

全国初中级卫生专业技术资格统一考试(含部队)
指定辅导用书

2009

临床医学检验技术(士)

应试指导及历年考点串讲



 人民军医出版社
PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

全国初中级卫生专业技术资格统一考试（含部队）指定辅导用书

临床医学检验技术（士）应试指导 及历年考点串讲

LINCHUANG YIXUE JIANYAN JISHU (SHI) YINGSHI ZHIDAO
JI LINIAN KAODIAN CHUANJIANG

 人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目 (CIP) 数据

临床医学检验技术 (士) 应试指导及历年考点串讲/吕世静, 刘新光, 孟庆勇主编.
—北京: 人民军医出版社, 2008.12

全国初中级卫生专业技术资格统一考试 (含部队) 指定辅导用书

ISBN 978-7-5091-2210-5

I. 临… II. ①吕…②刘…③孟… III. 医学检验—医药卫生人员—资格考核—
自学参考资料 IV. R446

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 179794 号

策划编辑: 李玉梅 丁 震 文字编辑: 陈 娟 责任审读: 黄栩兵

出 版 人: 齐学进

出版发行: 人民军医出版社

经销: 新华书店

通信地址: 北京市 100036 信箱 188 分箱

邮编: 100036

质量反馈电话: (010)51927278; (010)66882586

邮购电话: (010)51927252

策划编辑电话: (010)51927300-8746

网址: www.pmmp.com.cn

印刷: 北京天宇星印刷厂 装订: 京兰装订有限公司

开本: 787mm×1092mm 1/16

印张: 29.25 字数: 714 千字

版、印次: 2008 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

印数: 0001~4500

定价: 69.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书, 凡有缺、倒、脱页者, 本社负责调换

出版说明

全国初、中级卫生专业技术资格考试从 2001 年开始正式实施。考试通过后可取得相应的专业技术资格，各用人单位以此作为聘任相应技术职务的必要依据。2003 年，护士执业资格考试与护理学专业初级（士）资格考试并轨。目前，该考试实行全国统一组织、统一考试时间、统一考试大纲、统一考试命题、统一合格标准的考试制度，已经覆盖医、药、护、技 4 个系列的 114 个专业，每年参加考试的人数近百万。各专业考试的通过率略有不同，一般为 50% 左右。实际的考试中一般会有 5% 左右的超大纲考题，具有一定难度。

为了帮助广大考生做好考前复习，我社近年来组织了权威专家，联合历届考生，对考试的命题规律和考试特点进行了精心分析研究，出版了这套全国初、中级卫生专业技术资格考试辅导用书，共 3 个系列，分别为《应试指导及历年考点串讲》系列、《模拟试卷及解析（纸质版）》系列、《模拟试卷及解析（网上电子版）》系列。共 151 个品种，覆盖 103 个考试专业。根据全国广大军地考生的需求，经国家和军队相关部门认可，作为全国初、中级卫生专业技术资格考试（含部队）的指定辅导用书。

本套丛书紧扣考试大纲，内容的安排既考虑知识点的全面性，又结合考试实际，突出重点，在编写形式上力求便于考生理解和记忆，使考生在有限时间内扎实掌握大纲所要求的知识，顺利通过考试。

《应试指导及历年考点串讲》系列共有 12 本，覆盖 36 个考试专业。这个系列的突出特点，是分析了历年两千道考试题，串讲历年考点，把握考试命题方向，有针对性地对考点知识进行详尽叙述。

《模拟试卷及解析（纸质版）》系列是针对专业人数较多的 36 个专业出版的，共有 35 个品种。每个专业有 5 套卷，2 000 题。这个系列的突出特点，是试题质量非常高，贴近真实考试的出题思路及出题方向。

《模拟试卷及解析（网上电子版）》系列共有 104 个品种，对应 102 个考试专业。每个专

业有 4 套卷, 1 600 题。其突出的特点, 是专业相当齐全。考虑到部分专业每年考生数量太少, 无法出版纸质书和纸质试卷的情况, 《模拟试卷及解析 (网上电子版)》系列满足了这些专业考生的特殊需求。同时, 针对从 2009 年开始临床医学、全科医学、中医类、计划生育等 65 个专业采用人机对话考试形式的新情况, 《模拟试卷及解析 (网上电子版)》采用了真实考试的人机对话界面, 高度仿真, 考生可提前感受与适应考试的真实环境, 从而有助于提高考试通过率。

同一个专业纸质版与网络电子版试卷中的试题不同, 其复习参考价值都非常重要。为了达到互为补充、互为促进的效果, 建议两者结合使用。

根据国务院新颁布的《护士条例》的有关精神, 2008 年开始, 允许在校应届毕业生参加当年的护士执业考试。为此, 我们专门为参加护理、助产专业初级 (士) 与护士执业资格考试的考生准备了一套 “护考急救包”。该包由相互关联、配套的 3 部分组成: 一本学习指导教材即《护理学 (士) 与护士执业应试指导及历年考点串讲》, 一张 DVD 光盘即《护理学 (士) 与护士执业视频课程》 (内含 147 学时的基础学习视频辅导课件), 一张上网学习卡即《护理学 (士) 与护士执业学习卡》 (内含 11 套高仿真模拟试卷及近万道可对学习效果实施进行性、个性化评价的练习题库)。近两年, 使用该护考急救包的考生与现场培训相结合, 考试通过率高达 92%, 远高于全国的平均通过率。

由于编写及出版的时间紧、难度大、任务重, 书中如有不足, 请读者批评指正。

人民军医出版社

2008 年 12 月

内容提要

本书是全国初中级卫生专业技术资格统一考试（含部队）的指定辅导用书。全书按照最新考试大纲的要求，在分析了历年大约两千道考试题、认真总结考试的命题规律后精心编写而成。在编写结构上分为正文和历年考点串讲两部分，正文部分按照考试大纲的要求展开，既考虑到知识点的全面性，又突出重点，对常考或可能考的知识点详细叙述，对重要的关键词以黑体字的形式表示；历年考点串讲部分列出了该考试单元（细目）的历年考试频率，提示应该掌握的重点内容，并将该考试单元（细目）历年考过的试题以串讲的形式列出，简明扼要，提示考生一定要熟记这部分的内容。本书紧扣考试大纲，内容全面，重点突出，准确把握考试的命题方向，有的放矢，是复习应考的必备辅导书。

此外，与本书配套出版的还有《模拟试卷及解析（纸质版）》和《模拟试卷及解析（网上电子版）》，纸质版有 5 套卷（2 000 题），网络电子版有 4 套卷（1 600 题）。

目 录

第一部分 临床检验基础	1
第 1 单元 血液样本采集和血涂片制备	1
第 2 单元 红细胞检查	4
第 3 单元 白细胞检查	13
第 4 单元 血液分析仪及其临床应用	18
第 5 单元 血型和输血	22
第 6 单元 尿液生成和标本采集及处理	28
第 7 单元 尿理学检验	31
第 8 单元 尿有形成分检查	35
第 9 单元 尿液化学检查	42
第 10 单元 尿液分析仪及其临床应用	53
第 11 单元 粪便检验	58
第 12 单元 脑脊液检验	63
第 13 单元 浆膜腔积液检验	67
第 14 单元 精液检查	72
第 15 单元 前列腺液检查	76
第 16 单元 阴道分泌物检查	78
第 17 单元 羊水检查	79
第 18 单元 痰液与支气管灌洗液检验	82
第 19 单元 胃液和十二指肠引流液检验	85
第 20 单元 脱落细胞检查	87
第二部分 临床血液学检验	97
第 1 单元 绪论	97
第 2 单元 造血与血细胞分化发育	97
第 3 单元 骨髓细胞学检查的临床意义	101
第 4 单元 血细胞化学染色的原理及临床应用	107
第 5 单元 溶血性贫血的检验	112
第 6 单元 常见血液病检验	126
第 7 单元 白血病概述	134
第 8 单元 急性淋巴细胞白血病及其实验诊断	137
第 9 单元 急性髓细胞白血病	139
第 10 单元 慢性白血病及其诊断	145
第 11 单元 特殊类型白血病及其实验诊断	147
第 12 单元 骨髓增生异常综合征及其实验诊断	150

第 13 单元	恶性淋巴瘤及其实验诊断	152
第 14 单元	浆细胞病及其实验诊断	154
第 15 单元	骨髓增生性疾病及其实验诊断	156
第 16 单元	恶性组织细胞病及其实验诊断	159
第 17 单元	其他白细胞疾病及其实验诊断	160
第 18 单元	血栓与止血的基本理论	163
第 19 单元	检验基本方法	170
第 20 单元	常见出血性疾病的实验诊断	186
第 21 单元	常见血栓性疾病的实验诊断	192
第 22 单元	抗凝与溶栓治疗的实验室监测	194
第 23 单元	出凝血试验的自动化	196
第三部分	临床化学	197
第 1 单元	绪论	197
第 2 单元	糖代谢紊乱及糖尿病的检查	198
第 3 单元	脂代谢及高脂蛋白血症	208
第 4 单元	血浆蛋白质检查	216
第 5 单元	诊断酶学	220
第 6 单元	体液平衡紊乱及其检查	226
第 7 单元	钙、磷、镁代谢与微量元素	233
第 8 单元	治疗药物监测	237
第 9 单元	心肌损伤的生化标志物	242
第 10 单元	肝胆疾病的实验室检查	244
第 11 单元	肾功能及早期肾损伤的检查	250
第 12 单元	胰腺疾病的检查	254
第 13 单元	内分泌疾病的检查	257
第 14 单元	临床化学常用分析技术	262
第 15 单元	临床化学自动分析仪	266
第四部分	临床免疫学和免疫学检验	268
第 1 单元	免疫学概论	268
第 2 单元	抗原抗体反应	280
第 3 单元	免疫原及抗血清制备	283
第 4 单元	单克隆抗体	285
第 5 单元	凝集反应	287
第 6 单元	沉淀反应	289
第 7 单元	免疫电泳技术	291
第 8 单元	放射免疫分析和免疫放射分析	293
第 9 单元	荧光免疫技术	295

第 10 单元	酶免疫技术	298
第 11 单元	生物素-亲和素免疫放大技术	301
第 12 单元	免疫组织化学技术	303
第 13 单元	免疫细胞分离检测技术	306
第 14 单元	吞噬细胞功能检测及应用	309
第 15 单元	细胞因子测定及应用	311
第 16 单元	细胞黏附分子测定及应用	313
第 17 单元	免疫球蛋白检测及应用	314
第 18 单元	循环免疫复合物检测及应用	315
第 19 单元	补体检测及应用	316
第 20 单元	自身抗体检测及应用	318
第 21 单元	MHC 与 HLA 检测及应用	320
第 22 单元	流式细胞仪分析技术及应用	322
第 23 单元	免疫自动化仪器分析	324
第 24 单元	免疫学检验的质量管理	326
第 25 单元	超敏反应性疾病及其免疫检测	327
第 26 单元	自身免疫性疾病及其免疫检测	331
第 27 单元	免疫增殖性疾病及其免疫检测	333
第 28 单元	免疫缺陷性疾病及其免疫检测	336
第 29 单元	肿瘤免疫及其免疫检测	339
第 30 单元	移植免疫及其免疫检测	341
第五部分	临床微生物学和微生物学检验	344
第 1 单元	绪论	344
第 2 单元	细菌的形态与结构	346
第 3 单元	细菌的生理	348
第 4 单元	细菌的分布	351
第 5 单元	外界因素对细菌的影响	352
第 6 单元	微生物的遗传与变异	354
第 7 单元	微生物的致病性与感染	357
第 8 单元	细菌的分类与命名	361
第 9 单元	微生物学检验概述	363
第 10 单元	细菌形态学检查法	367
第 11 单元	培养基	369
第 12 单元	细菌的培养与分离技术	371
第 13 单元	细菌的生物化学试验	374
第 14 单元	血清学试验	378
第 15 单元	动物实验	379
第 16 单元	菌种保存与管理	380

第 17 单元	微生物商品化、自动化检验	381
第 18 单元	病原性球菌及检验	382
第 19 单元	肠杆菌科及检验	386
第 20 单元	弧菌科及检验	391
第 21 单元	弯曲菌属和幽门螺杆菌及检验	393
第 22 单元	厌氧性细菌及检验	394
第 23 单元	需氧或兼性厌氧革兰阳性杆菌及检验	396
第 24 单元	分枝杆菌属及检验	398
第 25 单元	非发酵菌及检验	399
第 26 单元	其他革兰阴性杆菌及检验	401
第 27 单元	衣原体及检验	402
第 28 单元	立克次体及检验	403
第 29 单元	支原体及其检验	405
第 30 单元	病原性放线菌与诺卡菌属及检验	407
第 31 单元	螺旋体及检验	408
第 32 单元	病毒感染的实验诊断	410
第 33 单元	真菌检验	420
第 34 单元	临床标本微生物学检验概述	424
第 35 单元	细菌对药物的敏感试验	427
第 36 单元	医院感染	432
第 37 单元	临床细菌检验的质量控制与实验室安全防护	434
第六部分	寄生虫学检验	436
第 1 单元	总论	436
第 2 单元	医学蠕虫	437
第 3 单元	医学原虫	445
第 4 单元	医学节肢动物	450
第 5 单元	寄生虫检验技术	454

第一部分 临床检验基础

第1单元 血液样本采集和血涂片制备

一、血液的生理概要

1. 血液组成 血液由血细胞（红细胞、白细胞、血小板）和血浆组成。血液离体自然凝固而分离出的淡黄色透明液体称为血清。血清适用于临床化学和临床免疫学检查。血液抗凝离心后除去细胞成分即为血浆。血浆用于化学成分测定及血栓与止血检查。血清与血浆相比，血清缺少某些凝血因子，如凝血因子 I（纤维蛋白原）、II（凝血酶原）、V、VIII等。

2. 血液理化性质

（1）血量：正常成人 4~5L，占体重 6%~8%。其中血浆占 55%，血细胞占 45%。男性比女性血量略多，女性妊娠期间血量可增加 23%~25%。

（2）颜色：动脉血呈鲜红色；静脉血呈暗红色。

（3）酸碱度：pH 7.35~7.45。

（4）比重（比重）：血液比重男性 1.055~1.063，女性 1.051~1.060；血浆比重 1.025~1.030；血细胞比重 1.090。

（5）血浆渗透量：290~310mmol/L [290~310mOsm/ (kg · H₂O)]。

3. 血液特性

（1）红细胞悬浮稳定性：正常人红细胞呈均匀混悬状态，与红细胞膜表面的唾液酸根所带负电荷、血浆成分、血浆黏度和血流动力学等有关。

（2）黏滞性：健康成人全血黏度为生理盐水黏度的 4~5 倍；血浆黏度为生理盐水的 1.6 倍。血液黏度与血细胞比容和血浆黏度有关。与血浆中纤维蛋白原、球蛋白等大分子的蛋白浓度有关，他们的浓度越高，血浆黏度越高。

（3）凝固性：血液离开血管后，因凝血因子激活，数分钟内会自行凝固。

4. 血液生理功能 血液的生理功能包括运输、协调、维护机体内环境稳定和防御功能。

（1）运输功能：血液可运送氧气和各种营养成分到全身各个脏器和组织，同时将各种代谢产物通过血液输送到肺、肾等排出体外。

（2）协调功能：将各种激素、酶类运到相关组织器官，以协调全身各组织器官的活动。

（3）维护机体内环境稳定：通过血液循环维持体内水电解质平衡、酸碱平衡、体温恒定。

（4）防御功能：血液中的白细胞、抗体、补体、细胞因子具有强大免疫功能，血小板、凝血因子具有止血和凝血作用。

二、血液标本的采集

1. 静脉采血法

(1) 普通静脉采血：成人静脉采血以肘部静脉、手背静脉、内踝静脉或股静脉为多。小儿可从颈外静脉采血，但操作有危险性，少用为宜。

(2) 真空采血法：真空采血法又称为负压采血法。真空采血装置有套筒式、头皮静脉式两种。主要原理是将有胶塞头盖的采血管抽成不同的真空度，连接针头、针筒组成全封闭的真空采血系统，实现自动定量采血。此种封闭式采血无需容器之间的血样转移，减少了标本溶血和污染机会，能有效保护血液有形成分，使检验结果更可靠。各种真空定量采血容器，根据需要标有不同的色码，适于不同检验项目。

2. 皮肤采血法 皮肤采血法又称为毛细血管采血法（2008/05 考试命题点），是采集微动脉、微静脉和毛细血管的混合全血，但含细胞间质和细胞内液。采血部位通常为耳垂或手指，手指采血操作方便，检查结果比较恒定，世界卫生组织（WHO）推荐血液常规检查采集左手环指指端内侧血液，婴幼儿可采集大脚趾或足跟内外侧缘血液，严重烧伤患者可选择皮肤完整处采血。

3. 方法学评价

(1) 皮肤采血：简便、快速、经济，但易于溶血、凝血、混入组织液，影响检查结果。

(2) 静脉采血：①普通静脉采血价格较低。缺点是操作环节多、难以规范，易造成血液污染。②封闭式的真空采血法操作规范，有利于样本收集运送和保存，能有效的防止院内感染，但价格较贵。

4. 质量控制

(1) 患者的生理状态和饮食的影响：患者活动情况、精神状态、药物、年龄、性别、种族、样本采集时间、吸烟、季节等都会影响检测结果。

(2) 采血操作对检验结果的影响：采血时间、部位、体位、止血带结扎时间（小于 3min）输液、溶血等。

(3) 样本运输、保存和处理的影响。

三、血液标本的抗凝剂

抗凝是用物理或化学方法除去或抑制血液中某些凝血因子的活性，阻止血液凝固。常用抗凝药有以下几种。①乙二胺四乙酸（EDTA）盐：EDTA 与血液中 Ca^{2+} 形成螯合物，使 Ca^{2+} 失去凝血作用。其用量为 $\text{EDTA-K}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.5~2.2mg/ml 血液，根据国际血液学标准化委员会（ICSH）建议，血细胞计数的抗凝剂为 EDTA-K₂。但不适于凝血检查和血小板功能试验。②肝素（2008/05 考试命题点）：阻止凝血酶的形成和血小板聚集，是红细胞渗透脆性试验的理想抗凝药。肝素抗凝作用强，不影响血细胞体积，不易溶血；但会引起白细胞聚集，罗氏染色产生蓝色背景，不适用于全血细胞计数、细胞形态学检查。肝素多为肝素钠盐或钾盐，用量为 $15 \pm 2.5\text{U/ml}$ 。③草酸盐：草酸根离子与样本中 Ca^{2+} 形成草酸钙沉淀，使 Ca^{2+} 失去凝血作用。草酸盐与血液比例为 1:9。主要用于凝血检查。④双草酸盐：适用于血细胞比容、网织红细胞计数等检查，不适用于血小板计数和白细胞分类计数。用量同草酸盐。⑤枸橼酸盐：与血中 Ca^{2+} 结合形成螯合物，阻止血液凝固。枸橼酸盐抗凝药的抗凝作用不如上述抗凝药。

枸橼酸钠与血液的比例为 1:9 或 1:4。适用于凝血检查,红细胞沉降率检查,是输血保养液的抗凝成分。

四、血涂片的制备

1. 玻片清洁 新载玻片常带有游离碱质,须用 1mol/L HCl 浸泡 24h,清水冲洗。载玻片应清洁、干燥、中性、无油腻。

2. 血涂片制备

(1) 手工推片法:包括临床广泛应用的薄血膜法和用于疟原虫和微丝蚴检查的厚血膜法。影响涂片厚薄的因素有血滴大小、推片与载玻片间夹角、推片速度、血细胞比容。一张良好的血片,应厚薄适宜、头体尾明显、细胞分布均匀、血膜边缘整齐、两侧留有一定空隙。

(2) 棕黄层涂片法(抗凝标本的有核细胞层涂片):主要适用于白细胞减低患者的白细胞分类计数、红斑狼疮细胞检查等。

(3) 仪器自动涂片法:主要用于自动化血液分析仪。

3. 质量控制

(1) 器材:玻片中性、清洁。

(2) 制片:头体尾分明、细胞分布均匀、边缘整齐、两侧留空隙、厚薄适宜。

(3) 染色:染色良好,应在 1h 内完成。

(4) 其他:血滴愈大、角度愈大、推片速度愈快、血膜愈厚,反之则愈薄。血细胞比容增高、血液黏度较高时,应采用小血滴、小角度、慢推,可获得满意结果;血细胞比容减低、血液较稀时,应采用大血滴、大角度、快推。

4. 方法评价 手工推片法用血量少、操作简单,是临床上应用最广泛的方法。抗凝标本离心后取细胞灰白层或棕黄层涂片法可提高有核细胞阳性检出率。但某些抗凝剂可影响细胞形态,分类计数应注意。疟原虫、微丝蚴等检查可采用厚血涂片法。

五、细胞染色

1. 瑞氏染色

(1) 瑞氏染液组成(2008/05 考试命题点):将碱性亚甲蓝与酸性伊红溶于甲醇中。

(2) 原理:既有物理的吸附作用,又有化学的亲合作用,由于各种细胞成分化学性质不同,与染料的亲和力也不一样,会被染成不同颜色。

(3) 影响因素:细胞成分属蛋白质,因蛋白质是两性电解质,所带电荷随溶液 pH(最适 pH 为 6.4~6.8)而定。在偏酸性环境中正电荷增多,易与带负电的酸性染料伊红结合,红细胞和嗜酸性粒细胞染色偏红,细胞核呈淡蓝色或不染色;在偏碱性环境中负电荷增多,易与亚甲蓝结合,细胞核染呈灰蓝色,嗜酸性颗粒呈暗褐色或棕黑色,中性颗粒偏粗呈紫黑色。细胞染色深浅与染液 pH、细胞数量、血膜厚度、染色时间、染液浓度密切相关。

2. 姬姆萨染色

(1) 染液组成:姬姆萨染液由天青、伊红、甲醇、纯甘油组成。

(2) 染色原理:与瑞氏染色基本相同。

(3) 注意事项:血片需先用甲醇固定 3~5min;姬姆萨染液染色前,用磷酸盐缓冲液(pH 6.4~6.8)稀释姬姆萨染液 10~20 倍;浸染 10~30min。

3. 细胞染色的质量控制 染色过深、过浅与血涂片中细胞数量、血膜厚度、染色时间、染液浓度、pH 密切相关。细胞染色过深纠正方法是用甲醇和瑞氏染液适当的脱色,或者缩短染色时间、稀释染液、调节 pH。细胞染色过浅纠正方法是复染、延长染色时间、调节 pH。

4. 细胞染色的方法评价 瑞氏染色法是血涂片最常用的染色法,尤其对细胞质成分、中性颗粒染色效果好,但对细胞核和寄生虫的着色能力略差。姬姆萨染液对细胞核、寄生虫(如疟原虫等)着色较好,但对细胞质成分的着色能力略差。采用瑞氏-姬姆萨复合染液可使细胞胞质、颗粒、胞核等均获得满意的染色效果。

历年考点串讲

血液样本采集和血涂片制备可重点复习。为历年常考内容,近几年来考试频率较高。其中,血标本采集、抗凝剂选择、血涂片制备、细胞染色是考试的重点,应熟练掌握。常考的细节有:

1. 血液的组成。血液由血细胞和血浆组成,血清与血浆相比,血清缺少某些凝血因子。
2. 血液样本采集。世界卫生组织(WHO)推荐成人血常规检查应采集左手环指指端内侧血液,婴幼儿可采集大脚趾或足跟内外侧缘血液。血液标本采集严格无菌操作,针刺深度2~3mm,应弃去第1滴血,切勿用力挤压。成人静脉采血部位为肘部静脉。
3. 抗凝剂的应用。血细胞计数的抗凝剂为EDTA-K₂。红细胞沉降率、凝血试验,输血保养液的抗凝剂为枸橼酸钠,肝素是血气分析和红细胞渗透脆性试验的理想抗凝剂,但肝素可使白细胞聚集,并使血涂片在罗氏染色时产生蓝色背景,不适合血液学一般检查。促凝剂适用于急诊生化检验。
4. 合格的血涂片具备的特点。制片头体尾分明、细胞分布均匀、边缘整齐、两侧留空隙、厚薄适宜,血涂片血膜应占玻片长度的2/3左右。新载玻片常带有游离碱质,必须用约1mol/L HCl清洗后才能使用。
5. 细胞染色。瑞氏染料由酸性染料伊红(E⁻)、碱性染料亚甲蓝(M⁺)及甲醇组成。染色原理:物理的吸附,化学的亲合作用。瑞氏染色最适pH为6.4~6.8。在偏酸性环境中(pH<pI)蛋白质带正电荷增多,易与伊红结合,染色偏红;在碱性环境中(pH>pI)蛋白质带负电荷增多,易与亚甲蓝结合,染色偏蓝。
6. 方法评价。瑞氏染色法是最常用最经典的细胞染色方法,尤其对细胞质成分、中性颗粒染色效果好,而姬姆萨染色法对细胞核和寄生虫的着色较好。

(马 丽)

第2单元 红细胞检查

一、概述

1. 红细胞生理

(1) 红细胞生成: ①红细胞是血液中数量最多的有形成分; ②起源于骨髓造血干细胞;

③从造血干细胞分化发育到网织红细胞在骨髓中进行, 约需 72h; ④在骨髓或血液中, 网织红细胞到成熟红细胞约需 48h; ⑤成熟红细胞平均寿命约 120d; ⑥衰老红细胞主要在脾脏破坏。

(2) 红细胞生理功能: 通过血红蛋白实现交换和携带气体的功能。

2. 血红蛋白分子结构和特点

(1) 结构: 血红蛋白 (hemoglobin, Hb) 是由两对珠蛋白肽链和 4 个亚铁血红素构成的。

①珠蛋白: 4 条肽链 (α 、 β 链); ②亚铁血红素: 原卟啉、铁。

(2) 特点: ①正常情况下, 99% 血红蛋白为还原血红蛋白 (HbA), 1% 为高铁血红蛋白 (HbF)。②只有 Fe^{2+} 状态的血红蛋白才能与氧结合, 称为氧合血红蛋白。③在不同生长时期, 血红蛋白的种类与比例不同。出生后 3 个月, HbA 占 95% 以上, 而 HbF < 1%。④血红蛋白合成受红细胞生成素、雄激素调节。⑤血红蛋白相对分子质量为 64 458。⑥血红蛋白降解产物为: 珠蛋白、血红素。

二、红细胞计数

1. 检测原理

(1) 手工显微镜法: 用等渗稀释液将血液稀释一定倍数, 充入血细胞计数池, 在显微镜下计数一定体积内红细胞数, 经换算求出每升血液中红细胞数量。

(2) 血液分析仪法: 用电阻抗和 (或) 光散射原理。

2. 方法学评价

(1) 手工显微镜法: 不需要特殊设备, 但操作复杂、费时。可用于白细胞减少、血小板减少或受小红细胞干扰的血小板计数结果的校正。

(2) 血液分析仪法: 比手工法精确 (电阻抗法变异系数为 2%, 手工法变异系数大于 11%)。当白细胞数量明显增高时, 会干扰红细胞计数和体积测定而产生误差。

3. 质量控制

(1) 手工法误差原因: ①血液发生凝固; ②稀释、充池、计数不规范; ③微量吸管、计数板不标准; ④固有误差 (计数域误差)。

(2) 仪器法: 仪器应严格按规程操作, 并定期进行室内和室间质控。

4. 参考值

(1) 参考值: 成人, 男性 $(4 \sim 5.5) \times 10^{12}/\text{L}$; 女性 $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/\text{L}$ 。新生儿 $(6.0 \sim 7.0) \times 10^{12}/\text{L}$ 。

(2) 医学决定水平: $>6.8 \times 10^{12}/\text{L}$, 需要治疗; $<$ 参考值下限, 可诊断为贫血; $<1.5 \times 10^{12}/\text{L}$, 应考虑输血。

5. 临床意义

(1) 生理性变化: ①年龄与性别的差异; ②精神因素; ③剧烈体力运动和劳动; ④气压; ⑤妊娠。

(2) 各种原因的贫血: ①急性、慢性红细胞丢失过多; ②红细胞寿命缩短; ③造血原料不足; ④骨髓造血功能减退。

(3) 红细胞增多: ①原发性红细胞增多; ②继发性红细胞增多; ③相对性红细胞增多。

6. 操作方法 在 2ml 红细胞稀释液中加血 10 μl , 混匀后, 充入计数板计数池, 室温静

置 3~5min，在高倍镜下，计数中央大方格内正中及四角的 5 个中方格内的红细胞数。

红细胞/L = $N \times 25/5 \times 10 \times 10^6 \times 200 = N \times 10^{10} = N/100 \times 10^{12}$ (N: 5 个中方格内的红细胞数)

三、血红蛋白测定

1. 检测原理

(1) 氰化高铁血红蛋白 (HiCN) 测定法: 血液中除硫化血红蛋白 (SHb) 外的各种血红蛋白均可被高铁氰化钾氧化为高铁血红蛋白, 后者与 CN⁻ 结合生成稳定的棕红色复合物——氰化高铁血红蛋白, 其在 540nm 处有一吸收峰, 用分光光度计测定该处的吸光度, 经换算即得血液中血红蛋白浓度。HiCN 法是目前国际推荐测定血红蛋白的参考方法。

(2) 十二烷基硫酸钠血红蛋白 (SDS-Hb) 测定法: 血液中除 SHb 外的各种血红蛋白均可与低浓度 SDS 作用, 生成 SDS-Hb 棕红色化合物, 用分光光度计测定波峰 538nm 处吸光度, 经换算得血液中血红蛋白浓度。

2. 方法学评价

(1) HiCN 法: 有操作简单、显色快、结果稳定可靠、读取吸光度后可直接定值等优点。其致命的缺点是氰化钾 (KCN) 试剂有剧毒。

(2) SDS-Hb 测定法: 操作简单、呈色稳定、准确性和精确性符合要求、无公害。但不能直接用吸光度计算血红蛋白浓度, 而且 SDS 试剂本身质量差异较大会影响检测结果。

(3) 叠氮高铁血红蛋白 (HiN3) 法: 优点与 HiCN 测定法相似, 最大吸收峰在 542nm。试剂毒性仅为 HiCN 测定法的 1/7, 但仍存在公害问题。

(4) 碱羟血红蛋白 (AHD 575) 测定法: 试剂简单、呈色稳定、无公害, 吸收峰在 575nm, 可用氯化血红素作为标准品。但仪器多采用 540nm 左右滤光板, 限制了此法使用。

(5) 溴代十六烷基三甲胺 (CTAB) 血红蛋白测定法: 试剂溶血性强又不破坏白细胞, 适用于仪器上自动检测血红蛋白和白细胞。缺点是准确度和精密度不佳。

(6) 沙利 (Sahli) 酸化血红蛋白法: 简单易行, 但重复性差、误差较大, 已被列为县以上医院淘汰的实验项目。

(7) 血细胞分析仪: 操作简单、快速, 同时可获得多项红细胞参数。仪器须经 HiCN 标准液校正后才能使用。仪器法测定精度 (CV) 约为 1%。

3. 质量控制

(1) 样本: 异常血浆蛋白质、高脂血症、白细胞数超过 $30 \times 10^9/L$ 、脂滴等可产生浊度, 干扰 Hb 测定。

(2) 采血部位: 部位不同, 结果不同, 静脉血比毛细血管血低 10%~15%。

(3) 结果分析: 测定值假性增高的原因是稀释倍数不准、红细胞溶解不当、血浆中脂质或蛋白质量增加。

(4) HiCN 参考液: 是制备标准曲线、计算 K 值、校准仪器和其他测定方法的重要物质。

(5) 质控物: ACD 抗凝全血、进口全血质控物、醛化半固定红细胞。

4. 参考值 成人: 男性 120~160g/L; 女性 110~150g/L。新生儿: 170~200g/L。老年人 (>70 岁): 男性 94.2~122.2g/L; 女性 86.5~111.8g/L。

5. 临床意义

(1) 生理性变化：随年龄而变化；血红蛋白量有天内波动，7:00 达高峰。

(2) 病理性变化：血红蛋白测定临床意义和红细胞计数相似，但在贫血程度的判断优于红细胞计数。需注意的是：①某些疾病，血红蛋白和红细胞浓度不一定能正确反映全身红细胞的总容量。如大量失血时，在补充液体前，虽循环血容量缩小，但血液浓度很少变化，从血红蛋白浓度来看，很难反映存在贫血。如水潴留时，血浆容量增大，即使红细胞容量正常，但血液浓度减低，从血红蛋白浓度来看，已存在贫血；反之，失水时，血浆容量缩小，即使血液浓度增高，但红细胞容量减少，从血红蛋白浓度来看，贫血不明显。②发生大细胞性贫血或小细胞低色素性贫血时，红细胞计数与血红蛋白浓度不成比例。大细胞性贫血的血红蛋白浓度相对偏高，小细胞低色素性贫血的血红蛋白减低，但红细胞计数可正常。

6. 氰化高铁血红蛋白测定法操作 在 5ml HiCN 转化液中，加血 20 μ l，充分混合，静置 5min 后，倒入光径 1cm 比色皿，在波长 540nm 处，HiCN 转化液或蒸馏水调零，测定吸光度 (A)。根据公式直接计算： $Hb(g/L) = A/44 \times 64458/1000 \times 251 = A \times 367.7$ ，式中 A 为样本吸光度，44 为毫摩尔消光系数，64458/1000 为 1mol/L Hb 溶液中所含血红蛋白克数，251 为稀释倍数。采用 HiCN 参考液 (50、100、150、200g/L)，在分光光度计上，波长 540nm 处，测定各种参考液的吸光度，以参考液血红蛋白含量为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，或求出换算常数 (K) $K = \Sigma Hb / \Sigma A$ 。然后，根据样本吸光度 (A) 在标准曲线查出血红蛋白浓度，或用 K 值计算： $Hb(g/L) = K \times A$ 。

四、红细胞形态检查

1. 原理 将细胞分布均匀的血涂片，进行染色（如瑞氏染色）后，根据各种细胞和成分各自的呈色特点，在显微镜下进行观察和识别。

2. 参考值 瑞氏染色血涂片成熟红细胞形态为双凹圆盘形，细胞大小一致，平均直径 7.2 μ m (6.7~7.7 μ m)，淡粉红色，中央 1/3 为生理性淡染区，胞质内无异常结构。

3. 临床意义

(1) 红细胞大小改变 ①小红细胞：直径 < 6 μ m，正常人罕见。见于缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血和遗传性球形细胞增多症；②大红细胞：直径 > 10 μ m，见于巨幼细胞性贫血、溶血性贫血、恶性贫血等；③巨红细胞：直径 > 15 μ m，见于巨幼细胞性贫血；④红细胞大小不均：红细胞间直径相差一倍以上，见于严重的增生性贫血（如巨幼细胞性贫血）。

(2) 红细胞内血红蛋白含量改变 ①正常色素性：正常人、急性失血、再生障碍性贫血和白血病等；②低色素性（2008/05 考试命题点）：缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血、铁粒幼细胞性贫血、某些血红蛋白病；③高色素性：巨幼细胞性贫血；④多色性：正常人（约 1%）、骨髓造红细胞功能活跃（如溶血性或急性失血性贫血）；⑤细胞着色不一：见于铁粒幼红细胞性贫血。

(3) 红细胞形状改变 ①球形红细胞：遗传性和获得性球形红细胞增多症；②椭圆形红细胞：遗传性椭圆形红细胞增多症、大细胞性贫血、缺铁性贫血、骨髓纤维化、巨幼细胞性贫血、镰形细胞性贫血、正常人（1%~15%）；③靶形细胞：各种低色素性贫血、阻塞性黄疸、脾切除后；④口形红细胞：口形红细胞增多症、小儿消化系统疾患引起的贫血、酒精中毒、某些溶血性贫血、肝病和正常人（<4%）；⑤镰形红细胞：镰状细胞贫血；⑥棘红细胞：遗