

EDTA-K₂ 对外周血异型淋巴细胞计数的影响

杨秋连¹, 刘 军² (1. 湖南省常德市第一中医院检验科 415000; 2. 湖南省常德市临澧县中医院检验科 415200)

【摘要】 目的 比较未抗凝外周血与不同时段乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝外周血中异型淋巴细胞计数的差异,探讨 EDTA-K₂ 对异型淋巴细胞计数的影响。**方法** 分别对未抗凝外周血与 EDTA-K₂ 抗凝 15、30、45 min 的外周血涂片,染色后计数 100 个淋巴细胞,并对其中的异型淋巴细胞进行分型计数。**结果** I 型异型淋巴细胞和Ⅲ型异型淋巴细胞未抗凝外周血与不同时段 EDTA-K₂ 抗凝外周血异淋计数,差异无统计学意义($P>0.05$);Ⅱ型异型淋巴细胞未抗凝外周血与不同时段 EDTA-K₂ 抗凝外周血异淋计数,差异有统计学意义($P<0.05$);不同时段异型淋巴细胞总数计数,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 对于 Downey 分型的异型淋巴细胞计数可以用 EDTA-K₂ 抗凝的外周血进行初步筛查,当Ⅱ型异型淋巴细胞较多时,则应用未抗凝外周血涂片、染色、镜检,以便确诊。

【关键词】 未抗凝外周血; EDTA-K₂ 抗凝外周血; 异型淋巴细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.12.025 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)12-1463-02

The influence of EDTA - K₂ on peripheral blood atypical lymphocyte count YANG Qiu-lian¹, LIU Jun² (1. Department of Clinical Laboratory, Changde First Hospital of Traditional Chinese Medicine, Changde, Hunan 415000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Linli Hospital of Traditional Chinese Medicine, Changde, Hunan 415200, China)

【Abstract】 Objective To compare the difference of atypical lymphocyte count between peripheral blood without anticoagulant and EDTA-K₂ anticoagulated peripheral blood at different times, and to investigate the influence of EDTA-K₂ on atypical lymphocyte count. **Methods** After blood smear of peripheral blood without anticoagulant and EDTA-K₂ anticoagulated peripheral blood at 15 min, 30 min, 45 min respectively, we counted 100 of lymphocyte, and the atypical lymphocytes were classified, counted. **Results** The count result of type I and Ⅲ atypical lymphocytes in peripheral blood without anticoagulant and the EDTA-K₂ anticoagulated at different times showed no difference ($P>0.05$). The count result of type Ⅱ atypical lymphocytes in peripheral blood without anticoagulant and the EDTA-K₂ anticoagulated at different times showed significant difference ($P<0.05$). The result of total number of atypical lymphocytes count at different time was significantly different ($P<0.05$). **Conclusion** We could use EDTA-K₂ anticoagulated peripheral blood on preliminary screening for Downey type of atypical lymphocytes count. When there are more type Ⅱ atypical lymphocytes, the blood smears, staining, microscopic examination of the peripheral blood without anticoagulant should be used for diagnosis.

【Key words】 peripheral blood without anticoagulation; EDTA-K₂ anticoagulated peripheral blood; atypical lymphocyte

异型淋巴细胞又称为反应性淋巴细胞,是在病毒、原虫感染、药物反应、结缔组织疾病;免疫系统强应激状态或过敏原等因素的刺激下,淋巴细胞增生并发生形态上的变化,主要表现为胞体增大,胞质量增加;嗜碱性增强;细胞核母细胞化。异型淋巴细胞增多主要见于传染性单核细胞增多症,病毒性肝炎,流行性出血热,湿疹,人类疱疹病毒,人免疫缺陷病毒,梅毒螺旋体,弓形虫等病毒性、过敏性疾病以及感染和接种疫苗等都可引起外周血异型淋巴细胞增多。过去使用为抗凝血进行细胞计数,就没有抗凝剂对细胞形态的影响,使用抗凝剂以后,有报道称:手指末梢血涂片异型淋巴细胞检出率明显低于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血的标本^[1];提示异型淋巴细胞形态受 EDTA-K₂ 抗凝剂的影响较大,EDTA-K₂ 抗凝血不适宜用于异型淋巴细胞的检查。但是没有文献具体说明抗凝剂 EDTA-K₂ 对哪种类型的异型淋巴细胞影响较大,EDTA-K₂ 抗凝血不能用于异型淋巴细胞计数,能否用做异型淋巴细胞计数的初步筛查,因此,本文就此问题收集本院部分病例进行探讨。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集常德市第一中医院 2009 年 12 月至 2010 年 3 月住院及门诊患者标本 71 例,女 27 例,男 44 例,年龄 0~8 岁。

1.2 方法

1.2.1 试剂与仪器 瑞士染液、Olympus-X21 显微镜、EDTA-K₂ 抗凝剂。

1.2.2 标本采集与处理 严格按照手指末梢血采血法对患者进行采血,并分别对其未抗凝血,EDTA-K₂ 抗凝后 15、30、45 min 的血液标本进行涂片,瑞士染色,镜检并计数异型淋巴细胞并分型。

1.3 统计学方法 数据表示用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS13.0 分析处理数据。

2 结果

2.1 比较各组数据(表 1),可见在外周血中异型淋巴细胞主要以 I 型异型淋巴细胞为主,Ⅱ型异型淋巴细胞次之,Ⅲ型异

型淋巴细胞最少见。

表 1 各组异形淋巴细胞水平($\bar{x}\pm s$)

组别	I 型	II 型	III 型	总数
未抗凝组	4.69±2.14	0.97±1.09	0.17±0.68	5.87±2.73
抗凝 15 min	4.43±2.24	0.56±0.76	0.13±0.64	5.11±2.46
抗凝 30 min	4.55±2.46	0.52±0.85	0.08±0.41	5.15±2.61
抗凝 45 min	4.58±2.61	0.51±0.65	0.11±0.49	5.19±2.34

表 2 未抗凝组与 EDTA-K2 抗凝后外周血异型淋巴细胞计数数据分析

时间	I 型淋巴细胞		II 型淋巴细胞		III 型淋巴细胞		异型淋巴细胞总数	
	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
抗凝后 15 min	1.681	0.097	4.026	0.000	1.000	0.321	3.860	0.000
抗凝后 30 min	1.045	0.300	3.607	0.001	1.622	0.109	3.709	0.000
抗凝后 45 min	0.913	0.365	4.392	0.000	1.424	0.159	3.639	0.001

3 讨 论

异型淋巴细胞的形成是由于病毒与 B 淋巴细胞受体结合,在不断增殖与复制的过程中,被 T 异型淋巴细胞识别,激发抑制性 T 细胞(Ts/c)增殖并自身发生转化,形成细胞毒效应,出现在循环血液中的大多为受刺激后异常增殖的 T 细胞和少许颇似 B 细胞异型淋巴细胞^[2]。异型淋巴细胞在光镜下的特点主要是:胞体较大,核染色质未成熟;胞浆呈嗜碱性,有嗜天青颗粒出现。异型淋巴细胞 Downey 分型为:I 型又称为泡沫型或浆细胞型,II 型又称为单核细胞型或不规则型,III 型又称为未成熟细胞型或幼淋巴细胞型。异型淋巴细胞的超微结构表现为均匀一致的结构,近年来,大量文献报道异型淋巴细胞是活化的淋巴细胞,Tosato 发现 IM 患者从第二周起以异型淋巴细胞为主要特征的 T 细胞增生表现为 Ts 活性增加。有文献[3]指出:异型淋巴细胞是肾脏移植排斥的信号,检测异型淋巴细胞可以作为免疫抑制剂的用药指标;EHF 患者异型淋巴细胞的总检出率为 93%~100%,异型淋巴细胞的检出对本病有早期诊断的价值;病毒性肝炎患者的异型淋巴细胞存在于黄疸前期和黄疸早期,且异型淋巴细胞出现的数量与肝坏死的程度一致。综上所述,异型淋巴细胞计数对于指导临床工作有着重要的意义。

以往外周血细胞计数都是用未抗凝外周血来进行涂片染色计数的,异型淋巴细胞形态典型,且不存在抗凝剂等的影响。但是,随着医院规模的扩大,实验室技术的不断提高,全自动血液分析仪愈来愈普及,对于血液标本收集的规范化,以及使用不同的抗凝剂对血液样本进行抗凝处理,本文对于血液标本实验室检查结果的手工显微镜镜检复查以及异型淋巴细胞计数大都使用 EDTA-K₂ 抗凝外周血进行检测,那么血液常规检验中用到的抗凝剂 EDTA-K₂ 是否可以用于实验室外周血细胞计数。正确的认识 EDTA-K₂ 对于外周血细胞形态的大小就十分重要。

由表 2 可见,不同时间段未抗凝外周血与 EDTA-K₂ 抗凝外周血异型淋巴细胞总数计数的 *t* 检验示 *P*<0.05,其差异有统计学意义。说明 EDTA-K₂ 对异型淋巴细胞计数有影响,且影响不可忽略,EDTA-K₂ 不能用于异型淋巴细胞总数计数。由表 2 可见,未抗凝外周血与 EDTA-K₂ 抗凝 15、30、45 min 外周血中的 I 型异型淋巴细胞和 III 型异型淋巴细胞计数差异无

2.2 由表 2 可见,未抗凝外周血与 EDTA-K₂ 抗凝 15、30、45 min 的外周血中的 I 型异型淋巴细胞和 III 型异型淋巴细胞计数差异无统计学意义,*t* 检验可见其 *P*>0.05,其差异没有统计学意义,而 II 型异型淋巴细胞计数之间存在差异,*t* 检验可见 *P*<0.05,其差异有统计学意义,未抗凝外周血与 EDTA-K₂ 抗凝外周血异型淋巴细胞总数 *t* 检验示 *P*<0.05,其差异有统计学意义。

统计学意义,*t* 检验可见其 *P*>0.05,其差异没有统计学意义,而 II 型异型淋巴细胞计数之间差异有统计学意义,*t* 检验可见 *P*<0.05,其差异有统计学意义。结合实验数据以及观察血涂片中细胞形态可以看出抗凝剂 EDTA-K₂ 对于 I 型异型淋巴细胞和 III 型异型淋巴细胞计数影响不大,对 II 型异型淋巴细胞计数影响较大,主要表现在细胞肿胀,胞质以及颗粒增多。这与文献[4]报道的“在常温下不同时间的 EDTA-K₂ 抗凝血液涂片中淋巴细胞的形态变化表现为核退变、细胞质中出现空泡变性以及颗粒增多等现象,异型淋巴细胞形态受 EDTA-K₂ 抗凝剂的影响较大”结论是相符合。同样有报道指出 EDTA-K₂ 抗凝血异型淋巴细胞增高的主要原因可能有^[5-7]:(1)标本放置时间过长,细胞退化、活化;(2)离体血与玻管(异物)接触,活化;(3)抗凝剂物质的刺激,活化、退化;(4)体内、外温差,活化等。这些影响不仅仅存在于 EDTA-K₂ 抗凝的外周血中,其他抗凝剂也同样如此,但是,这些影响都不会导致其计数结果的差异有统计学意义,否则 EDTA-K₂ 抗凝的外周血不能用于血涂片检查,那么血液分析仪检测结果显微镜涂片复检规则就不能成立了。有文献报道 EDTA-K₂ 使外周血中的异型淋巴细胞计数增加,本文数据(见表 1)提示加入抗凝剂以后异型淋巴细胞均值比未抗凝组稍有下降,结合阅片考虑有以下方面的因素:(1)细胞退化:退化的淋巴细胞尚未计入到异型淋巴细胞计数中;(2)染色质无明显变化,但胞浆出现改变的,本文认为不是真的异型淋巴细胞,故未计入异型淋巴细胞计数;这些因素导致的改变并不是淋巴细胞受刺激而引起的,而这一观点是有关异型淋巴细胞研究文献没有擅明的。从表 1 以及相关文献可以得知外周血异型淋巴细胞主要以 I 型异型淋巴细胞和 II 型异型淋巴细胞为主^[8],III 型异型淋巴细胞最少见,而抗凝剂 EDTA-K₂ 对于 I 型异型淋巴细胞和 III 型异型淋巴细胞计数影响不大,对 II 型异型淋巴细胞计数影响较大,因此可以得出结论:EDTA-K₂ 抗凝的外周血可以用于异型淋巴细胞计数的初筛,当发现血涂片中 II 型异型淋巴细胞较多时,则可采集新鲜未抗凝的外周血进行涂片计数。

参考文献

[1] 樊笑霞,吴飞,王凌. EDTA-K₂ 对异型淋巴细胞检测的干扰[J]. 第二军医大学学报,2009,30(5):(下转第 1466 页)

术结束。术中出血量:负压吸引瓶的出血量+钳夹时阴道流血量。术后阴道流血大于 10 d 或出血量多于月经量者为阴道流血异常,宫颈管或宫腔黏连;术后 1 月多月经未来,且伴有下腹胀痛,B 超检查提示宫腔积液。月经减少或闭经:人流术后月经量明显减少,量少于以往月经的一半或不来月经。

1.6 统计学方法 结果采用 *t* 检验, $P<0.01$ 为差异有统计

学意义。

2 结 果

可视无痛人流组手术时间明显短于对照组,术中出血量少于对照组,无子宫穿孔及吸宫不全或漏吸发生,术后阴道流血时间异常发生少,宫腔或宫颈管黏连、月经减少及闭经发生明显少于对照组。见表 2。

表 2 两组手术时间、术中及术后并发症比较

组别	手术时间≥3 s	术中出血量平均值(mL)	子宫穿孔	吸宫不全或漏吸	术后阴道流血	宫腔及宫颈管粘连	月经减少或闭经
观察组	10	11.5	0	1	9	3	18
对照组	36	17.5	9	35	46	7	42
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

3 讨 论

人工流产水平是评价生殖健康和优质服务的客观标准,是一个重要的生殖健康问题^[5],全球每年约有 4 000~6 000 万例人工流产,即全球妊娠的 26% 以流产为结局^[6],近年来有逐渐增高的趋势。无痛人流是指在静脉麻醉下进行的人工流产术,患者在睡眠中接受手术,痛苦小,当患者醒来时手术已结束^[7]。普通的无痛人流术虽然也能减轻患者手术过程中的痛苦,避免人流综合征,但是手术全依靠医生的感觉和经验,手术操作的时间较长,且易发生子宫穿孔、漏吸、吸宫不全或反复搔刮宫腔导致子宫内膜过度损伤,造成月经减少、闭经甚至宫腔、宫颈黏连、继发不孕或再次妊娠时子宫蜕膜发育不良,引起前置胎盘、胎盘黏连或植入^[8]。经阴道 B 超引导下的可视无痛人流术,医生术中可以调整阴道探头从 B 超显示屏了解子宫的位置大小、形态和孕囊的位置、大小及有无胎芽等情况。手术者可以将吸头口对准胚胎着床部位迅速吸出胚胎组织,确保找胚胎稳准快,从而缩短手术时间,减少术中不必要的操着,减少术中出血;而且还可以动态观察宫腔组织的清除过程及子宫收缩情况,手术过程清楚地观察探针、刮匙、吸头的活动位置及于宫壁的关系,有效地避免了子宫穿孔,同时通过不断地观察宫内胚胎组织清除情况,避免了医生担心吸宫不全或漏吸而过度刮宫造成术后月经减少或闭经、甚至宫腔黏连、引起继发不孕,再次妊娠胎盘黏连植入等远期并发症。在阴道 B 超引导下的无痛人流具有手术时间短,术中出血少吸宫不全、漏吸发生少,术后阴道流血少,以及术后月经减少、闭经及宫腔黏连发生少等优

点,既解除了患者痛苦,又减轻了医生的压力和风险,是值得在基层医疗单位应用的手术方式。

参考文献

[1] 丰有吉,沈铿. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版,2005: 417.

[2] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2004:148.

[3] 李天秀,程洁,梁海霞. 异丙酚联合芬太尼静脉麻醉下行人工流产术临床观察[J]. 实用医学杂志,2007,23(8): 1266.

[4] 乐杰. 妇产科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2004: 398.

[5] 李颖. 中国人工流产现状及流产后计划生育服务进展[J]. 中国妇幼保健,2005,20(2):245-247.

[6] 潘贵玉. 2001 年全国计划生育/生殖健康调查分析报告集 [M]. 北京:中国人口出版社,2002:65.

[7] 罗红. 异丙芬静脉实施人工流产 300 例分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志,1997,(4):245-246.

[8] 杨倩. 人工流产对胎盘粘连的影响[J]. 中华现代妇产科学杂志,2007,4(3):98-99.

(收稿日期:2011-03-15)

(上接第 1464 页)

595-596.

[2] 林培国,杨晓艳,刘瑞明,等. 异型淋巴细胞在某些疾病诊断中的意义[J]. 江苏医药杂志,2002,28(6):472.

[3] 孙南雄,唐季和,陈钟英. 异型淋巴细胞与有关疾病[J]. 江苏医学,1983,5(31):263-264.

[4] 尹卫东,李立宏,郭帧. EDTA 盐抗凝血中白细胞形态的变化[J]. 张家口医学院学报,1999,16(4):12.

[5] 伊广旭,关琪. 忽视形态学检测导致临床漏误诊原因分析 [J]. 沈阳医学院学报,2008,10(1):34-35.

[6] 李艳,丛玉隆,袁桂清. 加强形态学临床检验专家座谈会 纪要[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(2):147-148.

[7] 丛玉隆,孙蒂,陈宝梁. 当代血液分析技术与临床[M]. 北京:人民卫生出版社,1997 :94.

[8] 罗鹏飞. 儿科疾病出现异形淋巴细胞的临床意义——附 100 例末梢血片分析[J]. 山西医学院学报,1982(5):57-59.

(收稿日期:2011-02-23)