

临床医学研究

LINCHUANG YIXUE YANJIU

检验医学

编著 李秀梅 李红岩 郭健 等

LINCHUANG YIXUE YANJIU

中医古籍出版社

临床医学研究

检验医学

《临床医学研究》丛书检验医学编委会 编

编著 李秀梅 李红岩 郭健 等

中医古籍出版社

图书在版编目(CIP)数据

检验医学/《检验医学》编委会编著.-北京:
中医古籍出版社,2010.6
(临床医学研究)
ISBN 978-7-80174-874-4

I.①检… II.①检… III.①医学检验 IV.①R446

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 115798 号

临床医学研究

——检验医学

《检验医学》编委会 编著

责任编辑 梅 剑

出版发行 中医古籍出版社

社 址 北京市东直门内南小街 16 号 (100700)

印 刷 北京金星印务有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 17.9

字 数 430 千字

版 次 2010 年 06 月第 1 版 2010 年 06 月第 1 次印刷

标准书号 ISBN 978-7-80174-874-4

定 价： 50.00 元

临床医学研究丛书

检验医学编委会

主 编 李秀梅 河北省承德市中心医院
李红岩 山东省警官总医院
郭 健 湖北省鄂州市妇幼保健院

副主编 胡玉弘 河北省承德市中心医院
戴晓宁 新疆奎屯市州医院
吴又明 南方医科大学附属小榄医院

目 录

第一章 血液的一般检查	(1)
第一节 仪器法血细胞检查	(1)
第二节 白细胞的检查	(8)
第三节 红细胞的检查	(17)
第四节 血小板的检查	(31)
第二章 血型与输血	(33)
第一节 血型	(33)
第二节 输血	(47)
第三章 凝血机制的一般检查	(58)
第一节 止血与凝血机制	(58)
第二节 出凝血的常用筛选试验	(60)
第三节 出凝血各时间测定	(62)
第四章 尿液的理学检查	(69)
第一节 尿液标本的收集	(69)
第二节 标本种类及采集方法	(70)
第三节 标本保存和处理	(71)
第四节 尿液的一般性状检查	(73)
第五章 尿液的化学检查	(78)
第一节 尿酸度检查	(78)
第二节 尿糖检查	(79)
第三节 尿酮体检查	(82)
第四节 尿液胆色素的检查	(83)
第五节 尿液氨基酸的检查	(86)
第六节 尿液蛋白质的检查	(87)
第七节 乳糜尿的检查	(95)
第八节 泌尿系统结石的检查	(96)
第六章 尿沉渣的检验	(98)
第一节 尿细胞成分的检查	(100)

第二节	尿管型的检查	(104)
第三节	尿结晶的检查	(108)
第四节	尿液细胞及管型的计数	(110)
第七章	干化学尿液分析仪	(113)
第一节	干化学分析仪的应用	(113)
第二节	尿试带试验方法	(113)
第三节	干化学检查与显微镜检查	(117)
第四节	尿液分析仪应用的质量控制	(118)
第八章	粪便检查	(122)
第一节	标本的采集、保存和检验后处理	(122)
第二节	一般性状检查	(122)
第三节	显微镜检查	(125)
第四节	化学检查	(129)
第五节	其他检验技术	(133)
第九章	痰液与支气管肺泡清洗液检查	(138)
第一节	痰液检查	(138)
第二节	支气管肺泡灌洗液检查	(141)
第十章	胃液及十二指肠引流液的检验	(145)
第一节	胃液检验	(145)
第二节	十二指肠引流液检验	(152)
第十一章	脑脊液检验	(157)
第一节	脑脊液的功能	(157)
第二节	适应证和标本采集	(164)
第三节	检验项目	(164)
第十二章	浆膜腔积液与关节腔积液检验	(175)
第一节	浆膜腔积液	(175)
第二节	关节腔积液	(186)
第十三章	阴道分泌物与宫颈分泌物检验	(195)
第一节	阴道分泌物检验	(195)
第二节	宫颈分泌物检验	(202)
第十四章	羊水检查	(207)
第一节	羊水的生理与病理	(207)

第二节	标本采集	(208)
第三节	先天性遗传性疾病的产前诊断	(213)
第四节	胎儿成熟度检查	(219)
第五节	胎儿血型的预测	(222)
第十五章	精液与前列腺液检验	(225)
第一节	精液检查	(225)
第二节	前列腺液检查	(238)
第十六章	病理学检验	(245)
第一节	病理学的地位和研究方法	(245)
第二节	尸检	(247)
第三节	病理活体组织检查	(248)
第四节	细胞学检查	(251)
第五节	临床医生如何应用诊断病理学	(255)
第六节	临床病理讨论会及外科病理讨论会	(257)
第七节	病理技术	(258)
第八节	临床病理科医师培养标准	(272)

第一章 血液的一般检查

红细胞(RBC)是血液中数量最多的有形成分,其主要生理功能是作为呼吸载体携带氧气至全身各组织,并维持酸碱平衡。其内含的血红蛋白,由珠蛋白结合亚铁血红素而成。它是一种呼吸载体,每克血红蛋白可携带氧 1.34ml。研究发现,红细胞内充满小颗粒,最小的直径约不 6.5nm,相当于一处血红蛋白分子的直径,此种颗粒于近红细胞膜处最多,越往中心部越少,这一分布与瑞特染色血片上红细胞的着色特点,即周边深,中间部浅,呈所谓生理性中心渌染现象是完全一致的。有类成熟红细胞的直径为 6.7~7.7 μm ,从正面观察为圆盘形,侧面观呈现单凹或双凹性圆盘状,此外形有利于红细胞生理功能的完成。因为:①胞膜的面积大,便于进行气体交换;②胞膜有盈余,保证红细胞易于伸展变形,虽然其直径为 6.7~7.7 μm ,却能顺利地通过直径仅有 3 μm 的脾窦。由于这种特别的形状而且体积比较小,所以表面积对体积的比值较大,使氧气以及二氧化碳能够快速地渗透细胞内外。红细胞的细胞膜含有特别的多醣类以及蛋白质,但是这种结构因人而异,这些结构是构成血型的基本要素。

红细胞起源于骨髓造血干细胞(CFU-S)在红细胞生成素作用下经红系祖细胞阶段,分化成为原红细胞,经过当选次有丝分裂依次发育为早幼、中幼和晚幼红细胞。晚幼红细胞已丧失分裂能力,它通过脱核而成为网织红细胞。此种增殖、分化、成熟的过程在骨髓中进行约需 72h。网织红细胞再经约 48h 即完全成熟。红细胞释入血液后,平均寿命约 120d。衰老红细胞主要在脾破坏,分解为铁、珠蛋白和胆红素。在正常情况下,由于种种原因破坏这一平衡,均会导致疾病。如红细胞生成减烽或契约环过多,即可造成各种贫积压,临床工作中,可通过各项细胞参数的检验对贫血进行诊断或鉴别诊断。

第一节 仪器法血细胞检查

由于操作流程的随机误差,实验器材的系统误差及测方法本身的固有误差,手工法细胞计数不但费时费力,实验结果的准确性也受影响。随着基础医学的发展,高科技技术的应用,特别是计算机技术的引用,血细胞分析仪的测量水平不断提高,测量参数不断增加。不但提高了医学检验水平,还为临床提供了更多的有用的实验指标,对于某些疾病的诊断与治疗具有重要的临床意义。

一、电阻抗法血细胞分析仪

(一)白细胞分析原理

以电解质溶液中悬浮的白细胞在通过计数时引起的电阻变化进行检查为基础,进行血细胞计数和体积的测定。

目前很多仪器在给出细胞数据结果之外,提供细胞体积分布图形,这些可以表示出细胞群体分布情况的图形,称为细胞分布直方图。直方图是由测量通过感应区的每个细胞脉冲累积得到的,是在计数的同时进行分析测量的。

示波器显示的是所分析的细胞的脉冲大小,血细胞分析仪在进行细胞分析时将每个细胞的脉冲根据其体积大小分配并存在相应的体积通道中进行白细胞体积分析。

经过溶血剂处理后的白细胞可以根据体积大小初步确认其相应的细胞群,仪器根据各亚群占总体的比例计算出各亚群的百分率,如果与该标本的白细胞总数相乘,即得到各类细胞的绝对值。可以看出,电阻法只是根据细胞体积的大小,将白细胞分成几个群体。在一个群体中,可能以某种细胞为主(如小细胞区主要是淋巴细胞),但由于细胞体积间的交叉,可能还有其它细胞的存在。国外多采用“三部法”(3-part)或“二部法”(2-part)称之。国内也有专家建议使用“三分群”或“二分群”描述电阻抗法血细胞分析仪的白细胞分类。

(二)红细胞测试原理

根据各项参数在血液分析仪检测原理的不同,检测大致分为三个部分。

1.红细胞数和红细胞比积

绝大多数血液分析仪使用电阻抗法进行红细胞计数和红细胞比积测定,其原理同白细胞一样。红细胞检测的各项参数均含有白细胞因素,但正常血液有形成分中白细胞比例很少,故其影响可忽略不计,要某种病理情况下,如白血病,白细胞数明显增加而又伴严重贫血时,即可使所得各项参数产生明显误差。

2.血红蛋白测定

任何类型、档次的血细胞分析仪,血红蛋白测定原理是相同的。不同系列血液分析仪配套溶血剂配方不同,形成的血红蛋白衍生物亦不同,其特点是显色稳定,最大吸收峰接近540nm,但吸收光谱与HICN有明显的不同。此点在仪器校正时应十分注意。

为了减少溶血剂的毒性,避免含氰化的血红蛋白衍生物检测后的污物处理,近年来,有些血液分析仪使用非氰化溶血剂。实验证明,形成的衍生物与HICN吸收光谱相似,实验结果的精确性、准确性达到含有氰化物溶血剂同样水平。既保证了实验质量又避免试剂对分析人员的毒性和环境污染。

3.各项红细胞指数检测

同手工法一样,MCV、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度(RDW)均是根据仪器检测的红细胞数、红细胞比积和血红蛋白量的实验数据,经内存电脑换算出来的。

RDW由血液分析仪器测量后获得,是反映外周血红细胞体积异质性的参数,是反映红细胞大小不等的客观指标。多数仪器用所测红细胞体积大小的变异系数来表示。统计处理而得RDW值。由于RDW来自十几秒内近万个红细胞的检测数据,不但可以克服测量红细胞直径时人为制片因素和主观因素等影响,还较p-j曲线更能直接、客观、及时地反映红细胞大小不等程度,对贫血的诊断有重要意义。

4.血小板分析原理

血小板计数储存于64道直方图范围为2~20fl。不同仪器血小板直方图的范围不一。平均血小板体积就是此平整曲线所含的群体算术平均体积,所以MPV也就是PLT大小分布直方图的产物。为了使血小板更准确,有些仪器专门设置了增加血小板准确性的技术。

二、血细胞分析仪检测参数的临床意义

(一)细胞直方图的应用

1.白细胞直方图变化的临床意义

在进行白细胞计数时,细胞根据体积大小分配在不同计算机通道中,从而得到白细胞体积分布直方图,图形的变化可以表示被测血液中细胞群体的变化。这种变化细胞图形并无特异性。比如中间细胞群可包括大淋巴细胞、原始细胞、幼稚细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞,其中任何一类细胞的增多,均可使直方图产生相似变化,只是提示检查者粗略者判断细胞比例变化或有无明显的异常细胞出现,进而在显微镜下检查中注意这些变化或在正常人体栓中,筛选是否需要进一步作血涂片检查。

另外,白细胞直方图的变化也可反映某些人为的或现变化扰白细胞计数和分类计数的情况,比如外周血出现有核红细胞或巨大血小板,采血时由于在造成血小板聚集或某些病理因素使红细胞膜对溶血剂有抵抗作用,使红细胞溶血不完全,以至测检标本中大量红细胞膜碎片等情况,均可使白细胞直方图在 50fl 以下区域出现一个或大或的小峰。因此当实验结果出现这种图形时,提示白细胞计数和分类计数均不准确,需在采取相应的手段进一步检测。

2.红细胞体积直方图的临床意义

与白细胞直方图意义不同,某些贫血红细胞体积直方图的特点,此种图形变化再结合其它参数进行分析,对鉴别诊断颇有价值。分析时,要注意观察图形的位置,峰底的宽度、峰顶的形态及有无双峰出象。

3.血小板直方图的变化

血小板测量结果是根据血小板直方图得出的,计算机根据直方图形态,绘出拟合曲线,决定大血小板数目的补偿并计算 MPV、PCT、PSW 各项参数。当测标本中小细胞增多或出现细胞碎片或血小板凝聚时影响实验结果,血小板体积直方图均能反映这些变化。因此在发出血小板报告之前,首先要观察其图形是否正常,如为异常的图形,必要时作血涂片检查是否有小红细胞或大血小板增多现象。

(二)RDW 的临床意义

1.鉴别缺铁性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血

由于 HB 合成障碍,缺铁性贫血和轻型 β -珠蛋白生成障碍性贫血均可表现为小细胞低色素性贫血,但前者红细胞形态明显小于不等,后者形态大小较为均一。Bassman 曾分析了两类贫血患者的 RDW 变化,发出 53 例缺铁性贫血 RDW 全部增高(异常率为 100%),而 44 例轻型 β -珠蛋白生成障碍性贫血中 38 例中 RDW 正常(正常率为 88%)他认为 RDW 可作为此两类贫血筛选及鉴别指标。

2.诊断缺铁性贫血

鉴于 95%以上的缺铁性贫血的 RDW 均异常,一般认为,如果患者血液检查表现为小细胞低色素性贫血而 RDW 正常,此类病人患缺铁性贫血的可能性不大。

3.进行贫血的新形态学分类

根据不同病因引起的贫血的红细胞形态特点不同,有 MCV、RDW 贫血分类法,将其分成六类。实践证明:这种分类方法更能反映贫血的病理变化对贫血的鉴别诊断有一定参考价值。

(三)血小板测量参数的临床意义

1.血小板各项参数的正常参考范围

正常人积压血小板数和 MPV 值在人种及性别间无明显差异,但 MPV 的正常范围随群体中不同血小板数量而变化的,根据检测结果设计了一个关于血小板数和血小板体积的列线图,用于分别估计每个人的结果是否异常。

2.血小板各项参考测定的临床意义

(1)血小板计数的临床意义

见“血小板计数”章节。

(2)MPV变化的临床意义

各种疾病 PLT 与 MPV 可出现以下几方面结果:

①血小板数低而 MPV 增高:骨髓自身正常,但外周血血小板破坏增多造成血小板降低的刺激后反应性增生时,巨核细胞 DNA 倍体数及细胞大小都增加,MPV 也增高。由于骨髓受抑制而造成血小板减少的病人在恢复初期 MPV 也升高,这主要因外周血血小板数减低应激性,致使巨核细胞倍体数增加所致。②血小板数高、MPV 正常:骨髓增生性疾病如血小板增多,红细胞增多但 MPV 正常。③血小板数与 MPV 值均下降:AIDS 病毒直接影响巨核细胞并导致血小板减少。大约 2/3 的病人血小板数降低,92%的病人 MPV 值下降,与骨髓受抑时的血小板状态相似。患发育不良性贫血的病人积压血小板数通常都降低,其 MPV 值也低,但 PDW 升高。当骨髓纤维化或被脉冲瘤细胞浸润危及正常造血时,血小板数减少,随即 MPV 值也降低。再生障碍性贫血,骨髓瘤或白血病化疗后,败血症所致血小板减少等骨髓受抑性疾病中,血小板的平均体积减小。④MPV 值与血小板数都升高:反应性血小板增多症病人中,其 MPV 值升高,因血液的流失和损伤造成的急性大失血都可使血小板值上升。⑤MPV 值升高而血小板正常:慢性髓细胞性白血病、骨髓纤维化、脾切除均可周到 MPV 升高,慢性髓细胞性白血病和骨髓纤维化主要使骨髓增生异常,两种疾病中,血小板体积经常增大并大小不均。外周血涂片中可出现大血小板。半数 α -型和 β -型珠蛋白生成障碍性贫血的患者有 4 种明显的血液学改变;血小板大小改变、红细胞大小改变、肝珠蛋白改变和对疟原虫抵抗力改变。

另外,因为 MPV 先于 PLT 变化,因此,可用于观察病情变化。白血病化疗时,MPV 上升是 BM 恢复的第一特征。MPV 越小越严重,直到 MPV 上升,PLT 数才恢复,研究结果表明 MPV 与 PLT 体外功能之间明显相关,对胶原和凝血酶诱导的 PLT 聚集,随 MPV 增加而增加。

三、方法学评价

白细胞计数及分类有两种方法:一种是显微目视法,一种是血液分析仪方法。显微镜法是基础,血细胞分析仪在要根据显微镜法准确计数结果进行校正后方能使用,但这种计数不同于常规工作进行的白细胞计数。

由于上述各方面误差的影响,白细胞计数的重复性和准确相对较差。经过严格校正的血细胞分析仪,由于计数细胞多,计数的每个步骤都可标准化,便于质量控制(特别是全自动血液分析仪),计数的精确性、准确性均较高(CV 可在 2%以下)。这一点在红细胞计数和血小板计数时也是相似的。

仪器法白细胞分类有两大类:一类是电阻抗法,这类仪器是根据溶血剂作用后的白细胞大小,人为地分成几个部分,显然这种分类是不够准确的。另一类是利物用各种高科技技术联合对同一白细胞的体积、细胞核形状及胞质中颗粒进行检测,综合分析后,进行细胞分类。这种多方位检测分类法,可较准确地进行白细胞分类,但仍不能准确地检查白细胞形态的病理变化,特别是对幼稚白细胞的检测。因此必须强调,仪器法白细胞分类计数,只能提供正常血液标本(血红蛋白、白细胞数、血小板数均正常)中各种白细胞数目的大致分布情况或为常

规工作进一步镜检提供筛选的信息,而决定不能完全代替油浸显微镜下进行的白细胞分灯检查,另外由于目视法与仪器法实验方法的不同,且全自动血液分析仪多使用静脉血检测,仪器法测定值的参考范围与传统使用的目视法的参考值有所差异。

虽然血液分析仪提高了实验结果的精确性和准确性,但先进的仪器应用,必须有一套全面质量管理措施,性质在有高素质的技术人员。这方面包括:

(一)操作人员上岗前的培训

1.上岗前在接受良好的培训。要对仪器的原理、操作规程、使用注意事项、异常报警的含义、引起实验误差的因素及如何维护要有充分的了解,掌握 ICSH 推荐的标准方法校正仪器的每一个测试参数的程序。

2.注意在分析前、中、后每一步的质量控制,注意病人生理或病理因素给实验造成的误差或服用药物的干扰作用。

(二)仪器的鉴定

新仪器安装后,或每次维修后,必须对仪器的技术性能进行测试和评价,这对保证检验质理将起到重要作用。

(三)仪器的校正

仪器经鉴定合格且,需要进一步校正,校正方法根据不同仪器的要求进行。在无参考仪器的单位,应用严格手工法得出各项参数值后,进行仪器校正。

(四)标本的采集和运送

全自动血细胞分析仪一般在求用抗凝的静脉血,尽可能不用皮肤穿刺采血,因为不同部位皮肤穿刺血的细胞成分和细胞与血浆的比例常不一致与静脉血的差别则更大,从技术角度讲,毛细管采血时较少,特别对一些全自动的仪器,不易采到足够量血,更不能在有疑问时重复检查。因此除少数不易取得静脉血,如婴儿、大面积烧伤及某些需要经党采血检查的病例(如血液病、肿瘤化疗等)外,均就用静脉血做实验。使用半自动血液分析仪时也可用手指血进行。如不能及时检查时,血液应在室温保存。

(五)操作人员在分析中应注意的几个问题

1.测试时试剂的温度对结果的影响

温度不同可致使细胞体积发生变化,而影响体积的测量,进而改变细胞黏度分布曲线,影响细胞计数。

2.溶血剂的用量及溶血时间,对血小板、白细胞计数影响

全自动仪器由于在机内自动加溶血剂并定时检测可避免其影响,但使用半自动仪器进行血细胞计数时,是要血液预稀释后加入溶血剂,溶血后进行血细胞计数和分类计数,因此溶血剂量及溶血的时间至关重要。加溶血剂的量不同或加后放置时间过短,以致使溶血不完全;或放置时间太久使白细胞明显变形(阻抗法仪器分类是以白细胞体积作为分群依据的,加溶血剂后白细胞膜溶解,胞质大部分溢出,整个细胞体积缩小,仅留下核和部分颗粒),均可导致计数误差,甚至用仪器不能进行分群计数。

3.仪器的半堵孔现象

根据检测器上微孔堵塞的程度,通常将其分为完全堵孔和不完全堵孔两种。如发生完全堵孔,血细胞不能通过微孔计数,也不显示结果,有的仪器还同时在屏幕上显示 clog,所以完全堵孔很容易判断。不完全堵孔主要通过下述方法判断:①观察计数时间;②观察示波器

波形;③看计数批示灯闪动,如该灯闪动无规律常是不完全堵孔表现。

4.病理因素对血液分析仪使用的影响

①由于多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症、淋巴系统增殖性疾病、转移癌、自身免疫性疾病、感染及某些原因不明疾病血中含有冷球蛋白,或骨髓瘤、癌症、白血病、妊娠、血栓疾病、糖尿病人血中存在有冷纤维蛋白等,均可导致血液中某些物质凝集,致使血细胞计数增高;②血液中白细胞显著增高而影响红细胞计数划有核红细胞出现而影响白细胞计数;③低色素贫血或红细胞内含大量 SHB 或 HbC-O 而抵抗溶血剂作用时,红细胞溶解不完全;④某些新生儿或某些肝病病人红细胞膜质类异常,抗溶血剂作用,导致红细胞溶血剂不完全;⑤多发性骨髓瘤的 m 蛋白增多时,pH 低的情况下,m 蛋白可与溶血剂发生反应而使结果偏高;⑥各种病变引起的血栓前状态使血小板易于聚集,影响结果。

(六)分析后注意事项

1.根据直方图及参考数变化确定计数结果是否准确及是否需要显微镜检查:前已述及,标本中出现小的凝块或血小板聚集时可影响白细胞、红细胞及血小板计数。这些影响可在直方图中显示出来,因此在发生白细胞分灯的结果吸是在正常人体格检查世界形势血液检查务项参数均正常时,作为白细胞分类的参考。

2.分析实验结果各参数之间的关系:实验结果的各项的胡数之间有内在联系,比如 rBc、HCT(红细胞压积)与 MCV;HB、RBC 与 MCH 之间,又如 RDW 与涂片的红细胞形态变化之间,都有明显的相关关系。加外还可以分析实验结果与临床资料的相关关系,相关检查对于实验中出现的未预料的结果,是否可以从临床角度加以解释,或是否与其它实验有关的分析均十妥重要,例如 HB 值过高或过低,是否可用输血、大量失水或出血、溶血来解释。此外,MCHC 的高或低与瑞特染色的血片上红细胞中血红蛋白量情况是否一致;白细胞与血小板计数值是否与血片上白细胞、血小板公布情况相一致等相互参照,对保证质量均有重要价值。

3.定期征求临床医护人员对本室结果的评价:临床医生对实验结果的评价也是质理控制的重要环节,临床医生最熟悉病人的病情变化和疾病的发展过程,实验数据是否符合临床也是衡量结果正确与否的重要依据之一,因此,实验室要经常定期听取临床医生的意见,以不断改进实验室的工作。

4.血细胞分析仪的应用进展

随着高新技术的引用和基础医学的发展,各种类型的血液分析仪相继问世。其进展主要表现在以下几方面:

(一)仪器测试原理的改进

这些仪器主要体现在白细胞分类部分的改进,即电阻抗法的三分群发展为多项技术联合同时检测一个细胞,综合分格实验数据,得出的较为准确的白细胞分群结果。迄今,世界上应用的这类仪器主要有以下四种类型。

1.容量、电导、光散射(vcs)白细胞分类法

vcs 技术可使血细胞在未经任何处理,与体内形态完全相同的自然状态下得出检测结果。首先在标本内中入只作用于红细胞的溶血剂使红细胞溶解,然后加入抗溶血剂,起中和前述溶血剂的作用,使白细胞表面、胞质及细胞大小等特征仍然保持与体内时间相同的状态。

根据流体力学的原理使用鞘流技术使溶血后液体内剩余的白细胞单个通过检测器,vcs 三种技术的同时检测,体积的测量使用的是电阻抗原理。电导性是根据细胞壁能产生高频电

流的性能,采用高频电磁探针测量细胞内部结构——细胞核、细胞质的比例,细胞骨的化学成分,以此来帮助鉴别细胞。因此电导性可辨别体积完全相同的而性质质量同的两个细胞群。如小淋巴细胞和嗜酸性粒细胞两者直径均为 $9\sim 12\mu\text{m}$,当前高频电流通过这两种细胞时,由于他们的核与胞质比例不同,而呈现出不同的信号,借此可把他们区分开来,光散射是除了体积和电导性以外,又从细胞表面光散射的特点提供细胞类型的鉴别方式,来自激光光源的单色光束直接进入计数池的敏感区,在 $100\sim 700$ 时每一个细胞进行扫描分析,提供细胞结构、形态的光散射信息。光散射特别具有对细胞颗粒的构型和颗粒质量的区分能力。细胞粗颗粒挑散射要双细颗粒更强,所以通过光散射可帮助仪器将粒细胞分开。

根据以上三种方法检测的数据,经计算机处理得出细胞分布图,进而计算出实验结果。图中各圈内的范围均代表正常细胞和异常细胞在图中可能出现的位置,数字代表细胞的类型。

2. 阻抗与射频技术联合的白细胞分类法这尖仪器白细胞计数通过四个不同检测系统完成。

(1)嗜酸性粒细胞检测系统:血液进入仪器后,经分血器使血液与嗜酸性粒细胞特异计数的溶血的剂混合,由于其特殊的 pH ,使除嗜酸性粒细胞以外的所有细胞溶解或萎缩,含有完整的嗜酸性粒细胞液体的通过小孔时,使计数电路产生脉冲而被计数。

(2)嗜碱性粒细胞检测系统:计数原理与嗜酸性粒细胞相同,由于碱性溶血剂只能保留与血液中嗜碱性的粒细胞,因此根据脉冲的多少即可求得嗜碱性粒细胞数。上述二种方法除需要使用专一的溶血剂外,还需特定的作用温度和时间。

(3)淋巴、单核、粒细胞(中性、嗜碱性、嗜酸性)的检测系统:这个系统采用阻与射频联合检测的方式。使用的溶血剂的作用较轻溶血剂穿透细胞膜时仅使少量的胞质溢出,对核的皱缩作用也较轻微,细胞形态改变不大。在小孔的内外电极上存有直流和高频两个放射器,在小孔周围存在直流电及射频两小及颗粒的多少。因此细胞进入小孔时产生两个不同的脉冲信号,脉站的高低分别代表细胞的大小和核及颗粒的密度,以 dc 信号为横坐标, rf 为纵坐标,就可根据2个信号把同一个细胞定位于二维的细胞散射图上。由于淋巴细胞、单核细胞及粒细胞的细胞大小、细胞质含量,胞质内颗粒的大小与密度、细胞核的形态与密度不同, dc 及 rf 的脉冲信号有较大的差异,定位在各自散射的区域,通过扫描技术得出各类细胞比例。

(4)幼稚细胞检测系统:此胞膜上脂质较成熟细胞少的现象,在细胞悬液加入硫化氨基酸后,由于细胞上脂质占位不同,故结合在幼稚细胞的硫化氨基酸较成熟的细胞多,且对溶血剂有抵抗作用。当加入溶血剂后,成熟细胞被溶解,如果悬液中存在细胞细胞,其形态不受契约坏,因此可通过电阻抗的方法检测出来。

3. 光散射与细胞化学技术联合应用于白细胞分类计数

联合应用激光射的过氧化物酶染色技术来进行白细胞分类计数。嗜酸性粒细胞有很强的过氧化物酶活性,中性粒细胞有较强的过氧化物酶活性,单细胞资助之,而淋巴细胞和嗜碱性粒细胞均无此酶。将血兴高采烈经过氧化物酶染色后,胞质内即可出现不同的酶化学反应,由此构成了此种血液分析仪的分析基础,化妆品的分血器将血加入到含有清洗剂和甲醛的高渗液体内(21倍稀释)并孵育(400~700)20s。其中清洗剂(含有非离子表面活性剂)使细胞破坏,甲醛使白细胞质内酶被固定,此后发生第二步反应,即加入过氧化氢和4-氯-萘酚,并加热13s,此时如果待测细胞质中含有过氧化酶即可分解 H_2O_2 产生 $[\text{O}]$,后者可使4-氯-萘酚显色并沉积定位于酶反应部位,此类细胞通过测试区时,由于酶反应强度不同(阴性、弱阳性、强阳性)和细胞体大小不同,激光束射互细胞上的前向角和散射角有所不同,以 x 轴为吸

光率标记(酶反应强度),y轴为光散射(细胞大小)。每个细胞产生的两个信号结合定位在细胞图上。每秒钟仪器可测上千个细胞。计算机系统对存储的资料进行分析处理,并结合嗜碱性粒细胞或分叶核粒细胞通道结果计算出白细胞总参数和分类良数。

4.多角度偏振光散射白细胞分类技术

其原理是一定体积的全血标本用鞘液按适当比例稀释。其白细胞内部结构近似于自然状态,因嗜碱性粒细胞颗粒具有吸湿的特性,所以嗜碱性粒细胞的结构有轻微改变。红细胞内部的渗透压高于鞘液高浓度的渗透压而发生改变,红细胞内的血红蛋白从细胞内游离出来,而鞘液内的水分进入红细胞中,细胞膜的结构仍然完整,但此时的红细胞折光指数与鞘液的相同,故红细胞不干扰白细胞检测。

在水动力系统的作用下,样本被集中为一个直径为 $30\mu\text{m}$ 的小股液流,该液流将稀释细胞单个排列,因是单个通过激光束,故在各个方向都有其散射光。可以从四个角度测定散射光的密度:①00:前角光散射(10~30)粗略地测定细胞大小;②100:狭角光散射(70~110)测细胞结构及其复杂性的相对特征;③900:900消偏振光散射(700~1100),基于颗粒可以将垂直角度的偏振激光消偏振的特性,将嗜酸细胞从中性粒细胞和其它细胞中分离出来。④900:垂直光散射(700~1100)主要对细胞内部颗粒和细胞成分进行测量。可以从这四个角度同时对个白细胞进行测量,同一种特定的程序自动储存和分析数据,将白细胞分为嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞5种。

(二)仪器自动化水平的提高

80年代以前,血细胞分析仪主动脉要是半自动型。此类仪器需要将标本经机外预稀释后才能检测,恣受干扰,随机误差也很大。随着全自动型仪器不断涌现,血液直接被入血细胞分析仪后的在机内自动稀释、自动加溶血剂、定时检测,提高了仪器的精确度和准确度。

(三)各种特殊技术的应用

为了保证实验结果的准确,不同仪器使用不同的特殊技术:①为了使细胞计数准确采用“三次计数”表决;②采用热敏电阻装置,监测试剂温度;③为了使积压小板计数准确,采用流技术及鞘流;④为同避免小细胞和大血小板干扰血小板计数,采用浮动界标技术;⑤仪器自动保护技术、采用了燃烧电路、管道和过样针的自动清洗及故障自检功能;⑥各种方式的质控制资料储存和处理(比如x-B质控法)。这些技术对于质量控制起了关键作用。

以上介绍了近年来五分类法血细胞分仪白细胞分类的原理及临床应用价值。不难看出,由于高科技的应用,使细胞分析更精确、更准确,为临床诊断与治疗提供了重要依据,也大大提高了实验室工作效率。但应指出,各类仪器仍有其不足之处,如不能对单个细胞完全识别,特别是白血病细胞和正常单核细胞、异常不典型淋巴细胞,因为五分类法仪器的白细胞分类只是严格根据筛选标准报告实验结果,必要时仍需以显微镜涂片检查进行复检。

第二节 白细胞的检查

一、白细胞计数

人体外周血中的白细胞(leucocyte)无色呈球形,有细胞核,体积比红细胞大,直径在 $7\sim 20\mu\text{m}$ 之间。正常人白细胞计数在 $4000\sim 10000/\text{mm}^3$ 范围内,平均为 $7000/\text{mm}^3$ 。血涂片中白

细胞,经复合染料染色后,可根据其形态差异和细胞质内有无特有的颗粒可分为两大类五种细胞:(1)颗粒白细胞(粒细胞)中含有特殊染色颗粒,用瑞氏染料染色可分辨出三种颗粒白细胞即嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞;无颗粒白细胞包括单核细胞和淋巴细胞。它们通过不同方式、不同机制消除过敏原和参加免疫反应,产生抗体等从而保证机体健康。中性粒细胞、单核细胞起源于共同的祖细胞,即多向骨髓祖细胞(cfu-s)。cfu-s既能增殖,又具向不同细胞系分化的能力,平时处于静止状态。近年来对粒细胞动力学研究有很大进展,已知它起源于骨髓中向粒系发展的祖细胞。后者有关体液因子(指集落刺激因子,也称粒细胞生成素)的调节下分化为原粒细胞。目前常根据其发育阶段而将粒细胞群人为地划分为分裂池、成熟池、贮备池、循环池等。了解粒细胞动力学将有助于分析外周血中粒细胞增多、减少的原因。

白细胞计数时所得的白细胞值仅为循环池的粒细胞数。边缘池及循环池的粒细胞之间可以互相换位,并经常保持着动态平衡。由于许多因素的影响,这两个池中的粒细胞可一过性地从一方转向另一方面,从而导致白细胞计数结果呈较大幅度甚至成倍的波动。这一点在分析白细胞计数结果时必须予考虑。进入血液的粒细胞约平均停留 10h 之后,即逸出血管壁而进入组织内或者体腔中,以行使其防御功能。这些细胞一般不再返回血管,在组织中发挥功能作用的时间为 1~2d,其后即消失。消亡的粒细胞由骨髓释放的新生粒细胞加以补充,而保持外周血中白细胞数量的相对恒定。白细胞计数有目视计数法和仪器计数法。

1.参考值

成人:(4~10) $\times 10^9/L$

初生儿:(15~20) $\times 10^9/L$

6个月~2岁:(11~12) $\times 10^9/L$

2.临床意义

(1)白细胞计数值的高低可提示累及白细胞系统的疾病。

(2)白细胞计数增多见于急性感染、尿毒症、严重烧伤急性出血、组织损伤、大手术后白血病等。

(3)白细胞计数减少见于伤寒及副伤寒、疟疾、再生障碍性贫血急性粒细胞缺乏症、脾功能亢进、X线放射性核素照射,使用某些抗癌药物等。

二、白细胞分类计数

虽多种类型白细胞分类自动化仪器相继问世,但不仅因价格昂贵限制其普及,而且其结果只起到筛选作用,迄今尚无一台仪器能完全代替显微镜血涂片进行白细胞分类检查。因此,临床上仍然采用传统的显微镜分类法。即于显微镜下,按白细胞形态学特征逐个分别计数,得出各种白细胞的比值或所占百分比。结合白细胞计数结果,可间接求出每升血中各种白细胞的绝对值。准确的白细胞分类计数(DC)结果,来源于扎实的血细胞形态学基础和高质量的血涂片制作与染色,这也是质量控制的关键。

1.参考值(成人)

白细胞分类	百分比	绝对值
中性杆状核粒细胞	0.01~0.05	(0.04~0.5) $\times 10^9/L$
中性分核粒细胞	0.5~0.7	(2~7) $\times 10^9/L$

嗜酸性粒细胞	0.005~0.05	(0.02~0.5)×10 ⁹ /L
嗜碱性粒细胞	0~0.01	(0~1)×10 ⁹ /L
淋巴细胞	0.20~0.4	(0.8~4)×10 ⁹ /L
单核细胞	0.03~0.08	(0.12~0.8)×10 ⁹ /L

2. 临床意义

(1) 中性粒细胞

由于中性粒细胞占白细胞总数的 50%~70%，其增高和减低直接影响白细胞总数的变化。因此在临床检查中绝大多数病例白细胞总数实际反映着中性粒细胞变化，现介绍的白细胞总数的临床意义主要指中性粒细胞的变化。

中性粒细胞数时量变化

1) 中性粒细胞生理性增多

①年龄：初生儿白细胞较高，一般在 15×10⁹/L 左右，个别可高达 30×10⁹/L 以上。通常在 3~4 天后降至 10×10⁹/L 左右，约保持 3 个月，然后逐渐降低至成人水平。初生儿外周血白细胞主要为中性粒细胞。整个婴儿其淋巴细胞数均较高，可达 70%，到 2~3 岁后，淋巴细胞逐渐下降，中性粒细胞逐渐下降，到 4~5 岁两者又基本相等，形成中性粒细胞和淋巴细胞变化曲线的两次交叉，至青春其时与成人基本相同。

②日间变化：在静息状态时白细胞数较低，活动和进食后较高；早晨较低，下午较高；一日之间最高值与最低值之间可相差一倍。运动、疼痛和情绪变化，一般的体力劳动、冷热水浴、日光或紫外线照射等均可使白细胞轻度增多。如剧烈运动、可于短时间内使白细胞高达 35×10⁹/L，以中性粒细胞为主，当运动结束后迅速即恢复原有水平。这种短暂的变化，主要是由于循环池和缘籽的粒细胞重新分配所致。

③妊娠与分娩：妊娠其白细胞常见增多，特别是最后一个月，常波动于 (12~17)×10⁹/L 之间，分娩时可高达 34×10⁹/L。分娩后 2~5d 内恢复正常。由于白细胞的生理波动很大，只有通过定时和反复观察才有意义。

2) 中性粒细胞病理性增多

①急性感染：急性化脓性感染时，中性粒细胞增高程度取决于感染微生物的种类、感染灶的范围、感染的严重程度、患者的反应能力。如感染很局限且轻微，白细胞总数仍可正常。

②严重的损伤或大量血细胞破坏：在较大手术后 12~36h，白细胞常达 10×10⁹/L 以上，其增多的细胞成分以中性分叶核粒细胞为主。急性心肌梗死后 1~2d 内，常见白细胞数明显增高，借此可与心绞痛相区别。急性溶血反应时，也可见白细胞增多，这些可能与心肌损伤和手术创伤等所产生的蛋白分解产生及急性溶血所导致的相对缺氧等，促进骨髓贮备池增加释放有关。

③急性大出血：在脾破裂或宫外孕输卵管破裂后，白细胞迅速增高，常达 (20~30)×10⁹/L。其增多的细胞也要是中性分叶核粒细胞。这可能与应激状态、内出血而一过性缺氧等有关。

④急性中毒：化学药物如安眠药、敌敌畏等中毒时，常见白细胞数增高，甚至可达 20×10⁹/L 或更高。代谢性中毒如糖尿病酮症酸中毒及慢性肾炎尿毒症时，也常见白细胞增多，均以中性分叶核粒细胞为主。

⑤肿瘤性增多：白细胞呈长期持续性增多，最常见于粒细胞性白血病，其次也可见于各种恶性肿瘤的晚期，此时不但总数常达 (10~20)×10⁹/L 或更多，且可有较明显的核象左移现