

脑脊液细胞形态学检验中国专家共识(2023)

君安医学细胞平台专家委员会

摘要: 脑脊液细胞学检测是临床常用的检验项目之一, 其对中枢神经系统疾病的诊断、鉴别诊断、指导临床治疗具有重要意义。该文通过介绍脑脊液细胞学检验目的、标本采集、检验程序、报告模式、临床意义等内容, 使其操作规范化、标准化, 更好地发挥临床检验价值。

关键词: 脑脊液; 细胞学检测; 专家共识

中图分类号: R446.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 03-001-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.03.001

Consensus of Chinese Experts on Cellular Morphological Examination of Cerebrospinal Fluid(2023)

Expert Committee of J.EDU Medical Cell Platform Soliciting Contributions

Abstract: Cerebrospinal fluid cytology test is one of the commonly used clinical tests, which is of great significance for the diagnosis, differential diagnosis and clinical treatment of central nervous system disease. This paper introduces the purpose, sample collection, test procedure, report mode and clinical significance of cerebrospinal fluid cytology test, so as to make the test normalized and standardized, and better play the clinical test value.

Keywords: cerebrospinal fluid; cytological examination; expert consensus

脑脊液是充满在各脑室、蛛网膜下腔和脊髓中央管内的一种无色透明液体。脑脊液细胞形态学检验对中枢神经系统感染性疾病、免疫性疾病、脑膜癌病、中枢神经系统白血病、中枢神经系统淋巴瘤及脑血管病等疾病的诊断、鉴别诊断、疗效观察和预后评估等有重要的参考价值^[1-3]。为进一步推广脑脊液细胞形态学检验, 使其操作规范化、标准化, 经国内多位从事该领域研究的君安医学细胞平台专家共同商讨, 制定出脑脊液细胞形态学检验专家共识。

1 检验目的

检查患者脑脊液中各种细胞数量、形态和比例的变化, 分析脑脊液细胞学反应类型, 结合患者临床表现、影像检查和实验室相关检查结果等综合分析, 做出细胞学诊断, 为中枢神经系统疾病的诊断、鉴别诊断、治疗效果和预后评估提供检验诊断依据。

2 标本采集

脑脊液标本主要通过腰椎穿刺术获得。为避免或减少血液混入对脑脊液细胞计数及分类造成影响, 一般采用第三管脑脊液用于细胞计数及细胞形态学检查^[3-5, 11], 标本量不少于2ml为宜, 推荐使用腰穿包内带盖的无菌塑料试管作为采集容器, 避免使用未经消毒的普通试管、含促凝剂或分离胶的真空采血管或痰杯等容器送检。

3 标本送检

脑脊液标本采集后, 应在室温条件下尽快送检,

一般不超过1h^[4-6]。如标本不能及时送检或需长途外送检验, 可置4~8℃冷藏保存, 2~4h内送达^[3]。送检时避免高温、冷冻和剧烈震荡。冷冻后解冻的标本不可用于细胞计数和细胞形态学检验。

4 标本接收

标本送达检验科后, 工作人员核对标本相关信息, 检查采集容器是否符合要求, 是否有渗漏, 标本量是否足够。

标本接收后应及时进行检验, 久置可致细胞破坏, 细菌自溶或死亡, 影响细胞计数及分类, 影响细菌检出^[3-6]; 对于部分不合格标本(如标本容器选择错误、标本量小于1ml、送检不及时等情况), 应及时与临床进行沟通, 执行让步检验, 并在报告单上备注说明标本状况可能对检验结果造成的影响。

5 检验程序

5.1 理学检查 包括脑脊液外观、透明度、球蛋白定性等^[3-4, 6-7]。

5.2 细胞计数 包括有核细胞计数及红细胞计数, 计数结果以 $\times 10^6/L$ 单位报告^[3-4, 6-7]。

5.3 制片 推荐采用细胞离心涂片机进行细胞及其他有形成分的收集^[1-3, 5-6]。每次制片取混匀后的脑脊液约500 μl (细胞数较多时, 可根据个人实践经验, 适当减少标本用量或用生理盐水预稀释后再离心), 相对离心力约68g, 离心时间8~10min。试管离心沉淀后取沉淀物涂片的方法, 由于细胞及有形成

分不能牢固吸附在玻片上,染色过程极易脱落,细胞收集效果不佳,因此不推荐用于脑脊液细胞形态学检验。

5.4 染色 瑞-吉染色为脑脊液细胞形态学检验的常规染色方法^[1-3,5-6],必要时加做其它染色法,如墨汁染色、革兰染色、抗酸染色、阿利新蓝染色、免疫细胞化学染色等。染色前应结合细胞计数结果在低倍镜下检查细胞收集效果是否满意,如收集效果不满意,应重新制片。

5.5 阅片 先在低倍镜下浏览全片,评估染色效果,观察有无明显异常细胞、细胞团或病原体成分(包括细菌、真菌、原因等),发现异常成分时,应在油镜下进一步确认和识别^[1-3]。

5.6 细胞分类 细胞分类可分为仪器分类法和镜检分类法。镜检分类,要求在油镜下进行有核细胞分类,结果以百分比形式表示^[1-3]。如全片有核细胞数不足50个,可以“全片可见有核细胞多少个,其中**细胞多少个”的形式进行描述。仪器分类法存在一定的局限性,不能完全替代人工镜检分类,当怀疑肿瘤性疾病时,分类结果应以镜检分类为准。

6 报告

细胞学报告推荐采用图文报告形式,报告内容应包括常规、细胞学和实验室提示/诊断三部分。

6.1 常规部分 包括颜色、透明度、球蛋白定性(潘氏试验)、有核细胞计数、红细胞计数及有核细胞分类等^[3,4,6-8]。

6.2 细胞学部分 包括图像和形态学描述^[3]。

6.2.1 图像:用图像采集系统在镜下选择2~4幅有代表性的图片进行报告。图片作为细胞学报告的客观依据,要求选择的图像要清晰、有代表性、色彩与镜下保持一致。

6.2.2 形态学描述:对异型细胞、肿瘤细胞及其他特殊细胞进行必要的形态描述,包括细胞分布、细胞大小、胞体结构、胞核大小、核形、核染色质特点、核仁大小与数量、胞质颜色及内容物等;同时报告其他有价值的成分,如细菌、真菌及菌丝、寄生虫、结晶等^[1-2,9]。

6.3 实验室提示/诊断 脑脊液细胞学报告要求对细胞学表现是否正常作出判断,并对镜下细胞学表现进行描述,综合患者临床表现、诊疗过程、影像学表现和实验室相关检查结果等进行分析,最后给出实验室诊断或提示(未取得执业医师资格的检验人员可发描述性和提示性报告,并建议临床作进一步明确诊断)。细胞学报告可分为以下四种报告模式^[3]。

6.3.1 细胞学明确诊断:患者因出现相应的临床症状及体征而就诊,当脑脊液细胞学检查发现确切的

病原体或肿瘤细胞时,结合病史,即可作出明确诊断。例如,患者有明确的肺癌病史,突发剧烈的头痛表现,核磁共振检查脑膜有强化,且细胞学发现典型的肿瘤细胞时,即可确诊为脑膜癌病。

6.3.2 细胞学提示诊断:适用于脑脊液细胞学表现有一定的特征性,但临床诊断未明确,或病史交待不太明确的情况,此时综合脑脊液生化等实验室检查结果可作出提示性诊断,它可为临床的最终诊断和治疗提供较明确的方向。例如,患者因发热、头痛就诊,脑脊液细胞学检查发现白细胞增多,中性粒细胞比例明显增多时,可作出“异常脑脊液细胞学,颅内感染的可能性大,请结合临床考虑”的细胞学提示诊断。

6.3.3 细胞学支持/协助诊断:当患者临床表现较典型,临床有较明确的疾病诊断倾向,而脑脊液细胞学表现符合疾病表现时,细胞学可作出支持或协助诊断。例如,当临床表现和影像学表现高度怀疑寄生虫感染,寄生虫抗体阳性,且脑脊液细胞学表现为嗜酸性粒细胞和浆细胞明显增多时,细胞学可支持/协助诊断寄生虫脑病。

6.3.4 细胞学排除诊断:当临床有明确的倾向性诊断,而脑脊液细胞学表现明显不支持时,可作出排除诊断。例如,以头痛发热就诊的患者,临床初步诊断为病毒性脑膜炎,但脑脊液细胞学检查发现典型的隐球菌,即可排除诊断,而明确诊断为隐球菌性脑膜炎。

7 涂片保存

报告发出后,对涂片进行分类归档,妥善保管,保存时限按各实验室标准操作规程进行处置。如需长期保存标本,应用中性树脂封片保存。

8 生物安全防护

8.1 标本的采集、运送必须符合生物安全要求,防止溢出。如标本溢出后,应立即对污染的环境和设备进行消毒处理。

8.2 检验人员在处理标本时,需做好个人防护,严格执行生物安全管理程序,对有明确传染性的标本按级别进行防护。

8.3 废弃标本及其它相关的废弃物,严格执行医疗废物处理流程。

9 临床意义^[1-11]

9.1 常见细胞、有形成分及临床意义

9.1.1 红细胞:正常脑脊液中不存在红细胞。脑脊液中出现红细胞,见于各种原因引起的出血,如脑出血(病理性)、蛛网膜下腔出血(病理性)及腰穿损伤出血(非病理性)等。

9.1.2 淋巴细胞:正常脑脊液中有少量的淋巴细胞,约占核细胞总数的60%~70%。受抗原刺激后,

淋巴细胞形态和功能可发生改变,按形态学分为小淋巴细胞、大淋巴细胞和激活淋巴细胞。激活淋巴细胞主要见于病理情况,是由大、小淋巴受抗原刺激转化而成,反映淋巴细胞活化,其根据形态可分为转化型淋巴细胞、大淋巴样细胞及脑样细胞。

9.1.3 浆细胞:正常脑脊液中不存在浆细胞。浆细胞的出现,提示体液免疫反应的存在。

9.1.4 单核细胞:正常脑脊液中有少量的单核细胞,形态与外周血中单核细胞相似,约占有核细胞总数的30%~40%,与淋巴细胞的比例为4:6或3:7。疾病状态下,单核细胞受到抗原或各种理化因素的刺激时,形态会发生变化,表现为胞体、胞核增大,胞膜不规整,可有瘤状突起,胞质着色加深,胞质出现多个空泡,称为激活单核细胞。

9.1.5 中性粒细胞:正常脑脊液中不存在中性粒细胞,但外周血中的中性粒细胞可因腰椎穿刺损伤随红细胞带入,应予识别。中性粒细胞的出现常提示机体存在炎症反应,可见于各种中枢神经系统感染,也可见于非炎症病变,如颅脑外伤、颅脑术后、肿瘤、脑出血、蛛网膜下腔出血等。

9.1.6 嗜酸性粒细胞:正常脑脊液中不存在嗜酸性粒细胞。嗜酸性粒细胞的数量或比例明显增多时,提示机体存在过敏反应或寄生虫感染的可能。

9.1.7 嗜碱性粒细胞:正常脑脊液中不存在嗜碱性粒细胞,它的出现提示存在过敏反应,可见于各种炎症、异物反应、寄生虫感染等。

9.1.8 吞噬细胞:正常脑脊液中不存在吞噬细胞。红细胞吞噬细胞(出血后1~3天可出现)、含铁血黄素吞噬细胞(出血后3~5天)及血红素结晶吞噬细胞(出血后7~10天)的出现提示存在陈旧性出血。吞噬细胞吞噬功能强大,可吞噬各种异物,包括变性的白细胞、吞噬细胞和病原体等。

9.1.9 良性脱落细胞:各种原因导致脑室中的室管膜细胞、脉络丛细胞及蛛网膜下腔中的蛛网膜细胞脱落时,或穿刺污染出现的软骨细胞、骨髓细胞等可在脑脊液中偶然发现。血管内皮细胞、神经元和神经胶质细胞突起、胶质纤维等偶可出现在脑出血、重型颅脑损伤、颅脑术后血性脑脊液中。

9.1.10 肿瘤细胞:脑脊液中的肿瘤细胞来源于中枢神经系统原发性肿瘤和中枢神经系统继发性肿瘤。前者可见于恶性程度较高的髓母细胞瘤、胶质瘤、生殖细胞瘤、室管膜瘤和脑膜瘤等,后者常见于肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、胃癌、白血病及淋巴瘤等向中枢神经系统转移。脑脊液中发现肿瘤细胞可作为诊断脑膜癌病的金标准。部分肿瘤细胞可根据其形态特点作出初步判断,如腺癌细胞、淋巴瘤细胞等(图1-2)。

9.1.11 病原体:常见病原体有细菌(球菌、杆菌)、真菌(真菌孢子、菌丝、隐球菌等)、寄生虫(阿米巴滋养体、弓形虫滋养体、疟原虫、广州管圆线虫幼虫等)。脑脊液中发现细菌、真菌时,需结合临床及脑脊液常规、生化结果综合分析,排除污染的可能。

9.1.12 结晶:胆固醇结晶、血红素结晶。正常脑脊液中无胆固醇结晶,病理情况下可见于颅内胆脂瘤及颅咽管瘤患者脑脊液中。正常脑脊液中无血红素结晶,其出现提示存在陈旧性出血。

9.2 常见细胞学表现及临床意义

9.2.1 正常脑脊液细胞学表现:外观呈无色透明,白细胞数不高于 $5 \times 10^6/L$,由淋巴细胞和单核细胞组成,两者比值为7:3或6:4,细胞形态规整,无明显的细胞激活表现。

9.2.2 淋巴细胞反应:见图3。有核细胞计数可正常或显著升高,镜下可见淋巴细胞比例明显增多,可见激活淋巴细胞、浆细胞及少量单核细胞和中性粒细胞等。临床意义:常见于病毒性脑膜炎,也可见于其它中枢神经系统感染性疾病、免疫性疾病和肿瘤。

9.2.3 中性粒细胞反应:见图4。有核细胞数中度至显著升高,镜下可见大量的中性粒细胞,可伴少量淋巴细胞、单核细胞或浆细胞,有时可见病原菌。临床意义:提示急性炎性反应,见于细菌性脑膜炎、结核性脑膜炎渗出期,也可见于脑出血、蛛网膜下腔出血及颅脑手术等非急性炎性反应。

9.2.4 嗜酸性粒细胞-浆细胞反应:见图5。有核细胞数可正常或轻中度升高,镜下可见嗜酸性粒细胞和浆细胞比例明显升高,常伴少量淋巴细胞和单核细胞等。临床意义:常见于脑寄生虫感染,也可见于结核性脑膜炎、隐球菌性脑膜炎、颅脑手术后及蛛网膜下腔出血病患者。

9.2.5 淋巴-单核细胞反应:有核细胞数基本正常或轻度增高,镜下可见少量淋巴细胞、单核细胞,部分淋巴及单核细胞可见激活表现。临床意义:多见于疾病的恢复期,需与先前的细胞学表现进行比较分析。

9.2.6 淋巴-中性粒细胞反应:有核细胞数中度至显著升高,镜下可见中性粒细胞及淋巴细胞明显增多,偶见单核细胞或浆细胞等。临床意义:提示炎性反应。多见于中枢神经系统细菌感染治疗后、结核性脑膜炎、真菌感染和颅脑术后等,需结合病史、患者临床症状及体征和实验室相关检查结果综合考虑。

9.2.7 混合细胞反应:见图6。有核细胞数中度至显著升高,镜下可见中性粒细胞、淋巴细胞、单核

细胞等多种细胞同时存在,以中性粒细胞和淋巴细胞为主,也可伴少量浆细胞、嗜酸性粒细胞的出现。临床意义:提示炎性反应,与淋巴-中性粒细胞反应临床意义基本一致。多见于中枢神经系统细菌感染治疗后、结核性脑膜炎、真菌感染和颅脑术后等,

需结合病史、患者临床症状及体征和实验室相关检查结果综合考虑。部分结核性脑膜炎患者抗结核治疗后,在相当长一段时间内细胞学可表现为混合细胞反应,这一特点对诊断结核性脑膜炎具有一定的参考价值。

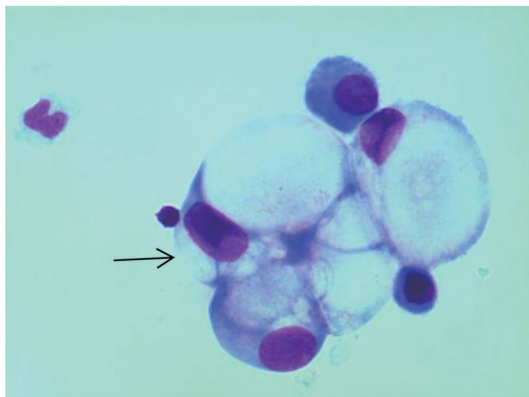


图1 腺瘤细胞(箭头示)(瑞-吉染色,1000×)

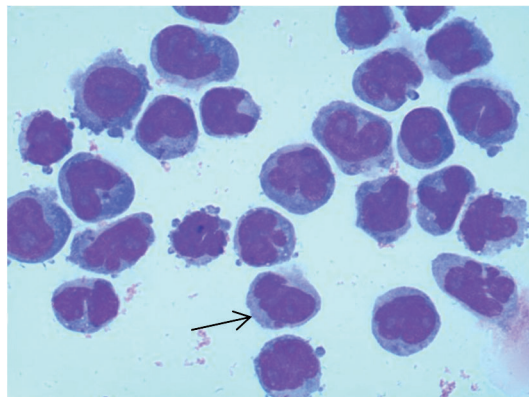


图2 淋巴瘤细胞(箭头示)(瑞-吉染色,1000×)

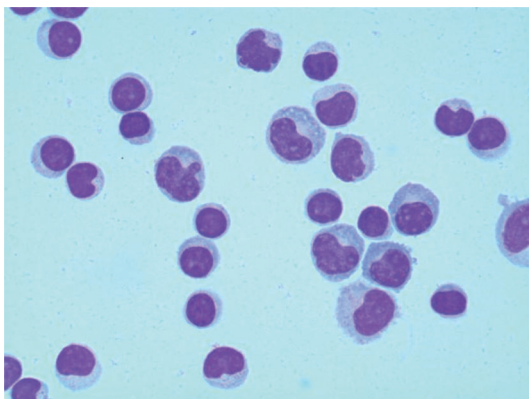


图3 淋巴细胞反应(瑞-吉染色,1000×)

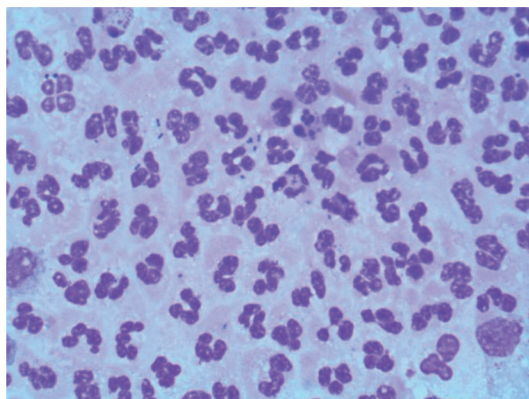


图4 中性粒细胞反应(瑞-吉染色,1000×)

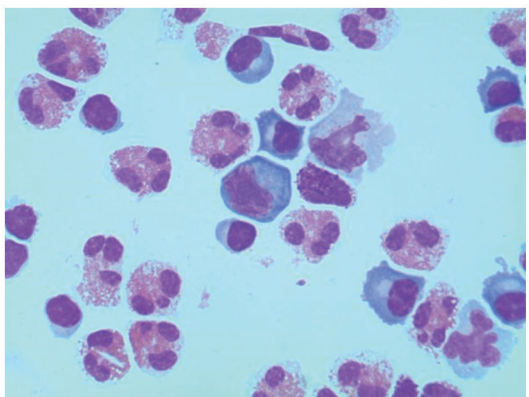


图5 嗜酸性粒细胞-浆细胞反应(瑞-吉染色,1000×)

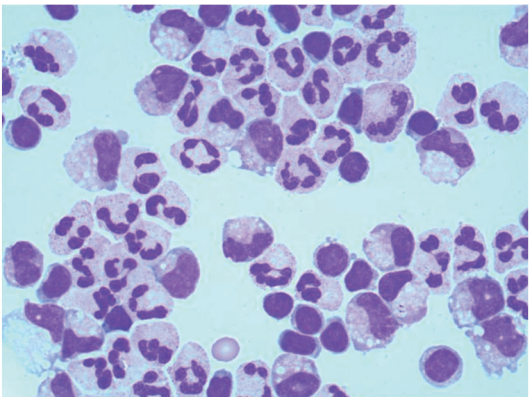


图6 混合细胞反应(瑞-吉染色,1000×)

执笔:闫立志

主审:许绍强,周道银,吴茅,闫立志,高建军,李相磊,曹科,曾强武

参加共识讨论的专家(按姓氏拼音排序):

白咪红(宝鸡市人民医院),白云(西安市第三医院),柏世玉(山东省泰安市中心医院),包

雪芬(杭州市桐庐县妇幼保健院),曹科(深圳市儿童医院),曹喻(遵义医科大学附属医院),柴丽娟(山西省运城同德医院),崔燕(西安大兴医院),杜丽娟(青海省人民医院),窦心灵(酒泉市人民医院),丁邦胜(安徽省立医院),段爱军(河南信合医院),樊爱琳(西安秦皇医院),高菊兴

(临沂市人民医院), 顾剑飞(复旦大学附属华山医院), 高建军(河北邯郸市第一医院), 高海燕(哈尔滨医科大学附属第六医院), 高晓鹏(西安市儿童医院), 黄春霞(广东三九脑科医院)、黄道连(南方医科大学附属中山市博爱医院), 何勇(湖南保靖县人民医院), 黄俊(成都市第三人民医院), 胡晶(重庆医科大学检验医学院), 胡阳(西安市第一医院), 华星(陕西安康市中心医院), 蒋锦文(浙江省东阳市人民医院), 金鑫(浙江省立同德医院), 卢兴国(浙江大学附属第二医院), 罗燕萍(深圳市罗湖医院集团罗湖区人民医院), 李相磊(开封市中心医院), 刘超群(金华职业技术学院), 刘朝红(四川省德阳市人民医院), 梁勤(甘肃省中医院)、林慧君(浙江省人民医院), 缪峰(山东省寄生虫病防治研究所), 潘巍(海盐县人民医院), 邱庆华(攀枝花市中西医结合医院), 茹进伟(乐昌市人民医院), 孙梦佳(杭州艾迪康医学检验中心有限公司), 孙冬梅(浙江省金华市中心医院), 孙宏华(中山大学附属第七医院), 吴茅(浙江省人民医院), 吴佗(山东医学高等专科学校), 王海鲜(临海市第一人民医院), 王敏敏(杭州市第一人民医院), 王哲(河北省保定第一医院), 王珍妮(浙江省人民医院), 王莹(深圳市第二人民医院), 许绍强(广东三九脑科医院), 许银怀(河南省濮阳市疾病预防控制中心), 夏万宝(上海市松江区中心医院), 邢铭芬(湖州市南浔区人民医院), 岳保红(郑州大学第一附属医院), 闫立志(南方医科大学南方医院), 张军格(宁波市象山县红十字台胞医院), 张时民(北京协和医院), 张建富(江苏省人民医院), 张春莹(四川大学华西医院), 曾强武(贵阳市第二人民医院), 赵成艳(大连医科大学附属第二医院), 朱凤娇(浙大一院三门湾分院), 庄顺红(浙江省金华市中心医院), 周玉利(杭州市第一人民医院), 周道银(上海长海医院), 周麟(诸暨市中医医院), 郑智弦(梧州市红十字会医院), 郑巧飞(浙江省台州医院), 郑瑞(浙江省台州医院)。

参考文献:

- [1] 粟秀初, 孔繁元. 神经病学 - 第4卷 - 神经系统临床脑脊液细胞学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2001.
SU Xiuchu, KONG Fanyuan. Neurology- Volume 4 - Neuro-clinical cerebrospinal fluid cytology[M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House, 2001.
- [2] 何俊瑛, 孔繁元, 郭力. 临床脑脊液细胞学 [M]. 石家庄: 河北科学技术出版社, 2007.
HE Junying, KONG Fanyuan, GUO Li. Clinical cerebrospinal fluid cytology[M]. Shijiazhuang: Hebei Science and Technology Publishing House, 2007.
- [3] 许绍强, 龚道元, 刘艳, 等. 脑脊液细胞学图谱及临床诊断思路 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2021.
XU Shaoqiang, GONG Daoyuan, LIU Yan, et al. Cerebrospinal fluid cytology mapping and clinical diagnosis ideas[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2021.
- [4] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [S]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
SHANG Hong, WANG Yusan, SHEN Ziyu. National guide to clinical laboratory procedures[M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015.
- [5] 张国军. 脑脊液临床实验室检查策略 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
ZHANG Guojun. Strategies for clinical laboratory examination of cerebrospinal fluid[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018.
- [6] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. WS/T 662-2020: 临床体液检验技术要求 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2020.
National Health Commission of the People's Republic of China. WS/T 662-2020: Technical requirements for clinical body fluid analysis[S]. Beijing: China Standards Press, 2020.
- [7] 张纪云, 龚道元. 临床检验基础 [M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2020.
ZHANG Jiyun, GONG Daoyuan. Fundamentals of clinical laboratory [M]. 5th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2019.
- [8] 彭明婷. 临床血液与体液检验 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
PENG Mingting. Clinical laboratory hematology and body fluid analysis [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017.
- [9] 王建中, 张时民, 刘贵建. 临床检验诊断学图谱 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
WANG Jianzhong, ZHANG Shimin, LIU Guijian. Atlas of clinical laboratory diagnostics[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2012.
- [10] 龚道元, 张时民, 黄道连. 临床基础检验形态学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2019.
GONG Daoyuan, ZHANG Shimin, HUANG Daolian. Morphology of basic clinical laboratory[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2019.
- [11] 吴茅. 浆膜积液细胞图谱新解及病例分析 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
WU Mao. New interpretation of serous effusion cellmap and case analysis[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018.