

红细胞内疟原虫影响网织红细胞检测的研究

陈卫民,李洪春,倪士刚,王 炜,张 倩(徐州医学院附属医院检验科,江苏徐州 221006)

【摘要】 目的 探讨疟疾患者红细胞内疟原虫对德国西门子 ADVIA 2120 全自动血细胞分析仪测定网织红细胞的影响。**方法** 用 ADVIA2120 全自动血细胞分析仪检测疟疾患者的网织红细胞并与健康人群进行比较。**结果** 疟疾患者的网织红细胞计数的绝对值(RET#)、百分比(RET%)、低吸光度网织红细胞百分率(%L Retic)、中吸光度网织红细胞百分率(%M Retic)与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);而高吸光度网织红细胞百分率(%H Retic)与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 疟原虫对 ADVIA2120 全自动血细胞分析仪测定网织红细胞无明显的影响,但如果高吸光度网织红细胞百分率(%H Retic)增高且临床出现发烧的患者,应复检血片仔细查找疟原虫。

【关键词】 疟原虫; 网织红细胞; 全自动血细胞分析仪
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.07.013 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)07-0796-02

Study on the influence of malarial parasite inside red blood cells on reticulocyte count CHEN Wei-min ,LI Hong-chun ,NI Shi-gang ,WANG Wei ,ZHANG Qian (Department of Clinical Laboratory ,Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College ,Xuzhou ,Jiangsu 221002 ,China)

【Abstract】 Objective To study the influence of malaria parasites inside red blood cells on reticulocytes count by the Bayer ADVIA 2120 automated hematology analyzer. **Methods** We detected the condition of reticulocyte of malaria patients with ADVIA 2120 automated hematology analyzer and compared with that of healthy people. **Results** Compared the absolute reticulocyte count (RET #),reticulocyte count percentage (RET%),low absorption reticulocytes percent (% L Retic)and medium absorption reticulocytes percent (% M Retic) of malaria patients with that of the control group, there was no significant difference between those two groups ($P>0.05$). However, there was a significant statistical difference between the high absorption reticulocytes percent (% H Retic) of malaria patients and that of control group ($P<0.05$). **Conclusion** Malaria parasites do not significantly change the reticulocyte count by ADVIA 2120 automated hematology analyzer, but blood smear should be examined carefully in order to find malaria parasites provided that high absorption reticulocytes percent(% H Retic) increased in patients with clinical symptoms of fever.

【Key words】 malaria parasites; reticulocyte count; automated hematology analyzer

网织红细胞(以下简称网红)计数是判断骨髓红系造血情况和疗效观察的重要指标,其检测方法既有传统的显微镜目测法,又有现代化的仪器计数法。随着具有网红分析功能的五分类血细胞分析仪的普遍使用,网红的检测已经逐渐常态化,因其简捷、快速、多参数以及较好的重复性而受到临床医生和检验人员的青睐。但是,血液分析仪检测网红会受到一些不定因素的影响,应引起检验者的重视,有报道 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪检测网红会受到疟原虫的干扰,引起网红的假性增高^[1]。为了探讨疟原虫对西门子 ADVIA 2120 血细胞分析仪检测网织红细胞系列参数的影响,本实验进行了研究,现报道如下。

1 一般资料

1.1 标本来源 实验组:16 例,患者为 2007~2009 年间门诊确诊的间日疟病例,血红蛋白平均值为 120.1 g/L,表现为间日下午发作性寒战、高热、出汗症状,首诊疑似疟疾,外周血片检查找到疟原虫而被确诊。其中,男 11 例,女 1 例,年龄 12~56 岁。

健康对照组:16 例,选自门诊的健康体检者,无发烧和贫血症状,血红蛋白平均值为 148.0 g/L,血片检查未找到疟原虫。

贫血对照组:16 例,为 2007~2009 年间门诊确诊病例,13

例为缺铁性贫血(IDA),2 例为阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH),1 例为自身免疫性溶血性贫血(AIHA)。均有不同程度的贫血,不伴发烧,血红蛋白平均值为 83.9 g/L,血片检查未找到疟原虫。

1.2 设备 德国西门子 ADVIA2120 全自动血液分析仪,日本 OLYMPUS 光学显微镜。

1.3 试剂 ADVIA2120 血细胞分析仪原装配套试剂及全血质控品;BASO 刘氏血片染液;广州阳普 EDTA-K₂ 血常规抗凝管。

1.4 方法 上述 3 组(实验组、健康对照组、贫血对照组)分别抽取静脉血 1.5 mL 注入 EDTA-K₂ 抗凝管中,充分混匀,采血后 0.5~2 h 内严格按仪器操作规程用 ADVIA 2120 血液分析仪检测网红,检测前用网红质控品进行检测且在控。分别记录实验组、健康对照组、贫血对照组的网红绝对值(RET#)、百分比(RET%)、高吸光度网红(%H Retic)、中吸光度网红(%M Retic)、低吸光度网红(%L Retic)。

1.5 统计学方法 采用 SPSS13 统计软件进行组间独立样本的 *t* 检验。

2 结 果

3 组网红计数 5 项参数见表 1。

表 1 3 组网红计数 5 项参数的平均值(±s)

项目	<i>n</i>	RET # (×10 ⁹ /L)	RET %	%H Retic	%M Retic	%L Retic
实验组	16	75.63±40.88	1.94±1.17	4.02±3.09	13.89±6.11	82.14±8.58
健康对照组	16	73.39±22.79	1.53±0.43	1.89±1.48	12.32±4.14	85.74±5.43
<i>P</i>		>0.05	P>0.05	<0.05	>0.05	>0.05
实验组	16	75.63±40.88	1.94±1.17	4.02±3.09	13.89±6.11	82.14±8.58
贫血对照组	16	127.91±66.91	4.26±2.58	10.95±7.27	17.89±6.49	71.15±12.97
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05
健康对照组	16	73.39±22.79	1.53±0.43	1.89±1.48	12.32±4.14	85.74±5.43
贫血对照组	16	127.91±66.91	4.26±2.58	10.95±7.27	17.89±6.49	71.15±12.97
<i>P</i>		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

5 讨 论

本研究显示疟患者的网红计数(包括绝对值和百分比)、%L Retic、%M Retic 与健康对照组比较,差异无统计学意义(*P*>0.05),而%H Retic 与健康对照组比较,差异有统计学意义(*P*<0.05);与贫血对照组比较,除中吸光度网红百分率无显著差异外(*P*>0.05),其他 4 项参数差异均有统计学意义(*P*<0.05);健康对照组与贫血对照组统计分析显示 RET #、RET %、%H Retic、%M Retic、%L Retic 5 项参数差异均有统计学意义(*P*<0.01)。这说明寄生在红细胞内的间日疟原虫对 ADVIA 2120 血液分析仪检测网红无明显干扰因素。

本研究与使用 XE-2100 血细胞分析仪检测网红的报道存在差异^[1],原因主要是仪器使用的核酸荧光染料和检测方法不同造成的。ADVIA 2120 血细胞分析仪测定网红使用的染料是氧氮杂苊 750,染色前先用戊二醛和十二烷基硫酸钠将红细胞球形化并固定,然后再进行染色,氧氮杂苊 750 主要使 RNA 染色,对 DNA 有较低的荧光量子产率^[2],染料与网红内的 RNA 结合后,通过波长为 670 nm 的激光束,从高、低两个角度同时测量荧光强度和散射光强度,前者反映网红内 RNA 含量的多少,后者可判断细胞体积的大小,根据这两个参数将网红与成熟红细胞区分开,又根据荧光强度可将网红分为高荧光强度、中荧光强度和低荧光强度 3 部分。而 XE-2100 血细胞分析仪使用的染料是聚次甲基荧光染料,其既可以染 RNA 也可以染 DNA,同时对细胞器也能染色^[3],该仪器采用半导体激光流式细胞术原理,检测时,试剂中的表面活性剂使红细胞和白细胞肿胀并且轻微损伤细胞膜以便染料容易进入细胞内,聚次甲基染料使 RNA 和 DNA 染色,在光学法网红/血小板计数通道进行检测,由于成熟红细胞与网红的 RNA 含量的不同,可以将红细胞和网红区分出来,又根据网红和白细胞的 DNA 和 RNA 含量的不同,将网红和白细胞区分出来。疟原虫在红细胞内滋养体发育成熟后,细胞核开始分裂形成多个裂殖子,裂殖子和环状体的细胞核含有大量的 DNA,可被聚次甲基着色产生荧光,导致 XE-2100 检测的网红假性增高;而氧氮杂苊 750 主要使 RNA 染色,对 DNA 有较低的荧光量子产率,所以,对 ADVIA 2120 血液分析仪检测网红干扰不大。

另一个原因可能与疟原虫的种类有关,不同种类疟原虫对红细胞侵袭力有差异,恶性疟可侵袭各期的红细胞;间日疟原虫主要寄生在网红内;3 d 疟原虫仅侵犯年老的红细胞^[4]。本实验组的 16 例患者均为间日疟原虫患者,疟原虫主要侵袭网

红,所以对网红计数的总数影响不大,但是,寄生在低荧光强度网红内的疟原虫会使感染细胞的荧光强度增强,使仪器把低荧光强度网红误判为高荧光强度网红,导致高荧光强度网红的比率增加。

文献[5]报道的 1 例疟患者用 ADVIA2120 血液分析仪检测网红增多,但该例患者的血红蛋白为 68 g/L,属于中重度贫血^[6],疟原虫破坏红细胞造成溶血引起骨髓代偿增生也会导致网红计数增加^[7],因此,该例网红增多不能肯定有疟原虫的干扰,或者该患者感染的可能是恶性疟原虫或 3 d 疟原虫而不是间日疟原虫^[8]。

总之,用 ADVIA 2120 血液分析仪检测网红,受间日疟原虫的干扰不大,但是对于发热的患者,网红计数正常而高吸光度网红百分率增高时,应仔细观察血片有无疟原虫的存在,以免漏诊。至于恶性疟和原虫 3 d 疟原虫是否干扰 ADVIA 2120 血液分析仪检测网红,有待进一步探讨。

参考文献

[1] 曾素根,贾永前,周静,等. 红细胞内疟原虫对仪器法检测网红的影 响[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(9):964-968.

[2] 陈秀英,彭孝军. DNA 分子荧光探针[J]. 化学通报,2004,67(9):68-70.

[3] Matsumoto H. The technology of reagents in the automated hematology analyzer sysmex XE-2100TM-Red fluorescence reaction[J]. Sysmex J Int,1999,9(2):179-185.

[4] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 13 版. 北京:人民卫生出版社,2009:715.

[5] 许容,廖春盛. ADVIA2120 全自动血细胞分析仪测定网红的评价[J]. 中国热带医学,2006,6(9):1730-1732.

[6] 许文荣. 临床血液学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007:173.

[7] 张道春,胡恩贝. 网织红细胞对疟疾诊断及期临床意义(附 2 例报告)[J]. 淮海医药,2007,25(1):31.

[8] Wever PC, Herskers YM, Kager PA, et al. Detection of imported malaria with the cell-Dyn 4000 hematology Analyze[J]. J Clin Microbiol,2002,40(12):4729-4731.