

· 论 著 ·

Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪高荧光体液细胞计数在脑膜癌诊断中的应用

陈佳美,叶辉铭,肖小芬,于 洋,梁贤明[△]

(厦门大学附属中山医院检验科,福建厦门 361004)

摘要:目的 评价 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪高荧光体液细胞(HF-BF)计数性能,并分析其在脑膜癌诊断中的应用价值。**方法** 通过精密度试验和方法学比较试验对 HF-BF 进行性能评价;回顾性分析厦门大学附属中山医院 2010 年 6 月至 2012 年 9 月 295 份脑脊液的 HF-BF 检测结果。**结果** Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪 HF-BF 计数精密度高、与细胞学检查一致性好。脑膜癌组每百个白细胞检测到的高荧光体液细胞数(HF-BF%)高于其他脑疾病组,两两比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。当 HF-BF% 为 4.3% 时,受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)为 0.933,灵敏度为 95.2%,特异度为 92.7%,即 HF-BF% 大于 4.3% 时,脑脊液检出肿瘤细胞的可能性大。**结论** Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪 HF-BF 参数是脑膜癌早期诊断的有效参考指标,具有较好的临床应用价值。

关键词:脑膜癌; 脑脊液细胞学; 高荧光体液细胞**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.017**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)13-1841-03

Application of high-fluorescence body fluid cell mode on the platform Sysmex XE-5000 automated blood analyzer in diagnosis of meningeal carcinomatosis

Chen Jiamei, Ye Huiming, Xiao Xiaofen, Yu Yang, Liang Xianming[△]

(Department of Clinical Laboratory, Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen, Fujian 361004, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of high-fluorescence body fluid cell (HF-BF) mode on the platform Sysmex XE-5000 automated blood analyzer, and analyse its clinical application value in diagnosis of meningeal carcinomatosis. **Methods** Evaluated the performance of HF-BF by using precision test and methodology comparison test. Retrospectively analyzed 295 test results of cerebrospinal fluid in Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University from June 2010 to September 2012. **Results** HF-BF on the platform Sysmex XE-5000 automated blood analyzer had high precision, and exhibited a good consistency with cytological examination. The percentage of high-fluorescence body fluid cell(HF-BF%) in the meningeal carcinomatosis group was higher than that in other cerebral diseases groups, had statistically significant differences ($P < 0.05$). The cut-off value for HF-BF% was 4.3%, while the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) was 0.933, the sensitivity was 95.2%, and the specificity was 92.7%. When HF-BF% was over 4.3%, it was more likely to detect tumor cell in cerebrospinal fluid cytology. **Conclusion** HF-BF is an effective reference index for the early diagnosis of meningeal carcinomatosis and has significant clinical application value.

Key words:meningeal carcinomatosis; cerebrospinal fluid cytology; high-fluorescence body fluid cell

高荧光体液细胞(HF-BF)是 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪体液检测模式的研究参数之一,用 HF-BF 计数和每百个白细胞检测到的高荧光体液细胞数(HF-BF%)表示。Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪采用“半导体激光的流式细胞术”及“核酸荧光染色”的原理计数和分类细胞,具有体液检测模式、常规检测模式、造血祖/干细胞检测模式 3 种检测模式。在体液检测模式中可提供 HF-BF 参数,高荧光细胞表示核酸水平较高的细胞类型,包括肿瘤细胞、白血病细胞、间皮细胞等。HF-BF 作为体液检查的新参数,其检测性能及临床应用罕见于报道。为此,本文对 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪 HF-BF 检测性能进行评价,并研究在脑脊液检验中,HF-BF 参数用于脑膜癌早期辅助诊断的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 6 月至 2012 年 9 月于厦门大学附属中山医院接受腰穿检查者的 295 份脑脊液标本。标本采

自不同患者。根据来源患者的病理和实验室其他检查及临床诊断结果进行分组:脑膜癌组(21 例),病毒性脑膜炎组(81 例),化脓性脑膜炎组(28 例),结核性脑膜炎组(32 例),隐球菌性脑膜炎组(30 例),神经梅毒组(18 例);其中脑脊液常规、生化检查无阳性结果的恢复期脑外伤或者正常脑白质退化病变等患者 85 例纳入对照组。所选脑脊液标本均同时进行了脑脊液常规检查(仪器法)和脑脊液细胞学检查。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪及配套试剂、质控品、校准品(日本 Sysmex 公司);TXD3 细胞涂片离心机(湖南湘仪仪器厂);瑞氏染液(珠海贝索生物技术有限公司);吉姆萨染液(湖南湘雅基因技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 HF-BF 检测 按要求对 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪进行定期校准,并进行每日质控,要求结果在控。按照 Sysmex 公司提供的标准操作规程进行 HF-BF 检测。上机前

确认标本无凝块, 轻缓颠倒混匀数次, 选择体液模式进行上机检测, 于仪器研究参数界面读取计数结果。

1.3.2 精密度试验 将 SW480 结肠癌肿瘤细胞培养皿上的贴壁细胞通过胰蛋白酶液消化后, 收集于离心管中, 通过 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪体液模式计算细胞总数。用磷酸盐缓冲液(PBS)对该细胞悬液分别进行 10 倍和 40 倍稀释, 配制为高、低 2 种浓度的肿瘤细胞悬液, 分别通过体液模式进行 20 次检测, 观察结果的重复性。

1.3.3 方法学比较试验 对 21 例脑膜癌患者的脑脊液分别用仪器法进行 HF-BF% 检测和脑脊液细胞学检查。仪器检测重复检测 2 次; 细胞学检查由 2 位高年资检验人员进行细胞分类, 取脑脊液标本 0.5 mL, 加入专用离心管, 使用细胞涂片离心机, 离心半径 7 cm, 1 000 r/min 离心 6 min, 制片后待干, 进行瑞氏-吉姆萨染色, 油镜下进行细胞分类, 结果取平均值, 进行统计分析。

1.3.4 HF-BF% 诊断脑膜癌的受试者工作特征(ROC)曲线分析 以其他各种脑疾病组及对照组为对照, 绘制 HF-BF% 的 ROC 曲线, 计算 ROC 曲线下面积(AUC)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理与统计学分析, 计量资料以中位数(M)、四分位间距(QD)表示, 两种方法的相关性分析采用 Spearman 相关性分析; 各组 HF-BF% 水平比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验, 组间两两比较采用 LSD 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 精密度试验 将浓度为每毫升 1 600 个的 SW480 结肠

癌肿瘤细胞悬液分别配制为高、低 2 个浓度的肿瘤细胞悬液, 高值标本肿瘤细胞悬液平均浓度为每毫升 (159.9 ± 21.6) 个, 低值标本肿瘤细胞悬液平均浓度为每毫升 (42.1 ± 6.4) 个, 精密度[变异系数(CV%)]分别为 13.5%、15.2%, 均小于 20% (仪器功能精密度要求), 适于临床应用。

2.2 方法学比较试验 在脑膜癌组中, 仪器法检测 HF-BF% 与细胞学检查细胞分类结果具有较好的一致性, 回归方程: $Y = 0.90X + 4.59 (r = 0.79, P = 0.003)$ 。

2.3 各组 HF-BF% 水平及细胞学检查结果 脑膜癌组 HF-BF% 水平高于其他脑疾病组和对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。HF-BF% 升高的脑脊液标本在仪器体液模式散点图上可见 HF-BF 细胞群增多, 见图 1。细胞学检查可见肿瘤细胞与分裂象细胞, 见图 2。

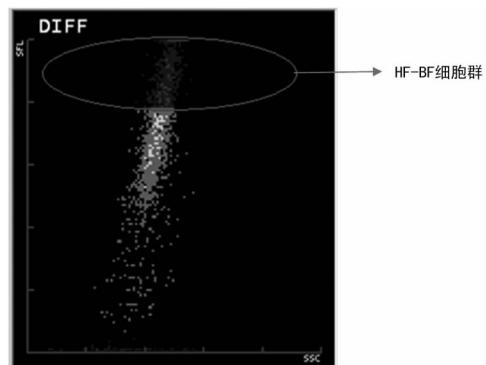
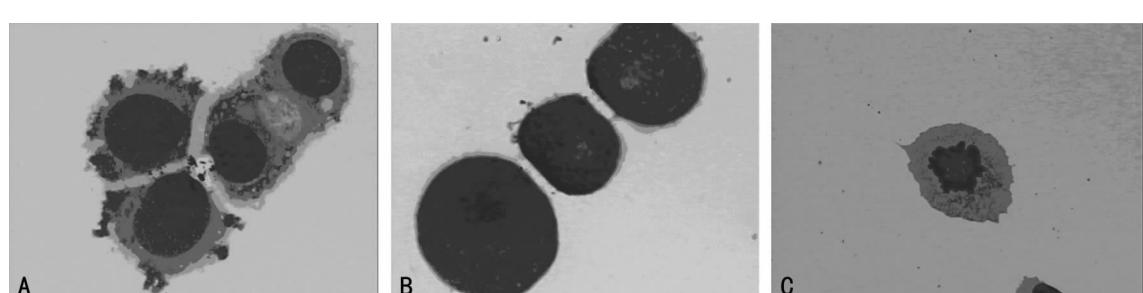


图 1 Sysmex XE-5000 血液分析仪体液模式散点图



A:肿瘤细胞;B:肿瘤细胞;C:分裂象细胞。

图 2 脑脊液中肿瘤细胞与分裂象细胞(瑞氏-吉姆萨染色 $\times 1000$)

2.4 HF-BF% 诊断脑膜癌的 ROC 曲线分析 AUC 为 0.933, 临界值(cut-off 值)为 4.3%, 该阈值下灵敏度为 95.2%, 特异度为 92.7%。见图 3。

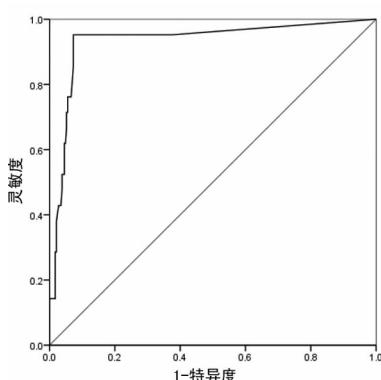


图 3 HF-BF% 的 ROC 曲线

表 1 各疾病组 HF-BF% 实验室检测结果

组别	n	M±QD (%)
脑膜癌组	21	8.7±12.0
病毒性脑膜炎组	81	0.0±1.9*
化脓性脑膜炎组	28	0.4±1.8*
结核性脑膜炎组	32	0.4±1.2*
隐球菌性脑膜炎组	30	0.0±1.5*
神经梅毒组	18	0.0±3.3*
对照组	85	0.0±0.1*

*: $P < 0.05$, 与脑膜癌组比较。

3 讨 论

脑膜癌是恶性肿瘤颅内转移的一种形式, 在实体肿瘤患者中发生率约为 3%~8%^[1-2]。脑膜癌无占位效应, CT、磁共振

成像(MRI)不能提供有效的影像学诊断信息^[3],同时缺乏特异的临床表现,早期发现与诊断困难。脑脊液细胞学检查检出肿瘤细胞是诊断脑膜癌的可靠依据,但首次腰穿阳性率仅为 50%^[4],且操作繁琐、不同人员检测结果差异大。Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪的 HF-BF 参数,可以提高检测灵敏度,且操作简单,结果重复性好,为脑膜癌的早期发现及诊断提供了一个新途径。

本研究首先对 HF-BF 参数进行了初步性能验证,对高、低 2 个浓度的肿瘤细胞悬液分别进行 20 次重复检测,2 组结果 CV% 均小于 20%,变异程度在可接受范围。在方法学比较试验中,仪器检测结果与脑脊液细胞学镜检分类结果具有较好的一致性。可见,HF-BF 是一个较为可靠的参数。

在脑脊液标本中,HF-BF 细胞主要是肿瘤细胞,该参数的升高可提示标本中存在肿瘤细胞。将脑膜癌组的 HF-BF% 与其他脑疾病组及对照组比较,脑膜癌组 HF-BF% 明显高于其他脑疾病组和对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HF-BF% 在其他各型颅内感染疾病组也可出现轻微升高。脑膜癌组脑脊液细胞学检查均可检出肿瘤细胞,肿瘤细胞胞体增大,胞浆深染,可见核仁、多核或核分裂象。分裂象细胞也可一过性地出现在非癌性脑膜炎的脑脊液中,一般见于炎症急性期,炎症好转后该类细胞可消失。在细菌性脑膜炎、结核性脑膜炎、神经梅毒的脑脊液标本中均有检出。脑膜癌组以外的各个脑疾病组中 HF-BF% 无明显升高。可见 HF-BF% 在脑脊液检验中可作为一项有效的参考指标,对脑脊液中存在肿瘤细胞具有重要的提示意义。

HF-BF 作为脑脊液检验的一项参数,其医学决定水平仍未见报道。根据本研究绘制的 ROC 曲线,当 HF-BF% 为

(上接第 1840 页)

显示萎缩性胃炎和胃癌患者血清 PG I 水平和 PG I / PG II 比值,明显低于浅表性胃炎组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),与相关文献报道基本相符^[12-18]。

综上所述,应用流式荧光法检测血清 PG I / II,具有良好的分析性能,为胃癌和萎缩性胃炎的早期诊断提供了较好的检测手段。

参考文献

- [1] 杨胜茹. 胃蛋白酶原的研究现状及应用[J]. 检测医学, 2009, 15(4): 605-606.
- [2] 张珏, 黄飚, 朱岚. 胃蛋白酶原双标记时间分辨荧光免疫分析及其初步临床应用[J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(4): 471-476.
- [3] 朱国民, 邱枫. 三种血清胃蛋白酶原检测方法在胃癌筛查中的比较分析[J]. 检验医学, 2012, 27(11): 9.
- [4] 杨瑞生, 韩大正, 马芬, 等. 胃癌筛查时血清胃蛋白酶原 4 中检测方法的比价分析[J]. 中国医学创新, 2012, 9(6): 78-79.
- [5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. 2nd ed. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [6] 陈智周, 范振冠. 胃蛋白酶原 I、II 在早期胃癌普查中的意义[J].

4.3% 时,灵敏度达 95.2%,特异度达 92.7%。即当采用 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪模式检测脑脊液标本时,结果显示 HF-BF% 大于 4.3%,提示脑脊液中检出肿瘤细胞的可能性大,需要细胞学进一步确认,应在细胞学镜检时特别注意有无肿瘤细胞。

在精密度试验中,肿瘤细胞仪器计数结果呈随时间衰减趋势,与显微镜手工计数结果相符,提示肿瘤细胞容易自行溶解破坏,是仪器精密度较低的原因之一,也是脑脊液中查到肿瘤细胞阳性率低的原因之一。因此,应注意脑脊液标本的及时送检与及时检验。

Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪模式的 HF-BF 参数,是脑膜癌早期诊断的一项可靠指标,具有较好的临床应用前景,其临床应用还需要更多的临床试验进行完善。

参考文献

- [1] Lee JL, Kang YK, Kim TW, et al. Leptomeningeal carcinomatosis in gastric cancer[J]. J Neurooncol, 2004, 66(1/2): 167-174.
- [2] Martins SJ, Azevedo CR, Chinen LT, et al. Meningeal carcinomatosis in solid tumors[J]. Arq Neuropsiquiatr, 2011, 69(6): 973-980.
- [3] Chawla M, Reddy R, Kumar R, et al. PET-CT in detection of meningeal metastasis in neuroblastoma[J]. Pediatr Surg Int, 2009, 25(2): 211-215.
- [4] Miller E, Dy I, Herzog T. Leptomeningeal carcinomatosis from ovarian cancer[J]. Med Oncol, 2012, 29(3): 2010-2015.

(收稿日期:2015-05-12)

中华肿瘤杂志, 2002, 24(1): 1-3.

- [7] Mikl K, Fujishiro M, Kodashima S, et al. Long-term results of gastric cancer screening using the serum pepsinogen test method among an asymptomatic middle-aged Japanese population[J]. Dig Endosc, 2009, 21(2): 78-81.
- [8] Kim N, Jung HC. The role of serum pepsinogen in the detection of gastric cancer[J]. Gut & Liver, 2010, 4(3): 307-319.
- [9] Samloff IM, Varis K, Ihamaiki T, et al. Relationships among serum pepsinogen I, serum pepsinogen II and gastric mucosal histology: a study in relatives of patients with pernicious anemia[J]. Gastroenterology, 1982, 83(1/2): 204-209.
- [10] Seideman J, Peritt D. A novel monoclonal antibody screening method using the Luminex-100TM microsphere system[J]. J Immunol Methods, 2002, 267(2): 165-171.
- [11] 周晓芳, 盛海刚. Luminex 系统的技术原理与应用[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4): 247-249.
- [12] 邱志奇, 温少磊, 谭智毅. 胃蛋白酶原 I、II 及其比值在胃癌筛查中的应用[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(14): 1806-1807.
- [13] 雷勇. 胃蛋白酶原亚群测定对胃癌早期诊断预测的研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2009, 23(5): 441-442.

(收稿日期:2015-03-08)