

· 论 著 ·

Sysmex-XE5000、CellaVisionDM96 及人工显微镜分类疟疾患者外周血白细胞百分比的差异^{*}

侯志平¹, 张秋萍², 叶飞娣¹, 张仲明¹, 张文萍^{1△}

(1. 广东省深圳市第三人民医院检验科, 518114; 2. 广东省深圳市罗湖区妇幼保健院妇产科 518019)

摘要:目的 比较疟疾患者通过 Sysmex-XE5000、CellaVisionDM96 及人工显微镜分类外周血白细胞百分比的差异性, 验证 Sysmex-XE5000 全自动血细胞分析仪检测疟疾患者血常规中白细胞分类结果的准确、可靠性。方法 回顾性收集 2011 年 1 月至 2015 年 12 月深圳市第三人民医院收治的 82 例确诊疟疾患者经 Sysmex-XE5000 行血常规白细胞百分比的数据; 82 例疟疾患者外周血涂片经 CellaVisionDM96 行白细胞分类所得百分数; 再经人工显微镜检 82 例疟疾患者外周血涂片进行白细胞分类计算后的百分数。结果 Sysmex-XE5000、CellaVisionDM96 及人工镜检分类疟疾患者外周血白细胞百分数两两比较中, 仅见 CellaVisionDM96 组与人工显微镜组的单核细胞百分比比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其他差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 通过比较 Sysmex-XE5000、CellaVisionDM96 及人工显微镜检分类疟疾患者外周血白细胞百分比数据, 表明 Sysmex-XE5000 分类白细胞数据准确、可靠, 疟原虫并未影响外周血白细胞分类, 但在 CellaVisionDM96 分类审核时需注意单核细胞分类。

关键词: 疟疾; 外周血涂片; 血细胞形态; 白细胞分类; 百分比

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.012

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)15-2081-03

Difference of peripheral blood leucocyte percentages in malaria patients among Sysmex-XE5000, CellaVisionDM96 and manual microscope classification^{*}

HOU Zhiping¹, ZHANG Qiuping², YE Feidi¹, ZHANG Zhongming¹, ZHANG Wenping^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Municipal Third People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518114, China; 2. Deptment of Gynecology and Obstetrics, Luohu District Maternity and Child Health Care Hospital, Shenzhen, Guangdong 518019, China)

Abstract: **Objective** To compare the difference of peripheral blood leucocyte percentages in malaria patients among Sysmex-XE5000, CellaVisionDM96 and manual microscope classification, and to verify the accuracy and reliability of the Sysmex-XE5000 automatic blood corpuscle detection instrument for detecting the leukocyte classification in blood routine. **Methods** The leucocyte percentages data in 82 cases of malaria detected by using the Sysmex-XE5000 in the Shenzhen Municipal Third People's Hospital from January 2011 to December 2015 were retrospectively collected; the peripheral blood smear in 82 cases of malaria obtained the percentages after the classification by the CellaVisionDM96; then the peripheral blood smear was performed the leucocyte classification by the manual microscopy for calculating the percentage. **Results** In the pairwise comparison of percentage obtained from the peripheral blood leucocyte classification by Sysmex-XE5000, CellaVisionDM96 and manual microscopy, only the monocytes percentage had statistical difference between CellaVisionDM96 and manual microscopy ($P < 0.05$), the other differences had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** By comparing the peripheral blood leucocyte percentages data in malaria patients by Sysmex-XE5000, CellaVisionDM96 and manual microscopic classification, it is indicated that the leukocyte classification data by Sysmex-XE5000 are accurate and reliable, malaria parasite does not affect peripheral blood leukocyte classification, but it is necessary to pay more attention to monocytes classification in CellaVision DM96 classification.

Key words: malaria; peripheral blood smear; blood cell morphology; white blood cell classification; percentage

随着医学技术的发展及应用过程的不断改进, 现代化临床实验室离不开血常规自动化分析流水线, 深圳市第三人民医院多年来应用 Sysmex-XE5000 血常规自动化分析流水线大大提高了临床诊断的速度, 但是, 发现疟疾患者在 Sysmex-XE2100 血细胞分析仪上存在嗜酸性粒细胞假性增加^[1]。高晓玲等人分析称疟疾患者嗜酸性粒细胞增高; 也有报道称嗜酸性粒细胞增高程度预示疟原虫感染的严重程度^[2]; 以上说法均未通过仪器法

和金标准镜检法相比对。血细胞形态学目前仍以人工镜检作为金标准, 但步骤较繁琐, 工作人员费时费力, 因此各大型医院正在不断引进 CellaVisionDM96 全自动血细胞分析系统, 实现血涂片形态学检查的自动化, 因此很有必要比较血细胞分析仪、阅片机及人工镜检法分类白细胞的差异来验证结果的准确、可靠性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集 2011 年 1 月至 2015 年 12 月深

^{*} 基金项目: 广东省深圳市知识创新计划项目 (JCYJ20150402111430615)。

作者简介: 侯志平, 女, 主管技师, 主要从事临检及细胞形态工作。 △ 通讯作者, E-mail: 420333522@qq.com。

圳市第三人民医院收治的经外周血厚薄涂片诊断疟疾的患者 82 例,血涂片诊断符合世界卫生组织的疟疾诊断标准(WS259-2006),其中男 79 例、女 3 例,年龄 2~69 岁、平均(43.40±20.24)岁。

1.2 仪器与试剂 DM96 自动化数字细胞形态学分析仪(瑞典 CellaVision AB 公司);XE-5000 血细胞分析仪(日本 Sysmex 公司);徕卡显微镜(德国 Leica 公司)。各仪器均使用配套试剂及其质控液(日本 Sysmex 公司);瑞氏-吉姆萨染液(珠海贝索生物技术有限公司)。

1.3 方法 回顾性收集疟疾患者的乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝全血在 Sysmex-XE5000 血细胞分析仪行白细胞分类检测的百分比结果作为 XE5000 组的结果;制作外周血涂片取适量血在洁净的钝角载玻片上制作厚薄血膜,经姬氏染色自然晾干后,由经验丰富的临床检验人员借助显微镜在厚涂片下查找疟原虫为诊断标准,取此 82 张片在 CellaVisionDM96 阅片机上薄涂片体尾交界处选定合适的区域进行分类,再经具有 5 年以上工作经验的血细胞形态学检验人员对 DM96 白细胞预分类后的细胞图像进行审核,对预分类矫正后得出的白细胞百分比数据为 DM96 组结果;取此 82 张片经两位经验丰富的血细胞形态专家采用双盲法在油镜下使用“城墙式”法在体尾交界处 100 倍油镜下分类计数 200 个白细胞^[3],取两位专家分类计数白细胞的百分比平均值作为人工镜检组的结果。采血和检验过程均严格按照《全国临床检验操作规程》(第 4 版)^[4]进行操作完成。

1.4 统计学处理 使用统计学软件 SPSS19.0 进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 XE5000 组与 DM96 组比较 XE5000 组血常规细胞计数得出的五分类白细胞百分比与 CellaVisionDM96 血细胞形态分析系统阅读白细胞五分类得出的白细胞百分比比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

2.2 XE5000 组与人工镜检组比较 XE5000 组 Sysmex-XE5000 血细胞分析仪检测得出血常规五分类白细胞百分与人工镜检组按五分类镜检得出的各类白细胞百分比比较,其差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

2.3 DM96 组与人工镜检组比较 DM96 组 CellaVision-DM96 血细胞形态分析系统得出的五分类白细胞百分比与人工镜检组得出的各类白细胞百分比比较,仅单核细胞(MONO)差异有统计学意义(*P*<0.05),其他差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

表 1 白细胞五分类参数百分数比对情况(%)			
参数	XE5000 组	DM96 组	人工镜检组
中性粒细胞	65.27±14.74	67.55±13.43	67.00±12.10
淋巴细胞	24.83±12.22	22.36±10.95	25.11±11.00
单核细胞	7.11±2.92	5.18±3.62*	6.05±3.40
嗜酸性粒细胞	2.20±5.37	2.31±4.39	1.18±1.75
嗜碱性粒细胞	0.58±0.80	0.63±1.18	0.82±1.56

注:与人工镜检组比较,**P*<0.05。

3 讨 论

本地区疟疾患者均收治在深圳市第三人民医院治疗,发现多次报道 Sysmex-XE2100 血液分析仪检测疟疾患者的血常规

时嗜酸性粒细胞受到影响。该仪器主要是通过前向散射光来检测细胞大小,通过侧向散射光来检测细胞的内容物如颗粒和核,通过侧向荧光来检测细胞内 DNA 或 RNA 的含量^[5]。当一些中性粒细胞吞噬了疟色素后,这些细胞内容物发生了变化。由于疟色素是一种双折光晶体,使检测内容物的侧向散射光强度和角度发生改变,在 DIFF 通道散射图中显示为靠近中性粒细胞一侧的散点图,仪器误认为是嗜酸性粒细胞。同时,疟原虫的疟色素与试剂中染料结合后被显示为不正常散射光模式,导致仪器不能识别吞噬了疟色素的白细胞而未做分类^[6-7]。

外周血白细胞分类是临床医生诊断和治疗疾病的重要参考资料,有学者提出,在形态学检查方面五分类血细胞分析仪只能作为过筛手段,细胞形态学检查应列入常规工作^[8],但人工镜检法越来越承受不了日益增长的标本量。

随着血细胞形态分析系统阅片机出现在各临床实验室,给临床检验人员带来帮助的同时,其是否可替代人工操作显微镜鉴别血细胞形态,结果是否可靠,以及与全自动血细胞计数仪和人工镜检结果的关系如何也成为值得探讨的问题。深圳市第三人民医院自 2010 年以来一直应用 Sysmex-XE5000 血细胞分析仪、Sysmex-SP1000i 自动推片机组成的流水线检测血常规,2011 年 1 月至 2015 年 12 月发现并收治疟疾患者 82 例均未见 Sysmex-XE5000 血细胞分析仪检测血常规未分类白细胞,但观察散点图有与 Sysmex XE-2100 相似图像处;深圳市第三人民医院检验科实验室阅读细胞形态同时还采用人工显微镜分类,引进了 CellaVisionDM96 阅片系统在深圳市第三人民医院检验科试用了一段时间完成了一定数量阅片验证了复片规则,在此期间,该实验室使用此 DM96 阅片系统完成历年深圳市第三人民医院检验科保存的疟疾患者外周血涂片,得到各患者的白细胞五分类的百分比。本研究比较 Sysmex-XE5000、CellaVisionDM96 及人工显微镜分类疟疾患者外周血白细胞百分比的差异,结果显示仅见 CellaVisionDM96 组与人工显微镜组的单核细胞百分比相比较差异有统计学意义(*P*<0.05),其他差异均无统计学意义(*P*>0.05)。分析该原因可能是 CellaVisionDM96 审核与人工显微镜均受主观因素影响,且 CellaVisionDM96 在分类幼稚细胞、单核细胞等中间细胞时有缺陷,在外周血片中出现频率低的细胞(单核细胞)相关性较差,该结果与文献报道基本相当^[9-10]。宋蓓等^[11]报道单核细胞在 DM96 和人工镜检中相关性 *R* 值偏低的原因可能是因为 DM96 分析软件主要从形态、颜色、颗粒、液泡、函数、纹理 6 个方面提取细胞特征,而单核细胞形态相对多变,胞质、颗粒受推片、染色以及显示器成像效果影响较大,另外单核细胞数量较少,也影响到相关系数计算;与蒋叙川等^[12]研究 SysmexXE-5000 血液分析仪与人工显微镜镜检白细胞分类中嗜碱性粒细胞的相关性较差相一致,均为细胞数量少所导致。

疟疾的发病是由疟原虫在红细胞内进行裂解增殖所引起。当受疟原虫感染的红细胞破裂时,释放出大量的裂殖子及在裂解增殖过程中产生的各种代谢产物,这些代谢产物最终被具有吞噬能力的血细胞所吞噬。当部分单核细胞和中性粒细胞吞噬裂殖子、疟原虫的代谢产物疟色素后,导致单核细胞和中性粒细胞中内容物异常,血细胞分析检测时侧向散射光强度及侧向荧光强度均发生改变,最终在白细胞分类散点图上出现 3 种特征性散点图^[6-7]。再者,DM96 的审核过程及人工镜检均

受主观因素影响。原本推断嗜酸性粒细胞在 XE5000 血细胞分析仪有所增高,可喜的是结果显示差异无统计学意义。由此可见,经过与 DM96 及人工镜检等形态学的金标准法比较, XE5000 血细胞分析仪检测疟疾患者血常规白细胞数据是准确、可靠的,验证了 XE5000 全自动血液分析仪对白细胞分类采用独特的半导体激光器的流式细胞术计数原理,在疟疾患者中白细胞分类结果同样可作为常规血液检查的筛选手段^[13]。

CellaVisionDM96 系统作为一种全自动血细胞形态鉴定仪器,经人工校正后外周血中常见的五分类细胞与传统人工镜检法及 Sysmex-XE5000 血细胞分析仪器法结果具有很好的相关性,均能给临床实验室提供准确、可靠的白细胞分类数据,由此可见血涂片检查自动化的实现适合临床实验室的推广^[14]。

参考文献

[1] 宋玉姬,许顺姬. 2 例疟疾在 SysmexXE-2100 血球分析仪上嗜酸性粒细胞假性增加的病例分析[J]. 现代预防医学, 2008, 35(7): 1401.

[2] M EE, Ezeiruaku FC, Ukaji DC. Experiential relationship between malaria parasite density and some haematological parameters in malaria infected male subjects in Port Harcourt, Nigeria[J]. Glob J Health Sci, 2012, 4(4): 139-148.

[3] Nasir L, Bope ET. Management of pelvic pain from dysmenorrhea or endometriosis[J]. J Am Board Fam Pract, 2004, 17(S): S43-S47.

[4] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2015: 23-24.

[5] 高晓玲,黄琪富,杨美兰. XE-2100 血液分析仪筛选检出疟原虫感染 1 例[J]. 现代诊断与治疗, 2014, 25(23): 5500-5501.

[6] 戴燕,潘志文,张志英,等. XE-2100 血细胞分析仪嗜酸性粒细胞异常散点图报警筛选疟原虫感染的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(7): 763-766.

[7] 潘志文,戴燕,张志英,等. XS-1000i 血液分析仪异常嗜酸性粒细胞散点图对疟原虫感染的提示作用[J]. 检验医学, 2008, 23(6): 567-569.

[8] 卢兴国,丛玉隆. 应重视和提升传统血液形态学检验诊断水平[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(6): 481-482.

[9] Ceelie H, Dinkelaar RB, Van Gelder W. Examination of peripheral blood films using automated microscopy; evaluation of Diffmaster Octavia and CellaVision DM96[J]. J Clin Pathol, 2007, 60(1): 72-79.

[10] 黄骥斌,曾婷婷,郭曼英,等. CellaVision DM96 自动化数字图像分析系统进行白细胞分类的临床应用[J]. 检验医学, 2012, 27(4): 299-303.

[11] 宋蓓,张国军,李芬芬,等. 全自动数字细胞形态学分析系统 Cella Vision™ DM96 在外周血白细胞分类的临床应用评价[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(4): 481-483.

[12] 蒋叙川,陈雅萍. SysmexXE-5000 血液分析仪与人工显微镜镜检白细胞分类相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(19): 2846-2847, 2849.

[13] 陈荣发,余玲玲,陈小青,等. CellaVisionDM96 血细胞形态分析系统与显微镜镜检分类比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(9): 1387-1388, 1393.

[14] 杨婧,关会霞,牛景阳,等. CellaVision DM96 自动成像系统在白细胞分类计数中的应用[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(7): 891-892, 895.

(收稿日期:2016-02-05 修回日期:2016-05-03)

(上接第 2080 页)

参考文献

[1] Si T, Su Y, Liu Y, et al. Pharmacokinetics and tolerability of paliperidone palmitate injection in Chinese subjects[J]. Hum Psychopharmacol, 2014, 29(2): 203-210.

[2] 乔兴菊,贾福军,周志凌,等. 精神分裂症患者 MDR1C3435T 基因多态性与帕利哌酮疗效的相关性[J]. 临床精神医学杂志, 2012, 22(1): 5-8.

[3] Jung SH, Yoon JS, Ahn YM, et al. Influencing factors and predictors of early response in schizophrenia patients receiving the paliperidone Extended-Release tablets (paliperidone ER)[J]. Psychiatry Investig, 2013, 10(4): 407-416.

[4] 张鸿燕,郝晓楠,王雪芹,等. 帕利哌酮缓释片治疗非急性期精神分裂症疗效及安全性的开放性研究[J]. 中华精神科杂志, 2012, 45(1): 20-24.

[5] 赵雪茹,孔亚因,高永双,等. 精神分裂症患者帕利哌酮血浓度与临床疗效相关性研究[J]. 中国药师, 2014, 17(12): 2085-2087.

[6] 岑宇翔,陆志诚,汪华侨,等. 汉族人 MDR1 C3435T 基因的多态性[J]. 解剖学研究, 2004, 26(1): 11-13.

[7] Emich-Widera E, Likus W, Kazek B, et al. Polymorphism of ABCB1/MDR1 C3435T in children and adolescents with partial epilepsy is due to different criteria for drug resistance - preliminary results[J]. Med Sci Monit, 2014, 20(1): 1654-1661.

[8] 高丽,李岩,侯巧芳,等. 多药耐药基因 1 的 C3435T、T129C 多态性与儿童难治性癫痫的相关性[J]. 临床儿科杂志, 2014, 32(11): 1008-1012.

[9] 顾浩,许贤瑞,齐明山,等. 汉族癫痫患者 ABCB1 基因 C3435T 多态性与血清、脑脊液 P-gp 表达的关系[J]. 山东医药, 2011, 51(29): 22-24.

[10] Kuzman MR, Medved V, Bozina N, et al. Association study of MDR1 and 5-HT2C genetic polymorphisms and antipsychotic-induced metabolic disturbances in female patients with schizophrenia[J]. Pharmacogenomics J, 2011, 11(1): 35-44.

(收稿日期:2016-03-31 修回日期:2016-05-20)