

临床检验技术 新进展

(上)

王景胜等◎主编

临床检验技术新进展

(上)

王景胜等◎主编

 吉林科学技术出版社

图书在版编目 (C I P) 数据

临床检验技术新进展 / 王景胜等主编. -- 长春:
吉林科学技术出版社, 2017. 3
ISBN 978-7-5578-1830-2

I. ①临… II. ①王… 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 042569 号

临床检验技术新进展

LINCHUANG JIANYAN JISHU XIN JINZHAN

主 编 王景胜等
出 版 人 李 梁
责任编辑 许晶刚 陈绘新
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 787mm×1092mm 1/16
字 数 957千字
印 张 38. 25
印 数 1—1000册
版 次 2017年3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 978-7-5578-1830-2
定 价 115. 00元 (全二册)

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

编委会

主 编:王景胜 李晓娟 郭世山

杨 靖 雷光文 唐倩青

副主编:钱 磊 吴丽萍 李伟中

仓宝成 李 娴 庄东东

孔京慧 谭积善 岳庆阳

编 委:(按照姓氏笔画)

王真华 山东省栖霞市人民医院

王景胜 中国人民解放军第四〇四医院

巨爱宁 滨州医学院烟台附属医院

仓宝成 中国人民解放军第一五三中心医院

方 健 东营市东城医院

孔京慧 郑州市儿童医院

庄东东 河南科技大学第一附属医院

孙 楠 东营鸿港医院

杨 靖 新疆乌鲁木齐市中医医院

李伟中 中国人民解放军第二五二医院

李晓娟 兰州大学第二医院

李 娴 郑州市儿童医院

吴丽萍 新疆医科大学第五附属医院

武光红 青岛市胸科医院

岳庆阳 中国人民解放军第二〇二医院

钱 磊 中国人民解放军第371中心医院

郭世山 枣庄市妇幼保健院

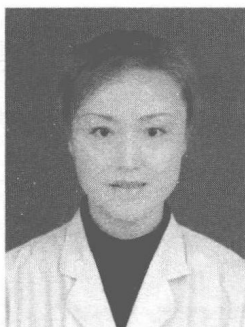
唐倩青 烟台毓璜顶医院

雷光文 中国人民解放军第三医院

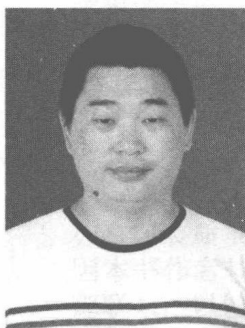
谭积善 中国人民解放军成都军区总医院



王景胜,中国人民解放军第四〇四医院检验科主任,主任技师,毕业于第三军医大学。中国免疫学会会员,全军微生物学专业委员会委员,济南军区检验医学专业委员会副主任委员,济南军区生物专业技术委员会常务委员,山东省医学会检验分会委员,山东省基础医学检验专家委员会委员,威海市检验医学专业委员会副主任委员。长期从事医学检验工作,具有较丰富的实验诊断经验,发表学术论文 50 余篇,主编、参编著作 5 部,获得军队科技进步三等奖 2 项,四等奖 2 项,荣立三等功 1 次。



李晓娟,医学硕士,主任检验医师,临床输血专业亚学科带头人,省免疫学会副理事长,中华医学会会员。兰州大学第二医院输血科科长、输血医学研究室主任。荣获新加坡国际管理学院金色盾牌。获 2010—2012 年度优秀共产党员、2013 年度先进工作者。以第一作者发表的论文 17 篇,全国学术会议大会交流 2 篇,科研六项,其中三项已通过鉴定,两项获奖,一项甘肃省自然科学基金项目立项。出版专著三部。



郭世山,男,1977 年出生,现职称为主管技师。2004 年毕业于安徽理工大学临床医学检验专业。毕业后在枣庄矿务局中心医院工作,2012 年考入枣庄市妇幼保健院。从事医学检验工作 10 余年,擅长细胞检验诊断,免疫分析,血型分析等工作。现在为输血技术指导员,输血开展新项目带头人。发表论文 3 篇,参编论著 2 篇,参与科研 1 项。

前 言

医学检验是运用现代物理化学方法、手段进行医学诊断的一门学科,主要研究如何通过实验室技术、医疗仪器设备为临床诊断、治疗提供依据。伴随着现代科学技术的发展迅速,一大批新技术、新设备、新方法逐渐被引入到临床实验室,增加了更多更准确的检验项目及方法,将其应用于临床当中,并将现有方法进行完善提高,促进了临床实验室诊断的准确性和高质量,同时也实现了临床检验工作的标准化、规范化、准确化程度。

作为检验科的医务人员,在掌握基础医学、临床医学、医学检验、实验诊断等方面的基本理论知识和实验操作能力的基础之上,还需不断学习,吸取最先进的技术与理念,并合理地运用于临床。为了更好地了解医学检验技术的发展,并且更好地将其应用于临床,提高临床诊断率,本编委会组织了在临床检验医学方面具有丰富经验的医务人员认真编写了此书。

本书共分为十九章:包括:红细胞检验、红细胞异常性疾病的检验、白细胞检验、白细胞异常性疾病的检验、血栓与止血的一般检验、红细胞血型检测、白细胞血型检测、成分血制备与管理、临床输血、输血不良反应与输血传播性疾病、尿液一般检验、尿液分析仪检验、粪便检验、体液检验、临床生物化学检验、临床免疫学检验、微生物学检验、分子生物学检验以及儿科遗传性疾病。

内容详细介绍了相关检验技术、操作方法、结果参考、检验的临床意义,以及部分疾病相关检验的临床诊断等,以强调本书的临床实用性,为广大医学检验人员起到一定的参考借鉴用途。

为了进一步提高临床检验人员的水平,本编委会人员在多年临床检验的经验基础上,参考诸多书籍资料,认真编写了此书,望谨以此书为广大临床检验人员提供微薄帮助。

本书在编写过程中,借鉴了诸多医学检验相关临床书籍与资料文献,在此表示衷心的感谢。由于本编委会人员均身负繁重的临床检验工作,故编写时间仓促,难免有错误及不足之处,恳请广大读者见谅,并给予批评指正,以更好地总结经验,以起到共同进步、提高临床医学检验与诊断水平的目的。

《临床检验技术新进展》编委会

2017年3月

目 录

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 红细胞形态异常	(8)
第四节 红细胞比积测定	(11)
第五节 网织红细胞计数	(13)
第六节 红细胞沉降率测定	(15)
第七节 红细胞参数平均值的计算	(18)
第八节 一氧化碳血红蛋白定性试验	(19)
第二章 红细胞异常性疾病的检验	(20)
第一节 铁代谢异常性贫血的检验	(20)
第二节 巨幼细胞性贫血的检验	(27)
第三节 造血功能障碍性贫血的检验	(32)
第四节 溶血性贫血的检验	(34)
第五节 其他红细胞疾病的检验	(61)
第三章 白细胞检验	(64)
第一节 白细胞检验的一般方法	(64)
第二节 白细胞计数	(73)
第三节 嗜酸性粒细胞直接计数	(78)
第四节 红斑狼疮细胞检查	(79)
第五节 白细胞检验的临床应用	(81)
第四章 白细胞异常性疾病的检验	(87)
第一节 急性髓细胞白血病	(87)
第二节 淋巴细胞系统肿瘤	(93)
第五章 血栓与止血的一般检验	(98)
第一节 止血、凝血和纤溶机制	(98)
第二节 血管内皮细胞的检验	(106)
第三节 血小板检验	(109)
第四节 凝血因子检验	(117)
第五节 抗凝物质检验	(122)
第六节 纤溶活性测定	(125)
第六章 红细胞血型检测	(130)
第一节 概述	(130)
第二节 红细胞 ABO 血型	(132)

第三节	红细胞 Rh 血型	(137)
第四节	不规则抗体筛选和鉴定	(142)
第五节	交叉配血试验	(145)
第六节	抗球蛋白试验	(150)
第七节	吸收放散试验	(153)
第八节	凝集抑制试验	(156)
第九节	新生儿溶血病	(157)
第七章	白细胞血型检测	(165)
第一节	人类白细胞抗原检测	(165)
第二节	人类白细胞抗体检测	(168)
第三节	人类白细胞抗原(基因)的分子生物学检测	(173)
第四节	粒细胞抗原抗体检测	(176)
第八章	成分血制备与管理	(179)
第一节	成分血制备	(179)
第二节	血液的隔离与放行	(193)
第三节	血液的储存、发放和运输	(195)
第九章	临床输血	(197)
第一节	全血输注	(197)
第二节	红细胞输注	(198)
第三节	血小板输注	(200)
第四节	单采粒细胞输注	(203)
第五节	血浆输注	(204)
第六节	冷沉淀凝血因子输注	(206)
第七节	血浆蛋白制品输注	(208)
第八节	自身输血	(210)
第九节	特殊情况下输血	(220)
第十节	其他输血治疗技术及细胞治疗	(228)
第十章	输血不良反应与输血传播性疾病	(238)
第一节	输血不良反应	(238)
第二节	输血传播性疾病	(251)
第十一章	尿液一般检验	(260)
第一节	概述	(260)
第二节	尿液标本采集与处理	(262)
第三节	尿液理学检查	(266)
第四节	尿液常用化学检查	(274)
第五节	尿液其他化学检查	(291)
第十二章	尿液分析仪检验	(306)
第一节	尿液干化学分析仪	(306)

第二节	尿液有形成分自动化分析仪	(316)
第十三章	粪便检验	(326)
第一节	粪便标本的收集与送检	(326)
第二节	粪便一般检查	(327)
第三节	粪便化学检查	(334)
第四节	粪便检查工作站	(337)
第五节	粪便检验的质量保证	(338)
第十四章	体液检验	(340)
第一节	阴道分泌物检查	(340)
第二节	精液检查	(344)
第三节	前列腺液检查	(357)
第四节	脑脊液检查	(360)
第五节	浆膜腔积液检查	(372)
第六节	痰液检查	(382)
第七节	关节腔积液检查	(386)
第八节	羊水检查	(391)
第十五章	临床生物化学检验	(399)
第一节	血浆蛋白质的生物化学检验	(399)
第二节	氨基酸的生物化学检验	(406)
第三节	高尿酸血症的生物化学检验	(409)
第四节	糖代谢紊乱与糖尿病	(412)
第五节	糖代谢紊乱指标的测定与评价	(418)
第六节	糖代谢紊乱指标测定的临床应用	(422)
第七节	血浆脂蛋白代谢紊乱与异常脂蛋白血症	(427)
第八节	血脂和脂蛋白的测定与评价	(434)
第九节	血脂和脂蛋白测定的临床应用	(440)
第十六章	临床免疫学检验	(446)
第一节	免疫球蛋白、循环免疫复合物及补体测定	(446)
第二节	自身抗体测定	(449)
第三节	自身免疫病的免疫学检验	(460)
第四节	性病的免疫学检验	(471)
第五节	免疫缺陷病的免疫学检验	(475)
第六节	感染性疾病的免疫学检验	(484)
第七节	生殖免疫与免疫学检验	(499)
第八节	神经系统免疫疾病与免疫学检验	(503)
第十七章	微生物学检验	(507)
第一节	细菌学检验基本技术	(507)
第二节	临床常用细菌学检验	(521)

第三节	临床微生物检验标本的采集	(541)
第四节	细菌耐药性检测	(552)
第十八章	分子生物学检验	(563)
第一节	核酸的分离与纯化	(563)
第二节	重组 DNA 技术.....	(577)
第十九章	儿科遗传性疾病	(594)
第一节	肝豆状核变性	(594)
第二节	杜氏进行性肌营养不良	(595)
第三节	脊髓性肌萎缩症	(596)
第四节	苯丙酮尿症	(597)
第五节	溶酶体贮积症	(598)
参考文献		(606)

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 1.34mL。

红细胞的平均生存时间为 120 天,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 9mm^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(Nenbauer)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 1mm ,面积为 1mm^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 0.1mm ,充液

后每个大格容积为 0.1mm^2 。

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,特别注意不要用手指接触使用面玻璃,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:1.0g。

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

(或无水硫酸钠 2.5g)。

氯化高汞(HgCl_2):0.5g。

蒸馏水:加至 200mL。

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 20g/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 1.99mL。

2. 用微量吸管准确吸取末梢血 $10\mu\text{L}$ 。

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 分钟,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 $0.1\mu\text{L}$ 折算为 $1\mu\text{mL}$ $\times 200$ 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 $45\sim 50^{\circ}\text{C}$,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 2mL,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($>100\times 10^9/\text{L}$),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有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 $RCV\leq 8\%(4\%\sim 8\%)$ 。

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 $20\mu\text{L}$ 吸管用胶塞与 1mL 注射器乳头部紧密接通。把注射器活栓抽出约 1cm,再将吸管尖插入水银中,准确吸取水银至 $20\mu\text{L}$ 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 $0\sim 50^{\circ}\text{C}$ 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接触水银瓶,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

0.3g/L 酚红碱性溶液在 559nm 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 10mm 标准比色皿(误差 $<50/\mu\text{m}$),待测计数板并配备自制比色架。

(三)试剂

1. 0.3g/L 酚红溶液 取酚红 0.03g 酚红溶解于 0.1mol/L 碳酸钠溶液 100mL 中摇匀,过滤后备用。

2. 稀释酚红溶液 准确吸取 0.3g/L 的酚红溶液 1mL,加入已校准的 100mL 容量瓶中,以 0.1mol/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 559nm 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 0.3g/L 酚红溶液,测其吸光度,重复 2 次求其吸光度均值,然后用 10mm 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)。

(李娴)

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 64458D。

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,64458g 血红蛋白,含铁 4×55.84 ,可结合 $4 \times 22.4\text{L}$ 氧,即每克血红蛋白含铁 3.47mg(即铁占 0.347%),可结合氧 1.38mL。

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。

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

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

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 572nm(黄光)和 535nm(绿光)处。

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 500nm 四条吸收光带。

氰化高铁血红蛋白(HiCN):呈棕红色,位于 540nm 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):0.05g。②高铁氰化钾 $[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$:0.2g。③磷酸二氢钾(KH_2PO_4):0.14g。④Triton X-100(或其他非离子型表面活性剂):1.0mL。⑤蒸馏水:加至 1000mL;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 5mL,加末稍血 20 μL ,混匀后静置 5 分钟,用光径 1.0cm,波长 540nm 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:120~160g/L。

成人女性:110~150g/L。

新生儿:170~200g/L。

(五)注意事项

1. 分光光度计必须校正波长和灵敏度,540nm 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 $1.000 \pm 0.005\text{cm}$ (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 15~50g/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 600~1000mL 才能对人体产生毒性反应,致死量为 4000mL,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 35mL,混匀,敞开存放 15 小时,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,5mL 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 50g/L、100g/L、150g/L、200g/L 的 HiCN 标准参考液,在入 540nm 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 200g/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 1cm 的比色皿误差应 $< 0.005\text{cm}$ 。

检验比色皿的透光度可用下述方法校正:用 2mg/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 X600~610nm 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 10mL。

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

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 $>170g/L$;成年女性红细胞 $>5.5 \times 10^{12}/L$,血红蛋白 $>160g/L$ 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 $180 \sim 240g/L$,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

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 $90g/L$ 。②中度: $90 \sim 60g/L$ 。③重度: $60 \sim 30g/L$ 。④极重度: $<30g/L$ 。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 $10\% \sim 20\%$ 。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