

• 检验仪器与试剂评价 •

Sysmex XE-5000 血液分析仪检测异型淋巴细胞的实验研究

江雪霞¹, 刘少娟¹, 张东梅², 徐韞健^{2△}

(1. 广州市红十字会医院/暨南大学医学院第四附属医院检验科, 广东广州 510220;

2. 广州医学院第一附属医院检验科, 广东广州 510120)

摘要:目的 对 XE-5000 血液分析仪提示的异型淋巴细胞比率与人工镜检、T 淋巴细胞亚群检测结果比较, 探讨 XE-5000 血液分析仪对异型淋巴细胞检出的意义。方法 收集该院血细胞分析仪 XE-5000 测定静脉血中结果报警出现异型淋巴细胞和无报警出现异型淋巴细胞的患儿样本各 110 例进行人工涂片, 瑞氏染色及显微镜复检, 并采用流式细胞仪对部分外周血 T 淋巴细胞亚群进行检测。结果 以镜检为判断标准, XE-5000 血液分析仪对异型淋巴细胞报警的灵敏度为 90.82%, 特异度为 82.79%, 阳性预测值为 80.91%, 阴性预测值为 91.82%, 仪器法与镜检法检测异型淋巴细胞结果差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 报警组 CD3、CD8、CD4、CD4/CD8 水平, 分别与无报警组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 XE-5000 全自动血液分析仪异型淋巴细胞报警信息作为血常规分析中出现异型淋巴细胞的参考, 对临床诊断效率的提高有一定帮助。

关键词:血液分析仪; 异型淋巴细胞; 传染性单核细胞增多症; 淋巴细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)04-0475-03

Experimental study on detection of atypical lymphocyte by Sysmex XE-5000 hematology analyzer

Jiang Xuexia¹, Liu Shaojuan¹, Zhang Dongmei², Xu Yunjian^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Red Cross Hospital/the Fourth Affiliated Hospital of Ji'nan University,

Guangdong, Guangzhou 510220, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of

Guangzhou Medical University, Guangdong, Guangzhou 510120, China)

Abstract: Objective To analyze the significance of atypical lymphocyte detection by Sysmex XE-5000 hematology analyzer, and compare the results of manual microscopy and the expression level of T lymphocyte subsets. Methods 110 cases with atypical lymphocyte that had abnormal prompt and 110 cases with no abnormal prompt were collected, and the results were compared with all cases of manual push chip and Wright stain microscopy. Then T lymphocyte subsets in peripheral blood with part of abnormal alert were measured by no abnormal alert. Results Taking microscopy as the relative standard method, the alarm's sensitivity of atypical lymphocytes for Sysmex XE-5000 hematology analyzer was 90.82%, specificity was 82.79%, positive predictive value was 80.91%, and negative predictive value was 91.82%. There were differences between hematology analyzer and manual microscopy in the percentage of atypical lymphocytes. Compared with no abnormal prompt, the levels of CD3, CD8, CD4, CD4/CD8 were significantly different in abnormal prompt. Conclusion Abnormal prompt of atypical lymphocyte for XE-5000 hematology analyzer can be used as an effective reference tool, and XE-5000 can improve the efficiency of clinical diagnosis.

Key words: hematology analyzer; atypical lymphocyte; infectious mononucleosis; lymphocyte subsets

外周血中出现异型淋巴细胞, 常见于 EB 病毒 (EBV) 感染的传染性单核细胞增多症 (IM)。异型淋巴细胞的大量出现对诊断 IM 有重要意义^[1], 一般情况下可高达 10% 以上。显微镜镜检是异型淋巴细胞判定的金标准, XE-5000 血液分析仪具有异型淋巴细胞提示功能, 为评价该提示功能, 本实验收集有异型淋巴细胞报警和无异型淋巴细胞报警的标本各 110 例, 同时用手工显微镜分类异型淋巴细胞, 并对部分标本进行外周血 T 淋巴细胞亚群检测, 以探讨血液分析仪在异型淋巴细胞检测和相关疾病诊断提示中的意义。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 收集本院 2012 年 2 月至 2013 年 2 月住院及门诊发热患儿静脉血, 患儿年龄 1~16 岁。在血液分析仪上有异型淋巴细胞报警提示和无异型淋巴细胞报警提示的标本各 110 例。

1.2 仪器与试剂 日本希森美康公司的 XE-5000 血液全自动分析仪, 原装进口配套试剂及高、中、低 3 个水平质控物; BD 公司 EDTA-K₂ 真空抗凝管; 日本 Olympus 双目显微镜; 珠海贝索生物公司瑞氏染液; BD FACSCanto 流式细胞仪和 BD 公司 T 细胞单抗试剂。

1.3 仪器的校准、调试及报警信息的设置 均由 Sysmex 公司工程师按照仪器标准要求进行校准、调试和设置。仪器出现异型淋巴细胞报警, 选取 other 细胞中比例大于或等于 1% 的样本。

1.4 方法 静脉血采用 EDTA-K₂ 抗凝, 采集后 1 h 内完成上机检测, 检测后立即进行人工推片, 瑞氏染色, 由 2 名有丰富细胞形态学经验, 熟练的主管技师参照《全国临床检验操作规程》^[2], 用显微镜的油镜在血涂片体尾交界处观察分类 200 个白细胞, 计数异型淋巴细胞的百分比。分类过程采用单盲试

验,结果采用 2 人异型淋巴细胞计数百分数的平均值,取均值与 XE-5000 的检测结果进行对比,以异型淋巴细胞比例大于或等于 1% 为阳性临界标准。

1.5 T 淋巴细胞亚群进行检测 选取镜检异型淋巴细胞比例大于 5% 的 EDTA-K₂ 抗凝静脉血,采用 BD 公司 T 细胞单抗试剂处理,上 BD FACSCanto 流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群(CD3、CD4、CD8),分析 T 细胞免疫的改变。取 T 细胞单抗试剂 20 μL,加入抗凝血 50 μL 混匀,室温暗处放置 15 min,加入 450 mL 1×BD FACS 红细胞溶解液混匀,室温暗处放置 15 min,在流式细胞仪上分析 T 淋巴细胞的表达阳性率。20 例无报警及镜检未见异型淋巴细胞的抗凝静脉血标本作对照组。

1.6 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析,计数资料数据采用百分率表示,采用配对四格表的 χ^2 检验;异型淋巴细胞的结果分布统计和 T 淋巴细胞亚群相关测定值以均数加减标准差表示,符合正态分布采用成组设计 *t* 检验,若不符合正态分布用秩和检验;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 仪器法与镜检法检出异型淋巴细胞的结果比较 仪器出现异型淋巴细胞报警与不出现异型淋巴细胞报警的各 110 例样本,人工目测复检结果见表 1。以显微镜镜检为异型淋巴细胞判定的标准,本组病例 XE-5000 异型淋巴细胞报警提示的灵敏度为 90.82%,特异度为 82.79%,阳性预测值为 80.91%,阴性预测值为 91.82%。两法比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 1 仪器法与镜检法检出异型淋巴细胞的结果比较(*n*)

仪器法	镜检法		合计
	阳性	阴性	
阳性	89	21	110
阴性	9	101	110
合计	98	122	220

2.2 仪器法与镜检法检出异型淋巴细胞的结果分布 仪器出现异型淋巴细胞报警的 110 例样本,其镜检法的比例高于仪器法(other 中的提示)。分组统计后,镜检小于 6% 的标本,两种方法检测结果差异无统计学意义(*P* > 0.05),镜检大于或等于 6% 的标本,镜检法的比例高于仪器法,两种方法检测的异型淋巴细胞比例差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 2。

表 2 仪器法与镜检法检出异型淋巴细胞的结果分布

项目	镜检法异型淋巴细胞比例		
	<6%	6%~10%	>10%
<i>n</i>	57	39	14
仪器法($\bar{x} \pm s, \%$)	1.67 ± 1.65	7.54 ± 1.54	14.5 ± 2.77
镜检法($\bar{x} \pm s, \%$)	1.79 ± 1.26	3.64 ± 3.14	8.29 ± 5.61
<i>P</i>	>0.05	<0.05	<0.05

2.3 报警组与无报警组淋巴细胞亚群水平测定 报警组为仪器报警且镜检异型淋巴细胞比例大于 5% 的标本;无报警组为仪器无报警及镜检未见异型淋巴细胞的标本,CD4、CD4/CD8 值报警组低于无报警组,差异有统计学意义(*P* < 0.05);报警

组 CD3、CD8 高于无报警组,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见表 3。

表 3 报警组与无报警组淋巴细胞亚群水平测定值($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8
报警组	50	71.27 ± 9.32	28.64 ± 9.02	30.02 ± 8.37	0.95 ± 0.62
无报警组	20	66.86 ± 4.69	33.49 ± 7.28	23.12 ± 5.34	1.45 ± 0.54
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨 论

Sysmex XE-5000 血细胞分析仪采用鞘流电阻抗/射频法、流式细胞技术检测原理。用直流电法检测细胞的大小,射频技术测量细胞核的大小及核与胞质的密度。因而在以射频信号为纵轴,直流电信号为横轴的散点网上,不同的细胞体积和核密度大小的细胞占据的位置不同。该仪器有专门的幼粒细胞信息的管路用来测定不成熟白细胞是否存在,特殊试剂会附着于不成熟白细胞表面,保护不成熟白细胞免受破坏,使成熟白细胞遭受破坏。之后使用高频电磁波/直流电针测法将白细胞分类为成熟与不成熟,若有不成熟白细胞出现则会可疑信号。当仪器怀疑有异型淋巴细胞时,会有 Atypical Ly、AbnLy/L-BL 等报警信号提示。异型淋巴细胞也称不典型淋巴细胞,淋巴细胞经抗原(多数为 EBV)或丝裂原刺激后,DNA 大量复制,并相继合成大量 RNA 向幼稚细胞或浆细胞方向转化,这种处于转化过程中,具有一些新的形态特点的细胞。根据形态不同,分为幼稚型异型淋巴细胞、浆细胞型异型淋巴细胞和单核细胞型异型淋巴细胞^[3]。

本实验调查数据显示,以镜检为标准,XE-5000 血液分析仪对异型淋巴细胞报警的灵敏度为 90.82%,特异度为 82.79%,阳性预测值为 80.91%,阴性预测值为 91.82%,两种方法比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。经分组统计,镜检异型淋巴细胞比例小于 6% 的标本,两种方法检测差异无统计学意义(*P* > 0.05),镜检大于或等于 6% 的标本,镜检法的比例高于仪器法,两种方法检测的异型淋巴细胞比例有显著性差异。原因可能是仪器对复杂的、不典型的细胞形态识别有限,造成一定的漏检或误判^[4]。仪器只能对细胞进行大小、核的多少、细胞内颗粒的有无进行机械性分析,而镜检除了细胞的大小以外,还根据细胞的染色反应、核的形态及染色质的疏密、胞质的着色及颗粒、胞质量的多少、空泡的有无、核仁的有无等进行综合分析。何况异型淋巴细胞本身就多形性,仪器在分类时将部分异型淋巴细胞归为单核细胞,以致百分率明显偏低。

外周血异型淋巴细胞的出现对诊断传染性单核细胞增多症有重要意义,建议结合临床症状,异型淋巴细胞比例高于 5% 可诊断为 IM^[5-6]。EBV 感染后的 T 细胞免疫功能不足或缺乏,T 淋巴细胞亚群表达对评估 IM 的细胞免疫功能状况、疾病的诊断及病情严重程度都有一定的临床意义^[7]。本实验中报警组 CD3、CD8 T 淋巴细胞水平升高,CD4、CD4/CD8 降低,分别与无报警组比较均有统计学差异。与文献^[8-9]报道结果相一致,提示报警组可能为 EBV 感染的 IM 患儿。IM 患儿的异型淋巴细胞是一群 CD3/CD8 高表达的 T 细胞^[10],CD8 T 淋巴细胞水平与患儿外周血异型淋巴细胞(下转第 479 页)

2.80%, PLT 10.24%。

2.6 室间质评 本科参加卫生部临床检验中心 2012 年第 1、2 次血细胞形态学室间质评与参考答案符合率均为 100%。XS-800i 血液分析仪白细胞分类准确度的评估结果:中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞合格率 100%,其结果均满足五分类分析仪白细胞分类准确度的要求。

3 讨论

Sysmex XS-800i 血液分析仪目前在各级医院得到了广泛的应用。根据 ISO 15189 和《全国临床检验操作规程》第三版中有关检测系统性能评估的要求应对血液分析检测系统的完整性和有效性即性能进行评估。如果实验室采用的检测系统具有溯源性,并已被许多实验室广泛应用,其实实验室只需采用核实实验核实该系统已被认可的性能^[2]。核实实验只需要进行最少的实验,即精密度和准确度实验。结合血液分析仪的特点,笔者对 XS-800i 血液分析仪的空白计数、精密度、携带污染率、线性、准确度给予评估。

精密度评估表明仪器重复性较好,能够满足临床需求。携带污染率各项指标均低于 0.2%,仪器自清洗效率良好,符合仪器设定要求。线性:WBC、RBC、HGB、PLT 的线性验证结果均满足 a 值在 1±0.05 范围内、相关系数(r)≥0.975 的要求。本次评估周期内两次比对均满足室内比对要求,仪器 CBC 测试结果准确度较好。

白细胞分类准确度采用五分类分析仪白细胞分类准确性试验进行评估。中华人民共和国医药行业标准《YY/T 0653-2008 血液分析仪》^[4]附录 A 中有关五分类准确性试验分类结果可信区间的计算方法采用的是按正态近似法求某一参数百分率的可信区间。但当某一参数百分率接近 100%或 0%时,则应按照二项分布原理确定总体率的可信区间,即采用前述的精确概率法进行确定,可精确反映某一参数百分率接近 100%

或 0%时的总体区间分布。由于白细胞分类计数中某些细胞如嗜碱性粒细胞极易出现百分率为 0%而中性粒细胞较易出现百分率接近 100%的情况,因此采用精确概率法进行白细胞分类某一参数百分率可信区间的确定不仅科学合理,而且有着十分现实的临床应用价值。

本室在本次 XS-800i 血液分析仪白细胞分类准确度的评估中采用精确概率法计算参考方法检测结果 99%可信区间,得到参考方法结果的可信范围,将仪器法测量结果平均值与可信范围比较,判定白细胞分类结果的可接受性能。中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞的合格率均为 100%,满足五分类分析仪白细胞分类准确度的要求。应用该试验评估白细胞分类准确度,设计科学,可操作性强,值得推广。

上述评估结果表明,XS-800i 血液分析仪分析参数的性能指标满足技术和临床要求。

参考文献

- [1] 中国食品药品监督管理局. GB/T 22576-2008:医学实验室质量和能力的专用要求[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [2] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:54.
- [3] 中华人民共和国卫生部. WS/T 347-2011:血细胞分析的校准指南[S]. 北京:中国标准出版社,2011.
- [4] 中国食品药品监督管理局. YY/T 0653-2008:血液分析仪[S],北京:中国标准出版社,2008.
- [5] 彭小娟,肖秀林,周治年. 统计分析的 Excel 快速实现[M]. 武汉:武汉大学出版社,2012:56.

(收稿日期:2013-10-15)

(上接第 476 页)

升高百分率的差异有统计学意义^[11]。因此,IM 患儿的异型淋巴细胞的增多不仅是反应性增生,而且在抗病毒感染中可能起着重要作用。

XE-5000 血液分析仪的异型淋巴细胞的警示功能,可以大大提高血液涂片镜检的针对性,对异型淋巴细胞的检出存在一定的价值,辅助诊断传染性单核细胞增多症。但血液分析仪尚无法完全取代涂片对异型淋巴细胞形态学观察,对于仪器报警提示出现异型淋巴细胞的标本,均需要进行人工镜检。

参考文献

- [1] Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Essential hematology[M]. 5th ed. Malden, Massachusetts: Blackwell Publishing, 2006: 108-122.
- [2] 叶应妩,毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:123-124.
- [3] 胡翊群,胡建达. 临床血液学检验[M]. 2 版. 北京:中国医药科技出版社,2010:261-265.
- [4] Novis DA, Walsh M, Wilkinson D, et al. Laboratory productivity and the rate of manual peripheral blood smear review: a College of American Pathologists Q-Probes study of 95,141 complete blood

count determinations performed in 263 institutions [J]. Arch Pathol Lab Med, 2006, 130(5): 596-601.

- [5] 杨菊红,胡丽华,崔天益,等. 异常淋巴细胞与转氨酶的联合检测诊断传染性单核细胞增多症[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(6): 531-532.
- [6] 陆丹,胡兴文,曾菊. 儿童 EB 病毒感染与异型淋巴细胞相关性的分析[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(12): 1732-1734.
- [7] Yamashita N, Kimura H, Morishima T. Virological aspects of Epstein-Barr virus infections[J]. Acta Med Okayama, 2005, 59(6): 239-246.
- [8] 黎四平,陆小梅,刘绍基,等. 传染性单核细胞增多症患者免疫功能分析[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(16): 1264-1266.
- [9] 王明圣,靳杭红,瞿良,等. 传染性单核细胞增多症患者细胞因子与 T 细胞亚群动态变化及临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(7): 136-137.
- [10] 邵平扬. 传染性单核细胞增多症异型淋巴细胞免疫表型研究[J]. 浙江医学, 2004, 26(1): 17-18, 20.
- [11] 卢慧敏,张东梅,徐韞健. 儿童传染性单核细胞增多症淋巴细胞亚群的变化及意义[J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(7): 635-637.

(收稿日期:2013-10-10)