血细胞分析仪在脑脊液白细胞分类中的应用

丛 硕[1], 毕 莹[2*]
(1. 贵州省肿瘤医院 输血科,贵州 贵阳 550003; 2. 贵州医科大学 医学检验学院,贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的**: 探讨 Sysmex XE-5000 血细胞分析仪(血细胞分析仪)用于检测脑脊液中白细胞(WBC)分类的效果。**方法**:取 3 份已知 WBC 计数为高、中、低浓度的脑脊液标本,在室温下用血细胞分析仪连续测定 10 次,项目包括单个核细胞(MN)和多个核细胞(PMN)百分比,用标准差(SD)与变异系数(CV)评价血细胞分析仪的批内精密度;再另取 1 份 WBC 计数 $>30\times10^6$/L 的脑脊液标本用血细胞分析仪连续检测 20 次,计算 SD 和 CV 评价血细胞分析仪的批间精密度,反映仪器的重复性;采用血细胞分析仪和手工瑞氏染色法后显微镜镜检法分别对 80 份脑脊液标本进行 WBC 分类计数,采用 *Pearson* 法分析其相关性。**结果**:血细胞分析仪对脑脊液 WBC 分类的批内和批间 CV <30%,说明本次使用的血细胞分析仪对脑脊液 WBC 分类的批内和批间精密度在允许的范围,并具有良好的重复性;分别用血细胞分析仪和手工瑞氏染色镜检法检测 80 例脑脊液样本,两种方法测定的 MN 和 PMN 百分比比较,差异无统计学意义($P>0.05$),相关分析显示两组检测结果存在正相关($r>0.9$, $P<0.05$)。**结论**:Sysmex XE-5000 血细胞分析仪可用于脑脊液 WBC 分类计数。

[关键词] 脑脊液; 白细胞; 分类计数,多个核细胞; 血细胞分析仪; 手工法
[中图分类号] R446.14 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2017)05-0592-03
DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2017.05.022

Clinical Application of Blood Cell Analyzer in the Classification of Cerebrospinal Fluid Leukocyte

CONG Suo[1], BI Ying[2]
(*1. Department of Blood Transfusion, Guizhou Provincial Tumor Hospital, Guiyang 550000, Guizhou, China;*
2. School of Clinical Laboratory, Guizhou Medical University, Guiyang 550001, Guizhou, China)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the effect of blood cell analyzer, Sysmex XE-5000, in the classification of cerebrospinal fluid leukocyte (WBC). **Methods**: Taking three white blood cell count which was known for high, medium and low concentration of cerebrospinal fluid specimens, using blood cell analyzer to detect 10 times in a row at room temperature with standard deviation (SD) and coefficient of variation (CV) to evaluate precision of the analyzer; then another sample of white blood cell count which was greater than 30×10^6/L were detected by blood cell analyzer for 20 times; counting precision between SD and CV to evaluate the precision of analyzer and reflected the repeatability of instrument. 80 cerebrospinal fluid specimens were counted on leukocyte categories and compared by analyzer and first manual staining microscopy and then visual detection. **Results**: It was indicated that within-batch and inter-batch CV <30% from classification of analyzer on cerebrospinal fluid WBC, which proved that the blood cell analyzer exhibited precision of within-batch and inter-batch in acceptable range with fine repeatability; 80 cerebrospinal fluid specimens were detected by blood cell analyzer and manual staining microscopy and then visual detection method respectively, MN and PMN percentage comparison of both methods showed no statistical significance($P>0.05$), relevant analysis indicated that both test results were positively correlated($r>0.9$, $P<0.05$). **Conclusion**: the blood cell an-

*通信作者 E-mail:1031223242@qq.com
网络出版时间:2017-5-18 网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20170518.2227.003.html

alyzer can be used as a fast and exact classification of cerebrospinal fluid leukocyte.

[**Key words**] cerebrospinal fluid; white blood cell; classification count, multiple nuclear cells; hematology analyzer; manual method

脑脊液性状和成分分析是神经系统疾病诊断中最常用的实验室检查项目,脑脊液白细胞(WBC)计数和分类对诊断和鉴别中枢神经系统疾病具有重要的临床意义[1]。目前,脑脊液 WBC 计数和分类的方法为手工瑞氏染色显微镜人工计数法,由于该法操作步骤复杂,影响因素较多,同时因不同操作者自身因素,结果常常出现误差。近年来,检验界一直在探讨应用血细胞分析仪进行脑脊液 WBC 计数及分类的可行性[2-3]。有研究表明,以半导体激光器为基础的流式细胞计数法对血细胞中 WBC 计数和分类具有操作简单、速度快、效率高及重复性好等优势[4-5],但采用血细胞分析仪对脑脊液进行 WBC 计数和分类的相关报道不多。本研究通过比较血细胞分析仪与传统手工瑞氏染色镜检法对脑脊液 WBC 的分类结果,探讨血细胞分析仪用于检测脑脊液 WBC 分类的可能性,为临床检验工作中采用血细胞分析仪对脑脊液进行 WBC 分类提供依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　仪器与试剂　SysmexXE－5000 全自动血细胞分析仪、原装配套试剂及全血质控(日本东亚公司),双目显微镜(Olympus),瑞氏染色液(自配)。

1.1.2　标本来源　收集 2014－2015 年住院的神经系统疾病患者脑脊液标本共 80 例,其中男 43 例,35～42 岁;女 37 例,48～56 岁。

1.2　方法

1.2.1　仪器精密度　参考文献[6],取 3 份已知 WBC 计数为高(WBC $>100\times10^6$/L)、中[WBC 为 $(50\sim100)\times10^6$/L]、低[WBC 为 $(30\sim50)\times10^6$/L]的脑脊液标本在室温下采用血细胞分析仪连续测定 10 次,得出单个核细胞(MN)和多个核细胞(PMN)百分比,分别计算出各自的 SD 与 CV,评价血细胞分析仪的批内精密度;再另取 1 份 WBC 计数 $>30\times10^6$/L 的脑脊液标本,连续检测 20 次,计算出 SD 和 CV 评价血细胞分析仪的批间精密度,反映仪器的重复性。精密度的评价标准参考文献[7],CV≤30% 表示精密度在允许的范围,并具有良好的重复性。

1.2.2　临床脑脊液样本的测定　将 80 份脑脊液样本分成两份,1 份使用血细胞分析仪测定,检测在标本采集后 1 h 内完成[8];另一份离心,取 2 滴脑脊液沉淀,滴加一滴清晰血清,瑞氏染色推片后显微镜计数,WBC $>100\times10^6$/L 的样本,分类计数 100 个白细胞;WBC $<100\times10^6$/L 的样本,分类计数 MN 和 PMN 数,所有样本均计算 MN 和 PMN 百分比。WBC 分类计数参照 NCCLS H20－A 规定[9]的方法进行,由本科室两位富有经验的主管检验师独立进行,采用双盲法,取 2 人 WBC 分类计数结果的均值与血细胞分析仪的 WBC 分类结果进行比较。

1.3　统计学处理

数据处理采用 SPSS 统计学软件,相关分析采用 *Pearson* 相关性分析,计算相关系数(r)值和斜率 a 值,利用配对 t 检验,计算出每组的 t 值和 P 值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　精密度和重复性

血细胞分析仪对高、中、低 3 份已知 WBC 浓度的脑脊液 WBC 分类测定和 1 份已知 WBC 浓度的脑脊液进行 20 次 WBC 分类检测,计算出批内(见表 1)和批间(见表 2)的均值($\bar{x}$),标准差(SD)与变异系数(CV)。结果显示本次研究的 CV 均 <30%,说明本次使用的血细胞分析仪对脑脊液 WBC 分类的批内和批间精密度在允许的范围,并具有良好的重复性。

2.2　两种检测方法结果比较

分别用血细胞分析仪和手工瑞氏染色镜检法检测 80 例脑脊液样本,两种方法测定的 MN 和 PMN 百分比比较,差异无统计学意义($P>0.05$),相关分析显示两组检测结果存在正相关($r>0.9$,$P<0.05$)。见表 3。

表 1　血细胞分析仪用于脑脊液 WBC 分类的批内精密度和重复性

Tab. 1　Within-batch precision and repeatability of blood cell analyzer on cerebrospinal fluid WBC classification

参数	MN(%)			PMN(%)		
	高值	中值	低值	高值	中值	低值
$\bar{x} \pm s$	24.98 ± 2.72	52.91 ± 2.84	91.91 ± 2.00	75.02 ± 2.72	47.09 ± 2.84	8.09 ± 2.00
CV	10.97	5.42	2.15	3.42	5.83	24.42

表 2　血细胞分析仪用于脑脊液 WBC 分类的批间精密度和重复性

Tab. 2　Inter-batch precision and repeatability of blood cell analyzer on cerebrospinal fluid WBC classification

参数	MN(%)	PMN(%)
$\bar{x} \pm s$	27.30 ± 5.55	72.70 ± 5.55
CV	20.28	7.57

3　讨论

细胞分析仪设置了体液检测和外周血干细胞检测等多种检测模式,能满足临床对于不同标本的检测要求。已有研究表明,对浆膜腔积液中的 WBC 进行分类有很好的临床应用[10]。脑脊液 WBC 分类计数利用体液分析模式,采用 4DIFF 检测通道、半导体激光流式细胞原理结合细胞荧光染色技术对脑脊液进行检测,可得到细胞散射图(X 轴表示侧向散射光的强度,Y 轴表示前向散射光的强度)和二维的散点图,从而保证报告结果的可靠性。

在本研究中,通过血细胞分析仪检测的脑脊液中 WBC 分类计数的批内精密度、批间精密度测试,结果中个别数据稍高,其可能的原因是分类时其占的百分比太小,SD 在允许范围内,也会导致 SD 值增高;分析原因可能与标本放置的时间过长,从而导致 WBC 溶解所致。但本研究结果也显示血细胞分析仪检测脑脊液中 WBC 分类的批间精密度、批内精密度的 CV 均 < 30%,表明血细胞分析仪检测脑脊液中 WBC 分类具有良好的重复性;仪器准确度是以检测 80 例脑脊液样本回归线的斜率及与手动方法计数结果的 r 来表示,其中手动计数是用作为参考方法的 Cytospin 方法。结果显示血细胞分析仪与手工法对脑脊液 WBC 分类结果的 r 分别为 0.996,0.995 及单核细胞和多核细胞均值比较 P = 0.643、0.644,两种方法得到的 WBC 分类结果差异均无统计学意义。因此可以得出血细胞分析仪检测脑脊液中 WBC 分类可替代手工法。本研究还发现,如果脑脊液标本中含有异常的病理细胞,仪器会将此类细胞误归类为单个核细胞,且在散点图上不能很好的显示出来,与文献报道一致[11-12]。因此,在利用血细胞分析仪对脑脊液 WBC 进行分类检测时,对疑似恶性标本需进行手工法核实,仔细查找、确认标本中是否有肿瘤细胞存在,避免漏诊、误诊。

表 3　两种方法对脑脊液 WBC 分类计数结果比较及相关性分析($\bar{x} \pm s$,%)

Tab. 3　Count results and correlation analysis of both methods on cerebrospinal fluid WBC classification

项目	血细胞分析仪	手工法	r	a	t	P
MN	56.30 ± 10.65	55.68 ± 9.98	0.996	0.993	0.465	0.021
PMN	43.03 ± 12.34	44.15 ± 11.98	0.995	0.992	0.470	0.018

综上所述,血细胞分析仪可用于脑脊液 WBC 分类计数,可与传统手工瑞氏染色镜检法相互印证,且更为快速、简便,为临床提供可靠地检验依据。

4　参考文献

[1] 王蓓,吴遐,郝磊,等. 脑脊液有核细胞计数 SYSMEX - 4000I 全自动血液分析仪与手工法检测比较[J]. 中国临床保健杂志, 2014(2):180 - 181.

[2] 沈军,陈因,王国镇,等. 自动血细胞分析仪体液模式对脑脊液白细胞计数及分类检测的能力评估[J]. 中华血液学杂志, 2013(7):629 - 631.

[3] 侯辰蕊,刘敏丽,李红. 全自动血细胞分析仪稀释模式用于脑脊液细胞计数及分类检测的可能性[J]. 山西职工医学院学报, 2014(1):7 - 10.

[4] Andrews j, setran E, McDonnel L, et al. An evaluation of the cell dyn 3200 for counting cells in cerebrospinal and other body fluids[J]. Lab Hematol, 2005 (2):98 - 106.

(下转第 599 页)

2130 – 2138.
[3] May MS, Wüst W, Brand M, et al. Dose reduction in abdominal computed tomography: intraindividual comparison of image qualityof full – dose standard and half – dose iterative reconstructions with dual – source computed tomography[J]. Invest Radiol, 2011(7):465 – 470.
[4] Gunn ML, Kohr JR. State of the art: technologies for computed tomography dose reduction[J]. Emerg Radiol, 2010(3):209 – 218.
[5] Blum A, Gervaise A, Teixeira P. Iterative reconstruction: Why, how and when[J]. Diagn IntervImaging, 2015(5): 421 – 422.
[6] Ebersberger U, Tricarico F, Schoepf UJ, et al. CT evaluation of coronary artery stents with iterative image reconstruction: improvements in image qualityand potential for radiation dose reduction[J]. Eur Radiol, 2013(1):125 – 132.
[7] 国际生命科学学会中国办事处中国肥胖问题工作组联合数据汇总分析协作组. 中国成人体质指数分类的推荐意见简介[J]. 中华预防医学杂志, 2001(5):349 – 350.
[8] 李扬, 时高峰, 王琦, 等. 正弦图确定迭代重建(SAFIRE)技术在食管癌低剂量扫描中的价值[J]. 实用放射学杂志, 2015(3):463 – 472.
[9] 曾宪春, 刘莉, 韩丹, 等. 80kVp 扫描联合基于原始数据的迭代重建技术在儿童副鼻窦 CT 检查中的应用[J]. 中国医学影像技术, 2015(9):1406 – 1409.
[10] Hausleiter J, Martinoff S, Hadamitzky M, et al. Image quality and radiation exposure with a low tube voltage protocol for coronary CT angiography: results of the PROTECTION II trial[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2010(11):1113 – 1123.
[11] Greffier J, Pereira F, Macri F, et al. CT dose reduction using automatic exposure control and iterative reconstruction: a chest paediatric phantoms study[J]. Phys Med, 2016(4):582 – 589.
[12] Greffier J, Macri F, Larbi A, et al. Dose reduction with iterative reconstruction: optimization of CT protocols in clinical practice[J]. Diagn Interv Imaging, 2015(5): 477 – 486.
[13] Karpitschka M, Augart D, Becker HC, et al. Dose reduction in oncological staging multidetector CT: effect of iterative reconstruction[J]. Br J Radiol, 2013(1021): 20120224.
[14] Han BK, Grant KL, Garberich R, et al. Assessment of an iterative reconstruction algorithm (SAFIRE) on image quality in pediatric cardiac CT datasets[J]. J Cardiovasc Comput Tomogr, 2012(3):200 – 204.
[15] 邓春兰, 许顺良, 肖圣祥, 等. 迭代重建技术在低剂量肾动脉 CT 血管造影检查中的应用[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2014(3):228 – 230.
[16] 曾宪春, 王谦, 韩丹, 等. 80kVp 扫描联合基于原始数据的迭代重建技术在眼外伤 CT 检查中的价值[J]. 实用放射学杂志, 2015(11):1879 – 1882.

(2017-02-15 收稿, 2017-04-18 修回)
中文编辑: 周　凌; 英文编辑: 刘　华

(上接第 594 页)

[5] de jonge R, van rijn M. Automated analysis of pleural fluid total and differential leukocyte counts with the sysmex xe – 2100[J]. Clin chem Lab Med, 2006 (11):1367 – 1371.
[6] 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, 2014:178 – 181.
[7] CLSI NCCLS EP5 – A2. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. CLSI Approved guideline, 2004.
[8] 刘成玉. 临床检验基础[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
[9] Ziebig R, Lun A, Sinha P. Leukocyte counts in cerebrospinal fluid with the automated hematology analyzer CellDyn 3500 and the urine flow cytometer UF – 100[J]. C lin Chem, 2000(2):242 – 247.
[10] 袁远, 张苗苗, 纪东辉, 等. Sysmex XE2100 全自动血液分析仪对浆膜腔积液白细胞检测应用探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2011(3):675 – 677.
[11] AuneMW, Becker JL, Brugnara C, et al Automated flow cytometric analysis of blood cells in cerebrospinal fluid: analytic performance[J]. Am J Clin Pathol, 2004 (5): 690 – 700.
[12] 洪俊, 陈进, 苏汉桥, 等. 全自动血液分析仪对脑脊液细胞检查的应用分析[J]. 检验医学, 2008(1):18 – 20.

(2017-02-07 收稿, 2017-04-28 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 赵　毅