

## · 标准与讨论 ·

## 血细胞形态学分析中国专家共识(2013 年版)

中华医学会血液学分会实验诊断血液学学组

血细胞形态学分析是血液病诊断分型的基本实验室检查,现今,国内不同单位在血细胞分析的操作、形态学描述术语和报告等方面极不统一<sup>[1]</sup>。为了规范血细胞形态学分析,中华医学会血液学分会实验诊断血液学学组组织国内有关专家在系统复习文献的基础上结合我国实际情况,经过反复讨论,形成了本共识。

## 一、名词与定义

1. 髓系原始细胞:髓系原始细胞包括原粒细胞、原单核细胞和原巨核细胞。原粒细胞分为两类:一类是无嗜天青颗粒的原粒细胞(亦称原粒细胞 I 型),另一类是有嗜天青颗粒的原粒细胞(亦称原粒细胞 II 型)<sup>[2]</sup>。原粒细胞与早幼粒细胞的鉴别点是早幼粒细胞有清晰可辨的高尔基区(油镜下表现为核旁空晕区)。幼单核细胞、急性早幼粒细胞白血病的粗颗粒和细颗粒早幼粒细胞、 $M_{2b}$  的异常中幼粒细胞为原始细胞等同细胞(应归入原始细胞计数中)。原红细胞只有在诊断纯红系白血病时视为原始细胞等同细胞归入原始细胞计数中。不成熟单核细胞<sup>[3]</sup>以及小的发育异常巨核细胞和微巨核细胞不是原始细胞等同细胞,不应计入原始细胞计数中。

2. 不成熟单核细胞:单核细胞包括原单核细胞、幼单核细胞、不成熟单核细胞和单核细胞<sup>[3]</sup>。不成熟单核细胞胞体比单核细胞小,胞质嗜碱性比幼单核细胞弱但比单核细胞强,胞核转曲/有切迹,核染色质比幼单核细胞更浓集,极少可见核仁<sup>[3]</sup>。从形态上区分幼单核细胞、不成熟单核细胞和单核细胞有利于急性髓系白血病(AML)  $M_{5b}$  与慢性粒-单核细胞白血病的鉴别诊断。

3. 发育异常:发育异常(dysplasia)<sup>[4]</sup>是指形态学上异常发育,并不是与骨髓增生异常综合征(MDS)同义。这一名词只能用于 3 个髓系系别,其他系别细胞表现相似而形态学上异常发育者,如淋巴细胞和浆细胞,应依惯例冠以“不典型(atypical)”,“不典型”也适用于肥大细胞。造血发育异常可产生细胞学异常的红细胞[如异形红细胞或二形性(dimorphic)红细胞组群]或血小板(如巨型、少颗粒或有异常颗粒),然而,“发育异常”这一名词应限于有核细胞。正在接受集落刺激因子治疗的患者不能进行发育异常评估。此外,中性粒细胞颗粒增多、增粗常常是感染所致,这种细胞在诊断 MDS 或确认 AML 多系发育异常时不应计入发育异常

细胞中。

4. 原始细胞非红系细胞计数:原始细胞非红系细胞计数(NEC)是 1985 年 FAB 协作组 AML 修订诊断标准中为了鉴别 AML 与 MDS 而提出的。为了鉴别 AML- $M_6$  和 MDS,在骨髓有核细胞分类计数时,当红系有核细胞占骨髓有核细胞比例 $\geq 0.50$ 时,原始细胞比例应按 NEC(除去红系有核细胞以及淋巴细胞和浆细胞等非造血细胞)计算,如果原始细胞比例 $\geq 0.20$ 则应诊断  $M_6$ ,否则诊断 MDS。当确定患者是诊断 AML 或 MDS 后,在进一步进行分型诊断时,AML 是按原始细胞占 NEC 的比例,而 MDS 则是按原始细胞占有核细胞的比例。

## 二、血细胞形态学分析步骤

1. 标本收集与涂片制备:取髂骨(一般取自髂后上嵴,如果患者只能平卧或根据病情需要,必要时取自髂前上嵴或胸骨,儿童还可以选择胫骨)骨髓液涂于载玻片上,涂片上血膜应位于涂片中央位置,呈“舌头状”,分为头、体、尾三部分,一般涂片 10 张<sup>[5,6]</sup>。每张骨髓涂片应用铅笔清晰注明患者姓名、标本来源、取材日期,并附有唯一的条形码标识。血膜过厚、涂片过于弥漫分布、出现凝块,均属于不合格标本。

2. 涂片染色:选取 2 张合格骨髓涂片进行染色,染液选取瑞氏-姬姆萨复合染液<sup>[7]</sup>,通常情况下,室温染色 15~30 min,流水冲去染液,待干燥后贴上纸质标签,注明患者姓名、标本来源、取材日期及唯一的条形码标识。注意事项:①未干透的血膜不能染色,否则染色时血膜易脱落;②注意染色时间与染液浓度、染色时温度成反比,而与细胞数量成正比;③冲洗时不能先倒掉染液,应用流水冲去,以防染料沉淀在血膜上;④染色过淡时,可以复染;⑤染色偏酸或偏碱时,均应更换缓冲液重染。对于细胞中各种蛋白质而言,如环境  $pH < pI$ (蛋白质的等电点),则该蛋白质带正电荷,即在酸性环境中正电荷增多,易与酸性伊红结合,染色偏红;相反,则易与美蓝天青结合,染色偏蓝。因此,应使用清洁、中性的载玻片,稀释染液必须用  $pH 6.8$  缓冲液,冲洗玻片必须用流水。

3. 光学显微镜下细胞形态学分析<sup>[6]</sup>:

(1) 低倍镜分析:①判断取材、涂片、染色是否满意:涂片太厚,细胞聚集不能展开,细胞形态不好辨认;涂片太薄,细胞全被推散,分布不匀,分类困难。染色太深,其结构不清,染色太浅,也不易形态辨认。良好的涂片应该是细胞恰好分开又不太分离、细胞染色后红蓝分明。②判断增生程度:根据骨髓中有核细胞与成熟红细胞的大致比例将骨髓细胞增生程度分为 5 级:极度活跃(markedly increased)(有核细胞:

成熟红细胞为 1:1)、明显活跃 (increased) (有核细胞: 成熟红细胞为 1:10)、活跃 (normal) (有核细胞: 成熟红细胞为 1:20)、减低 (reduced) (有核细胞: 成熟红细胞为 1:50) 和重度减低 (acellular) (有核细胞: 成熟红细胞为 1:300)。<sup>③</sup>评估骨髓小粒和油滴多少并观察计数巨核细胞数目及大体细胞状况: (-): 无油滴; (+): 油滴少且小, 呈细沙状, 均匀分布, 涂片后于血膜尾部有很少油滴; (++) : 油滴稍多且大, 有的直径达 1 mm 以上, 涂片后于血膜尾部有油滴, 不易干燥; (+++) : 油滴聚集成片。大体观察细胞状况包括是否有瘤细胞团 (如淋巴瘤、骨髓瘤、转移瘤) 及少见细胞 (如肥大细胞、朗格罕斯细胞和戈谢细胞等), 并计数巨核细胞。一般情况下, 骨髓穿刺涂片不适合用于肿瘤诊断, 然而不成熟细胞成堆分布则提示转移瘤, 应报告为“不能分类细胞”, 并应通过骨髓活检和适当的免疫细胞化学染色来加以确认。<sup>④</sup>骨髓涂片骨髓稀释判断标准: 如抽吸骨髓时混进血液, 称为骨髓部分稀释。如抽出的骨髓液实际上就是血液, 称为骨髓完全稀释。具体特征如下: <sup>①</sup>完全稀释: 与血涂片的细胞成分完全一样; <sup>②</sup>部分稀释: 骨髓小粒和油滴少或不见, 骨髓特有细胞少, 有核细胞少, 成熟细胞: 幼稚细胞 > 3: 5。

(2) 油镜分析: 从血膜中部 (体尾交界部) 开始, 由上至下 (或由下至上), 进行骨髓有核细胞 (ANC) 计数, 包括原粒细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞、中性杆状核细胞、中性分叶核细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞、原单核细胞、幼单核细胞、不成熟单核细胞、单核细胞、淋巴细胞、浆细胞和有核红细胞, 不包括巨核细胞、巨噬细胞和非造血系统细胞。至少计数各类有核细胞 500 个 (如果细胞数过少可计数 2 张涂片或仅计数 200 个), 根据髓系 (包括粒系和单核细胞系) 细胞总数和红系细胞总数算出髓系: 红系比例。

详细观察各系统细胞: <sup>①</sup>粒细胞系统: 观察每一阶段细胞的比值、细胞的大小、细胞核形态及成熟度、胞质的颜色及内容物 (空泡、吞噬物、颗粒、Auer 小体)。<sup>②</sup>红细胞系统: 各阶段细胞比值, 形态有无变异 (如巨幼样变、多核、核出芽等), 胞质量及颜色, 是否有点彩、H-J 小体等, 成熟红细胞大小、中心浅染区大小、形态变异等。<sup>③</sup>单核细胞系统: 观察每一阶段细胞的比值、细胞的大小、细胞核形态及成熟度, 胞质的颜色和内容物 (空泡、包涵体、Auer 小体等)。<sup>④</sup>淋巴细胞系统: 各阶段细胞比值、大小形态及胞质内有无空泡、包涵体等。特别要注意观察淋巴细胞胞质多少、颜色有何变异。如果淋巴细胞呈聚集性分布, 则这些呈聚集性分布的淋巴细胞不应计入 ANC, 但应在报告中加以描述。<sup>⑤</sup>浆细胞系统: 占有核细胞的百分数, 有无原浆细胞、幼浆细胞, 浆细胞胞质有无其他病理改变。<sup>⑥</sup>巨核细胞系统: 分类计数 25 个巨核细胞, 计数各分化成熟阶段巨核细胞数。要注意巨核细胞的大小、形态、成熟程度、胞质中的颗粒及有无空泡变性。血小板多少及形态、分布。<sup>⑦</sup>骨髓小粒: 判断细胞占骨髓小粒的面积和骨髓小粒的细胞成分 (造血细胞和非造血细胞比例)。<sup>⑧</sup>特殊细胞及分类不明细胞: 注意涂片中有无细胞成团和巨

大病理细胞 (如尼曼-匹克细胞、转移瘤等)。在计数分类过程中, 可能会见到个别有核细胞, 其形态特异, 不能归入系统, 属分类不明细胞, 其形态应详细描述。<sup>⑨</sup>非造血细胞: 计数 500 个有核细胞时, 会观察到肥大细胞、网状细胞、成骨细胞、破骨细胞等非造血细胞, 不应计入有核细胞计数, 但应在骨髓报告中加以描述。<sup>⑩</sup>寄生虫, 如疟原虫、黑热病小体等。

(3) 外周血细胞计数: 在骨髓穿刺时同时应取外周血涂片、染色, 进行有核细胞分类计数 (200 个细胞) 和细胞形态分析, 并进行网织红细胞计数 (这对结合骨髓有核细胞计数来判断红细胞系高增生时红细胞系是有效造血还是无效造血尤显重要)。形态学分析要求同骨髓涂片。

### 三、血细胞形态学分析报告

骨髓分析报告应包括的信息见表 1<sup>[6]</sup>, 骨髓报告应包括外周血细胞计数, 如血红蛋白值、白细胞计数和白细胞分类计数 (中性粒细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞、单核细胞、淋巴细胞和其他可能存在的细胞) 和血小板计数, 以及外周血涂片细胞形态学描述。

骨髓报告中应描述骨髓穿刺取材 (包括涂片制备和染色) 是否满意。骨髓涂片是否有骨髓小粒, “干” 抽, 或为血液稀释抽吸也应加以说明。

对骨髓细胞增生程度的判断, 骨髓活检切片好于骨髓涂片, 特别是患者伴有骨髓纤维组织增生时。一些异常表现, 如细胞坏死或呈胶冻状、背景染色、细胞间蛋白样物质、缟钱状或结晶体等也应加以描述。

所有系别细胞和观察到的任何异常细胞均应做出量和质的描述。红系和粒系细胞的比例 (增高、正常或减少)、成熟是否正常以及形态应加以详细描述。应报告原始细胞比例、淋巴细胞和浆细胞比例以及是否有形态异常、巨核细胞数和形态。当巨噬细胞数增多时应加以指出, 形态异常 (噬血或噬红细胞、有诸如微生物或晶体等包含物、胞质空泡或海蓝组织细胞) 也应描述。肥大细胞增多、任何不典型形态特征或聚集均应加以记录。任何异常细胞或成堆分布转移瘤细胞应加以描述, 如果破坏细胞显著增多也应描述。

髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, POX) 染色、苏丹黑 B 染色 (Sudan black B, SBB)、氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶染色 (naphthol AS-D chloroacetate esterase, NAS-DCE)、 $\alpha$ -丁酸萘酚酯酶染色 ( $\alpha$ -naphthyl butyrate esterase,  $\alpha$ -NBE)、酸性非特异性酯酶染色 (acid non-specific esterase, ANAE)、过碘酸-碱性复红反应 (PAS, 又名糖原染色), 以及酯酶 + 氟化钠抑制实验有助于原粒细胞、早幼粒细胞、原单细胞、幼稚单核细胞和原幼淋巴细胞的确认。中性粒细胞碱性磷酸酶 (N-ALP) 和铁染色 (iron staining) 也应列为常规检查。

如果可以依据形态学做出明确诊断则在报告结论中写出诊断, 不能做出明确诊断的, 则应对主要发现做出描述。如果此次骨髓穿刺是对疾病进行监测且此前做过骨髓穿刺, 则此次骨髓发现应与前次做比较, 对变化做出描述。

表 1 骨髓穿刺涂片报告示例

医院名称:
骨髓涂片 ID 号:
患者资料: ID 号、姓名、年龄、性别、主要症状和体征
初步诊断:
骨髓穿刺日期、部位、穿刺难易程度(如干抽)
外周血: 血红蛋白值、白细胞计数和分类计数、血小板计数
骨髓涂片形态学描述
取材、涂片和染色的质量
细胞增生程度
有核细胞分类计数(通常计数 500 个有核细胞)
粒系: 红系 = X: 1
髓系: 粒系百分比(增高、正常、减低), 各阶段比例(左移、正常、右移), 各阶段粒细胞形态有无异常。单核细胞比例形态描述
红细胞系: 红系百分比(增高、正常、减低), 组成, 幼红细胞形态描述, 成熟红细胞形态描述
巨核细胞系: 低倍镜全片共见巨核细胞 XX 个, 分类 25 个, 其中, 原始巨核 X 个, 幼稚巨核 X 个, 成熟有血小板形成巨核 X 个, 成熟无血小板形成巨核 X 个, 裸核 X 个。血小板数量、分布(单个散在、小堆、大堆、大片状), 形态(有无大血小板或不聚集)
淋巴细胞: 淋巴细胞比例和形态描述
浆细胞: 浆细胞比例和形态描述
其他造血细胞
异常细胞(如转移瘤细胞)
外周血涂片细胞分类计数的比例和形态学描述
结论:
签字和报告日期:

**参加共识讨论的专家:**中国医学科学院血液病医院(王建祥、肖志坚);第二军医大学长海医院(王健民、宋献民、周虹);上海交通大学医学院附属瑞金医院(熊树民、赵维莅);北京大学人民医院(刘开彦);南京医科大学第一附属医院(李建勇);华中科技大学附属同济医院(周剑峰、黄丽芳);第二军医大学长征医院(侯健);苏州大学第一附属医院(陈苏宁、何军);山西医科大学附属第二医院(杨波);第四军医大学附属西京医院(陈协群);天津医科大学总医院(邵宗鸿、刘鸿);浙江大学医学院第一附属医院(童向民);中国医科大学第一附属医院(王亚柱);福建医科大学附属协和医院(黄慧芳);河北燕达医院陆道培血液肿瘤中心(伍平);贵阳医学院附属医院(王季石);中国医学科学院北京协和医院(赵永强);南方医科大学南方医院(徐兵);北京大学第一医院血液室(朱平);吉林大学医学院第一附属医院(崔久嵬);哈尔滨市血液肿瘤研究所(邱林);上海交通大学医学院附属仁济医院(陈芳源);河南省人民医院血液病研究所(翟亚萍)

(执笔:肖志坚)

(主审:王健民、陈协群)

### 参考文献

- [1] 肖志坚,郝玉书. 进一步规范和细化我国血细胞形态学检测. 中华血液学杂志, 2011, 32: 73-74.
- [2] Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. Diagnosis and classifi-

cation of myelodysplastic syndromes: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. Haematologica, 2008, 93: 1712-1717.

- [3] Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, et al. Morphological evaluation of monocytes and their precursors. Haematologica, 2009, 94: 994-997.
- [4] Zini G, Bain B, Bettelheim P, et al. A European consensus report on blood cell identification: terminology utilized and morphological diagnosis concordance among 28 experts from 17 countries within the European LeukemiaNet network WP10, on behalf of the ELN Morphology Faculty. Br J Haematol, 2010, 151: 359-364.
- [5] Bain BJ. Bone marrow aspiration. J Clin Path, 2001, 54: 657-663.
- [6] Lee SH, Erber WN, Porwit A, et al. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. Int J Lab Hematol, 2008, 30: 349-364.
- [7] Woronzoff-Dashkoff KK. The wright-giemsa stain. Secrets revealed. Clin Lab Med, 2002, 22: 15-23.

(收稿日期: 2013-05-04)

(本文编辑: 徐丽娟)