

显微摄片技巧在尿液形态学教学中的应用

张娟安 王长征 肖秀林 王昌富

作者单位:434020 荆州市,华中科技大学同济医学院附属荆州医院检验医学部

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2012.04.016

尿液有形成分检查是临床检验工作中除血液检验外人工镜检数量最多的项目^[1,2]。随着自动化检验仪器技术的发展,实验室检验人员对传统可溯源的“金标准”——显微镜检查法有所忽视,且专业技术良莠不齐。为提高检验工作者的尿液形态学,特别是未染色细胞形态学的辨识能力,教学和培训工作显得十分重要,而其中图片教学是尿液形态学重要和有效的手段之一。笔者在我科通过 ISO15189 认证的全科培训工作中,发现图片教学的一些不足之处,比如识别疑难成分时有困难,主观性大;对有形成分的认识不够深刻,看过即忘等。为了解决这些问题,本文综合运用显微摄影的各种技术将静态摄片、动态摄片、对比摄片、专题摄片技术,运用到教学中,探讨显微摄片技巧在其中的作用。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 仪器与耗材 以一次性带塞刻度塑料尿液专用试管收集我院住院患者洁净中段尿 10 ml。尿液镜检采用德国 LEICA 公司生产的 LEICA DM 1000 显微摄像系统。

1.2 方法 将 10 ml 尿液标本以离心半径 15 cm,1500 r/min 离心 5 min,弃去上清液,留 0.2 ml 沉渣。取 20 μl 尿沉渣进行涂片,覆以 18 mm×18 mm 盖玻片,在 LEICA DM 1000 显微摄像系统下观察,对易漏检、易误判的有形成分进行摄片。在形态学培训前后,各选取 20 张图片,考核 31 位基础检验专业及夜班值班人员的细胞形态学辨析能力,每片 20 s,计算正确识别率。

2 结果

2.1 静态摄片 在显微镜下选取清晰的有形成分摄片,在静态下观察其形态特征。静态摄片技术为图谱作者与工作人员广泛采用,如芽胞形红细胞的静态摄片,见图 1。

2.2 动态摄片 显微镜下微调焦距,可更清楚地观察细胞膜、细胞核、胞浆颗粒以及有形成分折光性的变化,以识别尿液有形成分。动态摄片模拟这一过程,将光镜观察转化为图像数据,比静态摄片更能体现出有形成分细微的动态特点。新鲜尿液标本中的肾小管上皮细胞在微调焦距时进行连续摄片,见图 2。颗粒红细胞与白细胞的连续摄片,见图 3。图 3(上)示(1)为白细胞,呈灰白色,稍大,有球状感,胞核不清,

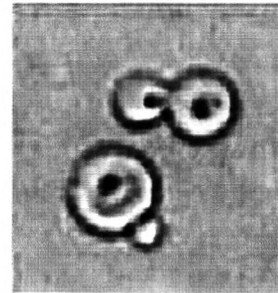


图 1 芽胞形红细胞的静态摄片(400×)

注:芽胞形红细胞常为较不规则圆或椭圆形,可呈淡黄色,胞内裂孔,“芽胞”为红细胞膜异常突起,大小形态不一,可有一至多个



图 2 肾小管上皮细胞动态摄片(400×)

注:图 2(左)所示,上方为白细胞,下方的细胞形态不规则,稍呈钝角状多边形,约为白细胞的 2 倍,单个核,核膜清晰易见;图 2(中)所示下方的细胞形态不规则及钝角状多边形的特征更明显,核膜厚实,胞核与白细胞大小相当;图 2(右)所示白细胞已模糊不清,但下方细胞的核膜厚实感仍然很强。综上动态摄片的演示,连续摄片所见下方的细胞形态不规则,呈钝角状多边形,内含有一个较大的椭圆形细胞核,核膜厚实感强烈,核突出易见,约为白细胞的 2 倍。符合肾小管上皮细胞的特点

可见颗粒;(2)为小吞噬细胞,一般为中性粒细胞,也有嗜酸性粒细胞;(3、4)为黄褐色,稍小,为扁平的圆形,胞内有颗粒感,胞膜无突起,相比(1)轮廓异常清晰。图 3(中)示白细胞在不同焦距下变化不大,(3、4)的胞内黄褐色的颗粒更明显,但细胞膜有如淡影,说明该细胞胞膜整齐,折光较强;图 3(下)进一步示(3、4)胞内黄褐色颗粒的特征。综上动态摄片的演示,(3、4)细胞为扁平状,胞膜整齐清晰,细胞内颗粒为黄褐色,符合颗粒红细胞的形态特点,后经瑞氏染色和 2%冰醋酸溶解试验证实是红细胞,胞内颗粒实质上是血红蛋白颗粒状间断性沉积;而白细胞较大,为球状,胞膜常有突起感,不如

颗粒红细胞清晰,胞内颗粒在光镜下呈浅灰色。

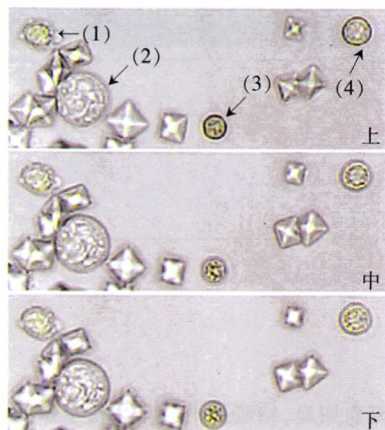


图 3 颗粒红细胞动态摄片(400×)

注:图 3 示从左至右为(1)白细胞、(2)小吞噬细胞、(3、4)颗粒红细胞的动态摄片

2.3 对比摄片 尿液有形成分有许多在光镜下形态类似、不易区分清楚。尤其是类似成分不在同一样本中出现时,缺乏经验的检验人员误判率相当高。采用静态摄片与动态摄片不能很直观的将这些有形成分区别。本文把这些容易混淆的有形成分,如饼形草酸钙结晶与红细胞进行静态摄片,并剪切拼接进行对比。见图 4。

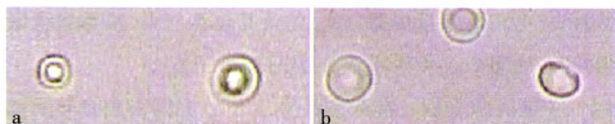


图 4 饼形草酸钙结晶与红细胞对比摄片(400×)

注:图 4(a)示饼形草酸钙结晶,图 4(b)示正常红细胞。可见饼形草酸钙结晶边缘比红细胞膜更有厚实感,整个结晶体尤其是中心富有光泽,折光强。尿红细胞之间的大小差异不如饼形草酸钙结晶大,但常出现正面、侧面、畸形等多种形态,细胞中心有凹陷感,折光较弱

2.4 专题摄片 同一样本内或样本间常见同一有形成分的多样性形态,由于教材、各类图谱专著受篇幅、采样等各方面因素的局限,往往对有形成分的多样性罗列得不够齐全,检验人员在阅片时有时无图可以借鉴,对不典型形态或少见的有形成分往往辨认不清或辨认错误。笔者将工作中遇到的识别有误的有形成分进行总结,将其进行专题摄片,并剪切拼接、方便培训人员辨别。如尿酸铵结晶的专题摄片(见图 5)。

2.5 显微摄片培训效果 形态学培训前后,检验工作人员对

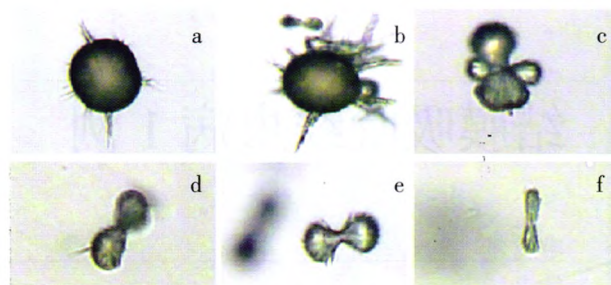


图 5 尿酸铵结晶的专题摄片(400×)

注:a、b 为尿酸铵结晶的典型形态;c、d、e、f 为不典型形态。典型形状为黄褐色圆或椭圆状球体,有不规则粗大树根状突起;不典型形状为哑铃状,哑铃互叠状,羽毛状,也有较小的树根状突起,这一点很容易与磺胺结晶区分开来

各有形成分的正确识别率见表 1。培训后各有形成分的正确识别率在 87.1%以上,均高于培训前。

3 讨论

有些尿液有形成分如颗粒红细胞在能借鉴的普通参考书中只有文字描述^[3,4],图谱著作也只偶见黑白图片^[5]。笔者在多年带教工作中发现,大部分检验人员对某些有形成分认识模糊,不能正确识别。本文研究运用 LEICA DM 1000 显微摄像系统,对芽胞形红细胞、肾小管细胞、颗粒红细胞等尿液有形成分运用静态摄片、动态摄片、对比摄片和专题摄片技巧,仿真模拟该有形成分用光镜观察时的特点,如颜色、折光性、形状、大小、颗粒、胞膜、胞核等;并摆脱样本和时间等因素的限制,将易漏检、易误判的尿液有形成分进行对比和专题归纳,从而使静态的摄片动态化、立体化,能承载更多的形态信息。

本文研究将各种摄片技巧应用于教学,充分调动培训人员的认知能力,使培训人员能快速准确地抓住形态特点,特别是对日常工作不太重视、认知较差、易漏检的有形成分,印象深刻,掌握牢固。由表 1 可见,形态学培训前后的正确识别率显著提高,其中采用动态摄片、对比摄片、专题摄片又优于采用静态摄片的教学效果。

形态学辨认能力是检验科工作人员的薄弱环节,也是科室管理中的难点^[6]。未染色普通光镜检查最基础、应用最广,鉴别相似有形成分的难度相对也最大,易受主观因素影响,从而导致检验结果的难以控制。显微摄片在形态学培训与教

表 1 显微摄片的培训效果(n=31)

有形成份	培训前正确识别率(%)	误报结果或原因	培训后正确识别率(%)
肾小管上皮细胞	6.5	移行上皮细胞、不认识	96.8
饼形草酸钙结晶	29.0	红细胞	96.8
颗粒红细胞	9.7	白细胞、结晶	87.1
芽胞形红细胞	64.5	真菌孢子、不认识	100.0
尿酸铵结晶	25.1	磺胺、不认识	100.0

(下接第 244 页)

胞与原始细胞意义相同,因此这个术语只用于与原始单核细胞相似的染色质细腻、弥散的细胞。因为原始单核细胞和幼稚单核细胞的临床意义相同,因此区别这两种细胞实际意义不大。然而,幼稚单核细胞与不典型、异常及不成熟单核细胞的区分可能非常困难。幼稚单核细胞的定义缺乏确切的具体标准,可能导致单核细胞误分为幼稚单核细胞,反过来又导致错误的计数原始细胞的细胞数量,因此可能将慢性粒-单核细胞白血病误诊为急性单核细胞白血病。

5 重视新分类标准中造血与淋巴组织肿瘤分类标准

“WHO(2008)造血与淋巴组织肿瘤分类”是临床工作者从事肿瘤诊断的准则,对确定治疗方案和监测治疗效果具有指导作用。各专业学会可举办 WHO 造血与淋巴组织肿瘤诊断的培训班,大力宣传 WHO(2008)新分类标准,使国内血液学工作者/检验学工作者认真学习、领会和运用新分类标准,加快与国际标准接轨的步伐。有条件的单位可组织一些有关造血与淋巴组织肿瘤诊断的专题讲座,结合本单位临床实践有针对性地普及 WHO(2008)新分类知识,介绍临床诊断经验与实践体会,促使更多的实验室按新分类标准进行分类,不断提高我国诊断恶性血液病的诊疗水平。也可不定期举办疑难骨髓涂片读片会,参考 WHO(2008)造血与淋巴组织肿瘤分类标准,选出一些不典型病例,组织与会代表充分进行讨论,在认真分析病历和形态学资料过程中掌握恶性血液病诊断与鉴别诊断的技巧。各专业杂志也要关心 WHO(2008)造血与淋巴组织肿瘤分类的普及,加大新分类标准的宣传力度,组织一些专题文章发表,为加快国内标准与国际标准的接轨做出新贡献。

6 新分类标准在我国的应用

大力普及 WHO(2008)造血与淋巴组织肿瘤分类标准的

同时也要结合国内实际情况。WHO(2008)新分类标准引入了许多分子生物学、基因和染色体方面的新资料,国内实验室限于条件尚不能完全达到的可逐步实现。首先应充分认识到,外周血和骨髓细胞的显微镜下检查在血液系统疾病诊断中仍然发挥着关键性的作用。其次细胞化学染色是血液系统疾病诊断过程中的重要补充,而免疫细胞化学染色又是细胞化学染色的继续和发展。上述这些技术条件在基层实验室是完全可以达到的。对于骨髓活检塑料包埋技术尚不能开展的实验室,可先行实践骨髓印片或微小骨髓组织涂片的细胞学检验^[4]。有条件的实验室要重视分子生物学新技术,紧跟时代步伐,尽早实现与国际标准的接轨。

学习西方,应本着洋为中用的原则,更重要的是结合我国国情,逐步实现 WHO(2008)新分类标准。同时要发扬具有我国特色的诊断、治疗经验。WHO(2008)新分类标准在国内外已推行多年,虽然多数实验室已用于临床实践,但还有部分实验室未使用新标准,今后应加大宣传力度,促使更多的实验室接受新标准,运用新标准。

7 参考文献

- 1 Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon France: IARC press, 2008: 14-367.
- 2 Zine G, Bain B, Bettelheim P, et al. Short Report. Br J Haematol, 2010, 151: 359-364.
- 3 肖志坚.进一步规范恶性血液病骨髓和外周血涂片血细胞形态学检查. 国际输血及血液学杂志, 2012, 35: 193-194.
- 4 卢兴国, 丛玉隆. 应重视和提升传统血液形态学检验诊断水平. 中华检验医学杂志, 2006, 29: 481-482.

(收稿日期: 2012-10-15)

(本文编辑: 杨军)

(上接第 253 页)

学中的作用日益重要,对提高不典型的、少见的有形成分的辨认能力更是举足轻重。实验室对尿液有形成分未染色普通光镜检查的培训与教学及如何进行有效实用的室内质控,应引起足够的重视。

4 参考文献

- 1 顾可梁. 尿有形成分的识别及检查方法的选择. 中华检验医学杂志, 2005, 28: 572-575.
- 2 顾可梁. 重视尿液有形成分检查. 国际检验医学杂志, 2008, 29: 1-3.

- 3 熊立凡, 李树仁, 主编. 临床检验基础. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003, 164.
- 4 叶应妩, 王毓三, 申子瑜, 主编. 全国临床检验操作规程. 第 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006, 297.
- 5 戚继学, 陈燕, 李迎旭. 实用尿沉渣图谱. 第 1 版. 沈阳: 沈阳出版社, 2001, 15.
- 6 丛玉隆. ISO15189 认可现场评审引发的对细胞形态学检验问题的思考. 中华检验医学杂志, 2008, 31: 725-728.

(收稿日期: 2012-10-15)

(本文编辑: 张志成)