分析偏倚和报告的质量等方面进行综述。

1 抗凝剂的选择

国际血液病标准化委员会(ICSH)于1993年公布推荐用于的K_2EDTA(乙二胺四乙酸)为细胞计数和测量细胞大小的抗凝剂。K_2EDTA优于K_3EDTA的地方在于无对标本的稀释效应和较少影响红细胞平均容积(MCV),而K_3EDTA使红细胞皱缩致MCV降低。以往发表的不同的研究对比了K_2EDTA与K_3EDTA在自动检测CBC和DLC中的效果,只有部分结果相同;Asanuma等在血液PH值不同时发现两种抗凝剂对MCV值检测的差别,使用K_3EDTA时MCV值偏低,并在pH降低时出现更大的偏差[1]。这种结果涉及血液透析病人的血样和使用光散射方法测量细胞容积的仪器。VanCott等分析了正常受试者和病人的样本在4 ℃环境保存4 h或24 h后,用光散射分析器测定,他们发现在使用K_3EDTA的所有的案例中只有CBC参数轻微的降低[2]。这些检测结果差别应归因于液态K_3EDTA的稀释效应,案例中的MCV值差异是由于红细胞皱缩。总之,根据国际血液病标准化委员会的标准,K_2EDTA应该是自动血细胞计数的首选抗凝剂。

2 样本保存和稳定性

血液中的细胞成分在EDTA液中有限的稳定时间,过度的延迟处理会导致检测结果的精密性受到影响。而且,样本保存的另一方面必须注明,即光学或阻抗自动计数的方法差别。样本保存在低温环境下被认为能改善部分CBC和DLC参数的稳定性[3-7],但是,目前还没有系统的研究用有效的仪器证实正常样本和病理标本在延迟检测时会产生完全不同的结果。Wood等用自动分析仪的阻抗法检测CBC,光学法检测DLC(Cell Dyn 3500, Abbott),标本在室温下保存24 h后检测只有MCV升高约2.6%。白细胞计数在光学法检测时系统地偏低8.5%,阻抗法检测时稳定,其余地CBC参数稳定。他们注意到,DLCs中所有样本的中性粒细胞计数降低而淋巴细胞和嗜碱粒细胞计数升高;这种差别在病人的标本比对照更明显。标本保存在4 ℃环境24 h的CBC参数比室温保存更稳定,仅有中性粒细胞轻微升高和淋巴细胞稍稍降低,嗜碱粒细胞升高的百分比在两种保存方法中类似。甚至在细胞涂片镜检的DLC中,样本在室温保存24 h后检测,表现为中性粒细胞百分比值升高和淋巴细胞降低,可能是因为中性粒细胞的核变化在4 ℃保存时不发生[8]。Houwen建议制备血涂片做显微镜分析最好在标本收集2 h内完成,即使8 h后所做的血涂片结果仍能接受,但标本必须保存在4 ℃环境中[9]。

3 分析的不精密性

从病人的血液样本中得出的分析结果的精确度是很重要的,即使结果中包含的分析和生物学的差异不被临床医生所直接理解。如果其中的某一元件远大于其他参数,它就成为限制因素。在评估一个方法的精密度时,必然要求了解生物学变异:改进分析精密度超过某种限制,因为当一个参数具有高度

[收稿日期] 2006 - 01 - 25 [修回日期] 2006 - 04 - 11

维普资讯 http://www.cqvip.com

的生物学变异时,其结果只能带来最低限度的临床用途。已提出的不同方法建立不精密性标准,从生物学变异的基础上到工艺水平参考[10],再到临床医师的调查表。所有这些模型和措施有一定的强度限制。基于生物学变异的部分临床指标,如剂量测定或经一定人口数的簇群筛选后,其结果一旦稳定,不再依赖研究的时间期限、地理区域、年龄等因素。公式中所用的数值一般取个体差异的平均数或中间值。基于工艺水平的方法可通过实验室间的评估方案或已发表的实验研究获得,对仪器的评估或分析对照样本必须比常规给予更多的注意。最后,分析的绩效可能因时间和分析的目标而改变。那些基于调查表反映出的方法在实用中的分析质量,建议差别包括生物学的和分析的差异,提出的目标应与反馈获得的中位数相符。

4 分析偏倚

偏倚(或系统误差)有修正分析病人关于确定前取舍的作用(对临床决策有用的参照间期或判断阈值的上限和下限)。结果是试验依照的阳性或阴性替换的敏感性或特异性降低。基于病人变异分布建立的方法推测病人阈值的百分比通常是恒定的,临床医师能理解分布的突然变更所致的分析变化。根据相对复杂的计算得出的方法是非常有趣的,而根据生物学变异得出的方法,其优点和限制如前所述。从文献提供的资料和数据分析,可以看出:根据病人分布和生物学变异为目标是非常接近的,而那些根据两种方法的不精密性往往更大。报告中的参数如白细胞、红细胞、血红蛋白和中性粒细胞等的技术水平是令人满意的,但是,其他指标如血小板或 DLC 中的部分成分还远远不够。近年的分析仪在推向市场时,已证实在血小板计数方面有大的改进[11]。这些改进也被发现在分类计数的偏倚值方面,如淋巴细胞(偏倚值在0.87%与7.5%之间)和嗜酸粒细胞(偏倚值在1.3%与13.9%之间),而单核细胞和嗜碱粒细胞的结果仍没达到最佳(来自意大利实验医学会的数据)。

5 报告的质量

在血液病学上,我们目睹自动计数器带来的"血液学参数"数量增长与血液病学描述相分离,已普遍被了解对临床环境有用。这些参数包括血红蛋白浓度、红细胞压积、血小板计数、白细胞计数、MCV、白细胞分类计数和网织红细胞浓度。其它参数如网织红细胞不成熟级分(IRF)或网织红细胞指数被认为只在专门科室有用,如骨髓移植、透析和血液病学单位。临床医师仍然主张用显微镜观察血涂片以鉴别红细胞或白细胞异常,并且即使结果为阴性,他们也只在专家检查血涂片没有发现异常后才感觉放心。临床医师的这种态度与减少显微镜检查到最小量的需要相反,为应对这种对比,基本的方法是将报告按配方表示。血液病学报告分级的结构并应包含临床上有用的一般参数,使之标准化和有效的用于大多数自动分析仪[12]。如果有必要,应包括 CBC 、 DLC 、网织红细胞浓度、IRF 和有核红细胞(NRBC)等参数,报告附加的注释部分可加上血涂片发现的细胞形态异常,以回答特殊的临床问题,建议更进一步的诊断性实验,或插入其它定量参数和适当的解释。报告的注解部分毫无疑问是最费功夫的,因其不能自动产生并需要时间和技巧及临床知识。外周血涂片鉴别的细胞形态异常应以下划线注明,指出可能的诊断并排出需要做的进一步的检查[13]。还要有专门的人员详细地检查最后结果的质量并提供改善的信息给临床医师,对病人的治疗有积极的影响。

[参考文献]

[1] Asanuma M, Taguchi C, Kumagai T, et al. The hydrogenion concentration (pH) in blood samples with K_2 and K_3 EDTA effects mean corpuscolar volume values in hemodialysis patients[J]. Lab Hematol, 2000,6(1):67-72.

[2] VanCott EM, Lewandrowski KB, Patel S, et al. Comparison of glass K_3 EDTA versus plastic K_2 EDTA blood-drawing tubes for complete blood counts, reticulocyte counts and white blood cell differentials[J]. Lab Hematol,2003,9(1):10-14.

[3] 苏军华,朱 芸,张 静. 血细胞分析仪血小板计数影响因素的探讨[J]. 河北医科大学学报,2003,(5):300-301.

[4] 吴凤丽. 血细胞分析仪计数血小板结果偏高原因分析[J]. 航空航天医药,2003,14(3):161.

[5] 黄惠芳, 周志英,程振鑫. 血液分析仪的室内质控方法探讨[J]. 临床检验杂志,2003,21 (4):233.

[6] 王文工,王 丽,王望东. 血液标本保存温度和时间对血小板系统检测指标的影响[J]. 微循环学杂志, 2005,15(3): 74-77.

[7] 刘 炜, 柳淑清. 全自动血球计数仪对耳垂血与静脉血对比分析[J]. 中国误诊学杂志, 2005,5 (7):1319.

[8] Wood BL, Andrews J, Miller S ,et al. Refrigerated storage improves the stability of the complete blood cell count and automated differential [J]. Am J Clin Pathol,1999,112(10):687-695.

[9] Houwen B. Blood film preparation and staining procedures[J]. Lab Hematol,2000,6(1): 1-7.

[10] Fraser CG , Hyltoft Petersen P. Analytical performance characteristic should be judged against objective quality specifications[J]. Clin Chem,1999,45(4):321-323.

[11] Sandhaus LM, Ebenezer SO, Agrawal NN, et al. Platelet counting by the coulter LH 750, Sysmex XE 2100 and ADVIA 120. A comparative analysis using the RBC/platelet ratio reference method[J]. Am J Clin Pathol,2002,118(3):235-241.

[12] Gulati GL, Hyland LJ, Kocher W, et al. Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature[J]. Arch Pathol Lab Med, 2002,126 (4):336-342.

[13] Peterson P, Blomberg DJ, Rabinovitch A, et al. For the Hematology and Clinical Microscopy Resource Committee of the College of American Pathologists. Physician review of the peripheral blood smear: when and why. An opinion[J]. Lab Hematol,2001,7(2):175-179.

(编辑:蒋登金)