

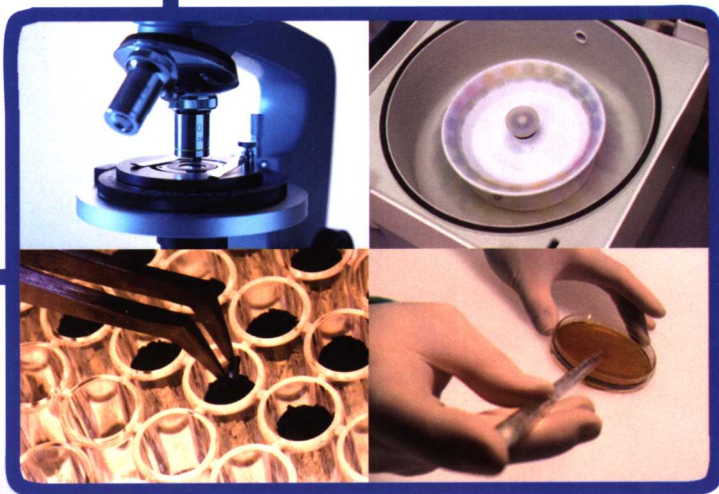
21

世纪高等医药院校教材

供临床医学、预防医学、基础医学、口腔医学、药学、影像学、麻醉学、护理学、医学工程、公共卫生管理等专业使用

实验诊断学基础教程

杨万云 万滋衡 罗新茂 主编



科学出版社
www.sciencep.com

21 世纪高等医药院校教材

供临床医学、预防医学、基础医学、口腔医学、药学、影像学、
麻醉学、护理学、医学工程、公共卫生管理等专业使用

实验诊断学基础教程

主编 杨万云 万滋衡 罗新茂

科学出版社

北京

内 容 简 介

《实验诊断学基础教程》一书是编者根据实验诊断学教学大纲的要求,结合普通高等教育“十五”国家级规划教材《诊断学》第6版中实验诊断学的内容,参阅了大量相关文献资料编写而成,本书介绍了临床检验的新进展,且着重介绍了实验诊断学课程常用实验项目的检测原理、实验方法、参考值、临床意义及注意事项,是高等医药院校教师及临床医师带教、医学生学习实验诊断学课程及实习时使用的教材。此外,本教材中的每一个实验项目采用了汉英双语编写,并在每章后附有适量的复习题,为学生能尽快适应临床,更快、更准确地书写和阅读检验报告单,高效率地复习所学课程内容,圆满地完成在校学习任务,并协助通过国家执业医师考试提供帮助。

图书在版编目(CIP)数据

实验诊断学基础教程 / 杨万云, 万滋衡, 罗新茂主编. —北京: 科学出版社, 2006

21世纪高等医药院校教材

ISBN 7-03-017836-X

I. 实… II. ①杨…②万…③罗… III. 实验室诊断-医学院校-教材
IV. R446

中国版本图书馆CIP数据核字(2006)第094313号

责任编辑: 夏 宇 李国红 / 责任校对: 林青梅

责任印制: 刘士平 / 封面设计: 黄 超

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2006年8月第一版 开本: 787×1092 1/16

2006年8月第一次印刷 印张: 11

印数: 1—5 000

字数: 248 000

定价: 19.00元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈环伟〉)

《实验诊断学基础教程》编者名单

主 编 杨万云 万滋衡 罗新茂
副主编 熊永革 黎 荣 卢葵花
编 者 (以姓氏笔画为序)
万滋衡 卢葵花 杨万云
杨万桂 杨颖乔 罗新茂
钱 冉 熊永革 黎 荣
镇海涛

前 言

实验诊断学(laboratory diagnostics)是一门将临床医学和实验室技术相结合,在实验室内通过各种项目的检验,为疾病预防、诊断、疗效和预后判断提供重要信息的学科,本学科涉及分子生物学、细胞生物学、微生物学、免疫学、化学、生物化学、血液学、生理学、病理学、寄生虫学及数理统计、仪器学等多门医学基础学科,也与内、外、妇、儿、传染等各个临床学科有关,是一门与多学科相关的边缘性学科,医学生只有掌握了这门课程,才能为以后临床医生的预防和医疗工作储备扎实的基本功,造福于患者。为此,编者根据实验诊断学教学大纲的要求,结合普通高等教育“十五”国家级规划教材《诊断学》第6版中实验诊断学的内容,参阅了大量相关文献资料,编写成了《实验诊断学基础教程》一书,供高等医药院校教师及临床医师带教、医学生学习实验诊断学课程及实习时使用。

本书内容基本上按第6版《诊断学》教材中实验诊断学的内容顺序编写,同时遵循第6版《诊断学》所说的“结合实践运用于临床”和“尽量介绍目前医学检验中进展的项目”的教材内容选择原则,突出临床上常用的医学检验内容,向医学生介绍当前最新的检验方法、检验参考值及临床意义。通过本书的学习,并结合实验诊断学理论课的知识,使学生在临床诊疗活动中具有正确选择实验项目,正确留取检验标本,结合相关临床资料合理解释检验结果的能力。

近年来,实验诊断学的教学内容随着科学技术的发展,新型仪器、实验项目及方法不断更新,特别是临床检验工作中各种进口自动化仪器的广泛使用,使得临床检验报告单项目符号几乎全用英文,为了使学学生能尽快适应临床工作,更快、更准确地书写和阅读检验报告单,本教材中的每一个实验项目采用了汉英双语编写,即在每个项目名称第一次介绍时,其后均附有英文名称及缩写。此外,为了更好地顺应医学教育发展和改革的需要,指导学生高效率地复习所学课程,圆满地完成在校学习任务,并顺利通过国家执业医师考试,本教材每章内容后附有适量的复习题,供学生复习考试时用。

尽管编者在编写过程中认真、努力,但错误和疏漏之处在所难免,敬请广大师生和读者批评指正,以便再版时修正。本书的编写、出版得到了有关院领导、兄弟院校专家和专业人员的鼎力相助和指导,对他们的无私奉献,在此致以诚挚的谢意!

杨万云

2006年6月

目 录

第一章 血液一般检验	(1)
第一节 血液常规检查	(2)
一、毛细血管采血法	(2)
二、红细胞计数(red blood cell count, RBC)	(3)
三、血红蛋白(Hb)测定(hemoglobin assay)	(5)
四、白细胞计数(white blood cell count, WBC)	(7)
五、白细胞分类计数(white blood cell differential count, DC)	(8)
第二节 血液一般检查的其他项目检查	(11)
一、血细胞比容(hematocrit, Hct)测定	(11)
二、网织红细胞(reticulocyte, Ret)计数	(12)
三、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)测定	(13)
第三节 血液分析仪临床应用	(14)
一、电阻型血液分析仪检测原理	(15)
二、样本的采集和保存	(16)
三、电阻抗型血液分析仪常测参数	(17)
四、病理因素对血液分析仪使用的影响	(19)
复习题	(20)
第二章 骨髓细胞学检查	(26)
第一节 适应证及标本的采制	(26)
第二节 骨髓涂片的显微镜检查	(27)
一、显微镜检查	(27)
二、骨髓细胞形态学检查的意义	(28)
三、正常骨髓细胞的形态学特点	(28)
四、正常参考值	(30)
第三节 常用血细胞化学染色	(33)
一、过氧化物酶(peroxidase stain, POX)染色	(33)
二、中性粒细胞碱性磷酸酶(neutrophil alkaline phosphatase, NAP)染色	(34)
三、糖原染色(glucogen stain)	(35)
四、铁染色(iron stain)	(37)
五、免疫细胞化学染色	(38)
复习题	(39)
第三章 出血、血栓与止血检测	(43)
第一节 一期止血检测	(43)

一、血小板计数(platelet count, PC 或 Plt)	(43)
二、血小板聚集试验(platelet aggregation test, PAgT)	(44)
三、毛细血管抵抗力试验(capillary resistance test, CRT)	(45)
四、出血时间测定(bleeding time, BT)	(45)
第二节 二期止血测定	(46)
一、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)	(46)
二、血浆凝血酶原时间(prothrombin time, PT)	(47)
复习题	(47)
第四章 排泄物、分泌物及体液检验	(51)
第一节 尿液一般检验	(51)
一、理学检验	(51)
二、化学检验	(54)
三、显微镜检验	(58)
四、尿液分析仪的临床应用	(62)
第二节 粪便检验	(66)
一、粪便一般检验	(66)
二、粪便隐血试验(occult blood, OB)	(68)
第三节 脑脊液检查	(69)
一、理学检查	(69)
二、化学检查	(70)
三、显微镜检查	(73)
第四节 浆膜腔积液检查	(74)
一、理学检查	(75)
二、化学检查	(75)
三、显微镜检查	(75)
第五节 精液检查	(76)
一、理学检查	(77)
二、显微镜检查	(77)
三、精子活动力(sperm motility)	(78)
四、精子活动率(sperm activate rate)	(78)
五、精子计数(sperm count)	(78)
六、精子形态	(79)
复习题	(79)
第五章 肾脏病常用的实验室检查	(89)
第一节 肾小球功能的检查	(89)
一、内生肌酐清除率测定(endogenous creatinine clearance rate, Ccr)	(89)
二、血清尿素的测定(determination of urea)	(90)
三、血清肌酐(serum creatinine, Scr)的测定	(91)
第二节 肾小管功能的检查	(92)

一、莫氏(Mosenthal)浓缩稀释试验(concentration and dilution test)	(93)
二、酚红排泌试验(phenol sulfonphothalein excretion test)	(93)
复习题	(95)
第六章 肝脏病的实验室检查方法	(97)
第一节 血清蛋白测定	(97)
一、血清总蛋白(serum total protein, TP)测定	(97)
二、血清白蛋白(albumin, A)测定	(98)
第二节 血清胆红素的测定	(99)
第三节 血清酶测定	(101)
一、血清丙氨酸氨基转移酶(alaninetransamln, ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartatettransamm, AST)测定	(101)
二、血清碱性磷酸酶(alkalinephosohatase, ALP)测定	(104)
三、血清 γ -谷氨酰转氨酶(γ -glutamyl transferase, γ -GT 或 GGT)测定	(106)
复习题	(107)
第七章 临床常用生物化学检查	(112)
第一节 血糖测定	(112)
第二节 血脂和脂蛋白类检查	(113)
一、血清总胆固醇(TC)测定(measurement of total cholesterol, TC)	(114)
二、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein, HDL)测定	(115)
三、血清三酰甘油 TG 测定(measurement of triglyceride)	(116)
第三节 血清电解质检测	(117)
一、钾(serum potassium, K)测定	(117)
二、血清钠(serum sodium, Na ⁺)	(119)
三、氯测定(dertermination of chloride, CL)	(119)
第四节 血气分析	(120)
一、血酸碱度(pH)	(121)
二、血二氧化碳分压(partial pressure of carbon dioxide, PCO ₂)	(122)
三、氧分压(partial pressure of oxygen, PO ₂)	(122)
第五节 心肌损伤的生化标志物	(123)
一、肌酸激酶测定(creatine kinase, CK)	(123)
二、肌酸激酶同工酶测定(CK isoenzymes, CKiso)	(125)
三、同工酶活力测定	(126)
四、心肌蛋白测定	(126)
复习题	(127)
第八章 临床常用免疫学检查	(135)
第一节 免疫球蛋白检测	(135)
第二节 肿瘤标志物检测	(136)
一、甲种胎儿球蛋白(alpha fetoprotein, AFP)	(136)
二、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)	(136)



第三节 类风湿因子检测	(137)
第四节 丙种反应性蛋白检测	(138)
复习题	(138)
第九章 病原体检查	(141)
第一节 病毒性肝炎标志物检查	(141)
一、anti-HAV-IgM 检测	(141)
二、乙型肝炎的血清学检测	(142)
三、anti-HCV 检测(antibody of HCV detection)	(146)
第二节 细菌感染免疫检测	(147)
一、抗链球菌溶血素“O”(antistreptolysin“O”, ASO)测定	(147)
二、肥达反应(Widal reaction)	(148)
三、抗结核分枝杆菌抗体的检测	(150)
第三节 性传播疾病检测	(151)
一、性传播性疾病免疫学检测	(151)
二、性传播疾病病原体检测	(158)
复习题	(160)
第十章 聚合酶链反应	(163)
第一节 乙型肝炎病毒检测	(163)
第二节 肺炎支原体检测	(163)
复习题	(164)
选择题参考答案	(165)

第一章 血液一般检验

血液由血细胞和血浆组成。血细胞包括红细胞 (red blood cell, RBC)、白细胞 (white blood cell, WBC) 和血小板 (platelet, Plt); 血浆是复杂的胶体溶液, 内含各种血浆蛋白 (包括抗体、酶、凝血因子等活性物质)、营养成分、无机盐、激素、维生素和代谢产物等成分。血液在循环系统中不断地流动, 与全身各系统的组织器官均有密切的联系, 参与机体的功能活动, 维持正常的新陈代谢和内外环境的平衡。在病理情况下, 血液各成分质和量的改变不但能反映造血系统的疾患, 而且能直接或间接地提示全身或局部组织器官的病变。因此, 血液检验不仅是原发性造血系统疾病的诊断、疗效观察和预后判断的主要依据, 而且还可为引起血液继发性病理改变的其他系统疾病的诊治提供重要的信息, 是检验医学最重要也是最基本的内容之一。

本章主要介绍血液一般检验 (general examination of blood) 的基本概念、临床应用和近年来的研究进展。血液一般检验的传统概念 (即血液常规检查) 指针对血液中两种主要有形成分——红细胞的量和质进行的化验检查, 包括红细胞计数 (red blood cell count, RBC)、血红蛋白测定 (hemoglobin estimation, Hb)、白细胞计数 (white blood cell count, WBC) 和白细胞分类计数 (WBC differential count, DC) 等四个检验项目。近年来随着血细胞分析仪的广泛应用, 实验室能方便、快速地为临床提供更多更可靠的实验指标, 为此血液一般检验的概念也演变为对血液中全部的有形成分, 即对所有血细胞的量和质进行的检查, 具体的项目包括: ① 红细胞分析参数, 即 Hb、RBC、Hct (hematocrit, 血细胞比容)、MCV (mean corpuscular volume, 平均红细胞容积)、MCH (mean corpuscular hemoglobin, 平均红细胞血红蛋白含量)、MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration, 平均红细胞血红蛋白浓度)、RDW (red blood cell volume distribution width, 红细胞体积分布宽度)、Ret (reticulocyte count, 网织红细胞计数) 及 RBC morphology (红细胞形态学) 检查等; ② 白细胞分析参数, 即 WBC、DC (包括仪器计数得出的各类白细胞的百分率和绝对值以及用显微镜计数得出的 DC 结果) 和 WBC morphology (白细胞形态学) 检查等; ③ 血小板分析参数, 即 PLT (platelet count, 血小板计数)、MPV (mean platelet volume, 血小板平均体积)、Pct (plateletcrit, 血小板比容)、PDW (platelet volume distribution width, 血小板体积分布宽度) 和 plt morphology (血小板形态学) 检查等。此外, 将反映血液中红细胞与血浆成分相互作用关系的红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR) 也归入血液一般检验的范畴。

血液一般检验结合临床资料与其他检查 (如骨髓细胞学检查、X 线、B 超、CT 等) 结果, 进行综合分析后能起到下述作用:

1. 为原发性造血系统疾病的诊断、疗效观察和预后判断提供依据, 如各类白血病。
2. 为非造血系统疾病的诊断和治疗提供依据, 如类白血病反应。

第一节 血液常规检查

血液常规检查是指对血液中两种主要成分——红细胞和白细胞的量和质进行的化验检查,包括红细胞计数(red blood cell count, RBC)、血红蛋白测定(hemoglobin assay, Hb)、白细胞计数(white blood cell count, WBC)和白细胞分类计数(WBC differential count, DC)等四个检验项目。

一、毛细血管采血法

【要求】 通过实验初步掌握毛细血管采血技术。

【应用范围】 用量小于0.1ml的检验项目,如各种血细胞计数、血红蛋白测定等。

【仪器、试剂】

1. 一次性采血针。
2. 一次性定量采血管及橡胶乳头。
3. 灭菌干棉球或棉签。
4. 75%酒精棉球。

【方法】

1. 酒精棉球消毒病人无名指头。
2. 待酒精挥发、皮肤干燥后,左手拇、食指固定病人无名指端,暴露外侧,右手持采血针,迅速穿刺病人指端外侧。

3. 擦去第一滴血,以左手拇、食指,右手无名指围绕在穿刺点周围,轻压,流出足够使用的血量,再以右手所持的一次性定量采血管采集血液至需要量。

4. 擦净采血管顶端外周的血液,并尽快将采血管插入已备妥的细胞稀释液或氰化高铁法的血红蛋白转化液中,挤出血液至管底部,勿起泡,并利用上清液洗涤采血管3次,混匀。

如制作血液涂片,则将采集的血液于载物玻片的一端备用。

5. 如所需血量较多,亦可以用肝素处理过的毛细管采集血液。
6. 采血完毕,以消毒干棉球压迫伤口,帮助止血。

【注意事项】

1. 针刺深度应足够(2~4mm),不可强行挤压采血,以免组织液混入,使标本被稀释。
2. 若同时做多项血液学检查,应先采集血小板计数用标本,然后依次采集红细胞计数、白细胞计数、血红蛋白测定和白细胞分类计数所需的标本。
3. 采集发热病人的血液穿刺要浅些,末梢循环衰竭病人穿刺要深些。
4. 婴儿患者可采用拇趾或足根部作穿刺点。
5. 我国为乙型肝炎高发地域,在医院内感染中,经由采血、输血而造成乙型肝炎传播者占相当大比例,此外,其他病原微生物亦可借此途径造成传播。因此,采血时必须做到一人一针一管,以防院内感染。

二、红细胞计数(red blood cell count, RBC)

RBC有直接计数法和电子血球仪计数法,这里介绍直接计数法。

【要求】 掌握血细胞计数板的构造、使用方法及红细胞计数的参考值、临床意义。

【原理】 以红细胞稀释液将血液定量稀释后,充入改良 Neubauer 计数室内,显微镜下计数规定范围内的细胞,换算成每升血液内的红细胞数。

【仪器、试剂】

1. 改良 Neubauer 血细胞计数板及专用盖片 血细胞计数板为一特制的长方形硬质玻璃板,中间 1/3 部分具有“H”形槽沟,横槽沟上下的平台部分各深 0.1mm,成为两个计数池。每池有一个计数区域,它分 9 个大方格,每个大方格的面积为 1mm^2 ,四角的大方格又用单线划分为 16 个中方格,供白细胞计数时用。中央的大方格用双线划分为 25 个中方格,而每个中方格又用单线划分为 16 个小方格,共计 400 个小方格,供红细胞计数时用,计数池上覆以特制的盖片(厚度 0.4mm,表面平直,质地较硬)后构成计数室,每个大方格的体积为 $1\text{mm} \times 1\text{mm} \times 0.1\text{mm} = 0.1\text{mm}^3$ 。如图 1-1、图 1-2 所示:

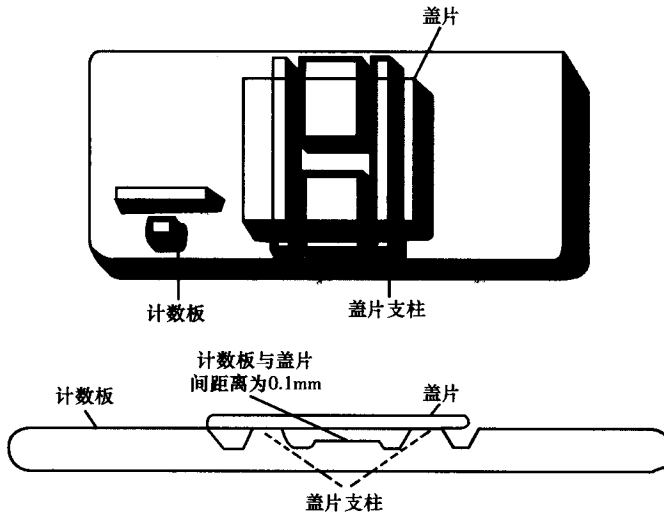


图 1-1 血细胞计数板正、侧面图

2. 定量采血管,一次性采血针,2ml 移液管、中号试管、尖吸管及橡皮乳头等。

3. 光学显微镜。

4. 医用消毒器具。

5. 红细胞稀释液(甲醛枸橼酸盐溶液) 枸橼酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, AR)30g, 甲醛溶液(Formalin)10ml, 蒸馏水加至 1000ml, 先用蒸馏水溶解枸橼酸钠, 再加蒸馏水至 1L、混匀、过滤备用。

【方法】

1. 以刻度吸管吸取红细胞稀释液 2ml 加入中号试管中。

2. 按照毛细血管采血法的要求采血 $10\mu\text{l}$ 加入上述稀释液中, 立即轻轻震荡混匀。

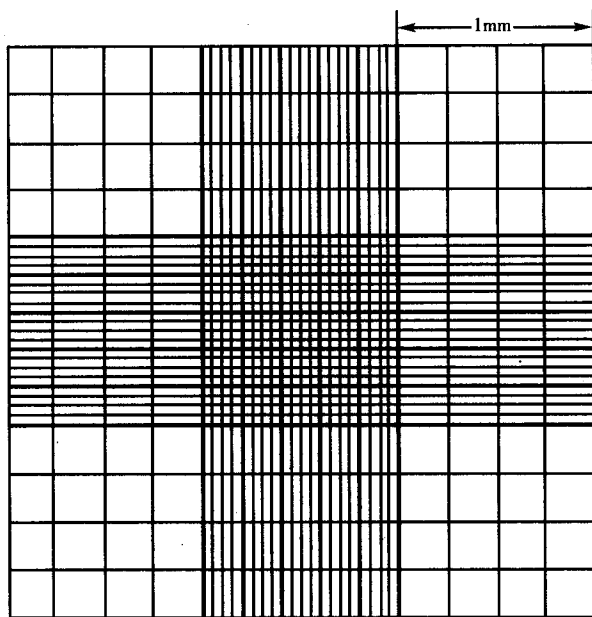


图 1-2 计数室划线

3. 将计数板平放于显微镜载物台上,并用推压法将盖片置于支柱上,以构成对称的两个计数室。

4. 充分混匀红细胞悬液后,用尖吸管吸取细胞悬液充入计数室内,水平静置 2~3min 后计数。

5. 计数时先用低倍镜找出红细胞计数区域,若红细胞分布均匀即可于低倍镜下计数。计数中央大方格的 4 个角和中央共计 5 个中方格的数,计数时压边线细胞应遵循“取两邻边,舍两邻边”的原则,对各中方格内细胞计数按图 1-3 所示进行。

6. 计数完毕后及时用绸布(或干净纱布)清洁计数板及盖片,妥善保存。之后计算红细胞计数结果: $RBC/L = R_{\text{总}} \times 5 \times 10 \times 200 \times 10^6$

式中: $R_{\text{总}}$ 5 个中方格红细胞总数。 $\times 5$ 将 5 个中方格的数换成一个大方格的数,即 1mm^2 内的细胞数。 $\times 10$ 换算成 1mm^3 细胞数。 $\times 200$ 血液的稀释倍数。 $\times 10^6$ 换算成每升血液中的细胞数。

【报告方式】 RBC $\Delta \cdot \Delta \Delta \times 10^{12}/L$

【参考值】 成人:男性 $(4.0 \sim 5.5) \times 10^{12}/L$, 女性 $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/L$; 新生儿: $(6.0 \sim 7.0) \times 10^{12}/L$; 儿童: $(3.8 \sim 4.8) \times 10^{12}/L$ 。

【临床意义】

1. 减少 见于各种原因所致的贫血,如骨髓造血功能障碍、缺乏造血物质、红细胞丢失或破坏过多等。

2. 增多 严重呕吐、腹泻、出汗、多尿、大面积烧伤或因病长期不能进食等,可造成血浆中水分丢失、血浆浓缩、引起红细胞数相对增多。慢性肺心病、某些肿瘤、发绀型先天性心脏病及真性红细胞增多症。

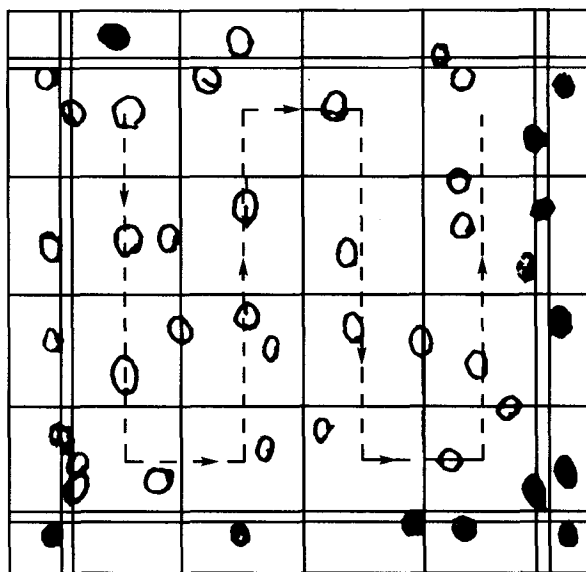


图 1-3 红细胞计数的方式

○代表应计入的红细胞 ●代表应弃而不记的红细胞

【注意事项】

1. 计数室内细胞分布应均匀,各中方格的细胞数相差不大于 10%,否则重新操作。
2. RBC 稀释液不破坏白细胞,红细胞计数时已将白细胞计入数内,在多数情况下,单位体积内的 RBC 大大高于白细胞的数值,计入白细胞对红细胞数值的影响可以忽略不计,但病人有严重贫血伴白细胞数增高时,应从 RBC 数值中减去白细胞数,以求得真实的 RBC 数。
3. 冷凝集素增高的病人,RBC 在稀释液中凝集成颗粒状,遇此应将细胞悬液(管口密封)和计数板置 37℃ 恒温箱,待凝集颗粒散开后,立即混匀细胞悬液充入计数室计数。
4. 不得将霉菌、尘埃误计为 RBC。
5. 充液前混匀细胞悬液动作要轻,避免出现气泡。

三、血红蛋白(Hb)测定(hemoglobin assay)

血红蛋白测定有电子血球计数仪法和氰化高铁血红蛋白测定法,这里仅介绍后一方法。

【原理】 血液经氰化高铁血红蛋白转化液稀释,红细胞被破坏,释放出 Hb,除硫化血红蛋白外,各种 Hb 皆可被高铁氰化钾氰化成高铁血红蛋白(Hi)。Hi 与 CN 结合成稳定的棕色氰化高铁血红蛋白(HiCN),在特制的 Hb 仪上即可测得血红蛋白浓度读数 g/L。

【仪器、试剂】

1. 定量采血管、一次性采血针、5ml 移液管、13×100mm 试管等。
2. 医用消毒器具。
3. 血红蛋白测定仪。

4. HiCN 标准液(商品)。

5. 氰化高铁血红蛋白转化液(HiCN 转化液) 氰化钾(KCN)0.05g, 高铁氰化钾 $[K_3Fe(CN)_6]$ 0.20g, 无水磷酸二氢钾(KH_2PO_4)0.14g, TritonX-100(或其他非离子表面活性剂)1ml, 蒸馏水加至 1000ml。

【方法】

1. 准确用移液管加 HiCN 转化液 5ml 于 13×100mm 试管内。

2. 75%乙醇溶液消毒被检者左手无名指侧腹部,待酒精挥发后,以左手捏紧被检者无名指,以右手持一次性采血针快速刺入约 2~4mm 深。

3. 用定量采血管采血 20 μ l 插入 HiCN 转化液中并迅速将血液放出,用上清液洗采血管 3 次,立即轻轻震荡混匀。

4. 置室温 10min 后,在血红蛋白测定仪上检测即可直接得到 Hb 读数(先用 HiCN 转化液或蒸馏水与 HiCN 标准液将血红蛋白仪校正)。

【报告方式】 $\Delta\Delta\Delta$ g/L

【参考值】 成人:男性 120~160g/L,女性 110~150g/L;新生儿:170~200g/L;儿童:116~137g/L。

【临床意义】 血红蛋白升高、降低的临床意义基本和红细胞计数的临床意义相似。但血红蛋白测定比红细胞计数有良好的精确度。

1. 减少 红细胞减少与血红蛋白的下降成比例或不成比例的情况有下列几种:

(1) 红细胞减少程度比血红蛋白严重,见于大细胞高色素性贫血,如缺乏维生素 B_{12} 或叶酸的营养不良性贫血及慢性肝病所致的贫血。

(2) 血红蛋白减少的程度比红细胞严重,见于缺铁性贫血,即小细胞低色素性贫血;由于慢性反复性出血所引起的如溃疡病、钩虫病、痔疮出血和妇女月经过多等。

(3) 红细胞与血红蛋白减少的程度相同,见于正细胞正色素性贫血,如大出血、再生障碍性贫血、风湿性关节炎及急、慢性肾炎所致的贫血。

2. 增多 见于慢性肺源性心脏病、某些发绀型先天性心脏病、真性红细胞增多症、大量失水、严重烧伤、休克、高原病和大细胞高色素性贫血等。

【注意事项】

1. 血液中两种球蛋白异常,白细胞异常增多,含有硫化血红蛋白或变性血红蛋白时,可出现被测液混浊,可将转化液按 15~50g/L 加入 NaCl 重做,即可清除其影响,但有核红细胞浓度太高时,仍不能以上述方法消除混浊,此时,可用离心沉淀后的上清液比色。

2. 试剂含 KCN(烈性毒品),严禁用嘴吸取转化液。废液不得任意倾倒及与酸接触($KCN+HCl\rightarrow HCN\uparrow+KCl$),应做无毒化处理。方法是:废液加等量常用水混合后,按每升加入 35ml 安替福民液($NaClO$)混匀,敞盖放置 15h 后。CN 被 $NaClO$ 氧化成 $N_2\uparrow$ 和 $CO_2\uparrow$,或水解为 CO_2 和 NH_3^+ 而去毒。

3. 若 HiCN 转化液变浊、变绿则不可再使用。

4. 血红蛋白仪必须校正后方可使用。

5. 本法为 WHO 推荐的标准方法,当 Hb 用其他方法测定所得结果有疑问时,应用本法校对并加以校正。

四、白细胞计数(white blood cell count, WBC)

WBC有直接计数法和电子血球计数仪法,这里介绍直接计数法。

【要求】 进一步熟悉毛细血管采血技术及计数板的构造,给合理论课所学掌握白细胞计数方法、参考值及临床意义。

【原理】 血液经稀醋酸定量稀释后,无核红细胞被溶解。将红细胞已被破坏、只留白细胞的悬液混匀,充入计数室,计数规定范围内的细胞,换算出每升血液内的白细胞数。

【仪器、试剂】

1. 仪器同红细胞直接计数法。
2. 白细胞稀释液 冰醋酸 2ml,蒸馏水加至 100ml,10g/L 亚甲蓝 3 滴。

【方法】

1. 用毛细血管采血法采血 20 μ l,立即全部置于含 0.4ml 白细胞稀释液的小试管内,混匀。

2. 用尖头吸管吸充分混匀的白细胞悬液适量充入计数室,静置 2~3min 待细胞全部下沉后,用低倍镜计数白细胞计数区 4 个大方格中的细胞数。

$$3. \text{计算 } \text{WBC}/\text{L} = W_{\text{总}} \div 4 \times 10 \times 20 \times 10^6 = W_{\text{总}} \times 50 \times 10^6 = W_{\text{总}} \div 20 \times 10^9$$

式中: $W_{\text{总}}$ 四个大方格中白细胞总数; $\times 10$ 换算为 1mm³ 的白细胞数; $\times 20$ 血液的稀释倍数; $\times 10^6$ 换算为每升血液的白细胞数。

【报告方式】 WBC Δ . $\Delta\Delta \times 10^9/\text{L}$

【参考值】 成人: (4.0~10.0) $\times 10^9/\text{L}$; 6 个月至 2 岁: (11.0~12.0) $\times 10^9/\text{L}$; 新生儿: (15.0~20.0) $\times 10^9/\text{L}$; 儿童: (5.0~12.0) $\times 10^9/\text{L}$ 。

【临床意义】

1. 减少

(1) 见于某些革兰阴性杆菌、病毒、寄生虫感染,如伤寒和副伤寒沙门菌、流感病毒、肝炎病毒、风疹、疟疾等。

(2) 某些血液病:如再生障碍性贫血、粒细胞缺乏症、白细胞不增多型白血病等。

(3) 自身免疫性疾病:如系统性红斑狼疮、免疫抗体导致的白细胞减少等。

(4) 理化损伤:如放射线损伤、苯及其衍生物等化学品中毒。

(5) 某些药物:如氯霉素、甲苯磺丁脲、磺胺类药、硫氧嘧啶、保泰松、抗癌药等。

(6) 其他:如营养不良、恶病质、肝硬化、脾功能亢进等。

2. 增多

(1) 急性细菌感染:尤其是化脓菌(如金黄色葡萄球菌、肺炎球菌)感染时明显升高;病毒感染(如乙型脑炎、流行性出血热、狂犬病、传染性单核细胞增多症等)、寄生虫感染(如血吸虫病)、螺旋体感染(如钩端螺旋体病、回扫热)时,白细胞总数增多程度随感染范围、机体反应性差异而有所不同。

(2) 组织损伤、坏死:如严重烧伤、大手术后、心肌梗死等。

(3) 恶性肿瘤、白血病,尤其是慢性白血病时,白细胞数极度升高。

(4) 急性失血,尤其当内出血时(如宫外孕、内脏破裂),白细胞常迅速升高。

(5) 急性中毒:见于急性化学药物中毒(如有机磷中毒),也见于代谢性中毒(如尿毒症)。

【注意事项】

1. 细胞悬液中的细胞应均匀分布于计数室内。一般情况下,WBC数在正常范围内时,各大方格内的细胞数不得相差10个以上,否则应重新操作。

2. WBC $<2.0\times 10^9/L$ 时,应计双侧计数室的白细胞计数区域,或以 $40\mu l$ 血液1:10稀释,将其计得细胞数除以2即可。WBC数太高时,则扩大血液的稀释倍数,同理按稀释倍数换算出结果。

表 1-1 血涂片白细胞密度与计数的关系

白细胞数/HP	WBC/L
2~4	$(4\sim 7)\times 10^9$
4~6	$(7\sim 10)\times 10^9$
6~10	$(10\sim 12)\times 10^9$
10~12	$(12\sim 18)\times 10^9$

3. WBC稀释液不能溶解有核红细胞,如血液涂片做白细胞分类计数时发现核红细胞较多,则应按WBC分类计数时有核红细胞所占比例,换算绝对值从WBC计数结果中减去。

4. 观察分类血涂片中白细胞密度,以估计白细胞数(表1-1)。如果计数结果与估计数相差显著,应复查。

5. 稀释液内不得含有霉菌、尘埃等污染物。

五、白细胞分类计数(white blood cell differential count, DC)

【要求】 熟悉血涂片的制备,Wright染色的原理、方法,经Wright染色后血涂片中的WBC形态学特点及其分类计数方法。掌握DC参考值及临床意义。

【原理】 将血液在载玻片上涂成薄膜后,利用各种血细胞形态和细胞成分化学性质的不同,对各种染料亲和力不一样的特性,经由酸性伊红、碱性亚甲蓝组成的复合染料——瑞吉(Wright-Gimsa)染料染色后,细胞呈各种色彩,不同的血细胞显示其各自的特征,据此计数各种血细胞所占的百分率。若在染液中加入适量的甘油则血细胞更加亮泽,更好区分。

【仪器、试剂】

1. 载玻片、推片、染色用杯和架、特种铅笔、试镜纸等。
2. 毛细血管采血法用采血、消毒用具。
3. 光学显微镜。
4. Wright-Gimsa染色液 Wright染粉1.0g, Gimsa染粉0.5g, 甲醇(AR级)1000ml, 中性甘油5~10ml。

(1) 配制方法:将Wright、Gimsa染粉置洁净干燥的乳钵内加少量甲醇研磨,使染料溶解,将已溶解的染料倾入棕色试剂瓶中,加甲醇(AR级)至1000ml,再加中性甘油5~10ml,充分摇匀,密封备用。

(2) 注意:新鲜配制的染色液常常偏碱。放置时间愈长,震荡次数愈多形成的天青成分愈多,染色效果愈佳。盛染色液的棕色瓶必须密封,以防甲醇挥发或吸收空气中的水蒸气,影响对细胞的固定效果;或进入氧气将甲醇氧化成甲酸,因而影响对细胞的染色效果。甘油有防止甲醇挥发和促使染色液成熟而增加染色效果的作用。