

• 综 述 •

骨髓细胞学检查的全面质量管理

周格琛 综述, 贺望娇, 韦 维, 梁委军 审校

(广西医科大学第四附属医院/柳州市工人医院医学检验科, 广西柳州 545005)

关键词:骨髓细胞学; 骨髓检查; 质量管理

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 04. 030

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)04-0511-03

骨髓细胞学检查是在光学显微镜下观察骨髓涂片中细胞数量和变化的变化以了解骨髓的造血功能,对疾病的诊断、疗效观察及预后判断有着重要的参考价值^[1]。2008 年,世界卫生组织(WHO)提出造血与淋巴组织肿瘤分类的主要依据是形态学和化学组化、免疫分型、遗传学检查,其中最基础最重要的是形态学^[2]。在日常工作中,多种因素引发的阅片和分析困难常会影响到骨髓像检验的正确判断,甚至误诊,因此,加强骨髓细胞学检查的全面质量管理有着至关重要的现实意义。全面质量管理是指从临床医师开具申请单到完成检验全过程,含报告的审核、发送、样本的归档和检验报告的回顾性分析中的一系列保证质量的方法和措施,包括分析前、分析中和分析后 3 个环节的质量控制^[3]。为了更好地完成此项工作,笔者阅读了多篇参考文献并结合自己的做法和体会加以总结分析,现综述如下。

1 制订计划

查阅相关文献,结合本科室形态学检验工作团队多年来的实践经验,建立骨髓细胞学检验的分析前、分析中和分析后的质量控制程序,注重该程序的培训、考核与落实,让工作流程制度化、标准化。

2 明确预期目标

建立全面的质量管理体系,让临床医师、样本护送人员和形态学检验工作者的责任心和业务水平得到进一步提高,力争使申请单填写的正确率 $\geq 98\%$,送检样本的合格率 $\geq 90\%$,涂片满意率 $\geq 85\%$,染色良好率 $\geq 95\%$,报告的正确率 $\geq 90\%$,患者的满意度 $\geq 90\%$,人为差错率 $\leq 0.1\%$ 。

3 实施步骤

3.1 分析前质量控制

3.1.1 对临床医师及样本护送人员的培训 实验室与临床的交流和沟通必不可少,骨髓细胞学检验工作者有义务对新上岗的临床医师及样本护送人员进行必要的培训,因为只有提供完整的临床资料与合格的检验样本,才能使检验报告更加及时准确可靠。一份合格的骨髓检验申请单应包括患者的基本信息、病例摘要和常规及特殊检查结果,这对于鉴别某一血液系统疾病很有帮助,如巨幼细胞贫血(MA)常伴有消化道疾病、血清维生素 B12 和/或叶酸水平减低,缺铁性贫血(IDA)多由胃肠道疾病或慢性失血引起^[4]、血清铁及铁蛋白水平减低,由于铁蛋白是急性时相反应蛋白,因此某些 IDA 患者的此项检测并不低,多发性骨髓瘤(MM)常伴有溶骨现象引起的骨骼疼痛,其球蛋白大都增高,发病年龄多在 50~60 岁,40 岁以下极少见^[5],因而 40 岁以下无骨痛患者拟诊断为 MM 时需小心谨慎。此外,某些药物可能会引起骨髓象发生改变:如升白细胞

药能刺激粒系造血祖细胞和中性粒细胞的增殖和分化,使骨髓中的粒系一过性增生^[6],三氧化二砷治疗急性髓细胞白血病 M3 型(AML-M3)6 周内骨髓中红系受抑,而后则造血恢复正常甚至旺盛^[7],服用他巴唑会引起急性造血功能停滞^[8],骨髓中出现巨大原始红细胞或巨大早幼粒细胞是其特征性改变。

医护人员与患者进行有效的沟通,消除其恐惧心理,有利于穿刺的成功^[9]。初诊患者行骨髓穿刺应该在治疗前,因为药物可能会使骨髓象有所改变,从而掩盖了其真实的病理情况^[10]。成年人的穿刺部位首选髂前或髂后上棘,2 岁以下的小孩主张选择胫骨粗隆穿刺^[11]。穿刺的部位不同,细胞的组成和数量或许会有一定的差异,在病变呈现局灶性分布的疾病中,差异更明显,所以必要时要多部位取材,以便全面了解骨髓的造血情况。在怀疑转移癌或 MM 时,若在影像学检查发现的病变部位穿刺,则阳性率更高。骨髓的抽吸量不宜过多,通常以 0.2~0.3 mL 为宜,否则有可能会被外周血稀释,值得注意的是,如遇多次取材不良或干抽时,应考虑做骨髓活检^[12]。由于骨髓液比血液黏稠,因而推片时推玻片与载玻片的夹角要比推血片时小些而且速度要放慢一点,推出的骨髓片应有头、体、尾且长度、宽度合适。在潮湿的南方或遇到特别贫血的样本,须在空气中迅速摇动扇干,避免细胞皱缩变形或溶解^[13]。推好的骨髓片晾干后放入专用的样本盒送检,一人一盒并贴上标签,以防止混淆又起到防潮、防尘的作用。样本送达实验室时,接收者确认合格后与护送人员有个交接记录,以便查证。

3.1.2 样本的编号与染色 骨髓涂片到达细胞室后,及时对其进行登记和编号,认真核对申请单与样本是否属同一患者,杜绝张冠李戴,最好把编号和患者姓名一同写在玻片上,以便在阅片时进行二次核对。骨髓片的染色可使用国际血液学标准化委员会推荐的 Romanowsky 染色法^[14],但用 Wright 或 Wright-Giemsa 混合染色法也是不错的选择,总之,须严格按照标准化操作程序(SOP)进行,国内相继出现的一些快速和改良的染色方法对骨髓细胞形态学检验不一定适用,也就是说要对染色效果进行评估,染色好的骨髓片外观呈淡紫红色,显微镜下,红细胞呈粉红色或琥珀色,在厚薄均匀处,略有碟状感,无染料沉渣,白细胞的核染成紫红色、胞质鲜艳并显示出各种细胞特有的色彩,颗粒清楚,核染色质和副染色质结构清晰,形态易辨^[15]。

3.2 分析中质量控制

3.2.1 显微镜检查 阅片前应仔细阅读临床资料,不祥之处及时与临床沟通,善于从基本病史和普通检查中发现有价值的线索,某些阳性体征或检查结果可能会让研究者从复杂的病情中找到问题所在^[16],总之,对患者的病情有个初步印象,了解

临床医师做骨髓穿刺的目的,重点要解决什么问题,以便看片时有的放矢。低倍镜观察取材、涂片、染色情况并进行巨核细胞计数。取材良好的涂片可见骨髓小粒及骨髓所特有的细胞,如幼红细胞、浆细胞、组织嗜碱细胞、吞噬细胞等,杆核与分叶的比值大于外周血中杆核与分叶的比值。注意涂片的边缘、尾部或骨髓小粒周围有无体积较大或成堆分布的异常细胞,如巨大异常组织细胞、霍奇金细胞(Reed-Sternberg 细胞)、巨大多核骨髓瘤细胞、转移癌细胞、戈谢细胞、尼曼-匹克细胞等。发现可疑细胞在油镜下确认。以涂片细胞分布均匀、染色良好部位判断增生程度并作为油镜检查区域(一般位于体尾交界处),首先观察多个视野,结合先前低倍镜印象对整张骨髓片有个初步认识,然后进行有核细胞分类计数和形态学观察。

3.2.2 结合化学染色 细胞化学染色是以形态学为基础,应用化学反应的原理及产物对骨髓细胞内的酶类、脂类或铁等物质作定性、定位分析的方法,是诊断血液系统疾病必不可少的手段,对血液病的诊断和鉴别诊断及判断白血病的类型起到至关重要的作用^[17]。通常化学染色试剂厂家可以买到试剂盒,需购买正规厂家的产品并严格按照说明书进行操作,必要时做阴性对照,切忌使用过期产品,日常工作中最常用到的组化有过氧化酶(POX)染色、铁染色和中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)染色等。在做 POX 染色时,样本在未染色前切勿接触氧化剂,以防细胞内过氧化酶被破坏或受抑制,此外过氧化氢的浓度至关重要,以 0.05 mol/L 为最适,过高会抑制 POX 的活性,过低则会降低反应性,甚至出现假阴性^[18]。急性白血病形态学分型(FAB)中指出急性淋巴细胞白血病中病理细胞 POX 阳性率 $<3\%$,笔者在日常工作中发现 POX 阳性率 $<3\%$ 甚至为阴性者尚有部分病例经 MICM 分型最终确诊为急性髓系白血病,故在做形态学检验时,对于 POX 阴性的病例不能草率地考虑为急性淋巴细胞白血病,必须仔细观察原始细胞的形态特征,加做组化苏丹黑 B、粒系特异性脂酶及非特异性脂酶+氟化钠抑制实验并结合临床资料及其他检查全面分析。当骨髓增生异常综合征(MDS)与 MA 难以鉴别时,糖原(PAS)染色幼红细胞阳性率增多增强时,MDS 可能性大^[19]。做铁染色时,环境温度过低要置 37℃ 环境中染色或适当延长染色时间,所用的玻片及器具必须清洁、以防被污染,亚铁氰化钾-盐酸应用液临时配制。做 NAP 染色时,样本要新鲜,乙二胺四乙酸(EDTA)会抑制 NAP 的活性^[20],故不能用 EDTA 抗凝血,一般来说用非抗凝样本最合适。

3.2.3 结合免疫组化 免疫组化在骨髓细胞学检查中有一定的作用,特别在形态学无法判断的急性髓细胞白血病微分化型(AML-M0)、急性巨核细胞白血病(AML-M7)和 MDS 的微小巨核细胞的鉴别中。CD41 阳性支持 M7 或 MDS 中的微小巨核细胞;在 POX 和粒系特异性酯酶均呈阴性反应的情况下,CD13、CD33、CD117、CD123 阳性(积分 >2)可考虑急性髓系白血病,POX、苏丹黑 B(SBB)阴性、无奥氏小体、免疫组化有髓系抗原表达、B 细胞和 T 细胞分化抗原阴性,考虑 AML-M0。不过据笔者了解,目前市面上的免疫组化试剂都没有证,不能用于临床诊断,但可用于科研,因而用流式细胞仪进行白血病细胞免疫分型势在必行。

3.2.4 重视外周血涂片 在进行骨髓细胞学检查时,外周血

涂片的重要性不可忽视,某些疾病骨髓像改变不明显而血象有显著变化,如传染性单核细胞增多症患者的外周血涂片中异淋通常大于 10%^[21],而骨髓象中异淋少见或不见,贫血患者骨髓象中成熟红细胞形态的改变不如外周血明显^[22]。另外,由于外周血中的细胞来源于骨髓,急性白血病时外周血原始细胞的分化程度较骨髓中的好,相对容易辨认,因此结合血象分析更有利于急性白血病类型的判断。有文献报道,骨髓象结合外周血涂片检查有更高的临床应用价值,更有利于找到全血细胞减少性疾病的病因^[23]。

3.2.5 尊重科学 血液系统疾病的诊断要以“当今最好最可靠的证据为基础”的原则^[24],结合临床资料和实验室综合检查进行全面分析,对难以明确诊断的病例,切忌轻率下结论,以免引起医患纠纷。如某一患者的骨髓象红系增生显著,易见豪乔氏小体、卡波氏环和嗜多色性红细胞,不能轻易下“溶血性贫血”的诊断,而应该下“符合溶血性贫血骨髓象”或“溶血性贫血可能性大”,让临床明确下一步检查的方向,最终通过溶血方面的实验室检查而得到确诊。对于低增生 MDS 与 AA 的鉴别诊断在形态学上存在盲点,笔者发现有的患者骨髓细胞学检查呈典型的 AA 改变,增生减低,淋巴细胞比例相对增高,浆细胞、组织细胞易见,巨核细胞缺如,未见明显的病态造血,骨髓小粒呈空网状,其间造血细胞极少,淋巴细胞、浆细胞、成纤维细胞等非造血细胞相对增多,染色体检查却支持 MDS,查阅相关资料后,了解到部分进展缓慢的早期 MDS 恶性克隆处在非显性状态当中,只有充分结合临床资料与实验室综合检查才能提高早期恶性克隆的识别率^[25],部分进展缓慢的早期 MDS 在发病初期染色体首先发生变异,而细胞形态学的改变稍微要晚些。

3.3 分析后质量控制

3.3.1 原始资料的归档与保存 骨髓检验报告发出后,要对原始资料和所有的染色涂片及组化片做好标记并归档保存至少 5 年^[26],未染色的涂片笔者建议保存 2 周,以备查证、外送会诊或加做组化项目。报告单可以电子版的模式保存于 LIS 系统的服务器中并注意定期备份。

3.3.2 疑难或可疑病例的复片 报告发出后,有可疑之处或结论欠科学的,要及时与临床沟通,必要时予以更正或再发补充报告。对所有已发出的报告尽可能建立跟踪确认制度,查看报告意见与出院诊断是否相符,如标本量实在过大,难以逐一完成,则最起码对于疑难病例或特殊病例能做到以上要求。报告意见与出院诊断不符合的,要反复观察、仔细推敲,找出原因,必要时再与临床沟通并组织形态学工作人员进行集体读片会诊,以便不断提升形态学检验团队的整体工作能力。

3.3.3 积极参加室内质评与内部人员的比对 通过参加卫生部或省级形态学室间质评,为形态学检验工作者积累经验,提高对骨髓细胞的认知能力从而提升业务水平^[27],而内部人员比对有助于本实验室工作人员之间对同一个细胞有统一的认识,有分歧之处必须仔细琢磨,共同讨论,求同存异,举一反三,持续改进。

3.3.4 再学习和再教育 随着科学的迅速发展,知识更新的日新月异,形态学检验工作者的再学习和再教育是必不可少的,不能做井底之蛙、关起门来看细胞,而是多走出去看看,积极参加本地区或全国性的各种相关学术会议,与时俱进,时刻

关注并掌握本专业的新知识、新理念、新观点。

4 小 结

2015 年 3 月至 2016 年 2 月在该管理体系下工作达到了预期目标,申请单填写的正确率为 98.01%(1 084/1 106),送检样本的合格率为 95.84%(1 060/1 106),涂片满意率为 88.07%(974/1106),染色良好率为 98.02%(1 039/1 060),报告的正确率,以出院诊断为正确诊断为 95.38%(1 011/1 060),患者的满意度为 96%,随机调查这 1 年来做过骨髓细胞学检查的 100 位患者,人为差错率为 0.00%。另外持续质量改进(CQI)是以质量保证和质量控制为基础发展起来的管理体系,更加注重各环节过程质量管理的更新^[28]。在分析前方面,研究者下一步将从医院的层面进一步对临床医师,尤其是低年资医师进行培训和考核,将涂片的满意率再提升,力争达到 90%以上。报告的正确率是骨髓细胞学检查的生命线,在今后的工作中一定要增强责任心,坚持再学习和再教育,做到工作学习化,学习工作化,如此反复循环不断提升专业技能和工作能力,以便更好地为患者服务。骨髓细胞学检查是检验医学的核心和基础之一,也是一种最有效、最经济、最经典的血液系统疾病诊断或鉴别诊断的手段。但近年来由于过度追求检验的经济效益和时效性,再加上自动化理念的引导,部分医院出现不重视形态学的现象,然而形态学检验结合免疫标记、遗传学及分子生物学技术已成为当今最重要的检验手段之一,甚至是某些疾病诊断或鉴别诊断的金标准^[29],只有管理层高度重视并和一线工作者做好全面的质量管理才能让骨髓细胞形态学检查更好地为临床和患者服务,发挥更大的社会效益。

参考文献

- [1] 童春容. 血液学检验技术在血液肿瘤诊治中的应用及展望[J]. 实用检验医师杂志, 2015, 7(4): 197-202.
- [2] 王建忠, 张时民, 刘贵建, 等. 临床检验诊断学图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [3] 丛玉隆, 李顺义, 卢兴国. 中国血细胞诊断学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010.
- [4] 葛均波, 徐永健, 钟南山, 等. 内科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [5] 许文荣, 王建中, 王学锋, 等. 临床血液学与检验[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [6] 梁委军, 贺望娇, 周格琛, 等. 骨髓细胞形态学分析前影响因素分析[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(2): 136-138.
- [7] 杨惠芬, 吴楠, 肖君, 等. 三氧化二砷对急性早幼粒细胞白血病患者骨髓红细胞系的影响[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2000, 34(1): 63-64.
- [8] 许先吟, 张舜玲, 陈立. 他巴唑致急性造血功能停滞诊治探讨[J]. 医师进修杂志, 2000, 23(6): 30-31.
- [9] 邓天顺. 骨髓细胞形态学诊断检查的质量控制探讨[J]. 中国社区医师(医学专业), 2012, 21(14): 266.

- [10] 易运林. 骨髓细胞形态学检验质量管理及临床意义分析[J]. 中国当代医药, 2011, 18(29): 100-101.
- [11] 尚红, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [12] 褚金龙, 邢桂芝, 李伟, 等. 骨髓涂片结合活检诊断 120 例血液病患难者的分析[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(8): 1497-1499.
- [13] 张绍林. 临床检验[M]. 成都: 四川科学出版社, 1992.
- [14] 宋晓颖, 袁宝军, 郝冀洪. 血涂片常规染色的历史变迁与发展前景[J]. 检验医学, 2015, 30(9): 962-957.
- [15] 刘成玉, 罗春丽, 吴晓蔓, 等. 临床检验基础[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [16] 陆明清. 骨髓细胞形态学检验质量管理及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(1): 111-113.
- [17] 吴彩霞. 骨髓细胞形态学检验质量控制相关因素分析[J]. 青海医药杂志, 2015, 45(4): 59-61.
- [18] 侯振江, 杨晓斌. 血液学检验实验指导[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [19] 周格琛. 巨幼细胞贫血与难治性贫血的细胞形态学分析[J]. 吉林医学, 2011, 32(16): 3311-3312.
- [20] 张立文, 冉宝春, 王海, 等. 成人中性粒细胞碱性磷酸酶影响因素探讨[J]. 军医进修学院学报, 2004, 25(2): 152-153.
- [21] 张之南, 沈悌, 包承鑫, 等. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007.
- [22] 卢兴国. 四片联检模式在血液形态学诊断中的作用[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2014, 23(3): 641-664.
- [23] 贾利敏, 张景丹. 骨髓形态学结合外周血常规检查对全血细胞减少性疾病的诊断价值[J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(16): 1792-1794.
- [24] 谭齐贤, 于国增, 王霄霞, 等. 临床血液学和血液检验[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [25] 程虹, 杜伟, 江明, 等. 世界卫生组织标准在骨髓增生异常综合征诊断分型中的应用[J]. 白血病, 2012, 21(5): 297-299.
- [26] 许文荣, 王建中, 冯文莉, 等. 临床血液学检验[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [27] 方美玉. 骨髓涂片检查室间质量评价分析[J]. 现代实用医学, 2014, 26(4): 431-432.
- [28] 黄胜, 许容芳, 姚丹, 等. 持续质量改进在弥漫大 B 细胞淋巴瘤化疗管理中的应用[J]. 护理管理杂志, 2014, 14(7): 488-490.
- [29] 楼慧萍. 谈检验科的全面质量管理[J]. 中华医院管理杂志, 2003, 20(5): 276-278.

(收稿日期: 2016-08-28 修回日期: 2016-10-18)