



● 主编 支丽霞 胡建勇 高海彦 李英

LINCHUANG SHIYONG JIANYAN YIXUE

临床实用检验医学

临床实用检验医学

主编 支丽霞 胡建勇 高海彦 李英

 科学技术文献出版社
SCIENTIFIC AND TECHNICAL DOCUMENTATION PRESS

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

临床实用检验医学 / 支丽霞等主编. —北京: 科学技术文献出版社, 2013.11
ISBN 978-7-5023-8447-0

I. ①临… II. ①支… III. ①医学检验 IV. ①R446

中国版本图书馆CIP数据核字 (2013) 第259644号

临床实用检验医学

策划编辑: 薛士滨 责任编辑: 杜新杰 责任校对: 赵文珍 责任出版: 张志平

出 版 者 科学技术文献出版社
地 址 北京市复兴路15号 邮编 100038
编 务 部 (010) 58882938, 58882087 (传真)
发 行 部 (010) 58882868, 58882874 (传真)
邮 购 部 (010) 58882873
官 方 网 址 <http://www.stdp.com.cn>
发 行 者 科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销
印 刷 者 天津午阳印刷有限公司
版 次 2013年11月第1版 2013年11月第1次印刷
开 本 787×1092 1/16
字 数 877千
印 张 37
书 号 ISBN 978-7-5023-8447-0
定 价 88.00元



版权所有 违法必究

购买本社图书, 凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责调换

《临床实用检验医学》编委会

主 编

支丽霞 胡建勇 高海彦 李 英

副主编

宋月华 吕凤民 朱小平

沈 丹 赵 萍

编 委

支丽霞 甘肃省兰州市第二人民医院
吕凤民 新疆和田地区人民医院
朱小平 兰州电机有限责任公司职工医院
宋月华 甘肃省兰州市安宁区万里医院
李 英 兰州石化总医院
沈 丹 湖北省襄阳市中心医院
陈秀兰 湖北省十堰市妇幼保健院
胡建勇 甘肃省定西市人民医院
赵 萍 湖北省黄石市黄石港社区卫生服务中心
郭旭昌 西安市第四医院
高海彦 甘肃省武威市凉州医院
徐亚林 赤碧市蒲纺医院

前 言

医学检验内容广泛，技术发展日新月异。在现代医学中，医学检验已远远超出早先单纯辅助临床诊断的范围，在疾病的预防、疗效和预后的判断、治疗药物的监测、健康状况的评价以及遗传性疾病预测等领域，正发挥着越来越大的作用。这一切都要求医学检验工作者要不断扩大自己的知识面，时时关注和学习新知识，更新旧观点以及改进技术，以适应时代的要求，赶上现代医学发展的步伐。基于这一需求，我们编了这本书，奉献给正在赶超先进水平的同行和读者。

本书共分为五章，收集了临床血液学、体液、免疫学、生物化学以及微生物学的检验方法。许多最新发现的致病和机会致病微生物、新开发和改进的血液学、临床生化和免疫学试验方法以及各项试验的原理、临床意义及注意事项，均有简要介绍。为使本书能在国内大多数医疗单位适用，在强调先进性的同时，也适当编入部分虽不很先进，但在我国目前社会经济条件下仍具实用价值，不需特殊设备，所得结果也较为可靠的经典方法。另一方面，有一些虽很先进，但在我国目前条件下无法实行，临床应用价值有限的方法也不选用。每项试验一般只选用一两个较可靠、实用的方法，避免过多的罗列。

本书编者虽经努力，但限于知识水平和经验不足，缺点和错误在所难免，深望海内同道不吝赐教。

《临床实用检验医学》编委会
2013年10月

目 录

第一章 临床血液学检查	1
第一节 血细胞的一般检验.....	1
第二节 血栓与止血检验.....	22
第三节 血细胞化学染色.....	82
第四节 贫血的检验.....	97
第五节 骨髓检查.....	131
第六节 输血检验.....	135
第二章 体液检验	174
第一节 尿液检验.....	174
第二节 粪便检验.....	215
第三节 胃液、十二指肠引流液及胆汁检验.....	224
第四节 痰液检验.....	229
第五节 脑脊液检验.....	231
第六节 浆膜腔积液检查.....	241
第七节 精液检查.....	250
第八节 阴道分泌物检查.....	258
第三章 免疫学检验	567
第一节 免疫球蛋白含量测定.....	267
第二节 补体测定.....	275
第三节 细胞免疫检验.....	284
第四节 自身抗体检验.....	295
第五节 肿瘤标志物的检验.....	341
第六节 病毒性肝炎的免疫学检验.....	362
第四章 生化检验	383
第一节 血清蛋白质测定.....	383
第二节 糖及其代谢物测定.....	389
第三节 血脂及脂蛋白测定.....	394
第四节 无机元素测定.....	405
第五节 血气分析与酸碱平衡.....	420
第六节 肝病的实验诊断.....	428
第七节 心肌疾病的实验诊断.....	449
第八节 肾脏疾病的实验诊断.....	453
第五章 微生物检验	460
第一节 试剂染液配制.....	460

第二节	培养基的制备	462
第三节	微生物学检验基本技术	472
第四节	临床标本的细菌检验	497
第五节	需氧菌及兼性厌氧菌的常规鉴定	505
第六节	常见厌氧菌的分离与鉴定	541
第七节	分枝杆菌分离与鉴定	552
第八节	真菌常规检验	556
第九节	病毒学检验	563
第十节	支原体检验	571
第十一节	衣原体检验	574
第十二节	立克次体检验	578
参考文献		582

第一章 临床血液学检查

第一节 血细胞的一般检验

一、血液标本的采集与抗凝

(一) 标本的采集

血液标本的采集可分毛细血管采血法和静脉采血法。近年来随着全自动血细胞分析仪的广泛应用, 无论仪器进样品多少, 为了防止血样中小凝块的形成, 保证仪器进样时标本能充分混匀, 原则上均应使用静脉血。毛细血管血和静脉血之间, 无论细胞成分和化学组成, 都存在不同程度的差异。在判断和比较结果时必须予以考虑。

某些生理因素, 如进食、吸烟、运动和情绪波动等, 均可影响血液成分。甚至一日之间, 白细胞总数、嗜酸性粒细胞计数、淋巴细胞各亚群的比例等参数也有一定波动。服用某些药物可能明显干扰试验, 如阿司匹林对血小板聚集的抑制作用, 因此采血时, 应询问是否服用过明显干扰试验的药物, 并尽可能在一定时间和近似生理条件下采血, 以资比较和动态分析。

1. 毛细血管采血法

【采血部位】

成人通常用手指或耳垂, 婴幼儿手指太小可用脚趾或足跟采血, 严重烧伤患者, 选择皮肤完整处采血。耳垂采血结果不够恒定, 受气温影响大, 红细胞、白细胞、血红蛋白和红细胞比积结果均比静脉血高。手指采血操作方便, 获血量多, 检验结果比较恒定, 但与静脉血仍有一定差异。

【器材】

一次性无菌三棱针, 消毒干棉球, 75%乙醇棉球, 20 μ l 一次性微量吸管。

【操作】

- (1) 成年人的采血部位以左手无名指为宜, 婴幼儿于拇指或足跟两侧采血。
- (2) 轻轻按摩采血部位使其充血, 用 75%乙醇棉球消毒局部皮肤。
- (3) 紧捏采血部位, 用无菌三棱针刺破皮肤, 动作须迅速, 刺入深度以 2~3mm 为宜。
- (4) 擦去第一滴血, 按需要依次用 20 μ l 微量吸管采血, 标本先测血小板, 再依次测红细胞、血红蛋白、白细胞、血型等。
- (5) 采血完毕用干棉球按压伤口止血。

【注意事项】

- (1) 采血时要使血液自然流出, 勿过分挤压, 以免组织液混入血液影响测定结果。
- (2) 严格实行一人一针, 避免交叉污染。

2. 静脉采血法

【采血部位】

凡位于体表的浅静脉均可采用，首选肘静脉，也可用手背静脉、踝静脉。幼儿可用颈外静脉采血。

【器材】

一次性注射器，3%碘酊棉球，75%乙醇棉球，止血带，抗凝管（瓶）。

【操作】

- (1) 根据检验目的核对患者姓名、联号、准备的器材。
- (2) 让患者坐位或卧位伸出手臂，握紧拳头，用止血带扎紧上臂使静脉怒张。
- (3) 先用3%碘酊消毒皮肤，再用75%乙醇棉球消毒皮肤。
- (4) 取出一一次性注射器，并检查注射器针头连接处是否漏气或松动。
- (5) 根据血管分布情况，将注射器针头与手臂约成30°角顺利进针至血管内抽血。
- (6) 抽取检验项目所需血量后松开止血带，用干棉球按住进针口并拔出针头。
- (7) 抗凝剂与血液按要求配比。血液加入试管内应立即摇匀以免凝固。
- (8) 如果进针和抽血过程不顺利，应换另外静脉重抽，以免血小板聚集或出现微小凝块。

【注意事项】

- (1) 采血部位采用螺旋式由内向外的消毒方式，避免污染。
- (2) 抽血速度不能太快，以免产生大量泡沫。
- (3) 将采好的血注入容器前，须先拔除针头，以免溶血。
- (4) 止血带压迫时间不能过长，最好不超过半分钟，以免溶血和血液浓缩。
- (5) 切忌将注射器内气泡推入血管，以免形成血栓，造成严重后果。

3. 标本的运输和保存

(1) 在室温下 EDTA 二钾抗凝的静脉血中白细胞、红细胞、血小板可稳定 2 小时，白细胞分类结果可稳定 6~8 小时，血红蛋白可稳定数天，但白细胞形态在 2 小时后可发生变化，需要借助显微镜分类的标本要及时推片固定。标本在 4℃ 冰箱内储存，稳定时间可适当延长，但低温对血小板计数和血小板体积两项检测结果影响较大。

(2) 使用半自动血细胞分析仪时，由于大多采取末梢法采血，标本往往直接稀释，血细胞在高稀释状态下会自溶破坏而影响检测结果，因此标本不宜保留过久，一般要求在 1 小时内测定完毕。

(3) 测定血沉、血细胞比积应在 2 小时内完成。夏天气温较高，标本在运输和保存时应加盖，以免标本浓缩。

(4) 将血浆放在 4℃ 冰箱中 24 小时后，Ⅷ因子活性仅为采血后立即测定的 5%（减少 95%），故应在采血后即刻检查。

（二）抗凝剂与抗凝原理

抗凝剂种类很多，性质各异。因此，必须根据检验目的适当选择，才能获得预期的结果。现将实验室常用的抗凝剂及其使用方法简述如下：

(1) 枸橼酸钠：有 $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 $2\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ 等多种晶体。枸橼酸钠能与血液中的钙离子结合形成可溶性螯合物，从而阻止血液凝固。通常用前者配成浓度

为 109mmol/L (32.06g/L) 水溶液。枸橼酸钠常用于红细胞沉降率的测定 (0.4ml 抗凝剂加 1.6ml 血液); 因枸橼酸钠对凝血 V 因子有较好的保护作用, 使其活性降低减慢, 故也常用于凝血因子检测 (0.2ml 抗凝剂加 1.8ml 血液)。因毒性小, 也用于输血保养液中。

(2) 二乙胺四乙酸 (EDTA) 盐: 此类盐包括 EDTA 二钠、EDTA 二钾、EDTA 三钾 3 种, 抗凝机制与枸橼酸钠相同。1.5mgEDTA 盐能抗凝 1ml 血液。其中 EDTA 二钠的溶解度较低, 不能配成高浓度溶液; EDTA 三钾碱性太强, 影响红细胞和血红蛋白的测定; EDTA 二钾对血细胞的影响最小, 特别适用于全血细胞分析及红细胞比积测定。抗凝血在室温下放置 4~6 小时不影响红细胞体积, 是血液细胞分析仪最适合的抗凝剂。操作时将 150g/L 的 EDTA 二钾水溶液 10 μ l 加入试管中, 抽血 1.0ml 混匀即可。EDTA 影响血小板聚集, 不适于做凝血象检查和血小板功能试验。

(3) 肝素: 肝素广泛存在于肺、肝、脾等几乎所有组织的血管周围肥大细胞和嗜碱性粒细胞的颗粒中。它是一种含硫酸基团的粘多糖, 平均分子量为 15000, 具有多方面抗凝作用, 主要作用机制是增强抗凝血酶活性, 间接抑制凝血活酶形成和灭活凝血酶。过量肝素可引起白细胞凝集和血小板减少, 且使血膜染色背景呈淡蓝色, 因此不能用于白细胞和血小板计数以及白细胞分类计数, 而通常作为血细胞比积和红细胞渗透脆性试验的较理想的常用抗凝剂。常用药用肝素浓度为 100~1250U/ml, 一般取 0.20ml 置于试管或小瓶中在 37~50 $^{\circ}$ C 下烘干, 能抗凝 5ml 血液 (血气分析时直接用 1000U/ml 肝素湿润针管后抽血)。

(4) 草酸钠: 草酸盐可与血中钙离子形成草酸钙沉淀, 从而阻止血液凝固。常用浓度为 0.1mol/L, 与血液按 1:9 比例混合, 过去主要用于凝血检查, 但实践发现草酸盐对凝血 V 因子保护功能差, 影响凝血酶原测定效果。因草酸盐与钙结合形成的是沉淀物, 影响血液自动分析仪的使用, 因此目前已较少使用。

二、红细胞检验及临床意义

(一) 红细胞的生成、形态和功能

红细胞是血液中数量最多的有形成分, 在正常情况下几乎占血容量的一半, 故使血液呈红色的黏稠混悬液。红细胞主要成分为血红蛋白, 约占 34%, 其主要生理功能是作为呼吸载体携带氧气至全身各组织, 并协同维持酸碱平衡。成熟红细胞呈双凹圆盘形, 平均直径 7.2 μ m, 厚约 2 μ m, 无核。此种结构使红细胞具有较大的胞膜面积, 便于进行气体交换和伸展变形。红细胞的平均寿命为 120 天。

在正常情况下, 红细胞的生成和破坏在促红细胞生成素及其他神经体液因素的调节下保持动态平衡。在病理情况下, 由于种种原因破坏这一平衡, 均可导致疾病, 如各种贫血。

(二) 红细胞计数

红细胞计数即测定单位体积 (每升) 血液中红细胞的数量。以目视计数法为例。

【原理】

用等渗稀释液将血液稀释一定倍数后, 滴入血细胞计数盘, 然后于显微镜下, 计数一定范围内的红细胞数, 经过换算即可求得每升血液中的红细胞数。

【试剂】

红细胞稀释液种类繁多, 常用配方如下:

(1) 赫姆 (Hayem) 液: 氯化钠 1g, 结晶硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 5g (或无水硫酸钠 2.5g), 氯化高汞 (HgCl_2) 0.5g, 蒸馏水加至 200ml。

此液为传统红细胞稀释液。其中氯化钠的作用是调节渗透压; 硫酸钠可提高比密防止细胞粘连; 氯化高汞为防腐剂。其主要缺点是如遇高球蛋白血症或自身凝集素增高患者, 由于蛋白沉淀使红细胞容易凝结。

(2) 甲醛枸橼酸盐稀释液: 枸橼酸钠 ($2\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$) 3.13g, 甲醛 (36%~40%) 1ml, 蒸馏水 100ml。其中枸橼酸钠作用是抗凝和保持等渗, 甲醛使红细胞固定。此液配制简单, 红细胞不凝集且在数小时后仍然保持正常的圆盘形, 应用较广。偶遇自身凝集素增高患者, 采用不含甲醛的枸橼酸盐稀释液, 即 31.3%g/L 枸橼酸钠抗凝剂, 尚可使自身凝集红细胞重新分散并照常计数。

(3) 生理盐水: 急用时普通生理盐水或加 1% 甲醛的生理盐水均可作红细胞稀释液使用。

【操作】

(1) 取一洁净试管, 加红细胞稀释液 2.0ml。

(2) 自指尖采血。擦去第一滴血后, 使流出血液形成较大的血滴, 勿过分挤压。用微量吸管采血 10 μl , 擦干吸管外面的血液, 将吸管中血液慢慢加入稀释液试管中, 用上清液吸洗吸管 2~3 次, 然后摇匀试管。取血必须准确, 采血过程中动作必须迅速, 防止血液凝固。

(3) 将稀释血液滴入计数盘中, 静置 2~3 分钟, 用高倍镜依次计数中央大方格内四角和正中 5 个中方格内的红细胞数, 按数上不数下, 数左不数右的原则, 进行目视记数。

【计算】

红细胞数/L = 5 个中方格内的红细胞数 / 100×10^{12}

【参考值】

男性: $(4.0 \sim 5.5) \times 10^{12}/\text{L}$, (400 万~550 万/ μl);

女性: $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/\text{L}$, (350 万~500 万/ μl);

新生儿: $(6.0 \sim 7.0) \times 10^{12}/\text{L}$, (600 万~700 万/ μl)。

【临床意义】

1. 生理变化

(1) 年龄和性别的差异。新生儿由于在母体内以弥散方式从母体血液获得氧气, 通常处于生理性缺氧状态, 因此红细胞和血红蛋白浓度均明显增高, 但 2 周后就逐渐下降为正常。据报道, 男性儿童在 6~7 岁时最低, 以后随年龄增大而逐渐上升; 到 25~30 岁时达到顶峰, 30 岁后又随年龄逐渐下降, 直到 60 岁时尚未停止。女性儿童也随年龄增大而逐渐增长, 到 13~15 岁时达到最高值; 而后由于月经、内分泌等因素影响而逐渐下降; 到 21~35 岁时维持最低水平, 以后又逐渐升高与男性水平相近。

(2) 精神因素, 当感情冲动、兴奋、恐惧、冷水浴刺激时, 均可使肾上腺素增多, 导致红细胞和血红蛋白暂时增多。

(3) 剧烈体力劳动时, 因氧需要量相对增加, 机体处于相对缺氧的状态, 使红细胞生成素生成增加而骨髓加速释放红细胞, 导致红细胞增加。

(4) 当气压低时, 因缺氧刺激, 红细胞可代偿性增生。因此高山地区居民和登山运动员的红细胞和血红蛋白均高于正常。

(5) 长期多次献血者红细胞亦可代偿性增多。

(6) 妊娠中后期, 孕妇血浆量明显增多, 血液被稀释; 6个月至2岁婴幼儿生长发育迅速, 造血原料相对不足; 某些老年人造血功能减退等, 均可导致红细胞和血红蛋白浓度下降, 统称生理性贫血。

2. 病理变化

(1) 增多: 即红细胞增多症。常见者有3类。

1) 相对性增多。连续呕吐、反复腹泻、出汗过多、大面积烧伤等, 由于大量失水, 使血浆减少, 血液浓缩, 血中各种成分包括红细胞相对增多。如按全身总量计算, 红细胞并没增加。这是一种暂时的表面现象, 只要适当补充水分, 就能恢复正常。

2) 继发性增多。慢性肺心病、某些肿瘤患者, 由于长期缺氧, 可引起红细胞代偿性增生, 红细胞显著高于正常。

3) 真性红细胞增多症。系原因不明的造血系统增殖性疾病。

(2) 减少: 见于造血原料不足、造血功能障碍、红细胞丢失或破坏过多所致各种贫血。

【注意事项】

(1) 采血时针刺深度必须适当, 以免过度挤压使组织液混入血液中, 导致结果偏低。

(2) 大小方格内压线细胞应按数上不数下, 数左不数右的原则进行计数。

(3) 正常计数范围内, 两次红细胞计数应相差不能超过5%。

(4) 不允许以血红蛋白浓度折算红细胞数。

(三) 血红蛋白检验

血红蛋白测定, 即测定血液中各种血红蛋白的综合浓度, 用g/L表示。测定方法很多, 目前常用的方法是氰化高铁血红蛋白测定法和十二烷基硫酸钠血红蛋白测定法。以氰化高铁血红蛋白(HiCN)测定法(国际Hb测定标准法)为例。

【原理】

血红蛋白被高铁氰化钾氧化成高铁血红蛋白, 再跟氰离子结合形成稳定的氰化高铁血红蛋白(HiCN)。后者在540nm波长处有吸收峰, 可用校准的分光光度计直接测定或用HiCN参考液比色测定。

【试剂】

国际血液学标准化委员会先后推荐了3种血红蛋白转化液。

(1) Drabkin(都氏)液: 高铁氰化钾200mg, 氰化钾50mg, 碳酸氢钠1g, 加蒸馏水至1000ml。此液pH偏高(8.6), 血红蛋白转化完全需要40分钟, 且仍可产生混浊, 故已较少采用。

(2) VanKampen-Zijlstra(文齐)液: 高铁氰化钾200mg, 氰化钾50mg, 无水磷酸二氢钾140mg, 加非离子表面活性剂0.5~1ml, 加蒸馏水至1000ml。文齐液pH7.2±0.2, 血红蛋白转化较快, 5分钟内即可完成。加入非离子表面活性剂后, 能较好地防止混浊。全国临床检验方法学学术会议推荐采用本转化液。

(3) 松原改良液：高铁氰化钾 200mg，氰化钾 50mg，无水磷酸二氢钾 120mg，氯化钠 5g，加非离子表面活性剂 0.5~1ml，加蒸馏水至 1000ml。松原液加入氯化钠增强表面活性剂的作用，既可加速溶血，又可更有效的防止混浊。

【操作】

(1) 取全血 20 μ l，加入 5ml 血红蛋白转化液中，混匀后静置 5 分钟。

(2) 分光光度计，波长 540nm，比色杯光径 1.0cm，以空白转化液或蒸馏水调零，测定样品吸光度值。

【计算】

血红蛋白 (g/L) = 测定管吸光度值 \times 64 458 \times 251 / 44 000 = 测定管吸光度值 \times 367.7

式中 64458 为血红蛋白相对分子质量；44 000 为血红蛋白摩尔吸光系数；251 为稀释倍数。

【参考值】

男：120~160g/L；女：110~150g/L；新生儿：170~200g/L。

【注意事项】

(1) 血红蛋白测定方法很多，但氰化高铁血红蛋白测定法在国际血液学标准化委员会推荐的参考方法，其他方法都应以氰化高铁血红蛋白法为基准绘制标准曲线。

(2) 氰化高铁血红蛋白试剂不宜储存在塑料瓶或广口瓶中，且应在 4℃ 冰箱保存，否则 CN⁻ 会丢失而使结果偏低。

(3) 氰化高铁血红蛋白试剂在遇到高白细胞或高球蛋白标本时，会出现混浊现象，应进行离心后再比色，以免浊度干扰。

(4) 氰化钾是剧毒品，试剂配制时要严格按照剧毒品管理程序操作。为防止污染环境，比色后废液应集中于广口瓶内，按每升废液加次氯酸钠溶液 40ml 比例混匀敞开过夜，使 CN⁻ 氧化成 CO₂ 和 N₂，或 CO₃²⁻ 和 NH₄⁺；或加硫酸亚铁 2.0g，氢氧化钠 2.0g 处理 3 小时后，方可排入下水道。

【临床意义】

(1) 生理性增多新生儿和高原地区居住者。

(2) 生理性减少出生后 3 个月至 15 岁以前的儿童，妊娠中、后期的孕妇，老年人。

(3) 病理性增多真性红细胞增多症、肺源性心脏病、脱水等。

(4) 病理性减少各种贫血，白血病，大量失血后等。

(四) 红细胞比积测定

红细胞比积 (PCV 或 HCT) 是指红细胞在血液中所占容积的比值。通常将不改变红细胞体积的抗凝血 (EDTA-K₂ 抗凝) 置于温氏管或毛细管中，经一定离心力离心后，计算被压紧的红细胞层占的比值。

1. 温氏法

【操作】

(1) 静脉采血 2ml，立即注入盛有干燥 EDTA-K₂ 3.5mg 或肝素钠 0.2mg 的抗凝管中，混匀。

(2) 用毛细滴管将抗凝血加入 Wintrobe 管底部，徐徐加至刻度“10”处，勿产生气泡。

(3) 水平离心机以 $2264\times g$ 速度离心 30 分钟, 读取压实红细胞层柱高的毫米数, 再离心 10 分钟, 至红细胞不再下降为止, 除以 100, 为每升血液中红细胞的升数, 即红细胞比积, 以 L/L 为单位报告结果。

2. 微量法 (毛细管高速离心法)

【操作】

- (1) 取口径 1.5mm, 长 75mm 的毛细玻管。用 25g/L 肝素溶液湿润后烤干。
- (2) 取血至 2/3 管处, 将未接触血液的一端用软蜡或玻璃粘土封口。
- (3) 以 $5500\times g$ 离心 10 分钟, 用专用读数板读出红细胞比积。

【参考值】

男: $0.42\sim 0.49\text{L/L}$ (42%~49%); 女: $0.37\sim 0.43\text{L/L}$ (37%~43%)。

【注意事项】

- (1) 所用器材必须清洁干燥, 以防溶血。
- (2) 不能使用能改变红细胞体积的抗凝剂。
- (3) 离心力大小直接影响结果。
- (4) 国际血液学标准化委员会建议用 PCV 表示红细胞比积, HCT 则常用于表示红细胞分析仪上测定的结果。
- (5) 温氏法无法完全排除压积红细胞之间的残留血浆, 残留量一般认为约 3%, 因此测定值比真实值略高。目前温氏法已属淘汰之列, 渐为微量高速法所代替。

【临床意义】

- (1) 增高: 大面积烧伤、脱水, 各种原因所致的低氧血症。测定红细胞比积后, 可作为补液计算的依据。
- (2) 减低: 各种原因引起的贫血等。临床上常以计算红细胞平均容积和红细胞平均血红蛋白浓度, 对贫血进行鉴别和分类。

(五) 红细胞平均参数测定

根据红细胞数, 血红蛋白含量和红细胞比积, 计算出平均红细胞容积 (MCV), 平均红细胞血红蛋白量 (MCH) 和平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)。以便分析患者的红细胞形态特征, 用于贫血的分类与鉴别。

1. 平均红细胞容积 (MCV) 是指每个红细胞的平均体积, 以飞升 (fl) 为单位。

【计算方法】

$$\text{MCV} = [\text{每升血液中红细胞比积 (L)} \times 10^{15}] / [\text{每升血液中红细胞数 (个)}] = \times \times \times (\text{fl})$$
 例: 红细胞 $3.50 \times 10^{12}/\text{L}$, 红细胞比积 0.36, 则 $\text{MCV} = (0.36 \times 10^{15}) / (3.50 \times 10^{12}) = 10^3 (\text{fl})$

【参考范围】

手工法: $80\sim 92\text{fl}$ ($1\text{ml} = 10^{12}\text{fl}$)。

血液分析法: $80\sim 100\text{fl}$

2. 平均红细胞血红蛋白量 (MCH) 是指每个红细胞内所含血红蛋白的平均量, 以皮克 (pg) 为单位。

【计算方法】

$$\text{MCH} = [\text{每升血液中血红蛋白含量 (g)} \times 10^{12}] / (\text{每升血液中红细胞个数}) = \times \times \times (\text{pg})$$

例：红细胞 $3.5 \times 10^{12}/L$ ，血红蛋白 $120g/L$ ($12g/dl$)，则 $MCH = (120 \times 10^{12}) / (3.5 \times 10^{12}) = 34.2$ (pg)

【参考范围】

手工法：27~31pg ($1g=10^{12}pg$)。

血液分析仪法：27~34pg。

3.平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC) 是指平均每升红细胞中所含血红蛋白浓度。

$MCHC = \text{每升血液中血红蛋白量 (g)} / \text{每升血液中红细胞比积 (L)} = \times \times \times$ (g/L)

例：血红蛋白 $120g/L$ ，红细胞比积 0.36，则 $MCHC = 120/0.36 = 333$ (g/L)

【参考范围】

320~360g/L。

红细胞参数的计算有助于贫血的分类与鉴别，详见第一章第四节“贫血的检验”。

(六) 网织红细胞检验

1. 手工法

【原理】

网织红细胞是尚未完全成熟的红细胞，其胞质内尚存在有嗜碱性的 RNA 物质，经煌焦油蓝或新亚甲蓝活体染色后呈浅蓝或深蓝色的网状结构。

【试剂】

(1) 10g/L 煌焦油蓝乙醇溶液：取煌焦油蓝 1g，溶于 95%乙醇 100ml 中，过滤后贮存于棕色瓶中备用。

(2) 煌焦油蓝盐水溶液：取煌焦油蓝 4g，溶于 109mmol/L 枸橼酸钠 20ml 中，加 8.5g/L 氯化钠溶液至 100ml，混匀，过滤后贮存于棕色瓶中备用。

(3) 新亚甲蓝溶液：新亚甲蓝 0.5g，草酸钾 1.4g，氯化钠 0.8g，蒸馏水 100ml，过滤备用。

【操作】

(1) 在一小试管中加入 2 滴煌焦油蓝水溶液或新亚甲蓝溶液。

(2) 加入新鲜血液 2 滴于上述试管中混匀，室温放置 15~30 分钟。

(3) 摇匀后取 1 滴制成薄血片，干燥后在油镜下计数 1000 个红细胞中的网织红细胞数，以百分率或绝对值报告。

【注意事项】

(1) 用乙醇染液时，须等乙醇挥发干后再与血液混合，否则易使血液凝固。

(2) 煌焦油蓝水溶液或新亚甲蓝溶液需定期过滤，以免颗粒杂质干扰。

(3) 网织红细胞是活体染色，血标本要新鲜。染色时间要充分，室温低时要适当延长染色时间。

(4) 经验不足者，可用瑞特染液复染后计数，但可能使计数结果偏低。

(5) 因体积较大，网织红细胞在血膜尾部和两侧较多，镜检范围应在血片的体尾交界处细胞均匀分布的区域。为方便观察，可用米勒窥镜或自制小孔纸片放于目镜中缩小视野，以便计数。

(6) 检验结果低于 0.003 (0.3%) 的标本应计数 2000 个红细胞，更低者，可报告“计数 2000 个红细胞，未见网织红细胞”。

2. 仪器法

【原理】

采用荧光染色和激光测量的原理。

【优点】

仪器法的优点是测量细胞总数多，避免主观因素，方法易于标准化。不仅能计数网织红细胞数目，而且还能将其分为高荧光强度（幼稚型）、中荧光强度（成熟型）、低荧光强度（老者型）3类，这种分类法对估计化疗后骨髓造血功能的恢复及骨髓移植效果有较重要的意义。

【参考值】

成人：0.005~0.015（0.5%~1.5%）；新生儿：0.03~0.06（3%~6%）。

【临床意义】

（1）网织红细胞增多：表示骨髓红细胞系增生旺盛，多数贫血（再生障碍性贫血除外）网织红细胞计数均可增高，如溶血性贫血时由于大量网织红细胞浸入血液循环，可使网织红细胞高达0.20或更高；恶性贫血或缺铁性贫血在药物治疗有效时网织红细胞计数亦可短期内增高。

（2）网织红细胞减少：表示骨髓红细胞系增生低下，再生障碍性贫血时，网织红细胞数常低于0.005，网织红细胞低于 $5 \times 10^9/L$ 为诊断再生障碍性贫血的标准之一。

（3）网织红细胞可作为疗效观察指标。贫血患者在抗贫血治疗过程中，治疗有效，其网织红细胞在1周左右可达高峰。而且网织红细胞升高往往在红细胞恢复之前；如果网织红细胞不见升高，说明这种治疗无效或骨髓造血功能有障碍。

（七）红细胞的异常形态检验（手工显微镜检查法）

【原理】

将细胞分布均匀的血涂片，进行瑞氏染色或姬氏染色或瑞—姬氏染色，由于不同的细胞及其不同成分对酸性及碱性染料的结合的多少不同，从而使各种细胞呈现出各自的染色特点。一般由人工在显微镜下进行识别。

【试剂】

（1）快速瑞—姬氏复合染色液

Wright 染粉 1g

Giemsa 染粉 1g

甲醇 440ml

甘油 60ml

将 Wright 染粉和 Giemsa 染粉各 1g 置于棕色玻璃瓶中，加甲醇 440ml，加甘油 60ml，每天早、晚各振摇 3 分钟，共 5 天，以后存放一周即能使用。

（2）PBS（pH6.4~6.8）

无水 KH_2PO_4 6.64g

无水 Na_2HPO_4 2.56g

蒸馏水加至 1000ml

配好后用磷酸盐溶液校正 pH。如无缓冲液可用新鲜蒸馏水代替。

【操作】

(1) 按规制备血涂片：详见第一章细胞涂片染色。

(2) 染色

- 1) 用蜡笔在血膜两头画线，以防染液溢出，然后将血膜平放在染色架上。
- 2) 滴加染液 2~4 滴，使其迅速盖满血膜为 10~30 秒。
- 3) 滴加缓冲液 3~6 滴，轻轻摇动玻片或对准血片吹气，与染液充分混合 30~90 秒。
- 4) 用流水冲去染液，待干备用。

(3) 镜检：选择涂片的体尾交界处染色良好的区域，在高倍镜和（或）油镜下观察 RBC 形态。

【计算】

可以异常 RBC 占 RBC 总数百分比进行计算。也可以极个别、个别、少数、部分、大部分等文字描述报告。

【注意事项】

(1) 严格按照“末梢血采血法”或“静脉血采血法”规程进行顺利的穿刺采血。采静脉抗凝血时注意抗凝剂与血液的比例，如遇有冷凝集现象，应将标本置 37℃ 恒温箱内数分钟，取出摇匀后立即制片。

(2) 重视血涂片的制作与染色。快起推片，厚薄适宜，染色良好。取血约 5 μ l，统一以 35 度角推成 2.2cm \times 4.0cm 左右厚薄适宜、分布均匀、边沿整齐、两侧留有空隙、无溶片、无空洞、头体尾鲜明的血片，自然干燥后染色，这一步不能轻视，一定要掌握好起推及染色时间，否则重染或者褪色，麻烦不少，还保证不了质量。

(3) 注意完整的检查顺序，熟悉和掌握血细胞形态学变化是保证镜检质量的关键。

1) 重视低倍镜 (LP)：快速体尾及边缘扫描，估计细胞的分布和染色情况，在体、尾交界处选择最佳的细胞观测分类图像。在整张血涂片上 RBC 通常不是均匀分布的，一般理想的 RBC 形态应在 RBC 紧密排列但不重叠区域。要从血涂片对异常 RBC 定量比较困难。RBC 分布太少或太多都会受人为影响。有时在血涂片可见 RBC 堆积在一起，往往是由于正常血液标本中 RBC 过于密集造成的，但如果在血涂片较薄的区域出现此现象，则可能是 RBC 外附有过量球蛋白，使 RBC 间正常的电荷排斥减少而引起凝集。同时浏览寻找发现异常的幼稚 RBC。

2) 积极发挥高倍镜 (HP) 和油镜的作用：注意鉴别描述 RBC 异常形态，正确掌握相关参数间的关系。RBC 正常形态时 RBC:HGB 为 (3.45 \times 10¹²/L) : (100g/L)，若 RBC 为小细胞低色素或大细胞高色素时，就不能按上述比例换算，应根据观察到的细胞大小程度和着色深浅酌情处理；同时注意鉴别描述其异常形态，思维尽可能广，视野尽可能宽，积极捕捉临床医师没有想到的疾病信息。

3) 留意并主动及时报告某些寄生虫如疟原虫配子体等，效果可想而知。

(4) 积极参加省临床检验中心和卫生部临床检验中心组织的室间质量评价。

【结果与临床意义】

在良好的染色血涂片上，正常红细胞的大小、形态较为一致，红细胞直径为 6.2~8.2 μ m，平均 7.2 μ m 左右，红细胞染成淡红色略带紫色，中央染色较边缘为淡。各种贫血患者的红细胞在体积、形态、结构、着色等方面有不同程度的改变。通过对外周血红