


| 现代医学与临床 |

临床检验学

Linchuang Jianyanxue


牛天林 李金凯 编著

 华龄出版社

现代医学与临床

临床检验学

牛天林 李金凯 编著

 华龄出版社

责任编辑:林欣雨

封面设计:三鼎甲

责任印制:李未圻

图书在版编目(CIP)数据

临床检验学 / 牛天林, 李金凯编著. -- 北京: 华龄出版社, 2015.7

(现代医学与临床 / 贾毅飞主编)

ISBN 978-7-5169-0595-1

I. ①临… II. ①牛… ②李… III. ①临床医学 - 医学检验 IV. ①R446.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第148964号

书 名:临床检验学

作 者:牛天林 李金凯 编著

出版发行:华龄出版社

印 刷:北京紫瑞利印刷有限公司

版 次:2015年7月第1版 2015年7月第1次印刷

开 本:787×1092 1/16 印张:9

字 数:141千字

定 价:90.00元(全三册)

地 址:北京市西城区鼓楼西大街41号

邮编:100009

电 话:84044445(发行部)

传真:84039173

网 址:<http://www.hualingpress.com>

目录

CONTENTS

第一篇 临床检验基础

第一章 血液学检验基础	1
第一节 血液样本采集和血涂片制备	1
第二节 红细胞检查	3
第三节 白细胞检查	10
第四节 血型 and 输血	14
第二章 体液及排泄物检验基础	17
第一节 尿液生成和标本采集及处理	17
第二节 尿液生理学检验	19
第三节 尿有形成分检查	21
第四节 尿液化学检查	25
第五节 尿液分析仪及其临床应用	33
第六节 粪便检验	36
第七节 脑脊液检验	39
第八节 浆膜腔积液检验	43
第九节 精液检查	47
第十节 前列腺液检查	49
第十一节 阴道分泌物检查	50
第十二节 羊水检查	51
第十三节 痰液与支气管灌洗液检验	53
第三章 脱落细胞检查基本知识	55

第二篇 血液学检查

第一章 一般性操作技术	61
第一节 血液标本的采集和处理	61

第二节	血涂片的制备和细胞染色	64
第二章	血液一般检查	66
第一节	红细胞检查	66
第二节	白细胞检查	81
第三节	仪器法血细胞检查	91
第三章	血栓与止血的一般检查	102
第一节	止血与凝血机制	102
第二节	血栓与止血的常用筛选试验	105
第四章	血型与输血	114
第一节	血型	114
第二节	输血	130

第一篇 临床检验基础

第一章 血液学检验基础

第一节 血液样本采集和血涂片制备

一、血液组成

血液由血细胞(红细胞、白细胞、血小板)和血浆组成。离体自然凝固,分离的淡黄色透明液体称为血清。血液加抗凝剂后分离出来的淡黄色液体称为血浆。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。

二、血液理化性质

1.血量 正常人血量约为7010ml/kg体重,成人约4~5L,约占体重的6%~8%,其中血浆占55%,血细胞占45%。女性妊娠期间血量可增加23%~25%。

2.酸碱度 PH=7.35~7.45。

3.比重 正常男性1.055~1.063,女性1.051~1.060,相对粘度为4~5;血浆比重1.025~1.030;血细胞比重约为1.090。

4.血浆渗透量 正常人约为290~310mOsm/kg·H₂O。

三、血液特性和生理功能

血液特性包括红细胞的悬浮稳定性、粘滞性和凝固性。正常人血液中红细胞呈均匀混悬状态,全血粘度约为生理盐水粘度的4~5倍;血浆粘度为生理盐水的1.6倍。血液粘度与血细胞比容和血浆粘度有关,血浆中纤维蛋白原、球蛋白等大分子蛋白质的浓度越高,血浆粘度越高。由于凝血因子的作用,血液离开血管后,数分钟内便自行凝固。

血液的主要生理功能有运输功能、协调功能、维护机体内环境稳定和防御功能。

四、采血方法

1.静脉采血法 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。

2.皮肤采血法 通常选择耳垂或手指部位,手指采血比耳垂采血检测结果稳定。WHO推荐采集左手无名指指端内侧血液,婴幼儿可采集大拇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.真空采血法 又称负压采血法。真空采血装置有套筒式、头皮静脉式两种。这种封闭式采血方法能减少溶血、保护血液有形成分,提高检测结果的可靠性。还能有效避免医护人员和患者间交叉感染。不同检验项目选用不同色码的真空定量采血容器。

4.方法学评价 皮肤采血易于溶血、凝血、混入组织液,影响检查结果。开放式静脉采血法的操作环节多、难于规范统一,在移液和丢弃注射器时可能造成血液污染。封闭式静脉采血法操作规范,有利于样本收集运送和保存,防止院内血源性传染病。

五、抗凝剂选择

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。常用的抗凝剂:①乙二胺四乙酸(EDTA)盐:与血液中 Ca^{2+} 形成螯合物,使 Ca^{2+} 失去凝血作用。不适于凝血检查和血小板功能试验。②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。不适于凝血检查。③双草酸盐抗凝剂:适用于血细胞比容、全血细胞计数(CBC)、网织红细胞计数等检查,不适于血小板计数和白细胞分类计数。④肝素: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剂,不适于CBC和细胞形态学检查。⑤枸橼酸盐:与血中 Ca^{2+} 结合形成螯合物,阻止血液凝固。适用于红细胞沉降率、凝血检查,是输血保养液的成分。

六、载玻片的清洁和血涂片的制备

新载玻片常带有游离碱质,须用1mol/L HCl清洗。血涂片的制备:好的血片应该厚薄适宜、头体尾明显、细胞分布均匀、血膜边缘整齐、留有空隙。①手工推片法:血滴大小、推片与载玻片间夹角、推片速度、血细胞比容与涂片厚薄有关。②载玻片压拉法:适用于血细胞活体染色。③棕黄层涂片法:用于白细胞减低者的白细胞分类计数、红斑狼疮细胞检查等。

七、血液细胞染色

1.瑞氏染色法 染色原理包括物理吸附和化学亲和作用。瑞氏染料由酸性染料伊红和碱性染料亚甲蓝(又名美蓝)组成。血红蛋白、嗜酸性颗粒与伊红结合,呈粉红色;细胞核蛋白、淋巴细胞、嗜碱性粒细胞胞质与美蓝或天青(美蓝的氧化形式)结合,呈紫蓝色或蓝色;中性颗粒与伊红和美蓝结合,呈淡紫红色。染色深浅与染液PH值(最适PH为6.4~6.8)、细胞数量、血膜厚度、染色时间、染液浓度有关。

2.吉姆萨染色 染色原理和结果与瑞氏染色基本相同。吉姆萨染液由天青、伊红组成。吉姆萨染液由吉姆萨染料、甘油和甲醇组成。注意:①需先用甲醇固定3~5min。②染色前,用磷酸盐缓冲液(PH6.4~6.8)稀释吉姆萨染液10~20倍。

八、血涂片制备和血液细胞染色

手工推片法应用最广泛,棕黄层涂片法可提高异常情况的阳性检出率。疟原虫、微丝蚴等检查可采用厚血涂片法。瑞氏染色法最常用,对细胞质成分、中性颗粒染色效果好。吉姆萨染液对细胞核和寄生虫的着色好,是观察细胞核和寄生虫的首选染色方法。瑞氏-吉姆萨复合染液可获得满意的细胞胞质、颗粒、胞核等的染色效果。

制备涂片时,血细胞比容增高、血液粘度较高时,应采用小血滴、小角度、慢推;而血细胞比容减低、血液较稀时,应采用大血滴、大角度、快推。

第二节 红细胞检查

一、红细胞生理

1.红细胞的生成 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红细胞平均寿命约120d。⑥衰老红细胞主要在脾破坏。

2.红细胞生理功能 通过血红蛋白实现交换和携带气体功能。

二、红细胞计数检测及临床意义

(一)红细胞计数检测原理

1.手工显微镜法 在显微镜下计数一定体积内的红细胞数,经换算求出每升血液中红细胞数量。不需要特殊设备,但操作复杂、费时。误差可源自样本、操作、器材和固有误差。

2.血液分析仪法 用电阻抗和(或)光散射原理。比手工法精确(如电阻抗计数法的变异系数为2%,手工法则>11%)。当白细胞数量明显增高会干扰红细胞计数结果。应严格按规程操作,并定期进行室内和室间质控。

(二)红细胞计数参考值及临床意义

1.正常参考值 成年男性 $(4 \sim 5.5) \times 10^{12}/L$;成年女性 $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/L$;新生儿 $(6.0 \sim 7.0) \times 10^{12}/L$ 。

2.医学诊断 $>6.8 \times 10^{12}/L$,应采取治疗措施; $<3.5 \times 10^{12}/L$,可诊断贫血; $<1.5 \times 10^{12}/L$ 应考虑输血。

3.临床意义

(1)生理性变化 ①年龄、性别;②精神因素;③剧烈体力运动和劳动;④气压减低;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 包括原发性、继发性和相对性红细胞增多。

4.红细胞计数的操作方法 高倍镜下,计数5个中方格内的红细胞数。

$$\text{红细胞} = N \times \frac{25}{5} \times 10 \times 10^6 \times 200 = N \times 10^{12} = \frac{N}{100} \times 10^{12}$$

三、血红蛋白

(一)血红蛋白分子结构和特点

1.结构 血红蛋白(Hb)由两对珠蛋白肽链和4个亚铁血红素构成。①珠蛋白:4条肽链(、链)。②亚铁血红素:原卟啉、铁。

2.特点 ①正常情况下,99%Hb为还原Hb(HbA),1%为高铁Hb(HbF)。②只有Fe²⁺状态的Hb才能与氧结合,称为氧合血红蛋白。③人体生长各期,Hb的种类与比例不同。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64458。⑥血红蛋白降解产物为珠蛋白、血红素。

(二)血红蛋白测定的检测原理

1.氰化高铁血红蛋白(HiCN)法 HiCN法是目前国际推荐测定血红蛋白的方法。血液中除硫化血红蛋白(SHb)外的各种Hb均可被高铁氰化钾氧化为高铁血红蛋白,再和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,可计算出每升血液中的血红蛋白浓度。

2.十二烷基硫酸钠血红蛋白(SDS-Hb)法 血液中的Hb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,可得到每升血液中的血红蛋白浓度。

(三)血红蛋白测定的方法学评价

1.HiCN法 操作简单、显色快、结果稳定可靠、读取吸光度后可直接定值。缺点是氰化钾(KCN)试剂有剧毒。

2.SDS-Hb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Hb浓度。

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,试剂毒性小于氰化钾。

4.碱羟血红蛋白(AHD575)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)血红蛋白法 试剂溶血性强又不破坏白细胞,适用于仪器上自动检测Hb和白细胞。缺点是测定结果的准确度和精密性不佳。

6.沙利(Sahli)酸化血红蛋白法 简单易行,但重复性差、误差较大,基本淘汰。

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%。

(四)血红蛋白测定的质量控制

异常血浆蛋白质、高脂血症、白细胞数 $> 30 \times 10^9/L$ 、脂滴等可产生浊度,干扰

Hb测定。静脉血的Hb比毛细血管血低10%~15%。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会导致测定值假性增高。

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。质控物为ACD抗凝全血；进口全血质控物；醛化半固定红细胞。

(五)血红蛋白参考值及临床意义

1.正常参考值 成年：男性120~160g/L；女性：110~150g/L；新生儿：170~200g/L；老年人(70岁以上)：男性94.2~122.2g/L；女性86.5~111.8g/L。

2.临床意义 ①生理性变化：随年龄而变化；红细胞和血红蛋白量有天内波动，上午7时达高峰。②病理性变化：血红蛋白在判断贫血程度方面优于红细胞计数。

(六)氰化高铁血红蛋白测定法操作

在5mlHiCN转化液中，加血20l，充分混合，静置5min后，倒入光径1cm比色皿，在其最大吸收峰波长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：

$$\text{Hb(g/L)} = \frac{A_{\text{HiCN}}^{\lambda 540}}{44} \times \frac{64458}{1000} \times 251 = A \times 367.7$$

式中A为样本吸光度，44为毫摩尔消光系数，64458/1000为1mol/LHb溶液中所含Hb克数，251为稀释倍数。采用HiCN参考液(50g/L、100g/L、150g/L、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)：

$$K = \frac{\sum \text{Hb}}{\sum A}$$

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：

$$\text{Hb(g/L)} = K \times A$$

四、红细胞形态检查及临床意义

将细胞分布均匀的血涂片进行染色(常用瑞氏染色)后，根据各种细胞的呈色特点，在显微镜下进行观察和识别。

瑞氏染色血涂片可见成熟红细胞呈双凹圆盘形、细胞大小一致、平均直径7.2m(范围6~9.5m)、淡粉红色、中央1/3为生理性淡染区、胞质内无异常结构。

其临床意义如下：

1.大小改变 ①小红细胞：直径<6m，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>10m，见于巨幼细胞性贫血、溶血性贫血和恶性贫血等。③巨红细胞：直径>15m，见于巨幼细胞性贫血。④红细胞大小不均：见于严重的增生性贫血(如巨幼细胞性贫血)。

2.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：缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血、铁幼粒细胞性贫血、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(约占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:同时出现低色素、正常色素性两种细胞,见于铁粒幼红细胞性贫血。

3.形状改变 包括球形红细胞、椭圆形红细胞、靶形红细胞、口形红细胞、镰形红细胞、棘红细胞、裂红细胞、有核红细胞、泪滴形红细胞及红细胞形态不整。

4.异常结构 包括嗜碱性点彩红细胞、豪焦小体(Howell-Jolly's body、染色质小体)、卡波环和寄生虫。

五、血细胞比容

(一)血细胞比容测定

血细胞比容(HCT或PCV)是指在一定条件下,经离心沉淀压紧的红细胞在全血样本中所占比值。

1.手工法 有折射计法、粘度法、比重测定法、离心法和放射性核素法。①温氏法(Wintrobe法):采用中速离心,不能完全排除红细胞间残留血浆,测定结果偏高。②微量法:采用高速离心使残留血浆比温氏法少,样本用量小、操作简便、残留血浆1%~3%。抗凝剂量不准确、混匀不充分、离心速度不够会产生误差。

2.血液分析仪法 仪器法CV为1%,手工法CV为2%,仪器法应注意红细胞增多症或血浆渗透压异常时会出现误差。注意HCT是否与RBC、MCV相关。

(二)血细胞比容参考值及临床意义

1.正常参考值 ①温氏法:男性0.40~0.54;女性0.37~0.47。②微量法:男性 0.47 ± 0.04 ;女性 0.42 ± 0.05 。

2.临床意义 ①增高:大量呕吐、大手术后、腹泻、失血、大面积烧伤、真性红细胞增多症、继发性红细胞增多症等。②减低:各种贫血。③输液评估:是临床输血、输液治疗疗效观察的指标。④计算平均值:作为红细胞平均体积、红细胞平均血红蛋白浓度计算的基础数据。

六、红细胞平均指数

(一)红细胞平均指数的检测原理

红细胞平均指数包括红细胞平均容积(MCV),红细胞平均血红蛋白含量(MCH)和红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)。

1.手工法 通过红细胞计数、血红蛋白量和血细胞比容值计算红细胞平均指数。

(1)红细胞平均容积:

$$MCV = \frac{\text{每升血液中红细胞体积 Hct}}{\text{每升血液中红细胞个数 RBC}} \quad (\text{fl})$$

(2)红细胞血平均红蛋白含量:

$$MCH = \frac{\text{每升血液中血红蛋白含量}}{\text{每升血液中红细胞个数}} = \frac{\text{Hb}}{\text{RBC}} \quad (\text{pg})$$

(3)红细胞平均血红蛋白浓度:

$$\text{MCHC} = \frac{\text{每升血液中血红蛋白含量}}{\text{每升血液中血细胞比容}} = \frac{\text{Hb}}{\text{Hct}} \text{ (g/L)}$$

2. 血液分析仪 能直接导出MCV值, 再结合直接测定的RBC和Hb, 计算出MCH(=Hb/RBC)和MCHC(=MCH × MCV)。

(二) 红细胞平均指数的参考值(见表1-1-1)

表1-1-1 不同人群红细胞指数的参考范围

	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/L)
新生儿	91~112	29~36	280~360
1~2岁	70~84	22~30	320~380
成人	80~100	27~34	320~360
老年人	81~103	27~35	310~363

(三) 红细胞平均指数的临床意义

主要用于贫血形态学分类(见表1-1-2)。

表1-1-2 贫血的红细胞形态学分类

贫血分类	MCV	MCH	MCHC	贫血
正细胞贫血	正常	正常	正常	再生障碍性、急性失血性贫血, 某些溶血性贫血
大细胞贫血	增高	增高	正常	各种造血物质缺乏或利用不良的贫血
单纯小细胞贫血	减低	减低	正常	慢性感染、慢性肝肾疾病性贫血
小细胞低血素贫血	减低	减低	减低	缺铁性贫血及铁利用不良性贫血, 慢性失血性贫血

七、红细胞体积分布宽度

(一) 红细胞体积分布宽度的检查原理

红细胞体积分布宽度(RDW)反映样本中红细胞体积大小的异质程度, 是评价红细胞体积的客观指标, 常用变异系数(CV)表示。由血液分析仪的红细胞体积直方图导出。RDW比血涂片红细胞形态大小的观察更为准确。RDW受样本中红细胞碎片、红细胞凝集、双相性红细胞的影响。

(二) 红细胞体积分布宽度的临床意义

RDW可作为贫血形态学分类的指标、缺铁性贫血(IDA)筛选诊断和疗效观察的指标、鉴别缺铁性贫血和-珠蛋白生成障碍性贫血。

八、网织红细胞

(一) 网织红细胞计数的检测原理

网织红细胞(Ret)是晚幼红细胞脱核后到完全成熟红细胞间的过渡细胞, 属于未完全成熟的红细胞, 经活体染色(新亚甲蓝、煌焦油蓝、中性红等染料)后, 呈深染的颗粒状或网状结构。凡含两个以上的深染颗粒或具有线网状结构的无核红细胞, 即为网织

红细胞。①普通光学显微镜法：在镜下计数1000个红细胞中网织红细胞的百分比或分数。②网织细胞计数仪法和血液分析仪法：用荧光染料(如吖啶橙、派若宁-Y、噻唑橙)使网织红细胞内RNA着色，用流式细胞术(FCM)得到网织红细胞数。

(二)网织红细胞计数的方法学评价

1.普通光学显微镜法 试管法操作简便、重复性较好。玻片法取血量少、染色时水分易蒸发，导致结果偏低。显微镜法受主观因素影响较多，且耗时费力。

2.网织细胞计数仪法 将Ret分成高荧光强度网织红细胞(HFR)、中荧光强度网织红细胞(MFR)、低荧光强度网织红细胞(LFR)3类，有助于化疗、放疗、移植患者的监测。

3.血液分析仪法 网织红细胞成熟指数(RMI)=(MFR + HFR)/LFR × 100)。测量细胞多、避免主观因素、方法易于标准化。

(三)网织红细胞计数的质量控制

1.显微镜法 影响因素包括操作人员对网织红细胞的识别、血涂片质量、计数红细胞的数目、计数方法等。Miller窥盘法计数网织红细胞可减少误差。

2.仪器法 仪器法计数红细胞10000 ~ 50000个。出现Howell-Jolly小体、有核红细胞、巨大血小板会使假性结果增高。

(四)网织红细胞计数的参考值

显微镜计数法：成人0.008 ~ 0.02或(25 ~ 75) × 10⁹/L，新生儿0.02 ~ 0.06。仪器法(RMI)：男性9.1% ~ 32.2%，女性12.8% ~ 33.7%。

(五)网织红细胞计数的临床意义

正常情况下，骨髓中网织红细胞均值为150 × 10¹²/L，血液中为65 × 10⁹/L。骨髓Ret增多，外周血减少时，提示释放障碍；骨髓和外周血Ret均增加，提示为释放增加。网织红细胞成熟类型正常时，外周血网织红细胞中Ⅲ型约占20% ~ 30%，Ⅳ型约占70% ~ 80%，若骨髓增生明显，可出现Ⅰ型和Ⅱ型Ret。

1.判断骨髓红细胞造血情况 ①增多：见于溶血性贫血、放疗和化疗后；②减少：见于再生障碍性贫血和溶血性贫血再障危象。

2.骨髓移植效果监测 骨髓移植后第21天，Ret > 15 × 10⁹/L，表示无移植并发症；< 15 × 10⁹/L，伴嗜中性粒细胞和血小板增高，可能为骨髓移植失败。

3.网织红细胞生成指数(RPI) RPI是网织红细胞生成相当于正常人的倍数。Ret生存期限一般约2d，若未成熟网织红细胞提前释放入血，Ret生存期限将延长，为了纠正网织红细胞提前释放引起的偏差，用网织RPI来反映Ret生成速率。

计算公式为：

$$RPI = \frac{\text{被测Hct}}{\text{正常人Hct}} \times \frac{1}{2}$$

被测网织红细胞百分比用RPI估计红细胞生成有效性较准确。

(六)网织红细胞计数的操作方法

在2滴10g/L煌焦油蓝生理盐水溶液中加入血2滴，混匀，37℃放置15 ~ 20min，制片后，在油镜下计数至少1000个红细胞中网织红细胞数，计算网织红细胞百分数(%)和网

织红细胞绝对值($\times 10^9/L$)(=红细胞数 \times 网织红细胞百分数)。WHO推荐使用的网织红细胞活体染液为新亚甲蓝。

九、点彩红细胞

(一)点彩红细胞计数的原理和参考值

1.原理 点彩红细胞是尚未完全成熟的红细胞在发育过程中受到损害,其胞质中残存变性RNA,染色后出现大小、形状不同的蓝色颗粒。经碱性亚甲基蓝染色后,颗粒呈蓝色颗粒;瑞氏染色后,颗粒呈蓝黑色。在油镜下计数点彩红细胞数百分率。

2.参考值 $<0.03\%$ 。

(二)点彩红细胞计数的临床意义和操作方法

1.临床意义 增高见于:①中毒,如铅、汞、银、铋、硝基苯、苯胺等;②各类贫血:如溶血性贫血、巨幼细胞性贫血、恶性贫血、恶性肿瘤等。

2.操作方法 取新鲜血1滴制片,用甲醇固定3min,以50g/L碱性亚甲蓝液染色1~2min,然后在油镜下计数1000个红细胞中点彩红细胞数,最后计算点彩红细胞数百分率。

十、红细胞沉降率

(一)红细胞沉降率测定原理和方法学评价

1.原理 红细胞沉降率(ESR,血沉)指离体抗凝血静置后,红细胞在单位时间内沉降的速度。分为缙钱状红细胞形成期、快速沉降期和细胞堆积期(缓慢沉积期)。

2.方法学评价 ①手工法:有魏氏法、潘氏法等。魏氏法为ICSH推荐方法。潘氏法与魏氏法相关性好、用量少,适于儿童。②血沉仪法:仪器测量时间短、重复性好、不受环境温度影响。③血沉率(ZSR):不受年龄、性别、贫血、试验条件的影响,但需特殊离心仪器Zetafuge。

(二)红细胞沉降率测定的质量控制

1.影响红细胞缙钱状形成的主要因素 ①血浆蛋白质比例:小分子蛋白如清蛋白、卵磷脂等使血沉减慢,大分子蛋白如急性反应蛋白、免疫球蛋白、巨球蛋白、胆固醇、甘油三酯等使血沉加快。②红细胞数量和形状:数量增多则血沉减慢,直径越大血沉越快。③血沉管:血沉管倾斜,沉降率增加。④血样本抗凝剂:浓度增加、血液凝固。⑤温度:室温过高($>25^{\circ}C$)血沉加快;室温过低($<18^{\circ}C$)血沉减慢。

2.操作方法和注意事项 ①取109mmol/L枸橼酸钠0.4ml,加静脉血1.6ml,混匀,用血沉管吸入混匀全血,并直立于血沉架上,1h末准确读取红细胞下沉后的血浆段高度,即红细胞沉降率。②血沉管内径应标准(2.5mm)。③血沉架应避免直接光照、移动和振动。

(三)红细胞沉降率测定的参考值

1.魏氏法 ① <50 岁:男性0~15mm/h,女性0~20mm/h。② ≥ 50 岁:男性0~20mm/h,女性0~30mm/h。③ >85 岁:男性0~30mm/h,女性0~42mm/h。④儿童:0~10mm/h。

2.潘氏法 成人：男性0~10mm/h，女性0~12mm/h。

(四)红细胞沉降率测定的临床意义

1.血沉增快 ①生理性：女性高于男性。老年人血沉增快。②病理性：见于各种炎症、组织损伤及坏死、恶性肿瘤、球蛋白血症、贫血、高胆固醇血症。

2.血沉减慢 真性或相对性红细胞增多症、DIC消耗性低凝血期、继发性纤溶期、肝病、肿瘤、其他严重疾病因未产生急性反应蛋白等使血沉减慢。

第三节 白细胞检查

一、粒细胞概要

粒细胞发育阶段分为：①分裂池：包括原粒、早幼粒和中幼粒细胞，具有分裂能力；②成熟池：包括晚幼粒和杆状核粒细胞，失去分裂能力；③贮备池：包括杆状核粒和分叶核粒，成熟粒细胞贮存于骨髓，当机体感染或应激时，可释放入循环血液；④循环池：成熟粒细胞有一半随血液而循环，白细胞计数值就是循环池的粒细胞数；⑤边缘池：进入外周血的另一半成熟粒细胞，粘附于微静脉血管壁，边缘池和循环池粒细胞保持动态平衡。

中性粒细胞具有趋化、变形、粘附、吞噬和杀菌功能。嗜酸性粒细胞对组胺、抗原抗体复合物、肥大细胞有趋化性，分泌组胺酶灭活组胺，限制过敏反应；参与对蠕虫的免疫。嗜碱性粒细胞对血清因子、细菌、补体和激肽释放酶等物质有趋化作用。

二、单核细胞概要

外周血中单核细胞，大部分粘附于血管壁，少数随血液循环，转变为幼吞噬细胞，再成熟为吞噬细胞。单核-巨噬细胞具有吞噬病原体功能、吞噬和清理功能、吞噬抗原传递免疫信息功能，还参与杀菌、免疫和抗肿瘤。

三、淋巴细胞概要

淋巴细胞是人体主要免疫活性细胞，约占白细胞总数的1/4。B淋巴细胞在骨髓、脾、淋巴结、其他淋巴组织生发中心发育成熟，占20%~30%，参与体液免疫；T淋巴细胞在胸腺、脾、淋巴结和其他淋巴组织，依赖胸腺素发育成熟，占60%~70%，参与细胞免疫。还有少数NK细胞(杀伤细胞)、N细胞(裸细胞)、D细胞(双标志细胞)。

四、白细胞计数

(一)白细胞计数的检测原理及方法学评价

1.原理 白细胞计数是测定单位体积血液中各种白细胞总数。①显微镜计数法：用白细胞计数稀释液将血液稀释一定倍数，并破坏红细胞后，滴入血细胞计数盘，在显

显微镜下计数一定范围内白细胞数，经换算求得每升血液中各种白细胞总数。②血液分析仪计数法：电阻抗法、光散射法。

2.方法学评价 ①显微镜计数法：简便易行，但重复性和准确性较差，受微量吸管、血细胞计数板、细胞分布、人为因素等多种情况影响。②血液分析仪计数法：计数细胞数量多、速度快、易于标准化、计数精确性较高。

(二)白细胞计数的质量控制

1.经验控制 ①与红细胞数比较：正常情况下，红细胞数/白细胞数约为(500~1000):1。②与血涂片白细胞分布密度一致性。

2.计数误差 ①熟练不操作、仪器未经校准。②固有误差：计数室内每次血细胞分布不可能完全相同所致的误差，与计数细胞数量成反比。③有核红细胞不能被白细胞稀释液破坏，使白细胞计数值假性增高。

3.质量控制常规考核标准(RCS、基于白细胞在计数池四大格的分布情况而定。若白细胞 $\leq 4 \times 10^9/L$ ，RCS应 $< 30\%$ ，白细胞 $4.1 \sim 14.9 \times 10^9/L$ ，RCS应 $< 20\%$ ，白细胞 $\geq 15 \times 10^9/L$ ，RCS应 $< 15\%$ 。超过上述标准应重新充池计数。

(三)白细胞计数的参考值及临床意义

1.参考值 成人：(4~10) $\times 10^9/L$ 。新生儿：(15~20) $\times 10^9/L$ 。6个月~2岁：(11~12) $\times 10^9/L$ 。儿童：(5~12) $\times 10^9/L$ 。

2.临床意义 白细胞计数与中性粒细胞计数的临床意义基本相同。化脓性感染、急性失血、急性溶血可引起白细胞数增高，但病毒性感染一般不引起白细胞数增高。

(四)白细胞计数的操作方法

显微镜计数法 白细胞稀释液0.38ml加血20 μ l，充分混匀后充入计数池，室温静置2~3min，在低倍镜下计数四角4个大方格内白细胞的总数，最后计算每升血液中白细胞计数值，公式为：

$$\text{白细胞数} = \frac{\text{4个大方格内白细胞数}(N)}{4} \times 10 \times 20 \times 10^6 = \frac{N}{20} \times 10^9/L$$

五、白细胞分类计数

(一)检测原理、方法学评价和质量控制

白细胞分类计数(DC)是将血液制成涂片，染色后在油镜下进行分类，求得各种类型白细胞的比值(百分率)。方法：①显微镜分类法：耗时、精确性和重复性较差。②血液分析仪分类法：有三分群和五分类两法，速度快、准确性高、易于标准化、能提示异常结果、结果以数据、图形、文字等多种形式展示，是白细胞分类和筛检首选方法，但不能完全代替显微镜检查法对异常白细胞进行鉴别和分类。

影响分类计数准确性因素：

(1)细胞分布不均；

(2)形态识别差异：①杆状核和分叶核诊断标准差异；②单核细胞和大淋巴细胞鉴别能力差异；③染色较差的涂片，嗜碱性粒细胞和中性粒细胞难以区分。

(二)白细胞分类计数的参考值(见表1-1-3)

表1-1-3 成人白细胞分类参考范围

	手工法		仪器法	
	百分率(%)	绝对值($\times 10^9/L$)	百分率(%)	绝对值($\times 10^9/L$)
中性杆状核粒细胞	1~5	0.04~0.5	—	—
中性分叶核粒细胞	50~70	2~7	38~68	1.89~5.32
嗜酸粒细胞	0.5~5	0.02~0.5	0.8~5.3	0.05~0.35
嗜碱性细胞	0~1	0~1	0.2~1.0	0.01~0.06
淋巴细胞	20~40	0.8~4	22~50	1.39~3.19
单核细胞	3~8	0.12~0.8	5~11.4	0.30~0.75

(三)白细胞分类计数的临床意义

1. 中性粒细胞

(1)生理性增多 中性分叶核粒细胞 $>70\%$ ，绝对值 $>7 \times 10^9/L$ 。常见于①年龄变化；②日间变化；③运动、疼痛、情绪变化；④妊娠与分娩；⑤其他。

(2)反应性增多 是机体的应激反应，见于：①急性感染或炎症；②广泛组织损伤或坏死；③急性溶血；④急性失血；⑤急性中毒；⑥恶性肿瘤等。

(3)异常增生性增多 白血病(如急性白血病、慢性白血病)、骨髓增殖性疾病(如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化症)。

(4)中性粒细胞减低 ①某些感染；②血液病；③慢性理化损伤；④自身免疫性疾病；⑤脾功能亢进。

(5)中性粒细胞核象变化 正常时，外周血中性粒细胞以3叶居多，杆状核与分叶核比值为1:13。①核左移：外周血中杆状核粒细胞增多或(和)出现晚幼粒、中幼粒、早幼粒等细胞称为核左移。见于感染(尤其急性化脓性感染)、急性中毒、急性溶血、急性失血等。②核右移：中性粒细胞核分叶5叶以上者 $>3\%$ 称为核右移，常伴白细胞总数减低。见于营养性巨幼细胞性贫血、恶性贫血、应用抗代谢药物、炎症恢复期。

2.嗜碱性粒细胞 增多见于：①过敏性或炎症性疾病；②骨髓增生性疾病；③嗜碱性粒细胞白血病。减少见于甲状腺功能亢进、妊娠、放疗、化疗、糖皮质激素治疗、感染急性期。

3.淋巴细胞 生理性增多见于儿童期淋巴细胞生理性增多。病理性增多见于急性传染病、肾移植术后(如发生排异反应)、白血病(如淋巴细胞性白血病、白血性淋巴瘤)、再生障碍性贫血、粒细胞缺乏症。

4.单核细胞 生理性增多：出生后2周婴儿可呈生理性单核细胞增多，可达15%或更多，妊娠时生理性增高与中性粒细胞变化相平行。病理性增多：见于某些感染(如亚急性感染性心内膜炎、疟疾、黑热病等)、急性感染恢复期、活动性肺结核(如严重的浸润性和粟粒性结核)、某些血液病(如粒细胞缺乏症恢复期、恶性组织细胞病、淋巴瘤、单核细胞白血病、骨髓增生异常综合征)。

六、嗜酸性粒细胞计数

(一)检测原理、方法学评价及参考值