

应用血液分析仪后复查血片的内容和方法及程序

朱晓辉 何菊英 朱忠勇

血液分析仪的普遍使用,大大提高了临床血液学检验的质量和效率。然而,这类仪器在鉴别血细胞的形态和结构等方面还不够完善,目前仅可作为全血细胞分析的一种过筛手段。在遇见疑问时,还必须在显微镜下复查血片,经过确认、修正或补充后才能发现报告。关于复查的标准、内容、方法和程序,现有的检验医学教科书和操作规程都没有明确的论述。为此,我们根据实践和体会,并结合国内外有关文献,对其标准、内容、方法和程序等作初步探讨。

一、复查的标准

在什么情况下要进行复查,迄今没有统一的标准。有人提出只要仪器给出警示信号(flag),都应进行复查,这种做法对其范围的掌握未免过宽。例如,一个外伤性急性失血的患者,仪器给出了红细胞和血红蛋白偏低的信号,就不一定要为此复查血片。又如,在治疗过程中经常作血液学检验的患者,往往也不必每次都要复查。Dotson^[1]在论述血片复查标准(film review criteria)时建议,每个实验室应自行规定复查的条件,这反映了当前国外较普遍的看法。一般来说,仪器给出异常的参数、直方图或散点图;出现仪器运行提示信号(interpretive flag messages)等,都是复查的条件之一,但要结合仪器状态(例如白细胞三分类的仪器复查率要高于五分类者)和患者情况等作全盘考虑。

二、复查的内容

不少人以为复查就是作白细胞分类,其实不然。复查应包括观察红细胞、白细胞和血小板形态;估计血小板或白细胞数(印证与仪器给出的数据是否大致相符);观察有无血小板聚集或红细胞聚集以及有无特殊形态的异常细胞和寄生虫等。

三、对复查人员的要求

从事血片复查的人员,必须是受过专门训练,具有血液细胞形态学基础与临床知识,并且对血液分析仪十分熟悉,尤其是熟悉各种直方图、散点图的正常和异常图形,并能对异常图形的意义进行解释和评估的人员。

四、复查的方法和程序

1. 复查者首先要仔细阅读血液分析仪给出的各种参数、直方图、散点图和提示信号。对可能存在的血液学异常或技术性影响因素等有一个初步的印象。同时结合患者的临床情况(包括初步诊断等),确定复查的内容和重点。

2. 将血液充分混匀,尽早推成血片并染色。EDTA抗凝血涂片不同于(皮肤穿刺血直接涂片,在细胞形态方面有一些不同)之处;另外,抗凝血多半在体外已储存一段时间,对细胞形态也会产生影响。

3. 先用低倍或高倍镜观察。了解血片染色和细胞分布情况、有无血小板或红细胞聚集(成串、成堆),尾部有无大型、成堆异常细胞等;继续用油镜在涂片厚薄适中处浏览血片,仔细观察红细胞、白细胞及血小板的形态,并估计其数量。如果观察结果与仪器报告相符,不需进行任何补充试验,即可按仪器测定的结果发出报告。

4. 如为贫血或其他血液病患者,其红细胞数量及相关的指标(如MCV、MCH、MCHC)红细胞体积分布宽度(RDW)、直方图或散点图出现异常,则着重观察红细胞的大小、形态、内涵物、着色性、大小一致性以及有无核红细胞等。如有异常,应加以描述并报告。关于红细胞的形态学及其临床意义,内容很多,Bull等在Williams血液学第6版(2001)第22章,专门进行了讨论。他们将外周血成熟红细胞的各种形态分为12类共17种,每一种都有一个基于Basis建议的,以希腊文为词干的国际命名,同时附有扫描电

作者单位: 350025 福州市, 南京军区福州总医院检验医学中心

镜图及其与某些疾病相关性的说明^[2]。由于血液在体外储存过久或涂片时的其他技术原因,有时血片的局部区域可能出现在些假的靶形红细胞、口形红细胞和假的球形红细胞等,缺乏经验的检验者,往往会将其当作真正的异形红细胞。最简单的鉴别方法是浏览涂片的其他区域,如果是真的异形红细胞,全片(而不是个别区域)都可见到同样的异常。

5. 如果血小板数目及直方图、血小板平均体积(MPV)异常,血小板分布宽度(PDW)增加,则浏览血片,首先估计血小板数。Williams等认为,正常情况下,在血片厚薄适中区域(每个红细胞彼此相互接触但双不重叠),每个油镜视野,约有血小板8~15个;或每10~30个红细胞见到一个血小板。当然,这只是一个大致的估计。根据我们的经验,只要产时留心观察,并积累一定经验之后,通过浏览血片,大致估计血小板数并不太困难。与此同时,注意观察血小板的形态。在瑞氏染色的血片上,正常血小板为圆或卵圆形,直径1~4 μm ,胞质无色或淡蓝色,浆内含少许红色颗粒,有时会误认为是核。血小板在小相差悬殊,巨型血小板可达红细胞样大,胞质蓝色加深。由于在不少血小板减少性疾患、血栓性疾病、心血管疾病以及遗传性巨大血小板病等,大血小板会增多;故发现大血小板增多时应予报告^[3]。在观察血小板形态的同时,还应观察有无血小板聚集现象。血小板聚集需要钙离子,因此,用除钙的EDTA抗凝涂片时,血小板分散较好,一般不会发生聚集。同时,血小板会略微肿胀,颜色也较皮肤穿刺血片略淡。但有极少数患者的血小板在EDTA抗凝血液中会反而会发生聚集,造成血小板计数假性降低。此时应改用其他抗凝剂(如枸橼酸钠)或手工计数。这种现象。可能与患者存在依赖EDTA的抗血小板自身抗体有关^[4]。

6. 如果白细胞计数或/和直方图异常,首先浏览血片,估计白细数量并观察有无幼稚或异常白细胞。如未发现与仪器报告不符(可按仪器的结果报告;如发现与仪器报告不符)或有其他异常,则进行显微镜下白细胞分类计数。关于白细胞分类,一般血液检验人员似乎都很熟悉。但要做到准确分类,目前还存在不少困难,个别细胞的分类标准,至今尚未全国统一。

在外周血常规白细胞分类中,将粒细胞分成中性、嗜酸性和嗜碱性三类即可。有时为了协助感染和血液病的诊断,临床医生要求将中性粒细胞进一步细分为分叶核细胞、杆状核细胞、晚幼粒细胞、中幼粒细胞等。区分杆状核与分叶核细胞的界限,一向是困扰血液学检验界的老大难问题。历史上由于对杆状核

所下的定义不同,导致各家报告的杆状核的百分比相差悬殊,其参考值自0%~5%到12%~18%。为此,美国临床病理学会(CAP)推荐如下定义:“成熟的粒系白细胞,具有弯曲、带状的核形,核叶间没有线样细丝(threadlike filament)形成,称为杆状核;如果连接核叶之间的桥(bridge)内有染色质,这种桥就不算细丝,也是杆状核”;“如果细胞核扭曲(twist)、缠绕,造成一部分核压在另一部分核之上,以至整个核的外形看不清楚,应判为分叶核”^[5]。该建议已被美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)所采纳^[6]。按照这一标准,杆状核细胞的参考值为5%~10%。不过,Lawrence认为,尽管有了这个标准,由于检验人员个人的判断和解释不同,在实际工作中仍存在矛盾和不一致的现象。各实验室应按这种统一的标准,对检验人员进行培训,并开展质量控制^[5]。

中性粒细胞的“毒性”变化,对临床诊断和监测感染很有价值。在白细胞增高,中性粒细胞“左移”的血片复检时,应特别注意观察。所谓,“毒性”变化,它是指白细胞在细菌、病毒等抗原,在毒素的刺激下,造成的一种形态学变化。如胞浆内出现“毒性颗粒”、杜尔(Dohle)小体、空泡、脱颗粒以及胞质肿胀等现象;胞核出现固缩(pyknotic)肿胀等。检查这种变化,首先要制备厚薄适中,染色良好的血片。因为血片太厚,细胞缩小,胞质的内容物不易看清;染色太深,会将正常中性粒细胞浆内的颗粒也染得很深而粗,会误认为毒性颗粒;胞质内的空泡和杜尔小体等也被掩盖而不易看清。杜尔小体是一种常在胞浆边缘部出现的淡蓝色小体,实际上是一小块含RNA的胞质,故亦称RNA包涵体。此类小体在重度细菌感染的血片中甚多见,但往往被检验者忽略。在EDTA抗凝血片中杜尔小体往往染呈灰色而不是淡蓝色;如血液储存过久,杜尔小体甚至会消失。应注意的是,血液在体外如储存过久,粒细胞等胞质内也会出现空泡,核也会扭曲、固缩,会误认为毒性变化。

众所周知,外周血中的淋巴细胞,是一类高度异质性的细胞。在病毒、毒素等抗原的刺激下,其中有一部分会发生增殖并向浆细胞或幼稚细胞(母细胞)转化,从而导致多种多样的形态变化。如细胞体积增大;胞质量变多,蓝染加深,有的含有空胞;核呈不规则的形状,染色质变得疏松,偶尔隐约可见核仁或丝状分裂。凡此种种,经常被一些缺乏经验的检验者误认为是白血病的幼稚细胞。过去由于对这类淋巴细胞的本质了解不够,曾有很多命名。我国统称其为异常淋巴细胞,显然欠妥。因为这类细胞都是正常淋巴

细胞对抗原物质的反应,与白血病等出现的恶性(异常)淋巴细胞有根本性区别。目前国外一般称之为不典型淋巴细胞(atypicallymphocytes),NCCLS则建议称其为变形淋巴细胞(variantlymphocytes)。单核细胞形态变化多变,有时准确辨认个别单核细胞比较困难,同一份血标本在不同的仪器上或由不同检验者进行镜下分类,其结果往往不同,以至于有人提出要用细胞化学染色(染非特异性酯酶)或免疫组织化学染色(染分化抗原CD45和CD14)来确定是否是单核细胞^[7],但常规工作难以做到。

外周血片复查操作简单,但技术性很强,并且主要以检验者的主观判断为依据。但一个优秀的血液学检验工作者,根据患者临床表现、血液常规和其他实验室检查结果,认真进行血片镜检(必要时辅以部分细胞化学染色等试验),并进行综合分析,可以使多种常见的贫血、白血病、感染等疾病得到及时、初步、甚至是明确的诊断。

参 考 文 献

- 1 Dotson MA. Multiparameter hematology instrument. In: Martin EAS,Steininger CAL, Koepke JA, eds. Clinical Hematology 2nded. Philadelphia:Lippincott, 1998. 543.
- 2 Bull BS,eds. Morphology of the erythron.. In: Beutler E, Lichtman MA, Collier BS,eds. Williams Hematology 6th ed. Nem York: McGraw-Hill, 2001. 271-284.
- 3 朱忠勇. 准确订数血小板方法学研究进展. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2002, 23:131-133.
- 4 王兆钺,施菊妹,韩悦,等. 具有异常结构的巨大血小板的自发性聚集. 中华血液学杂志, 2002, 23:121-125.
- 5 Lawrence LW. The Neutrophil morphology In: Martin EAS, Steininger CAL, Koepke JA eds. Clinical Hematology 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, 1998. 305-307.
- 6 National Committee for Clinical Laboratory Stsndards: Reference leukocyte differential count (proportional) and eraluation of instrument methods. Approved Standard, NCCLS document H20-A.vol 12,no 1. Villanova, PA, NCCLS, 1992.
- 7 Goossens W, Van Hove I ,Verwilghen RI. Monocyte counting: discrepancies in results obtained instruments. J Clin Pathol , 1991, 44: 224-227.