

血液病学

实验室诊断

兰州医学院血液病学师资培训班

1975

血液病学实验室诊断目录

第一章 血液病的基本检验方法	(1)
采血和抗凝剂	(1)
血红蛋白的测定	(2)
红细胞计数	(4)
白细胞计数	(6)
嗜酸粒细胞计数	(7)
血小板计数	(9)
红细胞指数计算及临床应用	(9)
美蓝—伊红染色原理及血涂片的制作与染色法	(14)
白细胞分类计数	(17)
中性粒细胞分叶计数	(18)
网织红细胞计数	(19)
第二章 血细胞的一般形态学检查	(21)
正常血细胞成熟过程的规律性	(21)
骨髓细胞的结构特点	(23)
骨髓穿刺术和骨髓检查的诊断报告	(48)
第三章 出血性疾病的实验室检查	(56)
束臂试验	(56)
出血时间测定	(56)
血小板计数(直接法)	(57)
血块收缩时间测定	(58)
凝血时间测定	(58)
再钙化凝固时间测定	(59)
凝血酶元时间测定(一期法)	(60)
第Ⅴ因子(易变因子)测定	(62)
第Ⅷ因子(稳定因子)测定	(63)
白陶土部分凝血活酶时间	(63)
凝血酶元消耗试验	(64)
凝血酶元消耗纠正试验	(66)
凝血活酶生成试验	(67)
简易凝血活酶生成试验及其纠正试验	(69)
血浆纤维蛋白元比浊测定	(70)
纤维蛋白溶酶测定	(71)

	纤维蛋白裂解产物.....	(72)
	凝血酶时间测定.....	(74)
	附：肝素中和试验.....	(75)
	血清钙测定 (EDTA 滴定法).....	(75)
	纤维蛋白稳定因子 (XII) 测定.....	(76)
第四章	溶血性贫血的实验室检查.....	(78)
(1)	红细胞脆性试验.....	(79)
(2)	孵育后脆性试验.....	(80)
(3)	自家溶血试验.....	(81)
(4)	蔗糖筛选试验及蔗糖溶血 (确诊法) 试验.....	(82)
(5)	酸溶血试验 (Ham).....	(83)
(6)	尿普鲁士蓝反应 (Rous).....	(84)
(7)	红细胞热溶血试验.....	(85)
(8)	冷溶血试验 (杜-伦二氏试验).....	(85)
(9)	抗人球蛋白试验 (Coombs).....	(86)
(10)	粪胆元测定 (Watson 氏改良定量法).....	(90)
(11)	高铁血红蛋白还原试验.....	(91)
(12)	高铁血红蛋白还原试验——微量组织化学洗脱法.....	(92)
(13)	变性珠蛋白小体的显示.....	(93)
(14)	变性珠蛋白小体生成试验.....	(93)
(15)	血红蛋白醋酸纤维薄膜电泳.....	(94)
(16)	胎儿血红蛋白 (Hb-F) 的测定.....	(97)
(17)	不稳定血红蛋白的筛选试验.....	(98)
第五章	血细胞化学方法.....	(99)
(18)	脱氧核糖核酸.....	(106)
(19)	核糖核酸.....	(108)
(20)	蛋白质结合硫氢基.....	(109)
(21)	糖元及其它多糖.....	(111)
(22)	脂类.....	(114)
(23)	硷性磷酸酶.....	(115)
(24)	酸性磷酸酶.....	(118)
(25)	非特异性酯酶.....	(119)
(26)	过氧化酶.....	(120)
(27)	铁.....	(122)
(28)	附录 I.....	(124)
(29)	附录 II 缓冲剂.....	(124)
(30)	附录 III.....	(126)

第六章 其它检查方法	(127)
显微镜测微法	(127)
显微镜描绘法	(128)
相差显微镜的使用	(129)
血细胞体外活体染色法	(130)
尿液水解试验	(132)
热盐水溶解试验	(133)
血清和尿中溶菌酶的检查	(133)
红斑狼疮细胞的检查	(136)
体外淋巴细胞转化试验	(137)
淋巴细胞的玫瑰花形成试验	(142)
外周血培养操作规程	(143)
人体骨髓细胞染色体标本制备方法	(155)
第七章 常见血液病的实验室诊断	(157)
贫血	(157)
缺铁性贫血	(158)
巨幼红细胞性贫血	(158)
双相性贫血	(159)
正常幼红细胞性大细胞贫血	(160)
再生障碍性贫血	(160)
单纯红细胞再障	(161)
溶血性贫血	(161)
遗传性球形细胞增多症	(162)
先天性非球形细胞性溶血性贫血	(162)
伯氨喹啉型药物溶血性贫血及蚕豆黄	(162)
自身免疫性溶血性贫血	(163)
阵发性睡眠性血红蛋白尿症	(163)
阵发性冷性血红蛋白尿症	(164)
地中海贫血	(164)
铁粒幼红细胞性贫血	(164)
真性红细胞增多症	(165)
粒细胞减少	(165)
急性粒细胞缺乏症	(165)
慢性粒细胞减少症	(166)
白血病	(167)
急性粒细胞白血病	(169)
急性粒单细胞性白血病	(169)
绿色瘤	(170)

(781)	急性早幼粒细胞性白血病	(171)
(781)	亚急性粒细胞性白血病	(171)
(881)	慢性粒细胞性白血病	(172)
(881)	慢性粒细胞性白血病急性变	(172)
(081)	嗜酸细胞性白血病	(173)
(881)	嗜硷细胞性白血病	(173)
(881)	急性淋巴细胞性白血病	(174)
(881)	慢性淋巴细胞性白血病	(174)
(081)	淋巴肉瘤性白血病	(175)
(781)	急性单核细胞性白血病	(175)
(841)	慢性单核细胞性白血病	(176)
(881)	干细胞性白血病(原血细胞白血病)	(176)
(081)	红血病	(177)
(781)	红白血病	(178)
(781)	巨核细胞性白血病	(178)
(881)	组织嗜硷细胞性白血病	(178)
(881)	浆细胞性白血病与多发性骨髓瘤	(179)
(081)	类白血病反应	(180)
(081)	骨髓纤维化	(182)
(081)	淋巴结穿刺与恶性淋巴瘤	(182)
(081)	淋巴结穿刺术	(182)
(081)	淋巴肉瘤	(183)
(081)	网状细胞肉瘤	(184)
(081)	淋巴网细胞瘤	(185)
(081)	淋巴结核	(186)
(081)	结节病	(186)
(081)	网状内皮细胞病	(187)
(081)	恶性网状细胞病	(187)
(081)	脑苷脂网状内皮细胞病	(188)
(081)	神经磷脂网内细胞病	(189)
(081)	婴幼儿网内细胞增多症	(190)
(081)	黄脂瘤病	(191)
(081)	嗜酸性肉芽肿	(191)
(081)	出血性疾病	(191)
(081)	原发性血小板减少性紫癜	(191)
(081)	过敏性紫癜	(192)
(081)	原发性出血性血小板增多症	(193)
(081)	出血性血小板无力症	(193)

血友病 (AHG缺乏症)	(193)
类血友病 (PTA, PTC缺乏症)	(194)
付血友病 (V因子缺乏病)	(194)
凝血酶原缺乏症.....	(194)
纤维蛋白原缺乏症.....	(195)
弥漫性血管内凝血.....	(195)
其它有关疾病骨髓细胞学之特点.....	(195)
原发性脾机能亢进.....	(195)
婴儿假性白血病.....	(196)
传染性单核细胞增多症.....	(196)
传染性淋巴细胞增多症.....	(197)
骨髓转移瘤.....	(197)
铅中毒的血液学改变.....	(197)
苯中毒的血液学改变.....	(198)
放射影响.....	(198)
脾脏穿刺.....	(201)
血液寄生虫.....	(202)
疟原虫检验.....	(202)
幼丝虫的检验.....	(204)
黑热病的检查.....	(204)
回归热螺旋体检验.....	(205)
钩端螺旋体检验.....	(205)

第一章 血液病的基本检验方法

采血和抗凝剂

一、采血:

一般分毛细血管采血和静脉采血两种,根据检验项目,采用方法及所需血量而选择应用。

(一) 毛细血管采血,凡仅需一滴或数滴血的检查均可采用。如白细胞、红细胞、网织红细胞、血小板计数、血红蛋白、流血时间、凝血时间测定、制血膜和血型鉴定等。

1. 应用器材:扁平盾形针或弹簧采血针,75%酒精,干棉球等。

2. 采血部位:成人多在耳垂或手指,婴儿则采用大拇趾或足跟部。严重烧伤等患者应根据具体情况而选择。穿刺部位无水肿、发炎、充血、苍白或紫绀等异常情况,以免影响结果。耳垂采血优点为疼痛轻,患者看不见穿刺和流血可减少紧张和不安。缺点为循环差,血流量少。手指采血取中指、食指或无名指的尖端两侧部。优点为血量多、便于操作,缺点为患者较痛。

3. 方法:

(1) 取血部位以酒精棉球消毒皮肤,稍待片刻后,再以消毒干棉球拭干。

(2) 用消毒穿刺针穿刺皮肤,深约2~3毫米,使血液自动流出,避免用力挤压,以免组织液稀释血液影响结果。

(3) 将第一滴血擦去不用(因常混有组织液),取以后流出的血液作检查标本。

(4) 取血完后用75%酒精消毒局部,擦净血迹后,另换用消毒干棉球压迫穿刺部位,以止血。

(二) 静脉采血:一般由肘静脉穿刺采取。采血时的注意事项如下:

(1) 注射器要干,以免溶血,针头要比较粗,针尖要锐利。

(2) 避免充血,当针头进入血管后,即将束臂带解开,并令患者将手放松,束臂时间不应超过30秒钟。

(3) 抽血时要慢,勿快于血流速度。

(4) 盛器要清洁。

(5) 采血后先将针头除去,再慢慢将血注入盛器,避免引起泡沫,更不要把泡沫注入。

(6) 血加入抗凝剂的容器后,必须轻轻充分多次振荡。

用静脉血或毛细管血测定血红蛋白与计数红细胞及白细胞,所得结果无明显差别。血小板在静脉血中含量较高,这可能由于血小板粘附于皮肤穿刺部位之故。红细胞脆性实验静脉血较周围血高。由于静脉血中氢离子浓度及氧张力较低所致。静脉血涂片基本

上与周围血无异。

二、抗凝剂：

血检验凡需用全血或血浆时，均需选用适当的抗凝剂，以防止血凝固。

(一) 原理：草酸盐（钠或钾）类可迅速与血内的钙离子结合而形成不溶解的草酸钙，使血不再凝固。枸橼酸钠与血内钙质可形成一种非离子化的可溶性钙化合物，故防止凝固。

(二) 常用抗凝剂的种类：

1. 3.8% 枸橼酸钠溶液：9 份血加于 1 份 3.8% 枸橼酸钠溶液中。常用于红细胞沉降率的测定及输血。

2. 草酸盐合剂：草酸盐合剂是由 6 份草酸铵和 4 份草酸钾配成，每毫升合剂中含 20 毫克草酸盐。将混合液置于清洁的试管或小瓶中，烤干后备用，每毫升血需要 0.1 毫升草酸盐合剂。

此种抗凝剂并不影响细胞的体积，因而在测定红细胞比积、血红蛋白，红细胞，白细胞、血浆胆红素及凝血机制等试验中应用。因可使白细胞的形态发生改变，故不宜用于涂制血片。

3. 0.1M 草酸钠溶液：是测定一期凝血酶元时间（兔脑粉法）常用的抗凝剂。

血红蛋白的测定

测定血红蛋白的方法很多，最准确者为测血液的氧结合量或血液的含铁量。但方法复杂不能普遍应用。目前常用的是酸化法。

一、原理：

血液加酸，使血红蛋白变成棕色的酸性正铁血黄素，稀释后与血红蛋白计标准玻璃色柱进行目光比色，即得每 100 毫升血液内所含血红蛋白的克数。

二、应用仪器：

血红蛋白计，成套装于盒内，包括下列各件：

(一) 标准比色管：一般为胶木所制，一侧或两侧有棕黄色（由棕、淡紫红色配合而成）标准玻璃色柱，中央有空隙插入稀释管。

(二) 血红蛋白吸管：容积为 20 立方毫米。

(三) 血红蛋白稀释管：方形或圆形，前者多见。两侧有刻度，一侧以克为计数单位，对侧以百分率计。

(四) 玻璃棒：混和用。

(五) 滴管：吸蒸馏水稀释用。

(六) 小拭子：清洁血红蛋白稀释管用。

三、试剂：

0.1 当量盐酸液：为配制方便亦可以用 1% 盐酸液代用，取盐酸（化学纯）1 毫升，加入蒸馏水 99 毫升，混匀。

四、方法：

(一) 血红蛋白稀释管内加0.1当量盐酸到刻度10%处(一般以5滴左右为宜)。

(二) 末梢采血, 血滴宜较大。用血红蛋白吸管吸血至20立方毫米刻度处。用脱脂干棉球拭去管尖外部所粘附的血液。

(三) 将吸管尖端插入血红蛋白稀释管的盐酸内, 徐徐吹血于液体底层, 勿使产生气泡, 并利用上层的盐酸液将吸管洗涤多次, 然后摇匀, 使血与盐酸混合而呈褐色。

(四) 10分钟后用蒸馏水稀释, 直至稀释液的颜色与标准玻璃色柱完全一致为止, 比色时必须同一光源, 否则将影响结果。然后读取管内水柱凹面最低处的刻度, 即为每100毫升血液内血红蛋白的克数。

五、引起错误的原因:

(一) 仪器不准: 如玻璃色柱的棕色过深或过浅, 吸血管或稀释管的刻度不准确等。

(二) 操作技术不正确: 如取血部位选择不当, 血有凝块, 吸血操作不正确, 吸管外有血滞留及血和盐酸混合不均匀等。

(三) 盐酸的浓度过淡则不能使血红蛋白转化为酸性正铁血红素, 或血加入盐酸后时间过短, 就进行比色。因为酸性正铁血红素的形成是渐变的, 受时间和温度的影响, 在室温下(14~18℃)1分钟后75%的颜色可以显出, 5分钟后有88%, 至10分钟时95%的血红蛋白转化为酸性正铁血红素, 血红蛋白计的标准玻璃柱的色泽以此为准而制定的, 故于10分钟后比色。

(四) 报告百分率未注明克数会造成混乱。血红蛋白100%所代表的克数, 最低为13.75, 最高达17.3, 有六个不同的数值, 因此规定报告一律采用克数, 才不致造成混乱。

(五) 光源或照明度不同, 目测比色的误差。

六、正常值:

表: 儿童及成人血红蛋白数值

年 龄	性 别	例 数	血 红 蛋 白 (克)	
			均 数	平均值有意义范围(均数±标准差)
3—15	男、女	471	12.63	11.52~13.74
16—60	男	753	14.02	12.73~15.31
	女	449	12.47	11.32~13.62

七、血红蛋白计的校正:

由于血红蛋白计有各种不同的出品, 且标准比色管经一定时间后可能退色, 故所得之值常有差异, 欲使结果准确, 必须先将仪器校正。

校正方法: 取草酸化全血测定血液之氧结合量(按Scholander-Roughton氏法)或测定血液之铁含量, 按下列公式即可间接计算出血红蛋白量:

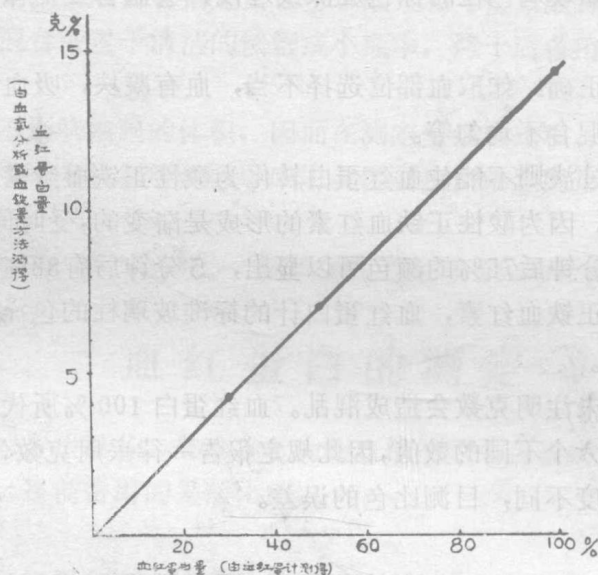
$$\frac{\text{氧结合量(体积\%)}}{1.34} = \text{血红蛋白(克\%)}$$

$$\text{或 } \frac{\text{铁含量 (毫克\%)}}{3.40} = \text{血红蛋白 (克\%)}$$

再将草酸化全血用生理盐水稀释一倍及二倍两份，分别测定其氧结合量或测定其铁含量，并分别计算出血红蛋白量（克%）。

将上述三个不同浓度的标本用同一欲校正的血红蛋白计，按Sahli氏法测定血红蛋白，每份标本测定三次，得出平均血红蛋白量，以管上的%为读数。

以血氧分析或铁定量方法测得的血红蛋白量（克%）为纵坐标，以血红蛋白计测得的值（%）为横坐标，画一校正图线（如下图）此图线应为一直线。



红 细 胞 计 数

一、原 理：

红细胞在血中含量甚多，如未经稀释，可使血液凝固而不易计数。将血稀释后，计数一定容积内的红细胞，并换算至每立方毫米内的含量。在稀释液内白细胞未被破坏。

二、应用仪器：

（一）血细胞计数室：不仅用于红细胞计数，亦可作白细胞、血小板，嗜酸粒细胞及精子等计数用。计数室种类甚多，原理相似，均须折合至1立方毫米。目前常用者为改良式。计数室是特制的厚玻片，上面刻划有计数室两个，全室分9大方格，大方格每边长度为1毫米，每一大方格的面积为1平方毫米，其深度为0.1毫米，故容积为0.1立方毫米。计数室四角的大方格每格又分为16个方格，适用于白细胞计数。中央的大方格由两线划分为25个中方格，每一个中方格又等分为16个小方格，共分为400个小方格，适用于红细胞计数。专用盖玻片呈长方形，厚度为0.4毫米。

（二）20立方毫米吸管，即血红蛋白吸管。吸血用。

（三）10毫升吸管：吸稀释液用。

(四) 中试管：盛稀释液用。

(五) 木塞或橡皮塞：用以塞试管。

(六) 细玻璃棒或滴管：滴计数室用。

三、稀释液：

(一) 复方氯化钠稀释液：较常用。

氯化钠（促使溶液与红细胞成为等渗） 1 克

结晶硫酸钠（溶液比重增加，使红细胞不互相粘连） 5 克

氯化汞（固定红细胞，并有防腐作用） 0.5 克

蒸馏水（稀释用） 200 毫升

石炭酸品红溶液（为与白细胞稀释液区别，使成微红色即可） 数滴

配好后，盛于无色玻璃瓶内，严塞瓶口。若发现瓶底有絮状沉淀时，多半为真菌生长，必须过滤进行空白试验，如在镜下仍见有“红细胞样物”，则弃去不用，并对容器消毒后方能应用。

(二) 0.9%氯化钠溶液：亦可应用，一般影响结果不大。

四、方 法：

(一) 以固定的10毫升吸管吸红细胞稀释液2毫升（按理应加1.99毫升）于干净试管内，加塞、备用。

(二) 用血红蛋白吸管吸血10立方毫米。

(三) 将血吸至盛有2毫升红细胞稀释液的试管中，将血红蛋白吸管的血用试管中的稀释液反复吸洗数次。

(四) 盖紧试管，以免蒸发。用手执试管使稍倾斜（约120度角度），摇动试管并使之旋转至少2分钟。

(五) 用细玻璃棒将混悬液滴于计数室内，静置2~3分钟待红细胞沉下后在显微镜高倍镜下计数。

(六) 计数红细胞时将计数室中间的一平方毫米的大方格置于视野内，数四角及中间的五个中方格，即80个小方格中的细胞数，将所得的总数乘以10,000，即得每立方毫米血中的红细胞数。计算原理如下：计数室中间的大方格分为25个中方格，每个中方格分为16个小方格，计数室的深度为0.1毫米，因此每1小方格的容积为1/4,000立方毫米，80个小方格的容积为1/50立方毫米。血液稀释的倍数为200倍。因此每立方毫米血中的红细胞数应为80个小方格中细胞总数 $\times 50 \times 200 = 80$ 个小方格中细胞总数 $\times 10,000$ 。

五、引起误差的原因：

(一) 结果高于真实数值之原因：

1. 采血部位有青紫。

2. 吸血过多。

3. 稀释液吸得太少。

4. 混合不均匀。

5. 计数室内细胞分布不均匀。

6. 将酵母、尘土、白细胞（在白血病时）等计数为红细胞。

(二) 结果低于真实数值之原因。

- 1. 被体液稀释，如水肿或采血时用力挤压。
- 2. 放置时间过久，少数红细胞破坏。
- 3. 吸血过少或稀释液过多。
- 4. 计数室内细胞分布不均。
- 5. 计数错误。
- 6. 细胞有凝集现象。

六、正常值：

表：儿童及成人红细胞数值

年 龄	性 别	例 数	红细胞 (万/立方毫米)	
			均 数	平均有意义范围 (均数±标准差)
3~15	男、女	473	435.2	386.6~483.9
16~60	男	753	483.5	429.1~537.9
	女	440	433.2	383.1~483.2

白 细 胞 计 数

计算每立方毫米血液内白细胞的总数。与白细胞分类计数同时检查，对临床参考价值更大。方法是溶解成熟红细胞，将血稀释后计数一定容积内的白细胞，并换算至每立方毫米内的含量。

一、应用仪器：

血细胞计数板，20立方毫米吸管，2毫升吸管，小试管（75毫米×10毫米），橡皮（或软木等）塞，细玻棒等。

二、稀释液：

常用乙酸溶液，其浓度可自0.5—5%。冰醋酸（使红细胞破坏）1%结晶紫溶液（使白细胞核略受染并使溶液与红细胞稀释液易于区别）1毫升蒸馏水 加至 100毫升

三、方 法：

（一）吸稀释液0.38毫升于小试管中加塞备用。

（二）用血红蛋白吸管吸血20立方毫米，吹至盛有稀释液的小试管内，加塞，摇均2分钟。

（三）用细玻棒将混液滴于计数室内，待白细胞下沉后在显微镜下计数室中四角的四大方格中的细胞数，将数得之数乘50，即得每立方毫米血中之白细胞数。

计算原理：血液稀释20倍，在计数室内仅数了0.4立方毫米中的白细胞数，故换算

到1立方毫米时要乘2.5,白细胞总数是指未稀释血在一立方毫米的数值,所以 $20 \times 2.5 = 50$,即将四个大方格数得之数乘以50。

四、计数误差:

与红细胞计数误差的原理相同,同时要注意到白细胞在一天之中是有波动的。

五、正常值:

成人4000—10000/立方毫米。

嗜酸粒细胞计数

根据血白细胞总数及分类,可间接求得每立方毫米内嗜酸粒细胞的绝对值,在必要时仍可采用,说明方法以供临床参考用。由于嗜酸粒细胞数变化的意义在临床上已日益受到重视,因此直接计数法也很常用。

一、稀释染液(种类较多,介绍二种)

1. 伊红—丙酮稀释染液:

2%伊红	5毫升
丙酮	5毫升
蒸馏水	90毫升

保存于冷暗处。因丙酮较易挥发,最好在使用前新鲜配制。

水的低渗作用能使红细胞膨胀、破裂。丙酮有阻止水溶解白细胞的作用,当试剂内的浓度为5%时,能使所有的红细胞溶解,大部分白细胞亦多破裂。嗜酸粒细胞对水溶解抗力较其他白细胞为大,但时间较久则细胞膜亦可破裂。伊红使嗜酸粒细胞的颗粒着色。

由于药品价廉易得,目前应用仍较广。但过分振荡(如振荡5分钟可降低近50%),放置时间过久(放置2小时可降低70%强)均可使结果偏低,试剂不能久放,均为本法缺点。

2. 伊红—乙醇稀释染液:

2%伊红水溶液	10毫升
甘油	10毫升
碳酸钾	1克
枸橼酸钠	0.5克
90%乙醇	30毫升
蒸馏水	加至 100毫升

试剂稳定,在室温可保存1~6月不变质。加少量硷液(1%碳酸钾)则能使水对红细胞及中性粒细胞等溶解力增强,增加嗜酸粒细胞对染料的着色力。乙醇的浓度以30~35%较合适,过浓则红细胞破坏不完全,过淡则嗜酸粒细胞亦可裂解。本试剂溶解红细胞和其他白细胞能力甚强,10分钟后计数室内即没有其他细胞,嗜酸粒细胞颗粒染成鲜红色,视野清晰,无沉渣。缺点为试剂中含10%甘油,细胞不易摇匀。

二、操作步骤

1. 血滴应自然流出,不可用力挤压。吸血动作要迅速,尽量使血液暴露空气时间缩短。

2. 于小试管(75毫米×10毫米)内用固定的1毫升吸管加入稀释染液0.38毫升,加塞。用20立方毫米吸管吸血至刻度处,擦净管尖外部血液,吹入稀释液底部,再吸上层清液冲洗滞流管壁血。用第一种染液应轻振10秒钟,不宜过久,以免嗜酸粒细胞破裂;但亦不能过轻,而致血有部分凝固。用第二种染液时要立即振摇半分钟,否则细胞不易摇匀。

3. 用第一种染液稀释时应及时滴入一侧计数室内,静置5分钟,以使细胞下沉及着色。用第二种染液稀释时,可放置2小时(嗜酸粒细胞减低5%左右),在滴入计数室前应再振摇1~2分钟,静置15分钟计数。

4. 用低倍镜计数9个大方格中呈鲜红色颗粒的嗜酸粒细胞。

三、注意事项:

1. 稀释染液中丙酮等的含量,虽已作规定,但遇以下情况应予以适当调整,以已知正常血测定,使获得理想的染色效果。

(1) 嗜酸粒细胞的胞膜破裂,其他种白细胞亦很少见到:由于丙酮浓度过低或稀释液碱性过强所致,可根据具体情况增加丙酮或减少碳酸钾含量。

(2) 全部白细胞均存在(甚至可见到一部分红细胞),嗜酸粒细胞的颗粒着色不显,或需长时间方能着色:由于丙酮在稀释染液中浓度过高(20—50%)所致,应减丙酮或加少量碳酸钾。

(3) 红细胞溶解不完全,并有较多沉渣:常见于血与稀释染液的比例为1:10时或稀释液碱性不足,可稀释血20倍或加少量碳酸钾于稀释染液中。

(4) 细胞聚集成堆:由于血液在稀释前已凝固,采血动作应迅速。

2. 应注意嗜酸粒细胞有自发性波动,上午可有较大的降低,而下午则降低较少,生活情况及精神刺激亦能使嗜酸粒细胞下降。因此最好能在一定的时间和情况下进行操作,可减少误差。

3. 根据国内资料证实:嗜酸粒细胞直接计数和间接推算所得的绝对值相比较,二者在数值的高低方面大体相平行,但后者普遍较前者可相差达11.8%,最低者仅3%,这主要是由于技术的差异所造成。

4. 天气炎热时,特别是使用第二种稀释染液,为防止蒸发,可置湿皿内。即将培养皿底部铺薄层棉花,加清水适量浸湿;置玻棒2根于棉花上,将计数板放玻棒上,加盖。

5. 同白细胞计数部分者不重述。

四、计算法

1. 用稀释染液稀释血20倍,折换到未稀释血要乘以20。

2. 在计数室内仅数0.9立方毫米中的嗜酸粒细胞,故换算到每立方毫米要乘以1.1。

3. 实际计数时,将九个大方格中嗜酸粒细胞相加总数,乘以22,即得每立方毫米内的嗜酸粒细胞数。

五、正常值:

100~300/立方毫米。

血 小 板 计 数

血小板离体以后易凝集或崩溃,且体积小,易与杂质混淆,所以计数不易准确。目前常用之方法有以下两种。

一、间接计数法:

(一) 先将耳垂(或指尖)用酒精消毒。

(二) 待干后,滴14%硫酸镁一滴于耳垂(或指尖)上。

(三) 刺血针穿过硫酸镁刺破皮肤。

(四) 用玻璃棒将血液和硫酸镁液混合以防止血小板破碎或凝集。

(五) 将混合的血液制成血片,用伊红—美蓝法染色。

(六) 用油镜检查,计算在数1000个红细胞时所看到的血小板数目。

(七) 按下列公式计算出每立方毫米血内血小板数目:

$$\text{数1000个红细胞时所数到的血小板数目} \times \frac{\text{每立方毫米血液内红细胞数}}{1000}$$

二、直接计数法:

见第三章出血性疾病的实验室检查。

正常值(间接法) 250,000—500,000/立方毫米。间接计数法所得数值较直接计数法为高,在血涂片中血小板与红细胞之比约为1:25,可与直接计数法互相参照。

红细胞指数计算及临床应用

计算红细胞指数对于了解红细胞的体积和所含血红蛋白多少之间的关系,从而确定贫血的性质,对于指导诊断和治疗有一定的意义。红细胞指数的计算是根据红细胞数、血红蛋白及红细胞压积容量三者关系算得的。

一、要测定三个数值:

(一) 红细胞数:一立方毫米内有多少万(万/ mm^3)。

(二) 血红蛋白:100毫升血内有多少克(克%)。

(三) 红细胞压积容量:100毫升血内,红细胞压积容量占多少毫升(毫升%)。

测定方法:

1、仪器:血细胞压积容量测定管——为一特制的玻璃管,长11厘米,内径2.5毫米,管内底平,管上有厘米和毫米的刻度,右侧刻度的数字最下为“1”,最上为“10”,表示厘米,用以计算红细胞的压积。左侧由上到下为“1”至“10”,用以测定红细胞沉降率。

2、抗凝剂:

配方:草酸铵

1.2克

草酸钾

0.8克

蒸馏水

100毫升

此方中草酸钾能使红细胞皱缩，草酸铵能使红细胞膨胀，二者适当配合后可使红细胞大小不改变，适于作红细胞压积容量的测定。

取此抗凝剂0.5ml，注入容器中，在保温箱内烘干。此量可使5 ml血液不凝固。

3、方 法:

(1) 取血2—3ml加入抗凝瓶中，加塞，充分混合，注意避免溶血。

(2) 用细长的毛细吸管吸血，装入血细胞压积容量测定管内，由下而上到“10”的刻度（同时取血作红细胞计数和血红蛋白测定）。

(3) 置悬挂的离心管内，以3000转/分钟速度离心沉淀30分钟。要求离心距离15Cm。

(4) 读取红细胞压积容量的高度有多少毫米。

正常值: 成年男性 $47 \pm 7\%$

成年女性 $42 \pm 5\%$

二、红细胞指数的计算:

一般计算三个平均值和三个指数，结果与正常值比较。通常用的正常值是以红细胞为500万，血红蛋白为14.5克%，红细胞压积容量为45%容积作为恒量的标准。

(一) 平均红细胞体积 (Mean Corpuscular Volume, 简写MCV): 是表示每一个红细胞的平均体积 (以立方微米表示体积单位)。

1、计算公式:

$$\text{红细胞平均体积} = \frac{\text{每100毫升中红细胞压积容量 (毫升)} \times 10}{\text{每立方毫米中红细胞的百万数}} \\ (\text{M.C.V})$$

2. 公式来源:

可将100毫升血中红细胞的压积容量化为立方微米 (μ), 再用100毫升血中红细胞数去除, 即得单个红细胞的平均体积。上述公式是由此简化而来。

(1) 把容量单位毫升化为立方微米:

$$\because 1 \text{ 立方厘米} = 1000 \text{ 立方毫米}$$

$$1 \text{ 立方毫米} = 1,000,000,000 = 10^9 \text{ 立方微米}$$

$$\therefore 1 \text{ 立方厘米} = 1,000,000,000,000 = 10^{12} \text{ 立方微米}$$

(2) 为了便于理解, 设红细胞压积容量为45%, 红细胞为500万/立方毫米。则:

$$\text{M.C.V} = \frac{100 \text{ 毫升血中红细胞压积容量 (毫升)}}{100 \text{ 毫升血中红细胞数}}$$

$$= \frac{45 \times 1,000,000,000,000 \text{ 立方微米}}{5,000,000 \times 1000 \times 100} = \frac{45 \times 10}{5}$$

3. 正常值: 成人 87 ± 5 立方微米 (μ)

(二) 平均红细胞血红蛋白 (Mean Corpuscular Hemoglobin, 简写M.C.H.),

表示每一个红细胞平均所含的血红蛋白量（以微微克表示重量单位）。

1. 计算公式:

$$\text{红细胞平均血红蛋白 (MCH)} = \frac{\text{每100毫升血的血红蛋白克数} \times 10}{\text{每立方毫米血中红细胞的百万数}}$$

2. 公式来源:

公式来源是将100毫升血的血红蛋白克数化为微微克，再用100毫升血中的红细胞数去除，即得单个红细胞所含血红蛋白的重量。上述公式是由此简化而来。

(1) 把重量单位克换算为微微克:

$$\because 1 \text{ 克} = 1000 \text{ 毫克}$$

$$1 \text{ 毫克} = 1000 \text{ 微克}$$

$$1 \text{ 微克} = 1,000,000 \text{ 微微克 } (\gamma\gamma)$$

$$\therefore 1 \text{ 克} = 1000 \times 1000 \times 1000,000 = 10^{12} \text{ 微微克}$$

(2) 为便于理解，设血红蛋白 = 14.5克%，红细胞 = 500万/立方毫米，则:

$$\begin{aligned} \text{MCH} &= \frac{100 \text{ 毫升血的血红蛋白微微克数}}{100 \text{ 毫升血中红细胞数}} \\ &= \frac{14.5 \times 1,000,000,000,000 \text{ 微微克}}{5,000,000 \times 1,000 \times 100} = \frac{14.5 \times 10}{5} \end{aligned}$$

3. 正常值: 成人 为 29 ± 2 微微克

(三) 平均红细胞血红蛋白浓度 (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration, 简写M.C.H.C.): 是指100毫升红细胞压积容量内所含血红蛋白的浓度(克数)，以百分率表示。

1. 计算公式:

$$\text{平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)} = \frac{\text{每100毫升血的血红蛋白克数}}{\text{每100毫升血的红细胞压积容量(毫升)}} \times 100$$

2. 举例: 设血红蛋白14.5克%，红细胞压积容量为45毫升%。

$$\text{M.C.H.C} = \frac{14.5}{45} \times 100 = 32.22 \text{ 克/100毫升红细胞压积容量}$$

3. 正常值: 34 ± 2 克%

(四) 体积指数 (Volume index, 简写VI)

表示红细胞压积容量正常百分率与红细胞数目正常百分率之比率，即表示红细胞之体积(大小)与红细胞数目之关系。

1. 公式:

$$\text{体积指数} = \frac{\text{红细胞压积容量之正常百分率}}{\text{红细胞数目之正常百分率}} = \frac{\text{红细胞压积容量(毫升\%)} \times 2.3}{\text{红细胞数目(百万/立方毫米)} \times 20}$$

2. 公式来源:

假定以下列正常数值作为100%来计算。

$$\text{压积: } 43.2 = 100\%$$

$$\text{红细胞: } 500 \text{ 万} = 100\%$$