

新一代血细胞分析技术 SF-Cube 2.0 在临床样本检测中的运用*

孙毅¹, 向代军^{1#}, 叶波², 王成彬^{1△}

(1. 中国人民解放军总医院, 北京 100853; 2. 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, 广东深圳 518027)

关键词: 血细胞分析; 多维分析; 异常细胞检测

中图分类号: R318.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)23-3576-03

血细胞分析仪是目前医学实验室最常用的仪器之一,血细胞分析仪经过不断发展,从对白细胞、红细胞、血小板、血红蛋白等的单项目检测,发展为具有同时进行多项目联合检测功能的两分群、三分群和五分类血细胞分析仪^[1]。血细胞分析仪采用的分类技术也由单一的通过库尔特原理(阻抗法),发展为整合阻抗法、流式细胞、射频、细胞化学染色等技术对细胞体积、细胞内颗粒复杂度、核酸物质含量等进行检测,大大提高了对异常细胞的分类和识别能力^[2-3]。目前,我国血细胞分析仪研发和生产取得了很大成就,以深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司为例,其研发的 BC-6800 型血细胞分析仪采用了激光散射结合荧光染色多维分析技术(SF-Cube)。在 SF-Cube 技术中,细胞体积大小差异通过低角度散射光信号(FS)表征,细胞内部颗粒复杂程度差异通过高角度散射光信号(SS)表征,荧光信号(FL)强度则反映了细胞内核酸物质被染色的程度。仪器通过识别试剂处理过细胞的这三个信号,在三维空间(Cube)中实现了主要白细胞亚群(淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞)、网织红细胞、有核红细胞的区分,并就幼稚粒细胞、异常淋巴细胞、原始细胞、异型淋巴细胞等异常细胞,以及红细胞碎片、脂质颗粒等进行识别和报警^[4-5]。2017 年,第二代激光散射结合荧光染色多维分析技术(SF-Cube 2.0)问世,并应用于新一代 BC-6X 系列血细胞分析仪上。和第一代 SF-Cube 相比, SF-Cube 2.0 在贫血患者样本的诊断和鉴别诊断、识别高有核红细胞样本、提高原始细胞和幼稚细胞报警准确性和灵敏度、低值白细胞和低值血小板的计数、避免红细胞和白细胞碎片对血小板计数的干扰等方面,呈现出优异的特性^[6]。

本文就 SF-Cube 2.0 技术要点在临床样本检测中的运用进行介绍。

1 WNB 通道白细胞分类原理

在 SF-Cube 2.0 中,迈瑞采用了全新的 WNB 通道,在一个通道里面同时检测嗜碱性粒细胞和有核红细胞,有核红细胞因此变为血常规的常规报告参数,

而不增加额外的试剂消耗。

WNB 通道具有很强的抗干扰性能,能有效避免因高荧光大细胞和脂质颗粒导致嗜碱性粒细胞出现假阳性结果^[7]。

在 WNB 通道中,试剂对白细胞的处理效果较同类产品更加中性化,使白细胞各粒子群发生一定程度的皱缩,白细胞仍保持一定的体积大小而非“裸核化状态”。嗜碱性粒细胞位于 WNB 散点图的中部偏左上,体积比幼稚细胞和大的异淋细胞小,在 FS 方向上散射光信号强度弱,在 FL 方向上荧光强度略小,因此在 FS-FL 散点图上与幼稚细胞、大的异淋细胞彻底分离,从而避免了高荧光强度的大细胞和嗜碱性粒细胞之间的干扰,避免了嗜碱性粒细胞出现假阳性结果,见图 1、2(见插页 I)。

由于白细胞不是“裸核化状态”,保持了一定的体积大小,使得脂质颗粒和白细胞体积大小有显著的差异,因此在 FS 方向上嗜碱性粒细胞与脂质颗粒彻底分离,也避免了嗜碱性粒细胞出现假阳性结果^[8],见图 1、3(见插页 I)。

WNB 通道采用粒子群动态捕捉算法识别高有核红细胞样本,避免出现有核红细胞假阴性的结果^[9]。荧光染料对有核红细胞的 RNA 染色,但有核红细胞的荧光强度显著弱于其他白细胞,使有核红细胞和白细胞在 FL 方向上通过荧光信号区分开,见图 4(见插页 I)。

绝大部分的五分类血细胞分析仪采用的是与细胞主团位置相关的半浮动算法,先要确定白细胞主团的位置,才能确定有核红细胞的的空间位置^[10]。而白细胞的数量往往远多于有核红细胞,因此对于有核红细胞增高的样本来说,容易将此类样本的大团的有核红细胞识别为白细胞主团,从而造成有核红细胞的假阳性结果。

SF-Cube 2.0 采用了区别于传统的半浮动算法的粒子群动态捕捉算法,不需要通过白细胞主团位置来定位包括有核红细胞和嗜碱性粒细胞等在内的其他细胞粒子团,而是先捕捉出散点图上所有的细胞粒子

* 基金项目:中国人民解放军总医院临床扶持基金(2016FC-TSYS-1041)。

作者简介:孙毅,男,主管技师,主要从事血细胞分析仪在临床工作中运用方面的研究。 # 共同第一作者:向代军,男,副主任技师,主要从事实验诊断学方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: wangcb301@126.com。

团,通过细胞粒子团的相对空间位置来进行动态划分和动态识别,即使在有核红细胞粒子团占绝对优势的高有核红细胞样本上,也依然能够准确划分有核红细胞和其他细胞。

2 红细胞的检测技术

在 SF-Cube 2.0 中,传统的 RET 通道和 PLT-O/F 通道融合为 ERP 通道,即红细胞、网织红细胞、血小板检测通道。对红细胞、血小板和网织红细胞的检测是由能够染色 RNA 的荧光染色液和具有球形化、促染功能的稀释液共同实现^[11]。

血液经稀释液作用后,使自然状态下双凹盘状扁平圆形的红细胞成为球形并固定,其目的是使红细胞无论以何种方位通过测量区时,获得的散射光和荧光信息都是相同的,不影响体积、血红蛋白水平和核酸物质含量的检测;另外使红细胞在形态上趋于球形,增强了体积的均一性,在体积特征上与血小板的区分度增加;同时试剂中可以染色 RNA 的阳离子菁类荧光染料对网织红细胞中的 RNA 进行标记,通过荧光强度的检测,实现了红细胞和网织红细胞的区分。采用 SF-Cube 2.0 技术的血细胞分析仪能够检测细胞粒子的前向散射光、侧向散射光和荧光信号,根据 Mie 散射理论,通过对细胞前向散射光和侧向散射光的分析,便可获得单个红细胞的体积和血红蛋白浓度^[12]。ERP 通道可准确测量网织红细胞平均血红蛋白浓度(MCHr)、网织红细胞平均体积(MCVr)、血红蛋白浓度分布宽度(HDW)、平均血小板颗粒度浓度(MPC)、血小板的平均颗粒物浓度(MPM)、高色素红细胞占的百分比(HYPER%)、低色素红细胞占的百分比(HYPO%)等其他仪器无法直接或间接测量的结果,这些参数对于贫血的诊断、疗效观察非常重要。

在此基础上可得到红细胞散点图、红细胞体积 & 血红蛋白水平二维散点图(红细胞二维九分图)、红细胞体积 & 血红蛋白水平 & 核酸荧光强度三维散点图(红细胞三维九分图)、网织红细胞三维散点图(图 5,见插页 I)。而其他仪器在红细胞测量中绝大部分都采用阻抗法,即使采用光学法检测也是间接测量以上参数^[13-14]。当白细胞严重升高,大血小板、小红细胞都会严重影响红细胞计数^[15]。

相关研究表明,红细胞九分图解决了如何区分缺铁性贫血和地中海贫血的问题^[16-17]。这两种贫血的血细胞分析仪检测结果均提示为小细胞低色素性贫血。传统的鉴别手段是通过检查铁代谢和血红蛋白电泳^[13]。但由于缺铁性贫血的发生率在中国人群为 10%,属常见疾病,所以在我国,当患者的血常规报告结果为小细胞低色素性贫血时,一般都会首先以缺铁性贫血治疗。而只有在反复补铁,而贫血仍旧无法根治时,才会考虑检查血红蛋白电泳和铁代谢予以区分^[14]。另外,血红蛋白电泳的出报告周期较长,也影响了它的使用,从而导致地中海贫血的漏检率非常

高,地中海贫血病人延误了最佳治疗时机将存在生命危险。

国内外研究表明,根据红细胞九分图所提供的小红细胞和低色素红细胞在全部红细胞中所占比例,包括小红细胞比例(Micro%)和 HYPO%,在出现小细胞低色素贫血时,通过计算 Micro%和 HYPO%的比值就可以鉴别这两种贫血^[18]。

3 血小板的检测技术

在 ERP 通道中,血小板的检测灵敏度、准确性和重复性均得到大幅提升。新的光学系统使仪器可以检测体积更小的血小板,大幅提高了血小板检测灵敏度^[19],见图 6(见插页 I);新的染料对血小板 RNA 的特异性更强,去除了红细胞碎片、白细胞碎片对 PLT 的干扰,未成熟血小板比例的结果更佳,大幅提高了血小板检测的准确性^[20],见图 7(见插页 II);申请专利保护的低值血小板 8 倍统计功能,既可以根据 PLT-I 结果自动触发(不会因为复检增加成本增加成本),也提供了专用的“PLT-O 8×”检测模式,大幅提高了血小板检测的精密度,见图 8(见插页 II)。

4 网织红细胞的检测技术

网织红细胞是尚未完全成熟的红细胞,它由骨髓释放到外周血后,成熟过程中,细胞内的 RNA 水平逐渐减少,直至完全消失。网织红细胞内 RNA 的水平体现其成熟程度,由于血小板中也含有 RNA 物质,通过球形化处理的血小板在体积上和网织红细胞有较大区别,从而将两者加以区分;同时,FR 荧光染料对网织红细胞和血小板中的 RNA 进行标记,试剂成分中的促染剂对染色作用进行了有效的加速,使荧光染料可以快速的与网织红细胞内的 RNA 结合。通过荧光强度的检测,实现对成熟红细胞和网织红细胞的区分,见图 9、10、11(见插页 II)。

铁是人体内重要元素之一^[21]。由于身体内 70%的铁都被用来合成血红蛋白,而网织红细胞作为红细胞的未成熟前体,它在外周血内只存活 1 d 即演变为红细胞,所以它显示了体内最新的造血情况,其血红蛋白水平则代表身体内铁代谢的最新进展,对于体内铁代谢来说,检测 MCHr 是一种真正可靠实用的检查手段^[22]。一项研究指出,在诊断铁缺乏的灵敏度和特异度方面,同常规铁代谢指标铁蛋白(60%和 50%)和转铁蛋白(60%和 50%)相比,MCHr 达到了 100%和 80%^[23]。使用 MCHr 来预测铁代谢较其他指标的优点还表现在简便易行,它的整个测量程序等同于一个血常规的全部过程,患者很快即可拿到报告。

5 小 结

综上所述,SF-Cube 2.0 通过新增的 WNB 通道,实现了在血常规检测中除白细胞五分类外,常规报告有核红细胞参数,避免了原始细胞、异淋细胞等高荧光强度大细胞和嗜碱性粒细胞之间的相互干扰。同时采用粒子群动态捕捉算法识别高有核红细胞样本,

大大提升了高有核红细胞的识别率。在新的 ERP 通道中,采用 Mie 散射的原理,对单个红细胞和单个网织红细胞的体积和血红蛋白水平进行测量,获得 MCHr 的测量值等相关参数,并提供红细胞二维和三维九分图,帮助对贫血患者,尤其是小细胞低色素性贫血患者进行诊断和鉴别诊断。同时,通过试剂和算法的改进,SF-Cube 2.0 在血小板检测灵敏度、抗白细胞碎片、红细胞碎片干扰,以及低值血小板检测的重复性方面都有了进一步的提升,呈现出优异的特性。

参考文献

- [1] 丛玉隆. 血细胞分析技术进展与展望[J/CD]. 临床检验杂志(电子版),2012,1(1):4-7.
- [2] 乐家新,周建山,兰亚婷. 血细胞分析仪检测原理[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(3):205-208.
- [3] 杨文志,王晓东,李橙. 库尔特原理及其应用[J]. 工程研究-跨学科视野中的工程,2016,8(6):582-592.
- [4] 钱程. 一个离群点引发的思考——迈瑞血细胞分析仪疟原虫感染检测研究进展[J/CD]. 临床检验杂志(电子版),2012,1(1):59-63.
- [5] 李正兰,刘静诗,罗西贝,等. ACL-8000 血细胞分析仪流水线技术联合染色镜检对疟疾筛查与诊断的临床应用[J]. 现代医院,2017,17(1):131-133.
- [6] 常静秋,艾冬琴. 迈瑞 BC-6800 血细胞分析仪的临床性能评价[J]. 中国卫生标准管理,2016,7(7):153-155.
- [7] 杨静梅,林一民. 全自动血细胞分析仪白细胞计数与手工计数应用比较[J]. 检验医学与临床,2012,9(8):961-963.
- [8] 乐家新,叶波,王宫振,等. 粒子群分离度数字增强技术及其在去除脂质颗粒对 WBC 计数干扰中的应用研究[J]. 中国医疗器械信息,2016,22(13):1-4.
- [9] 程娟,姚如恩,杨茜,等. 新生儿外周血有核红细胞对白细胞计数的影响[J]. 检验医学,2017,32(7):616-618.
- [10] 许东升. 血细胞分析仪临床应用进展[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(7):747-750.
- [11] 董磊,吉品健,马红雨,等. 网织红细胞的研究进展及应用[J]. 医学综述,2012,18(16):2567-2569.

- [12] 骆鹏程. 基于光散射下的血细胞分析传感器微型化研究与设计[D]. 镇江:江苏大学,2016.
- [13] 邱晓丹,陈淮林,郑艳斌. 地中海贫血和缺铁性贫血鉴别诊断中血常规检测应用价值分析[J]. 中外医学研究,2016,14(24):8-9.
- [14] 王海燕,李晓辉,徐西华. 地中海贫血诊治进展与我国现状[J]. 中国实用儿科杂志,2013,28(6):473-476.
- [15] 焦瑞宝,唐吉斌,黄明坤,等. SYSMEX XT-2000i 血细胞分析仪的常见故障及排除[J]. 实验与检验医学,2010,28(5):532-533.
- [16] 卢志高. 全自动血液分析仪外周血细胞计数的影响因素[J]. 医疗装备,2018,31(5):55-56.
- [17] 张海英,郭泽兴,邝桂婵,等. %Micro/%Hypo 比值在珠蛋白生成障碍性贫血和缺铁性贫血辅助诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(14):1918-1919.
- [18] AMBAYYA A, AWANG R, AMHAR N, et al. Potential Utility of Low Hemoglobin Density (LHD) of Unicel DXH 800 in Comparison with %HYPO HE and %MICRO R in SYSMEX XE-5000[J]. Inter J Lab Hematol, 2012,34:105.
- [19] 施紫微,黄婷,胡锡林. Mindray BC-6800 全自动血液细胞分析仪低值血小板临床性能评价[J]. 中国医学装备,2017,14(2):23-26.
- [20] 陈莹莹,吕春兰,黄晶晶,等. 迈瑞 BC-6800 血细胞分析仪血小板聚集报警信息的分析及可靠性评价[J]. 医学信息,2017,30(1):269-270.
- [21] 吴会丽,郭凡,黄艳春. 网织红细胞平均血红蛋白量检验诊断不同人群缺铁性贫血的效果[J]. 中国卫生标准管理,2017,8(26):120-122.
- [22] 高绍华,董莉. 网织红细胞血红蛋白含量在铁缺乏疾病诊断中的应用价值[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2009,23(10):1036-1037.
- [23] 王建中,普程伟,尚柯,等. 网织红细胞血红蛋白含量在铁缺乏诊断中的应用研究[J]. 中国实验诊断学,2004,8(6):572-575.

(收稿日期:2018-05-29 修回日期:2018-08-18)

(上接第 3575 页)

- [7] 肺穿刺氩氦冷冻消融术治疗肺癌(附 152 例报告)[J]. 山东医药,2011,51(6):78-80.
- [8] 钱建新,顾小强,焦晓栋,等. 冷冻消融序贯化疗治疗晚期非小细胞肺癌的疗效观察[J]. 介入放射学杂志,2014,23(7):579-583.
- [9] 蔡进中,苏伟珠,何凡,等. 125I 粒子联合氩氦刀冷冻消融术治疗中晚期肺癌的临床疗效研究[J]. 临床放射学杂志,2015,34(7):1136-1139.
- [10] 王文辉,李奋强,李立,等. 多排螺旋 CT 引导下经皮氩氦刀冷冻消融术结合植入 125I 粒子治疗肺癌的近期疗效观察[J]. 介入放射学杂志,2010,19(7):554-557.
- [11] 汪丛丛,刘洪星,庄静,等. 中医药联合同步放化疗治疗晚期非小细胞肺癌疗效及安全性的 Meta 分析[J]. 中国全科医学,2015,18(12):1406-1414.

- [12] 侯宛昕,李和根,陈智伟,等. 中医药联合辅助化疗治疗完全性切除非小细胞肺癌的临床研究[J]. 中国中西医结合杂志,2015,35(6):648-653.
- [13] 张琰彬,焦丽静,董昌盛,等. 中医药联合表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌研究现状[J]. 中医杂志,2015,56(10):888-891.
- [14] 孙宏新,覃晶,周宜强. 消瘤保肺丸配合化疗对中晚期非小细胞肺癌患者生活质量的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2009,29(1):23-25.
- [15] 孙宏新,段铮,蒋艳玲,等. 消瘤保肺丸对人肺癌 PG 细胞上皮细胞钙粘蛋白、 α -catenin 及 β -catenin 表达水平的影响及意义[J]. 时珍国医国药,2010,21(7):1601-1603.

(收稿日期:2018-04-18 修回日期:2018-07-02)