

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.09.026

血细胞检测流水线系统对白细胞形态的影响

王平安¹, 杨 铮², 刘利敏¹, 杨 阳³, 岳 波⁴, 韩 岩², 杨麦贵^{1△}, 刘家云⁵, 胡恩亮⁵

1. 西安培华学院医学院医学检验系, 陕西西安 710100; 2. 解放军总医院整形修复科, 北京 100853;

3. 陆军第 82 集团军 252 医院医务处, 河北保定 071000; 4. 空军军医大学西京医院耳鼻咽喉头颈外科, 陕西西安 710032; 5. 空军军医大学西京医院全军临床检验医学研究所, 陕西西安 710032

摘 要:目的 探讨 XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统对白细胞形态的影响。方法 采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)专用负压管对空军军医大学西京医院和西安培华学院医学院收集的 238 例受试者(其中淋巴细胞性白血病 26 例、粒细胞性白血病 17 例、单核细胞性白血病 15 例、健康儿童 80 例、健康成人 100 例)采集静脉血 2 mL, 采用 XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统在 1 h 内完成推片、瑞姬染色、阅片, 同时采用手工推片、手工瑞姬染色, 由两位经验丰富的主管技师进行显微镜分类计数。结果 238 例受试者 EDTA-K₂ 抗凝血仪器推片后分别采用仪器染色和手工染色分类计数Ⅱ型反应性淋巴细胞结果[(8.65±2.35)%、(8.55±2.45)%]明显高于手工推片仪器染色和手工推片手工染色结果[(4.57±2.55)%、(4.67±2.45)%], 差异有统计学意义($P<0.05$)。健康对照者(健康儿童及成人)、粒细胞性白血病和单核细胞性白血病患者抗凝血经仪器推片分类计数Ⅱ型反应性淋巴细胞分别为(3.2±0.5)%、(3.5±0.4)%、(3.6±0.5)%, 与手工推片结果[(3.1±0.8)%、(3.2±0.6)%和(3.4±0.8)%]比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。淋巴细胞性白血病患者淋巴细胞形态有明显改变: 淋巴细胞体积增大, 外形不规则, 着色不均, 边缘蓝色较深, 细胞核不规则, 染色质细致, 细胞质呈淡紫红色, 似Ⅱ型(不规则型/单核细胞型)反应性淋巴细胞。淋巴细胞性白血病患者Ⅱ型反应性淋巴细胞的仪器推片结果为(85.2±5.6)%, 与手工推片结果[(3.5±0.9)%]比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统对 EDTA-K₂ 抗凝血活化膨胀的白细胞无法调节推片力度, 加之白血病患者血细胞密度高、阻力大而导致细胞形态改变, 使淋巴细胞似Ⅱ型反应性淋巴细胞, 影响临床对疾病的诊断。手工推片可调节角度、速度及力度, 细胞形态不易改变。当Ⅱ型反应性淋巴细胞多时, 必须手工推片手工染色, 显微镜检查确证后方可发报告。

关键词: 乙二胺四乙酸二钾抗凝血; 仪器推片; 手工推片; 反应性淋巴细胞; 光学显微镜

中图法分类号: R446.11

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)09-1283-04

The effect of blood cell detection pipeline system on the morphology of leukocytes

WANG Ping'an¹, YANG Zheng², LIU Limin¹, YANG Yang³, YUE Bo⁴, HAN Yan²,
YANG Maigui^{1△}, LIU Jiayun⁵, HU Enliang⁵

1. Faculty of Laboratory Medicine, Xi'an Peihua University Medical School, Xi'an, Shaanxi 710100, China; 2. Department of Plastic Surgery, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China;

3. Department of Medical Affairs, 252 Hospital of Army's 82 Group Army, Baoding, Hebei

071000; 4. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Xijing

Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shanxi 710032, China;

5. Institute of Clinical Laboratory Medicine, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shanxi 710032, China

Abstract: Objective To investigate the effect of the XN-9000 automatic blood cell detection assembly line system on the morphology of leukocytes. **Methods** The special negative pressure tube for ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium (EDTA-K₂) was used to collect 2 mL venous blood in 238 subjects (including 26 cases of lymphocytic leukemias, 17 cases of granulocytic leukemias, 15 cases of monocytic leukemia, 80 healthy children and 100 healthy adults) collected in Xijing Hospital and Xi'an Peihua University Medical School. The XN-9000 automatic blood cell detection assembly line system was adopted to complete the instrumental push piece, Rui-Ji staining and reading within 1 h. Meanwhile the manual push piece and manual Rui-Ji staining were adopted, and the two experienced technologists-in-charge detected the classification and count of micro-

作者简介: 王平安, 男, 助教, 主要从事教学管理及科学研究。△ 通信作者, E-mail: yangmg@fmmu.com。

本文引用格式: 王平安, 杨铮, 刘利敏, 等. 血细胞检测流水线系统对白细胞形态的影响[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(9): 1283-1286.

scope inspection. **Results** The instrumental staining and manual staining were respectively adopted to conduct the classification count of the type II reactive lymphocytes after the EDTA-K₂ anticoagulant instrumental push piece in 238 subjects. Their results were $(8.65 \pm 2.35)\%$ and $(8.55 \pm 2.45)\%$, which were significantly higher than $(4.57 \pm 2.55)\%$ and $(4.67 \pm 2.45)\%$ by manual push piece instrumental staining and manual push piece and manual staining, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). After instrumental push piece in anticoagulation blood of healthy controls (healthy children and healthy adults), granulocytic leukemias and monocytic leukemia, the classification counts of the type II reactive lymphocytes were $(3.2 \pm 0.5)\%$, $(3.5 \pm 0.4)\%$ and $(3.6 \pm 0.5)\%$ respectively, and which by manual push piece were $(3.1 \pm 0.8)\%$, $(3.2 \pm 0.6)\%$ and $(3.4 \pm 0.8)\%$, the differences between them had no statistical significance ($P > 0.05$). The morphology of lymphocytes in the patients with lymphocytic leukemia had obvious change. The volume of lymphocytes was enlarged, the appearance was irregular, the coloring was uneven, the edge was darker, the nucleus was irregular, the chromatin was delicate, and the color of the cytoplasm was light purple, which seemed to be type II (irregular/monocyte type) reactive lymphocytes. The instrumental push piece results of lymphocytic leukemias patients in type II reactive lymphocytes was $(85.2 \pm 5.6)\%$, which of manual push piece was $(3.5 \pm 0.9)\%$, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The XN-9000 automatic blood cell detection assembly line system cannot adjust the push piece force of EDTA-K₂ anticoagulant activated and swollen white blood cells. In addition, the blood cell density in the patients with leukemia patients is high, and resistance is great, which cause the cell morphology changes, make lymphocytes seem to be type II reactive lymphocytes, thus affect the clinical diagnosis of diseases. Manual push piece can adjust the angle, speed and strength, so the cell morphology is not easy to change. When there are many the II type reactive lymphocytes, the report should be issued after the confirmation by manual push piece and staining microscopic examination.

Key words: ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium anticoagulant; instrumental push piece; manual push piece; reactive lymphocytes; optical microscope

在临床检验工作中,笔者经常发现 XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统致白细胞形态变异,尤其是淋巴细胞项目报警,提示反应性淋巴细胞或原始淋巴细胞增多,中性粒细胞不呈圆形或由椭圆形变为多角形等不规则形态,可能是自动推片系统致白细胞形态改变所致。淋巴细胞形态异常与临床疾病的诊断密切相关,在实际工作中,有时会出现淋巴细胞失去其正常、特有形态,似(看上去像)II型反应性淋巴细胞增多,但这些改变与临床疾病不相符,严重影响疾病的诊断。反应性淋巴细胞主要由病毒、原虫感染,药物反应,结缔组织病,应激状态或过敏反应等因素刺激而产生^[1-3],准确的检测结果对临床疾病的诊断和治疗都非常重要,为此,本研究主要探讨了 XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统对白细胞形态的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 3 月至 2019 年 4 月于空军军医大学西京医院和西安培华学院医学院进行血细胞分析的受检者 238 例,其中健康儿童(0~12 岁)80 例,健康成人(18~65 岁)100 例(健康儿童和健康成人纳入健康对照组),临床及骨髓穿刺细胞学确诊的淋巴细胞性白血病 26 例(淋巴细胞性白血病组),粒细胞性白血病 17 例(粒细胞性白血病组),单核细胞性白血病 15 例(单核细胞性白血病组)。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XN-9000 全自动血细胞

检测流水线系统有 TS-10 前处理 1 台(日本产),XN-9000 全自动血细胞分析仪 7 台(日本产),SP-10 全自动血细胞推片仪 2 台(日本产),DI-60 全自动阅片机 2 台(日本产),OLYMPUS-BX51 显微镜影像系统(日本产)。其他仪器及试剂包括乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂, 2.0 mg/mL)专用负压管(广州阳普医疗科技股份有限公司;批号:161205),瑞姬染色液(珠海贝索生物技术有限公司;批号:411071),Sysmex Micro slide MS-101 载玻片(日本产)。

1.3 方法 采用 EDTA-K₂ 专用负压管采集所有受试者肘静脉血,置于 XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统进行血细胞分析。分别用 SP-10 全自动血细胞推片仪(仪器推片)和手工推制(手工推片)血膜片各 2 张,室温干燥,再分别采用仪器瑞姬染色(仪器染色)和手工瑞姬染色(手工染色)。以上血涂片分别采用 DI-60 全自动阅片机和人工阅片。人工阅片:由两位技术熟练的主管技师根据《全国临床检验操作规程》^[4],先用低倍镜观察,再用油镜进行白细胞分类计数,分类计数 200 个白细胞,特别注意淋巴细胞形态的变化。将分类计数的反应性淋巴细胞结果取均值。反应性淋巴细胞分为 I、II、III 型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行统计处理和分析。对数据进行正态性检验,结果呈正态分布,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用 F 检

验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同推片及染色方法的反应性淋巴细胞分类比较 238 例受试者 EDTA-K₂ 抗凝血手工推片仪器染色、手工推片手工染色与仪器推片手工染色、仪器推片仪器染色的Ⅱ型反应性淋巴细胞结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。仪器推片后分别进行仪器染色和手工染色,可见反应性淋巴细胞增多,细胞体积大,外形不规则,着色不均,边缘蓝色较深,细胞核不规则,染色质细致,细胞质呈淡紫红色,经仔细辨别,似Ⅱ型(不规则型/单核细胞型)反应性淋巴细胞(图 1~2)。手工推片后分别进行手工染色和仪器染色,可见淋巴细胞形态基本正常,两种方式染色对细胞形态没有影响,而仪器推片致细胞形态异常,似Ⅱ型反应性淋巴细胞。

表 1 238 例受试者 EDTA-K₂ 抗凝血不同推片、染色方法下的反应性淋巴细胞分类比较($\bar{x}\pm s, \%$)

项目	<i>n</i>	I 型	Ⅱ型	Ⅲ型
手工推片手工染色	238	3.55±2.46	4.67±2.45	1.18±0.42
仪器推片仪器染色	238	3.62±2.45	8.65±2.35*	1.25±0.36
手工推片仪器染色	238	3.45±2.56	4.57±2.55	1.14±0.40
仪器推片手工染色	238	3.52±2.55	8.55±2.45*	1.23±0.34

注:与手工推片手工染色、手工推片仪器染色比较,* $P<0.05$ 。

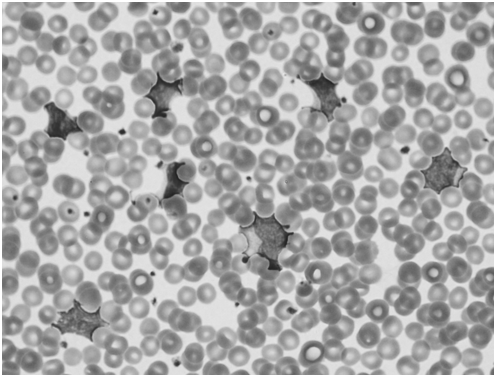


图 1 仪器推片手工染色镜下表现(似Ⅱ型反应性淋巴细胞)

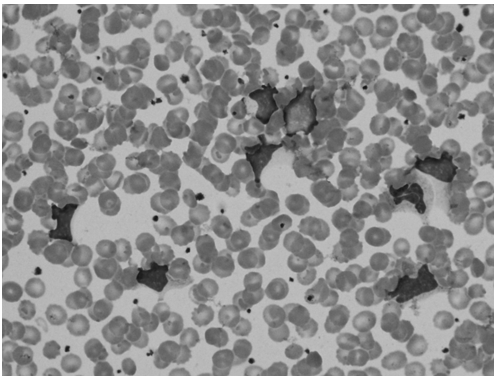


图 2 仪器推片仪器染色镜下表现(似Ⅱ型反应性淋巴细胞)

2.2 各组仪器推片与手工推片Ⅱ型反应性淋巴细胞

结果比较 淋巴细胞性白血病患者仪器推片的Ⅱ型反应性淋巴细胞为(85.2±5.6)%,明显高于健康对照组、粒细胞性白血病患者和单核细胞性白血病患者仪器推片结果及各组的手工推片结果,差异均有统计学意义($P<0.05$)。各组手工推片结果差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。淋巴细胞性白血病患者 EDTA-K₂ 抗凝血经仪器推片后,细胞形态有明显改变,似Ⅱ型反应性淋巴细胞。见图 3。

表 2 各组仪器推片与手工推片Ⅱ型反应性淋巴细胞结果比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	手工推片	仪器推片
健康对照组	180	3.1±0.8	3.2±0.5
粒细胞性白血病患者	17	3.2±0.6	3.5±0.4
单核细胞性白血病患者	15	3.4±0.8	3.6±0.5
淋巴细胞性白血病患者	26	3.5±0.9	85.2±5.6

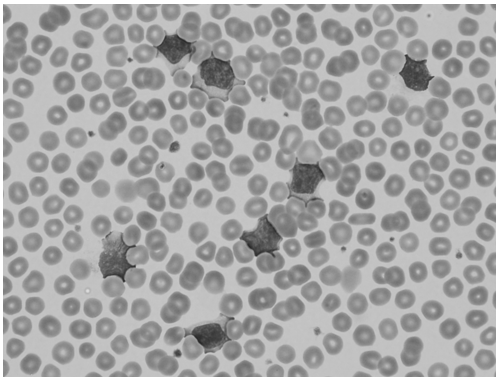


图 3 淋巴细胞性白血病患者淋巴细胞似Ⅱ型反应性淋巴细胞(仪器推片)

2.3 各组仪器推片与手工推片形态不规则白细胞结果比较 除健康对照组,各组患者仪器推片分类的形态不规则白细胞数明显多于手工推片结果,差异均有统计学意义($P<0.05$),健康对照组仪器推片结果与各组手工推片结果比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 各组仪器推片与手工推片形态不规则白细胞结果比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	手工推片	仪器推片
健康对照组	180	3.1±0.8	3.2±0.5
粒细胞性白血病患者	17	3.2±0.6	71.5±5.3
单核细胞性白血病患者	15	3.4±0.8	72.6±5.5
淋巴细胞性白血病患者	26	3.5±0.9	85.2±5.6

3 讨 论

粒细胞形态的变异对临床疾病的诊断影响不大,因为它属于人体血液细胞,基本结构改变不大,而淋巴细胞属于变形细胞,形态的变异对临床疾病的诊断非常重要,因此本文主要探讨淋巴细胞形态的变异。健康人群外周血中偶见反应性淋巴细胞,其值 $>5\%$

有临床意义, >10% 时有诊断意义。反应性淋巴细胞增多主要见于传染性单核细胞增多症、流行性出血热、病毒性肝炎等病毒感染性疾病, 弓形虫病, 自身免疫性疾病和过敏性疾病等。EB 病毒、巨细胞病毒、柯萨奇病毒、腺病毒、人类免疫缺陷病毒、梅毒螺旋体等感染也可引起反应性淋巴细胞增多^[1,5-6]。

以往白细胞分类计数都采用末梢血人工直接推片、染色、分类, 不需要抗凝。随着科学技术的发展, 血细胞分析常使用 XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统, 需要使用 EDTA-K₂ 抗凝血, 全自动推片机模拟手工推片方式, 利用楔形专用推玻片 (Wedge Type) 对已加载到载玻片上的血液标本进行推片。笔者在工作中发现, 有的患者血细胞分析仪器自动推片的白细胞形态变异, 细胞体积变大, 外形不规则, 着色不均, 边缘蓝色较深, 细胞核不规则, 呈淡紫红色, 似反应性淋巴细胞增多, 主要是 II 型反应性淋巴细胞, 中性粒细胞失去圆形或椭圆形态。引起细胞形态改变的可能机制: 乙二醇四乙酸钾盐为高渗、高离子、低 pH 值, 使白细胞膜钾离子通道活化。钾离子通道在白细胞活化过程中发挥着重要的作用。淋巴细胞膜上存在两种类型的钾离子通道: (1) 电压门控式钾离子通道 (K_v, 分 n、n'、I 3 型); (2) 钙激活的钾离子通道 (KCa)。钾离子通道控制着细胞膜电位, 细胞静息膜电位主要是钾离子经 K_v 顺浓度梯度流向细胞外形成的。淋巴细胞的膜电位与淋巴细胞的功能密切相关。抗凝血浆中钾离子水平升高, 阻滞膜内钾离子外流, 使膜内电位升高, 产生去极化, 去极化激活 K_v, K_v 可以上调淋巴细胞的活化过程。静息的正常淋巴细胞每个细胞表达 10 个左右的 n 型 K_v, 而激活的淋巴细胞可表达上百个 n 型 K_v, 使已激活的淋巴细胞在高钾环境中更易活化, 所以因高钾活化的淋巴细胞易被自动推片仪推成形态不规则的“假性 II 型反应性淋巴细胞”^[7-8]。本研究结果也证明 EDTA-K₂ 抗凝血仪器推片与手工推片 II 型反应性淋巴细胞结果比较 (表 1), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 淋巴细胞性白血病患者仪器推片的反应性淋巴细胞结果明显高于其他各组 ($P < 0.05$); 各组患者仪器推片分类的形态不规则白细胞数明显高于手工推片结果 ($P < 0.05$)。这说明白细胞形态变异与各种方式染色无关, 与推片方式有关, 仪器推片可使白细胞变异为 II 型反应性淋巴细胞。XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统对 EDTA-K₂ 抗凝白血病患者血液中活化、膨胀的白细胞无法调节推片力度, 加之白血病患者血细胞密度

高阻力大, 使自动推片仪将活化膨胀的白细胞推制成 II 型反应性淋巴细胞和不规则的白细胞, 而手工推片可根据血细胞活化膨胀情况及细胞密度随意调节角度、速度及力度, 所以细胞形态不易改变, 确切机制还有待进一步研究。李艳等^[9]指出, EDTA-K₂ 抗凝血反应性淋巴细胞增多的可能原因: 血液与玻璃试管接触活化; 抗凝剂刺激淋巴细胞活化; 血液标本放置时间过长, 淋巴细胞退变、活化; 体内外温差等细胞活化因素使细胞形态发生改变。

综上所述, XN-9000 全自动血细胞检测流水线系统虽然简便快速, 但不能直接提供血细胞形态变化的确切信息, 不具备检测血细胞形态的功能。EDTA-K₂ 抗凝血采用该系统自动推片会致患者白细胞形态变异, 尤其是淋巴细胞性白血病患者, II 型反应性淋巴细胞 (假性) 增多, 给临床诊断治疗带来影响。在全自动血细胞分析仪报警或 DI-60 全自动阅片机出现较多反应性淋巴细胞时, 必须采用手工推片手工染色, 光学显微镜复检确证后方可报告, 确保为临床提供可靠的诊断依据。

参考文献

- [1] 刘成玉, 罗春丽. 临床检验基础[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 65-66.
- [2] 夏永辉, 韩庆庆, 王守磊, 等. XN-20WPC 对外周血原始细胞与异常淋巴细胞检测的价值[J]. 检验医学, 2018, 33(6): 469-471.
- [3] 杨麦贵, 杨铮, 杨阳, 等. 全自动血细胞分析仪自动推片致淋巴细胞变异的探讨[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(17): 3255-3259.
- [4] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 2-25.
- [5] 李兰娟, 任红. 传染病学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 17-101.
- [6] 曹雪涛. 医学免疫学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 102-117.
- [7] 黄淋淋, 幸娟霞, 邓文平. 反应性淋巴细胞、白细胞分类及 EB 病毒与儿童传染性单核细胞增多的关系[J]. 检验医学, 2018, 33(8): 727-729.
- [8] 张斌, 蔡艳霞, 张素贞, 等. 颗粒性急性 B 淋巴细胞白血病形态学及流式散点图特点[J]. 检验医学, 2017, 32(2): 118-121.
- [9] 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.