



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103392005 B

(45)授权公告日 2017. 12. 08

(21)申请号 201180068461.7

(22)申请日 2011.12.20

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103392005 A

(43)申请公布日 2013.11.13

(30)优先权数据

102010064131.6 2010.12.23 DE

102011003101.4 2011.01.25 DE

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2013.08.23

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2011/073428 2011.12.20

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/084963 DE 2012.06.28

(73)专利权人 西门子保健诊断产品有限责任公司
司

地址 德国马尔堡

(72)发明人 J.范登博加特 O.海登

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

代理人 贾静环

(51)Int.Cl.

G12Q 1/02(2006.01)

G01N 15/14(2006.01)

(56)对比文件

W0 2005/088301 A1, 2005.09.22, 权利要求
1, 4-9, 表3, 4.

Umang Patel et al..Thrombocytopenia
in Malaria.《Journal of the national
medical association》.2004,第96卷(第9期),
第1213页左栏表1,右栏第27-31行.

Campuzano-Zuluaga et al..Automated
haematology analysis to diagnose malaria.
《Malaria Journal》.2010,摘要,第7页第2段.

樊玉书.A C.T5diff血液分析仪异常粒细胞
增高对疟原虫感染的提示.《医学信息》.2010,第
23卷(第11期),摘要.

审查员 马艳林

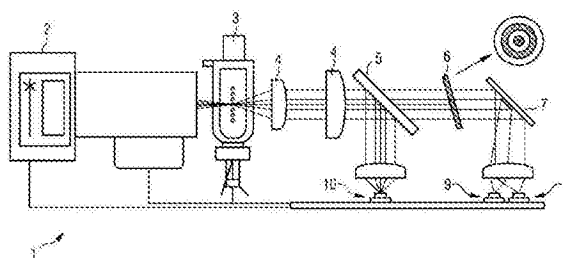
权利要求书2页 说明书7页 附图4页

(54)发明名称

检测疟原虫感染的方法

(57)摘要

本发明涉及一种用于检测患者血液样本中
疟原虫感染的方法,其中对样本中的多形核嗜中
性粒细胞进行示差分析,并且测定细胞体积和细
胞密度的分布、样本中的血小板数量以及样本中
血小板细胞密度的分布。



1. 用于检测患者血液样本中疟原虫感染的自动化血液分析设备, 该设备包括:

a) 对样本中的多形核嗜中性粒细胞进行示差分析并且测定细胞体积和细胞密度的分布的模块;

b) 测定样本中的血小板数量的模块;

c) 测定样本中血小板细胞密度的分布的模块;

d) 测定通过BASO裂解剂特异性裂解后的非特异性的比例的模块;

e) 从在a) 到d) 中实施的测定中获取样本参数的模块; 以及

f) 相对于预定标准对所述参数进行评估的模块, 其中在满足该标准的情况下存在疟原虫感染,

其中在着色后测定所述嗜中性粒细胞的细胞体积分布,

其中所述相对于预定标准对所述参数进行评估的模块f) 为疟疾患病率高的国家提供以下的算法1:

$PLT \times MPC/100 < 47$ 以及

$PMN \times 0.1635 \times (PLT \times MPC/100) < 33$

其中任选地引入子算法:

$PLT \text{模式} - 30 \times \% \text{Baso 噪音} < 27$ 以及

$Perox \ Y \ Sigma + 12/70 \times \% \text{异常} > 12$; 和/或

为疟疾发病率较低的国家提供以下的算法2:

2a. $PMN \text{峰} + 14/140 \times (PLT \times MPC) / 100 < 34$

2b. $\text{Baso 噪音} > 0.074$

2c. $PLT \text{模式} + 25 \times \% \text{Baso 噪音} < 45$

2d. $Perox \ Y \ Sigma > 6.6$

其中PLT为样本中的血小板数量, MPC为血小板细胞密度的分布, PMNx为多形核嗜中性粒细胞的密度分布; 以及Baso噪音为通过BASO裂解剂特异性裂解后的非特异性的比例, PLT模式为ADVIA 2120i的仪器设置, 以及Perox Y Sigma为着色后所测定的嗜中性粒细胞的细胞体积分布,

并且其中所述疟原虫感染涉及恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*)、间日疟原虫 (*Plasmodium vivax*)、卵形疟原虫 (*Plasmodium ovale*)、三日疟原虫 (*Plasmodium malariae*) 或诺氏疟原虫 (*plasmodium knowlesi*) 的感染。

2. 权利要求1所述的设备, 其中, 通过散射光的测量来测定参数。

3. 权利要求1所述的设备, 其中, 额外地通过散射光测量和吸收测量对网织红细胞和红细胞进行球形化和示差分析。

4. 权利要求1所述的设备, 其中, 在对样本中所有粒性白细胞着色后, 通过散射光测量和吸收测量进行示差分析。

5. 权利要求4所述的设备, 其中, 通过4-氯-1-萘酚作为底物进行着色。

6. 权利要求1所述的设备, 其中, 额外地使用着色后所有粒性白细胞的体积分布和吸收分布的标准偏差作为参数。

7. 权利要求1所述的设备, 其中, a) 中的测定在通过合适的裂解剂至少裂解嗜酸性白细胞和嗜中性白细胞裂解、但不裂解嗜碱性白细胞后进行。

8. 权利要求1所述的设备,其中,在特异性裂解除嗜碱性白细胞外的所有细胞之后,由散射光图来测定非特异性的比例。

9. 权利要求8所述的设备,其中在特异性裂解除嗜碱性白细胞外的所有细胞之后,由小角度和大角度散射来测定非特异性的比例。

10. 权利要求1~9中任一项所述的设备,其中,在a)、b)和c)中测定的参数的低值预示疟原虫感染的存在。

11. 权利要求1~9中任一项所述的设备,其中,通过所述着色后测定的嗜中性粒细胞的体积分布、所述着色后所有粒性白细胞的体积分布和吸收分布的标准偏差以及所述特异性裂解除嗜碱性白细胞外的所有细胞后由散射光图所测定的非特异性的比例获得的参数的增加预示疟原虫感染的存在。

12. 权利要求1所述的设备,其中所述测定是通过自动化的细胞计数器来实施的。

检测疟原虫感染的方法

发明领域

[0001] 本发明涉及一种用于检测患者血液样本中疟原虫感染的方法。

背景技术

[0002] 疟原虫感染,例如,由病原体恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*)、间日疟原虫 (*Plasmodium vivax*)、卵形疟原虫 (*Plasmodium ovale*)、三日疟原虫 (*Plasmodium malariae*) 以及诺氏疟原虫 (*Plasmodium knowlesi*) 引起的疟疾,是导致全球每年数百万新发病例的元凶。根据世界卫生组织 (WHO) 的数据显示,每年计算的新发病例的范围为3至5亿人。

[0003] 鉴于对现有治疗疟原虫感染的药物的抗药性的不断发展,因此越来越需要可靠的、价格实惠并迅速可行的诊断方法,此外,该方法能基本上排除假阳性和假阴性的结果。例如,在疟疾感染发病率较低的区域将需要高度敏感的诊断方法来检测这样的少数患者。

[0004] 然而,在有高患病率/发病率的世界各地区,通常也视为世界的贫困地区,非常需要具有高特异性的测试方法,以排除假阳性的结果。(即,要把健康的人作为健康来识别)。

[0005] 一般情况下,也存在问题,不仅要分析数量非常大的患者样本,而且,一如上所述-也必须迅速地执行。因为诊断结果应在不到2小时之内是可用的。如果无法做到这一点,可能需要依据表面性的临床评估来治疗患者。

[0006] 错误的或假阴性/阳性的疟疾诊断的后果是多方面的:对于假阳性的诊断,(无意义的)药物的使用会带来可避免的副作用,就更不用说对卫生系统造成的财政负担,以及由疟原虫形成抗药性的可能性。从2006年的一项研究得出结论,各具95%的敏感度和特异性的诊断测试,仅要求最低限度的基础设施,就可以避免超过10万人死亡以及节省超过4亿的不必要的治疗。(Rafael ME, Taylor T, Magill A et al. Reducing the burden of childhood malaria in Africa: The role of improved diagnosis. *Nature*. 2006; 444 (suppl 1): 39-48)

[0007] 实际上,一个主要问题出现在寄生虫病如疟疾的诊断,其中,只有当临床怀疑患者实际上患有这种感染,才进行实验室诊断。这会导致特别是在低患病率/发病率的地区,患病的人不能或不能及时得到治疗。例如,据加拿大的一项研究报道 (Kain et al, 1998, *Clinics in Infectious Diseases* 27, 142-149), 对于59%的感染疟疾的返港旅客最初不能做出正确的诊断。平均在做出正确诊断以及开始治疗恶性疟原虫之前要经过7.6天,对于间日疟原虫要5.1天。这种延误可导致显著的并发症以及死亡率的提高。(Humare et al, 1997, *Canadian Medical Association Journal* 156, 1165-1167)

[0008] 对于疟原虫感染的诊断,有多种方法可用:最安全的方法是显微血液检查,但是这种方法耗废人力、时间和设备。受过专门训练的人员用通常的显微方法可以可靠地确定感染的类型和阶段。

[0009] 此外,还存在所谓的快速诊断测试 (Rapid Diagnostic Tests=RDT)。例如,这里会使用单克隆抗体来检测寄生虫抗原。该测试通常用于识别恶性疟原虫感染。

[0010] 一种诊断疟疾的明显更敏感的方法是聚合酶链反应,然而由于高耗材和耗时对于急性病例不是很合适。

[0011] 同时也把自动化方法算作快速诊断测试(RDT)这一组,该自动化方法由于其高物料通过量出色地适合于覆盖性的测试方法。对此可参见:Hanscheid T,Pinto BG,Pereira I,Christino JM,Valadas E(1999)Avoiding misdiagnosis of malaria:a novel automated method allows specific diagnosis,even in the absence of clinical suspicion.Emerging Infectious diseases[1999,5(6):836-838]。

[0012] 对于自动化应用,所谓的“自动化细胞计数器”(Automatisierte Zellzählgeräte)被越来越成功地应用。其例子为:Advia 2120、Sysmex XE-2100以及CellaVision DM96设备。这种自动化设备,除了它们的物料通过量高之外,还提供了一些优点,如客观性高(不存在取决于观测者的可变性)、消除统计性变化,其通常与人工计数有关(计算较高的细胞数量)、以及确定许多参数,其在人工计数时是不可使用的,以及如前所述的更加高效并且具有成本效益的运用。这些设备可以每小时处理120到150个患者样本。

[0013] 自动化单细胞计数的技术原理不是基于阻抗(电阻)测量就是基于光学系统(散射光测量或吸收测量)。

[0014] 对于阻抗法来说,细胞计数以及它们尺寸的确定是基于对电导率(电阻)变化的检测和测量,该变化是由微粒移动通过小的开口而引起的。微粒,例如血细胞,本身是不导电的,不过却悬浮在导电的稀释剂中。当这种细胞的悬浮液被引导通过开口时,在单个个体细胞通过的时候,两个电极之间的电路的阻抗(电阻)会暂时增加,其中该电极的每一侧都有开口。

[0015] 例如,在W0 2005/088301以及在文章“Development of an Automated Malaria Discriminant Factor Using VCS Technology”,Briggs C et al.Am J Clin Pathol 2006中描述了通过这样的阻抗测量(见实验部分)来检测疟疾和其它寄生虫感染的方法。

[0016] 有别于阻抗法,光学法包括引导激光束通过稀释的血液样本,该样本在连续的激光束流中被检测。每个经过流通细胞检测区的细胞散射聚焦的光线。然后,经散射的光线由光电探测器检测并且被转换成电脉冲。这里产生的脉冲数量直接与细胞数成正比,其在一段特定的时期内经过检测区。

[0017] 在光学法中,从不同的角度来测量经过检测区的个体细胞的散射光。据此记录有关细胞结构、形状和反射率的信息。这些属性可用于区分不同类型的血细胞,并使用所导出的参数诊断血细胞的与正常值的偏差。

[0018] 通过这两种测量方法获得的数值可借助于鉴别诊断与有意义的诊断结果相结合。

[0019] 诊断方法的敏感度和特异性在鉴别诊断的过程中起着重要的作用,因此,要不断致力于改善这些属性。

[0020] 例如,在W0 2005/088301中,关于淋巴细胞和单核细胞的细胞体积的测量值被记录并用作疟疾疾病的参数。具体来说,在此评估了单核细胞群和淋巴细胞群的体积标准偏差,即,它们的异质性。但是,人们已经发现,这些参数对于寄生虫感染的诊断没有足够的特异性,因为其它任何的传染性疾病(例如,感冒)可能也会导致淋巴细胞和单核细胞的体积的改变。此外,血液样本的阻抗测量经验证是容易出错的,例如,测量结果(例如通过所要测试的悬浮液粘度的改变)可能会被更改。

[0021] 同样地,在“Development of an Automated Malaria Discriminant Factor Using VCS Technology”(见上文)中描述到,当存在疟疾感染时,淋巴细胞和单核细胞的体积标准偏差明显不同于正常值。

[0022] 该文的表3中示例性地给出了使用自动化血液测试设备的不同的敏感度和特异性,其中,一部分的敏感度仅为48.6或52%。这使得用常用的测试方法不能达到足够的程度,就要提供具有高敏感度和特异性的方法,即,检测疟原虫的方法能识别生病的患者亦是得这种病的,以及另一方面能识别健康的患者是健康的。

[0023] 根据新的研究,现有的自动测试系统的效力(和由此指定的敏感度/特异性)也存在问題,还有改进的余地。这可见近期发表的论文“Automated hematology analysis to diagnose malaria”,Malaria Journal 2010,9:346。

[0024] 因此,本发明的目的是,提供一种检测血液样本中的疟原虫感染的方法,该方法给出具有高敏感度和特异性的测试结果。本发明的另一个目的是,为疟疾感染提供检测方法,该方法通过使用多个相互独立的参数实现了独立于患者的其它感染或不同健康状况而对疟疾具有高特异性和敏感度。本发明还有另外一个目的,提供这样一种借助于自动化血液分析设备能够实行的方法。

[0025] 根据本发明,这一目的是通过具有权利要求1中所指定的特征的方法来实现的。

[0026] 本发明提供了一种用于检测患者血液样本中疟原虫感染的方法,包括

[0027] a) 对样本中的多形核嗜中性粒细胞进行示差分析并且测定细胞体积和细胞密度的分布;

[0028] b) 测定样本中的血小板数量;

[0029] c) 测定样本中血小板细胞密度的分布;

[0030] d) 从在a)到c)中实施的测定中获取样本参数;以及

[0031] e) 相对于预定标准对所述参数进行评估,其中,在满足该标准的情况下存在疟原虫感染。

[0032] 根据本发明所检查的患者血液样本通常是人的血液样本。然而检查哺乳动物的血液样本也是可能的。

[0033] 本文所用的术语“示差分析(differential analysis)”是指,获取患者血液样本的组成部分的多个可测量的单个值,最终为要实施的诊断对它们进行组合评估。

[0034] 在本发明方法的步骤a)中,在此首先关于细胞体积和细胞密度分布对样本中的多形核嗜中性粒细胞进行示差分析。然而,这并不排除在检查中还包括其它类型的白细胞,例如,嗜酸性粒细胞或嗜碱性粒细胞。

[0035] 细胞体积以及细胞密度的分布相对于正常值的偏差通常指向一种病理状态。在这种情况下,低于通常所测量的正常值的值指向疟原虫感染。与疟原虫感染相关的细胞体积以及细胞密度的降低可被解释为感染过程中发生的白细胞的防御机制。例如,嗜中性粒细胞从血管转移进组织中,在那里分泌蛋白水解酶来消除细胞间的连接并吞噬细菌。据此会发生细胞体积和细胞密度的变化。

[0036] 令人惊讶的是,结果表明,如果除了上述的测定外(即,按顺序或同时)既测定患者血液样本中的血小板数量又测定样本中的血小板的细胞密度分布,能明显地提高疟原虫感染检测方法的敏感度和特异性。同样,这里向正常值以下偏离的值预示着存在疟原虫感染。

这导致了与现有的方法相比,根据本发明的检测方法有明显提高的敏感度和特异性。

[0037] 从步骤a)到c)中得到的测试结果中得出样本参数并且相对于预定标准评估所述参数,其中,在符合该标准的情况下存在疟原虫感染。

[0038] 该参数涉及派生的数值,例如,对于与细胞体积分布相关的参数存在术语:细胞体积参数,例如所给出的细胞亚群的平均细胞体积或细胞体积分布的标准偏差。

[0039] 本文使用的术语“预定标准”涉及建立在一个或多个样本参数的基础上的标准,在本发明的情况下,特别建立在细胞体积参数、细胞数量参数和细胞密度参数的基础上。标准的确定是基于感染者血液样本与正常血液样本相应值的比较,例如,为了基于本发明的试验研究,把204个恶性疟原虫(*P.falciparum*)感染的血液样本与3240个正常的血液样本的相应值进行比较。

[0040] 通过结合和评估多形核嗜中性粒细胞的样本参数(细胞体积和细胞密度)以及,额外地,通过参考样本中血小板数量以及血小板的细胞密度分布,可以依据本发明获得对于检测方法的敏感度和特异性来说意想不到的高的数值。正如实施例所示,在此成功地获得值为99%的特异性和值为98%的敏感度。这意为着,在全面的、自动化的血液检查的情况下,假阳性或假阴性的诊断结果的数量可以减少到一个前所未有的程度以及几乎可以忽略不计。这对于确认疟原虫感染的诊断、尤其对于疟疾诊断是一个重大的进步,并且在涉及疟疾感染高患病率/发病率的,国家,通过及时和适当的医疗措施可促成整体健康状况的明显改善。

[0041] 在本发明方法的实施例中,通过散射光测量来进行参数的测定。对于散射光测量,如上文所述(“光学方法”)不同于阻抗测量,涉及一种应用激光的方法,其中,引导激光通过血液样本(一个细胞一个细胞地),并且激光束的偏转可通过适当的装置被检测到。在附图1中示出的是使用激光束所进行的方法。这里,由单个细胞散射出去的光线被从不同的角度范围测量(小角度/low angle和大角度/high angle),其分别指示出体积(小角度)及密度(大角度)。依据本发明,“小角度”是指偏离激光光轴的角度约为 $2^{\circ}\sim 3^{\circ}$,”大角度”指偏离激光光轴的角度约为 $5^{\circ}\sim 15^{\circ}$ 。人们已经发现,鉴于其测量结果的易受干扰性较低,散射光测量比阻抗测量更占优势。

[0042] 在一个实施方式中,所述疟原虫感染涉及卵形疟原虫(间日疟(*Malaria tertiana*))、间日疟原虫(间日疟)、三日疟原虫(三日疟(*Malaria quartana*))或恶性疟原虫(热带疟疾(*Malaria tropica*))的感染。本发明的检测方法可同样地应用于这些疟原虫感染。

[0043] 在一个实施方式中,除上述方法步骤外,额外地对患者血液样本中网织红细胞和红细胞进行球形化和示差分析。这里也涉及这样的示差分析,其中最终待评估的参数涉及细胞体积、细胞密度以及细胞的血红蛋白含量和网织红细胞含量。网织红细胞包括幼红细胞,其与红细胞本身相比还含有RNA并且因此能够被区分。

[0044] 对红细胞或网织红细胞进行球形化对于使血细胞独立于它们的原始形状转换成可以用散射光测量进行评估的形状是必要的。为此,给血液样本掺入能导致网织红细胞和红细胞球形化的试剂。示例性试剂公开在US5,045,472,US 5,284,771,US 5,633,167以及US 6,114,173中。例如在US5,045,472中公开了一种混合试剂,其包含等渗水溶液、球化剂(例如洗涤剂,如烷基硫酸盐的碱金属盐)以及与球化剂可逆结合的蛋白质。

[0045] 通过将网织红细胞和红细胞列入本发明的检测方法中,可以使敏感度和特异性得到进一步提高。网织红细胞与红细胞的比例是血液中存在疟原虫感染的一个重要指示。网织红细胞的比例,即幼小的不成熟的红细胞与成熟的红细胞的比例越高,存在疟原虫感染的可能性就越高。

[0046] 在另一个实施方式中,对血样中所有经过氧化物酶着色的白细胞通过散射光测量和吸收进行示差分析。

[0047] 过氧化物酶着色通常是通过与4-氯-1-萘酚反应后的细胞的过氧化物酶活性实现的。4-氯-1-萘酚在这里用作底物,使过氧化氢在白细胞的颗粒中于过氧化物酶活性的内源性位置旁形成深色的沉淀物。然后在散射光测量时,具有低度或中度过氧化物酶活性的细胞吸收较少的光线,然而,具有高度过氧化物酶活性的细胞吸收更多的光线。

[0048] 在另一个实施方式中,在过氧化物酶着色之后,如前所述,还额外地测量嗜中性粒细胞的体积分布。另外这里也适用,嗜中性粒细胞的体积分布越大,患者血液样本中存在疟原虫感染的可能性就越大。

[0049] 在另一个实施方式中,额外地将在过氧化物酶着色后的所有白细胞的体积分布标准偏差用作参数。所有白细胞体积分布的标准偏差越大,存在疟原虫感染的可能性就越大。

[0050] 在一个实施方式中,在a)中的测定,即,对样本中多形核嗜中性粒细胞的示差分析,在通过合适的裂解剂至少裂解嗜酸性白细胞和嗜中性白细胞、但不裂解嗜碱性白细胞裂解(BASO裂解剂)之后进行。同样,在这里存在的体积分布或密度分布广表明存在疟原虫感染。这里,基于邻苯二甲酸和洗涤剂的混合物作为裂解剂已被证明是有利的,例如可包含这样的试剂:盐酸、邻苯二甲酸、表面活性剂以及任选的防腐剂。邻苯二甲酸与盐酸的比例在此约为2.5:1(基于它们的浓度,mmol/l)。通过该试剂使红血球、血小板以及所有的白细胞(除了嗜碱性白细胞)得以裂解。通过这个附加的程序,也可使疟原虫特异性的预测值得以增高。

[0051] 在另一个实施方式中,在除嗜碱性白细胞之外的所有细胞特异性裂解之后由散射光图(小角度散射和大角度散射)来测定非特异性的比例。比例越高,存在疟原虫感染的可能性就越高。

[0052] 在本发明的检测方法中进行的测定a)、b)和c),如上文所述,是对疟原虫感染存在的预测。术语“低”值在本发明的上下文中是指,与正常的患者样本(即非感染的患者样本)取得的标准值相比,在单个情况下所进行的测定的较低的值。

[0053] 与此相反,额外地引入通过过氧化物酶着色和测定嗜中性粒细胞体积分布以及所有白细胞体积分布的标准偏差所获得的参数,以及引入在所有细胞的特异性裂解之后由散射光图测定非特异性的比例表明,值越高,存在疟原虫感染的可能性就越高。

附图说明

[0054] 进一步地,本发明方法的实施方式将参照附图来详细地说明。

[0055] 如图所示:

[0056] 图1:用于实施本发明方法的流式细胞仪的装置1的示意图。

[0057] 图2:依据红细胞11的大角度散射光的示意图,其与细胞的粒度和密度相关并且在典型为 5° ~ 15° 的范围内测量。这对应于细胞密度的测量。

[0058] 图3:测定细胞体积(或细胞大小),细胞11在小角度散射光范围($2^{\circ}\sim 3^{\circ}$)。

[0059] 图4:散射光图,使用仪器ADVIA 2120i来实施,该仪器为疟疾感染的血液样本中的血小板和多形核粒性白细胞(PMNx)显示了体积16和密度17的示意性位移。

[0060] 图5:过氧化物酶着色后使用仪器ADVIA 2120i得出的分析结果,其显示在疟疾感染样本24和正常样本25之间的体积分布和密度分布(PEROX Y26或PEROX X 27)。“PEROX Y”26表示过氧化物酶-阴性群体沿Y轴的宽度。与正常样本相比较,疟疾样本的该宽度会显现的更长。疟疾样本24的结果比正常样本25看上去更加扩散,这归因于其更大的体积分布26和密度分布27。

具体实施方式

[0061] 在下文中,将示例性地展示本发明方法的实施方式,以及两种算法,其基于本发明的方法使得对所测定的参数进行评估和以高特异性和敏感度预测疟原虫感染成为可能。测量是通过西门子公司(SIEMENS AG)的ADVIA2120i系统来实施的。

[0062] 使用的缩写如下:

参数	说明
PMNx	多形核粒性白细胞的密度分布
MPC	血小板的细胞密度的分布
PLT	血液样本中血小板的总量
[0063] PLT 模式	ADVIA 2120i 的仪器设置
%Baso 噪音	通过BASO裂解剂特异性裂解后由散射光图(小角度散射和大角度散射)得出的非特异性的比例
%异常	所有白细胞聚簇分布的标准偏差
PEROX Y Sigma	过氧化物酶着色后嗜中性粒细胞的体积分布

[0064] 首次根据本发明的评估,由下面的算法1得出对于疟疾感染具有高特异性的检测方法:

[0065] $PLT \times MPC/100 < 47$ 以及

[0066] $PMNx + 0.1635 \times (PLT \times MPC/100) < 33$

[0067] 依据这种算法,清楚地表明(见下文),将多核形嗜中性粒细胞与样本中细胞密度分布(PMNx)以及血小板数量和血小板细胞密度相关的示差分析的结果设置为彼此相关,以及任选的引入的其它子算法(1b和1c),导致非常高的特异性。

[0068] 引入的其它子算法

[0069] $PLT \text{模式} - 30 \times \% \text{Baso 噪音} < 27$ 以及

[0070] $Perox Y \text{ Sigma} + 12/70 \times \% \text{异常} > 12$

[0071] 给出对于疟疾的测试特异性为99%以及敏感度为76.5%。

[0072] 就这方面来说,算法1可以有利地使用在疟疾病率高的国家。

[0073] 对于疟疾发病率较低的国家,可提供算法2:

[0074] $2a. PMN \text{峰} + 14/140 \times (PLT \times MPC) / 100 < 34$

[0075] 2b.Baso噪音 >0.074

[0076] 2c.PLT模式+25x%Baso噪音 <45

[0077] 2d.Perox Y Sigma >6.6

[0078] 所观察到的特异性为90.2%，敏感度为98.9%。换句话说，通过算法2可以达到一个极其高的敏感度。

[0079] 因此，在一个大的样本群中，通过算法1可以识别几乎所有的疟疾阳性样本，而算法2特别适用于筛选测试。结合两种算法也可以带来额外的益处。

[0080] 附图标记列表

[0081] 1.流式细胞仪的装置

[0082] 2.激光

[0083] 3.传感器模块

[0084] 4.光学透镜

[0085] 5.半透过镜

[0086] 6.光圈

[0087] 7.镜子

[0088] 8.传感器

[0089] 9.传感器

[0090] 10.传感器

[0091] 11.细胞

[0092] 12.Baso体积

[0093] 13.Baso构型

[0094] 14.大角度PLT分散

[0095] 15.小角度PLT分散

[0096] 16.血小板体积

[0097] 17.血小板成分

[0098] 18.由散射光图得出的非特异性的比例

[0099] 19.淋巴细胞

[0100] 20.未着色的大细胞

[0101] 21.单核细胞

[0102] 22.嗜中性白细胞

[0103] 23.嗜酸性白细胞

[0104] 24.疟疾样本

[0105] 25.正常样本

[0106] 26.Peroxy-Sigma

[0107] 27.吸收

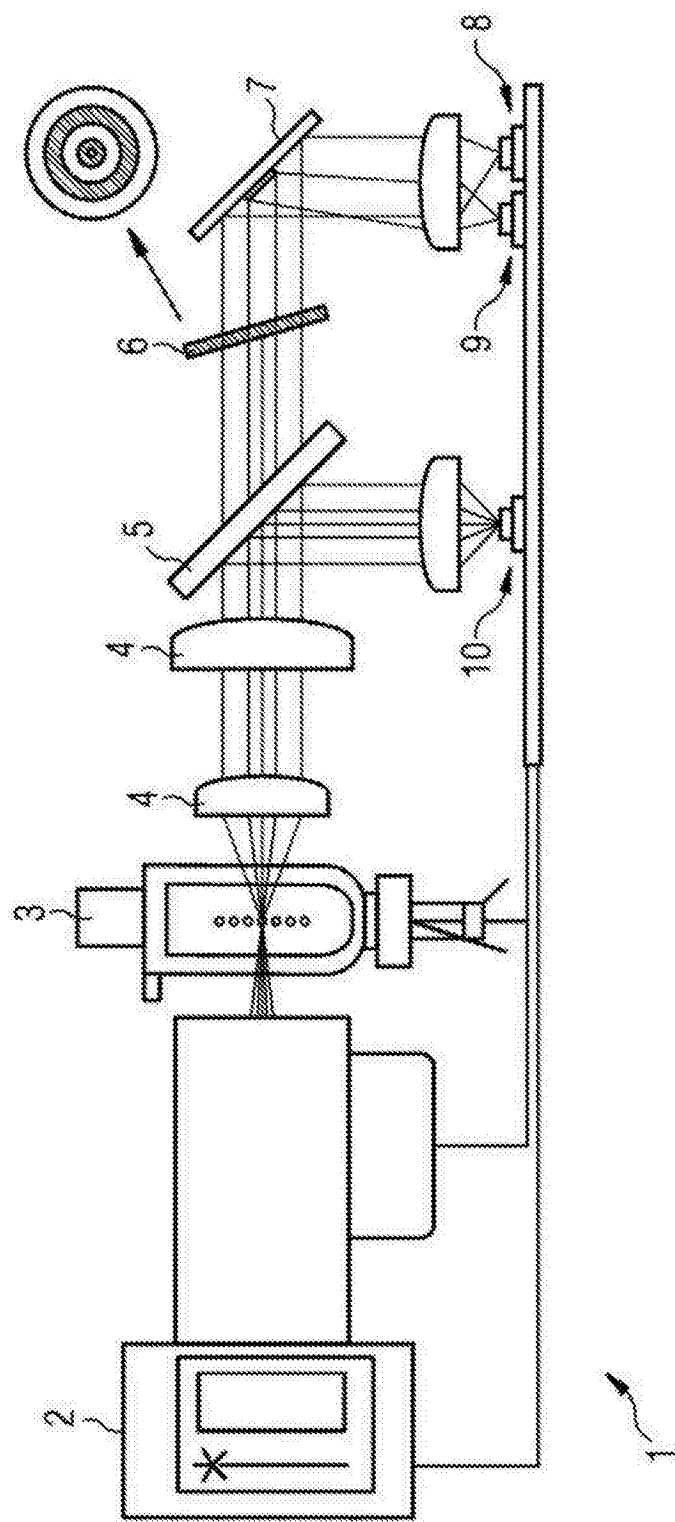


图1

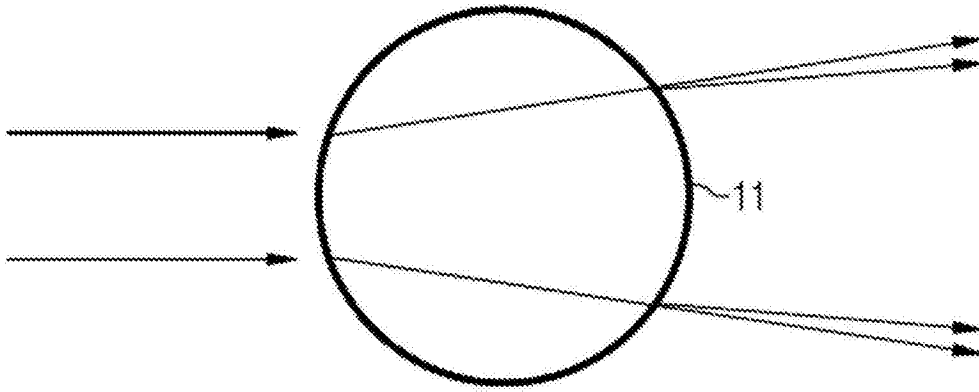


图2

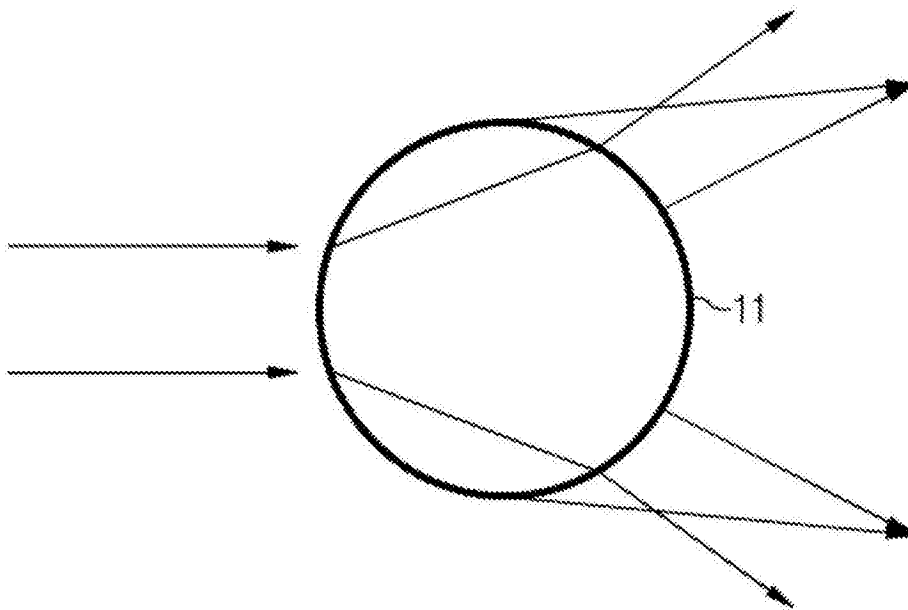


图3

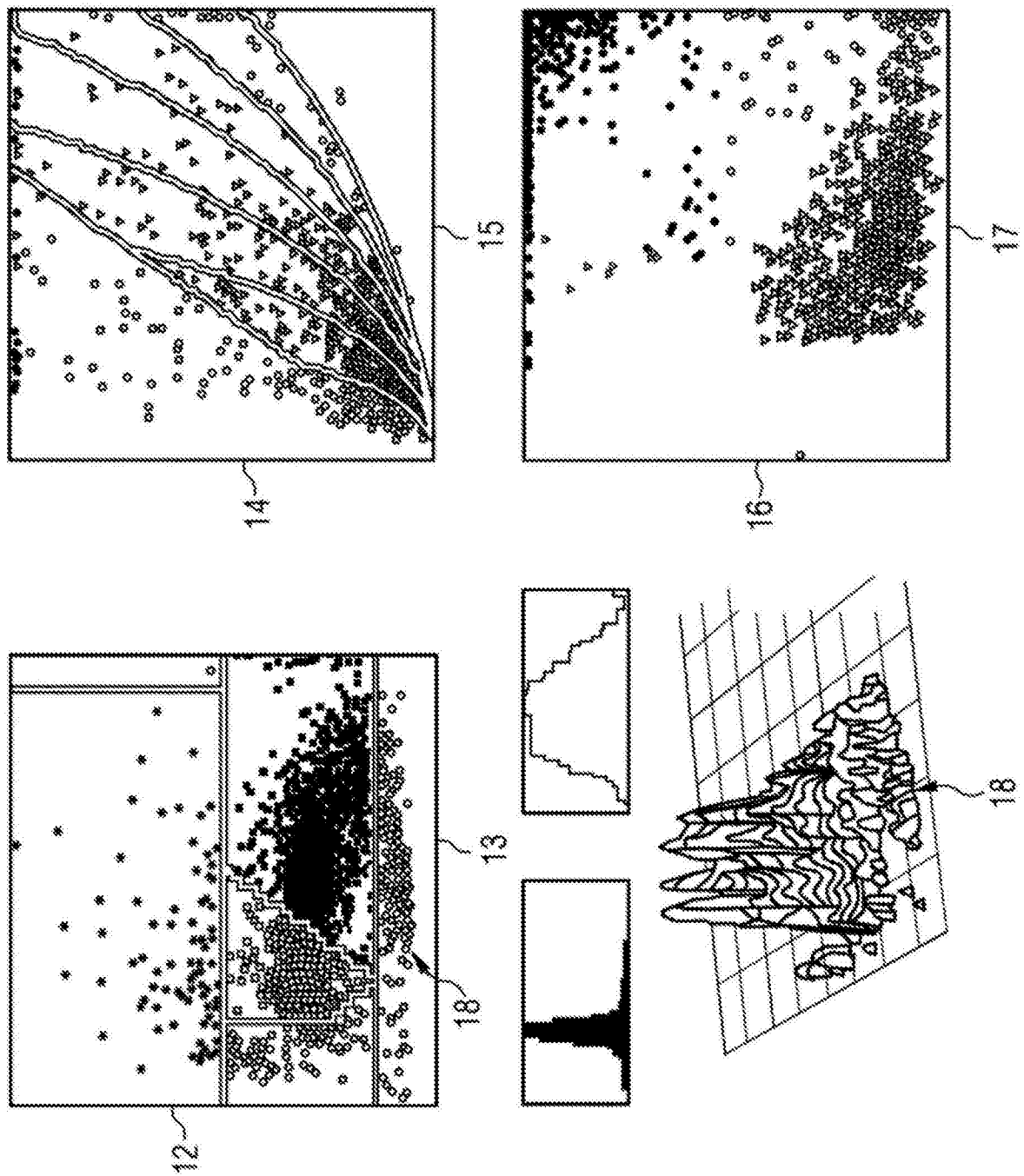


图4

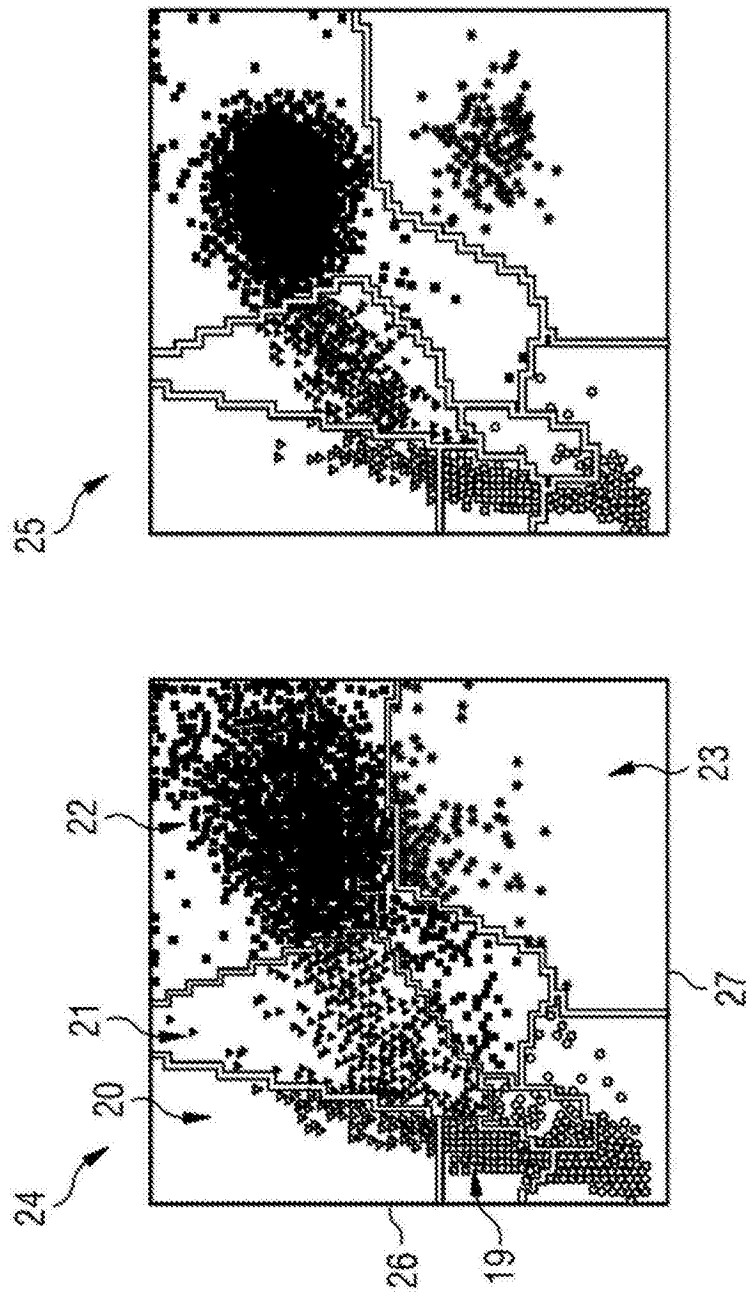


图5