

所看到的血片和骨髓片是在几个月前制备好的,血细胞的形态不如新制片中那么典型,这就提示在以后的实验教学中,应尽量制备新鲜的血片和骨髓片,以便学生更好地掌握血细胞的特点,同时,在条件允许的情况下,从血液和骨髓液的抽取到染色制片全部由学生自己操作,那么,骨髓的抽吸状态、涂片的厚薄、染色深浅等因素与显微镜下血细胞变化之间的联系,学生就能深切地体会到,对细胞形态的掌握就会更全面。对同一血细胞很多学生会问到,这样,教师往往需要在多位学生的显微镜下重复讲解,甚至有的学生还没来得及问,实验课可能就结束了,使得课堂效率很低而且教学效果不明显。因此,需要教师在课前做充分的准备工作,例如在所有的标本片中选择形态典型的各个阶段的血细胞进行划分归类,以便学生在显微镜下观察细胞之前统一示教讲解,避免不必要的重复、节省时间。同时,在理论课讲解血细胞的形态后,让学生下去对自己认识的细胞进行绘画,与实验课时镜下观察的血细胞对比找到有偏

差的地方,便于学生更好地掌握血细胞的形态特征。在采取一系列教学改革措施后,将理论课讲解的知识应用到实验课中,再将实验课中反映出的不足回到理论课中去重新掌握,促进了教学效果的提高。

参考文献

- [1] 许文荣,王建中. 临床血液学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007:7.
- [2] 刘宝文,王利青,黄凯,等. 加强血液学检验形态教学的做法和体会[J]. 检验医学教育,2003,10(4):22-23.
- [3] 林梅双,陈冬雁,罗健留.《血液学检验》细胞形态学的教学改革和实践[J]. 中外医疗,2009,28(32):102-103.

(收稿日期:2010-08-23)

骨髓细胞形态学检验质量管理及临床意义

陆明清(解放军第一一三医院检验科,浙江宁波 315040)

【关键词】 骨髓细胞; 形态学检查; 质量控制

DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 01. 065 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)01-0111-03

骨髓形态学检查是血液病及临床疑难患者的重要检查项目之一,对确诊血液病及其疗效、预后和骨髓移植造血功能的恢复判断具有重要意义。但骨髓细胞学检查是检验医学中灵活性、难度均较大的特殊性检验,又由于人员素质、标本的采集、实验室所用仪器、试剂、方法的不同等,检测结果往往差异较大,各实验室的结果缺乏认同性,往往给临床诊疗工作带来负面影响。因此,加强骨髓形态学检查的全面质量管理有十分重要的意义^[1]。

1 人员及设施要求

由于骨髓细胞形态具有多变性和复杂性,要求检验人员具有丰富的形态学工作经验;同时骨髓形态学检查是检验医学中灵活性、难度均较大的特殊性检验,要求检验人员具有扎实的临床知识,以及严谨的工作作风和严肃的科学态度。骨髓形态学检验者既有检验师负责检验结果准确性的职责,又兼有协助医师解释检验结果、诊断疾病的义务,所以骨髓形态学实验室工作人员应由经过岗位培训的中级职称以上的检验师或者临床医生担任,积累一定的工作经验后方可签发报告^[2]。

形态学分类计数在临床诊断和治疗以及鉴别各种血液系统疾病中仍是必要的依据,所以实验室必须提供进行检验服务所需的仪器、设备和相应环境条件:血液实验室有分辨率高的光学、相差、摄像显微镜等仪器和瑞-姬染色及各种组化学(简称组化)染色;血液研究室有高分辨率的多功能显微镜、全自动超清晰度细胞图像诊断系统,瑞-姬染色及各种组化染色,分子生物学、免疫学、遗传学等研究用的设备和仪器^[2]。

2 临床医生骨髓申请单的规范填写,实验室与临床的沟通和交流

骨髓形态学检查离不开临床资料的提供,临床资料包括:患者的病史、体征,可靠的血象和实验室其他检验结果。临床医师填写的骨髓检查申请单内容正确与否对骨髓形态学结果分析影响很大。如脾功能亢进、淋巴结肿大,骨痛和发热等体征对于形态学诊断的参考意义均很大,都会提供在检验中无法

获取的许多有价值的信息。一些骨髓增殖性疾病、粒细胞缺乏症、恶性组织细胞病、血小板减少症和贫血患者的细胞形态学诊断,常取决于相关的临床或其他实验室资料。对特殊或少见病例除了填写基本内容外,还需填写有关项目,如有原因不明骨痛、疑为多发性骨髓瘤或转移肿瘤时,应填写红细胞沉降率、血液生化以及与肿瘤相关的检查,肝脾是否肿大等;而怀疑溶血性贫血者,则需填写网织红细胞结果等。因此要求医生正确清楚地填写骨髓申请单。

实验室与临床沟通与交流,除了了解骨髓申请单上的患者资料外,尽可能地了解患者更多的临床体征和检查结果。骨髓细胞形态学检查中应仔细、全面寻查对于该病例有意义的诊断线索,发现和分析阳性体征常会从复杂的病情中找出问题所在。如血液检查三系减少且无幼稚细胞患者伴脾大时,首先考虑脾功能亢进;当脾不大时才考虑再生障碍性贫血和难治性贫血。原因不明的脾大而白细胞显著增高时则首先考虑慢性髓细胞白血病或慢性淋巴细胞白血病。在进行骨髓形态学检查时要善于从最基本病史和一般检查中发现诊断上的线索,在此基础上再进行有目的、有计划的某些更复杂的必要的检查,然后再进行周密、客观、细致的分析,进行合理推断,提出诊断和鉴别诊断,从而达到事半功倍的效果。发报告时,一定要结合临床综合判断^[3],并了解疾病可能引起的血液细胞和骨髓细胞数量和质量的改变,尽可能降低漏诊、误诊。经常收集动态观察的病史资料和血液病医师的反馈信息,对提高骨髓学检验工作和检验质量是必要的。

3 制订规范的技术操作规程

制订规范的技术操作规程包括采取样本、制作涂片,瑞-姬染色和各种组化染色。标本的采取、制片、送检及染色等方面的工作,是细胞形态学检查的基础和成败的关键。在实际工作中,标本的采取、制片、染色的差异及细胞本身的千变万化,往往给对细胞的认知带来很大的困难,这就要靠实践来不断提高。

3.1 骨髓取材要求 (1)骨髓穿刺需在用药前进行。有些疾病在治疗数小时内骨髓象就可发生形态学改变的,以致掩盖原来的病理情况,造成诊断假象。如注射肾上腺素后,30 min 就可以使白细胞成倍增加,红细胞升高 20%,血小板升高 10%。又如巨幼红细胞性贫血,经维生素 B₁₂、叶酸治疗 12 h 后,可以使红细胞的形态恢复正常,从而难以准确诊断。因此,骨髓穿刺前用药,不仅影响数量变化,而且可以发生质的变化,给诊断带来困难。在实际工作中经常遇见临床医生在做了一些试验性治疗后才进行骨髓检查,这种方法是不可取的,应该避免。(2)满意的骨髓取材。骨髓细胞形态学检查时,骨髓抽取顺利,抽出的骨髓液中有较多的骨髓小粒、油滴,显微镜下可见骨髓特有的细胞,中性杆状核与分叶核粒细胞的比值大于外周血。骨髓液抽取量最好控制在 0.2~1.0 mL(约 0.5 mL)之间,不宜少于 0.2 mL,因为抽取量太少时除难以掌握外,还不易抽取到骨髓小粒和巨核细胞,而达不到满足细胞形态学检验的要求;相反,抽取量太大时也易造成骨髓液的稀释,而不符合检验要求^[4]。(3)不满意骨髓标本的处理。严格地讲,骨髓取材难以获得满意结果,一是受灶性造血的影响,由于疾病种类及病程的不同,病变局限于骨髓组织的某一部分,有时穿刺可能取不到病变部位,如恶性组织细胞病、多发性骨髓瘤、转移癌、骨髓纤维化等,此时需多次或多部位反复检查;二是骨髓稀释,骨髓取材不佳,混血过多,无参考价值,一般不予报告,避免诊断错误。

3.2 骨髓涂片要求 应有明显的头、体、尾,每一例病例骨髓涂片不应少于 6~8 张,并要求取外周血涂片同时送检。由于外周血有核细胞分化优于骨髓,形态观察分类对于血液病诊断有参考作用。特别是在慢性粒细胞白血病和贫血患者的诊断中外周血细胞形态的观察有非常重要的意义。部分白血病细胞、淋巴瘤细胞和红细胞等外周血涂片形态观察优于骨髓涂片。部分病例血象和骨髓象两者结果结合起来分析,才能做出确切的诊断。如:(1)骨髓象相似而血象有明显区别,如缺铁性贫血、溶血性贫血、急性失血性贫血等,其骨髓象十分相似,但血象之间的变化较大。(2)血象相似而骨髓象变化明显,如非白血病急性白血病、再生障碍性贫血(简称再障)、恶组、恶组的血象呈三系细胞减少而骨髓有显著差异;非白血病急性白血病时,骨髓有核细胞异常过度增殖,伴有原始和幼稚细胞明显增多、成熟停滞现象;再障时,骨髓有核细胞全面增生障碍,有核细胞减低或明显减低,淋巴细胞相对增加;恶组时,骨髓可见多数病理异常组织细胞。(3)骨髓变化不明显,而血象有明显变化,见于传染性单核细胞增多症,以血象出现较多异型淋巴细胞为诊断依据,而骨髓变化不显著。

3.3 送检和登记要求 抽取骨髓标本推片和外周血片应及时送检,收到每个标本应认真核对患者姓名,床号等作好登记。

3.4 染色要求 瑞-姬染色及各种组化染色试剂严格按照临床检验操作规程配制;控制染色时间与染色 pH 范围,骨髓涂片固定和染色时间要比血片长。有时染色时间过长、着色过深或背景有沉渣时,可在涂片上滴数滴甲醇或瑞-姬复合染色液,立即用清水冲洗即可;如作脂类(SBB)等染色时,为避免沉渣,可将涂片血膜朝下染色;大批量标本染色时,可用染色架在染色缸内垂直染色,既能达到一批标本染色效果基本一致,又可避免背景附着沉渣。

4 骨髓涂片观察和细胞形态学标准要求

4.1 骨髓涂片观察的基本要求 强调细胞分类和形态观察应在细胞不重叠、不固缩、结构清晰可辨的涂片区域,细胞分类区

域是以细胞充分展开的区域为准的,达到这一要求往往是片尾和体尾交界处。同时强调巡视和观察尾部及两边界区域的重要性,是集异常细胞之处,故认真巡视此区域是发现问题的关键之处。灵活应用低倍镜调换油镜,熟悉油镜下的形态,低倍镜是发现异常细胞的重要手段,油镜是辨别判定异常性质的工具。要注意细胞多与少之间的关系,避免顾此失彼现象,在鉴别诊断困难的疾病中,仔细观察和分析一些少见细胞常会引起柳暗花明的作用;注意细胞数量和数量的关系,两者既有独立性又有连贯性,在诊断上有的以数量为主,有的以质变为主;在光镜下,辨认某一个或某一类不典型细胞时,要理解单纯的形态学是有一定欠缺的,应多观察视野和涂片,并参考其他资料,经反复识别和分析定之^[5]。同时注意整个涂片背景,而不拘泥于一般所述厚薄均匀处。就单个细胞而言,在识别某一原始细胞时,仅凭镜下几个细胞就下结论为原始粒巴细胞或原始淋巴细胞,从单纯的形态学或对照书本描述的形态来说是对的,但是从整体上看则未必是正确的。因此在阅片过程中或辨认细胞时还应注意涂片中的细胞和染色的背景,多观察几张涂片并寻找相关细胞之间的关系,并密切结合临床和血象资料等,反复去认识和推理或印证来决定或排除某一类细胞的性质。

4.2 形态学特征标准要求 应严格按照血(骨髓)细胞名称及其形态学特征标准对细胞进行分类,正确认识血液病实验诊断标准。目前应用的血细胞形态学标准有 3 种类型:全国血液学工作者座谈会 1960 年 4 月颁布的《统一血细胞名称的规定》和该会委托沈阳医学院编(绘)著的《临床血液学及细胞学图谱、导论和图谱说明》,对我国血细胞名称的规范化、统一化和细胞形态的标准化都起到积极的作用;从 1980 年起,我国血液学工作者就对血液学新成果及法国、美国、英国协作组《白血病分类法》不断地研究、讨论和修改,制定了《血液病诊断及治疗标准》,其中也包括血液学细胞形态学(诊断)标准;中华人民共和国卫生部医政司编写和发行的《全国临床检验操作规程》中所载的骨髓象各阶段细胞的形态特征。血液病诊断标准是根据临床表现和实验室检查,甚至前沿研究的新成果而制定的,对于众多处于基层医疗单位专业人士来说,标准的实用性和掌握的灵活性应该体现。此外,还应结合考虑临床特点及其他实验室检查的异常特征^[6]。骨髓细胞形态学检验报告的规范化,要分清确定性诊断、符合性诊断、疑似性诊断和排除性诊断的内涵,提不出具体意见但又有形态学异常的可作形态学描述。发报告时一定要结合临床及血常规检验结果综合判断,切忌片面、武断。关于这一点可参考《血液学及血液学检验教程》及《全国临床检验操作规程》。

5 认识细胞化学、遗传学、分子生物学在血液病诊断中的重要作用,充实新学科的知识

近年来由于对血细胞的超微结构、细胞免疫学、细胞遗传学、分子生物学、造血干细胞、细胞因子等的研究,推动了血液临床与实验室新知识的迅速发展。从形态学本身而言,当检验中发现的细胞量与质异常对疾病临床期具有独特的意义(判断达 100%)时便作出肯定的诊断,而当所见的异常不具有决定意义时,或用百分比表示某一异常细胞的数量不足以说明患者的主要问题时,便需要其他学科知识和技术的补充与印证,组化染色是形态学检验中必不可少的,对白血病、贫血的诊断和鉴别诊断帮助很大。有资料显示,单纯形态学在急性白血病分型中判断符合率为 64%~77%,形态学分类结合化学染色可以判断符合率达 86%^[7],如急性淋巴细胞白血病及急性非淋巴细胞白血病的鉴别诊断,骨髓增生异常综合征(MDS)与慢

性再生障碍性贫血的鉴别诊断, MDS 与巨幼细胞性贫血的鉴别诊断, 慢性粒细胞白血病与类白血病反应的鉴别诊断等, 都离不开组化检查, 其中过氧化物酶染色、铁染色、碱性磷酸酶染色和酯酶染色是必需开展的。在现代血液学检验飞速发展的时代, 免疫学、遗传学、分子生物学均大量应用于血液病检验, 2001 年 3 月里昂国际会议上血液学及病理学专家提出了急性白血病 MICM 分型, 即形态学分型(M)、免疫学分型(I)、细胞遗传学分型(C)、分子生物学分型(M), 使急性白血病判断符合率达 99%。目前国际血液标准化委员会确定急性白血病分型以形态学、细胞化学和免疫表型相结合为依据, 细胞化学不能提示者, 再以免疫表型补充, 这种方法使 95% 的急性白血病获得诊断的一致性和可信度, 即使在那些没有高级设备的实验室也能达达^[8]。

6 骨髓报告时间和报告后的补充报告

一般骨髓报告在收到标本后 2~3 d 发出报告为宜。但在患者病情危急情况下, 如: 急性髓细胞白血病 M3 型等应及时口头报告初步结果, 并尽快发出报告。发出报告后发现可疑、一时考虑不周或者发现明显遗漏或结论欠缺时, 应及时与临床联系给予补充或者更正^[8]。

7 建立骨髓细胞形态复核和标本保存制度

特殊病例应该由多人读片, 充分探讨, 必要时提请会诊; 在发出报告前应当有专人复核, 以提高骨髓报告质量。骨髓检验申请单和标本应妥善保存, 骨髓涂片和外周血涂片检验后都应贴上标签, 最好在登记结论的同时记录患者的一般资料, 完善病案内容, 保存备案, 以备查证和外送会诊。动态收集和观察患者资料以及在温习旧片中反复观察和推敲是总结经验和自我提高的最好途径。

8 积极参加区域性乃至全国性骨髓涂片室间质评

细胞形态学检查只在自己的“小天地”内埋头工作是不够的^[9]。室间质量评价是评估实验室质量的一项很有效的工作^[10], 通过室间质评, 实验室将自己的检验结果和其他实验室结果进行比对, 找出差距, 进行改进, 有利于参加室间质评的各实验室对血液病知识的了解和检测技术的提高。目前细胞形态学检验室间质量控制多采用质控辨认彩色图片细胞的方法, 促进形态学检验质量的稳定和提高, 但也存在一些问题, 如从彩图上指认各种细胞, 颇有“纸上谈兵”的味道, 仅靠识别单个细胞容易存在片面性和不确定性, 还会因概念不清、“细胞名称编码”不确切、答案不标准等直接关系到质评的结果。通过参加区域性乃至全国性骨髓涂片室间质评可以得到以下一些收获: 经过质评工作, 可以收集到各类型病例资料齐全的骨髓涂片, 特别是一些少见病种的标本, 给检测人员及进修生、实习生带来学习上的帮助, 增加了知识面, 开阔了视野, 通过质控评价及时得到反馈的结果, 可以重新进行镜下阅片, 达到学习提高

的目的; 开展细胞形态学质评工作, 能提高检测人员对细胞形态的识别和诊断水平; 结合细胞化学、免疫学、遗传学技术和临床病史体征, 作出合理的诊断, 这就补充了形态学的不足。全面综合分析作出诊断的室间质评, 比单一的血涂片或骨髓涂片的形态质控更为合适^[11]。另外还可通过专业进修、讲习班、读片研讨会、定期举行或参加区域性、全国性的骨髓读片等活动提高细胞形态学检验的质量。

总之, 要提高骨髓细胞形态学检验的质量, 必须注意培养和提高检验人员的基本素质; 要加强实验室与临床科室的联系, 从根本上杜绝不合格骨髓申请单、骨髓涂片的产生; 做到制片、染色液配制、染色方法、涂片观察及结果报告的标准化、规范化, 并逐步做到辨认细胞形态上的标准统一; 要不断扩大有关的实践和临床知识, 学习外界的先进经验和知识; 积极参与省(市)、卫生部及其他权威机构的实验室室间质评活动, 以确保血液学检验结果的准确性、可靠性、重复性及实验室之间结果的互认, 更好地为临床诊疗服务。

参考文献

- [1] 曹维克, 许文荣. 临床实验室血液学检验的质量管理[J]. 检验诊断与实验室自动化, 2004, 8(2): 68.
- [2] 刘思忠, 刘文海. 血细胞形态学质量控制的现状与建议[J]. 上海医学检验杂志, 2003, 18(2): 117-118.
- [3] 朱伟, 许文荣. 血细胞形态检验质量控制[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(1): 1-2.
- [4] 唐兴洲, 朱廷韬, 李早荣. 骨髓标本质量与骨髓液抽取量相关性实验报告[J]. 现代检验医学志, 2006, 21(5): 45-47.
- [5] 李家增, 王鸿利, 韩思朝. 血液实验学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997: 27-28.
- [6] 彭黎明, 王鸿利. 我国血液病实验室诊断的若干问题[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(7): 401-402.
- [7] 谭齐贤. 临床血液学和血液学检验[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 74-75.
- [8] 史敏, 李波. 主要化学染色在急性白血病中的评价[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(5): 303.
- [9] 卢兴国, 马顺高. 对骨髓细胞学检查的体会[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(3): 170-171.
- [10] 申子瑜. 我国临床实验室质量管理的基本要求[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(11): 700-701.
- [11] 张亚非, 张云生. 骨髓细胞形态学质控分析[J]. 中华医学实践杂志, 2003, 2(1): 70-71.

(收稿日期: 2010-07-14)

床旁分析技术的临床应用及质量管理

王贵萍(广东省深圳市罗湖区中医院检验科 518001)

【关键词】 床旁诊断化验信息技术; 医院管理; 质量控制; 生物安全

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 01. 066 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)01-0113-03

随着经济的发展及新技术、新理念和新的思维引入医学检验领域, 使医学检验技术呈现两大发展趋势。一方面, 是在疾病诊断治疗过程中, 临床检验向高分析速度、高自动化程度、高

智能化水平、高信息传递速度和高精度分析结果方向发展; 另一方面, 由于医学模式和人们对健康理念的改变及自我保护意识的增强, 人们对有关医疗、保健知识的了解和关心程度不断