

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.10.16

# 不同血细胞分析仪检测网织红细胞计数的比对评价\*

孟欣<sup>a</sup>, 李娜<sup>b</sup>, 王苗苗<sup>a</sup>, 张宁<sup>a</sup> (西安交通大学第一附属医院, a. 检验科, b. 妇产科, 西安 710061)

**摘要:**目的 观察 Sysmex XN-9000 血细胞分析仪和 Mindray BC-6800 Plus 血细胞分析仪网织红细胞 (reticulocyte, Ret) 计数结果可比性, 并评价其检测性能。方法 按照 CNAS-CL02-A001:2018 技术要求, 分别评价其精密度、线性、准确度、相关性, 并根据 WS/T 407—2012 以及 WS/T 406—2012 制定比对方案, 分别计数 154 例临床血液标本 Ret, 分析比对方案的可行性。结果 Sysmex XN-9000 血细胞分析仪 Ret 批内精密度 (用 CV 表示) 分别为 4.98%、3.54%、4.02%, 日间精密度 (用 CV 表示) 分别为 8.54%、5.37%、4.45%; Mindray BC-6800 Plus 血细胞分析仪 Ret 批内精密度 (用 CV 表示) 分别为 3.29%、3.30%、2.99%, 日间精密度 (用 CV 表示) 分别为 5.34%、3.43%、3.60%; Sysmex XN-9000 血细胞分析仪和 Mindray BC-6800 Plus 血细胞分析仪线性斜率分别为 1.0456、1.0111,  $r^2$  分别为 0.989 0、0.999 2; 二者结果呈正相关,  $r=0.970$  ( $P<0.01$ )。Bland-Altman 偏移散点图分析显示, Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus Ret 计数结果差值 95% CI 为  $(-46.64 \times 10^9/L, 36.34 \times 10^9/L)$ , 差值均值  $-5.149 \times 10^9/L$ , 差值均值的标准差  $21.17 \times 10^9/L$ 。随着 Ret 计数的增加, 散点的分布呈现分散状态。根据 WS/T 407—2012 比对方案, 3 个样本比对偏差分别为 13.14%、11.87%、53.93%, 比对不通过。根据 WS/T 406—2012 比对方案, 154 例样本总体符合率 64.94%, 比对不通过。多个系统相互比较同样提示 Ret 不具有可比性。结论 Sysmex XN-9000 血细胞分析仪与 Mindray BC-6800 Plus 血细胞分析仪 Ret 计数检测均符合各自质量标准要求, 但结果不具有可比性, 实验室应制定合适的性能验证方案以提高检验质量。

**关键词:**网织红细胞; 血细胞分析仪; 比对

中图分类号: R446

文献标志码: A

网织红细胞 (reticulocyte, Ret) 是尚未完全成熟的红细胞, 随着 Ret 中 RNA 逐渐降解, 发育为成熟红细胞<sup>[1-2]</sup>。Ret 是评价骨髓造血功能和红细胞生成活力的重要指标, 广泛应用于贫血的诊断、鉴别诊断和疗效观察以及骨髓移植或化疗后造血功能恢复情况的监测<sup>[3-5]</sup>。随着全自动血细胞分析仪的使用, Ret 的检测由传统的新亚甲蓝活体染色显微镜计数法逐步发展成荧光染色计数法<sup>[6-7]</sup>。2011 年颁布实施的《网织红细胞计数的参考方法》、为 Ret 计数校准提供了依据。但是该方法仍然为手工计数, 不能满足 Ret 计数自动化检测校准的需求。国际血液学标准化委员会等国际性标准化组织正在研究新的 Ret 计数参考方法、标准操作程序。

依据 CNAS-CL02-A001:2018 技术要求 5.6.4, 实验室用两套及以上检测系统时, 应有比对数据表明其检测结果的一致性, 实验方案可参考 WS/T 407—2012《医疗机构内定量检验结果的可比性验证指南》以及 WS/T 406—2012《临床血液学检验常规项目分析质量要求》<sup>[8]</sup>。因此, 本研究对我院两

种血细胞分析系统 Ret 计数进行比对评价, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 收集西安交通大学第一附属医院门诊、住院患者 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝全血标本共计 154 例, 其中男性 85 例, 女性 69 例, 年龄  $(45.1 \pm 18.2)$  岁。所有样本采集后 4 h 内完成 Ret 检测。

**1.2 主要仪器与试剂** Mindray BC-6800 Plus 全自动血细胞分析仪及其配套校准品、质控品和试剂 (深圳迈瑞公司, 以下简称“Mindray BC-6800 Plus”), Sysmex XN-9000 全自动血细胞分析仪及配套校准品、质控品和试剂 (日本希森美康公司, 以下简称“Sysmex XN-9000”)。严格按照实验室 SOP 文件质量要求进行仪器校准。Sysmex XN-9000 和 Mindray BC-6800 Plus 均按 SOP 文件严格执行每日室内质控并确保结果在控。Sysmex XN-9000 选用 CBC+RET 模式, Mindray BC-6800 Plus 选用 RET 模式, 进行 Ret 自动计数。

\* 基金项目: 陕西省重点研发计划 (2021SF-343)。

作者简介: 孟欣, 1980 年生, 女, 副主任技师, 硕士, 研究方向为临床血液学检验。

通信作者: 张宁, E-mail: 237474800@qq.com。

**1.3 评价方法** 为保证实验室 Ret 计数结果准确可靠,在仪器状态良好的情况下,按照 WS/T 406—2012,分别进行精密度、线性、准确度等性能验证,同时进行两个检测系统间可比性评价。

**1.3.1 精密度评价** 取高、中、低 3 浓度临床样本连续测定 11 次,弃去第一次结果,计算批内变异系数( $CV_{批内}$ )。使用高、中、低 3 浓度水平质控品,每日进行 2 次室内质控,连续检测 20 d,剔除失控数据后计算在控数据,即为日间变异系数( $CV_{日间}$ )。

**1.3.2 线性评价** 取 1 份接近预期上限的高值全血标本,分别按 100%、80%、60%、40%、20%、10%、0 的比例稀释,每个稀释度重复测定 2 次,取均值作为实测值。

**1.3.3 准确度评价** 根据国家卫生健康委临床检验中心室间质评物统计结果,计算每份质评物单次检测结果与室间质评参考值的相对偏差,评估其准确度。

**1.3.4 两个系统 Ret 计数可比性评价** 依据 WS/T 407—2012 中可比性验证方法,验证 Sysmex XN-9000 和 Mindray BC-6800 Plus 两个系统 Ret 计数偏差是否符合要求。

表 1 Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus 检测 Ret 计数的精密度结果

检测系统	水平 1			水平 2			水平 3		
	$\bar{x} \pm s (\times 10^9/L)$	$CV_{批内} (%)$	$CV_{日间} (%)$	$\bar{x} \pm s (\times 10^9/L)$	$CV_{批内} (%)$	$CV_{日间} (%)$	$\bar{x} \pm s (\times 10^9/L)$	$CV_{批内} (%)$	$CV_{日间} (%)$
XN-9000	46.00±2.29	4.98	8.53	115.83±4.10	3.54	5.37	235.04±9.44	4.02	4.45
BC-6800 Plus	41.10±1.35	3.29	5.34	124.90±4.12	3.30	3.43	237.66±7.10	2.99	3.60

**2.2 线性评价** 将实测值与理论值作相关性回归分析,计算  $Y = aX + b$  ( $a$  为线性斜率) 及相关系数  $r^2$ , 见表 2。 $a$  在  $1 \pm 0.05$  范围内,相关系数  $r^2 \geq 0.95$ ,线性符合质量要求。

表 2 Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus 检测 Ret 计数线性结果

检测系统	线性范围 ( $\times 10^9/L$ )	回归方程	$r^2$
XN-9000	0~720	$Y = 1.0456X - 2.2238$	0.9890
BC-6800 Plus	0~800	$Y = 1.0111X - 0.6556$	0.9992

表 3 Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus 检测 Ret 计数的准确度

质评物	XN-9000			BC-6800 Plus			允许偏倚 (%)
	测定值 ( $\times 10^9/L$ )	靶值 ( $\times 10^9/L$ )	偏倚 (%)	测定值 ( $\times 10^9/L$ )	靶值 ( $\times 10^9/L$ )	偏倚 (%)	
202001	0.9	0.9	0	0.65	0.8	-18.75	30
202002	4.2	4.5	-6.67	4.46	4.6	3.04	

**2.4 两个系统 Ret 计数相关性和一致性评价** 两套检测系统同时分析 154 例标本 Ret 计数结果呈

**1.3.5 Ret 计数比对符合率评价** 依据 WS/T 406—2012 中 5.8 实验室内的结果可比性验证方法,对收集的临床样本分别用 Sysmex XN-9000 和 Mindray BC-6800 Plus 各检测 Ret 计数 2 次,计算每个系统均值,比较 Ret 计数不同浓度范围符合率。

**1.3.6 Ret 多个检测系统相互比较** 依据 CNAS-CL02-A001:2018 中 5.6.4 检验结果可比性方案,挑选高、中、低值样本 23 例,计算希森美康与迈瑞、希森美康不同型号、迈瑞不同型号之间 Ret 计数回归方程、相关系数。

**1.4 统计学分析** 用 SPSS 18.0 统计软件进行。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示;变量间相关性用 Spearman 相关检验;不同方法学结果一致性采用 Bland-Altman 偏移散点图评价,不同方法相关性采用 Passing-Bablok 回归分析。采用双侧检验进行统计学推断,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 精密度评价** 根据 WS/T 406—2012, Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus 检测低、中、高水平 Ret 计数的批内和日间精密度见表 1。

**2.3 准确度评价** 单次检测 2 份国家卫健委临床检验中心室间质评物 Ret 计数,计算质评物 Ret 计数与参考靶值相对偏差,见表 3,偏倚 = (检测值 - 靶值) / 靶值  $\times 100\%$ ,准确度符合质量要求。

正相关,直线回归方程  $Y = 1.1234X - 5.8654$ ,  $r = 0.970$ ,  $P < 0.01$ 。

Bland-Altman 偏移散点图分析显示, Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus 检测 Ret 计数结果差值 95% CI 为  $(-46.64 \times 10^9/L, 36.34 \times 10^9/L)$ , 差值均值为  $-5.149 \times 10^9/L$ , 差值均值的标准差为  $21.17 \times 10^9/L$ 。随着 Ret 计数的增加, 散点的分布呈现分散状态, 见图 1。

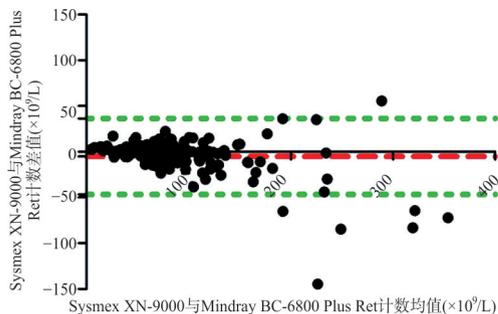


图 1 Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus Ret 计数 Bland-Altman 偏移散点图

**2.5 2 个系统 Ret 计数可比性** 按照 Sysmex XN-9000 和 Mindray BC-6800 Plus Ret 计数室内质控结果, 估计比对用标本浓度范围, 确定 3 个比对本, 水平 1  $(30.66 \sim 45.996) \times 10^9/L$ , 水平 2  $(65.08 \sim 97.614) \times 10^9/L$ , 水平 3  $(93.72 \sim 140.58) \times 10^9/L$ , 水平 1 重复检测 4 次, 水平 2 重复检测 2 次, 水平 3 重复检测 2 次。

Ret 缺少基于临床研究或专家共识的可接受标准, 参照室内质量评价标准允许总误差 ( $TEa$ ) 30% 的标准, 将 15.0% (即  $1/2TEa$ ) 作为 3 个浓度水平样本检测的分析质量要求, 每个样本比对偏差小于上述标准, 即为比对通过。3 个不同浓度样本比对试验结果, 见表 4。

表 6 不同检测系统 Ret 计数回归分析结果

比对系统	回归方程	r	p
Mindray BC-6800 Plus-1 与 Mindray BC-6800 Plus-2	$Y = 1.013 7X - 8.213 5$	0.988 3	<0.01
Sysmex XN-9000 与 Sysmex XN-3000	$Y = 1.001 8X - 3.317 6$	0.994 4	<0.01
Mindray BC-6800 Plus-1 与 Mindray BC-7500CRP	$Y = 0.568 0X + 27.415 0$	0.890 7	<0.01
Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus	$Y = 1.324 6X - 31.382 0$	0.959 3	<0.01
Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-7500CRP	$Y = 0.880 0X - 2.526 0$	0.977 4	<0.01
Sysmex XN-3000 与 Mindray BC-6800 Plus	$Y = 0.663 6X + 29.160 0$	0.930 0	<0.01
Sysmex XN-3000 与 Mindray BC-7500CRP	$Y = 0.870 0X + 1.163 2$	0.973 5	<0.01

### 3 讨论

很多实验室拥有多种品牌或者同一品牌的多种型号设备, 同一检验项目在不同系统间结果的可比性是质量管理的重要目标, 是实现患者结果可比性的重要保障<sup>[9]</sup>。临床检验中发现 Ret 计数在不同检测系统中结果差异巨大<sup>[10]</sup>, 为评估 Ret 计数的性能, 确保计数结果准确可靠, 本研究根据

表 4 Sysmex XN-9000 与 Mindray BC-6800 Plus Ret 计数比对结果

检测系统	标本 1	标本 2	标本 3
BC-6800 Plus 均值 ( $\times 10^9/L$ )	45.70	81.23	129.63
XN-9000 均值 ( $\times 10^9/L$ )	52.13	72.13	74.57
总均值 ( $\times 10^9/L$ )	48.92	76.68	102.10
极差 ( $\times 10^9/L$ )	6.43	9.10	55.06
比对偏差 (%)	13.14	11.87	53.93
分析质量要求 (%)	15.0	15.0	15.0
比对结论	通过	通过	未通过

注: 比对偏差  $r = [(检测系统结果的最大值 - 检测系统结果的最小值) / 总均值] \times 100\%$ 。

**2.6 154 例不同浓度样本 Ret 符合率** 以 Sysmex XN-9000 为基准仪器, Mindray BC-6800 Plus 为比对仪器, 每个样本的相对偏差符合判定标准 15.0% 的要求, 且符合率  $\geq 80\%$  比对通过。分别计数 154 例样本 Ret, 总体符合率为 64.94%, 各浓度范围符合率见表 5。

表 5 Ret 不同浓度范围比对符合率

浓度范围 ( $\times 10^9/L$ )	n	相对偏差 $\leq 15.0\%$ (n)	符合率 (%)
0~50	31	22	70.97
50~80	52	38	73.08
80~120	42	34	80.95
120~200	19	10	52.63
200~350	10	1	10.00

**2.7 多个检测系统 Ret 计数回归分析** 不同检测系统 Ret 计数回归方程、相关系数见表 6。Sysmex XN-9000 与 Sysmex XN-3000, Mindray BC-6800 Plus-1 与 Mindray BC-6800 Plus-2 回归方程斜率符合  $1 \pm 0.05$  要求,  $r > 0.97$ , 其余系统均不符合比对要求。

CNAS-CL02-A001:2018 技术要求, 制订性能评价及比对方案。

本研究 2 种系统采用不同的 Ret 校准方式, Sysmex XN-9000 Ret 通道采用经参考方法赋值 Ret 计数的校准品进行。Mindray BC-6800 Plus 根据常规校准品 RBC 增益校准, 调整 Ret 通道中红细胞粒子在散点图中上下左右的空间位置。Sysmex 校准

物将参考方法赋值直接传递到仪器,确保仪器和参考方法结果一致。但 Ret 具有在高荧光、中荧光和低荧光强度区连续分布的特征,校准物无法反映不同荧光强度区域连续分布的特征,也无法保证准确测量 LFR 和 IRF 等相关参数<sup>[11-12]</sup>。Mindray 校准方式则可以弥补以上方法的缺陷,但又无法保证其与参考方法检测结果的一致。

精密性是检测结果可靠性的前提,是检测系统可比性的根基。本研究 2 种系统 Ret 批内、日间不精密度均小于 10%,显示 2 种系统重复性良好,线性符合评价标准要求,准确度良好。154 例标本结果呈现正相关( $r = 0.970, P < 0.01$ )。Bland-Altman 偏移散点图分析显示,随着 Ret 的增加,散点的分布呈现分散状态。

本研究参照 WS/T 407—2012 制定验证方案,根据室内质控总均值估计需要比对的样本浓度范围,分别为  $(30.66 \sim 45.996) \times 10^9/L$ 、 $(65.08 \sim 97.614) \times 10^9/L$ 、 $(93.72 \sim 140.58) \times 10^9/L$ ,覆盖参考区间及常见浓度范围,留取比对样本<sup>[13]</sup>。根据每份样本重复检测次数的估算方法确定样本检测次数。Ret 计数缺乏明确的质量分析要求,参照室间质量评价标准允许总误差将 15.0% (即 1/2TEa) 作为 3 个浓度水平样本检测的分析质量要求。研究结果显示样本 1 比对偏差 13.14%,样本 2 比对偏差 11.87%,符合质量要求。样本 3 比对偏差 53.93%,大于分析质量要求,比对不通过。

本研究以 Sysmex XN-9000 为基准仪器, Mindray BC-6800 Plus 为比对仪器,154 例样本 Ret 总体符合率 64.94%。当 Ret 浓度  $(80 \sim 120) \times 10^9/L$  时,符合率最高,浓度大于  $200 \times 10^9/L$  时,符合率仅为 10%。两种比对方案均显示,不同系统 Ret 不具有可比性,不建议使用回归方程调节系数达到结果一致。分析原因可能有,不同血细胞分析仪 Ret 荧光染料差异,对细胞识别能力不同。李杰等<sup>[14]</sup> 研究显示,高白细胞样本会干扰 Ret 计数。蒋浩琴等<sup>[8]</sup> 提示红细胞、红细胞碎片、有核红细胞、血小板增多等均能导致 Ret 假性增高,荧光类药物和疟原虫等影响因素对 Ret 结果会产生严重干扰。因此,选择比对样本时要注意纳入标准。同时,Ret 的校准方式不同, Sysmex XN-9000 采用经参考方法赋值 Ret 计数的校准品进行, Mindray BC-6800 Plus 根据常规校准品 RBC 增益校准,由此可能造成仪器 Ret 计数的差异。因此,需要研究制定血细胞分析仪 Ret 计数标准方法,以满足实验室质量要求<sup>[15]</sup>。

多个检测系统 Ret 计数回归分析结果显示,仅仅只有 Sysmex XN-9000 与 Sysmex XN-3000 之间, Mindray BC-6800 Plus 相同系列仪器之间符合相关性要求,提示不同系统之间 Ret 不具有可比性。

#### 4 参考文献

- [1] 邱国强, 吴浩清, 谢晓宝. 网织血小板的检测及其临床意义 [J]. 临床检验杂志, 2004, 22(2): 138.
- [2] Banfi G, Mauri C, Morelli B, et al. Reticulocyte count, mean reticulocyte volume, immature reticulocyte fraction, and mean spheroid cell volume in elite Athletes; reference values and comparison with the general population [J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44(5): 616-622.
- [3] 韩启福, 聂静, 李子安, 等. AIHA 患者网织红细胞相关参数分析 [J]. 检验医学与临床, 2020, 17(6): 805-807.
- [4] 杨丹, 李巍, 叶志成, 等. 网织红细胞参数在新生儿溶血病治疗中的应用价值 [J]. 检验医学, 2018, 33(5): 393-395.
- [5] 赵应斌, 黎华连, 刘纲毅, 等. 地中海贫血妊娠妇女网织红细胞 6 项参数观察 [J]. 检验医学, 2008, 23(1): 27-29.
- [6] 张大莲, 孔繁林, 吴惠玲, 等. Sysmex XE2100 分析仪测定网织红细胞与显微镜分类法的相关性分析 [J]. 临床检验杂志, 2008, 26(3): 187.
- [7] 张磊, 张彦平, 张雯, 等. CellaVision DM96 血细胞数字图像分析仪计数网织红细胞的性能评价 [J]. 临床检验杂志, 2017, 35(2): 155-156.
- [8] 蒋浩琴, 顾剑飞, 陈健, 等. CAP 认可要求下 SYSMEX XN-9000 血液分析仪测定网织红细胞及其参数的性能验证与干扰因素研究 [J]. 检验医学, 2018, 33(5): 431-436.
- [9] Grillo R, Grimaldi E, Scopacasa F, et al. Evaluation of the reticulocyte counting by the Mindray BC 6800 automated hematology analyzer; comparison with ABX Pentra 120, Coulter LH 750, and microscopy [J]. Int J Lab Hematol, 2015, 37(1): e3-e6.
- [10] 张时民, 李建英, 王庚. 3 例溶血性贫血患者用血液分析仪检测网织红细胞结果偏低 [J]. 临床检验杂志, 2012, 30(1): 72.
- [11] 时永辉, 王锋, 洪骏, 等. LH750 与 XE2100 血液分析仪检测未成熟网织红细胞指数的比较 [J]. 临床检验杂志, 2012, 30(6): 424-425.
- [12] Buttarello M, Rauli A, Mezzapelle G. Reticulocyte count and extended reticulocyte parameters by Mindray BC-6800; Reference intervals and comparison with Sysmex XE-5000 [J]. Int J Lab Hematol, 2017, 39(6): 596-603.
- [13] 何小霞, 李果, 张洪波, 等. 武汉地区健康成人网织红细胞相关参数生物参考区间调查 [J]. 临床血液学杂志, 2019, 32(10): 769-772.
- [14] 李杰, 邢辉. 高白细胞标本对仪器法网织红细胞计数的干扰 [J]. 中国实验诊断学, 2015(7): 1114-1116.
- [15] 张青杨, 刁莹莹, 郑军. 不同仪器检测网织红细胞结果的可比性分析 [J]. 中国医科大学学报, 2015, 44(11): 975-977.

(收稿日期: 2021-04-12)

(本文编辑: 王海燕)