

临床医学检验学 (上)

王梅春等◎主编

吉林科学技术出版社

临床医学检验学

(上)

王梅春等◎主编

图书在版编目 (C I P) 数据

临床医学检验学/ 王梅春, 王学波, 王景胜等主编
— 长春 : 吉林科学技术出版社, 2016. 5
ISBN 978-7-5578-0579-1

I. ①临… II. ①王…②王…③王… III. ①医学检验 IV. ①R446

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第104554号

临床医学检验学

LINCHUANG YIXUE JIANYANXUE

主 编	王梅春 王学波 王景胜
出 版 人	李 梁
责任编辑	许晶刚 陈绘新
封面设计	长春创意广告图文制作有限责任公司
制 版	长春创意广告图文制作有限责任公司
开 本	787mm×1092mm 1/16
字 数	1022千字
印 张	42
版 次	2016年5月第1版
印 次	2017年6月第1版第2次印刷

出 版	吉林科学技术出版社
发 行	吉林科学技术出版社
地 址	长春市人民大街4646号
邮 编	130021
发行部电话/传真	0431-85635177 85651759 85651628 85652585 85635176

储运部电话 0431-86059116

编辑部电话 0431-86037565

网 址 www.jlstp.net

印 刷 虎彩印艺股份有限公司

书 号 ISBN 978-7-5578-0579-1

定 价 165.00元

如有印装质量问题 可寄出版社调换

因本书作者较多, 联系未果, 如作者看到此声明, 请尽快来电或来函与编辑部联系, 以便商洽相应稿酬支付事宜。

版权所有 翻印必究 举报电话: 0431-86037565

编委会

主 编:王梅春 王学波 王景胜
杨 宁 高会广 连培文
副主编:张 磊 李德红 居 敏
李 军 王凌旭 张 燕
刘 静 高 巍 孙耀峰

编 委:(按照姓氏笔画)

王学波	烟台毓璜顶医院
王凌旭	郑州大学附属郑州市中心医院
王梅春	烟台市烟台山医院
王景胜	中国人民解放军第 404 医院
王 静	开封市儿童医院
白 婷	开封市儿童医院
刘 静	沈阳军区总医院
孙耀峰	威海市立医院
杨 宁	潍坊市中医院
李 军	河北省邢台市人民医院
李承威	牡丹江医学院红旗医院
李德红	甘肃省人民医院
连培文	烟台毓璜顶医院
张 杨	开封市儿童医院
张艳灵	开封市儿童医院
张 磊	开封市儿童医院
张 磊	兰州大学第一医院
张 燕	邯郸市第一医院
岳 磊	开封市儿童医院
居 敏	新疆医科大学第一附属医院
柳居泊	开封市儿童医院
夏燕杰	牡丹江医学院红旗医院
高会广	中国人民解放军第 404 医院
高 巍	开封市儿童医院
薛振涛	开封市儿童医院



王梅春,烟台市烟台山医院检验科主管技师,本科学历。从事医学检验工作 21 年,分别在微生物实验室、生化室、门诊化验室、免疫室从事检验工作,对检验科各科室的工作有着丰富的经验。担任烟台市核医学会委员。工作 21 年来,发表论文 5 篇。



王学波,1976 年出生,硕士。2000 年毕业于青岛大学医学院临床检验专业,现烟台毓璜顶医院检验中心主管检验师。工作期间先后多次在卫生部临检中心、山东省脐带血造血干细胞库、源奇生物等单位进修与培训学习。主要从事基因诊断工作,熟练掌握各种分子生物学实验平台技术,先后参加医院承担的国家 863、国家自然科学基金、山东省重点攻关等课题。发表国内外文章十多篇,其中 SCI 收录 4 篇。2010 年获烟台市科技进步一等奖。目前主持烟台市课题一项,参与国家自然科学基金两项。



王景胜,中国人民解放军第四〇四医院检验科主任,主任技师,毕业于第三军医大学。中国免疫学会会员,全军微生物学专业委员会委员,济南军区检验医学专业委员会副主任委员,济南军区生物技术专业委员会常务委员,山东省医学会检验分会委员,山东省基础医学检验专家委员会委员,威海市检验医学专业委员会副主任委员。长期从事医学检验工作,具有较丰富的实验诊断经验,发表学术论文 50 余篇,主编、参编著作 5 部,获得军队科技进步三等奖 2 项,四等奖 2 项,荣立三等功 1 次。

前 言

现代医学检验即通过现代物理化学方法、手段,利用实验室技术、医疗仪器设备为临床疾病诊断、治疗提供依据。

现代医学科技发展迅速,一大批新技术、新设备、新方法逐渐被引入到临床实验室,作为检验科的医务人员,需不断学习,吸取最先进的技术与理念,并合理地运用于临床。为了更好地了解医学检验技术的发展,并且更好地将其应用于临床,提高临床诊断率,本编委会组织了在临床检验医学方面具有丰富经验的医务人员认真编写了此书。

本书共五篇内容,第一篇血液检验与输血,共七章内容,包括:红细胞检验技术、白细胞检验技术、血栓与止血疾病检验技术、红细胞疾病相关检验、白细胞疾病相关检验、出血与血栓性疾病以及临床输血技术。第二篇排泄物、分泌物及体液检验,共三章内容,尿液检验、粪便检验以及体液检验。第三篇分子生物检验,共五章内容,包括:核酸的分离与纯化、重组 DNA 技术、临床基因扩增检验技术、核酸分子杂交技术及分子生物检验技术的临床应用。第四篇生物化学检验,共五章内容,包括:蛋白质和含氮化合物的生物化学检验、糖代谢紊乱的生物化学检验、脂蛋白代谢紊乱的生物化学检验、微量元素和维生素代谢紊乱的生物化学检验以及生物化学检验的临床应用。第五篇免疫学检验,共六章内容,包括:自身免疫病的免疫学检验、免疫增殖病的免疫学检验、免疫缺陷病的免疫学检验、感染性疾病的免疫学检验、肿瘤的免疫学检验以及移植的免疫学检验。

为了进一步提高临床检验人员的水平,本编委会人员在多年临床检验的经验基础上,参考诸多书籍资料,认真编写了此书,望谨以此书为广大临床检验人员提供微薄帮助。

本书在编写过程中,借鉴了诸多医学检验相关临床书籍与资料文献,在此表示衷心的感谢。由于本编委会人员均身负繁重的临床检验工作,故编写时间仓促,难免有错误及不足之处,恳请广大读者见谅,并给予批评指正,以更好地总结经验,以起到共同进步、提高临床医学检验与诊断水平的目的。

《临床医学检验学》编委会

2016 年 5 月

目 录

第一篇 血液检验与输血	(1)
第一章 红细胞检验技术	(1)
第一节 溶血的一般检验	(1)
第二节 铁代谢检验	(5)
第三节 叶酸、维生素 B ₁₂ 测定	(8)
第四节 红细胞膜缺陷检验	(11)
第五节 红细胞酶缺陷的检验	(15)
第六节 免疫溶血性贫血检验	(18)
第七节 血红蛋白异常检验	(20)
第八节 阵发性睡眠性血红蛋白尿症有关检验	(25)
第二章 白细胞检验技术	(28)
第一节 白细胞功能检验	(28)
第二节 微量残留白血病检测	(33)
第三章 血栓与止血疾病检验技术	(37)
第一节 血管壁和血管内皮细胞的检验	(37)
第二节 血小板检验	(41)
第三节 凝血因子检验	(48)
第四节 抗凝系统检验	(57)
第五节 纤溶活性检验	(62)
第六节 血液流变学检验	(68)
第四章 红细胞疾病相关检验	(71)
第一节 红细胞疾病概述	(71)
第二节 缺铁性贫血	(74)
第三节 巨幼细胞贫血	(77)
第四节 再生障碍性贫血	(81)
第五节 溶血性贫血	(84)
第六节 血红蛋白病	(94)
第五章 白细胞疾病相关检验	(98)
第一节 急性白血病	(98)
第二节 其他淋巴细胞系统恶性肿瘤	(118)
第三节 骨髓增生异常综合征	(129)
第四节 骨髓增殖性肿瘤	(136)
第五节 其他白细胞疾病	(144)
第六章 出血与血栓性疾病	(153)
第一节 常见出血性疾病及检验	(153)

第二节 常见血栓性疾病及检验	(167)
第七章 临床输血技术	(172)
第一节 全血输注	(172)
第二节 红细胞输注	(174)
第三节 血小板输注	(175)
第四节 血浆输注	(178)
第五节 冷沉淀输注	(179)
第六节 粒细胞输注	(180)
第七节 血浆蛋白制品的输注	(181)
第八节 大量输血	(184)
第九节 肝移植患者输血	(187)
第十节 新生儿、儿童及老年人输血	(188)
第十一节 弥散性血管内凝血患者输血	(190)
第十二节 自身输血	(192)
第二篇 排泄物、分泌物及体液检验	(196)
第一章 尿液检验	(196)
第一节 尿液理学检验	(196)
第二节 尿液化学检验	(205)
第三节 尿液显微镜检验	(229)
第四节 尿液分析仪检查	(251)
第二章 粪便检验	(262)
第一节 粪便标本采集和处理	(262)
第二节 粪便一般检查	(263)
第三节 粪便分析工作站	(273)
第四节 粪便检验质量保证	(274)
第三章 体液检验	(276)
第一节 脑脊液检查	(276)
第二节 浆膜腔积液检查	(288)
第三节 精液检查	(298)
第四节 前列腺液检查	(309)
第五节 阴道分泌物检查	(312)
第六节 其他体液检查	(316)
第三篇 分子生物检验	(336)
第一章 核酸的分离与纯化	(336)
第一节 基因组 DNA 的分离与纯化	(336)
第二节 质粒 DNA 的提取与纯化	(339)
第三节 RNA 的分离与纯化	(341)
第二章 重组 DNA 技术	(344)
第一节 工具酶	(344)

第二节 重组 DNA 常用载体	(347)
第三节 重组 DNA 技术的基本步骤	(349)
第四节 重组 DNA 技术的应用	(356)
第三章 临床基因扩增检验技术	(359)
第一节 聚合酶链式反应	(359)
第二节 PCR 衍生技术	(363)
第三节 PCR 检测技术的临床应用	(367)
第四章 核酸分子杂交技术	(373)
第一节 核酸分子杂交的基本原理与分类	(373)
第二节 核酸探针	(378)
第三节 常用核酸分子杂交技术	(385)
第五章 分子生物检验技术的临床应用	(388)
第一节 细菌感染性疾病的分子生物学检验	(388)
第二节 真菌及其他感染性疾病的分子生物学检验	(399)
第三节 染色体病的分子生物学检验技术	(409)
第四节 线粒体病的分子生物学检验技术	(423)
第五节 肿瘤的分子生物学检验技术	(440)
第四篇 生物化学检验	(462)
第一章 蛋白质和含氮化合物的生物化学检验	(462)
第一节 血浆蛋白质的生物化学检验	(462)
第二节 氨基酸的生物化学检验	(469)
第三节 高尿酸血症的生物化学检验	(472)
第二章 糖代谢紊乱的生物化学检验	(476)
第一节 糖代谢紊乱与糖尿病	(476)
第二节 糖代谢紊乱指标的测定与评价	(482)
第三节 糖代谢紊乱指标测定的临床应用	(486)
第三章 脂蛋白代谢紊乱的生物化学检验	(492)
第一节 血浆脂蛋白代谢紊乱与异常脂蛋白血症	(492)
第二节 血脂和脂蛋白的测定与评价	(498)
第三节 血脂和脂蛋白测定的临床应用	(505)
第四章 微量元素和维生素代谢紊乱的生物化学检验	(510)
第一节 微量元素代谢紊乱的生物化学检验	(510)
第二节 维生素代谢紊乱的生物化学检验	(517)
第五章 生物化学检验的临床应用	(522)
第一节 肝胆疾病的生物化学检验	(522)
第二节 肾脏疾病的生物化学检验	(531)
第三节 心血管疾病的生物化学检验	(541)
第四节 内分泌疾病的生物化学检验	(549)
第五节 消化疾病的生物化学检验	(554)

第六节 妊娠与新生儿疾病的生物化学检验	(561)
第五篇 免疫学检验	(567)
第一章 自身免疫病的免疫学检验	(567)
第一节 概述	(567)
第二节 自身免疫病发生的相关因素	(568)
第三节 自身免疫病的免疫损伤机制	(570)
第四节 临床常见的自身免疫病	(571)
第五节 自身免疫病的免疫学检验	(573)
第二章 免疫增殖病的免疫学检验	(580)
第一节 概述	(580)
第二节 免疫增殖病的免疫损伤特点	(582)
第三节 常见的免疫增殖病	(584)
第四节 免疫增殖病的免疫学检验	(590)
第三章 免疫缺陷病的免疫学检验	(595)
第一节 概述	(595)
第二节 原发性免疫缺陷病	(596)
第三节 继发性免疫缺陷病	(602)
第四节 免疫缺陷病的免疫学检验	(605)
第四章 感染性疾病的免疫学检验	(610)
第一节 细菌感染性疾病的免疫学检验	(610)
第二节 病毒感染性疾病的免疫学检验	(612)
第三节 其他微生物感染的免疫学检验	(621)
第四节 寄生虫感染的免疫学检验	(624)
第五章 肿瘤免疫的免疫学检验	(628)
第一节 肿瘤抗原	(628)
第二节 机体抗肿瘤的免疫机制	(630)
第三节 肿瘤的免疫逃逸机制	(632)
第四节 肿瘤的免疫学检验	(633)
第六章 移植的免疫学检验	(641)
第一节 引起排斥反应的靶抗原	(641)
第二节 移植排斥反应的种类和发生机制	(644)
第三节 组织配型	(648)
第四节 移植排斥反应的免疫学防治	(651)
第五节 排斥反应的免疫监测	(653)
参考文献	(656)

第一篇 血液检验与输血

第一章 红细胞检验技术

红细胞检验技术主要是针对红细胞减少(贫血)和红细胞增多两大类疾病的检验。临床上红细胞疾病以贫血最为常见。贫血的正确诊断,需要综合分析病史、临床症状、体征和各种实验室检查结果才能获得。而实验室检查是诊断贫血的主要依据。临床贫血常用的实验室检查主要有血常规检查、红细胞形态观察、网织红细胞计数、骨髓细胞形态学及病理组织学检查、病因检查等。主要实验室检查路径包括:①确定有无贫血;②确定贫血的严重程度及类型;③查明贫血的原因或原发病。

目前,临床上红细胞疾病检验技术取得了很大进展,除了物理、化学、酶学等分析方法外,免疫学方法已从免疫电泳、酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、放射免疫分析法(radioimmunoassay, RIA)等发展到化学发光免疫分析等方法;分离技术也从醋酸纤维素膜电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)等拓展到微量层析柱分析、毛细管电泳、高效液相色谱分析等方法。此外,分子生物学技术、流式细胞术、染色体分析技术等也已广泛应用到临床,甚至成为某些红细胞疾病诊断或鉴别诊断的重要或必要手段。本章节主要介绍有助于明确贫血病因的红细胞疾病特殊检验项目和技术。

第一节 溶血的一般检验

溶血性贫血(hemolytic anemia, HA)是由于各种原因使红细胞破坏过多、寿命缩短,超过骨髓的造血代偿能力时所发生的一类贫血。正常骨髓具有6~8倍的造血代偿能力,当红细胞破坏增多时,骨髓产生红细胞的数量明显增加。如果发生溶血而骨髓造血能够代偿时,则不出现贫血,称为溶血性疾病;若骨髓造血失代偿,则导致贫血,即溶血性贫血。红细胞在血流中被破坏,称为血管内溶血;若红细胞在单核-巨噬细胞系统中被破坏,则称为血管外溶血。溶血性贫血的检查除红细胞计数及其相关参数测定、网织红细胞计数、胆红素测定等一般检查外还常包括以下项目。

一、红细胞寿命测定

(一)实验原理

红细胞寿命测定(erythrocyte life span determination)是将标记放射性核素 ^{51}Cr 的红细胞注入血液循环后,逐日观察其消失率,记录成活曲线,以其在血液循环中消失1/2所需要时间(半衰期 $T_{1/2}$)表示红细胞寿命。

(二)参考区间

正常人红细胞 $^{51}\text{CrT}_{1/2}$ 为 25~32 天(核素标记法)。

(三)临床意义

①溶血性贫血患者红细胞寿命缩短, $T_{1/2}$ 约为 14 天;②再生障碍性贫血和脾功能亢进患者红细胞寿命缩短, $T_{1/2}$ 约为 15~29 天;③真性红细胞增多症患者,红细胞寿命明显延长;④缺铁性贫血患者,红细胞寿命多数正常,少数缩短。

(四)应用评价

由于核素的半衰期和红细胞寿命之间没有线性关系,以及核素标记红细胞方面的技术问题,限制了试验的准确度。同时,由于该检测方法价格高昂,需特殊技术,且试验周期长(至少 15 天),此期间不能输血或过多抽血,有可能干扰治疗,故临床应用受到一定限制,不作为常规方法应用。但本试验仍能反映平均红细胞消亡状态,因此是反映红细胞破坏最直接、最可靠的方法之一。

值得注意的是,患者在接受检查前 3 周及检查期间要避免输血,以保证 ^{51}Cr 标记的是其自身红细胞以及标记红细胞不被非标记细胞所稀释,否则会影响测定结果。检查前 1 周停用维生素 C,因其可使六价 ^{51}Cr 还原成三价而减低标记率。标记红细胞时所加入 ^{51}Cr 的浓度应 $<2\mu\text{g}/\text{ml}$ 红细胞,过量会影响红细胞存活期。

二、血浆游离血红蛋白测定

通常血红蛋白存在于红细胞内,当红细胞破坏,血红蛋白释放入血,则为游离血红蛋白。正常情况下,血浆中游离血红蛋白大部分与结合珠蛋白(haptoglobin, Hp)结合。若没有足够的 Hp 结合游离血红蛋白,就由肾脏来清除游离血红蛋白,导致血红蛋白尿。一些血红蛋白可以在血液循环中被分解为血红素和珠蛋白;血红素能结合白蛋白产生高铁血红素白蛋白(methemalbumin)。

血浆游离血红蛋白的测定方法有色原比色定量法、直接分光光度法和免疫学检测法。常用的是前一类,其中邻-甲联苯胺法因无致癌作用较为常用。

(一)实验原理

色原比色定量法的原理是:血红蛋白中亚铁血红素具有类过氧化物酶活性,在过氧化氢(H_2O_2)参与下,可催化无色的邻联甲苯胺脱氢而显蓝色,吸收峰在 630nm,加入强酸(pH1.5)后呈黄色,吸收峰为 435nm。根据颜色深浅,与同时测定的标准血红蛋白液对照,可求出血浆游离血红蛋白(plasma free hemoglobin)的含量。

(二)参考区间

0~40mg/L(色原比色定量法)。

(三)临床意义

正常人血浆中仅含微量游离血红蛋白,且大部分与结合珠蛋白结合。

1. 血浆游离血红蛋白增高是判断血管内溶血最直接的证据,严重的血管内溶血血浆游离血红蛋白常为 60~650mg/L。

2. 体外循环、心脏手术、血液透析、心脏瓣膜置换术后等所致的溶血,血浆游离血红蛋白可有不同程度增高。

3. 血管外溶血、红细胞膜缺陷症血浆游离血红蛋白含量一般正常。

(四)应用评价

本试验可有效判断红细胞的破坏程度,是检测有无溶血和判断血管内溶血的常规筛检方法。但当血管内发生少量溶血时,血浆中的游离血红蛋白可与 Hp 结合而被肝脏单核-巨噬细胞系统清除,只有当血浆中游离血红蛋白量超过 Hp 的结合能力时,血浆游离血红蛋白含量才增高,因此该试验不如血清结合珠蛋白测定敏感。此外,动物实验表明急性血管内溶血发生 2 小时后,血浆游离血红蛋白含量可减低一半。因此,本试验应该在溶血后立即取样,取浆及分离血浆过程中要注意避免发生溶血。

三、血清结合珠蛋白测定

血清结合珠蛋白(haptoglobin, Hp)是一组由肝脏产生的 α_2 糖蛋白,作用似血红蛋白的转运蛋白质。Hp 能与游离血红蛋白结合形成稳定的复合物,其含量的变化与溶血直接相关。检测方法有电泳法、免疫法等,目前主要采用免疫比浊法(散射或透射比浊法)。

(一)醋酸纤维素膜电泳法

1. 实验原理 在待测血清中加入一定量的血红蛋白液,血清中的 Hp 即与血红蛋白形成血红蛋白-结合珠蛋白复合物(hemoglobin-haptoglobin, Hp-Hb 复合物)。通过醋酸纤维素膜电泳法将结合的 Hp-Hb 复合物与未结合的 Hp 分开,测定 Hp-Hb 复合物含量,可得出血清中结合珠蛋白含量。

2. 参考区间 0.5~1.5g/L Hb(醋酸纤维素膜电泳法)。

(二)免疫比浊法

1. 实验原理 在待测血清中加入一定量的抗血清 Hp 抗体,使之与待测血清中的 Hp 形成抗 Hp-Hb 免疫复合物,用比浊仪测量其散射光吸光度或透光度的变化,并与标准进行比较,计算出待测标本中血清 Hp 的含量。

2. 参考区间 0.16~2.0g/L(免疫比浊法)。

3. 临床意义

(1)严重血管内溶血时, Hp 消失,电泳时,在其相应位置前面可出现一条区带,为高铁血红蛋白蛋白区带,此为血管内溶血所特有。

(2)严重肝病、先天性无珠蛋白血症、传染性“单个核细胞”增多症等血清 Hp 也明显减低,此时不能根据该指标判断有无溶血。

(3)血清 Hp 测定还可作为肝细胞性黄疸及阻塞性黄疸的鉴别指标之一,前者血清 Hp 含量减少,而后者常正常或增高。

(4)血清 Hp 在感染、创伤、恶性肿瘤、类固醇治疗、妊娠等情况下可增高,此时 Hp 正常,不能排除合并溶血的可能。

4. 应用评价 Hp 为急性期蛋白,类似血清铁蛋白。新生儿一般在出生 3 个月后才可能检测到 Hp,20 岁以前达到成人水平。溶血时,血浆中的血红蛋白与 Hp 结合增多,使血清中结合珠蛋白减少,测定其含量可反映溶血尤其是血管内溶血的情况,是反映溶血的较敏感指标。各种溶血性贫血(包括血管内和血管外溶血),其含量均可减低甚至消失,减少程度常与病情的严重程度一致。Hp 持续下降常提示溶血过程持续存在,有助于区分血管外和血管内溶血。在溶血发生初期,血浆中 Hp 迅速降低,但数日后可由肝脏合成补充。此时测定 Hp 降低可不明显。故应注意发病与采血的间隔时间。血清 Hp 正常,不能排除溶血。Hp 有 3 种

常见的遗传组型 Hp2-1、Hp2-2、Hp1-1。因此,建立 Hp 免疫学测定法时应考虑 Hp 遗传组型间的差异,否则可能造成测定结果的不一致。电泳法中,Hb 可与任何遗传组型的 Hp 结合,故不需考虑 Hp 的组型。

四、血浆高铁血红素白蛋白测定

1. 实验原理 血液中白蛋白和特异性的血红素结合蛋白(hemopexin, Hx)均能结合血红素。但血红素与 Hx 的亲合力远高于与白蛋白的亲合力。溶血时,游离血红蛋白先与 Hp 结合,当 Hp 耗尽后,血浆中游离血红蛋白可被氧化为高铁血红蛋白,再分解为珠蛋白和高铁血红素,后者与血中 Hx 结合成复合物运送到肝脏降解。当 Hx 也消耗完后,高铁血红素与白蛋白结合形成高铁血红素白蛋白,后者与硫化铵形成一个易识别的铵血色原(ammonium hemochromogen),用光谱仪或分光光度计检测,于绿光区或 558nm 波长处有一最佳吸收区带。

2. 参考区间 阴性(分光光度法)。

3. 临床意义 可用于判断溶血严重程度,阳性提示严重血管内溶血。血管内溶血时,血浆中游离血红蛋白明显增高,可检测出高铁血红素白蛋白。

4. 应用评价 只有在严重的血管内溶血时,血清中 Hp 和 Hx 均耗尽后,高铁血红素才与白蛋白结合形成高铁血红素白蛋白,故本试验是检测血管内溶血的重要指标,本试验阴性不能排除血管内溶血。出血性坏死性胰腺炎患者也可在 580nm 波长处观察到吸收区带,为假阳性。检测标本应避免外源性溶血,才能保证该检测的准确性。

五、尿含铁血黄素试验

1. 实验原理 尿含铁血黄素试验(urine hemosiderin test)又称尿 Rous 试验。血管内溶血时,血中游离血红蛋白增多,可通过肾小球滤过从尿中排出,形成血红蛋白尿。此过程中部分或全部血红蛋白被肾小管上皮细胞吸收分解,以含铁血黄素的形式沉积于细胞内,随细胞脱落从尿中排出。含铁血黄素是不稳定的铁蛋白聚合体,其中的 Fe^{3+} 离子在酸性环境下与亚铁氰化钾作用,产生蓝色的亚铁氰化铁沉淀。本试验亦称为普鲁士蓝反应。

2. 参考区间 阴性。

3. 临床意义 本试验阳性提示有慢性血管内溶血,尿中有铁排出。临床上常见于 PNH,阳性可持续数周。但在溶血初期,虽然有血红蛋白尿,但肾小管上皮细胞尚未脱落,或上皮细胞内尚未形成可检出的含铁血黄素颗粒,本试验可呈阴性。

4. 应用评价 Rous 试验简便、快速,不需任何特殊仪器和设备,便于开展;对判断溶血部位,特别是对诊断慢性血管内溶血有重要意义。由于标本、试剂、容器等容易被铁污染,所以观察结果时要注意排除假阳性。由于结果存在假阳性和假阴性的可能,故应该同时做正常对照,以确保得到满意的染色结果。血管内溶血首次发作 72 小时内可能测不到含铁血黄素尿,所以溶血早期本试验可阴性;如果阴性,在 3~7 天后应重复此试验。此外,由于尿中铁的排泄在溶血过程结束后仍然会延续一段时间,因此该试验不能完全反映患者当前的临床状况。

临床上还有其他溶血相关的实验室检查,主要包括:①骨髓代偿增生亢进,最突出的表现是外周血中网织红细胞增多(常达 5%~25%,多者可达 70%以上,可导致 MCV 轻度增高),甚至可以见到晚幼红细胞;骨髓象为增生性贫血的表现,幼红细胞增生显著,粒红比值降低。②血涂片中可见到红细胞碎裂现象,以及出现球形红细胞、靶形红细胞、椭圆形红细胞等异形

红细胞。③其他如胆红素代谢异常、血清乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性增高、红细胞肌酸增高。

(李军)

第二节 铁代谢检验

铁代谢检验主要是针对机体铁代谢的各类指标进行检测,包括血清铁、血清铁蛋白、总铁结合力、转铁蛋白及其受体检测。

一、血清铁测定

血清(浆)铁(serum iron, SI)是指血浆中与转铁蛋白(transferrin, Tf)结合的铁。可用分光光度法和原子吸收光谱法进行测定。

(一)实验原理

分光光度法的原理是:SI以 Fe^{3+} 形式与Tf结合形成复合物,降低介质的pH及加入还原剂(如抗坏血酸、羟胺盐酸盐等),可使 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,与Tf的亲和力降低而从复合物中解离出来。解离出的 Fe^{2+} 与显色剂(如菲咯啉和2,2-联吡啶等)反应生成有色络合物,以铁标准液作对照,计算出血清铁的含量。

(二)参考区间

成年男性 11.6~31.3 $\mu\text{mol/L}$,女性 9.0~30.4 $\mu\text{mol/L}$;均值为 20 $\mu\text{mol/L}$,1岁后小儿时期约 12 $\mu\text{mol/L}$ (分光光度法)。

(三)临床意义

1. SI减低 常见于生理性铁需要量增加(如婴幼儿、青少年和妊娠妇女)、缺铁性贫血、感染、恶性疾病、肾病综合征和慢性失血等。慢性失血是成人铁缺乏最常见的原因。

2. SI增高 常见于肝脏疾病、铁粒幼细胞贫血、再生障碍性贫血、慢性溶血、巨幼细胞贫血、慢性酒精中毒和反复输血等。

(四)应用评价

SI测定是一项直接反映体内运输铁含量的指标,但生理波动大,测得的血清铁只代表采血当时的血浆铁浓度,而不能代表流动中的铁总量。炎症和感染时,由于单核-巨噬细胞系统的铁释放至转铁蛋白的过程受阻,血清铁降低并不代表贮存铁的减低,因此,其在反映机体铁贮存量方面不够准确,单项检测意义局限,往往需要联合其他铁代谢指标检测。除上述因素外,标本溶血、玻璃容器及乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝等也会影响血清铁检测结果。

二、血清铁蛋白测定

(一)固相放射免疫分析法

1. 实验原理 将血清铁蛋白(serum ferritin, SF)(待测抗原)和 ^{125}I 标记的铁蛋白(标记抗原)与一定量的抗铁蛋白抗体(兔抗人铁蛋白)混合温育,使待测抗原与标记抗原共同竞争结合抗体,为了除去过量未结合的核素标记抗原,采用第二抗体(羊抗兔IgG抗体)和聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)分离沉淀抗原抗体结合物,并测定其放射性。血清中铁蛋白量与

放射脉冲数呈负相关,同时应用不同浓度的铁蛋白标准液作竞争抑制曲线,即可测定血清铁蛋白浓度。

2. 参考区间 成年男性 $15\sim 200\mu\text{g/L}$;成年女性 $12\sim 150\mu\text{g/L}$;小儿低于成人;青春期中年,男性高于女性(固相放射免疫分析法)。

(二)化学发光免疫分析法

1. 实验原理 化学发光免疫分析法检测血清铁蛋白主要是应用微粒酶免疫分析(micro-particle enzyme immunoassay analysis, MEIA)技术,即以抗铁蛋白抗体(anti-Fer)包被微粒子(M-Ab),与标本中的铁蛋白结合形成 M-Ab-Ag 复合物,并被转移到纤维杯上。复合物中的微粒子能不可逆地结合到纤维杯表面的玻璃纤维上,并与加入的抗铁蛋白抗体-碱性磷酸酶共轭体结合。洗脱未结合的游离物质,加入发光底物 4-甲基伞花基磷酸钠,底物的磷酸基被碱性磷酸酶水解掉后而发出荧光,通过 MEIA 光学装置检测该荧光产物,进而检测铁蛋白含量。

2. 参考区间 成年男性 18~30 岁: $18.7\sim 323.0\mu\text{g/L}$; 31~60 岁: $16.4\sim 293.9\mu\text{g/L}$; 成年女性绝经前 $6.92\sim 82.5\mu\text{g/L}$; 绝经后: $14.0\sim 233.1\mu\text{g/L}$ (化学发光免疫分析法)。

3. 临床意义

(1)SF 降低

1) 体内贮存铁减少,如缺铁性贫血,是早期诊断缺铁性贫血的重要指标。

2) 失血、营养缺乏等,可作为孕妇、儿童铁营养状况调查的流行病学指标。

(2)SF 增高

1) 体内贮存铁增加,如原发性血色病、频繁输血。

2) 铁蛋白合成增加,如感染、恶性肿瘤等。

3) 组织内铁蛋白释放增加,如肝脏疾病等,可作为肝脏疾病如肝癌、病毒性肝炎、酒精性肝病等的辅助诊断指标。

4. 应用评价 SF 含量稳定,在排除肝脏疾病、感染、炎症、恶性肿瘤、妊娠等情况之外,是判断体内铁贮存和铁营养状况最可靠、敏感的指标。SF 检测与骨髓铁染色结果有良好的相关性,比细胞外铁染色更准确,是诊断缺铁性贫血敏感方法和重要依据之一。SF 检测常用的方法有 ELISA 法、RIA 法和化学发光法。ELISA 法简便易行,但易受温度、酸碱度等因素的影响。RIA 法敏感性和重复性比 ELISA 法好,但存在试剂有效期短、辐射污染等问题。化学发光免疫法灵敏度高,特异性强,同时克服了放免法试剂有效期短和辐射污染问题,已应用于临床,但需要全自动发光免疫分析仪及与仪器配套的试剂,检测成本较高。

三、血清总铁结合力测定

血清总铁结合力(total iron binding capacity, TIBC)是指血清中转铁蛋白(transferring, Tf)能与铁结合的总量,间接反映了循环血液中转铁蛋白的量。正常人血清中仅有 1/3 的转铁蛋白与铁结合,可用分光光度法和原子吸收光谱法进行测定。

(一)实验原理

分光光度法的原理是:在血清中加入已知过量的铁标准液,使血清中全部的 Tf 与铁结合达到饱和状态,再加入吸附剂(轻质碳酸镁)除去多余的铁。按照 SI 测定方法,测得的血清铁含量,即为总铁结合力。总铁结合力减去血清铁,则为未饱和铁结合力(unsaturated iron

binding capacity, UIBC)。SI 占 TIBC 的百分比即为转铁蛋白饱和度(transferrin saturation, TS)。

(二)参考区间

TIBC: 男性 $50 \sim 77 \mu\text{mol/L}$, 女性 $54 \sim 77 \mu\text{mol/L}$; UIBC: $25.1 \sim 51.9 \mu\text{mol/L}$; TS: $20\% \sim 50\%$ (分光光度法)。

(三)临床意义

1. TIBC 增高 ①缺铁性贫血和红细胞增多症等, 因转铁蛋白合成增加、铁摄入不足或需要增加所致; ②肝细胞坏死等贮存铁蛋白从单核-巨噬细胞系统释放入血; ③口服避孕药。

2. TIBC 减低 ①肝病、血色病, 因贮存铁蛋白缺乏所致; ②肾病综合征、尿毒症, 因转铁蛋白丢失所致; ③遗传性转铁蛋白缺乏症, 因转铁蛋白合成不足所致; ④恶性肿瘤、慢性感染、溶血性贫血等。

(四)应用评价

TIBC 结果较稳定, 可反映机体 Tf 水平 (Tf 分子量约 77000Da , 1 分子 Tf 能结合 2 原子的铁, 据此可从 TIBC 推算出 Tf 水平)。TIBC $> 80.58 \mu\text{mol/L}$ 即有诊断价值, 但反映储铁变化时敏感性低于血清铁蛋白。TS 对缺铁诊断的准确性次于 SF 和红细胞碱性铁蛋白 (erythrocyte alkaline ferritin, EF), 可作为缺铁性红细胞生成的指标之一, 但不宜用于缺铁的早期诊断。TIBC 与 SF、SI 及 TS 呈负相关, 进行上述指标的实验室检测和综合分析, 对缺铁性贫血的诊断和与慢性疾病、其他储铁增多所致贫血的鉴别诊断具有临床价值。

四、血清转铁蛋白测定

血清转铁蛋白 (serum transferrin, sTf) 是一种能结合 Fe^{3+} 的糖蛋白, 主要由肝细胞和吞噬细胞合成, 是体内最主要的铁转运蛋白, 每天有 30mg 以上的铁在体内转运。正常情况下有 $1/3$ 的 Tf 与绝大部分的血清铁结合, 结合后被转运至需铁组织再将铁释放, Tf 自身不变。转铁蛋白的合成和体内的铁储存成反比, 当铁储存减少时, Tf 的浓度增加。可采用免疫散射比浊法、免疫扩散法、酶免疫法和放射免疫法检测。

(一)实验原理

免疫散射比浊法的检测原理是利用抗人转铁蛋白血清与待检测的 Tf 结合形成抗原抗体复合物, 其光吸收和散射浊度增加, 与标准曲线比较, 可计算出 Tf 的含量。

(二)参考区间

$28.6 \sim 51.9 \mu\text{mol/L}$ (免疫散射比浊法)。

(三)临床意义

1. sTf 增高 常见于缺铁性贫血和妊娠, 也可见于口服避孕药、反复出血等。

2. sTf 减低 常见于遗传性转铁蛋白缺乏症、肝病综合征、肝硬化、急性白血病、恶性肿瘤、肾病综合征、溶血性贫血、某些炎症及恶病质等。

(四)应用评价

Tf 是少数几种急性期反应减低的急性时相反应蛋白之一。肝脏合成 Tf 的速度与细胞内铁含量呈负相关, Tf 测定在反映铁代谢方面的意义同血清总铁结合力。因肝细胞损伤时合成 Tf 降低, 故 Tf 也可作为肝细胞损伤的指标; 异质 Tf 还可作为肝癌标记物。此外, 尿微量 Tf 测定在反映肾小球滤过膜损伤方面比白蛋白更敏感, 可作为肾小球损伤的早期诊断指