

血涂片复审原始/幼稚血细胞的临床诊断性试验研究

王昌富 邓明凤 彭长华 肖秀林 陈永玲 王长征 黄俊

作者单位: 434020 湖北省, 华中科技大学同济医学院附属荆州医院检验医学部

【摘要】 目的 建立仪器法血细胞分析后选择性显微镜筛检原始/幼稚血细胞的复审方案, 解决临床关注热点。**方法** 通过双盲法对 1048 份随机标本进行仪器分析和血涂片显微镜观察, 建立复审原始/幼稚血细胞的方案, 进行临床诊断性试验评价, 并与国际 41 条复审规则进行比较研究。**结果** ①国际 41 条复审规则真阳性率(7.44%)最高而假阴性率(0.19%)最低, 但复检率高达 46.95%, 与本方案复检率(22.90%)比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$); ②本复审方案特异性、准确度、Youden 指数、阳性似然比和阳性预测值优于国际规则; ③两种血涂片复审方案漏检率均 $< 1\%$ 。④验证试验显示除阳性预测值外, 其余各项临床诊断性评价指标与建模数据差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。**结论** 所建立血涂片复审原始/幼稚血细胞的方案具有很好的实效性。

【关键词】 血细胞; 分析; 血涂片; 复审; 原始细胞; 幼稚细胞; 白血病

The study on the clinic diagnostic test for blood smear review of blast/immature cells

WANG Chang-fu, DENG Ming-feng, PENG Chang-hua, et al. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Jingzhou Hospital, Huazhong Scientific University, Jingzhou 434020, China

【Abstract】 Objective To establish a review program for selective microscopic screening of blast/immature cells following instrumental analysis of blood cells and resolve the clinical focus. **Methods** 1048 cases random samples were tested by the instrument and microscopic observation with a double-blind method. The program for blast/immature cells review was established and valued with the clinic diagnostic test. The program was also compared with the international 41 review rules. **Results** ①The international 41 review rules had the highest true positive rate (7.44%) and the lowest false negative rate (0.19%), but with a high review rate (46.95%) and the difference with the review program (22.90%) had statistical significance ($P < 0.01$); ②The specificity, accuracy, diagnosis index, positive likelihood ratio and positive predictive value of the review program were all better than international 41. ③The false negative rates of the two review programs were both less than 1%; ④There were no statistical significance existed in the clinic diagnostic evaluation indicators except positive predictive value between the validation test data and the model-building data(P all > 0.05). **Conclusion** The new established program for blast/immature cells review has good practicability.

【Key words】 Blood cells; Analysis; Blood smear; Review; Blast cell; Immature cell; Leukemia

鉴于在血涂片复审中发现原始/幼稚血细胞最有实验诊断价值, 是临床关注的热点, 本文根据前期经验和基础建立复审方案筛检血涂片中原始/幼稚细胞, 并与国际血液学复审专家组关于“自动化全血细胞计数和白细胞分群分析后行为的建议规则”(简称国际 41 条复审规则)^[1] 的临床诊断性试验和验证结果进行比较研究。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂 Coulter LH755 全自动血细胞分析仪及配套试剂、质控品、校准品均为美国 Beckman

公司生产, 仪器经厂家校准合格, 性能评价符合要求, 室内质控数据在控; DM 1000 型生物光学显微镜, 德国 Leica 公司生产; EDTA-K₂ 抗凝真空管, 湖北金杏科技发展有限公司生产; 瑞特-姬姆萨染液, 珠海贝索生物公司生产。

1.2 标本来源 (1) 建模标本: 选择 2009 年 4 月至 2009 年 8 月我院各科住院患者的随机血液标本 1048 份, 年龄 1 h~75 岁, 中位年龄 42 岁, 其中白血病 43 例, 包括急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML) 16 例, 急性淋巴细胞白血病(acute

lymphoblastic leukemia, ALL)12 例(淋巴瘤白血病 2 例),慢性粒细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)10 例,慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphoblastic leukemia, CLL)5 例。(2)验证标本:2009 年 12 月随机标本 347 例用于验证,年龄 2 h~72 岁,中位年龄 43 岁,其中初诊白血病 10 例,包括 AML 2 例,ALL 5 例,CML 2 例,浆细胞白血病 1 例。(3)白血病诊断参照现行标准^[2]。

2 方法

2.1 双盲法检测 用 EDTA-K₂ 抗凝真空管采集静脉血 2 ml。所有血细胞分析标本采集后 4 h 内完成检测:经 LH 755 血细胞分析仪检测后,自动制备血涂片和染色。将染色后的血涂片于显微镜下分类计数 200 个白细胞,观察和记录所发现的各种血细胞形态特征。镜检阳性判断标准参照国际 41 条复审规则^[1]。如果仪器法血细胞分析后符合镜检条款或模式而血涂片复审发现异常为真阳性,未发现异常为假阳性;如果镜检条款或模式未被涉及而血涂片复审发现异常为假阴性,未发现异常为真阴性。

2.2 评价参数^[3] ①临床诊断性试验基本指标,包括真阳性、假阳性、真阴性、假阴性、复检率;②临床诊断性试验评价指标,包括灵敏度、特异性、准确度、

Youden 指数、阳性似然比、阴性似然比、阳性预测值、阴性预测值。

2.3 分析策略 参照血细胞自动化分析后血涂片复审标准制定的原则与步骤^[4]实施,结合前期工作基础^[5-7]选择筛查原始/幼稚血细胞备选条款(表 1),对建模标本检验结果进行统计分析后建立复审方案,并进行验证试验。同时与国际 41 条复审规则所获数据进行比较研究。

3 结果

3.1 血涂片复审模式和条款的评价 从表 2 中可见,国际 41 条复审规则真阳性率最高(7.44%)而假阴性率最低(0.19%),但复检率高达 46.95%(492/1048),与本方案复检率 22.90%(240/1048)比较,差异有统计学意义($\chi^2=284.44, P<0.01$)。临床诊断性试验评价表明(表 3),本复审方案的特异性、准确度、Youden 指数、阳性似然比和阳性预测值要优于国际规则。

3.2 对两种方案假阴性标本的分析 血涂片两种复审方案漏检率均<1%,以国际规则漏检阳性标本较少,本方案还漏检 1 例化疗后复诊的白血病(见表 2、表 4)。

3.3 347 份验证标本结果 验证试验显示(表 5、表

表 1 筛查原始/幼稚血细胞备选条款

编号	参数(单位)	复检条件	复检要求
数据需求			
1	PLT($\times 10^9/L$)	< 85(或常规手术允许阈值)或> 600	启用显微镜计数法或流式细胞术
2	PLT($\times 10^9/L$)	> 1000 或< 50 伴 HGB< 90 g/L	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
3	HGB(g/L)	< 70 或>其年龄和性别参考范围上限 20	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
4	WBC/Neut#($\times 10^9/L$)	> 30.0/> 20.0	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
5	WBC($\times 10^9/L$)	< 4.0(非实体瘤、器官移植化疗/放疗),伴 HGB< 90 g/L 或/和 PLT< 85 $\times 10^9/L$	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
6	Neut#($\times 10^9/L$)	< 2.0(非实体瘤、器官移植化疗/放疗),伴 HGB< 90 g/L 或/和 PLT< 85 $\times 10^9/L$	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
7	Lym#($\times 10^9/L$)或 Lym%	成人> 5.0(或 50%)< 2 岁> 7.0(或 70%)	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
8	Mono#($\times 10^9/L$)或 Mono%	> 1.5 或> 15%	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
9	Eos#($\times 10^9/L$)	> 2.0(伴 IG1 报警)	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
10	Baso#($\times 10^9/L$)	> 0.5	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
示警需求			
11	DC 无结果或结果不全	阳性报警	人工分类
12	IG1 报警	阳性报警伴 HGB< 90 g/L 或/和 PLT< 85 $\times 10^9/L$ 或/和 WBC>10.0 $\times 10^9/L$	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
13	IG2 报警	阳性报警	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
14	不典型或异常淋巴细胞	阳性报警	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
15	原始细胞报警	阳性报警	①涂片镜检;②若发现异常细胞,则应分类计数
16	NRBC 报警	阳性报警	①涂片镜检;②如发现 NRBC,计数 NRBC,重新核准 WBC 结果

表 2 仪器法血细胞分析后两种血涂片复审方案的结果[n(%)]

复审方案	真阳性	假阳性	真阴性	假阴性	复检率
本方案	75(7.16)	165(15.74)	803(76.62)	5(0.48)	240(22.90)
国际规则	78(7.44)	414(39.50)	554(52.86)	2(0.19)	492(46.95)

表 3 仪器法血细胞分析后两种血涂片复审方案的临床诊断性试验评价

复审方案	灵敏度(%)	特异性(%)	准确度(%)	Youden 指数	阳性似然比	阴性似然比	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
本方案	93.75	82.95	83.78	176.70	5.50	0.08	31.25	99.38
国际规则	97.50	57.23	60.31	154.73	2.28	0.04	15.85	99.64

表 4 两种复检方案假阴性标本的属性

方案	假阴性(n)		显微镜检查发现	临床诊断
本方案	2	幼稚粒细胞	嗜中性中幼粒细胞 2%	肺癌化疗后
			嗜中性中幼粒细胞 1%,嗜中性晚幼粒细胞 3%	卵巢癌化疗后
	2	有核红细胞	1 个	慢性肾炎
			3 个	卵巢癌化疗后
	1	白血病细胞	2%	淋巴瘤白血病
国际规则	1	幼稚粒细胞	嗜中性中幼粒细胞 2%	肺癌化疗后
	1	有核红细胞	1 个	慢性肾炎

表 5 仪器法血细胞分析后两种血涂片复审方案的验证结果[n(%)]

复审方案	真阳性	假阳性	真阴性	假阴性	复检率
本方案	35(10.09)	43(12.39)	266(76.66)	3(0.87)	78(22.48)
国际规则	37(10.66)	128(36.89)	181(52.16)	1(0.29)	165(47.55)

表 6 仪器法血细胞分析后两种血涂片复审方案的临床诊断性试验评价的验证结果

复审方案	灵敏度(%)	特异性(%)	准确度(%)	Youden 指数	阳性似然比	阴性似然比	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
本方案	92.11	86.08	88.47	178.19	6.62	0.09	44.87	98.88
国际规则	97.37	58.58	62.82	155.95	2.35	0.04	22.42	99.45

注:与建模数据比较,本方案除阳性预测值 $\chi^2=4.244, P=0.028$ 外,其余 P 均 >0.05

6),各项临床诊断性评价指标与建模数据特征一致,国际规则复审率较大达 47.55%,与本方案复审率(22.48%)比较,差异具有统计学意义($\chi^2=91.96, P<0.01$)。本方案的特异性、准确度、Youden 指数、阳性似然比和阳性预测值仍优于国际规则。验证试验与建模数据同类比较,除阳性预测值二者差异有统计学意义外($P<0.05$),其他指标差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。共有 37 例标本检出原始/幼稚细胞,其中 10 例白血病全部检出。两种方案中有不同组合的 4 份标本漏检幼稚血细胞,均属应用细胞因子治疗所致。

4 讨论

2005 年国际血液学复审协作组发表了“关于自动化全血细胞计数和白细胞分类分析后行为的建议规则”(简称国际 41 条复审规则),研究资料^[1]表明,

该规则真阳性 11.20%、假阳性 18.60%、真阴性 67.30%和假阴性 2.90%,血涂片复审率为 29.80%。2006 年 9 月,由中华医学会检验分会全国血液学复检专家小组、中华检验医学杂志编辑委员会举行了工作会议,对于国际规则进行了认真学习和讨论,并进行了恰当的注释^[8],拉开了国内血涂片复审的帷幕。此后国内发表了一系列相关论文^[6,7,9,10]。然而,5 年的工作积淀也展示了新的研究方向:如何在繁杂的设备条件下合理明智地设立复审规则、如何在复杂的临床需求中充分体现工作效率。

Bourner 等^[11]以 200 个随机选择的患者标本对 4 种型号的血细胞分析仪进行镜检比较分析显示,每台仪器的假阴性率相差不大,而假阳性率却有所差别,因此建立各自实验室复审规则十分必要。国内文献^[9,10]报道,门诊和和住院患者随机血细胞分析标本

的血涂片复审率分别为 29.1%、46.69%。本文通过双盲法对 1048 份住院患者的随机血标本进行仪器分析和血涂片显微镜观察,以“国际 41 条复审规则”进行评估,复审率为 46.95%,进一步验证试验仍是 47.55%,究其原因可能是全部选择住院标本所致。为了提高工作效率,关注临床焦点,本文以筛查血液中异常血细胞(原始/幼稚细胞)为重点,临床诊断性试验评价为手段,建立新的血细胞复审方案,结果表明本方案较国际规则相比显著减低了复审量,而且提高了特异性、准确度、阳性似然比、阳性预测值和 Youden 指数。验证试验的各项指标与建模时表现一致,说明本复审方案有很好的稳定性。

本方案对原始/幼稚血细胞进行选择性的血涂片复审,共有 4 例血液幼稚细胞反应性增生标本漏检,这些标本多来自于肿瘤化疗过程中使用造血因子制剂的患者,没有导致诊治错误。漏检的 1 例白血病标本(白血病细胞占 2%),为一非霍奇金淋巴瘤白血病期化疗后患者,该患者仅表现为血小板减少($68.04 \times 10^9/L$),无形态学示警信息。应用“国际 41 条复审规则”复审无一白血病遗漏,但将其用于对原始/幼稚血细胞进行筛检,复审率较高而工作效率太低。在实际工作中,如果在复审方案中加入“若临床诊断或拟诊白血病”这一条款,则不但能防止漏检白血病细胞,还能明显减低复审率。因此本文研究认为复审规则不能单单局限于实验室信息,而要注重临床医嘱,从而保证血涂片复审方案的实效性。

5 参考文献

- 1 Barnes PW, McFadden SL, Machin SL, et al. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action fol-

lowing automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol*, 2005, 11: 83-90.

- 2 张之南. 血液病诊断及疗效标准. 第 3 版. 北京科学出版社, 2007, 5: 103-150.
- 3 王建华. 实用医学科研方法. 人民卫生出版社, 2003, 190.
- 4 丛玉隆, 王昌富, 乐家新. 血细胞自动化分析后血涂片复审标准制定的原则与步骤. *中华检验医学杂志*, 2008, 31: 729-732.
- 5 邓明凤, 王昌富, 李莉, 等. 选择性显微镜检查对仪器法白细胞分类计数的质量保证. *实用医学检验杂志*, 1996, 3: 24-26.
- 6 王昌富, 丛玉隆, 汪永红, 等. 血涂片复审人员资历及效率的比较. *国际检验医学杂志*, 2007, 28: 964-966.
- 7 王昌富, 艾红梅, 邓明凤, 等. 国际血涂片复审准则对于 2 类血细胞分析仪的比较研究. *中国实验诊断学杂志*, 2009, 13: 557-559.
- 8 全国血液学复检专家小组. 全国血液学复检专家小组工作会议纪要暨血细胞自动计数复检标准释义. *中华检验医学杂志*, 2007, 30: 380-382.
- 9 XE-2100 血细胞分析复检标准制定协作组. Sysmex XE-2100 自动血细胞分析和白细胞分类的复检规则探讨. *中华检验医学杂志*, 2008, 31: 752-757.
- 10 王厚芳, 孙蓓, 于贵杰, 等. 国际血细胞复检规则在贝克曼-库尔特系列血细胞分析仪上的应用及改进方案. *中华检验医学杂志*, 2008, 31: 758-762.
- 11 Bourner G, Dhaliwal J, Sumner J. Performance evaluation of the latest fully automated hematology analyzer in a large commercial laboratory setting: a 4-way, side-by-side study. *Lab Hematol*, 2005, 11: 285-297.

(收稿日期: 2011-01-28)

(本文编辑: 李霖)

【消 息】

《实用检验医师杂志》广告业务招商

《实用检验医师杂志》于 2009 年 7 月 21 日获得中华人民共和国新闻出版总署批准的中华人民共和国期刊出版许可证,京期出证第 5864 号;2009 年 8 月 19 日获得天津市工商局批准的广告经营许可证,许可证号:1201034000665。广告经营范围:设计、制作印刷品广告,利用自有《实用检验医师杂志》发布广告。

本刊为新刊,国内外公开发行。目前本刊编辑部已开发广告业务,欢迎需要在本刊刊登广告的客户联系我们。联系电话:022-60577728;022-60577729。