

XINBIAN XUEYEBING JIANYAN SHOUC

新编

血液病检验手册

主编 孔文楨

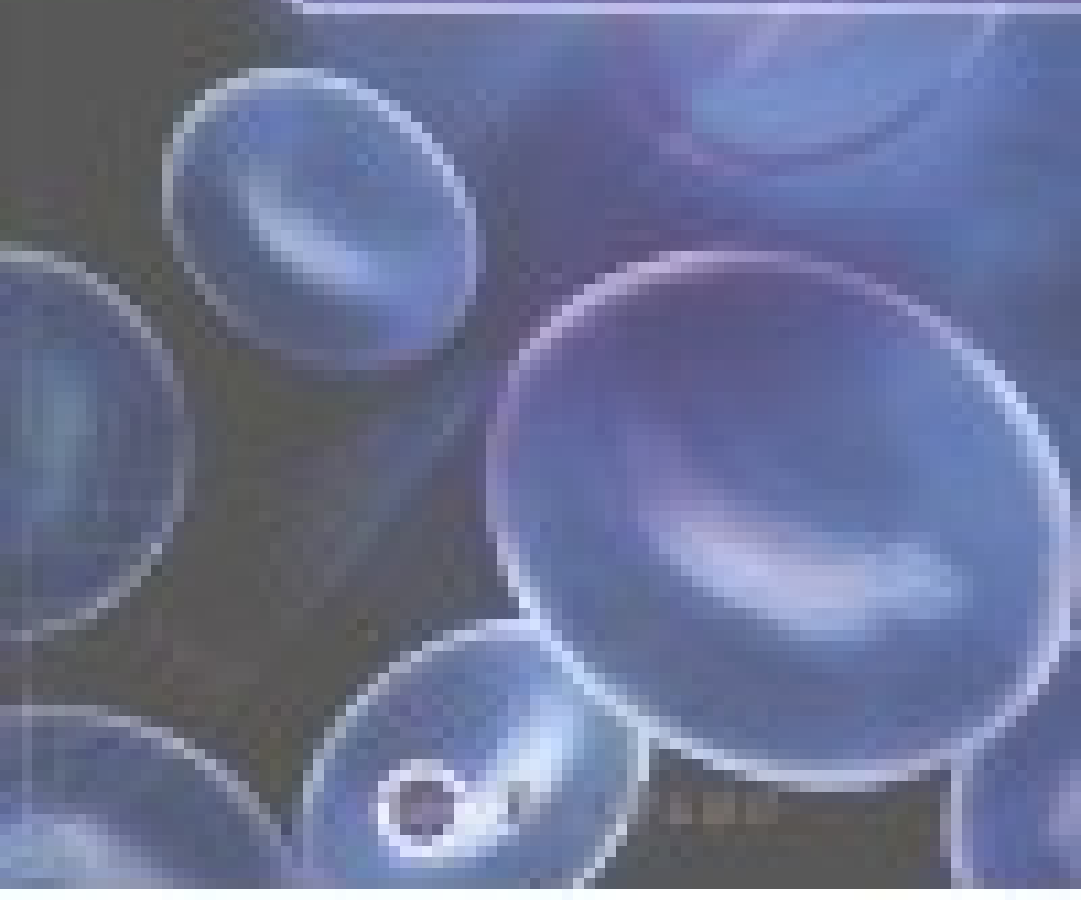


兰州大学出版社

新編

血液病檢驗手冊

主編 阮士蘭



XINBIAN XUEYEBING JIANYAN SHOUCE

新编

血液病检验手册

主 编 孔文祯

副主编 贾福苏 邢福军 刘爱萍



兰州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

新编血液病检验手册/孔文祯主编. —兰州:兰州
大学出版社, 2008. 12

ISBN 978-7-311-03174-9

I. 新... II. 孔... III. 血液病—实验室诊断—手册
IV. R550.4-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 194769 号

策划编辑 宋 婷
责任编辑 张国梁 丁武蓉
封面设计 马晓伟

书 名	新编血液病检验手册
主 编	孔文祯
出版发行	兰州大学出版社 (地址:兰州市天水南路 222 号 730000)
电 话	0931-8912613(总编办公室) 0931-8617156(营销中心) 0931-8914298(读者服务部)
网 址	http://www.onbook.com.cn
电子信箱	press@onbook.com.cn
印 刷	兰州德辉印刷有限责任公司
开 本	880×1230 1/32
印 张	9 (插页 8)
字 数	289 千字
版 次	2008 年 12 月第 1 版
印 次	2008 年 12 月第 1 次印刷
书 号	ISBN 978-7-311-03174-9
定 价	25.00 元

(图书若有破损、缺页、掉页可随时与本社联系)

前 言

在临床诊断技术进入现代化的今天,为更好服务于临床,提高临床对疾病及时、高效、准确的诊断,新设备和新方法的不断涌现及使用,迫使检验工作者加强学习和熟练掌握其原理、操作、维护等,使检验结果有一个相对的标准和可比性。为此,我们编写了这本《新编血液病临床检验手册》,力求实用性、先进性、科学性,特别强调结合临床实际,以准确、简明、突出重点为指导思想,拓展检验工作者的工作思路、方法。

血液病的诊断、治疗观察与实验室工作关系密切,有时因为缺少实验室的结果,使临床医生对疾病难以确诊;更多的情况下,疾病的诊断又往往需要检验结果与临床资料综合分析,才能作出正确的临床结论。

本书的编写内容,除介绍新设备、新方法以外,还系统地详述了检验的基础知识、基本理论、经典方法,以满足不同层次读者的需求。同时也补充了一些新的研究进展,比如D二聚体的检测、抗凝血酶、蛋白C、蛋白S等,并引入了检验项目的SOP文件以及脱落细胞的检查,进一步扩展检验学科的广度,适应医学发展的要求。

尽管编者在编写过程中认真努力,但由于时间有限和编者自身水平的限制,难免有不足之处和疏漏,恳请临床检验工作者提出宝贵意见。

目 录

第一章 血液病常规检查方法	(1)
第一节 血液细胞计数	(1)
第二节 全自动血球仪计数法	(22)
第二章 血细胞形态之一	(36)
第一节 美蓝—伊红染色法	(36)
第二节 血细胞的形态	(39)
第三节 骨髓及血片各种血细胞的正常值	(53)
第四节 主要血液病的血细胞形态特点	(57)
第五节 正常骨髓血细胞形态	(76)
第六节 成熟血细胞的各种异常形态	(78)
第三章 血细胞形态之二	(80)
第一节 组织化学	(80)
第二节 点彩红细胞计数和红细胞碱粒凝集试验	(114)
第四章 穿刺检查术	(120)
第一节 骨髓穿刺检查	(120)
第二节 脾脏穿刺检查	(124)
第三节 淋巴结穿刺检查	(126)
第五章 浆膜腔积液检验	(128)
第一节 胸腔、腹腔和心包腔积液检查	(129)
第二节 关节腔积液检查	(137)
第六章 脱落细胞检查	(144)
第一节 概述	(144)
第二节 正常脱落细胞形态	(144)
第三节 良性病变的上皮细胞形态	(147)

第四节	肿瘤脱落细胞形态	(149)
第五节	标本采集与涂片制作	(151)
第六节	显微镜检查	(154)
第七节	阴道脱落细胞检查	(155)
第八节	浆膜腔积液脱落细胞检查	(159)
第九节	泌尿系统脱落细胞检查	(163)
第十节	痰液脱落细胞检查	(165)
第七章	出血性疾病的检查方法	(169)
第一节	正常止血过程及其原理	(169)
第二节	出凝血系列检查半自动与全自动检查法	(181)
第三节	止血血栓检测程序	(191)
第四节	血浆凝血酶原时间测试程序	(192)
第五节	活化部分凝血活酶时间测定操作程序	(197)
第六节	纤维蛋白原的测定操作程序	(201)
第七节	凝血酶时间测定操作程序	(204)
第八节	凝血因子检测操作程序	(207)
第九节	D-D二聚检测操作程序	(213)
第十节	抗凝血酶Ⅲ检测操作程序	(219)
第十一节	蛋白C检测操作程序	(223)
第十二节	蛋白S检测操作程序	(230)
第十三节	肝素检测操作程序	(236)
第十四节	血浆血管性血友病因子抗原检测 操作程序	(242)
第十五节	血浆组织纤溶酶原活化剂活性检测 操作程序	(244)
第十六节	血浆纤溶酶原活化抑制剂活性检测 操作程序	(247)
第十七节	血浆纤溶酶——抗纤溶酶复合物 检测操作程序	(250)

第八章 血型 and 输血	(253)
第一节 ABO 血型系统的抗原及抗体检查	(253)
第二节 ABO 血型系统的亚型	(255)
第三节 ABO 血型鉴定	(257)
第四节 交叉配血法	(260)
第五节 红细胞 Rh 血型系统检查	(266)
第六节 新生儿溶血病检查	(269)
第七节 自动化血型分析仪	(271)
第八节 人类白细胞抗原检查	(272)
第九节 血小板血型系统检查	(274)
第十节 血液保存液	(275)
第十一节 输血与输血反应	(276)

第一章 血液病常规检查方法

近年来,血细胞计数仪种类较多,但一般医院都用三分类和五分类分析仪器。临床检验方面,在工作量大,人员配备较少,用计数仪测定有明显异常的情况下,再用手工法核实后方可发出报告。所以,在本文中我们首先介绍手工细胞计数,接着介绍一种SE9000 计数仪的操作和计数的基本方法与原理。

第一节 血液细胞计数

一、红细胞计数

红细胞计数分“试管法”与“吸管计数法”两种,在临床实践中,试管法较吸管法方便,适合大量工作的需要,可在不同地区、不同条件下使用,为广大临床检验工作者所习用,故此处只介绍试管法。

(一)材料

血红蛋白吸管

中试管(1.2 厘米×11 厘米)

血细胞计算盘

红细胞稀释液

(二)试剂配制

1. 红细胞(赫姆氏, Hayen)稀释液:

氯化钠 1.0 克

硫酸钠($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 2.0 克

(或无水硫酸钠 Na_2SO_4 2.5 克)

氯化高汞 0.5 克

蒸馏水 加至 200.0 毫升

过滤备用。

红细胞稀释液易使红细胞凝集,尤其在血浆球蛋白增高时更为常见,此时则选用下列溶液。

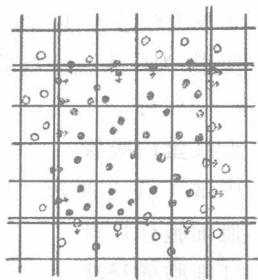
2. 氯化钠	0.6 克
枸橼酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	1.0 克
36% 中性甲醛溶液	1.0 毫升
蒸馏水	97.4 毫升

混合溶解后,过滤备用。

(三)方法

1. 在试管内加上稀释滤液 2.0 毫升。
2. 用吸管取血 10.0 立方毫米,擦净吸管外的人血液。
3. 将吸管插入试管底,轻轻吹出血液,并用上清稀释液洗吸管 2~3 次,随手将试管轻轻摇动 1~2 分钟,使血液与稀释液混匀。
4. 用玻棒蘸取少量混悬液,一次滴入计算盘内,使之灌满。静置 2~3 分钟,待红细胞下沉后进行计数。

5. 计数方法:先用低倍镜巡视计算盘内红细胞分布状况,并把计算盘中央的大方格置于视野内。换取高倍镜,计数这一大方格中的四角及中间的五个中方格(每一中方格有 16 个小方格,共计 80 个小方格)内的红细胞总数。计数时应按小方格顺序进行,切勿将红细胞重复计数或遗漏。计算盘的中方格



均由双线或三线划分,一般压在上侧和左侧线上的红细胞应该计数,压在下侧及右侧线上的红细胞则不计数,如图所示(应用 25 格型计算盘时,压在线上的红细胞都算在内,而应用 16 格型计算盘时三线中只计压在内线上的红细胞)。把所得总数乘以 10,000,即为每立方毫米血中所含红细胞数。

计算原理:计算盘中央的大方格面积为一平方毫米,分为 25 个中方格,每个中方格又分为 16 个小方格,共计 400 个小方格。每个小方格的面积为 $\frac{1}{400}$ 平方毫米,计算盘深度为 $\frac{1}{10}$ 毫米,故每一小方格的容积为 $\frac{1}{400} \times \frac{1}{10} = \frac{1}{4,000} = 0.02$ 微升。80 个小方格的容积则为 $\frac{1}{0.02}$ 微升。血标本稀释 200 倍,因此,每微升血中红细胞数应为 80 个小方格的红细胞数 $\times \frac{1}{0.02} \times 200$,即 80 个小方格的红细胞数 $\times 10^{12}$ 。换算为升时,5 个中方格内的红细胞 $\times \frac{1}{0.02} \times 200 = \frac{N}{100} \times 10^{12}$ /升 ($N=5$ 个方格内的红细胞)。

(四) 注意事项

1. 所用吸管必须固定,取血量、稀释液量要准确。
2. 血液加入试管后,需充分摇匀(可在灯下观察)。摇动要轻,避免出气泡。
3. 计算盘内细胞分布要均匀,各中方格细胞差数不应超过 $\pm 10\%$ 。
4. 混悬液滴入计算盘时,充液量要适当,量多则液体外溢,使盖玻片浮起,增加了计算盘的深度;量少则计算盘充不满,且容易发生气泡,均影响计数的准确性。
5. 如遇有冷凝集现象,应把标本置于保温箱内几分钟,再摇匀计数。

(五) 红细胞计数误差

红细胞计数的差异性较大,同一份血液标本做多次红细胞计数,各次测得结果不尽相同,所以临床医务工作者决不能以单项红细胞总数去判定被检者有无贫血。此外,临床医生正确估计红细胞计数误差范围,可以避免把一些正常的波动看做病理变化。红细胞计数误差原因有两个方面:

1. 仪器不精确和操作不正规所致的误差。如吸管容量不准确、盖玻片不平、采血时流血不畅或用力挤压、取血量过多或过少、血液在稀释液中混合不匀、滴入计算盘液量过多等等。所以,精确的仪器和正规熟练的操作,是保证误差不致过大的重要条件。

2. 计数域误差。由于细胞在计算盘中分布难以绝对均匀,因而在相同面积的各个部分的细胞数目不等,扩大计数面积可以减小这一误差。从理论及实验证明,计数任意区域的细胞数 m ,其标准差 δ 等于 $\sqrt{m}$,有人从实验中计算出红细胞计数的标准差 $\delta = 0.92 \sqrt{m}$ 。根据概率论的理论,实际误差在 2 倍标准差范围者占 95%,一般以 2 倍标准差为误差限度。例如计数 80 个小方格内的红细胞数为 5(即每升红细胞 5 万),其误差范围为:

$$5 \pm 2\delta = 5 \pm 0.92 \sqrt{m} = 5 \pm 2 \times 0.92 \sqrt{5} = 5 \pm 0.43$$

即误差范围波动在 4.57 ~ 5.43 之间,按照国际单位为 $4.57 \sim 5.43 \times 10^{12}/L$ 。

若把标准差 δ 以变异数 CV 表示,即

$$CV = \frac{\delta}{m} \times 100$$

则红细胞计数的变异系数为

$$\begin{aligned} CV &= \frac{0.92 \sqrt{m}}{m} \times 100 = \frac{0.92 \times 100}{\sqrt{m}} \\ &= \sqrt{\frac{(0.92 \times 100)^2}{m}} = \sqrt{\frac{92^2}{m}} \end{aligned}$$

从上式可知,红细胞计数的变异系数 CV 与计数红细胞数 m 值的平方根成反比,即计数红细胞数值 m 愈大,则 CV 值愈小。例如计数 80 个小方格内红细胞数为 5 时,其误差范围为:

$$5 \pm 2CV = 5 \pm 2 \times \sqrt{\frac{92^2}{5}} = 5 \pm 8.6\% \times 10^{12}$$

若 80 个小方格内红细胞数为 2 时,其误差范围则为:

$$2 \pm 2CV = 2 \pm 2 \times \sqrt{\frac{92^2}{2}} = 2 \pm 13\% \times 10^{12}$$

由此可知,计数红细胞数愈少,其计数域误差愈大。所以,贫血患者红细胞计数,必须扩大计数面积,以便尽量减少计数域误差。

(六)正常值

成年男性: $(4 \sim 5.5) \times 10^{12}/L$, 平均 $4.83 \times 10^{12}/L$;

成年女性: $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/L$, 平均 $4.33 \times 10^{12}/L$ 。

(七)临床意义

1. 生理情况,如年龄、性别、体力劳动、气候、居住在高原等均有红细胞总数的差异。

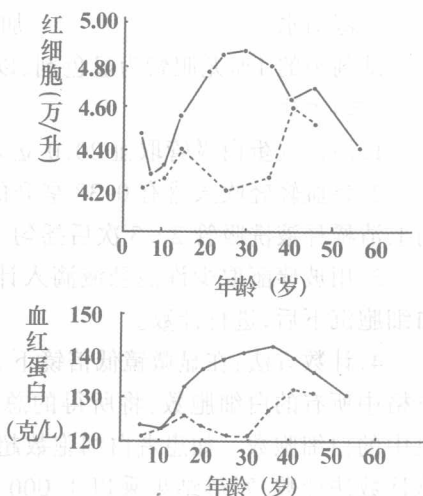
2. 严重呕吐、腹泻、先天性心脏病、慢性肺脏疾患、慢性一氧化碳中毒、真性红细胞增多症等,均可有红细胞总数增多。

3. 在急性或慢性失血,红细胞遭受物理、化学或生物因素破坏,缺乏造血因素,造血障碍和造血组织损伤,以及各种原因的血管内或血管外溶血,均可使红细胞总数减少。

(八)红细胞及血红蛋白的生理变异

1. 年龄

根据我院的调查,男性的红细胞数值在6~7岁最低,以后随年龄的增长而逐年上升,至25~30岁时达最高值,30岁以后又逐年下降,至60岁尚未停止。女性的红细胞数在儿童时期也有随年龄的增长而逐渐上升的趋势,在13~15岁达最高值,以后逐渐下降,在21~35岁间维持于最低水平,以后又明显升高而与男性的水平相接近。血红蛋白的变化



与此类似。

2. 精神因素

兴奋和恐惧可使红细胞增加。

3. 气压

气压降低时,由于氧缺乏,红细胞数增加。

4. 季节

无明显的影响。

二、白细胞计数

(一) 材料

小试管(0.6 厘米×8 厘米)

白细胞稀释液

其余同红细胞计数

(二) 试剂配制

白细胞稀释液:

冰醋酸 2.0 毫升

1% 龙胆紫 1.0 毫升

蒸馏水 加至 100.0 毫升

试剂中的 1% 龙胆紫为显色剂,以区别于其他稀释液。

(三) 方法

1. 用血红蛋白吸管取血 20.0 立方毫米,擦净吸管外血液。

2. 将血轻轻吹入盛有 0.38 毫升的白细胞稀释液的试管中,并用上清稀释液洗吸管 2~3 次后摇匀。

3. 用玻棒蘸取少许混悬液滴入计算盘内,静置 2~3 分钟,待白细胞沉下后,进行计数。

4. 计数方法:在显微镜低倍镜下,计数计算盘内四角的四个大方格中所有的白细胞数,将所得的总数乘以 50,即得每立方毫米血中的白细胞数。如患者白细胞数超过 3 万/立方毫米,可按红细胞计数法计数,所得结果乘以 1,000,为每升血液中的白细胞数,换算成白细胞 $\times 10^9/L$ 。

(四) 计算原理

每个大方格面积为 1 平方毫米,计算盘深度为 0.1 毫米,血标本稀释 20 倍,故每立方毫米血中白细胞数为四个大方格的白细胞数 $\times 10 \times 20 \times 10^6 = \frac{N}{20} \times 10^9 / L$ 。

(五) 注意事项

1. 与红细胞计数的注意事项相同。
2. 白细胞在一天之中是有波动的,如饭后、激烈运动后和过于兴奋均可引起白细胞增高,故取血时间应尽可能固定,在判断结果时也应考虑到这些因素的影响。
3. 计算盘内细胞分布要均匀,各大方格间细胞数相差应不超过 10 个。
4. 在某些病理情况下,如某些血液病患者血中出现较多量有核红细胞时,应除去有核红细胞数,得真正的白细胞数。可按下列公式计算:

$$\text{未校正前所得总数} \times \frac{100}{100 + \text{分类计数 100 个白细胞时遇到有核红细胞数}}$$

5. 耳垂血计数白细胞可高于手指血。马成虎曾比较了 200 例健康人的耳垂和手指血的白细胞数,耳垂血白细胞高于手指血白细胞者计 74 例(占 37%),一般可高 25% ~ 60%,个别可高出 1 倍。有人观察正常人的第 1、2 滴耳垂血的白细胞数和单核细胞,明显高于第 3 滴血,手指血则无此现象。因此,做白细胞计数及分类时,以取第 3 滴耳垂血为宜。

6. 某些病理情况如风湿热、亚急性细菌性心内膜炎等,因采血部位不同(如耳垂或手指血计数),结果会相差很大,可能是局部血管内皮细胞增殖,该部血流中混入内皮样细胞所致。

(六) 白细胞计数的误差

引起白细胞计数误差的原因与红细胞计数相同。白细胞计数

域误差的变异系数 $CV = \sqrt{\frac{100^2}{m}}$ (m 代表计数的白细胞数)。例如, 四个大方格共计数白细胞 100 个, 则 $CV = \sqrt{\frac{100^2}{100}} = \sqrt{100} = 10\%$, 即白细胞的误差范围为 $5,000 \pm 2CV = 5,000 \pm 2 \times 10\% = 5,000 \pm 20\% = 4,000 \sim 6,000$ 。由于白细胞的生理波动范围较大, 因而其计数误差的临床意义不及红细胞计数那么重要。

(七) 正常值

成人: $(4 \sim 10) \times 10^9 / L$;

新生儿: $(15 \sim 20) \times 10^9 / L$;

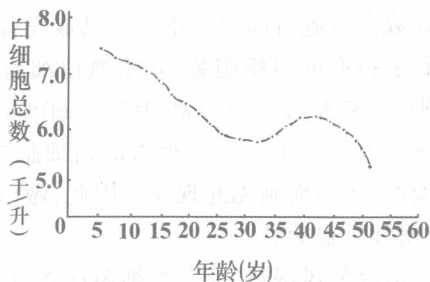
6 个月 ~ 2 岁: $(11 \sim 12) \times 10^9 / L$;

儿童: $(5 \sim 12) \times 10^9 / L$ 。

(八) 白细胞的生理变异

白细胞数很易波动, 受很多因素影响。

1. 年龄: 根据我院的调查, 儿童时期 (3 ~ 15 岁) 白细胞总数稍高, 随年龄的增长而逐渐降低, 26 岁时达 6,000 每立方毫米左右, 以后则变化较少。



白细胞总数在各年龄平均值的变化曲线

2. 一日间的变化: 下午常较早晨高。

3. 精神因素: 疼痛及恐惧等因素可使白细胞数增高。

4. 妊娠: 白细胞数增高。

5. 劳动:可使白细胞数增高。

6. 季节:冬季较夏季白细胞数为高。

7. 性别:无显著差异。

三、血小板计数

血小板是由骨髓成熟巨核细胞的细胞浆解离而成的,其功能是保护毛细血管完整性和参与凝血过程,因而它在止血生理过程和血栓栓塞的发病中有极重要的意义。

正常人的血小板为圆形或椭圆形小体,直径约2~3微米。血小板离体后其形态极易因容器表面性质、温度、pH值等因素影响而发生变化。由于血小板极易聚集、变性、破坏,因而计数较难获得十分准确的结果。

血小板计数分“直接计数法”和“间接计数法”两种。间接计数法是根据血小板与红细胞两者的关系求出血小板的数目,这种计数方法的准确性极低,故临床一般均不采用。

(一)血小板直接计数法

用于血小板直接计数的稀释液有两类,一类不破坏红细胞,如碘液、复方煌焦油蓝稀释液^[注1]和5%枸橼酸钠等。这类稀释液的优点是当血液稀释100~200倍时,可同时做红细胞和血小板计数。缺点是血小板混杂在大量红细胞之间,容易遗漏,尤其在血小板减少的病情况下,计数更为困难;其次,血液稀释倍数高(1:100~200),计数误差范围大。另一类稀释液破坏红细胞,如尿素稀释液、1%草酸铵溶液和可卡因稀释液^[注2]等。这类稀释液的优点是红细胞已完全溶解,血小板形态保持完整,因而视野清晰,计数方便;其次,血液稀释倍数低(1:20),误差范围小。缺点是部分试剂(如可卡因、尿素)价格贵。尿素稀释液和1%草酸铵溶液为目前临床常用的方法,现介绍如下:

[注1] 碘液(阿-拉氏, Agasse-Lafont)稀释液

原液(碘液)

碘片

5.0 克