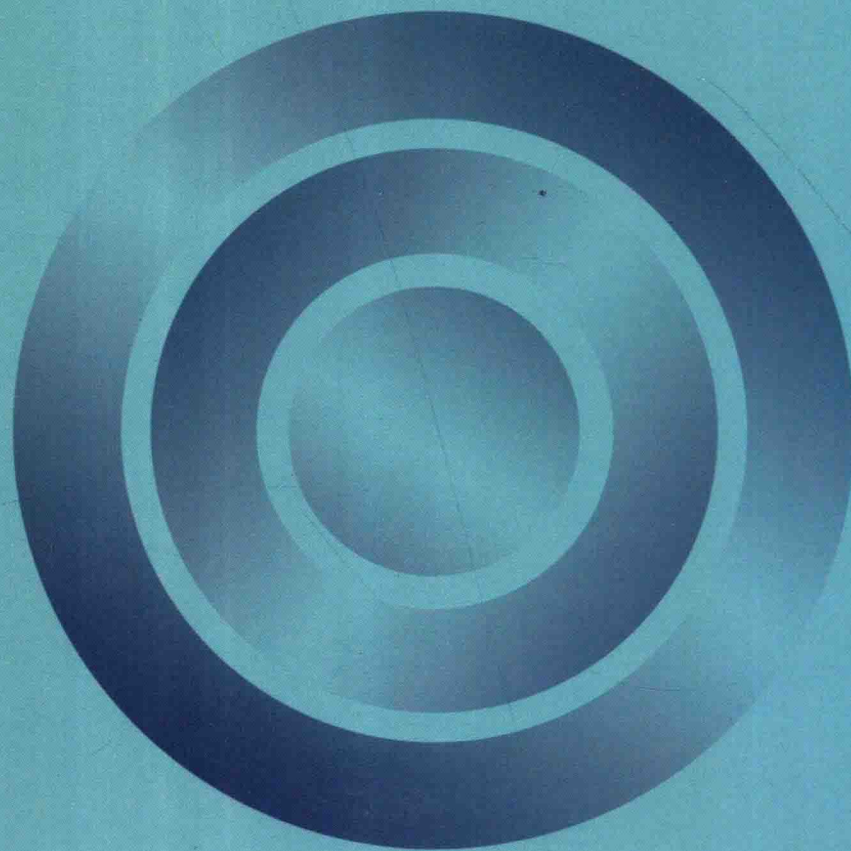


实用临床检验 诊断学

刘爱民等◎编著



 吉林科学技术出版社

实用临床检验诊断学

刘爱民等◎编著

图书在版编目 (C I P) 数据

实用临床检验诊断学/刘爱民等编著. —长春:

吉林科学技术出版社, 2017. 5

ISBN 978-7-5578-2454-9

I. ①实… II. ①刘… 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 (2017) 第117209号

实用临床检验诊断学

SHIYONG LINCHUANG JIANYAN ZHENDUAN XUE

编 著 刘爱民等

出 版 人 李 梁

责任编辑 刘建民 韩志刚

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 889mm×1194mm 1/16

字 数 992千字

印 张 31

印 数 1—1000册

版 次 2017年5月第1版

印 次 2018年3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 永清县晔盛亚胶印有限公司

书 号 ISBN 978-7-5578-2454-9

定 价 98.00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: 0431-85677817

主 编

刘爱民 侯茗贺 赵 华 孙启玉

庞 艳 丁 萌

副主编

张水山 刘丙辉 杜宏山 胡海洋

郭倩丽 迟延芳 高 伟

编 委 (按姓氏笔画排序)

丁 萌 (承德医学院附属医院)

王玉洁 (山东省威海卫人民医院)

刘丙辉 (河北省唐山市滦南县医院)

刘爱民 (河北省邯郸市中心医院)

孙启玉 (承德医学院附属医院)

杜宏山 (湖北省兴山县疾病预防控制中心 兴山县妇幼保健院)

迟延芳 (山东省聊城市皮肤病防治院)

张水山 (新乡医学院第二附属医院)

陈京杰 (山东省临邑县中医院)

庞 艳 (湖北省武汉市第五医院)

赵 华 (甘肃省中医院白银分院)

胡海洋 (湖北省钟祥市人民医院)

侯茗贺 (山东省菏泽市单县妇幼保健院)

姜 珊 (山东省青岛市胸科医院)

高 伟 (山东中医药大学附属医院)

郭倩丽 (河北省邯郸市传染病医院)

曹佳伟 (山东省青岛市胸科医院)



◎ 刘爱民

男，1972年出生，1990年于邯郸市中心医院检验科参加工作，最高学历河北医科大学硕士研究生学历，副主任检验师。参加工作以来，荣获省级科研成果三等奖一项，市级科研成果一等奖三项，二等奖两项，三等奖三项，发表论文多篇，擅长免疫学的检验和临床应用。



◎ 侯茗贺

男，副主任技师，山东省单县妇幼保健院检验科主任；从事临床检验工作二十多年，有着深厚的专业知识和丰富的临床工作经验，尤其擅长与妇幼工作有关的检验技术；现任山东省妇幼保健协会医学检验分会常务委员，山东省肿瘤协会实验诊断分会委员；在省级以上专业学术期刊发表论文十余篇，参编著作两部。



◎ 赵 华

女，汉族。1993年7月毕业于石家庄医学高等专科学校临床检验专业，大专学历，同年7月参加工作，2001年晋升中级职称。现就职于甘肃省中医院白银分院检验科，从事生化检验和临床检验工作，工作中积累了丰富的经验，带教多名检验师，受到科室及患者的一致好评，多次获得先进工作者称号。

P 前言

Preface

医学检验是理论性与实践性都很强的学科。21 世纪检验医学已经进入了新理论、新技术、新仪器的时代。随着检验医学的发展,各学科之间也开始相互促进、相互补充、相互印证。检验医学业已成为临床医生在疾病的诊断、治疗和预后观察中不可或缺的手段。从事医学检验工作的人员迫切希望有一本全面介绍医学检验诊断的综合性图书,以适应临床工作的需要。为此,我们参阅了大量的相关文献资料,结合自身的临床实际检验工作经验,特编撰了《实用临床检验诊断学》一书。

本书内容为临床最常用、最基本的检验项目与检验技术及其临床应用,并注意融入了检验新知识、新进展和新观点。内容包括红细胞检验、白细胞检验、血小板检验、骨髓细胞检验、血液流变学检验、尿液检验、粪便检验、生物化学检验、免疫学检验、临床细菌学检验、临床真菌学检验、临床病毒学检验、螺旋体和立克次体检验、衣原体和支原体检验等。全书文字简练,条理清楚,内容全面,着重体现理论与实践相结合,为现代临床实验诊断提供更科学、更准确的客观依据。可供实习医师、检验技师及社区医务工作者参考参阅。

由于我们的学识水平有限,又加之编写时间仓促,书中失误与不足之处在所难免,恳请广大读者批评指正。

《实用临床检验诊断学》编委会

2017 年 4 月

第一章 红细胞检验	(1)
第一节 红细胞计数	(1)
第二节 血红蛋白测定	(4)
第三节 红细胞比积测定	(7)
第四节 红细胞参数平均值的计算	(9)
第五节 红细胞形态异常	(10)
第六节 网织红细胞计数	(12)
第七节 红细胞沉降率测定	(14)
第八节 一氧化碳血红蛋白定性试验	(17)
第二章 白细胞检验	(18)
第一节 白细胞计数	(18)
第二节 白细胞分类计数	(19)
第三节 嗜酸性粒细胞直接计数	(26)
第四节 白细胞形态学检查	(30)
第三章 血小板检验	(36)
第一节 血管壁和血管内皮细胞的检验	(36)
第二节 血小板功能的检测	(39)
第三节 凝血系统的检验	(45)
第四节 抗凝与纤溶系统的检验	(52)
第四章 骨髓细胞检验	(58)
第一节 骨髓细胞检查步骤	(58)
第二节 骨髓穿刺涂片检查	(60)
第三节 各阶段血细胞形态学特征	(62)
第四节 骨髓活体组织检查	(65)
第五节 常见血液病的血象与骨髓象	(66)
第五章 血液流变学检验	(76)
第六章 尿液检验	(82)
第一节 尿液的生成及主要成分	(82)
第二节 尿液一般检查的适应证	(82)
第三节 尿液标本采集及保存	(83)

第四节	尿液的理学检验	(84)
第五节	尿液的化学检查	(87)
第六节	尿液沉渣检查	(98)
第七节	尿液沉渣组化定位的进展	(106)
第七章	粪便检验	(108)
第八章	蛋白质和氨基酸的检验	(120)
第一节	氨基酸的测定	(120)
第二节	血浆蛋白质	(122)
第三节	氨基酸和蛋白质检测的临床应用	(134)
第九章	酶和同工酶的检验	(140)
第一节	血清酶学基础	(140)
第二节	肌肉组织酶及同工酶	(147)
第三节	肝脏酶及同工酶	(151)
第四节	胰腺酶及同工酶	(160)
第十章	脂类和脂蛋白的检验	(164)
第十一章	糖代谢紊乱与检验	(182)
第一节	高血糖症与糖尿病	(182)
第二节	糖尿病的检验指标与临床应用	(187)
第三节	其他糖代谢异常	(191)
第四节	葡萄糖测定	(193)
第五节	糖尿病其他主要指标测定	(194)
第十二章	肝胆疾病检验	(197)
第十三章	肾脏疾病检验	(214)
第十四章	心脏疾病检验	(225)
第十五章	内分泌疾病检验	(243)
第十六章	胃肠胰疾病检验	(255)
第十七章	体液和酸碱平衡的检验	(264)
第一节	体液平衡	(264)
第二节	水、电解质平衡紊乱	(266)
第三节	体液电解质的测定	(268)
第四节	血液气体分析	(270)
第五节	酸碱平衡及紊乱	(277)
第十八章	自身免疫性疾病与检验	(282)
第一节	概 述	(282)
第二节	自身免疫病发生的相关因素	(284)
第三节	自身免疫病的免疫损伤机制	(286)
第四节	常见的自身免疫病	(287)

第五节 自身免疫抗体检验·····	(288)
第十九章 免疫缺陷病与检验·····	(295)
第一节 概 述·····	(295)
第二节 原发性免疫缺陷病·····	(296)
第三节 继发性免疫缺陷病·····	(299)
第四节 免疫缺陷病的免疫学检测·····	(300)
第二十章 免疫增殖病与检验·····	(304)
第一节 概 述·····	(304)
第二节 免疫增生病的免疫损伤机制·····	(305)
第三节 常见的单克隆丙种球蛋白病·····	(306)
第四节 单克隆免疫球蛋白病的免疫学检验·····	(311)
第二十一章 超敏反应性疾病及其检验·····	(314)
第一节 I 型超敏反应性疾病与免疫学检验·····	(314)
第二节 II 型超敏反应性疾病与免疫学检验·····	(321)
第三节 III 型超敏反应性疾病与免疫学检验·····	(323)
第四节 IV 型超敏反应性疾病与免疫学检验·····	(326)
第二十二章 感染性疾病与免疫学检验·····	(329)
第一节 感染的类型与免疫特点·····	(329)
第二节 免疫学检测的应用·····	(331)
第三节 常见感染性疾病的免疫学检验·····	(332)
第二十三章 肿瘤免疫与免疫学检验·····	(342)
第一节 肿瘤抗原·····	(342)
第二节 机体抗肿瘤的免疫效应机制·····	(344)
第三节 肿瘤的免疫逃逸机制·····	(346)
第四节 肿瘤的免疫学检验·····	(348)
第二十四章 临床细菌学检验·····	(365)
第一节 化脓性球菌·····	(365)
第二节 弯曲菌属和螺旋菌属·····	(373)
第三节 非发酵革兰氏阴性杆菌·····	(377)
第四节 需氧革兰氏阳性菌属·····	(388)
第五节 肠杆菌科·····	(396)
第六节 弧菌属和气单胞菌属·····	(413)
第二十五章 临床病毒学检验·····	(420)
第一节 疱疹病毒科·····	(420)
第二节 乙型肝炎病毒·····	(425)
第三节 痘病毒·····	(428)
第四节 腺病毒·····	(429)

第五节	人乳头瘤病毒	(430)
第六节	细小病毒	(432)
第七节	流行性感冒病毒	(434)
第八节	副黏病毒科	(437)
第九节	黄病毒科	(440)
第十节	SARS 冠状病毒	(444)
第十一节	逆转录病毒	(445)
第十二节	出血热病毒	(449)
第十三节	狂犬病病毒	(451)
第十四节	轮状病毒	(453)
第十五节	风疹病毒	(454)
第十六节	丁型肝炎病毒	(455)
第十七节	肠道病毒	(457)
第十八节	甲型肝炎病毒	(460)
第二十六章	螺旋体和支原体检验	(463)
第一节	螺旋体	(463)
第二节	支原体	(468)
第二十七章	衣原体和立克次体检验	(472)
第一节	衣原体	(472)
第二节	立克次体	(474)
第二十八章	临床真菌学检验	(476)
第一节	浅部感染真菌	(476)
第二节	深部感染真菌	(480)
参考文献		(489)

第一章 红细胞检验

第一节 红细胞计数

一、红细胞概述

正常红细胞为两面双凹的圆盘形,无核,平均直径为 $7.2\ \mu\text{m}$,厚 $2\ \mu\text{m}$,边缘较厚,呈橘黄色,中央较薄呈草绿黄色,侧面观察呈哑铃形。在高渗溶液中,红细胞皱缩成锯齿形,在低渗溶液中,红细胞膨胀,甚至破裂,血红蛋白逸出成影红细胞。

红细胞的主要生理功能是从肺部携带氧气输送至全身各组织,并将组织中的二氧化碳运送到肺而呼出体外。这一功能主要是通过红细胞内的血红蛋白来完成的。血红蛋白分子量约为 64 458,每个红细胞内约含 2.8 亿个血红蛋白分子,约占红细胞重量的 32%~36%,或占红细胞干重的 96%。每克血红蛋白可携带氧 1.34 mL。

红细胞的平均生存时间为 120 d,因此成人体内每天约有 1/120 的红细胞因衰老死亡,同时又有相应数量的红细胞生成进入血液循环,以维持动态平衡。衰老红细胞破坏后释放出的血红蛋白在单核-巨噬细胞系统内降解为铁、珠蛋白和胆色素。释出的铁进入全身铁代谢池供机体重新利用;珠蛋白肽链被分解为氨基酸参与氨基酸代谢;胆色素则经肝代谢通过粪便和尿液排出体外。多种原因可造成红细胞生成和破坏的平衡遭到破坏,使红细胞数量减少或增多,从而引起贫血或红细胞增多症。或者使红细胞在质量方面发生改变。通过对红细胞和血红蛋白数量的检查,以及对红细胞形态学或生化改变的检查,对诊断和鉴别某些疾病具有重要的意义。

二、红细胞目视计数法

红细胞计数有显微镜计数法、光电比浊法、血细胞计数仪计数法等多种方法,现介绍目视计数法。

(一)原理

用等渗稀释液将血液稀释一定倍数,充入计数池中,然后在显微镜下计数一定体积内的红细胞数,再换算成每升血液内的红细胞数。

(二)器材

1. 显微镜
2. 微量吸管

有 $10\ \mu\text{L}$ 和 $20\ \mu\text{L}$ 两个刻度,市场有售。

3. 计数板

由一厚玻璃板制成,中央分为上下两个相同的计数池,每个计数池的面积是 $9\ \text{mm}^2$,盖上盖玻片后,因有空间,形成刻度域内的标准体积。计数室网格有许多种,现国内通用改良牛鲍(neubauer)型,其计数池的结构如下:每个计数池分 9 个大方格,每个大方格的边长为 $1\ \text{mm}$,面积为 $1\ \text{mm}^2$,四个角的四个大方格用单线分为 16 个中方格,供计数白细胞用。中央的一个大方格,用双线划分为 25 个中方格,每个中方格

又用单线划成 16 个小方格,共 400 个小方格,供计数红细胞和血小板用,加盖玻片后,盖片与计数池底距离为 0.1 mm,充液后每个大格容积为 0.1 mm^3 。

计数池和盖玻片在使用前应用清洁、干燥、柔软的纱布或丝绸制品(以后者为好)拭净,特别注意不要用手接触使用面玻璃,以防污染油腻,否则充液时易起气泡。

(三)试剂

1. 赫姆(Hayem)液

氯化钠:1.0 g。

结晶硫酸钠($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$):5.0 g。

(或无水硫酸钠 2.5 g)。

氯化高汞(HgCl_2):0.5 g。

蒸馏水:加至 200 mL。

其中氯化钠的作用是调节渗透压,硫酸钠可防止细胞粘连,氯化高汞为防腐剂。溶解后加 20 g/L 伊红水溶液 1 滴,过滤后备用。

2. 0.85%生理盐水

(四)方法

(1)取小试管 1 支,加红细胞稀释液 1.99 mL。

(2)用微量吸管准确吸取末梢血 10 μL 。

(3)擦去吸管外余血,轻轻吹入稀释液底部,再轻吸上层稀释液刷洗 2~3 次,立即混匀。

(4)将计数池和盖玻片用软布擦净,将盖玻片覆盖于计数池上。

(5)用吸管取已混匀的红细胞悬液,充入计数池中。

(6)置 2~3 min,待红细胞下沉后,先用低倍镜观察计数池内红细胞分布是否均匀(如不均匀,应重新冲池),然后再用高倍镜依次计数中央大方格中的 5 个中方格(四角和中央)内的红细胞总数。

(五)计算

5 个中方格内红细胞总数 $\times 5 \times 10 \times 200 \times 10^6 = 5$ 个中方格内红细胞数 $\times 10^6$ — 红细胞数/L 式中: $\times 5$ 表示将 5 个中方格内红细胞数折算成 25 个中方格,即一个大方格中红细胞数, $\times 10$ 表示将一个大方格容积 0.1 μL ,折算为 1 $\mu\text{L} \times 200$ 表示红细胞计数时的稀释倍数, $\times 10^6$ 表示由 μL 换算成 L。

(六)正常参考值

成人男性: $(4 \sim 5.5) \times 10^{12}/\text{L}$, 平均 $4.83 \times 10^{12}/\text{L}$ 。

成人女性: $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/\text{L}$, 平均 $4.33 \times 10^{12}/\text{L}$ 。

新生儿: $(6.0 \sim 7.0) \times 10^{12}/\text{L}$ 。

三、红细胞计数的质量控制

造成红细胞计数不准确的原因主要有两类,一类是技术误差,另一类是固有误差。

(一)技术误差

(1)采血部位应无冻疮、水肿、发绀、炎症等,否则可影响结果,使标本失去代表性。

(2)稀释倍数要准确。造成稀释倍数不准确的常见原因有:①稀释液或者血液吸取不准确。②吸血时吸管内有气泡。③未擦去吸管外血。④血液加入稀释液时冲混悬液,血被吸管带出。⑤稀释液放置时间过长,蒸发浓缩。

(3)操作时动作要快,太慢或者吸管内残余乙醇,都可使血液凝固。冷凝集的血样很易发生冷凝集,应将血细胞悬液温至 $45^\circ\text{C} \sim 50^\circ\text{C}$,趁热离心沉淀,除去大部分上清液后再用 30°C 的温盐水恢复至 2 mL,混匀后抓紧时间计数。

(4)混合悬液时用力均匀,过猛会产生大量气泡,使气泡与溶液中细胞分布不均,造成计数不准。

(5)充液时应一次充满计数池,如充液不足、外溢、断续充液、产生气泡等会影响计数结果。

(6)计数池内细胞分布不均,当各个大方格内细胞数有明显差异时,应重新充液。

(7)误认,如将污染的酵母菌等误认为红细胞。

(8)应使用经校正的微量吸管和计数盘计数(校正方法见后)。

(9)当白细胞计数很高时($>100 \times 10^9/L$),应从红细胞计数中减去白细胞数报告。

(二)固有误差

任何一个技术熟练者,用同一标本同一仪器连续多次充液、计数后其结果也会有一定差异,这种由于每次细胞分布不可能完全相同所造成的误差叫固有误差或计数域误差。根据统计学研究,计数任何区域的细胞数(m),有95%的机会落在 $m \pm 2s$ 的范围内, $s = \sqrt{m}$ 。如以变异百分率 CV 表示,则 $CV = \frac{s}{m} \times 100 = \frac{\sqrt{m}}{m} \times 100$ 表示计数区域内细胞计数的均值。研究证明,血细胞在计数室内的分布符合泊松分布,红细胞计数的分布域误差 $s = 0.92 \sqrt{m}$,将其代入上式得 $CV = \frac{0.92}{\sqrt{m}} \times 100\%$ 。

由此可知,红细胞计数的变异系数与计数呈负相关,即计数的均值越小越不精密,为了提高计数的可靠性,严重贫血的患者可扩大计数区域或缩小稀释倍数,否则,计数值的可靠性差。

(三)红细胞计数的质量要求

1. 两差比值评价法

在细胞计数的评价中,多应用两差比值(r)评价法。

两差比值(r)评价法主要有两个方面的应用。

(1)评价工作人员细胞计数的质量得分,让被考核者对同一标本,用同一计数板进行前后两次细胞计数,用上述公式求出 r 值,求出该工作人员的质量得分(20.1为失分系数, $40/1.99=20.1$)。

(2)对同一患者在治疗前后进行细胞计数来判断疗效。 $r > 2$ 表示疗效显著。

2. 变异系数评价法

$RCV \leq 8\%$ (4%~8%)。

四、血红蛋白吸管的质量鉴定(水银称重法)

血红蛋白吸管和血细胞计数板是细胞计数中影响检验结果的主要因素,因此在细胞计数前必须对血红蛋白吸管和计数板进行质量鉴定,鉴定合格后方可使用。

血红蛋白吸管的质量鉴定方法如下:将干燥洁净的20 μL 吸管用胶塞与1 mL注射器乳头部紧密接通。把注射器活栓抽出约1 cm,再将吸管尖插入水银中,准确吸取水银至20 μL 刻度处,注入已知重量的称量瓶内。在分析天平上准确称出水银重量,同时用校准的0℃~50℃的水银温度计测定水银温度。然后用下列公式求出血红蛋白吸管的容积。每支吸管重复测定3次,然后用下列公式求出血红蛋白吸管的容积和误差。

注意事项:①所用的水银应为新开封的AR级试剂,吸取水银时不可用手直接触摸水银瓶,称量结果应保留小数点后4位数字。②因水银能溶解多种金属,操作过程中严防其他金属污染。③水银是剧毒品,并有挥发性,务必谨慎操作,及时加盖,防止水银污染台面及衣物。

五、血细胞计数板的质量鉴定

(一)原理

0.3 g/L酚红碱性溶液在559 nm有很宽的线性范围(稀释数百倍仍呈线性),并且显色稳定,分别测定计数池和比色皿的吸光度即可求出计数池的深度及其误差。

(二)仪器

721或751分光光度计,光径10 mm标准比色皿(误差 $<50/\mu m$),待测计数板并配备自制比色架。

(三)试剂

1. 0.3 g/L 酚红溶液

取酚红 0.03 g 酚红溶解于 0.1 mol/L 碳酸钠溶液 100 mL 中摇匀,过滤后备用。

2. 稀释酚红溶液

准确吸取 0.3 g/L 的酚红溶液 1 mL,加入已校准的 100 mL 容量瓶中,以 0.1 mol/L 碳酸钠溶液稀释至刻度。

(四)测定

用潮湿棉棒轻轻擦拭计数池两侧的盖片支面和盖玻片,迅速用推压法加合格专用盖玻片,使其固定(翻转计数板 2~3 次,盖玻片不脱落),向计数池内充入蒸馏水,置专用比色架上用 559 nm 调 0 点(光束垂直射入盖玻片面)取出计数板擦净用同样方法滴入 0.3 g/L 酚红溶液,测其吸光度,重复 2 次求其吸光度均值,然后用 10 mm 光径比色皿在同样条件下测稀释酚红吸光度,重复 2 次,求吸光度均值(水调零)。

(王玉洁)

第二节 血红蛋白测定

一、血红蛋白生理概要

血红蛋白是由珠蛋白和亚铁血红素组成的结合蛋白质。每个血红蛋白分子有 4 条多肽链,每条折叠的多肽链中,包裹一个亚铁血红素。亚铁血红素由原卟啉和一个铁原子组成。血红蛋白分子量为 64 458D。

每分子血红蛋白中的 4 个亚铁血红素含有 4 个 Fe^{2+} 原子,可结合 4 个氧分子。因此,64 458 g 血红蛋白,含铁 $4 \times 55.84 \text{ mg}$,可结合 $4 \times 22.4 \text{ L}$ 氧,即每克血红蛋白含铁 3.47 mg(即铁占 0.347%),可结合氧 1.38 mL。

血红蛋白除能与氧结合形成氧合血红蛋白(HbO_2)外,尚能与某些物质作用形成多种血红蛋白衍生物。它们具有特定的色泽和吸收光谱,在临床上,可用以诊断某些变性血红蛋白血症或作血红蛋白的定量测定。

(1)氧合血红蛋白(HbO_2):呈鲜红色,在 578 nm(黄光)和 540 nm(绿光)处,有两条吸收光带。

(2)还原血红蛋白(Hbred):呈暗红色,只有在 556 nm 处(黄绿光之间)有一条吸收光带。

(3)碳氧血红蛋白(HbCO):在 CO 中毒时,一氧化碳与血红蛋白牢固结合,形成樱红色 HbCO ,它有两条吸收光谱,分别位于 572 nm(黄光)和 535 nm(绿光)处。

(4)高铁血红蛋白(Hi):多种氧化物均可将血红蛋白氧化成高铁(Fe^{3+})血红蛋白,而失去带氧能力。高铁血红蛋白呈红褐色,有 634,578,540 和 500 nm 四条吸收光带。

(5)氰化高铁血红蛋白(HiCN):呈棕红色,位于 540 nm 处有一较宽的吸收光带。因其呈色稳定,可用以作为测定血红蛋白的一种方法。

二、氰化高铁血红蛋白测定法

血红蛋白测定方法很多,如比色法、比重法、血氧法、血铁法等,国际血液学标准化委员会推荐氰化高铁血红蛋白为首选测定法。现就氰化高铁血红蛋白(HiCN)法介绍如下。

(一)原理

血红蛋白被高铁氰化钾氧化为高铁血红蛋白,新生成的高铁血红蛋白再与氰结合成稳定的棕红色的氰化高铁血红蛋白(HiCN),在规定的波长和液层厚度条件下,具有一定的吸光系数,根据吸光度,可求得

血红蛋白浓度。

HiCN 转化液:①氰化钾(KCN):0.05 g。②高铁氰化钾 $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$:0.2 g。③磷酸二氢钾(KH_2PO_4):0.14 g。④TritonX-100(或其他非离子型表面活性剂):1.0 mL。⑤蒸馏水:加至 1000 mL,纠正 pH 至 7.0~7.4。

此液为淡黄色透明液体,可储存在棕色瓶中放室温保存。变混、变绿后都不可再用。

非离子型表面活性剂可加速溶血和缩短转化时间,防止因血浆蛋白改变引起的混浊。

(二)方法

取 HiCN 转化液 5 mL,加末稍血 20 μL ,混匀后静置 5 min,用光径 1.0 cm,波长 540 nm 的分光光度计测定吸光度 OD(以水或稀释液调“0”),求得每升血液中血红蛋白含量。

(三)计算

实际工作中可将此公式用直接坐标纸以血红蛋白克数为横坐标,OD 值为纵坐标作成曲线,或者事先列成换算表直接从表上查出血红蛋白浓度。

(四)正常参考值

成人男性:120~160 g/L。

成人女性:110~150 g/L。

新生儿:170~200 g/L。

(五)注意事项

(1)分光光度计必须校正波长和灵敏度,540 nm 波长位置必须正确。目前市场上有测定血红蛋白的专用仪器。

(2)HiCN 试剂色泽稳定,分装于棕色瓶中冷藏可长期保存。

(3)比色杯内径要准确,即 1.000 ± 0.005 cm(需用内卡钳测定),无合格比色杯时,应乘以校正系数。

(4)HiCN 不能偏酸,也不宜用聚乙烯瓶盛装,否则 KCN 易分解。

(5)高丙种球蛋白血症、高白细胞、白血病等疾病可出现混浊,可按 15~50 g/L 的比例加入氯化钠防止,但不能防止因有核红细胞引起的混浊。

(6)HiCN 转化液的毒性问题:转化液中,氰化钾是剧毒药品,在配制和保存过程中必须谨慎,防止污染,但因转化液中所含氰化钾浓度很低,约需 600~1000 mL 才能对人体产生毒性反应,致死量为 4000 mL,所以,一般对工作人员不会造成伤害,但是为了安全,此液积存过多时,应进行除毒处理。其方法是在 HiCN 废液中加等量自来水混合,在每升稀释废液中加次氯酸钠 35 mL,混匀,敞开存放 15 h,再排入下水道。

三、血红蛋白测定的质量控制

血红蛋白测定的质量控制除了所用量器必须事先校准外(允许误差,5 mL 吸管为 2.5%,血红蛋白吸管为 1%),还要进行下面几项质量控制。

(一)仪器的线性校正

取 50 g/L、100 g/L、150 g/L、200 g/L 的 HiCN 标准参考液,在入 540 nm 测出其 A 值(以 HiCN 转化液为空白),标准状态下其值应分别为 0.135,0.271,0.407,0.543,或者将一血红蛋白含量较高的样品,分别稀释成 1/4,1/2,3/4 和原液四个梯度进行线性校正,仪器在 200 g/L 范围内应有良好线性,重复性试验 CV 应 $\leq 2\%$ 。

(二)比色皿的光径和透光度标准

比色皿的光径和透光度应符合下述标准:光径 1 cm 的比色皿误差应 < 0.005 cm。

检验比色皿的透光度可用下述方法校正:用 2 mg/L 伊文蓝水溶液装入同规格的各个比色皿内,先以 1 号比色皿为基准,在 X600~610 nm 将透光度调至 50%T,分别测定其他各比色皿的透光度。然后以 2 号比色皿作基准进行测定,依此类推,交替测定。各比色皿之间的透光度差在 0.5%T 以下者为合格。

(三)质控物的应用

用来校准仪器和控制实验准确度的制品称为参考品;用于控制实验精密度的制品称为质控品(物)。

血红蛋白测定的质控物和校准物国内都有商品供应,但新购的这些物品在使用前应检验是否符合下列标准。

(1)HiCH 卫生部级参考液,图形扫描符合 ICSH 文件规定, $A_{540}/A_{504} = 1.590 \sim 1.630$, $A_{750} \leq 0.002$,随机取 10 支做精密度试验,其变异系数应 $\leq 0.5\%$,以 WHO HiCN 参考品为标准做准确度试验,其测定值与定值之差 $\leq 0.5\%$,细菌培养阴性,稳定性要达到 3 年定值不变,参考液应放棕色瓶内,每瓶不得少于 10 mL。

(2)HiCH 工作标准液,准确度测定值与定值之差 $\leq 1\%$,稳定性符合出厂说明,其他质量要求同上。

(3)质控物的应用,每天随患者标本一起测定,并将测定结果填入质控图。

(四)质控要求

手工操作 $OCV \leq 3\%$, $RCV \leq 6\%$, $EQADI \leq 2$ 。

四、红细胞计数和血红蛋白测定的临床意义

通常情况下,单位容积血液中红细胞数量与血红蛋白量大致呈平行的相对应关系。健康成人的红细胞数与血红蛋白量的比例固定,两者测定的意义大致相同。但在某些情况下,特别是在红细胞内血红蛋白浓度发生改变的贫血时,两者的减少程度往往不会一致。如小细胞低色素性贫血时,血红蛋白的降低程度较红细胞明显,大细胞性贫血时,红细胞数量减少程度比血红蛋白下降程度明显,因此同时对患者的红细胞和血红蛋白量进行比较,对诊断就更有意义。

(一)红细胞及血红蛋白增多

红细胞及血红蛋白增多是指单位容积血液中红细胞数及血红蛋白量高于正常参考值高限。一般来讲,经多次检查,成年男性红细胞 $> 6.0 \times 10^{12}/L$,血红蛋白 $> 170 g/L$;成年女性红细胞 $> 5.5 \times 10^{12}/L$,血红蛋白 $> 160 g/L$ 时即认为红细胞血红蛋白增多。一般分为相对增多和绝对增多两类:

1. 相对增多

指因血浆容量减少,造成红细胞数量相对增加。见于严重呕吐、腹泻、大量出汗、大面积烧伤、慢性肾上腺皮质功能减退、尿崩症、甲状腺功能亢进症危象、糖尿病酮症酸中毒等疾病。

2. 绝对增多

临床上称为红细胞增多症,是一种由多种原因引起红细胞增多的症候群。按发病原因可分为继发性和原发性两类。

(1)继发性红细胞增多症:是一种非造血系统疾病,发病的主要原因是因为血液中促红细胞生成素增多。①促红细胞生成素代偿性增加:因血氧饱和度减低,组织缺氧所引起。红细胞增多的程度与缺氧程度成正比。见于胎儿及新生儿,高原地区居民,严重的慢性心肺疾患,如阻塞性肺气肿、肺源性心脏病、发绀型先天性心脏病,以及携氧能力低的异常血红蛋白病等。②促红细胞生成素非代偿性增加:这类患者无血氧饱和度减低,组织无缺氧,促红细胞生成素增加与某些肿瘤或肾脏疾患有关,如肾癌、肝细胞癌、子宫肌瘤、卵巢癌、肾胚胎瘤、肾盂积水、多囊肾等。

(2)原发性红细胞增多症:即真性红细胞增多症,是一种原因未明的以红细胞增多为主的骨髓增殖性疾病,目前认为是多能造血干细胞受累所致。其特点是红细胞持续性显著增多,甚至可达 $(7 \sim 10) \times 10^{12}/L$,血红蛋白 $180 \sim 240 g/L$,全身总血容量也增加,白细胞和血小板也有不同程度增多。本病属慢性病和良性增生,但具有潜在恶性趋向,部分病例可转变为白血病。

(二)红细胞及血红蛋白减少

红细胞及血红蛋白减少指单位容积循环血液中红细胞数、血红蛋白量都低于正常参考值低限,通常称

为贫血。临床上根据血红蛋白减低的程度将贫血分为4级：①轻度：血红蛋白<参考值低限至90 g/L。②中度：60~90 g/L。③重度：30~60 g/L。④极重度：<30 g/L。造成红细胞及血红蛋白减少的原因有生理性减少和病理性减少两大类。

1. 生理性减少

出生后3个月~15岁以前的儿童，因身体生长发育迅速，而红细胞生成相对不足，红细胞及血红蛋白可较正常成人约低10%~20%。妊娠中、后期的孕妇血浆容量增加，使血液稀释，表现出不同程度的贫血；老年人因骨髓造血功能减低，导致红细胞及血红蛋白减少，统称为生理性贫血。

2. 病理性减少

按照病因和发病机制进行分类，可将贫血分为红细胞生成减少性贫血、红细胞破坏过多性贫血和失血性贫血3大类。

注意：红细胞与血红蛋白测定只是反映单位容积血液中的测定值，在判断检验结果时必须注意一些可能影响检验结果的因素，如患者全身血液总容量有无改变和全身血浆容量有无改变。在大量失血早期，主要变化是全身血容量减少，而此时血液浓度改变很少，从红细胞计数和血红蛋白检验结果很难反映贫血的存在，在各种原因引起的失水或水滞留时，引起血浆容量减少或增加，造成血液浓缩或稀释，均可使红细胞计数和血红蛋白测定值随之增大或减少；另外患者的性别、年龄、精神因素以及居住地海拔的差异等因素也应进行综合分析，如当感情冲动、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。

(王玉洁)

第三节 红细胞比积测定

红细胞比积是指单位体积血液中红细胞所占的比积。

一、Wintrobe 法

(一)原理

将一定量的抗凝血液，经过一定速度和时间离心沉淀后，沉下压实的红细胞体积与全血体积之比即为红细胞比积或红细胞压积。

(二)器材

(1)红细胞比积管(wintrobe管)：为一长11 cm，内径2.5 mm，容量约0.7 mL的平底厚壁玻璃管，管上有100 mm刻度，其读数一边由下而上，供测红细胞比积用，另一边由上而下，供测血沉用。

(2)长毛细吸管：吸管的细长部分必须超过11 cm管端方可到红细胞比积管的底部(亦可用1 mL注射器和长穿刺针头代替)。

(三)抗凝剂

(1)双草酸盐抗凝剂。

(2)肝素抗凝剂。

(3)EDTA- Na_2 。

(四)方法

(1)抽取静脉血2 mL，注入事先已烘干的双草酸盐或者肝素抗凝瓶中，立即混匀。

(2)用长毛细吸管吸取混匀的抗凝血，插入温氏管底部，然后将血液缓慢注入至刻度“0”处。注意不能有气泡。然后用小橡皮塞塞紧管口。

(3)将灌好血的离心管以相对离心力2264 g，水平离心30 min。