

输血检验技术与临床

宋雪珍等◎著



输血检验技术与临床

宋雪珍等◎著

图书在版编目 (C I P) 数据

输血检验技术与临床 / 宋雪珍等著. — 长春 : 吉林科学技术出版社, 2018.3

ISBN 978-7-5578-3670-2

I. ①输… II. ①宋… III. ①输血—血液检查 IV. ①R446.11

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第064122号

输血检验技术与临床

著	宋雪珍等
出版人	李 梁
责任编辑	赵 兵 张 卓
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
幅面尺寸	185mm×260mm
字 数	216千字
印 张	11.25
印 数	650册
版 次	2019年3月第2版
印 次	2019年3月第2版第1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	0431-85651759
储运部电话	0431-86059116
编辑部电话	0431-85677817
网 址	www.jlstp.net
印 刷	虎彩印艺股份有限公司

书 号	ISBN 978-7-5578-3670-2
定 价	45.00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

· 前 言 ·

我国临床输血已成为非常重要的治疗手段，因而对从事输血医学研究和临床输血工作人才的需求也发生了的变化，对输血医学检验专业人员的要求也越来越高。为适应我国输血检验技术与临床事业的发展，输血检验科技术人员在提高检验技能的同时，也要加强临床知识的学习，掌握输血检验项目的临床意义，以便更好地协助临床，服务患者。在临床用血方面，各级医疗机构要积极推广科学、合理用血技术，杜绝血液的浪费和滥用，保证临床用血的质量和安

全。

本书首先介绍了临床输血检验技术，包括临床血液一般检验、输血检验、血栓与止血检验、成分血采集技术等内容；其次重点阐述了临床输血，涵盖了血液成分的临床应用、血液代用品的临床应用、输血不良反应与输血传播疾病等内容，条理清晰，简明实用，可供医学检验技术专业学生使用，也可以作为医疗卫生机构输血科（库）、中心血站工作人员的专业参考书。

本书由临床领域内的优秀学术骨干根据多年的临床实践经验体会，并参阅大量国内外文献和科研成果编写而成。编写人员在编写过程中反复校对、再三审核，但由于水平和精力有限，难免有疏漏和不足之处，敬请各位同仁及广大读者不吝指正，以便日臻完善。

编 者
2018 年 3 月

· 目 录 ·

第一章 临床血液一般检验	1
第一节 血液标本采集与处理	1
第二节 血红蛋白测定	6
第三节 红细胞检验	8
第四节 白细胞计数	11
第五节 血小板计数	14
第六节 红细胞沉降率测定	16
第二章 输血检验	18
第一节 ABO 血型鉴定	18
第二节 Rh 血型鉴定	27
第三节 其他血型鉴定	31
第四节 血型血清学常用检查方法	32
第五节 红细胞血型抗体筛查	39
第六节 红细胞血型抗体鉴定	43
第七节 交叉配血试验	46
第八节 胎儿新生儿溶血病的血型血清学检查	50
第九节 血小板血型抗原	56
第十节 血小板血型的临床应用	59
第十一节 人类白细胞抗原系统	62
第十二节 HLA 抗体检测	69
第十三节 梅毒螺旋体抗体检测	72
第十四节 输血相关人类免疫缺陷病毒检测	75
第三章 血栓与止血检验	79
第一节 血栓与止血的筛查试验	79
第二节 血管内皮细胞的检验	85
第三节 血小板检验	87
第四节 凝血因子检验	90
第五节 抗凝物质检验	92
第六节 纤溶活性检验	95

第四章 成分血采集技术	97
第一节 血小板采集技术	97
第二节 粒细胞采集技术	102
第三节 血浆采集技术	105
第四节 周血造血干细胞采集技术	106
第五节 治疗性血液成分单采和置换技术	108
第五章 血液成分的临床应用	117
第一节 成分输血概述	117
第二节 全血输注	121
第三节 红细胞输注	124
第四节 血小板输注	127
第五节 血浆输注	129
第六节 粒细胞输注	131
第七节 冷沉淀输注	132
第六章 血液代用品的临床应用	134
第一节 血浆代用品	134
第二节 红细胞代用品	143
第三节 血小板代用品	149
第七章 输血不良反应与输血传播疾病	153
第一节 输血不良反应	153
第二节 输血传播疾病	168
参考文献	176

第一章

临床血液一般检验

第一节 血液标本采集与处理

一、静脉采血法

(一) 普通采血法

1. 试剂与器材 如下所述。

(1) 30g/L 碘酊。

(2) 75% 乙醇。

(3) 其他：一次性注射器、压脉带、垫枕、试管、消毒棉签。

2. 操作 如下所述。

(1) 取试管 1 支（需抗凝者应加相应抗凝剂）。

(2) 打开一次性注射器包装，取下针头无菌帽，将针头与针筒连接，针头斜面对准针筒刻度，抽拉针栓检查有无阻塞和漏气，排尽注射器内的空气，套上针头无菌帽，备用。

(3) 受检者取坐位，前臂水平伸直置于桌面枕垫上，选择容易固定、明显可见的肘前静脉或手背静脉，幼儿可用颈外静脉采血。

(4) 用 30g/L 碘酊自所选静脉穿刺处从内向外、顺时针方向消毒皮肤，待碘酊挥发后，再用 75% 乙醇以同样方式脱碘，待干。

(5) 在穿刺点上方约 6cm 处系紧压脉带，嘱受检者紧握拳头，使静脉充盈显露。

(6) 取下针头无菌帽，以左手拇指固定静脉穿刺部位下端，右手拇指和中指持注射器针筒，示指固定针头下座，针头斜面和针筒刻度向上，沿静脉走向使针头与皮肤成 30° 角，快速刺入皮肤，然后成 5° 角向前刺破静脉壁进入静脉腔。见回血后，将针头顺势深入少许。穿刺成功后右手固定注射器，左手松压脉带后，再缓缓抽动注射器针栓至所需血量。受检者松拳，消毒干棉球压住穿刺孔，拔出针头。嘱受检者继续按压针孔数分钟。

(7) 取下注射器针头，将血液沿试管壁缓缓注入试管中。抗凝血需立即轻轻混匀，盖紧试管塞，及时送检。

3. 附注 如下所述。

(1) 采血部位通常选择肘前静脉，如此处静脉不明显，可采用手背、手腕、腘窝和外踝部静脉。幼儿可采用颈外静脉。

(2) 采血一般取坐位或卧位：体位影响水分在血管内外的分布，从而影响被测血液成

分浓度。

(3) 压脉带捆扎时间不应超过 1min, 否则会使血液成分浓度发生改变。

(4) 血液注入试管前应先取下注射器针头, 然后将血液沿试管壁缓缓注入试管中, 防止溶血和泡沫产生。需要抗凝时应与抗凝剂轻轻颠倒混匀, 切忌用力振荡试管。

(5) 如遇受检者发生晕针, 应立即拔出针头, 让其平卧。必要时可用拇指压掐或针刺人中、合谷等穴位, 或嗅吸芳香酊等药物。

(二) 真空采血管采血法

1. 原理 将有头盖胶塞的采血试管预先抽成不同的真空度, 利用其负压自动定量采集静脉血样。

2. 试剂与器材 目前真空采血器有软接式双向采血针系统(头皮静脉双向采血式)和硬接式双向采血针系统(套筒双向采血式)两种, 都是一端为穿刺针, 另一端为刺塞针。另附不同用途的一次性真空采血管, 有的加有不同抗凝剂, 或其他添加剂, 均用不同颜色头盖标记便于识别。真空采血法符合生物安全措施。

3. 操作 如下所述。

(1) 消毒: 为受检者选静脉与消毒。

(2) 采血: ①软接式双向采血针系统采血: 拔除采血穿刺针的护套, 以左手固定受检者前臂, 右手拇指和示指持穿刺针, 沿静脉走向使针头与皮肤成 30° 角, 快速刺入皮肤, 然后成 5° 角向前刺破静脉壁进入静脉腔, 见回血后将刺塞针端(用橡胶管套上的)直接刺穿真空采血管盖中央的胶塞中, 血液自动流入试管内, 如需多管血样, 将刺塞端拔出, 刺入另一真空采血管即可。达到采血量后, 松压脉带, 嘱受检者松拳, 拔下刺塞端的采血试管。将消毒干棉球压住穿刺孔, 立即拔除穿刺针, 嘱受检者继续按压针孔数分钟。②硬连接式双向采血针系统采血: 静脉穿刺如上, 采血时将真空采血试管拧入硬连接式双向采血针的刺塞针端中, 静脉血就会自动流入采血试管中, 拔下采血试管后, 再拔出穿刺针头。

(3) 抗凝血: 需立即轻轻颠倒混匀。

4. 附注 如下所述。

(1) 使用真空采血器前应仔细阅读厂家说明书, 严格按说明书要求操作。

(2) 尽量选粗大的静脉进行穿刺。

(3) 刺塞针端的乳胶套能防止拔除采血管后继续流血污染周围, 达到封闭采血防止污染环境的作用, 因此不可取下乳胶套。

(4) 带乳胶套的刺塞端须从真空采血试管的胶塞中心垂直穿刺。

(5) 采血完毕后, 先拔下刺塞端的采血试管, 后拔穿刺针端。

(6) 使用前勿松动一次性真空采血试管盖塞, 以防采血量不准。

(7) 如果一次采血要求采取几个标本时, 应按以下顺序采血: 血培养管, 无抗凝剂及添加剂管, 凝血象管, 有抗凝剂(添加剂)管。

二、毛细血管采血法

1. 试剂与器材 如下所述。

(1) 一次性采血针。

(2) 消毒干棉球。

(3) 75%乙醇棉球。

(4) 经过校正的20 μ l吸管。

2. 操作 如下所述。

(1) 采血部位：成人以左手无名指为宜，1岁以下婴幼儿通常用大拇指或足跟部两侧采血。

(2) 轻轻按摩采血部位，使其自然充血，用75%乙醇棉球消毒局部皮肤，待干。

(3) 操作者用左手拇指和示指紧捏刺血部位两侧，右手持无菌采血针，自指尖内侧迅速穿刺。

(4) 用消毒干棉球擦去第一滴血，按需要依次采血。

(5) 采血完毕，用消毒干棉球压住伤口，止血。

3. 附注 如下所述。

(1) 除特殊情况外，不要在耳垂采血。应避免在冻疮、炎症、水肿等部位采血。

(2) 皮肤消毒后一定要待乙醇挥发，干燥后采血，否则血液会四处扩散而不成滴。

(3) 穿刺深度一般以2.0~2.5mm为宜，稍加挤压血液能流出。

(4) 进行多项检验时，采集标本次序为：血小板计数、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数及涂血片等。

三、抗凝剂的选用

临床血液学检验中常用的抗凝剂有以下3种。

1. 枸橼酸钠（柠檬酸钠） 枸橼酸能与血液中的钙离子结合形成螯合物，从而阻止血液凝固。市售枸橼酸钠多含2分子结晶水，相对分子质量为294.12，常用浓度为109mmol/L（32g/L）。枸橼酸钠与血液的比例多采用1:9（V:V），常用于凝血象和红细胞沉降率测定（魏氏法血沉测定时抗凝剂为1:4，即抗凝剂0.4ml加血1.6ml）。

2. 乙二胺四乙酸二钾（EDTA·K₂·2H₂O，MW404.47） 抗凝机制与枸橼酸钠相同。全血细胞分析用EDTA·K₂ 1.5~2.2mg可阻止1ml血液凝固。适用于全血细胞分析，尤其适用于血小板计数。但由于其影响血小板聚集及凝血因子检测，故不适合做凝血象和血小板功能检查。

3. 肝素 是一种含有硫酸基团的黏多糖，相对分子质量为15 000，与抗凝血酶Ⅲ（AT-Ⅲ）结合，促进其对凝血因子Ⅻ、Ⅺ、Ⅸ、Ⅹ和凝血酶活性的抑制，抑制血小板聚集从而达到抗凝。通常用肝素钠盐或锂盐粉剂（125U=1mg）配成1g/L肝素水溶液，即每毫升含肝素1mg。取0.5ml置小瓶中，37~50℃烘干后，能抗凝5ml血液。适用于红细胞比容测定，不适合凝血象和血液学一般检查，因其可使白细胞聚集，并使血涂片染色后产生蓝色背景。

四、血涂片制备

1. 器材 清洁、干燥、无尘、无油脂的载玻片（25mm×75mm，厚度为0.8~12mm）。

2. 操作 血涂片制备方法很多，目前临床实验室普遍采用的是手工推片法，在玻片近一端1/3处，加一滴（约0.05ml）充分混匀的血液，握住另一张边缘光滑的推片，以30°~45°角使血滴沿推片迅速散开，快速、平稳地推动推片至载玻片的另一端。

3. 附注 如下所述。

(1) 血涂片通常呈舌状或楔形，分头、体、尾三部分。

(2) 推好的血涂片应在空气中晃动，使其尽快干燥。天气寒冷或潮湿时，应于 37℃ 恒温箱中保温促干，以免细胞变形缩小。

(3) 涂片的厚薄、长度与血滴的大小、推片与载玻片之间的角度、推片时的速度及红细胞比容有关。一般认为血滴大、角度大、速度快则血膜厚；反之则血膜薄。红细胞比容高于正常时，血液黏度较高，保持较小的角度，可得满意结果；相反，红细胞比容低于正常时，血液较稀，则应用较大角度、推片速度应较快。

(4) 血涂片应在 1h 内染色或在 1h 内用无水甲醇（含水量 <3%）固定后染色。

(5) 新购置的载玻片常带有游离碱质，必须用浓度约 1mol/L HCl 浸泡 24h 后，再用清水彻底冲洗，擦干后备用。用过的载玻片可放入含适量肥皂或其他洗涤剂的水中煮沸 20min，洗净，再用清水反复冲洗，蒸馏水最后浸洗，擦干备用。使用时，切勿用手触及玻片表面。

(6) 血液涂片既可直接用非抗凝的静脉血或毛细血管血，也可用 EDTA 抗凝血制备。由于 EDTA 能阻止血小板聚集，故在显微镜下观察血小板形态时非常合适。

(7) 使用 EDTA · K₂ 抗凝血液样本时，应充分混匀后再涂片。抗凝血样本应在采集后 4h 内制备血涂片，时间过长可引起中性粒细胞和单核细胞的形态改变。注意制片前，样本不宜冷藏。

五、血涂片染色

（一）瑞氏（Wright）染色法

1. 原理 瑞氏染色法使细胞着色既有化学亲和反应，又有物理吸附作用。各种细胞由于其所含化学成分不同，对染料的亲和力也不一样，因此，染色后各种细胞呈现出各自的染色特点。

2. 试剂 如下所述。

(1) 瑞氏染液

瑞氏染料 0.1g

甲醇（AR） 60.0ml

瑞氏染料由酸性染料伊红和碱性染料亚甲蓝的氧化物（天青）组成。将瑞氏染料放入清洁干燥研钵里，先加少量甲醇，充分研磨使染料溶解，将已溶解的染料倒入棕色试剂瓶中，未溶解的再加少量甲醇研磨，直至染料完全溶解，甲醇全部用完为止。配好后放于室温下，一周后即可使用。新配染液效果较差，放置时间越长，染色效果越好。久置应密封，以免甲醇挥发或氧化成甲酸。染液中也可加中性甘油 2~3ml，除可防止甲醇过早挥发外，也可使细胞着色清晰。

(2) pH6.8 磷酸盐缓冲液

磷酸二氢钾（KH₂PO₄） 0.3g

磷酸氢二钠（Na₂HPO₄） 0.2g

加少量蒸馏水溶解，再加至 1 000ml。

3. 操作 如下所述。

- (1) 采血后推制厚薄适宜的血涂片（见“血涂片制备”）。
- (2) 用蜡笔在血膜两头画线，然后将血涂片平放在染色架上。
- (3) 加瑞氏染液数滴，以覆盖整个血膜为宜，固定血膜约 1min。
- (4) 滴加约等量的缓冲液与染液混合，室温下染色 5~10min。
- (5) 用流水冲去染液，待干燥后镜检。

4. 附注 如下所述。

(1) pH 对细胞染色有影响：由于细胞中各种蛋白质均为两性电解质，所带电荷随溶液 pH 而定。对某一蛋白质而言，如环境 $\text{pH} < \text{pI}$ （蛋白质的等电点），则该蛋白质带正电荷，即在酸性环境中正电荷增多，易与酸性伊红结合，染色偏红；相反，则易与美蓝天青结合，染色偏蓝。为此，应使用清洁中性的载玻片，稀释染液必须用 pH6.8 缓冲液。冲洗玻片必须用流水。

- (2) 未干透的血膜不能染色，否则染色时血膜易脱落。
- (3) 染色时间与染液浓度、染色时温度成反比；而与细胞数量成正比。
- (4) 冲洗时不能先倒掉染液，应用流水冲去，以防染料沉淀在血膜上。
- (5) 如血膜上有染料颗粒沉积，可加少许甲醇溶解，但需立即用水冲掉甲醇，以免脱色。

(6) 染色过淡，可以复染。复染时应先加缓冲液，创造良好的染色环境，而后加染液，或加染液与缓冲液的混合液，不可先加染液。

(7) 染色过深可用水冲洗或浸泡水中一定时间，也可用甲醇脱色。

(8) 染色偏酸或偏碱时，均应更换缓冲液再重染。

(9) 瑞氏染液的质量好坏除用血涂片实际染色效果评价外，还可采用吸光度比值（ratio of absorption, RA）评价。瑞氏染液的成熟指数以 $\text{RA} (\text{A}_{650\text{nm}}/\text{A}_{525\text{nm}}) = 1.3 \pm 0.1$ 为宜。

(10) 目前已有商品化瑞氏染液及缓冲液供应。

(二) 瑞氏-姬姆萨 (Wright-Giemsa) 复合染色法

姬姆萨染色原理与瑞氏染色相同，但提高了噻嗪染料的质量，加强了天青的作用，对细胞核着色效果较好，但对中性颗粒着色较瑞氏染色差。因此，瑞氏-姬姆萨复合染色法可取长补短，使血细胞的颗粒及胞核均能获得满意的染色效果。

1. 试剂 瑞氏-姬姆萨复合染色液。

I 液：取瑞氏染料 1g、姬姆萨染料 0.3g，置洁净研钵中，加少量甲醇（分析纯），研磨片刻，吸出上层染液。再加少量甲醇继续研磨，再吸出上层染液。如此连续几次，共用甲醇 500ml。收集于棕色玻璃瓶中，每天早、晚各振摇 3min，共 5 天，以后存放一周即能使用。

II 液：pH6.4~6.8 磷酸盐缓冲液

磷酸二氢钾（无水） 6.64g

磷酸氢二钠（无水） 2.56g

加少量蒸馏水溶解，用磷酸盐调整 pH，加水至 1 000ml。

2. 操作 瑞氏-姬姆萨染色法与瑞氏染色法相同。

（宋雪珍）

第二节 血红蛋白测定

一、氰化高铁血红蛋白 (HiCN) 测定法

(一) 原理

血红蛋白(除硫化血红蛋白外)中的亚铁离子(Fe^{2+})被高铁氰化钾氧化成高铁离子(Fe^{3+}),血红蛋白转化成高铁血红蛋白。高铁血红蛋白与氰离子(CN^-)结合,生成稳定的氰化高铁血红蛋白(hemoglobin cyanide, HiCN)。氰化高铁血红蛋白在波长540nm处有一个较宽的吸收峰,它在540nm处的吸光度同它在溶液中的浓度成正比。常规测定可从HiCN参考液制作的标准曲线上读取结果。

(二) 试剂

HiCN 试剂:

氰化钾(KCN) 0.050g

高铁氰化钾 [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 0.200g

无水磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 0.140g

非离子表面活性剂[Triton X-100, Saponic218等] 0.5~1.0ml

上述成分分别溶于蒸馏水中,混合,再加蒸馏水至1000ml,混匀。试剂为淡黄色透明溶液,pH值在7.0~7.4。血红蛋白应在5min内完全转化为高铁血红蛋白。

(三) 操作

1. 标准曲线制备 将市售氰化高铁血红蛋白(HiCN)参考液稀释为四种浓度(200g/L, 100g/L, 50g/L, 25g/L),然后以HiCN试剂调零,分别测定各自在540nm处的吸光度。以血红蛋白浓度(g/L)为横坐标,其对应的吸光度为纵坐标,在坐标纸上描点,绘制标准曲线。

2. 常规检测血红蛋白 先将20 μl 血用5.0ml HiCN试剂稀释,混匀,静置5min后,测定待检标本在540nm下的吸光度,查标准曲线求得血红蛋白含量。

(四) 附注

(1) 血红蛋白测定方法很多,但无论采用何种方法,都必须溯源至HiCN的结果。

(2) 试剂应贮存在棕色硼硅有塞玻璃瓶中,不能贮存于塑料瓶中,否则会使 CN^- 丢失,造成测定结果偏低。

(3) 试剂应置于4~10 $^{\circ}\text{C}$ 保存,不能放0 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存,因为结冰可引起试剂失效。

(4) 试剂应保持新鲜,至少一个月配制一次。

(5) 氰化钾是剧毒品,配试剂时要严格按剧毒品管理程序操作。

(6) 脂血症或标本中存在大量脂质可产生混浊,可引起血红蛋白假性升高。白细胞数 $>20\times 10^9/\text{L}$ 、血小板计数 $>700\times 10^9/\text{L}$ 及异常球蛋白增高也可出现混浊,均可使血红蛋白假性升高。煤气中毒或大量吸烟引起血液内碳氧血红蛋白增多,也可使测定值增高。若因白细胞数过多引起的混浊,可离心后取上清液比色;若因球蛋白异常增高(如肝硬化患者)

引起的混浊,可向比色液中加入少许固体氯化钠(约0.25g)或碳酸钾(约0.1g),混匀后可使溶液澄清。

(7) 测定后的HiCN比色液不能与酸性溶液混合(目前大都用流动比色,共用1个废液瓶,尤须注意),因为氰化钾遇酸可产生剧毒的氢氰酸气体。

(8) 为防止氰化钾污染环境,比色测定后的废液集中于广口瓶中处理:①首先以水稀释废液(1:1),再按每升上述稀释废液加次氯酸钠(安替福民)35ml,充分混匀后敞开口放置15h以上,使 CN^- 氧化成 CO_2 和 N_2 挥发,或水解成 CO_3^{2-} 和 NH_4^+ ,再排入下水道。②如果没有安替福民,可用“84”消毒液40ml代替,除毒效果基本相同。③碱性硫酸亚铁除毒:硫酸亚铁和KCN在碱性溶液中反应,生成无毒的亚铁氰化钾,取硫酸亚铁($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)50g,氢氧化钠50g,加水至1000ml,搅匀制成悬液。每升HiCN废液,加上述碱性硫酸亚铁悬液40ml,不时搅匀,置3h后排入下水道。但除毒效果不如前两种方法好。

(9) HiCN参考液的纯度检查:①波长450~750nm的吸收光谱曲线形态应符合文献所述,即峰值在540nm,谷值在504nm。② $A_{540\text{nm}}/A_{504\text{nm}}$ 的吸光度比值应为1.59~1.63。③用HiCN试剂作空白,波长710~800nm处,比色杯光径1.000cm时,吸光度应小于0.002。

二、十二烷基硫酸钠血红蛋白(SLS-Hb)测定法

由于HiCN试剂含剧毒的氰化钾会污染环境,对环境保护不利。为此,各国均相继研发不含KCN的测定血红蛋白方法,如SLS-Hb现已应用于血细胞分析仪上,但其标准应溯源到HiCN量值。

(一) 原理

除SHb外,血液中各种血红蛋白均可与十二烷基硫酸钠(sodium lauryl sulfate, SLS)作用,生成SLS-Hb棕色化合物,SLS-Hb波峰在538nm,波谷在500nm。本法可用HiCN法定标的新鲜血,再制备本法的标准曲线。

(二) 试剂

1. 60g/L十二烷基硫酸钠的磷酸盐缓冲液 称取60g十二烷基硫酸钠溶解于33.3mmol/L磷酸盐缓冲液(pH7.2)中,加TritonX-100 70ml于溶液中混匀,再加磷酸盐缓冲液至1000ml,混匀。

2. SLS应用液 将上述60g/L SLS原液用蒸馏水稀释100倍,SLS最终浓度为2.08mmol/L。

(三) 操作

1. 准确吸取SLS应用液5.0ml置于试管中,加入待测血20 μl ,充分混匀。5min后置540nm下以蒸馏水调零,读取待测管吸光度,查标准曲线即得SLS-Hb结果。

2. 标准曲线绘制 取不同浓度血红蛋白的全血标本,分别用HiCN法定值。再以这批已定值的全血标本,用SLS-Hb测定,获得相应的吸光度,绘制出标准曲线。

(四) 参考区间

男 131~172g/L*

女 113~151g/L*

新生儿 180~190g/L**

婴儿 110 ~ 120g/L * *

儿童 120 ~ 140g/L * *

* 摘自丛玉隆, 金大鸣, 王鸿利, 等. 中国人群成人静脉血细胞分析参考范围调查. 中华医学杂志, 2003, 83 (14): 1201 - 1205.

* * 摘自胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学 (下册). 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 2685.

(五) 附注

(1) 注意选用 CP 级以上的优质十二烷基硫酸钠 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4\text{Na}]$, MW288.38]。本法配方溶血力很强, 因此不能用同一管测定液同时测定血红蛋白和白细胞计数。

(2) 如无 TritonX - 100 可用国产乳化剂 OP 或其他非离子表面活性剂替代。

(3) 其他环保的血红蛋白测定方法还很多, 如间羟血红蛋白等。

(六) 临床意义

生理性增加: 新生儿、高原地区居住者。

减少: 主要见于婴幼儿、老年人及妊娠中晚期等。

病理性增加: 真性红细胞增多症、代偿性红细胞增多症, 如先天性青紫性心脏病、慢性肺部疾病、脱水。

减少: 各种贫血、白血病、产后、手术后、大量失血。

在各种贫血时, 由于红细胞内血红蛋白含量不同, 红细胞和血红蛋白减少程度可不一致。血红蛋白测定可以用于了解贫血的程度。如需要了解贫血的类型, 还需做红细胞计数和红细胞形态学检查及红细胞其他相关的指标测定。

(宋雪珍)

第三节 红细胞检验

一、红细胞计数

(一) 原理

用等渗稀释液将血液按一定倍数稀释, 充入计数池后显微镜下计数一定体积内红细胞数, 换算求出每升血液中红细胞的数目。

(二) 试剂与器材

1. 红细胞稀释液 如下所述。

枸橼酸钠 1.0g

36% 甲醛液 1.0ml

氯化钠 0.6g

加蒸馏水至 100ml, 混匀、过滤两次后备用。

2. 其他 显微镜、改良 Neubauer 血细胞计数板等。

(三) 操作

(1) 取中号试管 1 支, 加红细胞稀释液 2.0ml。

(2) 用清洁干燥微量吸管取末梢血或抗凝血 $10\mu\text{l}$, 擦去管外余血后加至红细胞稀释液底部, 再轻吸上层清液清洗吸管 2~3 次, 立即混匀。

(3) 混匀后, 用干净微量吸管将红细胞悬液充入计数池, 不得有空泡或外溢, 充池后静置 2~3min 后计数。

(4) 高倍镜下依次计数中央大方格内四角和正中共 5 个中方格内的红细胞。对压线细胞按“数上不数下、数左不数右”的原则进行计数。

(四) 计算

$$\begin{aligned}\text{红细胞数}/\text{L} &= 5 \text{ 个中方格内红细胞数} \times 5 \times 10 \times 200 \times 10^6 \\ &= 5 \text{ 个中方格内红细胞数} \times 10^{10} \\ &= 5 \text{ 个中方格内的红细胞数} \times 10^{12}/100\end{aligned}$$

式中:

$\times 5$ 5 个中方格换算成 1 个大方格。

$\times 10$ 1 个大方格容积为 $0.1\mu\text{l}$, 换算成 $1.0\mu\text{l}$ 。

$\times 200$ 血液的实际稀释倍数应为 201 倍, 按 200 是便于计算。

$\times 10^6$ 由 $1\mu\text{l}$ 换算成 1L 。

(五) 参考区间

男 $(4.09 \sim 5.74) \times 10^{12}/\text{L} *$

女 $(3.68 \sim 5.13) \times 10^{12}/\text{L} *$

新生儿 $(5.2 \sim 6.4) \times 10^{12}/\text{L} * *$

婴儿 $(4.0 \sim 4.3) \times 10^{12}/\text{L} * *$

儿童 $(4.0 \sim 4.5) \times 10^{12}/\text{L} * *$

* 摘自丛玉隆, 金大鸣, 王鸿利, 等. 中国人群成人静脉血细胞分析参考范围调查. 中华医学杂志, 2003, 83 (14): 1201-1205.

* * 摘自胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学 (下册). 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 2685.

(六) 附注

(1) 采血时不能挤压过甚, 因此针刺深度必须适当。

(2) 稀释液要过滤, 试管、计数板均须清洁, 以免杂质、微粒等被误认为红细胞。

(3) 参考范围数值内, 两次红细胞计数相差不得超过 5%。

(4) 不允许以血红蛋白浓度来折算红细胞数。

(七) 临床意义

红细胞增加或减少的临床意义与血红蛋白测定相似。一般情况下, 红细胞数与血红蛋白浓度之间有一定的比例关系。但在病理情况下, 此比例关系会打破, 因此, 同时测定二者, 对贫血诊断和鉴别诊断有帮助。

二、红细胞形态学检查

各种贫血患者红细胞形态和着色有不同程度的改变, 观察外周血红细胞形态有助于贫血的诊断和鉴别诊断。外周血红细胞变化有以下几种类型。

（一）大小异常

正常红细胞大小较为一致，直径为 $6 \sim 9 \mu\text{m}$ 。在各种贫血时，红细胞可出现大小不一。凡直径 $>10 \mu\text{m}$ 者称大红细胞， $>15 \mu\text{m}$ 者称巨红细胞，常见于巨幼细胞性贫血、肝脏疾病等；直径 $<6 \mu\text{m}$ 者称为小红细胞，多见于缺铁性贫血等疾病。

（二）形态异常

1. 球形红细胞 (spherocyte) 红细胞直径通常 $<6 \mu\text{m}$ ，厚度增加通常 $>2.6 \mu\text{m}$ ，因而红细胞呈小圆球形，细胞中心区血红蛋白含量较正常红细胞多，常见于下列疾病。

- (1) 遗传性球形细胞增多症。
- (2) 自身免疫性溶血性贫血。
- (3) 异常血红蛋白病 (HbS 及 HbC 病等)。

2. 椭圆形红细胞 (elliptocyte) 红细胞呈椭圆形，横径缩短，长径增大，有时可呈畸形。正常人血液中也可见到，但最多不超过 15%。这种红细胞增多见于以下疾病。

- (1) 遗传性椭圆形细胞增多症，一般要高于 25% ~ 50% 才有诊断价值。
- (2) 其他各类贫血都可有不同程度的增多。

3. 靶形红细胞 (target cell) 比正常红细胞扁薄，中心有少许血红蛋白，部分可与周围的血红蛋白连接，边缘部染色较中央深，故呈靶状。主要见于以下疾病。

- (1) 珠蛋白生成障碍性贫血。
- (2) 严重缺铁性贫血。
- (3) 一些血红蛋白病 (血红蛋白 C、D、E、S 病)。
- (4) 肝病、脾切除后及阻塞性黄疸等。

4. 镰形红细胞 (sickle cell) 细胞狭长似镰刀，也可呈麦粒状或冬青叶样，主要见于遗传性镰形红细胞增多症。

5. 口形红细胞 (stomatocyte) 红细胞淡染区呈裂口状狭孔，正常 $<4\%$ 。增高见于以下疾病。

- (1) 口形细胞增多症。
- (2) 急性乙醇中毒。

6. 棘形红细胞 (acanthocyte) 棘形红细胞是一种带刺状的红细胞，刺呈针刺状或尖刺状，见于以下疾病。

- (1) 棘细胞增多症 (遗传性血浆 β 脂蛋白缺乏症) 时，棘形红细胞可高达 70% ~ 80%。
- (2) 严重肝病或制片不当。

7. 锯齿细胞 (crenated cell) 锯齿细胞也称短棘形细胞 (echinocyte)，细胞突起较棘细胞短，但分布较均匀。主要见于尿毒症、微血管病性溶血性贫血、丙酮酸激酶缺乏症、阵发性睡眠性血红蛋白尿症等。

8. 裂红细胞 (schistocyte) 裂红细胞指红细胞碎片，包括盔形红细胞等，多见于 DIC 和心源性溶血性贫血等。其他也见于化学中毒、肾功能不全、血栓性血小板减少性紫癜等。

（三）染色异常

1. 着色过浅 红细胞中心淡染区扩大，多见于缺铁性贫血、地中海贫血及其他血红蛋白病。

2. 着色过深 中心淡染区不见,着色较深,多见于溶血性贫血及大细胞性贫血。

3. 嗜多色性红细胞 红细胞经瑞氏染色染成灰蓝色、灰红色、淡灰色,胞体较正常红细胞稍大,这是一种尚未完全成熟的网织红细胞,多染性物质是核糖体,随着细胞的成熟而逐渐消失,主要见于各种增生性贫血。

(四) 结构异常

1. 嗜碱性点彩红细胞 用亚甲基蓝染色(或瑞氏染色),成熟红细胞内有散在的深蓝色嗜碱性颗粒,外周血中点彩红细胞增多,表示贫血时骨髓再生旺盛或有紊乱现象,某些重金属中毒时可大量出现。

2. 卡波环(Cabot ring) 成熟红细胞内有染成紫红色的细线状环,呈圆形或8字形,可能是残留核膜所致,见于恶性贫血、溶血性贫血、铅中毒等。

3. 染色质小体(Howell-Jolly body) 成熟红细胞中含有紫红色圆形小体,大小不等,数量不一,可能是残留的核染色质微粒。见于增生性贫血、脾切除后、巨幼细胞性贫血、恶性贫血等。

4. 有核红细胞 正常成人血片中不会出现,新生儿出生一周内可能有少量有核红细胞出现。溶血性贫血、急、慢性白血病、红白血病、髓外造血及严重缺氧等在外周血片中常见到有核红细胞。

(宋雪珍)

第四节 白细胞计数

一、白细胞计数

(一) 原理

血液经白细胞稀释液稀释,成熟红细胞全部被溶解,充入计数池后,在显微镜下计数一定体积内白细胞数,换算出每升血液中白细胞数量。

(二) 试剂

白细胞稀释液:

冰乙酸 2ml

蒸馏水 98ml

10g/L 亚甲蓝溶液 3 滴

混匀过滤后备用。

(三) 操作

(1) 取小试管 1 支,加白细胞稀释液 0.38ml。

(2) 用微量吸管准确吸取末梢血 20 μ l,擦去管外余血,将吸管插入小试管中稀释液的底部,轻轻将血放出,并吸取上清液清洗吸管 2 次,混匀。

(3) 待红细胞完全破坏,液体变为棕褐色后,再次混匀后充池,静置 2~3min,待白细胞下沉。

(4) 用低倍镜计数四角 4 个大方格内的白细胞数,对压线细胞按“数上不数下、数左