

血液病的临床检验

上海第二医学院附属瑞金医院
蚌 埠 医 学 院

一九八四年六月

前 言

近年来，随着血液学的发展，血液病的临床检验也有了新的进展。应检验界同道们的要求，我们参考部分国外资料，结合国内具体情况，本着“向前看”的原则，编写了《血液病的临床检验》一书，作为内部资料，供参考。

本书共计十一章，着重阐述血液病的基本理论、检验技术和临床诊断、并介绍一些新的检验技术，如干细胞培养、铁动力学、细胞化学染色、血细胞超微结构、血栓与止血、免疫血液学和染色体分析等，以供选用。

本书适用于从事血液病的检验人员和临床工作者之用，也可作为检验技师、临床大夫、医学院校师生和其他有关人员参考。

在编写过程中，承蒙蚌埠医学院李涤生主任多方关心和指导，并在百忙之中审阅原稿，特此致谢。限于编者的水平，时间仓促，书中一定存在不少缺点和错误，殷切希望广大读者提出批评与指正。

编 者

1983年11月于瑞金医院

目 录

第一章 血液病一般检验 邵朝铭 钱浣青

- 第一节 红细胞计数……………(1)
 - 一、试管法……………(1)
 - 二、光电比浊法……………(2)
- 第二节 血红蛋白测定……………(4)
 - 一、沙利氏比色法……………(4)
 - 二、光电比色法……………(5)
- 第三节 白细胞计数……………(7)
- 第四节 白细胞分类计数……………(8)
- 第五节 红细胞压积容量测定……………(14)
- 第六节 血液指数……………(15)
 - 一、相对指数……………(15)
 - 二、绝对指数……………(16)
- 第七节 网织红细胞计数……………(17)
- 第八节 红细胞平均直径测定……………(18)
- 第九节 红细胞平均厚度测定……………(20)

第二章 血细胞形态学检验

王鸿利 夏宪章 向为民

- 第一节 血细胞的生成……………(22)
 - 一、干细胞的来源……………(22)
 - 二、干细胞的种类……………(22)
 - 三、多能干细胞……………(23)
 - 四、定向干细胞……………(24)
 - 五、干细胞的形态和特征……………(26)
 - 六、干细胞的临床意义……………(26)
- 第二节 血细胞的形态学……………(28)
 - 一、红细胞系统……………(28)
 - 二、粒细胞系统……………(29)

- 三、单核细胞系统……………(30)
- 四、淋巴细胞系统……………(31)
- 五、浆细胞系统……………(31)
- 六、巨核细胞系统……………(31)
- 七、其他细胞……………(31)

- 第三节 骨髓象分析……………(32)
 - 一、骨髓有核细胞增生程度……………(32)
 - 二、粒细胞与有核红细胞比例……………(34)
 - 三、粒系细胞改变……………(34)
 - 四、红系细胞改变……………(35)
 - 五、巨核系细胞的改变……………(36)
 - 六、淋巴系细胞增多……………(37)
 - 七、单核系细胞增多……………(37)
 - 八、浆细胞系增多……………(37)
 - 九、组织细胞增多……………(38)
 - 十、海蓝色组织细胞增多……………(38)

- 第四节 细胞染色技术及临床应用……………(38)
 - 一、染色技术……………(38)
 - 二、临床应用……………(68)

- 第五节 血细胞形态学的应用……………(73)
 - 一、再生障碍性贫血……………(73)
 - 二、巨幼细胞性贫血……………(74)
 - 三、脾功能亢进综合征……………(75)
 - 四、真性红细胞增多症……………(75)
 - 五、白血病……………(77)
 - 六、白血病前期综合征……………(77)
 - 七、传染性单核细胞增多症……………(88)
 - 八、何杰金氏病……………(90)
 - 九、非何杰金氏淋巴瘤……………(91)
 - 十、多发性骨髓瘤……………(92)
 - 十一、良性单株丙种球蛋白血症……………(93)

十二、Waldensfrom's巨球 蛋白血症.....	(94)
十三、恶性组织细胞增生症.....	(95)
十四、海蓝色组织细胞增生症.....	(96)
十五、高雪氏病.....	(97)
十六、尼曼—匹克氏病.....	(98)

第三章 造血干细胞培养 孙关林

第一节 造血干细胞培养的设备 与仪器.....	(100)
一、无菌操作室.....	(100)
二、无菌操作箱.....	(101)
三、超净工作台.....	(101)
四、二氧化碳恒温培养箱.....	(101)
五、其他.....	(103)
第二节 培养器具的清洗.....	(103)
一、玻璃器皿的清洗.....	(103)
二、耐酸过滤漏斗的清洗.....	(104)
三、胶塞的清洗.....	(104)
四、金属器械的清洗.....	(104)
第三节 培养器具的消毒.....	(104)
第四节 培养用液及试剂.....	(104)
第五节 造血干细胞培养操作 步骤.....	(105)
一、粒—单核细胞系定向造血 干细胞培养.....	(105)
二、人红细胞系定向造血干细 胞培养.....	(107)
三、人体集落刺激因子活性测 定.....	(108)

第四章 血细胞的超微结构 汤雪明 诸少游

第一节 血细胞的一般超微结构	(110)
第二节 红细胞的超微结构.....	(118)
第三节 粒细胞的超微结构.....	(121)

第四节 单核细胞的超微结构.....	(126)
第五节 淋巴细胞的超微结构.....	(128)
第六节 血小板的超微结构.....	(129)

第五章 铁动力学检验 王鸿利

第一节 铁的代谢.....	(133)
一、铁的来源.....	(133)
二、铁的吸收.....	(134)
三、铁的转运.....	(135)
四、铁的储存.....	(136)
五、铁的分布.....	(137)
六、铁的排泄.....	(138)
第二节 检验技术.....	(138)
一、铁的染色.....	(138)
二、血清铁和总铁结合力测定	(140)
三、转铁蛋白测定.....	(145)
四、血清铁蛋白放射免疫测定	(146)
五、红细胞内游离原卟啉测定	(148)
六、铁动力学测定.....	(151)
第三节 铁代谢失常性贫血.....	(154)
一、对实验室参数的评价.....	(154)
二、缺铁的临床类型.....	(155)

第六章 溶血性贫血检验 叶裕春

第一节 发病机理.....	(159)
一、红细胞内在性先天异常...	(159)
二、红细胞外在性后天异常...	(162)
三、红细胞的破坏场所.....	(163)
第二节 一般检验.....	(163)
一、红细胞受损,骨髓出现代 偿性增生的检查.....	(163)
二、红细胞破坏增加,寿命缩 短的检查.....	(164)
三、血管内溶血的检查.....	(166)
四、红细胞外在性异常所致溶 血的检查.....	(167)

第三节 病因检验	(168)
一、红细胞寿命测定	(168)
二、红细胞脆性试验	(170)
三、红细胞自溶试验	(174)
四、阵发性睡眠性血红蛋白尿 症的检查	(175)
五、红细胞膜的检查	(180)
六、红细胞内酶的检查	(181)
七、葡萄糖6-磷酸脱氢酶缺 乏症的检查	(192)
八、还原型谷胱甘肽定量及谷 胱甘肽稳定试验	(194)
九、红细胞内异常血红蛋白的 检查	(195)

第七章 免疫血液学的检验 顾荣泉

第一节 红细胞免疫学	(203)
一、红细胞抗体	(203)
二、红细胞抗体的检验	(204)
三、红细胞免疫性疾病	(217)
第二节 白细胞免疫学	(224)
一、白细胞血型	(224)
二、白细胞抗体	(225)
三、白细胞抗体的检验	(226)
四、粒细胞免疫性疾病	(237)
第三节 血小板免疫学	(239)
一、血小板血型	(239)
二、血小板抗体	(239)
三、血小板抗体的检验	(240)
四、血小板免疫性疾病	(256)
第四节 凝血因子的免疫学	(260)
一、凝血因子免疫学检查的临 床应用	(261)
二、凝血因子免疫学检查的方 法	(262)
三、免疫性血液凝固障碍	(271)
四、凝血因子分子异常	(273)

第八章 血栓与止血的检验 王鸿利

第一节 血栓与止血机理	(276)
一、血管的止血作用	(276)
二、血小板的止血作用	(278)
三、血液凝固机理	(281)
四、抗凝血机理	(284)
五、血栓形成机理	(288)
第二节 检验技术	(291)
一、检查血管壁机能的试验	(291)
二、检查血小板数量和形态的 试验	(292)
三、检查血小板机能的试验	(296)
四、检查凝血机能的试验	(305)
五、检查纤维蛋白溶解的试验	(325)
六、检查抗血液凝固的试验	(335)
七、检查血液流变学的试验	(340)

第三节 出血性疾病的诊断方法 和诊断标准	(345)
一、毛细血管—血小板异常型	(345)
二、凝血因子—抗凝物质异常 型	(348)

第四节 高凝状态实验指标的评 价	(350)
一、对检测血管壁损伤试验的 评价	(351)
二、对检测血小板功能试验的 评价	(352)
三、对检查凝血机制试验的评 价	(354)
四、对检查FCP试验的评价	(355)
五、对抗凝系统试验的评价	(355)

第九章 染色体培养技术与在血液 病中的应用 钱浣青

第一节 临床细胞遗传学实验室 基本器材和药品的设备	(356)
------------------------------	-------

一、仪器.....	(356)	一、ABO血型系统.....	(383)
二、玻璃仪器.....	(356)	二、Lewis血型系统.....	(390)
三、金属用具.....	(357)	三、Ii血型系统.....	(393)
四、其他用品.....	(357)	四、P血型系统.....	(394)
五、化学试剂和培养基.....	(357)	五、Rh血型系统.....	(395)
第二节 器材清洗和灭菌.....	(358)	六、MNSs血型系统.....	(398)
一、清洗液的配制.....	(358)	七、Kell, Duffy及Kidd系统...	(399)
二、玻璃器皿.....	(358)	八、Diego系统.....	(400)
三、橡胶类.....	(359)	九、Lutheran系统.....	(400)
四、金属器材.....	(359)	十、xg系统.....	(400)
第三节 各种溶液和细胞培养液 的配制.....	(359)	第二节 白细胞与血小板抗原系 统.....	(401)
一、各种溶液的配制.....	(359)	一、白细胞与血小板特有抗原	(401)
二、细胞培养液的配制.....	(362)	二、HLA系统.....	(402)
第四节 人体细胞培养和染色体 标本的制备.....	(363)	第三节 血浆蛋白型.....	(403)
一、人体外周血淋巴细胞染血 体标本的制备.....	(363)	一、免疫球蛋白型.....	(403)
二、人体骨髓细胞染色体标本 的制备.....	(364)	二、 β -脂蛋白型.....	(404)
三、血液及骨髓培养终止后的 制片.....	(364)	三、结合珠蛋白型.....	(405)
第五节 人体染色体G式和C式 显带技术和带型特征.....	(365)	四、运铁蛋白型.....	(405)
一、显带技术.....	(365)	五、GC球蛋白型.....	(405)
二、带型特征.....	(366)	六、拟胆硷脂酶型.....	(405)
第六节 人体细胞染色体核型特 征和检查.....	(371)	七、其他血浆蛋白型.....	(405)
一、人体染色体的核型特征...	(371)	第四节 血型学技术.....	(405)
二、人体染色体的核型检查...	(375)	一、基本试验原理简介.....	(405)
第七节 血液病的染色体异常...	(377)	二、血型抗原检查.....	(408)
一、血液病的染色体异常特征	(377)	三、血型抗体检查.....	(408)
二、常见血液病的染色体变化	(377)	四、配合输血的选择.....	(409)
第十章 血型与输血	徐家馨	五、溶血性输血反应的血清学 检查.....	(410)
第一节 红细胞血型.....	(383)	六、新生儿溶血症的免疫学检 查.....	(410)
		七、试验方法.....	(411)
		八、常见鉴定错误的原因.....	(412)
		第十一章 淋巴结穿刺涂片检查	刘静华
		第一节 淋巴结的结构与功能...	(414)
		一、淋巴结的结构.....	(414)

二、淋巴结的功能·····	(414)
第二节 淋巴结穿刺技术·····	(415)
一、选择部位·····	(415)
二、器械准备·····	(415)
三、操作·····	(415)
四、制片·····	(415)
第三节 淋巴结的染色法·····	(415)
一、瑞氏染色法·····	(415)
二、苏木素钾红染色法·····	(415)
三、过氧化酶染色法·····	(415)
四、糖原染色法·····	(415)
第四节 淋巴结穿刺液性状的诊 断意义·····	(415)
一、非特异性炎症·····	(415)
二、结核病·····	(415)
三、恶性淋巴瘤·····	(415)
四、淋巴结转移癌·····	(416)
第五节 淋巴结涂片形态学及应 用·····	(416)
一、正常淋巴结象·····	(416)
二、各种病理性淋巴结象·····	(417)
第六节 淋巴结穿刺涂片与印片 的关系·····	(422)
一、优点·····	(422)
二、缺点·····	(423)

第一章 血液一般检查

邵朝铭 钱浣青

第一节 红细胞计数

血液经等渗性稀释液稀释后，充入血细胞计数池内，置显微镜下计数或光比色计中比浊，求得每微升血液中之红细胞数。

一、试管法

(一) 器材：见图1—1

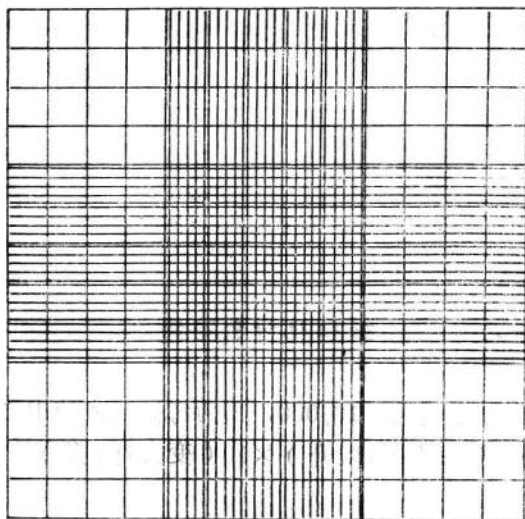


图 1—1 血细胞计数池划格

血红蛋白吸管

血细胞计数板

显微镜

(二) 稀释液：

氯化钠 1.0克

硫酸钠(结晶) 5.0克

氯化高汞 0.5克

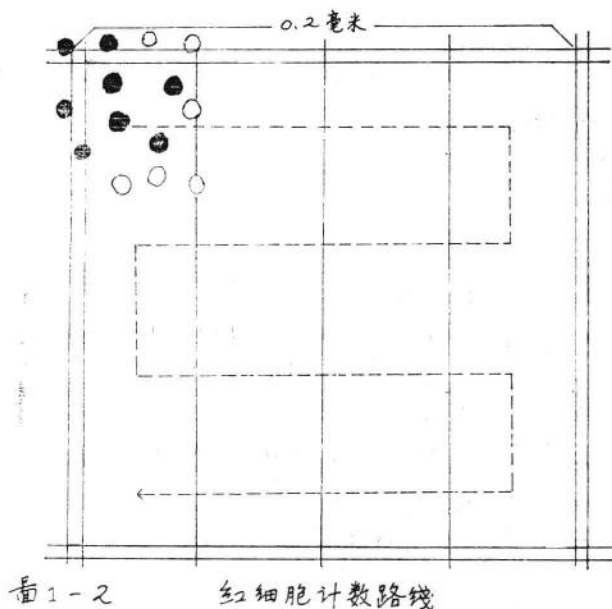
蒸馏水 加至 200毫升

(三) 方法：

1. 用血红蛋白吸管吸取血液10微升，吹入预先盛有2毫升红细胞稀释液试管中，反复吸吹上层清稀释液数次，以将血红蛋白吸管管壁上残留的血液洗尽为止。

2. 以大拇指堵塞管口，来回颠倒试管数次，充分混合稀释血液。

3. 用毛细吸管吸取稀释的血液，滴入计数池中，要一次完成，静置二分钟，待红细胞完全下沉后，移入显微镜下，用高倍镜计数，计数中间一大格内四角的中方格和中间一个中方格中的红细胞数。计数时压线的红细胞则按“数上不数下，数左不数右”的原则和自左向右、由上向下一小格、一小格进行计数。见图1—2



4. 将5个中方格中之红细胞数乘以10,000，即为每微升血液中之红细胞数。如5个方格中之红细胞数为R，则 $R \times 5$ （变为0.1微升） $\times 10$ （变为1微升） $\times 200$ （稀释倍数） $= R \times 10,000$ /微升血液。

（四）注意事项：

1. 不能在有水肿、炎症、淤血等部位或刺血过浅处采血。
2. 所用的吸管、试管、滴管和血细胞计数板均要干净无水。
3. 避免血液凝固，操作要迅速，如同时作白细胞计数或血红蛋白测定时，应先采血作红细胞计数，避免因酸、硷的混入，使红细胞破坏。
4. 稀释血液充入血细胞计数池时要一次完成，不能产生满溢、气泡或充液不够现象。
5. 采血量与稀释量要准确，稀释液中不能有酵母菌生长。
6. 红细胞在计数池中分布不均，每中方格之间相差超过20个以上，要重新充液计数。
7. 所用吸管的刻度、血细胞计数池划格的长度和高度要测量其准确性。

二、光电比浊法

（一）器材：

血红蛋白吸管

光电比色计

(二) 稀释液:

枸橼酸钠 38克

蒸馏水 1000毫升

甲 醛 1 毫升

(三) 方法:

1. 标准曲线的制备:

(1) 采取正常人血液3毫升, 置肝素抗凝管中混合, 至少连续四次作试管法 红 细 胞 计 数, 准确测得每微升血液中之红细胞数。如红细胞数为480万, 可参照表1—1将血液稀 释 成 不同浓度, 分别以4毫升置比色杯中, 应用红色滤光板, 在光电比色计上进行比浊测定。空白 对照用4毫升蒸馏水。

(2) 以光密度为纵座标, 每微升血液中之红细胞数为横座标, 绘制成曲线如图1—3。

表1—1 光电比浊红细胞计数血液稀释表

血液 (微升)	稀释液 (毫升)	稀 释 倍 数	红细胞数 (万/微升)
40	6.4	160	600
40	7.11	177.75	540
20	4	200	480
20	4.57	228.5	420
20	5.33	266.5	360
20	6.4	320	300
20	8	400	240

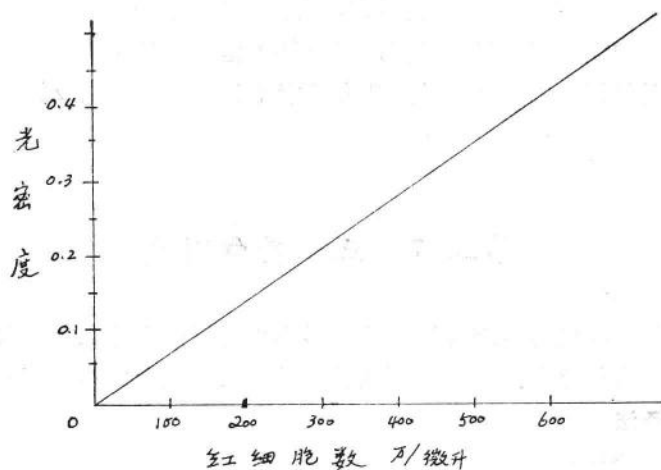


图1-3 光电比浊红细胞计数标准曲线

2. 用血红蛋白吸管采取血液20微升吹入盛有4毫升红细胞稀释液的试管中, 立即混合, 倒入比色杯中置光电比色计内, 应用红色滤光板进行比浊, 测得其光密度读数, 参照标准曲线图查得每微升血液中之红细胞数。

(四) 注意事项:

1. 经常用准确测得的正常人每微升血液中之红细胞数, 检查标准曲线的可靠性。如发现光密度有偏差, 则应校正标准曲线或重新绘制标准曲线。

2. 红细胞数在300万/微升以下、红细胞平均直径大于8.8微米或小于7.2微米者, 应作显微镜计数。

3. 光电比色计的性能不佳或电压不稳定时, 均能造成较大的误差。

4. 稀释血液中也有白细胞的存在, 因此白细胞极度增高者, 不宜用此法进行红细胞计数。

5. 其他有关的注意事项与试管法的相同。

(五) 临床意义:

1. 正常值: 男性成年: 450万~550万/微升血液

女性成年: 400万~500万/微升血液

新生儿: 600万~700万/微升血液

2. 红细胞的病理改变, 有数量和质量两方面。红细胞数目和血红蛋白含量的增减, 是数量上的变化, 血涂片上所见到红细胞形态的变化、染色的进化、结构的异常等是质量上的变化。

(1) 红细胞增多 红细胞数目超过正常者, 称红细胞增多症。

①相对性增多 各种原因引起血浆中水分的损失, 血液浓缩, 而致红细胞数增多。

②绝对性增多 各种原因造成的机体缺氧, 红细胞呈代偿性增多和原因不明的真性红细胞增多症。

(2) 红细胞减少 红细胞数低于正常者, 称红细胞减少症。

①血浆容量明显增加, 引起血液稀释, 而致红细胞相对性减少。

②不同的病因引起的造血原料不足、造血功能不佳或障碍、以及红细胞丢失或破坏过多等原因所致的贫血。

第二节 血红蛋白测定

一定量的血液的红细胞与酸或硷接触后, 形成酸化或硷化的血红蛋白, 然后在沙利氏比色计或光电比色计中进行比色, 求得每百毫升血液中之血红蛋白量(克%)。

一、沙利氏比色法

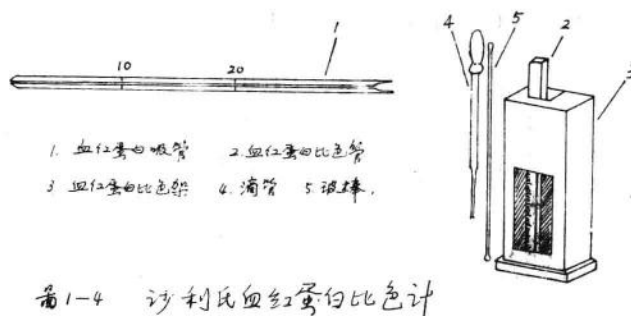
(一) 器材: 见图1—4

沙利氏比色计

(二) 试剂:

N/10盐酸

蒸馏水



(三) 方法:

1. 比色管内加入N/10盐酸至2刻度处。
2. 采血20微升，吹入比色管盐酸中，注意避免气泡产生，反复吸吹上层清盐酸数次，以将血红蛋白管壁上残留的血液洗尽为止。
3. 混合，放置10分钟后，用蒸馏水稀释酸化血液，直至其颜色与标准玻璃色柱的颜色相同为止。
4. 直接读取管内稀释血液凹面最低处的刻度，即为每100毫升血液中血红蛋白的克数或百分率。

(四) 注意事项:

1. 所用的器材要干净清洁、无水。
2. 不能在有水肿、炎症、淤血等部位或刺血过浅等处采血。
3. 避免血液凝固，操作要迅速、无误。
4. 采血量要准确，血液与盐酸混合后放置10~45分钟内比色。
5. 比色管内稀释酸化血液时，要上下混匀，不要稀释过度。
6. 所用的吸管、比色管及标准玻璃色柱要测量其准确性，必要时要加以校正。

二、光电比色法

(一) 器材:

血红蛋白吸管

光电比色计

(二) 试剂:

0.1% 碳酸钠

(三) 方法:

1. 标准曲线的制备:

(1) 采取正常人血液4毫升，置肝素抗凝管中混合，准确测得其血红蛋白的含量，如血红蛋白含量为14克%可参照表1—2将血液稀释成不同浓度，分别以4毫升置比色杯中，应用绿色滤光板，在光电比色计中进行比色测定。空白对照用4毫升蒸馏水。

(2) 以光密度为纵坐标，每百毫升血液中之血红蛋白克数为横坐标，绘制成曲线如图1-5。

2. 用血红蛋白吸管采血20微升吹入盛有4毫升0.1%碳酸钠的试管中，重复吸吹上层清碳

表 1—2

光电比色血红蛋白测定血液稀释表

血液 (微升)	稀释液 (毫升)	稀 释 倍 数	血红蛋白量 (克%)
40	6.4	160	17.5
20	4	200	14
20	5.33	266.5	10.5
20	8	400	7
20	16	800	3.5

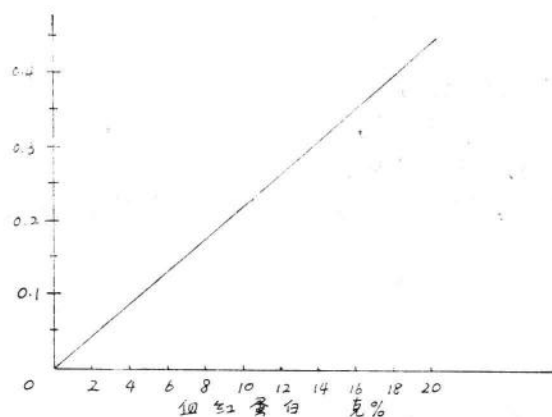


图 1—5 光电比色血红蛋白测定标准曲线

酸钠溶液数次，以将血红蛋白吸管管壁上的残留血液洗完为止。立即混合，倒入比色杯中，置光电比色计内，应用绿色滤光板进行比色，测得其光密度读数，参照标准曲线图查得每百毫升血液中之血红蛋白克数。

(四) 注意事项:

1. 经常用准确测得的正常人每百毫升血液中之血红蛋白量，检查标准曲线的可靠性。如发现光密度有偏差，则应校正标准曲线或重新绘制标准曲线。
2. 光电比色计的性能不佳或电压不稳定时，均能造成较大的误差。
3. 其他有关的注意事项与沙利氏比色法的相同。

(五) 临床意义:

1. 正常值: 男性成年: 12~16克/100毫升血液
女性成年: 11~15克/100毫升血液
新生儿: 17~20克/100毫升血液
2. 血红蛋白的增多和减少，随红细胞的多或少而变异，但它减少的程度可不同红细胞相一致。

第三节 白细胞计数

血液经稀酚溶液稀释后，红细胞被破坏，充入血细胞计数池内，置显微镜下计数，求得每微升血液中之白细胞数。

(一) 器材：

血红蛋白吸管

血细胞计数板

显微镜

(二) 稀释液：

冰醋酸

2 毫升

蒸馏水

加至100 毫升

1%美蓝

3 滴

(三) 方法：

1. 用血红蛋白吸管吸取血液20微升，吹入预先盛有0.38毫升白细胞稀释液试管中，注意避免气泡的产生，反复吸吹上层清稀释液数次，以将血红蛋白吸管管壁上残留的血液洗尽为止。

2. 充分混合稀释血液，尽量不使其产生气泡，用毛细吸管吸取稀释血液，滴入计数池内，要一次完成，静置二分钟，待白细胞完全下沉后，移入显微镜下，用低倍镜计数，计数四角四个大方格中的白细胞数。计数时碰壁的白细胞按“数上不数下，数左不数右”的原则和自左向右，由上向下一中格、一中格进行。可参阅图1—2。

3. 将4个大方格中之白细胞乘以50，即为每微升血液中之白细胞数。如四个大方格中之白细胞数为W，则 $W \div 4$ (变为0.1微升) $\times 10$ (变为1微升) $\times 20$ (稀释倍数) = $W \times 50$ / 微升血液。

(四) 注意事项：

1. 每个大方格内白细胞数的相差超过10个，则要重新充液计数。

2. 白细胞稀释液不破坏有核红细胞，且在显微镜下难与白细胞相区别，血液中有核红细胞明显增多者，其白细胞计数中包含着有核红细胞，在白细胞分类时可发现有核红细胞的存在，因此，必要时要扣除混在白细胞中的有核红细胞。如白细胞计数为15,000/微升，有核红细胞为50/100白细胞则：

$$\text{一微升血液中真正白细胞数为} = \frac{15000 \times 100}{100 + 50} = 10,000$$

3. 其他有关的注意事项与红细胞计数的相同。

(五) 临床意义：

1. 正常值：成人：4,000~10,000/微升血液

6个月至2岁婴儿：11,000~12,000/微升血液

新生儿：15,000~20,000/微升血液

2. 白细胞增多与减少的临床意义，参阅本章第四节白细胞分类计数。

第四节 白细胞分类计数

白细胞分类计数是计数各种白细胞的百分率,由此得出白细胞总数增多或减少是由哪一种细胞所引起。在某些传染病及炎症时,可以根据中性粒细胞幼稚型、成熟型的相互消长,以及细胞毒性病变的程度,测知病人的抵抗力及预后情况。此外,根据各种白细胞幼稚型的出现及程度来诊断白血病与鉴别白血病。

正常周围血液白细胞分粒细胞(中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,嗜硷性粒细胞),淋巴细胞,单核细胞。各类白细胞各有其特点,但也有相似之处,所以对每一个白细胞要作具体分析,抓住主要特点,然后作出结论。

1.中性粒细胞 圆形,直径10~15微米,约比红细胞大一倍,细胞核染深紫色,胞浆染淡红色,内有许多细小的中性紫红色颗粒,核可分带状及分叶状,分叶越多表示细胞越成熟、越衰老,正常人带状核占1~5%,分叶核占50~70%。

2.嗜酸性粒细胞 大小形态基本上与中性粒细胞相似,但比中性粒细胞较大一些,浆内含有粗大均匀、圆珠状、桔红色的颗粒,核多见为二叶,正常占0.5~5%。

3.嗜硷性粒细胞 形态大小与中性粒细胞相似,胞浆内含有稀少粗大深蓝色的颗粒,常遮盖细胞核,核浆分界不清,细胞核分叶不明显,正常人占0~1%。

4.淋巴细胞 有大小两种,正常占20~40%

(1)小淋巴细胞 圆形,直径7~12微米,细胞核染深紫色,胞浆极少,染天蓝色,有的为裸核。

(2)大淋巴细胞 圆形或椭圆形,直径8~15微米,细胞核常偏于一侧染深紫色,浆染天蓝色,有时有少数苯胺紫红颗粒。

5.单核细胞 为正常细胞中最大的细胞,直径为10~18微米,细胞核大,呈圆形或椭圆形,亦有似肾形或马蹄形等,染蓝紫色,核染质疏松如网状,细胞浆染灰蓝色,含有许多细致均匀的蓝紫色嗜苯胺颗粒,正常人占3~8%。

(一)器材:

玻璃载物片

染色架

玻片木架

显微镜

(二)试剂:

1.瑞氏染色液(Wright's stain)

瑞氏染粉 1克

甲醇(分析纯) 500毫升

将瑞氏染粉置于研钵内慢慢加入甲醇研磨溶解,然后存于棕色玻瓶中,在室温中放置二周,每日充分摇振染液一次,使染粉充分溶解氧化后,即可应用,染液贮存越久,则染色效果越好。

瑞氏染料是硷性亚甲蓝(美蓝)与酸性伊红钠盐,在水内混合形成一种溶解性低的中性沉淀物,亦为瑞氏中性粉,中性粉溶解于甲醇后,发生离解,分成硷性染料与硷性染料,染

色时因为细胞内蛋白质有选择性吸附作用，如嗜硷性细胞的颗粒原为酸性而吸附硷性染料形成蓝色，嗜酸性细胞的颗粒原为硷性而吸附酸性染料形成红色，嗜中性细胞则吸附酸硷二种染料形成红蓝混合的紫红色。

2. 重蒸馏水或缓冲液

磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 4.6克

磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4) 4.7克

蒸馏水 加至 1000毫升

(三) 方法:

1. 取一滴血置于玻片的一端，用另一边缘完整、光滑的玻片（推片）以 $30^\circ \sim 45^\circ$ 角将血滴推成薄血膜，手法要自然，用力要均衡。推片角度越大、推速越快，血膜则越厚；角度越小、推速越慢，则血膜越薄。血片厚薄须适宜，细胞分布要均匀，两侧应留有空隙。如血片太薄，则约有50%的白细胞集中于边缘，尤以尾部更甚；如血片太厚则细胞相互重叠不易识别。

2. 血涂片置于染色架上，滴加瑞氏染液约10滴，以盖满血膜为准，固定约半分钟，再加入等量的蒸馏水，轻混匀，染色约5~15分钟（随气温及染料批号不同而异）。

3. 以自来水徐徐冲洗染液，血片竖立于玻片木架上，待干后用显微镜观察，先用低倍镜或高倍镜寻找细胞分布比较均匀，染色效果比较好的区域，然后用油镜作细胞分类计数。根据白细胞总数的多少，决定计数细胞的数目。如白细胞总数为：

1万以下： 计数100个 1~2万： 计数200个

2~3万： 计数300个 3~4万： 计数400个

4万以上： 计数500个

计数时根据白细胞的顺序，逐一记录各种白细胞。一般采用“正”或“曲”法，有的用其他方法，记满100个，200个，300个，400或500个为止，然后报告各自的百分率。已计数过的细胞不可重复计数。

(四) 注意事项:

1. 新玻片因带有硷性，须经肥皂水煮沸，再用清水冲洗干净，然后用清洁的毛巾擦干备用。

2. 血涂片制成后，尽快在空气中摇干，不能有溶血现象，不可污染有酸或硷性的物质，否则影响细胞染色的效果。

3. 蒸馏水与瑞氏染色液混和时不能用口吹，以免二氧化碳溶解于染液中，而致染色结果偏酸。必要时可以缓冲液取代蒸馏水。

4. 染液必须足量，以防甲醇挥发，以致染液浓缩而发生沉淀。

5. 冲洗血片时，不可先倾倒染液，应用水徐徐冲去染液，再倒去余水。

6. 不可用高倍镜作细胞分类计数，否则难以观察辨别细胞的微小变化。

7. 细胞分类的同时，要注意观察红细胞、血小板的变化以及有否寄生虫的存在。

(五) 临床意义:

1. 正常值：见表1—3

2. 白细胞的生理变化:

表1—3

白细胞分类的正常值

细 胞 名 称	%	绝对值/微升
嗜中性杆状核粒细胞	1 ~ 5	40~500
嗜中性分叶核粒细胞	50 ~ 70	2000~7000
嗜酸性分叶核粒细胞	0.5 ~ 5	50~500
嗜硷性粒细胞	0 ~ 1	0~100
淋 巴 细 胞	20 ~ 40	800~4000
单 核 细 胞	3 ~ 8	120~800

在生理情况下，周围血液中白细胞数目常有一些波动，但仍在一定范围内，虽有时变化较大，不过只是暂时现象。

(1) 年龄的影响：白细胞正常数目随年龄有所变动，新生儿总数可高达25,000/微升，至3~4天降至10,000左右，第三周后粒细胞减少，淋巴细胞增多，比例倒置，此情况一直维持到4岁左右。

(2) 胃肠消化作用：饮食后的消化作用，能使白细胞增多，完全休息状态下，白细胞可达正常最低限度。

(3) 运动、疼痛与情绪作用：一般生活情况，如淋浴，脑力与体力劳动，情绪冲动，疼痛，日光或紫外线照射等均可使白细胞微增，但剧烈的运动，剧痛，严重的感情冲动等可引起显著的改变，如剧烈运动后，白细胞总数可增至35,000/微升，其中以中性粒细胞为主，运动停止后（约1小时）即恢复正常，此种短暂的改变，主要是由于体内原有的细胞的重分配，但也可能与骨髓的释放作用有关。

(4) 妊娠与分娩：妊娠期中白细胞常轻度增加，在分娩时显著增加，可高达34,000/微升，产后4~5天内逐渐恢复正常。

3. 白细胞的病理变化：

除了上述生理情况下，周围血液中的白细胞总数及各种细胞的比例，可有一定条件的改变外，在很多病理情况下，其改变更明显，在临床上有很大意义。

(1) 中性粒细胞增高与减少：一般“白细胞总数增多”常就是中性粒细胞的增多，反之，一般所谓“白细胞减少”实际上也就是中性粒细胞的减少，因在总数中，中性粒细胞所占的比例较大（成人）。

① 中性粒细胞的增多：

1) 急性传染病：这是中性粒细胞增多最常见的原因，如化脓性球菌（肺炎双球菌、金黄色葡萄球菌、链球菌）、某些杆菌（白喉杆菌）、病毒（狂犬病病毒）所引起的急性传染病。局部感染如脓肿、扁桃体炎、中耳炎、阑尾炎等，以及全身感染，如猩红热、白喉、丹毒、败血症、肺炎等，均能引起明显的中性粒细胞增高，一般均增至15,000~25,000/微升之间，在大叶性肺炎与猩红热可增至40,000/微升以上。

2) 中毒：代谢紊乱所致的中毒，如尿毒症、糖尿病的酸中毒、痛风等可使中性粒细胞增高，而一氧化碳、汞、铅、全身麻醉，也可能引起中性粒细胞增多。