

临床实验诊断

马志华 张蕴莉 主编



中国科学技术出版社

DG

编委会名单

主 编 马志华 张蕴莉

副主编 (按姓氏笔画为序)

王红梅 王新花 吴雪峥 张一兵

张凤珍 郑 辉 崔洪雨

编 者 (按姓氏笔画为序)

马志华 王学哲 王红梅 王新花 厉万林

任铁丽 刘跃华 刘艳辉 许 薇 吴雪峥

张一兵 张凤珍 张淑芹 张蕴莉 郑 辉

赵 然 徐 刚 崔洪雨 黄艳丽 董淑凤

温贵祥

插图 马志华 王新花

责任编辑 胡 萍 金 蓉

责任校对 林 华

责任印制 安利平

前 言

近年来,随着临床医学的飞速发展,促使实验诊断医学也有了长足进步。尤其是检验工作实现自动化、快速化、微量化以来,实验诊断为提高临床诊断能力和临床治疗进行的动态观察起到了十分重要的作用。同时,也是教学、科研等各项工作的重要组成部分。

为了适应高等医学教育改革与发展的需要,遵循医学专科培养人才的基本要求,努力跟上 21 世纪的社会进步和卫生事业发展的形势,我们结合多年的教学经验和临床检验实践经验,广泛参阅了最近几年国内外出版的医学教科书和文献资料,在保持其应有的深度和广度前提下,以简明扼要、重点突出和技术推新为宗旨,以密切联系相关专业基础知识内容为基础,本着完善、充实、更新、提高的原则编写了这部《临床实验诊断》,作为《诊断学》的学习指导。

本书具有内容丰富、资料新颖、简练易懂、重点突出、针对性和实用性较强等特点。它不仅能使学生在有限的学习期间内掌握最基本的内容,从而巩固、深化教学大纲要求的教学内容,提高教学质量,而且对临床医生、基础医学研究人员、临床检验工作人员、研究生和即将步入医学实践的大学毕业生也有重要的参考价值。

本书共分二十八章,内容包括血液、血栓与止血、尿液、粪便、脑脊液、浆膜腔积液、肝功能、肾功能、肿瘤标记物、生殖系统的体液、骨髓细胞及临床常用免疫学检验等。同时书中还重点介绍了目前医学检验中进展的新项目、新技术,而删减掉临床上已少用或不用的项目。另外还详细介绍了血细胞分析仪、尿液分析仪、自动生化分析仪等原理及操作。供作参考。本书还配有实用插图 28 张,供读者从深度和广度上理解,掌握书中内容。

本书在编写过程中,得到了兄弟院校同行们的热情支持和无私帮助,在此表示衷心感谢。由于编者学识水平有限和教学经验不足,加之时间紧迫,书中可能存在不少缺点和错误,我们诚恳希望各位同行和使用本书的教师和同学多提宝贵意见,以便不断总结提高。

编 者

2002 年 11 月

目 录

第一章 血液检查	(1)
第一节 血液一般检查	(1)
一、红细胞计数	(1)
二、血红蛋白测定	(5)
三、白细胞计数	(7)
四、白细胞分类计数	(10)
第二节 血细胞形态学改变	(17)
一、红细胞的形态变化	(17)
二、白细胞的常见病理形态	(20)
三、中性粒细胞的核象变化	(21)
第三节 贫血的其他检查	(22)
一、网织红细胞计数	(22)
二、红细胞比积及相关数值的测定	(24)
三、溶血性贫血的常用实验室检查	(26)
第四节 血流变学检验	(29)
一、血流变学概念及临床应用	(29)
二、红细胞沉降率测定	(31)
三、血液黏滞度测定	(32)
四、红细胞电泳	(34)
第五节 血型鉴定与交叉配血试验	(35)
一、ABO 血型鉴定	(35)
二、A ₁ 和 A ₂ 亚型鉴定	(37)
三、交叉配血试验	(38)
四、Rh 血型鉴定	(39)
五、血型鉴定与交叉配血中存在的问题及克服方法	(40)
第二章 骨髓细胞学检查	(42)
第一节 骨髓细胞学检查的临床应用	(42)
第二节 血细胞的形态学特点	(42)
一、红细胞系统	(42)
二、粒细胞系统	(43)
三、单核细胞系统	(45)
四、淋巴细胞系统	(45)
五、浆细胞系统	(46)
六、巨核细胞系统	(46)
第三节 骨髓像检查及结果分析	(47)

一、骨髓涂片检查	(47)
二、血涂片检查	(48)
三、总结分析骨髓像及填写报告单	(48)
四、正常骨髓像	(48)
第四节 常用的血细胞化学染色	(50)
一、过氧化物酶染色	(50)
二、中性粒细胞碱性磷酸酶染色	(51)
三、非特异性酯酶染色	(52)
四、铁染色	(53)
五、糖原染色	(54)
第五节 常见血液病的血液学特点	(55)
一、贫血	(55)
二、骨髓增生异常综合征	(57)
三、白血病	(59)
第三章 血栓与止血检测	(63)
第一节 血小板检测	(63)
一、血小板计数	(63)
二、血小板相关免疫球蛋白测定	(64)
三、血小板聚集试验	(65)
四、血块收缩试验	(67)
五、血浆 β -血小板球蛋白和血小板第 4 因子测定	(68)
六、血浆血栓烷 B_2 测定	(69)
七、血小板第 3 因子有效性测定	(69)
第二节 出血时间测定	(70)
一、出血时间测定器法	(70)
二、Ivy 法	(70)
三、Duke 法	(71)
第三节 凝血因子检测	(71)
一、活化凝血时间测定	(71)
二、活化部分凝血活酶时间测定	(73)
三、血浆纤维蛋白原测定	(74)
四、血浆凝血酶原时间测定及纠正试验	(75)
五、简易凝血活酶生成试验及纠正试验	(77)
六、凝血因子 VIII 活性测定(一期法)	(79)
七、凝血因子 IX、XI、XII 活性测定(一期法)	(80)
第四节 抗凝血酶 III 含量测定(免疫比浊法)	(81)
第五节 纤溶活性检测	(81)
一、优球蛋白溶解时间	(81)
二、血浆硫酸鱼精蛋白副凝固试验	(82)
三、血浆纤维蛋白(原)降解产物测定(胶乳凝集法)	(83)

四、D-二聚体含量测定(乳胶颗粒凝集法)	(83)
五、血浆凝血酶时间(凝固法)	(84)
第六节 止血凝血检测项目的选择及临床监测	(84)
一、由血管壁和血小板缺陷所致一期止血缺陷试验	(84)
二、由凝血因子缺乏所致的二期止血缺陷试验	(85)
三、纤溶综合征	(85)
四、抗栓治疗的监测	(86)
五、溶栓治疗的监测	(86)
第四章 尿液检验	(88)
第一节 尿液标本的收集与保存	(88)
一、尿液标本的收集	(88)
二、尿液标本的保存	(88)
第二节 尿液一般性状检查	(89)
第三节 尿液化学检查	(92)
一、尿液酸碱度检查	(92)
二、尿液蛋白质检查	(93)
三、尿糖检查	(97)
四、尿酮体检查	(99)
五、尿胆色素检查	(100)
六、乳糜尿试验	(102)
七、 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)测定	(102)
八、尿溶菌酶试验	(105)
九、尿肌红蛋白定性试验	(106)
十、尿血红蛋白定性试验	(107)
第四节 尿沉渣检查	(107)
一、标本的制备	(107)
二、镜检方法	(108)
三、报告方式	(108)
第五节 尿中细胞和管型的形态及其意义	(108)
一、红细胞	(108)
二、白细胞	(110)
三、上皮细胞	(111)
四、管型	(112)
五、结晶	(114)
第六节 泌尿系统常见疾病的主要临床表现和尿液特点	(116)
第七节 尿液成分的自动分析	(117)
一、尿液分析仪原理	(117)
二、尿试带试验方法	(118)
三、干化学检查与显微镜检查	(119)
四、干化学尿液分析的假阴性和假阳性	(119)

第八节 尿沉渣计数	(120)
一、Addis 计数	(120)
二、1h 细胞排泄率	(121)
第九节 尿有形成分自动分析仪检查	(121)
第十节 人绒毛膜促性腺激素检测	(123)
第五章 生殖系统体液检验	(124)
第一节 阴道分泌物检验	(124)
一、标本采集	(124)
二、清洁度检查	(124)
三、寄生虫检查	(124)
四、真菌检查	(125)
第二节 精液检验	(125)
一、标本采集	(125)
二、一般性状检查	(125)
三、显微镜检查	(126)
第三节 前列腺液检验	(127)
一、标本采集	(127)
二、一般性状检查	(127)
三、显微镜检查	(127)
第六章 浆膜腔积液检验	(128)
一、一般性状检验	(128)
二、化学检查	(128)
三、显微镜检查	(129)
四、细菌学检查	(130)
五、漏出液与渗出液鉴别诊断	(130)
第七章 粪便检验	(131)
第一节 标本的收集和要求	(131)
第二节 检验内容	(131)
一、一般性状检验	(131)
二、显微镜检查	(133)
三、化学检查	(135)
第八章 脑脊液检验	(138)
第一节 标本采集	(138)
第二节 检验内容	(138)
一、一般性状检验	(138)
二、化学检查	(139)
第九章 血清免疫球蛋白检测	(144)
第一节 免疫球蛋白 G、A、M 检测	(144)
一、单向免疫扩散法	(144)
二、免疫比浊法(透光率比浊法)	(145)

第二节 免疫球蛋白 D、E 检测	(146)
一、IgD 含量测定(ELISA 法)	(146)
二、IgE 含量测定(ELISA 法)	(147)
第三节 血清 M 蛋白检测	(147)
一、血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳	(147)
二、免疫电泳法	(148)
第十章 血清补体检测	(149)
第一节 总补体溶血活性(CH ₅₀)检测	(149)
第二节 补体 C _{1q} 检测	(150)
第三节 补体 C ₃ 、C ₄ 检测(免疫比浊法)	(151)
第四节 补体旁途径溶血活性(AP-H ₅₀)检测	(152)
第五节 补体旁路 B 因子检测(单向免疫扩散法)	(153)
第六节 补体 C ₃ 裂解物检测(对流免疫电泳法)	(153)
第十一章 细胞免疫检测	(155)
第一节 T 细胞免疫检测	(155)
一、T 细胞花环形成试验	(155)
二、T 细胞转化试验	(157)
三、T 细胞分化抗原测定	(158)
第二节 B 细胞免疫检测	(160)
一、B 细胞膜表面免疫球蛋白测定	(160)
二、红细胞—抗体—补体花结形成试验	(161)
三、B 细胞分化抗原测定	(161)
第三节 自然杀伤细胞免疫检测	(162)
一、自然杀伤细胞活性测定	(162)
二、抗体依赖性细胞介导的细胞毒测定	(163)
第十二章 肝脏病常用的实验室检查	(166)
第一节 蛋白质代谢功能检查	(166)
一、血清总蛋白测定	(166)
二、血清蛋白测定	(167)
三、血清蛋白电泳	(168)
四、血氨测定	(170)
第二节 血清总胆汁酸酶法测定	(171)
第三节 胆红素代谢的检查	(172)
一、血清总胆红素测定	(172)
二、血清结合胆红素与非结合胆红素的测定	(174)
三、尿内胆红素检查	(175)
四、尿内尿胆原检查	(176)
第四节 摄取与排泄功能检查	(176)
第五节 血清酶学检查	(177)

一、血清丙氨酸氨基转移酶测定	(177)
二、血清门冬氨酸氨基转移酶测定	(178)
三、血清碱性磷酸酶测定	(179)
四、 γ -谷氨酰转移酶测定	(180)
第六节 全自动生化分析仪	(181)
第十三章 病毒性肝炎血清标志物检测	(184)
第一节 甲型肝炎病毒标志物检测	(184)
一、甲型肝炎病毒(HAV)IgM 抗体的检测	(184)
二、抗 HAV - IgG 检测	(184)
第二节 乙型肝炎病毒标志物检测	(185)
一、乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)检测	(185)
二、乙型肝炎表面抗体(抗-HBs)检测	(185)
三、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)检测	(185)
四、乙型肝炎病毒 e 抗体(抗-HBe)检测	(185)
五、乙型肝炎病毒核心抗原(HBcAg)检测	(185)
六、乙型肝炎病毒核心抗体(抗-HBc)检测	(186)
七、抗-HBcIgM 检测	(187)
八、抗-HBcIgG 检测	(187)
九、乙型肝炎病毒表面抗原蛋白前 S ₂ 和前 S ₂ 抗体检测	(188)
第三节 丙型肝炎病毒标志物检测	(189)
第四节 丁型肝炎病毒标志物检测	(189)
一、丁型肝炎病毒抗原检测	(190)
二、丁型肝炎病毒抗体检测	(190)
第五节 戊型肝炎病毒标志物检测	(190)
第六节 庚型肝炎病毒标志物检测	(190)
第十四章 感染免疫检测	(192)
第一节 细菌感染免疫检测	(192)
一、血清抗链球菌溶血素“O”试验	(192)
二、伤寒和副伤寒沙门菌免疫测定	(193)
三、流行性脑脊髓膜炎免疫测定	(195)
四、布氏杆菌病凝集试验	(196)
五、结核分支杆菌抗体测定	(196)
六、幽门螺旋杆菌抗体测定	(196)
第二节 病毒感染免疫检测	(197)
一、汉坦病毒抗体 IgM 测定	(197)
二、流行性乙型脑炎病毒抗体 IgM 测定	(198)
三、人巨细胞病毒抗体测定	(198)
四、柯萨奇病毒抗体测定	(198)
五、轮状病毒抗体测定	(199)
六、嗜异性凝集试验及吸收试验	(199)

第十五章 性传播疾病免疫检测	(201)
一、沙眼衣原体 IgG、IgM 抗体测定	(201)
二、梅毒螺旋体抗体检测	(201)
三、人获得性免疫缺陷病毒抗体测定	(204)
第十六章 其他感染免疫检测	(208)
第一节 外斐反应	(208)
第二节 钩端螺旋体抗体测定	(209)
第三节 肺炎支原体的血清学检测	(209)
第四节 寄生虫感染免疫检测	(211)
一、ELISA 法检测弓形虫抗体	(211)
二、日本血吸虫抗体测定	(211)
三、囊虫抗体测定	(213)
四、疟原虫抗体和抗原测定	(214)
第十七章 肿瘤标志物检测	(215)
第一节 蛋白质类肿瘤标志物检测	(215)
一、甲种胎儿球蛋白测定	(215)
二、癌胚抗原测定	(216)
三、癌抗原 125 测定	(217)
四、组织多肽抗原测定	(218)
五、癌抗原 15-3 测定	(218)
六、前列腺特异抗原测定	(218)
七、鳞状上皮细胞癌抗原测定	(219)
第二节 糖脂类肿瘤标志物检测	(219)
一、癌抗原-50 测定	(219)
二、癌抗原 72-4 测定	(219)
三、糖链抗原 19-9 测定	(219)
四、癌抗原 242 测定	(220)
第三节 酶类肿瘤标志物检测	(220)
一、前列腺酸性磷酸酶测定	(220)
二、神经元特异性烯醇化酶测定	(220)
三、异常凝血酶原测定	(221)
四、 α -L-岩藻糖苷酶测定	(221)
第十八章 自身免疫检测	(222)
第一节 类风湿因子测定	(222)
第二节 抗核抗体检测	(223)
一、抗核抗体检测	(223)
二、抗脱氧核糖核酸抗体测定	(224)
三、可提取性核抗原多肽抗体谱测定	(224)
第三节 组织和细胞抗体检测	(225)
一、抗线粒体抗体测定	(225)

二、抗甲状腺球蛋白抗体测定	(225)
三、抗甲状腺微粒体抗体测定	(227)
四、抗乙酰胆碱受体抗体测定	(227)
五、抗平滑肌抗体测定	(227)
第十九章 其他免疫检测	(228)
第一节 本周蛋白测定	(228)
一、热沉淀试验	(228)
二、电泳分析法	(228)
第二节 循环免疫复合物检测	(229)
一、聚乙二醇(PEG)沉淀法	(229)
二、抗补体法	(230)
三、C _{1q} 结合法	(231)
第三节 冷球蛋白检测	(231)
第四节 丙种反应性蛋白检测	(232)
第二十章 肾脏病常用的实验室检查	(234)
第一节 肾小球功能检查	(234)
一、内生肌酐清除率测定	(234)
二、菊粉清除率测定	(235)
三、血清肌酐测定	(236)
四、血清尿素氮测定	(239)
五、血清尿酸测定	(240)
六、血 β_2 -微球蛋白的测定	(241)
第二节 肾小管功能试验	(242)
一、远端肾小管功能试验	(242)
二、近端肾小管功能试验	(243)
第二十一章 血糖及其代谢物检测	(250)
第一节 空腹葡萄糖检测	(250)
第二节 葡萄糖耐量试验	(251)
第三节 血清胰岛素检测和胰岛素释放试验	(252)
第四节 血清C-肽检测	(253)
第五节 糖化血红蛋白检测	(254)
第二十二章 血清脂质和脂蛋白检测	(256)
第一节 血清脂质检测	(256)
一、血清总胆固醇(TC)测定	(256)
二、血清甘油三酯(TG)测定	(257)
第二节 血清脂蛋白检测	(259)
一、血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定	(259)
二、血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测定	(260)
三、ELISA法测定脂蛋白(a)	(262)
四、血清脂蛋白电泳测定	(263)

第三节 血清载脂蛋白检测	(264)
一、ELISA 法测定血清 ApoA ₁ 和 ApoB	(264)
二、免疫透射比浊法测定血清 ApoA ₁ 和 ApoB	(265)
三、免疫火箭电泳法测定血清 ApoA ₁ 和 ApoB	(266)
第二十三章 血清电解质及其他检测	(269)
第一节 血清电解质检测	(269)
一、血钾测定	(269)
二、血钠测定	(274)
三、血钙测定	(274)
四、血氯测定	(277)
五、血无机磷测定	(279)
六、血镁测定	(282)
第二节 微量元素测定	(285)
一、血清锌测定	(285)
二、血清铜测定	(286)
第三节 血清铁及其代谢物检测	(288)
一、血清铁测定	(288)
二、总铁结合力测定	(289)
三、转铁蛋白饱和度测定	(290)
四、转铁蛋白测定	(290)
五、铁蛋白测定	(291)
第四节 血浆(清)碳酸氢根及总二氧化碳测定	(292)
一、电极法	(292)
二、酶法	(293)
三、滴定法	(294)
第二十四章 心肌酶和心肌蛋白检测	(296)
第一节 心肌酶检测	(296)
一、血清肌酸激酶(CK)测定	(296)
二、肌酸激酶同工酶测定	(300)
三、肌酸激酶异型(CK-MB)测定	(303)
四、乳酸脱氢酶测定	(303)
五、乳酸脱氢酶同工酶测定	(307)
第二节 心肌蛋白检测	(311)
一、肌钙蛋白 T 测定	(311)
二、肌钙蛋白 I 测定	(311)
三、肌红蛋白测定	(311)
四、脂肪酸结合蛋白测定	(311)
第二十五章 其他血清酶检测	(313)
第一节 酸性磷酸酶检测	(313)
第二节 血清淀粉酶检测	(314)

第三节 血清脂肪酶检测	(317)
第四节 胆碱酯酶检测	(318)
第五节 超氧化物歧化酶检测	(322)
第二十六章 内分泌激素检测	(325)
第一节 甲状腺和甲状旁腺激素检测	(325)
一、血清 T_3 、 T_4 及 TSH 测定	(325)
二、血清反 T_3 测定	(330)
三、血清甲状腺结合球蛋白测定和 T_3 摄取试验	(330)
四、甲状旁腺激素测定	(331)
第二节 肾上腺皮质激素检测	(331)
一、尿 17-羟皮质类固醇和 17-酮皮质类固醇测定	(331)
二、血皮质醇和尿游离皮质醇测定	(335)
第二十七章 胃液及十二指肠引流液检验	(336)
第一节 胃液检验	(336)
一、标本采集	(336)
二、一般性状检验	(336)
三、化学检查	(337)
四、显微镜检查	(339)
第二节 十二指肠引流液检验	(339)
一、十二指肠液和胆汁的引流	(339)
二、一般性状检验	(340)
三、显微镜检查	(340)
四、细菌学检查	(341)
第三节 临床应用	(342)
第二十八章 流式细胞仪	(343)

第一章 血液检查

第一节 血液一般检查

血液一般检查(general examination of blood)通常指对外周血中两种主要有形成分——红细胞、白细胞的数量和质量(形态)所进行的化验检查,包括:红细胞计数(RBC)、血红蛋白测定(Hb)、白细胞计数(WBC)及白细胞分类计数(DC)。在做白细胞分类计数的同时注意观察血涂片中红细胞和白细胞的形态有无异常;并要注意有无异常细胞(如白血病细胞)及血小板的形态和分布情况等。

一、红细胞计数

红细胞计数(red blood cell count)系用等渗性稀释液将血液进行定量稀释后,以改良 Neubauer 计数板借助显微镜或血细胞分析仪对其做计数检查,求得单位容积(L)血液中的红细胞数。

(一)显微镜计数法

〔原理〕用等渗稀释液将血液稀释,充入计数池中,置显微镜下计数,求得每升血液内的红细胞数。

〔器材〕

(1)显微镜:普通生物显微镜。

(2)微量吸管:血红蛋白吸管是特制两刻度($10\mu\text{L}$ 和 $20\mu\text{L}$)吸管,于使用前必须用水银称量法校准容积,经消毒后可重复使用。此种吸管虽可减少系统误差,增加批内和批间的可重复性,但存在患者间交叉感染的可能性。所以,目前推荐使用价格较低的定量($10\mu\text{L}$ 和 $20\mu\text{L}$ 两刻度)毛细玻璃吸管,属一次性使用,要一人一根。使用前最好校准容积。

(3)计数板:当前世界上一般均使用改良 Neubauer 计数板。此种计数板是一优质厚玻璃板制成,每块计数板又分为两个相同的计数池。每个计数池的各边长约为 3mm ,并被精密地刻画成 9 个大方格,每个大方格的长宽均为 1.0mm ,其面积为 $1\text{mm} \times 1\text{mm} = 1\text{mm}^2$ 。四角的每个大方格又划成 16 个或 25 个中方格,为计数白细胞用;中间的一个大方格用双线划成 25 个中方格,其中四角的 4 个及中间 1 个共 5 个中方格为计数红细胞和血小板用。为了方便计数,每个中方格又用单线划成 16 个小方格,总计为 400 个小方格。如将盖玻片置于计数池两侧支柱上,盖玻片与计数池之间深度为 0.1mm ,故每个大方格的容积为 $1\text{mm}^2 \times 0.1\text{mm} = 0.1\text{mm}^3$ (即 $0.1\mu\text{L}$)(图 1-1、图 1-2、图 1-3)。

(4)盖玻片:为特制的血细胞计数专用盖玻片,要求表面平整光滑,且有一定重量,以不被细胞悬液浮起。通常规格是 $24\text{mm} \times 20\text{mm} \times 0.6\text{mm}$ 。

〔试剂〕红细胞稀释液(Hayem 稀释液):

取氯化钠(NaCl) 1.0g ,硫酸钠($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 5.0g ,氯化高汞(HgCl_2) 0.5g ,以蒸馏水溶解并稀释至 200mL 。过滤后使用。

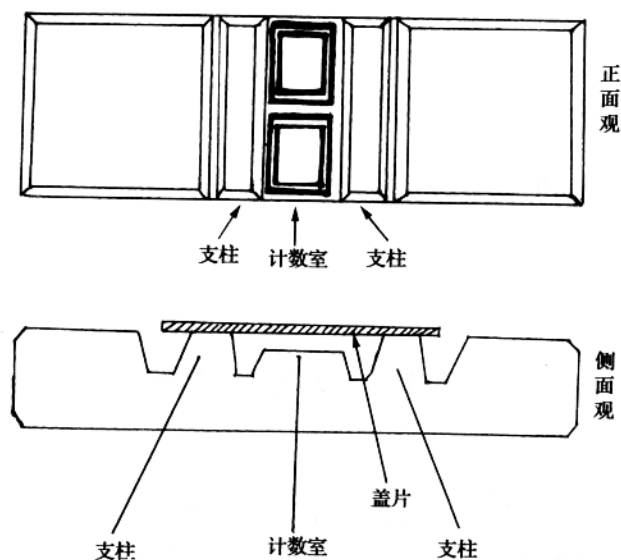


图 1-1 计数板的正面观和侧面观

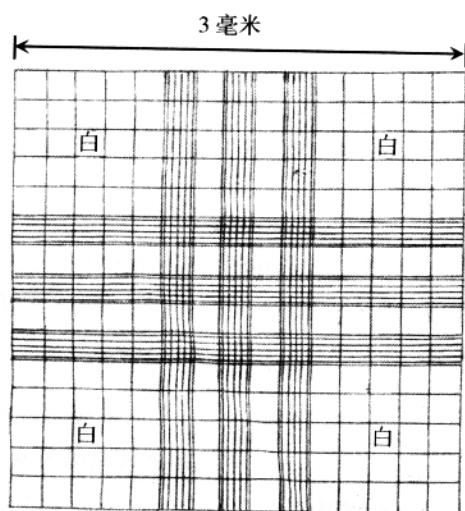


图 1-2 计数池

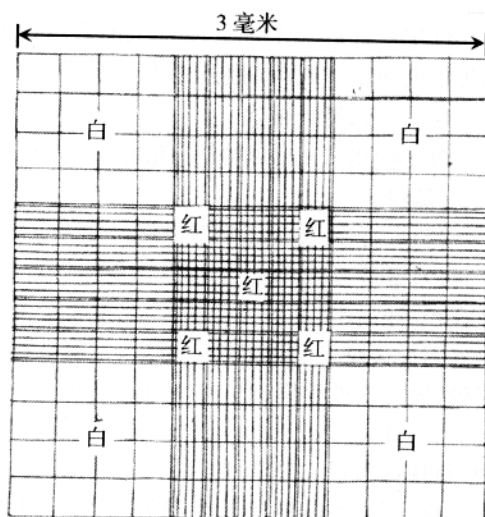


图 1-3 计数池

其中氯化钠的作用是调节渗透压,硫酸钠可提高比密度防止细胞聚集,氯化高汞为防腐剂。本试剂的缺点是如遇高球蛋白血症患者,由于球蛋白沉淀使红细胞容易凝结。

在无上述稀释液时,普通生理盐水或加 1% 甲醛的生理盐水液均可做红细胞稀释液临时使用。

[操作]

(1) 取 12mm × 75mm 试管 1 支,加入稀释液 1.99mL。

(2) 采血:首先用手指轻轻按摩采血部位(中指、无名指尖或耳垂)使其自然充血,再用体积分数(φ)为 0.75 的乙醇棉球消毒局部皮肤,待乙醇挥发后,用一次性消毒采血针,迅速刺入 2 ~ 3mm,以

稍加挤压血液能流出为宜,切忌用力挤压,以免混入大量组织液,使血液稀释或促使血液快凝而影响检验结果。用消毒干棉球(或消毒软纸)拭去第一滴血后,再用定量毛细吸管准确吸取血液 $10\mu\text{L}$,擦去管尖外部余血后,将吸管插入小试管稀释液的底部,轻轻将血放出,并用上清液反复洗数次(3次),以洗净吸管内残余血,摇动试管混匀。

(3)充液:将上述试管快速振荡约 30s 后,用吸管吸取少量混匀的红细胞悬液,充入一已擦净盖玻片和计数池,并加上盖玻片的计数池内,静置 2~3min,待红细胞全部下沉后进行计数。

(4)用低倍镜(10×10)计数中央大方格内四角和正中五个中方格内的红细胞数。计数时应按一定顺序,对压线细胞应按数上不数下,数左不数右的原则计数(图 1-4)。

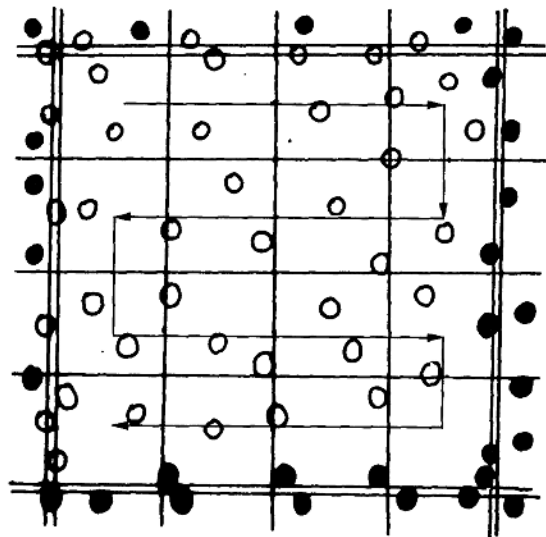


图 1-4 红细胞计数规则

[计算]

5 个中方格内的 RBC 数 $\times 5 \times 10 \times 200 \times 10^6 = \text{RBC 数/L}$, 或 5 个中方格内 $\text{RBC} \div 100 \times 10^{12} = \text{RBC 数/L}$

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 $1.0\mu\text{L}$ 。

$\times 200$: 血液的稀释倍数。

$\times 10^6$: 由 μL 换算成 L。

[报告方式] 要求报告 $\text{RBC } \Delta \cdot \Delta \times 10^{12} / \text{L}$

[注意事项]

(1)操作要迅速,避免血凝,若同时做红、白细胞计数,在取血时要先取红细胞标本,再取白细胞标本,以防酸混入使红细胞破坏。

(2)充池前一定要充分混匀(30s),充池后应静置 2~3min,待红细胞完全沉于池底后再计数,否则结果偏低。

(3)各中方格内的红细胞数应相近,健康成人每中方格内红细胞数约为 80~100 个,若格与格

之间细胞相差悬殊(>均值±10%)应重新混匀、充池再进行计数。

(4)本稀释液中白细胞未被破坏,但因正常人血液中红、白细胞之比约为750:1,加之血液已稀释200倍,故白细胞干扰甚微,但遇白血性白血病人则影响很大,要进行校正(如上计数的红细胞减去白细胞计数所得数值,是真正的红细胞计数结果)。

(二)血细胞分析仪计数法(电阻抗法)

〔原理〕血细胞经稀释(RBC计数应等渗稀释液)混悬于稀释液中,电路接通后,两电极经微孔形成电流,血细胞与稀释液相比是相对不良导体,当每个血细胞经过微孔时,与取代等体积的稀释液,在电路上形成一短暂的电阻,在瞬时产生电压的变化,而呈现一微弱的脉冲信号,信号经放大,再由检测器消除假信号,然后将正确放大的脉冲信号传送到计数器中计数(图1-5)。

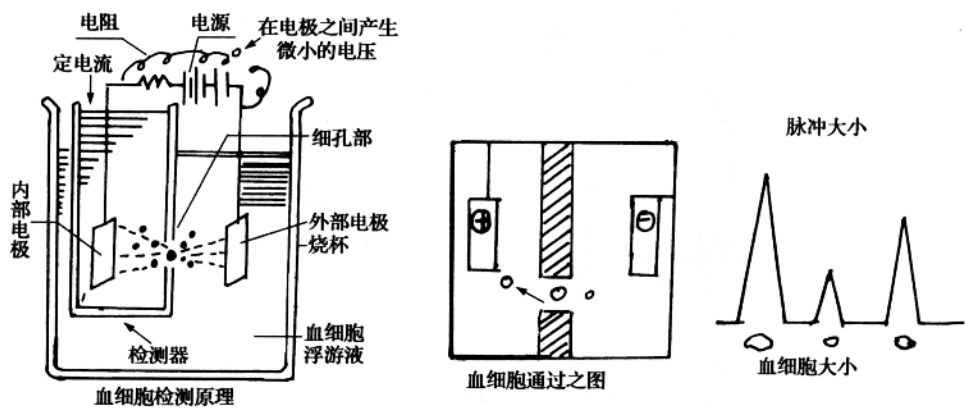


图1-5 电阻抗法血细胞计数原理

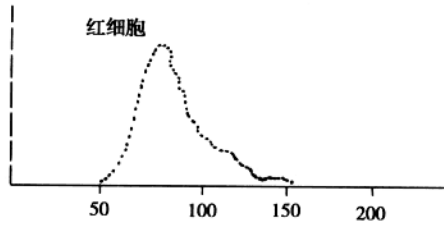


图1-6 正常RBC直方图

红细胞通过小孔时,形成相应大的脉冲,脉冲的多少相当于红细胞的数目,脉冲的高度代表单个细胞的体积。脉冲高度叠加经换算即得出红细胞的比容(Hct)。根据所测单个红细胞体积及相同体积细胞占总体的比例,可打印出红细胞体积分布直方图。

正常RBC直方图为一正态分布曲线图。正常人峰值在80~100fL(图1-6)。

缺铁性贫血时,峰高左移,峰底变宽,显示小细胞不均一性。 β -珠蛋白合成障碍时,峰左移,底窄呈小细胞均一性。铁粒幼性贫血时,呈低色素和正色素性“双形”改变。

由于 V_{H2} 、叶酸缺乏引起的巨幼细胞性贫血,波峰右移,峰底增宽,显示大细胞不均一性。如经治疗,正常RBC释放入血,病理RBC未完全消失,呈现双峰(图1-7)。

〔操作〕严格按仪器说明书进行。

〔参考值〕

成年男性: $(4.0 \sim 5.5) \times 10^{12}/L$

成年女性: $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/L$

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

〔临床意义〕见血红蛋白测定。