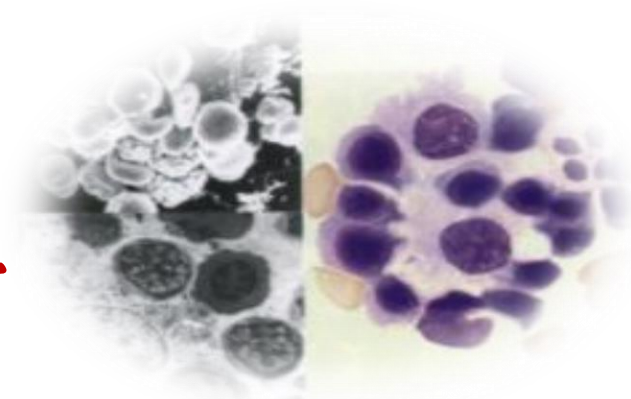


血液系统疾病的实验诊断

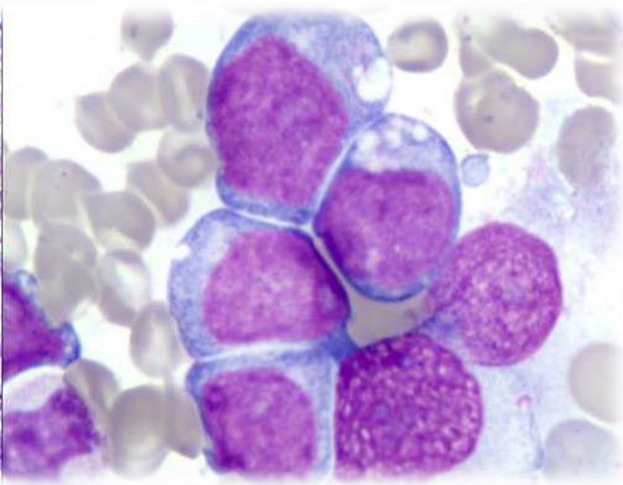
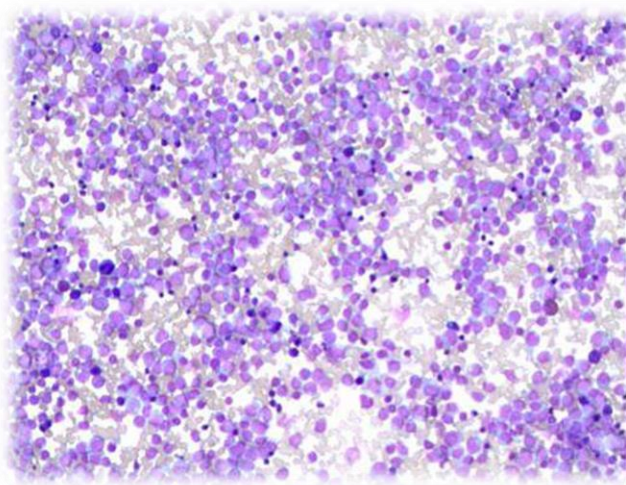
—— 课前预习/课后复习



Hematopoietic island

公共卫生学院

言 慧

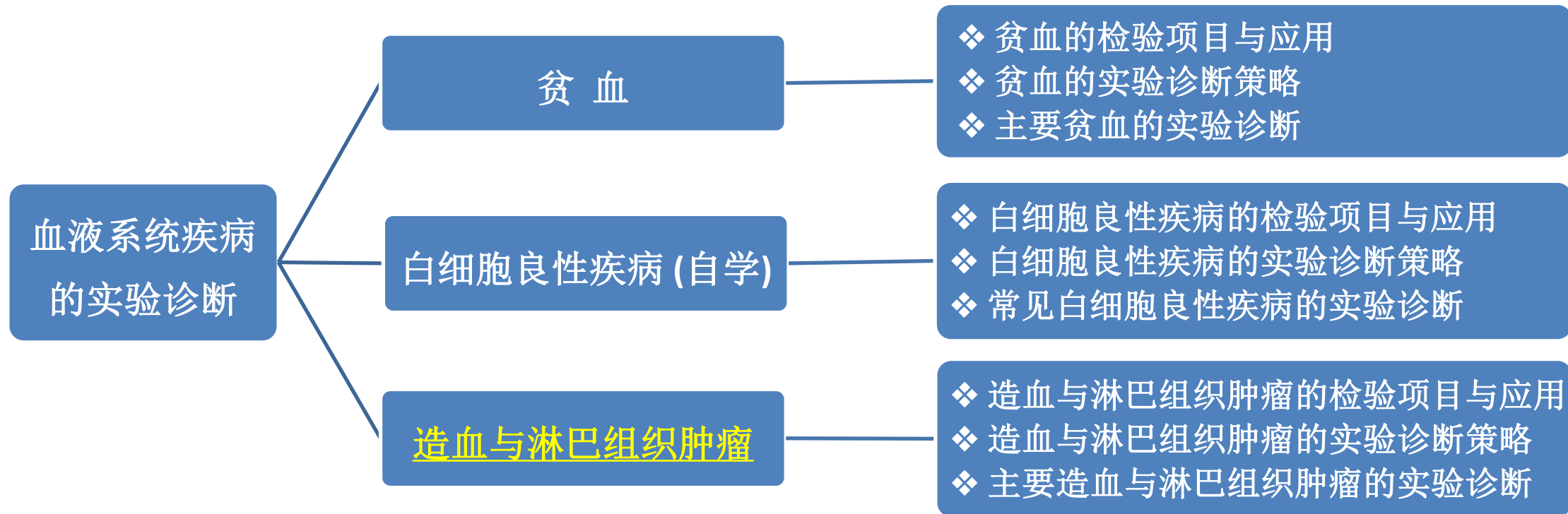


实验诊断学

主编：王建中、张曼（第4版）
北京大学出版社

教学内容与要求

推荐使用的《实验诊断学》教材的内容



教学内容与要求

教学大纲的重点内容：骨髓细胞学检查

- (一) 掌握骨髓细胞学实验室检查的临床意义
- (二) 熟悉骨髓细胞学实验室检查的原理
- (三) 熟悉急性白血病的MICM分型
- (四) 熟悉常见血液病的血液学特征
- (五) 了解骨髓细胞学实验室检查的操作方法

教学内容与要求

线上教学的内容及安排

1. 骨髓细胞学检查 — 课前预习/课后复习
2. 骨髓细胞学检查 — 血细胞的发育 (课次1)
3. 骨髓细胞学检查 — 正常骨髓象 (课次1)
4. 骨髓细胞学检查 — 细胞化学染色 (课次1)
5. 骨髓细胞学检查 — 贫血的实验诊断 (课次2)
6. 骨髓细胞学检查 — WHO造血与淋巴组织肿瘤分类、CML及MDS、MM的实验诊断 (课次2)
7. 骨髓细胞学检查 — 急性白血病的实验诊断 (课次2)

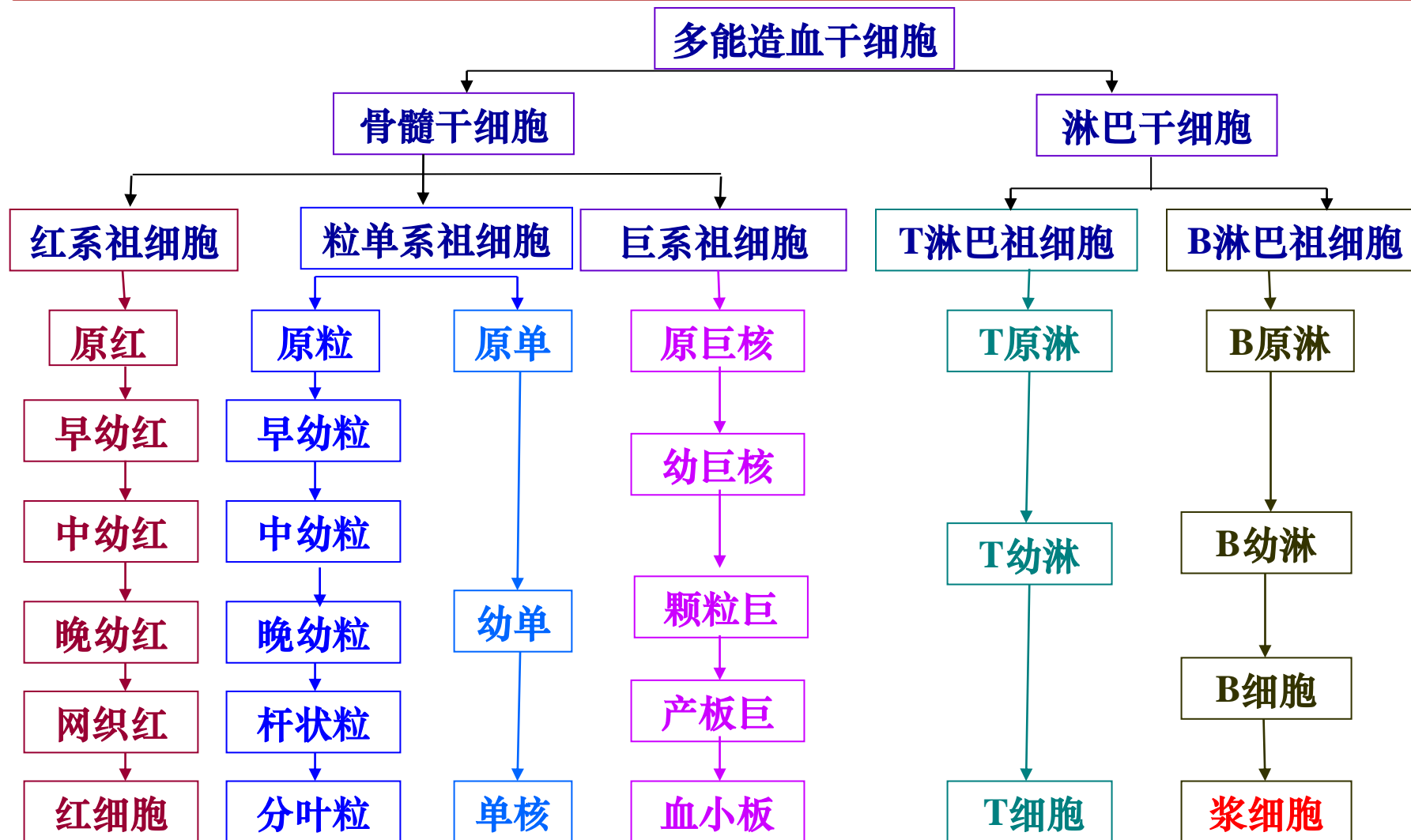
教学内容与要求

教学方式及课后复习（课后小测/作业）内容

- ❖ **课前预习**— 课前在爱课平台在线或下载PDF文档线下预习。
- ❖ **在线学习**— **6个讲课视频**：血细胞的发育、正常骨髓象、细胞化学染色、贫血的实验诊断、WHO造血与淋巴组织肿瘤分类与CML、MDS和MM的实验诊断、急性白血病的实验诊断。
- ❖ **课后复习**— 自行复习并按时完成课后小测，请留意课后小测开放及关闭时间。

备注：药学专业、口腔医学专业、医学影像学专业少1个学时，细胞化学染色熟悉临床意义，WHO造血与淋巴组织分类了解四大类即可。

血细胞的发育



血细胞演变的一般规律：

1. 原始→幼稚→成熟
2. 胞体：大→小
(巨核系除外)
3. 胞浆颗粒：无→有
4. 胞浆染色：嗜碱性→嗜酸性 (原红：油画蓝)
5. 胞核：大→小 (成熟粒细胞：分叶；成熟红细胞：无核)；
6. 核仁：有→无
7. 核浆比：大→小

骨髓细胞形态学检查

■ 适应症

1. 外周血细胞异常：数量过多或过少，出现幼稚细胞。
2. 不明原因的发热、肝、脾、淋巴结肿大。
3. 骨痛等疑有血液恶性肿瘤或骨髓转移癌时。
4. 血液系统疾病治疗后的疗效观察及定期复查。
5. 其他：骨髓活检、造血干细胞培养、染色体核型分析、微生物及寄生虫检查。

■ 禁忌症

1. 凝血因子严重缺陷引起的出血性疾病：如血友病。
2. 晚期妊娠妇女、穿刺部位有畸形。

骨髓穿刺取材部位：

髂后上棘、髂前上棘、胫骨粗隆、胸骨

■ 骨髓检查报告单内容

1. 对取材、涂片、染色的评价
2. 描述骨髓有核细胞增生程度和粒红比例
3. 填写报告单中各期细胞的百分比
4. 文字描述
5. 填写诊断意见（肯定性、描述性诊断等）
6. 填写报告日期并签名

骨髓细胞形态学检查

■ 检查的步骤 * 低倍镜 (100×) 检查

1. 骨髓涂片的质量：取材是否满意，
涂片、染色是否良好
2. 有核细胞增生情况
3. 计数全片巨核细胞数 (1.5cm × 3cm)
4. 涂片边缘和尾部：观察有无体积较大细胞
或成堆分布的异常细胞

■ 检查的步骤 * 油镜 (1000×) 检查

❖ 骨髓有核细胞分类

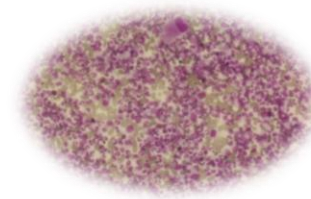
选择骨髓片中段细胞分布均匀、细胞结构清楚、染色良好的部分(一般在体尾交界处)依次分类并记录200个/500个有核细胞；计算各系统各阶段细胞的比例及粒红比 (G:E)。

❖ 配合血涂片检查

分类计数100个/200个有核细胞。

■ 正常骨髓象

1. 骨髓增生活跃
2. 各细胞系各阶段细胞的比值和形态大致正常，核分裂象少见。
 - 1) 粒红比例 (G:E) 为2~4:1。
 - 2) 红系占0.20左右；以晚幼红和中幼红为主，原红+早幼红<0.05，无巨幼红细胞。
 - 3) 粒系占0.40~0.60；原粒+早幼粒<0.10，嗜酸性粒细胞<0.05，嗜碱性粒细胞<0.01。
 - 4) 淋巴细胞占0.20左右，单核细胞小于0.04，浆细胞小于0.02，均应为成熟阶段。
 - 5) 全片可见巨核细胞7~35个 (1.5cm× 3cm)，以成熟巨核细胞为主，血小板易见；无异形和巨大血小板。
3. 可见少量造血细胞团，无其它异常细胞和血液寄生虫。



缺铁性贫血 (iron deficient erythro-poietic anemia, IDA)

溶血性贫血 (hemolytic anemia, HA)

巨幼细胞性贫血 (megaloblastic anemia, MegA)

再生障碍性贫血 (aplastic anemia, AA)

急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL)

急性髓细胞白血病 (acute myeloblastic leukemia, AML)

慢性髓系白血病 (chronic myelocytic leukemia, CML)

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM)

原发性血小板减少性紫癜 (primary immunethrombocytopenia, ITP)

骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndrome, MDS)

常见血液病骨髓象特征

疾 病	骨髓增生程度	粒:红	红 系	粒 系	巨核系	单核/淋巴/浆细胞	非造血细胞
IDA	明显活跃	↓	明显增生，以中晚幼红为主，体积小，胞浆少	相对减少，形态大致正常	正常	正常	正常
MegA	明显活跃	↓	明显增生，以中晚幼红为主，巨幼样变，幼核老浆	相对减少，巨幼样变	正常	正常	正常
HA	明显活跃	↓	明显增生，以中晚幼红为主，易见分裂象	相对减少，形态比例大致正常	正常	正常	正常
AA	减低	正常	明显减少，晚幼红增多	明显减少	明显减少	淋巴细胞↑ 浆细胞↑	相对增多
MM	活跃/明显活跃	正常	正常或增生减低	正常/↓	正常/↓	骨髓瘤细胞 ↑↑	正常
ITP	活跃/明显活跃	正常	正常	正常	明显增生，成熟障碍	正常	正常
AL/ CL	明显活跃/ 极度活跃	↑↑ / ↓	明显受到抑制/红血病和慢粒早期↑	幼稚细胞过度增生	通常明显受到抑制	受到抑制/恶性增生	正常

常见血液病外周血象特征

疾 病	红细胞 (RBC)	血红蛋 白(Hb)	网织红 细胞(Ret)	白细胞 (WBC)	血小板 (PLt)	成熟RBC形态/其 他
IDA	↓	↓↓	↑	正常	正常	小RBC ↑, 中心浅染区扩大
MegA	↓↓	↓	↑	正常/ ↓	正常/ ↓	大小不均, 呈高色素性, 易见巨红细胞
HA	↓	↓	↑↑	正常/ ↑	正常/ ↑	易见大红细胞、嗜多色性RBC及豪周小体
AA	↓	↓	↓	↓	↓	淋巴细胞相对增多, 红细胞形态大致正常
MM	↓	↓	↓	正常/ ↓	正常/ ↓	可见浆细胞, 红细胞缗钱状
ITP	正常	正常	正常	正常	↓↓	红细胞形态大致正常, 可见异常血小板
AL/ CL	↓↓	↓↓	正常/ ↑	↑↑	↓↓	红细胞形态大致正常

细胞化学染色

■ 酶染色 (病变细胞染色)

POX染色：鉴别急粒、急淋、急单的重要化学方法。
急粒常为阳性、急淋常为阴性、急单常为弱阳性。

特异性酯酶染色：急粒阳性，急淋、急单阴性，急粒-单部分阳性，部分阴性。

非特异性酯酶染色：急粒、急单白血病细胞均可呈阳性，但急单的反应被氟化钠抑制；急淋为阴性。

NAP：正常人的血细胞碱性磷酸酶除中性杆状核粒细胞和中性核分叶粒细胞可见阳性外，其他细胞均为阴性。CML (↓↓) 与类白血病反应 (↑)

■ 糖类物质染色

PAS染色：

1. **巨幼贫与红白血病的鉴别**
巨幼贫幼红细胞通常为阴性，红白血病幼红细胞为阳性。
2. **三种急性白血病的鉴别**
急粒常为阴性；
急淋常为强阳性；
急单常为弱阳性。

■ 骨髓铁染色(中晚幼红细胞)

参考范围

细胞外铁: + ~ ++

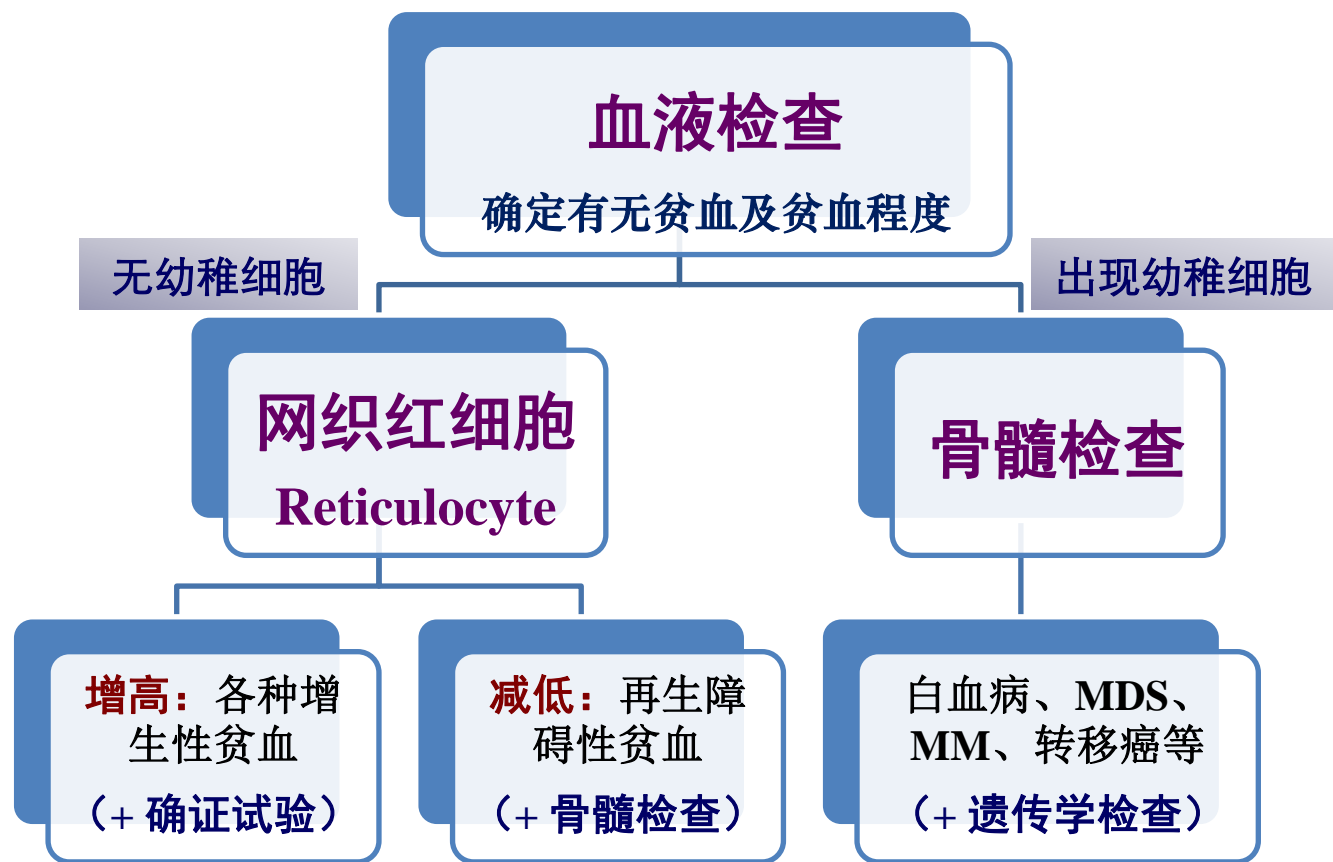
细胞内铁: 铁粒幼红细胞30~90%, 以I型为主, 无III、IV型和环形铁粒细胞。

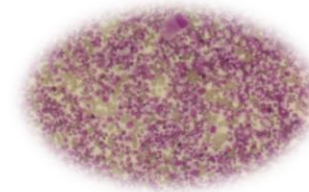
环形铁粒幼细胞的判断标准:

幼红细胞含铁粒 > 6个且 2/3以上的铁粒围绕细胞核排成环形



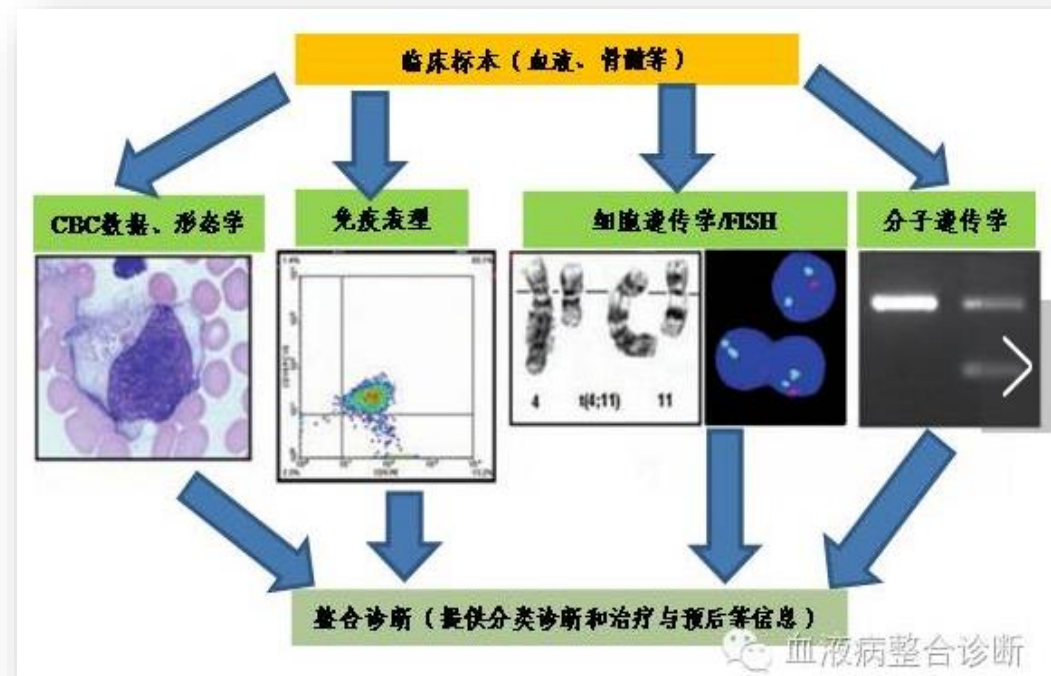
贫血的实验诊断





WHO将髓系恶性病分为四类：

- 髓系肿瘤 (myeloid neoplasms, MN)
- 急性白血病 (acute leukemia, AL)
- 淋巴系肿瘤 (lymphoid neoplasms)
- 组织细胞与树突状细胞肿瘤
(histiocytic and dendritic cell neoplasms)



WHO分类诊断检查途径

白血病的实验诊断

1. 血象、体格检查
原始细胞 < 5%

2. 骨髓细胞学检查及
骨髓活检：原始细胞
< 20%

3. 免疫表型测定 (免
疫组化及流式细胞仪)

4. 染色体核型分析及
基因诊断：异常核型
融合基因、基因突变

常见髓系肿瘤 (慢性白血病) 实验诊断策略 *骨髓活检及免疫表型分析可辅助诊断

1. 血象、体格检查
原始细胞 \geq 20%

2. 骨髓细胞学检查及
骨髓活检：原始细胞
 \geq 20%,

3. 免疫表型测定：白
血病细胞出现髓系或
淋巴系免疫表型改变

4. 染色体核型分析及
基因诊断：异常核型、
重现性染色体异常、
融合基因、基因突变

急性白血病实验诊断策略

*有条件每一例均需做遗传学检查

急性白血病病例的诊断过程

女，23岁。主诉：间断发热半月，加重1天。

现病史：患者半月前无明显诱因出现发热，体温38.5℃，伴头痛、畏寒、乏力，外院查血常规提示三系减低。门诊以“全血细胞减少查因”收入血液内科。发病以来，神志清、精神可，睡眠可，大小便正常，体重未监测。既往史：无异常。

查体：T37.3℃，P96次/分，R18次/分，BP105/83mmHg.余无明显异常。

胸部CT：1. 双肺纹理增粗。2. 纵膈内及双侧腋窝小淋巴结可见。3. 腹腔内肠管扩张积气。

血常规检查：三系减低，且单核细胞比例增高（假象，需人工镜检复查），细看散点图单核、幼稚粒区域融合，部分散点上飘（M3散点图特点，由于白细胞低，此时涂片镜检时要在低倍镜下仔细查找有无异常早幼粒细胞），经外周血涂片镜检发现：异常早幼粒细胞22%：提示M3，报告临床完善骨髓全套检查。

急性白血病病例的诊断过程

1. 血常规及止凝血结果

贫血

全血细胞减少

白细胞分类异常

人工镜检复查

如出现幼稚细胞
提示白血病的可能
性非常大，需
尽快做骨髓检查

检验目的:血常规|网织红细胞 诊断:全血细胞减少

采集时间: 2020-05-25 17:56 备注:

项 目	结果	参考值	项 目	结果	参考值
白细胞数	1.04 ↓	4 - 10 $10^9/L$	血红蛋白	69 ↓	110 - 150 g/L
中性粒细胞百分比	27.9 ↓	50 - 70 %	红细胞压积	19.7 ↓	37 - 48 %
淋巴细胞百分比	52.9 ↑	20 - 40 %	红细胞平均体积	90.0	79 - 100 fL
单核细胞百分比	19.2 ↑	3 - 8 %	平均红细胞血红蛋白量	31.5	27 - 35 pg
嗜酸性粒细胞百分比	0.0 ↓	0.5 - 5 %	平均血红蛋白浓度	350	320 - 360 g/L
嗜碱性粒细胞百分比	0.0	0 - 1 %	红细胞分布宽度标准差	50.2 ↑	39 - 46 fL
中性细胞绝对值	0.29 ↓	3.5 - 5.5 $10^9/L$	红细胞分布宽度变异系数	16.3 ↑	11.6 - 14.1 %
淋巴细胞绝对值	0.55 ↓	1.2 - 3.4 $10^9/L$	血小板	65 ↓	100 - 300 $10^9/L$
单核细胞绝对值	0.20	0.1 - 0.6 $10^9/L$	血小板比积	0.07 ↓	0.1 - 0.5 %
嗜酸性细胞绝对值	0.00 ↓	0.05 - 0.3 $10^9/L$	血小板平均体积	10.0	9 - 13 fL
嗜碱性细胞绝对值	0.00	0 - 0.2 $10^9/L$	血小板分布宽度	8.84 ↓	9 - 17 fL
红细胞数	2.19 ↓	3.5 - 5.0 $10^{12}/L$	大血小板比率	23.04	15 - 45 %
网织红细胞绝对值	39.2	17 - 70.1 $10^9/L$	网织红细胞百分比	1.76 ↑	0.5 - 1.5 %



病例来自检验视界网

急性白血病病例的诊断过程

1. 血常规及止血结果

检验目的:凝血6项

诊断:全血细胞减少

采集时间: 2020-05-25 17:56 备注:

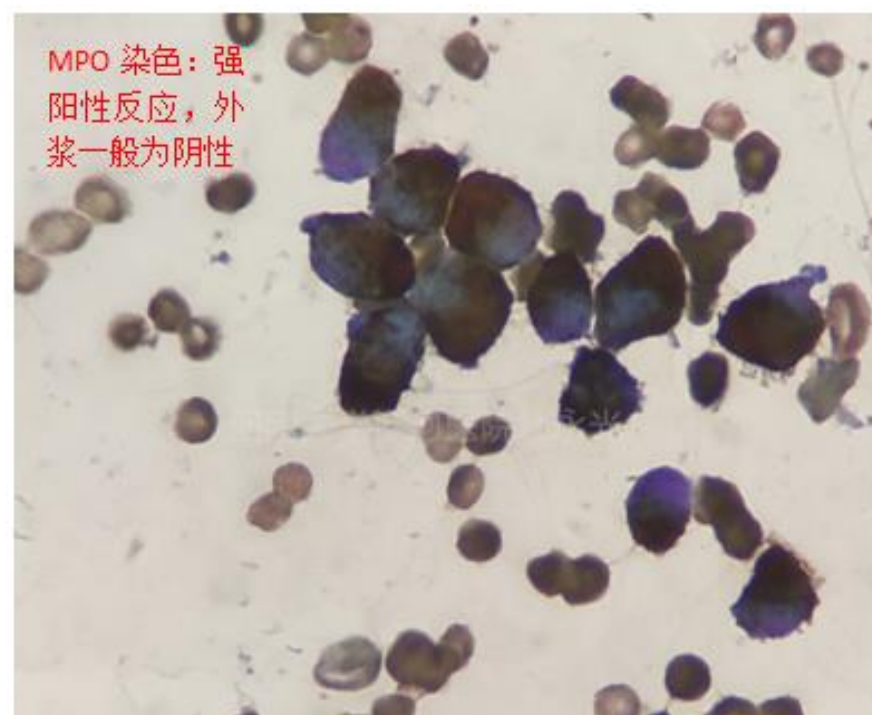
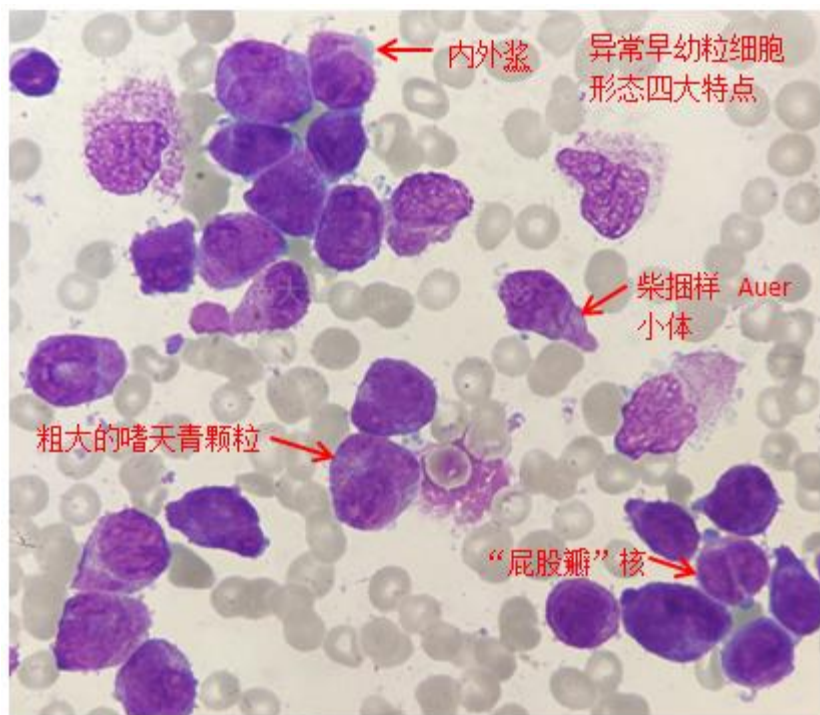
编号	英文缩写	项目名称	测定结果	提示	单位	参考范围
1	PT	凝血酶原时间	11.3		秒	11.0 - 17.0
2	PTA	凝血酶原时间活动度	130		%	70 - 150
3	INR	国际标准化比率	0.86			0.8 - 1.5
4	APTT	活化部分凝血酶时间	36.9		秒	28.0 - 43.5
5	FIB	纤维蛋白原	278		ng/dl	200 - 400
6	TT	凝血酶时间	15.6		秒	14.0 - 21.0
7	D dimer	D二聚体	8031	↑	ng/ml	0 - 500
8	FDP	纤维蛋白原降解产物	57399		ng/ml	0 - 5000

D-二聚体增高提示体内出现凝血后的继发性纤溶， M_3 患者常发生。

病例来自检验视界网

急性白血病病例的诊断过程

2. 骨髓涂片及细胞化学染色结果



根据骨髓细胞学检查及细胞化学染色结果，诊断为AML-M₃

病例来自检验视界网

急性白血病病例的诊断过程

3. 流式结果（免疫组化结果）

检测结果：

91.33%细胞（占有核细胞）表达 CD33, CD117, CD9, CD13, CD123, CD64, MPO, CD371, CD38, 部分表达 CD11c, CD69, 不表达 HLA-DR, CD34, CD11b, CD7, CD56, CD19, CD36, CD96, CD15, CD14, CD22, cCD3, CD2, CD42a, CD4, CD5, CD274, 为恶性髓系幼稚细胞，细胞大，颗粒性大，可疑为异常早幼粒细胞。

结论：

本次检测范围内，91.33%细胞（占有核细胞）为恶性髓系幼稚细胞，细胞大，颗粒性大，可疑为异常早幼粒细胞。考虑为 APL 可能性大。请结合基因及遗传学检测明确诊断。

进一步进行免疫组织化学染色检查，考虑为APL的可能性大。

急性白血病病例的诊断过程

4. 融合基因检测

检测结果及结论:

一:

1. 送检标本中检测到 PML-RARA L 型融合基因阳性, 其它各融合基因阴性或低于检测灵敏度。
2. 送检标本中未检测到IKZF1、ERG及MLL-PTD基因突变。

二: 请结合其临床意义综合判断:

PML-RARA: WHO 2016版将“APL伴PML-RARA” 列为一组独立的疾病分类。靶向药物ATRA和砷剂治疗有效, 预后好。

综合诊断: FAB分型: AML-M₃; WHO分型: APL伴PML-RARa

5. 治疗及预后

- (1) 出现PML-RARa融合基因，预后较好；
- (2) 可用全反式维甲酸（ATRA）进行靶向治疗；
- (3) 因该型白血病患者易发生DIC，病情凶险，要及早预防并及时进行对症治疗。

血液系统疾病相关视频链接

流式细胞术简介 (Introduction to flow cytometry) (11'50") :

https://www.bilibili.com/video/BV1Wa4y1t7XZ/?spm_id_from=333.788.videocard.21

流式细胞术结果数据分析 (Analyzing flow cytometry data) (17'17") :

https://www.bilibili.com/video/BV1vp4y117vt/?spm_id_from=333.788.videocard.0

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) (10'18") :

<https://www.bilibili.com/video/BV1Ks411g7oL?from=search&seid=3251199298718478194>

慢性髓系白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) (9'49") :

https://www.bilibili.com/video/BV13s411J7jU/?spm_id_from=333.788.recommend_more_video.6

骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndrome, MDS) (4'27") :

<https://www.bilibili.com/video/BV1E7411a7A6?from=search&seid=16054043444931281507>

骨髓瘤 (myeloma) (3'12") :

<https://www.bilibili.com/video/BV17x411U7VG?p=2>