

评估 CellaVision™ DM96 全自动数字细胞形态学分析系统 在外周血血涂片中检测细胞内寄生虫的临床价值*

洪俊¹, 饶永彩² (1. 武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060; 2. 武汉生物制品所, 武汉 430060)

摘要:目的 评估全自动数字细胞形态学分析系统 CellaVision™ DM96 在外周血血涂片中检测细胞内寄生虫的能力。方法 检验普通技师和血液专业技师分别采用光学显微镜和 CellaVision™ DM96 对 142 张阳性血涂片和 165 张阴性对照组血涂片进行判读, 然后对判读结果进行统计学分析。对阳性血涂片按疟原虫含量百分率进行分类, 观察 CellaVision™ DM96 对不同含量疟原虫血涂片的疟原虫检出率。结果 检验普通技师和血液专业技师无论是使用光学显微镜还是 CellaVision™ DM96 都能准确识别所有阴性对照, 其特异性均为 100%。血液专业技师使用 CellaVision™ DM96 的敏感度与实验室普通技师和血液专业技师使用光学显微镜检测疟原虫的敏感度均无统计学差异($\chi^2=0.24, 0.03, 0.43, P>0.05$)。血涂片中疟原虫百分率越高, CellaVision™ DM96 的疟原虫检出率就越高。当血涂片疟原虫百分率 $\geq 1\%$ 时, 仅有 2 个含有恶性疟原虫的样本被误判为阴性。血涂片疟原虫百分率 $\geq 2.0\%$ 时使用 CellaVision™ DM96 能将所有血涂片 100% 正确判读。结论 CellaVision™ DM96 检测疟原虫的特异度和敏感度与光学显微镜一致。使用 CellaVision™ DM96 检测疟原虫提供了另一种检测红细胞内疟原虫的方法。

关键词: 血涂片; 细胞内寄生虫; CellaVision™ DM96 全自动数字细胞形态学分析系统

中图分类号: R446.111 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)05-123-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.035

Performance Evaluation of the CellaVision™ DM96 Analyzer During Detection of Intracellular Parasites of Peripheral Blood Smears

HONG Jun¹, RAO Yong-cai² (1. Department of
Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China;
2. Wuhan Institute of Biological Products, Wuhan 430060, China)

Abstract: Objective To evaluate the performance of the CellaVision™ DM96 analyzer during detection of intracellular parasites of peripheral blood smears. **Methods** This study compared the detection rates of Plasmodium and Babesia species on peripheral blood smears utilizing the CellaVision DM96 with the rates for a routine red blood cell morphology scan. A total of 307 slides were analyzed, consisting of 142 slides positive for Plasmodium or Babesia species and 165 negative controls. Slides were blinded, randomized, and analyzed by CellaVision 96 and microscopy for red cell morphology scans. The technologists were blinded to prior identification. **Results** The examination of common technician and blood professional technician, whether using optical microscope or CellaVision DM96 could accurately identify all the negative control, its specificity was 100%. The sensitivity of blood professionals using CellaVision DM96 was not statistically significant in the sensitivity of the laboratory and the use of light microscopy for the detection of Plasmodium parasites ($\chi^2=0.24, 0.03, 0.43, P>0.05$). The higher percentage of Plasmodium in blood smear, the higher detection rate of CellaVision DM96. When the blood smear Plasmodium white rate greater than 1%, only 2 contain Plasmodium falciparum samples were negative for the miscarriage of justice. The blood smear percentage was higher than 2% CellaVision of Plasmodium DM96 will all the blood smear 100% correct interpretation. **Conclusion** This study demonstrates that CellaVision had the potential to detect intracellular parasites in routine screening of blood smears resource for storing images to be used for educational purposes, including training technologists in the detection of intracellular parasites.

Keywords: blood smears; intracellular parasites; the cellaVision™ DM96 analyzer

CellaVision™ DM96 是一种全自动血细胞形态鉴定仪器, 它可以将染色后的血涂片置于高倍镜下拍摄每个细胞的数码图像, 通过软件进行细胞分类和鉴定, 以最接近传统显微镜观察方法对血液中的白细胞进行分类。这种软件是基于人工智能神经网络神经网络, 在一个巨大的细胞形态数据库中进行

比对分析, 除了白细胞的分类, 仪器还提供红细胞形态信息和血小板数量的估算。仪器在分析红细胞时会拍摄一个 10 倍放大的红细胞区域图像。专业技术人员可以通过判读红细胞外形特征图像协助诊断如红细胞大小不均, 细胞异形, 嗜多色性、小红细胞症、大红细胞症, 镰状红细胞, 红细胞内含物

* 作者简介: 洪俊 (1973-), 男, 博士, 副主任技师, 主要从事临床免疫及血液学方面的研究, Tel: 15971431905, E-mail: wonderman1973@hotmail.com。

和细胞内寄生虫。目前 CellaVision DM96 检测细胞内寄生虫功能并没有被食品药品监督管理局 (FDA) 正试认可和确认, 国内外当前关于 DM96 是否能用于胞内寄生虫检测尚无定论。本文研究的目的是以显微镜观察为参考方法, 评估 CellaVision DM96 在检测红细胞内的疟原虫和巴贝虫的敏感度和特异度, 以探讨 CellaVision DM96 用于 RBC 内寄生虫筛查的可行性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 199 张疟疾阳性血涂片收集于 2001 年 1 月~2015 年 6 月本院住院和门诊就诊患者, 以上血片均用显微镜镜下检测到疟原虫体, 每张血涂片疟原虫百分率范围从 0.1% 到 10% 不等。199 张阳性血涂片因为有 57 张血涂片因条码不正确导致 CellaVision DM96 无法读取, 而被删除检测; 最终实际分析了 142 张阳性血涂片和 165 张阴性对照组血涂片。阴性对照血涂片收集于同期本院血常规计数和分类正常的血样。以上所有取样均获得患者的知情同意书。

1.2 检测方法

1.2.1 人工光学显微镜下疟原虫镜检: 由本实验室 1 名具备形态学分析资质的检验普通技师和 1 名血液专业技师, 按照《全国临床检验操作规程》方法步骤对上述所有血涂片进行随机双盲判读。

1.2.2 DM96 系统对疟原虫镜检: CellaVision DM96 使用的软件版本为 3.2.1 build 23, 将收集到的血涂片放入 DM96, 系统自动对本标进行扫描、定位, 采用软件专用的 RBC 形态学观察窗口也观察 10 个 RBC 图像 (见图 1)。检验普通技师判读完样本后, 再由血液专业技师采用 CellaVision DM96 进行二次复检判读。

1.3 统计学分析 计算分别使用 CellaVision DM96 和光学显微镜判读结果的敏感度, 特异度, 置信区间, 采用卡方检验分析差异的显著性。统计

分析采用 SPSS 软件。双侧 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果 见表 1。142 张阳性血涂片中, 有 52 张是恶性疟原虫, 28 张是间日疟原虫, 12 张是卵形疟原虫; 4 张是三日疟原虫, 5 张是间日疟原虫或卵形疟原虫; 26 张疟原虫种属不明, 8 张是混合感染 (2 张是恶性疟原虫和三日疟原虫, 2 张是恶性疟原虫和卵形疟原虫, 3 张是卵形疟原虫与间日疟原虫, 1 张是间日疟原虫和三日疟原虫); 7 张是巴倍虫属原虫。本文显示检验普通技师和血液专业技师无论是使用光学显微镜还是 CellaVision DM96 都能准确识别所有阴性对照, 其特异度均为 100%。但敏感度却不一样, 检验普通技师使用 CellaVision DM96 从 142 张细胞内寄生虫阳性血涂片中鉴别出了 104 张 (图 1), 敏感度为 73%; 明显低于血液专业技师使用 CellaVision DM96 的 85%, 实验室普通技师和血液室专业技师使用光学显微镜 (图 2) 的 83% 和 86% ($\chi^2 = 6.18, 4.14, 7.02, P < 0.05$), 而血液室专业技师使用 CellaVision DM96 和实验室普通技师和血液室专业技师使用光学显微镜检测疟原虫的敏感度差异均无统计学意义 ($\chi^2 = 0.24, 0.03, 0.43, P > 0.05$)。本文对血涂片中疟原虫含量对 CellaVision DM9 疟原虫检出率的影响进行了观察, 见图 3 所示。当血涂片中疟原虫百分率小于 0.1% 的血涂片中的细胞内的疟原虫检出率为 62%。血涂片中疟原虫百分率越高, CellaVision DM96 的疟原虫检测率就越高。当血涂片疟原虫百分率 $\geq 1\%$ 时, 仅有 2 个含有恶性疟原虫的样本被误判为阴性。血涂片疟原虫百分率 $\geq 2.0\%$ 时使用 CellaVision DM96 能将所有血涂片 100% 正确判读。

3 讨论 疟疾是一种全球疾病, 全球大约有 21 900 万患者, 其中 66 万例死亡^[1]。疟疾临床诊断上主要依靠症状和体征, 如发烧、头痛、疲劳、肌肉

表 1 CellaVision DM9 和光学显微镜两种方法检测疟原虫阳性血涂片结果对比表

血涂片 所含原虫类型	数量 n	CellaVision				光学显微镜			
		普通技师		血液室专业技师		普通技师		血液室专业技师	
		数量	敏感度 (%)	数量	敏感度 (%)	数量	敏感度 (%)	数量	敏感度 (%)
恶性疟原虫	52	38	73	44	85	43	83	45	87
间日疟原虫	28	20	71	26	93	25	89	26	93
卵形疟原虫	12	7	58	7	58	7	58	7	58
三日疟原虫	4	4	100	4	100	4	100	4	100
疟原虫种属不明	26	21	81	21	81	21	81	21	81
间日疟或卵形疟	5	0	0	4	80	4	80	4	80
混合感染	8	7	88	8	100	8	100	8	100
巴倍虫属原虫	7	7	100	7	100	6	86	7	100
合计	142	104	73	121	85	118	83	122	86

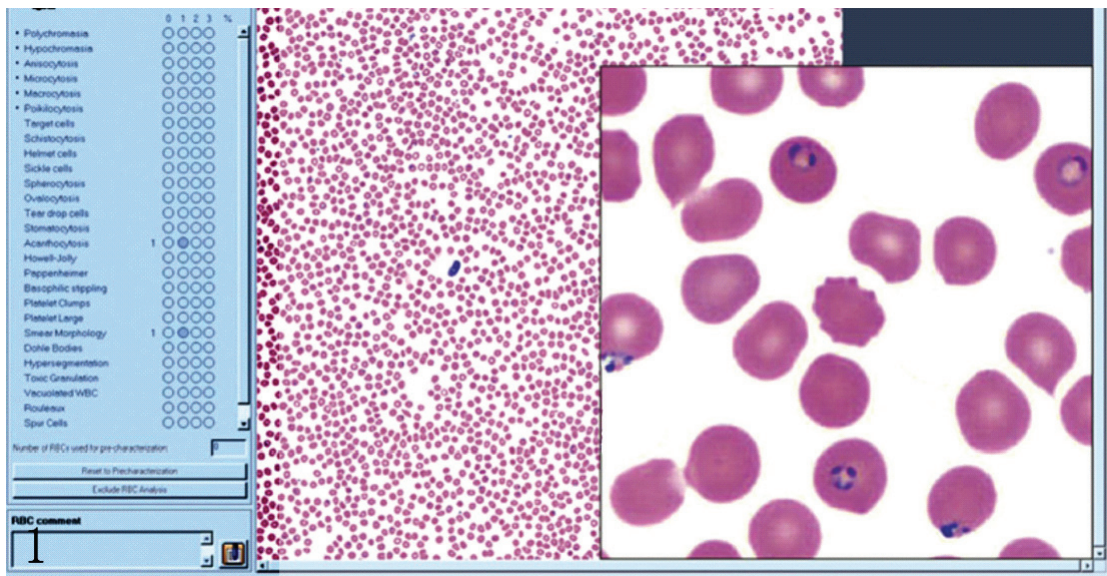


图 1 CellaVision DM9 RBC 观察窗口所呈现的含疟原虫的 RBC 图像

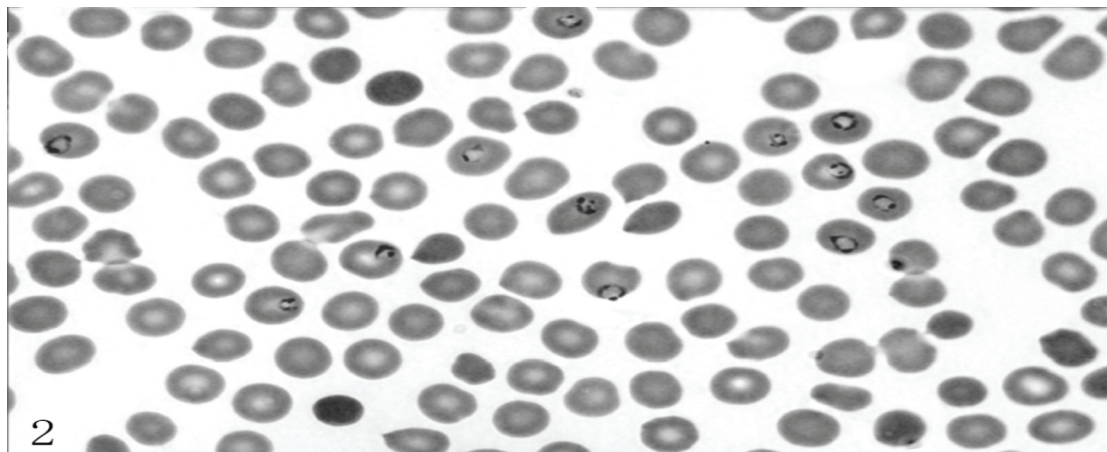


图 2 光学显微镜 100 倍油镜下观察到的含疟原虫的 RBC 图像

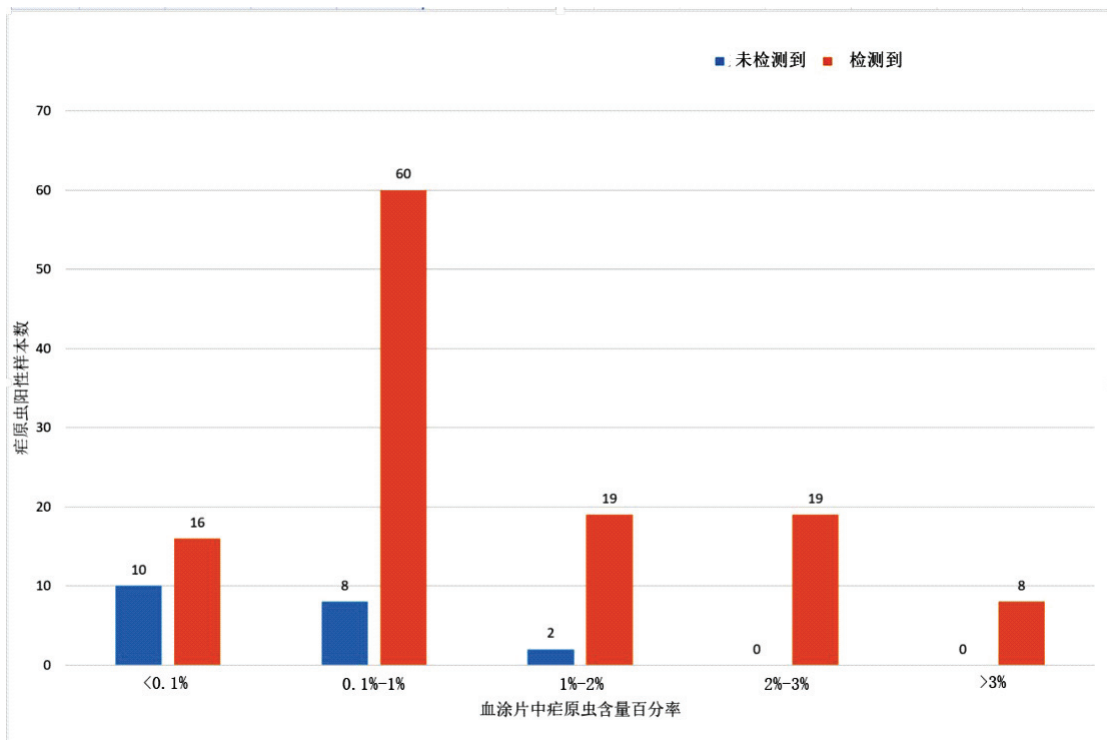


图 3 142 张不同疟原虫含量的血涂片 CellaVision DM9 的检出结果

疼痛、腹部疼痛、恶心、呕吐和脾肿大等,但这些症状往往是非特异性的,如果医生对于疟疾的临床表现不熟悉,则可能会造成漏诊^[2]。此外,疟疾在反复感染中可以使宿主获得免疫耐受从而导致无典型的临床症状,疟疾流行地区的感染者大部分是无症状或亚临床症状的,有报道显示在无个体中镜检观测到的疟疾携带者比例高达 39.2%^[3]。这些无症状携带者通常不会寻求医疗救治,往往成为疟疾流行地区的重要传染源^[2,3]。因此,进行有效的疟疾常规筛查试验对于疟疾控制和诊治有着重要的意义。

自上世纪初期以来光学显微镜一直是诊断疟疾的金标准^[4];显微镜的灵敏度从 85%到 93%不等^[5,6],经验丰富的血液专业技师能够准确检测浓度在 100~500 个/升寄生虫的疟疾样本^[5]。随着技术的进展,现在已有多种方法可用于疟疾的诊断,如 PCR^[7],快速诊断试验(RDT)^[8]和自动血细胞分析仪^[9,10]等。PCR 具有比显微镜更高的灵敏度(100%与 93%),能够检测浓度不到 5 个/升寄生虫的疟疾样本^[6];但 PCR 对于设备、人员培训和标本运输时间都有较严格的要求,因而限制了其在临床上的应用。RDT 检测恶性疟原虫的敏感性范围较广泛(76%~100%),当样本的浓度低于 500 个/升寄生虫时,RDT 明显低于显微镜^[8];此外,RDT 相对于显微镜另外一个缺点是无法评估样本的寄生虫感染百分比和寄生虫的类型。目前自动血细胞分析仪也可用于检测疟疾^[10],其敏感度范围从 48%到 95%不等,但是与 RDT 一样无法确认感染样本的寄生虫类型。因此,临床上需要更多的有效手段来进一步完善对疟原虫的诊断。

CellaVision DM9 作为一种细胞图形判读系统最初开发出来主要是用于白细胞分类和细胞形态辨别,本身并没有专门用于检测细胞内寄生虫的软件预测模型。国内外当前关于 DM96 是否能用于胞内寄生虫检测尚无定论。本文是利用 CellaVision DM96 捕获的红细胞形态分类图像来完成对细胞内疟原虫检测,以此对 CellaVision DM96 检测疟原虫和巴倍虫属原虫的敏感度和特异度进行评估。

本文结果表明,血液专业技师和普通技师无论是使用 CellaVision DM96 还是光学显微镜其特异度完全一致均为 100%。而在敏感度方面,血液专业技师使用 CellaVision DM96 疟原虫的检出率为 85%与实验室普通技师以及血液专业技师使用光学显微镜的疟原虫敏感性均无统计学差异;说明使用 CellaVision DM9 检测疟原虫的特异度和敏感

度与光学显微镜一致。使用 CellaVision DM9 检测疟原虫提供了另一种检测红细胞内疟原虫的方法。

而实验室普通技师使用 CellaVision DM96 检测疟原虫的敏感度为 73%。明显低于自己使用光学显微镜和血液专业技师使用 CellaVision DM96 的敏感度;进一步发现在普通技师使用 CellaVision DM96 漏判的阳性标本中,有 6 个样本含有晚期滋养体,2 个样本含有无任何环形结构的配子体;CellaVision DM96 的人工智能神经网络系统将有这些结构的红细胞归类到白细胞、涂抹细胞或杂质分类中;软件也没有提示操作人员要对这些归类的可疑图形进行手动区分,因此普通技师可能是对疟原虫形态和软件特性不熟悉所以也没有进一步复检,而血液专业技师对不同形式疟原虫和软件较熟悉因而有较高的检出率,因此如果对于普通技师进行培训将能提高疟疾的检出率,使灵敏度达到传统显微镜的检测率。

此外,本文还对血涂片中疟原虫含量对 CellaVision DM96 疟原虫检出率的影响进行了观察,结果显示血涂片中疟原虫百分率越高,CellaVision DM96 的疟原虫检测率就越高。当血涂片疟原虫百分率 $\geq 2.0\%$ 时使用 CellaVision DM96 能将所有血涂片 100%正确判读,而当 $< 1\%$ 时检出率只有 63%;有研究显示卵形疟原虫和间日疟原虫相较恶性疟原虫而言更易出现低寄生虫血症^[3],因此 CellaVision DM96 在检测类似低感率的血样时可能存在不足。另外,CellaVision DM96 细胞图形的分辨率个人认为存在不足,需要加以提高,才能更好地对疟原虫的种属进行分辨。

总体来说,CellaVision DM96 在血涂片中疟原虫含量较高时其对疟原虫的检出率与光学显微镜一致;此外,由于 CellaVision DM96 收集的所有细胞图像都可以使用专用远程软件通过网络远程查看,因此,相比传统的显微镜阅片,CellaVision DM96 还有一个明显优势就是远程诊断功能;众所周知,优质的医疗人力资源如医学专家和受过充分训练的实验室专业人士往往汇集在大城市,CellaVision DM96 远程诊断功能出现将使偏远地区的患者可以得到优质医疗人力资源更好的及时诊治,从而减少漏诊和误诊,从而改善病人的医疗质量。

本文研究表明,CellaVision DM96 与传统显微镜一样能够完成常规筛查血涂片中细胞内寄生虫的检测。此外,相较传统方法而言

(下转 129 页)

巴细胞绝对计数计算而成,结果判读更客观。

本研究也存在一些局限性。本研究为回顾性病例调查研究,样本例数有限,研究结论尚待更大样本的前瞻性研究进一步验证。

综上,NLR在PBC患者中显著升高,且与疾病活动度相关,提示其可以作为评估临床疗效的潜在指标,但仍需大样本研究验证。

参考文献:

- [1] 陈燕,谷明莉,叶辛,等. STING在原发性胆汁性肝硬化患者外周血单个核细胞中的表达及临床意义[J]. 现代检验医学杂志,2016,31(3):33-35.
Chen Y, Gu ML, Ye X, et al. Expression of STING in peripheral blood in patients with primary biliary cirrhosis and its clinical significance[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(3): 33-35.
- [2] Harada K, Kakuda Y, Sato Y, et al. Alteration of energy metabolism in the pathogenesis of bile duct lesions in primary biliary cirrhosis[J]. J Clin Pathol, 2014, 67(5): 396-402.
- [3] Tabibian JH, Lindor KD. Primary biliary cirrhosis: safety and benefits of established and emerging therapies[J]. Expert Opin Drug Saf, 2015, 14(9): 1435-1444.
- [4] Purohit T, Cappell MS. Primary biliary cirrhosis: Pathophysiology, clinical presentation and therapy[J]. World J Hepatol, 2015, 7(7): 926-941.

- [5] Hu C, Deng C, Song G, et al. Prevalence of autoimmune liver disease related autoantibodies in Chinese patients with primary biliary cirrhosis[J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(11): 3357-3363.
- [6] Uslu AU, Küçük A, Sahin A, et al. Two new inflammatory markers associated with Disease Activity Score-28 in patients with rheumatoid arthritis: neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio[J]. Int J Rheum Dis, 2015, 18(7): 731-735.
- [7] Hu ZD, Sun Y, Guo J, et al. Red blood cell distribution width and neutrophil/lymphocyte ratio are positively correlated with disease activity in primary Sjögren's syndrome[J]. Clin Biochem, 2014, 47(18): 287-290.
- [8] Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the study of liver diseases practice guidelines[J]. Hepatology, 2000, 31(4): 1005-1013.
- [9] Murtaugh PA, Dickson ER, Van Dam GM, et al. Primary biliary cirrhosis: prediction of short-term survival based on repeated patient visits[J]. Hepatology, 1994, 20(1): 126-134.
- [10] Azab B, Jaglall N, Atallah JP, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio as a predictor of adverse outcomes of acute pancreatitis[J]. Pancreatol, 2011, 11(4): 445-452.

收稿日期:2015-11-24

修回日期:2016-08-01

(上接 126 页)该软件在远程医疗和医学教育方面具有不可代替的优势。

参考文献:

- [1] World Health Organization. (2012) World malaria report[C]. Switzerland: Geneva, World Health Organization.
- [2] Lee HK, Kim SI, Chae H, et al. Sensitive detection and accurate monitoring of *Plasmodium vivax* parasites on routine complete blood count using automatic blood cell analyzer (DxH800™)[J]. Int J Lab Hematol, 2012, 34(2): 201-207.
- [3] 周本江,郑葵阳. 医学寄生虫学[M]. 北京:科学出版社,2012:167.
Zhou BJ, Zheng KY. Medical parasitology[M]. Beijing: Science Press, 2012: 167.
- [4] Golassa L, Baliraine FN, Enweji N, et al. Microscopic and molecular evidence of the presence of asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections in an area with low, seasonal and unstable malaria transmission in Ethiopia[J]. BMC Infect Dis, 2015(15): 310-316.
- [5] Ranjan P, Ghoshal U. Utility of nested polymerase chain reaction over the microscopy and immunochromatographic test in the detection of *Plasmodium spe-*

cies and their clinical spectrum[J]. Parasitol Res, 2016, 115(9): 3375-3385.

- [6] Fransisca L, Kusnanto JH, Satoto TB, et al. Comparison of rapid diagnostic test Plasmodium Malaria-3, microscopy, and quantitative real-time PCR for diagnoses of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections in Mimika Regency, Papua, Indonesia[J]. Malar J, 2015(14): 103.
- [7] Chua KH, Ping CL, Chai HC. Development of insulated isothermal PCR for rapid on-site malaria detection[J]. Malar J, 2016(15): 134.
- [8] Kabaghe AN, Visser BJ, Spijker R, et al. Health workers' compliance to rapid diagnostic tests (RDTs) to guide malaria treatment: a systematic review and meta-analysis[J]. Malar J, 2016(15): 163.
- [9] Dubreuil P, Pihet M, Cau S, et al. Use of Sysmex XE-2100 and XE-5000 hematology analyzers for the diagnosis of malaria in a nonendemic country(France)[J]. Int J Lab Hematol, 2014, 36(2): 124-134.
- [10] Sharma P, Bhargava M, Sukhachev D, et al. LH750 hematology analyzers to identify malaria and dengue and distinguish them from other febrile illnesses[J]. Int J Lab Hematol, 2014, 36(1): 45-55.

收稿日期:2016-03-18

修回日期:2016-05-26