

实验学

实验学

主编 李家增

王鸿利

韩忠朝

审阅 王振义

上海科学技术出版社

血液实验学

主编 李家增 王鸿利 韩忠朝
审阅 王振义

上海科学技术出版社

内 容 提 要

本书为血液学的临床和研究提供了反映国内外水平，并较为系统、全面的实验技术的理论和方法。由 47 位既有理论基础又有实验经验的专家撰写。本书除阐述血液细胞学检验、红细胞检验、白细胞检验、血栓与止血检验外，尚有细胞遗传学、分子生物学、微循环和血液流变学方面的检验，以及实验动物、实验统计和实验质量控制等方面的内容。共 28 章、100 余万字。书末附有血液学常用实验室检查的参考值、血栓与止血诊断和科研试剂、部分实验仪器简介，以及英汉缩略语词汇。

本书供临床医师、检验技师、基础研究人员和医学院校师生阅读。

血液实验学

主编 李家增 王鸿利 韩忠朝

上海科学技术出版社出版、发行

(上海瑞金二路 450 号)

南京理工大学激光照排公司照排

新华书店上海发行所经销 上海新华印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 45.25 插页 4 字数 1,060,000

1997 年 10 月第 1 版 1997 年 10 月第 1 次印刷

印数 1—5,000

ISBN 7-5323-4309-X/R·1152

定价：61.80 元

血 液 实 验 学

主 编 李家增 王鸿利 韩忠朝

副主编 (按姓氏笔画为序)

包承鑫 阮长耿 邵慧珍

宋善俊 贺石林

审 阅 王振义

编 委 (按姓氏笔画为序)

王兆钺 王鸿利 卢兴国

丛玉隆 包承鑫 刘泽霖

阮长耿 孙荣武 陈 竺

陈赛娟 邵慧珍 宋善俊

吴梓梁 李叔庚 李家增

金惠铭 贺石林 韩忠朝

作者名单

(按撰写章节先后为序)

丛玉隆	中国人民解放军总医院
卢兴国	浙江医科大学附属第二医院
熊树民	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
杜心培	上海第二医科大学 上海血液学研究所
李叔庚	湖南医科大学
韩忠朝	中国医学科学院 中国协和医科大学血液学研究所
陈元仲	福建医科大学附属协和医院
叶裕春	上海第二医科大学附属新华医院 上海市儿科医学研究所
王昌富	湖北省荆州市中心医院
吴梓梁	广州医学院附属第一医院
陈福雄	广州医学院附属第一医院
赖永洪	广州医学院附属第一医院
龙桂芳	广西医科大学附属第一医院
刘泽霖	广州医学院附属第二医院
俞乃昌	首都医科大学宣武医院
宋善俊	同济医科大学附属协和医院 同济医科大学血液病研究所
魏文宁	同济医科大学附属协和医院 同济医科大学血液病研究所
胡俊斌	同济医科大学附属协和医院 同济医科大学血液病研究所
阮长耿	苏州医学院
王兆钺	苏州医学院
包承鑫	中国医学科学院 中国协和医科大学血液学研究所
王鸿利	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
王学锋	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
汉建忠	湖南医科大学
熊石龙	湖南医科大学
李俊成	湖南医科大学
贺石林	湖南医科大学
张宇舟	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
邵慧珍	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
张庆华	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
王钦红	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
苏欣莹	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
叶 蕳	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
陈赛娟	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所

章 彤 上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
陈 竺 上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所
任政华 白求恩医科大学第三临床学院
孙步彤 白求恩医科大学第三临床学院
孙荣武 白求恩医科大学第三临床学院
霍泽仁 白求恩医科大学第三临床学院
许叔祥 上海市南洋放射免疫中心
徐国珠 中国医学科学院 中国协和医科大学血液学研究所
金惠铭 上海医科大学
金永娟 中国医学科学院 中国协和医科大学血液学研究所
邵宗鸿 中国医学科学院 中国协和医科大学血液学研究所
李家增 中国医学科学院 中国协和医科大学血液学研究所
胡翊群 上海第二医科大学瑞金临床医学院

前　　言

近年来,随着基础医学和临床医学的深入发展,临床化学和免疫学技术的更新,以及细胞生物学和分子生物学技术的崛起,血液学实验技术也在日新月异的发展,许多先进的和实用的方法不断涌现,并逐渐应用于临床和研究。为了发展我国的血液学事业,提高我国血液学和其他相关学科的研究和临床水平,使其尽快与国外先进水平接轨,我们组织和邀请了国内部分专家和教授共同编写了这本《血液实验学》,以供同道们参考和应用。

本书内容丰富、新颖和实用,除有血液细胞学检验、红细胞检验、白细胞检验、血栓与止血检验外,尚有细胞遗传学、分子生物学、微循环和血液流变学方面的检验,还有血液学实验动物、实验统计学和实验质量控制的有关内容。全书共100余万字,28章。第一至二十五章集中介绍逾千项的实验方法,每项方法大致都按[原理]、[试剂和仪器]、[操作方法]、[正常参考值]、[临床应用]和[注意事项]等格式撰写。同时,每章的第一节为“概述”,阐明本章的基本理论;每章的最后一节为介绍本章检测方法的应用。

本书的特点是:①突出一个“全”字(较为全面和系统)、一个“新”字(基本上能反映现代国内外的水平)和一个“用”字(可供临床和研究使用),从而体现了本书的先进性和实用性;②本书将基础理论、实验方法和临床应用三者密切相联,充分体现了理论联系实际、实验联系临床、理论为实验服务、实验为临床服务的原则;③专门撰写了血液学的动物实验、实验统计学和实验的质量控制,以供研究和应用参考;④全书都由既有理论基础,又有实践经验的专家、教授撰写,以确保本书的质量;⑤为了适应不同层次读者的需要,本书部分实验仍保留传统的名词、试剂、方法和单位制,敬请读者谅解。

本书可供临床各科医师、基础研究人员、医学院校师生和临床检验技师等,在医疗、研究和教学中参考和应用。

本书在编写过程中,承蒙上海贝特生物技术公司、美国库尔特电子仪器公司上海办事处和上海通用医用仪器公司等的鼎力支持,特表谢忱。

限于作者的水平,时间仓促,书中缺点和错误在所难免,诚恳希望专家和读者提出批评和指正,以便再版时修正。

编　者

1997年8月

目 录

第 一 章 血液学基本检测方法与应用	1
第一节 概述.....	1
第二节 红细胞基本检测方法	1
一、红细胞计数	1
二、血红蛋白测定	3
三、网织红细胞计数	4
四、血细胞比容测定	5
五、红细胞指数测定	5
六、红细胞形态学观察	6
七、点彩红细胞计数和红细胞碱粒凝集试验	7
第三节 白细胞基本检测方法	8
一、白细胞计数	8
二、白细胞分类计数	9
三、异常白细胞	10
四、嗜酸粒细胞计数	12
五、嗜碱粒细胞计数	14
六、单核细胞计数	14
七、淋巴细胞计数	15
第四节 血液分析仪在一般血液检测中的应用	16
一、血液分析仪应用进展	16
二、电阻法血液分析仪原理	16
三、激光法血液分析仪的应用	17
四、血液分析仪应用中应注意的问题	18
第五节 血液学基本检测方法的应用	20
一、在贫血中的应用	20
二、白细胞变化的临床意义	24
第 二 章 血液细胞形态学检测方法与应用	27
第一节 概述	27
第二节 血细胞形态学检测方法	28
一、适应证和禁忌证	28
二、骨髓穿刺方法	28
三、涂片和染色方法	30
四、涂片油滴、小粒和色泽检查	30
五、镜下检查	31
第三节 检测结果分析与报告方式	31

[2] 目录

一、结合临床分析	31
二、结合血象分析	33
三、骨髓象分析	35
四、结合其他检查分析	39
五、骨髓细胞形态学检测的特征描述和报告方式	40
第四节 正常血细胞形态学	41
一、红系细胞形态学	41
二、粒系细胞形态学	41
三、单核、巨噬细胞形态学	42
四、淋巴及浆细胞形态学	43
五、巨核细胞形态学	43
六、其他细胞形态学	44
第五节 异常血细胞形态学	45
一、红细胞系统异常形态学	45
二、粒系细胞异常形态学	46
三、单核、巨噬细胞异常形态学	47
四、淋巴及浆细胞系统异常形态学	48
五、巨核细胞异常形态学	49
六、其他细胞异常形态学	50
第六节 血细胞形态学检测的应用	50
一、再生障碍性贫血	50
二、缺铁性贫血	51
三、巨幼细胞贫血	51
四、溶血性贫血	52
五、铁粒幼细胞贫血和难治性贫血	53
六、继发性贫血	53
七、白血病和骨髓增生异常综合征	53
八、骨髓增生性疾病	53
九、血小板减少性紫癜	53
十、白细胞减少和粒细胞缺乏	54
十一、类白血病反应	54
十二、恶性组织细胞病	54
十三、噬血细胞综合征	55
十四、多发性骨髓瘤	55
十五、其他	55
第 三 章 血液细胞化学染色检测方法与应用	57
第一节 概述	57
一、研究目的及临床应用	57
二、基本研究方法	57
第二节 酯酶染色方法	58
一、氯醋酸 AS-D 莢酚酯酶染色	58
二、中性非特异性酯酶染色	59

三、酸性非特异性酯酶染色	61
四、碱性 α -丁酸萘酚酯酶染色	62
五、酯酶双染色	63
第三节 非酯酶染色方法	64
一、过氧化物酶染色	64
二、中性粒细胞碱性磷酸酶染色	65
三、酸性磷酸酶染色	67
四、过碘酸-席夫反应	68
五、阿利新蓝染色	70
六、胶体铁染色	71
七、 φ (phi)小体染色	71
八、铁染色	72
九、苏丹黑 B 染色	73
第四节 血细胞化学染色检测方法的应用	74
一、缺铁性贫血	74
二、铁粒幼细胞性贫血	75
三、急性非淋巴细胞白血病	75
四、急性淋巴细胞白血病	75
五、慢性粒细胞白血病	75
六、慢性淋巴细胞白血病	75
七、特殊类型的急性白血病	75
八、骨髓增生异常综合征	76
九、骨髓增生性疾病	76
十、恶性组织细胞增多症	76
第 四 章 血液病理学检测方法与应用	78
第一节 概述	78
第二节 骨髓组织学检测方法	78
一、制片方法	78
二、染色方法	79
三、免疫组织化学染色方法	82
第三节 淋巴结和脾脏组织学检测方法	84
一、制片方法	84
二、染色方法	85
三、免疫组织化学染色方法	86
第四节 淋巴结和脾脏涂片和印片检测方法	89
一、适应证和禁忌证	89
二、标本制作	89
三、染色方法	89
四、观察和分析	90
第五节 血液病理检测方法的应用	90
一、骨髓组织学检测方法的应用	90
二、淋巴结和脾脏组织学检测方法的应用	91

三、涂片和印片检测的应用	93
第 五 章 血细胞超微结构检测方法与应用	94
第一节 概述	94
第二节 血细胞超微结构检测的基本方法	95
一、标本制备方法	95
二、电镜细胞化学方法	97
三、免疫电镜检测方法	99
四、冷冻蚀刻方法	100
第三节 正常血细胞超微结构	102
一、一般细胞超微结构	102
二、红细胞超微结构	105
三、粒细胞超微结构	106
四、单核细胞超微结构	108
五、淋巴细胞超微结构	109
六、血小板和巨核细胞超微结构	110
第四节 血细胞超微结构检测的应用	111
一、在急性淋巴细胞白血病中的应用	111
二、在急性非淋巴细胞白血病中的应用	112
三、在特殊类型白血病中的应用	112
四、在多发性骨髓瘤中的应用	113
五、在淋巴瘤中的应用	113
六、在贫血中的应用	114
七、在其他血液病中的应用	114
第 六 章 造血细胞培养方法与应用	116
第一节 概述	116
第二节 小鼠骨髓造血干细胞的克隆分析	118
一、引言	118
二、试剂	118
三、骨髓细胞制备	118
四、集落形成细胞分析	119
五、结论与应用	124
第三节 人骨髓和末梢血多能干细胞和系列限制祖细胞的体外培养方法	125
一、骨髓和血液标本的采集	125
二、细胞的分离	125
三、人造造血干细胞克隆分析	126
第四节 培养细胞的染色	131
一、髓系和淋巴系细胞染色	131
二、有核红细胞染色	132
三、小鼠巨核细胞染色	132
四、巨核细胞糖蛋白 IIb-IIIa 免疫酶标染色	132
五、结论与应用	133
第五节 细胞培养试剂的挑选和制备	133

一、正常血清	133
二、再障患者血清	133
三、动物再障血浆或血清	133
四、培养液	134
五、10%去离子牛血清清蛋白的制备	134
六、2.7%甲基纤维素溶液的制备	134
七、3.3%琼脂溶液的制备	134
八、植物血凝素刺激的白细胞条件培养液的制备	135
九、无血清培养试剂的制备	135
十、无血清造血细胞培养	135
第六节 细胞的冻存和解冻	136
一、细胞冻存	136
二、细胞解冻	136
第 七 章 造血细胞生长调节因子的检测方法与应用	137
第一节 概述	137
第二节 造血细胞生长调节因子及其受体的测定	138
一、血清和细胞悬液中生长因子或可溶性受体的 ELISA 法测定	138
二、细胞膜、细胞浆内因子或因子受体的免疫荧光法测定	139
三、Western blot 为蛋白质聚丙酰胺凝胶电泳与抗原抗体免疫反应法测定	139
四、蛋白质电泳转移法测定	141
第三节 造血因子及其受体的 mRNA 表达的检测	142
第四节 临床意义及其应用	145
第 八 章 造血原料缺乏所致贫血的检测方法与应用	146
第一节 概述	146
第二节 铁代谢检测方法	147
一、血清铁检测	147
二、血清总铁结合力和未饱和铁含量检测	148
三、运铁蛋白饱和度检测	149
四、血清铁蛋白检测	149
五、运铁蛋白检测	150
六、血浆铁半衰期检测	151
七、铁吸收率检测	151
八、血浆铁转换率检测	152
九、红细胞内游离原卟啉检测	153
第三节 维生素 B ₁₂ 与叶酸检测方法	155
一、血浆维生素 B ₁₂ 检测	155
二、血浆叶酸检测	158
第四节 造血原料缺乏所致贫血检测方法的应用	159
一、铁缺乏症和组织铁沉积症的应用	159
二、营养缺乏性疾病中的应用	160
三、其他应用	161
第 九 章 红细胞膜缺陷检测方法与应用	162

第一节 概述	162
一、膜蛋白和骨架蛋白	162
二、膜脂质	164
第二节 红细胞渗透溶血试验	165
一、红细胞渗透脆性试验	165
二、红细胞温育渗透脆性试验	166
三、酸化甘油溶解试验	167
四、高渗冷溶血试验	168
五、自身溶血试验	169
第三节 红细胞膜蛋白检测方法	170
一、红细胞膜的制备	170
二、Lowry 蛋白质测定	170
三、红细胞膜蛋白电泳分析	171
四、红细胞膜腺苷三磷酸酶活性测定	172
五、红细胞膜补体受体测定	174
第四节 红细胞膜脂质检测方法	175
一、红细胞膜磷脂组分测定	175
二、红细胞膜两侧分布的磷脂组分测定	177
三、红细胞膜胆固醇和磷脂测定及其比值计算	178
第五节 红细胞膜缺陷检测方法的应用	180
一、在遗传性球形红细胞增多症中的应用	180
二、在遗传性椭圆形红细胞增多症中的应用	181
三、在遗传性口形红细胞增多症中的应用	181
第 十 章 红细胞酶病检测方法与应用	182
第一节 概述	182
一、红细胞酶病简介	182
二、红细胞酶活性检测基本方法与要求	183
第二节 红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性测定	184
一、红细胞 G6PD 活性筛选试验	184
二、红细胞 G6PD 活性定量测定	188
第三节 红细胞丙酮酸激酶活性测定	191
一、红细胞丙酮酸激酶缺陷筛选试验(PK 荧光斑点试验)	191
二、红细胞丙酮酸激酶活性定量测定	192
第四节 红细胞葡萄糖磷酸异构酶活性测定	193
一、葡萄糖磷酸异构酶筛选试验(荧光斑点试验)	193
二、红细胞葡萄糖磷酸异构酶活性定量测定	194
第五节 红细胞嘧啶 5'-核苷酸酶活性测定	195
一、嘧啶 5'-核苷酸酶筛选试验	195
二、嘧啶 5'-核苷酸酶活性定量测定	195
第六节 其他红细胞酶活性测定	197
一、其他红细胞酶活性的筛选试验	197
二、其他红细胞酶活性定量测定	199

三、一些红细胞酶活性的正常参考值	202
第七节 红细胞代谢中间产物的测定	202
一、腺苷三磷酸测定	202
三、2,3-二磷酸甘油酸测定	203
三、还原型谷胱甘肽测定	205
四、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸测定	206
第八节 红细胞酶病检测方法的应用	207
一、红细胞酶活性测定的临床应用	207
二、红细胞糖代谢中间产物含量测定的临床应用	208
第十一章 血红蛋白异常检测方法与应用	210
第一节 概述	210
一、异常血红蛋白	210
二、珠蛋白生成障碍性贫血	211
第二节 血红蛋白异常检测方法	211
一、血红蛋白溶液的制备	211
二、红细胞脆性试验(一管法)	212
三、抗碱血红蛋白测定(一分钟碱变性试验)	213
四、血红蛋白醋酸纤维薄膜电泳	214
五、pH6.5 醋酸纤维薄膜电泳	214
六、血红蛋白 A ₂ 测定(醋酸纤维薄膜电泳法)	215
七、异丙醇试验	216
八、变性珠蛋白包涵体检查	216
九、珠蛋白肽链聚丙烯酰胺凝胶电泳分析	217
第三节 血红蛋白异常检测方法的应用	218
一、异常血红蛋白中的应用	218
二、珠蛋白生成障碍性贫血中的应用	219
第十二章 抗体和补体所致溶血检测方法与应用	222
第一节 概述	222
一、抗原	222
二、抗体	223
三、补体	224
四、抗原、抗体相互作用的后果	225
第二节 温抗体溶血检测方法	226
一、抗人球蛋白试验	226
二、胰蛋白酶试验	228
三、聚凝胺试验	229
四、红细胞相关 IgG 定量测定	231
第三节 冷(热)抗体溶血检测方法	232
一、冷凝集素试验	232
二、冷热溶血试验	233
第四节 补体溶血检测方法	234
一、酸化溶血试验	234

二、蔗糖溶血试验	235
三、热溶血试验	237
四、红细胞膜表面乙酰胆碱酯酶活性测定	237
五、蛇毒因子溶血试验	238
第五节 抗体和补体所致溶血检测方法的应用	239
一、温抗体型自身免疫性溶血性贫血	239
二、冷抗体型自身免疫性溶血性贫血	241
三、阵发性睡眠性血红蛋白尿症	242
第十三章 白细胞检测方法与应用	244
第一节 概述.....	244
一、粒细胞	244
二、单核细胞、巨噬细胞	245
三、淋巴细胞	245
四、白细胞功能试验	246
五、白细胞表面抗原	247
第二节 白细胞动力学检测.....	248
一、粒细胞动力学检测	248
二、淋巴细胞动力学检测	250
第三节 白细胞功能检测	252
一、中性粒细胞储备功能检测	252
二、中性粒细胞功能检测	253
三、淋巴细胞功能检测	257
四、巨噬细胞功能检测	269
第四节 白细胞表面抗原的检测	269
一、流式细胞仪计数检测	269
二、荧光显微镜计数检测	270
三、碱性磷酸酶-抗碱性磷酸酶桥联酶标检测	271
四、PCR 检测	272
第五节 白细胞代谢及相关产物的检测	274
一、末端脱氧核苷酸转移酶检测	274
二、 β -氨基己糖苷酶同功酶检测	275
三、N-碱性磷酸酶检测	277
四、酸性 α -醋酸萘酚酯酶检测	278
五、过氧化物酶检测	279
第六节 白细胞检测方法在临床上的应用	281
一、在白血病中的应用	281
二、在白细胞功能异常疾病中的应用	283
三、在白细胞减少中的应用	285
第十四章 血管内皮细胞检测方法与应用	286
第一节 概述.....	286
一、血管内皮细胞的形态结构	286
二、血管内皮细胞的功能	286

第二节 一般检测方法	287
一、出血时间	287
二、阿司匹林耐量试验	288
三、甲襞微循环检查	288
第三节 内皮细胞形态学检测方法	289
一、内皮细胞培养方法	289
二、内皮细胞的鉴定	289
三、血液内皮细胞检测	290
第四节 内皮细胞功能检测方法	291
一、von Willebrand 因子检测	291
二、6-酮-前列腺素 F _{1α} 检测	292
三、去甲基-6-酮-PGF _{1α} 测定(酶标法)	294
四、血栓调节蛋白测定(TM : Ag 放射免疫法)	295
五、内皮素酶联免疫测定	296
第五节 内皮细胞粘附分子检测方法	296
一、免疫球蛋白家族粘附蛋白检测(放射性核素法)	296
二、选择素家族粘附蛋白检测(细胞计数法)	297
第六节 血管内皮细胞检测方法的应用	298
一、在出血性疾病中的应用	298
二、在血栓性疾病中的应用	298
三、在其他方面的应用	299
第十五章 血小板检测方法与应用	300
第一节 概述	300
一、血小板外形和超微结构	300
二、血小板生化代谢和膜糖蛋白	300
三、血小板功能	301
第二节 血小板计数和平均血小板体积检测	302
一、血小板计数	302
二、平均血小板体积测定	303
第三节 血小板生存时间检测	304
一、核素测定法	304
二、非核素测定法	305
第四节 血小板功能试验	306
一、血小板粘附试验	306
二、血小板聚集试验	308
三、血小板释放试验	312
第五节 血小板凝血活性检测	317
一、血小板因子 3 有效性测定	317
二、蜂蛇毒血小板因子 3 有效性测定	318
三、血小板诱导凝血酶生成时间测定	319
第六节 血块回缩检测	320
一、血浆再钙化法	320

二、定量法	321
第七节 血小板代谢产物检测	321
一、血栓烷 B ₂ 测定	321
二、血小板环核苷酸测定	323
三、丙二醛测定(比色法)	324
四、白三烯 B ₄ 测定	324
五、前列腺素 D ₂ 测定	326
六、前列腺素 E ₂ 测定	326
七、前列腺素 F _{2α} 测定	327
第八节 血小板膜糖蛋白检测	327
一、血小板膜糖蛋白定量测定	327
二、血小板膜糖蛋白分析	329
第九节 血小板抗体检测	331
一、血小板相关抗体和相关补体测定	331
二、抗心磷脂抗体测定	332
三、血小板膜糖蛋白 I _b -III _a 自身抗体测定	333
四、药物相关自身抗体测定(间接免疫荧光法)	334
五、同种抗血小板抗体的检测及其鉴别	335
第十节 血小板检测方法的应用	336
一、在出血性和血栓性疾病中的应用	336
二、血小板激活检测在血栓前状态和血栓性疾病中的应用	339
第十六章 凝血因子检测方法与应用	341
第一节 概述	341
一、凝血因子	341
二、凝血机制	342
第二节 凝血因子筛选试验	343
一、全血凝固时间测定(Lee-White 试管法)	343
二、激活凝血时间测定	345
三、复钙时间测定	345
四、激活部分凝血激酶时间测定	346
五、血浆凝血酶原时间测定(一期法)	346
六、因子 XIII 定性试验	347
七、Russell 蟒蛇毒时间检测	348
八、蝰蛇毒磷脂时间测定	348
九、蝰蛇毒复钙时间测定	349
第三节 凝血因子缺乏纠正试验	349
一、凝血酶原消耗时间	349
二、凝血酶原消耗时间的纠正试验	350
三、简易凝血激酶生成试验及其纠正试验	351
四、Biggs 凝血激酶生成试验	352
五、血浆凝血酶原时间延长纠正试验	354
六、肝促凝血酶原激酶试验	354