

骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果不相符分析

金咏梅, 刘雨涵, 廖红艳, 蒋能刚[△]

四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041

摘要:目的 探讨骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果不相符情况并分析两种检测方法对于造血系统疾病的诊断价值。**方法** 回顾性分析 2019 年 3 月至 2020 年 3 月由四川大学华西医院实验医学科接收且具有骨髓涂片细胞学检查及流式细胞免疫分型检测结果的疑诊血液病患者 5 373 例作为研究对象, 并对两种方法检测结果不相符的病例情况进行分析。**结果** 5 373 例患者中骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果总不相符的病例共 352 例(6.55%)。研究对象中骨髓涂片细胞学检查结果为增生性贫血而流式细胞免疫分型检测结果为异常浆细胞和异常 B 淋巴细胞病例共 2 例。**结论** 骨髓涂片细胞学检查对于细胞形态典型者识别度较高, 流式细胞免疫分型检测对于缺乏特定形态的异常细胞识别度较高, 且在异常细胞较少的样本与预后检测方面优于骨髓涂片细胞学检查。

关键词: 白血病; 骨髓涂片细胞学; 流式细胞免疫分型**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.08.004**中图法分类号:**R733.7**文章编号:**1673-4130(2022)08-0913-04**文献标志码:**A

**Analysis of the inconsistency between the results of bone marrow
cytomorphology and flow cytometric immunotyping**

JIN Yongmei, LIU Yuhuan, LIAO Hongyan, JIANG Nenggang[△]

Department of Medical Laboratory, West China Hospital, Sichuan University,
Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: Objective To explore the reasons for the inconsistent results of bone marrow smear cytology and flow cytometric immunotyping, and to analyze the diagnostic value of the two methods for hematopoietic diseases. **Methods** A total of 5 373 patients with suspected hematopathy admitted by the department of medical laboratory, West China Hospital, Sichuan University from March 2019 to March 2020 with the results of bone marrow smear cytology and flow cytometric immunotyping were retrospectively analyzed, and the cases with inconsistent results of the two methods were analyzed. **Results** There were 352 cases(6.55%) of 5 373 patients with inconsistent results of bone marrow smear cytology and flow cytometric immunotyping. There were 2 cases of hyperplastic anemia by bone marrow smear cytology and abnormal plasma cells and abnormal B lymphocytes by flow cytometric immunotyping. **Conclusion** Bone marrow smear cytology has a high recognition rate for typical cell morphology. Flow cytometric immunotyping has a high recognition rate for abnormal cells lacking specific morphology and is superior to bone marrow smear cytology in the detection of samples with few abnormal cells and prognosis.

Key words: leukemia; bone marrow smear cytology; flow cytometric immunotyping

白血病是造血系统的一种恶性疾病,在我国各年龄段恶性肿瘤的病死率较高,35 岁以下人群病死率占据首位^[1]。由于白血病是累及造血干细胞的异常克隆性病变,具有高度异质性,传统的法、美、英分型系统(即 FAB 分型系统)的形态学分型是一种诊断白血

病分型的重要方法。随着科学技术的发展进步,应用形态学、免疫学、细胞遗传学、分子生物学方法对白血病进行分型,提高了对其诊断效率,在白血病疗效观察和预后监测方面也具有重要的临床意义^[2]。骨髓涂片细胞学检查虽然误诊率、漏诊率较高,但其对于

作者简介:金咏梅,女,主管技师,主要从事临床血液学检验研究。 [△] 通信作者, E-mail: j790114@163.com。

本文引用格式:金咏梅,刘雨涵,廖红艳,等.骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果不相符分析[J].国际检验医学杂志,2022,43(8):913-915.

具有典型细胞特征的疾病有着较好的识别度。本文旨在通过对 5 373 例疑诊血液病患者骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果不相符的原因进行回顾性分析,以达到提高二者的一致率、改进检验服务质量的目的。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 3 月至 2020 年 3 月由本科接收且具有骨髓涂片细胞学检查及流式细胞免疫分型检测结果的疑诊血液病患者 5 373 例作为研究对象。所有研究对象诊断结果由实验室信息系统导出,且均为本院根据形态学、细胞组化、细胞免疫学、分子遗传学等方法确诊的门诊或住院患者。

1.2 标本采集 研究对象俯卧位取髂后上棘,特殊情况取髂前上棘无菌操作抽取 0.2 mL 骨髓制作骨髓涂片供细胞形态分析。另将 2.0 mL 骨髓液注入肝素钠抗凝管中,混匀后进行流式细胞免疫分型检测。

1.3 仪器与试剂 流式细胞仪使用美国 BD 公司的产品,型号为 FACS Canto II。仪器使用的鞘液、破膜剂、溶血剂及单克隆抗体均由美国 BD 公司提供。

1.4 方法

1.4.1 骨髓涂片细胞学检查 骨髓涂片加瑞氏姬姆萨混合染液 3~5 滴,覆盖骨髓膜整体,稍等 20 s 后加缓冲液 6~8 滴混匀,染色时间为 15~20 min,用流动的水从玻片的一侧冲洗染液,待其自然干燥或者用吸水纸吸干后镜检。(1)低倍镜:观察材料、涂层、染色是否合格,根据镜下骨髓渣旁造血组织、脂肪组织的比例判断有核细胞增生情况。首先观察巨核细胞的数量及骨髓涂片边缘和尾部是否有大的或多个特殊的病理细胞。(2)使用油镜分类 200 个有核细胞(不包括有丝分裂的细胞和破碎的细胞)。根据各种细胞的类型和发育阶段的记录,计算其百分率,并仔细观察各个系、各个阶段的细胞形态是否处于正常。根据有核细胞增生程度和白血病细胞所占比例,通过世界卫生组织(WHO)形态学分型标准对细胞形态进行分析。

1.4.2 流式细胞免疫分型检测 采用 SSC/CD45 设门和若干个带荧光标记的单克隆抗体检测患者骨髓细胞的抗原表达。阳性判断标准:对一般细胞膜抗原阳性细胞 >20% 为阳性,对 CD34 和胞浆抗原 >10% 为阳性。确定细胞类型参照欧洲白血病免疫学分型研究组制定的积分系统,计算各个抗原的细胞系列积分并进行判断。

2 结果

2.1 检测结果总不相符的病例情况 研究对象中骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果总

不相符的病例共 352 例(6.55%),其中包括急性白血病病例、检出异常细胞病例、其他病例。

2.2 检测结果不相符的急性白血病病例情况 研究对象中骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果不相符的急性白血病病例共 32 例,包括 24 例急性髓系白血病(AML)病例,8 例急性淋巴细胞白血病(ALL)病例。见表 1。

表 1 检测结果不相符的急性白血病病例情况

骨髓涂片细胞学检查	流式细胞免疫分型	n	构成比(%)
AML-M1/M2	M4	14	43.8
	M5	2	6.3
AML-M4	M1/M2	2	6.3
AML-M5	M1/M2	6	18.7
ALL	AML	1	3.1
	M0	2	6.3
	M1/M2	3	9.4
	T/髓混合*	1	3.1
	B/髓混合*	1	3.1

注:T/髓混合表示混合细胞性白血病(T淋巴细胞系+髓系)、B/髓混合表示混合细胞性白血病(B淋巴细胞系+髓系)。

2.3 检测结果不相符的异常细胞病例情况 研究对象中骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果不相符的异常细胞病例共 318 例,占总不相符病例的 90.34%。其中骨髓涂片细胞学检查结果为异常浆细胞,而流式细胞免疫分型检测结果为异常 B 淋巴细胞、异常 T 淋巴细胞、淋巴细胞增殖性疾病(LPD)、未见异常的病例共 14 例;骨髓涂片细胞学检查结果为未见异常,而流式细胞免疫分型检测结果为异常原始粒细胞、异常 B 淋巴细胞、异常 T 淋巴细胞、异常浆细胞、异常单核细胞、异常自然杀伤细胞(NK 细胞)、LPD 病例共 216 例;骨髓涂片细胞学检查结果为其他异常,流式细胞免疫分型检测结果为未查见异常表型细胞病例共 88 例。见表 2。

2.4 检测结果不相符的其他病例情况 研究对象中骨髓涂片细胞学检查结果为增生性贫血而流式细胞免疫分型检测结果为异常浆细胞和异常 B 淋巴细胞病例共 2 例。

表 2 两种方法检测结果不相符的异常细胞病例情况

骨髓涂片细胞学检查	流式细胞免疫分型	n	构成比(%)
异常浆细胞	异常 B 淋巴细胞	1	0.3
	异常 T 淋巴细胞	1	0.3
	LPD	2	0.6
	未见异常	10	3.1
未见异常	异常原始粒细胞	37	11.6

续表 2 两种方法检测结果不相符的异常细胞病例情况

骨髓涂片细胞学检查	流式细胞免疫分型	n	构成比(%)
	异常 B 淋巴细胞	34	10.7
	异常 T 淋巴细胞	12	3.8
	异常浆细胞	90	28.3
	异常单核细胞	1	0.3
	异常 NK 细胞	14	4.4
	LPD	28	8.8
其他异常*	未见异常表型细胞	88	27.7
总计		318	100.0

注：* 包括红系/巨核系异常造血、骨髓瘤转移、黑热病、查见马尔尼菲蓝状菌、查见荚膜组织胞浆菌、查见海蓝细胞、查见戈谢细胞等异常。

3 讨 论

骨髓涂片细胞学检查是一种检查血液疾病及多种疑难杂症的重要手段,同时也是多种疾病预后、骨髓造血功能恢复效果的重要判断指标之一^[3]。它能够通过简易的工具制片,再由显微镜人工观察骨髓细胞的形态、数量、分类、比例,从而得出相应诊断,该检查方法以细胞形态为分型依据^[4-5]。在实际的临床工作中,骨髓涂片细胞学检查结果易受到多种因素的影响,导致结果出现明显差异,加之各实验室的结果缺乏认同性,容易造成对疾病的漏诊、误诊^[6-7]。随着流式细胞免疫分型检测应用于临床,其对于白血病的诊断起到了重要作用。它能够快速地对细胞及亚细胞的构造进行检测,能够更好地认知健康状态下的造血系统,并能对具有明确免疫表型特点的血液恶性疾病进行描述。流式细胞免疫分型检测的优点主要为检测速度快、测量指标多、灵敏度高,提高了异常细胞计数准确性、精密度且能报告多项研究参数^[8-9]。白血病细胞分为 B 淋巴细胞系、T 淋巴细胞系、髓细胞系及红细胞系和巨核细胞系,每种细胞系所表达抗原的不同是区分白血病细胞的关键^[10-11]。这些免疫标志物能够反映正常细胞在变为恶性肿瘤过程中细胞基因及抗原标志所发生的变化,而这种细微变化在显微镜下无法进行有效辨别。尤其是当骨髓涂片细胞学检查对异常细胞难以区别时,各种血液肿瘤的诊断、鉴别诊断就主要依赖于流式细胞免疫分型检测。

研究对象中骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测结果不相符的 AML 病例共 24 例,其不相符原因主要体现在白血病细胞的形态识别,尤其是在有单核细胞成分的 AML-M4/M5 中。流式细胞免疫分型通过对特异性的荧光抗体进行检测,直指白血病细胞本质,能够更好地对是否有单核细胞进行判定,此种情况下建议骨髓涂片细胞学结合流式细胞免疫

分型检测结果进行分析。对于混合细胞型白血病来说,其发生率极低,由于是跨系别混合,细胞来源混乱,不能仅依靠骨髓涂片细胞学检查进行分型,而是需要流式细胞免疫分型检测对其进行诊断,同时还需要结合分子遗传学检测。建议骨髓涂片细胞学检查不能明确区分系列的急性白血病病例,应参考流式细胞检测结果进行分型。ALL 的白血病细胞个体差异极大,仅凭肉眼难以区别 T/B 淋巴细胞,亦不能对细胞划分发育阶段。骨髓涂片细胞学检查报告为 ALL,临床仍需要流式细胞免疫分型检测结果进一步分型。

对于异常细胞的检测,骨髓涂片细胞学检查与流式细胞免疫分型检测各有优缺点。骨髓涂片细胞学检查观察的视野有限,检测限较低,但对于寄生虫、病原菌及海蓝细胞等形态上明显有别于正常细胞的特殊细胞具有优势。流式细胞免疫分型检测限可以达到 10^{-4} ,甚至更高,但流式细胞免疫分型检测对异常细胞的判定一般只基于细胞表型,对标本质量要求较高,同时也会受到荧光抗体种类及数量的制约。唯有将两种检测方法结合起来考虑才能进一步提高异常细胞的检出率。

总之,流式细胞免疫分型检测异常细胞既快速且高效,若同时再联合骨髓涂片细胞学检查,可避免由于表面膜抗原标记缺乏或异常细胞在治疗过程中某些标志丢失或改变,或骨髓标本采集时过度稀释等造成流式细胞免疫分型检测结果的假阴性,进一步提高异常细胞检出率,在疾病的疗效评估及预后监测中都具有重要意义^[12]。流式细胞免疫分型检测由于其广泛的适用性和快速出检测结果,是微小残留病灶检测的首选方法^[13-15]。虽然流式细胞免疫分型检测优点突出,但是骨髓涂片细胞学检查仍然不可抛弃。如何提高骨髓涂片细胞学检查准确性、诊断符合率便是当下需要着重探讨的问题,后期将进一步深入研究。

参考文献

- [1] 黄治虎,陈宝安,欧阳建,等.我国白血病流行病学调查的现状和对策[J].临床血液学杂志,2009,22(2):166-167.
- [2] 黄静沁,许闪闪,李智,等.白血病诊断综合分析的重要意义[J].检验医学,2014,29(11):1158-1163.
- [3] 张霞,付笑迎,覃文琪,等.多参数流式细胞术检测儿童急性 B 淋巴细胞白血病免疫表型与预后分析[J].国际检验医学杂志,2020,41(12):1430-1434.
- [4] XU X Q, WANG J M, LU S Q, et al. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of a Chinese population[J]. Haematologica, 2009, 94(7): 919-927. (下转第 920 页)

- [2] 刘芮,沈秉正,刘煜,等. LAMP 十三联检在下呼吸道常见细菌感染检测中的价值[J]. 武汉大学学报(医学版), 2020,41(6):954-958.
- [3] BABU U S, HARRISON L M, MAMMEL M K, et al. A loop-mediated isothermal amplification(LAMP) assay for the consensus detection of human pathogenic *Campylobacter* species[J]. J Microbiol Methods, 2020, 176(1): 1-6.
- [4] 陶文学,陈来秀,李正国,等. 探讨晶芯呼吸道病原菌核酸检测恒温扩增技术对检测成人呼吸道感染病原菌的准确性[J]. 中国社区医师, 2021,37(26):124-125.
- [5] 王亮,沈永明,高伟,等. 下呼吸道感染儿童的病原菌检测及临床分析[J]. 中国城乡企业卫生, 2021, 36(2): 129-132.
- [6] 李晓,杨永泉,孙朝晖,等. LAMP 芯片十三联法检测重症监护患者下呼吸道感染病原菌的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2021,42(17):2049-2052.
- [7] 刘佳佳,孙静娜,张征,等. 恒温扩增芯片法在 ICU 肺部感染患者下呼吸道感染病原体检测中的应用价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2021,20(15):1672-1676.
- [8] 徐晓娜,孙昕,王莉莉,等. LAMP 法和传统培养法检测下呼吸道感染常见病原体的比较研究[J]. 安徽医学, 2021, 42(7):802-805.
- [9] WANG Z Q, ZANG Y, GAO Y J, et al. Evaluation of bronchoalveolar lavage fluid combined with the loop-mediated isothermal amplification assay in lower respiratory tract infections[J]. Am J Transl Res, 2020, 12(7): 4009-4016.
- [10] 左丽娜,陈碧,陈玉玲,等. 利用核酸恒温扩增技术检测下呼吸道感染病原菌的分布特征[J]. 中国校医, 2021, 35(2):93-96.
- [11] 司玉莹,赵望,叶蓓,等. 环介导等温扩增技术检测呼吸道样本中肺炎克雷伯菌[J]. 临床检验杂志, 2020,38(1):56-59.
- [12] 郝志华. 环介导恒温扩增法快速诊断肺结核的临床评价[J]. 山西职工医学院报, 2017, 27(5):836-827.
- [13] YUAN L Y, LI Y, WANG M, et al. Rapid and effective diagnosis of pulmonary tuberculosis with novel and sensitive loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay in clinical samples: a meta-analysis[J]. Infect Chemother, 2014, 20(2):86-92.
- [14] 李辉腾,郭旭光. 荧光环介导恒温扩增技术检测嗜肺军团菌方法的建立[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(22): 3677-3678.
- [15] 顾锦,郭会,周围,等. 环介导等温扩增技术在下呼吸道感染常见病原体检测中的应用[J]. 临床检验杂志, 2021, 39(1):12-16.

(收稿日期:2021-10-28 修回日期:2022-03-01)

(上接第 915 页)

- [5] HUANG L B, GUAN X Q, ZHANG Y C, et al. Current status of diagnosis and prognosis of infant acute leukemia in China[J]. Pediatr Blood Cancer, 2009, 53(6):973-977.
- [6] 余鹏,魏欣. 临床实验室骨髓细胞形态学检验的质量要求及实践思考[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(6): 157-160.
- [7] 高帆,克晓燕,王晶,等. 骨髓穿刺物的检测对非霍奇金淋巴瘤患者骨髓受累的诊断和患者预后评估的价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(2):488-494.
- [8] 张华,李远波. 骨髓细胞形态学检查在疑似白血病患者辅助诊断中的价值[J]. 贵州医药, 2020, 44(5):728-729.
- [9] 王霞,张斌. 混合表型急性白血病患者骨髓细胞形态学与流式免疫表型特点[J]. 检验医学, 2019, 34(3):235-239.
- [10] 吴祖常,肖平,林蔚,等. 流式细胞术对急性白血病免疫分型判断的意义[J]. 深圳中西医结合杂志, 2021, 31(9): 107-108.
- [11] 陈竺,陈赛娟. 威廉姆斯血液学[M]. 9 版. 北京:人民卫生出版社, 2018.
- [12] 罗爽,花京剩. 骨髓细胞免疫表型与形态学检测对急性白血病中患者诊断及监测价值分析[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(6):926-928.
- [13] WOOD B L. Acute myeloid leukemia minimal residual disease detection: the difference from normal approach [J]. Curr Protoc Cytom, 2020, 93(1):73-76.
- [14] 林萍,谢若腾,张雅兰,等. 细胞形态学在急性白血病中的诊断价值分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(6): 1806-1811.
- [15] 赵浩宇,杜兴国,张琼. 骨髓细胞形态学和免疫学分型在急性白血病诊断中的应用价值[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(19):59-61.

(收稿日期:2021-11-01 修回日期:2022-03-12)