



卫生部“十二五”规划教材
全国高等医药教材建设研究会规划教材

全国高等学校教材
供医学检验专业用

临床检验基础

第5版

主编 刘成玉 罗春丽



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



R446.1-43
5=5

供医学检验专业用

▶ 临床检验基础	第5版	临床寄生虫学检验	第4版
临床生物化学检验	第5版	临床分子生物学检验	第3版
临床微生物学检验	第5版	临床输血学检验	第3版
临床免疫学检验	第5版	临床实验室管理学	第3版
临床血液学检验	第5版	临床检验仪器学	第2版

[策划编辑] 赵慧楠 兰 南
[责任编辑] 赵慧楠 兰 南 杨 帆
[封面设计] 赵京津
[版式设计] 邹桂荣



ISBN 978-7-117-15092-7



9 787117 150927 >

定价(含光盘): 65.00 元

人民卫生出版社网站:

门户网: www.pmph.com

出版物查询、网上书店

卫人网: www.ipmph.com

护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

卫生部“十二五”规划教材
全国高等医药教材建设研究会规划教材

全国高等学校教材
供医学检验专业用

临床检验基础

第5版

主 编 刘成玉 罗春丽

副主编 吴晓蔓 龚道元

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 彩 (北华大学医学检验学院)	郑文芝 (河北北方学院医学检验学院)
伍 勇 (中南大学湘雅医学院)	郑峻松 (第三军医大学)
刘成玉 (青岛大学医学院)	胡晓波 (上海交通大学医学院)
李 艳 (武汉大学医学部)	胡嘉波 (江苏大学基础医学与医学技术学院)
吴晓蔓 (广州医学院)	姜忠信 (青岛大学医学院)
林发全 (广西医科大学)	袁汉尧 (广东医学院)
罗春丽 (重庆医科大学)	龚道元 (佛山科学技术学院医学院)
岳保红 (郑州大学第一临床学院)	栗 军 (四川大学华西临床医学院)

秘 书 王元松 (青岛大学医学院)



人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床检验基础 / 刘成玉等主编. —5 版. —北京: 人民卫生出版社, 2012.1

ISBN 978-7-117-15092-7

I. ①临… II. ①刘… III. ①临床医学—医学检验—高等学校—教材 IV. ①R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 232953 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

本书本印次封底贴有防伪标。请注意识别。

临床检验基础

第 5 版

主 编: 刘成玉 罗春丽

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 21

字 数: 506 千字

版 次: 1989 年 10 月第 1 版 2012 年 1 月第 5 版第 26 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-15092-7/R·15093

定价(含光盘): 65.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

全国高等学校本科医学检验专业

第五轮规划教材出版说明

为适应我国医学检验专业高等教育的改革和发展需要,经全国高等医药教材建设研究会和卫生部医学检验专业教材评审委员会审议,决定对全国高等学校医学检验专业卫生部规划教材进行第五轮修订,同时修订实验指导。

本轮教材框架分为基础医学知识、检验技术和临床应用三部分。在上版基础上,精简基础知识内容,突出检验专业内容,强调与临床联系内容,并根据教学的需要对所有教材的字数进行了缩减。因此部分书名做了微调,如《临床生物化学与检验》改为《临床生物化学检验》。

本轮修订在启动过程中,扩大了编者覆盖的学校,使本版教材的适用性有了进一步的提升。

本套教材为卫生部“十二五”规划教材。每门课程包括理论教材、配套的实验指导以及学习指导与习题集。

理论教材目录

书名	版次	主编	副主编
1. 临床检验基础	第 5 版	刘成玉 罗春丽	吴晓蔓 龚道元
2. 临床生物化学检验	第 5 版	府伟灵 徐克前	王培昌 刘新光
3. 临床微生物学检验	第 5 版	倪语星 尚 红	刘运德 王 辉
4. 临床免疫学检验	第 5 版	王兰兰 许化溪	欧启水 秦 雪
5. 临床血液学检验	第 5 版	许文荣 王建中	冯文莉 管洪在
6. 临床寄生虫学检验	第 4 版	沈继龙 张进顺	
7. 临床分子生物学检验	第 3 版	吕建新 樊绮诗	姜 饶 潘世扬
8. 临床输血学检验	第 3 版	胡丽华	
9. 临床实验室管理学	第 3 版	李 艳 李 山	
10. 临床检验仪器学	第 2 版	曾照芳 贺志安	

实验指导目录

书名	版次	主编	副主编
1. 临床检验基础实验指导	第 4 版	吴晓蔓	粟 军
2. 临床生物化学检验实验指导	第 4 版	钱士匀	左云飞
3. 临床微生物学检验实验指导	第 4 版	吴爱武	魏 军
4. 临床免疫学检验实验指导	第 4 版	刘 辉	陶志华
5. 临床血液学检验实验指导	第 4 版	夏 薇	陈梅婷
6. 临床寄生虫学检验实验指导与习题集	第 4 版	沈继龙	
7. 临床分子生物学检验实验指导	第 3 版	王晓春	高基民
8. 临床输血学检验实验指导	第 2 版	秦 莉	
9. 临床检验仪器学实验指导	第 2 版	曾照芳	

学习指导与习题集目录

书名	主编
1. 临床检验基础习题集	刘成玉 罗春丽
2. 临床生物化学检验习题集	府伟灵 徐克前
3. 临床微生物学检验学习指导与习题集	邵世和
4. 临床免疫学检验学习指导与习题集	王兰兰 许化溪
5. 临床血液学检验学习指导与习题集	夏 薇
6. 临床分子生物学检验学习指导与习题集	潘世扬
7. 临床输血学检验习题集	胡丽华
8. 临床实验室管理学学习指导与习题集	李 艳 李 山
9. 临床检验仪器学习题集	曾照芳

《临床检验基础》第4版已付梓四载有余,与广大师生和医学检验工作者共同见证了医学检验教育的发展,目睹了临床检验水平的提高。四年风雨的洗礼,医学检验学取得了长足的进步和丰硕的成果,《临床检验基础》也在实践中不断吸收各种新观念、新理论和新技术以自我完善。

为了培养更多能适应21世纪社会、经济和医学发展所需要的高级医学检验人才,进一步推动我国高等医学教育改革进程,提高教学质量,在全国高等医药教材建设研究会的组织和领导下,我们对《临床检验基础》第4版进行了修订,以更好地满足医学检验学专业本科生和临床检验诊断学专业研究生的教学使用。本教材同时也可作为卫生专业技术资格考试、研究生入学考试和临床工作提供参考。

1. 编写的指导思想 本版教材主要选择目前健康人群和临床各系统疾病诊治中最常用的筛检项目,力求反映医学检验学的最新发展状态和趋势,体现基础理论、基础知识与基本技能结合,新思想、新内容、新知识与新特点统一,突出思想性、科学性、先进性、实用性、启发性,以适应医学检验学本科教育需要。紧扣“准确性、实用性、先进性、循证性”原则编写,突出创新性,避免赘述本套其他教材已有的内容。

2. 编写的内容与层次 本版教材的内容主要包括:血液标本采集和血涂片制备、血液一般检验、血液分析仪检验、尿液标本采集和处理、尿液一般检验、粪便检验、体液检验和细胞病理学基本检验等。为了保持教材内容的完整性和系统性,第5版增加了5个血栓与止血常用筛检试验、痰液与支气管肺泡灌洗液检查的内容。教材内容以临床最常用、最基本的检验项目与检验技术为中心,并融入医学检验学的新观念、新理论和新技术。在编写过程中,我们以培养学生创新意识、创新能力和批判性思维方式为导向,以医学检验学专业人才的培养目标为依据,以医学检验学和临床医学的发展方向为前提,在阐述基本理论、基本知识、基本技能的基础上,着重介绍检验方法的评价、质量保证及临床应用,为疾病诊断、病情观察和预后判断提供灵敏度高、特异性强的实验室检查项目。同时,第5版还加强对图表的运用,既方便学生对难点、重点的把握,又提高了学生的信息处理分析能力。

3. 编写的特色 本版教材围绕培养具有较高综合素质和较强适应能力的医学检验人才的目标,强化“三基”训练。①坚持教材的基本原则——“三基五性”。用清晰的逻辑、简明的语言、恰当的图表勾勒出教材的“三基”;用科学的态度和求实的精神展现教材的“五性”。②保持教材的基本风格——图文并茂。紧扣医学检验学专业培养目标和全国临床医学检验专业资格考试要求,注重“三基”的传授,追求文笔凝练、图文并茂,既为学生提供丰

富的知识信息,又能使学生在短时间内迅速地理解和掌握知识精要,也有利于教师发挥自己的教学特色。③突出教材的时代特色和高度前瞻性,倡导经验源于循证,加强检验与临床沟通,注重检验的方法学评价,为临床提供既实用又经济的检验项目。④遵守教材编写的规律性和严肃性,既严格按照教材的要求介绍公认的成熟理论知识,又为编者的创作风格和学生的创新保留空间。

《临床检验基础》第5版全体编者衷心感谢前4版主编和编者的辛勤劳动成果,感谢被引用的各种参考文献的作者,是他们的工作和劳动成果为本版教材的编写提供了基石。同时也要感谢各位编者,是他们的大力支持与真诚合作,使得《临床检验基础》第5版得以保质保量地如期问世。参加《临床检验基础实验指导》第4版编写的郑磊老师、常殿武老师、朱琳琳老师、王忠英老师和欧俐苹老师,对教材的编写也提出了大量建设性意见。北京大学的刘菲同学,青岛大学的郭庆波、聂亚红、马璐娟同学等在文字处理和校对方面做了大量的工作,在此一并致谢!

本版教材的编者来自全国15所高等学校,均是我国医学检验学界的骨干,有着丰富的教学、科研和临床工作经验,他们活跃的学术思想、辛勤敬业的工作作风和严谨的治学态度为编好教材打下了良好基础。但由于编者水平有限,内容与文字方面的疏漏在所难免,敬请各位同行、专家、广大师生和临床医师不吝赐教,使之得以不断完善,并致谢意。

刘成玉 罗春丽

2011年12月

绪论	1
一、医学检验学的发展史	1
二、医学检验学的现状与特点	1
三、医学检验学的基本任务	3
四、临床检验基础的临床应用	3
五、学习临床检验基础的基本要求	4
第一章 血液标本采集和血涂片制备	5
第一节 血液标本采集	5
一、血液标本类型	5
二、血液标本采集的方法	6
三、血液标本的处理、运送与保存	9
第二节 血液标本采集的质量保证	11
一、血液标本采集的环境要求与生物安全	12
二、血液标本采集的过程要求	12
三、血液标本采集及检测结果的影响因素	13
第三节 血涂片制备与染色	15
一、血涂片制备	15
二、血涂片染色	16
第二章 血液一般检验	21
第一节 红细胞检查	22
一、红细胞计数	22
二、血红蛋白测定	24
三、红细胞形态检查	27
四、血细胞比容测定	32
五、红细胞平均指数	34
六、网织红细胞计数	35
七、嗜碱性点彩红细胞计数	39
八、红细胞沉降率测定	39

第二节 白细胞检查	42
一、白细胞计数	43
二、白细胞分类计数	45
三、嗜酸性粒细胞计数	55
四、白细胞形态检查	57
第三节 血小板检查	67
一、血小板计数	67
二、血小板形态检查	69
第四节 血栓与止血一般检查	71
一、血栓与止血常用筛检试验	71
二、血栓与止血常用筛检试验的临床应用	79
第五节 血型鉴定和交叉配血	81
一、ABO 血型系统	81
二、Rh 血型系统	84
三、血型鉴定和交叉配血	85
第三章 血液分析仪检验	92
第一节 血液分析仪的检测原理	93
一、电学检测原理	93
二、光(化)学检测原理	94
三、血液分析仪检测原理的综合应用	96
四、血液分析仪检测参数及原理	101
第二节 血液分析仪检测参数和结果显示	106
一、血液分析仪检测参数	106
二、血液分析仪结果显示	106
第三节 血液分析仪检测结果显微镜复查规则	110
第四节 血液分析仪检验的质量保证、仪器校准和性能评价	112
一、血液分析仪检验的质量保证	112
二、血液分析仪的校准	114
三、血液分析仪的性能评价	116
第五节 血液分析仪检验的临床应用	120
一、红细胞系列参数	120
二、白细胞系列参数	123
三、血小板系列参数	123
第四章 尿液标本采集和处理	126
第一节 尿液标本采集	126
一、尿液标本采集一般要求	126

二、尿液标本采集容器及器材·····	127
三、尿液标本的类型及采集方法·····	127
四、尿液标本的保存和处理·····	130
第二节 尿液标本采集和处理的质量保证·····	131
一、尿液标本采集的影响因素·····	131
二、尿液标本采集的质量保证·····	132
第五章 尿液一般检验·····	135
第一节 尿液理学检查·····	136
一、尿量·····	136
二、颜色和透明度·····	137
三、比重·····	139
四、尿渗量·····	141
五、气味·····	141
第二节 尿液化学检查·····	142
一、酸碱度·····	142
二、蛋白质·····	144
三、葡萄糖·····	147
四、酮体·····	151
五、胆红素·····	152
六、尿胆原和尿胆素·····	154
七、血红蛋白·····	155
八、亚硝酸盐·····	156
九、白细胞酯酶·····	157
十、维生素 C·····	158
十一、人绒毛膜促性腺激素·····	158
十二、乳糜液和脂肪·····	160
十三、本周蛋白·····	161
十四、微量白蛋白·····	162
十五、肌红蛋白·····	163
第三节 尿液有形成分显微镜检查·····	165
一、尿液有形成分显微镜检查方法·····	165
二、尿液细胞形态特征及临床意义·····	170
三、尿液管型形态特征及临床意义·····	175
四、尿液结晶形态特征及临床意义·····	179
五、尿液其他有形成分及临床意义·····	181
六、尿液有形成分显微镜检查质量保证·····	182
第四节 尿液分析仪检查·····	184

一、尿液干化学分析仪检查·····	184
二、尿液有形成分分析仪检查·····	188
第六章 粪便检验·····	194
第一节 粪便标本采集和处理·····	194
一、粪便标本采集·····	194
二、粪便标本处理·····	195
第二节 粪便一般检查·····	195
一、粪便理学检查·····	195
二、粪便化学检查·····	196
三、粪便显微镜检查·····	199
第三节 粪便分析工作站·····	203
第四节 粪便检验质量保证·····	204
一、粪便标本采集与处理的质量保证·····	204
二、粪便显微镜检查的质量保证·····	204
三、粪便隐血试验的质量保证·····	204
第七章 体液检验·····	207
第一节 脑脊液检查·····	207
一、脑脊液标本采集和处理·····	208
二、脑脊液一般检查·····	208
三、脑脊液检查的临床应用·····	218
第二节 浆膜腔积液检查·····	219
一、浆膜腔积液标本采集和处理·····	220
二、浆膜腔积液一般检查·····	220
三、浆膜腔积液检查的临床应用·····	226
第三节 关节腔积液检查·····	228
一、关节腔积液标本采集和处理·····	228
二、关节腔积液一般检查·····	228
三、关节腔积液检查的临床应用·····	232
第四节 精液检查·····	233
一、精液标本采集和处理·····	234
二、精液一般检查·····	234
三、计算机辅助精液分析·····	240
第五节 前列腺液检查·····	241
一、前列腺液标本采集和处理·····	241
二、前列腺液一般检查·····	242
第六节 阴道分泌物检查·····	243

一、阴道分泌物标本采集和处理·····	243
二、阴道分泌物一般检查·····	244
第七节 胃液和十二指肠引流液检查·····	247
一、胃液检查·····	247
二、十二指肠引流液检查·····	249
三、胃液和十二指肠引流液检查的临床应用·····	250
第八节 羊水检查·····	251
一、羊水标本采集和处理·····	251
二、羊水一般检查·····	251
三、胎儿成熟度检查·····	253
四、羊水检查的临床应用·····	256
第九节 痰液与支气管肺泡灌洗液检查·····	258
一、痰液检查·····	258
二、支气管肺泡灌洗液检查·····	262
第八章 细胞病理学基本检验·····	267
第一节 细胞病理学基本检验技术·····	267
一、标本采集·····	268
二、涂片制备·····	269
三、标本固定·····	269
四、标本浓缩技术·····	270
五、染色方法·····	271
六、细胞病理学诊断·····	272
七、细胞病理学诊断的质量保证·····	273
第二节 正常细胞形态学·····	274
一、上皮细胞·····	275
二、非上皮细胞·····	276
第三节 细胞损伤形态学·····	277
一、细胞死亡·····	277
二、修复和再生·····	278
三、良性上皮异常·····	278
四、非肿瘤性疾病细胞学变化·····	279
五、细胞损伤的其他变化·····	279
第四节 肿瘤细胞学基础·····	280
一、良性肿瘤·····	280
二、恶性肿瘤·····	281
第五节 女性生殖道细胞病理学检查·····	284
一、正常生殖道上皮细胞形态学·····	284

二、良性病变细胞形态学..... 286

三、恶性肿瘤细胞病理学..... 288

第六节 呼吸道细胞病理学检查..... 291

一、正常呼吸道细胞形态学..... 291

二、良性病变细胞形态学..... 293

三、肺癌细胞病理学..... 295

第七节 浆膜腔积液细胞病理学检查..... 297

一、良性积液细胞形态学..... 297

二、恶性积液细胞病理学..... 298

第八节 淋巴结细胞病理学检查..... 300

一、非肿瘤性淋巴结肿大细胞形态学..... 300

二、恶性淋巴瘤细胞病理学..... 301

三、淋巴结转移性肿瘤细胞病理学..... 305

中英文名词对照索引..... 308

医学检验学(clinical laboratory medicine)是一门涉及多专业、多学科的边缘性学科,是基础医学与临床医学的桥梁学科,也是涉及临床医学的诊断、治疗、预后判断和预防等方面的实用性学科。

21 世纪以来,医学检验学中最基础的《临床检验基础》课程,正面临着迅速调整、改革和提高了的阶段。《临床检验基础》的教学正向综合反映国内外医学检验学现状的方向努力,一方面是以自动化、信息化为特征的仪器检验方法,另一方面是仍需用传统手工“金标准”检验方法,作为仪器检验、校准和质量保证的重要组成部分。虽然,在日常临床检验工作中,自动化检验替代了部分手工检验,但其只能替代对健康人群标本的筛检,而不能完全替代对异常标本的手工复查。因此,与医学检验学专业其他课程教学相比,如何在《临床检验基础》兼顾手工检验与自动化检验,是目前医学检验学教学正在密切关注的热点,也是《临床检验基础》教学的重要任务。

一、医学检验学的发展史

医学检验学是一门独立的新兴学科。17 世纪末显微镜的发明,揭开了微观世界的奥秘,也为医学检验学的发展奠定了物质基础,使医学检验学逐步成为临床医学中重要的独立学科之一。

医学检验学的发展与自然科学的发展息息相关。随着科学技术的不断发展,医学检验学的理论与技术也逐步得到深化,医学检验学也由单一学科发展成为一个拥有临床检验基础、临床血液学检验、临床微生物学检验、临床免疫学检验、临床生物化学检验、临床分子生物学检验、临床寄生虫学检验、临床输血学检验、临床检验仪器学和临床实验室管理学等众多亚学科的综合学科。检验技术的发展也日新月异,从定性检验到定量检验、从手工操作到自动化分析、从常量标本一次检验 1 个项目到微量标本一次检验多个项目、从有创伤检查到某些无创伤检查等。目前,医学检验学已经成为发展最迅速、应用高精尖技术最集中的学科之一,是临床医学中不可缺少的一个分支。

二、医学检验学的现状与特点

(一) 医学检验学的现状

近年来,我国医学检验学已进入自动化检验的时代,其主要表现在:①仪器与技术的发展。大量先进的自动化仪器取代了简单比色计等一般仪器;所用技术涉及众多前沿技术领域,如自动化细菌鉴定及药敏分析系统、流式细胞术、免疫标记技术、生物芯片技术等。②工作任务正在从简单地为临床提供快速、准确的检验结果,转变为在进一步发展检

验技术的同时,积极参与临床咨询和临床诊断、治疗和预防等工作。③运用循证检验医学(evidence-based laboratory medicine, EBLM)的理论,在保证检验结果准确、成本低的前提下,为临床提供既能说明问题、价格又合理的检验项目。④检验人员与临床医师共同制定诊断和疗效判断标准等。

(二) 医学检验学的特点

1. 检验操作的自动化 随着计算机技术的广泛应用,具有操作简单、精密度高、易质控、参数多、信息丰富等优点的自动化检验仪器,已基本取代手工操作,其提高了检验结果的准确性、缩短了检验时间,使检验操作逐步向全实验室自动化(total laboratory automation, TLA)与网络化管理(net management)方面发展。

2. 检验方法的标准化 医学检验学十分强调检验方法的标准化,并以向检验方法标准化、标本微量化方向发展为目标。目前,一批由国内外相关组织推荐的参考方法(reference method)、决定性方法(definitive method)已经用于临床检验中,提高了检验结果的准确性,使临床实验室之间检验结果的可比性增加,方便于医院之间的会诊、交流和远程医学诊断。

时至今日,在部分临床检验项目上,国内外已出台一系列标准化的文件,对其相关操作作出原则性的规定和评价。例如,我国有关《临床检验基础》检验项目的重要文件:卫生部《医疗机构临床实验室管理办法》(2006年);卫生行业标准文件有:“真空采血管及其添加剂”(WS/T 224)、“临床检验操作规程编写要求”(WS/T 227)、“尿液物理学、化学及沉渣分析”(WS/T 229)、“血小板计数参考方法”(WS/T 244)、“全血中血红蛋白测定”(WS/T 122)、“红细胞比积测定”(WS/T 123)、“红细胞和白细胞计数参考方法”(WS/T 245)、“白细胞分类计数参考方法”、“临床实验室质量保证的要求”;“全国临床检验操作规程”等参考标准。这些标准和参考文献是现代临床检验质量保证的重要依据。

3. 检验技术的现代化 现代科学技术的成果,如:流式细胞术(flow cytometry)、生物芯片(biochip)、分子杂交(molecular hybridization)和PCR等技术,已经以最快的速度应用于医学检验学,使临床检验水平大幅提高。

4. 检验试剂的商品化 目前,随着临床医学对检验方法的自动化、标准化、现代化要求程度越来越高,许多优质的商品化试剂进入临床应用领域,提高了临床检验质量、减少了检验误差。专业公司批量化、专业化、配套化和多样化向临床实验室提供高质量的检验试剂,避免了手工配制的弊端。目前,血细胞分析仪、尿液分析仪、血凝仪等已有配套化和专业化的试剂。

5. 计量单位的国际化 医学检验学已采用国际法定计量单位,并已引入参考区间(reference interval)、参考范围(reference range)、医学决定水平(medical decision level)等概念,注重了检验人员与临床医师的沟通与交流,突出检验人员对临床医师选择检验项目的咨询与检验结果的解释作用。

6. 质量管理的全程化 一个准确可信的检验结果的获得,有赖于健全的质量保证体系(quality assurance system)。检测前、检测中和检测后的质量控制是全程质量管理的3个重要环节。检测前、检测后的2个环节,尤其是检测前的准备和质量控制由医护人员和检验人员共同协作完成,而检测中的质量控制则由检验人员实施,因而临床检验全程的质量控制要由临床医护人员配合检验人员共同协作完成,并且临床实验室一定要进行全程质量管理与控制。在进行实验室内质量控制(internal quality control, IQC)、实验室间质量评价

(external quality assessment, EQA)及全套规范化实验室管理操作之后,确保检验结果的准确性和可信度,力争使各临床实验室通过国家实验室认可(laboratory accreditation)。

7. 生物安全的严格化 所有患者的标本都有潜在的危险性。因此,从标本采集到标本转运、储存、检测和处理,均需严格执行实验室生物安全要求。生物安全对操作者本人、患者及其他人员和环境皆同等重要。因此,检验人员要以“实验室生物安全通用要求”(GB 19489)、“临床实验室废物处理原则”(WS/T 249)等标准文件严格实施生物安全规定。

8. 检验人员的合格化 所有临床实验室都注重检验人员的技术合格性和操作规范性。例如,进行血细胞分析仪操作前必须接受仪器操作的培训,要熟悉检验理论和掌握操作方法,能进行室内和室间的质量控制,能判断和分析失控的原因,能进行基本的仪器清洁与维护;还要有能力按照复查的规则,应用熟练的血细胞形态学理论和实践经验进行显微镜的复查,学会如何评价血液分析仪等。

现代临床医学也正期待能致力参与国家、国际的标准化检验的实践活动、精通先进检验操作方法、能与临床医师进行有效交流的优秀检验人员的加入,共建医学检验学的宏伟大厦。

三、医学检验学的基本任务

医学检验学包含了检验技术和检验项目的临床应用两方面的内容。其基本任务是运用物理学、化学、生物学、免疫学、自动化检验等技术,对人体的血液、体液、排泄物、分泌物和脱落细胞等标本进行实验室检查,以获得病原学、病理学和脏器功能状态等资料,为疾病诊断、治疗、病情观察、预后判断提供依据,并结合病史、体格检查和其他各种辅助诊断资料,进行综合分析,以达到诊断明确、治疗及时和制定预防措施的目的。

《临床检验基础》的基本任务是采用先进的检验方法,对离体的血液、尿液、粪便、生殖系统分泌物、羊水、脑脊液、浆膜腔积液、关节腔积液和脱落细胞等标本进行理学、化学、病原生物学、显微镜形态学检查等,其检验结果能基本满足临床筛检诊断疾病的需要。

四、临床检验基础的临床应用

1. 为疾病诊断和鉴别诊断提供客观依据 例如将血液分析仪和显微镜检查有机结合,可提供全血细胞数量和质量(形态)的众多参数和红细胞、血小板、白细胞异常的最基本实验诊断信息。再如,白细胞(中性粒细胞)数量增高和血沉增高,支持急性心肌梗死的诊断,可与心绞痛鉴别;显微镜检查发现病原生物,是确诊感染性疾病的依据。

2. 为疾病疗效监测和预后判断提供动态变化依据 例如,尿液蛋白质检测对于肾脏疾病患者的病情观察与监测、网织红细胞计数对于进行化学疗法和放射疗法的患者或贫血患者的骨髓功能判断均具有可靠而实际的指导作用。

3. 为预防疾病提供检测依据 例如,从标本中检出病原生物(如寄生虫、细菌等),可对感染人群进行必要的治疗和(或)隔离,防止疾病的传播。

4. 为健康咨询提供依据 随着人类社会的进步、卫生事业的发展和人们对健康需求的日益增加,人们对提高生活质量的欲望日益迫切。《临床检验基础》的临床应用可以在定期健康检查中,帮助人们及时了解身体状况,并指导人们建立良好的生活习惯,强化预防疾病的主动性,达到减少疾病发生、促进健康的目的。

5. 为科学研究提供基本数据、基本检验方法和操作技能 医学检验学是一门实践性很强的学科,除了为疾病诊断和鉴别诊断、病情监测和预后判断、预防措施制定提供依据外,医学检验学的各种方法与技术,为临床医学研究提供了良好的条件,是开展医学研究的必备条件。

五、学习临床检验基础的基本要求

1. 掌握检验的基础理论 包括检验项目涉及的生理、病理基础,特别是检验基本理论。

2. 掌握检验的操作技能 《临床检验基础》的许多操作是进行其他临床医学检验的基础,包括标本采集、规范操作、质量保证等。因此,《临床检验基础》特别注重学生在实验课或在临床实习中动手能力的训练。

3. 掌握检验方法学的评价 学会如何评估和选择灵敏度高、特异性好的检验方法,尤其是正确恰当地比较和认识手工检验方法和仪器检验方法的优缺点。

4. 熟悉检验项目的参考区间 检验人员要熟知最常用检验项目的参考区间,以便结合临床,对检验结果进行有效的分析。现已用“参考区间”代替过去常用的“正常值”、“参考值”,原因之一在于检验项目的测定结果,只能来自部分地区、部分健康或正常人群的相对统计;另一原因在于即使在选定的人群中,检验结果被纳入参考区间的也只占被检人群数的95%,还有5%人群未被统计在内。由于对每个患者发病前的基础检验值的情况知之甚少,所以仅凭1次出现“低于”或“高于”(特别是略低于或略高于)参考区间的结果,并不能肯定为异常。对可疑检验结果通常至少应重复2次以上检验、并出现相同或相近结果时,才可认为检验结果可靠有效。

5. 熟悉检验项目的临床意义,用循证检验医学的新思维指导临床检验 检验人员应不断追求和吸收已被科学评价和证明的、具有当时最佳临床价值的检验项目和最佳检验方法,为临床提供有效的检验结果,要主动与临床保持联系,共同分析异常检测结果的原因。必须认识到,由于临床检验在时间和空间上存在一定的局限性,因此,对任何检验结果均需慎重分析,才能作出符合实际的合理解释。

6. 加强职业道德培养 医学检验学所进行的工作是一项细致严肃的工作,无论是在进行临床检验,还是进行医学研究,都必须有良好的职业道德和积极的工作热情。力求认真细致、一丝不苟、规范行事,积极与患者及家属沟通,顺利完成临床检验工作,为临床诊断和医学研究提供快速、准确的检验结果和资料。决不能因一时的疏忽大意或一念之差,造成患者的痛苦。

作为合格的检验人员,应能自如地面对未来的机遇与挑战,不仅要了解和掌握医学检验学的技术和方法、临床应用价值以及发展方向,为临床提供咨询服务,还要积极参与临床讨论,与临床医师一起选择检验项目、评价检验项目的价值,共同提高临床检验水平。所以,我们必须积极地投身到我国医学检验学的改革和发展中去,认真学习、努力钻研、不断进步,为我国医学检验学的发展贡献力量。

(刘成玉 罗春丽)

血液标本采集和血涂片制备

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

1. 血液检验的标本类型及其应用范围是什么?
2. 血液标本采集的主要方式及应用范围?
3. 负压采血管有哪些优点和用途?
4. 常用抗凝剂有哪些特点和用途?
5. 患者饮食和生理状态对检验结果会造成哪些影响?
6. 如何避免采血操作不当对检验结果的影响?
7. 运送和接收血液标本有哪些要求?
8. 如何处理检测后的血液标本?
9. 如何保证合格的血涂片质量?
10. Wright 染色的原理是什么? 如何保证染色质量?

第一节 血液标本采集

正确采集血液标本是获得准确、可靠检验结果的关键。在自动化检验仪器应用普遍的现代临床实验室中,基础性的血液标本的采集和处理是检测前质量保证的主要环节。检测前质量保证包括检验申请、患者准备、样品采集、运送到实验室并在实验室内传递等工作。

一、血液标本类型

1. 全血

(1) 静脉全血: 来自静脉的全血(whole blood)标本应用最广泛。常用的采血部位有肘前静脉、腕静脉,婴幼儿和新生儿有时采用颈静脉和股静脉。

(2) 动脉全血: 主要用于血气分析,采血部位有股动脉、肱动脉和桡动脉。

(3) 末梢全血: 适用于仅需微量血液的检验项目,采血部位有耳垂、指端,小儿有时为脚趾或足跟。

2. 血浆 全血标本经抗凝离心后去除血细胞成分即为血浆,主要用于化学成分测定和凝血项目检测等。

3. 血清 血清是血液离体凝固后分离出来的液体,血清与血浆相比较,主要是缺乏纤维蛋白原,某些凝血因子也发生了变化。血清主要用于化学和免疫学等检测。

4. 血细胞 某些特殊的检验项目需要特定的血细胞作为标本，如浓集的粒细胞、淋巴细胞和分离的单个核细胞等。

二、血液标本采集的方法

血液标本的采集方法按采集部位可分为皮肤采血法、静脉采血法和动脉采血法。

(一) 皮肤采血法

皮肤采血法 (skin puncture for blood collection) 主要用于需要微量血液的检验项目和婴幼儿血常规检验。皮肤采血法所获得的血液标本是微动脉血、微静脉血和毛细血管血混合的末梢全血。

1. 采血针皮肤采血法

(1) 器材准备：一次性采血针、消毒用品和微量吸管等。

(2) 部位选择：一般采用手指指端或耳垂 (婴幼儿可选择脚趾或足跟)。凡局部有水肿、炎症、发绀或冻疮等病变的均不可作为穿刺部位；严重烧伤患者可选择皮肤完整处。由于末梢血与静脉血的成分有差异，因此，有条件时应尽可能采集静脉血。采血针皮肤采血法的部位与评价见表 1-1。

表 1-1 采血针皮肤采血法的部位与评价

部位	优点	缺点
耳垂	痛感较轻，操作方便，适用于反复采血 (手指皮肤粗厚者)	血循环较差，受气温影响较大，结果不稳定。RBC、Hb、HCT 较手指血或静脉血高 (特别是冬季)，不推荐使用
手指	操作方便，可获得相对较多血量，检验结果比较恒定	有时痛感较重，检验结果与静脉血比较仍有差异

(3) 采血方法：①轻轻按摩采血部位 (左手无名指指腹内侧或耳垂)，使局部组织自然充血。②消毒皮肤，待其干燥后，紧捏采血部位两侧。③右手持一次性消毒采血针迅速刺入 (深度以 2~3mm 为宜)，血液自行流出或稍加挤压后流出。第 1 滴血液因混入组织液，一般将其弃之不用，或根据检验项目内容要求决定是否使用。④采血结束后，用无菌干棉签压住采血部位以止血。

(4) 注意事项：①采血时必须注意严格消毒和生物安全防范，采血针为一次性使用。②取血时可稍加挤压，但切忌用力过大，以免使过多组织液混入血液中。③采血要迅速，防止流出的血液发生凝固。④采用手工法进行多项常规检验时，血液标本采集顺序为血小板计数、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数及白细胞分类计数。

2. 激光皮肤采血法 激光皮肤采血法属于非接触式采血法，激光采血器能在极短时间内发出一束特定波长的激光束，接触皮肤后瞬间在采血部位产生高温，使皮肤气化形成 1 个 0.4~0.8mm 的微孔，血液自微孔流出，从而实现采集末梢全血的目的。该方法具有感染机会少、痛感轻和工作强度低等优点。

(1) 器材准备：激光采血器、一次性激光防护罩、微量采血管、消毒用品等。

(2) 部位选择：手指 (其他要求与采血针皮肤采血法相同)。

(3) 采血方法：按摩采血部位 (手指指腹)，使局部组织自然充血，消毒皮肤后，将激光手柄垂直置于一次性激光防护罩上方，垂直对准、紧贴采血部位，按下“触发键”，然后将防

护罩推出,血液自行流出或稍加挤压后流出,及时采集标本。

(4) 注意事项:①禁止在易燃易爆性气体环境中使用激光采血器,以免发生爆炸事故。②在使用过程中,禁止用肉眼观看激光窗口,或将激光窗口对准采血部位以外的身体其他位置;禁止使用反光镜或其他反光器材观察激光窗口,以免造成视力损害。③采血时防护罩要紧贴采血部位,不能倾斜或悬空,以免影响血液标本采集效果。④激光采血器的透镜是重要的部件之一,在使用一段时间后会有挥发物附着于表面,一般工作 50 次后需要清洁 1 次。

(二) 静脉采血法

静脉采血法(venipuncture for blood collection)是临床广泛应用的采血方法,所采集的静脉血能准确反映全身血液的真实情况,因其不易受气温和末梢循环变化的影响,而更具有代表性。静脉采血法根据采血方式可分为普通采血法和负压采血法。

1. 普通采血法 普通采血法,即传统的静脉采血方法。

(1) 器材准备:试管、注射器、消毒用品等。

(2) 选择静脉:一般选择肘正中静脉,受检者的手臂伸直置于垫枕上,暴露穿刺部位,选择容易固定、明显可见的静脉。

(3) 采血方法:①采用碘酊和乙醇(或碘伏)消毒受检者的静脉穿刺区域。②在穿刺点上端扎压脉带(松紧适宜),并嘱其握紧拳头,使静脉充盈暴露。③左手拇指绷紧皮肤并固定静脉穿刺部位。右手持针沿静脉走向,使针头与皮肤成 30° 角迅速刺入皮肤,然后放低注射器(针头与皮肤成 5° 角)向前刺破血管壁进入静脉腔,见有回血后,再将针头沿血管方向前进少许,以免采血针头滑出,但不可用力深刺,防止穿透血管壁而造成血肿。④松开压脉带。⑤右手固定注射器,缓缓抽动注射器内芯至所需血量后,嘱受检者放松拳头,用消毒干棉签按压穿刺点,迅速拔出针头后,继续按压穿刺点数分钟。⑥取下针头,将所需血液准确注入准备好的容器中。如有抗凝剂,则需要充分颠倒混匀。

(4) 注意事项:①根据检验项目、所需采血量选择注射器。②严格执行无菌操作。③采血时切忌将针栓往回推,以免注射器中的空气进入血循环而形成气栓。④采血时不宜过度用力,以免血液产生泡沫而造成溶血。

2. 负压采血法 负压采血法又称为真空采血法,具有计量准确、传送方便、封闭无尘、标识醒目、刻度清晰、容易保存、一次进针多管采血等优点。该方法主要原理是将有胶塞头盖的试管抽成不同的真空度,利用带安全装置的针头和软导管组合成全封闭的负压采血系统,以实现定量采血,并且采血量由采血管内负压大小来控制。

(1) 主要器材:负压采血系统由双向采血针、采血管构成(图 1-1)。负压采血管的种类和用途见表 1-2。



图 1-1 采血管与采血针

(2) 静脉选择和消毒:与普通静脉采血法相同。

(3) 采血方法

1) 软接式双向采血针的采血方法:①在穿刺点上端扎压脉带(松紧适宜),并嘱受检者握紧拳头,使静脉充盈暴露。②拔除采血穿刺针的护套,左手固定血管,右手拇指和示指持

表 1-2 负压采血管的种类和用途

采血管	用途	标本	操作步骤	添加剂	添加剂作用机制
红色	生化 / 血清学试验	血清	采血后不需混匀，静置 1 小时离心	无（内壁涂有硅酮）	—
橘红色	快速生化试验	血清	采血后立即颠倒混匀 8 次，静置 5 分钟离心	促凝剂	促进血液凝固
绿色	快速生化试验	血浆	采血后立即颠倒混匀 8 次，离心	抗凝剂：肝素钠、肝素锂	抑制血液凝固
金黄色	快速生化试验	血清	采血后立即颠倒混匀 5 次，静置 30 分钟离心	惰性分离胶，促凝剂	促进血液凝固
浅绿色	快速生化试验	血浆	采血后立即颠倒混匀 5 次，离心	惰性分离胶，肝素锂	抑制凝血
紫色	血常规试验	全血	采血后立即颠倒混匀 8 次，试验前混匀标本	EDTA-K ₃ 或 K ₂ （液体或干粉喷洒）	螯合钙离子
黄色	微生物培养	血清	不需混匀，静置 1 小时离心	无菌，茴香脑磺酸钠	抑制补体、吞噬细胞和某些抗生素作用，用以检出细菌
灰色	血糖试验	血浆	采血后立即颠倒混匀 8 次，离心	氟化钠和碘乙酸锂	抑制葡萄糖分解
浅蓝色	凝血试验	血浆	采血后立即颠倒混匀 8 次，试验前离心取血浆进行试验	枸橼酸钠：血液 = 1:9	结合钙离子
黑色	红细胞沉降率	全血	采血后立即颠倒混匀 8 次，试验前混匀标本	枸橼酸钠：血液 = 1:4	结合钙离子

穿刺针，沿静脉走向使针头与皮肤成 30°角刺入皮肤，再向前（针头与皮肤成 5°角）刺破静脉壁进入静脉腔。③有回血后，将胶塞穿刺针（双向针的另一端用软橡皮乳胶套着）直接刺入负压采血管的胶塞头盖的中央，血液被自动吸入采血管内，同时松解压脉带。④如需多管血样，将刺塞针拔出后再刺入另一采血管。⑤采血完毕，嘱受检者松开握紧的拳头，并用消毒干棉签按压穿刺点，拔出穿刺针，继续按压穿刺点数分钟。

2) 硬接式双向采血针的采血方法：①静脉穿刺同上。②将负压采血管推入硬接式双向采血针的刺塞针端中，静脉血会自动流入采血管中。③拔下采血管后，再拔出穿刺针头，用消毒干棉签按压穿刺点止血。

3) 混匀标本：加有抗凝剂的采血管需要立即颠倒混匀 8 次，含有分离胶或促凝剂的采血管需要颠倒混匀至少 5~8 次。

4) 采血后处理：根据生物安全原则及不同负压采血系统的特点，处理废弃的采血针，以避免误伤或污染环境。

(4) 注意事项

1) 检查胶塞头盖：使用前切勿松动采血管的胶塞头盖，以免改变采血管的负压，防止采血量不准确。

2) 刺塞针软橡皮乳胶套的作用：包裹、封闭刺塞针头，当针头刺入采血管后，乳胶套卷

起。采血完毕，去除采血管，乳胶套弹性回复，封闭刺塞针头，防止导管内血液继续流出而污染环境。

3) 一次采血、多管血液分配顺序：①使用玻璃采血管，多管采集血液标本的顺序(图1-2)：血培养管、无抗凝剂血清管、枸橼酸钠抗凝管、其他抗凝剂管。②使用塑料采血管顺序：血培养管(黄色)、枸橼酸钠抗凝管(蓝色)、加或未加促凝剂或分离胶的血清管、加或未加分离胶的肝素管(绿色)、EDTA 抗凝管(紫色)、加葡萄糖分解抑制剂管(灰色)。

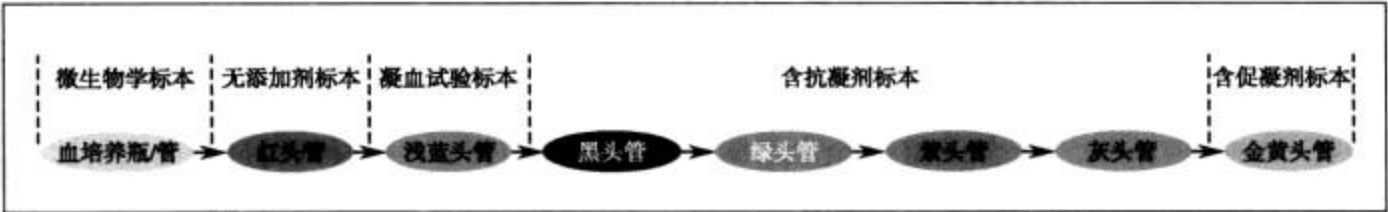


图 1-2 多管血液标本采集顺序

(三) 动脉采血法

1. 器材准备 2ml 或 5ml 注射器(准备 1000U/ml 无菌肝素生理盐水溶液，以湿润注射器内腔、橡皮塞)，或一次性动脉采血针、消毒用品等。

2. 选择动脉 多选用桡动脉(最方便)、股动脉、肱动脉。

3. 采血方法 以血气分析标本为例，常规消毒穿刺点及其附近皮肤、检验人员的左手示指和中指后，以左手绷紧皮肤，右手持注射器，用左手示指和中指触摸动脉搏动最明显处，并固定，以 30°~45° 进针。因动脉血的压力较高，血液会自动注入针筒内，至 2ml 后拔出针头，用消毒干棉签按压采血处(穿刺点)止血 10~15 分钟。立即用软木塞或橡皮塞封闭针头(针头斜面埋入橡皮中即可)，以隔绝空气，搓动注射器，使血液与肝素混合，并立即送检。

4. 注意事项

(1) 隔绝空气：用于血气分析的标本，采集后先立即封闭针头斜面，再混匀标本。

(2) 立即送检：标本采集后应立即送检，否则应将标本置于 2~6℃ 保存，但保存时间不应超过 2 小时。

(3) 防止血肿：采血完毕，拔出针头后，用消毒干棉签用力按压采血处止血，以防形成血肿。

三、血液标本的处理、运送与保存

血液标本处理时应特别注意：①视每一份标本为无法重复获得、唯一的标本，必须小心地采集、保存、运送、检验和报告。②视所有的标本都有传染性，对“高危”标本(如乙型肝炎、艾滋病患者血液标本等)要注明标识。③避免标本与皮肤接触或污染采血管的外部 and 实验台。④检验完毕，标本必须消毒处理，标本容器要按照规定进行高压消毒、毁形、焚烧等。

(一) 血液标本检测前预处理

1. 分离血清或血浆 血液标本采集后及时采用离心法分离血清或血浆。加有抗凝剂的血液标本应立即离心分离血浆；无抗凝剂的血液分离血清时，可先将其置于室温或 37℃ 水浴箱内，待血块部分收缩，出现少许血清时再离心分离。

2. 分离细胞 原则上是先根据各类细胞的密度大小、沉降率、黏附和吸附能力,采取一定措施进行初步分离,然后依据不同的检验目的,进行选择分离。

3. 添加剂的选择 使用全血和血浆标本时,通常需要抗凝。所谓抗凝就是采用物理或化学方法去除或抑制某种凝血因子的活性,以阻止血液凝固。能够阻止血液凝固的物质称为抗凝剂或抗凝物质。

为了快速获得血清有时还要使用促凝剂和分离胶等。常用添加剂的用途和特点见表 1-3。

表 1-3 常用添加剂的用途与特点

添加剂	作用	用途	注意事项
乙二胺四 乙酸盐	与血液中 Ca^{2+} 结合成螯 合物,凝血过程中断	全血细胞计数,离心法 HCT 测定	抗凝剂用量和血液的比例,采血 后须立即混匀
枸橼酸钠	与血液中 Ca^{2+} 结合	血沉、凝血试验、血液保养 液	抗凝能力相对较弱,抗凝剂浓 度、体积和血液的比例非常重要
肝素	加强抗凝血酶灭活丝氨酸 蛋白酶,阻止凝血酶形成	可用于血浆的生化、免疫项 目,如血气分析;肝素锂适 用于红细胞渗透脆性试验、 微量离心法 HCT 测定	电极法测血钾与血清结果有差 异;不适合血常规检查
草酸盐	草酸盐与血液中 Ca^{2+} 形 成草酸钙沉淀	草酸钾干粉常用于血浆标本 抗凝	容易造成钾离子污染其他检测 项目;现应用已减少
促凝剂	促进激活凝血机制,加速 血液凝固	缩短血清分离时间,特别适 用于急诊生化检验	常用促凝剂有凝血酶、蛇毒、硅 石粉、硅碳素等
分离胶	高黏度凝胶在血清和血块 间形成隔层,达到分离血 细胞和血清目的	能快速分离出血清标本;有 利于标本的冷藏保存	分离胶的质量影响分离效果和 检验结果;分离胶试管成本高

注: HCT, 血细胞比容

特殊情况需要采用物理方法获得抗凝血液标本。将血液注入有玻璃珠的器皿中,并不停转动,使纤维蛋白缠绕于玻璃珠上,从而防止血液凝固,此方法常用于血液培养基的羊血采集。另外,也可用竹签搅拌去除纤维蛋白,以达到物理抗凝的目的,此方法主要用于结果易受抗凝剂影响的血液标本抗凝,如用于狼疮细胞检查等。

(二) 血液标本运送

血液标本的运送可采用人工运送、轨道传送或气压管道运送等,无论采用哪种运送方式,都应该注意以下 3 个原则。

1. 唯一标识原则 血液标本都应具有唯一标识,除编号之外,还应包括患者姓名等最基本的信息。目前,解决唯一标识最好的方式是应用条形码系统。

2. 生物安全原则 使用可以反复消毒的专用容器运送。特殊标本应采用有特殊标识字样(如剧毒、烈性传染等)的容器密封运送。必要时,还应使用可降温的运送容器。气压管道运送必须使用负压采血管,并确保试管管盖和橡皮塞牢固。

3. 及时运送原则 血液标本要尽快检验,以符合检验质量要求和临床诊治需求。若血液标本不能及时转运,或欲将标本送到另一机构进行检验时,应将标本装入密封的采血管内,再装入乙烯塑料袋内。根据保存温度要求可将其置于冰瓶或冷藏箱内运送。运送过程

中应避免剧烈震荡。

（三）血液标本拒收

实验室要制定标本接收的标准文件。因不同的检验项目对标本的要求不同，还要制定拒收标准。因“让步”而接收的不合格标本，其检验报告单上应注明标本存在的问题，在解释结果时必须特别说明。

在检测前，对确认不符合标本采集要求的血液标本，应拒绝接收。标本拒收常见原因包括：①溶血、抗凝标本出现凝固。②血液采集容器不当。③采血量不足或错误。④转运条件不当。⑤申请单和标本标识不一致。⑥标本污染、容器破损等。需要注意的是，标本拒收不但造成检验费用增高和时间浪费，还可能延误诊治甚至危害患者。因此，涉及血液标本采集的所有工作人员，都必须在标本采集、转运和处理各个环节进行全面而规范的培训。

（四）血液标本保存

血液标本保存应当在规定的时间内、确保标本特性稳定的条件下，按要求分为室温保存、冷藏保存、冷冻保存。

1. 分离后标本 ①不能及时检验或需保留以备复查时，一般应将标本置于 4℃ 冰箱内保存。②需保存 1 个月的标本，放置于 -20℃ 冰箱内保存。③需要保存 3 个月以上的标本，分离后置于 -70℃ 冰箱保存。④标本存放时需要密封，以免水分挥发而使标本浓缩。⑤避免标本反复冻融。

2. 立即送检标本 如血氨（密封送检）、红细胞沉降率、血气分析（密封送检）、酸性磷酸酶、乳酸等标本。

3. 检测后标本 检测后标本不能立即处理时，应根据标本的性质和要求、按照规定时间保存，以备复查需要。急诊标本、非急诊标本必须妥善保存，在需要重新测定时，确保标本检索快速有效。保存原则是在有效的保存期内确保被检测物质不会发生明显改变。

（五）检测后血液标本的处理

根据《实验室生物安全通用要求》（GB19489—2004），实验室废弃物管理的目的如下：①将操作、收集、运输及处理废弃物的危险减至最小。②将其对环境的有害作用减至最小。因此，检测后废弃的血液标本应由专人负责处理，根据《医疗废物管理条例》采用专用的容器包装，由专人送到指定的消毒地点集中处理，一般由专门机构采用焚烧的方法处理检测后的血液标本和废弃物。

第二节 血液标本采集的质量保证

标本采集是检测前质量管理的主要内容，检测前的大部分工作是由患者、医生、护士、运送人员及检验人员在实验室以外的空间和进入检验过程前完成的，临床实验室难以监控这一过程中的每个环节。临床医生反馈不满意的检验结果，80% 的原因最终可溯源到标本质量不符合要求。为了准确地反映患者的状态，临床医护人员和检验人员，应该了解血液标本采集前患者的状态和影响结果的因素，并将注意事项告知患者，请其予以配合，尽可能减少非疾病因素对血液标本的影响。

一、血液标本采集的环境要求与生物安全

(一) 环境要求

血液标本采集的环境应该人性化设置，空间宽敞，光线明亮，通风良好，血液标本采集的台面高低和宽度适宜，座位舒适。

(二) 生物安全

- 1. 防止交叉感染 血液标本采集应采用一次性用品，包括压脉带、铺巾和消毒用品。废弃物品按照医疗垃圾统一处理。
- 2. 环境消毒 采用紫外线灯定时对标本采集的周边环境和空气进行消毒，并采用消毒液擦拭台面。

二、血液标本采集的过程要求

(一) 检验申请单

检验申请单或电子申请表中应包括患者最基本的信息，以识别患者和经授权的申请者，同时应提供相关的临床信息。相关的临床信息至少包括姓名、性别、年龄，以用于解读检验结果。

(二) 标本采集和处理的具体要求

实验室应向负责采集标本的人员提供标本采集和处理的具体要求。这些要求应包括在标本采集手册中(表 1-4)。

表 1-4 血液标本采集和处理的具体要求

项目	具体要求
患者告知	向患者提供在标本采集前应做准备的信息和说明
患者准备说明书	如提供给护士和标本采集人员的说明书
标本采集	说明血液标本容器和添加物
标本采集类别和数量	掌握所采集标本的种类和数量
标本采集日期和时间	根据检查项目的要求，明确标本采集日期和时间，包括特定采集时间
标本处理要求	从标本采集至实验室接收之间的任何处理要求(运送、冷冻、保温、立即送检等)
标本采集人员	记录身份信息
标本采集器材和安全处理	正确选择器材，并做好安全处理

(三) 标本信息完整性与接收

血液标本可通过检验申请单溯源到特定的个体，实验室不应接收或处理缺少标识的检验申请单和标本。

- 1. 对特殊标本的处理 对标识不明确、标本不稳定(如脑脊液、活检标本等)、不便重新采集的标本或属于紧急情况的标本，实验室可先处理标本，但是不发送检验报告，直至申请检验的医生或标本采集人员承担标本鉴别和接收的责任，或提供适当的信息。
- 2. 在规定的时间内送检 根据申请检验项目的特性以及实验室的相关规定，应在一定时间内送检标本。急症或危重患者的标本要有特别的标识。

3. 注意物理条件对标本的影响 根据标本采集手册的规定, 标本应保存在一定的温度范围内, 特殊标本可能含有规定的防腐剂, 以确保标本成分的完整性。
4. 标本档案要完整 所有接收的标本应当记录在登记本、工作表或计算机中, 并记录标本接收的日期和时间、接收人员等。

三、血液标本采集及检测结果的影响因素

(一) 饮食和生理状态

患者饮食和生理状态对检验结果的影响见表 1-5。

表 1-5 患者的饮食和生理状态对检验结果的影响

因素	影响
饮食	不同食物对检验结果的影响不同 ①普通进餐后, 甘油三酯将增高 50%, 血糖增加 15%, ALT 及血钾增加 15% ②高蛋白膳食可使血液尿素、尿酸及血氨增高 ③高脂肪饮食可使甘油三酯大幅度增高 ④高核酸食物(如动物内脏)可导致血液尿酸明显增高
饥饿	长期饥饿可使血浆蛋白质、胆固醇、甘油三酯、载脂蛋白、尿素等降低。相反, 血肌酐及尿酸则增高, 由于饥饿时机体的能量消耗减少, 故血液 T ₃ 、T ₄ 水平将明显减低
运动和精神 生物钟	精神紧张、激动和运动可使儿茶酚胺、皮质醇、血糖、白细胞总数、中性粒细胞等增高 清晨 6~7 时促肾上腺皮质激素、皮质醇最高, 深夜 0~2 时最低
月经和妊娠	与生殖有关的激素在月经周期会产生不同的变化。纤维蛋白原在月经前期开始增高, 血浆蛋白质则在排卵时减低; 胆固醇在月经前期最高, 排卵时最低
饮酒	长期饮酒者可导致 ALT、AST、γ-GT 增高; 慢性乙醇中毒者, 血液胆红素、ALP、甘油三酯等增高
吸烟	长期吸烟者白细胞计数、血红蛋白、COHb、CEA 等增高; 而 IgG 则减低, ACE 活性减低
其他	某些诊疗活动可影响检验结果, 包括外科手术、输液或输血、穿刺或活检、透析、OGTT、服用某些药物、使用细胞因子等

注: ALT, 丙氨酸氨基转移酶; AST, 天冬氨酸氨基转移酶; γ-GT, γ 谷氨酰转移酶; ALP, 碱性磷酸酶; COHb, 碳氧血红蛋白; CEA, 癌胚抗原; OGTT, 口服葡萄糖耐量试验

(二) 药物

药物干扰检验结果主要有 4 条途径: ①影响待测成分的物理性质。②参与检验过程的化学反应。③影响机体组织器官生理功能和(或)细胞活动中的物质代谢。④对机体器官的药理活性和毒性作用。

(三) 采血操作

1. 采血时间 有些化学成分的血液浓度具有周期性变化。①尽可能在上午 9 时前空腹采集标本。②尽可能在其他检查和治疗之前采集血液标本。③根据药物浓度峰值期和稳定期特点采集血液标本, 以检测药物浓度。④在检验申请单上注明采血的具体时间。
2. 采血部位 不同部位的血液标本中某些成分会有差异, 甚至对检测结果产生严重影响, 故应选择恰当的采血部位。

3. 采血时体位 体位改变可引起血液许多指标发生变化。从仰卧位到直立位时, 由于有效滤过压增高, 水及小分子物质从血管内转移到组织间隙, 血浆容量可减少 12%。由于血液浓缩, 细胞及大分子物质相对增高 5%。受这种体位影响的指标包括红细胞计数、白细胞计数、HCT、ALT、ALP、总蛋白、白蛋白、免疫球蛋白、载脂蛋白、甘油三酯、低密度脂蛋白 - 胆固醇 (LDL-C)、醛固酮、肾上腺素、去甲肾上腺素和血管紧张素等。因此, 采集血液标本时, 住院患者可采用卧位, 非住院患者可采用坐位, 并保持平静心态。

4. 压脉带的使用 静脉采血时, 压脉带压迫时间过长可使多种血液成分发生改变。①压迫 40 秒, 血清总蛋白可增加 4%, AST 增加 16%。②压迫超过 3 分钟时, 因静脉扩张、瘀血, 水分转入组织间隙, 导致血液浓缩, 可使白蛋白、血清铁、血清钙、ALP、AST、胆固醇等增高 5%~10%, 血清钾增高更明显。同时, 由于氧消耗增加, 无氧酵解加强, 乳酸增高, pH 降低。因此, 在采集标本时应尽量缩短压脉带的压迫时间 (一般应 <1 分钟)。在见到血液进入采血容器后立即解开压脉带。当需要重新采集标本时, 应换另一只手臂。

(四) 其他

1. 输液 要尽可能避免在输液过程中采集标本, 因为输液不仅使血液稀释, 而且输注的成分可能干扰检验结果。最常见的干扰项目是葡萄糖和电解质。一般情况下, 对静脉输入葡萄糖、氨基酸、蛋白质或电解质的患者, 应在输液结束 1 小时后采集标本, 而对输入脂肪乳剂的患者应在 8 小时后采集标本。如果必须在输液时采集标本, 要避免在输液同侧的静脉采集标本。

2. 溶血 血细胞内、外各种成分有梯度差, 有的成分相差数十倍 (表 1-6), 溶血标本所致的误差可造成严重的后果。因此, 在采集、运送、保存和处理血液标本时应尽量避免溶血。发生溶血的主要原因有容器不清洁、血液接触水分、标本中的大量泡沫、强力振荡、注射器带着针头强压注血和分离血清时操作不当等。

表 1-6 溶血引起血液成分浓度或活性变化

成分	红细胞内浓度 (活性) 与血清的比值	1% 红细胞溶血后血清浓度 (活性) 的变化 (%) *
LD	160:1	+272.5
AST	40:1	+220.0
钾	23:1	+24.4
ALT	6.7:1	+55.0
葡萄糖	0.82:1	-5.0
无机磷	0.78:1	+9.1
钠	0.11:1	-1.0
钙	0.10:1	+2.9

注: LD, 乳酸脱氢酶; * 假设 HCT 为 0.50

3. 某些抗凝剂对标本的影响 EDTA 钾盐可使淋巴细胞出现花形核, 还可激发极少数人血小板出现 EDTA 依赖性聚集现象, 导致血液分析仪检测血小板计数的假性减低。

4. 低温保存对标本的影响 血液分析仪测定采用的抗凝全血宜室温保存, 不宜存放在 2~6℃ 环境中, 低温可使血液成分和细胞形态发生变化。即使室温保存, 也不宜超过 6 小时,

最多不超过 8 小时。冷冻的血清或血浆标本不宜反复冻融，必要时可分装多管保存。另外，解冻的标本要彻底融化并混匀后再使用（不完全解冻标本的成分分布是不均匀的）。

第三节 血涂片制备与染色

外周血涂片检查是最有益的血液系统疾病检查手段，能为临床提供大量的信息。通过血涂片特殊染色，还能鉴别白血病、感染和其他疾病。因此，血涂片制备和染色的质量直接影响血细胞形态的检验结果。一张合格的血涂片应该是厚薄适宜，血膜头、体、尾分明，分布均匀，两侧留有一定的空隙，边缘整齐。

一、血涂片制备

（一）载玻片要求

制备血涂片使用的载玻片要有很好的清洁度。新载玻片常有游离碱质，应用铬酸清洗液或 10% 盐酸浸泡 24 小时，然后再彻底清洗。已用过的载玻片可在含有适量肥皂水或合成洗涤剂的水中煮沸 20 分钟，用热水将肥皂和血膜洗去，再用自来水反复冲洗，擦干或烤干后备用。

（二）血涂片制备方法

1. 手工推片法

（1）薄血膜推片法：临床常用的方法，主要用于观察血细胞形态及仪器法检测结果异常的复查。

1) 采血：取新鲜血液 1 滴，置于载玻片的一端 1cm 处或整片的 3/4 处。

2) 制备血涂片：左手持载玻片，右手持推片从血滴前方后移接触血滴，使血滴沿推片边缘展开，然后是推片与载玻片成 30°~45°，匀速、平稳地向前移动推制成血涂片。

3) 干燥：将推好的血涂片在空中晃动，使其迅速干燥。天气寒冷或潮湿时可置于 37℃ 温箱中保温促干，以免时间过长导致细胞变形、皱缩。

（2）厚血膜涂片法：取新鲜血液 1 滴于载玻片的中央，用推片的一角将血滴由内向外旋转涂布，制成厚薄均匀、直径约 1.5cm 的圆形血膜，待自然干燥后，滴加数滴蒸馏水，使红细胞溶解，脱去血红蛋白，倾去水，血涂片干燥后即可染色，并用显微镜检查。本方法特别适合检查疟原虫、微丝蚴等。

2. 自动涂片法 目前有许多型号的自动血液分析仪，配备有血涂片仪和染色仪，可以按照检验人员的指令执行自动送片、取血、推片、标记和染色等任务。

【方法学评价】 良好的血涂片是血细胞形态学检查的前提。血涂片制备的方法学评价见表 1-7。

表 1-7 血涂片制备的方法学评价

方法	评价
薄血膜推片法	用血量少、操作简单，是应用最广泛的方法。某些抗凝剂可使血细胞形态发生变化，分类时应注意鉴别
厚血膜涂片法	此法所制备的血涂片对疟原虫、微丝蚴等检查的阳性检出率高
自动涂片法	可获得细胞分布均匀、形态完好的血涂片，但尚未普遍推广

【质量保证】 薄血膜推片法的质量保证项目与评价见表 1-8，血涂片质量问题及可能的原因见表 1-9。

表 1-8 血涂片制备(薄血膜推片法)的质量保证项目与评价

项目	评价
载玻片	保持中性、洁净、无油腻
制备血涂片	①良好的血涂片的“标准”为血膜由厚到薄逐渐过渡。应厚薄适宜，头、体、尾分明，分布均匀，两侧留有空隙，边缘整齐 ②血膜厚度、长度与血滴的大小、推片与载玻片之间的角度、推片速度及 HCT 有关。血滴大、角度大、推片速度快则血膜厚；反之，则血膜薄 ③ HCT 增高时，血液黏度较高，宜保持较小的角度，可得满意血涂片；相反，HCT 低于正常时，血液较稀，则应用较大的角度和较快的推片速度，才可获得满意的血涂片
染色	血涂片应在 1 小时内完成染色，或在 1 小时内用无水甲醇固定后染色

表 1-9 血涂片质量问题及可能的原因

血涂片质量问题	原因
不规则间断和尾部过长	推片污染、推片速度不均匀、载玻片污染
有空泡(空洞)	载玻片被油脂污染
血膜过长或过短	推片角度不佳或血滴太小
血膜无尾部	血滴太大
两侧无空隙	推片太宽或血滴展开太宽
血膜太厚	血滴大、血液黏度高、推片角度大、推片速度快

二、血涂片染色

(一) 染料

- 1. 碱性染料 为噻嗪类染料，如亚甲蓝(methylene blue)、天青、苏木素等，有色部分为阳离子，与细胞内的酸性成分，如 DNA、RNA、特异的中性颗粒基质、某些细胞质蛋白等结合，主要用于细胞核染色。
- 2. 酸性染料 为阴离子染料，主要有伊红 Y(eosin Y)和伊红 B(eosin B)，有色部分为阴离子，与细胞的碱性成分如血红蛋白、嗜酸性颗粒及细胞质中的某些蛋白质等结合并染色。
- 3. 复合染料 阴离子染料伊红 Y 和伊红 B 特别适合与噻嗪类染料(亚甲蓝、天青等)作对比染色。两类染料混合，同时具有阴离子型、阳离子型的染料称复合染料。细胞染色后可获得红蓝分明、色泽艳丽的染色效果。如 Wright 染料、Giemsa 染料。

(二) 染色方法

1. Wright 染色法

(1) 染色原理

1) 物理吸附与化学亲和作用：血涂片染色过程既有物理吸附作用，又有化学亲和作用。由于血细胞内不同结构所含有的化学成分不同，对各种染料的亲和力也不同(表 1-10)。

表 1-10 Wright 染色血细胞着色的原理

成分	着色原理
碱性物质	与伊红结合染成红色, 该物质称为嗜酸性物质, 如血红蛋白及嗜酸性颗粒等
酸性物质	与亚甲蓝结合而染成蓝紫色, 该物质又称为嗜碱性物质, 如淋巴细胞胞质及嗜碱性颗粒等
中性颗粒	呈等电状态, 与伊红、亚甲蓝均结合, 染成淡紫红色, 为中性物质
细胞核	主要由 DNA 和碱性强的组蛋白等组成, 后者与伊红结合染成红色, 但因细胞核中含有少量的弱酸性物质, 与亚甲蓝作用染成蓝色, 因含量太少, 蓝色反应极弱, 故细胞核被染成紫红色
红细胞	①原始红细胞和早幼红细胞胞质含有较多的酸性物质, 与亚甲蓝亲和力强, 故染成较浓厚蓝色 ②晚幼红细胞和 Ret 含有酸性物质和碱性物质, 既能与亚甲蓝, 又能与伊红结合, 故染成红蓝色或灰红色 ③成熟红细胞的酸性物质完全消失, 只与伊红结合, 则染成橙红色

2) pH 的影响: 血细胞多种成分属于蛋白质, 由于蛋白质系两性电解质, 所带电荷随着溶液的 pH 而定。因此, 血细胞染色对氢离子浓度十分敏感。染色时常用缓冲液 (pH 6.4~6.8) 来调节染色时的 pH, 以达到满意的染色效果 (表 1-11)。

表 1-11 不同 pH 对血细胞染色结果的影响

染色时 pH	蛋白质所带电荷	结合的染料	染色结果
<pI	正电荷增多	易与伊红结合	偏红
>pI	负电荷增多	易与亚甲蓝或天青结合	偏蓝

(2) 试剂

1) Wright 染液: Wright 染液是由伊红和亚甲蓝溶解于甲醇而成。甲醇的作用: ①溶解伊红和亚甲蓝。②具有很强的脱水作用, 可以固定红细胞形态, 提高对染料的吸附作用, 增强染色效果。

Wright 染料 1.0g、甲醇 (分析纯 AR) 600ml、甘油 15ml。将全部染料放入清洁干燥的乳钵中, 先加少许甲醇慢慢研磨, 使染料充分溶解, 再加少许甲醇混匀, 然后将溶解的部分倒入洁净的棕色瓶内。乳钵内剩余未溶解的染料, 再加少许甲醇细研, 如此多次研磨, 直至染料全部溶解, 甲醇用完为止, 再加 15ml 甘油密封保存。甘油可防止甲醇挥发, 同时也可使细胞着色清晰。

2) 磷酸盐缓冲液 (pH 6.8): 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 0.3g、磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4) 0.2g、蒸馏水加至 1000ml。配好后用磷酸盐溶液校正 pH, 塞紧瓶口储存。也可以配成 10 倍浓缩的储存液, 应用时再稀释。

(3) 染色

1) 标记血涂片: 在已制备好的血涂片一端用蜡笔编号。

2) 加 Wright 染液: 待血涂片干透后, 用蜡笔在血涂片两端各划一条直线, 以防染色时染液外溢。然后将血涂片平放于染色架上, 滴加染液 3~5 滴。

3) 加缓冲液: 约 1 分钟后, 滴加等量或稍多的缓冲液, 轻轻摇动血涂片或用吸耳球对准血涂片加液处轻吹, 使染液与缓冲液充分混合。

4) 冲洗染液：染色 5~10 分钟后，用流动的蒸馏水从血涂片一端冲去染液。血涂片干燥后，可进行显微镜检查。

5) 判断染色结果：在正常情况下，良好的染色效果为：①血膜外观为淡紫红色。②低倍镜下，细胞分布均匀。③红细胞呈粉红色或琥珀色，无染料沉渣，血细胞无人为形态变化（如溅上水后形成的空泡）。④白细胞胞质能显示各类细胞的特有色彩，白细胞核呈紫红色，染色质(chromatin)和副染色质(parachromatin)清晰，粗细松紧可辨。

2. Giemsa 染色法

(1) 染色原理：与 Wright 染色法基本相同。Giemsa 染色法加强了天青的作用，提高了噻嗪类染料的效果。

(2) 试剂：Giemsa 染料 1.0g、甘油 66ml、甲醇 66ml。将 Giemsa 染料 1.0g 全部倒入盛有 66ml 甘油的圆锥烧瓶内，在 56℃的水浴锅中加热 90~120 分钟，使染料与甘油充分溶解混匀，然后加入 60℃预热的甲醇，充分摇匀后放棕色瓶内，室温下静置 7 天，过滤后再使用。染液放置越久，其染色效果越好。

(3) 染色

1) 标记：在已制备的血涂片的一端用蜡笔编号。

2) 固定：将干燥的血涂片用甲醇固定 3~5 分钟。

3) 染色：将固定的血涂片置于被 pH 6.4~6.8 磷酸盐缓冲液稀释 10~20 倍的 Giemsa 染液中，浸染 10~30 分钟，取出后用流水冲洗，干燥后备用。

3. Wright-Giemsa 染色法 Wright-Giemsa 染色法结合了 Wright 染色法和 Giemsa 染色法的优点。在 Wright 染液配方的基础上，每 1.0g Wright 染料添加 0.3g Giemsa 染料。染色步骤与 Wright 染色法相同。

【方法学评价】 血涂片染色的方法学评价见表 1-12。

表 1-12 血涂片染色的方法学评价

方法	评价
Wright 染色法	最常用的染色法，尤其对于胞质成分及中性颗粒等染色，可获得满意的染色效果，但对胞核的染色不如 Giemsa 染色法
Giemsa 染色法	对胞核和寄生虫着色较好，结构显示更清晰，而胞质和中性颗粒则着色较差
Wright-Giemsa 染色法	广泛使用的方法。所使用的缓冲液与 Wright 染色法相同。该法对血细胞胞核、胞质和胞质内颗粒均着色鲜艳，对比鲜明

【质量保证】 染色过深、过浅与血涂片中细胞数量、血膜厚度、染色时间、染液浓度、pH 密切相关。Wright 染色的质量保证见表 1-13。血涂片染色不佳的原因及纠正措施见表 1-14。

表 1-13 Wright 染色的质量保证

项目	质量保证
染液质量	新配染色液的染色效果较差，放置时间越长亚甲蓝转变为天青越多，染色效果越好
时间与浓度	染液浓度低、室温低、细胞多、有核细胞多，则染色时间要长；反之，则染色时间要短
染色过程	血涂片应水平放置；染液不能过少，以免蒸发后染料沉淀；加染液后可用吸耳球轻吹，让染液覆盖全部血膜；加缓冲液后要让缓冲液和染液充分混合，两者比例约为 1:1~1.5

续表

项目	质量保证
冲洗染液	①应用流水将染液与缓冲液冲去，而不能先倒掉染液后再用流水冲洗，以免染料沉着于血涂片上，干扰检查。②水流不宜太快，水压不宜过高。③避免水流垂直冲到血膜上，而导致血膜脱落。④冲洗时间不能过长，以免脱色
脱色与复染	①染色过深：可用甲醇或 Wright 染液适当脱色，也可用清水冲洗或浸泡一定时间 ②染色过浅：可以复染，复染时应先加缓冲液，后加染液，或加染液与缓冲液的混合液，不可先加染液

表 1-14 血涂片染色不佳的原因及纠正措施

染色效果	原因	纠正措施
染色偏蓝	血膜偏厚、冲洗时间过短、冲洗用水的 pH 过高、染色时间长、贮存的染液暴露于阳光下	用含 1% 硼酸的 95% 乙醇溶液冲洗 2 次，再用中性蒸馏水冲洗，待干燥后显微镜检查
染色偏红	冲洗时间过长、冲洗用水的 pH 过低、贮存染液质量不佳、血涂片干燥前加封片	规范操作，中性蒸馏水、染液质量要好
染色偏浅	染色时间过短、冲洗时间过长	复染，先加缓冲液再加染液，或加染液与缓冲液的混合液，不可先加染液
染料沉积	染料沉淀、染液未过滤、血涂片被污染	用甲醇冲洗 2 次，并立即用水冲掉甲醇，待干燥后复染
蓝色背景	固定不当、血涂片未固定而贮存过久、使用肝素抗凝剂	注意血涂片的固定，使用 EDTA 抗凝静脉血

(岳保红)

本章小结

血液标本采集方法按采集部位分为皮肤采血法、静脉采血法和动脉采血法；静脉采血法可以分普通采血法和负压采血法。在常用采集方法中，负压采血法最符合检测前质量控制要求和实验室生物安全防范。因此，已广泛应用。

在自动化仪器被普遍应用的现代临床实验室，血液标本的正确采集和处理是获得可靠检验结果的关键，也是检测前质量控制的主要内容，是十分重要的基础性工作。因此，要保证检验标本的质量，必须注意影响标本采集的因素。血液标本的处理和保存也会直接影响检验质量，在每一个工作环节中，把每一份标本都视为无法重新获得、唯一的标本，必须小心地采集、保存、运送、检验和报告。

抗凝就是用化学或物理方法去除或抑制血液中的某一种凝血因子的活性，以阻止血液凝固。阻止血液凝固的物质称为抗凝剂或抗凝物质，熟悉其用途和特点是正确选择抗凝剂的前提。商品化的采血管已按用途加入了不同的添加剂，可根据采血管的管帽颜色加以区分。

血涂片制备与染色的质量直接影响血细胞形态检验结果。一张合格的血涂片应该是厚薄适宜，血膜头、体、尾明显，细胞分布均匀，两侧留有一定的空隙，边缘整齐。

Wright 染液由伊红和亚甲蓝溶解于甲醇而成。血细胞内的不同结构由于所含化学成分不同，对各种染料的亲和力也不同，因此形成了各自特有的色彩。Giemsa 染液加强了天青

的作用,对胞核着色较好,结构显示更清晰。Wright-Giemsa 染色法结合了 Wright 染色法和 Giemsa 染色法的优点,使胞质、胞核和胞质内颗粒着色均较好。常用 pH 6.4~6.8 缓冲液来调节染色时的 pH,以达到满意的染色效果。

参 考 文 献

1. 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程. 第3版. 南京:东南大学出版社,2006.
2. 杜万良,译. 牛津临床与实验室检查手册. 第2版. 北京:人民卫生出版社,2006.
3. Pagana KD, Pagana TJ. Diagnostic and Laboratory Test Reference. 8th ed. St.Louis: Mosby, Inc., 2007.

第二章

血液一般检验

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

1. 红细胞计数的方法有哪些? 如何评价这些方法?
2. 血细胞计数误差有哪些? 如何减少这些误差?
3. 血红蛋白测定的方法有哪些? WHO 和 ICSH 推荐的参考方法是什么?
4. HiCN 测定法的检测原理是什么? 如何评价血红蛋白测定方法?
5. 造成红细胞形态异常的人为原因有哪些?
6. 血细胞比容的测定方法有哪些? 其原理分别是什么? 各有何优缺点?
7. 什么是网织红细胞? ICSH 将网织红细胞分为哪几型? 外周血液中以哪型网织红细胞为主?
8. 常见网织红细胞染色方法有几种? 网织红细胞活体染色的原理是什么?
9. 如何评价出血时间测定的临床应用价值?
10. PT、APTT 测定的质量保证环节与临床意义有哪些?
11. INR 是什么? 有何临床价值?
12. 为什么 PLT、PT 和 APTT 能够作为手术前出血倾向的诊断指标?
13. 白细胞计数和白细胞分类计数的方法学评价是什么?
14. 白细胞计数时标本采集的质量保证有哪些? 如何减少白细胞计数的固有误差?
15. 如何校正有核红细胞对白细胞计数的影响?
16. 显微镜法白细胞计数的质量考核与评价的方法有哪些?
17. 中性粒细胞的核象变化及其临床意义有哪些?
18. 如何评价血小板计数方法?
19. 什么是 ABO 血型抗体? IgM 型血型抗体和 IgG 型血型抗体的产生及生物学特性有何不同?
20. 常用的 ABO 血型鉴定方法有哪一种?
21. 如何区分 Rh 阳性血型和 Rh 阴性血型? 常规鉴定 Rh 血型的方法是什么?

血液一般检验是指血液检验项目中最基础和最常用的检验,主要包括手工法或仪器法血细胞计数及相关参数测定、血细胞形态学检查、止血凝血筛检试验、血型鉴定与交叉配血等。随着科学技术的发展,自动化检验已被广泛应用于血液一般检验中,使其检测快速、项目扩展、参数增多。由于血液一般检验标本采集容易、检测便捷,目前仍然是筛检疾病的首要项目。

第一节 红细胞检查

红细胞是血液中数量最多的有形成分，其主要功能是作为携氧或二氧化碳的呼吸载体和维持酸碱平衡等。可通过检测红细胞参数和形态变化对某些疾病进行诊断或鉴别诊断。

一、红细胞计数

红细胞计数(red blood cell count)是血液一般检验的基本项目，与血红蛋白和血细胞比容结合，常作为诊断贫血、真性红细胞增多症及红细胞增多的主要指标之一。

【检测原理】 红细胞计数方法有显微镜法和血液分析仪法。

显微镜法的检测原理：采用等渗稀释液将血液标本稀释一定倍数(200 倍)后，充入改良牛鲍(Neubauer)血细胞计数板(hemocytometer)中，在显微镜下计数一定区域(体积)内的红细胞数量，经换算求出每升血液中红细胞数量。

【方法学评价】 红细胞计数的方法学评价见表 2-1。常用红细胞计数稀释液组成与作用见表 2-2。

表 2-1 红细胞计数的方法学评价

方法	优点	缺点
显微镜法	传统方法，设备简单，成本低。可用于血液分析仪异常检查结果的复查	费时费力，精密度低
血液分析仪法	操作便捷，易于标准化，精密度高。适用于健康人群普查，大批量标本筛检	成本高；环境条件要求较高

表 2-2 常用红细胞计数稀释液组成与作用

稀释液	组成	作用
Hayem 液	NaCl、Na ₂ SO ₄ 和 HgCl ₂	调节渗透压、增加红细胞悬浮性和防腐。但在高球蛋白血症时，易造成蛋白质沉淀而使红细胞凝集
枸橼酸钠甲醛盐水溶液	NaCl、枸橼酸钠和甲醛	NaCl 维持等渗，枸橼酸钠抗凝，甲醛固定和防腐。配制简单，稀释数小时后红细胞形状不变
生理盐水	NaCl	等渗，急诊时应用
1% 甲醛生理盐水	NaCl 和甲醛	等渗、固定和防腐，急诊时应用

【质量保证】 血细胞计数质量保证的关键是控制计数误差。血细胞计数误差可来源于技术误差、仪器误差和计数域误差，可通过减小误差进行红细胞计数的质量控制(表 2-3)。

表 2-3 血细胞计数误差的种类及其减小方式

误差种类	原因	误差减小方法
技术误差	采血部位不当、稀释倍数不准、充液不当、稀释的血液混合不均、血液凝固、器材处理及使用不当和细胞识别错误等	规范操作、正确使用器材、提高操作技能
仪器误差	器材(计数板、盖玻片、吸管等)不准确、不精密等	校正各种器材
计数域误差	血细胞在计数室内分布不均匀等	扩大细胞计数范围和(或)数量

1. 技术误差 由于操作不规范和技术不熟练所造成的误差称为技术误差(technical error)。血细胞计数常见的技术误差与原因见表 2-4。

表 2-4 血细胞计数常见的技术误差与原因

技术误差	原因
采血部位不当	采血部位皮肤冻疮、发绀、水肿、感染等,使标本失去代表性
稀释倍数不准确	①稀释液或(和)标本量不准确。②吸管内 有气泡。③未擦去吸管外多余血液。④血液加入稀释液后,吸管带出部分稀释血液。⑤稀释液放置时间过长,挥发浓缩
血液凝固	过分挤压采血部位(组织液过多)、采血动作缓慢等造成血液凝固
充液不当	稀释的血液未混匀、充液过多或过少、充液不连续、计数室内有气泡、充液后盖玻片移动、操作台不平等均可造成细胞分布不均
稀释的血液混合不均	充液前振荡不充分,但过分振荡产生过多的气泡,也可造成混合不均
白细胞增多	当白细胞数量 $>100\times10^9/L$ 时,可对红细胞计数结果产生影响
冷凝集素和球蛋白	冷凝集素和球蛋白增高可造成红细胞聚集,影响计数结果

2. 仪器误差 由于仪器不精确所造成的误差。对显微镜法红细胞计数而言,仪器误差主要来源于不符合规格要求的血细胞计数板、微量吸管等。

3. 计数域误差 即使是技术熟练者,使用同一稀释血液多次充液(充计数室)计数,其结果也存在一定的差异,这种由于血细胞每次在计数室内的分布不完全相同所造成的误差,称为计数域误差(field error)或分布误差。

【参考区间】 ①成年:男性 $(4.0\sim5.5)\times10^{12}/L$,女性 $(3.5\sim5.0)\times10^{12}/L$ 。②新生儿: $(6.0\sim7.0)\times10^{12}/L$ 。

红细胞计数医学决定水平:高于 $6.8\times10^{12}/L$,应采取相应治疗措施;低于 $3.5\times10^{12}/L$ 可诊断贫血;低于 $1.5\times10^{12}/L$ 应考虑输血。

【临床意义】

1. 生理性变化 红细胞数量受到许多生理因素影响,但与相同年龄、性别人群的参考区间相比,一般在 $\pm20\%$ 以内。红细胞生理性变化与临床意义见表 2-5。

2. 病理性变化

(1) 病理性增多:①相对性增多:血容量减少使红细胞相对增多,如呕吐、高热、腹泻、多尿、多汗、大面积烧伤等。②绝对性增多:包括继发性增多和原发性增多。继发性增多主要见于组织缺氧、促红细胞生成素(EPO)代偿性增高,如严重的慢性心肺疾病、发绀型先天性心脏病、异常血红蛋白病等。另外,EPO 非代偿性增高,也可引起继发性红细胞增多,如肾癌、肝癌、子宫肌瘤、卵巢癌、肾胚胎瘤、肾积水、多囊肾和肾移植术后等。原发性增多,如真性红细胞增多症。

(2) 病理性减少:见于各种原因导致的贫血(定义为红细胞计数、血红蛋白测定或血细胞比容低于参考区间下限)。贫血的病因诊断较为困难,一般应结合临床表现和进一步检查来综合判断。按病因不同可将贫血分为 3 大类。

1) 红细胞生成减少:①骨髓功能衰竭的再生障碍性贫血、急性造血功能停滞等。②造血物质缺乏或利用障碍,如肾性贫血、缺铁性贫血(铁缺乏)、铁粒幼细胞贫血(铁利用障

表 2-5 红细胞生理性变化与临床意义

变化	临床意义
增多	①缺氧，如新生儿(增高 35%)、高山居民(增高 14%)、登山运动员、剧烈运动和体力劳动等 ②雄激素增高，如成年男性高于女性 ③肾上腺皮质激素增多，如情绪波动(感情冲动、兴奋、恐惧等) ④长期重度吸烟 ⑤静脉压迫时间>2 分钟(增 10%) ⑥毛细血管血比静脉血测定结果增高(增高 10%~15%) ⑦日内差异，如同一天内上午 7 时的红细胞数量最高 ⑧药物影响，如应用肾上腺素、糖皮质激素药物等
减低	主要见于生理性贫血 ①生长发育过快，导致造血原料相对不足，如 6 个月~2 岁婴幼儿 ②造血功能减退，如老年人 ③血容量增加，如妊娠中晚期血浆量明显增多，红细胞被稀释而减低(减低达 16%) ④长期饮酒(减低约 5%)

碍)、巨幼细胞贫血(叶酸、维生素 B₁₂ 缺乏性 DNA 合成障碍)等。
2) 红细胞破坏过多: 红细胞破坏过多的原因与临床意义见表 2-6。
3) 红细胞丢失(失血): 如急性、慢性失血性贫血。

表 2-6 红细胞破坏过多的原因与临床意义

原因	临床意义
红细胞内在缺陷	
膜缺陷	如遗传性球形、椭圆形、口形、棘形红细胞增多症
酶缺陷	如遗传性红细胞 G-6-PD 缺乏症、遗传性红细胞丙酮酸激酶缺乏症等
血红蛋白异常	①珠蛋白生成障碍性贫血、镰状细胞贫血，血红蛋白 C、D、E(HbC, D, E) 病(珠蛋白合成减少) ②不稳定血红蛋白所致溶血性贫血(珠蛋白结构异常)、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(红细胞对补体过敏)
红细胞外在异常	
免疫反应引起的贫血	如新生儿溶血病、血型不合输血后溶血病、药物性免疫性溶血性贫血
机械性损伤	如微血管病性溶血性贫血、行军性血红蛋白尿、烧伤所致溶血性贫血
疾病所致溶血	疟疾和多种细菌所致溶血性贫血、脾功能亢进所致溶血性贫血

此外，药物也可引起贫血：①抑制骨髓的药物，如阿司匹林、链霉素、吲哚美辛、洋地黄、苯妥英钠等。②引起维生素 B₁₂、叶酸吸收障碍的药物，如口服避孕药、雌激素、降糖灵、新霉素、异烟肼等。③引起铁吸收障碍的药物，如皮质类固醇等。④引起溶血的药物，如头孢类、氨基糖苷类抗生素、磺胺药、抗过敏药、维生素 A/K、奎尼丁类、水杨酸类、呋塞米、异烟肼、利福平、驱蛔灵、白消安等。

二、血红蛋白测定

血红蛋白(hemoglobin, Hb 或 HGB)是在人体有核红细胞及网织红细胞内合成的一种

含色素辅基的结合蛋白质，是红细胞内的运输蛋白。每克血红蛋白可携带 1.34ml 氧，其主要功能是吸收肺部大量的氧，并将其输送到身体各组织。

每个血红蛋白分子含有 4 条珠蛋白肽链，每条肽链结合 1 个亚铁血红素，形成具有四级空间结构的四聚体，以利于结合 O₂ 和 CO₂。生理条件下，99% 血红蛋白的铁呈 Fe²⁺ 状态，称为还原血红蛋白 (deoxyhemoglobin; reduced hemoglobin, HHb, Hbred)，亚铁状态的血红蛋白与氧结合称氧合血红蛋白 (oxyhemoglobin, HbO₂)；1%Hb 的铁呈 Fe³⁺ 状态，称为高铁血红蛋白 (hemoglobin, Hi; methemoglobin, MetHb)。如血红素第 6 个配位键被 CO、S 等占据，则形成各种血红蛋白衍生物。CO 与血红蛋白结合形成碳氧血红蛋白 (carboxyhemoglobin, COHb, HbCO)，其结合力比氧结合力高 240 倍；在含有苯胍和硫化氢的环境中，HbO₂ 即转变为硫化血红蛋白 (SHb)，后者也见于服用阿司匹林或可待因的患者。

【检测原理】 氰化高铁血红蛋白 (hemoglobincyanide, HiCN) 测定法检测原理：血红蛋白 (SHb 除外) 中的亚铁离子 (Fe²⁺) 被高铁氰化钾氧化为高铁离子 (Fe³⁺)，血红蛋白转化成高铁血红蛋白 (Hi)。Hi 与氰化钾 (KCN) 中的氰离子反应生成 HiCN。HiCN 最大吸收波峰为 540nm，波谷为 504nm。在特定条件下，HiCN 毫摩尔消光系数为 44L/(mmol·cm)。HiCN 在 540nm 处的吸光度与浓度成正比，根据测得吸光度可求得血红蛋白浓度。

【方法学评价】 血红蛋白测定方法大致分为 4 类 (表 2-7)。常用的比色法有 HiCN 测定法、十二烷基硫酸钠血红蛋白 (sodium dodecyl sulfate hemoglobin, SDS-Hb) 测定法、碱羟血红蛋白 (alkaline haematin detergent, AHD₅₇₅) 测定法、叠氮高铁血红蛋白 (HiN₃) 测定法、溴代十六烷基三甲胺 (CTAB) 血红蛋白测定法等。为统一 Hb 测定方法，1966 年，国际血液学标准化委员会 (International Committee for Standardization in Haematology, ICSH) 推荐 HiCN 测定法作为 Hb 测定的标准方法。1978 年，国际临床化学联合会 (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) 和国际病理学会 (International Academy of Pathology, IAP) 在联合发表的国际性文件中重申了 HiCN 法。

表 2-7 血红蛋白测定方法及基本原理

测定方法	测定原理
全血铁法	Hb 分子组成
比重法、折射仪法	血液物理特性
血气分析法	Hb 与 O ₂ 可逆性结合的特性
比色法 (临床常用)	Hb 衍生物光谱特点

HiCN 测定法是 WHO 和 ICSH 推荐的参考方法，由于 HiCN 试剂含有剧毒的氰化钾，各国均相继研发出不含氰化钾的血红蛋白测定方法，有的测定法已用于血液分析仪，但其标准应溯源到 HiCN 量值。血红蛋白测定的方法学评价见表 2-8。HiCN 转化液的作用与评价见表 2-9。

【质量保证】

1. 标本 血红蛋白检测原理是比色法，引起标本浊度增大的因素常致血红蛋白浓度假性增高，如高脂血症、高球蛋白、高白细胞 (WBC > 30 × 10⁹/L) 及高血小板 (PLT > 700 × 10⁹/L) 等。HbCO 增多也可影响检测结果。

2. 器材及试剂 定期校准分光光度计，选用合格的微量采血管和刻度吸管及比色杯。

表 2-8 血红蛋白测定的方法学评价

测定方法	优点	缺点
HiCN 测定法	参考方法,操作简单、反应速度快,可检测除 SHb 之外的所有 Hb,产物稳定,便于质控	KCN 有剧毒,可使高白细胞、高球蛋白血症的标本浑浊,对 HbCO 的反应慢,不能测定 SHb
SDS-Hb 测定法	次选方法,操作简单、呈色稳定、试剂无毒、结果准确、重复性好	SDS 质量差异大、消光系数未定,SDS 溶血活力大,易破坏白细胞,不适用于同时进行白细胞计数的血液分析仪
AHD ₅₇₅ 测定法	试剂简易,无毒,呈色稳定,准确性与精密度较高	575nm 波长比色、不便于自动检测、HbF 不能转化
HiN ₃ 测定法	准确性、精密度较高	试剂仍有毒性(为 HiCN 的 1/7)、HbCO 转化慢(20 分钟)
CTAB 测定法	溶血性强且不破坏白细胞,适于血液分析仪检测	精密度、准确性略低

表 2-9 HiCN 转化液的作用与评价

转化液	作用	评价
都氏液	① K ₃ Fe(CN) ₆ 和 KCN: 使 Hb 形成稳定的 HiCN ② NaHCO ₃ : 防止高球蛋白血液标本的溶血液产生浑浊	反应速度很慢,15℃时 40 分钟才能使血红蛋白完全转化成 HiCN
文 - 齐液	① K ₃ Fe(CN) ₆ 和 KCN: 使 Hb 形成稳定的 HiCN ②非离子型表面活性剂: 溶解 RBC、游离 Hb, 防止溶血液浑浊; 助溶剂 ③磷酸二氢钾: 维持 pH 在 7.2±0.2, 防止高球蛋白血液标本浑浊	WHO 和我国卫生部推荐使用

注意保证试剂质量。

3. 技术操作 消毒、采血、稀释、混匀等要求与红细胞计数相同。确保 HbCO 完全转化,可延长转化时间或加大试剂中 K₃Fe(CN)₆ 的用量。

4. 废弃物的处理 HiCN 转化液中氰化钾是剧毒品,配制转化液时要按剧毒品管理程序操作。为防止氰化钾污染环境,测定后的废液应妥善处理。先以水 1:1 稀释废液,再向每升稀释后的废液中加入 35ml 次氯酸钠溶液,混匀后敞开容器口放置 15 小时以上,使 CN⁻氧化为 N₂ 和 CO₂,或水解为 CO₃²⁻ 和 NH₄⁺,排入下水道。严禁在废液中加入酸性溶液,以防产生致命性的氢氰酸(hydrocyanic acid)气体。

【参考区间】 ①成年: 男性 120~160g/L, 女性 110~150g/L。②新生儿: 170~200g/L。

【临床意义】 血红蛋白测定的临床意义与红细胞计数相似,但判断贫血程度优于红细胞计数。根据血红蛋白浓度可将贫血分为 4 度。轻度贫血: Hb<120g/L(女性 Hb<110g/L); 中度贫血: Hb<90g/L; 重度贫血: Hb<60g/L; 极重度贫血: Hb<30g/L。当 RBC<1.5×10¹²/L, Hb<45g/L 时,应考虑输血。

1. 血红蛋白与红细胞的关系 在某些贫血,红细胞和血红蛋白减少程度可不一致,同时测定红细胞和血红蛋白,对诊断更有意义。

2. 影响检验结果的因素 ①血液容量改变：如大量失血早期，全身血容量减少，此时血液浓度改变很少，从红细胞和血红蛋白的结果来看，很难反映贫血的存在。②全身血浆容量改变：如各种原因引起的失水或水潴留，使血浆容量减少或增加，造成血液浓缩或稀释，均可使红细胞和血红蛋白结果升高或降低。

三、红细胞形态检查

血液系统疾病常累及红细胞，特别是贫血患者，不仅红细胞数量和血红蛋白浓度降低，多数贫血患者还会有相应的红细胞形态改变。因此，红细胞形态检查常作为追踪贫血线索的一项重要内容，与血红蛋白测定、红细胞计数及其他参数相结合，可以判断贫血的性质，并对贫血的诊断和鉴别诊断有重要的临床价值。

【检测原理及方法学评价】 红细胞形态检查的检测原理及方法学评价见表 2-10。

表 2-10 红细胞形态检查的检测原理及方法学评价

方法	原理与评价
显微镜法	主要用于红细胞形态的识别，特别是异常形态的鉴别，也是仪器法检测的复查方法
计算机图像分析	①基于计算机图像处理技术，对红细胞形态进行分析，建立红细胞形态变化分布统计模型，可实现红细胞形态的自动统计分类 ②能快速自动以正常红细胞形态为参比、按红细胞形态特征作出类型和比例分析
血液分析仪法	能提供红细胞数量及其他相关参数，并对异常结果予以报警提示，但不能直接提供红细胞形态改变的确切信息，需要用显微镜法复查

【质量保证】 红细胞形态检查的质量保证见表 2-11，人为原因造成的红细胞形态异常见表 2-12。

表 2-11 红细胞形态检查的质量保证

项目	要求
合格的检验人员	经严格培训、有理论与实践经验的检验人员是质量保证的前提
选择理想的检查区域	理想红细胞均匀分布区域是指红细胞之间相近排列而不重叠
完整规范的检查顺序	先用低倍镜检查全片，观察细胞分布和染色，再用油镜观察血膜体尾交界处的细胞形态，同时注意是否存在其他异常细胞（如幼稚细胞或有核红细胞等）
减少人为因素影响	应认真观察全片，排除人为因素影响。真正的异常形态红细胞多均匀分布于全片，而假性异常多局限于某个区域

表 2-12 人为原因造成的红细胞形态异常

人为原因	红细胞形态异常
制备血涂片不当	棘形红细胞、皱缩红细胞、红细胞缗钱状形成等
使用非疏水性载玻片	口形红细胞
染色不当	嗜多色红细胞
抗凝剂浓度过高，或血液标本久置	锯齿状红细胞
血涂片干燥过慢，或固定液中混有水分	面包圈形红细胞
血涂片末端附近	长轴方向一致的假性椭圆形红细胞

【临床意义】

1. 正常形态红细胞 ①正常红细胞呈双凹圆盘形，大小相对均一，平均直径 $7.2\mu\text{m}$ ($6.7\sim 7.7\mu\text{m}$)。② Wright 染色后为粉红色或琥珀色，血红蛋白充盈良好，呈正色素性、向心性淡染。③中央部位为生理性淡染区，大小约为细胞直径的 $1/3$ 。④胞质内无异常结构(图 2-1，图 2-2)。正常形态红细胞常见于健康人，但也可见于急性失血性贫血、部分再生障碍性贫血等。

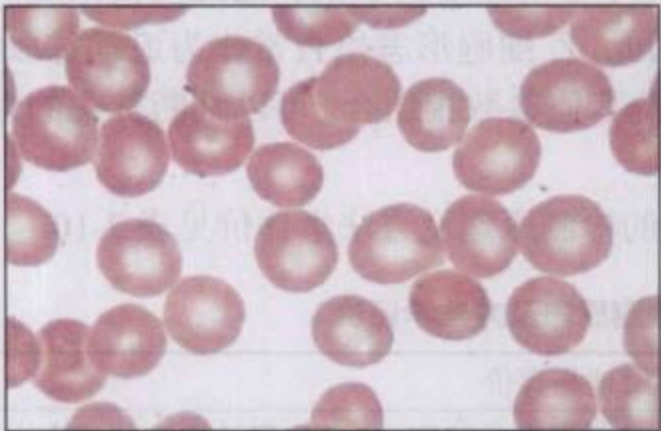


图 2-1 正常形态红细胞

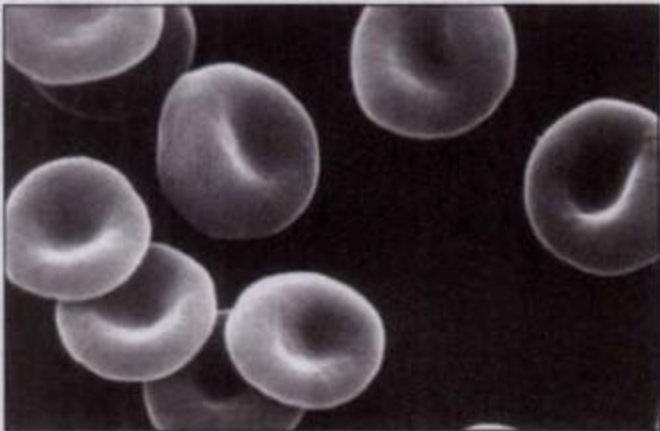


图 2-2 正常形态红细胞(扫描电镜)

正常形态红细胞可自然退化变性，即使是高质量的血涂片和染色，也可见到变形或破碎的细胞，但数量很少，分布局限。

2. 异常形态红细胞 在排除人为因素后，若血涂片中出现异常形态红细胞，且数量增多，常提示病理性改变。常见的异常形态红细胞可分为红细胞大小、形状、血红蛋白含量、结构和排列异常(表 2-13~表 2-16，图 2-3~图 2-18)。红细胞异常形态分类新方法见表 2-17。

表 2-13 红细胞大小异常的机制及临床意义

异常红细胞	形态改变	可能机制	临床意义
小红细胞 (microcyte)	直径 $< 6\mu\text{m}$	①中央染色过浅：Hb 合成障碍。 ②淡染区消失(球形红细胞)	缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血、遗传性球形红细胞增多症
大红细胞 (macrocyte)	直径 $> 10\mu\text{m}$ ， 中央染色深	①早期脱核的年轻 RBC。②叶酸及维生素 B_{12} 缺乏。③胞膜胆固醇 / 磷脂酰胆碱比值增高	RBC 释放加速，巨幼细胞性贫血、溶血性贫血等，肝病、脾切除后
巨红细胞 (megalocyte)	直径 $> 15\mu\text{m}$	同上	巨幼细胞性贫血、肝病
细胞大小不均 (anisocytosis)	RBC 之间直径 相差 1 倍以上	骨髓造血功能紊乱、造血调控功能减弱	严重增生性贫血(尤其是巨幼细胞性贫血)

表 2-14 红细胞形状异常的机制及临床意义

异常红细胞	形状改变	可能机制	临床意义
球形红细胞 (spherocyte)	直径 $< 6\mu\text{m}$ ，厚度常 $> 2.6\mu\text{m}$ ，似小圆球状， 无淡染区	RBC 膜先天性或后天性 异常而部分丢失，表面积 / 体积比值减小	遗传性球形红细胞增多症、 自身免疫性溶血性贫血、异 常血红蛋白病(HbS, HbC 病)
椭圆形红细胞 (elliptocyte)	RBC 短径 / 长径 < 0.78 ， 椭圆形、杆形	与细胞骨架蛋白异常有关	遗传性椭圆形红细胞增多症 ($> 25\%$)、各种溶血性贫血

续表

异常红细胞	形状改变	可能机制	临床意义
靶形红细胞 (target cell)	中央深染, 外围苍白, 边缘又深染, 呈靶状或牛眼状	① Hb 组成和结构变异。 ② 脂质异常	各种低色素性贫血, 尤其珠蛋白生成障碍性贫血; 胆汁淤积性黄疸、脾切除后、肝病
口形红细胞 (stomatocyte)	生理性淡染区呈扁平状, 形似张开的嘴巴或鱼口	细胞膜先天性缺陷, Na ⁺ 通道异常, 细胞内钠显著增高	遗传性口形红细胞增多症 (>10%)、溶血性贫血及肝病
镰形红细胞 (sickle cell)	镰刀状	缺氧时, HbS 溶解度降低, 形成长形 / 尖形结晶体, 使胞膜变形	镰状细胞性贫血
棘红细胞 (acanthocyte)	细胞表面针状或指状突起, 尾端略圆, 间距、长宽不等	磷脂代谢异常: 胞膜胆固醇 / 磷脂酰胆碱比值增高	肝硬化、先天性 β- 脂蛋白缺乏症、乙醇中毒、脾切除后、慢性饥饿、神经性厌食
锯齿状红细胞 (echinocyte)	细胞周边呈钝锯齿形, 突起排列均匀、大小一致, 外端较尖	可能为膜脂质异常	尿毒症、丙酮酸激酶缺乏症、红细胞内低钾、胃癌、出血性溃疡
泪滴形红细胞 (teardrop cell, dacrocyte)	泪滴样或梨状	① RBC 含有 Heinz 小体或包涵体。② RBC 膜某点粘连拉长	骨髓纤维化 (多见)、其他贫血 (少见)、骨髓病性贫血
新月形红细 (meniscocyte)	新月形, 直径约为 20μm, 着色极淡	蒸馏水实验: RBC 内渗透压高, 水分吸入使体积胀大, 推片时细胞破裂	某些溶血性贫血, 如 PNH
角形红细胞 (keratocyte, helmet cell/bite cell)	细胞表面有数个粗大的角样大突起, 形态不一	RBC 受到机械损害	DIC、血管内纤维沉积症、微血管病性溶血性贫血、肾小球肾炎、尿毒症和移植后
裂片红细胞 (schistocyte, fragmented red cell)	大小不一, 外形不规则	RBC 通过因阻塞而管腔狭小的微血管所致	DIC、微血管病性溶血性贫血、严重烧伤
红细胞形态不整 (poikilocytosis)	RBC 形态发生无规律的明显改变	原因未明, 可能与化学因素或物理因素有关	某些感染或严重贫血, 最常见于巨幼细胞性贫血

表 2-15 红细胞血红蛋白含量异常的机制及临床意义

异常红细胞	形态改变	可能机制	临床意义
低色素性 (hypochromia)	生理性淡染区扩大, 染色淡	Hb 含量明显减少	缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血、铁粒幼细胞性贫血、某些血红蛋白病
高色素性 (hyperchromia)	生理性淡染区消失, 整个 RBC 着色较深	Hb 含量增高	巨幼细胞性贫血、溶血性贫血
嗜多色性 (polychromia)	RBC 呈淡灰蓝色或灰红色, 胞体略大, 相当于活体染色的网织红细胞	胞质内少量 RNA 与 Hb 并存, 提示骨髓造血功能活跃	各种增生性贫血 (尤其是溶血性贫血)
细胞着色不一 (anisochromia)	同一血涂片 RBC 中, 色素不一致	Hb 充盈度偏离较大	铁粒幼红细胞性贫血

表 2-16 红细胞异常结构和排列异常的机制及临床意义

异常红细胞	形态改变	可能机制	临床意义
豪焦小体 (Howell-Jolly body)	胞质内 1~2μm 的暗紫红色圆形小体	核碎裂或溶解后所剩残余部分, 常与卡波环同时存在	①脾切除、无脾症、脾萎缩、脾功能低下。②红白血病和某些贫血; 巨幼细胞性贫血。③溶血性贫血
卡波环 (Cabot ring)	胞质中紫红色细线圈状结构, 呈环形或“8”字形	①核膜或纺锤体的残余物。②胞质中脂蛋白变性	恶性贫血、溶血性贫血、铅中毒、白血病、巨幼细胞性贫血、增生性贫血和脾切除后
嗜碱性点彩红细胞 (basophilic stippling cell)	胞质内灰蓝色点状颗粒, 形态大小不一、多少不等	①金属损伤 RBC 膜, 使嗜碱性物质凝集、变性。② Hb 合成时原卟啉与亚铁结合受阻	铅中毒、珠蛋白生成障碍性贫血
有核红细胞 (nucleated erythrocyte)	幼稚红细胞	代偿性释放或释放功能紊乱	溶血性贫血、白血病、严重缺氧、骨髓转移性肿瘤、骨髓纤维化
缗钱状形成 (rouleaux formation)	RBC 重叠, 如缗钱状	血浆纤维蛋白原和球蛋白含量增高, 减弱了 RBC 间相互排斥力	多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症等
红细胞自凝 (self-agglutinating)	RBC 出现聚集、凝集成堆或成团现象	冷凝集素或免疫性因素等	冷凝集素综合征、自身免疫性溶血性贫血

表 2-17 红细胞异常形态分类新方法

形态异常	评价
异常红细胞	红细胞大小不均和形态不整、大红细胞、小红细胞、嗜碱性点彩红细胞
血红蛋白不足	低色素红细胞、红细胞着色不一和双相红细胞群体
红细胞生成后损伤	高色素红细胞、球形红细胞、不规则完整红细胞、椭圆形红细胞和卵圆形红细胞
棘红细胞和红细胞碎片	裂片红细胞、角红细胞、棘红细胞、刺红细胞
红细胞增生性变化	多色素红细胞、幼稚红细胞
其他异常	环形红细胞(薄红细胞)、靶形红细胞、口形红细胞、镰形红细胞、血红蛋白 C 结晶、红细胞包涵体(豪焦小体、Pappenheimer 小体)、红细胞缗钱状和自身聚集

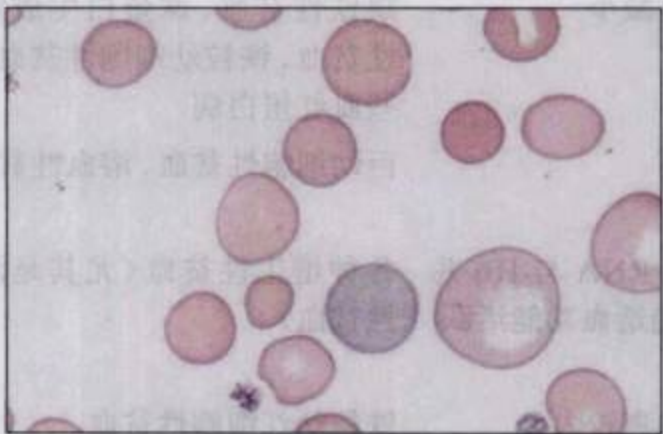


图 2-3 红细胞大小不均



图 2-4 巨红细胞

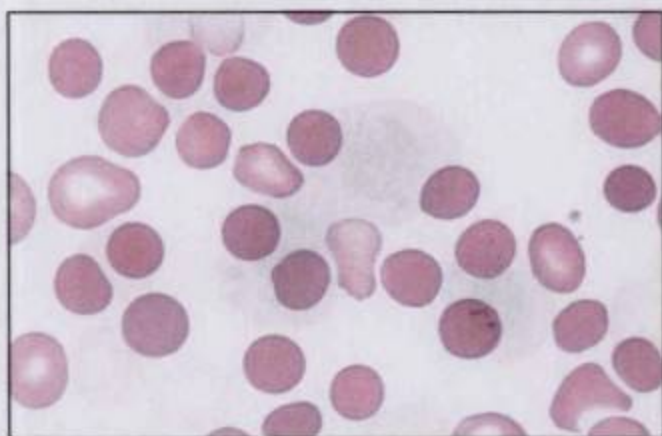


图 2-5 球形红细胞

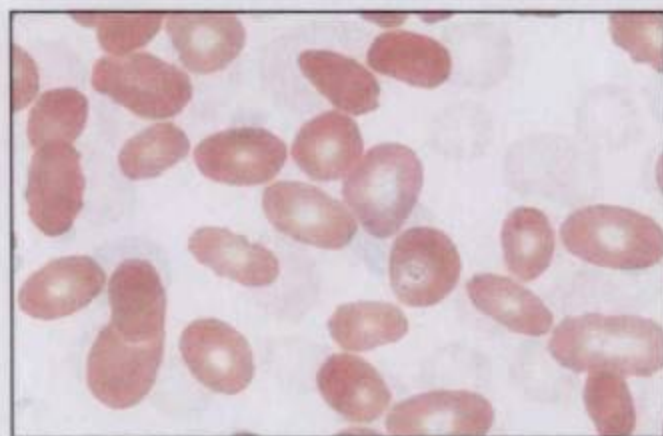


图 2-6 椭圆形红细胞

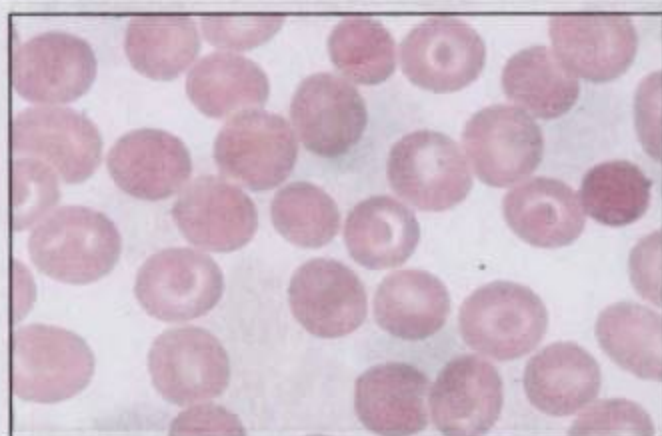


图 2-7 靶形红细胞

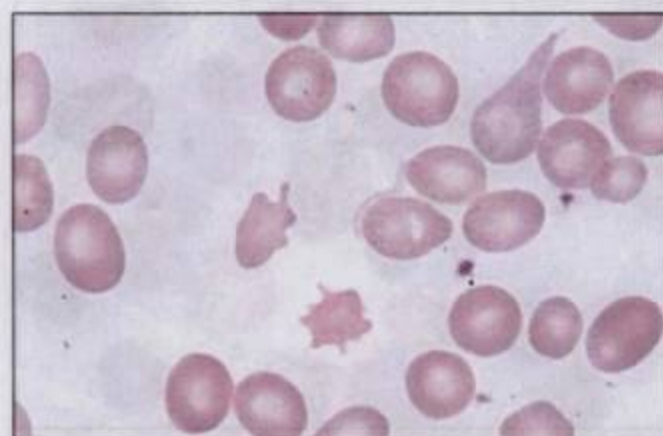


图 2-8 棘形红细胞

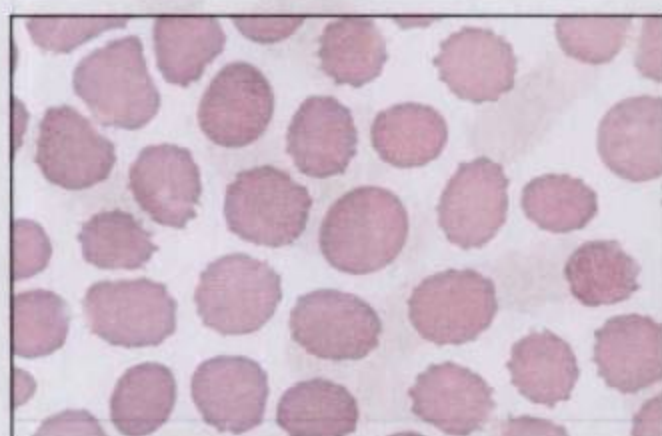


图 2-9 锯齿形红细胞

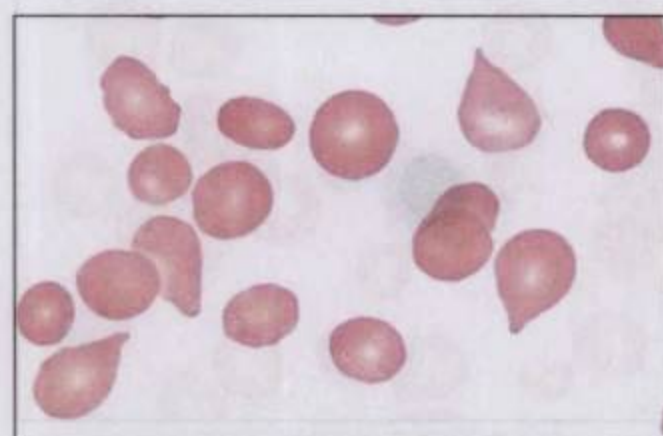


图 2-10 泪滴形红细胞

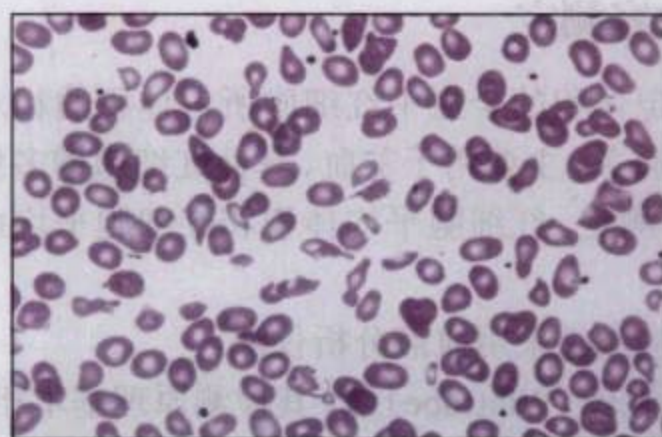


图 2-11 红细胞形态不整

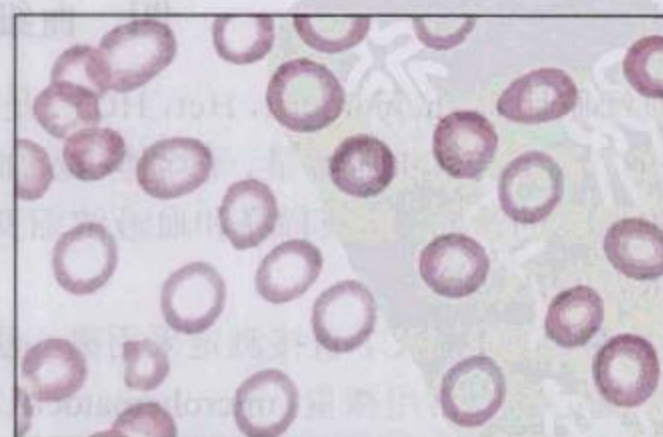


图 2-12 低色素性红细胞

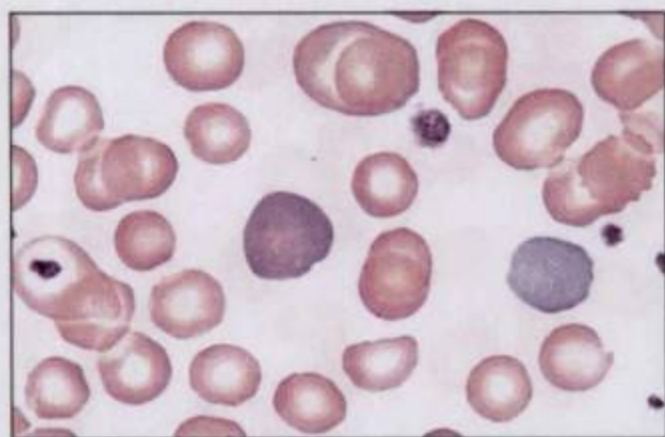


图 2-13 嗜多色性红细胞

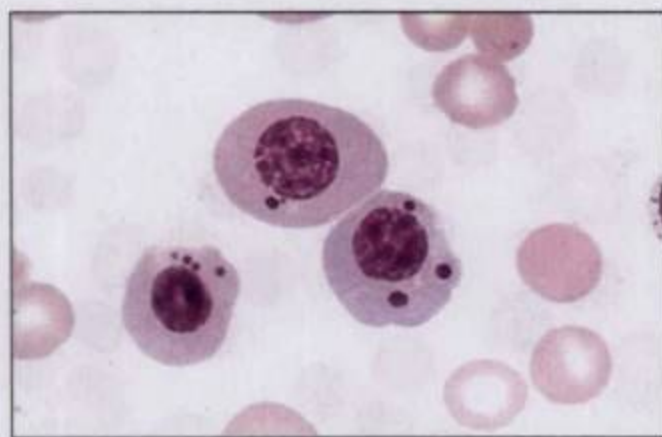


图 2-14 豪焦小体

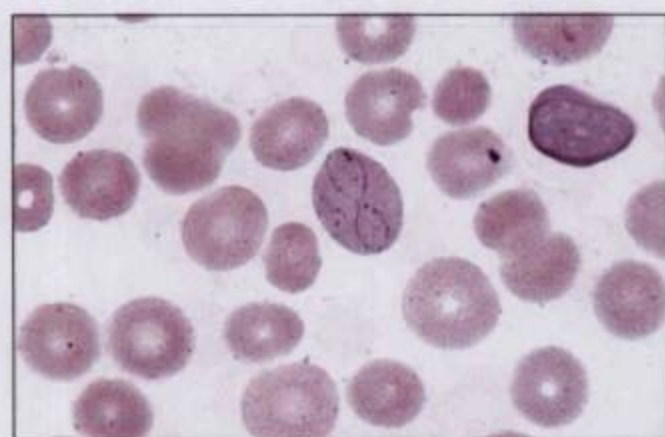


图 2-15 卡波环

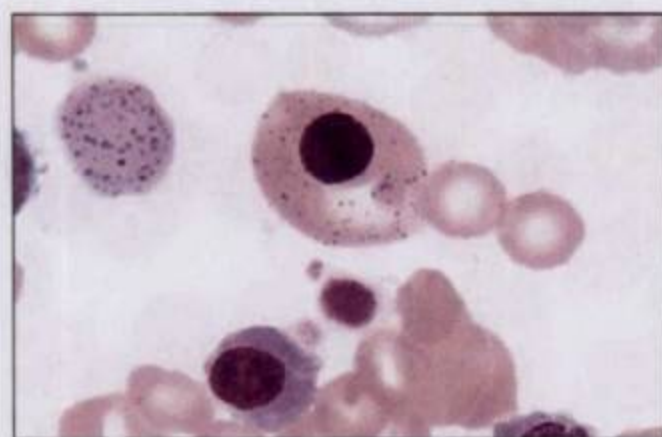


图 2-16 嗜碱性点彩红细胞

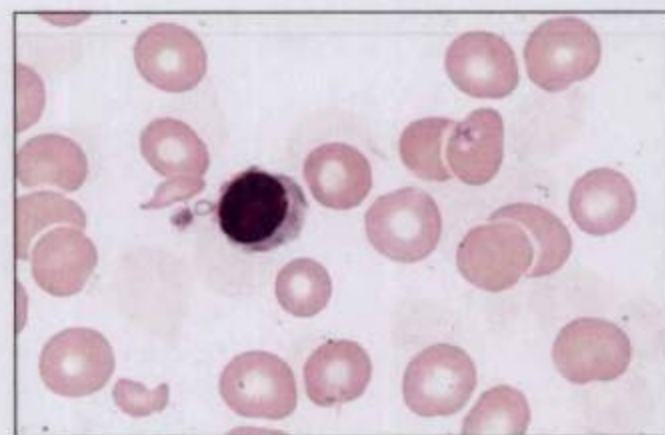


图 2-17 有核红细胞



图 2-18 红细胞缗钱状形成

四、血细胞比容测定

血细胞比容 (hematocrit, Hct, HCT) 是指一定体积的全血中红细胞所占体积的相对比例。HCT 高低与红细胞数量、平均体积及血浆量有关, 主要用于贫血、真性红细胞增多症和红细胞增多的诊断、血液稀释和血液浓缩变化的测定、红细胞平均体积和红细胞平均血红蛋白浓度的计算等。

【检测原理】 HCT 直接测定采用离心法, 间接测定采用血液分析仪法。

1. 离心法 常用微量 (microhematocrit) 法和温氏 (Wintrobe) 法, 其检测原理基本相同, 但离心力不同。以不改变红细胞体积及血容量的抗凝剂处理全血标本, 然后将其注入标准毛细玻璃管或 Wintrobe 管中, 再用一定转速离心一定时间后, 读取红细胞层的高度。血液

离心后分 5 层，自上而下分别为血浆层、血小板层、白细胞和有核红细胞层、还原血红蛋白层和红细胞层。读取结果以还原红细胞层为准(图 2-19)。

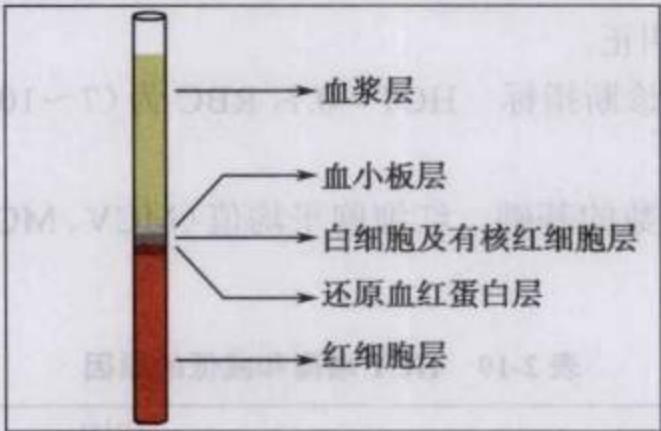


图 2-19 血细胞比容结果判断

2. 血液分析仪法 由红细胞计数和红细胞平均体积导出 HCT, $HCT = \text{红细胞计数} \times \text{红细胞平均体积}$ 。

【方法学评价】 HCT 测定的方法学评价见表 2-18。

表 2-18 HCT 测定的方法学评价

方法	优点	缺点
温氏法(离心法)	应用广泛,无须特殊仪器	难以完全排除残留血浆(可达 2%~3%),单独采血、用量大。已渐被微量法取代
微量法(离心法)	WHO 推荐的常规方法,CLSI(美国临床实验室标准化研究所)推荐的参考标准。标本用量少,相对离心力高,结果准确、快速、重复性好	仍有残留血浆,但较温氏法少。需微量高速血液离心机
微量离心计算法	ICSH(2003)推荐的替代参考方法,可常规用于 HCT 测定的校准。 $HCT = (\text{离心 HCT 值} - 0.0119) / 0.9736$	需用参考方法测定全血 Hb 和压积红细胞 Hb, $HCT = \text{全血 Hb} / \text{压积红细胞 Hb}$
血液分析仪法	无须单独采血,检查快速,精密度高	准确性不及微量离心法,需定期校正仪器
放射性核素法	ICSH 曾推荐为参考方法,准确性最高	方法繁琐、特殊,不适用于临床常规检查

【质量保证】

1. 操作规范化 避免操作误差,如抗凝剂用量不准、混匀不充分、离心速度不均等。
2. 注意干扰因素 ①假性增高:红细胞形态异常(如小红细胞、大红细胞、球形红细胞、椭圆形红细胞或镰形红细胞等)和红细胞增多时,因红细胞的变形性减低和数量增多可使血浆残留量增加;高网织红细胞或高白细胞等也可使 HCT 假性增高。②假性降低:体外溶血、自身凝集等。

【参考区间】 ①成年:男性 0.40~0.50;女性 0.37~0.48。②新生儿:0.47~0.67。③儿童:0.33~0.42。

【临床意义】 HCT 的临床意义与红细胞计数相似。HCT 减低是诊断贫血的指标,若红细胞数量正常,血浆量增加,为假性贫血;HCT 增加可因红细胞数量绝对增加或血浆量

减少所致(表 2-19)。HCT<0.2, 可导致心力衰竭和死亡; HCT>0.6, 则与自发性凝血有关。HCT 的主要应用价值为:

- 1. 临床补液量的参考 各种原因导致脱水时, HCT 都会增高, 补液时可监测 HCT, HCT 恢复正常表示血容量得到纠正。
- 2. 真性红细胞增多症诊断指标 HCT>0.7, RBC 为 $(7\sim10)\times10^{12}/L$, Hb>180g/L, 即可诊断。
- 3. 计算红细胞平均指数的基础 红细胞平均值(MCV、MCHC)可用于贫血的形态学分类。

表 2-19 HCT 增高和减低的原因

HCT	机制	原因
减低	红细胞减少	各种原因所致的贫血、出血
	血浆量增多	竞技运动员(生理性适应)、中晚期妊娠、原发性醛固酮增多症、过多补液
增加	红细胞增多	真性红细胞增多症、缺氧、肿瘤、EPO 增多
	血浆量减少	各种原因所致的液体丢失, 如液体摄入不足、大量出汗、腹泻与呕吐、多尿

五、红细胞平均指数

红细胞平均指数包括红细胞平均体积(mean corpuscular volume, MCV)、红细胞平均血红蛋白量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)和红细胞平均血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)。红细胞平均指数有助于深入认识红细胞特征, 为贫血的鉴别诊断提供线索。

【检测原理】

- 1. 手工法 根据 RBC、Hb、HCT 测定结果计算红细胞平均指数(表 2-20)。

表 2-20 红细胞平均指数的计算

指数	含义	计算公式	单位
MCV	红细胞群体中单个红细胞体积的平均值	$MCV = \frac{HCT}{RBC(\times/L)} \times 10^{15}$	飞升(fl), 1fl = $10^{-15}L$
MCH	细胞群体中单个红细胞血红蛋白含量的平均值	$MCH = \frac{Hb(g/L)}{RBC(\times/L)} \times 10^{12}$	皮克(pg), 1pg = $10^{-12}g$
MCHC	全部红细胞血红蛋白浓度的平均值	$MCHC = \frac{Hb(g/L)}{HCT}$	g/L

- 2. 血液分析仪法 MCV 由血液分析仪直接测定导出; 由仪器测定 Hb、RBC 可计算出 $MCH = Hb/RBC$; $MCHC = Hb/(RBC \times MCV)$ 。

【方法学评价】手工法红细胞平均指数由 RBC、Hb、HCT 测定后计算而来, 因此, 必须采用同一抗凝血标本, 且所检测的结果必须准确。仪器法红细胞平均指数的测定同样依赖于 RBC、Hb 和 MCV 测定的准确性。

【参考区间】MCV、MCH、MCHC 的参考区间见表 2-21。

表 2-21 MCV、MCH、MCHC 参考区间

人群	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/L)
成年人	80~100	26~34	320~360
1~3 岁	79~104	25~32	280~350
新生儿	86~120	27~36	250~370

【临床意义】 红细胞平均指数可用于贫血形态学分类(表 2-22)及提示贫血的可能原因。但红细胞平均指数仅反映了红细胞群体平均情况,无法阐明红细胞彼此之间的差异,对一些早期贫血(如缺铁性贫血)也缺乏灵敏度。如缺铁性贫血合并巨幼细胞性贫血时,小红细胞 MCV、MCH 可小至 50fl、15pg,而大红细胞 MCV、MCH 又可分别达 150fl、45pg,而 MCHC 却无明显变化,总体计算 MCV、MCH 也可在正常范围;缺铁性贫血和轻型珠蛋白合成障碍性贫血都表现为小细胞低色素性贫血,但缺铁性贫血的红细胞在血涂片上却为明显的大小不均。

表 2-22 贫血形态学分类及临床意义

形态学分类	MCV	MCH	MCHC	临床意义
正细胞性贫血	正常	正常	正常	急性失血、急性溶血、再生障碍性贫血、白血病等
大细胞性贫血	增高	增高	正常	叶酸、维生素 B ₁₂ 缺乏或吸收障碍
单纯小细胞性贫血	降低	降低	正常	慢性炎症、尿毒症等
小细胞低色素性贫血	降低	降低	降低	铁缺乏、维生素 B ₆ 缺乏、珠蛋白生成障碍性贫血、慢性失血等

六、网织红细胞计数

网织红细胞 (reticulocyte, Ret, RET) 是介于晚幼红细胞和成熟红细胞之间的过渡细胞,略大于成熟红细胞 (直径 8.0~9.5μm),其胞质中残存的嗜碱性物质 RNA 经碱性染料 (如煌焦油蓝、新亚甲蓝等) 活体染色后,形成蓝色或紫色的点粒状或丝网状沉淀物。网织红细胞自骨髓释放到外周血液后仍具有合成血红蛋白的能力,约 1~2 天后,过渡为成熟红细胞。ICSH 将网织红细胞分为 4 型 (表 2-23, 图 2-20)。

表 2-23 网织红细胞分型及特征

分型	形态特征	正常存在部位
I 型 (丝球型)	嗜碱性物质呈致密块状	仅存在于骨髓
II 型 (网型)	嗜碱性物质呈疏松网状结构	大量存在于骨髓,极少见于外周血液中
III 型 (破网型)	嗜碱性物质呈散在的不规则枝点状结构	少量存在于外周血液中
IV 型 (点粒型)	嗜碱性物质少,呈分散的细颗粒、短丝状	主要存在于外周血液中

网织红细胞检测的目的: ①鉴别贫血的类型 (增生性、非增生性、增生增高性)。②检查骨髓的功能。③检测贫血的治疗效果。④评估骨髓移植后、再生障碍性贫血细胞毒药物诱导治疗后或 EPO 治疗后的红细胞造血情况。

【检测原理】 网织红细胞的 RNA 以弥散胶体状态存在。常规血细胞染色法(如 Wright 染色)对细胞进行了固定,即使网织红细胞的核酸物质着色,也难以在普通显微镜下识别。网织红细胞必须经活体或特殊染色后,才可用显微镜识别或经仪器分类计数。

1. 普通显微镜法 活体染料(新亚甲蓝或煌焦油蓝)的碱性着色基团(带正电荷)可与网织红细胞 RNA 的磷酸基(带负电荷)结合,使 RNA 胶体间的负电荷减少而发生凝缩,形成蓝色的点状、线状或网状结构。

2. 血液分析仪法 特殊染料与网织红细胞中 RNA 结合后进行 RNA 定量,可精确计数网织红细胞占红细胞的百分数(Ret%),并可根据 RNA 含量将网织红细胞分类及计算网织红细胞其他参数。

【方法学评价】 网织红细胞计数的方法学评价见表 2-24。

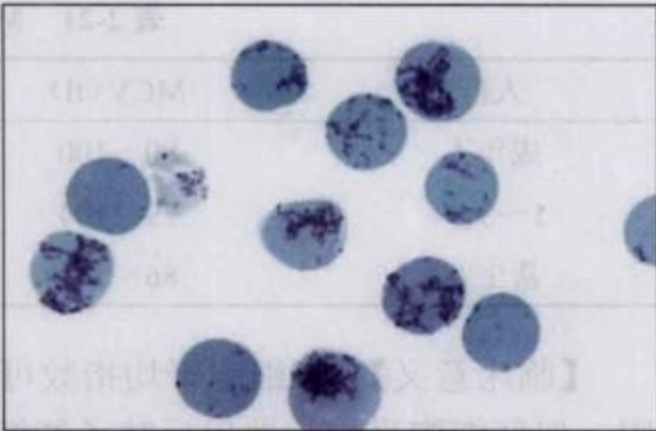


图 2-20 网织红细胞

表 2-24 网织红细胞计数的方法学评价

方法	评价
普通显微镜法	简便、成本低,可直观细胞形态;但影响因素多,重复性差
玻片法	水分易蒸发,染色时间短,结果偏低
试管法	易掌握,重复性较好,易复查
Miller 窥盘计数法	规范计算区域,减少了实验误差,ICSH 推荐的方法
血液分析仪法	检测细胞多,精密度高,与手工法相关性好,易标准化;仪器贵;在出现豪焦小体、有核红细胞、巨大血小板时结果常出现假性增高

【质量保证】 以手工计数法为重点。

1. 选择合适的染料 用于网织红细胞检测的活体染料很多,有煌焦油蓝(brilliant cresyl blue)、新亚甲蓝(new methylene blue)、中性红、亚甲蓝、甲苯胺蓝等。网织红细胞活体染料的评价见表 2-25。

表 2-25 手工法网织红细胞活体染色染料的评价

染料	评价
新亚甲蓝	WHO 推荐使用,对 RNA 着色强、试剂稳定,Hb 几乎不着色,便于识别
煌焦油蓝	长久普遍使用。但溶解度低,染料沉渣易附着 RBC 表面,影响检查;易受变性珠蛋白小体、HbH 包涵体干扰
中性红	染液浓度低、背景清晰、网织颗粒与 Hb 对比鲜明;不受变性珠蛋白小体、HbH 包涵体干扰

2. 正确辨认网织红细胞 外周血液网织红细胞主要为Ⅳ型,凡含有 2 个或 2 个以上颗粒、且颗粒必须远离细胞边缘的红细胞均应计为网织红细胞。红细胞各种颗粒或包涵体的鉴别见表 2-26。

表 2-26 各种红细胞颗粒或包涵体的鉴别

颗粒或包涵体	成分	特点
网织红细胞颗粒	RNA	网状物或散在的细小颗粒
Pappenheimer 小体	铁颗粒(含铁血黄素颗粒)	细胞质周围有 1 个或多个颗粒, 较 Ret 染色深
Heiz 小体	变性血红蛋白	较 Pappenheimer 小体大, 不规则, 突起状, 淡蓝色
Howell-Jolly 小体	DNA	较 Pappenheimer 小体大, 规则, 淡蓝色
HbH 包涵体	变性 HbH	呈多个球形、淡蓝绿色颗粒, 似高尔夫球样

3. 网织红细胞计数方法

(1) Miller 窥盘法(Miller method): 普通显微镜法计数时, 为缩小分布误差, 降低劳动强度, ICSH 及我国卫生部临床检验中心推荐使用 Miller 窥盘法(图 2-21)进行网织红细胞计数。

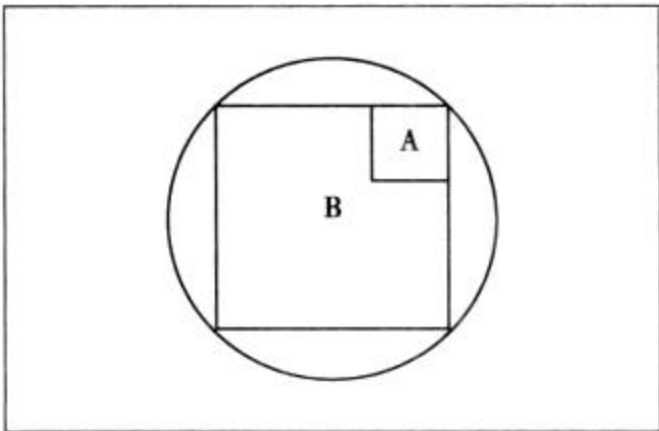


图 2-21 Miller 窥盘结构示意图
A 为红细胞计数区, B+A 为网织红细胞计数区

(2) 显微成像系统: 借助计算机和细胞形态分析软件, 根据细胞内网织颗粒的数量, 对网织红细胞进行分群。①高荧光强度网织红细胞(high fluorescent reticulocyte, HFR): 粗颗粒堆积成网状。②中荧光强度网织红细胞(middle fluorescent reticulocyte, MFR): 粗颗粒在 10 个以上, 或细小颗粒超过 15 个。③低荧光强度网织红细胞(low fluorescent reticulocyte, LFR): 细胞内含 15 个以下细小颗粒。

ICSH 建议, 为控制 CV 在 10% 内, 应根据网织红细胞比率, 决定在连续视野中 Miller 窥盘小方格内实际需要计数的红细胞数量(表 2-27)。

表 2-27 网织红细胞计数达到规定精度应计数的红细胞数量

Ret (%)	需要计数的红细胞数量			Miller 窥盘中小方格内需要计数的红细胞数量		
	2%	5%	10%	2%	5%	10%
1	247 500	39 600	9900	27 500	4400	1100
2	122 500	19 600	4900	13 611	2178	544
5	47 500	7600	1900	5278	844	211
10	22 500	3600	900	2500	400	100
20	10 000	1600	400	1111	178	44
50	2500	400	100	278	44	11

【参考区间】 ①成人、儿童：0.5%~1.5%。②新生儿：2.0%~6.0%。③成人绝对值： $(24\sim84)\times10^9/L$ 。

【临床意义】 网织红细胞计数是反映骨髓造血功能的重要指标，常见网织红细胞参数及评价见表 2-28。

表 2-28 常见网织红细胞参数及评价

参数	含义	评价
Ret 百分率	①玻片法、试管法：计数 1000 个红细胞中的 Ret 数 ② Miller 法： $\frac{\text{大方格内 Ret 数}}{\text{小方格内 RBC 数} \times 9}$	Ret 百分率是评价红系造血最简单有效的方法
Ret 绝对值	$\text{Ret}\% \times \text{红细胞计数}$	Ret 绝对值更准确反映红系造血
网织红细胞生成指数 (reticulocyte production index, RPI)	$\frac{\text{被测 Hct}}{\text{正常人 Hct}} \times \frac{\text{被测 Ret}\%}{\text{Ret 成熟天数}} \times 100$ 释放入外周血 Ret 越幼稚，成熟时间越长	Ret 生成相当于健康人的倍数：① RPI 增加：提示肾功能、EPO 反应和骨髓功能良好。② RPI 降低：提示骨髓增生低下或红系成熟障碍
网织红细胞成熟指数 (reticulocyte maturity index, RMI)	$\text{RMI} = \frac{\text{MFR} + \text{HFR}}{\text{LFR}} \times 100\%$	①增高：溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜、白血病、真性红细胞增多症、再生障碍性贫血和多发性骨髓瘤。②降低：常与骨髓衰竭或无效造血有关，如巨幼细胞性贫血

1. 评价骨髓增生能力，判断贫血类型

(1) 网织红细胞增多：表示骨髓造血功能旺盛，见于各种增生性贫血，溶血性贫血增多尤为显著。

(2) 网织红细胞减少：是无效红细胞造血的指征，见于非增生性贫血（如铁、铜、维生素 B₆、维生素 B₁₂、缺乏）、慢性病性贫血（如慢性炎症、恶性肿瘤、慢性肾衰竭、再生障碍性贫血等）。

(3) 鉴别贫血：①小细胞性贫血：当铁蛋白和转铁蛋白饱和度正常时，网织红细胞增多常见于血红蛋白病，网织红细胞正常常见于慢性炎症性疾病。②正细胞性贫血：网织红细胞增多常见于急性出血和溶血综合征，网织红细胞正常或降低常见于骨髓衰竭或慢性贫血。③大细胞性贫血：网织红细胞增多常提示用维生素 B₁₂ 或叶酸治疗。

2. 评价疗效

(1) 观察贫血疗效：网织红细胞是贫血患者随访检查的项目之一。缺铁性贫血或巨幼细胞性贫血经有效治疗 2~3 天后，网织红细胞开始上升，7~10 天达到最高峰（约 10%），2 周后逐渐降至正常水平。

(2) 骨髓移植后监测骨髓造血恢复：骨髓移植后第 21 天，如网织红细胞 $>15 \times 10^9/L$ ，常表示无移植并发症；若骨髓开始恢复造血功能，首先表现为 HFR 和 MFR 的升高，其次为网织红细胞升高。因此，RMI 的改变更为灵敏。

3. 放疗和化疗的监测 网织红细胞的动态观察可指导临床适时调整治疗方案，避免造成严重的骨髓抑制。机体接受放疗、化疗后，如出现骨髓抑制，早期 HFR 和 MFR 降低，而

后网织红细胞降低；停止治疗，骨髓功能恢复后，这些指标逐渐恢复。

4. 药物影响 许多药物可引起外周血液网织红细胞变化，可导致网织红细胞假阳性的药物有解热药、氯喹、左旋多巴、奎宁等；可导致网织红细胞假阴性的有硫唑嘌呤、氯霉素、甲氨蝶呤等。网织红细胞的效应药物：① Ret > 1.5%：铁剂、维生素 B₁₂ 和叶酸。② Ret < 0.5%：硫唑嘌呤、氯霉素、卡马西平。

七、嗜碱性点彩红细胞计数

嗜碱性点彩红细胞 (basophilic stippling cell) 是不完全成熟的红细胞，胞质内残存的核酸变性、聚集形成颗粒，经碱性染料（如亚甲蓝）染色后，细胞内可见到深染的颗粒；若以 Wright 染色，则在粉红色的胞质中出现蓝黑色颗粒，故名嗜碱性点彩红细胞。

【检测原理】 制备血涂片，甲醇固定，亚甲蓝染色。选择细胞分布均匀的区域，油镜下计数 1000 个红细胞中嗜碱性点彩红细胞的数量，或油镜下计数 50 个视野中的嗜碱性点彩红细胞，同时计数 5 个视野中的正常红细胞数量，计算百分率。

$$\text{嗜碱性点彩红细胞} = \frac{50 \text{ 个视野内的嗜碱性点彩红细胞数量}}{5 \text{ 个视野内的红细胞数量} \times 10} \times 100\%$$

【参考区间】 < 0.03%。

【临床意义】 嗜碱性点彩红细胞计数增高主要见于铅、汞、银、铋等重金属及硝基苯、苯胺中毒，对慢性重金属中毒具有辅助诊断价值。溶血性贫血、巨幼细胞性贫血、白血病、恶性肿瘤时也可见嗜碱性点彩红细胞增高。

八、红细胞沉降率测定

红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR) 简称血沉，是指在规定条件下，离体抗凝全血中的红细胞自然下沉的速率。血沉是传统且应用较广的指标，用于诊断疾病虽然缺乏特异性，但操作简便，具有动态观察病情与疗效的实用价值。

【检测原理】

1. 魏氏 (Westergren) 法 将枸橼酸钠抗凝血置于特制的刻度血沉管内，在室温下垂直立于血沉架 1 小时后，读取上层血浆的高度，即为红细胞沉降率。血沉测定实际上是测量单位时间内红细胞下沉后血浆段的高度，而并非真正红细胞沉降的速度。

2. 自动血沉仪法 动态红细胞下沉分为 3 个阶段：①红细胞缗钱样聚集期，约 10 分钟。②红细胞快速沉降期，聚集逐渐减弱，细胞以恒定速度下沉，约 40 分钟。③红细胞堆积期，约 10 分钟，此期红细胞缓慢下沉，逐步向试管底部聚集。全自动血沉仪根据红细胞下沉过程中血浆浊度的改变，采用光电比浊法、红外线扫描法或摄影法，动态分析红细胞下沉各个时段血浆的透光度，以微电脑记录并打印结果。

【方法学评价】 魏氏法为传统方法，为国内规范方法。ICSH、美国临床实验室标准化研究所 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 以及 WHO 均有血沉检测的标准化文件。ICSH 方法 (1993) 及 CLSI (2000) 方法均以魏氏法为基础，建立了新的血沉检验“参考方法”和供常规使用的“选择方法”，后者简称“常规工作方法”，分别制定了新的操作规程。新方法对血沉管的规格、抗凝剂的使用、血液标本的制备方法等做了重新规定。突出的优点是可以与自动血液分析仪检验共用一份抗凝静脉血标本，并在分析结果时易于综合

白细胞的变化进行判断。“参考方法”由于对 HCT 进行了校正($HCT \leq 0.35$),可忽略由于红细胞数量变化给血沉带来的影响。如采用常规工作方法,可将 EDTA 盐抗凝静脉血以生理盐水或 109mmol/L 枸橼酸钠 1:4 稀释,然后进行测定。血沉测定的方法学评价见表 2-29。

表 2-29 血沉测定的方法学评价

方法	优点	缺点
魏氏法	国内的规范方法。对操作器材、条件和方法有严格规定,一次性血沉管使用方便、卫生安全	一次性血沉管成本较高,质量难以保证
温氏法	通过血沉方程 K 值计算,克服了贫血对结果的影响,多用于血液流变学检查	结果平均高于魏氏法 9.6mm
ζ 血沉率	用血量少,测定速度快,结果无年龄、性别差异,不受贫血及实验条件的影响,灵敏度高	使用专用离心机及配套平底离心管,临床少用
潘氏法	可测定毛细血管血,较适用于儿童,其结果与魏氏法具有可比性	采血时易混入组织液,临床较少使用
自动血沉仪法	可记录红细胞沉降全过程;自动化,微量化,快速化	测定结果应与“参考方法”比较,制定参考区间

【质量保证】 血沉测定迄今仍未建立决定性方法,目前首选参考方法,其次为标准化方法(相当于二级参考方法),再次为选择方法即常规工作方法。

1. ICSH 规定的参考方法可用于验证其他方法的可靠性 用魏氏管和 EDTA 抗凝血,选择 10 份 HCT 为 0.30~0.36 的血液标本,血沉分布在 15~105mm/h 范围内;或通过离心法调节标本的 HCT,去除多余的血浆或红细胞,然后再充分混匀(至少颠倒混匀标本 8 次),迅速移入血沉管中。用参考方法测量每个未稀释标本的血沉值。未稀释标本结果纠正公式为:

$$\text{纠正 ESR (mm/h)} = (\text{未稀释标本 ESR} \times 0.86) - 12$$

其结果在 95% 限定值范围内(表 2-30),表明方法满意。因血沉影响因素复杂,新方法应建立特定的自身参考区间。

表 2-30 ICSH 参考方法与常规工作法 ESR 检测结果比较(mm)

参考方法	常规工作法	参考方法	常规工作法	参考方法	常规工作法
15	3~13	20	5~17	70	35~62
16	4~14	30	10~24	80	44~73
17	4~15	40	15~32	90	53~85
18	4~15	50	21~41	100	62~98
19	5~16	60	28~51	104	66~103

2. 魏氏法对抗凝剂、血液标本及物理条件的要求 魏氏法对抗凝剂、血液标本及物理条件的要求见表 2-31。

3. 质控方法 参考方法常作为常规试验的质控方法,但参考方法费时、费力,通常采用替代的稳定化全血质控品作为每日质控。也可使用 3~4 份 4℃ 保存的 EDTA 抗凝全血,计算每天累积均值,每天至少 100 份临床标本,可得到相对稳定的结果,每天 CV 变化在 15% 以内,可认为试验在控,仪器性能良好。进行质控必须要满足以下条件: EDTA 抗凝, HCT

表 2-31 魏氏法对抗凝剂、血液标本及物理条件的要求

项目	要求
抗凝剂	①枸橼酸钠 (AR) 浓度为 109mmol/L, 采用 0.22μm 滤膜过滤后使用, 在 4℃ 能贮存数月 ②新鲜配制, 不能超过 1 周。不用时于 4℃ 冷藏保存 ③与血液之比为 1:4
血液标本	①真空采血或普通注射器采血 ②静脉采血应在 30 秒内完成 ③不能有凝血、溶血、气泡, 不能混入消毒液 ④与抗凝剂必须混匀充分
血沉管	① 30cm 长的带刻度玻璃或塑料试管, 管径不小于 2.55mm, 误差 <5%, 毫米刻度应不超过 20cm ②试管应清洁、干燥、无尘 ③反复使用时, 应先用自来水冲洗, 然后用蒸馏水或去离子水冲洗, 待干燥后使用。不提倡用清洁液或混合去污剂清洗
血沉管的位置	①放置血沉管的位置要平稳 ②特制血沉架应带有可调节的螺旋装置, 以固定血沉管和保持血沉管垂直
测定环境	①应在室温 (18~25℃) 下进行测定, 随着温度增高, 血沉会加快 ②室温过高要进行血沉校正, 室温低于 18℃ 应放置于 20℃ 恒温箱内测定 ③避免振动、风吹、阳光直射
检测时间	采血后 4 小时内完成检测, 枸橼酸钠抗凝血 4℃ 保存可延迟到 6 小时
结果判读	严格控制在 (60±1) 分钟, 读取沉淀红细胞界面以上 1mm 处的透明血浆层所对应的刻度

为 0.35 左右, 血沉在 15~105mm/h, 检测前将标本颠倒混匀 16 次。

4. 血沉测定影响因素 影响血沉测定的因素见表 2-32。

表 2-32 影响血沉测定的因素

变化	因素	评价
增快	血浆因素	纤维蛋白原, γ 球蛋白和异常克隆性免疫球蛋白, α、β 球蛋白, 胆固醇和甘油三酯增高
	红细胞因素	大红细胞容易形成缗钱状, 使血沉加快; 各种原因的贫血
	感染因素	某些病毒、细菌、药物、代谢产物和异常抗体等中和了细胞表面的负电荷
	药物因素	葡萄糖、聚乙烯吡咯烷酮、白明胶、青霉胺、口服避孕药、甲基多巴、葡聚糖、普鲁卡因胺、茶碱、维生素 A 等
	标本及物理条件	标本溶血、血沉管倾斜、温度过高
减慢	血浆因素	白蛋白、糖蛋白及磷脂酰胆碱等增高, 抑制红细胞缗钱状形成
	红细胞因素	数量增加、大小不均或球形、镰形细胞增多时, 不利于缗钱状形成
	物理条件	血沉管不洁净或血柱含气泡、温度过低
	药物因素	阿司匹林、可的松、奎宁

【参考区间】 魏氏法: 男性 0~15mm/h, 女性 0~20mm/h。

【临床意义】 血沉是一项常规筛检试验, 虽然特异性差, 但仍然具有一定的参考价值。临床上, 血沉主要用于观察病情的动态变化、区别功能性与器质性病变、鉴别良性与恶性

肿瘤等。

1. 血沉加快

(1) 生理性血沉加快：血沉受年龄、月经周期影响。①新生儿红细胞数量较高，血沉($\leq 2\text{mm/h}$)较慢。②儿童(< 12 岁)红细胞数量生理性低下，血沉稍快。③女性由于纤维蛋白原含量高，血沉较男性快。④孕3个月~产后3周妇女由于生理性贫血、胎盘剥离、产伤和纤维蛋白原含量增高，可使血沉加快。⑤月经期由于子宫内膜损伤及出血、纤维蛋白原增加，可使血沉加快。⑥大于50岁，由于纤维蛋白原含量逐渐增高，可使血沉加快。

(2) 病理性血沉加快：对于疾病鉴别和动态观察具有一定参考价值，病理性血沉加快的临床意义见表2-33。

表 2-33 病理性血沉加快的临床意义

疾病	临床意义
组织损伤	如严重创伤和大手术后、心肌梗死后3~4天血清急性时相反应蛋白迅速增多
恶性肿瘤	与肿瘤组织坏死、纤维蛋白原增高、感染和贫血有关
炎症疾病	急性细菌感染(急性时相反应蛋白迅速增多)、风湿病活动期(抗原抗体复合物增加)、结核病活动期、风湿热活动期(纤维蛋白原明显增高)、HIV感染(血清标志物阳性伴血沉增快是AIDS早期预测指标)
自身免疫病	结缔组织疾病，血沉与C反应蛋白、类风湿因子、抗核抗体等具有相似的灵敏度
高球蛋白血症	多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症、系统性红斑狼疮、肝硬化、慢性肾炎、免疫球蛋白增高
高胆固醇血症	动脉粥样硬化、糖尿病、黏液性水肿、原发性家族性高胆固醇血症
其他	退行性疾病、巨细胞性动脉炎和风湿性多肌瘤

2. 血沉减慢 见于真性红细胞增多症、低纤维蛋白原血症、充血性心力衰竭、红细胞形态异常等。

(吴晓蔓)

第二节 白细胞检查

外周血液白细胞(leukocyte)起源于骨髓的造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)，在骨髓多种造血生长因子的调控下，最终分化、发育、成熟并释放到外周血液。白细胞包括粒细胞(granulocyte, GRAN)、淋巴细胞(lymphocyte, L)和单核细胞(monocyte, M)三大类。其中粒细胞分为中性粒细胞(neutrophil, N)、嗜酸性粒细胞(eosinophil, E)和嗜碱性粒细胞(basophil, B)。而中性粒细胞因胞核的分叶情况不同又分为中性分叶核粒细胞(neutrophilic segmented granulocyte, Nsg)和中性杆状核粒细胞(neutrophilic stab granulocyte, Nst)。

目前，对粒细胞的生成、分化、成熟和释放的动力学过程了解较明确，根据细胞动力学的原理，可将粒细胞分化、发育和成熟的过程划分为干细胞池(stem cell pool)、分裂池(mitotic pool)、成熟池(maturation pool)、贮存池(storage pool)、循环池(circulating pool)和边缘池(marginal pool)。粒细胞的动力学特点见表2-34。贮存池的杆状核及分叶核粒细胞仅有约1/20释放到外周血液中，大部分保存在贮存池内，以便不断地补充损耗及应激需要。成熟粒细胞进入血液后约50%运行于血循环之中，构成循环池，另有50%则附着于血管内

壁而形成边缘池。因此，白细胞计数结果仅反映了循环池的粒细胞数量变化。边缘池及循环池粒细胞之间保持着动态平衡，生理性、特别是病理性因素可打破这种平衡，导致白细胞计数结果呈大幅度波动，并影响各种类型白细胞的比例。

表 2-34 粒细胞的动力学特点

分布	细胞池	细胞种类	动力学特点
骨髓	分裂池	原粒~中幼粒	具有分裂能力，1 个原始粒细胞经过 3~5 次分裂，可增殖为 16~32 个晚幼粒细胞
骨髓	成熟池	晚幼粒及杆状核	不具分裂能力，经历 3~5 天，并逐渐发育成熟
骨髓	贮存池	杆状核及分叶核	停留 3~5 天，数量约为外周血液的 5~20 倍。中幼粒到分叶核粒细胞的成熟时间约 5~7 天，受刺激时可缩短为 2 天
血液	循环池	少量杆状核，分叶核	为骨髓贮存池释放到血液中粒细胞的 50%，随血液循环，约停留 10~12 小时，半衰期约 6~7 小时
血液	边缘池	分叶核	为释放到外周血液中粒细胞的另外 50%，黏附到血管壁上，与循环池的粒细胞随时交换，并保持动态平衡，并与循环池合称为总粒细胞池
组织或体腔	组织固有池	分叶核	为逸出血管壁进入组织或体腔的粒细胞，生存 1~4 天，执行防御功能，不再返回血液，在组织中破坏、清除或排出

外周血液白细胞检查是血液一般检验的重要项目之一，以下情况可以检查白细胞：①感染、炎症、组织损伤或坏死、中毒、贫血。②结缔组织病、骨髓抑制（电离辐射、细胞毒药物、免疫抑制剂、抗甲状腺药物等）。③恶性肿瘤、白血病、骨髓增殖性疾病和淋巴组织增殖性疾病等。计数外周血液的白细胞数量、检查染色条件下各种白细胞的形态并分类计数，是诊断疾病，尤其是对恶性血液病进行初步诊断和评估疗效的基本指标。

一、白细胞计数

白细胞计数（white blood cell count）是指测定单位容积的外周血液中白细胞总数。

【检测原理】 白细胞计数方法有显微镜法和血液分析仪法。

显微镜法的检测原理：采用白细胞计数稀释液（如冰乙酸）将血液标本稀释一定倍数，同时破坏红细胞和固定白细胞，充入改良牛鲍（Neubauer）血细胞计数板，在低倍镜下计数一定区域（体积）内的白细胞数量，经换算求出每升血液中白细胞总数。

【方法学评价】 白细胞计数的方法学评价见表 2-35。

表 2-35 白细胞计数的方法学评价

方法	优点	缺点
显微镜法	① WHO 推荐的参考方法。②设备简单、费用低廉、简便易行。③在严格规范条件下，可用于校准血液分析仪及其计数结果异常的复查。④适用于每天标本量甚少的基层医疗单位和分散检测	①费时。②受微量吸管和血细胞计数板的质量、细胞分布状态以及检验人员技术水平等因素影响。③精密度和准确度相对较低

续表

方法	优点	缺点
血液分析仪法	①目前常规采用的筛检方法。②标本用量少、操作便捷，计数细胞数量多，易于标准化。③经校准后，在严格规范条件下，精密度和准确性高。④适用于大规模健康人群普查	①仪器昂贵。②检测前某些人为因素或非病理因素（如抗凝不充分、外周血液出现有核红细胞、巨大血小板、血小板凝集等）可干扰计数

【质量保证】

1. 计数误差

（1）技术误差：可通过规范、熟练的操作，仪器的校正、试剂的标准化和检验人员责任心的增强得以减小或消除。

- 1) 器材：必须洁净、干燥，并经过严格的校准，采用合格的检测试剂。
- 2) 标本要求：血液分析仪检测的标本要求及质量保证见表 2-36。
- 3) 操作过程的质量保证：白细胞计数操作过程的质量保证见表 2-37。

表 2-36 血液分析仪的标本要求及质量保证

要求	质量保证
标本种类	新鲜静脉血液标本，血液与抗凝剂应立即充分混匀。标本中不得有肉眼可见的溶血或凝块
抗凝剂	EDTA-K ₂ 作为抗凝剂，其浓度为 3.7~5.4μmol/ml 血液（1.5~2.2mg/ml 血液）
采血速度	采血速度要快（以免血液凝固），不能过度挤压（以免组织液混入）
稀释与混匀	稀释液应为无菌、无毒、适用于检测系统的缓冲液。稀释液应过滤（以免杂质、微粒干扰），血液标本量和稀释倍数要准确
容器及条件	①必须采用符合要求的塑料注射器或真空采血系统 ②盛有标本的试管应有足够的剩余空间，以便混匀 ③标本置于 18~22℃ 温度下直接检测 ④从标本采集到检测的时间不应超过 4 小时 ⑤检测前轻轻颠倒试管数次，以使标本充分混匀

表 2-37 白细胞计数操作过程的质量保证

项目	质量保证
加盖玻片	加盖玻片的方式可影响充液的高度，进而影响计数结果。WHO 推荐采用“推式”法，此法较“盖式”法更能保证充液的高度为 0.10mm
充液	①充液前应适当用力、快速振荡白细胞悬液 30 秒，使其充分混匀。但不能产生过多气泡，以免影响充液和准确计数 ②充液时应避免充液过多、过少或断续充液，避免气泡及充液后移动盖玻片
细胞分布要均匀	白细胞总数在正常范围内时，各大方格内的细胞数不得相差 8 个以上。两次重复计数误差不超过 10%，否则应重新充液计数
计数原则	计数压线细胞时，应遵循数上不数下、数左不数右的原则

4) 有核红细胞影响：由于白细胞稀释液不能破坏有核红细胞，若外周血液出现有核红细胞，可使白细胞计数结果偏高。因此，白细胞计数结果必须加以校正（有核红细胞是分类 100 个白细胞时所见到的有核红细胞）。

校正后白细胞数/L = $\frac{100}{100 + \text{有核红细胞数}} \times \text{校正前白细胞数}$

(2) 固有误差：主要是指计数域误差 (field error)。计数域误差是由于每次充液后血细胞在计数室内分布不可能完全相同所造成的误差，属于偶然误差。根据统计学原理，血细胞在计数室内的随机分布符合泊松分布 (Poisson distribution)，其标准差 $s = \sqrt{m}$ (m 为白细胞多次计数的均值)。

$$CV = \frac{s}{m} \times 100\% = \frac{1}{\sqrt{m}} \times 100\%$$

计数域误差变异系数 (CV) 可随着计数的细胞数量增多而减小。因此，可通过增加计数室计数面积或计数更多的细胞来减少计数域误差。按照 ICSH 规定要求，计数满 100 个细胞后，再根据所计数的面积来换算白细胞计数结果。减少计数域误差的措施见表 2-38。

表 2-38 减少计数域误差的措施

白细胞数量 ($\times 10^9/L$)	措施
<3	①扩大计数范围 (计数 8 个大方格内的白细胞数) ②缩小稀释倍数 (如采集 40 μ l 血液)
>15	①适当减少采血量 (如采集 10 μ l 血液) ②增加稀释倍数 (如取 0.78ml 稀释液)

此外，固有误差还应包括计数室和吸管的使用次数，即计数室误差 (chamber error) 和吸管误差 (pipet error)。同一稀释血液采用多支吸管稀释，在多个计数板内计数，较同一稀释血液在同一计数板进行同样多次计数所得的结果更接近真值。白细胞计数固有误差总变异系数的计算公式为：

$$CV = \sqrt{\frac{100^2}{n_b} + \frac{4.6^2}{n_c} + \frac{4.7^2}{n_p}}$$

公式中， n_b ：计数的白细胞总数， n_c ：计数板使用次数， n_p ：吸管使用次数。

2. 生理状态影响 运动、劳动、冷热水浴、酷热、严寒等常出现一过性白细胞增高；一天之内白细胞数量最高值与最低值可相差 1 倍。另外，吸烟者白细胞总数平均较非吸烟者高 30%。因此，对住院患者，特别是对需要进行动态观察的患者，最好固定检查时间。

【参考区间】 成人：(4~10) $\times 10^9/L$ ；儿童：(5~12) $\times 10^9/L$ ；6 个月~2 岁：(11~12) $\times 10^9/L$ ；新生儿：(15~20) $\times 10^9/L$ 。

【临床意义】 白细胞总数高于 10 $\times 10^9/L$ 称为白细胞增多 (leukocytosis)；低于 4 $\times 10^9/L$ 称为白细胞减少 (leukopenia)，通常将其减少的临界值定为 (4~2.5) $\times 10^9/L$ ，低于 2.5 $\times 10^9/L$ 肯定异常。外周血液白细胞数量的变化受生理状态和病理因素影响，其变化的临床意义见白细胞分类计数。

二、白细胞分类计数

白细胞分类计数 (differential leukocyte count, DLC) 是在显微镜下观察染色后血涂片上白细胞的形态，并进行分类计数，以求得各种白细胞的比值 (百分率) 和绝对值。由于不同类型的白细胞具有不同的生理功能，不同因素可导致其数量或形态发生变化。因此，直接

了解白细胞形态或分类的变化,比了解白细胞总数更能反映机体的生理或病理状态。

白细胞分类计数的目的在于:①观察白细胞增多症、白细胞减少症、感染、中毒、恶性肿瘤、白血病或其他血液系统疾病的白细胞变化情况。②评估红细胞和血小板形态。

【检测原理】 白细胞分类计数的方法有显微镜法和血液分析仪法。

显微镜法的检测原理:将血液制备成血涂片,经 Wright 染色后,在油镜下,根据白细胞形态特点逐个分类计数白细胞(一般计数 100~200 个),并观察其形态变化,然后求得各种白细胞的比值(百分率)。根据白细胞计数的结果,求得每升血液中各种白细胞的绝对值(绝对值=白细胞计数值×该种白细胞分类计数的百分率)。

【方法学评价】 白细胞分类计数的方法学评价见表 2-39。

表 2-39 白细胞分类计数的方法学评价

方法	优点	缺点
显微镜法	① DLC 的参考方法。②分类较准确,能及时 发现各种细胞形态的病理变化	费时,受血涂片质量和检验人员经验 等影响,精密度较差。不适用于大量 健康人群的筛检
血液分析仪法	① DLC 筛检的首选方法。②检测速度快,分 析细胞多,重复性好,准确性高,易于标准化。 ③报告形式多样,有异常结果报警,提示诊断 方向。④可与全自动推片染片机连接	不能准确识别细胞类别和病理变化, 只能作筛检,异常标本必须采用显微 镜法复查

【质量保证】

1. 计数误差

(1) 白细胞分类计数的计数误差与评价见表 2-40。1983 年,全国临床检验方法学学术研讨会推荐的白细胞分类计数的方案见表 2-41。

(2) 注意事项:白细胞分类计数的注意事项见表 2-42。

表 2-40 白细胞分类计数的计数误差与评价

项目	误差与评价
血涂片制备	采用传统的楔形法制备血涂片,即合格血涂片的血膜为楔形,约 3cm×2cm,表面光滑,两侧留有<0.3cm 的空隙,中间有恰当大小(1.0~1.5cm)的阅片区
血涂片染色	染色后的细胞色彩鲜明,能显示出各种细胞特有的色彩,胞核结构和胞质颗粒清楚
观察部位	由于白细胞在血涂片中分布不均匀,应选择细胞分布均匀、染色效果好的部位(一般在体尾交界处或片头至片尾的 3/4 区域)进行分类 ①体部:主要是体积较小、密度较大的淋巴细胞 ②尾部和两侧:主要是体积较大、密度较小的单核细胞和粒细胞;异常大的细胞也常分布在尾部
分类的规律	①按照一定方向有规律地移动视野,一般以“城垛式”进行,避免重复、遗漏、主观选择视野 ②应避免分类血涂片边缘的细胞(由于血涂片边缘的大细胞偏多,无代表性)
分类细胞数量	DLC 的准确性与分类计数的细胞数量有关,被计数的白细胞占白细胞总数的比例越大,误差越小。一般分类计数 100~200 个白细胞,其数量可根据白细胞总数而定

表 2-41 白细胞总数与分类白细胞数量的关系

白细胞总数(× 10 ⁹ /L)	应分类白细胞数量(个)
3~15	100(1 张血涂片)
> 15	200(1 张血涂片)
< 3	50~100(2 张血涂片)

表 2-42 白细胞分类计数的注意事项

项目	注意事项
观察全片	低倍镜观察血涂片,以判断其染色质量及细胞分布情况,并注意血涂片边缘及尾部有无异常细胞及寄生虫等
幼稚细胞	①分类计数中若发现异常或幼稚白细胞,应逐个分类计数和报告,并计入 100 个白细胞中 ②分类计数中见到幼稚红细胞,应逐个计数,但不计入 100 个白细胞内,而以分类 100 个白细胞时见到幼稚红细胞的数量来报告(x:100),并注明其所属阶段
其他细胞	注意观察成熟红细胞和血小板的形态、染色及其分布情况

2. 质量考核与评价 由于手工制备的血涂片上细胞分布不均匀,分类计数结果变化较大,很难对每张血涂片进行严格的质量控制。目前,尚缺乏统一的质量保证方法与措施,关键在于熟练操作技术、严格控制各个操作环节,尽量减少误差。

按照 CLSI 的 H20-A 标准,检验人员必须对每张血涂片做 200 个白细胞的分类计数,然后计算计数百分率的标准误,再计算 95% 可信限或采用 Rümke 提供的白细胞分类计数 95% 可信区间(表 2-43),判断结果是否在可信限内。若结果不在可信区间内,表示标本处理过程或操作存在错误(如标本标识误差、制备血涂片不佳、检查区域不当或细胞分类错误)。在分析出可能的误差来源后,必须重新进行考核。

百分率标准误计算公式:

$$s\bar{x}_p=\left[\frac{p\times q}{n}\right]^{\frac{1}{2}}$$

某一参数百分率的 95% 可信限:

$$p\pm 1.96\left[\frac{p\times q}{n}\right]^{\frac{1}{2}}$$

式中,n=200;p=均值;q=100-p。

表 2-43 各种白细胞分类计数结果的 95% 可信区间(Rümke)

%	n=100	n=200	n=500	n=1000	n=10 000
0	0.0~3.6	0.0~1.8	0.0~0.7	0.0~0.4	0.0~0.1
1	0.0~5.4	0.1~3.6	0.3~2.3	0.5~1.8	0.8~1.3
2	0.0~7.0	0.6~5.0	1.0~3.6	1.2~3.1	1.7~2.3
3	0.6~8.5	1.1~6.4	1.7~4.9	2.0~4.3	2.6~3.4
4	1.1~9.9	1.7~7.7	2.5~6.1	2.9~5.4	3.6~4.5
5	1.6~11.3	2.4~9.0	3.3~7.3	3.7~6.5	4.5~5.5

续表					
%	<i>n</i> = 100	<i>n</i> = 200	<i>n</i> = 500	<i>n</i> = 1000	<i>n</i> = 10 000
6	2.2~12.6	3.1~10.2	4.1~8.5	4.6~7.7	5.5~6.5
7	2.9~13.9	3.9~11.5	4.9~9.6	5.5~8.8	6.5~7.6
8	3.5~15.2	4.6~12.7	5.8~10.7	6.4~9.9	7.4~8.6
9	4.2~16.4	5.4~13.9	6.6~11.9	7.3~10.9	8.4~9.6
10	4.9~17.6	6.2~15.0	7.5~13.0	8.2~12.0	9.4~10.7
15	8.6~23.5	10.4~20.7	12.0~18.4	12.8~17.4	14.3~15.8
20	12.7~29.2	14.7~26.2	16.6~23.8	17.6~22.6	19.2~20.8
25	16.9~34.7	19.2~31.6	21.3~29.0	22.3~27.8	24.1~25.9
30	21.2~40.0	23.7~36.9	26.0~34.2	27.2~32.9	29.1~31.0
35	25.7~45.2	28.4~42.0	30.8~39.4	32.0~38.0	34.0~36.0
40	30.3~50.3	33.2~47.1	35.7~44.4	36.9~43.1	39.0~41.0
45	35.0~55.3	38.0~52.2	40.6~49.5	41.9~48.1	44.0~46.0
50	39.8~60.2	42.9~57.1	45.5~54.5	46.9~53.1	49.0~51.0
55	44.7~65.0	47.8~62.0	50.5~59.4	51.9~58.1	54.0~56.0
60	49.7~69.7	52.9~66.8	55.6~64.3	56.9~63.1	59.0~61.0
65	54.8~74.3	58.0~71.6	60.6~69.2	62.0~68.0	64.0~66.0
70	60.0~78.8	63.1~76.3	65.8~74.0	67.1~72.8	69.0~70.9
75	65.3~83.1	68.4~80.8	71.0~78.7	72.2~77.7	74.1~75.9
80	70.8~87.3	73.8~85.3	76.2~83.4	77.4~82.4	79.2~80.8
85	76.5~91.4	79.3~89.6	81.6~88.0	82.6~87.2	84.2~85.7
90	82.4~95.1	85.0~93.8	87.0~92.5	88.0~91.8	89.3~90.6
91	83.6~95.8	86.1~94.6	88.1~93.4	89.1~92.7	90.4~91.6
92	84.8~96.5	87.3~95.4	89.3~94.2	90.1~93.6	91.4~92.6
93	86.1~97.1	88.5~96.1	90.4~95.1	91.2~94.5	92.4~93.5
94	87.4~97.8	89.8~96.9	91.5~95.9	92.3~95.4	93.5~94.5
95	88.7~98.4	91.0~97.6	92.7~96.7	93.5~96.3	94.5~95.5
96	90.1~98.9	92.3~98.3	93.9~97.5	94.6~97.1	95.5~96.4
97	91.5~99.4	93.6~98.9	95.1~98.3	95.7~98.0	96.6~97.4
98	93.0~99.8	95.0~99.4	96.4~99.0	96.9~98.8	97.7~98.3
99	94.6~99.9	96.4~99.9	97.7~99.7	98.2~99.5	98.7~99.2
100	96.4~100.0	98.2~100.0	99.3~100.0	99.6~100.0	99.9~100.0

注：%：各类型细胞百分数；*n*：白细胞分类总数

从表 2-43 可知，各种细胞在分类计数中所能达到的最低可信限（如从 0%~100%），是随着分类细胞总数（如从 100~10 000 个）的增加而增高。因此，在血液分析仪区分细胞类型准确的前提下，细胞分类的总数（以万计）远远大于手工分类（以百计）的总数，其最低可信限也明显高于手工法。同样，对手工法分类为 1% 的嗜碱性粒细胞来说，计数 200 个细胞的最低可信限（0.1%）高于计数 100 个细胞的最低可信限（0%）。

【参考区间】 成人白细胞分类计数参考区间见表 2-44。

表 2-44 成人白细胞分类计数参考区间

细胞	比值	百分率(%)	绝对值($\times 10^9/L$)
中性杆状核粒细胞(Nst)	0.01~0.05	1~5	0.04~0.50
中性分叶核粒细胞(Nsg)	0.50~0.70	50~70	2.00~7.00
嗜酸性粒细胞(E)	0.005~0.050	0.5~5	0.05~0.50
嗜碱性粒细胞(B)	0~0.01	0~1	0~0.10
淋巴细胞(L)	0.20~0.40	20~40	0.80~4.00
单核细胞(M)	0.03~0.08	3~8	0.12~0.80

【临床意义】

1. 白细胞总数与中性粒细胞 白细胞总数与中性粒细胞(neutrophil)数量增多及减少的参考标准见表 2-45。在外周血液中,由于中性粒细胞占白细胞总数的 50%~70%,故其数量的增多或减少可直接影响白细胞总数的变化。因此,白细胞总数变化的临床意义与中性粒细胞数量变化的临床意义基本一致。但是,淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等数量上的改变也会引起白细胞总数的变化。因此,若出现白细胞总数与中性粒细胞的数量关系不一致的情况,还应具体分析。

表 2-45 白细胞总数与中性粒细胞数量增多及减少的参考标准

疾病	参考标准
白细胞增多(leukocytosis)	外周血液白细胞 $> 10 \times 10^9/L$
白细胞减少(leukopenia)	外周血液白细胞 $< 4.0 \times 10^9/L$
中性粒细胞增多症(neutrophilia, neutrophilic leukocytosis)	外周血液中性粒细胞绝对值 $> 7.0 \times 10^9/L$
粒细胞减少症(granulocytopenia)	外周血液中性粒细胞绝对值:成人 $< 2.0 \times 10^9/L$ 。儿童: > 10 岁者 $< 1.8 \times 10^9/L$, < 10 岁者 $< 1.5 \times 10^9/L$
粒细胞缺乏症(agranulocytosis)	外周血液白细胞 $< 2.0 \times 10^9/L$,中性粒细胞绝对值 $< 0.5 \times 10^9/L$ 或消失

(1) 白细胞或中性粒细胞生理性变化:白细胞或中性粒细胞生理性增多一般为暂时性的,去除影响因素后可恢复正常。这种变化与内分泌因素有关,主要是由于边缘池的白细胞进入循环池增多所致。增多的粒细胞大多为成熟的中性分叶核粒细胞,淋巴细胞和单核细胞也可增多,但一般不伴有白细胞质量的改变。

白细胞数量的生理性波动很大,白细胞计数结果在 30% 以内波动多无意义,只有通过定时和连续的观察才有诊断价值。中性粒细胞生理性变化的意义见表 2-46。

表 2-46 中性粒细胞生理性变化的意义

状态	意义
年龄	出生时白细胞总数为 $(15\sim 20) \times 10^9/L$,生后 6~12 小时达 $(21\sim 28) \times 10^9/L$,然后逐渐下降,1 周时平均为 $12 \times 10^9/L$,婴儿期白细胞维持在 $10 \times 10^9/L$ 左右。6~9 天中性粒细胞与淋巴细胞大致相等,以后淋巴细胞逐渐增多,至 2~3 岁后又逐渐降低,而中性粒细胞逐渐增高,至 4~5 岁二者又基本相等,以后逐渐增高至成人水平

续表

状态	意义
日间变化	安静及放松时较少，活动和进食后较多；早晨较少，下午较多；1天之内变化可相差1倍
运动、疼痛和情绪	脑力和体力劳动、冷热水浴、高温、严寒、日光或紫外线照射白细胞轻度增多；剧烈运动、剧痛和情绪激动时白细胞显著增多(可达 $35\times 10^9/L$)；刺激停止后较快恢复到原有水平
妊娠、分娩	经期及排卵期可略增多；妊娠期，尤其妊娠5个月以后白细胞可达 $15\times 10^9/L$ ；分娩时因产伤、产痛、失血等刺激，可达 $35\times 10^9/L$ ，产后2周内可恢复正常
吸烟	吸烟者平均白细胞总数高于非吸烟者30%，可达 $12\times 10^9/L$ ，重度吸烟者可达 $15\times 10^9/L$

(2) 中性粒细胞增多症(neutrocytosis): 中性粒细胞病理性增多的原因很多，大致上可归纳为两大类: 反应性增多和异常增生性增多。另外，某些药物也可引起中性粒细胞增多，如乙酰胆碱、类固醇、洋地黄、肾上腺素、组胺、肝素、氯化钾、锂、铅等。

1) 反应性增多: 是机体对各种病理因素刺激产生应激反应，动员骨髓贮存池的粒细胞释放及(或)边缘池的粒细胞进入循环池所致。因此，增多的粒细胞大多为成熟的分叶核粒细胞或杆状核粒细胞。白细胞(中性粒细胞)反应性增多的原因见表2-47。急性感染是中性粒细胞增多最常见的原因，其增多的程度与病原体的种类、感染的部位、感染的范围和严重程度以及机体的反应性有关(表2-48)。绝大多数细菌感染后的白细胞数量为 $(10\sim 30)\times 10^9/L$ ，超过 $30\times 10^9/L$ 提示深部感染或腹膜炎，超过 $50\times 10^9/L$ 时提示严重感染。

表 2-47 白细胞(中性粒细胞)反应性增多的原因

类别	原因
急性感染	细菌、某些病毒、真菌、螺旋体、立克次体及寄生虫感染等(白细胞增多最常见的原因)
炎症	风湿性关节炎、风湿热、支气管炎、肾炎、肾盂肾炎、结肠炎、胰腺炎、甲状腺炎、皮炎等
组织损伤	严重外伤、大手术、大面积烧伤、急性心肌梗死(急性心肌梗死后1~2天，WBC常增多，并可持续1周，借此可与心绞痛鉴别)
血细胞破坏	严重血管内溶血(红细胞破坏产物刺激骨髓释放)
急性失血	消化道大出血、脾破裂，宫外孕破裂(血管收缩及脾脏释放存血，Hb、RBC尚未减少，WBC为早期诊断内出血的重要指标)
恶性肿瘤	非造血系统恶性肿瘤，尤其是消化道恶性肿瘤(如肝癌、胃癌)和肺癌等(与肿瘤坏死产物刺激骨髓释放、肿瘤细胞产生促粒细胞生成素以及肿瘤骨髓转移有关)
急性中毒	代谢性、化学物质、药物、生物毒素等中毒(与趋化因子增多有关)

表 2-48 感染程度与白细胞变化关系

严重程度	白细胞	中性粒细胞	原因
轻度感染	可正常	略增高	
中度感染	增高	增高，轻度核左移及毒性改变	机体反应性良好，骨髓细胞释放入血
重度感染	显著增高	增高，明显核左移及毒性改变	机体反应性良好，骨髓细胞释放入血
极重度感染	减少	减少，明显核左移及毒性改变	机体反应性差，WBC大量聚集于内脏血管及炎症局部，预后差

某些严重急性感染者可出现类白血病反应(leukemoid reaction)，需要与白血病相鉴别(表2-49)。类白血病反应是机体对某些刺激因素所产生的类似白血病表现的血象反应。当

刺激因素去除后，类白血病反应也逐渐消失。根据外周血液白细胞总数的多少，可将类白血病反应分为白细胞增多性（多见）和白细胞不增多性类白血病反应。根据增多的细胞类型可分为中性粒细胞型、嗜酸性粒细胞型类白血病反应。

表 2-49 中性粒细胞型类白血病反应与慢性粒细胞白血病的鉴别诊断

鉴别点	类白血病反应	慢性粒细胞白血病
明确的病因	有原发疾病	无
临床表现	原发病症状明显	消瘦、乏力、低热、盗汗、脾明显肿大
白细胞计数及分类计数	中度增高，大多数 $<100 \times 10^9/L$ ，以分叶核及杆状核粒细胞为主，原始粒细胞少见	显著增高，典型患者常 $>100 \times 10^9/L$ ，可见各发育阶段粒系细胞（与骨髓象相似）
嗜碱及嗜酸性粒细胞	不增多	常增多
粒细胞中毒性改变	常明显	不明显
红细胞及血小板	无明显变化	早期患者轻至中度贫血，血小板可增高，晚期均减少
骨髓象	一般无明显改变	极度增生，粒系细胞常占 0.90 以上，以中幼粒、晚幼粒为主，早幼粒 + 原粒 <0.10
中性粒细胞碱性磷酸酶	积分显著增高	积分显著减低，甚至为 0
Ph 染色体	无	可见于 90% 以上的患者

2) 异常增生性增多：系造血干细胞克隆性疾病，为造血组织中粒细胞大量异常增生并释放到外周血液所致，增多的粒细胞主要是病理性粒细胞或未成熟粒细胞，常伴其他细胞改变，如红细胞或血小板增多或减少。

异常增生性增多主要见于：①白血病：造血系统的恶性肿瘤，因造血组织中病理性白细胞大量异常增生并释放到外周血所致。常见于急性粒细胞白血病（急粒）和慢性粒细胞白血病（慢粒）。②骨髓增殖性疾病（myeloproliferative disorders, MPD）：为一组多能干细胞病变引起的疾病。

（3）中性粒细胞减少症（neutropenia）：引起中性粒细胞减少的机制主要有：①中性粒细胞增殖和成熟障碍。②中性粒细胞在血液或组织中消耗或破坏过多。③中性粒细胞分布异常。

引起中性粒细胞减少的原因很多（表 2-50），其临床表现亦随着病因及粒细胞减少的严重程度而不同。当粒细胞 $<1.0 \times 10^9/L$ 时，极易发生感染；当粒细胞 $<0.5 \times 10^9/L$ （急性粒细胞缺乏症）时，严重感染和疾病复发的危险性增加。患者出现发热、咽痛、口腔溃疡等感染症状，甚至引起败血症。临床上应根据病史鉴别是粒细胞缺乏引起的感染，还是严重感染所致的粒细胞缺乏。

在理化因素损伤中，药物诱导性中性粒细胞减少最常见（表 2-51），年发病率约为 $(3 \sim 4)/10^6$ ，儿童及年轻患者约占 10%，老年患者约占 50%。

2. 嗜碱性粒细胞 嗜碱性粒细胞（basophil, B）是由髓系干（祖）细胞分化为嗜碱性粒细胞祖细胞（CFU-B）后发育而来的，在骨髓及外周血液中的数量很少（0~1%）。其形态和功能与肥大细胞相似，主要参与超敏反应。嗜碱性粒细胞计数常用于慢性粒细胞白血病与类白血病反应的鉴别以及观察变态反应。

表 2-50 中性粒细胞减少的原因及机制

类别	原因	机制
感染	病毒、革兰阴性杆菌(伤寒)、某些原虫等感染,病毒感染是最常见的原因	病毒、细菌内毒素和异体蛋白使大量粒细胞转至边缘池及抑制骨髓释放粒细胞,亦与抗感染消耗增多有关
血液病	再生障碍性贫血、阵发性夜间性血红蛋白尿、非白血性白血病、骨髓转移癌、巨幼细胞性贫血	造血干细胞功能障碍、粒细胞增殖异常或营养缺乏导致骨髓粒细胞生成、成熟障碍或无效生成
理化损伤	放射线、苯、铅、汞以及化学药物等	直接损伤造血干细胞或抑制骨髓粒细胞有丝分裂,直接或通过抗原,或抗原抗体复合物破坏白细胞
脾功能亢进	脾淋巴瘤、脾血管瘤、肝硬化、门静脉或脾静脉栓塞、心力衰竭、类脂质沉积病	粒细胞被脾脏滞留、吞噬;脾脏产生某些体液因子,抑制骨髓造血或加速血细胞破坏
自身免疫疾病	特发性血小板减少性紫癜、自身免疫性溶血性贫血、新生儿同种免疫性粒细胞减少症、系统性红斑狼疮、类风湿关节炎	可能与机体存在白细胞自身抗体,导致其破坏增多有关

表 2-51 引起中性粒细胞减少的药物

类别	药物
镇痛抗炎药	氨基比林、保泰松、对乙酰氨基酚、喷他佐辛、吲哚美辛、阿司匹林、非那西丁、金盐
抗生素	氯霉素、头孢菌素、青霉素、链霉素、庆大霉素、异烟肼、利福平、对氨基水杨酸
磺胺药	磺胺、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺-6-甲氧嘧啶、磺胺甲氧吡嗪、磺胺噻唑
抗糖尿病药	氯磺丙脲、甲苯磺丁脲
抗甲状腺药	卡比马唑、丙硫氧嘧啶、甲硫咪唑
抗癌药	环磷酰胺、白消安、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、长春新碱、氮芥、别嘌醇、秋水仙碱
抗疟疾药	奎宁、伯氨喹啉、帕马喹
抗抑郁药	多塞平、阿米替林、丙米嗪
镇静、催眠药	苯巴比妥、氯氮、戊巴比妥、氯氮平
降压利尿药	依他尼酸、汞利尿剂、氢氯噻嗪、乙酰唑胺、氨苯蝶啶、甲基多巴
心血管药	卡托普利、奎尼丁、普鲁卡因胺、托卡胺、氟卡尼
其他	有机砷、苯丙胺、青霉胺、苯海拉明、普鲁卡因、维甲酸、甲硝唑

(1) 嗜碱性粒细胞增多(basophilia): 外周血液嗜碱性粒细胞绝对值 $>0.1 \times 10^9/L$ 。嗜碱性粒细胞增多的临床意义见表 2-52。

表 2-52 嗜碱性粒细胞增多的临床意义

类别	临床意义
过敏性和炎症性疾病	食物、药物、吸入性过敏性反应;溃疡性结肠炎、荨麻疹、红皮病、风湿性关节炎等,可伴有白细胞或中性粒细胞增多
嗜碱性粒细胞白血病	少见类型的急性白血病。白细胞数量可正常或增高,嗜碱性粒细胞可达 30%~80%,伴幼稚型增多

续表

类别	临床意义
骨髓增殖性疾病	①慢性粒细胞白血病、真性红细胞增多症、原发性骨髓纤维化、原发性血小板增多症等。嗜碱性粒细胞轻度增高可作为骨髓增殖性疾病的一个早期征象 ②外周血液嗜碱性粒细胞达 10%~20% 是慢粒的特征之一，若嗜碱性粒细胞突然 > 20%，预示病情恶化
内分泌疾病	糖尿病、甲状腺功能减退症、雌激素治疗等
其他	重金属（如铅、汞、铬等）中毒、系统性肥大细胞增多症、放射线照射，反映某些感染性疾病（如水痘、结核病）等

(2) 嗜碱性粒细胞减少(basopenia): 由于嗜碱性粒细胞数量很少，其减少多无临床意义，可见于过敏性休克、促肾上腺皮质激素或糖皮质激素应用过量以及应激反应等。

3. 淋巴细胞 淋巴细胞(lymphocyte, L)是由骨髓多能造血干细胞分化为淋巴系干(祖)细胞后分化发育而来，主要分为 T 细胞、B 细胞和自然杀伤细胞(natural killer cell)三大类。淋巴细胞是人体主要的免疫细胞，观察其数量变化，有助于了解机体的免疫功能状态，采用淋巴细胞直接计数比间接计数更有临床价值。

(1) 淋巴细胞增多(lymphocytosis): 是指外周血液淋巴细胞绝对值增多(成人 > 4.0 × 10⁹/L; 儿童: 4 岁以上 > 7.2 × 10⁹/L, 4 岁以下 > 9.0 × 10⁹/L)。淋巴细胞数量受某些生理因素的影响，如午后和晚上比早晨高; 出生 1 周后婴儿淋巴细胞可达 50% 以上，可持续至 6~7 岁，后逐渐降至成人水平(图 2-22)。淋巴细胞病理性增多的原因和意义见表 2-53。

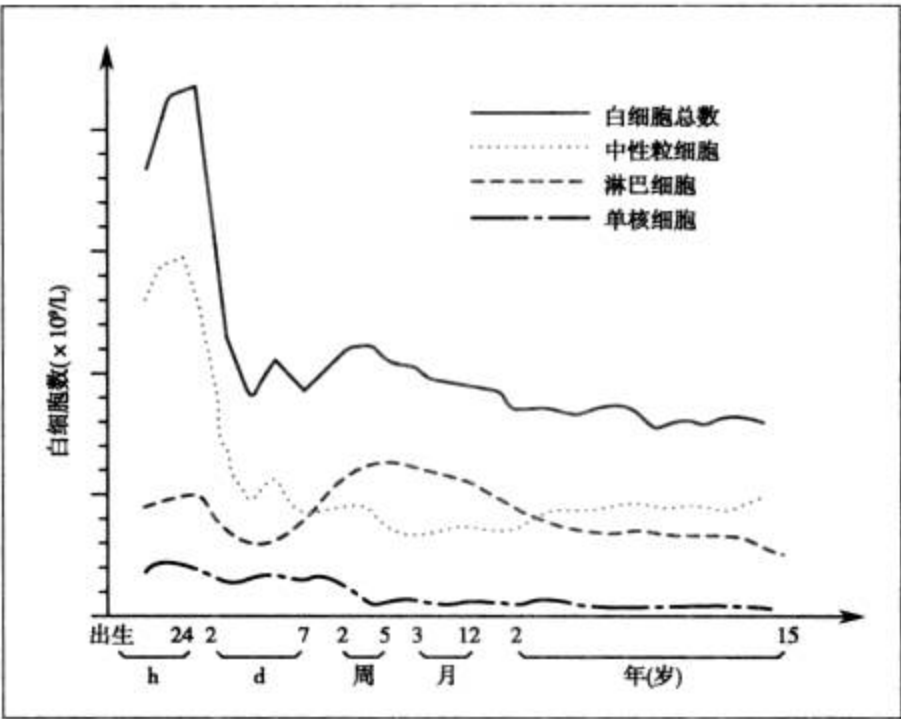


图 2-22 白细胞数量的生理性变化

表 2-53 淋巴细胞病理性增多的原因和意义

原因	意义
感染性疾病	典型急性细菌感染的恢复期，某些病毒所致急性传染病，某些慢性感染如结核病的恢复期或慢性期等
肿瘤性疾病	①以原始及幼稚淋巴细胞增多为主：急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病急性变 ②以成熟淋巴细胞增多为主：慢性淋巴细胞白血病、淋巴细胞性淋巴瘤等

续表

原因	意义
组织移植术后	排斥前期淋巴细胞绝对值增高,可作为监测组织或器官移植排异反应的指标之一
某些血液病	再生障碍性贫血、粒细胞减少症及粒细胞缺乏症时淋巴细胞相对增高
药物	阿司匹林、氟哌啶醇、铅、左旋多巴、苯妥英

(2) 淋巴细胞减少(lymphopenia): 是指外周血液淋巴细胞绝对值减少(成人 $<1.0 \times 10^9/L$)。凡是导致中性粒细胞显著增高的各种原因,均可导致淋巴细胞相对减少。淋巴细胞减少的原因及意义见表 2-54。某些药物也可引起淋巴细胞减少,如门冬酰胺酶、苯丁酸氮芥、可的松、肾上腺素、锂、尼克酸、氮芥、类固醇等。

表 2-54 淋巴细胞减少的原因及意义

原因	意义
流行性感	流行性感恢复期淋巴细胞减少
HIV 感染	可选择性地破坏 CD4 ⁺ 细胞,导致 CD4 ⁺ 细胞明显减少,CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 比例倒置
结核病	早期淋巴细胞减少,伴 CD4 ⁺ 细胞明显减少。若治疗有效,淋巴细胞可正常
药物治疗	烷化剂(环磷酰胺等)可引起白细胞明显减少,伴淋巴细胞明显减少。停止治疗后,淋巴细胞减少可持续数年
放射治疗	可破坏淋巴细胞,每天低剂量放疗比每周 2 次大剂量放疗产生的破坏力更强
免疫性疾病	系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、混合性结缔组织病、多发性肌炎,因机体产生抗淋巴细胞抗体,导致淋巴细胞破坏而减少。其减少的程度与抗体滴度相关
先天性免疫缺陷症	各种类型的重症联合免疫缺陷症、共济失调性毛细血管扩张症、营养不良或锌缺乏,可引起不同程度的淋巴细胞减少

4. 单核细胞 单核细胞(monocyte, M)来自骨髓多能造血干细胞分化的髓系干细胞和粒-单核系祖细胞。成人单核细胞占白细胞总数的 3%~8%。骨髓释放入外周血液的单核细胞为成熟的单核细胞,在血液中停留 3~6 天后,逸出血管进入组织或体腔内,再经 5~9 天,发育为巨噬细胞,形成单核-巨噬细胞系统,其防御功能明显增强。

正常儿童外周血液单核细胞可较成人稍高,平均为 9%;2 周内的婴儿可达 15% 或更多;妊娠中、晚期及分娩时亦可增多,均为生理性增多。单核细胞增多(monocytosis)是指成人外周血液单核细胞绝对值 $>0.8 \times 10^9/L$ 。单核细胞病理性增多的原因和意义见表 2-55。单核细胞减少的意义不大。

表 2-55 单核细胞病理性增多的原因和意义

原因	意义
感染	急性感染恢复期、慢性感染,如巨细胞病毒、疱疹病毒、结核菌、布氏杆菌等感染、亚急性细菌性心内膜炎、伤寒、严重的浸润性和粟粒性肺结核
结缔组织病	系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、混合性结缔组织病、多发性肌炎、结节性动脉炎
血液病	急性、慢性单核细胞或粒-单核细胞白血病,淋巴瘤、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、骨髓增生异常综合征、恶性组织细胞病、组织细胞增多症、溶血性贫血、粒细胞缺乏症的恢复期、特发性血小板减少性紫癜
恶性疾病	胃癌、肺癌、结肠癌、胰腺癌

原因	意义
胃肠道疾病	酒精性肝硬化、局限性回肠炎、溃疡性结肠炎、口炎性腹泻
其他	化疗后骨髓恢复、骨髓移植后、粒细胞-单核细胞集落刺激因子(GM-CSF)治疗、药物反应、烷化剂中毒

三、嗜酸性粒细胞计数

嗜酸性粒细胞(eosinophil, E)起源于骨髓多能造血干细胞的髓系干细胞分化的嗜酸性粒细胞祖细胞(CFU-E)。嗜酸性粒细胞集落形成因子主要由受抗原刺激的淋巴细胞产生,因此,嗜酸性粒细胞与免疫系统关系密切。嗜酸性粒细胞主要存在于骨髓和组织中,外周血液中很少,仅占全身嗜酸性粒细胞总数的1%左右。因此,嗜酸性粒细胞经外周血液间接计算的绝对值误差较大,要准确了解嗜酸性粒细胞的变化,应采用直接计数法。

【检测原理】 嗜酸性粒细胞计数方法有显微镜法和血液分析仪法。

显微镜法的检测原理:采用嗜酸性粒细胞稀释液(如伊红-丙酮)将血液稀释一定倍数后,红细胞和大部分其他白细胞被破坏,嗜酸性粒细胞则着色。将稀释的血液充入改良牛鲍(Neubauer)血细胞计数板,在低倍镜下计数2个计数室共10个大方格内的嗜酸性粒细胞,经换算求出每升血液中嗜酸性粒细胞数量。

【方法学评价】

1. 显微镜法 所需设备简单,简便易行;求得的嗜酸性粒细胞绝对值的准确性,高于用白细胞总数和分类计数间接计算出的绝对值,但重复性差,准确性不如血液分析仪法。

嗜酸性粒细胞计数有多种稀释液,其主要作用有:①保护嗜酸性粒细胞(如丙酮、乙醇)。②破坏红细胞和中性粒细胞(如碳酸钾、草酸铵)。③使嗜酸性粒细胞着色(如伊红、溴甲酚紫、固绿)。此外,稀释液中的甘油可防止乙醇挥发,抗凝剂可防止血液凝固。嗜酸性粒细胞计数稀释液的优缺点见表2-56。

表 2-56 嗜酸性粒细胞计数稀释液的优点和缺点

稀释液	优点	缺点
伊红-丙酮	试剂简单,简便易行	久置效果差,最好每周配制1次
皂素-甘油	使细胞稳定,着色鲜明易于鉴别;因含甘油,液体不易挥发,置于冰箱内可保存半年以上	因含甘油,计数前应充分混匀
乙醇-伊红	①含碳酸钾,溶解红细胞和其他白细胞作用强,视野背景清晰。②嗜酸性颗粒呈鲜明橙色,2小时内不被破坏。③含甘油,液体不易挥发,试剂可保存半年以上	含10%甘油,比较黏稠,细胞不易混匀,计数前应充分混匀
溴甲酚紫	低渗配方,红细胞和其他白细胞被溶解破坏,嗜酸性粒细胞呈蓝色	
固绿	①含丙酮、乙醇保护剂,嗜酸性粒细胞胞膜完整、无破损。②含碳酸钾、草酸铵,其他细胞破坏完全。③固绿使嗜酸性颗粒呈折光较强的蓝绿色	注意与残存的不着色或着色很淡的中性粒细胞相区别

2. 血液分析仪法 五分类血液分析仪是目前最有效的嗜酸性粒细胞计数的筛检方法,其分析速度快,准确性较高,但仪器昂贵。当仪器提示嗜酸性粒细胞增多伴直方图或散点

图异常时,应采用显微镜法复查。

【质量保证】 嗜酸性粒细胞计数的质量保证见表 2-57。

表 2-57 嗜酸性粒细胞计数的质量保证

项目	质量保证
计数误差	计数时,应严格控制造成白细胞计数误差的各种因素
保护细胞	①乙醇、丙酮等为嗜酸性粒细胞的保护剂,适当增加其用量,可减轻嗜酸性粒细胞的破坏;适当减少其用量,则可增强中性粒细胞的破坏 ②因嗜酸性粒细胞易于破碎,所以混匀时力量不宜过大;若使用含有甘油的稀释液,因其黏稠度大,要适当延长混匀时间
鉴别细胞	必须区别嗜酸性粒细胞与中性粒细胞,后者一般不着色或着色浅,胞质颗粒细小或不清晰
及时计数	在血液稀释后 1 小时内应完成计数,否则嗜酸性粒细胞会逐渐溶解破坏
固定检查时间	最好固定采集标本的时间(上午 8 时或下午 3 时),以免嗜酸性粒细胞计数受日间生理性变化的影响

【参考区间】 $(0.05\sim0.50)\times 10^9/L$ 。

【临床意义】

1. 生理性变化

(1) 日间变化:健康人早晨的嗜酸性粒细胞较低,夜间较高;上午波动大,波动可达 40%,下午较恒定。白天因交感神经兴奋,通过下丘脑刺激垂体前叶产生促肾上腺皮质激素,进而使肾上腺皮质产生肾上腺皮质激素,后者可抑制骨髓释放嗜酸性粒细胞,并促使血液嗜酸性粒细胞向边缘池和组织转移,从而引起血液嗜酸性粒细胞减少。

(2) 运动和刺激:劳动、运动、饥饿、冷热及精神刺激等,均可引起交感神经兴奋,使血液中的嗜酸性粒细胞减少。

2. 嗜酸性粒细胞增多 嗜酸性粒细胞增多(eosinophilia)是指成人外周血液嗜酸性粒细胞绝对值 $>0.5\times 10^9/L$ 。①轻度增多: $(0.5\sim1.5)\times 10^9/L$ 。②中度增多: $(1.5\sim5.0)\times 10^9/L$ 。③重度增多: $>5.0\times 10^9/L$ 。嗜酸性粒细胞增多常见于过敏性疾病及寄生虫感染,为 T 淋巴细胞介导的嗜酸性粒细胞反应性增多;亦常见于某些恶性肿瘤、骨髓增殖性疾病。引起嗜酸性粒细胞增多的原因及可能机制见表 2-58。

表 2-58 嗜酸性粒细胞增多的原因及机制

分类	原因	机制
过敏性疾病	支气管哮喘、荨麻疹、风疹、血管神经性水肿、过敏性脉管炎、食物或药物过敏、血清病	肥大细胞、嗜碱性粒细胞致敏,释放嗜酸性粒细胞趋化因子,致其反应性增多
寄生虫病	肠道、肠外组织寄生虫,如钩虫、蛔虫、血吸虫、肺吸虫	嗜酸性粒细胞趋化因子增多;与相应抗体结合激活补体,引起反应性增多
皮肤病	天疱疮、疱疹样皮炎、湿疹、银屑病、多形性红斑	变应性因素导致反应性增多
感染性疾病	猩红热感染期,急性传染病恢复期	引起反应性增多

续表

分类	原因	机制
血液病	骨髓增殖性疾病、恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、慢性粒细胞白血病、嗜酸性粒细胞白血病	造血干细胞克隆异常，嗜酸性粒细胞异常增殖、细胞周期及血中时间延长
恶性肿瘤	肺癌、胃癌、结肠癌	淋巴因子及肿瘤因子所介导
高嗜酸性粒细胞增多综合征	过敏性肉芽肿、嗜酸性粒细胞心内膜炎、弥漫性嗜酸性粒细胞结缔组织病	
其他	脾切除、脑垂体前叶功能减退症、肾上腺皮质功能减退症	嗜酸性粒细胞清除减少、骨髓释放嗜酸性粒细胞增多

某些药物也可以引起嗜酸性粒细胞增多，如别嘌呤醇、抗生素(过敏反应)、抗惊厥药、头孢菌素、洋地黄、肝素、甲氨蝶呤、青霉素、丙卡巴肼、普萘洛尔、奎尼丁、链霉素、磺胺类药物、四环素等。

3. 嗜酸性粒细胞减少 嗜酸性粒细胞减少(eosinopenia)是指成人外周血液嗜酸性粒细胞绝对值 $<0.05 \times 10^9/L$ 。其临床意义主要有：

(1) 用于观察急性传染病的病情及预后判断：急性感染期，机体处于应激状态，肾上腺皮质激素分泌增加，嗜酸性粒细胞随之减少，恢复期嗜酸性粒细胞又逐渐增多。若症状严重而嗜酸性粒细胞不减少，说明肾上腺皮质功能衰竭；若嗜酸性粒细胞持续减少，甚至消失，说明病情严重。

(2) 作为观察预后的指标：严重组织损伤，如手术后4小时，嗜酸性粒细胞常显著降低，24~48小时后逐渐增多，增多的速度与病情变化基本一致。大面积烧伤患者数小时后嗜酸性粒细胞完全消失，并持续较长时间。若大手术或大面积烧伤患者的嗜酸性粒细胞不减少或减少很少，表明预后不良。

(3) 判断垂体或肾上腺皮质功能：垂体或肾上腺皮质功能亢进时，嗜酸性粒细胞减少。因此，可通过垂体或肾上腺皮质刺激试验，观察嗜酸性粒细胞数量变化，以判断垂体或肾上腺皮质的功能。

另外，肾上腺素、烟酸、普鲁卡因、类固醇和甲状腺素等可引起嗜酸性粒细胞减少。

四、白细胞形态检查

血涂片染色后，各种类型白细胞的形态学特点各不相同。在病理状态下，除白细胞计数和分类发生变化外，其形态有时也会发生改变。计算各种白细胞比例及观察白细胞形态的变化，对诊断疾病和观察疗效具有重要的意义。

白细胞形态学检查主要采用显微镜法，在显微镜下观察白细胞的形态变化，对鉴别异常形态白细胞有重要价值。现代自动图像分析仪虽然正在发展，但还未能取代显微镜。血液分析仪能提供血细胞数量和其他相关参数，但不能直接提供血细胞形态变化的确切信息，不具备检测血细胞形态的功能；血液分析仪对异常结果作出报警后，仍需要采用显微镜法检查血涂片进行复查，以提供更加确切的细胞形态学检查结果。

(一) 正常形态白细胞

1. 外周血液正常形态白细胞特征 正常形态白细胞特征见表 2-59 和图 2-23。

表 2-59 外周血液正常形态白细胞特征

细胞	直径 (μm)	形态	细胞质	细胞核	染色质
中性杆状核粒细胞	10~15	圆形	粉红色, 颗粒量多、细小、均匀、紫红色	弯曲呈杆状、带状、腊肠样	粗糙, 深紫红色
中性分叶核粒细胞	10~15	圆形	粉红色, 颗粒量多、细小、均匀、紫红色	分 2~5 叶, 以 3 叶核为主 (40%~50%)	粗糙, 深紫红色
嗜酸性粒细胞	13~15	圆形	着色不清, 橘黄色颗粒、粗大、整齐排列、均匀充满胞质	多分 2 叶, 眼镜形	粗糙, 深紫红色
嗜碱性粒细胞	10~12	圆形	着色不清, 紫黑色颗粒、量少、大小不均、排列杂乱、可盖于核上	因颗粒遮盖而胞核不清晰	粗糙, 深紫红色
淋巴细胞	6~15	圆形或椭圆形	透明、淡蓝色、多无颗粒, 大淋巴细胞可有少量粗大、不均匀紫红色颗粒	圆形、椭圆形、肾形	深紫红色, 粗糙成块, 核外缘光滑
单核细胞	12~20	圆形、椭圆形或不规则形	半透明、灰蓝色或灰红色。颗粒细小、尘土样紫红色	肾形、山字形、马蹄形、扭曲折叠不规则形	疏松网状, 淡紫红色, 有膨胀和立体起伏感

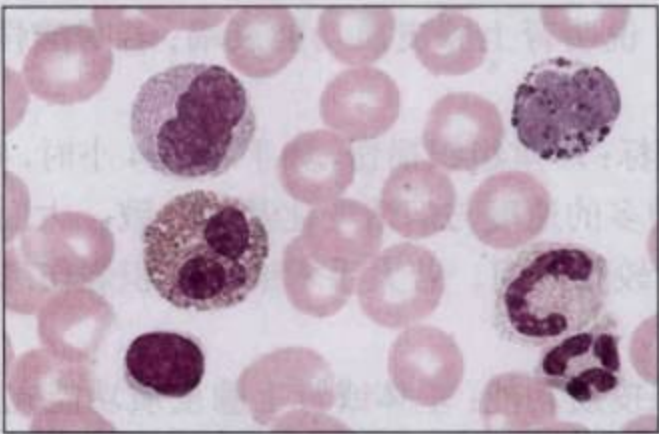


图 2-23 正常 5 种白细胞形态

2. 中性粒细胞核形界定 凡胞核完全分离或核间以一丝(只有核膜而无染色质)相连者为分叶核粒细胞, 或细胞核径最窄处小于最宽处 1/3 者为分叶核粒细胞, > 1/3 者为杆状核粒细胞; 若两丝相连者则为杆状核粒细胞。这是中性粒细胞分叶核与杆状核鉴别的基础(图 2-24、图 2-25)。当中性粒细胞杆状核与分叶核难以鉴别时, 可将其归类于分叶核。

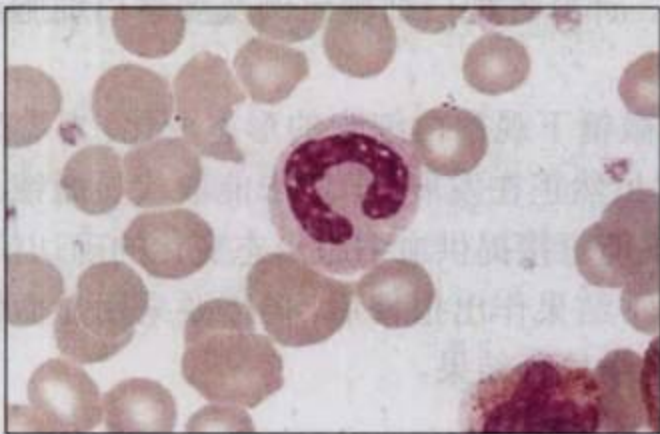


图 2-24 中性粒细胞杆状核

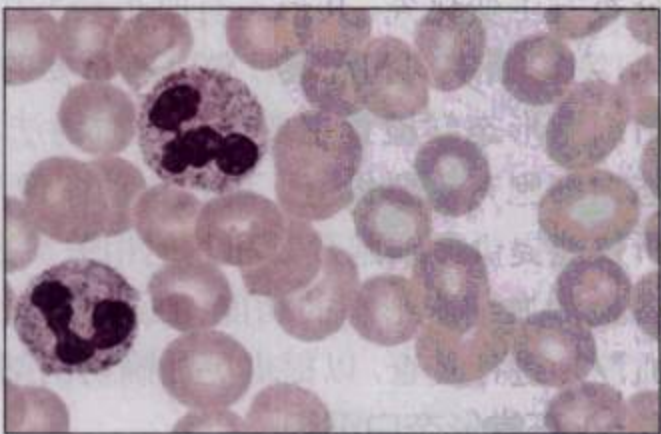


图 2-25 中性粒细胞分叶核

3. 粒细胞胞质内颗粒 中性粒细胞胞质内的颗粒分为嗜天青颗粒(占 20%)和特殊颗粒(占 80%), 其比较见表 2-60。

表 2-60 粒细胞胞质内颗粒的比较

颗粒	大小(μm)	颜色	主要成分
中性嗜天青颗粒	0.6~0.7	紫色	属溶酶体, 含酸性磷酸酶、髓过氧化物酶
中性特殊颗粒	0.3~0.4	淡红色	碱性磷酸酶、吞噬素(phagocytin)、溶菌酶
嗜酸性颗粒	0.5~1.0	橘黄色	属溶酶体, 含酸性磷酸酶、髓过氧化物酶和组胺酶等
嗜碱性颗粒	大小不等	紫黑色	肝素、组胺

(二) 中性粒细胞异常形态

1. 毒性变化 在严重的化脓性感染、败血症、恶性肿瘤、急性中毒、大面积烧伤等病理情况下, 中性粒细胞可发生大小不均、中毒颗粒、空泡形成、杜勒小体、退行性变等形态改变。这些形态变化对观察病情变化和判断预后有一定意义。

(1) 大小不均(anisocytosis): 中性粒细胞的体积大小相差悬殊, 不均一性增大(图 2-26)。常见于病程较长的化脓性感染, 与内毒素等因素作用于骨髓早期中性粒细胞, 使其发生顿挫性不规则分裂、增殖有关。

(2) 中毒颗粒(toxic granulation): 在严重感染及大面积烧伤等情况下, 中性粒细胞的胞质中出现比正常中性颗粒粗大、大小不等、分布不均的紫黑色或深紫褐色颗粒, 这种颗粒称中毒颗粒(图 2-27)。可能与特殊颗粒生成过程受阻或颗粒变性, 造成 2~3 个嗜天青颗粒融合有关。含有中毒颗粒的细胞在中性粒细胞中所占的比值称为中毒指数。中毒指数愈大, 感染、中毒的情况愈严重。

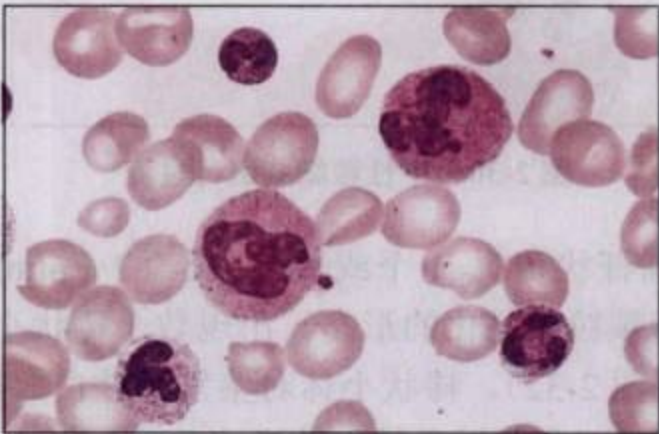


图 2-26 中性粒细胞大小不均

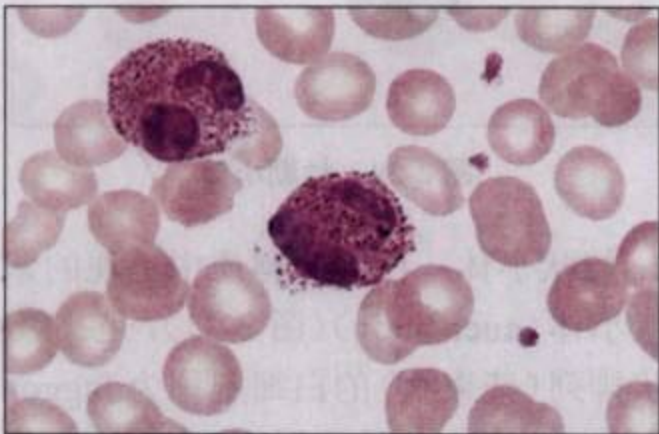


图 2-27 中毒颗粒

$$\text{中毒指数} = \frac{\text{含有中毒颗粒的中性粒细胞数}}{\text{所计数的中性粒细胞总数}}$$

中毒颗粒极易与嗜碱性粒细胞的颗粒、血涂片染色偏碱的中性颗粒相混淆, 应注意鉴别。

- 1) 中毒颗粒粗大且染色深; 嗜碱性粒细胞胞核分叶较少, 颗粒大而不均, 染色更深, 可分布在胞核上而使胞核分叶不清。
- 2) 中毒颗粒数量少、分布稀疏, 且散在于正常中性颗粒之间。
- 3) 血涂片染色偏碱或染色时间过长, 可造成正常的中性粒细胞颗粒染色过深, 此时应

注意血涂片的整体染色情况，并加以鉴别。

(3) 空泡形成(vacuolation, vacuolization): 中性粒细胞的胞质或胞核出现 1 个或多个空泡(图 2-28)。空泡(vacuole)是细胞发生脂肪变性或颗粒缺失的结果，常见于严重感染等。

EDTA 抗凝储存血液中的细胞也可出现退行性空泡，此时，除非同时伴有其他毒性变化，否则，不宜将空泡变性归于中性粒细胞的毒性变化。

(4) 杜勒小体(Döhle body): 杜勒小体是中性粒细胞胞质中蓝色或灰色的包涵体，常单个或成群位于细胞边缘，大小为 1~2 μm ，甚至可达 5 μm ，由糖原颗粒和内质网组成，与正常染色区域界限模糊。杜勒小体是胞质局部不成熟，即核质发育不平衡的表现(图 2-29)。常见于严重感染，如肺炎、麻疹、败血症和烧伤等，也可见于妊娠、骨髓增生异常综合征、May-Hegglin 畸形以及应用细胞因子(G-CSF 和 GM-CSF)等。

(5) 退行性变(degeneration): 退行性变是细胞发生胞体肿大、结构模糊、边缘不清晰、核固缩、核肿胀和核溶解(染色质模糊、疏松)等现象，常见于衰老和病变的细胞(图 2-30)。

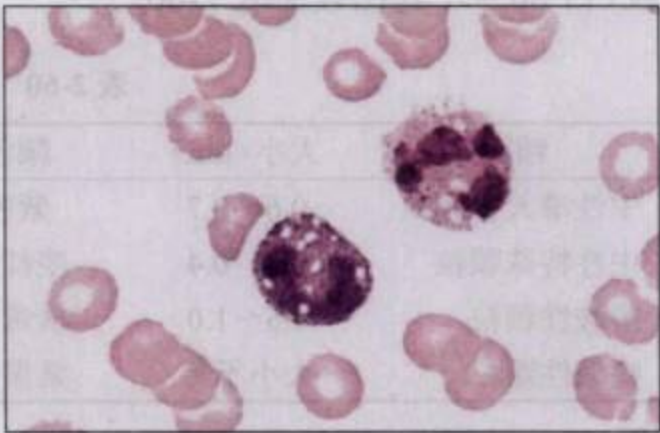


图 2-28 空泡形成

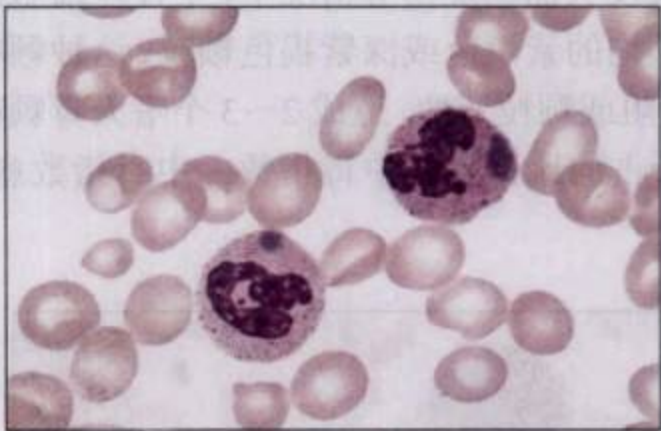


图 2-29 杜勒小体

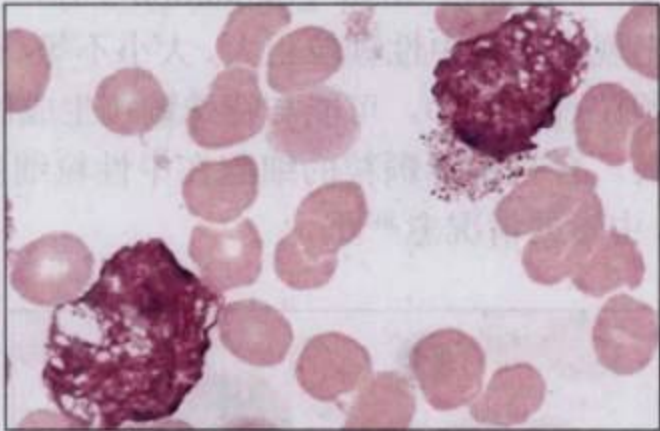


图 2-30 中性粒细胞退行性变

2. 棒状小体 白细胞胞质中出现的紫红色细杆状物质，1 个或多个，长约 1~6 μm ，称为棒状小体(auer body)(图 2-31)，是初级嗜天青颗粒结晶化的形态。出现数个棒状小体，呈束状排列(柴束状)的白细胞称为 faggot 细胞(图 2-32)。棒状小体对鉴别急性白血病的类型有重要价值，主要见于急性粒细胞白血病(多见)和急性单核细胞白血病(少见)，而急

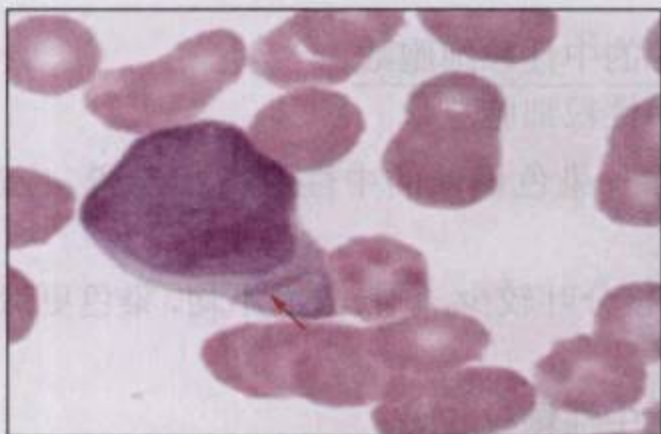


图 2-31 棒状小体

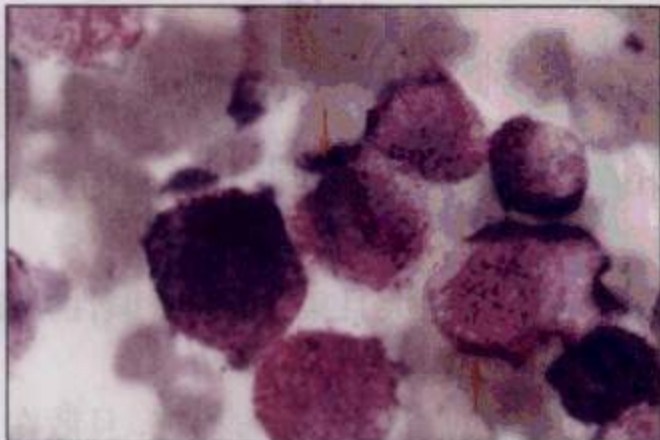


图 2-32 faggot 细胞

性淋巴细胞白血病则无。

3. 中性粒细胞的核象变化 核象(nuclear shift)标志着中性粒细胞从新生细胞至衰老细胞的发育阶段。正常情况下，外周血液中性粒细胞以分叶核为主，胞核常分为 2~5 叶，杆状核较少，分叶核与杆状核中性粒细胞的比值为 13:1。病理情况下，中性粒细胞的核象可发生核左移或核右移(图 2-33)。

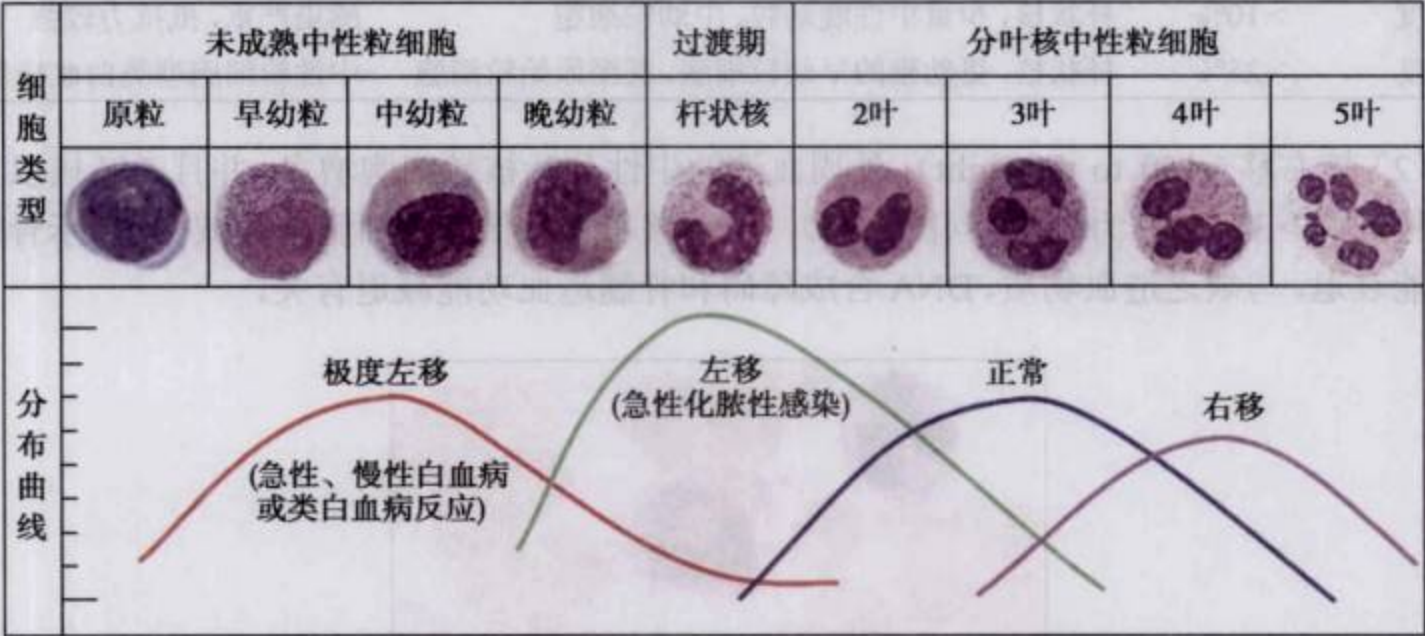


图 2-33 中性粒细胞核象变化

(1) 核左移(shift to the left): 外周血液的中性杆状核粒细胞增多或(和)出现晚幼粒细胞(metamyelocyte)、中幼粒细胞(myelocyte), 甚至早幼粒细胞(promyelocyte)的现象称为核左移(图 2-34)。

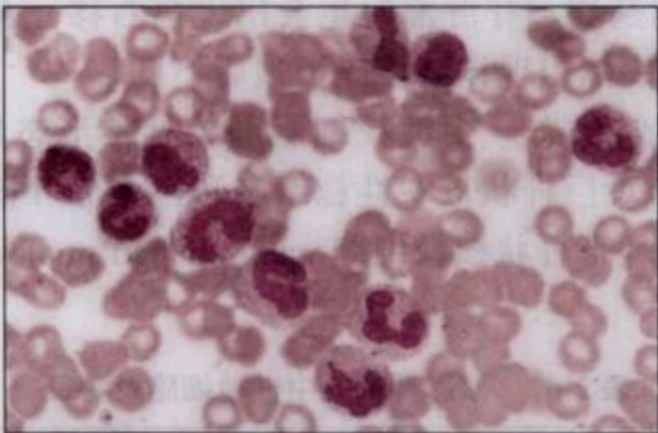


图 2-34 中性粒细胞核左移

核左移是机体的一种反应性改变, 常见于化脓性感染、急性溶血以及应用细胞因子等, 如粒细胞集落刺激因子或粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子等, 常伴有中毒颗粒、空泡形成、退行性变等毒性变化。核左移多伴有白细胞总数增高, 但也可正常甚至减少。

1) 再生性核左移(regenerative shift to the left): 核左移伴白细胞总数增高称为再生性核左移, 提示骨髓造血功能和释放能力旺盛, 机体抵抗力强, 多见于急性化脓性感染、急性中毒、急性溶血和急性失血等。

2) 退行性核左移(degenerative shift to the left): 核左移伴白细胞总数正常或减少称为退行性核左移, 提示骨髓释放功能受到抑制, 机体抵抗力差, 见于再生障碍性贫血、粒细胞

缺乏症、伤寒等。

核左移分为轻、中、重度三级，与感染的严重程度和机体的抵抗力密切相关(表 2-61)。

表 2-61 核左移类型及意义

类型	杆状核	细胞类型	临床意义
轻度	> 5%	仅有中性杆状核粒细胞	感染轻，抵抗力强
中度	> 10%	杆状核，少量中性晚幼粒、中幼粒细胞	感染严重，抵抗力较强
重度	> 25%	杆状核，更幼稚的早幼粒细胞，甚至原始粒细胞	中性粒细胞型类白血病反应

(2) 核右移(shift to the right): 外周血液的中性分叶核粒细胞增多, 并且 5 叶核以上的中性粒细胞 > 3% 时称为核右移(图 2-35)。严重核右移常伴有白细胞总数减少, 提示骨髓造血功能衰退, 与缺乏造血物质、DNA 合成障碍和骨髓造血功能减退有关。

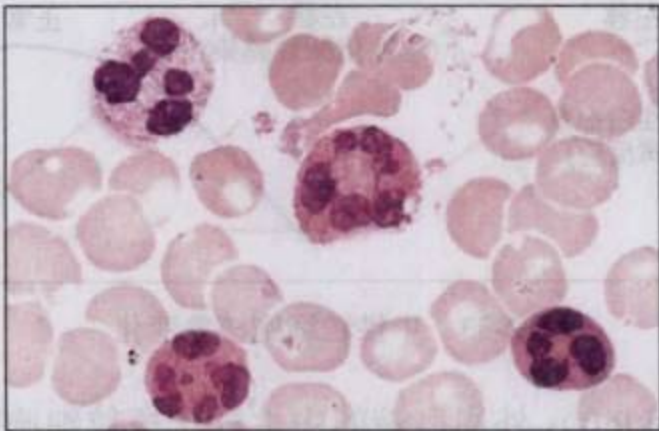


图 2-35 中性粒细胞核右移

核右移常见于巨幼细胞性贫血、内因子缺乏所致的恶性贫血、感染、尿毒症、骨髓增生异常综合征等, 应用抗代谢药物治疗肿瘤时也会出现核右移。在炎症恢复期, 一过性核右移是正常现象, 但在进展期突然出现核右移提示预后不良。

4. 中性粒细胞胞核异常形态 中性粒细胞胞核异常形态包括多分叶核中性粒细胞(hypersegmented neutrophil)、巨杆状核中性粒细胞和巨多分叶核中性粒细胞、双核粒细胞(dual-nuclei granulocyte)和环形杆状核粒细胞(ring-shaped nuclei granulocyte), 其特征见表 2-62 和图 2-36~图 2-40。

表 2-62 核形异常的中性粒细胞及特征

细胞	特征
巨多分叶核中性粒细胞	胞体增大, 胞核分 5~9 叶, 甚至 10 叶以上, 各叶大小差异很大, 核染色质疏松。常见于巨幼细胞性贫血、用抗代谢药物治疗后及恶性血液病等
巨杆状核中性粒细胞	胞体可大至 30μm, 胞核染色质略细致, 着色变浅, 胞核呈肥大杆状或特长带状。常见于巨幼细胞性贫血和恶性贫血, 也可见于骨髓增生异常综合征和白血病
多分叶核中性粒细胞	胞核分叶超过 5 叶, 常见于巨幼细胞性贫血和恶性贫血, 也可见于骨髓增生异常综合征和白血病
双核粒细胞	胞质内出现 2 个细胞核, 常见于骨髓增生异常综合征、粒细胞白血病及巨幼细胞性贫血
环形杆状核粒细胞	胞核呈杆状环形, 常见于骨髓增生异常综合征、粒细胞白血病及巨幼细胞性贫血

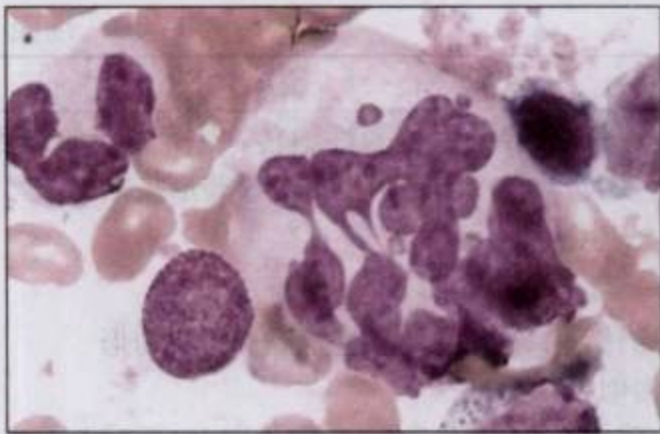


图 2-36 巨多分叶核中性粒细胞

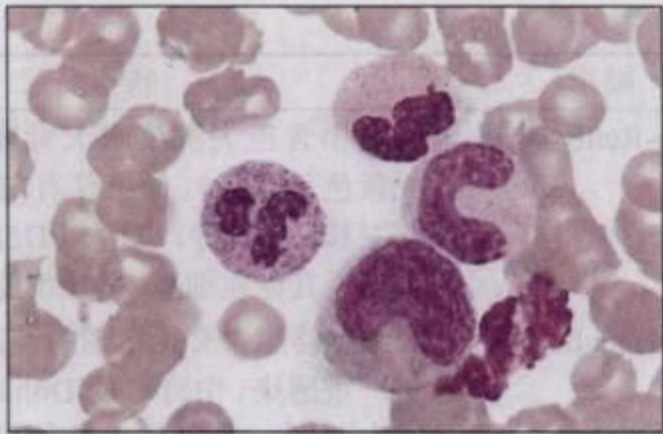


图 2-37 巨杆状核中性粒细胞

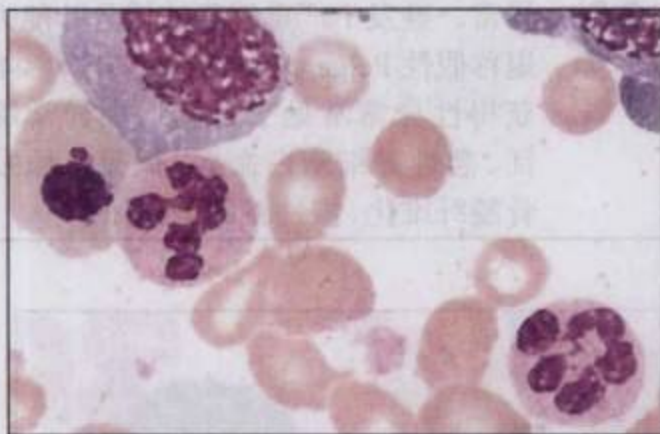


图 2-38 多分叶核中性粒细胞

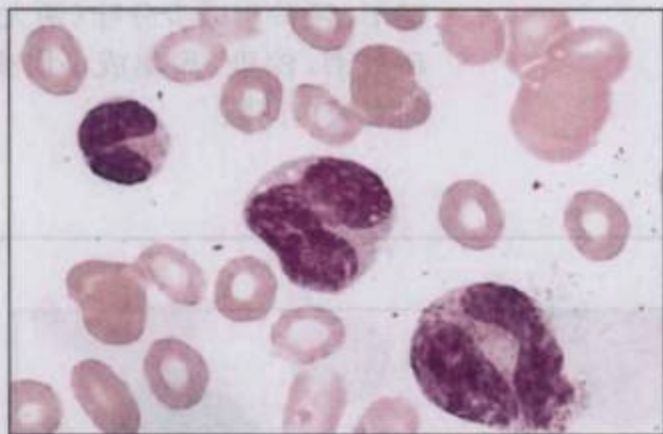


图 2-39 双核中性粒细胞

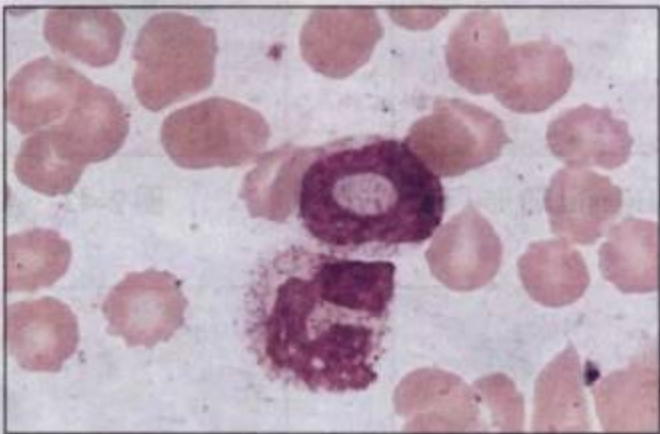


图 2-40 环形杆状核中性粒细胞

5. 与遗传因素相关的中性粒细胞畸形 与遗传因素相关的中性粒细胞畸形有 Chediak-Higashi 畸形 (Chediak-Higashi anomaly)、Alder-Reilly 畸形 (Alder-Reilly anomaly)、May-Hegglin 畸形 (May-Hegglin anomaly)、Pelger-Hüet 畸形 (Pelger-Hüet anomaly), 其形态特点和临床意义见表 2-63, 图 2-41~图 2-44。

表 2-63 与遗传因素相关的中性粒细胞畸形的形态特点和临床意义

畸形	特点	临床意义
Chediak-Higashi 畸形	胞质中含几个~数十个直径为 2~5 μ m 的包涵体, 呈异常巨大的紫蓝色或淡灰色块状。也可见于其他粒细胞、单核细胞、淋巴细胞、黑素细胞、肾小管细胞	常染色体隐性遗传, 可影响粒细胞功能, 易出现严重感染

续表

畸形	特点	临床意义
Alder-Reilly 畸形	胞质中含巨大深染嗜天青颗粒(呈深红或紫色包涵体),但不伴有白细胞增多及核左移、空泡等,有时似 Döhle 小体;也可见于其他粒细胞、单核细胞、淋巴细胞	常染色体隐性遗传,但不影响粒细胞功能,常伴有骨或软骨畸形疾病
May-Hegglin 畸形	粒细胞终生含有无定形的淡蓝色包涵体,与严重感染、中毒时的 Döhle 小体相似,但大而圆。也可见于其他粒细胞、单核细胞	常染色体显性遗传,良性畸形
Pelger-Hüet 畸形	胞核分叶能力减退,常呈杆状、肾形、眼镜形、哑铃形或少分叶(两大叶),但染色质致密、深染,聚集成小块或条索状,其间有空白间隙	常染色体显性遗传,又称家族性粒细胞异常。继发于严重感染的核分叶能力减退称假性 Pelger-Hüet 畸形。正常 <4%,获得性异常常见于骨髓增生异常综合征、急性髓细胞白血病,偶见于原发性骨髓纤维化、慢性粒细胞白血病

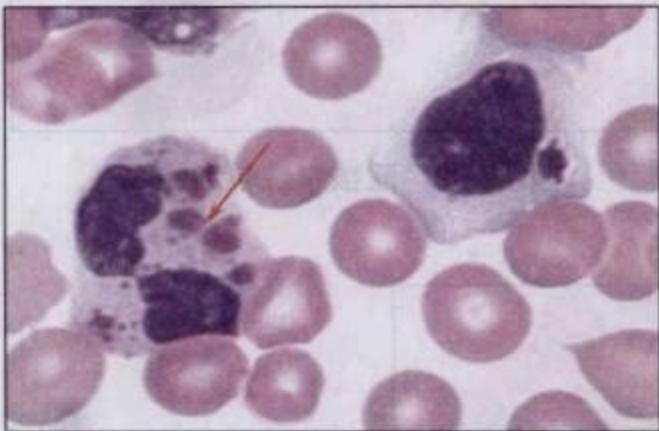


图 2-41 Chediak-Higashi 畸形

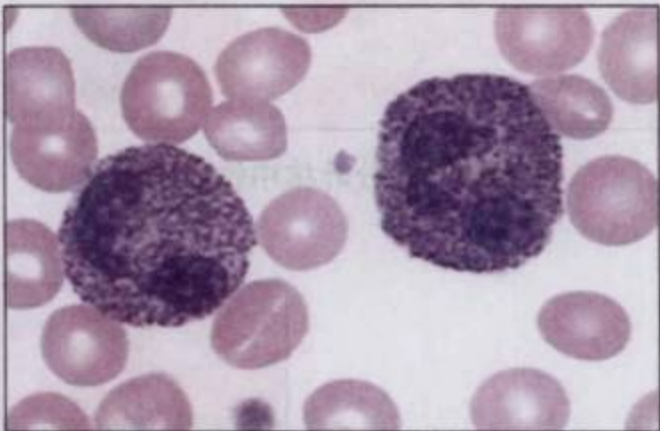


图 2-42 Alder-Reilly 畸形

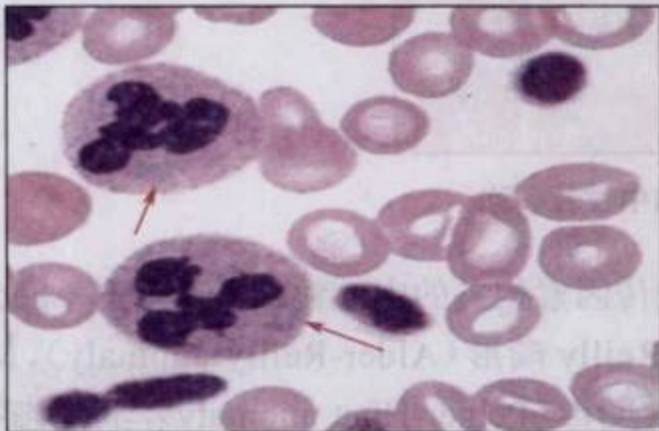


图 2-43 May-Hegglin 畸形

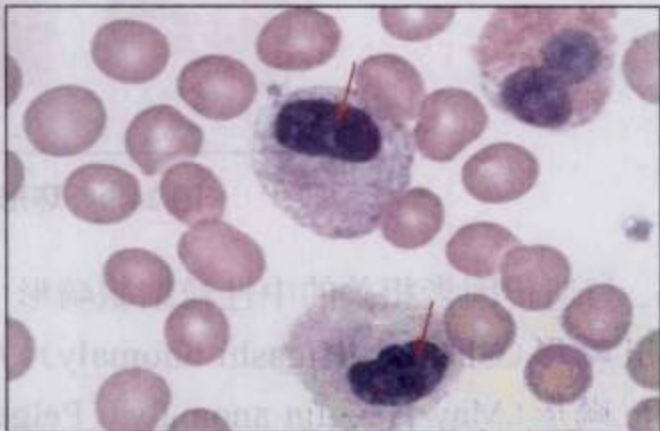


图 2-44 Pelger-Hüet 畸形

6. 中性粒细胞异常形态新的分类 中性粒细胞异常形态新的分类与评价见表 2-64。

表 2-64 中性粒细胞异常形态新的分类与评价

分类	评价
细胞核异常	中性粒细胞杆状核形成和核左移、中性粒细胞分叶核计数和核右移、中性粒细胞鼓槌小体和核突起、其他异常(核分叶过多、核分叶减少、环状核、葡萄簇状核)

续表

分类	评价
细胞质异常	颗粒减少、颗粒增加、颗粒异常 (Chediak-higashi、Alder-Reilly、May-Hegglin 和棒状小体)、空泡形成、Döhle 小体和类似包涵体、外源性中性粒细胞包涵体 (微生物、冷球蛋白、疟色素)
细胞形态异常	巨多分叶核中性粒细胞、中性粒细胞渐进性坏死 (凋亡)、中性粒细胞聚集、中性粒细胞碎片

(三) 淋巴细胞异常形态

1. 异型淋巴细胞 在病毒 (如腺病毒、人类疱疹病毒等)、原虫 (如弓形虫) 感染, 药物反应、结缔组织疾病、应激状态或过敏原等因素刺激下, 淋巴细胞增生并发生形态上的变化, 表现为胞体增大、胞质增多、嗜碱性增强、细胞核母细胞化, 称为异型淋巴细胞 (atypical lymphocyte) 或反应性淋巴细胞 (reactive lymphocyte)。外周血液异型淋巴细胞主要是 T 细胞 (83%~96%), 少数为 B 细胞 (4%~7%)。

异型淋巴细胞按形态特征可分为 3 型: I 型 (空泡型) 又称泡沫型或浆细胞型, II 型 (不规则型) 又称单核细胞型, III 型 (幼稚型) 又称未成熟细胞型或幼淋巴细胞型。异型淋巴细胞的形态特点见表 2-65, 图 2-45~图 2-47。

表 2-65 异型淋巴细胞的形态特点

类型	特点
I 型 (空泡型)	①胞体较正常淋巴细胞稍大, 多为圆形 ②胞核呈圆形、椭圆形、肾形或不规则形, 染色质呈粗网状或不规则聚集呈粗糙块状 ③胞质较丰富, 深蓝色, 无颗粒, 含有大小不等的空泡或呈泡沫状
II 型 (不规则型)	①胞体较 I 型细胞明显增大, 外形不规则, 似单核细胞 ②胞核圆形或不规则, 染色质较 I 型细胞细致 ③胞质丰富, 淡蓝或蓝色, 有透明感, 着色不均匀, 边缘处蓝色较深, 呈裙边样, 可有少许嗜天青颗粒, 一般无空泡
III 型 (幼稚型)	①胞体较大 ②胞核大, 呈圆形或椭圆形, 染色质呈细致网状, 可有 1~2 个核仁 ③胞质较少, 呈深蓝色, 多无颗粒, 偶有小空泡

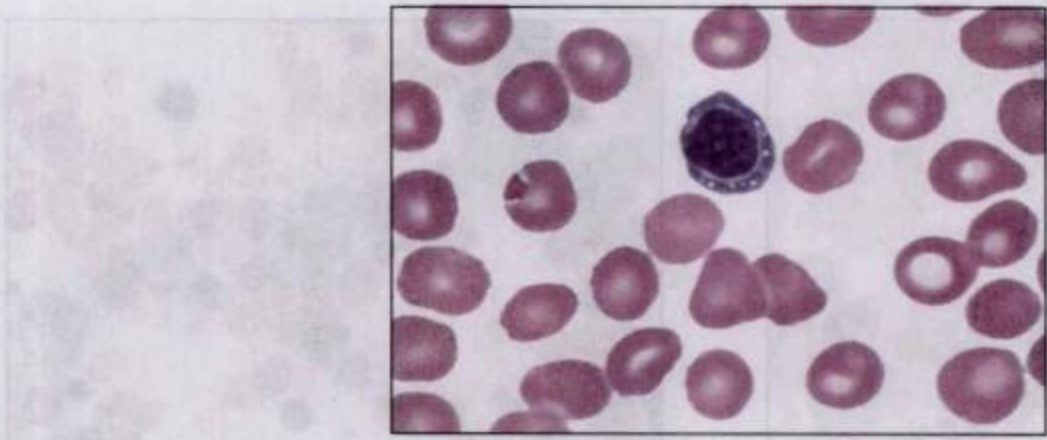


图 2-45 I 型异型淋巴细胞

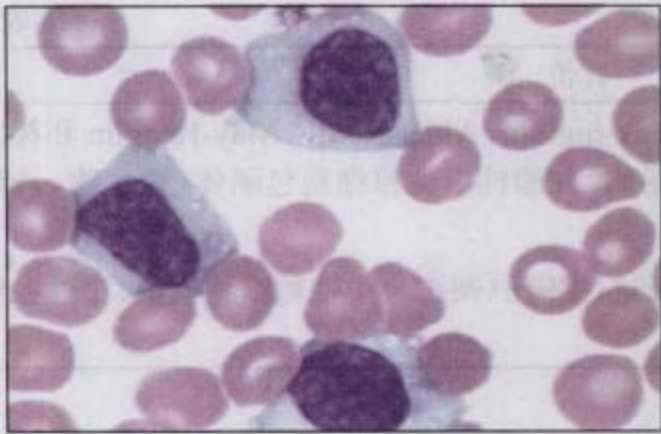


图 2-46 II型异型淋巴细胞

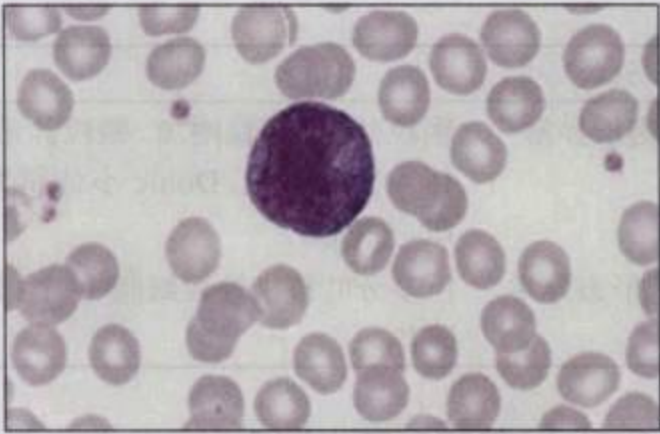


图 2-47 III型异型淋巴细胞

健康人外周血液偶见异型淋巴细胞。异型淋巴细胞增多主要见于传染性单核细胞增多症、病毒性肝炎、流行性出血热、湿疹等病毒性疾病和过敏性疾病。另外，EBV、巨细胞病毒、HIV、 β -链球菌、梅毒螺旋体、弓形虫等感染和接种疫苗，也可引起外周血液异型淋巴细胞增多。

2. 卫星核淋巴细胞 淋巴细胞主核旁有 1 个游离的卫星小核称为卫星核(satellite nucleus)淋巴细胞(图 2-48)。因染色体损伤，丧失着丝点的染色单体或其片段在有丝分裂末期，未进入子代细胞遗传物质体系内而形成。常见于接受较大剂量电离辐射、核辐射之后，或其他理化因素、抗癌药物等造成的细胞损伤。常作为致畸、致突变的客观指标之一。

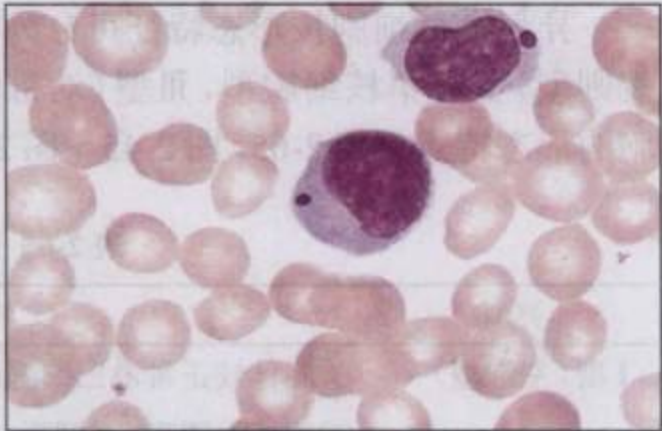


图 2-48 卫星核淋巴细胞

(四) 浆细胞

健康人外周血涂片一般不会出现浆细胞(plasma cell)(图 2-49)，但在某些病理情况下，外周血液中可见浆细胞。Mott 细胞，即胞质中充满 Russel 小体的浆细胞，Russel 小体是一些球蛋白的聚集物，常呈球形、排列紧密，形如桑椹，故也称之为桑椹细胞。若在血涂片制备过程中将细胞推散，Russel 小体散布于胞质中，又称之为葡萄状浆细胞(图 2-50)。多发性骨髓瘤患者外周血液中可见少量的异常浆细胞(骨髓瘤细胞)，典型的骨髓瘤细胞比浆细胞大，外形不规则，胞核大、染色质细致、核仁明显，胞质多呈蓝色(图 2-51)。浆细胞白血病(plasma cell leukemia, PCL)患者外周血液可出现异常浆细胞(图 2-52)。

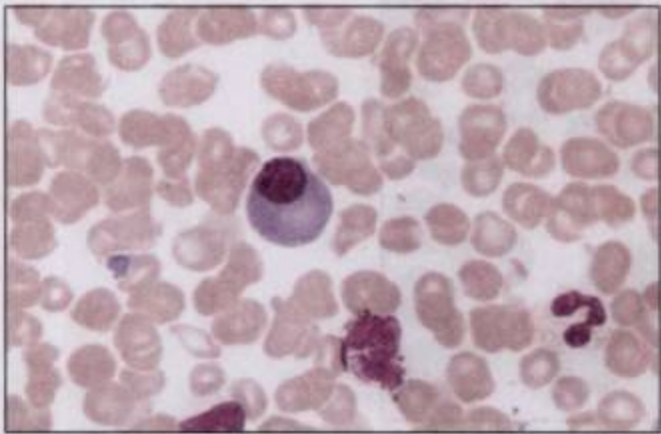


图 2-49 成熟浆细胞

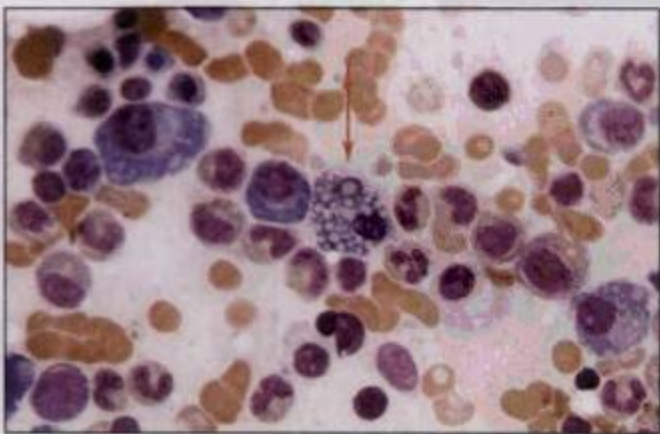


图 2-50 Mott 细胞

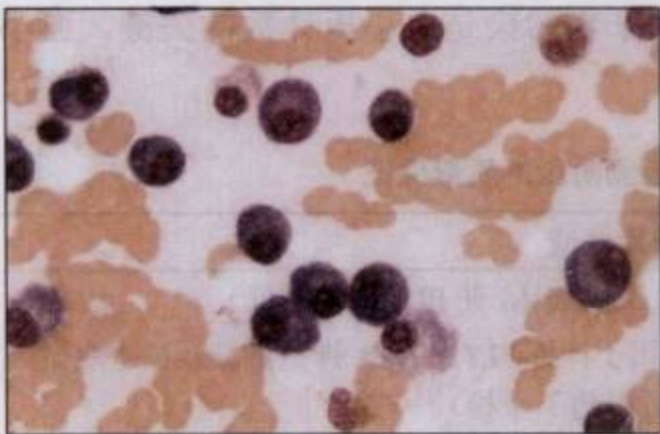


图 2-51 骨髓瘤细胞

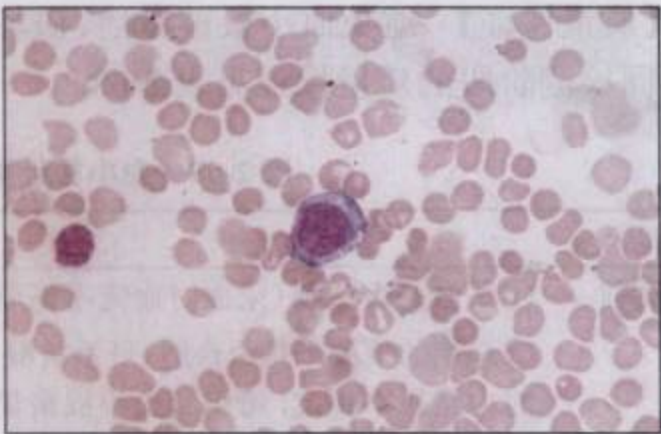


图 2-52 浆细胞白血病异常浆细胞

(刘成玉)

第三节 血小板检查

一、血小板计数

血小板 (platelet, PLT) 是由骨髓造血组织中的巨核细胞产生, 具有维持血管内皮完整性以及黏附、聚集、释放、促凝和血块收缩等功能。血小板计数 (platelet count) 是测定单位容积的血液中血小板的数量, 血小板计数是止血、凝血检查最常用的筛检试验之一。

【检测原理】 血小板计数的方法有显微镜计数法、血液分析仪法和流式细胞仪法, 其原理见表 2-66。

表 2-66 血小板计数检测原理

方法	原理
血液分析仪法	主要检测原理包括电阻抗法和(或)光(或荧光)散射法
流式细胞仪法	用免疫法荧光素标记特异的血小板单克隆抗体, 用流式细胞仪计数血小板
相差显微镜直接计数法	相差显微镜下, 血小板立体感增强, 有助于识别血小板
普通显微镜直接计数法	按不同的稀释液, 可分为破坏和不破坏红细胞的 PLT 计数

【方法学评价】 血小板计数的方法学评价见表 2-67。

表 2-67 血小板计数的方法学评价

方法	评价
血液分析仪法	①测定速度快、重复性好、准确性高, 能同时提供多项指标, 是目前常规筛检 PLT 的主要方法 ②不能完全排除非血小板有形成分(如红、白细胞碎片或杂物)以及血小板聚集的干扰, 故当 PLT 明显异常时, 仍需要显微镜复查 PLT 和(或)复查血涂片
流式细胞仪法	目前 ICSH 推荐的参考方法
相差显微镜直接计数法	易于识别血小板, 还可照相后核对计数结果, 作为手工法的参考方法
普通显微镜直接计数法	根据 PLT 稀释液是否破坏红细胞分为破坏和不破坏红细胞 2 种计数法 ①草酸铵稀释液: 破坏红细胞能力强, 血小板形态清晰易辨, 为首选稀释液 ②复方尿素稀释液: 使血小板肿胀后易辨认, 但尿素易分解, 不能完全破坏红细胞 ③高铁氰化钾稀释液: 不能完全破坏红细胞

【质量保证】 避免血小板被激活、破坏，避免杂物污染是血小板计数的关键。血小板计数不同检测阶段的质量保证见表 2-68。

表 2-68 血小板计数不同检测阶段的质量保证

阶段	质量保证
检测前	①采血是否顺利(采血时血流不畅可导致血小板破坏,使 PLT 假性减低) ②选用的抗凝剂是否合适(肝素抗凝血不能用于计数 PLT; EDTA 钾盐抗凝血标本取血后 1 小时内结果不稳定,可引起血小板聚集,1 小时后趋于平稳) ③储存温度及时间是否适当(血标本应保存于室温,低温可激活血小板,储存时间过久可导致 PLT 偏低)
检测中	①手工法应定期检查稀释液质量,先做稀释液空白计数,以确认稀释液是否存在细菌污染或其他杂质 ②仪器法必须先达到质控合格
检测后	核准 PLT 的方法有: ①用同一份标本制备血涂片染色后显微镜检查 PLT(正常可见 8~15 个/油镜视野),无大量血小板凝块和大型血小板等,同时注意有无异常增多的红细胞及白细胞碎片等,否则,易干扰 PLT 的准确性 ②用参考方法核对 ③同一份标本 2 次计数,误差 < 10%,取 2 次均值报告,若误差 > 10%,需做第 3 次计数,取 2 次相近结果的均值报告

【参考区间】 $(100\sim300)\times10^9/L$ 。

【临床意义】 血小板数量随着时间和生理状态的不同而变化,午后略高于早晨;春季低于冬季;平原居民低于高原居民;月经前减低,月经后增高;妊娠中晚期增高,分娩后减低;运动、饱餐后增高,休息后恢复;静脉血的血小板计数比毛细血管血高 10%。

另外,某些药物也可引起血小板变化。①引起血小板增多的药物有:口服避孕药、雌激素、肾上腺素、头孢菌素类、干扰素、类固醇、普萘洛尔、免疫球蛋白、重组人红细胞生成素等。②引起血小板减少的药物有:对乙酰氨基酚、阿司匹林、化疗药物、氯霉素、 H_2 受体阻断剂、盐酸氯喹、氯噻嗪、奎尼丁、苯妥英、利福平、磺胺、氯霉素、硝酸甘油、三环类抗抑郁药等。

血小板减少是引起出血的常见原因。当血小板计数为 $(20\sim50)\times10^9/L$ 时,可有轻度出血或手术后出血;低于 $20\times10^9/L$,可有较严重的出血;低于 $5\times10^9/L$ 时,可导致严重出血。血小板超过 $400\times10^9/L$ 为血小板增多。病理性血小板减少和增多的原因及临床意义见表 2-69。

表 2-69 病理性血小板减少和增多的原因及临床意义

血小板	原因	临床意义
减少	生成障碍	急性白血病、再生障碍性贫血、骨髓肿瘤、放射性损伤、巨幼细胞性贫血等
	破坏过多	特发性血小板减少性紫癜、脾功能亢进、系统性红斑狼疮等
	消耗过多	DIC、血栓性血小板减少性紫癜等
	分布异常	脾大、血液被稀释等
	先天性	新生儿血小板减少症、巨大血小板综合征等

续表

血小板	原因	临床意义
增多	原发性	慢粒、原发性血小板增多症、真性红细胞增多症等
	反应性	急性化脓性感染、大出血、急性溶血、肿瘤等
	其他	外科手术后、脾切除等

二、血小板形态检查

在计数血小板数量的同时，采用显微镜观察血涂片染色后的血小板形态、聚集性和分布情况，对判断、分析血小板相关疾病具有重要的意义。

(一) 正常血小板形态

正常血小板 (normal platelet) 呈两面微凸的圆盘状，直径约 1.5~3μm，新生血小板体积大，成熟者体积小。在血涂片上血小板往往散在或成簇分布，其形态多数为圆形、椭圆形或略欠规则形；胞质呈淡蓝或淡红色，有细小、分布均匀而相聚或分散于胞质中的紫红色颗粒 (图 2-53)。

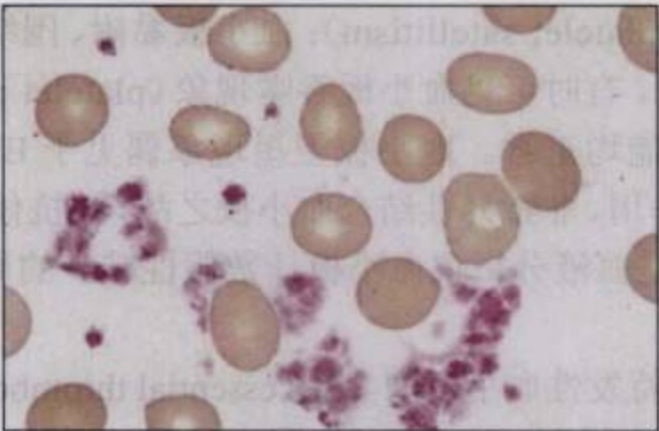


图 2-53 正常血小板

(二) 异常血小板形态

1. 大小异常 血小板可出现明显的大小不均变化。生理情况下，血小板大小所占的比例不一致，巨型为 0.7%~2.0%，大型为 8%~16%，中型为 44%~49%，小型为 33%~44%。大血小板多为年轻血小板，在血液分析仪荧光染色检测参数中为网织血小板 (计数)，血小板内含大量 RNA。年轻血小板由骨髓新近释放，可显示于新亚甲蓝染色的血涂片中。

(1) 大血小板 (giant platelet): 直径为 4~7μm，巨型血小板直径 > 7μm，常为 7~20μm，也可 > 20μm，胞质中嗜天青颗粒细小或融合为大颗粒 (图 2-54)，主要见于特发性血小板减少性紫癜 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)、粒细胞白血病、血小板无力症、巨大血小板综合征、骨髓增生异常综合征和脾切除后等。病理情况下，年轻血小板数量增加，见于血小板破坏增加的血小板减少症、骨髓移植后、血栓性血小板减少性紫癜治疗后等。

(2) 小血小板 (small platelet): 直径 < 1.5μm，主要见于缺铁性贫血、再生障碍性贫血、特发性血小板减少性紫癜等。

2. 形态异常 血小板可以出现杆状、逗点状、蝌蚪状、蛇形和丝状突起等异常形态，健

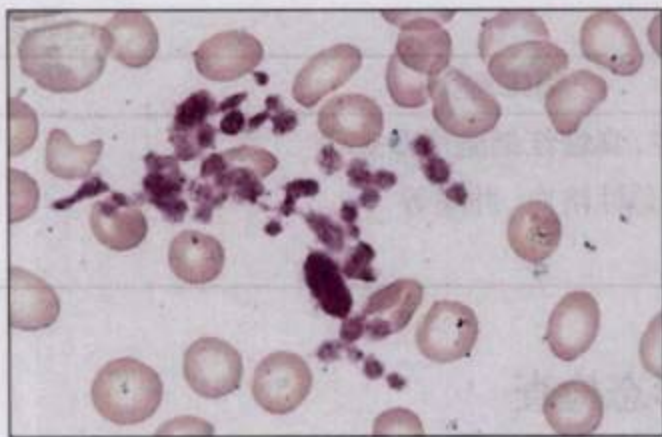


图 2-54 大血小板



图 2-55 异常形态血小板

常人偶见(少于2%)(图2-55)。影响血小板形状改变的因素很多,各种形态异常又无特异性。因此,不规则和畸形的血小板比值超过10%时才有临床意义。

3. 聚集性和分布异常 血小板聚集、分布状态可间接反映其功能。聚集功能正常的血小板在非抗凝血的外周血涂片中常可见3~5个聚集成簇或成团,聚集与散在的血小板之比为20:1。在EDTA抗凝血的血涂片中,可见血小板不聚集而呈散在分布状态或出现诱发的血小板聚集现象。

(1) 血小板卫星现象(platelet satellitism): 血小板黏附、围绕于中性粒细胞周围(或偶尔黏附于单核细胞)的现象,有时可见血小板吞噬现象(platelet phagocytosis)。此时,血小板和中性粒细胞形态和功能均正常。血小板卫星现象偶见于EDTA抗凝血(图2-56),因EDTA和免疫球蛋白相互作用、非特异性结合血小板之故,被抗体包被的血小板与中性粒细胞结合。血小板卫星现象是血液分析仪血小板计数假性减少的原因之一(血小板被误计为白细胞)。

(2) 血小板片状聚集: 特发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)和血小板增多的慢性粒细胞白血病,血小板可呈大片聚集(图2-57)。

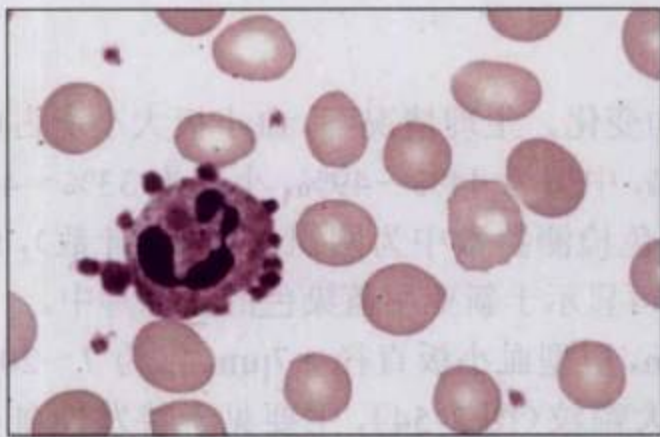


图 2-56 血小板卫星现象

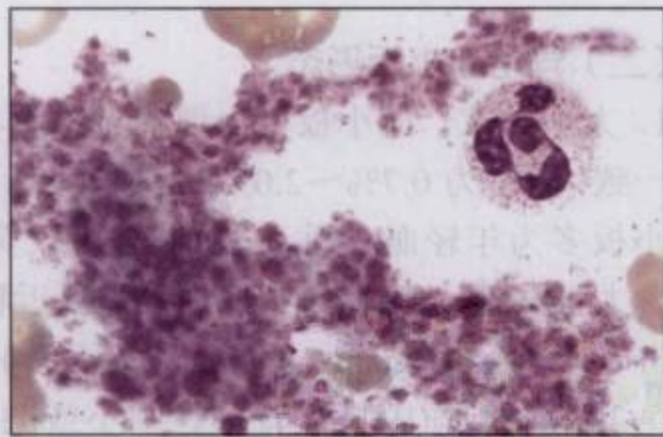


图 2-57 血小板聚集

(3) 血小板减少: 再生障碍性贫血和特发性血小板减少性紫癜因血小板数量少,血小板聚集成团的情况明显减少。

(4) 血小板功能异常: 血小板无力症时血小板无聚集功能,且散在分布,不出现聚集成团的现象。

(姜忠信)

第四节 血栓与止血一般检查

血液凝固(简称凝血)是由凝血因子按一定顺序相继激活而生成凝血酶,最终使纤维蛋白原变为纤维蛋白的过程。在生理情况下,人体的凝血、抗凝血与纤维蛋白溶解(纤溶)系统相互作用、相互制约,并受神经-体液的调节,使血液既不溢出血管壁而出血,也不在血管内发生凝固而导致血栓形成。但在病理情况下,凝血功能亢进、抗凝血或纤溶功能降低,可引起血栓前状态或血栓形成;反之,则可导致低凝状态或出血。

血栓与止血试验能够为出血性与血栓性疾病的诊断和治疗提供必要依据。国际血栓与止血学会(International Society on Thrombosis and Hemostasis, ISTH)相关检验项目中血栓与止血试验大约有 130 项。本节仅介绍血栓与止血的一般检查,其中 BT、PLT、PT、APTT、Fg 和 TT 等对出血性疾病的初始评估十分重要,而 D-D 和 FDP 等主要用于纤溶活性的检查。

一、血栓与止血常用筛检试验

(一) 出血时间

在特定条件下,皮肤小血管被刺破后,血液自行流出到自然停止的时间称为出血时间(bleeding time, BT)。BT 异常与血小板数量和功能、血管壁完整性、某些凝血因子缺乏等有关。

【检测原理】

1. 出血时间测定器法 出血时间测定器法(template bleeding time, TBT)采用血压计袖带缚于上臂并加压,成人维持在 5.3kPa(40mmHg)、儿童维持在 2.6kPa(20mmHg),在肘窝下二横指处消毒皮肤,并轻轻绷紧皮肤,将出血时间测定器贴于消毒皮肤表面,按动按钮,使刀片由测定器内弹出并刺入皮肤,见切口出血即启动秒表计时,每隔 30 秒,用干净滤纸吸取流出的血液,直至出血自然停止,按停秒表计时。

2. Ivy 法 先在上臂用血压计袖带施加压力后,再在前臂规定的范围内用刺血刀作皮肤切口,观察血液从切口流出到自然停止的时间。

【方法学评价】 BT 测定属于体内试验,操作较为复杂,即使是 TBT 也难以获得真正的“标准切口”,其应用受到一定限制。因此,BT 目前不作为常用筛检试验。BT 测定方法有 Duke 法、Ivy 法和 TBT 法,其方法学评价见表 2-70。

表 2-70 BT 测定的方法学评价

方法	评价
TBT 法	使用标准的出血时间测定器,能够使皮肤切口的深度、长度相对恒定,重复性好和灵敏度高,是目前推荐的方法
Ivy 法	传统方法,虽然在上臂施加了固定的压力,但因直接使用刺血刀作皮肤切口,切口深度和长度仍未能达到标准化,灵敏度较差,已趋向淘汰
Duke 法	传统方法,操作简单,但穿刺深度、长度难以标准化,灵敏度差,已淘汰

【质量保证】

1. 减少药物的影响 检测前 1 周内不能服用抗血小板药物(如阿司匹林等),以免影响结果。

2. 选择合适的测定器 不同年龄应该选择不同类型的出血时间测定器。①新生儿型：切口为 $0.5\text{mm} \times 2.5\text{mm}$ 。②儿童型：切口为 $1.0\text{mm} \times 3.5\text{mm}$ 。③成人型：切口为 $1.0\text{mm} \times 5.0\text{mm}$ 。
3. 注意温度的影响 应在 25°C 左右的室内进行，以保证穿刺部位温度恒定。
4. 选择正确穿刺部位 穿刺时应避开浅表静脉、疤痕、水肿和溃疡等处皮肤。
5. 避免接触和挤压伤口 血液应自行流出，采用滤纸吸去流出的血液时，应避免滤纸与伤口接触，更不能挤压伤口。

【参考区间】 TBT: (6.9 ± 2.1) 分钟。

【临床意义】

1. BT 延长 主要涉及血小板和血管壁的一期止血缺陷。①血小板数量异常，如血小板减少症、原发性血小板增多症。②血小板功能缺陷，如血小板无力症、巨大血小板综合征。③某些凝血因子缺乏，如血管性血友病(vWD)、低(无)纤维蛋白原血症和 DIC。
2. BT 缩短 某些严重的血栓性疾病。

(二) 血小板计数

血小板是常用的血液一般检验项目之一，也是重要的血栓与止血筛检试验之一，具体内容见本章第三节。

(三) 凝血酶原时间

凝血酶原时间(prothrombin time, PT)是在体外模拟体内外源性凝血的全部条件，测定血浆凝固所需的时间。PT 是常用的外源性凝血途径和共同凝血途径的筛检指标之一。

【检测原理】 手工法和血液凝固仪法均采用 Quick 一步凝固法。 37°C 条件下，在待检血浆中加入足量的组织凝血活酶(含组织因子、磷脂)和适量的钙离子，通过激活因子 VII 而启动外源性凝血途径，使乏血小板血浆凝固。从加钙离子到血浆开始凝固所需的时间即为凝血酶原时间(图 2-58)。

目前，PT 测定已普遍使用血液凝固仪，它是通过仪器连续记录血浆凝固过程中的一系列变化(如光、电、机械运动等)，并将这些变化信号转变成数据，用计算机收集、处理数据后

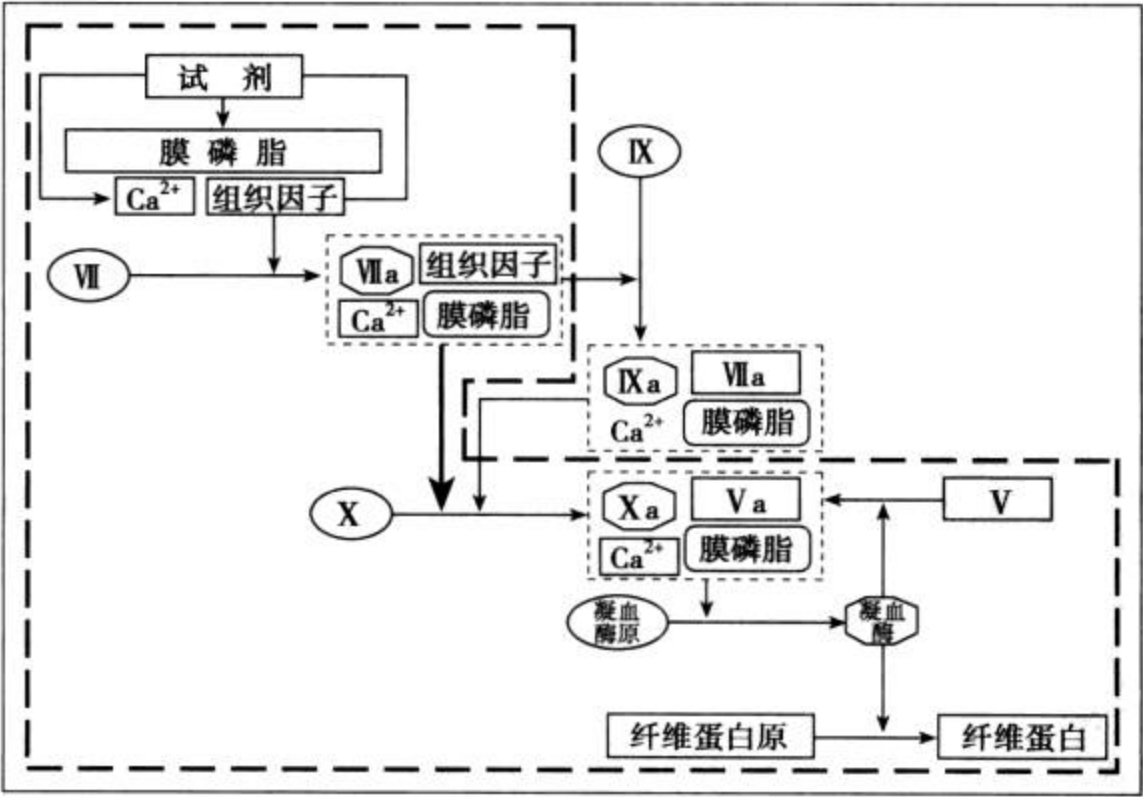


图 2-58 PT 检测原理

得出检测结果。血液凝固仪对 PT 测定的 3 种方法与检测原理见表 2-71。

表 2-71 血液凝固仪 PT 测定方法与检测原理

方法	检测原理
光学法	在血浆凝固过程中,纤维蛋白原逐渐转变成纤维蛋白,血浆浊度发生变化,当一束光通过反应杯时,其透射光(透射比浊法)或散射光(散射比浊法)的强度也会随之发生改变,可根据光强度的变化来判断血浆凝固终点
电流法	又称钩方法。纤维蛋白具有导电性,将电极插入标本中,利用两电极之间电流的通断来判断纤维蛋白是否形成,以此确定血浆凝固终点
磁珠法	又称黏度法。血浆凝固时血浆黏度增高,使正在磁场中运动的小磁珠运动强度减弱,由此判断血浆凝固终点

【方法学评价】 PT 测定的方法学评价见表 2-72。

表 2-72 PT 测定的方法学评价

方法	评价
手工法(试管法)	重复性差,耗时,但操作简单,不需特殊仪器,准确性好,为仪器校准的参考方法
仪器法	操作简便、快速,结果重复性好;目前常采用光学法和磁珠法。磁珠法的检测结果不受黄疸、乳糜、溶血标本的干扰,但反应杯中需要加入磁珠,成本高

【质量保证】 血液标本采集和处理、仪器和试剂、检测温度等各种因素都对 PT 的检测结果产生影响。因此,全面质量控制对保证 PT 检测结果的准确性十分重要。

1. 检测前 包括患者准备、血液标本采集、转运和处理等,其要求见表 2-73。

表 2-73 PT 测定等止凝血试验对标本的要求

项目	要求
患者准备	停用影响止凝血功能的药物至少 1 周
容器	真空采血管、硅化玻璃管或塑料管
抗凝剂	ICSH 推荐的抗凝剂为 109mmol/L 枸橼酸钠,其与血液的容积比为 1:9
采血	止血带使用时间不超过 60 秒,采血要顺利,加血液至抗凝管后,应立即轻轻地颠倒混匀 5~8 次,避免标本溶血和凝固
运送标本	及时送检,因为血液离体后,凝血因子逐渐消耗,随着标本存放时间延长,其消耗加快
不合格标本	创伤性或留置导管的血液标本、溶血或凝块形成的标本、输液时同侧采集的标本均不宜做 PT 等止凝血试验
离心标本	按规定离心力与离心时间要求,及时分离标本,获得乏血小板血浆

2. 检测中

(1) 测定:手工法的试剂、标本温浴时间应控制在 3~10 分钟内,测定温度应控制在 (37±1)℃,准确判断血浆凝固终点(纤维蛋白形成)是 PT 测定结果准确性的关键。仪器法测定必须按规范操作要求进行,不能随意改变测定条件。

(2) 组织凝血活酶(thromboplastin)的质量: PT 的灵敏度依赖于组织凝血活酶的质量。组织凝血活酶来自组织提取物(内含丰富的凝血活酶、组织因子和磷脂);现在也用纯化的重组组织因子(recombinant-tissue factor, r-TF)加磷脂作试剂,而且 r-TF 比动物性凝血活酶

对 FII、FVII、FX 的灵敏度更高。由于组织凝血活酶的来源和制备方法不同,PT 测定结果差异较大,可比性较差,特别影响对口服抗凝剂治疗效果的监测。因此,必须使用标有国际敏感指数(international sensitivity index, ISI)的 PT 试剂。

(3) ISI 和国际标准化比值(international normalization ratio, INR): 1967 年,WHO 将人脑凝血活酶标准品(批号 67/40)作为标定不同来源组织凝血活酶 ISI 的参考品,其 ISI 确定为 1.0。ISI 值越接近 1.0,表示其灵敏度越高。现用的凝血活酶国际参考品是组织提取物生理盐水制剂 BCT/253(人脑或胎盘制剂)和 RBT/79(兔和兔-猴组织混合制剂),复合凝血活酶国际参考品是组织提取物生理盐水制剂加入 FV、氯化钙、纤维蛋白原,如 OBT/79(牛组织制剂)。其他各种组织凝血活酶 ISI 需要按照新的参考品 ISI 进行标定,其标定方法按照 ICSH 公布的参考方法进行。ISI 为组织凝血活酶参考品与每批组织凝血活酶 PT 校正曲线的斜率,即在双对数的坐标纸上,纵坐标为用参考品测定的 PT 对数值,横坐标为用待标定的组织凝血活酶测定的相同标本 PT 对数值。

为了尽可能地消除不同组织凝血活酶灵敏度的差异对 PT 测定结果的影响,1985 年,ICSH 等发布了在口服抗凝剂监测中,推荐使用 INR 报告 PT 结果的文件。INR 计算公式为:

$$INR = (\text{患者 PT 值} / \text{健康人平均 PT 值})^{ISI}$$

(4) 正常对照值: WHO 等机构要求,每次(每批)PT 测定的正常对照值,必须采用至少来自 20 名以上男女各半的健康人混合血浆所测定的结果。目前,商品化参考血浆常用 100 名健康男女各半的混合血浆作为正常对照用的标准血浆。

(5) 室内质量控制(internal quality control, IQC): 在操作规范、仪器运行稳定和使用标准试剂的条件下,对 PT 质控物(正常值与高值 2 种质控物)进行 20 次以上测定,计算其测定结果的均值(\bar{x})与标准差(s),绘制 Levey-Jennings 质控图,采用“Westgard 多规则质控方法”判断质控状态;每次测定应将标本和质控物同时测定,以反映测定结果的准确性。另外,参加室间质量评价(external quality assessment, EQA)的结果,可作为评价实验室检测质量的客观证据。

3. 检测后

(1) PT 报告方式: PT(s)、INR、凝血酶原比率(prothrombin rate, PTR)、凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA),其评价见表 2-74。

表 2-74 PT 报告方式与评价

报告方式	评价
PT(s)	必须使用的方式,因为试剂不同,其结果差异大,但要同时报告正常对照值
INR	当口服抗凝剂患者治疗监测时,必须使用的报告方式
PTR	$PTR = \text{被检血浆 PT} / \text{正常对照血浆 PT}$,现已少用
PTA	为被检血浆相当于正常对照血浆凝固活性的百分率,可用于评估肝受损程度

(2) PT 结果审核与复查: 应该结合标本质量和临床诊断等对结果作出综合判断后,才能发出正确的检验报告。重视异常结果的复查,必要时重新采集标本进行复查,并加强与临床沟通,及时掌握反馈信息。

【参考区间】 每个实验室必须建立相应的参考区间。① PT: 成人 11~13 秒,超过正常对照值 3 秒为异常。② INR: 因 ISI 不同而异。③ PTR: 成人 0.85~1.15。④ PTA: 70%~130%。

【临床意义】

1. PT 延长 ①先天性 FII、FV、FVII、FX 缺乏症和低(无)纤维蛋白原血症。②获得性凝血因子缺乏,如严重肝病、维生素 K 缺乏症(影响 FII、FVII、FIX、FX 合成)、原发纤溶亢进症、DIC 等。③血循环中存在抗凝物质,如口服抗凝剂等。

2. PT 缩短 ①先天性 FV 增多症。②高凝状态和血栓性疾病。③药物影响,如长期服用避孕药等。

(四) 活化部分凝血活酶时间

活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)是在体外模拟体内内源性凝血的全部条件,测定血浆凝固所需的时间,以反映内源性凝血因子、共同途径是否异常和血液中是否存在抗凝血物质,是常用而且比较灵敏的内源性凝血系统的筛检指标之一。

【检测原理】 37℃条件下,在待检血浆中加入足量的活化接触因子激活剂(如白陶土)和部分凝血活酶(代替血小板磷脂),再加入适量的钙离子,即可通过激活 FXII 而启动内源性凝血途径,使乏血小板血浆凝固。从加入钙离子到血浆开始凝固所需的时间即为 APTT (图 2-59)。

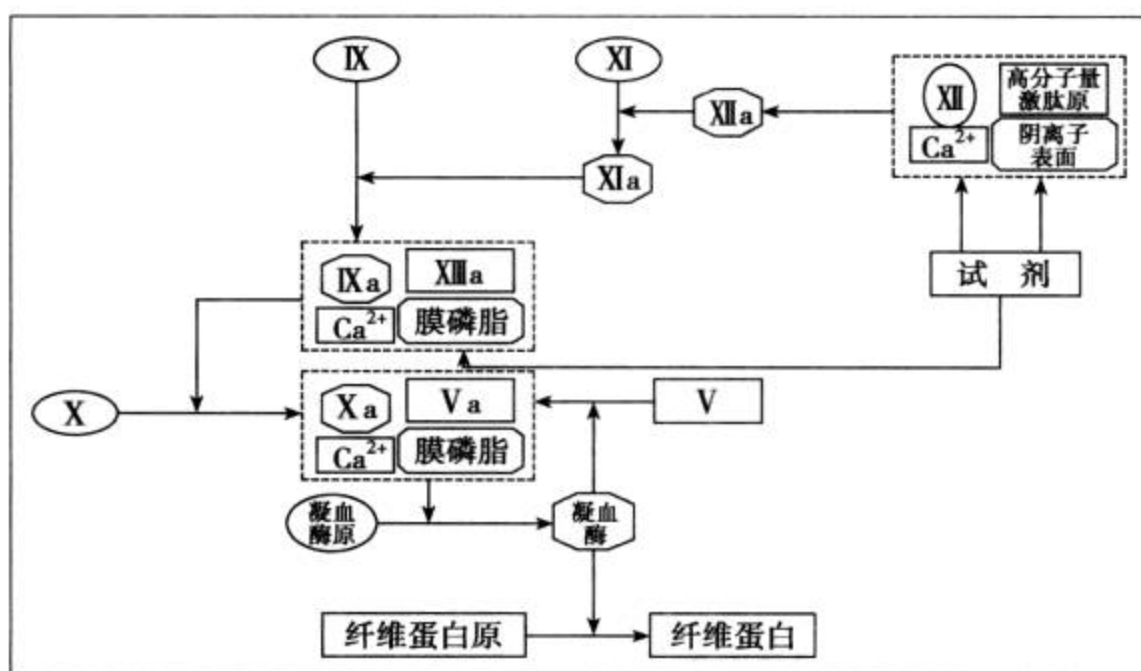


图 2-59 APTT 检测原理

【方法学评价】 与 PT 试验相同。

【质量保证】

1. 检测前 与 PT 试验相同。但应注意冷冻血浆可降低 APTT 对狼疮抗凝物(lupus anticoagulant, LAC)与 FXII、FXI 等缺乏的灵敏度。

2. 检测中 其室内质量控制与 PT 试验相同。APTT 试剂是激活剂和部分凝血活酶的混合物。因其来源及制备方法不同,可影响 APTT 测定结果。

(1) 激活剂: 有对凝血因子相对灵敏的白陶土(此时 APTT 又称为 kaolin partial thromboplastin time, KPTT)、对肝素相对灵敏的硅藻土(diatomaceous earth; celite)、对狼疮抗凝物相对灵敏的鞣花酸(ellagic acid)等。即使是同一种激活剂,其质量也可有很大差别,高质量激活剂的激活作用更迅速,在一定程度上消除了接触激活造成的误差。

(2) 部分凝血活酶(磷脂): 磷脂可来源于人、动物或植物, 主要来源于兔脑组织(脑磷脂)。一般选用对 FⅧ、FIX 和 FXI 的血浆浓度为 200~250U/L 灵敏的试剂。对于同种 APTT 试剂, 若测定正常对照血浆结果明显延长, 则提示其质量不佳。

3. 检测后 与 PT 试验相同。

【参考区间】 25~35 秒, 超过正常对照值 10 秒为异常。由于使用不同 APTT 试剂, 其检测结果存在差异。因此, 每个实验室必须建立相应的参考区间。

【临床意义】 APTT 是检测内源性凝血因子是否缺乏的比较灵敏的试验, 而且检测 FⅧ、FIX 的灵敏度比 FXI、FXII 和共同途径中凝血因子更高, 能检出 FⅧ: C < 25% 的轻型血友病, 故已替代试管法凝血时间(clotting time, CT)。但是, 单一因子(如 FⅧ)活性增高可使 APTT 缩短, 其结果则可能掩盖其他凝血因子缺乏。

1. APTT 延长 ① FⅧ、FIX 水平降低的血友病甲、乙, FXI 缺乏症, 部分血管性血友病。② FⅠ、FⅡ、FV、FX 严重缺乏, 如严重肝脏疾病、维生素 K 缺乏症等。③原发性或继发性纤溶亢进。④口服抗凝剂、应用肝素等。⑤血液循环中存在病理性抗凝物质, 如抗 FⅧ或 FIX 抗体、狼疮样抗凝物等。

2. APTT 缩短 高凝状态和血栓性疾病, 如 DIC 高凝期、心肌梗死、深静脉血栓形成等。

(五) 纤维蛋白原

纤维蛋白原(fibrinogen, Fg)是由肝脏合成, 是血浆浓度最高的凝血因子。Fg 浓度或功能异常均可导致凝血障碍。因此, Fg 是出血性疾病与血栓性疾病诊治中常用的筛检指标之一。Fg 检测方法有多种, 有的准确性较差(如双缩脲法、热沉淀比浊法等), 已趋向淘汰。目前常用的方法有 Clauss 法、PT 衍生法等。

【检测原理】 Clauss 法、PT 衍生法等方法的检测原理见表 2-75。

【方法学评价】 Fg 检测的方法学评价见表 2-76。

表 2-75 纤维蛋白原检测方法与检测原理

方法	检测原理
Clauss 法	即凝血酶法。在被检血浆中加入足量的凝血酶, 血浆即凝固, 其凝固时间与 Fg 浓度呈负相关, 从国际标准品 Fg 参比血浆测定的标准曲线中可获得 Fg 浓度
PT 衍生法	基于 PT 反应曲线差值来确定 Fg 浓度的方法。仪器法完成测定 PT 时, Fg 全部变成纤维蛋白, 其浊度与 Fg 浓度成正比(无须加凝血酶), 可采用终点法或速率法换算出 Fg 浓度
酶联免疫法	用辣根过氧化物酶标记的抗 Fg 单克隆抗体, 应用双抗体夹心法 ELISA 检测 Fg 浓度
热沉淀比浊法	血浆经磷酸二氢钾-氢氧化钾缓冲液稀释后, 加热至 56℃, 使 Fg 凝集, 比浊法测定其浓度
双缩脲法	用 12.5% 亚硫酸钠溶液将血浆 Fg 沉淀分离, 以双缩脲法检测

表 2-76 Fg 检测的方法学评价

方法	评价
Clauss 法	为 Fg 功能检测方法, 操作简单, 结果可靠, WHO 推荐的参考方法
PT 衍生法	操作简单, 成本低, 但是其灵敏度高, 在 Fg 浓度异常时, 测定结果往往偏高, 主要适用于健康人群或 Fg 浓度正常的人群
其他方法	如热沉淀比浊法、化学法, 操作繁琐, 测定结果与生理性 Fg 不一定呈平行关系

【质量保证】

1. 保证结果的可靠性和准确性 ① Fg 参比血浆必须与待检血浆平行测定, 以保证测定结果的可靠性。②当 Clauss 法测定结果超出其检测线性时, 必须改变稀释度, 并重新测定, 才能保证其结果的准确性。如 $Fg > 5.00g/L$ 时, 可将原来设定的稀释度 1:10 改变为 1:20, 其检测结果乘以 2。

2. 注意异常结果的复查 ①当标本中存在异常 Fg、纤维蛋白(原)降解产物(FDP)、肝素和类肝素抗凝物质时, Clauss 法测定的 Fg 浓度可假性减低或测不出, 此时, 需用其他方法(如 PT 衍生法)复查。② PT 衍生法检测结果可疑时(如结果过高或过低), 则采用 Clauss 法复查。

【参考区间】 成人: 2.00~4.00g/L; 新生儿: 1.25~3.00g/L。

【临床意义】

1. Fg 增高 Fg 是一种急性时相反应蛋白, 其增高可能是一种非特异性反应。①感染: 毒血症、肺炎、亚急性细菌性心内膜炎等。②无菌性炎症: 肾病综合征、风湿热、风湿性关节炎等。③血栓前状态与血栓性疾病: 糖尿病、急性心肌梗死等。④恶性肿瘤。⑤外伤、烧伤、外科手术后、放射治疗后。⑥其他: 妊娠晚期、妊娠高血压综合征等。

2. Fg 减低 ①原发性纤维蛋白原减少或结构异常: 低或无纤维蛋白原血症、异常纤维蛋白原血症。②继发性纤维蛋白原减少: DIC 晚期、纤溶亢进、重症肝炎和肝硬化等。

(六) 凝血酶时间

凝血酶时间(thrombin time, TT)是反映血浆中纤维蛋白原转变为纤维蛋白的筛检指标之一。TT 延长主要反映 Fg 浓度减少或功能异常以及血液中存在相关的抗凝物质(肝素、类肝素等)。

【检测原理】 37℃条件下, 在待检血浆中加入“标准化”凝血酶后, 直接将血浆纤维蛋白原转变为纤维蛋白, 使乏血小板血浆凝固, 其凝固时间即为 TT。

【方法学评价】 与 PT 试验相同。

【质量保证】 与 PT 试验相同。

【参考区间】 16~18 秒, 超过正常对照值 3 秒为异常。由于试剂中凝血酶浓度不同, 其检测结果存在差异。因此, 每个实验室必须建立相应的参考区间。

【临床意义】

1. TT 延长 ①低(无)纤维蛋白原血症和异常纤维蛋白原血症, 其中更多见于获得性低纤维蛋白原血症。②肝素或类肝素抗凝物质, 如肝素治疗、肿瘤和系统性红斑狼疮等。③原发性或继发性纤溶亢进时(如 DIC), 由于 FDP 增多对凝血酶有抑制作用, 可导致 TT 延长。

2. TT 缩短 一般无临床意义。

(七) 纤维蛋白(原)降解产物

Fg、可溶性纤维蛋白、纤维蛋白多聚体和交联纤维蛋白均可被纤溶酶降解, 生成纤维蛋白(原)降解产物(fibrin/fibrinogen degradation products, FDP)。血液 FDP 浓度增高是体内纤溶亢进的标志, 但不能鉴别原发性纤溶亢进与继发性纤溶亢进。FDP 中 X、Y、D 和 E 等片段具有纤维蛋白原的抗原决定簇, 用其免疫动物可获得抗 FDP 抗体。因此, 通过免疫学方法可检测血浆 FDP 浓度。

【检测原理】

- 1. 胶乳凝集试验 FDP 与包被在胶乳颗粒上的抗 FDP 抗体发生抗原 - 抗体反应, 若 FDP \geq 5 mg/L 时, 出现肉眼可见的凝集反应。
- 2. ELISA 法 FDP 与包被在固相载体上(聚苯乙烯反应板)的抗 FDP 抗体发生抗原 - 抗体反应, 再加入酶标记的抗 FDP 抗体, 即形成抗体 - 抗原 - 抗体复合物, 加入底物液使底物显色, 颜色深浅与血浆 FDP 浓度成正比。
- 3. 仪器法(免疫比浊法) FDP 与抗 FDP 抗体胶乳颗粒发生抗原抗体反应, 产生凝集以致浊度增加, 仪器通过测定浊度变化, 并与标准曲线比较, 求出 FDP 浓度。

【方法学评价】 FDP 测定的方法学评价见表 2-77。

表 2-77 FDP 测定的方法学评价

方法	评价
胶乳凝集试验	操作简单、快速, 是目前 FDP 测定常用的方法
ELISA 法	可作定量测定, 但操作较复杂, 影响因素较多
仪器法(免疫比浊法)	操作较简单、快速, 结果准确, 易于质控, 但成本较高

【质量保证】

- 1. 质控品的检测 同时检测配套质控品。
- 2. 胶乳凝集试验 血浆中存在高浓度的类风湿因子时, 可致假阳性反应。
- 3. 免疫比浊法 超出线性范围的标本需要稀释后重新检测, 结果乘以稀释倍数。
- 4. FDP 定量测定 选用的方法与试剂不同, 其检测结果存在差异。因此, 每个实验室必须建立相应的参考区间。

【参考区间】 阴性(<5mg/L)。

【临床意义】 FDP 阳性或 FDP 浓度增高见于原发性纤溶亢进, 或继发性纤溶亢进, 如 DIC、肺栓塞、深静脉血栓形成、恶性肿瘤、肝脏疾病、器官移植排斥反应和溶栓治疗等。

(八) D- 二聚体

D- 二聚体(D-dimer, D-D)是交联纤维蛋白的降解产物之一。因为继发性纤溶中纤溶酶的主要作用底物是纤维蛋白, 生成特异性 FDP 即为 D-D, 所以 D-D 是继发性纤溶特有代谢产物。用 D-D 免疫动物可获得抗 D-D 抗体, 因此, 通过免疫学方法检测血浆 D-D 浓度。

【检测原理】

- 1. 胶乳凝集试验 D-D 与包被在胶乳颗粒上的抗 D-D 抗体发生抗原 - 抗体反应, 若 D-D \geq 250 μ g/L 时, 出现肉眼可见的凝集反应。
- 2. ELISA 法 D-D 与包被在固相载体上的抗 D-D 抗体发生抗原 - 抗体反应, 再加入酶标记的抗 D-D 抗体, 即形成抗体 - 抗原 - 抗体复合物, 加入底物液使底物显色, 颜色深浅与 D-D 浓度成正比。
- 3. 仪器法(免疫比浊法) D-D 与抗 D-D 抗体胶乳颗粒发生抗原抗体反应, 产生凝集以致浊度增加, 仪器通过测定浊度变化, 并与标准曲线比较, 求出 D-D 浓度。

【方法学评价】 与 FDP 测定相同。

【质量保证】

- 1. 质控品的检测 同时检测配套质控品。

2. 免疫比浊法 超出线性范围的标本，需要稀释 10 倍后重新检测，结果乘以 10。

3. D-D 定量测定 选用的方法和试剂不同，其检测结果存在差异。因此，每个实验室必须建立相应的参考区间。

【参考区间】 阴性(<250μg/L)。

【临床意义】 健康人血液 D-D 浓度很低，而在血栓形成与继发性纤溶时 D-D 浓度显著增高。因此，D-D 是 DIC 实验诊断中特异性较强的指标，并在排除血栓形成中有重要价值。
① DIC、深静脉血栓、肺栓塞、脑梗死、心肌梗死、严重肝脏疾病、慢性肾炎、急性白血病等 D-D 浓度增高。
② D-D 是诊断深静脉血栓和肺栓塞的主要筛检指标之一，对临床上疑似深静脉血栓和肺栓塞，当 D-D 阴性时，可排除诊断。
③ 继发性纤溶亢进(如 DIC) D-D 浓度增高，而在原发性纤溶亢进早期 D-D 浓度正常，可作为两者的鉴别指标之一。

二、血栓与止血常用筛检试验的临床应用

(一) 止血缺陷筛检

1. 一期止血缺陷筛检试验的临床应用 一期止血缺陷是指血管壁和血小板缺陷所致的出血性疾病，常用筛检试验有 BT 和 PLT，其临床应用见表 2-78。

表 2-78 一期止血缺陷筛检试验及其临床应用

筛检试验结果	临床应用
BT 延长, PLT 减少	血小板数量减少所致的特发性或继发性血小板减少性紫癜
BT 延长, PLT 增多	血小板数量增多所引起的原发性或反应性血小板增多症
BT 延长, PLT 正常	血小板功能异常或某些凝血因子缺陷所引起的出血性疾病。血小板无力症、致密颗粒缺陷症、α 颗粒缺陷症和血小板第 3 因子缺陷症等，血管性血友病、低(无)纤维蛋白原血症和异常纤维蛋白原血症等
BT 正常, PLT 正常	由于单纯血管壁通透性和(或)脆性增加所致的血管性紫癜，如过敏性紫癜、单纯性紫癜、异常蛋白血症所致的血管性紫癜等

2. 二期止血缺陷筛检试验的临床应用 二期止血缺陷是指凝血因子缺陷或存在病理性抗凝物质所致的出血性疾病，常用筛检指标有 PT、APTT，其临床应用见表 2-79。另外，APTT、PT 均延长时，可进一步选用 Fg 作为其筛检指标，若 Fg 浓度降低，则多见于继发性纤维蛋白原减少，少见于原发性纤维蛋白原减少或结构异常。

表 2-79 二期止血缺陷的筛检试验及其临床应用

筛检试验结果	临床应用
APTT 延长, PT 正常	内源性凝血途径缺陷，如血友病甲、乙，FXI 缺陷症；血循环中有狼疮样抗凝物、抗 FVIII 或抗 FIX 抗体存在；DIC 时 FVIII、FIX、FXI 降低，肝脏疾病时 FIX、FXI 减少，口服抗凝剂时 FIX 降低等
APTT 正常, PT 延长	外源性凝血途径缺陷，如遗传性和获得性 FVII 缺陷症，获得性常见于肝脏疾病、DIC、血循环中有抗 FVII 抗体存在和口服抗凝剂等
APTT 延长, PT 延长	由于共同途径凝血缺陷，如遗传性和获得性 FX、FV、FII 和 FI 缺乏症，获得性主要见于肝脏疾病和 DIC 等
APTT 正常, PT 正常	遗传性或获得性 FXIII 缺乏症，获得性见于严重肝脏疾病、恶性淋巴瘤、白血病、抗 FXIII 抗体、自身免疫性溶血性贫血和恶性贫血等

3. 纤溶亢进性出血筛检试验的临床应用 纤溶亢进性出血是指纤维蛋白(原)等被纤溶酶降解所引起的出血,常用筛检指标有 FDP、D-D,其临床应用见表 2-80。另外,也可选用 TT 作为其筛检指标,纤维蛋白原降低、FDP 阳性或 FDP 浓度增高,TT 延长,但要排除存在肝素或类肝素抗凝物质的可能。

表 2-80 纤溶亢进性出血筛检试验及其临床应用

筛检试验结果	临床应用
FDP 正常, D-D 正常	无纤溶亢进,即出血症状可能与纤溶无关
FDP 阳性, D-D 正常	多为 FDP 假阳性,或原发性纤溶症
FDP 正常, D-D 阳性	多为 FDP 假阴性,或继发性纤溶症
FDP 阳性, D-D 阳性	多为继发性纤溶症,如 DIC、溶栓治疗后

(二) 手术前止凝血功能筛检

手术前止凝血功能主要是根据患者的病史(出血史和家族史)、体格检查和实验室检查 3 方面资料进行综合判断的。其中,实验室检查一般要联合应用 APTT、PT 和 PLT。如临床有出血史时,另加出血时间测定器法进行 BT 检测。

(三) DIC 实验诊断

DIC 是在许多疾病基础上,凝血及纤溶系统被激活,导致全身微血栓形成,凝血因子大量被消耗并继发纤溶亢进,引起全身性出血及微循环衰竭的临床综合征。DIC 的实验诊断既是诊断 DIC 的重要组成部分,又是治疗 DIC 的重要参考依据。DIC 常用筛检指标有 PLT、Fg、FDP 和 PT,同时具有其中 3 项以上异常即可实验诊断 DIC(表 2-81)。DIC 实验诊断中必须采用筛检试验进行动态观察,当 PLT 和 Fg 进行性降低,而 FDP 或 D-D 浓度进行性增高时,则更有诊断意义。

表 2-81 DIC 的筛检试验及其诊断标准

项目	诊断标准
PLT	$<100 \times 10^9/L$ (肝病、白血病 $PLT < 50 \times 10^9/L$) 或进行性下降
Fg	$<1.5g/L$ (肝病 $Fg < 1.0g/L$ 、白血病 $Fg < 1.8g/L$, 高凝期 $Fg > 4.0g/L$) 或进行性下降
FDP 或 D-D	$FDP > 20mg/L$ (肝病、白血病 $FDP > 60mg/L$) 或 D-D 浓度增高(阳性)
PT 或 APTT	PT 缩短或延长 3 秒以上(肝病、白血病 PT 延长 5 秒以上),或 APTT 延长 10 秒以上

(四) 监测抗凝与溶栓治疗

1. 抗凝治疗监测 常用的监测指标为 INR、APTT。INR 是口服抗凝剂(如华法林)治疗监测的首选指标。口服抗凝剂抗凝治疗的 INR 监测结果及其治疗评价见表 2-82。APTT 是监测普通肝素治疗较灵敏的指标,通常以 APTT 维持在其基础值的 1.5~2.5 倍为宜,不宜超过 2.5 倍。

2. 溶栓治疗监测 常用的监测指标为 Fg、TT。使用链激酶、尿激酶等溶栓治疗,一般认为 Fg 维持在 1.2~1.5g/L 为宜,若低于 1.0g/L,则有出血的可能;TT 维持在其基础值的 1.5~2.5 倍,则可达到较好的治疗效果。

表 2-82 口服抗凝剂抗凝治疗的 INR 监测结果及其治疗评价

INR	评价
>4.5	如果 Fg 和 PLT 仍正常,则提示抗凝过度,应减少或停止用药
<4.5	同时伴有 Fg 和(或)PLT 减低时,则见于 DIC 或肝脏疾病等,应减少或停止口服抗凝剂
1.5~2.5	预防深静脉血栓形成,口服抗凝剂达到有效剂量的结果
2.0~3.0	治疗静脉血栓形成、肺栓塞、心脏瓣膜病,口服抗凝剂达到有效剂量的结果
3.0~4.5	治疗动脉血栓栓塞、心脏机械瓣膜置换、复发性系统性栓塞症,口服抗凝剂达到有效剂量的结果

(林发全)

第五节 血型鉴定和交叉配血

血型(blood groups)是血液各种成分抗原的遗传性状,是血液的主要特征之一。血型系统(blood group system)是指由单个基因座或多个紧密连锁的基因座上的等位基因所产生的一组抗原。根据血液各种抗原成分不同,血型系统可分为红细胞血型系统、白细胞抗原系统、血小板血型系统及血清型。①红细胞血型系统:红细胞表面抗原有 400 多种,分为 30 个血型系统(如 ABO、Rh、MNS、P 等)、4 个血型集合和高频及低频抗原组,其中 ABO 和 Rh 血型系统与临床输血密切相关。②白细胞抗原系统:包括红细胞血型抗原、白细胞本身所特有的血型抗原和人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)。③血小板血型系统:包括血小板相关抗原(如红细胞血型抗原和 HLA)和血小板特异性抗原。

血型鉴定和交叉配血是保证输血安全的主要措施,对器官移植、骨髓移植、溶血性疾病诊断等也具有重要意义。

一、ABO 血型系统

1900 年,奥地利维也纳大学的 Karl Landsteiner 发现了人类第一个血型系统,即 ABO 血型系统,红细胞 ABO 血型系统主要有 A 型、B 型、O 型及 AB 型四种基本血型,其抗原、抗体组成见表 2-83。

表 2-83 人类 ABO 血型系统

血型(表现型)	红细胞表面抗原	血清中抗体	基因型
A	A	抗 B	AA, AO
B	B	抗 A	BB, BO
AB	A, B	—	AB
O	—	抗 A, 抗 B 和抗 AB	OO

(一) ABO 血型系统抗原

1. 抗原存在部位 ABO 血型系统主要有 A、B 和 H 三种抗原(ABH 或 HAB 抗原),在人体中普遍存在,不仅存在于红细胞、淋巴细胞、血小板、上皮细胞等细胞膜上(完全抗原),而且还存在于除脑脊液以外的各种体液或分泌液中(半抗原)。以可溶性抗原的形式存在于某些分泌型基因个体的体液或分泌液中的 ABH 抗原,称为血型物质。血型物质以唾液中含

量最丰富，其次是血清、尿液、精液、胃液、羊水、汗液、泪液、胆汁、乳汁和腹水等。凡体液或分泌液中含有血型物质者称为分泌型个体，不含血型物质者为非分泌型个体。汉族人分泌型占 80%，非分泌型占 20%。

血型物质也具有与相应抗体发生反应的性质，主要作用有：①辅助确定 ABO 血型，特别是对 ABO 抗原表达较弱者的血型鉴定或 ABO 亚型的鉴定。②检测羊水血型物质，预测胎儿血型。③血型物质可中和 ABO 血型系统中的天然抗体，不中和免疫性抗体，有助于鉴别抗体性质。

2. 抗原结构 红细胞 ABO 血型系统抗原主要结构见表 2-84。ABO 血型系统抗原的基本物质是多聚糖类血型前体Ⅱ型链，几乎所有红细胞膜上都表达 H 抗原（亦称 H 物质），故 H 抗原是形成 A、B 抗原的结构基础。分泌型 ABH 抗原与红细胞膜上 ABH 抗原结构有一定区别，分泌型 ABH 抗原结构的基本物质是血型前体Ⅰ型链，抗原的其他部分与红细胞膜上相应抗原的组成及结构相同。

表 2-84 H、A、B 基因产物及红细胞表面 H、A、B 抗原主要结构

基因	基因产物	红细胞表面 H、A、B 抗原主要结构
H	α-2-L- 岩藻糖基转移酶	RBC—血型前体Ⅱ型链—L- 岩藻糖(H)
A	α- 3-N- 乙酰基半乳糖胺糖基转移酶	RBC—血型前体Ⅱ型链—L- 岩藻糖—N- 乙酰基半乳糖胺(A)
B	α-3-D- 半乳糖糖基转移酶	RBC—血型前体Ⅱ型链—L- 岩藻糖—D- 半乳糖(B)

3. 抗原基因 与 ABO 血型系统抗原合成有关的主要基因有 H(FUT1)、ABO 和分泌 Se(FUT2) 基因。

(1) H 基因：位于第 19 号染色体上，H 基因频率是 99.99%，编码产生岩藻糖基转移酶，该酶将岩藻糖连接到血型前体Ⅱ型链末端的半乳糖上，形成 H 抗原。不同的 ABO 血型，其红细胞膜上 H 抗原表达强度也不同，红细胞膜上 H 抗原表达强度依次为：O>A₂>A₂B>B>A₁>A₁B。H 抗原性很弱，血清中一般无抗 H。

(2) ABO 基因：位于第 9 号染色体上，ABO 表型受 A、B、O 三个等位基因控制，A 和 B 基因为显性基因，O 基因为隐性基因。① A 基因：编码产生 N- 乙酰基半乳糖胺糖基转移酶，该酶将 N- 乙酰半乳糖胺(N-acetylgalactosamine, GalNAC)连接到 H 物质末端的半乳糖上，形成 A 抗原。② B 基因：编码产生半乳糖糖基转移酶，该酶将 D- 半乳糖(D-galactose, Gal)连接到 H 物质末端的半乳糖上，形成 B 抗原。A 基因产生的糖基转移酶比 B 基因多，因此，A 型红细胞上 A 抗原位点多于 B 型红细胞上 B 抗原位点。③ O 基因：编码的糖基转移酶无活性，不能修饰 H 抗原。

(3) 分泌 Se 基因：Se 基因位于第 19 号染色体上，编码产生岩藻糖基转移酶，该酶将岩藻糖连接到体液或分泌液中血型前体Ⅰ型链末端的半乳糖上，形成分泌型 H 物质，分泌型 H 物质又可转化为 A 或 B 血型物质。

ABO 血型系统有 4 种表现型、6 种基因型(表 2-83)。由于 ABO 基因表达抗原的遗传特性，故以父母的血型可以推测子代的血型，有助于亲子鉴定。

4. 抗原表达 37 天的胎儿就可以产生 A、B 及 H 抗原，5~6 周胎儿红细胞已可测出抗原的存在，出生时红细胞所带的抗原数量大约为成人的 25%~50%，以后随年龄的增长而不

断增加，到 20 岁左右达高峰，进入老年期逐渐减低，大多数个体每个红细胞有 200 万个以上的抗原，ABO 血型抗原的抗原性终身不变。

(二) ABO 血型系统抗体

1. 抗体产生 婴儿出生时，通常无血型抗体，出生 3~6 个月后才能查出抗体，5~10 岁时抗体达到高峰，以后逐渐下降，65 岁以上者抗体水平较低。由于环境中 A 型物质较多，故 B 型人中抗 A 的效价高于 A 型人中抗 B 的效价。

2. 抗体特性 ABO 血型系统抗体为免疫球蛋白，按其产生原因可分为天然抗体和免疫性抗体。①天然抗体：可能与环境广泛存在的菌类、花粉、尘埃等有关，这些物质与某些血型抗原具有共同成分，通过隐性刺激产生血型抗体，以 IgM 为主，为完全抗体。②免疫性抗体：主要因母婴血型不合的妊娠及血型不合的输血后产生，以 IgG 为主，为不完全抗体。血型抗体的主要特性见表 2-85。

表 2-85 IgM 和 IgG 血型抗体特性

特性	IgM	IgG
可察觉的抗原刺激	无	有(妊娠、输血)
相对分子质量(kD)	1000	160
通过胎盘	不能	能
耐热(70℃)	不稳定	稳定
被血型物质中和	能	不能
被巯基乙醇或二硫苏糖醇灭活	能	不能
与红细胞反应最适宜温度(℃)	4~25	37
与红细胞反应介质	在盐水介质中与相应红细胞出现肉眼可见凝集	在盐水介质中不凝集，在酶等介质中出现肉眼可见凝集

A 型或 B 型人的抗 B 或抗 A 以 IgM 为主，也有少量 IgG、IgA；O 型人血清中含有抗 A、抗 B 及抗 AB 抗体，其中抗 AB 抗体以 IgG 为主。所以，O 型血的母亲当母子血型不合时易发生新生儿溶血病。

(三) ABO 血型系统亚型

亚型是指虽属同一血型抗原，但抗原结构、性能或抗原表位数有一定差异的血型。A、B 血型均有亚型，常见的 A 亚型有 A₁、A₂、A₃、A_x 和 A_m 等，其中 A₁、A₂ 亚型占全部 A 型血的 99.9%。由于 A 抗原具有 A₁ 和 A₂ 亚型，故 AB 血型中也有 A₁B、A₂B 两个亚型。亚洲人中 A₂、A₂B 亚型非常少见，白种人中 A₂ 亚型约占 A 型人中的 20%。各血型和亚型的抗原、抗体及抗原与抗血清反应见表 2-86。B 亚型较少见，主要有 B、B₃、B_m 等亚型，由于其抗原性弱，临床意义不大。

表 2-86 各亚型抗原抗体及抗原与抗血清反应

血型	红细胞 A、B 抗原	血清抗 A、抗 B 抗体	与抗血清反应			
			抗 A	抗 B	抗 A ₁	抗 H
A ₁	A、A ₁ 、H	抗 B	4+	-	4+	+
A ₂	A、H	抗 B、抗 A ₁ (1%~8%)	4+	-	-	2+
A ₁ B	A、A ₁ 、B、H	-	4+	4+	4+	+

续表

血型	红细胞 A、B 抗原	血清抗 A、抗 B 抗体	与抗血清反应			
			抗 A	抗 B	抗 A ₁	抗 H
A ₂ B	A、B、H	抗 A ₁ (22%~35%)	4+	4+	—	2+
B	B、H	抗 A、抗 A ₁ (少见)	—	4+	—	+
O	H	抗 A、抗 B、抗 AB、抗 A ₁ (少见)	—	—	—	4+

二、Rh 血型系统

1940 年, Karl Landsteiner 和 Alexander Wiener 发现了 Rh 血型系统, Rh 血型系统是最复杂的红细胞血型系统之一, 其重要性仅次于 ABO 血型系统。

(一) Rh 血型系统的命名

Rh 血型系统的命名方法有 Fisher-Race、Wiener (Rh-Hr)、Rosenfield 的数字命名法和现代命名法等 4 种, 下面简单介绍 Fisher-Race 和数字命名法。

1. Fisher-Race 命名法 Fisher-Race 命名法也称为 CDE 命名法。该方法简明易懂, 为临床常用。其要点是: ① Rh 血型系统的遗传基因位于 1 号染色体短臂上的连锁基因, 每条染色体有 3 个连锁的基因位点, 依次排列为 CDE。②各基因位点由一对等位基因组成, 即 D 与 d、C 与 c、E 与 e。③ CDE 3 个连锁基因以一种复合体的形式遗传, 如 cDe/CDE 主要以 cDe 或 CDE 遗传给子代。④ 3 个连锁基因理论上可以有 8 种基因组合, 即 Cde、cDE、cDe、CDE、Cde、cdE、cde 和 CdE, 每条染色体上的 8 种基因组合可形成 36 种遗传型, 18 种表现型。

2. 数字命名法 1962 年, Rosenfield 提出了数字命名法, 每个 Rh 抗原都按其发现顺序被分配一个数字。国际输血协会 (International Society of Blood Transfusion, ISBT) 红细胞抗原命名专业组, 以 Rosenfield 的基因数字表达为基础, 规范了 Rh 血型系统的字母 / 数字表达方式。系统代号为 004, Rh 抗原数字号分别为: D 001, C 002, E 003, c 004, e 005。如 D 血型抗原表述为 Rh₁ 或 004001。

(二) Rh 基因

应用分子生物学技术之后, 现已明确 Rh 基因位于 1 号染色体上, 由 2 个紧密连锁的基因构成, RHD 及 RHCE 基因, 分别编码 D 抗原及各种不同组合的 CE 抗原 (ce、cE、Ce、CE)。

(三) Rh 血型系统抗原

Rh 抗原系统比较复杂, 目前认定的抗原共 50 个。与临床关系最为密切的有 C、D、E、c 和 e 共 5 种, 按其抗原性强弱依次为 D、E、C、c、e, 由于尚未发现 d 抗体, 也未发现 d 抗原。D 最先发现, 且抗原性最强, 临床上将表达 D 抗原的红细胞称为 Rh 阳性, 不表达 D 抗原的红细胞称为 Rh 阴性。但从血清学角度看, Rh 阴性只有一种, 即 ccdee。中国人约 99.6% 为 Rh 阳性, 0.4% 为 Rh 阴性, 少数民族 Rh 阴性稍多 (可达 15.8%)。常用抗 C、抗 c、抗 D、抗 E 及抗 e 来判定 Rh 的表现型, 从表现型可以推测基因型。

(四) Rh 血型系统抗体

Rh 血型系统天然抗体 (IgM) 极少, 绝大多数是通过输血或妊娠而产生的免疫性抗体 (IgG)。常见的 Rh 血型系统抗体主要有 5 种, 即抗 D、抗 E、抗 C、抗 c、抗 e。

三、血型鉴定和交叉配血

(一) ABO 血型鉴定

【检测原理】 ABO 血型鉴定主要是利用抗原抗体之间的反应来完成，包括正定型 (direct typing) 与反定型 (indirect typing)。前者是用已知的特异性抗体 (标准血清) 检查红细胞的未知抗原，后者是利用已知血型的标准红细胞检查血清中的未知抗体。ABO 血型鉴定常用方法有盐水介质法和微柱凝胶血型卡法等。

1. 盐水介质法 ABO 血型抗体以 IgM 为主，属于完全抗体。IgM 抗体分子链较长，能克服红细胞表面的排斥力，同时其相对分子质量较大，能在生理盐水中与相应抗原特异性结合出现肉眼可见的凝集现象。盐水介质法有玻片法、试管法和微量板法。

2. 微柱凝胶血型卡法 在微柱凝胶介质中红细胞抗原与相应抗体结合，利用凝胶颗粒间隙的分子筛作用，经低速离心，凝集的红细胞悬浮在凝胶上层，而未和抗体结合的红细胞则沉于凝胶底部。根据不同需要可选用中性凝胶、特异性凝胶或抗球蛋白凝胶作为反应介质。

(1) 中性微柱凝胶卡：微柱凝胶中不含任何抗体，可用于检测 IgM 类抗体与红细胞抗原的反应，如红细胞 ABO 血型鉴定的正定型、反定型等。

(2) 特异性微柱凝胶卡：微柱凝胶中含有特异性血型抗体 (如抗 A、抗 B、抗 D)，能结合红细胞相应抗原，可用于血型抗原检测。

(3) 抗人球蛋白微柱凝胶卡：微柱凝胶中含有抗人球蛋白试剂 (IgG + C3)，可用于检测 IgG 类不完全抗体和相应红细胞抗原的反应，可应用于交叉配血、不规则抗体筛检和鉴定等。

【方法学评价】 ABO 血型鉴定的方法学评价见表 2-87。

表 2-87 ABO 血型鉴定的方法学评价

方法	优点	缺点
玻片法	操作简单，不需要离心，可用于大规模普查和 POCT 检查	费时，灵敏度差，容易忽略较弱凝集而导致定型错误，不适用于常规检查；也不适用于反定型
试管法	①常规血型鉴定方法。②所需时间短，适用于急诊血型鉴定。③结果可靠，有利增强凝集。④可发现亚型或较弱抗原抗体反应	与玻片法相比较，操作相对复杂
微量板法	可自动化、标准化，适于大量标本血型鉴定，目前中心血站应用较多	自动鉴定需要特殊设备
微柱凝胶血型卡法	①项目齐全、应用广泛，可用于血型正反定型、稀有血型鉴定、交叉配血等。②操作简单，可以自动化。③操作程序标准化，重复性好。④灵敏度高，能检测到弱的抗原抗体反应。⑤结果易于判定，鉴定完后置于 4℃ 密封可保存 1~2 个月，扫描后也可长期保存	成本较高，需要特殊离心机

【结果判断】 ABO 血型正定型、反定型血型鉴定结果判断见表 2-88。

表 2-88 ABO 血型正定型、反定型及结果判断

正定型 (标准血清 + 被检者红细胞)			反定型 (标准红细胞 + 被检者血清)			结果判断
抗 A	抗 B	抗 AB(O 型血清)	A 型红细胞	B 型红细胞	O 型红细胞	
+	-	+	-	+	-	A 型
-	+	+	+	-	-	B 型
+	+	+	-	-	-	AB 型
-	-	-	+	+	-	O 型

【质量保证】

1. 鉴定前

(1) 方法: 玻片法不适用于反定型, 特异性微柱凝胶血型卡法只能用于正定型。

(2) 标准血清: 标准血清应在有效期内使用, 保证有高效价、强凝集力, 且要正确存放, 严防污染。目前用于 ABO 血型鉴定的标准血清来源有两种途径, 其质量必须符合下列要求。

1) 人血清 ABO 血型抗体: ①特异性高。②效价高, 抗 A 不低于 1:128, 抗 B 不低于 1:64。③亲和力强, 反应开始 15 秒内即出现凝集, 3 分钟时凝块 > 1mm²。④稳定性高。⑤无菌。⑥已灭活补体。

2) 人 ABO 血型单克隆抗体: ①特异性高。②效价高, 抗 A、抗 B 均 ≥ 1:128。③亲和力强, 抗 A 对 A₁、A₂、A₂B 开始出现凝集时间分别是 15 秒、30 秒和 45 秒; 抗 B 对 B 型红细胞为 15 秒。④稳定性: 单克隆抗体没有人血清抗体稳定, 故应认真筛选单抗和选择合适的稳定剂。⑤无菌。⑥已灭活补体。

(3) 试剂红细胞: 试剂红细胞以 3 个健康者同型新鲜红细胞混合, 用生理盐水洗涤 3 次, 以去除存在于血浆中的抗体及可溶性抗原。红细胞悬液的浓度为 3%~5%, 浓度不能过高或过低, 防污染。

(4) 器材: 试管、玻片和滴管必须清洁干燥, 以防溶血。为了防止交叉污染, 试管、滴管均应一次性使用。微柱凝胶血型卡产品质量必须符合要求, 注意保存温度, 在有效期内使用, 使用微柱凝胶血型卡专用水平离心机。

(5) 标本: 标本新鲜, 符合要求, 防止污染, 不能有溶血。

2. 鉴定中 按要求建立标准操作程序(SOP)文件, 严格按操作程序操作。

(1) 标记: 标记准确、清楚。

(2) 加标本和试剂: 标本和试剂比例要适当, 一般应先加血清, 后加红细胞悬液, 以便核实是否漏加血清, 并设立对照。微柱凝胶血型卡法在操作时, 向反应腔内先加血清或抗体, 后加红细胞。血型试剂从冰箱取出后应待其平衡至室温后再使用, 用后应尽快放回冰箱内保存。

(3) 反应温度与时间: IgM 抗 A 和抗 B 与相应红细胞反应的最适宜温度为 4℃, 但为了防止冷凝集的干扰, 一般在室温(20~24℃)下进行检查, 37℃可使反应减弱。玻片法反应时间应按要求, 同时注意防止悬液干枯。

(4) 离心: 严格按照离心时间、离心速度的要求进行离心。

(5) 观察结果: 认真仔细观察结果, 观察时应注意红细胞呈现特异性凝集与缗钱状排列的区别, 弱凝集要用显微镜检查证实。①玻片法观察凝集结果时, 应以白色为背景。②试管法观察凝集时, 从离心机中拿出试管开始到观察结果前不能摇动或震动试管, 观察结果时要以白色为背景, 先观察上层液有无溶血(溶血与凝集意义相同), 再边观察边轻侧试管, 仔细观察有无凝块。

3. 鉴定后

(1) 结果分析: 正定型和反定型鉴定结果不一致, 或与原来鉴定结果不一致时, 应积极查找原因, 并重新鉴定。

(2) 结果登记: 准确无误登记鉴定结果, 并仔细核对鉴定结果。

(3) 结果报告: 准确无误报告鉴定结果, 并仔细核对报告结果。

(4) 标本保存: 标本置 4℃ 保存 7 天, 以备复查。

【临床意义】

1. 输血 血型鉴定是临床输血的首要步骤, 输血前必须准确鉴定供血者与受血者的血型, 选择同型血源, 经交叉配血相符后才能输血。

2. 器官移植 ABO 血型抗原是一种广泛分布于人体器官组织血管内皮细胞表面的移植抗原(transplantation antigen)。在器官移植时, 应力求受体和供体的 ABO 血型一致, 否则受体中的血型抗体可作用于移植物血管内皮表面的 ABO 血型抗原, 发生超急性排斥反应, 导致移植失败。

3. 新生儿溶血病 母子 ABO 血型不合可引起新生儿溶血病(hemolytic disease of newborn, HDN), 主要通过血型血清学检查来诊断。

4. 其他 ABO 血型检查还可用于亲子鉴定、法医学鉴定以及某些疾病相关调查等。

(二) Rh 血型鉴定

Rh 血型系统中有多种抗原, 但临床上常用抗 D 血清检查有无 D 抗原, 当有特殊需要(如家系调查、亲子鉴定、配血不合等)时可采用抗 C、抗 c、抗 E、抗 e 标准血清做全面的表现型鉴定。

【检测原理】

1. 盐水介质法 单克隆抗 D 混合血清(IgM+IgG 类)与红细胞上 RhD 抗原结合, 在盐水介质中出现肉眼可见的凝集反应。

2. 酶介质法 IgG 型 Rh 不完全抗体与红细胞上相应抗原结合后, 在盐水介质中不能使红细胞凝集。木瓜酶或菠萝酶可破坏红细胞表面的唾液酸, 降低红细胞表面负电荷, 减少红细胞间的排斥力, 缩短红细胞之间的距离, 增强 IgG 抗体对 RBC 的凝集, 出现肉眼可见的凝集。

3. 抗人球蛋白试验 又称 Coombs 试验, 在盐水介质中 IgG 型 Rh 不完全抗体只能与含相应抗原的红细胞(致敏红细胞)结合, 不产生凝集。加入抗球蛋白抗体(第 2 抗体)后, 抗球蛋白分子的 Fab 片段与致敏红细胞表面的 Rh 抗体分子的 Fc 段结合, 从而可通过抗球蛋白抗体的“搭桥”作用, 使原来已经致敏的红细胞发生肉眼可见的凝集。

4. 微柱凝胶血型卡法 目前临床应用较多。

【方法学评价】 Rh 血型鉴定的方法学评价见表 2-89。

表 2-89 Rh 血型鉴定的方法学评价

方法	评价
盐水介质法	简单, 快速, 不需特殊仪器, 适合 IgM 型抗体试剂, 临床广泛应用
酶介质法	简单, 经济, 但较费时
抗人球蛋白试验	检查不完全抗体最灵敏、可靠的方法, 但操作复杂、费时, 试剂昂贵, 不适于急诊检查和大批量检查。多用于新生儿溶血病的诊断及因血型不合输血产生的血型抗体的检查
微柱凝胶血型卡法	操作简单、标准化和自动化; 灵敏度高、重复性好, 结果准确; 但成本较高。临床应用较多

【质量保证】 Rh 血型鉴定的质量保证见表 2-90。

表 2-90 Rh 血型鉴定的质量保证

要点	质量保证
方法	天然 Rh 抗体很少, 不做反定型; 鉴定方法很多, 根据具体情况选择方法
试剂	试剂质量合格, 有效期内使用, 严防细菌污染, 鉴定结束后应置于冰箱内保存; 酶试剂中的酶很易失活, 故需新鲜配制
器材	①清洁干燥, 防止溶血。②为防止交叉污染, 试管、滴管均应一次性使用。③微柱凝胶血型卡符合要求, 注意保存温度, 有效期内使用, 使用专用水平离心机
标本	标本新鲜, 符合要求, 防止污染, 不能溶血。红细胞浓度按要求配制, 血浆成分可能影响鉴定结果, 要用盐水洗涤红细胞 3 次
操作	按要求建立 SOP 文件, 严格按操作程序操作, 并作对照试验, 弱凝集要用显微镜检查证实, 鉴定结果为 Rh 阴性, 应进一步检查排除弱 D
结果报告	准确无误核对、登记及报告鉴定结果, 密切联系临床
标本处理	检查后标本置于 4℃ 保存 7 天, 以备复查, 按生物安全原则集中处理废弃标本

【临床意义】

- 1. 输血 虽然, 约 99.6% 中国人为 Rh 阳性, 且健康人血清中一般不存在 Rh 抗体, 但是, 为了保证输血安全, 输血前必须做 RhD 抗原鉴定, Rh 阴性受血者必须输 Rh 阴性血。
- 2. 发现新生儿溶血病 如果母体血液中含有针对胎儿红细胞的 IgG 类 Rh 抗体, IgG 类抗体可以通过胎盘, 破坏胎儿红细胞, 引起新生儿溶血病。故鉴定新生儿及母亲 Rh 血型及检查 Rh 不完全抗体, 以利于发现新生儿溶血病。

(三) 交叉配血

交叉配血试验(cross matching test)是在血型鉴定的基础上, 进一步检查受血者和供血者血液中是否含有不相配的抗原和抗体成分的试验。交叉配血试验分两管, 由于交叉配血试验主要是检查受血者血清中是否有破坏供血者红细胞的抗体, 故把受血者血清与供血者红细胞的反应管称为“主侧”; 把受血者红细胞和供血者血清的反应管称为“次侧”, 两者合称交叉配血。

【检测原理】 交叉配血试验方法主要有盐水介质交叉配血试验、酶介质交叉配血试验、低离子聚凝胺(polybrene)介质交叉配血试验、抗人球蛋白交叉配血试验和微柱凝胶介质交叉配血试验等。其中盐水介质交叉配血试验、酶介质交叉配血试验、抗人球蛋白交叉配血

试验和微柱凝胶介质交叉配血试验原理与 ABO 和 Rh 血型鉴定原理相同。

低离子聚凝胺介质交叉配血试验检测原理：首先利用低离子介质降低溶液的离子强度，降低红细胞 Zeta 电位，促进 IgM 或 IgG 抗体与相应红细胞抗原结合，增强血型抗体凝集红细胞的能力，形成免疫性凝集。再加入聚凝胺溶液，聚凝胺是带正电荷高价阳离子季铵盐多聚物，溶解后产生较多的正电荷，可大量中和红细胞表面唾液酸所带的负电荷，降低红细胞 Zeta 电位，减弱红细胞之间的排斥力，使红细胞彼此间的距离缩短。在离心力作用下，可以使正常红细胞形成可逆的非特异性凝集，同时也使 IgG 类抗体直接凝集红细胞。然后加入带负电荷的枸橼酸盐解聚液，中和聚凝胺的正电荷，使由聚凝胺所引起的红细胞非特异性凝集散开，而由 IgM 或 IgG 类血型抗体与红细胞产生的特异性凝集则不会散开。

【方法学评价】 交叉配血试验的方法学评价见表 2-91。

表 2-91 交叉配血试验的方法学评价

交叉配血试验	优点	缺点
盐水介质	简单、快速，不需要特殊条件。ABO 血型交叉配血最常用方法，适用于无输血史或妊娠史的患者	仅用于检查 IgM 血型抗体是否相配，不能检出不相配的 IgG 血型抗体
酶介质	简便、经济、灵敏。可作配血筛检试验，主要检测 Rh 系统不相合的免疫性抗体，适用于有输血史或妊娠史患者	较费时，准确性、稳定性相对较差
抗人球蛋白	灵敏、特异、准确可靠，检查不完全抗体最可靠方法	操作复杂、费时、试剂较贵
低离子聚凝胺介质	应用广泛。快速、灵敏，结果可靠，能检测 IgM、IgG 等引起溶血性输血反应几乎所有的规则和不规则抗体，适合各类患者交叉配血，也可应用于血型检查、抗体测定、抗体鉴定	需要特殊试剂，操作复杂且要求较高，不能检出 Kell 血型系统的抗体
微柱凝胶介质	应用广泛。操作简单，结果准确，灵敏度高，特异性强，重复性好，结果可较长期保存。适合手工操作、半自动和全自动，灵活方便。可用于检查血型、抗体筛检、鉴定、交叉配血、抗人球蛋白试验等	成本较高，需要特殊试剂和器材

【质量保证】 交叉配血试验的质量保证见表 2-92。

表 2-92 交叉配血试验的质量保证

要点	质量保证
方法	根据具体情况选择方法。盐水介质交叉配血试验阴性，但有反复输血史和妊娠史的患者应同时使用酶介质交叉配血试验、抗人球蛋白试验等
试剂	试剂质量合格，有效期内使用，严防细菌污染，配血结束后应置于冰箱内保存
器材	清洁干燥，防止溶血；为防止交叉污染，试管、滴管均应一次性使用
标本	标本新鲜，符合要求，防止污染，不能有溶血。红细胞浓度按要求配制，血浆成分可能影响鉴定结果，要用盐水洗涤红细胞 3 次
操作	建立 SOP 文件，严格按操作程序操作，弱凝集要用显微镜检查证实，溶血时为不相容
结果报告	准确无误地核对、登记及报告鉴定结果，密切联系临床
标本处理	检查后标本置于 4℃ 保存 1 周以上，以备复查，按生物安全原则集中处理废弃标本

【临床意义】

1. 配到合适血源,验证血型 配到合适血源,并进一步验证受血者与供血者血型鉴定是否正确,以避免血型鉴定错误而导致的输血后严重溶血反应。

2. 发现亚型 如 A₂ 亚型一部分人含有抗 A₁ 的血清,与 A₁ 型红细胞配血时,可出现凝集。

3. 发现不规则抗体 虽然 ABO 血型相同,但当 Rh 或其他血型不同时也可发生严重的溶血性输血反应,即使没有进行 Rh 或其他血型鉴定,通过交叉配血也能发现受血者与供血者血型不合或存在免疫性抗体。

(龚道元)

本章小结

血液一般检验是指血液检验项目中最基础及最常用的检验。血细胞计数即测定单位体积血液中的血细胞数量,其误差来源于技术误差和固有误差(仪器误差和分布误差)。ICSH 推荐氰化高铁血红蛋白测定法作为血红蛋白测定参考方法,但试剂含 KCN 有剧毒,处理不当易造成环境公害;血红蛋白测定对贫血程度的判断上优于红细胞计数;红细胞形态与血红蛋白浓度测定、红细胞计数结果及其他参数相结合对贫血的诊断和鉴别诊断有很重要的临床价值。HCT 的高低主要与红细胞数量及大小有关;微量法标本用量少,结果准确、快速、重复性好,WHO 推荐为常规方法。网织红细胞计数普通显微镜法易掌握、成本低,但操作费时,且受主观因素影响,计数精确性较差等;外周血网织红细胞是反映骨髓红系造血状态的灵敏指标。血沉是一项缺乏特异性的指标,不能用于疾病的诊断,但对疾病的鉴别和动态观察有参考价值。血沉影响因素较多,有血浆因素、红细胞因素及测定因素等,魏氏法是 ICSH 及全国临床检验方法学学术会议推荐的参考方法。

外周血液白细胞计数、分类计数及形态学检查,是诊断疾病,尤其是对恶性血液病进行初步诊断和评估疗效的基本指标。白细胞计数方法有显微镜法和血液分析仪法,显微镜法是白细胞计数的参考方法,显微镜计数法尚无公认或比较完善的质量保证与考核方法,关键在于严格遵守操作规程,掌握其误差规律,熟练操作技术。

白细胞分类计数的方法有显微镜法和血液分析仪法,前者是参考方法,后者是白细胞分类计数和筛检的首选方法。在显微镜下白细胞分类根据染色血涂片上白细胞形态计数出各种白细胞百分率。白细胞形态学检查有显微镜法和血液分析仪法;中性粒细胞形态主要变化有毒性变化、棒状小体、中性粒细胞核象变化;淋巴细胞形态学变化有异型淋巴细胞、具有卫星核淋巴细胞。

血小板计数常用血液分析仪筛检法,当仪器测定血小板数量明显异常时,仍需显微镜检查复查血小板计数和(或)复查血涂片。正常血小板直径为 1.5~3μm,年轻血小板体积较大;血小板计数影响的因素较多,血涂片观测血小板和红细胞、白细胞形态和数量有助于复查血液分析仪血小板计数异常。

血栓与止血筛检试验能够为出血性与血栓性疾病诊断和治疗提供必要依据。其中出血时间、血小板计数及形态、PT、APTT、Fg 和 TT 等试验对于出血性疾病的初始评估十分重要,D-D 和 FDP 等试验主要用于纤溶活性检查,PT、APTT、Fg 等试验还用于抗凝与溶栓治疗监测。临床上,通常是在临床初步诊断基础上,以血栓与止血筛检试验项目优化组合应

用为原则。

ABO 血型鉴定用盐水介质法,且以试管法最常用;微柱凝胶法以凝胶为介质,使用单克隆血型抗体,特异性高。Rh 血型是最复杂的红细胞血型系统之一;常规应用抗 D 血清检查红细胞上有无 D 抗原确定被检者的 Rh 血型;鉴定 Rh 血型的方法——酶介质法既可鉴定抗原又可检测抗体,是 Rh 血型鉴定和交叉配血的常用方法;抗人球蛋白试验是检测红细胞上不完全抗体的最可靠方法。使用试管法鉴定血型应同时进行正向、反向定型并设置对照管。对于有反复输血史、妊娠史的患者应同时使用酶介法和抗人球蛋白试验配血,以检出免疫性抗体和不完全抗体。交叉配血有利于进一步验证血型,发现亚型和不规则抗体;同型配血,主侧、次侧出现溶血是配血不合的表现。反应温度、反应时间、离心条件是血型鉴定和交叉配血的重要影响因素,必须按操作规程严格控制。

参 考 文 献

1. 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程.第3版.南京:东南大学出版社,2006.
2. 胡丽华.临床输血检验.第2版.北京:中国医药科技出版社,2010.
3. 李勇.实用血液免疫学血型理论和实验技术.北京:科学出版社,2006.
4. 刘泽霖,贺石林,李家增.血栓性疾病的诊断与治疗.第2版.北京:人民卫生出版社,2006.
5. Pagana KD, Pagana TJ. Diagnostic and Laboratory Test Reference. 8th ed. St. Louis: Mosby, Inc., 2007.
6. McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical diagnosis and Management by laboratory methods[M]. 21th. Philadelphia: Saunders, 2007.
7. Kuhn MA. Lab reference pocket guide with drug effects. Sudbury: Jones Bartlet Publishers, Inc., 2007.

第三章

血液分析仪检验

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

1. 三分群血液分析仪细胞检测的主要原理是什么?
2. 射频电导法可检测细胞的哪些特征?
3. 血液分析仪中血红蛋白的测定原理是什么?
4. 血液分析仪检测白细胞的原理有哪些? 试列举尽可能多的检测参数。
5. 血液分析仪检测红细胞的原理有哪些? 试列举尽可能多的检测参数。
6. 血液分析仪检测血小板的原理有哪些? 试列举尽可能多的检测参数。
7. 什么是 VCS? VCS 在血细胞检测中各有什么特点?
8. 血液分析仪在检测白细胞分类、网织红细胞、有核红细胞、网织血小板时分别采用哪些特殊染色法?
9. 血液分析仪有哪儿类结果显示形式?
10. 三分群血液分析仪白细胞、红细胞和血小板直方图所表达的意义是什么?
11. 标本中哪些因素可引起血液分析仪检测参数报警(请分检测参数举例)?
12. 五分类血液分析仪散点图上任意一点的所表达的含义是什么?
13. 什么是血液分析仪的报警? 常见的报警方式有哪些? 其内容分别是什么?
14. 国际上有哪些重要文件涉及血液分析仪质量保证、仪器校准和性能评价?
15. 血液分析仪质量保证包括哪些环节? 血液分析仪仪器校准有哪些要点?
16. 血液分析仪性能评价有哪些要点? 具体评价项目是什么? 对标本来源有什么要求?
17. ISLH 在 2005 年发布的血液分析仪显微镜复查规则有几条?
18. 血细胞新参数的临床意义是什么?

自动血液分析仪(automated hematology analyzer, AHA), 早年称血细胞计数仪(blood cell counter), 是临床检验最常用的筛检仪器之一。传统的显微镜血细胞计数或分类方法速度慢、误差大、影响因素多, 且难以满足临床大量标本检测需求。20 世纪 50 年代初, 美国 Coulter 申请了“粒子计数法”的技术专利, 研发了世界上第一台电子血细胞计数仪。随着计算机技术的发展, 其检测原理逐渐完善, 检测技术不断创新, 检测参数显著增多。目前, AHA 可进行: ①全血细胞计数及其相关参数的计算。②白细胞分类(三分群或五分类)。③血细胞计数和分类的扩展功能, 包括: 有核红细胞计数、网织红细胞计数及其相关参数检测; 幼稚粒细胞、未成熟粒细胞、造血干细胞计数; 未成熟血小板比率; 淋巴细胞亚型计数; 细胞免疫表型检测等。

现代血液分析仪还可组合血涂片制备与染色, 用于仪器检测后的形态学复查。其功能

也已扩展到体液红细胞、白细胞计数和分类,对疾病诊断与治疗有着重要的临床意义。

第一节 血液分析仪的检测原理

现代血液分析仪综合应用了电学和光(化)学两大原理,用以测定血液有形成分(细胞)和细胞内容物(血红蛋白)。电学检测原理包括电阻抗法和射频电导法;光(化)学检测原理包括激光散射法和分光光度法。激光散射法检测的对象有 2 类:染色的和非染色的细胞核、胞质颗粒等成分。

一、电学检测原理

1. 电阻抗法 悬浮在电解质溶液中的血细胞相对于电解质溶液为非导电颗粒,当体积不同的血细胞(或类似颗粒)通过计数小孔时,可引起小孔内、外电流或电压的变化,形成与血细胞数量相当、体积大小相应的脉冲电压,从而间接区分出血细胞群,并分别进行计数,这就是电阻抗原理(principle of electrical impedance),即库尔特原理(Coulter principle)(图 3-1)。

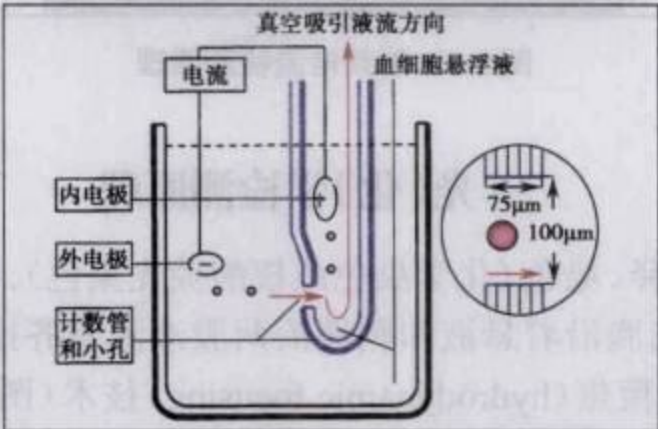


图 3-1 电阻抗法细胞计数原理

电阻抗法是三分群血液分析仪的核心技术,可准确测出细胞(或类似颗粒)的大小和数量。电阻抗法还与其他检测原理组合应用于五分类血液分析仪中。

例如,电阻抗法红细胞计数和血小板计数是在相应通道内进行计数,并根据二者体积不同,采用浮动界标法进行区分(图 3-2)。为提高计数准确性,部分仪器还采用 3 次计数、扫流和拟合曲线等技术进行血小板计数(图 3-3)。电阻抗法还可用于白细胞计数及白细胞三分群分析。

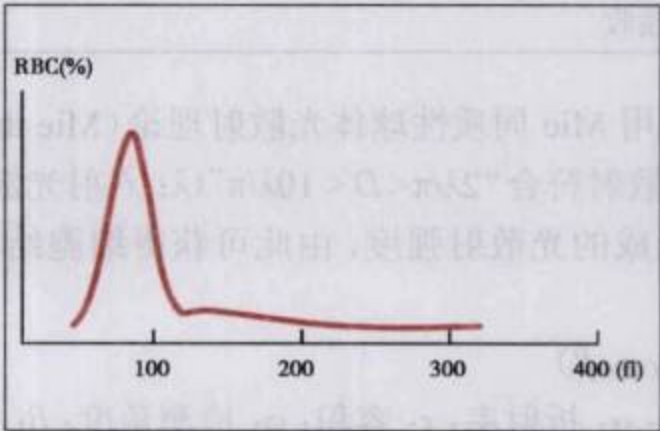


图 3-2 电阻抗法正常红细胞直方图

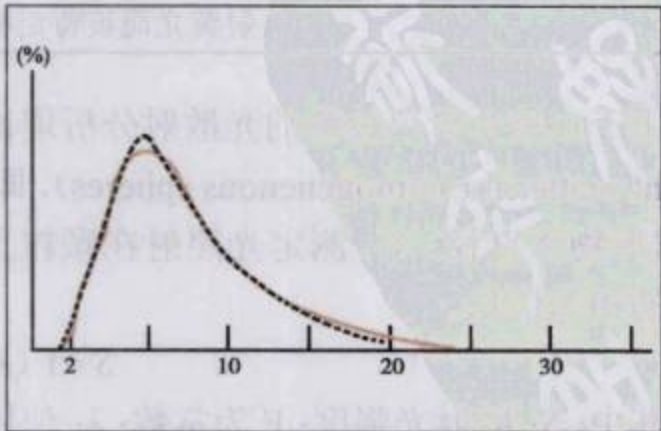


图 3-3 电阻抗法正常血小板计数和拟合曲线直方图

2. 射频电导法 射频(radio frequency, RF)指射频电流,是每秒变化>10 000 次的高频交流电磁波。电导性(electrical conductivity)即电的传导性能。高频电流能通过细胞膜,用高频电磁探针渗入细胞膜脂质层,测定细胞的导电性,提供细胞内部化学成分、胞核和胞质(如比例)、颗粒成分(如大小和密度)等特征性信息(图 3-4)。电导性特别有助于鉴别体积相同、但内部结构不同的细胞(或相似体积的颗粒);如淋巴细胞和嗜碱性粒细胞的直径虽均为 9~12μm,但在高频电流检测时,因两类细胞核质比例不同而出现不同的检测信号。射频电导法结合其他检测方法可应用于血液分析仪中。



图 3-4 射频电流检测原理

二、光(化)学检测原理

1. 激光散射法 将稀释、染色(化学染色或核酸荧光染色)、球形化的细胞(或颗粒)悬液注入鞘液流中央,单个细胞沿着悬液和鞘液流两股液流整齐排列,以恒定流速定向通过石英毛细管,即流体动力学聚焦(hydrodynamic focusing)技术(图 3-5)。当细胞(或颗粒)通过激光束被照射时,因其本身的特性(如体积、染色程度、细胞内容物大小及含量、细胞核密度等),可阻挡或改变激光束的方向,产生与其特征相应的各种角度的散射光(表 3-1)。放置在石英毛细管周围不同角度的信号检测器(光电倍增管)可接收特征各异的散射光(图 3-6)。

表 3-1 各种角度的散射光及其意义

散射光	意义
低角度散射光(前向散射光)	反映细胞(或颗粒)的数量和表面体积
高角度散射光(侧向散射光)	反映细胞内部颗粒、细胞核等复杂性
散射荧光	激光照射采用荧光染料染色后的细胞(或颗粒)时,可产生不同波长的散射荧光而被特定检测器接收

用于血液分析仪检测的光散射分析理论是采用 Mie 同质性球体光散射理论(Mie theory of light scatter for homogenous spheres),即当光散射符合“ $2\lambda/\pi < D < 10\lambda/\pi$ ”(λ: 入射光波长;D: 球形物体直径)时,测定光照射在颗粒上所形成的光散射强度,由此可获得细胞结构和组成的相关信息。

$$S=F(\lambda, \alpha, \tau, \varphi, \beta)$$

其中,S: 散射光强度;F 为常数;λ: 使用波长;α: 折射率;τ: 容积;φ: 检测角度;β: 形状因子。

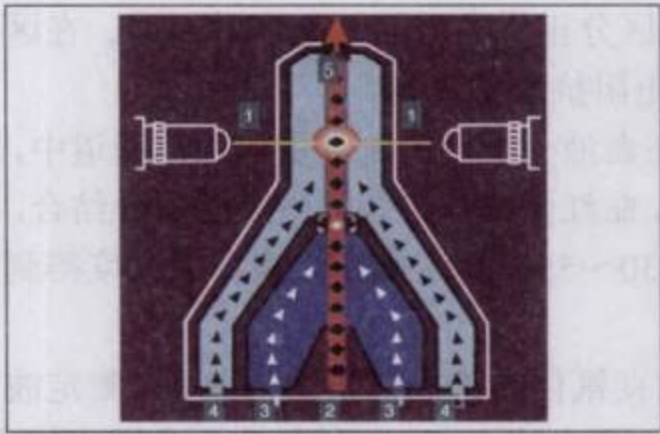


图 3-5 鞘流技术

1. 检测光; 2. 细胞流; 3. 前鞘流; 4. 后鞘流; 5. 液流方向



图 3-6 流式细胞术检测通道和光路系统

例如，红细胞 / 血小板经十二烷基硫酸钠和戊二醛固定呈球形后，采用流式细胞术激光散射法进行红细胞数量和相关参数的分析，其散点图见图 3-7 和图 3-8。

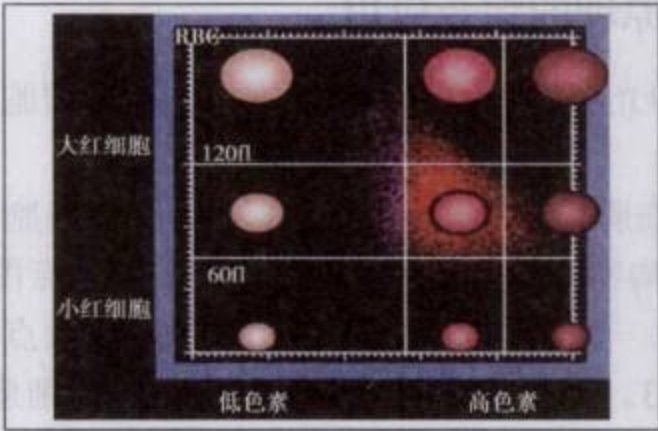


图 3-7 线性化红细胞体积 / 血红蛋白浓度 (V/HC) 散点图

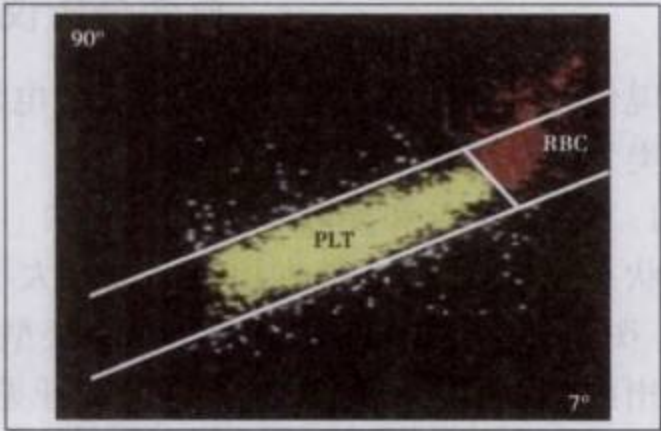


图 3-8 光散射法血小板计数和红细胞计数散点图

用于血液分析仪检测的染料分为荧光染料和非荧光染料。荧光染料有：碱性槐黄 (auramine)、噻唑橙 (thiazole orange, TO)、噁嗪 (oxazine)、聚亚甲基蓝 (polymethylene blue) 和碘化丙啶等，主要用于核酸染色，被激光照射后产生荧光和散射光，如采用荧光染料和激光散射法原理进行的网织红细胞计数 (图 3-9)。非荧光染料有：亚甲基蓝 (用于核酸染色)、氯唑黑 E (用于单核细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞颗粒和白细胞的膜结构染色) 和过氧化物酶试剂等。经过染色的细胞随鞘液流经激光检测区时，被染色部分可发生光吸收现象，使光检测器接收到的散射光强度发生改变，从而区分细胞的种类。



图 3-9 噻唑橙荧光染色网织红细胞检测散点图

将各种光(化)学信息进行综合分析,可准确区分正常类型的细胞(或颗粒)。在区别体积相同而类型不同的细胞特征时,激光散射法比电阻抗法更准确。

2. 分光光度法 主要用于血红蛋白测定。在血液分析仪的血红蛋白检测通道中,稀释液含有溶血剂,使红细胞溶解并释放出血红蛋白,血红蛋白与溶血剂中某些成分结合,形成一种稳定的血红蛋白衍生物,在特定光波范围(530~550nm)内比色,根据吸光度得到血红蛋白浓度。

用于血红蛋白测定的溶血剂有 2 大类:①改良氰化高铁血红蛋白溶血剂:测定波长为 540nm,稀释液含氰化物成分。②非氰化高铁血红蛋白溶血剂:即稀释液不含氰化物成分。如 SLS-Hb 法,测定波长为 555nm。经 HiCN 法校准后,既可达到与 HiCN 法相当的精密度和准确性,又可避免 HiCN 法的试剂对检验人员的潜在危害和对环境的污染。

另外,有些血液分析仪可兼用非氰化物试剂(如用二甲基月桂胺氧化物 dimethyl laurylamine oxide)和氰化物试剂(如用咪唑 imidazole,含氰化物试剂作用,但无毒性)。

三、血液分析仪检测原理的综合应用

现代血液分析仪大多数综合运用了电学法和光(化)学法作为检测原理,以白细胞计数和分类为例介绍如下。

1. 体积、电导和光散射(VCS)方法 在白细胞检测通道,红细胞被溶解,白细胞接近自然状态。应用 VCS 技术检测白细胞大小、结构特点等(表 3-2),并形成三维散点图(图 3-10,图 3-11)。按散点定位分析细胞类型、按每一类型细胞数量计算百分率、按散点密度检测出细胞亚类。不同血细胞群的特征见表 3-3。当标本中存在幼稚细胞、原始细胞时,VCS 技术从正常细胞的数量、形态和密度可衍生出一整套报警形式,提示需要显微镜复查。VCS 技术检测病理性异常细胞的散点图位置见图 3-12。

表 3-2 VCS 技术及其检测内容

技术	被检内容
电阻抗	细胞体积
电导	细胞大小和内部结构(细胞化学成分和胞核体积)
光散射(氦氖激光,10°~70°)	细胞内的颗粒性、核分叶性和细胞表面结构

表 3-3 VCS 技术下各白细胞群的特征

细胞群	特征		
	V	C	S
淋巴细胞群	小	低	弱
单核细胞群	相对淋巴细胞群较大	低	弱
中性粒细胞群	与大淋巴或小单核细胞相似	相对淋巴细胞群和单核细胞群较高	相对淋巴细胞群和单核细胞群较强
嗜酸性粒细胞群	与中性粒细胞群相似	与中性粒细胞群相似	相对中性粒细胞群较强
嗜碱性粒细胞群	与淋巴细胞群相似	相对淋巴细胞群较高	相对淋巴细胞群较强

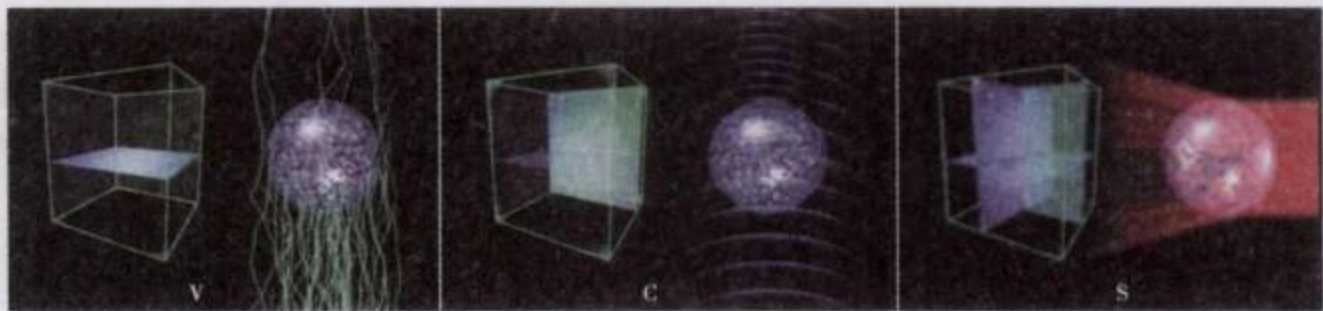


图 3-10 体积(V)、电导(C)和光散射(S)法

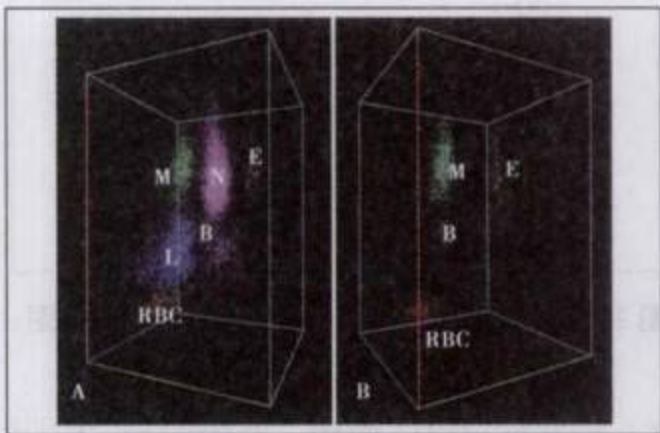


图 3-11 VCS 细胞检测立体散点图

A: 旋转的三维散点图(图中有红细胞和白细胞分类图), 可从任何角度观察;
B: 三维散点图上的细胞群落可显示和隐藏(图中已隐藏淋巴细胞和中性粒细胞)

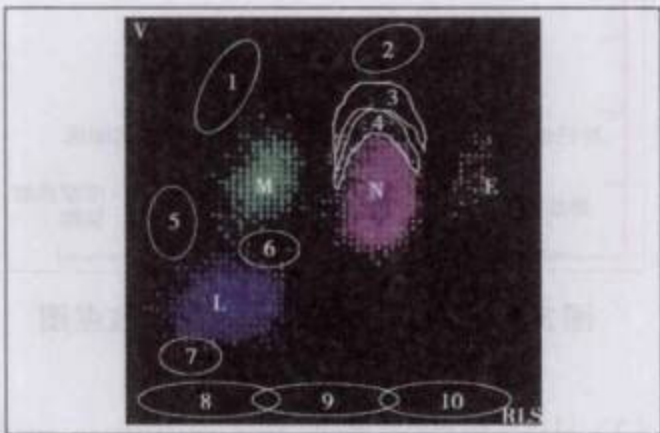


图 3-12 VCS 异常细胞检测平面散点图位置

1. 幼稚单核细胞; 2. 幼稚粒细胞; 3. 未成熟粒细胞; 4. 杆状核中性粒细胞; 5. 幼稚淋巴细胞; 6. 异型淋巴细胞; 7. 小淋巴细胞; 8. 有核红细胞和血小板簇; 9. 大血小板; 10. 红细胞内寄生虫(疟原虫等)

目前, 该技术也可用于网织红细胞计数(图 3-13)和有核红细胞的计数。如网织红细胞计数时, 采用“透明剂”使红细胞内血红蛋白溢出形成“影细胞”, 再用新亚甲蓝对网织红细胞 RNA 进行染色, 采用 VCS 技术测定和分析网织红细胞。

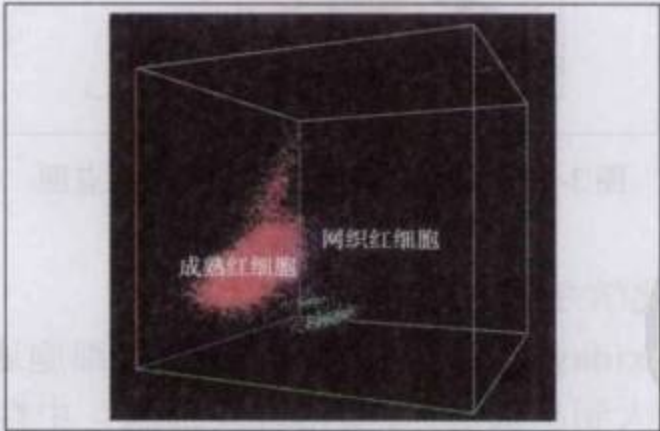


图 3-13 VCS 原理新亚甲蓝染色网织红细胞散点图

2. 电阻抗、射频、流式细胞术和核酸荧光染色方法

(1) 4DIFF 通道: 利用半导体激光流式细胞术、核酸荧光染色技术, 采用溶血剂完全溶解红细胞和血小板, 白细胞膜仅部分溶解。聚亚甲基蓝核酸荧光染料进入白细胞内, 使 DNA、RNA 和细胞器着色。因为荧光强度与细胞内核酸含量成比例, 所以未成熟粒细胞、

异常细胞荧光染色深，成熟白细胞荧光染色浅，从而得到 4DIFF 白细胞散点图(图 3-14)。

(2) 白细胞 / 嗜碱性粒细胞 (WBC/BASO) 通道: 在碱性溶血剂作用下，除嗜碱性粒细胞外的其他所有细胞均被溶解或萎缩，经流式细胞术计数，可得到白细胞 / 嗜碱性粒细胞百分率和绝对值及 WBC/BASO 散点图(图 3-15)。

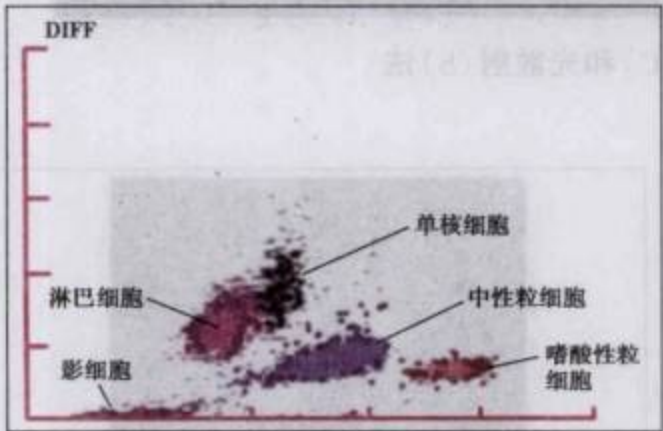


图 3-14 白细胞分类—4DIFF 散点图

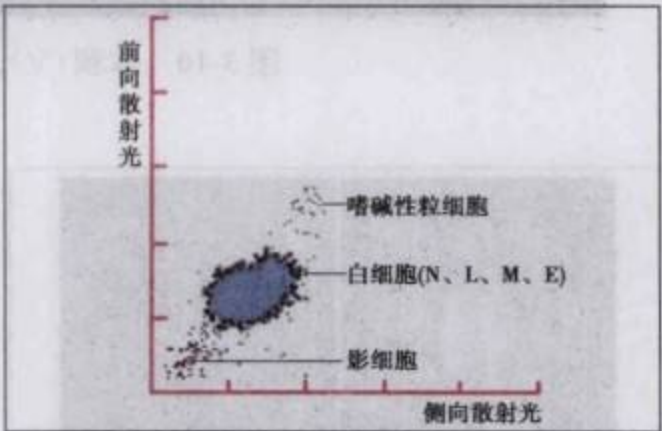


图 3-15 白细胞分类—WBC/BASO 散点图

(3) 未成熟髓细胞信息 (immature myeloid information, IMI) 通道: 采用射频、电阻抗和特殊试剂结合法。在细胞悬液中加入硫化氨基酸，幼稚细胞膜脂质含量高，结合硫化氨基酸的量多于较成熟的细胞，对溶血剂有抵抗作用。加入溶血剂后，成熟细胞被溶解，只留下幼稚细胞 (包括造血祖细胞、原始细胞、未成熟粒细胞、有核红细胞) 和异型 / 异常淋巴细胞 (图 3-16)，报告百分率和绝对值，并提示核左移。

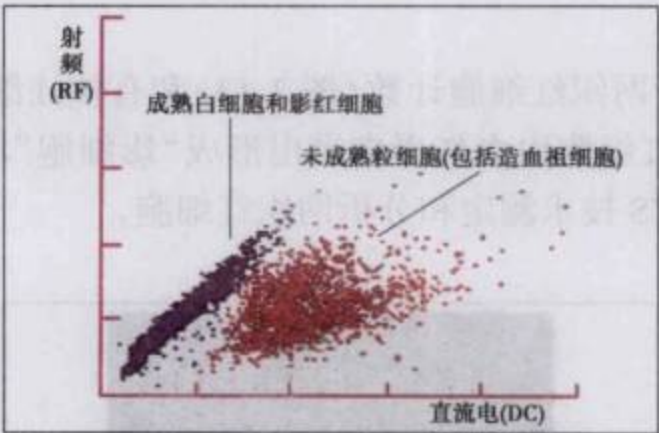


图 3-16 未成熟粒细胞信息通道散点图

3. 钨光源散射与细胞化学方法

(1) 过氧化物酶 (peroxidase, POX) 染色通道: 在白细胞通道加入溶血剂和 POX 染色剂，白细胞 POX 活性由大到小依次为：嗜酸性粒细胞 > 中性粒细胞 > 单核细胞；淋巴细胞和嗜碱性粒细胞无 POX 活性。可计算过氧化物酶平均指数 (mean peroxidase index, MPXI)，得到嗜酸性粒细胞、中性粒细胞或单核细胞的相对 POX 活性。形成以 POX 分布强度为 X 轴、以细胞体积为 Y 轴的散点图(图 3-17)，进行白细胞计数与分类。

(2) 嗜碱性粒细胞 / 核分叶性 (BASO/LOBULARITY) 通道: 苯二酸 (phthalic acid) 完全破坏红细胞和血小板；除嗜碱性粒细胞外，其他白细胞膜溶解，胞质溢出，仅剩裸核。完整的嗜碱性粒细胞呈高角度散射，位于散点图上部；裸核则位于下部，可进行白细胞计数和

嗜碱性粒细胞计数。根据不同细胞的裸核结构进行白细胞分类计数(图 3-18); 根据多分叶核(polymorphonuclear, PMN)和单个核(mononuclear, MN)的比例, 可计算出核左移指数(left index, LI)。LI 越高, 说明核左移程度越大。目前该技术也可用于有核红细胞的计数(图 3-19)。

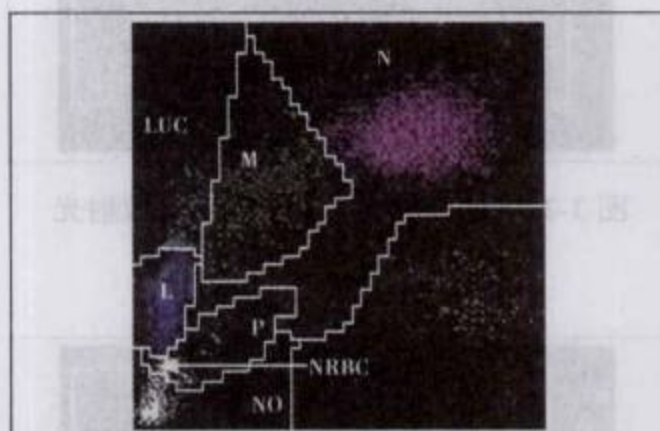


图 3-17 白细胞(N、L、M、E)POX 染色散点图

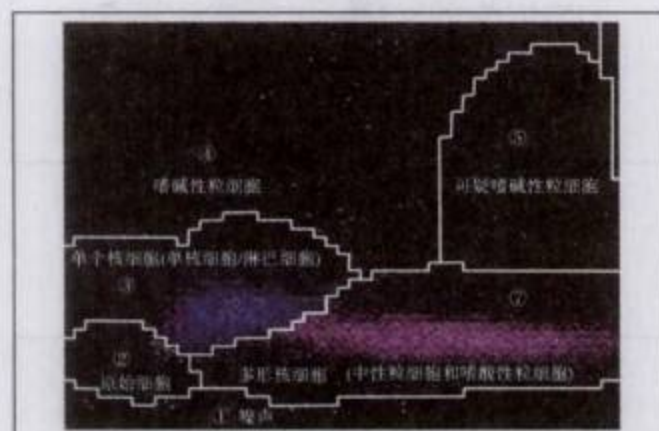


图 3-18 嗜碱性粒细胞/核分叶性散点图

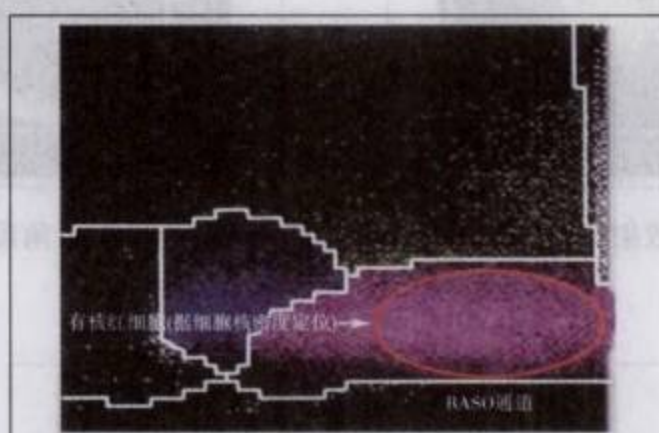


图 3-19 嗜碱性粒细胞/核分叶性通道有核红细胞散点图

(3) 未染色大细胞计数(large unstained cell count, LUC)检测: 在 POX 通道, 可检测到无 POX 活性、体积大于正常淋巴细胞体积平均值 2 个标准差的细胞, 如异型淋巴细胞、浆细胞、毛细胞、幼稚淋巴细胞和原始细胞。

4. 多角度偏振光散射方法 多角度偏振光散射法(multi angle polarized scatter separation, MAPSS)应用(氦氖)激光流式细胞术, 分 4 个角度(图 3-20)检测: ① 0°: 反映细胞大小、检测细胞数量(图 3-21)。② 7°: 反映细胞内部结构及核染色质的复杂性(图 3-21)。③ 90° 偏振光: 反映细胞内部颗粒及细胞核分叶状况(图 3-22)。④ 90° 去偏振光: “去偏振”是指垂直方向的激光光波运动随光散射结果而改变(图 3-23)。嗜酸性粒细胞颗粒丰富, 可消除偏振光, 以与中性粒细胞相鉴别。

鞘液中的 DNA 染料碘化丙啶(propidium iodide)可破坏有核红细胞膜, 只留下裸核而将其染色。染料对有活性的白细胞只有极小渗透性 or 无渗透性, 故其细胞核不染色。通过多散点图分析(multi scatterplot analysis, MSA), 可鉴别有核红细胞、无活性白细胞和脆性白细胞, 计算活性白细胞比率和计数有核红细胞(图 3-24)。

MAPSS 法还可鉴别白细胞亚群和异常细胞类型, 如应用 CD3/4 和 CD3/8 单克隆抗体荧光染色标记技术、光散射法, 检测 CD3/4/8 免疫 T 淋巴细胞。

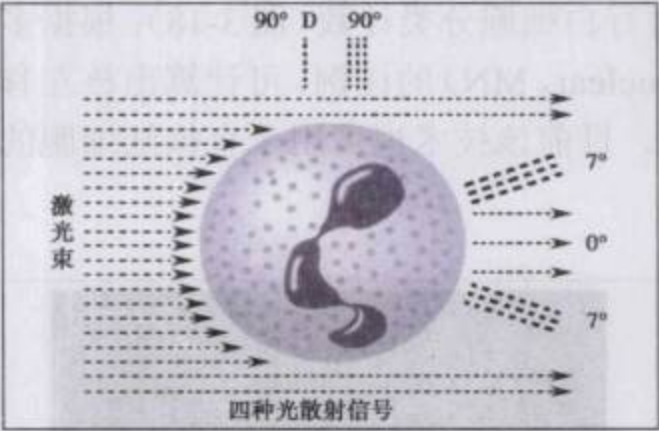


图 3-20 多角度偏振光散射法模式图

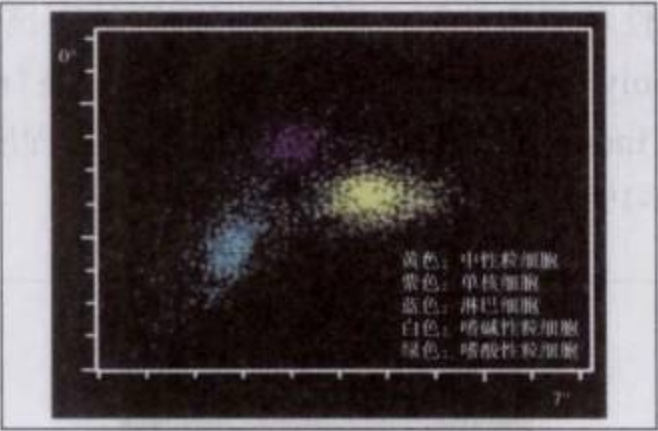


图 3-21 0°前向散射光,7°侧向散射光

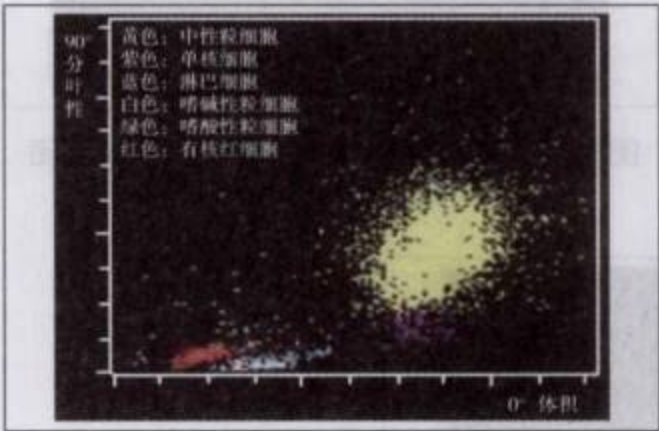


图 3-22 90°垂直角度散射光(偏振光)

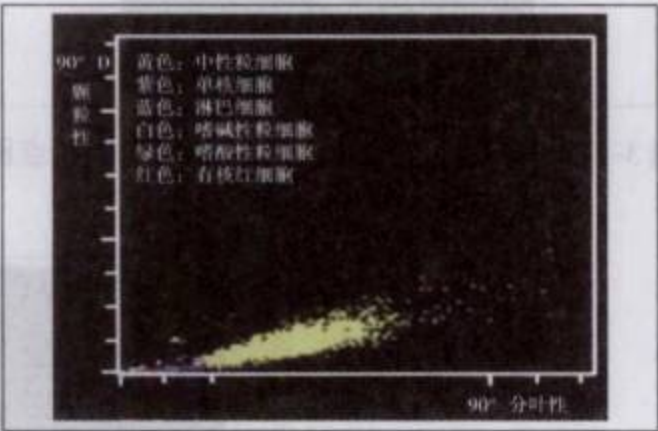


图 3-23 90°垂直角度消偏振散射光(去偏振光)

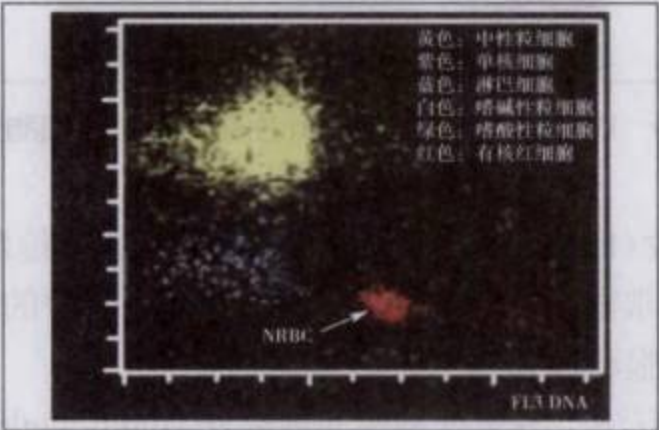


图 3-24 碘化丙啶荧光染色有核红细胞散点图

5. 双流体(双鞘流)技术和细胞化学染色方法

(1) 嗜碱性粒细胞通道: 专用染液染色, 嗜碱性粒细胞具有抗酸性, 染色后保持原有形态与结构, 而其他细胞的胞质溢出, 成为裸核。采用电阻抗法检测, 所得结果与白细胞/血红蛋白通道的白细胞(鞘流阻抗法)结果进行比较(图 3-25)。

(2) 其他白细胞分类通道: 检测除嗜碱性粒细胞以外的各类白细胞。结合了钨光源流式细胞光吸收、化学染色和电阻抗法(图 3-26)。双流体(双鞘流)动力连续系统(double hydrodynamic sequential system, DHSS)采用 2 个鞘流装置, 细胞经第 1 束鞘流后通过阻抗微孔测定细胞的真实体积, 然后经第 2 束鞘流后到达光窗, 测定细胞的光吸收, 分析细胞内部结构(图 3-27)。用氯唑黑 E(chlorazol black E)活体染料使单核细胞初级颗粒、嗜酸性粒

细胞和中性粒细胞特异颗粒染色,细胞膜、核膜、颗粒膜也被染色,得到中性粒细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、异型淋巴细胞和巨大未成熟细胞(large immature cell, LIC)散点图(图 3-28)。双矩阵 LIC 散点图可将幼稚细胞分为 3 个亚群。

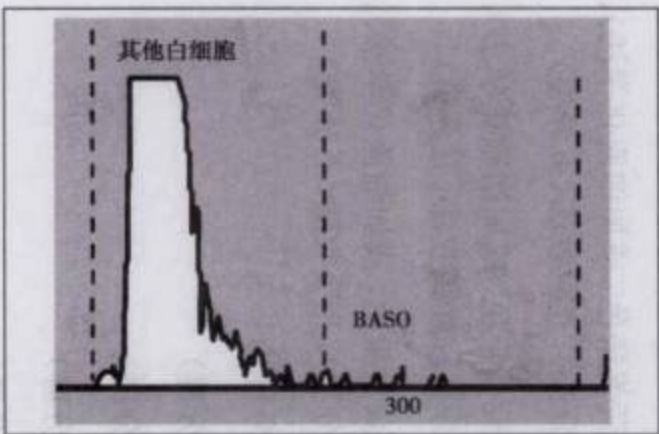


图 3-25 嗜碱性粒细胞计数直方图

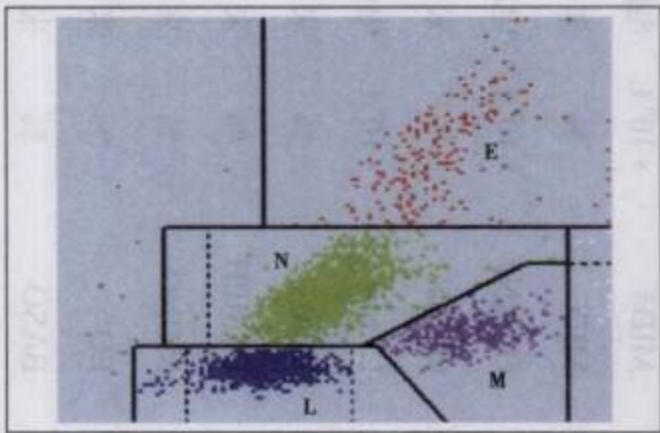


图 3-26 白细胞分类计数散点图

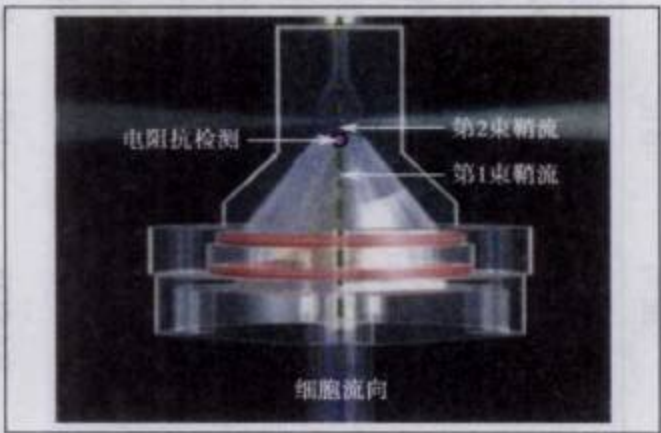


图 3-27 双鞘流图

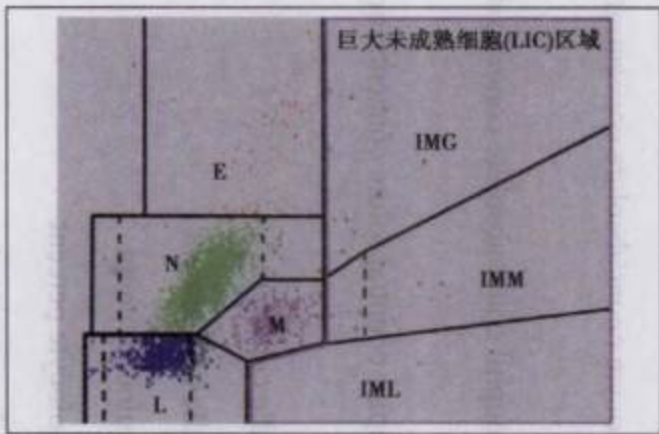


图 3-28 双矩阵巨大未成熟细胞(LIC)散点图

IMG: 未成熟粒细胞; IMM: 未成熟单核细胞; IML: 未成熟淋巴细胞

四、血液分析仪检测参数及原理

不同类型血液分析仪检测参数的原理不尽相同。高档仪器应用 2 种或 2 种以上检测原理,组合电学、光学、细胞化学等技术,在独特检测通道测定红细胞、血小板和白细胞系列的 数量、亚类及相关参数(表 3-4、表 3-5)。

表 3-4 血液分析仪临床常用检测参数基本原理和技术——白细胞系列

检测参数	英文全称	缩写	单位	检测原理和技术
白细胞计数	white blood cell count/concentration	WBC	$\times 10^9/L$	光散射(或加荧光染色)(五分类);电阻抗法(三分群,五分类)
中性粒细胞计数	neutrophil count/absolute concentration	NEUT#	$\times 10^9/L$	光散射(或加荧光染色,或加细胞化学法)、射频法、鞘流电阻抗法、光吸收法(五分类);电阻抗法(三分群)
淋巴细胞计数	lymphocyte count/absolute concentration	LYMPH#	$\times 10^9/L$	光散射(或加荧光染色,或加细胞化学法)、射频法、鞘流电阻抗法、光吸收法(五分类);电阻抗法(三分群)
单核细胞计数	monocyte count/absolute concentration	MONO#	$\times 10^9/L$	光散射(或加荧光染色,或加细胞化学法)、射频法、鞘流电阻抗法(五分类)、光吸收法(五分类)
嗜酸性细胞计数	eosinophil count/absolute concentration	EO#	$\times 10^9/L$	光散射(或加荧光染色,或加细胞化学法)、射频法、鞘流电阻抗法(五分类)、光吸收法(五分类)
嗜碱性细胞计数	basophil count/absolute concentration	BASO#	$\times 10^9/L$	光散射(或加荧光染色,或加细胞化学法)、射频法、鞘流电阻抗法(五分类)、光吸收法(五分类)
中间细胞群计数	middle cell count	MID#	$\times 10^9/L$	电阻抗法(三分群)
中间细胞群百分率	middle cell percent	MID	%	来自计算(三分群)
粒细胞群计数	granulocyte count	GRAN#	$\times 10^9/L$	电阻抗法(三分群)
粒细胞群百分率	granulocyte percent	GRAN	%	来自计算(三分群)
淋巴细胞群计数	lymphocyte count	LYM#	$\times 10^9/L$	电阻抗法(三分群)
淋巴细胞群百分率	lymphocyte percent	LYM	%	来自计算(三分群)
淋巴细胞百分率	lymphocyte percentage of WBCs	LYMPH	%	来自计算(五分类、三分群)
单核细胞百分率	monocyte percentage of WBCs	MONO	%	来自计算(五分类)
嗜酸性粒细胞百分率	eosinophil percentage of WBCs	EO	%	来自计算(五分类)
嗜碱性粒细胞百分率	basophil percentage of WBCs	BASO	%	来自计算(五分类)
未成熟粒细胞计数	immature granulocyte absolute count	IG#, IMG#	$\times 10^9/L$	射频法和电阻抗法、光吸收法(五分类)

续表

检测参数	英文全称	缩写	单位	检测原理和技术
未成熟粒细胞百分率	immature granulocyte percent	IG, IMG	%	来自计算(五分类)
造血祖细胞百分率	hematopoietic progenitor cell percent	HPC	%	来自计算(五分类)
造血祖细胞计数	hematopoietic progenitor cell absolute count	HPC#	$\times 10^9/L$	射频法和电阻抗法(五分类)
大型未染色细胞计数	large unstained cell count	LUC#	$\times 10^9/L$	光散射法(加细胞化学染色)(五分类)
大型未染色细胞百分率	large unstained cell percent	LUC	%	来自计算(五分类)
CD3 T 细胞计数	absolute number of T-cells (CD3 ⁺ lymphocytes)	CD3T	$\times 10^9/L$	光散射(加免疫单克隆抗体荧光染色)(五分类)
CD4 T 细胞计数	absolute number of T-helper/inducer cells (CD3 ⁺ CD4 ⁺ lymphocytes)	CD4T	$\times 10^9/L$	光散射(加免疫单克隆抗体荧光染色)(五分类)
CD8 T 细胞计数	absolute number of T-suppressor/cytotoxic cells (CD3 ⁺ CD8 ⁺ lymphocytes)	CD8T	$\times 10^9/L$	光散射(加免疫单克隆抗体荧光染色)(五分类)
CD3 T 细胞百分率	percentage of lymphocytes that are T-cells (CD3 ⁺ lymphocytes)	CD3	%	来自计算(五分类)
CD4 T 细胞百分率	percentage of lymphocytes that are T-helper/inducer cells (CD3 ⁺ CD4 ⁺ lymphocytes)	CD4	%	来自计算(五分类)
CD8 T 细胞百分率	percentage of lymphocytes that are T-suppressor/cytotoxic cells (CD3 ⁺ CD8 ⁺ lymphocytes)	CD8	%	来自计算(五分类)
CD4/CD8 T 细胞比率	ratio of T-helper/inducer cells to T-suppressor/cytotoxic cells (ratio of CD3 ⁺ CD4 ⁺ lymphocytes to CD3 ⁺ CD8 ⁺ lymphocytes)	4/8	—	来自计算(五分类)

表 3-5 血液分析仪临床常用检测参数基本原理和技术——红细胞、网织红细胞和血小板系列

检测参数	英文全称	缩写	单位	检测原理和技术
红细胞计数	red blood cell count	RBC	$\times 10^{12}/L$	鞘流电阻抗法(五分类),电阻抗法(三分群)
血红蛋白浓度	hemoglobin concentration	HGB	g/L	氰化或非氰化高铁血红蛋白比色法(三分群,五分类)
血细胞比容	hematocrit	HCT	%	来自计算(三分群,五分类)
平均红细胞体积	mean cell/corpuscular volume	MCV	fL	鞘流电阻抗法(五分类),电阻抗法(三分群)
红细胞平均血红蛋白量	mean cell/corpuscular hemoglobin	MCH	pg	来自 HGB/RBC 计算(三分群,五分类)
红细胞平均血红蛋白浓度	mean cell/corpuscular hemoglobin concentration	MCHC	g/L	来自 HGB/HCT 计算(三分群,五分类)
有核红细胞计数	nucleated red blood cell count	NRBC#	$\times 10^9/L$	光散射法(或加核酸荧光染色)(五分类)
有核红细胞百分率	nucleated red blood cell percent	NRBC	%	来自计算(五分类)
红细胞体积分布宽度-SD 值	red cell volume distribution width-SD	RDW-SD	fL	来自计算(五分类,三分群)
红细胞体积分布宽度-CV 值	red cell volume distribution width-CV	RDW-CV	%	来自计算(五分类,三分群)
球形细胞平均体积	mean sphered cell volume	MSCV	fL	光散射、射频法、鞘流电阻抗法(五分类)
单个红细胞平均血红蛋白量	corpuscular hemoglobin content	CH	pg	光散射法(五分类)
红细胞平均血红蛋白浓度	corpuscular hemoglobin concentration mean	CHCM	g/L	光散射法(五分类)
血红蛋白分布宽度	hemoglobin concentration distribution width	HDW	g/L	来自计算(五分类)
网织红细胞血红蛋白浓度分布宽度	reticulocyte cellular hemoglobin concentration distribution width	HDWr	g/L	来自计算(五分类)
网织红细胞平均血红蛋白浓度	corpuscular hemoglobin concentration mean of reticulocytes	CHCMr	g/L	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
网织红细胞血红蛋白量	reticulocyte hemoglobin equivalent	RET-He	pg	光散射法(加荧光核酸染色)(五分类)
网织红细胞平均血红蛋白量	mean hemoglobin content of reticulocytes	CHr	pg	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
网织红细胞计数	reticulocyte count	RET#	$\times 10^9/L$	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
网织红细胞百分率	reticulocyte count percentage	RET	%	来自计算(五分类)
未成熟网织红细胞比率	immature reticulocyte fraction	IRF	%	来自计算(五分类)

续表

检测参数	英文全称	缩写	单位	检测原理和技术
低荧光强度网织红细胞比率	low fluorescence ratio	LFR	%	来自计算(五分类)
中荧光强度网织红细胞比率	middle fluorescence ratio	MFR	%	来自计算(五分类)
高荧光强度网织红细胞比率	high fluorescence ratio	HFR	%	来自计算(五分类)
低吸光度网织红细胞百分率	low absorption reticulocytes percent	LRET	%	来自计算(五分类)
中吸光度网织红细胞百分率	medium absorption reticulocytes percent	MRET	%	来自计算(五分类)
高吸光度网织红细胞百分率	high absorption reticulocytes percent	HRET	%	来自计算(五分类)
高散射光网织红细胞百分率	high light scatter retic percent	HLR	%	来自计算(五分类)
高散射光网织红细胞计数	high light scatter retic count	HLR#	× 10 ⁹ /L	光散射、射频法、鞘流电阻抗法(加非荧光核染色)(五分类)
(网织红细胞) 平均荧光指数	mean fluorescence index	MFI	%	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
低荧光网织红细胞百分率	low fluorescence reticulocyte percent	RET L%	%	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
中荧光网织红细胞百分率	middle fluorescence reticulocyte percent	RET M%	%	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
高荧光网织红细胞百分率	high fluorescence reticulocyte percent	RET H%	%	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
网织红细胞平均体积	mean reticulocyte volume	MRV, MCVr	fl	光散射、射频法、鞘流电阻抗法(加非荧光核染色)(五分类)
血小板计数	platelet count	PLT	× 10 ⁹ /L	光散射法(或加荧光染色,或加单克隆抗体)(五分类);鞘流电阻抗法(五分类);电阻抗法(三分群)
未成熟血小板比率	immature platelet fraction	IPF	%	光散射法(加核酸荧光染色)(五分类)
血小板分布宽度	platelet distribution width	PDW	CV(%), SD(fl)	来自计算(五分类,三分群)
血小板平均体积	mean platelet volume	MPV	fl	鞘流电阻抗法(五分类);电阻抗法(三分群)
大血小板比率	platelet larger cell ratio	P-LCR	%	来自计算(五分类,三分群)
血小板比容	plateletcrit	PCT	%	来自计算(五分类,三分群)

第二节 血液分析仪检测参数和结果显示

一、血液分析仪检测参数

血液分析仪检测参数包括：临床报告参数、异常报警或研究参数、仪器内部监测参数 3 类。血液分析仪检测的总体目标有 2 个：一是筛检和直接报告正常检验结果，二是在出现异常结果时，直接向检验人员报警。不同实验室、不同仪器、不同疾病、不同发病人群有不同的复查标准，因而报警的具体内容和形式也不同。报警与疾病特点、细胞异常、标本干扰等因素有关，故报警项目也可用于研究。血液分析仪临床常用检验参数基本原理和技术见表 3-4 和表 3-5。随着检测技术的发展和临床循证检验医学证据的建立，目前用于报警和研究的参数，有可能转为能应用于临床检测的新参数。

二、血液分析仪结果显示

血液分析仪检测标本后，结果显示通常有 3 种形式：数据、图形和报警。

(一) 数据

凡可向临床报告的检测参数，一般均以检验报告单的形式显示，可按原样和特殊格式打印，并向临床发出或传送结果。检测项目主要包括全血细胞计数、白细胞分类计数以及特定检测参数。检测结果后面多附有相应参数的参考区间。当检测结果超出参考区间时，仪器会给予符号标记（↑表示增高，↓表示降低），或用特定颜色（如红色表示增高，蓝色表示降低）加以提示。对于无法直接报告的结果，也有相应的符号提示。有报警或结果异常的参数，经检验人员复查、确定后，方可发出报告。

(二) 图形

血液分析仪常用的图形有 2 种：直方图(histogram)和散点图(scattergram, scatterplot)。

1. 直方图

(1) 白细胞直方图：电阻抗型血液分析仪，在 35~450fl 范围内将白细胞分为 3 群。正常白细胞直方图(图 3-29)的左侧高陡，通道在 35~95fl 为小细胞群峰(主要是淋巴细胞)；最右侧峰低宽，通道在 160~450fl 为大细胞群峰(主要是中性粒细胞，包含中性杆状核细胞和中性晚幼粒细胞)；左右两峰之间较平坦区有一个小峰，为中间细胞群(主要是单个核细胞，以单核细胞为主，也含有嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞等)。

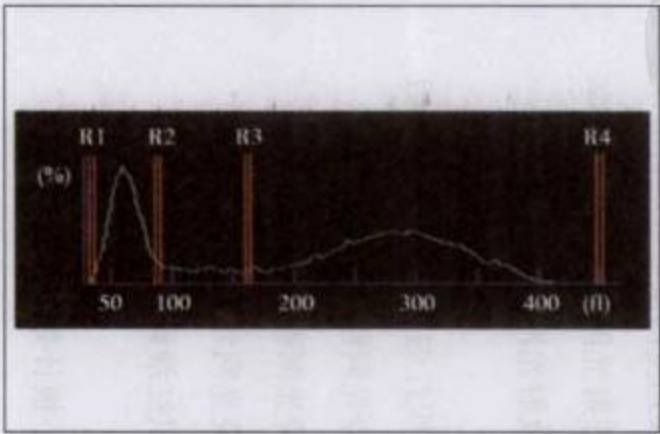


图 3-29 正常白细胞直方图及异常时曲线形态改变主要位置(R1~R4)

出现异常直方图时,常伴随相应部位的报警信号,并有相应的图形改变(图 3-30~图 3-34)。

1) 淋巴细胞峰左侧区域异常:可能有血小板聚集、巨大血小板、有核红细胞、未溶解红细胞、白细胞碎片、蛋白质或脂类颗粒(图 3-29, R1)。

2) 淋巴细胞峰与单个核细胞峰之间区域异常:可能有异型淋巴细胞、浆细胞、原始细胞,嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞增多(图 3-29, R2)。

3) 单个核细胞区与中性粒细胞峰之间区域异常:可能有未成熟中性粒细胞、异常细胞亚群,嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞增多,核左移(图 3-29, R3)。

4) 中性粒细胞峰右侧区域异常:可能中性粒细胞绝对增多(图 3-29, R4)。

5) 多部位警报(RM):表示同时存在 2 种或 2 种以上的异常。

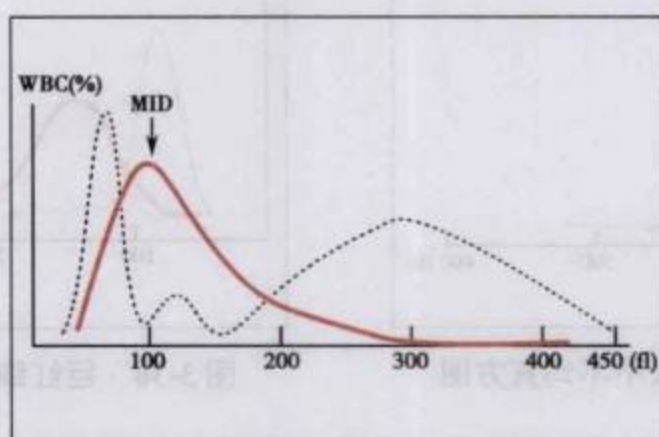


图 3-30 原始、幼稚白细胞增多直方图

(黑色虚线:正常白细胞直方图;红色实线:异常白细胞直方图)

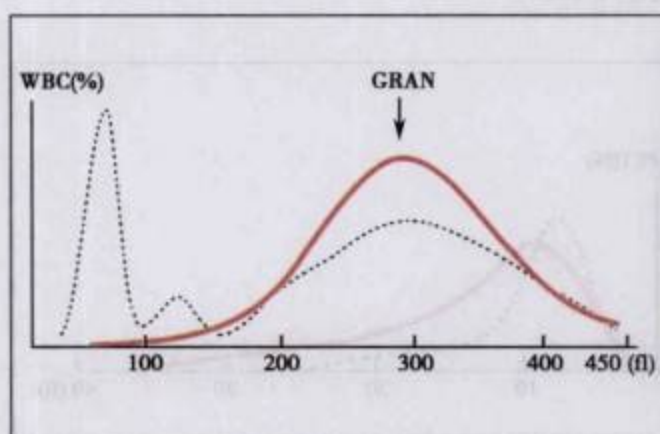


图 3-31 淋巴细胞减少和中性粒细胞增多直方图

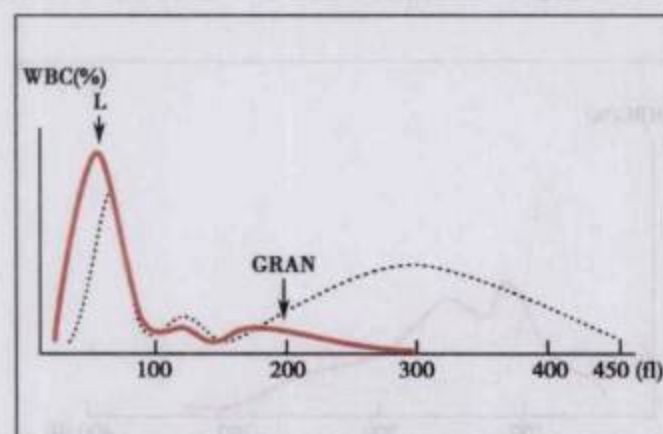


图 3-32 淋巴细胞增多和中性粒细胞减少直方图

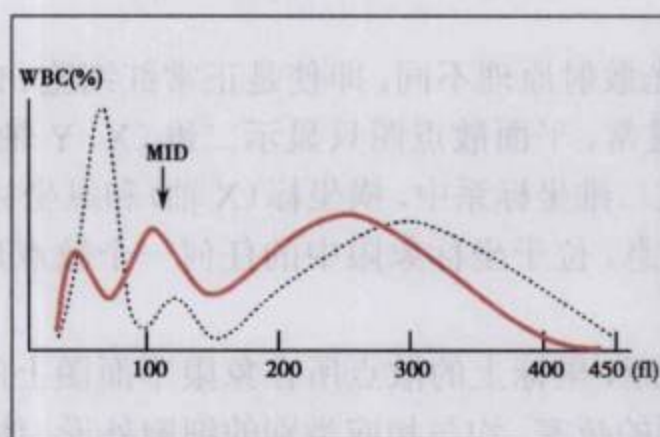


图 3-33 中间细胞(单个核细胞)群增多直方图

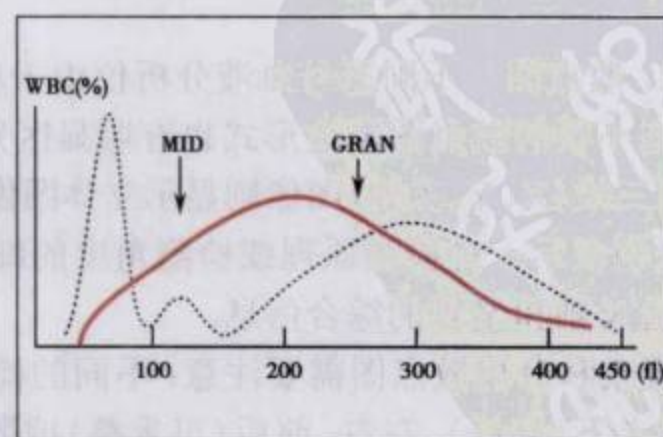


图 3-34 单个核细胞绝对增多直方图

(2) 红细胞直方图：正常红细胞直方图（见图 3-2）是一条近似正态分布的单峰曲线，通常位于 36~360fl 范围内，横坐标表示红细胞体积，纵坐标表示不同体积红细胞出现的频率。正常红细胞主要分布在 50~200fl 范围内，可见 2 个细胞群体，在 50~125fl 区域有一个几乎两侧对称、较狭窄的正态分布曲线，主峰右侧分布在 125~200fl 区域的细胞，可能为大红细胞和网织红细胞。出现异常直方图时，常伴随曲线峰的增高与降低、左移与右移、单峰与双峰，曲线的宽窄，曲线起始的高低、尾部抬高与延伸等变化（图 3-35~图 3-37）。某些血液分析仪，除了提供红细胞散点图，也提供多种形式的红细胞直方图，涉及红细胞体积、红细胞平均血红蛋白浓度、红细胞平均血红蛋白量、网织红细胞体积等。

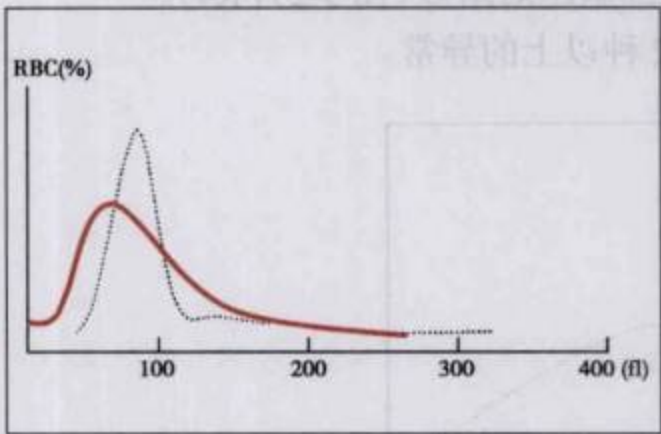


图 3-35 小红细胞且大小不均直方图

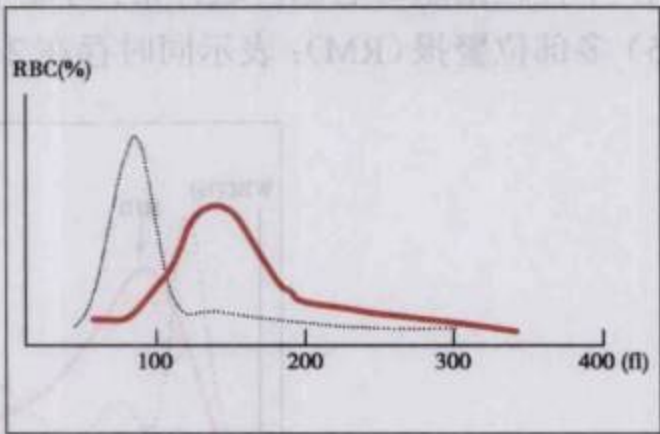


图 3-36 巨红细胞且大小不均直方图

(3) 血小板直方图：正常血小板直方图是一个偏态分布的单峰光滑曲线，通常在 2~30fl 范围内，主要集中在 2~15fl（见图 3-3）。当血标本中存在大血小板（图 3-38）、血小板聚集、小红细胞、红细胞碎片时，可出现异常血小板直方图。

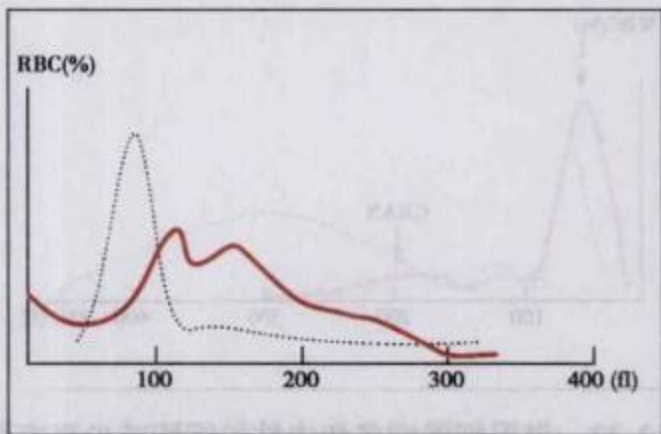


图 3-37 巨幼细胞性贫血治疗有效直方图（呈双峰）

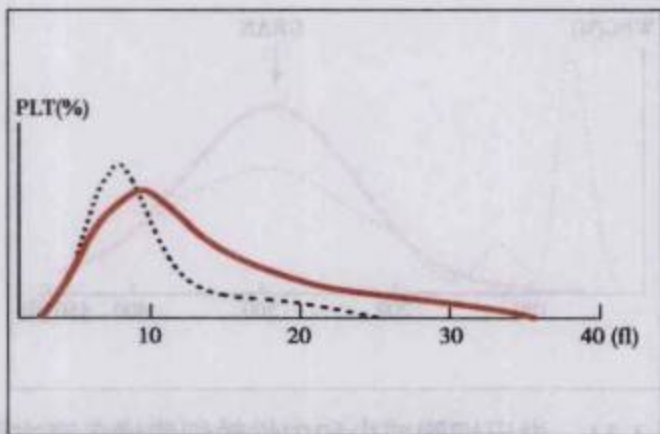


图 3-38 大血小板增多直方图

2. 散点图 不同型号血液分析仪由于应用光散射原理不同，即使是正常红细胞、白细胞或血小板的散点图表达形式也有明显区别。通常，平面散点图只显示二维（X、Y 轴）图像，而三维（X、Y、Z 轴）图像则显示立体图像。在二维坐标系中，横坐标（X 轴）和纵坐标（Y 轴）分别表示一种检测原理或检测角度的细胞信息，位于坐标象限中的任何一个散点反映的就是 X 轴和 Y 轴的综合信息。

观察和分析散点图需要注意：不同的检测原理，坐标上的散点所在象限平面图上的位置，如上下（高低）、左右、前后（可重叠）或散点群的疏密，均与相应类别的细胞外形、体积、内部结构、胞核、胞质及胞质颗粒数量等理化特性密切相关。异常散点图形成的原因包括

病理性和非病理性干扰物质的影响，需要结合临床资料和检测前、检测中及检测后的状态，对散点图作出合理的解释。

(三) 报警

1. 报警的概念 血液分析仪的功能主要有 3 项：①筛检和报告正常检测结果，此时，一般不出现任何报警。②技术条件已成熟，被国家食品药品监督管理局批准、并在仪器或实验室设定的检测项目规则内作出报告时，也可无报警。但在多数情况下仍出现报警，以提醒检验人员密切注意已经出现的异常。③标本不能满足实验室预先设定的各项规则时，仪器必然出现报警，必须复查。检测结果出现报警，意味着仪器直接向临床报告检验结果的可靠性已经明显降低，在没有复查确认或有效解释之前，不能直接向临床签发检测结果报告。

2. 报警来源 主要包括检测结果超出实验室设定的检测项目参考区间、处于要求复查的状态、临床病理标本、标本异常干扰和人群变异。应高度重视标本异常干扰引起的报警（表 3-6）。

表 3-6 引起报警的异常标本因素

参数	标本因素
WBC#, DLC	血小板凝聚、大血小板、有核红细胞、红细胞不溶解、白细胞碎片或其他碎片、白细胞凝聚、冷凝集、冷球蛋白、冷纤维蛋白原、严重的高胆红素血症
RBC#	小红细胞增多、冷凝集、自凝集、红细胞碎片或其他碎片、大量巨血小板、WBC > 100 × 10 ⁹ /L、纤维蛋白
HGB	高脂血症 (> 7g/L)、异常血浆蛋白、WBC > 100 × 10 ⁹ /L、胆红素 > 330mg/L、红细胞不溶解
HCT	WBC > 100 × 10 ⁹ /L、冷凝集、球形红细胞增多
MCV	大红细胞、巨大血小板、血小板卫星现象、小红细胞、镰形红细胞、白细胞碎片、高血糖、冷凝集、自凝集、冷球蛋白、异常血浆蛋白
PLT	EDTA 依赖性假性血小板减少症、血小板聚集、巨血小板、血小板卫星现象、血小板碎片、小红细胞、白细胞碎片、冷球蛋白、自凝集
NRBC#	小淋巴细胞、红细胞内包涵体（豪焦小体）
RET#, RET	冷凝集、荧光药物、疟疾、豪焦小体

3. 报警形式 有图形、符号和文字 3 种。仪器根据预先设定的检测数据、大小分布和图形等作出全面分析和判断，对可疑结果用文字或图示形式给出解释性、易于理解的报警信息。如用红色表示阳性，绿色表示阴性。出现“阳性”或“错误”提示，可能的确是由于标本异常所致，需要进一步复查。特别要注意 WBC、DLC、RBC、PLT、NRBC、RET 及其相关参数的数量和形态异常的报警。

4. 报警内容 报警内容是厂商和用户作出的定义，涉及检测对象的年龄、性别、参考区间、危急值、红细胞计数值、血小板计数值、白细胞计数和分类值、细胞形态或可疑的各种异常信息。血液分析仪解释性程序（interpretive program, IP）是仪器在全面分析检测数据和显示图形后，提供的易于理解的报警信息。用于对结果显示和信息的补充，提示检验人员浏览屏幕上的报警信息。

对同样的内容，各仪器报警形式并不统一。因此，要根据仪器的操作手册，仔细理解定义。各类血液分析仪常见报警内容见表 3-7。

表 3-7 血液分析仪常见报警内容

类别	报警内容
红细胞系列	大红细胞、小红细胞、红细胞大小不均、高色素性细胞、低色素性细胞、影红细胞、有核红细胞、红细胞碎片、红细胞凝集、红细胞异常分布、红细胞不溶解、网织红细胞散点图异常、血红蛋白分布宽度异常、血红蛋白缺乏、血红蛋白干扰等
白细胞系列	原始细胞、未成熟粒细胞、大型非典型未染色有核细胞、过氧化物酶染色异常、异常散点图、核左移、异型淋巴细胞等
血小板系列	血小板凝聚、大血小板、血小板异常分布、小红细胞增多、红细胞碎片等
骨髓造血	原始细胞、大型非典型未染色有核细胞、幼稚细胞等
检测操作	吸样凝块、标本量不足、标本浑浊等

第三节 血液分析仪检测结果显微镜复查规则

2005 年，国际实验室血液学学会 (International Society for Laboratory Hematology, ISLH) 提出了显微镜复查的 41 条建议性标准 (表 3-8~表 3-11)。近年来，又有一些血液学检验专家针对不同类型的血液分析仪制定了各自的显微镜复查规则，但其临床实用性尚处于实践检验中。

表 3-8 血液分析仪检测结果手工涂片复查真阳性标准

血涂片显微镜检查阳性：发现异常形态细胞	血涂片显微镜检查阳性：发现异常类型细胞
红细胞形态异常：2+ / 中等量或更多；或发现疟原虫	原始细胞：≥1 个
血小板形态异常 (巨大血小板)：2+ / 中等量或更多	晚幼粒细胞：>2 个
血小板凝块：偶见或时而可见	中幼粒 / 早幼粒细胞：≥1 个
Döhle 小体：2+ / 中等量或更多	非典型淋巴细胞：>5 个
中毒颗粒：2+ / 中等量或更多	有核红细胞：≥1 个
空泡：2+ / 中等量或更多	浆细胞：≥1 个

表 3-9 血液分析仪检测结果的显微镜复查规则 (全血细胞计数)

编号	参数	复查条件次序：①→②→③	采取措施次序：①→②→③
1	新生儿	①首次标本	①血涂片复查
2	WBC、RBC、HGB、PLT、RET	①超出仪器线性范围	①稀释标本后再上机检测
3	WBC、PLT	①低于实验室确认的仪器线性范围	①按标准操作程序进行复查
4	WBC、RBC、HGB、PLT	①仪器无法检测结果	①检查标本有无凝块。②再上机检测。③仍异常，换替代计数方法
5	WBC (× 10 ⁹ /L)	① < 4.0 或 > 30.0 和②首次检测	①血涂片复查
6	WBC (× 10 ⁹ /L)	① < 4.0 或 > 30.0 和②测定差值超出预设值和③ 3 天内	①血涂片复查
7	PLT (× 10 ⁹ /L)	① < 100 或 > 1000 和②首次检测	①血涂片复查

续表

编号	参数	复查条件次序: ①→②→③	采取措施次序: ①→②→③
8	PLT($\times 10^9/L$)	①任何测定值和②与前次比, PLT 数差值超出限值	①血涂片复查
9	HGB(g/L)	①<70g/L 或>(年龄性别)参考区间上限 20g/L 和②首次检测	①血涂片复查。②如有提示, 确认标本完整性
10	MCV(fl)	①<75fl 或>105fl 和②首次检测和③<24 小时标本	①血涂片复查
11	MCV(fl)	①>105fl 和②成人和③>24 小时标本	①血涂片复查大红细胞相关变化。②如未见变化, 取新鲜血再检查。③如无新鲜标本, 则在报告中注明
12	MCV(fl)	①任何测值和②与前次比, 差值超出限值和③<24 小时标本	①验证标本完整性/标本身份
13	MCHC(g/L)	①≥参考值上限 20g/L	①检查有无脂血、溶血、红细胞凝集、球形红细胞
14	MCHC(g/L)	①<300 和②MCV 正常或增高	①检查可能静脉输液污染或其他特殊原因
15	RDW-CV(%)	①>22 和②首次检测	①血涂片复查

表 3-10 血液分析仪检测结果的显微镜复查规则(白细胞分类和网织红细胞)

编号	参数	第 1 个复查条件	和 / 或	第 2 个复查条件	采取措施
16	无分类结果或分类不完全				血涂片分类、检查
17	中性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	<1.0 或>20.0	和	首次检测	血涂片复查
18	淋巴细胞计数($\times 10^9/L$)	>5.0(成人)>7.0 (<12 岁)	和	首次检测	血涂片复查
19	单核细胞计数($\times 10^9/L$)	>1.5(成人)>3.0 (<12 岁)	和	首次检测	血涂片复查
20	嗜酸性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	>2.0	和	首次检测	血涂片复查
21	嗜碱性粒细胞计数($\times 10^9/L$)	>0.5	和	首次检测	血涂片复查
22	有核红细胞计数($\times 10^9/L$)	任何值	和	首次检测	血涂片复查
23	网织红细胞绝对值($\times 10^9/L$)	>0.100	和	首次检测	血涂片复查

表 3-11 血液分析仪检测结果的显微镜复查规则(可疑报警)

编号	参数	复查条件次序: ①→②→③→④	采取措施次序: ①→②→③
24	可疑报警(除未成熟粒细胞 / 杆状核细胞外)	①阳性报警和②首次检测和③成人	①血涂片复查
25	可疑报警	①阳性报警和②首次检查和③儿童	①血涂片复查
26	WBC 不可信报警	①阳性报警(任何报警)	①验证标本完整性再上机检测。②如仍出现同样报警, 检查仪器输出。③如有提示手工分类血涂片复查
27	RBC 碎片	①阳性报警(任何报警)	①血涂片复查

续表			
编号	参数	复查条件次序：①→②→③→④	采取措施次序：①→②→③
28	双形型 RBC	①阳性报警和②首次检测	①血涂片复查
29	不溶性 RBC	①阳性报警(任何报警)	①复查 WBC 直方图和散点图。②按标准操作程序验证(RET 是否有)。③血涂片复查有无异常 RBC 形态
30	PLT 凝集报警	①任何计数值	①检查标本有无凝块。②血涂片复查估计血小板数。③如见 PLT 凝集,则按标准操作程序复查
31	PLT 报警	① PLT 和 MPV 报警(除 PLT 凝块外)	①血涂片复查
32	未成熟粒细胞报警	①阳性报警和②首次检测	①血涂片复查
33	未成熟粒细胞报警	①阳性报警和②既往结果明确和③与前次比,白细胞数增高差值高于限值	①血涂片复查
34	左移报警	①阳性报警	①按标准操作程序复查
35	非典型 / 变异淋巴细胞	①阳性报警和②首次检测	①血涂片复查
36	非典型 / 异型淋巴细胞	①阳性报警和②既往明确结果和③与前次比,白细胞增多的差值高于限值	①血涂片复查
37	原始细胞报警	①阳性报警和②首次检测	①血涂片复查
38	原始细胞报警	①阳性报警和②既往结果明确和③与前次比,白细胞减少的差值未超出限值或低于上次和④ 3~7 天之内	①按标准操作程序复查
39	原始细胞报警	①阳性报警。②既往结果明确。③与前次比,白细胞增多的差值高于限值	①血涂片复查
40	NRBC 报警	①报警阳性	①血涂片复查。②如有 NRBC,需计数 NRBC,校准 WBC
41	RET	①仪器检测结果出现异常类型	①检查仪器输出。②如为吸样问题,则重复测定。③如结果仍异常,则血涂片复查

第四节 血液分析仪检验的质量保证、仪器校准和性能评价

一、血液分析仪检验的质量保证

血液分析仪检验结果的质量保证,要贯穿于临床医生的申请,护士或检验人员采集标本,运输人员转运标本,检验人员接收标本、检测、复查确认、打印结果、发出报告,以及临床满意的全过程。

(一) 检测前质量保证

- 1. 合格的检验人员 ①上岗前接受规范的培训,认真阅读仪器手册,熟悉检测原理、操作程序,检测结果的数据、图形、报警等含义,检测的干扰因素,仪器基本调试、保养和维护。②掌握采用参考方法校正仪器检测参数的原则。③参加能力测试。
- 2. 合适的检测环境 血液分析仪的安装应按照仪器手册的具体要求,满足仪器对空间、温度、湿度、电源、抗电磁、抗热源、光线、通风等特定条件的要求。
- 3. 合格的血液分析仪 新安装或每次维修血液分析仪后,必须按照 CLSI 的评价方案,对其技术性能进行测试、评价或校准,并做好相应记录和管理工作。
- 4. 配套试剂 使用与仪器配套、在有效期内和批号一致的稀释液、溶血剂、染液、质控品、校准品;避免使用未经科学鉴定和认可批准的替代试剂。否则,检测结果将失去准确性和可靠性。
- 5. 合格的检测标本 合格的检测标本的要求见表 3-12。

表 3-12 合格检测标本的要求

项目	要求
标本	尽可能采用静脉血,并保证血液质量和充足用量(包括复查用量),无明显的溶血、凝集及标本老化
采血容器	尽可能采用真空采血系统,减少干扰因素,保证生物安全,提高采血质量
抗凝剂	使用 ICSH 推荐的 EDTA-K ₂ (1.5~2mg/ml 血)
血液储存	
18~22℃	WBC、RBC、PLT 可稳定 24 小时,DLC 可稳定 6~8 小时,HGB 可稳定数天,但 2 小时后粒细胞形态即有变化。故需要显微镜检查分类者,应及早制备血涂片
4℃	可延长血液贮存期,WBC、RBC 稳定 48 小时,DLC 可稳定 8~10 小时。当血标本不能及时转运和检验时,应在较低温度下保存,但不利于血小板的保存

(二) 检测中质量保证

- 1. 仪器启动 按照血液分析仪的标准操作程序(standard operation procedure, SOP)的规定,在各种设备连接完好的基础上,才能开启仪器。
- 2. 室内质控 在检测临床标本前,必须先做室内质控,确定各项检测参数在允许范围内,才可检测临床标本。如质控超出允许范围时,应查找失控的原因并纠正后,才能继续检测,并填写失控报告。质控品使用前要充分颠倒混匀,以保证有形成分分布均匀。
- 3. 标本检测 仪器吸样前,必须采用混匀器法或人工法多次充分混匀标本。
- 4. 仪器清洁 检测中,应随时清洁被血液标本污染的部位。检测结束后,除了仪器自动洗涤外,必须按仪器操作后的清洗要求进行保洁,特别注意在关闭仪器后,清洁检测部件(如吸样针孔)和仪器外部,确保其通畅、洁净,并处理检测废液。

(三) 检测后质量保证

- 1. 实验室内结果分析 按 ISLH 的复查标准,并根据本实验室设定的规则,复查检测结果。一般对仪器设定以外的异常检测结果,无论是数据、图形异常还是报警,都不能直接发出报告,必须作仪器复查和(或)人工复查。
- (1) 分析有密切关联的参数之间的关系:如在红细胞、血细胞比容与血红蛋白之间掌握

“3 规则”，即： $3 \times \text{RBC} = \text{HGB}$ ； $3 \times \text{HGB} = \text{HCT}$ 。临床允许误差为 $\pm 3\%$ 。还要分析白细胞与白细胞分类计数之间的关系，RDW 与红细胞形态一致性的关系等，以判断仪器运转是否正常。

(2) 确定是否需要显微镜复查：血涂片复查的重点，一是检查血细胞形态，并注意可能存在的异常细胞和血液寄生虫。二是做白细胞分类计数，并估算油镜下细胞分布良好区域内的白细胞和血小板的数量，以验证血细胞计数的准确性。

2. 结合临床情况作相关分析 检测结果出现异常时，如已排除检测中因素的可能性，则可结合患者临床资料予以合理解释。记录和比较治疗前后的检测结果（特别是血液病或化疗患者），有助于发现检测结果异常的原因。

3. 定期征求临床对检验结果的评价 遵循循证医学原则，定期征求临床医生意见，不断地用临床最终的诊断结果来验证检验结果，及时纠正血液分析仪检测中系统性偏倚，以确保检验质量。

4. 记录和报告难以解释的检测结果 对于难以解释的检测结果，必须记录并报告临床，有助于积累实践经验，发现新的临床意义。

二、血液分析仪的校准

(一) 建立仪器检测参数基准值

基准值是评判血液分析仪检测性能的参考水平。当安装新购仪器或仪器调整、维修后，可因基准值的变化影响血液分析仪的精密度和准确度，需要建立或确认参数的基准值。

1. 不精密度检测的标本 可采用高、中、低 3 种浓度水平的新鲜血液或稳定化全血质控品。

(1) 新鲜血液：低值或高值标本最好采用患者标本。也可将正常或高值患者标本用自身血浆稀释后来制备低值标本；或采用将患者标本倾斜放置 2 小时并去除 1/2 血浆的方法制备高值标本。但不适用于 MCV、MCH、MCHC、RDW、MPV 和 PDW 参数的检测。

(2) 稳定化全血质控品：通常使用商品化质控品，最好选用与仪器配套的质控品。若自制稳定化全血质控品，可参照 WHO/LAB/97.2 的方法进行。

2. 校准品的来源和性能要求 校准品是用于校准血液分析仪的物质，应具有稳定且可溯源的特点，以保证检测结果的正确性。通常使用与仪器配套的商品化校准品。对于校准品定值的来源，应由新鲜全血经参考测量系统传递赋值，不应由前批号的校准品或其他厂商的校准品传递，血液分析仪相关检测参数的参考方法见表 3-13。对于校准品稳定性的要

表 3-13 血液分析仪法相关参数检测的参考方法

指标	参考方法
Hb(g/L)	ICSH(1995): HiCN 法和氰化高铁血红蛋白标准品
HCT(V/V)	ICSH(2001): 微量离心法
RBC、WBC	ICSH(1994): 单通道、半自动颗粒计数仪红细胞、白细胞计数法
PLT($\times 10^9/L$)	ICSH(2001): 流式细胞术间接血小板计数法
Ret(%)	ICSH/CLSI(2004): 流式细胞术和活体染色网织红细胞计数法
DLC	CLSI(2010): 白细胞分类计数(比例)法

求,是在有效期间不应发生变化,如校准品开瓶之后可能改变,则应在校准品标签上说明,标签应明确所适用血液分析仪的类型和型号。

我国食品药品监督管理局于 2008 年发布、2010 年实施的 YYT0701-2008 号文件,规定“血液分析仪用校准物(品)”的主要指标有:①外观接近真实标本、均匀无凝块。②包装完整、标识清楚。③分装均匀,分装精密度的一致性。④溯源性:参考方法测量结果的相对不稳定性及允许偏差(赋值准确性)。⑤生物安全:HBsAg、HIV1/HIV2 抗体及 HCV 抗体检测阴性。⑥有效期至少 30 天,开瓶后允许偏倚在允许范围内(表 3-14)。

表 3-14 血液分析仪用校准物(品)的主要特征

项目	WBC	RBC	HGB	MCV	HCT	PLT
分装精密度(CV%)	≤2.5	≤1	≤1	≤1	≤1	≤4
参考方法测量结果的相对不稳定性±%	≤4	≤2	≤2	≤2		≤9
允许偏差范围±%	≤5	≤2	≤2	≤2	≤2	≤9
开瓶后偏倚±%	≤5	≤2	≤2	≤2	≤2	≤9

3. 不精密度检测 连续测定同一份充分混匀的新鲜血液或稳定化全血质控品 n 次(重复测定的次数最好是 31 次)。计算标准差(standard derivation, SD, s)和变异系数(coefficient of variation, CV)。如重复次数较少(如 $n=10$),应将 SD 按 95% 可信限(confidence limit, CL)要求进行转换。

4. 校准操作要求 按照血液分析仪说明书的要求进行校准品测定,将测定值与真值比较,校准品的每项分析参数结果的均值(C)除以校准品的定值(R)可得到校准因子。如果 $C/R > 1.0$,则当前校准因子必须成比例向下调节;如果 $C/R < 1.0$,则当前校准因子必须成比例向上调节。将校准品定值的可信限与分析仪测得每项参数的可信限结合,可得到校准值的 95% 可信限。

校准频率按照厂商说明书的要求,每年至少要做一次校准。校准频率取决于实验室的规定,通常在室间质评和室内质控证明仪器已发生明显漂移后、仪器更换主要零件后都应考虑进行校准。

5. 验证特殊检测项目 如白细胞分类计数和网织红细胞计数,见表 3-13。

(二) 室内质量控制目的和方法

质控目标就是要监测仪器检测的准确性或精密度(或两者)是否失控。质控方法必须有足够的灵敏度,能揭示仪器失控可能影响检测结果;但也不能过于灵敏,以至于仪器在无任何失控时就发出错误信号。每天仅作一次质控,可能无法提供确保仪器检测结果准确性和一致性的信息。当完全停机后再重新启动时,应确认精密度,以确保仪器具有满意的分析能力。

1. 用稳定化全血质控品进行质控 稳定化全血质控品除赋值方法不同于校准品外,其余性质两者相似。质控品浓度应至少具有“正常”和“高值”2 个水平,应反映正常检测物水平和可报告范围。

(1) 质控品测定频率:应根据工作量和检验结果漂移特征而定。质控测定的最少次数应为开机时进行 1 次正常和异常水平的质控,关机时进行 1 次正常水平的质控,以确保满意的检测结果。增加检测次数,可进一步的保证检测结果的可靠性。在更换质控品批号前,

应将新批号质控品与当前批号质控品平行检测 3 天, 以确定新质控品的性能, 并提供新旧批号质控品定值之间的比值关系。

(2) 结果解释: 若采用 $\pm 2s$ 作为质控限, 在 20 次测定中可有 1 次质控值超过界值属随机事件。重新测定相同质控品正常和高值 2 种浓度, 若结果仍超过 $\pm 2s$ 界限则属非随机事件, 说明仪器精密度可能不佳; 当精密度变差时, 应检查失控前临床标本的检测结果, 以决定报告与否。若相同正常和高值质控品重复测定结果在 $\pm 1s \sim \pm 2s$ 范围内, 说明仪器准确性可能不佳。当准确性不佳时, 应对仪器重新进行校准。

2. 用患者全血标本进行质控 除了采用稳定化全血质控品进行质控外, 日常患者全血标本也可用作质控品。常用方法有下列几种。

(1) 配对比较法: 是监测精密度的一种方法, 可分析稳定化全血制品结果的变化原因, 是仪器精密度不良还是存在偏倚。

(2) 加权浮动均值法: 在引起 MCV、MCH 和 MCHC 测定结果变化的原因中, 检测因素较生物性因素变异的可能性更大。因此, 使用加权浮动均值法, 可最大程度地减少新输入的检测结果对一批患者 (常 20 个) 红细胞平均指数检测均值的影响。现代血液分析仪可自动截取患者数据, 进行加权浮动均值的计算。此方法很实用, 红细胞平均指数变化的合理范围是: 测定值与靶值之间的偏离 $< 3\%$ 。

(3) 监测参考区间法: 通过定期监测参考范围, 可以发现仪器是否发生漂移, 以便及时对仪器进行校准。

(4) 监测白细胞分类计数法: 手工法白细胞分类计数可作为血液分析仪白细胞分类计数结果质量的质控方法。

3. 室间质量评估 是评价实验室检测准确性的独立方法

三、血液分析仪的性能评价

1994 年, ICSH 公布了白细胞分类、网织红细胞计数和血小板检测的血液分析仪评价指南, 2010 年 CLSI 又对血液分析仪的性能评价指标进行了修订, 其主要包括总体评价、性能评价等。

(一) 总体评价

新安装或每次维修仪器后, 必须对仪器的性能进行测试、评价。评价内容包括: 仪器基本情况、仪器手册、方法学、评价步骤。技术评价计划包括: 校准、校准品和质控品、试剂、标本及处理、常用细胞计数参数评估标本的浓度分布范围 (表 3-15)、记录原始结果、预评价和性能评价 (表 3-16)。

表 3-15 细胞计数参数评估标本的浓度分布范围

项目	浓度分布范围	项目	浓度分布范围
Hb (g/L)	35~210	PLT ($\times 10^9/L$)	15~800
RBC ($\times 10^9/L$)	0.75~7.5	WBC ($\times 10^9/L$)	0.1~99.0
HCT	0.15~0.65	Neut ($\times 10^9/L$)	0.1~99.0
MCV (fl)	55~120	Eos ($\times 10^9/L$)	0.1~20.0
RDW	依据仪器	Baso ($\times 10^9/L$)	0.1~1.0

续表

项目	浓度分布范围	项目	浓度分布范围
Mono($\times 10^9/L$)	0.1~20.0	总 T 细胞($\times 10^9/L$)	0.1~10.0
Lym($\times 10^9/L$)	0.1~99.0	总 B 细胞($\times 10^9/L$)	0.1~10.0
Ret($\times 10^9/L$)	5~750	NK 细胞($\times 10^9/L$)	0.1~10.0
MPV(fl)	5.5~12.5	CD4 T 细胞($\times 10^9/L$)	0.1~10.0
PDW	依据仪器	CD8 T 细胞($\times 10^9/L$)	0.1~10.0

表 3-16 ICSH 规定的血液分析仪性能评价内容

项目	分析测量区间	精密度	携带污染	相关性	准确度	标本老化	干扰
血细胞计数仪	+	+	+	+	+	+	+
白细胞分类计数	+	+	+	+	+	+	+
网织红细胞	-	+	+	+	+	+	+
流式细胞仪检测 免疫标志物	-	+	+	-	-	+	-

(二) 性能评价

性能评价是评价血液分析仪的主体内容,包括厂商确认和用户验证。2010 年 CLSI 规定的用户验证指标如下。

1. 空白检测限 空白检测限(limit of blank, LoB)又称为本底,是指空白试剂和电子噪音的作用,是导致仪器检测结果假性增高的原因。LoB 与准确的定量检测低限是不同的。
2. 携带污染 携带污染(carryover)是指所检测的前一个标本对下一个标本检测结果的影响。通常用携带污染率(%)表示。在检测大量标本前,必须对高值和低值标本的携带污染进行评价,以保证交叉检测时仪器的稳定。低值标本中应该含有 RBC、WBC、Hb 和 PLT。不能用低值商品质控品、空白稀释液或吸入空气的方法代替低值标本,可使用以用同质血浆稀释后的健康人标本,以提供合适的基质效应。

用于评价携带污染的高值、低值标本通常取自临床,具体标本浓度分布范围见表 3-17。评价方法:取 1 份高值标本连续测定 3 次,结果记录为高靶值(high target value, HTV),即 HTV₁, HTV₂, HTV₃;然后立即测定 1 份低值标本 3 次,结果记录为低靶值(low target value, LTV),即 LTV₁, LTV₂, LTV₃。

$$\text{携带污染率}(\%) = \frac{\text{LTV}_1 - \text{LTV}_3}{\text{HTV}_3 - \text{LTV}_3} \times 100\%$$

表 3-17 用于评价携带污染的高值、低值标本相关成分的浓度值

指标	高值	低值
WBC($\times 10^9/L$)	>90	>0 且 <3
RBC($\times 10^{12}/L$)	6.20	>0 且 <1.5
Hb(g/L)	220	>0 且 <50
PLT($\times 10^9/L$)	900	>0 且 <30

3. 精密度(重复性) 精密度(precision)评价包括批内、批间精密度和总精密度评价。理论上,批内或批间精密度研究范围应覆盖整个生理和病理范围,不同批次的标本应包括高、中、低值。在同一批内,所有标本应有相似结果。

关于重复性研究时间限定由研究标本老化(sample ageing)所需时间决定。标本老化是指静脉标本采集后,观察随时间增加测定结果的变化量。采集 10 份标本,其中 5 份来自正常个体,5 份来自影响各种检测参数的异常个体。标本分别贮存在室温和 4℃,并在 0、30 分钟、1 小时、2 小时、3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、12 小时、24 小时、48 小时和 72 小时内检测。以百分率或绝对值-时间作图,观察参数的变化。

4. 检测下限与定量检测下限

(1) 检测下限(lower limit of detection, LLoD): 是指一定概率下标本可被检出的最低浓度。在血液分析仪上,是指可与本底区分开的最低血细胞浓度值。CLSI EP17 文件规定: $LLoD = LoB \text{ 的均值} + LoB \text{ 标准差}(s) \text{ 的 } 1 \text{ 个常数倍数}$, 正态资料常数 = 1.645。

$$\text{非正态资料常数} = 1.645 / \{1 - 1/[4(n-k)]\}$$

式中, n 为总的重复检测次数, k 为标本个数。

不同浓度的标本至少测定 60 次,也可选用 6 个不同浓度的标本,每个标本测定 10 次,以发现标本之间的变异。

(2) 定量检测下限(lower limit of quantitation, LLoQ): 是指标本中能被准确定量的最低浓度值,且定量结果在可接受的精密度和准确度范围内。

准确检测低浓度的白细胞和血小板非常重要。如白细胞可帮助临床决定是否化疗、获取骨髓抑制/恢复的信息。血小板可预测出血、决定干预性血小板输注。测定并计算每个低值白细胞和低值血小板标本的 CV 和 SD,当 CV 小于每个测量值所规定不精密度时,白细胞和血小板测定值即为 LLoQ。规定不精密度来源于 CLIA'88 的允许误差范围(WBC 为 15%; PLT 为 25%),或采用医学允许误差范围(WBC 为 12.7%; PLT 为 17.7%)。通常,红细胞、血红蛋白和血细胞比容不需要验证检测限。

5. 分析测量区间 分析测量区间(analytical measuring interval, AMI)也可用分析测量范围(analytical measuring range, AMR)表示。采用同源乏血小板血浆稀释压积细胞,得到覆盖生理和病理范围的稀释度。将每个稀释度当作一个标本,检测红细胞、白细胞、血红蛋白和血小板,经统计学运算,观察仪器在覆盖浓度范围内检测结果的一致性,以得到仪器的最佳测试范围,该范围越宽越好。AMI 是厂商遵照 FDA 要求测试并载入仪器手册的一项技术指标,用户无须调整,CLIA'88 对此也不做要求。但用户可根据 AMI 得到临床可报告区间(clinically reportable interval, CRI)。

6. 可比性 可比性(comparability)是反映仪器检测结果与使用常规程序检测结果达到一致性的能力。所用仪器分为:待测(新系统)血液分析仪(testing automated hematology analyzer, TAA)和比对(原系统)血液分析仪(comparing automated hematology analyzer, CAA)。先用可溯源的校准品校准 CAA,再用 CAA 和正常新鲜全血校准 TAA。将取自患者(RBC、Hb、WBC 及 PLT 异常)和健康人的新鲜全血,在两类仪器上检测,对结果进行比较,确保新鲜血液标本交互核查(cross check)结果的可比性。也可用于评价仪器的准确度。用于评价可比性和准确性的相关参数及参考方法见表 3-13。

一般情况下，TAA 与 CAA 比对、TAA 与参考（最佳）方法比对，其检测结果的差值应控制在表 3-18 的范围。

表 3-18 交互核查结果的最大允许偏差值

比对指标	最大偏差值(±)
WBC(× 10 ⁹ /L)	0.3
RBC(× 10 ¹² /L)	0.15
Hb(g/L)	2
HCT	0.013
PLT(× 10 ⁹ /L)	15

当白细胞分类计数结果出现表 3-19 的变化时，则需要以显微镜法与 TAA 检测结果进行比对。

表 3-19 需要显微镜法进行白细胞分类结果比对的标准

仪器类型	细胞类型	增加标准
五分类血液分析仪	Baso	> 5%
	Eos	> 12%
	Mono	> 35%
	NRBC	任何阶段
	幼稚细胞	任何类型
三分群血液分析仪	淋巴细胞	> 80%
	MID	> 12%
	粒细胞	< 10% 或 > 85%

7. 不同检测模式的比较 对血液分析仪的两种模式（全血模式和稀释血模式）进行评估。原则上，应使用静脉血检测，采血量 > 1ml/ 管，8 小时内完成检测。如临时采用了其他模式，应将检验结果与静脉全血模式进行比对，以评估其可靠性。主要指标有：LoB、携带污染（特别是 WBC、PLT）、精密度（特别是贫血、白血病、血小板减少症的医学决定水平）、LLoD 和 LLoQ、AMI 和可比性。

8. 对异常标本和干扰物的评价 尽可能多检测能代表所有临床检验的预期范围的标本。可对异常标本或已知干扰物质的标本用仪器进行专门研究（表 3-6）。

9. 临床可报告区间 临床可报告区间（CRI）是为直接获取某种方法的分析测量区间，通过采用稀释、浓缩等方法处理标本后，检测到的可作为结果向临床报告的量值范围。如检测结果 > AMI 上限，则需要稀释标本，直到测得 AMI 范围内的结果，经过计算后向临床报告；如检测结果小于 AMI 下限，则报告 AMI 下限值；但 AMI 下限值不能小于 LoB。如果 LoB ≠ 0，则血小板和白细胞的 AMI 下限 ≠ 0。

10. 参考区间 血液分析仪检验指标参考区间（reference interval, RI）的制定，不同于化学 / 免疫学等具有方法依赖性的指标，制造商可提供相应信息，但用户必须对其在受检者人群中的适用性进行评价，包括年龄（特别是新生儿）、性别、种族等因素对血液分析仪检测

结果的影响,并考虑个体内及个体间的差异。

(三) 白细胞分类计数性能评价

2010 年,CLSI 发布 CLSI-H20A2“白细胞分类计数(百分率)参考方法和仪器评价方法”文件,建议用已知不精密度和偏倚的白细胞分类计数参考方法,评价血液分析仪的白细胞分类计数性能(灵敏度和特异性)。白细胞分类计数的评价内容见表 3-20。CLSI-H20 文件也是我国卫生部 2005 年标准文件 WS/T 246—白细胞分类计数参考方法的主要依据。

表 3-20 白细胞分类计数评价内容

项目	内容
细胞种类	外周血液有核细胞:中性粒细胞(分叶核、杆状核)、淋巴细胞(正常、异型形态)、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、少见的其他有核细胞(破碎细胞、篮细胞和不能明确定义形态的细胞)
计数方法	每张血涂片应计数 200 个白细胞,如白细胞减少,应同时增加血涂片数量
血涂片检查限量	检验人员每天按每张血涂片分类计数 200 个细胞计,不超过 15~25 张
考核用血涂片标本	①标本 1:含分叶核中性粒细胞、杆状核中性粒细胞、正常淋巴细胞、异型淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞 ②标本 2:含少量有核红细胞 ③标本 3:含少量未成熟白细胞
评价方案	标本制备、比较分类计数不准确度和不精密度、临床灵敏度、统计学方法

第五节 血液分析仪检验的临床应用

目前,被批准用于临床的血液分析仪检测参数,如红细胞计数、血小板计数、白细胞计数和分类计数(百分率和绝对值)、网织红细胞计数(百分率和绝对值)等,其临床意义已经明确。随着血液分析仪检测原理和技术的发展,新近开发的多种检测参数,也已经或正在经受临床实践的验证。以下简介新参数的独特临床应用价值。

一、红细胞系列参数

(一) 红细胞体积分布宽度

红细胞体积分布宽度(red cell volume distribution width, RDW)是红细胞体积异质性的参数,即反映红细胞大小不均的客观指标。RDW 多采用 RDW-CV 和 RDW-SD 表示。

1. RDW-CV RDW-CV 是红细胞在体积分布曲线上 1SD 的分布宽度与 MCV 的比值($CV = \frac{s}{\bar{x}}$, 正常 RDW-CV = 11.5%~14.5%)。RDW-CV 易受 MCV 大小的影响,小红细胞增多时因为 MCV 减小,极易放大 RDW-CV 的改变。相反,大红细胞增多时会平衡掉曲线宽度的变化,从而减小 RDW-CV。

2. RDW-SD RDW-SD 是独立于 MCV 的 RDW 表示方法。RDW-SD 是以红细胞分布的峰值相当于 100% 时的 20% 界限的分布宽度,以 fl 表示[正常 RDW-SD = (42±5) fl]。

RDW-CV 和 RDW-SD 都是红细胞大小不均的指标。RDW 增大提示存在红细胞大小不

均的混合细胞群。若存在两种细胞群，无论是小细胞群混合正常细胞，还是大细胞群混合正常细胞，都会使分布曲线增宽而 RDW 增大。因为 RDW-SD 测量的是红细胞体积分布曲线的较低部分，其对少量大细胞或小细胞的存在较灵敏(图 3-39)。同时，其对于网织红细胞数量的增加也灵敏，因为网织红细胞的 MCV 较大，会使分布曲线的基底增宽；RDW-CV 对于小细胞、大细胞和网织红细胞等少量细胞群的存在不灵敏，但是它可以更好地反映细胞大小分布的总体变化，从而可较好地用于大细胞或小细胞性贫血的诊断。

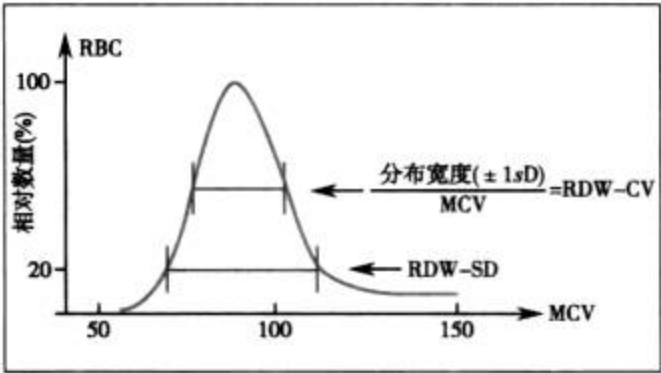


图 3-39 红细胞直方图及 RDW 范围

RDW 与 MCV 结合，对贫血分类和鉴别诊断有临床意义。Bessman(1983 年)提出了贫血的 MCV/RDW 分类法(表 3-21)。

表 3-21 贫血 MCV/RDW 分类法

MCV	RDW	分类	意义
减低	正常	小细胞均一性	轻型 β- 珠蛋白生成障碍性贫血
减低	增高	小细胞不均一性	缺铁性贫血、慢性失血性贫血、铁粒幼细胞贫血、HbH 病
正常	正常	正细胞均一性	慢性病性贫血、再生障碍性贫血、白血病、急性失血性贫血
正常	增高	正细胞不均一性	骨髓纤维化、铁粒幼细胞性贫血、缺铁性贫血早期
增高	正常	大细胞均一性	骨髓增生异常综合征
增高	增高	大细胞不均一性	巨幼细胞性贫血、恶性贫血

(二) 红细胞平均值

- 1. 红细胞平均血红蛋白浓度(CHCM) CHCM 是 RBC/HC 直方图的平均值，参考区间在 280~410g/L。低于 280g/L 提示低色素红细胞，高于 410g/L 为高色素红细胞。
- 2. 小细胞 / 低色素细胞比值(M/H) 在流式细胞术激光散射法线性散点图中，M/H 表示小红细胞低色素的程度，有助于区别 β- 珠蛋白生成障碍性贫血和缺铁性贫血；小红细胞高色素可筛检球形红细胞性贫血。欧洲已将其列入贫血和血透患者的诊治指南。

(三) 网织红细胞参数

- 1. 未成熟网织红细胞 未成熟网织红细胞(immature reticulocyte fraction, IRF)是光散射法血液分析仪根据网织红细胞内 RNA 含量不同，引起荧光染色强度的差异，而得出的参数。

$$IRF = \frac{MFR + HFR}{MFR + HFR + LFR}$$

在分析骨髓造血状态的血液学参数中,RET 优于白细胞计数和血小板计数,而 IRF 的变化较 RET# 变化更具有重要意义。

(1) 评价骨髓功能:在骨髓功能抑制时,HFR 和 MFR 减低早于中性粒细胞和血小板计数。在骨髓功能恢复时,多数患者 HFR 或 MFR 迅速增高,HFR、MFR 与白细胞、血小板同时增高者较少见。

(2) 监测治疗过程:在放疗或化疗时,网织红细胞参数可反映骨髓增生(特别是红系增生)及放疗、化疗的细胞毒性作用。如长期化疗,网织红细胞亚群发生变化,HFR 和 MFR 减低早于 LFR;而 HFR 和 MFR 的迅速增高是骨髓恢复的征象。

(3) 评价疗效与调整用药:外周血液造血干细胞移植后患者的 IRF 增高,提示骨髓的造血功能已开始恢复;移植后 IRF 在一定时间内出现并增高,则患者的死亡率极低。在评价贫血药物疗效时,IRF 可反映药物(如促红细胞生成素)的灵敏度、有助于调整药物剂量。

2. 网织红细胞成熟指数 网织红细胞成熟指数(reticulocyte maturity index, RMI)是光散射法血液分析仪根据网织红细胞内 RNA 荧光染色强度而得出的参数,其临床意义与 IRF 相同。

$$RMI = \frac{MHR + HFR}{LFR} \times 100\%$$

3. 网织红细胞平均血红蛋白量 网织红细胞平均血红蛋白量(mean hemoglobin content of reticulocytes, CHr)可实时评价骨髓红系造血的功能状态,是反映缺铁性贫血的灵敏指标。在贫血诊断指标中,骨髓铁染色为侵入性检查,血清铁检测结果的日间波动大;转铁蛋白为急性时相蛋白,在炎症和肝脏疾病也可增高;网织红细胞在外周血 1 天后就演变为红细胞。而 CHr 则反映体内铁蛋白代谢的最新状态。

4. 网织红细胞血红蛋白含量 RET、RET# 和 IRF 仅反映了网织红细胞数量变化,而网织红细胞血红蛋白含量(reticulocyte hemoglobin equivalent, RET-He)则反映网织红细胞的质量变化,RET-He 低于 30.5pg 为补充铁的最佳临界值,其灵敏度和特异性高,与 CHr 有很好的相关性。RET-He 在缺铁性贫血治疗过程中具有更重要意义。

5. MSCV 和 MRV 健康人的 MSCV 比 MCV 大,但有些患者则相反。如当 MSCV < MCV 时,诊断遗传性球形红细胞增多症的灵敏度为 100%,特异性为 93.3%,表明 MSCV 和 MCV 是高度有效的诊断指标。MRV 也是观察促红细胞生成素疗效的稳定且较灵敏的指标。

(四) 血红蛋白分布宽度

血红蛋白分布宽度(hemoglobin concentration distribution width, HDW)是反映红细胞内血红蛋白含量异质性的参数。用 RBC/HC 直方图的平均值(CHCM)的标准差表示。HDW 和 RDW 明显增高见于遗传性球形红细胞增多症,属于小细胞不均一性高色素性贫血。HDW 对镰形细胞贫血、β-轻型珠蛋白生成障碍性贫血也有一定诊断意义。

(五) 研究参数

血液分析仪的研究参数有:①小红细胞贫血因子(microcytic anemia factor, MAF):计算细胞大小和血红蛋白含量,对小红细胞贫血分类有帮助,血液透析患者 MAF 与 EPO 治疗反应呈现良好的关系。②网织红细胞分布宽度标准差(RDW_r-SD)或网织红细胞分布宽度变异系数(RDW_r-CV):其增高可提示缺铁性贫血,正常或减低可提示杂合子珠蛋白生成障碍性贫血。

二、白细胞系列参数

1. 中间细胞群 中间细胞群(MID)是三分群血液分析仪的指标,正常时包括单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞;病理情况下包括各种原始幼稚细胞、异型淋巴细胞、浆细胞等。但由于各种仪器使用的稀释液和溶血剂对白细胞膜作用不同,中间细胞群的确切细胞组成并不明确。因此,出现MID异常或报警,需要特别注意血涂片显微镜复查。

2. 未成熟粒细胞 未成熟粒细胞(IG)主要包括杆状核粒细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞,但不包括原始粒细胞。IG有助于筛检、监测类白血病反应、炎症、肿瘤、骨髓异常增生性疾病、组织坏死等。IG超过3%,对提示败血症非常特异,有助于微生物检测评价。

3. 造血祖细胞 造血祖细胞(HPC)是反映以CD34阳性为主的造血祖细胞参数,由造血干细胞分化而来。定量检测外周血液HPC的变化,特别适合于监测造血干细胞移植过程中,供体在接受药物动员后,外周血液造血干细胞的变化,以便于选择采集时机。与流式细胞仪检测结果具有较好的相关性。

4. 平均过氧化物酶活性指数 平均过氧化物酶活性指数(MPXI)用于诊断髓过氧化物酶部分和全部缺乏症、中性粒细胞激活等。

三、血小板系列参数

1. 血小板平均体积 血小板体积(MPV)与血小板数量呈非线性负相关;与血小板功能呈正相关。与血小板计数(PLT)、大血小板比率(P-LCR)和血小板分布宽度(PDW)等指标联合应用意义更大。

(1) 鉴别血小板减少的病因:骨髓增生功能良好而外周血液血小板破坏过多,如特发性血小板减少性紫癜、脾功能亢进、系统性红斑狼疮等,MPV正常或增高;再生障碍性贫血时MPV正常或减小;骨髓病变如急性白血病、骨髓增生异常综合征等则MPV减小。

(2) 评估骨髓造血功能:①当白血病化疗和骨髓移植患者的骨髓受抑制时,MPV减小早于PLT减少;白血病缓解、骨髓功能恢复时,MPV增高又早于PLT增多1~2天。②特发性血小板减少性紫癜时,MPV增大表示预后良好;当特发性血小板减少性紫癜缓解、PLT恢复正常时,MPV逐渐恢复正常。③MPV持续减小和PLT持续减少,为骨髓造血衰竭征兆。

(3) 判断病情变化:用于脓毒症(减低)、新生儿菌血症(增高)、心绞痛(MPV增大,血管狭窄危险性增高)、急性心肌炎(是复发的独立危险因素)等疾病过程变化的判断指标。

(4) MPV、P-LCR和PDW:有利于原发性血小板增多症(MPV增大,PDW正常或减低)与反应性血小板增多症(MPV减小,PDW正常或增大)的鉴别。

2. 未成熟血小板比率 未成熟血小板又称网织血小板,是骨髓新近释放入外周血液、胞质中残留RNA的血小板。未成熟血小板比率(IPF)可反映骨髓增生状态、血小板更新速度和细胞动力学变化。骨髓造血功能良好时,外周血液血小板破坏增多,IPF增高;骨髓造血功能抑制、血小板增生不良时,IPF减低。因此,IPF对血小板减少症的鉴别诊断具有重要意义。IPF也有助于监测血小板疾病的治疗,特别是自身免疫性血小板减少性紫癜和血栓性血小板减少性紫癜时IPF增高,治疗有效时则IPF减低。

3. 血小板分布宽度 在血管阻塞危象的镰形红细胞性贫血、新生儿菌血症时 PDW 增高。特发性血小板减少性紫癜时的 MPV、P-LCR、PDW 高于再生障碍性贫血,灵敏度和特异性高。P-LCR 和 PDW 对于诊断免疫性血小板减少非常可靠。

4. 血小板成分平均浓度 血小板成分平均浓度(mean platelet component, MPC)反映血小板内的密度, MPC 减低表示血小板激活,与反映血小板活化的表面标志 CD62P(金标准)定量有很好的相关性,可反映血小板激活、监测抗血小板药物治疗、筛检异常血小板功能。

(郑文芝)

本章小结

现代血液分析仪已具备精度高、速度快、操作易、功能强的优势,主要应用电学和光学两大原理。电学原理有电阻抗法和射频电导法;光学原理包括光散射法和分光光度法。

电阻抗法血细胞计数根据细胞通过小孔的瞬间,产生电脉冲数量和幅度的变化,反映细胞的数量和体积,但不能准确区分体积相似的细胞。因此可进行红细胞、血小板、白细胞计数及相关参数检测、白细胞三分群。射频电导法可鉴别体积相同、而内部结构性质不同的细胞。流式(激)光散射法采用鞘流技术,多角度检测细胞的数量、体积、内部结构等,如结合对细胞核、颗粒等成分的细胞化学和(或)荧光染色,其区别不同细胞的能力远远超过电阻抗法。可进行红细胞、血小板、白细胞计数及更多相关参数的检测、白细胞五分类、有核红细胞、网织红细胞、未成熟血小板、未成熟粒细胞、幼稚粒细胞、淋巴细胞亚型、造血祖细胞等参数分析。利用含氰化物或其他替代试剂的溶血剂破坏红细胞,并将血红蛋白转化为特定光吸收的衍生物,可利用分光光度法进行血红蛋白测定。血液分析仪结果显示通常采用数据、图形(直方图和散点图)和报警(图形、符号或文字)3种形式。常见直方图主要有三分群血液分析仪的白细胞、红细胞和血小板直方图,五分类血液分析仪的红细胞和血小板直方图等。由于不同型号血液分析仪应用的光散射原理不同,其散点图表达形式及特征也有明显区别。与相应类别的细胞形态结构、体积大小、数量多少、胞核、胞质以及颗粒的理化特性密切相关。①红细胞系列的散点图有红细胞体积血红蛋白浓度(V/HC)九分区散点图、网织红细胞散点图、有核红细胞散点图。②血小板系列有血小板光学法和单克隆荧光抗体检测散点图、血小板体积折射率散点图。③白细胞系列也有采用各自组合技术的散点图。应重视血液分析仪的报警,在没有复查确认或有效解释之前,不能直接向临床发出检测报告。2005年,ISLH提出了血液分析仪显微镜复查41条规则,具有重要指导意义。

血液分析仪质量保证、仪器校准和性能评价有一系列国际公认的标准文件,从检测前、中、后各环节把关。仪器性能评价指标主要包括空白检测限、精密度、携带污染、检测下限及定量检测下限、可比性、准确度、分析测量区间、临床可报告范围、参考区间等。评价血液分析仪白细胞分类计数性能采用标准化的手工白细胞分类计数方法,所有检测参数的临床应用应遵循循证医学原则。目前,已经显示有独特临床应用价值的血液分析仪新参数有 RDW、RET、IRF、CHr、RET-He、MRV、SCV、HDW、MPV、IPF、IG、HPC 等。

参 考 文 献

1. CLSI. Validation, Verification and quality assurance of automated haematology analyzers: Approved standard. 2nd ed. CLSI document H26-A2. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.

第四章

尿液标本采集和处理

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

- 1. 对用于尿液标本采集的容器及离心机有哪些具体要求?
- 2. 尿液标本的种类、采集方法和临床应用有哪些?
- 3. 尿液标本保存不当可发生哪些变化? 导致其变化的机制是什么?
- 4. 尿液标本保存方法有哪些?
- 5. 患者状态对尿液分析结果有什么影响?
- 6. 简述尿液标本保存防腐剂的正确使用方法,其对检验结果有什么影响?
- 7. 尿液标本采集的质量保证实施分哪几个方面?

第一节 尿液标本采集

尿液是具有重要意义的排泄物,尿液成分的变化可以反映泌尿系统及其他组织器官的病变,其检验结果的准确性可直接关系到疾病的诊断与治疗。为了保证尿液检验结果的可靠性,必须坚持全面质量管理(total quality management, TQM)。正确、合理和规范化地采集和处理尿液标本,是尿液检测前质量保证的主要内容;不合格尿液标本的检测结果并不能反映患者的实际状态,即使采用质量最优的试剂、最好的仪器设备和最具经验的检验人员,也无法弥补标本采集、转运过程中的差错。因此,必须有尿液标本采集各个环节的标准文件,并将文件分发给所有相关的工作人员。

一、尿液标本采集一般要求

1. 告知患者 尿液标本采集前,首先应告知患者关于尿液标本采集的目的,以书面的形式具体指导患者采集尿液标本。尿液标本采集的一般要求见表 4-1。

表 4-1 尿液标本采集的一般要求

项目	一般要求
患者要求	患者处于安静状态,按常规生活、饮食
生理状态	运动、性生活、月经、过度空腹或饮食、饮酒、吸烟及姿势和体位等可影响某些检查结果
避免污染	①患者先洗手并清洁外生殖器、尿道口及周围皮肤 ②女性患者特别要避免阴道分泌物或月经血污染尿液,男性患者要避免精液混入

续表

项目	一般要求
采集时机	③要避免化学物质(如表面活性剂、消毒剂)、粪便等其他污染物混入 用于细菌培养的尿液标本,必须在使用抗生素治疗前使用无菌容器采集,以便利于细菌生长
特殊要求	①采用导尿标本或耻骨上穿刺尿标本时,医护人员应先告知患者及家属有关注意事项,然后由医护人员进行采集 ②采集婴幼儿尿标本时,由儿科医护人员指导,并使用小儿专用尿袋采集标本

2. 明确标记 在尿液采集容器和检验申请单上,准确标记患者姓名、门诊号或病历号、性别、年龄、检验项目、采集尿液标本的日期和时间、标本量和类型等信息,或以条形码作为唯一标识。

二、尿液标本采集容器及器材

1. 容器要求 尿液标本采集容器的指标与要求见表 4-2。

表 4-2 尿液标本采集容器的指标与要求

指标	要求
材料	①透明、不渗漏、不与尿液发生反应的惰性环保材料 ②儿科患者使用专用的洁净柔软的聚乙烯塑料袋
规格	①容积 50~100ml, 圆形开口且直径至少 4~5cm ②底座宽而能直立、安全且易于启闭的密闭装置 ③采集计时尿(如 24 小时尿)容器的容积应至少达 2~3L, 且能避光
清洁度	容器洁净、干燥、无污染(菌落计数 < 10 ⁴ CFU/L)
标识	容器要标有患者姓名、病历号或门诊号、检验联号(条形码), 并留有空间以填写标本留取时间
其他	①用于细菌培养的尿液标本容器采用特制的无菌容器 ②对于必须保存 2 小时以上的尿液标本, 建议使用无菌容器

2. 离心管 用于尿液沉渣检查的离心管应洁净、透明、有足够的强度, 并有刻度, 刻度上至少标明 10ml、1ml、0.2ml; 容积应 > 12ml, 试管底部呈锥形或缩窄形, 试管口尽可能具有密封装置。最好使用不易破碎的一次性塑料试管。

3. 信息标记 尿液标本容器、离心管(试管)、载玻片必须便于标记和识别, 且保持洁净。信息标记必须粘贴于容器外壁上(不能粘贴于容器盖上), 且牢固、防潮, 即使在冰箱内仍能保持信息清晰与完整。

三、尿液标本的类型及采集方法

选择尿液标本的类型和采集方式取决于尿液检查的目的(通常包括化学检查、尿液有形成分显微镜检查和细菌学检查等)、患者状况和检验要求。临床常用的尿液标本, 依据时间或检测项目可以分为晨尿、计时尿、随机尿和特殊尿标本。尿液标本的类型与应用范围见表 4-3。

表 4-3 尿液标本的类型和应用范围

标本类型	应用范围
晨尿	常规筛检、直立性蛋白尿检查、细胞学研究
随机尿	常规筛检、细胞学研究等
计时尿	物质定量检测、细胞学研究、清除率试验等
中段尿	常规筛检、细胞学研究、微生物培养
导管尿(经尿道)	常规筛检、微生物培养
导管尿(经输尿管)	鉴别肾脏与膀胱感染
耻骨上穿刺尿	微生物(尤其厌氧菌)培养、常规筛检、细胞学研究

(一) 晨尿标本

1. 晨尿 晨尿(first morning urine)是指清晨起床后、未进早餐和做运动之前第一次排出的尿液。晨尿一般在膀胱中的存留时间达 6~8 小时,其各种成分浓缩,已达到检验或培养所需浓度。可用于肾脏浓缩功能的评价、人绒毛膜促性腺激素(hCG)的测定以及血细胞、上皮细胞、管型、结晶及肿瘤细胞等有形成分检查。

住院患者最适宜采集晨尿标本,在标本采集前 1 天,给患者提供尿液采集容器和书面说明,如外阴、生殖器清洁方法,采集中段清洁尿的注意事项等。晨尿采集后在 2 小时内送检并检查完毕,否则应采取适当的防腐措施。但是,晨尿中高浓度的盐类冷却至室温后可形成结晶,干扰尿液有形成分的检查。

2. 第 2 次晨尿 第 2 次晨尿是指采集晨尿后 2~4 小时内的尿液,要求患者从前一天晚上起到采集此次尿液标本时,只饮水 200ml,以提高细菌培养和有形成分计数的灵敏度。
- (二) 随机尿标本

随机尿(random urine)是指患者无须任何准备、不受时间限制、随时排出的尿液标本。但随机尿易受饮食、运动、药物的影响,可能导致低浓度或病理性临界值浓度的物质和有形成分的漏检。因而,随机尿不能准确反映患者的状况。但随机尿标本新鲜、易得,最适合于门诊、急诊患者的尿液筛检。
- (三) 计时尿标本

计时尿(timed collection urine)是指采集规定时段内的尿液标本,如采集治疗后、进餐后、白天或卧床休息后 3 小时、12 小时或 24 小时内的全部尿液。准确的计时和规范的操作(包括防腐方法、食物或药物禁忌等)是确保计时尿检验结果可靠的重要前提。计时尿常用于化学成分定量测定、内生肌酐清除率试验和细胞学检查。

1. 餐后尿 餐后尿是指午餐后 2~4 小时内的尿液。餐后尿有利于病理性尿胆原(为最大分泌时间)、尿糖和尿蛋白的检出。

2. 3 小时尿 上午 6~9 时的尿液称为 3 小时尿,多用于检查尿液有形成分,如 1 小时尿排泄率检查等。

3. 12 小时尿 即从晚上 8 时开始到次晨 8 时终止的 12 小时内全部尿液。女性采集标本前要清洗外阴,夏天则要先加 40% 甲醛 1ml 防腐。检验当天,除正常饮食外不再饮水,以利于尿液浓缩(因低渗会使部分红细胞与管型溶解)。12 小时尿用于尿液有形成分计数(如 Addis 计数)、微量白蛋白和球蛋白排泄率测定。

4. 24 小时尿 规范采集 24 小时尿液标本最为困难，最常见的问题是未能采集到全部 24 小时内的尿量。因此，采集 24 小时尿必须要求患者密切配合。

(1) 采集方法：必须明确告知患者尿液标本采集的具体步骤，并提供书面说明。标本的采集步骤与要求见表 4-4。

表 4-4 24 小时尿液标本的采集步骤与要求

步骤	要求
容器	容量最好 >4L，洁净、琥珀色、无化学污染，并预先加入合适的防腐剂（但浓盐酸作为防腐剂时一定要在采集第 1 次尿液后再加入）
方法	①采集的当天（如早晨 8 点），患者排空膀胱并弃去尿液，从此时开始计时并采集尿液，将 24 小时尿液全部采集于容器内 ②结束采集的次日（如早晨 8 点），患者排空膀胱中的尿液，且将尿液采集于同一容器内
测定尿量	准确测量并记录尿液总量
混匀标本	将全部尿液送检，检测前必须充分混匀尿液，再从中取出约 40ml 用于检验，其余尿液可弃去
避免污染	儿童 24 小时尿液标本采集过程中，应特别注意防止粪便污染

(2) 主要用途：尿液中的很多成分呈现昼夜规律性变化，如尿液儿茶酚胺、17- 羟类固醇和电解质在清晨时浓度最低，而在下午或稍后的时间内浓度最高。因此，需要采集 24 小时尿标本进行检查。24 小时尿主要用于内生肌酐清除率、儿茶酚胺、17- 羟皮质类固醇（17- 羟）、17- 酮类固醇（17- 酮）、总蛋白质（total protein, TP）、尿素、香草扁桃酸（VMA）、电解质等化学物质定量或结核杆菌检查等。

(四) 特殊尿标本

1. 尿三杯试验 患者一次连续排尿，分别采集前段、中段、末段的尿液，分装于 3 个尿杯中。第 1、3 杯 10ml，第 2 杯（尿杯容量宜大）采集其余大部分尿液。尿三杯试验多用于泌尿系统出血部位的定位和尿道炎的诊断。

2. 尿液红细胞形态检查 患者保持正常饮食，不要大量饮水。清晨 5~6 时清洁外阴后，排去第 1 次尿液，采集第 2 次晨尿的中段尿 10ml，倒入一次性锥形刻度离心管中，1500r/min 水平离心 10 分钟，弃上清液后留取 0.25ml 尿沉渣备用。主要用于泌尿系统出血部位的诊断。

3. 浓缩稀释试验 患者普通饮食，不再另外饮水。晨 8 时排尿弃去，自 10 时起至 20 时止，每隔 2 小时采集尿液 1 次，此后至次晨 8 时合并采集 1 次，共 7 次尿液，测量并记录每次的尿量与比重。主要用于评价远端肾小管的浓缩稀释功能。

4. 酚红排泌试验 试验前 2 小时禁止饮水，开始试验时饮水 300~500ml，以利排尿。20 分钟后排尿弃去，准确地静脉注射 1ml 酚红注射液，并记录时间。注射后第 15 分钟、30 分钟、60 分钟及 120 分钟分别采集尿液（每次均排空膀胱），记录每次尿量，并采用比色法测定酚红排泌量。酚红排泌试验主要反映肾脏近曲小管上皮细胞的主动排泌功能。

5. 中段尿 采集标本前先清洗外阴，女性清洗尿道旁的阴道口，男性清洗龟头；再用 0.1% 清洁液（如新洁尔灭等）消毒尿道口，但不可用抗生素和肥皂等清洗尿道口，以免影响细菌的生存力。在排尿过程中，弃去前、后时段排出的尿液，以无菌容器采集中间时段的尿

液，其目的是避免生殖道和尿道远端细菌的污染。中段尿 (midstream urine) 一般用于细菌培养。

6. 导管尿和耻骨上穿刺尿 以无菌术采集导管尿 (catheterized urine)、耻骨上穿刺尿 (suprapubic aspiration urine)，主要用于尿潴留或排尿困难时的尿液标本采集 (2 岁以下小儿慎用)，但采集前必须征得患者或家属同意。

7. 直立性蛋白尿 对于有些无症状的尿蛋白阳性者，采取卧位 8 小时后采集尿液标本，用于检测尿蛋白，以证实是否有直立性蛋白尿。

四、尿液标本的保存和处理

(一) 尿液标本保存

尿液标本应在采集后 2 小时内检查完毕，对不能及时检查的尿液标本，必须进行适当处理或保存，以降低因标本送检延时而引起的理化性状改变 (表 4-5)。

表 4-5 尿液标本无防腐措施下的潜在变化

理化性质	变化及机制
颜色变化	因物质氧化或还原、尿色素原或其他成分分解或改变所致。如胆红素转化为胆绿素、血红蛋白转化为高铁血红蛋白、尿胆原转化为尿胆素
透明度	假性减低：因细菌繁殖、溶质析出所致，如结晶和无定形物质
气味	假性增加：因细菌繁殖或尿素分解形成氨所致
pH	假性升高：因细菌分解尿素形成的氨、CO ₂ 挥发所致；假性降低：因细菌或酵母菌分解葡萄糖为代谢性酸类物质所致
葡萄糖	假性减低：因细胞或细菌分解糖所致
酮体	假性增高：因细菌将乙酰乙酸盐代谢成丙酮所致；假性减低：因丙酮挥发所致
胆红素	假性减低：因光氧化作用转变为胆绿素、水解为游离胆红素所致
尿胆原	假性减低：因氧化为尿胆素所致
亚硝酸盐	假性增加：因尿液标本采集后细菌繁殖所致；假性减低：因转变为氨所致
红 / 白细胞、管型	假性减低：因细胞和有形成分分解，特别是稀释的碱性尿液
细菌	假性增加：因尿液标本采集后细菌繁殖所致

1. 冷藏 冷藏是保存尿液标本最简便的方法，一般可保存 6 小时，但要避光加盖。冷藏保存在 24 小时内可抑制细菌生长，但有尿酸盐和磷酸盐沉淀可影响显微镜检查结果。因此，不推荐在 2 小时内可完成检测的尿液标本进行冷藏保存。冷藏保存主要用于电解质、肌酐、葡萄糖、总蛋白、白蛋白、重金属、药物、促卵泡激素、雌三醇等检查。

2. 防腐 尿液常规筛检尽量不要使用防腐剂 (preservative)，然而对计时尿标本和在标本采集后 2 小时内无法进行尿液检查，或被检查的成分不稳定时，可加入特定的化学防腐剂，同时，尿液仍需冷藏保存。

(1) 甲醛 (formaldehyde)：对尿液中的细胞、管型等有形成分有固定作用。100ml 尿液中加入 40% 甲醛 0.5ml。因甲醛具有还原性，不适合于检查葡萄糖的尿液标本的防腐。

(2) 甲苯 (toluene)：当甲苯量足够时，可在尿液表面形成一层甲苯薄膜，阻止尿液与空

气接触,以达到防腐效果。100ml 尿液中加入甲苯 0.5ml。常用于尿糖、尿蛋白等化学成分的定性或定量检查。

(3) 麝香草酚(thymol): 麝香草酚不但能抑制细菌生长,起防腐作用,同时又能较好地保存尿液有形成分。100ml 尿液中加麝香草酚 <0.1g,可用于尿液显微镜检查,尤其是尿液浓缩结核分枝杆菌的检查,以及化学成分检查的标本保存。但过量使用麝香草酚可使尿蛋白定量试验(加热乙酸法)出现假阳性,还可干扰尿胆色素的检出。

(4) 浓盐酸(hydrochloric acid): 常用于定量测定 17- 羟皮质类固醇、17- 酮类固醇、儿茶酚胺、草酸盐、钙、磷等的尿液标本防腐,每升尿液中加入 10ml 浓盐酸。使用时一定要注意在采集第 1 次尿液标本以后再加浓盐酸。浓盐酸具有极强的腐蚀性,常温下又容易挥发。所以,容器要求耐腐蚀、耐压。务必小心使用,以免烧灼皮肤、衣物。

(5) 氟化钠(sodium fluoride): 1% 氟化钠能阻止葡萄糖酵解,适合于葡萄糖测定的尿液标本防腐。

(6) 硼酸(boric acid): 100ml 尿液中加入 0.1g 硼酸,在 24 小时内可抑制细菌生长繁殖,只干扰常规尿液筛检的酸碱度,适用于尿蛋白、尿酸等检查的尿液标本防腐。

(7) 冰乙酸(glacial acetic acid): 约 5~10ml 冰乙酸可用于 24 小时尿液标本的防腐,适合于醛固酮、儿茶酚胺、雌激素等的定量检查的尿标本防腐。

(8) 碳酸钠(sodium carbonate): 每升尿液中加入 10g 碳酸钠以碱化尿液,适用于尿卟啉检查的尿液标本防腐。

(二) 尿液标本检测后的处理

1. 检测后尿液 检测后尿液标本一律视为感染性生物污染源,必须经过 10g/L 过氧乙酸或漂白粉消毒处理后,才能排入下水道内。

2. 标本容器 如果所用的容器及试管不是一次性的,必须在 30~50g/L 漂白粉或 10g/L 次氯酸钠溶液中浸泡 2 小时,也可用 5g/L 过氧乙酸浸泡 30~60 分钟,再用清水冲洗干净。

3. 一次性尿杯 使用后的一次性尿杯,先消毒、毁形,再按照医疗废弃物进行无害化处理。

第二节 尿液标本采集和处理的质量保证

为了保证尿液检验结果的准确性,一定要充分考虑并排除标本采集时的影响因素。例如患者状态、饮食、用药,尿液放置和保存的温度、时间,采用相应的标准化操作规程规范尿液标本的采集和处理,以达到质量保证的目的。

一、尿液标本采集的影响因素

1. 生理性状态 在检测前质量管理过程中,患者的准备及生物学变异可直接影响检验结果的准确性,主要包括年龄、性别、妊娠、月经等因素。这不是检验人员所能控制的因素,需要医师、护士、患者共同配合,才能使标本完全反映患者的实际状态(表 4-6)。

2. 生活习惯 生活习惯可影响尿液检验结果(表 4-7)。

表 4-6 生理状态对尿液检测的影响

因素	影响
情绪	精神紧张和情绪激动可以影响神经 - 内分泌系统, 使儿茶酚胺增高, 严重时可出现生理性蛋白尿
年龄	不同年龄新陈代谢状态不同, 其尿液成分存在明显的差异。因此, 应调查和设定不同年龄段参考区间, 以消除年龄因素对结果的影响。如 50 岁以上的人, 内生肌酐清除率会随肌肉量的减少而减低
性别	男女尿液有形成分参考区间不一, 如女性尿液白细胞参考区间往往比男性大
月经	月经周期影响尿液红细胞检查
妊娠	妊娠期间 hCG 含量不断变化, 7 天内难以检出, 之后逐渐增高。在妊娠后期, 由于产道内微生物代谢物的污染, 使尿液白细胞定性检查出现假阳性

表 4-7 生活习惯对尿液检验的影响

因素	影响
饮食	高蛋白膳食可使尿素、尿酸增高以及尿液 pH 降低。高核酸食物(如内脏)可导致尿酸明显增高; 进食大量香蕉、菠萝、番茄可增加尿液 5- 羟吡哆乙酸, 使餐后尿糖和尿液 pH 增高
饥饿	长期饥饿可以使尿酸、酮体增高
运动	运动使人体各种生理功能处于一种与静止时完全不同的状态, 可导致尿液成分发生改变。如长途跋涉后尿肌红蛋白可增高
饮酒	长期饮啤酒者尿液中尿酸增高

3. 标本保存时间和温度对检验结果的影响 随着保存时间的延长, 尿液有形成分将会有不同程度的破坏, 细胞、管型逐渐减少, 而结晶、细菌逐渐增多。

二、尿液标本采集的质量保证

(一) 尿液标本采集标准操作程序

临床实验室要制订尿液标本采集的标准操作程序(SOP)文件, 内容包括患者准备、标本容器、留取尿液方式和要求、尿量、运送时间与地点等。相关标准操作程序文件、标本采集手册等应装订成册, 并下发到各病区、门诊护士站。

(二) 尿液检验项目选择和申请

1. 检验项目的选择 尿液检验与其他标本检验一样, 根据病情的需要, 以循证医学的观点, 有的放矢地应用检验项目。在开具检验申请单时应注意不同尿液标本的要求, 例如尿路感染患者需要检查尿液常规和细菌培养, 应分别开出申请单, 方便患者以不同方式采集标本。

2. 检验申请单的填写 纸质检验申请单应由钢笔书写, 字迹清楚, 检验目的明确, 不得涂改, 申请医师要正楷签名或盖章。医院信息系统(HIS)的电子检验申请单可以有效地解决手工书写容易出现的问题; 检验报告单的激光打印可以有效地防止因申请单污染造成的交叉感染。检验申请单要有患者的基本信息, 包含姓名、性别、年龄、科别、病房、门急诊(住院)号、床号、检验目的、临床诊断或疑似诊断、送检日期、医师签字等。

3. 标识及条码管理系统 尿液标本调错是尿液检验最常见的差错。因此,尿液标本都需要采用唯一标识,这个标识除编号之外,还包括患者姓名等最基本的信息。解决标识最好的方式是应用条形码系统,它不仅是防止标本错误最有效的方式,而且条形码快速扫描能有效解决标本传送过程中的监控和签收责任的落实。

(三) 尿液标本采集前患者状态的控制

1. 告知 为了使检验结果有效地服务于临床,医护人员(包括实验室工作人员)应了解标本采集前患者的状态和影响结果的非疾病性因素,并将相关的要求和注意事项以书面、影视等方式告知患者,如细菌培养的中段尿、24 小时尿液标本采集,要求患者给予配合,尽可能减少非疾病因素对标本的影响,保证标本能客观真实地反映当前的疾病状态。

2. 控制 控制饮食、用药、活动、情绪等影响。

(四) 尿液标本采集器材

标本采集器材如尿杯、试管应严格按标准采购,离心管、离心机符合要求并定期严格校准,器材和仪器本身及工作环境随时保持整洁。

(五) 尿液标本运送

1. 缩短转运时间 尽量减少运送环节和缩短储存时间,标本运送要做到专人、专业且有制度保障,以避免标本传送过程中的主客观因素对检验结果的影响。

2. 防止气泡产生 轨道传送带或气压管道运送时务必防止尿液产生过多的泡沫,以避免因此而引起的细胞溶解。

3. 注意生物安全 运送过程中同时要注意生物安全,应该意识到尿液是有潜在生物危害的标本,并应采取全面的预防措施,如防止标本漏出或侧翻,污染环境、器材和衣物等。

(六) 标本验收制度

加强制度建设,严格执行标本验收制度,对标本标识内容与检验申请单内容不一致、申请单的项目不全、标本类型错误、尿量不足、有粪便或杂物污染、防腐剂使用不当、容器破损、标本流失等不合格的标本可以拒收。对不合格标本要及时与送检部门相关人员联系,建议其重新核实或重新采集标本。对难以得到的尿液标本或再次采集确有困难时,则可与临床协商后“继续”检验,但必须在检验报告单上注明标本不合格的原因及“检验结果仅作参考”的说明。

(伍 勇)

本章小结

尿液标本能否正确、合理和规范化地采集和处理,是尿液检测前质量保证的主要内容。患者准备、器材质量、采集和运送过程等各环节均会影响检验质量。尿液标本类型和采集方式取决于送检目的,临床常用尿液标本种类有晨尿、随机尿、计时尿等。尿液标本最简便的保存方法是冷藏,常见的保存方式是使用防腐剂,如甲醛、甲苯、麝香草酚、浓盐酸和氟化钠等,每一种防腐剂用途不同,不能错用或相互替代。

尿液标本采集过程中的任何一个环节,都会影响全程质量控制。因此,尿液标本采集的质量保证主要掌握 3 个方面:①患者状态和标本放置时间对尿液检验结果的影响。②药物对检验结果的影响。③尿液采集过程的影响,包括标本采集操作规程、标本采集器材要求、运送接收制度、标本标识唯一性和标本验收制度等。

参 考 文 献

1. 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程. 第3版. 南京: 东南大学出版社, 2006.
2. 吴晓蔓. 临床检验基础实验指导. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

1. 尿液理学变化的临床意义有哪些?
2. 什么是蛋白尿? 肾小球性和肾小管性蛋白尿形成的原因和主要特点分别是什么?
3. 维生素 C 如何影响试带法和班氏法尿糖定性试验?
4. 亚硝基铁氰化钠如何检测尿液酮体组成成分的灵敏度?
5. 化学法尿液血红蛋白测定原理是什么?
6. 影响亚硝酸盐快速筛检尿路感染的因素有哪些?
7. 试带法尿液白细胞检测能完全替代显微镜尿液有形成分检查吗? 为什么?
8. 试带法尿液维生素 C 检测的真正的目的是什么?
9. 尿液有形成分检查的内容是什么? 有哪些检查方法?
10. 不离心法相对离心法尿液有形成分检查的优势和不足有哪些?
11. 染色法尿液有形成分检查的优势有哪些?
12. 均一性和非均一性血尿红细胞的形态特点及其临床意义是什么?
13. 闪光细胞和脓细胞的概念及其临床意义是什么?
14. 尿液管型形成有哪些基本条件?
15. 尿液 pH 和渗透压对红细胞、白细胞和管型分别有哪些影响?
16. 尿液试带法检测尿液各项的原理是什么?
17. 尿液试带法检测与尿液显微镜检查的关系是什么?
18. 流式细胞术尿液有形成分分析仪如何分析尿液红细胞? 有何临床意义?
19. 全自动尿液有形成分分析仪与尿液显微镜检查的关系是什么?

尿液是血液经过肾小球滤过、肾小管和集合管重吸收和排泌所产生的终末代谢产物,尿液的组成和性状可反映机体的代谢状况,并受机体各系统功能状态的影响。因此,尿液一般检验不仅对泌尿系统疾病的诊断、疗效观察,而且对其他系统疾病的诊断、预后判断也有重要参考价值。

尿液一般检验的主要目的有:①协助泌尿系统疾病的诊断和疗效观察:泌尿系统的炎症、结石、结核、肿瘤、肾脏的移植排斥反应以及肾衰竭时,尿液成分会发生变化,治疗后好转。因此,尿液一般检验是泌尿系统疾病最常用的不可替代的首选项目。②协助其他系统疾病的诊断:尿液来自血液,凡引起血液成分改变的疾病,均可引起尿液成分的变化。如糖

尿病时进行尿糖检查，黄疸时的尿胆红素、尿胆原和尿胆素的检查，多发性骨髓瘤时的尿液本周蛋白检查等，均有助于疾病的诊断。③安全用药的监护：某些药物，如庆大霉素、卡那霉素、多黏菌素 B、磺胺等，可引起肾脏的损害，故用药前及用药过程中需要密切观察尿液的变化，以确保用药的安全。

第一节 尿液理学检查

一、尿 量

尿量(urine volume)是指 24 小时内排出体外的尿液总量。尿量的多少主要取决于肾脏生成尿液的能力和肾脏的稀释与浓缩功能。尿量的变化还受内分泌功能、精神因素、年龄、环境(湿度和温度等)、活动量、饮食、药物等多种因素的影响。即使是健康人,24 小时尿量的变化也较大。

【检测原理】 使用量筒等刻度容器直接测定尿量。①直接法：将每次排出的全部尿液采集于一个容器内，然后测定尿液总量。②累计法：分别测定每次排出的尿液体积，最后记录尿液总量。③计时法：测定每小时排出的尿量或特定时间段内一次排出的尿量，换算成每小时尿量。

【方法学评价】 直接法准确性较好，但需要加防腐剂。累计法需多次测定，误差较大，易漏测，可影响结果准确性。计时法常用于观察危重患者的排尿量。

【质量保证】 尿量测定的容器应有清晰的容积刻度(精确到毫升)；必须采集全部尿液；24 小时尿量读数误差不能 > 20ml。

【参考区间】 成年人：1~2L/24h，即 1ml/(h•kg)；儿童按体重计算尿量，大约为成年人的 3~4 倍。

【临床意义】

1. 多尿 多尿(polyuria)是指成人 24 小时尿量超过 2.5L，儿童 24 小时尿量超过 3L。

(1) 生理性多尿：当肾脏功能正常时，因外源性或生理性因素所致的多尿，可见于食用含水分较高的食物或水果等、过多饮水、过多静脉输注液体、精神紧张或癔症。也可见于服用咖啡因、脱水剂、噻嗪类利尿剂等有利尿作用的药物。

(2) 病理性多尿：病理性多尿的原因与发生机制见表 5-1。

表 5-1 病理性多尿的原因与发生机制

分类	原因	机制
肾脏疾病	慢性肾炎、慢性肾盂肾炎、肾小管酸中毒Ⅰ型、失钾性肾病、急性肾衰竭多尿期、慢性肾衰竭早期等	肾小管受损致使肾浓缩功能减退。肾性多尿患者夜尿量增多，昼夜尿量之比 < 2:1
内分泌疾病	尿崩症、原发性醛固酮增多症、甲状腺功能亢进等	ADH 严重分泌不足或缺乏，或肾脏对 ADH 不灵敏或灵敏度减低，肾小管及集合管重吸收水分的能力明显降低
代谢性疾病	糖尿病	渗透性利尿作用引起的多尿，尿比重和尿渗透压均增高

2. 少尿或无尿 少尿(oliguria)是指每小时尿量持续 $<17\text{ml}$ (儿童 $<0.8\text{ml/kg}$)或24小时尿量 $<400\text{ml}$; 12小时无尿或24小时尿量 $<100\text{ml}$ 为无尿(anuria)。无尿发展至排不出尿液称为尿闭。生理性少尿多见于出汗过多或缺水。病理性少尿常见于:

(1) 肾前性少尿: 因肾缺血、血容量减低、血液浓缩或应激状态等造成的肾血流量不足, 肾小球滤过率减低所致。见于: ①休克、过敏、失血过多、心力衰竭、肾动脉栓塞、肿瘤压迫。②重症肝病、全身性水肿。③严重腹泻、呕吐、大面积烧伤、高热。④严重创伤、感染(如败血症)等。

(2) 肾性少尿: 因肾实质病变导致肾小球滤过率减低所致。常见于: ①急性肾小球肾炎、急性肾盂肾炎、急性间质性肾炎、慢性肾炎急性发作等, 此时尿渗量 $>600\text{mmol/kg H}_2\text{O}$, 尿比重 >1.018 。②慢性疾病, 如高血压性和糖尿病性肾血管硬化、慢性肾小球肾炎、多囊肾等导致的肾衰竭, 因肾小球滤过率极度减低, 此时尿渗量为 $300\sim500\text{mmol/kg H}_2\text{O}$, 尿比重 <1.015 。③肌肉损伤(肌红蛋白尿)、溶血(血红蛋白尿)和肾移植(急性排斥反应)等。

(3) 肾后性少尿: 见于各种原因所致的尿路梗阻, 如肾或输尿管损伤、结石、药物结晶(如磺胺类药)、肿瘤、尿路先天性畸形、单侧性或双侧性上尿路梗阻; 前列腺肥大、膀胱功能障碍、前列腺癌等疾病。

二、颜色和透明度

【检测原理】 通过肉眼或尿液分析仪判断尿液颜色和透明度。透明度一般以浑浊度(turbidity)表示, 可分清晰透明、轻微浑浊(雾状)、浑浊(云雾状)、明显浑浊4个等级。尿液浑浊度与盐类结晶、酸碱度和温度有关, 也与有形成分的种类和数量有关。

【方法学评价】 尿液颜色和透明度受尿液分析仪设计标准或检验人员的主观因素的影响。故尿液颜色和透明度的判断很难统一, 临床应用中仅作参考。

【质量保证】

1. 防止污染 采用无色、洁净且无化学物质污染的容器采集尿液标本, 采集标本前3天需禁服溴化物、碘化物等药物, 以防出现假阳性反应。

2. 标本新鲜 新鲜尿液标本有助于准确判断尿液颜色和透明度。尿液放置时间过长, 盐类结晶析出、尿素分解产氨、尿胆原转为尿胆素、细菌繁殖和腐败等多种因素, 均可使尿液颜色加深、浑浊度增高。

3. 标准统一 统一尿液分析仪、干化学试带或检验人员判断尿液颜色和透明度的标准。

【参考值】 淡黄色、清晰透明。

【临床意义】

1. 生理变化 健康人尿液因含有尿色素(urochrome)、尿胆原(urobilinogen, UBG, URO)、尿胆素(urobilin, URB)及尿卟啉(uroporphyrin)等物质而多呈淡黄色。且生理情况下尿液颜色变化较大: ①大量饮水、寒冷时尿量增多则颜色淡; 饮水少、运动、出汗等时尿量少而颜色深。食用大量胡萝卜、木瓜等可使尿液呈深黄色, 食用芦荟则尿液呈红色。②女性月经血的污染也可使尿液呈红色。③药物对尿液颜色也有一定的影响(表5-2)。

健康人新鲜尿液清晰透明, 但由于含有少量上皮细胞、核蛋白和黏蛋白等物质, 放置后可出现微量絮状沉淀。尿液浑浊度与某些盐类结晶、尿液酸碱度、温度改变有关。

表 5-2 药物对尿液颜色的影响

药物	尿液颜色
乙醇	苍白色
大黄蒽醌	暗红色(碱性)、黄褐色(酸性)
苯酚红	粉红色(碱性)
氯唑沙宗、去铁胺、酚酞	红色、紫色
核黄素、呋喃唑酮、小檗碱、牛黄、米帕林、吡啶黄	黄色、深黄色
靛青红、亚甲蓝	蓝色
山梨醇铁、苯、酚、利福平	棕色
左旋多巴、激肽、甲硝唑、氯喹等	暗褐色、黑色
番泻叶、山道年、苯茛二酮等	橙色、橙黄色
酚磺酞、番泻叶、芦荟、氨基比林、磺胺药等	红色、红褐色
氨基甲酸酯	绿棕色

2. 病理变化 尿液常见的颜色变化有红色、深黄色、白色等。

(1) 红色：最常见的尿液颜色变化，不同原因所致的红色尿液的鉴别见表 5-3。

1) 血尿：尿液内含有一定量的红细胞时称为血尿(hematuria)。1L 尿液中含有 1ml 以上血液，且尿液外观呈红色，称为肉眼血尿(macroscopic hematuria)。由于出血量不同，尿液可呈淡红色云雾状、洗肉水样或混有血凝块。在排除女性月经血的污染之外，常见于：①泌尿生殖系统疾病：如炎症、损伤、结石、出血或肿瘤等。②出血性疾病：如血小板减少性紫癜、血友病等。③其他：如感染性疾病、结缔组织疾病、心血管疾病、内分泌代谢疾病、某些健康人剧烈运动后的一过性血尿等。

2) 血红蛋白尿：血管内溶血时血浆游离血红蛋白增多，超过珠蛋白结合能力(约 1.3g/L)，因其相对分子质量较小，可通过肾小球滤出而形成血红蛋白尿(hemoglobinuria)。尿液呈暗红色、棕红色甚至酱油色。常见于蚕豆病、阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH)及血型不合的输血反应、阵发性寒冷性血红蛋白尿(paroxysmal cold hemoglobin, PCH)、行军性血红蛋白尿、免疫性溶血性贫血等。

3) 肌红蛋白尿(myoglobinuria)：尿液呈粉红色或暗红色，常见于肌肉组织广泛损伤、变性，如急性心肌梗死、大面积烧伤、创伤等。

4) 卟啉尿(porphyrinuria)：尿液呈红葡萄酒色，常见于先天性卟啉代谢异常等。

表 5-3 红色尿液的鉴别

项目	血红蛋白尿	血尿	肌红蛋白尿	假性血尿
原因	血管内溶血	泌尿生殖系统出血	肌肉组织损伤	卟啉、药物、食物
颜色	暗红色、棕红色甚至酱油色	淡红色云雾状、洗肉水样或混有血凝块	粉红色或暗红色	红葡萄酒色、红色
显微镜检查	无红细胞	大量红细胞	无红细胞	无红细胞
离心上清液	红色	清或微红	红色	红色
上清液隐血试验	阳性	弱阳性或阴性	阳性	阴性
尿蛋白定性试验	阳性	弱阳性或阴性	阳性	阴性

(2) 深黄色：最常见于胆红素尿(bilirubinuria)，尿液呈深黄色，振荡后泡沫仍呈黄色，胆红素定性试验阳性(药物性深黄色尿液振荡后泡沫呈乳白色，胆红素定性试验阴性)。常见于胆汁淤积性黄疸及肝细胞性黄疸。但尿液放置过久后，胆红素被氧化为胆绿素使尿液呈棕绿色。

(3) 白色

1) 乳糜尿：由于泌尿系统淋巴管破裂或深部淋巴管阻塞致使乳糜液或淋巴液进入尿液中，尿液呈乳白色浑浊称为乳糜尿(chyluria)。因淋巴液含量不同，尿液外观呈不同程度的乳白色、乳状浑浊或凝块，有光泽感。乳糜尿常见于丝虫病，也可见于结核、肿瘤、肾病综合征、肾小管变性、胸腹部创伤或某些原因引起肾周围淋巴循环受阻。

2) 脓尿(pyuria)：外观呈黄白色或白色，是由于尿液中含有大量白细胞所致，将其放置后可有白色云絮状沉淀。常见于泌尿系统化脓性感染，如肾盂肾炎、膀胱炎、前列腺炎、精囊炎、尿道炎等。

3) 结晶尿(crystalluria)：外观呈黄白色、灰白色或淡粉红色。主要是由于尿液含有高浓度的盐类结晶所致，以磷酸盐和碳酸盐最常见，其在碱性或中性尿液中呈灰白色浑浊，加酸后磷酸盐溶解无气泡，碳酸盐溶解有气泡；此外，还可见尿酸盐、草酸盐结晶。

(4) 黑褐色：见于重症血尿、变性血红蛋白尿，也可见于酪氨酸病、酚中毒、黑尿酸症或黑色素瘤等。

(5) 蓝色：主要见于尿布蓝染综合征(blue-diaper syndrome)，主要是由尿液中过多的尿蓝母(indican)衍生物靛蓝(indigotin)所致，也可见于尿蓝母、靛青生成过多的某些胃肠疾病。

(6) 淡绿色：见于铜绿假单胞菌感染。

新鲜尿液发生浑浊可由盐类结晶、红细胞、白细胞(脓细胞)、细菌、乳糜等引起。浑浊尿产生的原因及特点见表 5-4。

表 5-4 浑浊尿的原因及特点

浑浊	原因	特点
灰白色云雾状	盐类结晶(磷酸盐、尿酸盐、碳酸盐结晶)	加酸或加热、加碱，浑浊消失
红色云雾状	红细胞	加乙酸溶解
黄色云雾状	白细胞、脓细胞、细菌、黏液、前列腺液	加乙酸不溶解
膜状	蛋白质、红细胞、上皮细胞	有膜状物出现
白色絮状	脓液、坏死组织、黏液丝等	放置后有沉淀物
乳白色浑浊或凝块	乳糜	外观具有光泽感，乳糜试验阳性

三、比 重

尿比重(specific gravity, SG)是指尿液在 4℃ 时与同体积纯水重量之比，是尿液中所含溶质浓度的指标。尿液比重的高低与尿液中水分、盐类及有机物含量和溶解度有关，与尿液溶质(氯化钠等盐类、尿素)的浓度成正比，同时受年龄、饮食和尿量影响。在病理情况下则受尿糖、尿蛋白及细胞、管型等成分影响。

【检测原理】

1. 干化学试带法 干化学试带法(reagent strip method)又称干化学法，试带膜块中含

有多聚电解质、酸碱指示剂(溴麝香草酚蓝)及缓冲物。尿液离子浓度与经过处理的多聚电解质的 pK_a 改变相关,根据颜色变化换算成尿液电解质浓度,以电解质浓度再换算成比重。

2. 折射计法 折射计(refractometer)法利用光线折射率与溶液中总固体量相关性进行测定。

3. 尿比重计法 采用特制的尿比重计(urinometer)测定 4°C 时尿液与同体积纯水的重量(密度)之比。

4. 超声波法 利用声波在不同特性物质中传播速度与密度相关的性质,通过测定声波的偏移来计算比重。

5. 称量法 在同一温度下,分别称取同体积尿液和纯水的重量,进行比较,求得尿比重。

【方法学评价】

1. 干化学试带法 ①操作简便、快速。②不受高浓度的葡萄糖、尿素或放射造影剂的影响,但受强酸、强碱及尿液蛋白质的影响较大。③灵敏度低、精密度差,检测范围窄。④只适用于筛检试验,不能作为评价肾功能变化的指标。

2. 折射计法 ① CLSI 和中国临床实验室标准化委员会(China Committee of Clinical Laboratory Standards, CCCLS)推荐的参考方法。②易于标准化、标本用量少(1滴尿液),可重复测定,尤适合于少尿患者和儿科患者。③测定结果通常比尿比重计法低 0.002。

3. 尿比重计法 操作简便,但标本用量大,易受温度及尿糖、尿蛋白、尿素或放射造影剂影响,准确性低。CLSI 建议不使用比重计法,现已少用。

4. 超声波法 易于自动化、标准化,但需特殊仪器。适用于浑浊的尿液标本,且与折射计法有良好的相关性。

5. 称重法 准确性高,曾作为参考方法,但操作繁琐,易受温度变化的影响,不适用于日常检验。

【质量保证】

1. 干化学试带法

(1) 检测前:①试带法对过高或过低的尿比重不灵敏,应以折射计法为参考。②使用与仪器匹配、合格、有效期内的试带。③每天用标准色带进行校准。

(2) 检测中:如尿液 $\text{pH} > 7.0$,测定值应增高 0.005。

2. 折射计法 检测前要根据室温进行温度补偿。可用 10g/L、40g/L 和 100g/L 蔗糖溶液校正折射计,其折射率分别为 1.3344、1.3388 和 1.3479。

3. 尿比重计法

(1) 检测前:新购比重计应用纯水在规定的温度下观察其准确性。在 15.5°C 时,蒸馏水的比重为 1.000, 8.5g/L NaCl 为 1.006, 50g/L NaCl 为 1.035。

(2) 检测中:①尿量要充足,以保证比重计悬浮于液面中央而不贴壁。②读数应准确。③检测时液面无泡沫。④校正测定温度以及蛋白尿、糖尿。

【参考区间】 成人:随机尿 1.003~1.030;晨尿 > 1.020 。新生儿:1.002~1.004。

【临床意义】 尿比重可粗略反映肾脏的浓缩与稀释功能。由于影响尿比重的因素较多,因此,用于评估肾功能时,24 小时连续多次测定尿比重较一次测定更有价值。

1. 高比重尿 ①尿少比重增高:见于急性肾炎、肝脏疾病、心力衰竭、周围循环衰竭、高热、脱水或大量排汗等。②尿多比重增高:常见于糖尿病、使用放射造影剂等。

2. 低比重尿 尿液比重常 <1.015 时, 称为低渗尿(hyposthenuria)或低比重尿。如尿液比重固定在 1.010 ± 0.003 (与肾小球滤过液比重接近), 称为等渗尿(isosthenuria), 提示肾脏稀释浓缩功能严重损害, 可见于急性肾衰竭多尿期、慢性肾衰竭、肾小管间质疾病、急性肾小管坏死等。尿崩症常出现严重的低比重尿(<1.003 , 可低至 1.001)。

3. 药物影响 右旋糖酐、造影剂、蔗糖等可引起尿比重增高; 氨基糖苷类、锂、甲氧氟烷可使尿比重减低。

四、尿 渗 量

尿渗量(osmolality, Osm)是指尿液中具有渗透活性的全部溶质微粒的总数量, 与颗粒大小及所带电荷无关, 反映了溶质和水的相对排出速度, 蛋白质和葡萄糖等大分子物质对其影响较小。尿渗量以质量摩尔浓度[mmol/kg H_2O (mOsm/kg H_2O)]表示, 可确切地反映肾脏浓缩和稀释功能, 是评价肾脏浓缩功能较好的指标。

【检测原理】 冰点渗透压计的工作原理是根据冰点下降溶液结冰曲线计算出尿渗量。溶液中有效粒子数量可以采用该溶液的冰点下降(从液态到固态)或沸点上升(从液态到气态)的温度(ΔT)来表示。检测方法有冰点减低法(常用浓度计法, 又名晶体渗透浓度计法)、蒸气压减低法和沸点增高法。冰点是指溶液的固态和液态处于平衡状态时的温度。1个 Osm 浓度可使 1kg 水的冰点下降 $1.858^\circ C$, 因此, 毫摩尔渗透量:

$$\text{mmol/kg } H_2O = \frac{\text{观察取得冰点下降度数}}{1.858}$$

【方法学评价】 冰点渗透压计测定的准确性高, 不受温度的影响, 但主要与溶质的颗粒数量有关。

【质量保证】 包括仪器的标化、操作条件的控制和标本的正确处理。①标本采集: 尿液标本应采集于洁净、干燥、无防腐剂的带盖容器内, 并立即送检。②标本离心: 离心去除标本中的不溶性颗粒, 但注意不能丢失盐类结晶。③标本保存: 若不能立即测定, 应将标本保存于冰箱内, 测定前置于温水浴中, 使盐类结晶溶解。

【参考区间】 ①尿渗量: 600~1000mmol/kg H_2O (相当于尿比重 1.015~1.025)。最大范围 40~1400mmol/kg H_2O 。②尿渗量/血浆渗量为 (3.0~4.7):1.0。

【临床意义】 尿渗量主要与溶质的颗粒数量有关, 在评价肾脏浓缩和稀释功能方面, 较尿比重优越。

1. 评价肾脏浓缩稀释功能 健康人禁水 12 小时后, 尿渗量与血浆渗量之比 >3 , 尿渗量 $>800\text{mmol/kg } H_2O$ 。若低于此值, 说明肾脏浓缩功能不全。等渗尿或低渗尿可见于慢性肾小球肾炎、慢性肾盂肾炎、多囊肾、阻塞性肾病等慢性间质性病变等。

2. 鉴别肾性和肾前性少尿 肾小管坏死导致肾性少尿时, 尿渗量降低(常 $<350\text{mmol/kg } H_2O$)。肾前性少尿时肾小管浓缩功能无明显降低, 故尿渗量较高(常 $>450\text{mmol/kg } H_2O$)。

五、气 味

【参考区间】 微弱芳香气味。

【临床意义】 健康人新鲜尿液的气味源自尿液中酯类及挥发性酸。如果尿液标本久置, 因尿素分解可出现氨臭味。尿液气味可受药物或食物影响, 如服用二巯基丙醇、艾类药物

等或进食葱、蒜、韭菜、咖喱或饮酒过多等可出现特殊气味；而进食过多的芦笋可有硫磺燃烧的气味。新鲜尿液出现异常气味的原因见表 5-5。

表 5-5 新鲜尿液出现异常气味的原因

气味	原因
氨味	慢性膀胱炎和慢性尿潴留
腐臭味	泌尿系统感染或晚期膀胱癌
烂苹果样气味	糖尿病酮症酸中毒
大蒜臭味	有机磷农药中毒
鼠尿味	苯丙酮尿症

(王 彩 刘成玉)

第二节 尿液化学检查

一、酸 碱 度

尿液酸碱度简称为尿液酸度，分为可滴定酸度 (titratable acidity) 和真酸度 (genuine acidity)，前者可用酸碱滴定法进行测定，相当于尿液酸度总量，后者是指尿液中所有能解离的氢离子浓度，通常用氢离子浓度的负对数来表示。

【检测原理】

- 1. 试带法 采用双指示剂法，膜块中含溴麝香草酚蓝 (pH 6.0~7.6) 和甲基红 (pH 4.6~6.2)，变色范围为橙红色 (pH 4.5)- 黄绿色 (pH 7.0)- 蓝色 (pH 9.0)，检测结果多由仪器判读，也可肉眼目测与标准色板比较来判断。
- 2. pH 试纸法 pH 广泛试纸是浸渍有多种指示剂混合液的试纸条，色泽范围为棕红至深黑色，与标准色板比较，肉眼可判断尿液 pH 近似值。
- 3. 指示剂法 采用酸碱指示剂 (indicator) 原理。常用 0.4g/L 溴麝香草酚蓝 (bromothymol blue, BTB) 溶液，当指示剂滴于尿液后，显示黄色为酸性尿，蓝色为碱性尿，绿色为中性尿。
- 4. 滴定法 滴定法 (titration) 利用酸碱中和反应原理。采用 0.1mol/L NaOH 溶液将定量尿液滴定至 pH 7.4 时，由 NaOH 消耗量求得尿液可滴定酸度。
- 5. pH 计法 又称电极法，银 - 氯化银指示电极通过盐桥与对 pH 灵敏的玻璃膜和参比电极 (甘汞电极, Hg-Hg₂Cl₂) 相连。当指示电极浸入尿液后，H⁺ 通过玻璃膜时，指示电极与参比电极之间产生电位差，经电压计测得后转为 pH 读数。

【方法学评价】 尿液酸度测定的方法学评价见表 5-6。

【质量保证】

- 1. 检测前 确保标本新鲜、容器未被污染。陈旧标本可因尿液 CO₂ 挥发或细菌生长使 pH 增高；细菌可使尿液葡萄糖降解为酸和乙醇，使 pH 减低。
- 2. 检测中
 - (1) 试纸法或试带法：要充分考虑试带能否满足临床对病理性尿液 pH 变化的需要；定期用弱酸和弱碱检查试带的灵敏度；确保试纸或试带未被酸碱污染、未吸潮变质，并在有效

表 5-6 尿液酸度测定的方法学评价

方法	评价
试带法	配套应用于尿液分析仪，是应用最广泛的筛检方法，能满足临床对尿液 pH 检查的需要
pH 试纸法	操作简便，采用 pH 精密试纸可提高检测的灵敏度，但试纸易吸潮而失效
指示剂法	BTB 变色范围为 pH 6.0~7.6，当尿液 pH 偏离此范围时，检测结果不准确；黄疸尿、血尿可直接影响结果判读
滴定法	可测定尿液酸度总量。临床上用于尿液酸度动态监测，但操作复杂
pH 计法	结果精确可靠，需特殊仪器，操作繁琐。可用于肾小管性酸中毒定位诊断、分型、鉴别诊断

期内使用。

(2) 指示剂法：因一般指示剂不易溶于水，指示剂解离质点状态与未解离质点状态呈现的颜色不尽相同，故在配制指示剂溶液时，应先用少许碱溶液（如 NaOH 溶液）助溶，再加蒸馏水稀释到适当浓度，以满足指示剂颜色变化范围。

(3) pH 计法：经常校准 pH 计，确保其处于正常状态。本法对测定温度有严格要求，当温度升高时 pH 下降。因此，在使用时首先调整测定时所需的标本温度。某些新型 pH 计可自动对温度进行补偿。

3. 检测后 生理条件下，尿液 pH<4.5 或 >8.0 少见。尿液 pH<4.5 可见于：①尿液中含有高浓度葡萄糖，并被细菌污染。②患者服用大量酸性制剂。尿液 pH>8.0 可见于：①标本防腐或保存不当，细菌大量繁殖并分解尿素产生氨。②患者服用大量碱性制剂。

另外，建立完善的尿液检验报告审核制度，通过申请单或医院信息系统（hospital information system, HIS）获取临床信息，通过电话、实验室信息系统（laboratory information system, LIS）、走访病房等形式与临床沟通，探讨异常结果可能的影响因素。

【参考区间】 正常饮食条件下：①晨尿 pH 5.5~6.5，平均 pH 6.0。②随机尿 pH 4.5~8.0。尿液可滴定酸度：20~40mmol/24 小时尿。

【临床意义】 尿液酸度检测主要用于了解机体酸碱平衡和电解质平衡情况，尿液酸碱度是诊断呼吸性或代谢性酸 / 碱中毒的重要指标。另外，可通过尿液 pH 的变化来调节结石病患者的饮食状态，或帮助机体解毒、促进药物排泄。

1. 生理性变化 尿液 pH 受食物、进餐后碱潮状态、生理活动和药物影响（表 5-7）。进餐后，因胃黏膜分泌盐酸以助消化，通过神经体液调节，使肾小管的泌 H⁺ 作用减低和重吸收 Cl⁻ 作用增强，尿液 pH 呈一过性增高，即为碱潮（alkaline tide）。

2. 病理性变化 病理状态下尿液 pH 变化见表 5-7。

表 5-7 常见影响尿液 pH 的因素

因素	酸性	碱性
食物	肉类、高蛋白及混合食物（含硫、磷）	蔬菜、水果（含钾、钠）
生理活动	剧烈运动、应激、饥饿、出汗	用餐后碱潮
药物	氯化铵、氯化钾、氯化钙、稀盐酸等	碳酸氢钠、碳酸钾、碳酸镁、枸橼酸钠、酵母、利尿剂
肾功能	肾小球滤过增加而肾小管保碱能力正常	肾小球滤过功能正常而肾小管保碱能力丧失

续表

因素	酸性	碱性
疾病	①酸中毒、发热、慢性肾小球肾炎 ②代谢性疾病：如糖尿病、痛风、低血钾性碱中毒（肾小管分泌 H ⁺ 增强，尿液酸度增高） ③其他：尿酸盐或胱氨酸尿结石、白血病、呼吸性酸中毒（因 CO ₂ 潴留）	①碱中毒：如呼吸性碱中毒，丢失 CO ₂ 过多 ②肾小管性酸中毒：远曲小管形成氨和 H ⁺ 的交换功能受损，肾小管泌 H ⁺ 、排 H ⁺ 及 H ⁺ -Na ⁺ 交换能力减低，机体明显酸中毒，尿液 pH 呈相对偏碱性 ③尿路感染：如膀胱炎、肾盂肾炎、变形杆菌性尿路感染（细菌分解尿素产生氨） ④其他：草酸盐、磷酸盐或碳酸盐尿结石、严重呕吐（胃酸丢失过多）
其他	尿液含酸性磷酸盐	尿液内混入脓液、血液、细菌

3. 药物影响 ①用氯化铵酸化尿液，可促进碱性药物从尿液排泄，对使用四环素类、呋喃妥因治疗泌尿系统感染非常有利。②用碳酸氢钠碱化尿液，可促进酸性药物从尿液排泄，常用于氨基糖苷类、头孢菌素类、大环内酯类、氯霉素等抗生素治疗泌尿系统感染时。③发生溶血反应时，口服碳酸氢钠碱化尿液，可促进血红蛋白溶解及排泄。

二、蛋 白 质

蛋白质是尿液化学成分检查中最重要的项目之一。正常情况下，由于肾小球滤过膜的孔径屏障和电荷屏障作用，血浆的中、高相对分子质量的白蛋白、球蛋白不能通过滤过膜；相对分子质量小的蛋白质，如 β_2 微球蛋白 (β_2 -microglobulin, β_2 -M)、 α_2 微球蛋白 (α_2 -microglobulin, α_2 -M)、溶菌酶等，则可以自由通过滤过膜，但其滤过量低，95% 又在近曲小管中被重吸收。因此，终尿中的蛋白质含量很少，仅为 30~130mg/24h。随机尿中蛋白质为 0~80mg/L，尿蛋白定性试验阴性。当尿液中的蛋白质超过 150mg/24h（或超过 100mg/L）时，蛋白定性试验呈阳性，称为蛋白尿 (proteinuria)。

【检测原理】

1. 试带法 试带法采用了 pH 指示剂蛋白质误差原理。在 pH 3.2 的条件下，酸碱指示剂（溴酚蓝）产生的阴离子与带阳离子的蛋白质结合生成复合物，引起指示剂进一步电离，当超越缓冲范围时，指示剂发生颜色改变。颜色的深浅与蛋白质含量成正比。同时，酸碱指示剂也是灵敏的蛋白显色剂，试带法可用于尿蛋白定性或半定量检测。

2. 磺基水杨酸法 磺基水杨酸法 (sulfosalicylic acid method, SSA) 又称磺柳酸法。在略低于蛋白质等电点的酸性环境下，磺基水杨酸根离子与蛋白质氨基酸阳离子结合，形成不溶性蛋白盐而沉淀。沉淀量或溶液反应后的浑浊程度，可反映蛋白质的含量，为尿蛋白定性或半定量检查方法。

3. 加热乙酸法 加热乙酸法 (heat and acetic acid method) 是经典方法。蛋白质遇热变性凝固，加稀酸使尿液 pH 降低并接近蛋白质等电点 (pH 4.7)，使变性凝固的蛋白质进一步沉淀，同时消除某些磷酸盐和碳酸盐析出所造成的浑浊干扰。

【方法学评价】

1. 试带法 主要用于尿液分析仪，必要时也可用于肉眼观察。操作简便、快速、易于标

准化,适用于健康普查或临床筛检,目前已广泛应用于临床。

(1) 灵敏度和特异性: ①不同类型试带的灵敏度可有一定差异,一般为 70~100mg/L,与使用的酸碱指示剂有关。②试带对白蛋白灵敏,对球蛋白的灵敏度仅为白蛋白 1/100~1/50,容易漏检本周蛋白。③试带法不适用于肾脏疾病的疗效观察及预后判断。④采用单克隆抗体技术的试带检测白蛋白,可排除其他蛋白质的干扰。⑤基于考马斯亮蓝等染料结合蛋白质的原理,国外已研发出一种新型蛋白试带,对白蛋白、球蛋白、本周蛋白具有同样的灵敏度。

(2) 干扰因素: 试带法检测尿蛋白的干扰因素及评价见表 5-8。

表 5-8 试带法检测尿蛋白的干扰因素及评价

干扰因素	评价
标本因素	尿液 pH>9, 可致假阳性; 尿液 pH<3, 可致假阴性。最适宜尿液 pH 5~6, 故必要时可先调节尿液 pH
食物因素	尿液酸碱度与摄入食物有关, 检查前 1 天应均衡饮食, 避免摄入过多肉类或蔬菜、水果
药物因素	假阳性: 奎宁、奎尼丁、嘧啶等或尿液中含有聚乙烯、吡咯酮、氯己定(洗必泰)、磷酸盐、季铵盐消毒剂等, 尿液呈强碱性(pH≥9.0) 假阴性: 滴注大剂量青霉素或应用庆大霉素、磺胺、含碘造影剂
操作过程	假阳性: 试带浸渍时间过长, 反应颜色变深 假阴性: 试带浸渍时间过短、反应不完全, 或浸渍时间过长使膜块中的试剂流失

2. 磺基水杨酸法 ①操作简便、反应灵敏、结果显示快,与白蛋白、球蛋白、糖蛋白和本周蛋白均能发生反应。②灵敏度达 50mg/L,但有一定的假阳性。③ CLSI 将其推荐为确证试验(conclusive test)。

- (1) 假阴性: 见于尿液偏碱(pH>9)或偏酸(pH<3), 因此,检测前调节尿液 pH 5~6。
- (2) 假阳性: ①尿液中含高浓度尿酸、尿酸盐、草酸盐。②与碘造影剂、大剂量青霉素钾盐有关。③尿液中混入生殖系统分泌物。

3. 加热乙酸法 ①方法经典而准确,但操作复杂。②特异性强、干扰因素少,与白蛋白和球蛋白均能反应,灵敏度为 150mg/L。

- (1) 假阴性: ①尿液偏碱(pH>9)或偏酸(pH<3), 因此,检测前调节尿液 pH 5~6。
- ②对于无盐或低盐饮食患者,检测前应在尿液中加入少许盐溶液。
- (2) 假阳性: 尿液混有生殖系统分泌物。

【质量保证】 应根据具体情况选择尿蛋白定性检查方法。初次就诊患者、现场快速检测、健康体检、疾病筛检等,可采用化学试带法或磺基水杨酸法。当进行疗效观察或预后判断时,不宜只采用试带法或磺基水杨酸法,而需要配合加热乙酸法,必要时还需进行尿蛋白定量和特定蛋白质的分析。

尿蛋白检测结果的准确性、可靠性和可比性是临床比较关注的问题。应注重检测方法间的比较和比对,必要时阳性结果要用第 2 种方法核实。标本量多的实验室可按比例抽取阳性标本进行核对和定期进行方法比对。

1. 检测前 嘱患者正常饮食,其他无特殊要求。
2. 检测中 ①坚持室内质量控制,可采用阳性和阴性 2 种浓度水平。②采用试带法,

应严格遵循规范操作程序,保证浸渍时间恰到好处,时间过短或过长均可造成结果偏差。试带应妥善保存于阴凉干燥处,并注意有效期。③加热乙酸法可因盐类析出产生浑浊而引起假阳性。故务必遵守加热-加酸-再加热的操作程序。还应控制乙酸加入量,否则可影响结果。④加热乙酸法和磺基水杨酸法,均需要调节最适宜尿液酸碱度。

3. 检测后 建立完善的检验报告审核制度,检验结果与临床诊断如有不符,应分析检测前、检测中可能存在的因素,以提高尿蛋白定性检验的诊断价值。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】

1. 生理性蛋白尿 因机体内、外环境因素的变化所产生的蛋白尿,称生理性蛋白尿(physiologic proteinuria)。

(1) 功能性蛋白尿:泌尿系统无器质性病变,尿液内暂时出现少量蛋白质,称为功能性蛋白尿(functional proteinuria)。常见于机体剧烈运动、发热、低温刺激、精神紧张、交感神经兴奋等,由于肾血管痉挛或充血等暂时性改变,使肾小球毛细血管壁通透性增高而导致蛋白尿。当消除影响因素后,尿液蛋白质自然消失。功能性蛋白尿一般不超过1+,定量小于0.5g/24h,多见于青少年。

(2) 体位性蛋白尿:体位性蛋白尿(postural proteinuria)又称直立性蛋白尿(orthotic proteinuria)。在直立体位时出现尿蛋白而卧位时消失,且无血尿、高血压、水肿等现象。直立体位时,可能由于前突的脊柱压迫肾静脉或因直立过久肾脏下移,使肾静脉扭曲造成肾静脉瘀血,淋巴、血流循环受阻所致。其特点是卧位时尿蛋白阴性,起床活动或久立后,尿蛋白呈阳性;平卧后又为阴性。多见于青少年。

(3) 偶然性蛋白尿:由于尿液中混入血液、脓液、黏液、生殖系统分泌物(如白带、精液、前列腺液)或月经血等,导致尿蛋白定性试验阳性的蛋白尿,称为偶然性蛋白尿(accidental proteinuria)。因无肾脏本身的损害,故又称假性蛋白尿。

(4) 摄入性:在输注成分血浆、白蛋白及其他蛋白制剂,或摄入过多蛋白食品后,尿液蛋白呈阳性。

(5) 妊娠性:与机体处于妊娠状态有关,分娩后可消失。

2. 病理性蛋白尿

(1) 肾小球性蛋白尿:肾小球性蛋白尿(glomerular proteinuria)是最常见的蛋白尿。由于肾小球滤过膜因炎症、免疫、代谢等因素损伤后,滤过膜孔径增大、断裂和(或)静电屏障作用减弱,血浆蛋白质特别是白蛋白滤出,超出近端肾小管重吸收能力而形成的蛋白尿。若肾小球损害较重,球蛋白及其他相对分子质量较大的蛋白质也可滤出。根据滤过膜损伤程度及尿蛋白的组分,可将其分为选择性蛋白尿(selective proteinuria)和非选择性蛋白尿(non-selective proteinuria),其鉴别见表5-9。

(2) 肾小管性蛋白尿:肾小管性蛋白尿(tubular proteinuria)是指肾小管受到感染、中毒损伤或继发于肾小球疾病时,重吸收能力降低或抑制,而出现的以相对分子质量较小的蛋白为主的蛋白尿。尿液 β_2 -M、溶菌酶增高,尿液白蛋白正常或轻度增多;尿蛋白定性+~++,定量1~2g/24h。常见于肾小管损伤性疾病。

(3) 混合性蛋白尿:病变同时或相继累及肾小球和肾小管而产生的蛋白尿,称为混合性蛋白尿(mixed proteinuria)。其具有两种蛋白尿的特点,但各组分所占比例因病变损害部位

表 5-9 选择性蛋白尿与非选择性蛋白尿的鉴别

鉴别点	选择性	非选择性
原因	肾小球损伤较轻,如肾病综合征	肾小球毛细血管壁有严重破裂和损伤,如原发性和继发性肾小球疾病
相对分子质量	4万~9万	大相对分子质量、中相对分子质量
蛋白质种类	白蛋白、抗凝血酶、转铁蛋白、糖蛋白、Fc片段等	IgG、IgA、IgM和补体C3等
尿蛋白定性	+++~++++	+~++++
尿蛋白定量(g/24小时)	>3.5	0.5~3.0
Ig/Alb清除率	<0.1	>0.5

不同而不一致,也可因肾小球或肾小管受损害程度的不同而有所差异。

(4) 溢出性蛋白尿:肾小球滤过功能和肾小管重吸收功能均正常,因血浆中相对分子质量较小或阳性电荷蛋白异常增多,经肾小球滤过,超过肾小管重吸收能力所形成的蛋白尿,称为溢出性蛋白尿(overflow proteinuria)。异常增多的蛋白有游离血红蛋白、肌红蛋白、溶菌酶、本周蛋白(Bence Jones protein, BJP)等,溢出性蛋白尿多为+~++,常见于多发性骨髓瘤等。

(5) 组织性蛋白尿:组织性蛋白尿(histic proteinuria)是指来源于肾小管代谢产生的、组织破坏分解的、炎症或药物刺激泌尿系统分泌的蛋白质,进入尿液而形成的蛋白尿。以T-H糖蛋白为主,生理性约为20mg/d,组织性蛋白尿多为±~+,定量0.5~1.0g/24小时。

根据蛋白尿发生的部位又可将病理性蛋白尿分为肾前性、肾性和肾后性蛋白尿。①肾前性蛋白尿的临床意义及特性见表5-10。②肾性蛋白尿主要是肾小球性、肾小管性和混合性蛋白尿。③肾后性蛋白尿:最主要见于膀胱以下尿道的炎症、结石、结核、肿瘤,泌尿系统邻近器官疾病(如急性阑尾炎、慢性盆腔炎、宫颈炎、盆腔肿瘤等),生殖系统炎症等。

表 5-10 肾前性蛋白尿的临床意义及特征

类别	临床意义	特征
浆细胞病	骨髓瘤、巨球蛋白血症、重链病、单克隆免疫球蛋白血症、浆细胞白血病	血清或尿液出现大量单克隆、多克隆免疫球蛋白或轻链、重链片段
血管内溶血性疾病	阵发性睡眠性血红蛋白尿	尿液出现大量游离血红蛋白
急性肌肉损伤	心肌梗死、挤压综合征,横纹肌溶解综合征等	尿液出现大量肌红蛋白,严重者可致急性肾衰竭
酶类增高性疾病	急性单核细胞白血病、胰腺炎	尿液溶菌酶或淀粉酶增高

三、葡萄糖

健康人尿液中可有微量葡萄糖(<2.8mmol/24h),普通方法检测为阴性。当血糖浓度超过8.88mmol/L(1.6g/L)时,尿液中开始出现葡萄糖。尿糖定性试验呈阳性的尿液称为糖尿(glucosuria)。尿糖主要指葡萄糖,也有微量乳糖、半乳糖、果糖、核糖、戊糖、蔗糖等。尿液中是否出现葡萄糖取决于血糖浓度、肾血流量和肾糖阈(renal glucose threshold)。

【检测原理】

1. 试带法 采用葡萄糖氧化酶 - 过氧化物酶法 (glucose oxidase-peroxidase method), 也称葡萄糖氧化酶法。试带膜块中含有葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase, GOD)、过氧化物酶、色素原等。尿液葡萄糖经试带中葡萄糖氧化酶催化, 生成葡萄糖酸内酯和 H_2O_2 。在有过氧化物酶的情况下, 以 H_2O_2 为电子受体使色素原氧化而呈现颜色变化, 颜色深浅与葡萄糖含量成正比。

常用的色素原有邻联甲苯胺、碘化钾、4-氯-1-萘酚、4-氨基安替比林等。不同色素原反应后的呈色不同, 有蓝色、红褐色或红色等。

2. 班氏法 (Benedict 法) 在高热和强碱溶液中, 葡萄糖或其他还原性糖, 能将溶液中蓝色的硫酸铜还原为黄色的氢氧化亚铜沉淀, 进而形成红色的氧化亚铜沉淀。根据沉淀的有无和颜色变化判断尿糖含量。

3. 薄层层析法 薄层层析法 (thin layer chromatography, TLC) 采用涂布吸附剂作固定相, 醇类或其他有机溶剂作流动相, 两相间可作相对移动。各组分随流动相通过固定相时, 发生反复的吸附、解析或亲和作用, 因其不同的展开速度而得以分离。显色后观察斑点移动距离和溶剂移动距离, 计算比移值 (rate of flow, Rf)。据 Rf 值可定性鉴定尿液成分, 据斑点面积或颜色深浅可作定量测定。

【方法学评价】**1. 试带法**

(1) 灵敏度和特异性: 虽然色素原不同, 但大多不与非葡萄糖还原物质发生反应, 故试带法特异性强, 灵敏度高 ($1.67 \sim 2.78 \text{ mmol/L}$), 简便快速, 适用于自动化分析。

(2) 干扰因素

1) 标本因素: 假阳性见于尿液标本容器有残留 (如漂白粉、次亚氯酸等强氧化性物质) 或尿液比重过低。假阴性见于标本久置后葡萄糖被细菌或细胞酶分解, 或尿液酮体浓度过高 ($> 0.4 \text{ g/L}$)。

2) 药物因素: ①当尿液葡萄糖浓度低 (14 mmol/L) 时, 维生素 C ($> 500 \text{ mg/L}$) 可与试带中的试剂发生竞争性抑制反应, 产生假阴性。②尿液含有左旋多巴、大量水杨酸盐等可导致假阴性, 而氟化钠可致假阳性。

2. 班氏法 本法稳定, 试验要求和成本较低, 为非特异性方法, 可测定尿液中所有还原性物质, 包括: ①还原性糖类, 如半乳糖、果糖、乳糖。②非糖还原性药物, 如水合氯醛、氨基比林、阿司匹林、青霉素、链霉素、维生素 C、异烟肼等。

班氏法的灵敏度低于试带法, 当葡萄糖浓度达 8.33 mmol/L 时才呈现弱阳性。多种抗生素对班氏法也有不同程度的影响, 可能与班氏试剂中铜离子发生反应有关。

目前, 利用班氏法原理已生产出药片型试剂, 广泛应用于检测还原性物质, 其检测便捷, 有助于筛检遗传性疾病 (如半乳糖血症), 如对 2 岁以下婴幼儿作尿糖检验时, 应该包括铜还原试验。

3. 薄层层析法 可作为确证试验, 但操作复杂、费时、成本高, 多用于研究。薄层层析法是检测和鉴定非葡萄糖的还原性糖的首选方法。

不同化学物质对尿糖检测的影响见表 5-11。

表 5-11 不同化学物质对尿糖检测的影响

成分	葡萄糖氧化酶试带法	铜还原片剂法(班氏法)
葡萄糖	阳性	阳性
非葡萄糖成分		
果糖	无反应	阳性
半乳糖	无反应	阳性
乳糖	无反应	阳性
麦芽糖	无反应	阳性
戊糖	无反应	阳性
蔗糖	无反应	阳性
酮体(大量)	可抑制颜色反应	无反应
肌酐	无反应	可能导致假阳性
尿酸	无反应	阳性
尿黑酸	无反应	阳性
药物		
维生素 C(大量)	可延迟颜色反应	弱阳性
头孢菌素等	无反应	阳性、棕褐色
左旋多巴(大量)	假阴性	无反应
萘啶酮酸	无反应	阳性
葡萄糖苷酸	无反应	阳性
对苯甲酸	无反应	阳性
盐酸苯氮吡啶	橙色影响结果	不确定
水杨酸盐	可减弱显色	无反应
X 射线造影剂	无反应	黑色
污染物		
过氧化氢	假阳性	可掩盖阳性结果
次氯酸(漂白剂)	假阳性	不确定
氟化钠	假阳性	无反应

【质量保证】

1. 检测前 检测前必须注意标本采集、标本容器和排除药物影响等。检测前质量保证的项目与评价见表 5-12。

表 5-12 检测前质量保证的项目与评价

项目	评价
标本容器	容器要清洁,不能含有氧化性物质。推荐使用带盖的一次性尿杯
尿液标本	尿液标本必须新鲜,标本久置,细菌繁殖将消耗尿液中葡萄糖,造成假阴性
药物影响	滴注大剂量维生素 C 后慎做尿糖定性检查,或将尿液煮沸几分钟后再检测,可排除维生素 C 的影响。含维生素 C 氧化酶的试带可排除这一干扰

2. 检测中 强调室内质量控制,可采用阳性和阴性 2 种浓度水平。①试带法:采用酶促反应,其测定的结果与尿液和试剂膜块的反应时间、温度有关。试带应妥善保存于阴凉、

干燥处，注意有效期。②班氏片剂法：严格遵循标准化操作规程，并在规定的温度下按规定时间进行比色。

3. 检测后 建立完善的检验报告审核制度，如结果与临床不符，应分析检测前、检测中可能存在的因素，并积极与临床联系，以提高尿糖检测的诊断价值。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 尿糖检测主要用于内分泌性疾病，如糖尿病及其他相关疾病的诊断、治疗监测、疗效观察等，尿糖检测时应同时检测血糖，以提高诊断的准确性。

1. 血糖增高性糖尿 血糖增高性糖尿(hyperglycemic glycosuria)是由于血糖浓度增高所导致的糖尿。

(1) 代谢性糖尿：由于内分泌激素分泌失常，糖代谢发生紊乱引起的高血糖所致。典型的代谢性疾病是糖尿病。

(2) 内分泌性糖尿：内分泌性糖尿常见的原因及检查结果见表 5-13。

表 5-13 内分泌性糖尿常见原因及检查结果

疾病	原因	检查结果
甲状腺功能亢进	甲状腺素分泌过多，食欲亢进、肠壁血流加速，葡萄糖吸收率增高	餐后血糖增高，餐后尿糖阳性，空腹血糖、餐后 2 小时血糖正常
垂体前叶功能亢进	生长激素分泌过多	血糖增高，尿糖阳性
嗜铬细胞瘤	肾上腺素、去甲肾上腺素大量分泌，肝糖原降解为葡萄糖加速	血糖增高，尿糖阳性
Cushing 综合征	皮质醇增高，抑制葡萄糖的酵解与利用，且加强了糖原异生作用；糖耐量降低	血糖增高，尿糖阳性

2. 血糖正常性糖尿 又称肾性糖尿(renal glucosuria)，因肾小管重吸收葡萄糖的能力及肾糖阈降低所致。血糖正常性糖尿(normoglycemic glycosuria)常见的原因及检查结果见表 5-14。

表 5-14 血糖正常性糖尿常见原因及检查结果

疾病	原因	检查结果
家族性糖尿	先天性近曲小管糖重吸收功能缺损	空腹血糖、糖耐量试验正常，空腹尿糖阳性
新生儿糖尿	肾小管对葡萄糖重吸收功能不完善	尿糖阳性
妊娠或哺乳期	细胞外液容量增高，肾小球滤过率增高而近曲小管重吸收能力受抑制，肾糖阈降低	尿糖阳性

3. 暂时性糖尿 ①进食大量碳水化合物：如进食含糖食品、饮料或静脉注射大量高渗葡萄糖溶液后，血糖可短暂、一过性增高，超过肾糖阈而导致糖尿。②应激性糖尿：情绪激动、脑血管意外、颅脑外伤、脑出血、急性心肌梗死时，延脑血糖中枢受刺激或肾上腺素、胰高血糖素分泌过多，呈暂时性高血糖和一过性糖尿。

4. 其他糖尿 原尿中乳糖、半乳糖、果糖、戊糖、蔗糖的重吸收率虽低于葡萄糖，但尿液中总含量并不高。当进食过多或受遗传因素影响时，糖代谢紊乱，这些糖的血液浓度增高而出现相应的糖尿。

四、酮 体

酮体(ketone bodies)是乙酰乙酸(acetoacetic acid, 占 20%)、β-羟丁酸(β-hydroxybutyrate, 占 78%)及丙酮(acetone, 占 2%)的总称。酮体是机体脂肪氧化代谢产生的中间产物,当糖代谢发生障碍、脂肪分解增多、酮体产生速度超过机体组织利用速度时,可出现酮血症(ketonemia),血浆酮体浓度一旦超越肾阈值,就可产生酮尿(ketonuria)。

【检测原理】

1. 亚硝基铁氰化钠法 乙酰乙酸或丙酮与亚硝基铁氰化钠反应生成紫色化合物,但亚硝基铁氰化钠不与 β-羟丁酸发生反应。基于亚硝基铁氰化钠法的尿酮体检测方法见表 5-15。

表 5-15 基于亚硝基铁氰化钠的尿酮体检测方法

方法	检测过程
试带法	含甘氨酸、碱缓冲剂、亚硝基铁氰化钠。在碱性条件下,后者与乙酰乙酸、丙酮起紫色反应
Lange 法	尿液中先加固体亚硝基铁氰化钠,后加少量冰乙酸,反复振荡使其溶解、混匀,再沿试管壁缓慢加入氢氧化铵溶液,丙酮或乙酰乙酸与亚硝基铁氰化钠反应,在与氨接触面上形成紫色环
Rothera 法	尿液中加 50% 乙酸溶液,再加 200g/L 亚硝基铁氰化钠溶液,混匀,沿试管壁缓慢加入浓氢氧化铵溶液,丙酮或乙酰乙酸与亚硝基铁氰化钠反应,尿液表面出现紫色环
改良 Rothera 法	又称酮体粉法,将亚硝基铁氰化钠、硫酸铵、无水碳酸钠混合研磨成粉。在碱性条件下,丙酮或乙酰乙酸与亚硝基铁氰化钠和硫酸铵作用,生成紫色化合物
片剂法	含甘氨酸(与丙酮反应)和其他物质,可检测尿液、血清、血浆或全血酮体。于片剂上加尿液 1 滴,片剂呈色,在规定时间内与标准色板进行比色

2. Gerhardt 法 高铁离子(FeCl_3 , Fe^{3+})与乙酰乙酸的烯醇式基团发生螯合,形成酒红色的乙酰乙酸铁复合物。Gerhardt 法只检测乙酰乙酸。

【方法学评价】

1. 灵敏度 因试剂和操作的差异,不同检测方法的灵敏度(表 5-16)和特异性不同,使用的方便性和普及程度也不尽相同。

表 5-16 尿酮体不同检测方法灵敏度比较(mg/L)

成分	Lange 法	Rothera 法	改良 Rothera 法	片剂法	试带法	Gerhardt 法
乙酰乙酸	50	10~50	80	50~100	50~100	250~700
丙酮	200	100~250	1000	200~250	400~700	不反应
β-羟丁酸	不反应	不反应	不反应	不反应	不反应	不反应

2. 干扰因素 ①假阳性:尿液中含大量肌酐、肌酸,高色素尿,尿液中含酞、苯丙酮、左旋多巴代谢物等。②假阴性:最主要是标本采集和保存不当,或亚硝基铁氰化钠对湿度、温度或光线很灵敏,或试带受潮失活。

【质量保证】

1. 检测前 丙酮在室温下可以快速挥发,乙酰乙酸在菌尿中会被细菌降解。因此,应

使用新鲜尿液标本并尽快检测。如保存尿液时应密闭冷藏或冷冻,检测时先将标本恢复至室温后再检测。

2. 检测中 阴性和阳性对照是获得可靠结果的保证。为了防止过多的肌酐、肌酸引起假阳性,可在标本中加入少许冰乙酸。试带应存放于阴凉、干燥处,并注意有效期。

3. 检测后 酮体成分的多样性、检测方法的灵敏度、不同病程酮体成分的变化性,均要求检验人员仔细审核结果,及时与临床沟通,做出合理正确的解释。

【参考区间】 ①定性:阴性。②定量:酮体(以丙酮计)170~420mg/L;乙酰乙酸 \leq 20mg/L。

【临床意义】 在正常情况下,血酮体和尿酮体存在一定的关系。当血酮体(乙酰乙酸+ β -羟丁酸)达到80mg/L时,尿酮体可达+;当血酮体达到130mg/L时,尿酮体可达+++;而相对于血酮体,检查尿酮体更加简便、快速。因此,尿酮体检查常被用于糖代谢障碍和脂肪不完全氧化性疾病或状态的辅助诊断。强阳性结果具有医学决定价值,只有约10%的患者体内仅有 β -羟丁酸而呈阴性反应。

1. 不能有效利用碳水化合物

(1) 早期诊断:由于糖尿病未控制或治疗不当,血酮体增高而引起酮症,尿酮体检查有助于糖尿病酮症酸中毒早期诊断(尿酮体阳性),并能与低血糖、心脑血管疾病、乳酸中毒或高血糖高渗透性糖尿病昏迷相鉴别。但是,当肾功能严重损伤而肾阈值增高时,尿酮体排出量减低,甚至完全消失。当临床高度怀疑为糖尿病酮症酸中毒时,即使尿酮体阴性也不能排除诊断,应进一步检查血酮体。

(2) 治疗监测:糖尿病酮症酸中毒早期的主要酮体成分是 β -羟丁酸(一般试带法无法测定),而乙酰乙酸很少或缺如,此时测得结果可导致对总酮体量估计不足。当糖尿病酮症酸中毒症状缓解之后, β -羟丁酸转变为乙酰乙酸,反而使乙酰乙酸含量比急性期的早期高,此时易造成对病情估计过重。

2. 碳水化合物摄入不足 如饥饿、饮食疗法、剧烈运动、寒冷等。

3. 碳水化合物丢失 如频繁呕吐(妊娠、疾病)、肾脏重吸收功能障碍、消化系统疾病等。

4. 其他 ①氯仿、磷等中毒或全身麻醉后,尿酮体可呈阳性。②服用双胍类降糖药等,由于药物抑制细胞呼吸,可出现血糖减低而尿酮体阳性的现象。③新生儿出现尿酮体强阳性,应高度怀疑遗传性疾病。

五、胆红素

胆红素(bilirubin)有未结合胆红素(unconjugated bilirubin, UCB)、结合胆红素(conjugated bilirubin, CB)和 δ -胆红素3种,血浆中以前两者为主。

健康人血液结合胆红素含量很低($<4\mu\text{mol/L}$),尿液中不能检出;当血液结合胆红素增高,超过肾阈值时,结合胆红素即可从尿液排出。

【检测原理】

1. 偶氮法 试带法多采用此原理。在强酸介质中,结合胆红素与重氮盐发生偶联反应呈红色。其颜色深浅与胆红素含量成正比。

2. 氧化法 ①Harrison法:胆红素被硫酸钡吸附而浓缩,与 FeCl_3 反应,被氧化为胆青素、胆绿素和胆黄素复合物,呈蓝绿色、绿色或黄绿色。呈色快慢和深浅与胆红素含量成正比。②Smith碘环法:胆红素被碘氧化成胆绿素,在尿液与试剂接触面呈现绿色环。

【方法学评价】 胆红素检测的方法学评价见表 5-17。

表 5-17 胆红素检测的方法学评价

方法	内容	评价
偶氮法	灵敏度	2, 4- 二氯苯胺试带的灵敏度为 5~10mg/L; 二氯重氮氟化硼酸盐试带的灵敏度为 2~5mg/L
	干扰因素	尿蓝母产生的橘红色或红色可干扰结果 假阳性: 接受大剂量氯丙嗪治疗或尿液含有盐酸苯偶氮吡啶代谢产物 假阴性: ①尿液维生素 C 浓度达 1.42mmol/L 和存在亚硝酸盐时, 可抑制偶氮反应。②尿液标本保存不当, 胆红素遇光氧化
氧化法	灵敏度	Smith 碘环法最简便, 但灵敏度低(胆红素 17.1μmol/L), 目前已少用 Harrison 法灵敏度较高(胆红素 0.9μmol/L 或 0.5mg/L), 但操作稍繁琐
	干扰因素	假阳性: 水杨酸盐、阿司匹林、牛黄等可使尿液呈紫红色, 可干扰 Harrison 法 假阴性: 标本未避光保存

【质量保证】

1. 检测前 胆红素在强光下易变为胆绿素, 1 小时后下降约 30%。应使用避光棕色容器和新鲜尿液标本检测尿胆红素。

2. 检测中 应规范化操作, 作好 2 种水平室内质控, 并定期用阳性标本检测试带, 确保试带质量。试带应放于阴凉、干燥处, 密封避光保存, 并注意有效期。

Harrison 法检测尿液胆红素, 尿液中要有充足的硫酸根离子, 故当加入 FeCl₃ 后未见足够的 BaCl₂ 沉淀时, 可再加适量硫酸铵, 促使沉淀产生。

3. 检测后 试带法操作简便, 目前多作为定性筛检试验, 如反应颜色不典型或结果可疑时, 可采用氧化法(Harrison 法)验证。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 尿液胆红素检查主要用于黄疸的诊断和鉴别诊断。尿液胆红素阳性见于胆汁淤积性黄疸、肝细胞性黄疸, 而溶血性黄疸为阴性。先天性高胆红素血症产生的机制及尿液胆红素变化见表 5-18。

表 5-18 先天性高胆红素血症发生机制及尿液胆红素变化

类型	机制	血清胆红素	尿液胆红素
Dubin-Johnson 综合征	常染色体隐性遗传, 肝细胞向毛细胆管排泄 CB 发生障碍	CB 增高	阳性
Rotor 综合征	肝细胞摄取 UCB 和排泄 CB 异常	UCB 和 CB 增高	阳性
Gilbert 综合征	功能性高胆红素血症, 肝细胞摄取 UCB 功能障碍及微粒体内葡萄糖醛酸转移酶不足	UCB 增高	阴性
Crigler-Najjar 综合征	先天性家族性非溶血性黄疸, I 型为常染色体隐性遗传, II 型为常染色体显性遗传, 主要机制是葡萄糖醛酸转移酶缺乏(I 型)或减少(II 型)	UCB 不能形成 CB	阴性

六、尿胆原和尿胆素

结合胆红素随胆汁排泄进入肠道，在肠道细菌的作用下，先脱去葡萄糖醛酸基，再逐步还原为中胆素原(mesobilirubinogen)、尿胆原(urobilinogen, UBG 或 URO)、粪胆素原等，从粪便中排出为粪胆原(stercobilinogen)。从肠道重吸收的尿胆原，大部分经肝脏(肠肝循环)转化为结合胆红素再排入肠腔，小部分尿胆原则从肾小球滤过或肾小管排出。无色尿胆原经空气氧化及光照后形成黄色的尿胆素(urobilin)。

【检测原理】

- 1. 试带法 ①醛反应法：基于改良的 Ehrlich 醛反应原理。②偶氮法：在强酸性条件下，尿胆原与对 - 四氧基苯重氮四氟化硼发生偶联反应，生成胭脂红色化合物，其呈色深浅与尿胆原含量成正比。
- 2. 改良 Ehrlich 法 在酸性溶液中，尿胆原与对二甲氨基苯甲醛发生醛化反应，生成樱红色缩合物，其呈色深浅与尿胆原含量成正比。
- 3. Schleisinger 法 在无胆红素尿液标本中，加入碘液，尿胆原氧化成尿胆素，后者与试剂中锌离子作用，形成带绿色荧光的尿胆素 - 锌复合物。

【方法学评价】

- 1. 灵敏度和特异性 ①醛反应法：可用于尿胆原定性和定量检查，但不同试带的灵敏度不同。②偶氮法：灵敏度为 4mg/L，不受胆红素干扰，对尿胆原较为特异。③ Schleisinger 法：灵敏度为 0.05mg/L，当尿胆原阴性时，测定尿胆素有意义。
- 2. 干扰因素
 - (1) 醛反应法：醛反应法的干扰因素见表 5-19。
 - (2) 偶氮法：当尿液标本中甲醛浓度为 2000mg/L 或亚硝酸盐 50mg/L 以上，其灵敏度下降。

表 5-19 醛反应法的干扰因素

分类	干扰因素
标本因素	标本久置，尿胆原分解氧化成尿胆素；标本中大量胆红素可引起颜色干扰
药物因素	假阳性：吩噻嗪类、磺胺类、普鲁卡因、氯丙嗪类药物可使尿液颜色变化 假阴性：与尿液中大量维生素 C 或长期服用广谱抗生素抑制肠道菌群等有关
内源性物质	卟胆原、卟啉类化合物等可与 Ehrlich 醛试剂作用显红色，引起假阳性，可用氯仿抽提法鉴别和确证

【质量保证】

- 1. 检测前 采集新鲜尿液标本；为提高尿胆原检测阳性率，可于检测前嘱患者口服少量 NaHCO₃ 以碱化尿液；采集餐后尿标本更有价值。
- 2. 检测中 服用 NaHCO₃ 后采集的尿液标本，检测前要先以乙酸调节尿液 pH 至弱酸性。采用试带法应规范化操作，作好 2 种水平的室内质控，并定期用阳性标本检测试带，确保试带质量。试带应存放于阴凉、干燥处，密闭、避光保存，并注意有效期。
- 3. 检测后 结合尿胆红素的变化正确评价尿胆原和尿胆素。当尿胆原阴性且怀疑为标本久置所致时，应作尿胆素定性试验进行验证。

【参考区间】 ①尿胆原定性：阴性或弱阳性（1:20 稀释后阴性）。②尿胆素定性：阴性。

【临床意义】 尿胆原已成为尿液分析仪试带法组合检验项目之一。胆红素、尿胆原等检查有助于黄疸的诊断与鉴别诊断（表 5-20）。

表 5-20 不同类型黄疸的鉴别诊断

标本	指标	健康人	溶血性黄疸	肝细胞性黄疸	胆汁淤积性黄疸
血清	总胆红素	正常	增高	增高	增高
	未结合胆红素	正常	增高	增高	正常 / 增高
	结合胆红素	正常	增高 / 正常	增高	增高
尿液	颜色	浅黄	深黄	深黄	深黄
	尿胆原	阴性或弱阳性	强阳性	阳性	阴性
	尿胆素	阴性	阳性	阳性	阴性
	胆红素	阴性	阴性	阳性	阳性
粪便	颜色	黄褐色	深色	黄褐色或变浅	变浅或白陶土色
	粪胆素	正常	增高	减低 / 正常	减低 / 消失

七、血 红 蛋 白

健康人血浆中大约有 50mg/L 游离血红蛋白(Hb)，但尿液中无游离血红蛋白。当发生血管内溶血时，大量 Hb 释放入血液形成血红蛋白血症(hemoglobinemia)。若血红蛋白量超过结合珠蛋白结合能力时，血浆游离血红蛋白可经肾小球滤出，当超过 1.00~1.35g/L 时，Hb 可随尿液排出，即为血红蛋白尿(hemoglobinuria)。因此，溶血时是否出现血红蛋白尿取决于 3 个因素：血浆内游离的血红蛋白、结合珠蛋白和肾小管重吸收能力。

【检测原理】

- 1. 试带法 过氧化物酶法。血红蛋白含有血红素基团，具有过氧化物酶样活性，能催化 H₂O₂ 作为电子受体使色素原氧化呈色，借以识别微量血红蛋白的存在，其呈色深浅与血红蛋白含量成正比。常用的色素原有邻联甲苯胺、氨基比林和四甲基联苯胺(3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine, TMB)等。
- 2. 化学法 与试带法反应原理一致。常用方法有邻联甲苯胺法、氨基比林(匹拉米洞)法等。
- 3. 免疫法 采用免疫胶体金法测定原理。

【方法学评价】

- 1. 试带法 目前广泛使用的尿液血红蛋白测定方法，操作简单、快速，可作为尿液血红蛋白的筛检试验。
不同试带灵敏度有所差异，一般为 0.15~0.30mg/L，除与游离血红蛋白反应外，也与完整的红细胞反应。但在高蛋白、高比重尿液中，红细胞不溶解，此时结果只反映血红蛋白的量。①假阳性：尿液中含有易热性触酶、尿液被氧化剂污染或尿路感染时某些细菌产生过氧化物酶。②假阴性：尿液中含大量维生素 C 或其他还原物质、过量甲醛、大量亚硝酸盐(反应延迟)。
- 2. 化学法 邻联甲苯胺法灵敏度为 0.3~0.6mg/L。操作简单，但试剂稳定性差，特异

性较低。

假阳性：尿液中有铁盐、硝酸、铜、锌、碘化物等，或过氧化物酶、其他易热性触酶。

3. 免疫法 操作简便，灵敏度高(Hb 0.2mg/L)，特异性强，不受鸡、牛、猪、羊、兔血红蛋白(500mg/L)，辣根过氧化物酶(200mg/L)干扰，可作为确证试验。

【质量保证】

1. 检测前 尿液标本要新鲜，检测前将尿液煮沸约 2 分钟，以破坏白细胞过氧化物酶或其他易热性触酶。

2. 检测中 做好 2 种水平的室内质控或设置阳性对照，验证 3% 过氧化氢或试带，以确保其有效性和可靠性。

3. 检测后 正确分析审核检测结果，及时与临床沟通，对异常结果或不能合理解释的结果，要选用其他方法进行验证。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 尿液出现 Hb 是血管内溶血的证据之一。因此，尿液血红蛋白测定有助于血管内溶血性疾病的诊断。常见血管内溶血的因素与疾病见表 5-21。

表 5-21 常见血管内溶血的因素与疾病

因素	疾病
红细胞破坏	心脏瓣膜修复术、大面积烧伤、剧烈运动、急行军、严重肌肉外伤和血管组织损伤
生物因素	疟疾、梭状芽胞杆菌中毒
动植物所致溶血	蛇毒、蜂毒、毒蕈
微血管性溶血性贫血	DIC
药物作用	伯氨喹啉、乙酰水杨酸、磺胺、非那西丁
免疫因素	血栓性血小板减少性紫癜、阵发性寒冷性血红蛋白尿症、血型不合的输血

八、亚硝酸盐

尿液亚硝酸盐(nitrite, NIT)主要来自病原菌对硝酸盐的还原反应，其次来源于体内的一氧化氮(NO)。体液中内皮细胞、巨噬细胞、粒细胞等使精氨酸在酶的作用下生成 NO，而 NO 极易在体内有氧条件下，氧化成亚硝酸盐和硝酸盐。

【检测原理】 Griess 法。尿液中含有来源于食物或蛋白质代谢产生的硝酸盐，如果感染了大肠埃希菌或其他具有硝酸盐还原酶的细菌时，则可将硝酸盐还原为 NIT。尿液 NIT 先与对氨基苯磺胺(或对氨基苯砷酸)形成重氮盐，再与 3- 羟基 -1, 2, 3, 4- 四氢苯并喹啉(或 N-1- 萘基乙二胺)结合形成红色偶氮化合物，其颜色深浅与 NIT 含量成正比。

【方法学评价】 尿液 NIT 阳性检出率取决于 3 个条件：尿液中的致病菌是否存在硝酸盐还原酶、尿液在膀胱内是否停留足够长的时间(4 小时)、尿液中是否存在适量硝酸盐。Griess 法的灵敏度为 0.3~0.6mg/L。亚硝酸盐检测的干扰因素及评价见表 5-22。

【质量保证】

1. 检测前 宜使用晨尿标本，及时送检，尽快检测。

2. 检测中 做好 2 种水平的室内质控，定期用阳性标本验证试带的质量。试带应干燥、避光贮存，并注意有效期。

表 5-22 亚硝酸盐检测的干扰因素及评价

因素	评价
标本	高比重尿使其灵敏度降低；假阳性见于陈旧尿、偶氮剂污染的尿液
食物	尿液中硝酸盐主要来源于正常饮食、体内蛋白质代谢、或由氨内源性合成。不能正常饮食的患者，体内缺乏硝酸盐，即使有细菌感染，也可出现阴性
致病菌	常见致病菌：大肠杆菌属（致病率最高）、克雷伯杆菌属、变形杆菌属、葡萄球菌属、假单胞菌属等。阳性诊断与大肠埃希菌感染符合率约为 80%。粪链球菌属感染时则呈阴性
药物	假阴性：利尿剂、大量维生素 C。假阳性：非那吡啶
尿液停留时间	晨尿标本较好，尿液在膀胱内停留时间长，细菌有充分作用时间，否则呈假阴性

3. 检测后 仔细审核检验报告，综合分析 NIT、试带法白细胞酯酶结果，必要时进行显微镜检查，以提高尿路感染诊断的可靠性。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 目前，亚硝酸盐作为尿液化学检查组合项目之一，主要用于尿路感染的快速筛检。与大肠埃希菌感染的相关性高，阳性结果常表示有细菌存在，但阳性程度不与细菌数量成正比。单一检测 NIT 的影响因素较多，阴性结果不能排除菌尿的可能，阳性结果也不能完全肯定为泌尿系统感染。因此，解释结果时可与白细胞酯酶、尿沉渣显微镜检查结果相结合，综合分析。尿细菌培养法为确证试验。

九、白细胞酯酶

【检测原理】 中性粒细胞酯酶法：中性粒细胞胞质中含有特异性酯酶，能使试带中吲哚酚酯产生吲哚酚，吲哚酚与重氮盐形成紫红色缩合物，其呈色深浅与中性粒细胞的多少成正比。

【方法学评价】

1. 灵敏度与特异性 灵敏度 5~15/μl；特异性较强。只对粒细胞灵敏，与淋巴细胞不发生反应。

2. 干扰因素

(1) 假阳性：假阳性率较高，主要是由于尿液标本被阴道分泌物或甲醛污染所致，或受到在酸性尿液中呈红色或深色的药物或食物影响，如高浓度胆红素、非那吡啶等。

(2) 假阴性：见于尿液白细胞少于 10~25/μl，尿蛋白≥5g/L、尿葡萄糖≥30g/L、高比重尿液，尿液中含维生素 C、庆大霉素、头孢菌素等。健康人尿液 pH≥4.5，草酸多以草酸盐的形式存在，如尿液标本中加酸化剂使尿液 pH≤4.4，草酸盐被还原为草酸，则白细胞酯酶反应偏低或出现阴性。

【质量保证】

1. 检测前 尿液标本要新鲜，若标本久置后白细胞被破坏，可导致试带法与显微镜检查结果差异过大。

2. 检测中 规范操作和质控。

3. 检测后 仔细审核检验报告，结合临床综合分析白细胞酯酶、亚硝酸盐结果，必要时进行显微镜检查，以提高尿路感染筛检诊断的可靠性。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 用于诊断泌尿系统感染。肾移植后发生排斥反应时，尿液中以淋巴细胞为主，白细胞酯酶呈阴性。此时，应以显微镜检查为准。

十、维生素 C

【检测原理】 还原法：试带膜块中含有 2, 6- 二氯酚靛酚、中性红、亚甲基绿、磷酸二氢钠和磷酸氢二钠。在酸性条件下，维生素 C(具有 1, 2- 烯二醇还原性基团)能将试带膜块中氧化态粉红色的 2, 6- 二氯酚靛酚还原为无色的 2, 6- 二氯二对酚胺。呈色反应由绿色或深蓝色至粉红色变化，其呈色深浅与维生素 C 含量成正比。

【方法学评价】

1. 灵敏度和特异性 维生素 C 有左旋抗坏血酸(还原型)和左旋脱氢抗坏血酸(氧化型)两种天然形式。试带法只能检测左旋抗坏血酸，灵敏度(一般为 50~100mg/L)因试带不同而异。

2. 干扰因素 假阳性：龙胆酸、左旋多巴或尿液 pH>4.0 时的内源性酚及巯基化合物、半胱氨酸和硫代硫酸钠等。假阴性：碱性尿液(因维生素 C 易分解)。

【质量保证】

1. 检测前 随机尿标本无须特殊处理。

2. 检测中 作好试带的质控。

3. 检测后 仔细审核、综合分析维生素 C 是否对隐血 / 血红蛋白、胆红素、葡萄糖、亚硝酸盐结果产生影响。尤其当试带法酮体阳性、葡萄糖阴性或葡萄糖试带法与班氏法结果出现矛盾时，要注意是否为尿液维生素 C 浓度过高所致。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 22.8% 的常规尿液标本可以检测出维生素 C，浓度为 71~3395mg/L(平均 372mg/L)。维生素 C 水平与外源性摄入量有极大相关性。维生素 C 浓度增高可对隐血 / 血红蛋白、胆红素、葡萄糖、亚硝酸盐试带反应产生严重的干扰(表 5-23)。检测维生素 C 并非用于维生素 C 的定量，而是用于判断试带法其他检测项目是否准确可靠，是否受到维生素 C 的影响，以对阴性结果给予正确的分析和评价。

表 5-23 维生素 C 对干化学检测项目的干扰

检测项目	干扰检测所需维生素 C 浓度 (mg/L)	反应物
隐血 / 血红蛋白	≥90	试剂膜块浸渍的 H ₂ O ₂
胆红素	≥250	试剂膜块浸渍的重氮盐
亚硝酸盐	≥250	反应过程中产生的重氮盐
葡萄糖	≥500	反应过程中产生的 H ₂ O ₂

十一、人绒毛膜促性腺激素

人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)是由胎盘合体滋养细胞分泌的一种具有促进性腺发育的糖蛋白激素，相对分子质量为 47 000。受精卵着床后不久滋养细胞就开始产生 hCG。妊娠 1 周后血液 hCG 为 5~50IU/L，尿液 hCG>25IU/L，至妊娠第 8~10 周时达到峰值(50 000~100 000IU/L)，持续 1~2 周后迅速减低，以后逐渐下降并以

1/10~1/5 的峰值水平维持至分娩。分娩后若无胎盘残留,产后 2 周内消失。

hCG 是唯一不随胎盘重量增加而分泌增多的胎盘激素,分泌后直接进入母血,几乎不进入胎儿血循环。hCG 可通过孕妇血循环而排泄到尿液中,血清 hCG 浓度略高于尿液,且呈平行关系。

hCG 的主要功能有:①维持月经黄体寿命,使月经黄体增大成为妊娠黄体,增加甾体激素的分泌以维持妊娠。②促进雄激素芳香化转化为雌激素,同时刺激孕酮的形成。③抑制植物血凝素对淋巴细胞的刺激作用,并吸附于滋养细胞表面,以免母体淋巴细胞攻击胚胎滋养层。④刺激胎儿睾丸分泌睾酮,促进男性性分化。⑤与母体甲状腺细胞 TSH 受体结合,刺激甲状腺活性。

【检测原理】

1. 单克隆免疫胶体金法 采用双抗体夹心法原理。胶体金是由氯金酸和枸橼酸合成的胶体物质,直径 5~150nm 胶体金颗粒在液体状态中呈现紫红色。以胶体金颗粒作为示踪物标记鼠抗人 hCGβ 链单克隆抗体(McAb)、羊抗人 hCG 和羊抗鼠 IgG 多克隆抗体,应用大分子物质加以保护,并固相化于硝酸纤维素膜上。待检 hCG 在检测区域形成 McAb-hCG-羊抗人 hCG 双抗体夹心抗原抗体复合物,呈现紫红色。对照区域则形成 McAb-羊抗鼠 IgG 多克隆抗体复合物,也呈现紫红色。

2. 其他方法 检测 hCG 的方法还有酶联免疫吸附试验(ELISA)、电化学发光免疫法(electro-chemiluminescence immunoassay, ECLIA)、微粒子化学发光免疫法(microparticle chemiluminescence immunoassay, MCLIA)、放射免疫法和检孕卡法等。

【方法学评价】 尿液 hCG 检测的方法学评价见表 5-24。由于 hCG 在结构上与卵泡刺激素(FSH)、黄体生成激素(LH)、促甲状腺激素(TSH)相似,都含有相同的 α 亚基,这些激素因其 β 亚基不同而表现出各自的免疫学和生物学特异性。因此,所有与 hCGα 亚基反应的抗体均能与 FSH、LH、TSH 的 α 亚基发生交叉反应,而出现假阳性。更年期妇女、排卵期、双侧卵巢切除患者,因尿液 LH 含量增高,可影响到 hCG 的检测结果。

表 5-24 尿液 hCG 检测的方法学评价

方法	评价
单克隆免疫胶体金法	操作简便、无需特殊设备、试剂商品化、特异性强,最低检出 25IU/L,是目前比较理想的早早孕诊断方法
酶联免疫吸附法	灵敏度高, hCG 20~50IU/L; β-hCG 单克隆抗体与黄体生成素、卵泡刺激素等无交叉反应,故特异性高;可半定量,是妊娠早期筛检试验
电化学发光免疫法	仪器化检测,简便、快速,灵敏度高,可定量
微粒子化学发光法	仪器化定量检测,简便、快速,灵敏度高(0.5mIU/L),检测范围 0.5~1000IU/L,较高浓度胆红素、甘油三酯和溶血对结果影响较小,但目前较少用于尿液检查
放射免疫法	灵敏度高,结果准确稳定,但操作繁琐、有放射性污染,不宜常规检查
检孕卡法	操作简便、快速、灵敏度低,作为一般早孕诊断

【质量保证】

1. 检测前 宜采集首次晨尿检测,否则因尿液 hCG 被稀释可呈假阴性。严重血尿、菌尿标本不宜测定 hCG,育龄期妇女应避开排卵期 LH 增高引起的干扰。

2. 检测中 使用单克隆免疫胶体金试带,操作时注意试带浸入尿液时,液面要低于两抗体检测线。每次测定应设置阴性、阳性对照,同时做原浓度和2倍稀释浓度尿液的检查,若2种浓度尿液hCG均呈阳性反应,可视为真阳性。使用其他方法时,应进行严格定标和室内质控。

3. 检测后 认真审核检测结果,查找可能引起结果异常的影响因素。

【参考区间】 定量: $<25\text{IU/L}$ 。定性:阴性。

【临床意义】

1. 诊断早期妊娠 妊娠4~5周时,血清hCG为 $1000\sim 50\,000\text{IU/L}$,尿液hCG超过 2500IU/L ,8~12周出现高峰,常用的检查方法均能显示阳性结果。

2. 诊断异位妊娠 正常妊娠时血清hCG水平随着不同孕周呈现规律性变化,而异位妊娠时血清hCG浓度增高不如正常妊娠。如果早期hCG不是每1.5~3天成倍增长,影像检查无宫内妊娠征象,应高度怀疑异位妊娠。同时,在异位妊娠中,只有60%~80%患者的hCG呈阳性。因此,hCG阴性并不能完全排除诊断。

3. 诊断流产 先兆流产hCG呈阳性;难免流产、不全流产多呈阳性;完全流产或死胎时hCG由阳性转为阴性。人工流产后hCG仍呈阳性,提示宫腔内尚有残留的胚胎组织。

4. 辅助诊断滋养细胞疾病 因葡萄胎、侵蚀性葡萄胎、绒毛膜癌等滋养细胞高度增生,产生大量的hCG,血清及尿液hCG明显增高,可超过 $100\,000\text{IU/L}$ 。

5. 肿瘤标志物 男性尿液hCG升高可见于精原细胞瘤、睾丸畸胎瘤等。绒毛膜上皮癌hCG的分泌量与肿瘤体积成正比。此外,肺癌、胃癌、肝癌、卵巢癌、子宫颈癌等患者血液和尿液hCG也明显增高。当hCG作为肿瘤标志物时,必须与临床表现和其他检查结果综合分析才有意义。

十二、乳糜液和脂肪

脂肪在肠道吸收后皂化形成乳糜液,正常情况下乳糜液进入肠道淋巴管,参与淋巴循环。若乳糜液未引流入血而逆流至泌尿系统的淋巴管中,引起该处淋巴管内压力增高、曲张破裂,则使乳糜液进入尿液,则形成乳糜尿(chyluria),若同时混有血液称乳糜血尿(hematochyluria)。尿液中出现脂肪小滴称脂肪尿(lipiduria)。乳糜尿若合并泌尿道感染,则可出现乳糜脓尿(chylus-pyuria)。

乳糜尿易于凝集,呈白色透明胶状凝块。严重的乳糜尿静置后可分为3层:上层为比重最低的脂肪层;中层为乳白色或较清晰的液体,常有小凝块混悬于其中;下层为红色或粉红色的沉淀物,内含有红细胞、白细胞或微丝蚴等。

【检测原理】 采用乙醚等有机溶剂抽提乳糜微粒(chylomicron)、脂肪小滴,再用脂溶性染料苏丹Ⅲ对乙醚提取物进行染色,并采用显微镜检查,可见脂肪颗粒被染成大小不等的橘红色球形小滴。乳糜尿经乙醚抽提后,尿液的浑浊程度减轻或变澄清。

【方法学评价】

1. 肉眼观察 尿液含有大量非晶形磷酸盐或尿酸盐时,难以与乳糜尿鉴别,可用加热或加酸方法鉴别。

2. 离心沉淀方法 可初步区分乳糜尿、脓尿、高浓度结晶尿。方法简便实用。①脓尿、高浓度结晶尿:经离心沉淀后,上清液澄清而沉渣中可见大量白细胞、脓细胞或非晶形磷酸

盐结晶。②乳糜尿：经离心后外观无改变，沉渣中仅见少量红细胞及淋巴细胞。

3. 乙醚抽提苏丹Ⅲ染色法 乙醚抽提处理后尿液浑浊程度减轻或澄清，抽提物苏丹Ⅲ染色呈阳性者，可确诊为乳糜尿。此方法为确证试验。

【质量保证】

- 1. 检测前 采集新鲜尿液并及时送检。
- 2. 检测中 按照 SOP 进行严格、规范的操作，溶解脂肪、静置离心、隔水蒸干等操作步骤均需小心谨慎。
- 3. 检测后 认真审核报告，及时与临床沟通。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】

- 1. 乳糜尿 ①累及淋巴循环的疾病：如腹腔结核、先天性淋巴管畸形、肿瘤压迫或阻塞腹腔淋巴管或胸导管。②丝虫病：丝虫在淋巴系统中引起炎症反复发作，大量纤维组织增生，使腹部淋巴管或胸导管广泛阻塞，致使较为脆弱的肾盂及输尿管处淋巴管破裂而出现乳糜尿。
- 2. 脂肪尿 常见于肾病综合征、肾小管变性等疾病，骨折及脂肪栓塞等。

十三、本周蛋白

骨髓瘤细胞所合成的异常免疫球蛋白，其轻链(light chain, LC)与重链(heavy chain, HC)合成不平衡，因 LC 产生过多，使游离 LC 过剩。LC 能自由通过肾小球滤过膜，当浓度超过近曲小管的重吸收能力时，可自尿液中排出，即本周蛋白尿或轻链尿。此轻链即本周蛋白(Bence Jones protein, BJP)，有 κ 型和 λ 型两种，轻链单体相对分子质量为 23 000，二聚体为 46 000。本周蛋白在 pH 4.9±0.1 条件下，加热至 40~60℃时可发生凝固，温度升至 90~100℃时溶解，而温度减低至 56℃左右，又可重新凝固，故本周蛋白又称为凝溶蛋白。

【检测原理】 本周蛋白检测方法和原理见表 5-25。

表 5-25 本周蛋白检测方法和原理

方法	原理
热沉淀-溶解法	基于 BJP 在 40~60℃凝固，90~100℃溶解的特性
对-甲苯磺酸(TSA)法	基于对-甲苯磺酸法能沉淀 BJP，且不与白蛋白和球蛋白发生反应的原理
磺基水杨酸法	蛋白定性方法
乙酸纤维素膜电泳和 SDS-PAGE 电泳	基于蛋白电泳分离的检测原理
免疫电泳(IEP)	基于区带电泳原理和特异性抗原抗体反应原理
免疫固定电泳(IFE)	基于区带电泳原理和特异性抗原抗体反应原理
免疫速率散射浊度法	基于可溶性抗原-抗体反应，形成不溶性抗原-抗体复合物的免疫学原理

【方法学评价】 检测尿液游离 LC 最佳方法是免疫固定电泳法，可以判断出 LC 是 κ 型还是 λ 型或两者均存在。本周蛋白检测的方法学评价见表 5-26。尿液标本稀释可以导致假阴性，大剂量青霉素或阿司匹林可导致假阳性。

表 5-26 本周蛋白检测的方法学评价

方法	评价
热沉淀 - 溶解法	灵敏度低 (0.3~2.0g/L), 假阴性率高, 所需标本量大, 已较少使用
对 - 甲苯磺酸法	操作简便, 为灵敏度较高 (3mg/L) 的筛检试验。不与白蛋白反应。球蛋白 > 5g/L 时, 可出现假阳性
乙酸纤维素膜电泳和 SDS-PAGE	对 BJP 的阳性检出率可高达 97%
免疫电泳	简单易行、标本用量少, 在抗原抗体最适比例时, 分辨率高、特异性强
免疫固定电泳	用特异抗体鉴别区带电泳分离的蛋白, 比区带电泳和免疫电泳更灵敏
免疫速率散射浊度法	在抗原 - 抗体反应的最高峰测定其复合物形成量, 能定量检测 κ 、 λ 轻链, 检测速度快、灵敏度和精确度高、稳定性好

【质量保证】

1. 检测前 使用新鲜尿液标本; 尿液浑浊时需要离心后取上清液检查。采用热沉淀 - 溶解法时, 若遇蛋白尿, 需先用加热乙酸法沉淀普通蛋白质, 然后趁热过滤, 取上清液检查。采用电泳法时, 需预先浓缩尿液 10~50 倍。
2. 检测中 热沉淀 - 溶解法应严格控制 pH 在 4.5~5.5 范围, 最适宜 pH 4.9 ± 0.1 。电泳法操作中, 需要对患者及健康人进行检测, 以正确判断区带位置。
3. 检测后 肌红蛋白、溶菌酶、游离重链、运铁蛋白、脂蛋白或大量细菌沉淀物等也可出现类似于 M 的区带。因此, 当乙酸纤维素膜上出现波峰或怀疑有相关疾病时, 应进行免疫电泳。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 尿液本周蛋白检测主要用于多发性骨髓瘤 (MM)、原发性淀粉样变性、巨球蛋白血症及其他恶性淋巴增殖性疾病的诊断和鉴别诊断。① MM: 99% 患者血清 M- 蛋白或尿液 M- 蛋白增高, $\kappa:\lambda$ 为 2:1。早期尿液本周蛋白可间歇性排出, 50% 患者 > 4g/24 小时。②巨球蛋白血症: 80% 患者尿液中有单克隆轻链。③原发性淀粉样变性: 80%~90% 患者血清或浓缩尿液中发现单克隆免疫球蛋白轻链。④其他: 2/3 的 μ 重链病 (μ heavy chain disease) 患者尿液中有本周蛋白。本周蛋白也见于恶性淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、转移癌、慢性肾炎、肾盂肾炎、肾癌等。

十四、微量白蛋白

在无尿路感染和心力衰竭的情况下, 尿液白蛋白超过正常但低于常规试带法可检出的范围, 称为微量白蛋白尿 (microalbuminuria, MA)。因常规定性试验阴性, 所以不能诊断为蛋白尿。

【检测原理】

1. 放射免疫法 (RIA) 以放射性核素标记的免疫分析法, 其基本原理是标记抗原 (Ag^*) 和非标记抗原 (Ag) 对特异性抗体 (Ab) 的竞争结合反应。
2. 酶联免疫吸附法 (ELISA) 首先使抗原或抗体结合到某种固相载体表面, 并保持其免疫活性, 然后使抗原或抗体与某种酶联接成酶标抗原或抗体。加入酶反应底物后, 底物被酶催化变为有色产物, 产物的量与标本中受检物质的量有直接关系, 可根据颜色反应进

行定性或定量分析。

3. 免疫比浊法 抗原、抗体在特殊缓冲液中快速形成抗原抗体复合物，反应液出现浊度变化。当保持反应液抗体过量时，所形成的复合物随抗原量增高而增高，反应液浊度也随之增高，其结果与一系列标准品对照，即可计算出受检物的含量。

【方法学评价】 微量白蛋白检测的方法学评价见表 5-27。

表 5-27 微量白蛋白检测的方法学评价

方法	评价
放射免疫法	灵敏度、特异性、精密度、准确性高，回收率近 100%。是微量蛋白质定量的适宜方法，但放射核素有一定的危害性
酶联免疫吸附法	灵敏度、特异性高，可检测几乎所有可溶性抗原抗体系统。标记试剂稳定，无放射危害
免疫比浊法	操作简便、灵敏度高、精确度高、稳定性好、测定时间短，可应用于仪器自动分析

【质量保证】

1. 检测前 ①向患者说明检测的过程。②尿路感染、出血，或标本被阴道分泌物污染可致假阳性。③采集新鲜尿液标本，如果采集 24 小时尿标本，需要冷藏保存。④高脂血症可影响结果，尤其在低稀释度时，脂蛋白的小颗粒形成浊度，可造成假性增高。⑤剧烈运动后，尿液白蛋白排出量可增高，故宜采集清晨、安静状态下尿液进行检查。

2. 检测中 ①检测过程在室温下进行，冷藏的标本需要恢复至室温后再检测。②核素有半衰期，应注意有效期。

3. 检测后 根据标本采集方式，给出正确的结果报告。由于标本采集方法不同，报告方式也不同。①定时留尿法：计算出单位时间内的排出率(μg/min 或 mg/24h)。②随机留尿法：用肌酐比值报告排出率(mg/mmolCr 或 mg/gCr)。③晨尿法：报告每升尿液排出量(mg/L)。④尿液白蛋白排泄率(albumin excretion rate, AER)：24 小时尿液白蛋白排泄总量。

【参考区间】 成人：(1.27 ± 0.78) mg/mmolCr 或 (11.21 ± 6.93) mg/gCr。AER：5～30mg/24h。

【临床意义】 ①糖尿病肾病的早期诊断与监测，微量白蛋白尿是糖尿病患者发生肾小球微血管病变最早期的指标之一。排泄量处于参考区间内或间歇性排出，提示疾病尚处于极早期阶段；当持续出现微量白蛋白尿时，提示疾病处于发展为糖尿病肾病的早期，如果及时治疗，可阻止疾病发展或使病变逆转；当排泄量持续 > 300mg/24h，可诊断为糖尿病肾病。微量白蛋白升高的糖尿病患者心血管疾病死亡率、视网膜病变和晚期肾病发生率比无微量白蛋白升高的患者高 5～10 倍。因此，尿液微量白蛋白应成为糖尿病每年的必查项目或定期监测指标，建议年龄在 12 岁以上的糖尿病患者，每年进行 1 次微量白蛋白检查。②微量白蛋白尿是心血管疾病、高血压病患者并发肾脏损伤的指征之一。

十五、肌 红 蛋 白

肌红蛋白(myoglobin, Mb)是横纹肌(心肌和骨骼肌)合成的一种含亚铁血红素单链的蛋白质，其相对分子质量为 17 800、结构及特性与血红蛋白相似。当横纹肌组织受损伤时，Mb 可大量释放至细胞外，并可迅速通过肾小球滤过而由肾脏排出。Mb 阳性的尿液称肌红蛋白尿(myoglobinuria)。

【检测原理】

- 1. 隐血试验法 Mb 与血红蛋白结构相似，都具有类似过氧化物酶的活性，能用邻联甲苯胺等隐血试验方法检出。
 - 2. 肌红蛋白溶解试验 利用 Mb 能溶于 80% 饱和硫酸铵，而血红蛋白不溶解的特性，在隐血试验阳性标本中加入硫酸铵使 Mb 溶解（血红蛋白和其他蛋白沉淀）后过滤，取滤液再做隐血试验，仍为阳性，则提示 Mb 阳性。此法也称为肌红蛋白定性试验。
 - 3. 斑点免疫金渗滤试验 斑点免疫金渗滤试验（dot immunogold filtration assay, DIGFA）为免疫标记技术的双抗体夹心法。将 Mb 抗体（Ab）结合在硝酸纤维膜（NC）上，尿液中 Mb（Ag）与之结合，再加入胶体金（红色）标记的 Mb 抗体（Ab*），形成固相 Ab-Ag-Ab*，显示红色为阳性，不显色为阴性。
 - 4. 其他 ELISA 双抗体夹心法。
- 【方法学评价】 尿液 Mb 检测的方法学评价见表 5-28。

表 5-28 尿液 Mb 检测的方法学评价

方法	评价
隐血试验	化学法，操作简单，但试剂稳定性差，特异性较低，对 Mb 与 Hb 均起反应
肌红蛋白溶解试验	作为 Mb 筛检试验，方法简便，操作费时，可鉴别 Mb 与 Hb，但灵敏度低，部分健康人可出现假阳性
胶体金免疫渗滤试验	简便快速，灵敏（Mb > 100μg/L）、特异，可定性或半定量检测，已取代肌红蛋白溶解试验
ELISA 双抗体夹心法	操作简便，灵敏度高（为 25~800μg/L），特异性高，可定量检测

【质量保证】

- 1. 检测前 使用新鲜尿液标本，氧合 Mb 久置后可被还原，引起假阴性。在酸性尿液中 Mb 不稳定，在碱性（pH 8~9）条件下 4℃ 至少可稳定 1 周。因此，如尿液标本需要保存，宜碱化后冷冻保存。
- 2. 检测中 采用肌红蛋白溶解试验时，操作时动作轻缓，防止局部浓度过高的硫酸铵将待测 Mb 沉淀，引起假阴性；适当调节 pH 7.0~7.5，确保达到完全沉淀的目的。
- 3. 检测后 认真审核、分析检测结果，查找可能引起结果异常的影响因素。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 肌红蛋白尿检测主要用于鉴别是否发生肌肉损伤。

- 1. 组织局部缺血 心肌梗死早期、动脉阻塞缺血。但一般情况下，不以尿液 Mb 阳性作为心肌梗死的确诊依据，应同时检测血清 Mb，并结合其他心肌损伤标志物进行综合分析。
- 2. 骨骼肌损伤 Mb 对肾小管的毒性作用强于血红蛋白，急性肾衰竭患者肌红蛋白尿阳性有诊断意义，乙醇过量、可卡因或海洛因导致的急性肾衰竭是引起非外伤性的肌红蛋白尿的主要原因。
- 3. 创伤 挤压综合征、电击伤、烧伤、手术创伤等。
- 4. 阵发性肌红蛋白尿 常见于剧烈运动后，如马拉松长跑等。
- 5. 原发性肌肉疾病 皮肌炎、多发性肌炎等。

（粟 军）

第三节 尿液有形成分显微镜检查

尿液有形成分是指通过尿液排出体外并能在显微镜下检查到的成分，如细胞、管型、病原体和结晶等。通过检查尿液有形成分可以了解泌尿系统的变化，对泌尿系统疾病的诊断、鉴别诊断及预后判断等有重要意义。尿液有形成分显微镜检查也可弥补理学、化学等检查难以发现的异常变化，对减少漏诊、误诊有重要价值。目前，标准化尿液显微镜检查法是尿液有形成分检查的“金标准”。进行尿液分析时，凡有下述情况应进行显微镜检查：

- (1) 医生提出显微镜检查要求。
- (2) 肾脏病患者(无论初诊还是复诊)均应直接进行标准化显微镜检查。
- (3) 任何一项尿液理学、化学检查结果异常。尤其是干化学检查，红细胞、白细胞、蛋白质和亚硝酸盐 4 项中有一项异常者，必须进行显微镜检查，并以显微镜检查结果为准。

一、尿液有形成分显微镜检查方法

目前，尿液有形成分检查的方法有显微镜检查法和尿液沉渣分析仪法，前者又可分为未离心显微镜检查法、离心显微镜检查法，这两种方法中又有染色与不染色之分。目前，仪器分析法有流式分析和图像分析两种形式。但是，迄今为止无任何一种仪器可以完全代替显微镜，尿沉渣显微镜检查仍然是一种简便、价廉、可靠的检查方法。

(一) 未离心未染色显微镜检查法

【检测原理】

1. 混匀一滴尿法(直接涂片法) 取新鲜混匀的尿液 1 滴直接滴于载玻片上，覆以盖玻片后，采用普通光学显微镜检查。先用低倍镜(LP)观察 20 个视野的管型(可用高倍镜鉴定)，再用高倍镜(HP)观察 10 个视野的细胞。管型以最低数~最高数 /LP、细胞以最低数~最高数 /HP 报告，结晶以每高倍视野+~++++ 的半定量方式报告。

2. 改良牛鲍血细胞计数板定量检查法 将尿液混匀后，取 1 滴充入牛鲍血细胞计数板内，在低倍镜下计数 10 个大方格的管型总数，高倍镜下计数 10 个大方格中的红细胞、白细胞总数，求出每微升尿液中有形成分的数量。

【方法学评价】 未离心未染色显微镜检查法的方法学评价见表 5-29。

表 5-29 未离心未染色显微镜检查法的方法学评价

方法	评价
混匀一滴尿法	①简便、易行，快捷及成本低 ②能最大限度保持各类有形成分的原始状态，避免对有形成分的破坏 ③适用于浑浊、有形成分明显增多的尿液标本(明显浑浊的血尿、脓尿) ④阳性率低，仅能定性或半定量，且重复性差，易漏诊 ⑤报告时应注明“未离心尿液标本”
改良牛鲍计数板定量检查法	不需特殊器材，容易推广，但工作量较大，计数板清洗、消毒不方便，且盖玻片上的杂物可干扰计数

(二) 离心未染色显微镜检查法

【检测原理】

1. 标准化沉渣定量计数板法 将混匀的尿液倒入离心管至 10ml 刻度处，RCF $400\times g$ 离心 5 分钟，离心后倾倒或吸去上清液，离心管底部残留尿液量在 0.2ml 处。将沉淀物混匀后，取 1 滴（约 15~20 μ l）沉淀物充入标准化尿沉渣定量计数板（如 FAST-READ10 尿液标准化沉渣定量计数板）。先用低倍镜观察，再用高倍镜计数，计数 1 μ l 尿液内的管型和细胞数（ $\times\times$ 个/ μ l），而结晶、细菌、寄生虫虫卵等以“-”、“+”、“++”、“+++”表示。

FAST-READ10 尿液标准化沉渣定量计数板是由经过高温、高压处理，清晰度极高的光学硬质塑料制成（图 5-1）。尿液标准化沉渣定量计数板分为 10 个彼此独立封闭的计数室，可检测 10 个标本。每个计数室一侧有 1 个竖条长方形计数区（大方格），内含 10 个中方格，每个中方格面积为 1mm²，深 0.1mm，容积为 0.1 μ l。为便于观察和计数，每个中方格内又分为 9 个小方格。因此，每个计数室（大方格）的容积为 1.0 μ l。

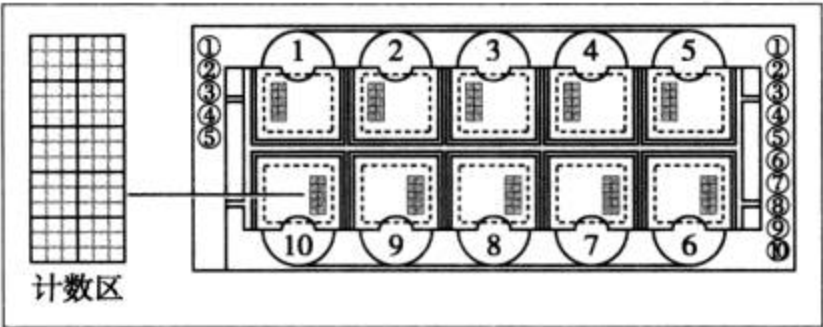


图 5-1 FAST-READ10 尿液标准化沉渣定量计数板

2. 离心尿液直接涂片法 取混匀尿液 10ml 于刻度离心管中，RCF $400\times g$ 离心 5 分钟，弃上清液留沉淀物 0.2ml，混匀后取约 20 μ l 沉淀物于载玻片上，用 18mm \times 18mm 盖玻片覆盖后显微镜检查。先用低倍镜（10 \times 10）观察全片，再用高倍镜（10 \times 40）仔细观察。细胞检查 10 个高倍视野，管型检查 20 个低倍视野。结果报告与未离心未染色直接涂片法相同，但应注明“离心尿液直接涂片显微镜检查法”。

【方法学评价】 离心未染色显微镜检查法的方法学评价见表 5-30。

表 5-30 离心未染色显微镜检查法的方法学评价

方法	评价
标准化定量计数板法	①标准化沉渣定量计数板是定量计数规范化、标准化的器材，符合 CLSI 和 CCCLS 的要求 ②耗时，但阳性率高 ③目前推荐的尿液有形成分定量检查方法
离心尿液直接涂片法	①阳性检出率高，重复性好，适用于外观清晰、有形成分较少的尿液标本 ②操作繁琐、费时，可能破坏有形成分。难以标准化和准确定量，仅能半定量。已逐渐被标准化沉渣定量计数板检查法取代 ③离心法是尿液有形成分检查标准化的基础，应尽量采用离心法

【报告方式】

(1) 定性或半定量法

细胞：最低~最高个数 / 高倍视野（HP）或平均值 /HP。

管型：最低～最高个数 / 低倍视野 (LP) 或平均值 /LP。
结晶、细菌、真菌、原虫、寄生虫虫卵：报告方式见表 5-31。

表 5-31 尿液结晶、细菌、真菌、寄生虫虫卵报告方式

成分	—	±	+	++	+++
结晶	0	散在于数个视野	1~4 个 /HP	5~9 个 /HP	10 个 /HP
细菌、真菌	0	散在于数个视野	各视野均可见	量多或呈团状聚集	无数
原虫、寄生虫卵	0	散在于数个视野	1 个 / 全片~4 个 /HP	5~9 个 /HP	10 个 /HP

(2) 定量计数板法：报告尿液中细胞和管型数 / μl ，尿液结晶、细菌、真菌、寄生虫虫卵等以半定量的形式报告。

【参考区间】 尿液有形成分检查的参考区间见表 5-32。

表 5-32 尿液主要有形成分检查的参考区间

方法	红细胞	白细胞	透明管型	上皮细胞	细菌 / 真菌
未离心直接涂片法	0~偶见 /HP	0~3 个 /HP	0~偶见 /LP	少见	—
离心直接涂片法	0~3 个 /HP	0~5 个 /HP	0~偶见 /LP	少见	—
FAST READ10 尿沉渣计数板 (个 / μl)	男: 0~4 女: 0~9	男: 0~5 女: 0~12	—	—	—

(三) 离心染色显微镜检查法

检查尿液有形成分一般不需要染色，但为了鉴别病理性有形成分和提高白细胞、闪光细胞、上皮细胞、管型、结晶、细菌和真菌的对比度，有助于识别细胞、管型，尤其防止漏检透明管型，可在染色后进行显微镜检查。尿液有形成分染色方法有 Sternheimer-Malbin (S-M) 染色法、Sternheimer (S) 染色法、Wright-Giemsa 染色法、Papanicolaou 染色法、苏丹Ⅲ染色法和免疫化学染色法等。

【检测原理】

1. Sternheimer-Malbin (S-M) 染色法 S-M 染液的主要染料有结晶紫和沙黄。由于尿沉渣中的各类细胞、管型等成分的化学性质不同，导致其对染料的物理吸附与化学亲和程度不同，经染色后呈现特定的颜色，且形态清晰、易于识别。Sternheimer-Malbin (S-M) 染色法对尿液有形成分的染色结果判断见表 5-33。

表 5-33 Sternheimer-Malbin (S-M) 染色法对尿液有形成分染色结果判断

分类	有形成分	染色结果
细胞	红细胞	淡紫色
	多形核白细胞	胞核呈橙红色，胞质内可见颗粒
	闪光细胞	胞核呈淡蓝色或蓝色，胞质内颗粒呈苍白色或淡蓝色
	上皮细胞	胞核呈紫色，胞质呈淡紫色~粉红色
管型	透明管型	粉红色或淡紫色
	颗粒管型	淡红色~蓝色
	细胞管型	深紫色
	脂肪管型	不着色

2. Sternheimer(S) 染色法 Sternheimer(S) 染液的主要染料是阿利新蓝(alcian blue)和派若宁(pyronin)。经染色后,细胞核及管型基质可被阿利新蓝染成蓝色,胞质及核糖核酸(RNA)可被派洛宁染成红色,在红与蓝的明显反差下,易于对比观察,细胞成分更清楚,特别是病理成分更容易辨认。Sternheimer(S) 染色法对尿液有形成分的染色结果判断见表 5-34。

表 5-34 Sternheimer(S) 染色法对尿液有形成分的染色结果判断

分类	有形成分	染色结果
细胞	红细胞	红色或无色
	多形核白细胞	深蓝色、淡蓝色或无色
	鳞状上皮细胞	淡粉红色或紫红色
	移行上皮细胞、肾小管上皮细胞	紫红色
	颗粒管型	淡粉红色或深紫色
管型	细胞管型	淡蓝色或深蓝色

【方法学评价】 尿液有形成分的染色方法以 Sternheimer-Malbin(S-M) 染色法、Sternheimer(S) 染色法最常用。另外,还有其他特殊染色方法,不同染色方法学评价见表 5-35。常用尿液有形成分显微镜检查方法及评价见表 5-36。

表 5-35 尿液有形成分各种染色方法及评价

方法	评价
S-M 染色法	常用方法。能辨别管型(尤其是透明管型)及红细胞、白细胞、上皮细胞等
Sternheimer(S) 染色法	常用方法。能弥补 S-M 染色法染料容易沉淀而出现染色偏深的缺陷
wright-Giemsa 染色法	有利于鉴别中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞
Papanicolaou 染色法	可观察有形成分的细微结构,易于识别肾上皮细胞、异常上皮细胞等,对肿瘤细胞和肾移植排异反应诊断具有临床意义
苏丹Ⅲ染色法	对脂肪管型、卵圆形脂肪体染色效果好
过氧化物酶染色法	可鉴别不典型的红细胞与白细胞,并可区别中性粒细胞管型及肾上皮细胞管型
阿利新蓝、中性红等混合染色法	根据染色后红细胞形态,分辨新鲜红细胞、小红细胞、影形红细胞、皱缩红细胞等,区分上皮细胞和管型的种类
荧光抗体、酶免疫抗体染色法	用于肾活检和鉴定管型内沉积的免疫球蛋白,特异性好、准确性高

表 5-36 常用尿液有形成分显微镜检查方法及评价

方法	优点	缺点	应用
未离心直接涂片法	简便,不影响有形成分形态	易漏检	适合于有形成分较多的尿液标本
离心直接涂片法	阳性率高	操作繁琐不易规范,报告不统一,离心可破坏有形成分形态,使检查困难或漏检	适于有形成分较少的尿液标本,多用于试带法检查后结果的确证,但需要标准化
离心染色法	阳性率更高,便于识别有形成分	操作繁琐,一种染色难以有效识别所有有形成分	主要用于鉴别尿液有形成分,防止漏检
标准化定量计数板法	操作及报告标准化	成本较高,操作繁琐	推荐的标准化方法

(四) 1 小时尿液有形成分排泄率

1 小时尿液有形成分排泄率又称 1 小时尿液有形成分计数,是计数 3 小时内尿液细胞、管型的数量,再换算为 1 小时的排出量。因采集计时尿液定量计数,能更准确地反映泌尿系统的状况,故对肾脏疾病的诊断可提供较为可靠的依据。

【检测原理】 在患者不受限制的条件下,准确采集 3 小时内的全部尿液。混匀尿液离心后,取混匀尿沉渣充入牛鲍血细胞计数板内。计数 10 个大方格的细胞、计数 20 个大方格的管型,然后换算成 1 小时尿液中细胞和管型的数量。

$$\begin{aligned} \text{细胞数/1h} &= 10 \text{ 个大格细胞总数} \times \frac{1000}{10} \times \frac{3\text{h 尿量 (ml)}}{3} \\ \text{管型数/1h} &= \frac{20 \text{ 个大方格管型总数}}{2} \times \frac{1000}{10} \times \frac{3\text{h 尿量 (ml)}}{3} \end{aligned}$$

式中,1000 为 μl 换算成 ml ,10 为尿液浓缩的倍数

【方法学评价】 本方法采集尿液时间短,不需限制饮食(但不能大量饮水),标本中也不必加防腐剂,对有形成分影响小,适用于门诊及住院患者连续检查。如有尿酸盐结晶析出,可将尿液标本置于 37°C 下温育使结晶溶解。有磷酸盐结晶析出时,可加 1% 的乙酸 1~2 滴,调节尿液 pH 为 5,使磷酸盐结晶消失。但加酸不能过多,以免破坏红细胞及管型。

【参考区间】 红细胞:男性 $<3 \times 10^4/\text{h}$,女性 $<4 \times 10^4/\text{h}$ 。白细胞:男性 $<7 \times 10^4/\text{h}$,女性 $<14 \times 10^4/\text{h}$ 。管型: <3400 个/h。

【临床意义】 红细胞增多常见于急性肾炎等,白细胞增多常见于肾盂肾炎等。

(五) 尿液颗粒计数参考方法

尿液有形成分分析又称为颗粒分析 (particle analysis)。目前,已实现了自动化颗粒分析。为了提高自动化仪器检测颗粒结果的准确性和提供校准品靶值,2003 年 ISLH 参考美国、日本和欧洲尿液分析指南和标准,提出了尿颗粒计数的参考方法,用于尿液红细胞、白细胞、透明管型和鳞状上皮细胞的计数。

【检测原理】 将新鲜尿液混匀后充入 Fuchs-Rosenthal 血细胞计数板内(图 5-2),然后用高倍镜(10×40)计数颗粒数量,大型颗粒如管型和鳞状上皮细胞等可在低倍镜下观察并计数,以“个/ μl ”形式报告。为了提高检测的准确性,推荐使用相差显微镜和 Sternheimer 活体染色法。

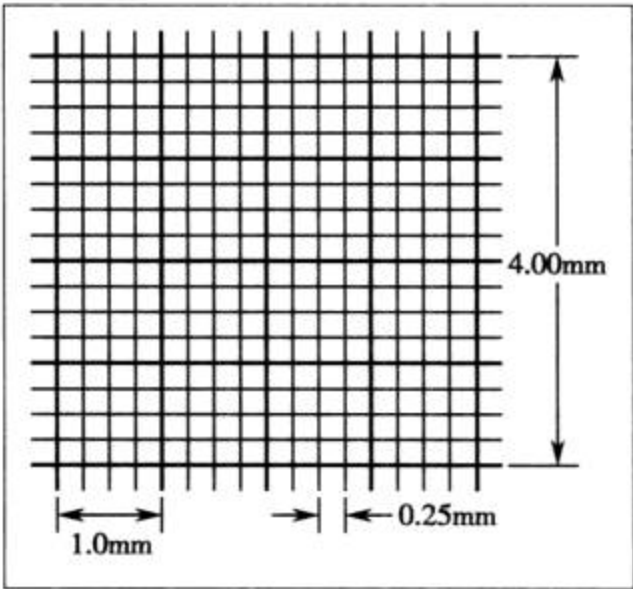


图 5-2 Fuchs-Rosenthal 血细胞计数板

Fuchs-Rosenthal 血细胞计数板：①每侧计数室分 16 大格。②每个大格体积为 1mm(长)×1mm(宽)×0.2mm(高)=0.2μl。③每块计数板有 2 个计数室，总体积为 0.2μl×2×16=6.4μl。

【方法学评价】 该方法是自动化尿液颗粒计数的参考方法，采用不离心的新鲜尿液。为了达到颗粒计数的统计学精度，管型和鳞状上皮细胞至少计数 50 个，白细胞、红细胞至少计数 200 个，以验证自动化检测结果的准确度，并提供仪器校准靶值，可用于评价尿液颗粒分析的自动化仪器。

二、尿液细胞形态特征及临床意义

(一) 红细胞

未染色的正常红细胞为双凹圆盘形，淡黄色，直径约 7~8μm。尿液红细胞形态变化受渗透压、pH 及在体外放置的时间等因素的影响。①高渗尿液：红细胞皱缩，体积变小，似锯齿形、棘形或桑椹状。②低渗尿液：红细胞胀大，血红蛋白溢出，仅留下细胞膜，成为大小不等的空环形或面包圈样，称为影形红细胞(ghost cell)、环形红细胞或红细胞淡影(blood shadow)。③酸性尿液：红细胞膜脂质内层面积增加，体积变小。④碱性尿液：红细胞膜脂质外层面积增加，细胞肿胀，边缘不规则，容易溶解破裂。尿液异常形态红细胞见表 5-37。

表 5-37 尿液异常形态红细胞

异常形态	特点
大红细胞	红细胞直径>10μm
小红细胞	红细胞直径<6μm，且常大小不等
棘红细胞	胞质常向一侧或多侧伸出，胞膜突起，如生芽样
锯齿形红细胞	因高渗而皱缩，红细胞表面突起数量多、排列整齐、长短大小相似，需要与棘红细胞区别
影形红细胞	因血红蛋白从细胞内流失或胞质凝聚于细胞膜周围，形似面包形的空心环
半月形红细胞	红细胞形状如半月形
颗粒形红细胞	胞质内有颗粒状的沉积，血红蛋白丢失
红细胞碎片	红细胞破碎、不完整

新鲜尿液中红细胞形态对于鉴别肾小球源性血尿和非肾小球源性血尿有重要价值。检查时不仅要注意红细胞数量，还必须注意其形态的改变。如尿液外观未见红色，离心尿液镜下红细胞>3 个/HP，称为镜下血尿(microscopic hematuria)。可利用相差显微镜、扫描电镜和普通光学显微镜，经细胞活体染色后观察尿液中红细胞，可将血尿(hematuria)分为三种类型。

1. 均一性红细胞血尿 均一性红细胞血尿(isomorphic erythrocyte hematuria)多为非肾小球性血尿，大部分红细胞(>70%)为正常红细胞或单一形态红细胞。红细胞外形及大小正常，呈双凹圆盘形，细胞膜完整(图 5-3)。偶见影形红细胞或棘形红细胞，但异常形态种类不超过 2 种。

均一性红细胞血尿主要见于肾小球以下部位和泌尿道毛细血管破裂的出血，红细胞未受肾小球基底膜挤压，故形态正常。来自肾小管的红细胞虽受 pH 及渗透压变化的作用，但因时间短暂，变化轻微，故也呈均一性红细胞血尿。

2. 非均一性红细胞血尿 非均一性红细胞血尿(dysmorphic erythrocyte hematuria)多

为肾小球性血尿(图 5-4),即变形红细胞性血尿(metamorphotic erythrocyte hematuria)。尿液中畸形红细胞(> 70%)的类型在 2 种以上。表现为红细胞大小改变、形态异常和红细胞内血红蛋白分布及含量变化。红细胞体积可相差 3~4 倍,可见大红细胞、小红细胞、棘形红细胞、皱缩锯齿形红细胞、影形红细胞、半月形红细胞、颗粒形红细胞等,其血红蛋白含量不一。



图 5-3 均一性血尿红细胞(未染色)

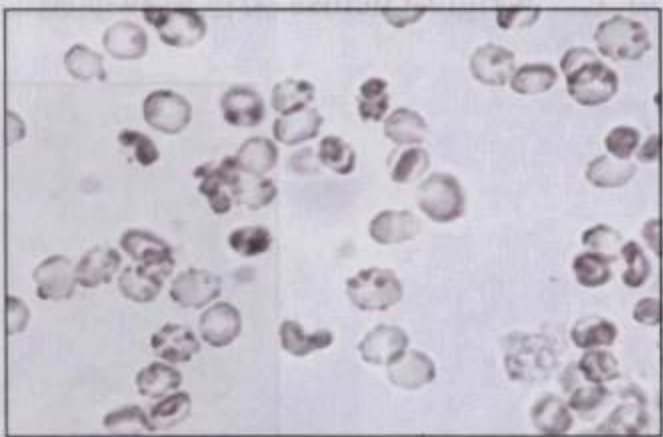


图 5-4 非均一性血尿红细胞(未染色)

引起非均一性红细胞血尿的因素有:①肾小球基底膜病理性改变对红细胞的挤压损伤。②各段肾小管内不断变化的 pH、渗透压、介质张力、代谢产物(如脂肪酸、溶血磷脂酰胆碱、胆酸等)对红细胞的作用。

3. 混合性血尿 尿液中出现均一性和非均一性两种红细胞时称为混合性血尿(mixture hematuria),依据某类红细胞超过 50%,又可分为均一性和非均一性红细胞为主型血尿。

【参考区间】 尿液细胞检查的参考区间见表 5-32。

【临床意义】

1. 不同类型血尿的临床意义

(1) 均一性红细胞血尿:以红细胞增多为主,而尿蛋白不增多或增多不明显。见于:①暂时性镜下血尿:见于健康人,尤其是在青少年剧烈运动、急行军、冷水浴、站立时间过长或重体力劳动后。女性患者还应注意月经血的污染,应通过动态观察加以区别。②泌尿系统疾病:如泌尿系统炎症、肿瘤、结核、结石、创伤、肾移植排异反应、先天性畸形等。血尿有时是泌尿系统恶性肿瘤的唯一临床表现。③生殖系统疾病:如前列腺炎、精囊炎等。④其他:各种原因引起的出血性疾病等。

(2) 非均一性红细胞血尿:常伴有尿蛋白增多和颗粒管型、红细胞管型、肾小管上皮细胞等。见于急性或慢性肾小球肾炎、慢性肾盂肾炎、红斑狼疮性肾炎、肾病综合征等。

(3) 混合性血尿:提示出血可能不是起源于一个部位,有肾小球性,也可伴有非肾小球性。引起混合性血尿的疾病不多,IgA 肾病居首位。

2. 血尿来源鉴别 通过观察和分析尿液中红细胞形态特征,可以帮助鉴别血尿的来源(表 5-38)。

表 5-38 异常红细胞形态鉴别血尿来源

红细胞形态	肾小球性血尿	非肾小球性血尿
多形性(%)	≥80	<50
棘形红细胞(带 1 个或多个突起)(%)	≥5	<5

(二) 白细胞

健康成人尿液中的白细胞主要为中性粒细胞,也可出现淋巴细胞、单核细胞及嗜酸性粒细胞。

尿液中性粒细胞呈圆球形,直径 $10\sim 14\mu\text{m}$,较红细胞大,不染色时细胞核较模糊,胞质内颗粒清晰可见,无明显退变,常分散存在,外形完整(图 5-5)。加入 1% 乙酸处理后,胞核清晰可见。Wright-Giemsa 染色后粒细胞的胞核呈紫红色,胞质中可见紫色颗粒。



图 5-5 尿液中白细胞(未染色)

脓细胞(pus cell)是在炎症过程中被破坏、变性或坏死的中性粒细胞。其外形多变,不规则,胞质内充满颗粒,胞核模糊不清,常聚集成团,边界不清。脓细胞与白细胞并无本质上的区别,两者常相伴增多,而其数量多少更为重要。尿液白细胞 >5 个/HP,称镜下脓尿(microscopic pyuria)。尿液中含大量白细胞,呈乳白色,甚至出现块状,称为肉眼脓尿(macroscopic pyuria)。

在不同的渗透压和 pH 条件下,白细胞的形态可发生改变。

1. 低渗尿液及碱性尿液 在低渗尿液及碱性尿液中,白细胞胞体常肿大,直径可达 $18\mu\text{m}$ 左右,约半数可在 2 小时内溶解,细胞核着色较淡。

低渗尿液中,中性粒细胞胞质内颗粒呈布朗运动,在油镜下可见灰蓝色发光现象(由于光的折射),运动似星状闪光,故称为闪光细胞(glitter cell),多见于急性肾盂肾炎。

2. 高渗尿液及酸性尿液 在高渗尿液及酸性尿液中,白细胞常皱缩,直径多为 $8\sim 10\mu\text{m}$ 。

【参考区间】 尿液细胞检查的参考区间见表 5-32。

【临床意义】

1. 中性粒细胞大量增多 常见于泌尿系统炎症,如肾盂肾炎、膀胱炎、前列腺炎、精囊炎、尿道炎、肾结核等,也可见于肾肿瘤。“闪光细胞”常见于肾盂肾炎、膀胱炎。中性粒细胞增多也见于尿液被女性生殖系统炎症分泌物污染。

2. 淋巴细胞和单核细胞增多 见于肾移植后排斥反应、新月体性肾小球肾炎,应用抗生素及抗癌药物等。尿液中淋巴细胞增多,还可见于病毒感染。急性肾小管坏死时单核细胞也可减少或消失。

3. 嗜酸性粒细胞增多 见于间质性肾炎、变态反应性泌尿系统炎症。

(三) 吞噬细胞

吞噬细胞(phagocyte)可分为小吞噬细胞和大吞噬细胞。前者来自中性粒细胞,多吞噬细菌等微小物体。后者来自单核细胞称为巨噬细胞(macrophage)。巨噬细胞体积约为白细

胞的2~3倍,一般为圆形或椭圆形,边缘不整;胞核呈肾形或类圆形,结构细致,稍偏位;胞质丰富,胞质中吞噬的物体很多,如红细胞、白细胞碎片、脂肪滴、精子、颗粒状物体以及其他不易识别的多种成分(图5-6,图5-7)。有时胞质还可见空泡及伸出阿米巴样伪足,新鲜尿液中还可见到伪足的活动。



图5-6 尿液中巨噬细胞(未染色)

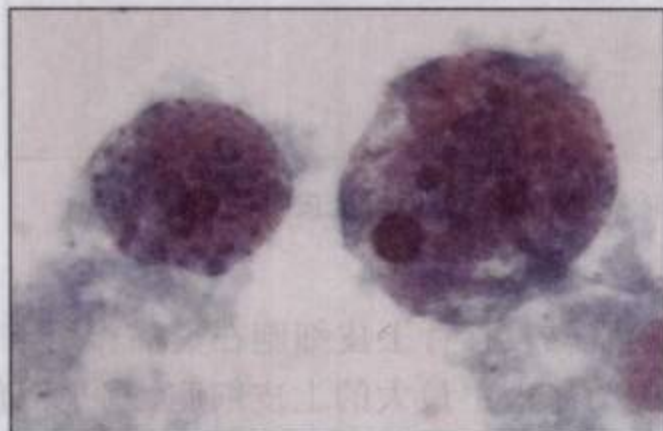


图5-7 尿液中巨噬细胞(Sternheimer染色)

【参考区间】 无吞噬细胞。

【临床意义】 尿液吞噬细胞可见于泌尿系统急性炎症,如急性肾盂肾炎、膀胱炎、尿道炎等,且常伴白细胞增多,并伴有脓细胞和细菌。尿液吞噬细胞数量常与炎症程度有密切关系。

(四) 上皮细胞

尿液上皮细胞来源于肾小管、肾盂、肾盏、输尿管、膀胱和尿道等。可按组织学和形态学进行分类,对泌尿系统病变的定位诊断有重要的意义。

1. 肾小管上皮细胞 肾小管上皮细胞(renal tubular epithelium)来自肾小管,其形态与白细胞相似,但较中性粒细胞大1.5倍,一般不超过 $15\mu\text{m}$,有1个较大的圆形细胞核,核膜厚,胞质中有小空泡、颗粒或脂肪小滴,颗粒分布不规则,多少不定,有时较多,甚至看不清细胞核。肾小管上皮细胞在尿液中易变形,呈不规则钝角,常为多边形,故又称多边细胞(图5-8)或小圆上皮细胞。

2. 移行上皮细胞 移行上皮细胞(transitional epithelium)来自肾盂、输尿管、膀胱等处,尿液中单独出现少量移行上皮细胞并无明显的临床意义。

(1) 表层移行上皮细胞:因胞体较大又称大圆上皮细胞,其体积、形态可随着器官的充盈和收缩状态而变化。器官充盈时,脱落细胞体积约为白细胞的4~5倍,多呈不规则圆形,胞核较小,常居中。器官收缩时,则胞体较小,约为白细胞的2~3倍,形态较圆(图5-9)。健康人尿液中偶见,膀胱炎时可大量成片脱落。

(2) 中层移行上皮细胞:体积大小不一,常呈梨形、纺锤形或带尾形,胞核较大,呈圆形或椭圆形(图5-10),又称尾形上皮细胞(tailed epithelial cell)或纺锤状上皮细胞。因多来自肾盂,故又称为肾盂上皮细胞。有时亦可来自输尿管及膀胱颈部。肾盂、输尿管和膀胱颈部有炎症时可成片出现尾形上皮细胞。

(3) 底层移行上皮细胞:形态较圆,与肾小管上皮细胞统称为小圆上皮细胞。但两者有差别,底层移行上皮细胞体积较大,而胞核较小。肾小管上皮细胞体积较小,而胞核较大。

3. 鳞状上皮细胞 鳞状上皮细胞(squamous epithelial cell)来自尿道外口和阴道的表

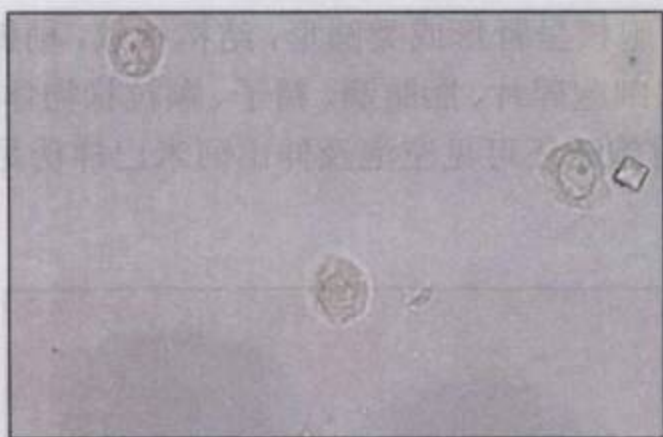


图 5-8 肾小管上皮细胞(未染色)



图 5-9 表层移行上皮细胞

层。膀胱黏膜移行上皮细胞在炎症作用下,易化生为鳞状上皮,并脱落于尿液中。鳞状上皮细胞为尿液中最大的上皮细胞,扁平似鱼鳞状、不规则,多边多角,边缘常卷曲,胞核很小,呈圆形或卵圆形,有时可有2个以上小核,完全角化者核更小,甚至看不见(图5-11)。这种细胞薄而扁平,又称扁平上皮细胞(pavement epithelial cell)。



图 5-10 中层移行上皮细胞

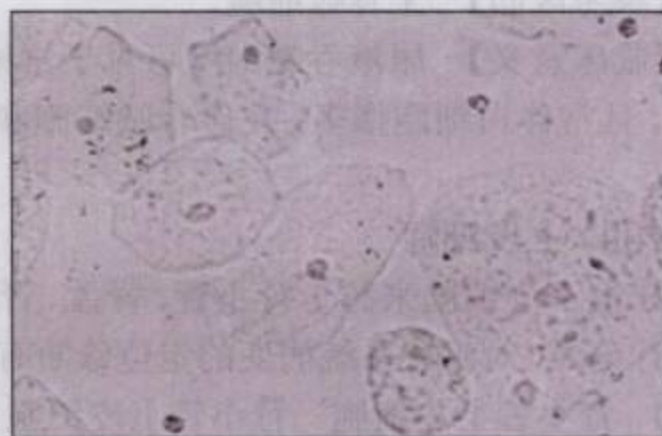


图 5-11 鳞状上皮细胞(未染色)

【参考区间】 无肾小管上皮细胞。移行上皮细胞偶见。鳞状上皮细胞:男性偶见/HP,女性0~5个/HP。

【临床意义】

1. 肾小管上皮细胞 尿液中出现肾小管上皮细胞多见于肾小管病变。成堆出现提示肾小管有急性坏死性病变。肾移植术后大约1周,尿液内出现较多的肾小管上皮细胞,随后逐渐减少至恢复正常。当发生排斥反应时尿液中可再度大量出现肾小管上皮细胞,并可见上皮细胞管型。

(1) 脂肪颗粒细胞:慢性肾炎、肾梗死时,肾小管上皮细胞可发生脂肪变性,胞质内有较多的脂肪颗粒,称脂肪颗粒细胞(fatty granular cell)。

(2) 含铁血黄素颗粒:含铁血黄素颗粒是一种不稳定的铁蛋白聚合体,含铁质的棕色色素。血管内溶血产生过多的游离血红蛋白由肾脏排出,产生血红蛋白尿,其中一部分被肾小管上皮细胞重吸收并降解,生成含铁血黄素颗粒,普鲁士蓝(Prussian blue)反应染色为蓝色颗粒(即Rouse试验阳性)。含铁血黄素颗粒(图5-12)若超过肾小管上皮细胞转运能力,在上皮细胞内沉积,细胞脱落随尿排出,形成含铁血黄素尿,提示血管内溶血所致的血红蛋白尿、肾慢性出血、肾梗死等。如肾小管上皮细胞内脂肪颗粒或含铁血黄素颗粒较多,甚至

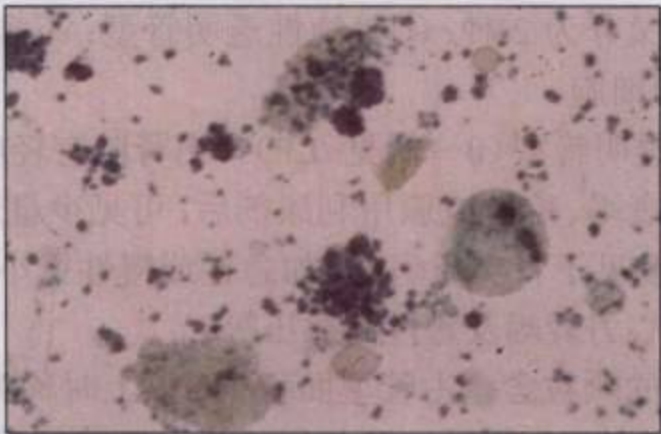


图 5-12 含铁血黄素颗粒(肾小管上皮细胞也有蓝色颗粒)

覆盖于核上, 又称复粒细胞 (compound granular cell)。

2. 移行上皮细胞 移行上皮细胞增多提示相应部位的病变, 如膀胱炎时可见大量大圆形上皮细胞。肾盂肾炎时可见大量尾形上皮细胞。

3. 鳞状上皮细胞 健康人尿液中可见少量鳞状上皮细胞, 如大量增多并伴有白细胞增多, 则提示有泌尿系统炎症。女性常见阴道分泌物来源的阴道鳞状上皮细胞, 一般无临床意义。

三、尿液管型形态特征及临床意义

(一) 管型形成条件

管型 (cast) 是蛋白质、细胞及其崩解产物在肾小管、集合管内凝固而成的圆柱形蛋白凝聚体。

管型形成应具备 3 个条件: ①原尿中有白蛋白、Tamm-Horsfall 蛋白 (T-H 蛋白): 这是构成管型的基质和首要条件, 其中 T-H 蛋白最易形成管型的核心。②肾小管有浓缩和酸化尿液的能力: 浓缩可使形成管型的蛋白质及盐类浓度增高, 而酸化则促进蛋白质进一步变性凝聚、沉淀。③肾脏具有可供交替使用的肾单位: 有利于管型的形成与排泄, 即发生病变处于“休息”状态肾单位的尿液淤滞, 有足够的时间形成管型, 当该肾单位得到修复, 恢复功能重新排尿时, 已形成的管型可随尿液排出。

(二) 管型的种类和临床意义

1. 透明管型 透明管型 (hyaline cast) 又称玻璃管型, 主要由 T-H 蛋白构成, 也含有白蛋白及氯化钠, 呈无色透明状, 在碱性尿液中可溶解消失。透明管型呈规则的圆柱体, 通常两边平行, 两端钝圆 (一端可稍尖细呈尾形), 质地菲薄, 大小长短不一 (图 5-13)。根据透明

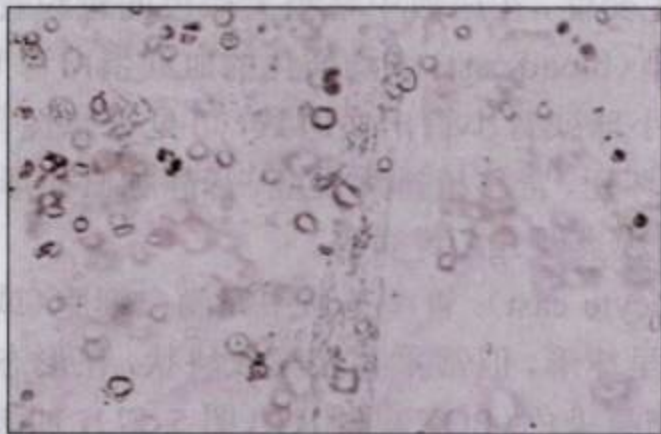


图 5-13 透明管型(未染色)

管型是否含有细胞和颗粒又分为 2 种：①单纯性透明管型：不含颗粒和细胞。②复合性透明管型：含有少量颗粒和细胞。

健康成人尿液中偶见透明管型(0~偶见/LP)。当肾脏有轻度或暂时性功能改变时，如剧烈运动、长期发热、心力衰竭、麻醉或服用利尿剂后，可见少量透明管型，老年人尿液中也见增多。透明管型明显增多见于肾实质病变，如急性或慢性肾小球肾炎、肾病综合征、急性肾盂肾炎、肾瘀血、充血性心力衰竭及恶性高血压等。

2. 颗粒管型 管型中的颗粒含量占管型面积 1/3 以上时称为颗粒管型(granular cast)。颗粒来自崩解变性的细胞残渣、血浆蛋白及其他物质。颗粒管型外形常较透明管型短而宽大，容易折裂，可有不规则的断端，呈无色、淡黄褐色或棕黑色，其颗粒轮廓清晰。按颗粒的粗细又分为粗颗粒管型和细颗粒管型 2 种(图 5-14, 图 5-15)，前者充满粗大颗粒，常呈暗褐色，后者含许多微细颗粒，不透明，呈灰色或微黄色。

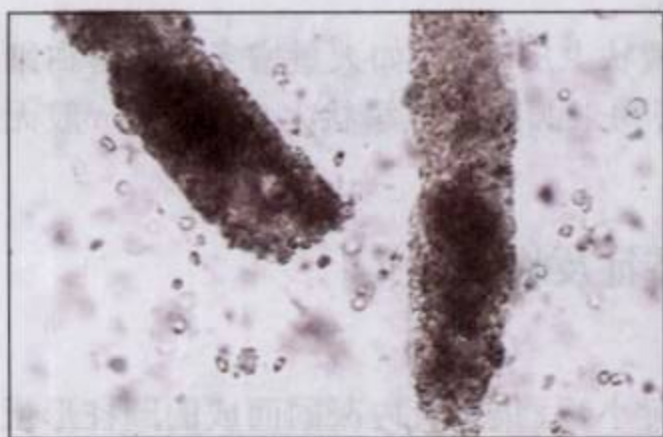


图 5-14 粗颗粒管型(未染色)

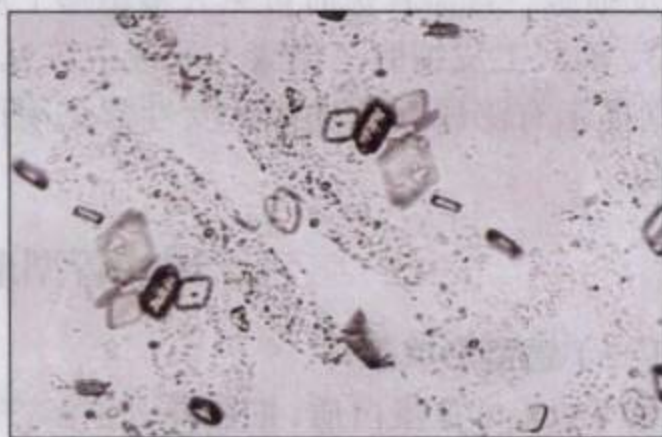


图 5-15 细颗粒管型(未染色)

健康人尿液中一般无颗粒管型，在激烈运动后、脱水和发热时尿液可偶见细颗粒管型。颗粒管型的增多提示肾脏有实质性病变，如急性或慢性肾小球肾炎、肾病综合征、肾小管硬化症、慢性肾盂肾炎等。在急性肾衰竭的多尿早期尿液中可有大量颗粒管型。慢性肾炎晚期出现颗粒管型时提示预后不良。颗粒管型与透明管型常同时出现，多见于急性或慢性肾小球肾炎、肾病综合征、肾小管硬化症、慢性肾盂肾炎、严重感染及肾动脉硬化。

3. 细胞管型 管型基质中含有细胞且其含量占管型面积的 1/3 以上时称为细胞管型(cellular cast)。根据细胞种类不同，细胞管型可分为红细胞管型、白细胞管型和上皮细胞管型。

(1) 红细胞管型(erythrocyte cast)：管型基质中嵌入形态完整的红细胞(图 5-16)。当肾梗死时，红细胞管型可发生变性，在尿液中呈粗大棕色的颗粒管型。也会因红细胞溶解破坏而形成红褐色的血液管型(blood cast)或均质化的血红蛋白管型(hemoglobin cast)。

红细胞管型是由于肾小球或肾小管出血所致，可见于急性肾小球肾炎、慢性肾炎急性发作、肾出血、急性肾小管坏死、肾移植排斥反应、肾静脉血栓形成、恶性高血压等，亦可见于狼疮性肾炎、亚急性心内膜炎及 IgA 肾病等。

(2) 白细胞管型(leukocyte cast)：管型基质中充满白细胞(或脓细胞)，且多为退化变性或坏死白细胞。白细胞虽呈球形，但常重叠聚集成块状，在形态上与上皮细胞管型不易区分，但白细胞管型过氧化物酶染色(POX)呈阳性(图 5-17)，加酸后中性粒细胞的核分叶情况更清楚。



图 5-16 红细胞管型(未染色)

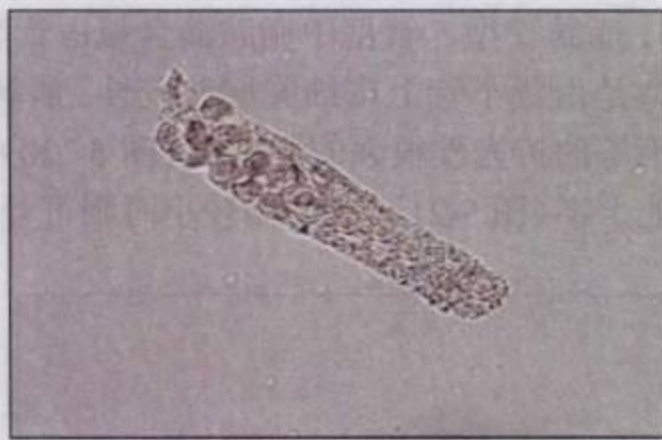


图 5-17 白细胞管型

白细胞管型常提示肾实质有感染性病变,如急性肾盂肾炎、肾脓肿、间质性肾炎、急性肾小球肾炎等,也可见于肾病综合征、红斑狼疮性肾炎。白细胞管型中一般是中性粒细胞,但在肾移植排斥反应时可见淋巴细胞。

(3) 肾上皮细胞管型(renal epithelial cast): 又称上皮细胞管型,管型内含肾小管上皮细胞,典型的细胞呈瓦片状排列、大小不等、胞核模糊,可充满管型(图 5-18)。

健康人尿液中不会出现上皮细胞管型,此管型提示肾小管病变、肾小管上皮细胞变性脱落。常见于急性肾小管坏死、急性肾炎、肾淀粉样变性、间质性肾炎及重金属或药物中毒等。肾移植后 3 天内尿液出现肾上皮细胞管型,为排异反应的指标之一。

(4) 混合细胞管型: 管型基质中同时存在两种以上细胞的管型称混合细胞管型。主要见于活动性肾小球肾炎、缺血性肾小球坏死、肾梗死及肾病综合征等。

4. 蜡样管型 蜡样管型(waxy cast)是由细颗粒管型衍化而来,或因淀粉样变性的上皮细胞溶解后逐渐形成的管型,也可能是透明管型在肾小管内停留时间较长演变而成的。其外形似透明管型,为浅灰色或淡黄色,折光性强、质地厚、易折断、有切迹或泡沫状,较短而粗,一般略有弯曲,末端常不整齐(图 5-19)。在低渗溶液、水和不同的 pH 介质内均不溶解,免疫荧光染色检查无 T-H 蛋白。

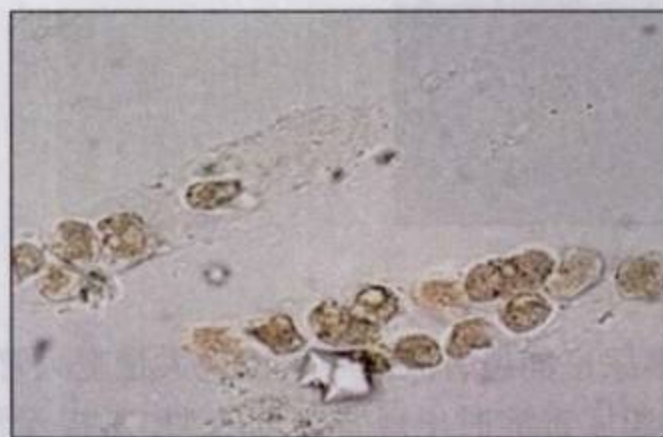


图 5-18 肾上皮细胞管型



图 5-19 蜡样管型(未染色)

健康人尿液中无蜡样管型,蜡样管型提示肾小管有严重病变,预后差,可见于慢性肾小球肾炎晚期、尿毒症、肾病综合征、肾功能不全、肾淀粉样变性。亦可见于肾小管炎症和变性、肾移植排异反应、重症肝病。糖尿病性肾病和肾病综合征患者的肾小管上皮细胞糖原发生变性,引起脱糖原、脱脂肪,可见到泡沫形蜡样管型。

5. 脂肪管型 管型中脂肪滴含量占管型面积的 1/3 以上时称脂肪管型(fatty cast)。脂肪管型是由肾小管上皮细胞脂肪变性、崩解,大量脂肪滴进入管型内而形成。管型内可见大小不等的折光性很强的脂肪滴(图 5-20),当脂肪滴较大时,用偏振荧光显微镜检查可见马耳他十字(图 5-21);脂肪滴较小时则可互相重叠,用苏丹Ⅲ染色呈橙红色或红色。



图 5-20 脂肪管型(未染色)

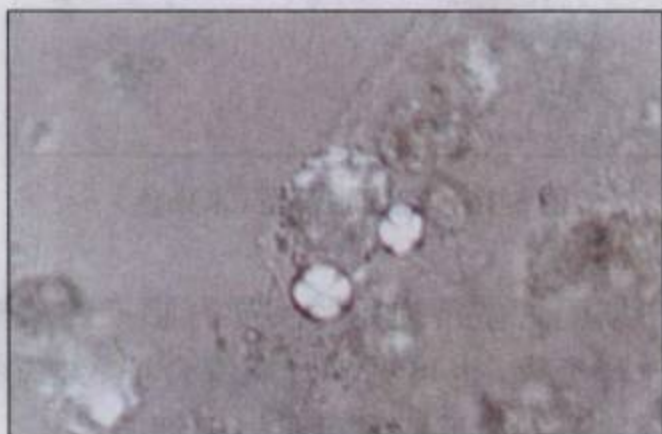


图 5-21 马耳他十字

健康人尿液中无脂肪管型。脂肪管型提示肾小管损伤、肾小管上皮细胞发生脂肪变性,可见于亚急性肾小球肾炎、慢性肾小球肾炎、中毒性肾病等,尤其见于肾病综合征。

6. 肾衰竭管型 肾衰竭管型(renal failure casts)也称为宽大管型(broad cast),来自破损扩张的肾小管、集合管或乳头管,多数由颗粒管型和蜡样管型演变而来,其宽度可达 50 μ m 以上,是一般管型的 2~6 倍,形态不规则,易折断,有时呈扭曲状(图 5-22)。根据横径大小,将管型分为狭窄型(1~2 个红细胞直径)、中等宽度型(3~4 个红细胞直径)和宽大型(5 个红细胞以上直径)。

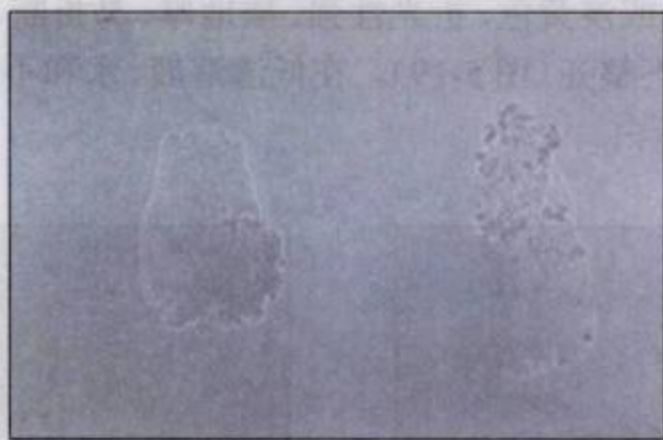


图 5-22 肾衰竭管型

肾衰竭管型提示肾脏病变严重,急性肾衰竭多尿早期患者尿液中可出现大量宽大管型,随着肾功能改善而逐渐减少、消失。慢性肾炎晚期尿毒症时出现肾衰竭管型,常提示预后不良。在异型输血后溶血反应导致的急性肾衰竭,其尿液中可见褐色宽大的血红蛋白管型。肾挤压伤或大面积烧伤后的急性肾衰竭,其尿液中可见带色素的肌红蛋白管型。

7. 其他管型和类管型物质 在某些病理情况下,尿液中还可出现一些少见管型和一些类管型物质:①细菌管型(bacterial cast):管型中充满细菌,表示肾实质受细菌感染,常见于肾脏化脓性感染。②胆红素管型(bilirubinic cast):管型中充满金黄色的非晶形胆红素颗粒称胆红素管型,见于重症黄疸。③黏液丝(mucous strands):多为长线条状,不规则,粗细不

等,边缘不清晰,末端尖细卷曲,分支。可见于健康人尿液中,尤其女性多见,大量出现表示尿道受刺激或有炎症反应。④类圆柱体:类似透明管型,一端或两端尖细呈螺旋形卷曲,可能是集合管产生的黏液丝,也可能是尚未完全形成的透明管型,常与透明管型同时存在,多见于肾脏血循环障碍。

尿液各种管型的组成及临床意义比较见表 5-39。

表 5-39 尿液各种管型的组成及临床意义

管型	组成成分	临床意义
透明管型	T-H 蛋白、白蛋白、少量氯化物	健康人偶见,肾实质性病变时增多
红细胞管型	管型基质+红细胞	肾小球或肾小管出血
白细胞管型	管型基质+白细胞	肾脏感染性病变
上皮细胞管型	管型基质+上皮细胞	肾小管病变
颗粒管型	管型基质+变性细胞分解产物	肾实质性病变伴有肾单位淤滞
蜡样管型	由细颗粒管型演化而来	肾小管有严重病变,预后差
脂肪管型	管型基质+脂肪滴	肾小管损伤,肾小管上皮细胞脂肪变性
肾衰竭管型	由颗粒管型、蜡样管型演变而来	肾脏病变严重,提示预后不良
细菌管型	管型基质+细菌	肾脏化脓性感染
真菌管型	管型基质+真菌	真菌感染
胆红素管型	管型基质+胆红素颗粒	重症黄疸
混合细胞管型	管型基质+不同细胞及其他有形成分	肾炎反复发作、出血、血管坏死、肾移植排异反应

四、尿液结晶形态特征及临床意义

(一) 酸性尿液中的结晶

酸性尿液内的结晶包括草酸钙结晶、尿酸结晶、非晶形尿酸盐、硫酸钙结晶及马尿酸结晶等。

1. 草酸钙结晶 草酸钙结晶 (calcium oxalate crystal) 为无色方形闪烁发光的八面体或信封样,有 2 条对角线互相交叉,有时呈菱形,偶见哑铃形或饼状(图 5-23)。新鲜尿液有大量草酸钙结晶,并伴有红细胞增多,提示为肾或膀胱结石的征兆。

2. 尿酸结晶 尿酸结晶 (uric acid crystal) 呈黄色、暗棕色,其形状为三棱形、哑铃形、蝴蝶形或不规则形(图 5-24)。大量尿酸结晶见于高尿酸肾病及尿酸结石,亦可见于急性痛风症、儿童急性发热、慢性间质性肾炎等。

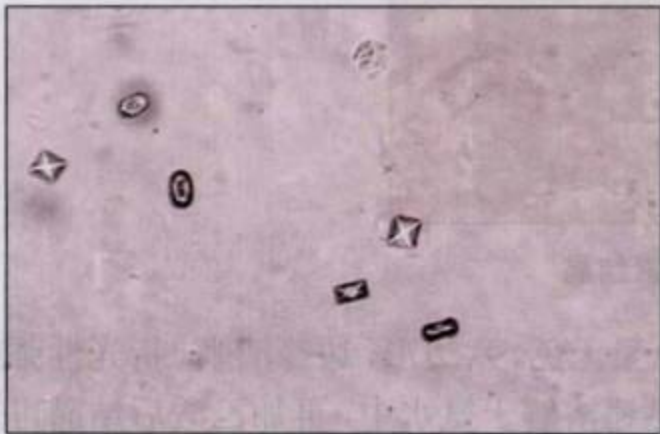


图 5-23 草酸钙结晶

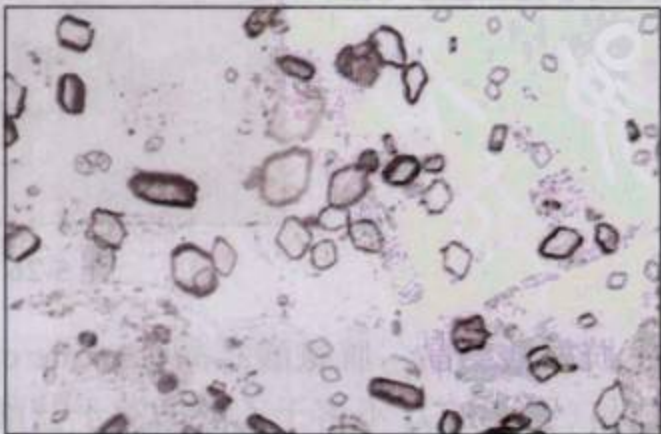


图 5-24 尿酸结晶

3. 非晶形尿酸盐 非晶形尿酸盐(amorphous urates)主要是尿酸钠、尿酸钾、尿酸钙等的混合物,外观呈黄色非晶形颗粒状沉淀物。在淡色尿液中无色,在低温、浓缩或酸性较强的尿液中容易析出沉淀,一般无临床意义。

(二) 碱性尿液中的结晶

碱性尿液内的结晶,一般是磷酸盐类结晶(phosphatic crystal),包括非晶形磷酸盐、磷酸铵镁、磷酸钙、碳酸钙、尿酸铵及尿酸钙等。

1. 非晶形磷酸盐 非晶形磷酸盐(amorphous phosphate)为白色颗粒状,属于正常代谢产物,一般无临床意义。

2. 磷酸铵镁结晶 磷酸铵镁结晶(ammoniomagnesium phosphate crystal)呈无色的方柱形、信封状或羽毛状,有强折光性(图 5-25)。一般无临床意义,感染引起结石时,尿液中常出现磷酸铵镁结晶(三联磷酸盐结晶)。

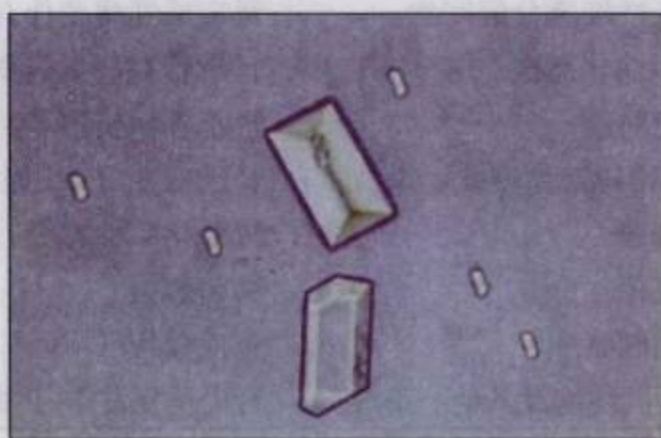


图 5-25 三联磷酸盐结晶

3. 磷酸钙结晶 磷酸钙结晶(calcium phosphate crystal)有非晶形、粒状、三棱形,排列成星状或束状,可溶于乙酸。如果长期在尿液中见到大量磷酸钙结晶,则应排除甲状旁腺功能亢进、肾小管性酸中毒或因长期卧床引起的骨质脱钙。

(三) 其他结晶

1. 胆红素结晶 胆红素结晶(bilirubin crystal)为成束的针状或小块状、橘红色结晶,可被白细胞吞噬。多见于黄疸、急性肝坏死、肝癌、肝硬化、急性磷中毒等(图 5-26)。



图 5-26 胆红素结晶

2. 胱氨酸结晶 胱氨酸结晶(cystine crystal)呈无色、六边形,边缘清晰、折光性强的薄片状结晶(图 5-27),不溶于乙酸而溶于盐酸,能迅速溶解于氨水中,再加乙酸后结晶可重新出现。健康人尿液中少见,大量胱氨酸结晶是肾或膀胱结石的先兆。

3. 亮氨酸结晶 亮氨酸结晶(leucine crystal)呈淡黄色或褐色小球形或油滴状,并有密集辐射状条纹,折光性强(图 5-28),不溶于盐酸而溶于乙酸。亮氨酸结晶是由蛋白质分解而来,少见,常与酪氨酸结晶同时出现,多见于急性肝萎缩、急性磷中毒等。

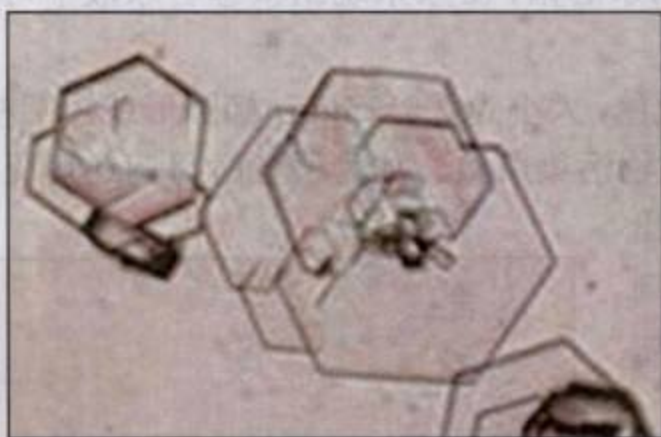


图 5-27 酪氨酸结晶



图 5-28 亮氨酸结晶

4. 酪氨酸结晶 酪氨酸结晶(tyrosine crystal)为略带黑色的细针状结晶,成束状或羽毛状,可溶于氢氧化铵而不溶于乙酸(图 5-29)。酪氨酸结晶是由蛋白质分解而来,少见,常与亮氨酸结晶同时出现,多见于组织大量坏死。

5. 胆固醇结晶 胆固醇结晶(cholesterol crystal)的外形为缺角的长方形或方形,无色透明,常浮于尿液的表面,呈薄片状,可溶于氯仿、乙醚(图 5-30)。健康人尿液中少见,可见于膀胱炎及肾盂肾炎。

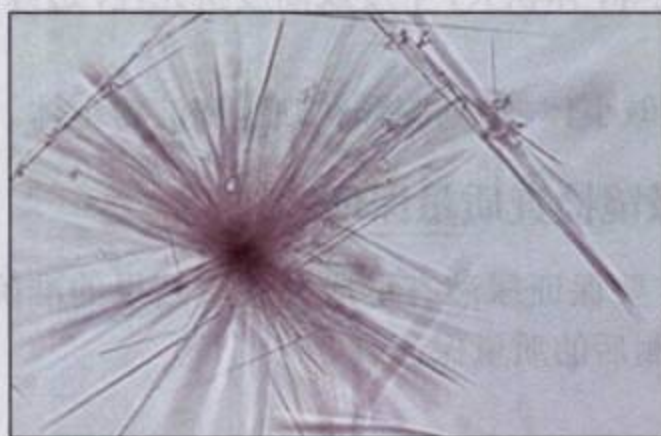


图 5-29 酪氨酸结晶

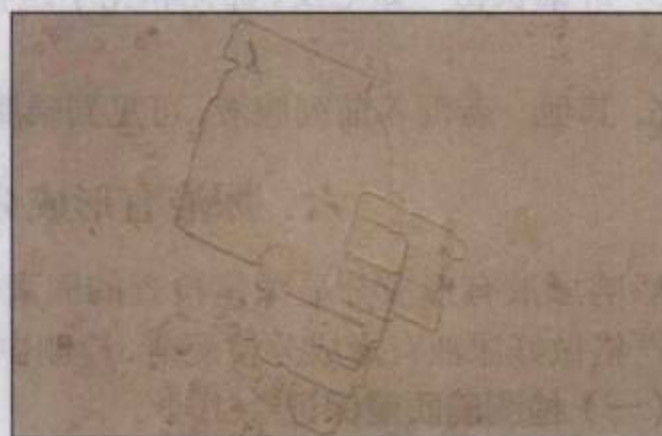


图 5-30 胆固醇结晶

6. 药物结晶 药物结晶(drug crystal)主要有磺胺类药物结晶,如磺胺嘧啶结晶呈不对称麦秆束状,也可呈球状。磺胺类药物结晶可溶解于丙酮。部分服用磺胺药物患者的尿液中可出现此结晶,多与用药过量有关。

7. 造影剂结晶 使用放射造影剂泛影酸、碘番酸和泛影葡胺后,尿液中可出现相关的结晶。泛影酸结晶和胆固醇结晶相似,但不同的是前者呈规则的平行四边形,无缺角现象。碘番酸结晶呈球形,轮廓不清,边缘模糊。泛影葡胺结晶呈细针形,辐射状排列。

五、尿液其他有形成分及临床意义

1. 细菌 尿液细菌有革兰阴性杆菌和革兰阳性球菌,以大肠埃希菌、葡萄球菌、链球菌、变形杆菌等多见。健康人尿液从形成到储存于膀胱,这一过程中并无细菌生长,检出少

量细菌,主要可能是因采集标本时,标本被污染所致,一般无临床意义。若出现多量的细菌,并伴有大量脓细胞和上皮细胞时,提示尿路感染。革兰阴性菌菌落计数 $\geq 10^5/\text{ml}$ 提示泌尿系统感染,革兰阳性球菌菌落计数 $\geq 10^4/\text{ml}$ 即有诊断价值。膀胱炎、肾盂肾炎以革兰阴性杆菌为主,性传播性疾病患者尿液中可查到淋病奈瑟菌,泌尿系统结核患者尿液中可查到抗酸杆菌。

2. 真菌 ①白假丝酵母菌:不染色状态下无色,大小为 $2.5\sim 5\mu\text{m}$,椭圆形或短圆柱形,有时因芽生孢子而集群,一般是尿液被阴道分泌物污染所致。如为假丝酵母菌还可见到假菌丝,革兰染色油镜下可见革兰阳性孢子或与出芽细胞相连接的菌丝。②酵母菌:卵圆形,似红细胞,折光性较强,可见芽胞和假菌丝,多见于糖尿病患者、女性尿液及碱性尿液中(图 5-31)。

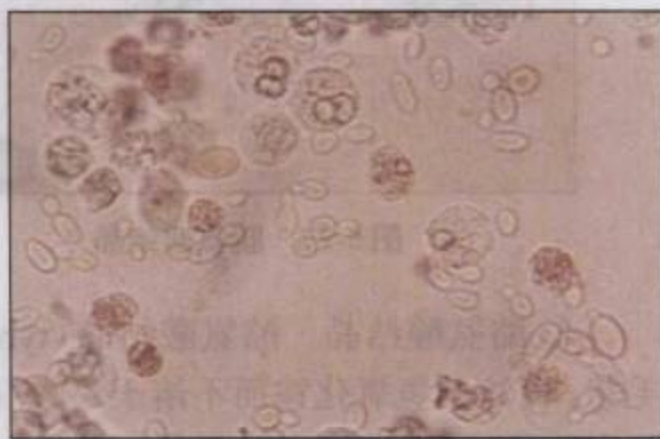


图 5-31 尿液酵母菌形态(S-M 染色)

3. 寄生虫及虫卵 尿液中的寄生虫及虫卵多因标本被污染所致。①阴道毛滴虫多来自女性白带,常见于女性尿液中,也偶见于男性。②乳糜尿中可检出微丝蚴(microfilariae)。③尿液被粪便污染时,可检出肠道寄生虫或虫卵,如溶组织内阿米巴、蛔虫卵、蓝氏贾第鞭毛虫等。血吸虫卵也可直接由膀胱壁黏膜进入尿液中。

4. 精子 尿液内精子多见于男性遗精后、性交后或逆行射精。

5. 纤维状物 如毛发、棉花和化学织物纤维等,体积大,中度或高度折光性,边缘暗而厚实。

6. 其他 若混入前列腺液,可见到磷脂酰胆碱小体、前列腺颗粒细胞和淀粉小体。

六、尿液有形成分显微镜检查质量保证

影响尿液有形成分显微镜检查的因素很多,要保证尿液有形成分检查结果的准确性,必须严格做好尿液有形成分检测前、检测中和检测后的质量保证。

(一) 检测前质量保证

1. 标本要求 ①若标本仅用于有形成分检查,宜使用晨尿标本,因尿液在体内经过浓缩且偏酸,可提高阳性检出率。但第2次晨尿可能更有利于尿液有形成分检查,因第1次晨尿在膀胱内长时间储存,会影响细胞和管型的形态。②标本最好不加防腐剂,并及时检查(非冷藏条件下放置时间不能超过2小时),因尿液标本久置可发生碱变,红细胞、白细胞和管型等有形成分在比重低于1.010的碱性尿液中容易溶解。尿液标本若不能及时检查可加防腐剂,有形成分检查一般在1L尿液中加40%甲醛5ml进行防腐。尿液pH、渗透压变化对尿液有形成分的影响见表5-40。③女性尿液标本应避免混入月经血、阴道分泌物,男性应避免混入前列腺液、精液。必要时导尿送检。

2. 器材标准化 采用清洁干燥的一次性使用、带有密封装置、不与尿液成分发生反应、不含干扰物质的惰性材料制成盛尿容器。使用标准离心管和移液管。采用标准化沉渣定量计数板检查尿液有形成分。容器、离心管及定量计数板必须易于标记与识别。

3. 制定标准化的操作程序 实验室应统一尿液检查操作程序和方法,对所有标本处理

表 5-40 尿液 pH 和渗透压对红细胞、白细胞和管型的影响

尿液	红细胞	白细胞	管型
高渗尿	皱缩, 体积变小、星形或桑椹状	可存在, 皱缩, 体积缩小	可存在较久
低渗尿	肿胀, 体积变大、不定形, 无色	肿胀, 易破坏	易崩裂
酸性尿	可存在一定时间, 体积缩小	皱缩, 体积变小, 能存在一定时间	可存在较久
碱性尿	肿胀, 溶解破裂, 形成褐色颗粒	肿胀, 形成块状结构	溶解、崩溃

的条件应一致。

4. 参与室内、室间质控 采用可靠的尿液有形成分质控物(含一定量而且保存完好的红细胞、白细胞及管型等),开展室内质控活动。如无质控物也可用新鲜尿液作重现性考核,其各成分应在允许范围内,如结果有差异时应重新考核。参加室间质评活动,动态掌握本实验室检验水平。

(二) 检测中质量保证

1. 标准化操作 严格按照操作规程进行检查,CLSI、日本实验室标准委员会(JCCLS)和 CCCLS 对尿液有形成分显微镜检查有严格要求(表 5-41)。

表 5-41 有关尿液有形成分显微镜检查规范操作比较

项目	CLSI	JCCLS	CCCLS
标本要求	晨尿,放置时间不超过 2 小时	放置时间不超过 2 小时	晨尿,放置时间不超过 2 小时
标本量(ml)	8, 10, 12, 15	10	10
离心管	透明塑料或玻璃、带刻度、有盖、圆锥形或缩窄型底部试管	透明塑料或玻璃、带刻度、尖底试管	带刻度离心管
离心机要求	离心时能自动锁盖、保持室温的水平式离心机	水平式离心机	水平式离心机
离心力(g)	400	500	400
离心时间(分钟)	5	5	5
留取沉渣量(ml)	取决于商品化检测系统		0.2
检查量(μl)	取决于商品化检测系统	15	20
盖玻片规格(mm ²)	取决于商品化检测系统	18×18	18×18
显微镜要求	双目、内置光源普通光学显微镜,带偏光滤镜	双目普通光学显微镜	双目普通光学显微镜
检查范围要求	取决于商品化检测系统	湿片法,观察 20~30 个视野	湿片法,观察视野:细胞 10 个高倍视野,管型 20 个低倍视野
染色要求	可活体染色	可活体染色	
结果报告方式	每毫升尿液有形成分数量	细胞 /HP、管型 /LP 报告视野均值	细胞:最低值~最高值 /HP 管型:最低值~最高值 /LP

2. 离心机 采用有盖、水平式离心机,离心机转速显示应准确、直观,定期校正,离心机内温度应保持在 $15\sim 25^{\circ}\text{C}$ 。

3. 离心 尿液标本应为 10ml ,如不足 10ml ,则报告时应注明。 $\text{RCF } 400\times g$,离心 5 分钟,应避免离心力过大对有形成分,特别是管型的破坏。

4. 制备涂片或充入标准化沉渣定量计数板 手持离心管 $45^{\circ}\sim 90^{\circ}$ 迅速弃去上层尿液,保留 0.2ml 尿液,轻轻混匀后,取 1 滴(大约 $20\mu\text{l}$)沉淀物置载玻片上,用 $18\text{mm}\times 18\text{mm}$ 的盖玻片覆盖后(避免产生气泡)显微镜检查。如采用标准化沉渣定量计数板,则混匀后吸取 $15\sim 20\mu\text{l}$ 沉淀物充入计数板内。

5. 显微镜检查方法 如使用尿沉渣涂片,先在低倍视野(10×10)下观察尿液有形成分的分布情况,管型在低倍镜下观察 20 个视野,再转高倍视野(10×40)仔细观察,并检查 10 个视野的细胞成分。如采用标准化沉渣定量计数板,则观察计数一定区域内白细胞、红细胞、管型数量,计算 $1\mu\text{l}$ 尿液内相应有形成分数量。

6. 鉴别有形成分形态 如尿液红细胞与真菌、草酸钙结晶等的鉴别。

(三) 检测后质量保证

1. 综合分析检查结果 ①如尿液在膀胱内贮存时间过长,中性粒细胞可能破坏,释放酯酶到尿液中,导致尿液干化学法白细胞阳性,而显微镜检查则为阴性,此时应以干化学分析仪检查结果为准。②肾移植患者排异反应可致尿液中出现大量淋巴细胞(淋巴细胞无酯酶),干化学法白细胞阴性,而显微镜检查则白细胞阳性,应以显微镜检查为准。③肾脏疾病尿液中红细胞常被破坏而释放出血红蛋白,显微镜检查可无红细胞,而干化学法血红蛋白(隐血)呈阳性。此时应以后者结果为准。

2. 核对申请单(报告单) 填报检查报告时应认真核对患者的临床资料、检查编号及结果是否相符。

3. 检查结果及时反馈 及时将检验结果或疑问反馈到临床,加强与临床的联系沟通,结合病情及进展综合、动态分析检查结果。

4. 资料分析 做好检查结果的备份、记录,进行回顾性阶段性资料分析。

(罗春丽)

第四节 尿液分析仪检查

一、尿液干化学分析仪检查

1956年,美国 Alfred Free 以葡萄糖氧化酶法为基础检测葡萄糖,发明了尿液分析史上第1条试带(reagent strip, test strip),即尿糖试纸(Clinistix paper),开创了“浸入即读”(dip and read)干化学法新纪元。干化学法操作方便、检测迅速、结果准确;检测结果既可目测,也可自动化分析。随着高新技术的不断应用,尿液分析由半自动化发展到全自动化,检测项目由单项发展到多项组合,检测速度也显著提高。

【检测原理】

1. 尿液干化学分析仪组成 尿液干化学分析仪通常由机械系统、光学系统、电路系统3部分组成。

2. 尿液干化学试带

(1) 单项试带：单项试带是干化学试带发展初期的一种最基本的结构形式。它以滤纸为载体，将各种试剂成分浸渍、干燥后作为试剂层，再在表面覆盖一层纤维膜作为反射层。尿液浸入试带后与试剂发生反应，产生颜色变化。

(2) 多联试带：将多种检测项目的试剂膜块，按一定间隔、顺序固定在同一个试带上，可同时检测多个项目。多联试带采用多层膜结构(表 5-42)，其基本结构如图 5-32 所示。

表 5-42 尿液干化学法试带多层膜结构及主要作用

膜结构	主要作用
尼龙膜层	起保护作用，防止大分子物质对反应的污染
绒制层	包括试剂层和碘酸盐层。试剂层含有试剂成分，主要与尿液中的化学物质发生反应，产生颜色变化。碘酸盐层可破坏维生素 C 等物质的干扰
吸水层	可使尿液均匀快速地渗入，并能抑制尿液渗透到相邻反应区
支持层	由尿液不浸润的塑料片做成，起支持作用

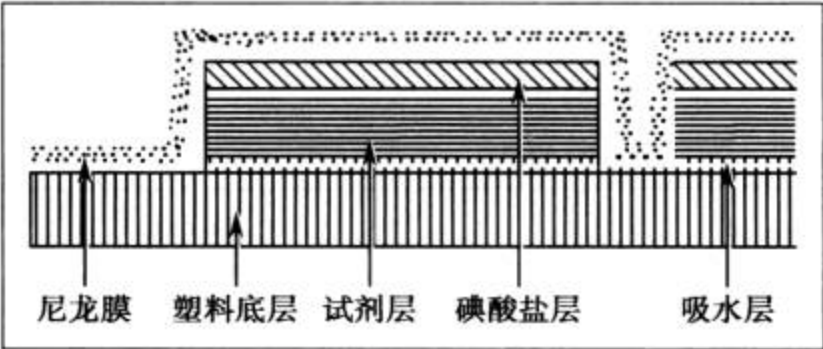


图 5-32 尿液干化学分析仪试带结构图

不同型号的尿液干化学分析仪使用配套的专用试带，且试剂膜块的排列顺序也不相同。各试剂膜块与尿液成分反应呈现不同的颜色变化。通常情况下，试带上的试剂膜块比检测项目多 1 个空白块，以消除尿液本身的颜色在试剂膜块上所产生的检测误差。

3. 尿液干化学法检测原理 尿液的化学成分使多联试带上的试剂膜块发生颜色变化，颜色深浅与尿液中化学成分的浓度成正比。当试带进入尿液干化学分析仪比色槽时，各试剂膜块依次受到仪器光源照射并产生不同的反射光，仪器接收不同强度的光信号后，将其转换为相应的电信号，经微电脑处理，计算出各检测参数的反射率，与标准曲线比较校正，最后以定性或半定量方式自动输出结果。

$$R(\%) = \frac{T_m \times C_s}{T_s \times C_m} \times 100\%$$

式中： R 为反射率， T_m 为试剂膜块对检测波长的反射强度， T_s 为试剂膜块对参考波长的反射强度， C_m 为标准膜块对检测波长的反射强度， C_s 为标准膜块对参考波长的反射强度。

尿液干化学法检测原理的本质是对光的吸收和反射。试剂膜块颜色的深浅对光的吸收、反射是不同的。颜色越深，光吸收越大，光反射越小，反射率越小；反之，颜色越浅，光吸收越小，光反射越大，反射率也越大。

【检测参数】 随着试带的发展，尿液干化学分析仪检测参数(parameter)逐渐增多。目

前，常用的检测参数主要包括酸碱度、比重、蛋白质、葡萄糖、酮体、胆红素、尿胆原、红细胞（血红蛋白或隐血）、亚硝酸盐、白细胞、维生素 C 等。根据检测参数的多少，可将尿液干化学分析仪分为 8 项、9 项、10 项或 11 项尿液干化学分析仪等。尿液干化学分析仪检测参数及原理见表 5-43。

表 5-43 尿液干化学分析仪检测参数及原理

参数	英文缩写	反应原理	参考区间
pH	pH	酸碱指示剂法	随机尿：pH 4.5～8.0
比重	SG	多聚电解质离子解离法	1.015～1.025
蛋白质	PRO	pH 指示剂蛋白质误差法	阴性
葡萄糖	GLU	葡萄糖氧化酶 - 过氧化物酶法	阴性
胆红素	BIL	偶氮反应法	阴性
尿胆原	URO	醛反应、重氮反应法	阴性或弱阳性
酮体	KET	亚硝基铁氰化钠法	阴性
亚硝酸盐	NIT	Griess 法	阴性
隐血或红细胞	BLD	血红蛋白亚铁血红素类过氧化物酶法	阴性
白细胞	LEU	酯酶法	阴性
维生素 C	Vit C	吲哚酚法	阴性

【方法学评价】

1. 尿液干化学分析法

(1) 主要优点：标本用量较少；速度快、项目多；重复性好、准确性较高；适用于大批量标本的筛检。

(2) 主要不足：①不能替代病理性尿液标本的显微镜检查，对白细胞、管型和结晶的检测属于间接检测。②很难判断尿液红细胞的形态特征。③检测尿蛋白以白蛋白为主，对球蛋白不灵敏，不适用于肾病患者的检查。④易受药物、外源性物质或人为因素等的干扰，可出现假阳性或假阴性。⑤亚硝酸盐检查只能检出有硝酸盐还原酶的细菌。⑥对多联试带的保存和使用要求高。

2. 显微镜检查法 由于干化学法的局限性，显微镜复查必不可少。①显微镜能真实展现细胞等有形成分的形态，直观可靠。②显微镜检查法操作费时，不适用于大批量标本的筛检，尤其门诊急需检验结果时。

尿液干化学分析仪法和显微镜检查是两种原理不同的检验技术，其检验结果可能互不相符。通常出现的不相符情况和原因见表 5-44。当干化学分析仪检测结果中白细胞、红细胞、蛋白质及亚硝酸盐均为阴性时，可不进行显微镜检查，但如其中 1 项阳性，必须同时进行显微镜检查。筛检的基本原则是能检出异常标本和排除健康人标本，特别是避免出现假阴性。对假阳性标本，则可通过显微镜检查进一步排除。

【质量保证】 任何外源性物质、人为因素对尿液标本或对多联试带试剂膜块的干扰，均可引起假阳性或假阴性。虽然多联试带使用方便，但其化学反应复杂，且不同试带的试剂成分不同，故反应的呈色、灵敏度、特异性也不同。因此，必须十分重视尿液多联试带干化

表 5-44 尿液干化学分析仪法和显微镜检查法的不相符情况与原因

参数	干化学法	显微镜法	原因
白细胞	+	-	尿液在膀胱中贮存时间过长,致白细胞破坏、粒细胞酯酶释放
	-	+	尿液以淋巴细胞或单核细胞为主,见于肾移植(干化学法检测的是完整的及溶解的中性粒细胞,而与淋巴细胞及单核细胞不反应)
红细胞	+	-	尿液红细胞被破坏,释放 Hb,尿液中含易热性触酶,肌红蛋白尿(将尿液煮沸冷却后再检测可以排除酶的影响)
	-	+	少见,见于维生素 C > 100mg/L 或试带失效时

学分析的质量保证。

1. 检测前 ①正确的尿液标本采集时间与采集方法,有效的标本标识与识别,在规定的时间内完成检测等。②了解患者的饮食及用药情况,如维生素 C 可影响尿糖的检测,青霉素影响尿蛋白的检测。尿液干化学分析仪检测假阳性、假阴性常见的原因见表 5-45。

表 5-45 尿液干化学分析仪检测假阳性、假阴性常见的原因

参数	假阳性	假阴性
SG	尿蛋白	尿素 > 10g/L、尿液 pH < 6.5
PRO	喹宁、嘧啶、聚乙烯、吡咯酮、氯己定(洗必泰)、磷酸盐、季铵类消毒剂、尿液 pH ≥ 9.0	大量青霉素尿、尿液 pH < 3.0
GLU	H ₂ O ₂ 、强氧化性清洁剂污染	左旋多巴、大量水杨酸盐、维生素 C (> 500mg/L)、氟化钠、高比重尿、尿酮体 (> 0.4g/L)
KET	酞、苯丙酮、左旋多巴代谢物	试带潮解、陈旧尿液
BIL	吩噻嗪类或吩嗪类药物	维生素 C (> 500mg/L)、亚硝酸盐、光照
URO	吡啶、吩噻嗪类、维生素 K、磺胺药	亚硝酸盐、光照、重氮药物、对氨基水杨酸
NIT	陈旧尿液、亚硝酸盐或偶氮剂污染、含硝酸盐丰富的食物	尿胆原、尿液 pH < 6.0、维生素 C、尿量过多、食物含硝酸盐过低、尿液在膀胱中贮存 < 4 小时
LEU	甲醛、毛滴虫、氧化剂、高浓度胆红素、呋喃妥因	蛋白质、维生素 C、葡萄糖、头孢氨苄
BLD	肌红蛋白、菌尿、氧化剂、易热性触酶	蛋白质、维生素 C (> 100mg/L)

2. 检测中 严格、规范和正确的操作,合理地应用尿液质控物,判断尿液干化学分析仪是否处于最佳或正常的工作状态。质控尿液可来自商品,也可人工配制。在定期校准尿干化学分析仪的基础上,每天使用“正常”和“异常”两种浓度质控尿液,对仪器和试带进行质控。任意一个试剂模块的检测结果与质控尿液期望“靶值”允许有 1 个定性等级的差异,超过此范围或结果在“正常与异常”之间跳跃均应视为失控。

3. 检测后 参考区间的认可、报告单书写是否规范、检测报告是否及时、检测结果是否符合患者实际情况等。

【检测结果】 尿液干化学分析仪试带及结果判断见图 5-33。不同商品化试带的灵敏度有差异,尿液干化学分析仪检查的参考区间见表 5-43。

【临床意义】 尿液干化学分析仪检查的临床意义与化学检查相同。

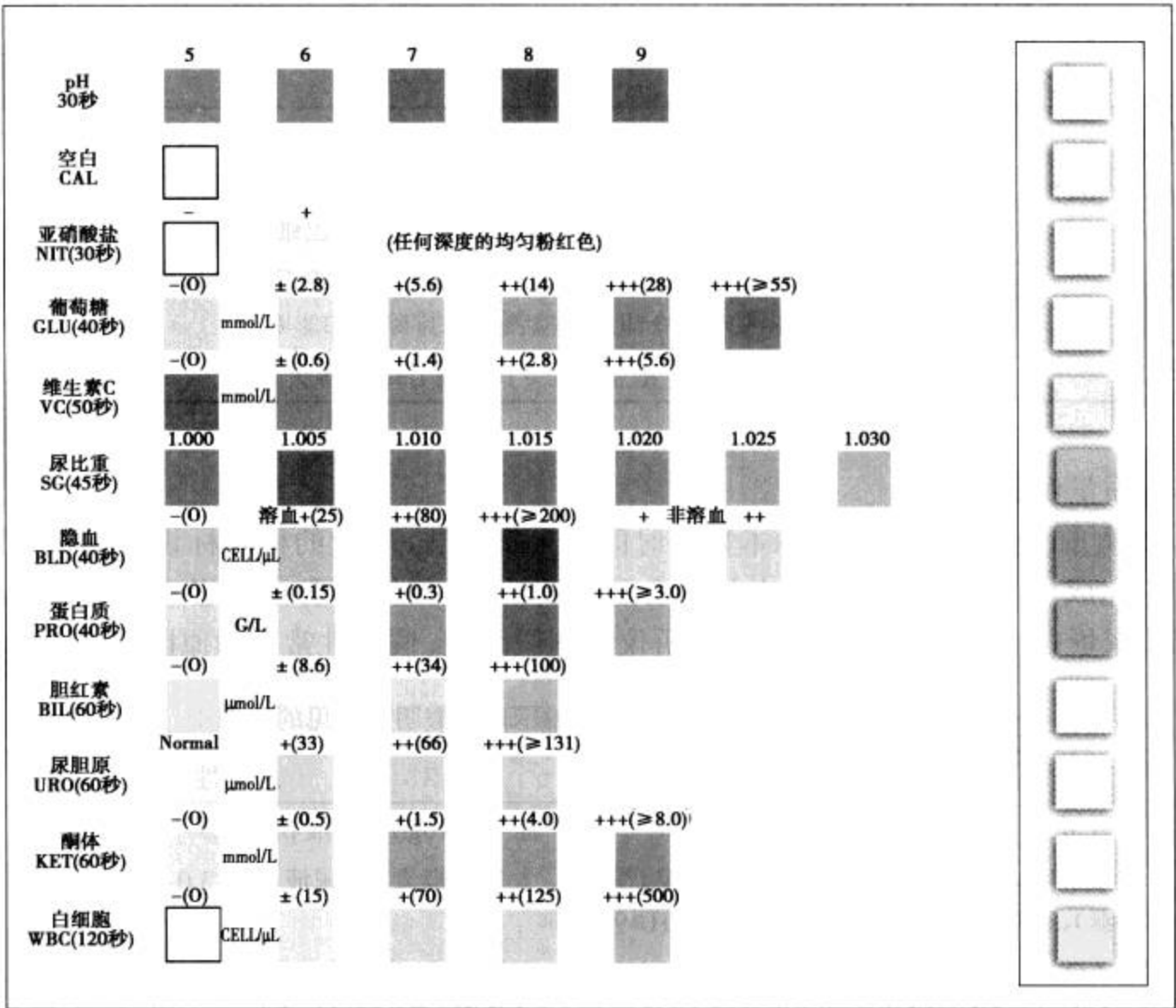


图 5-33 尿液干化学分析仪试带及结果判断

二、尿液有形成分分析仪检查

尿液有形成分的显微镜检查有费时费力、误差大、重复性差、不能定量、易受人为因素影响、无统一质控物、难以进行室内质控等缺点。而尿液有形成分分析仪具有检验快速、误差小、精密度高、安全等特点。随着现代科学技术的进步，应用电子技术、计算机技术，以及吸收血液分析仪、流式细胞仪研制经验和影像学技术的各类高效能尿液有形成分分析仪相继问世。

【检测原理】 目前，尿液有形成分分析仪主要有 2 大类：①影像式尿液有形成分分析仪。②流式细胞术和电阻抗检测相结合的全自动尿液有形成分分析仪。

1. 影像式尿液有形成分分析仪 与人工显微镜检查原理基本相似，可直观地观察有形成分的形态，但它必须经过严格的定时、定速离心尿液标本，留取定量的尿沉渣，在相差显微镜下，数码摄像系统对每个层流经过的标本进行摄像，计算机进行图像分析，提取尿液有形成分的大小、对比度、形状、质地特征，运用形态识别软件自动识别和分类尿液有形成分。

影像式尿液有形成分分析仪还可通过计算机对每个标本的存储图像进行人工重新判定，可任意选取可疑的成分进行人工复查，对错判和误判的部分予以人工纠正。

2. 全自动尿液有形成分分析仪 应用了流式细胞术和电阻抗原理(图 5-34)。

(1) 仪器组成：主要包括光学检测系统、液压系统、电阻抗检测系统等。

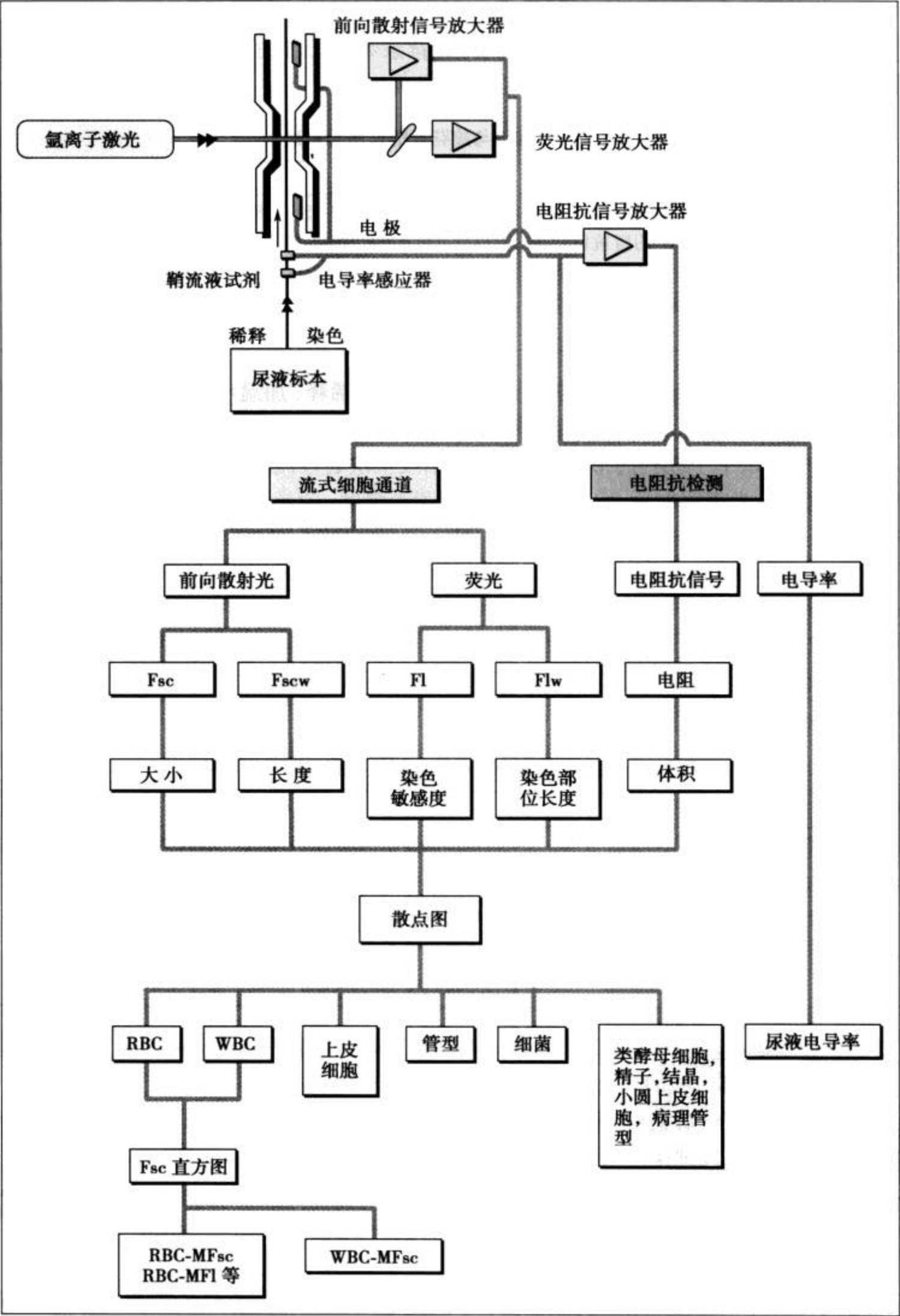


图 5-34 全自动尿液有形成分分析仪检测原理简图

(2) 尿液有形成分染色：采用菲啉(phenanthridine)与羧花氰(carbocyanine)对有形成分进行染色。其共同特性是：与细胞结合速度快，背景荧光低，细胞发出的荧光强度与细胞和染料的结合程度成正比。两者的作用与意义见表 5-46。

表 5-46 菲啉与羧花氰的作用与意义

染料	作用	意义
菲啉	使细胞核酸成分 DNA 着色，在 480nm 光波激发时，产生 610nm 的橙黄色光波	用于区分有核细胞和无核细胞，如白细胞与红细胞、病理管型与透明管型等
羧花氰	穿透能力强，与细胞膜、核膜和线粒体的脂质成分结合，在 460nm 光波激发时，产生 505nm 的绿色光波	用于区分细胞大小，如上皮细胞与白细胞等

(3) 尿液有形成分检测：定量吸入的尿液标本，经稀释、加温和染色后，依靠液压作用喷射入鞘液流动池。当标本从样品喷嘴出口进入鞘液流动池时，被一种无粒子的鞘液包围，使有形成分以单个纵列的形式，沿中心竖轴线依次通过流动池氩激光检测区。每个有形成分被氩激光光束照射后，产生不同程度的荧光强度，荧光强度与有形成分和染料的结合程度成正比。仪器将捕捉到的荧光强度(fluorescent light intensity, FI)、前向荧光脉冲宽度(forward fluorescent light intensity width, Flw)、前向散射光强度(forward scattered light intensity, Fsc)、前向散射光脉冲宽度(forward scattered light intensity width, Fscw)、电阻抗等转变成电信号，并对各种信号进行分析、综合识别和计算得到相应细胞的大小、长度、体积和染色质长度等信息(表 5-47)，形成红细胞、白细胞、细菌、管型等有形成分定量报告，并得到有形成分的直方图和散点图。

表 5-47 全自动尿液有形成分分析仪检测的信号与意义

信号	意义
荧光强度(FI)	从染色细胞发出的荧光，主要反映细胞染色质的强度
前向荧光脉冲宽度(Flw)	主要反映细胞染色质的长度
前向散射光强度(Fsc)	主要反映细胞大小
前向散射光脉冲宽度(Fscw)	主要反映细胞长度
电阻抗	主要与细胞体积成正比

【检测参数】 全自动尿液有形成分分析仪除了给出主要有形成分的定量参数外，还给出一些标记参数和 FI-Fsc、Fscw-Flw 等散点图和有关红细胞信息。

1. 定量参数 红细胞(RBC/μl)、白细胞(WBC/μl)、上皮细胞(epithelial cell, EC/μl)、管型(cast, CAST/μl)、细菌(bacterium, BACT/μl)、电导率(conductivity)。

2. 标记参数(定性) 病理管型(pathologic cast, Path. CAST)、小圆上皮细胞(small round cell, SRC)、类酵母细胞(YLC)、结晶(X-TAL)和精子(sperm, SPERM)。

3. FI-Fsc、Fscw-Flw 散点图

(1) 红细胞：直径大约为 8.0μm，无胞核和线粒体，常有部分红细胞溶解成小红细胞碎片，呈现明显的大小不均，在 FI-Fsc 散点图中，红细胞分布区域的特点为 FI 极低和 Fsc 大小不等。

- (2) 白细胞: 直径大约为 10 μ m, 有胞核, 有高强度的 Fl 和 Fsc, 出现在 Fl-Fsc 散点图中。
- (3) 细菌: 体积小但含有 DNA, 所以 Fsc 较红细胞和白细胞弱, Fl 较红细胞强, 但较白细胞弱, 出现在 Fl-Fsc 及 Fscw-Fl 散点图中。
- (4) 上皮细胞: 种类较多且大小不等, 但无论何种类型的上皮细胞均有细胞核, 主要分布在 Fscw-Flw 散点图左上角。
- (5) 管型: 出现在 Fscw-Flw 散点图中, 透明管型因管型体积大和无内含物, 有极高的 Fscw 和微弱的 Flw; 病理管型体积与透明管型相似, 但含线粒体和胞核, 故有极高的 Fscw 和 Flw。
- (6) 真菌和精子: 出现在 Fl-Fsc 散点图中, 精子细胞含有 RNA 和 DNA, 有很高的 Fl, 且其 Fsc 与红细胞、白细胞相似, 故分布在红细胞与白细胞之间的区域。真菌的 Fscw 小于精子细胞脉冲宽度, 在低浓度时, 区分精子细胞与真菌有一定难度; 而在高浓度时, 部分真菌对红细胞计数又有交叉作用。
- (7) 结晶: 在染色过程中不着色, 其 F1 较红细胞更低, 由于结晶多样性、大小、Fsc 的变化, 故其散射光强度分布很宽。草酸钙散于 Fl-Fsc 散点图中, 贴近 Y 轴分布; 尿酸盐结晶散于散点图中, 与红细胞散点交叉分布。

4. 红细胞信息 70% 红细胞前向散射光强度(RBC-P70Fsc) \leq 70ch, 且红细胞前向散射光强度分布宽度(RBC-Fsc-DW) $>$ 50ch, 提示为肾小球性血尿; RBC-P70Fsc \geq 100ch, 且 RBC-Fsc-DW \leq 50ch, 提示为非肾小球性血尿; 70ch \leq RBC-P70Fsc \leq 100ch, 且 RBC-FscDW \geq 50ch, 为混合性红细胞。

5. 其他信息 非溶血性红细胞数量和百分率(Non-lysed RBC#, Non-lysed RBC%)、红细胞平均荧光强度(RBC-MFI)、红细胞平均散射光强度(RBC-MFsc)和红细胞荧光强度分布宽度标准差(RBC-Fl-DWSD)、白细胞平均前向散射强度(WBC-MFsc)等信息。

【方法学评价】

1. 影像式尿液有形成分分析仪 与显微镜检查法相比具有明显的优点, 但也存在不足。
- (1) 优点: 无污染、定量、简便、高效、精确度高、结果准确。
- (2) 不足: ①含杂质多的标本可导致图像模糊, 难以准确辨认, 假阳性率高。②有些结晶和真菌容易被误认为红细胞。③非鳞状上皮细胞、结晶、管型等仍要依靠显微镜检查确认。
2. 全自动尿液有形成分分析仪 与显微镜检查法比较有明显的优势, 但也存在明显不足(表 5-48)。因此, 尿液有形成分分析仪还不能完全取代显微镜。

表 5-48 全自动尿液有形成分分析仪的方法学评价

项目	评价
优点	①不需离心尿液, 可自动进样 ②所需标本量少, 速度快, 工作效率高, 一次检测可报告多个参数, 且可定量 ③采集的信息量大, 每份标本计数的细胞数量明显高于显微镜检查 ④方法程序统一, 易于标准化和质量控制, 具有手工操作无法比拟的重复精度和极低的互染率
缺点	①假阳性率较高, 不能鉴别异常细胞 ②大量细菌、酵母菌可干扰计数, 容易漏检影形红细胞, 尤其不能明确病理管型的分类

全自动尿液有形成分分析仪与尿液干化学分析仪联合检测的主要意义：①全自动尿液有形成分分析仪不仅能检出不含硝酸盐还原酶的细菌，而且能提供尿液中实际细菌含量。②尿液干化学法隐血检查结果与尿液有形成分分析仪红细胞计数的配合，可判断出血状况和性质。③尿液有形成分分析仪可对尿液中所有的白细胞进行检测，弥补了尿液干化学法只对粒细胞反应，而与淋巴细胞和单核细胞不反应的不足。

【质量保证】

1. 检测前 认真检查仪器工作状态，设置参数，不能随意进行仪器校准。通过质控分析并排除来自仪器、试剂、标本的错误。当仪器失控时，无技术条件的实验室应及时联系厂商，协助对仪器进行调整与质控参数的校准。检测前应充分混匀标本。

2. 检测中 当计数、分类、电导率异常，仪器出现复查信号时，提示结果可信度低。在定性参数提示结晶、真菌、小圆上皮细胞、病理管型、精子存在时，其结果未必完全正确，常存在一些干扰物质，如黏液丝、草酸钙结晶等。通过手工复查，可验证检测结果，并可发现可能干扰检测的因素。

3. 检测后 检验结果报告之前，除了注意报告的文字书写或计算机录入有无错误外，更应分析结果之间的关联性，注意临床诊断和检验结果的符合性，如有明显矛盾或与最近一次检测结果有较大差异，应及时复查，必要时应联系临床医师共同探讨可能的原因。

【临床意义】

1. 红细胞 全自动尿液有形成分分析仪提供的红细胞形态相关信息，对鉴别血尿的来源具有重要价值。非均一性红细胞可作为肾小球性血尿可靠的诊断依据。其影响因素有：①结晶、真菌、细菌等增多时，其参数结果与红细胞参数相重叠，可误计为红细胞，以草酸钙结晶最常见。②如果血尿同时存在菌尿、尿渗量 $\leq 700\text{mmol/kg H}_2\text{O}$ 、 $\text{pH} \geq 7.0$ 或放置时间过长，则均一性红细胞有可能向非均一性红细胞转变。

2. 白细胞与细菌 泌尿系统感染时，尿液中除了白细胞增多外，常同时存在大量细菌。白细胞、细菌组合检查对泌尿系统感染的诊断有重要意义。存活的白细胞呈现出 Fsc 强和 Fl 弱的特点，而受损或死亡的白细胞表现为 Fsc 弱和 Fl 强。因此，通过 WBC-MFsc 可了解尿液白细胞的状态。影响因素有：大量上皮细胞、真菌、滴虫、脂肪滴等，可使尿液白细胞计数不同程度地增高。

3. 上皮细胞 健康人尿液中可见少量鳞状上皮细胞，泌尿系统感染时上皮细胞增多。全自动尿液有形成分分析仪能给出上皮细胞的定量结果，并标记出是否含有小圆上皮细胞。由于仪器所标识的小圆上皮细胞是指大小与白细胞相似或略大、形态较圆的上皮细胞，并不能准确区分肾小管上皮细胞、中层或底层移行上皮细胞。因此，当上皮细胞数量明显增多时，需用显微镜检查进行准确分类。影响因素有：大量白细胞、滴虫等，检测参数与上皮细胞重叠，上皮细胞计数显著增高。

4. 管型 健康人尿液中可见极少量的透明管型，但由于管型的种类较多，且形态特点各不相同，仪器只能区分出透明管型和病理管型。因此，当仪器标示出现病理管型时，需进一步采用显微镜检查以进行准确分类。影响因素有：①黏液丝、棉毛、麻纤维等类管型异物可引起假阳性。②有些管型短而小，易被仪器漏检，产生假阴性。

5. 其他 全自动尿液有形成分分析仪还能提示真菌(YLC)、结晶(X-TAL)和精子

(SPERM)等,电导率反映尿液粒子的电荷,仅代表总粒子中带电荷的部分(即电解质),与尿渗量既有关系又有差别。

(胡嘉波)

本章小结

尿液理学检查主要包括尿量、颜色、透明度、比重及尿渗量等。尿液化学成分的检测已成为尿液检验的重要内容,由于尿液化学分析仪的广泛应用,目前已有多个项目成为临床的常规检测项目。但尿液化学检测方法受多种因素干扰,不可避免地出现假阳性、假阴性问题,且有些干扰可使此项目产生假阳性,可使另一项目或方法产生假阴性。因此,必须正确分析出现假阳性、假阴性的原因和正确判断结果的可靠性。维生素C的检测在一定程度上起到了此作用,根据其浓度可以提示其他检测项目结果的准确性。

尿液干化学分析仪是检测尿液化学成分的自动化仪器,其主要优点是:标本用量较少;速度快、项目多;重复性好,准确性较高;适用于大批量标本的筛检。虽然,尿液干化学分析仪一般不受人为因素的影响,但尿液分析准确与否却受许多因素的影响,必须重视尿液干化学法和多联试带的质量控制,把握检测前、检测中、检测后的质量控制环节。

采用光学显微镜检查尿液血细胞形态,可以了解泌尿系统的出血、炎症或其他病变的性质。尿液上皮细胞常能提示相应解剖部位有病变。管型对急性或慢性肾炎、肾病综合征有较特异的诊断意义。影响尿液有形成分显微镜检查的因素很多,必须严格按照检测前、检测中和检测后的质量保证体系做好全程质量控制。

尿液有形成分分析仪具有快速、误差小、精密度高、保护检验人员安全等特点。除了给出主要有形成分的定量参数外,还给出一些标记参数和有关红细胞的信息。检测过程中应注意质量控制,保证结果准确。它比手工显微镜检查具有优势,但也存在明显不足,因此,目前尿液有形成分分析仪还不能完全取代显微镜。全自动尿液有形成分分析主要用于肾脏疾病及其他相关疾病的诊断、治疗和预后判断,还可提供红细胞形态的相关信息,对鉴别血尿来源具有重要价值。

参考文献

1. 丛玉隆. 尿液沉渣检查标准化的建议. 中华检验医学杂志, 2002, 25(4): 249-250.
2. 丛玉隆, 马俊龙. 当代尿液分析技术与临床. 北京: 中国科学技术出版社, 1998.
3. 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程. 第3版. 南京: 东南大学出版社, 2006.
4. 王建中. 实验诊断学. 北京: 北京医科大学出版社, 2010.
5. 丛玉隆. 尿液有形成分检查及镜检筛选标准的制定. 中华检验医学杂志, 2011, 34(6): 481-483.
6. 吴晓蔓. 临床检验基础实验指导. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
7. 乐杰. 妇产科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
8. 周新, 府伟灵. 临床生物化学与检验. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
9. 王兰兰, 吴健民. 临床免疫学与检验. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2007.

第六章

粪便检验

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

1. 粪便检验标本的采集要求有哪些?
2. 粪便颜色、性状变化的临床意义是什么?
3. 化学法粪便隐血试验的原理是什么?
4. 粪便隐血试验检测前的质量保证有哪些要求?
5. 比较化学法与单克隆抗体免疫胶体金法粪便隐血试验的优缺点分别是什么?
6. 粪便隐血试验的临床意义是什么?
7. 什么是脂肪泻? 粪便脂肪检查有何临床意义?
8. 粪便红细胞、白细胞检查的临床意义是什么。
9. 粪便分析工作站的优点有哪些?

粪便(feces)是食物在体内消化的最终产物,是由未消化的食物残渣、食物的分解产物、消化液、胃肠道脱落的上皮细胞和白细胞、肠道正常菌群等组成。病理性粪便还可出现异常的有形成分,如红细胞、寄生虫及虫卵、病理性结晶、结石及致病菌等。

粪便检查的主要目的是:①了解消化道有无感染、出血、恶性肿瘤等。②根据粪便的性状与组成,了解胃肠道和肝胆系统的功能状况。③检查肠道致病菌,协助诊断肠道传染病。④粪便隐血试验可作为消化道恶性肿瘤的筛检试验。⑤根据粪便的颜色、粪胆素的检查,有助于鉴别黄疸的类型。

第一节 粪便标本采集和处理

一、粪便标本采集

粪便检验标本采集及送检正确与否,直接影响到检验结果的准确性。如便盆或坐厕中的粪便常混有尿液、消毒剂及污水等,可破坏粪便的有形成分;灌肠或服用油类泻剂后的粪便常因过稀且混有油滴等原因,也影响检验结果,不适宜做检验标本。

1. 常规检查标本 常规检查包括颜色和显微镜检查,应采集新鲜标本,选择含有异常成分的粪便,如黏液或脓血等部分;外观颜色无异常的粪便则必须从其表面、深处及末端等多处采集。一般采集3~5g粪便送检。

2. 寄生虫检查标本 送检时间不宜超过 24 小时，如检查肠道原虫滋养体，应立即检查。寄生虫检查采集粪便标本的要求见表 6-1。原虫和某些蠕虫有周期性排卵现象，未发现寄生虫或虫卵时，应连续送检 3 天，以免漏诊。

表 6-1 寄生虫检查粪便标本采集要求

项目	要求
阿米巴滋养体	采集粪便脓血和稀软部分，并立即送检；运送及检查时均需保温，以保持滋养体的活力
血吸虫毛蚴	标本至少 30g，必要时取全部粪便送检
蛲虫卵	用浸泡生理盐水的棉签或透明薄膜拭子，于夜 12 时或清晨排便前，自肛门皱襞处拭取标本
虫体及虫卵计数	采集 24 小时粪便，检查虫体时应仔细搜查或筛检，检查虫卵时应混匀标本后检查，并坚持“三送三检”

3. 化学法隐血试验 试验前 3 天禁食肉类、动物血和某些蔬菜等，并禁服铁剂及维生素 C 等可干扰试验的药物。

4. 脂肪定量试验 先定量服食脂肪膳食，每天 50~150g，连续 6 天，从第 3 天起开始采集 72 小时内的粪便，将采集的标本混合称量，并采集 60g 送检。如采用简易法，可在正常膳食情况下采集 24 小时标本，混合后称量，采集 60g 粪便送检。

5. 粪胆原定量试验 应连续采集 3 天粪便标本，每天混合称重，取约 20g 送检。

6. 其他 无粪便排出而又必须检验时，可经直肠指诊或采便管采集标本。

二、粪便标本处理

粪便检验后应将粪便和纸类或塑料等容器投入焚化炉中烧毁；搪瓷容器、载玻片等应浸泡于消毒液中（如 0.5% 过氧化乙酸、苯扎溴铵等）24 小时后弃消毒液，再加水煮沸、流水冲洗，晾干或烘干后备用。

第二节 粪便一般检查

一、粪便理学检查

1. 粪便量 健康人粪便量与进食食物种类、食量及消化器官的功能状态有关。进食细粮及肉食者，粪便细腻而量少；进食粗粮或多食蔬菜者，因粪便纤维含量高而粗糙量多。一般健康成人排便频率可隔天 1 次至每天 2 次，多数为每天 1 次，每次排便量约为 100~250g（干重 25~50g）。当胃肠道、胰腺有炎症或功能紊乱时，粪便量和排便次数均有不同程度的增加。

2. 颜色 健康成人粪便因含粪胆素而呈黄褐色；婴儿粪便因所含的胆红素未转变成胆绿素，而呈黄绿色或金黄色糊状。粪便颜色变化可能的原因见表 6-2。

3. 性状 健康成人的粪便为成形、条带状，其性状、硬度常与进食的食物种类有关。病理情况下粪便性状变化的临床意义见表 6-3。

4. 寄生虫 粪便中存在虫体较大的肠道寄生虫，如蛔虫、蛲虫、绦虫等或其片段时，肉眼即可分辨。钩虫虫体需要粪便筛洗后才能发现。

表 6-2 粪便颜色变化可能的原因

颜色	非病理性	病理性
鲜红色	食用番茄和西瓜	肠道下段出血(如痔疮、肛裂、直肠癌等)
果酱色	食用大量咖啡、可可、巧克力等	阿米巴痢疾、肠套叠等
灰白色	服用硫酸钡, 进食过量脂肪或金霉素	胆道梗阻、肠结核、胰腺疾病
绿色	食用大量绿色蔬菜或甘汞	婴儿肠炎(胆绿素未转变为粪胆素)
黑色	食用铁剂、动物血、肝脏、活性炭及某些中药	上消化道出血
黄色	新生儿粪便, 服用大黄、山道年	胆红素未氧化及脂肪不消化

表 6-3 粪便性状变化的临床意义

粪便	特点	临床意义
稀汁便	脓样, 含有膜状物	伪膜性肠炎、隐孢子虫感染
	洗肉水样	副溶血性弧菌食物中毒
	红豆汤样	出血性小肠炎
	稀糊或稀汁样	急性(胃)肠炎
米泔样便	白色淘米水样, 含有黏液片块, 量多, 脓细胞少见	霍乱、副霍乱
黏液便	小肠病变时黏液混于粪便中, 大肠病变时黏液附着在粪便表面	肠道炎症或受刺激、肿瘤或便秘、某些细菌性痢疾
溏便	粥样、内容物粗糙	消化不良、慢性胃炎、胃窦潴留
脓状便	黏脓状、膜状或纽带状物	过敏性肠炎、慢性细菌性痢疾
鲜血便	鲜红色, 滴落于排便之后或附在粪便表面	直肠癌、直肠息肉、肛裂或痔疮
脓血便	脓样、脓血样、黏液血样、黏液脓血样	细菌性痢疾(以黏液及脓细胞为主)、阿米巴痢疾(以红细胞为主)、结肠癌、肠结核、溃疡性结肠炎
乳凝块	黄白色乳凝块或蛋花样	脂肪或酪蛋白消化不全, 婴儿消化不良、婴儿腹泻
变形便	球形硬便	习惯性便秘、老年人排便无力
	细条、扁片状	肠痉挛、直肠或肛门狭窄
	细铅笔状	肠痉挛、肛裂、痔疮、直肠癌

二、粪便化学检查

粪便的化学检查有酸碱度反应、隐血试验、粪胆素、粪胆原和脂肪测定等, 其中隐血试验是最有意义的化学检查。

(一) 粪便隐血试验

上消化道出血量 < 5ml, 粪便中无可见的血液, 且红细胞被破坏, 显微镜检查也未见到红细胞。需用化学法、免疫法等才能证实的出血, 称为隐血, 检查粪便隐血的试验称为粪便隐血试验(fecal occult blood test, FOBT)。

【检测原理】

1. 化学法 FOBT 的化学方法较多, 如邻联甲苯胺法、邻甲苯胺法、还原酚酞法、联苯

胺法、愈创木酯法、匹拉米洞法、无色孔雀绿法等。其原理是利用血红蛋白中的含铁血红素有类似过氧化物酶的作用，将供氢体（色原）中的氢转移给 H_2O_2 生成水（ H_2O ），供氢体脱氢（氧化）后形成发色基团而呈色。呈色的深浅可反映血红蛋白（出血量）的多少。

2. 免疫学方法 免疫单向扩散法、对流免疫电泳、酶联免疫吸附试验、胶体金免疫层析试验、胶乳免疫化学凝聚法、放射免疫扩散法、反向间接血凝法、单克隆抗体胶体金免疫层析试验等。

3. 转铁蛋白测定法 当消化道出血时，粪便中出现大量转铁蛋白，其稳定性高于 Hb，能抵抗肠道细菌的分解作用。因此，联合检测转铁蛋白和 Hb，是判断消化道出血的良好指标。

4. 其他方法 如同位素法、卟啉荧光法血红蛋白定量试验等。

【方法学评价】 目前，国内外尚无统一公认的标准化方法。美国胃肠病学学会（AGA）推荐愈创木酯法或免疫学方法。

1. 化学法 为常用的方法。虽然，化学法有多种色原性反应底物，但其基本检测原理相似。常用的有邻联甲苯胺法、愈创木酯法等，传统使用的化学法已经被目前的试带法所替代，使检测更加便捷。

目前，以四甲基联苯胺（3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine, TMB）和愈创木酯为显色基质的隐血试带在临床上广泛使用，患者可自行留取标本进行检查，特别适用于大规模消化道肿瘤的普查。

（1）灵敏度和特异性：灵敏度与试剂类型、粪便血红蛋白浓度、过氧化物酶浓度及显色物质有关。FOBT 化学法的方法学评价见表 6-4。

表 6-4 FOBT 化学法的方法学评价

方法	特点	评价
邻联甲苯胺法	灵敏度高、假阳性高	Hb 0.2~1.0mg/L 即可检出，可检出消化道有 1~5ml 出血。灵敏度高，粪便有微量血液即呈阳性
匹拉米洞法	灵敏度、特异性中等	Hb 1~5mg/L 即可检出，消化道有 5~10ml 出血即为阳性
愈创木酯法	灵敏度低、特异性高	Hb 6~10mg/L 可检出（此时消化道出血可达 20ml）；受食物、药物影响小，假阳性率低

为了减少粪便隐血试验的假阳性和假阴性，一般采用中度灵敏度的方法；但可联合使用灵敏度高和灵敏度低的 2 种方法。邻联甲苯胺法为 1983 年中华医学会全国临床检验方法学学术会推荐的方法。试带法虽然使用方便，但试带不稳定、特异性较低。

（2）干扰因素：FOBT 化学法的干扰因素与评价见表 6-5。

2. 免疫学方法 胶体金性质稳定，并能呈色；胶体金与单克隆抗体结合稳定性好，可定性和半定量测定，判断结果准确；灵敏度高，检测便捷、特异性好等。

（1）灵敏度和特异性

1) 灵敏度：美国癌症学会（ACS）认为免疫学方法的特异性和灵敏度相当于或优于愈创木酯法，且不受食物因素影响，无须禁食。血红蛋白达到 200mg/L 或 0.03mg/g 粪便时即可呈阳性。

表 6-5 FOBT 化学法的干扰因素与评价

因素	评价
标本因素	①假阴性：因标本陈旧而灵敏度减低，血液在肠道停留过久，Hb 被细菌降解 ②假阳性：粪便隐血来源于非消化道，如齿龈出血、鼻出血、月经血等
食物因素	假阳性见于含血红蛋白的动物血，鱼、肉、肝脏，含过氧化物酶的叶绿素新鲜蔬菜
药物因素	①引起消化道出血：抗凝剂、阿司匹林、秋水仙素、大剂量铁剂、类固醇等 ②假阳性：铁剂、秋水仙素、萝芙木碱、氧化性药物（碘、溴化物、硼酸）等 ③假阴性：大量维生素 C 或其他具有还原作用的药物
器材和试剂	①假阳性：器材被铜离子、铁离子、消毒剂、溴、铁、硼酸、过氧化物酶等污染。 ②假阴性：H ₂ O ₂ 浓度低或失效、试剂保存温度和湿度不当（如冰冻、受光、受热和受潮等）
操作过程	假阴性见于反应时间不足、显色判断不准。试验前在标本中加水减低了灵敏度，而实际上同时增高了假阳性

2) 特异性：具有高度特异性，且不受动物血红蛋白和辣根过氧化物酶等干扰，也不受新鲜蔬菜、铁剂、维生素 C 的干扰。

(2) 干扰因素：FOBT 免疫学方法的干扰因素与评价见表 6-6。

表 6-6 FOBT 免疫学方法的干扰因素与评价

因素	评价
生理因素	消化道每天排出血液达 0.5~1.5ml/24h，个别可达 3ml/24h，长跑运动员平均可达 4ml/24h。服用阿司匹林 2.5g（即可引起消化道出血 2~5ml/24h），FOBT 可呈阳性
标本因素	假阴性见于消化道大量出血，粪便 Hb 浓度过高，即抗原过剩（后带现象）。假阴性还可见于 Hb 经过消化酶降解变性，丧失原有免疫原性或单克隆抗体与粪便 Hb 抗原不匹配
食物因素	各种动物 Hb（500mg/L）、辣根过氧化物酶（200mg/L）不干扰免疫学方法，故不必限制饮食
药物因素	胶体金法具有特异性强、灵敏度高、检测简便等优点；但服用刺激消化道药物后可造成假阳性
器材和试剂	试剂盒保存不当、失效等出现假阴性
操作过程	直接低温保存（15℃ 以下）的标本，可出现假阴性

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 FOBT 主要用于消化道出血、消化道肿瘤的筛检和鉴别。

1. 消化道出血的判断 FOBT 阳性见于消化道出血、药物导致的胃黏膜损伤（如服用阿司匹林、吲哚美辛、糖皮质激素等）、肠结核、Crohn 病、胃溃疡、各种胃炎、溃疡性结肠炎、结肠息肉、钩虫病、消化道恶性肿瘤等。

2. 消化性溃疡与肿瘤出血的鉴别 FOBT 对消化性溃疡的阳性诊断率为 40%~70%，呈间断性阳性；治疗后，当粪便外观正常时，FOBT 阳性仍可持续 5~7 天，如出血完全停止，隐血试验即可转为阴性。消化道恶性肿瘤阳性率早期为 20%，晚期可达 95%，且呈持续性阳性。

目前，对消化道肿瘤早期诊断仍缺乏较好的手段，但消化道肿瘤 FOBT 阳性率平均为 87%。美国临床生物化学学会（NACB）关于 FOBT 临床应用循证评价时，建议对 50 岁以上

的人群,进行1年1次或2年1次愈创木酯法FOBT筛检,因为FOBT简便、价廉、无危害,且经过大规模筛检可及时发现和处理,可提高结直肠癌的检出率(但FOBT不能降低结直肠癌的发病率)。

(二) 脂肪

粪便脂肪检查可作为了解消化道的消化功能和吸收功能的参考指标。粪便脂肪检查方法有显微镜检查法、称量法和滴定法等,或测定血清胡萝卜素、维生素A,间接了解脂肪的吸收情况。

【检测原理】

1. 称量法 将粪便标本经盐酸处理后,使结合脂肪酸变为游离脂肪酸,再用乙醚萃取中性脂肪及游离脂肪酸,经蒸发去除乙醚后,精确称其重量。

2. 滴定法 将粪便中脂肪与氢氧化钾、乙醇溶液一起煮沸皂化,冷却后加入过量的盐酸使脂皂变成脂酸,再以石油醚提取脂酸,取1份提取液蒸干,其残渣以中性乙醇溶解,以氢氧化钠滴定,计算总脂肪酸含量。

3. 脂肪吸收率 脂肪定量也可计算脂肪吸收率,以评估消化吸收功能。在测定前2~3天给予脂肪含量为100g的标准膳食,自测定日起,仍继续给予标准膳食,连续3天采集24小时粪便标本测定总脂,吸收率计算如下:

$$\text{脂肪吸收率}(\%) = \frac{\text{膳食总脂量} - \text{粪便总脂量}}{\text{膳食总脂量}} \times 100\%$$

【方法学评价】 ①称量法和滴定法:为定量法,准确量化、客观,但所代表的是总脂肪酸,不包含中性脂肪中的甘油部分。②显微镜检查法:简单易行,但准确率低,只能作消化吸收不良的筛检试验,而不能作为诊断的依据。

【参考区间】 成人粪便总脂量(以总脂肪酸计算):2~5g/24h,或为干粪便的7.3%~27.6%;成人进食脂肪50~150g/24h,排出量<7g,脂肪吸收率>95%。

【临床意义】 粪便脂肪包括结合脂肪酸、游离脂肪酸和中性脂肪,主要来自食物,少部分来自消化道分泌、细胞脱落和细菌代谢。当脂肪消化吸收能力减退时,粪便总脂肪量大量增加,若24小时粪便总脂肪量超过6g,称脂肪泻(steatorrhea)。粪便脂肪增加可见于:①胰腺疾病:慢性胰腺炎、胰腺癌、胰腺纤维囊性变等。②肝胆疾病:胆汁淤积性黄疸、胆汁分泌不足、病毒性肝炎、肝硬化等。③小肠病变:乳糜泻、Whipple病(肠源性脂肪代谢障碍综合征)、蛋白丢失性胃肠病等。④其他:胃、十二指肠痿,消化性溃疡等。

三、粪便显微镜检查

粪便显微镜检查主要是检查粪便中有无病理成分,如各种细胞、寄生虫及虫卵、致病细菌、真菌、原虫等。

(一) 细胞

粪便中常见细胞为白细胞、红细胞。检查时应选择含黏液脓血部分的粪便检查,或从成形便表面、深处及多处采集标本,将粪使用生理盐水混悬于载玻片上,于显微镜下检查各种细胞,目前也可采用粪便分析工作站(染色后)检查。

1. 白细胞(脓细胞) 粪便中常见的白细胞为中性粒细胞,形态完整者与血液中的粒细胞无差别。病理情况下,中性粒细胞呈灰白色、胞体肿胀、坏死、破碎、结构不完整、胞质内

充满细小的颗粒、胞核不清楚(即脓细胞),常成堆出现。

健康人粪便无或偶见白细胞。病理情况下,白细胞数量与炎症程度及部位有关。①肠炎:白细胞增多不明显,一般<15个/HP,分散存在。②细菌性痢疾、溃疡性结肠炎:可见大量白细胞或成堆出现的脓细胞,以及吞噬异物的小吞噬细胞。③肠易激综合征、肠道寄生虫病(尤其是钩虫病及阿米巴痢疾):粪便中有较多的嗜酸性粒细胞,可伴有 Charcot-Leyden 结晶。

2. 红细胞 粪便中红细胞呈草绿色、略有折光性的圆盘状,有时可因粪便 pH 影响,而呈皱缩状。

健康人粪便无红细胞。上消化道出血时,由于胃液的消化作用,红细胞已被破坏,粪便中也难见到;下消化道炎症或出血时可出现数量不等的红细胞,如痢疾、溃疡性结肠炎、结肠癌、直肠息肉、痔疮、急性血吸虫病等。消化系统疾病时由于炎症损伤出血,白细胞、红细胞可同时存在。细菌性痢疾时红细胞多分散存在且形态正常,数量少于白细胞;阿米巴痢疾红细胞多粘连成堆并有残碎现象,数量多于白细胞。

3. 大吞噬细胞(巨噬细胞)大吞噬细胞来自血循环中的单核细胞。胞体大,直径一般>20μm,可为中性粒细胞体积3倍或以上,呈圆形、卵圆形或不规则形;胞核1~2个,大小不等,常偏于一侧;常含有吞噬的颗粒、细胞碎屑或较大的异物;可散在分布或成群出现,细胞多有不同程度退化变性现象;有时与溶组织内阿米巴滋养体相似,应特别注意鉴别。

健康人粪便无大吞噬细胞。粪便中出现大吞噬细胞见于急性细菌性痢疾、急性出血性肠炎,偶见于溃疡性肠炎。

4. 上皮细胞 粪便中的上皮细胞为肠黏膜上皮细胞。除直肠段被覆复层鳞状上皮细胞外,整个小肠、大肠黏膜上皮细胞均为柱状上皮细胞;细胞呈卵圆形或短柱状,两端钝圆,细胞较厚,结构模糊,夹杂于白细胞之间。健康人粪便中很少见到柱状上皮细胞(少量脱落柱状上皮细胞已破坏)。柱状上皮细胞增多见于结肠炎症、伪膜性肠炎。

(二) 食物残渣和结晶

1. 食物残渣类

(1) 脂肪:苏丹Ⅲ染色后,粪便中脂肪可分为中性脂肪、游离脂肪酸和结合脂肪酸3种(表6-7)。

表 6-7 粪便脂肪的分类与特点

分类	特点	苏丹Ⅲ染色
中性脂肪	即脂肪小滴,大小不一、圆形、折光性强的小球状	朱红色或橘红色
游离脂肪酸	呈片状、针束状结晶,加热后即熔化	片状者染成橘黄色,针状者不着色
结合脂肪酸	脂肪酸与钙、镁等结合形成的不溶性物质,呈黄色、不规则块状或片状,加热不溶解	不被染色

(2) 淀粉颗粒(starch granule):外形为圆形、椭圆形或多角形颗粒,大小不等,在盐水涂片中一般可见同心形的折光条纹,无色,具有一定折光性,滴加碘液后呈黑蓝色,若部分水解为糊精者则呈棕红色。

(3) 肌纤维:为淡黄色条状、片状、有纤细的横纹,如加入伊红可染成红色。

(4) 植物细胞及植物纤维：呈螺旋小管或蜂窝状，可见形态繁多的植物细胞。呈圆形、长圆形、多角形，双层细胞壁，细胞内有叶绿素小体，需注意与寄生虫虫卵鉴别。

正常情况下，食物经充分消化后粪便中极少见食物残渣，当消化功能减退时，缺乏脂肪酶或胃蛋白酶，可造成消化不良和吸收障碍，因而使脂肪水解不全，出现肌纤维、植物细胞及植物纤维等食物残渣增多。常见于各种原因引起的脂肪泻、腹泻、慢性胰腺炎、肠蠕动亢进等。

2. 结晶 粪便内可见多种结晶，如磷酸盐、草酸钙、碳酸钙结晶，但量少、无临床意义。但出现 Charcot-Leyden 结晶、血红素结晶时，则提示消化道出血。主要见于消化道出血、阿米巴痢疾、钩虫病及过敏性肠炎，此时常伴有嗜酸性粒细胞增多。

(三) 病原学检查

1. 寄生虫虫卵 粪便检验是诊断肠道寄生虫感染最直接和最可靠的方法。粪便涂片中可见到寄生虫虫体或虫卵，如蛔虫卵、鞭虫卵、钩虫卵、蛲虫卵、肺吸虫卵、肝吸虫卵、血吸虫卵、姜片虫卵等(图 6-1, 图 6-2, 图 6-3)。检查时要注意虫卵的大小、色泽、形状、卵壳厚薄及内部结构等，认真观察予以鉴别。

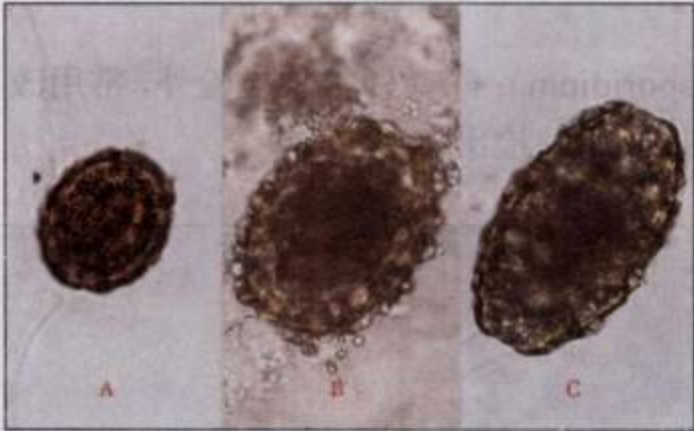


图 6-1 寄生虫虫卵-1

A 感染性蛔虫卵 B 受精型蛔虫卵 C 未受精型蛔虫卵

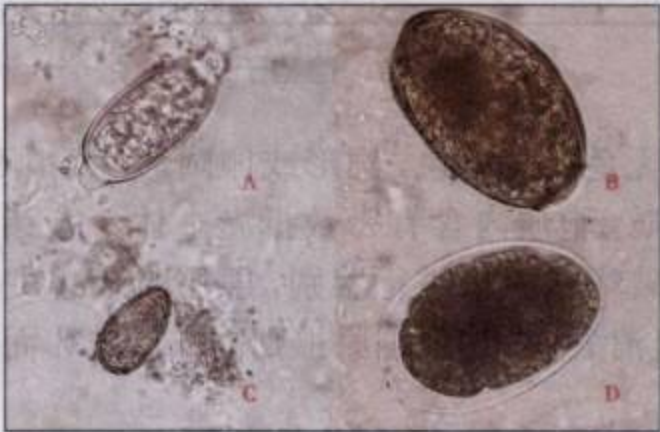


图 6-2 寄生虫虫卵-2

A 鞭虫卵 B 肺吸虫卵 C 肝吸虫卵 D 钩虫卵

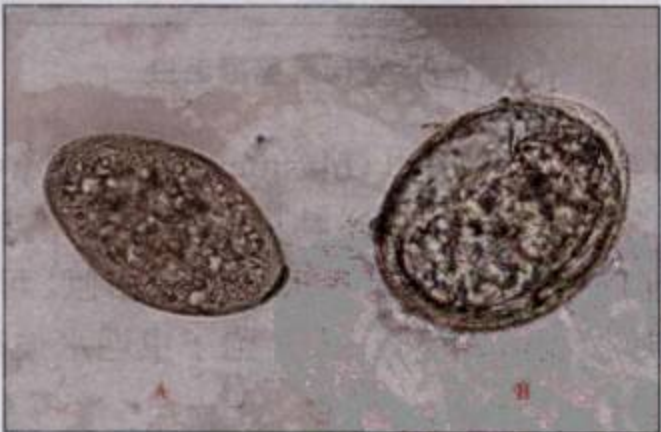


图 6-3 寄生虫虫卵-3

A 姜片虫卵 B 血吸虫卵

寄生虫虫卵检查方法有直接涂片法、厚涂片透明法、加藤法、浓集法(自然沉淀、离心沉淀法、甲醛-乙酸乙酯沉淀法)、浮聚法等。可根据不同虫卵特点选择不同方法，其中甲醛-乙酸乙酯沉淀法、厚涂片透明法和加藤法为 WHO 推荐的方法。

2. 肠道原虫

(1) 溶组织内阿米巴(*entamoeba histolytica*): 取新鲜粪便的脓血黏液部分进行显微镜检查可见到滋养体(图 6-4), 或找到包囊(图 6-5)。



图 6-4 溶组织内阿米巴滋养体

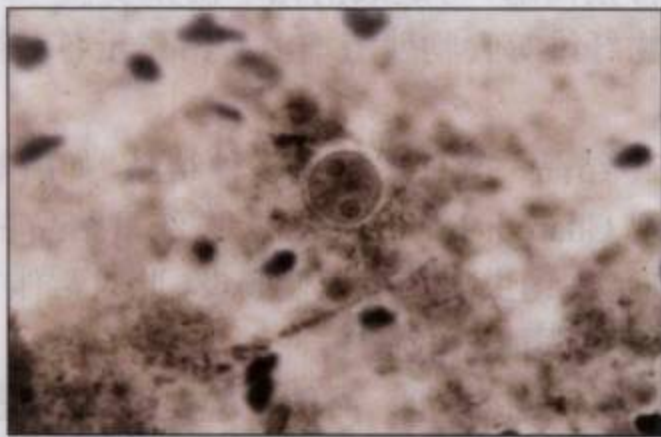


图 6-5 溶组织内阿米巴包囊

(2) 蓝氏贾第鞭毛虫(*giardia lamblia*): 滋养体的形态如纵切的半个去核的梨, 前端钝圆, 后端尖细, 背面隆起而腹面凹陷, 两侧对称形似勺形, 腹部前半部有吸盘, 借此可吸附于肠黏膜上(图 6-6)。

(3) 隐孢子虫(*cryptosporidium*): 除粪便常规检验外, 常用改良抗酸染色法、金胺 - 酚 - 改良抗酸染色法等方法来提高阳性检出率(图 6-7)。

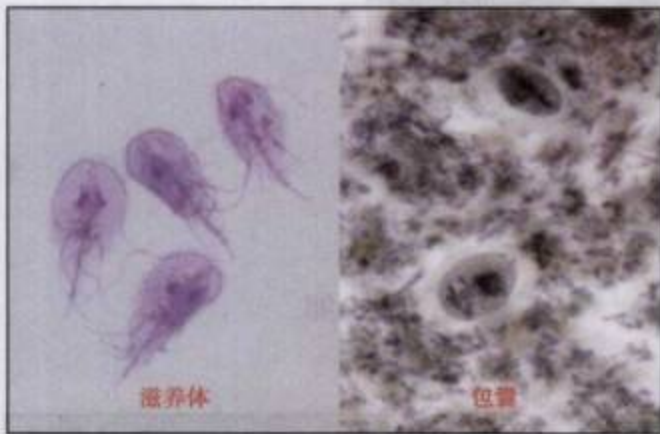


图 6-6 蓝氏贾第鞭毛虫

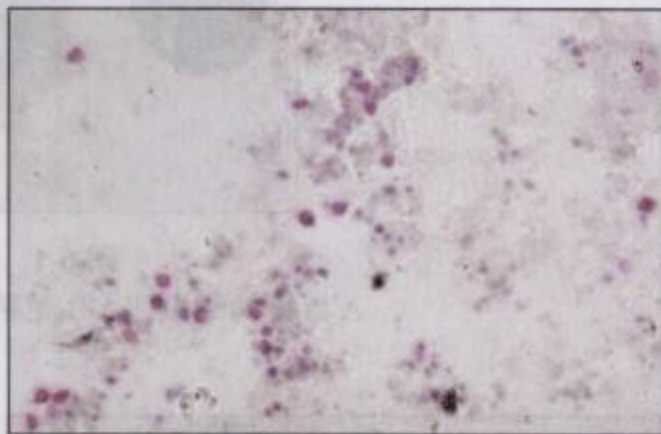


图 6-7 隐孢子虫

(4) 人芽孢子虫(*blastocystis hominis*): 为无色或淡黄色, 圆形或卵圆形, 大小不一, 胞内含一巨大透明体, 其周边绕以狭窄的细胞质, 胞质内含有少数折光小体。人芽孢子虫与白细胞及原虫包囊形态十分相似, 可借助破坏试验来进行鉴别, 即用水代替生理盐水迅速做显微镜检查, 人芽孢子虫遇水被破坏而消失, 白细胞与原虫则因不易破坏而仍可见。

3. 细菌 健康人粪便中可见较多正常菌群, 其菌量和菌谱处于相对稳定状态, 保持着细菌与宿主间的生态平衡。但在某些病理情况下, 如长期应用抗生素或免疫抑制剂, 其菌量和菌谱发生改变而造成菌群失调, 即粪便中革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌比例 $> 1:10$, 正常菌群减少甚至消失, 而葡萄球菌或真菌等明显增多, 临床上称为肠道菌群失调症。某些情况下粪便中仍可检查到一些病原微生物, 但不能仅用粪便涂片检查, 而需要通过细菌培养等检查方法。

(1) 正常菌群: 以大肠杆菌、厌氧杆菌、肠球菌等为主, 约占 80%; 产气杆菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌等为过路菌, 不超过 10%。婴儿粪便中主要为双歧杆菌、拟杆菌、葡萄球菌和肠杆菌等。

(2) 霍乱弧菌: 检查霍乱弧菌的标本主要以患者的粪便为主, 其次为呕吐物。可用悬滴法检查或涂片染色检查。

(3) 幽门螺旋杆菌 (*helicobacter pylori*, Hp): Hp 是引起慢性胃炎的病原体。除了采用尿素呼吸试验检查 HP 和血清抗 Hp 抗体检查外, 也采用 ELISA 检查粪便 Hp 抗原, 或 PCR 扩增法检测粪便 Hp 基因。

(4) 真菌: 分为单细胞(酵母菌)和多细胞(丝状菌或霉菌)二类。健康人粪便中极少见。粪便中真菌(图 6-8)可见普通酵母菌、假丝酵母菌。假丝酵母菌以白假丝酵母菌最为常见, 在排除标本被污染的前提下, 常见于长期使用广谱抗生素、激素、免疫抑制剂, 放疗、化疗之后及各种慢性消耗性疾病的患者粪便。

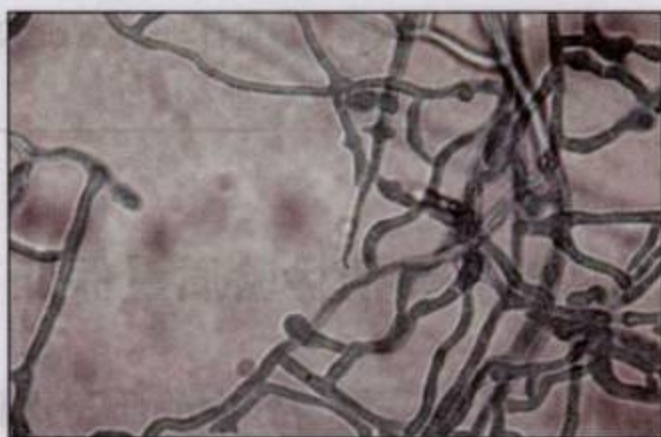


图 6-8 真菌

第三节 粪便分析工作站

粪便分析工作站 (feces analysis workstation) 包括标本浓缩收集管、自动加样装置、流动计数室、显微镜、电脑控制台, 可自动吸样、染色、混匀、重悬浮、传动装置, 通过观察粪便沉渣成分做出定量计数。

【检测原理】 根据动力管道产生吸力的原理, 在微电脑控制台的控制下自动吸样, 在蠕动泵作用下, 自动吸入沉淀物、染色、混匀、重悬浮, 在光学流动管标准流动计数室内计数。工作站每次吸入的标本量和吸入时间是恒定的, 并可对高浓度标本自动稀释, 观察分析后自动冲洗。

工作站有内置数码相差显微镜和成像系统, 根据光学原理提供相差和平场光 2 种视场, 来观察粪便有形成分的立体结构和平面结构。计算机数据处理系统通过成像系统进行文字、图像传输, 再经激光打印出粪便检验报告单(包括患者资料、检查结果)。

【检测参数】 粪便分析工作站能检出肠道寄生虫虫卵、幼虫、原虫、血细胞、食物残渣、结晶、真菌等 20 多个参数, 并能在屏幕上显示出数据和图像, 图像清晰、可定量报告。检测结果在报告单发送前可编辑处理。标识清楚, 已完成的检测结果、已打印的记录或已存储的图片, 均可在相应的位置出现不同的标记。如患者曾进行的粪便检验, 在该系统中可检

索出历史结果。

【方法学评价】 与传统的显微镜检查法比较，该系统具有许多优点。粪便分析工作站的优点与评价见表 6-8。

表 6-8 粪便分析工作站的优点与评价

优点	评价
简便快速	简便快速；只需按照提示操作，工作站将在数秒内完成分析，并可以重复进行检测。并与显微镜系统、电脑、打印机组合，可储存和查询检验结果，并可打印报告单
干扰因素少	标本收集管能对本标本进行浓集和过滤。避免沉渣干扰观察，使检查视野非常清晰，易于发现病理成分，还能对高浓度浓缩物进行自动稀释
阳性率高	具有 2 个双通道流动计数室（染色和不染色），双重计数，提高阳性率
高安全性	无害化处理标本（在离心管内经过甲醛杀菌、乙酸乙酯乳化），达到无臭无污染。封闭系统内进行分析，避免粪便标本对检验人员的危害和环境污染
成本低	无须吸管、载玻片、盖玻片等，每次检测后可自动清洗管道及双通道流动计数室
智能化	与计算机网络连接，实现无纸化数据传输、储存或检索

第四节 粪便检验质量保证

一、粪便标本采集与处理的质量保证

- 1. 容器特点 采集常规检查的粪便标本，应使用一次性、无渗漏、有盖、无污染物的干净容器，且大小适宜。用于细菌培养的容器应无菌，且标识明显。
- 2. 标本要求 应根据检验目的选择最有价值的标本，如含脓血、黏液或颜色异常的标本。选择合适的寄生虫和虫卵检查标本，送检量尽量多，避免因标本量不足而漏检。
- 3. 及时送检 检查肠内原虫滋养体时，应立即检查，冬天应保温送检；一般常规检查不应超过 1 小时，寄生虫和虫卵检查不宜超过 24 小时。
- 4. 患者准备 检测前告知患者停用影响检验结果的药物和食物。

二、粪便显微镜检查的质量保证

- 1. 工作人员 要做好技能培训工作，以提高专业水平和显微镜检查的识别能力。正确掌握粪便病理成分的形态学特点和鉴别方法，加强质量意识，重视粪便检验工作。
- 2. 标本涂片 涂片厚薄适宜，以能透视纸上字迹为宜，加盖玻片。视野应清晰，必要时进行涂片染色检查。使用新鲜生理盐水涂片，避免杂菌生长。
- 3. 显微镜检查 应按“城垛”式观察顺序，先用低倍镜观察全片，然后用高倍镜观察 10 个以上视野，以防漏检。

三、粪便隐血试验的质量保证

- 1. 检测前 FOBt 前质量保证的项目与要求见表 6-9。

表 6-9 FOBT 前质量保证的项目与要求

项目	要求
患者准备	告知患者检测过程,指导患者留取合适的粪便标本
标本	①采用化学法 FOBT,患者必须在试验前 3 天停止服用干扰检测的药物,如维生素 C、阿司匹林等,并禁食动物血、肉、鱼、肝脏和大量含过氧化物酶的蔬菜 ②多部位采集标本(因血液在粪便中分布不均匀) ③不宜采集直肠指检标本和便池中标本,避免月经血、血尿混入粪便
器材	化学法应防止过氧化物酶污染的影响,可通过加热处理器材,以消除其影响
试剂保存	试剂妥善保存于合格环境内,试纸为一次使用
试剂质量	①生产厂家必须有国家认可的资质证明文件 ②按照产品提供的说明书操作步骤,验证其方法的可行性及性能 ③产品性能评价(包括 Hb 稀释液验证、灵敏度、稳定性、临床标本验证等) ④避免因 H ₂ O ₂ 失效造成的假阴性(可将 H ₂ O ₂ 滴于血涂片上,如产生泡沫或滴加重铬酸钾硫酸液显褐色为有效)

2. 检测中 ①做阴性和阳性质控对照试验,每天对标准质控品进行质控。②有失控时必须重新进行试验。若仍失控时,要更换质控品或试带,重新进行质控,并立即查找失控原因,并做好记录,直至合格后方可检测患者标本。③保证试验的反应温度,温度低时应加热至适宜的温度后再进行试验。④要严格准确地按说明书的结果判断时间来判断结果。⑤单克隆抗体免疫法要避免后带现象引起的假阴性,对明显柏油样标本而检测结果阴性时,应适当稀释标本后再检查。⑥在 1 小时内检查完毕。

3. 检测后 严格做好检验报告的审核,必要时应联系患者的病情综合分析检验结果的可靠性,并及时与临床沟通,核实检验结果与疾病的符合率。如有不符,应分析检测前和检测中可能存在的影响因素。FOBT 作为筛检消化道出血的试验,一般消化道肿瘤 FOBT 呈持续阳性,而消化性溃疡 FOBT 呈间歇性阳性。因此,建议连续 3 次送检。

(袁汉尧)

本章小结

粪便检验在消化道疾病的诊断与鉴别诊断中有重要的意义,粪便检验包括理学、化学和显微镜检查等。显微镜检查发现寄生虫或虫卵可诊断相应的寄生虫病。隐血试验对于筛检消化道出血与消化道肿瘤是有重要临床意义的检查。

隐血检查的方法有化学法和免疫学方法等。化学法灵敏度高、但特异性较差,易受食物和药物的因素影响;化学法有多种色原性反应底物,各反应产生的颜色不同,但反应基本原理相似。免疫法特异性和灵敏度均较好,基本原理是采用抗人血红蛋白的单克隆抗体检测粪便隐血,目前国内外多采用单克隆抗体免疫胶体金法。良性病变粪便隐血试验为间断阳性,而消化道恶性肿瘤时多为持续性阳性,阳性率可达 95%。粪便脂肪检查对胰腺疾病(如慢性胰腺炎、胰腺癌)、肝胆疾病等诊断和鉴别有一定价值。

粪便显微镜检查也逐渐由手工法过渡到自动分析,目前粪便分析工作站可实现自动加样、混匀、染色,并作出粪便检查的定量计数和图像报告。

参 考 文 献

1. McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21st ed. Philadelphia: Saunders, 2007: 279-295.

第七章

体液检验

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

1. 脑脊液标本采集和处理的要求是什么?
2. 病理性脑脊液的颜色变化及临床意义是什么?
3. 脑脊液蛋白质检查有哪些方法? 其各自的特点是什么?
4. 脑脊液细胞计数的方法有哪些?
5. 漏出液和渗出液产生的机制和原因分别是什么?
6. 如何鉴别真性与假性乳糜性积液?
7. 如何鉴别漏出液和渗出液?
8. 有哪些检验项目可鉴别结核性和恶性胸腔积液?
9. 关节腔积液的化学检查有哪些?
10. 关节腔积液的特殊细胞有哪些?
11. 常见关节炎关节腔积液检查的特征有什么?
12. 精液一般检查项目有哪些?
13. 精液显微镜检查的主要内容是什么? 各有哪些检查方法?
14. 异常精子形态的种类和临床意义有哪些?
15. 计算机辅助精液分析的原理是什么?
16. 前列腺液显微镜检查的主要项目和临床意义是什么?
17. 阴道清洁度分级的根据是什么?
18. 检查阴道毛滴虫的方法有哪些?
19. 检查胎儿成熟度的指标有哪些? 其变化有何临床意义?
20. 阴道加德纳菌与线索细胞有何关系? 其临床意义是什么?
21. 胃酸测定项目和临床意义是什么?
22. 痰液检查的基本内容和意义是什么?

第一节 脑脊液检查

脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)是存在于脑室、蛛网膜下腔和脊髓中央管中的无色透明液体,主要由脑室脉络丛主动分泌,室管膜细胞也能分泌部分脑脊液,还有少量脑脊液是由血管滤过液进入蛛网膜下腔而形成。健康成人脑脊液总量约为 120~180ml, 约占体液总

量的 1.5%。

脑脊液具有重要的生理作用：①缓冲、减轻或消除外力对脑组织和脊髓的损伤。②调节颅内压。③供给中枢神经系统营养物质，并运走代谢产物。④调节神经系统碱储量，维持脑脊液 pH 在 7.31~7.34。⑤转运生物胺类物质，参与神经内分泌调节。

脑脊液中含有一定的细胞和化学成分，其含量与血浆相等或稍低。病理情况下，被血-脑脊液屏障隔离在外的物质可进入脑脊液，导致相应物质浓度增高。脑脊液检查可了解这些变化，对疾病的诊断有着重要的临床意义。脑脊液检查的灵敏度和特异性见表 7-1。

表 7-1 脑脊液检查的灵敏度和特异性

灵敏度 / 特异性	中枢神经系统疾病
高 / 高	细菌性脑膜炎、结核性脑膜炎、真菌性脑膜炎
高 / 中	病毒性脑膜炎、蛛网膜下腔出血、多发性硬化症、神经梅毒、椎旁脓肿
中 / 高	脑膜恶性肿瘤
中 / 中	颅内出血、病毒性脑炎、硬膜下血肿

一、脑脊液标本采集和处理

1. 标本采集 脑脊液由临床医师进行腰椎穿刺采集，必要时也可从小脑延髓池或侧脑室穿刺采集，穿刺成功后首先进行压力测定。待测定压力后，根据检查目的将脑脊液分别收集于 3 个无菌容器中，采集量的要求见表 7-2。第 1 管用于细菌学检查，第 2 管用于临床化学或免疫学检查，第 3 管用于常规检查。如疑为恶性肿瘤，再采集 1 管进行脱落细胞学检查。标本采集后应在检验申请单上注明标本采集的日期和时间。

表 7-2 脑脊液检查标本采集量

检查项目	成人 (ml)	儿童 (ml)	备注
细菌学及病毒学	2	1	如可能，应在治疗前或治疗结束后 36 小时采集
细胞学及化学	2~8	1~1.5	除细胞学检查外，其上清液用于临床化学或免疫指标检查

2. 标本转运 脑脊液标本必须由专人或专用的物流系统转运。为保证转运安全及防止标本溢出，转运过程中应采用密封的容器。如标本溢出，则立即采用 0.2% 过氧乙酸溶液或 75% 乙醇溶液进行消毒处理。

3. 标本保存和接收 ①脑脊液标本采集后立即送检，不能及时检查的标本需要保存于 2~4℃ 环境中，常规检查应在 4 小时内完成。脑脊液标本久置可造成细胞破坏或变形，并可产生纤维蛋白凝集而导致细胞分布不均，使检查结果不准确；葡萄糖酵解可造成葡萄糖含量假性减低。②合格脑脊液标本基本要求是：3 个脑脊液专用收集容器标识清晰、采集量满足检验项目需求。

二、脑脊液一般检查

(一) 理学检查

1. 透明度

【参考区间】 清澈透明。

【临床意义】 脑脊液白细胞总数超过 $300 \times 10^6/L$ 时,常会出现微浑或浑浊。蛋白质含量增高或含有大量细菌、真菌等,也可使其浑浊。结核性脑膜炎脑脊液常呈毛玻璃样微浑,化脓性脑膜炎常呈明显灰白色浑浊。健康人脑脊液可因穿刺损伤带入红细胞而呈轻度浑浊。

2. 颜色

【参考区间】 无色或淡黄色。

【临床意义】 中枢神经系统发生感染、出血、肿瘤时,脑脊液中可出现过多的白细胞、红细胞和其他色素,其颜色可发生异常改变。常见脑脊液颜色变化及临床意义见表 7-3。脑脊液新鲜性出血与陈旧性出血的鉴别见表 7-4。

表 7-3 脑脊液的颜色变化及临床意义

颜色	原因	临床意义
无色		健康人脑脊液、病毒性脑炎、轻型结核性脑膜炎、脊髓灰质炎、神经梅毒
红色	出血	穿刺损伤出血(最初几滴为红色,以后渐清)、蛛网膜下腔出血或脑室出血
黄色	黄变症	陈旧性出血、黄疸、淤滞和梗阻,黄色素、胡萝卜素、黑色素、脂色素增高
乳白色	白细胞增高	脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌、溶血性链球菌引起的化脓性脑膜炎
淡绿色	脓性分泌物增多	铜绿假单胞菌、肺炎链球菌、甲型链球菌所引起的脑膜炎
褐色或黑色	色素增多	脑膜黑色素瘤

表 7-4 脑脊液新鲜性出血与陈旧性出血鉴别

项目	新鲜性出血	陈旧性出血
外观	浑浊	清亮、透明
易凝性	易凝	不易凝
离心后上清液	无色透明	红色、黄褐色或柠檬色
红细胞形态	无变化	有皱缩
上清液隐血试验	多为阴性	阳性
白细胞计数	不增高	继发性或反应性增高

3. 凝固性

【参考区间】 无凝块、无沉淀(放置 24 小时不形成薄膜)。

【临床意义】 当脑脊液内蛋白质(包括纤维蛋白原)增高至 $10g/L$ 时,可出现薄膜或凝块。化脓性脑膜炎脑脊液一般在 1~2 小时内形成薄膜、凝块或沉淀。结核性脑膜炎在 12~24 小时形成膜状物。神经梅毒可出现小絮状凝块。蛛网膜下腔梗阻的脑脊液可呈黄色胶冻状,脑脊液同时存在胶样凝固、黄变症和蛋白质-细胞分离(蛋白质明显增高,细胞正常或轻度增高)称为 Froin-Nonne 综合征,这是蛛网膜下腔梗阻的脑脊液特点。

4. 比重

【参考区间】 腰椎穿刺: $1.006 \sim 1.008$; 脑室穿刺: $1.002 \sim 1.004$; 小脑延髓池穿刺: $1.004 \sim 1.008$ 。

【临床意义】 比重增高常见于各种颅内炎症;比重减低见于脑脊液分泌增多。

(二) 化学检查

1. 蛋白质 健康人脑脊液蛋白质含量较血浆低, 约为血浆的 1%, 主要为白蛋白。在中枢神经系统发生病变时, 脑脊液蛋白质种类和含量可有不同程度的变化。脑脊液蛋白质检查可分为定性检查和定量检查。

【检测原理】

(1) 蛋白质定性检查: 常用方法有 Pandy 试验、硫酸铵试验 (包括 Ross-Jone 试验和 Nonne-Apelt 试验) 和 Lee-Vinson 试验, 其检查原理见表 7-5。

表 7-5 脑脊液蛋白质定性检查的原理

方法	原理
Pandy 试验	脑脊液中的球蛋白可与苯酚结合, 形成不溶性蛋白盐, 产生白色浑浊或沉淀
硫酸铵试验	饱和硫酸铵能沉淀球蛋白, 出现白色沉淀
Lee-Vinson 试验	磺基水杨酸和氯化高汞均能沉淀脑脊液蛋白质, 根据沉淀物比例不同, 可鉴别化脓性脑膜炎与结核性脑膜炎

(2) 蛋白质定量检查: 脑脊液蛋白定量检查主要方法有磺基水杨酸 - 硫酸钠比浊法、双缩脲法和染料结合法。

临床多采用磺基水杨酸 - 硫酸钠比浊法。磺基水杨酸为生物碱试剂, 能沉淀蛋白质并产生一定的浊度 (对白蛋白的沉淀能力比球蛋白强), 再与标准浓度管对比进行定量分析。

【方法学评价】 脑脊液蛋白质定性检查的方法学评价见表 7-6。脑脊液蛋白质定量检查的方法学评价见表 7-7。

表 7-6 脑脊液蛋白质定性检查的方法学评价

方法	优点	缺点
Pandy 试验	操作简便、标本用量少、易于观察, 灵敏度高	假阳性率较高
Ross-Jone 试验	检测球蛋白, 特异性高	灵敏度低
Nonne-Apelt 试验	检测球蛋白和白蛋白, 特异性高	操作繁琐
Lee-Vinson 试验	检测球蛋白和白蛋白	操作繁琐, 特异性低

表 7-7 脑脊液蛋白质定量检查的方法学评价

方法	优点	缺点
比浊法 (磺基水杨酸 - 硫酸钠比浊法)	操作简便, 不需要特殊仪器	标本用量大、重复性差、影响因素较多。蛋白质浓度过高时, 需稀释后进行测定
染料结合比色法 (邻苯三酚红钼络合法)	操作快速、灵敏度高、标本用量少、重复性好	实验条件要求高、线性范围窄
免疫学方法	标本用量少, 特异性高	检测成本高
双缩脲法	操作简便, 受蛋白质种类影响较小	灵敏度较低, 特异性差

【质量保证】

(1) 定性检查: 脑脊液采集过程中, 如混入血液, 则可出现假阳性。所用器材均应避免污染, 防止出现假阳性。Pandy 试验中所用的苯酚试剂饱和度降低会出现假阴性结果, 应定

期更换试剂。

(2) 定量检查：脑脊液如含有大量细胞或外观浑浊，应离心取上清液测定；如蛋白质浓度过高，应用生理盐水稀释后重新测定。

【参考区间】 ①定性：阴性或弱阳性。②定量：腰椎穿刺：0.2~0.4g/L；小脑延髓池穿刺：0.1~0.25g/L；侧脑室穿刺：0.05~0.15g/L。

【临床意义】 脑脊液蛋白质阳性常见于脑组织和脑膜炎症性病变，如化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、脊髓灰质炎、流行性脑炎等。强阳性见于脑出血、脑外伤等（血液混入脑脊液中）。蛋白质含量增高的临床意义见表 7-8。

表 7-8 脑脊液蛋白质含量增高的临床意义

病变	临床意义
脑组织炎性病变	脑组织感染时脑膜和脉络丛毛细血管通透性增加，先有白蛋白增高，随后球蛋白和纤维蛋白也增高
神经根病变	如梗阻性脑积水、Guillain-Barre 综合征，常有蛋白 - 细胞分离现象
椎管内梗阻	脑与蛛网膜下腔互不相通，血浆蛋白质由脊髓静脉渗出，脑脊液蛋白质含量显著增高（有时达 30~50g/L），如脊髓肿瘤、转移癌、粘连性蛛网膜炎等
其他	早产儿脑脊液蛋白质含量可达 2g/L，新生儿为 0.8~1.0g/L，出生 2 个月后逐渐降至正常水平

2. 葡萄糖 葡萄糖含量高低与血糖浓度、血 - 脑脊液屏障的通透性、葡萄糖的酵解程度有关。

【检测原理】 测定方法与血清葡萄糖定量方法相同：葡萄糖氧化酶法或己糖激酶法。

【方法学评价】 氧化酶法中一些还原性物质可产生竞争性抑制作用，造成测定结果偏低，使反应的特异性减低。己糖激酶法基本不受溶血、高脂血、黄疸、尿酸、维生素 C 及药物的干扰，特异性和准确性均高于葡萄糖氧化酶法。

【质量保证】 病理情况下，脑脊液常含有细菌或细胞，故葡萄糖含量测定应在采集标本后及时进行；如果不能及时处理，应加适量防腐剂并低温保存，以抑制细菌和细胞代谢对葡萄糖的消耗，防止假性减低。

【参考区间】 腰椎穿刺：2.5~4.4mmol/L；小脑延髓池穿刺：2.8~4.2mmol/L；脑室穿刺：3.0~4.4mmol/L。

【临床意义】 健康人脑脊液葡萄糖含量仅为血糖的 50%~80%，早产儿及新生儿因血 - 脑脊液屏障发育不完善，其通透性较成人高，葡萄糖含量可比成人略高。脑脊液葡萄糖的变化及临床意义见表 7-9。

表 7-9 脑脊液葡萄糖的变化及临床意义

变化	临床意义
减低	①急性化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、真菌性脑膜炎，葡萄糖含量越低，其预后越差。②脑肿瘤，尤其是恶性肿瘤。③神经梅毒。④低血糖
增高	①饱餐或静脉注射葡萄糖后，血液葡萄糖含量增高。②脑出血。③影响到脑干的急性外伤或中毒。④糖尿病

3. 氯化物 脑脊液氯化物含量与血氯浓度、酸碱度、血 - 脑脊液屏障通透性和脑脊液蛋白质含量有关。

【检测原理】 氯化物测定方法与血清氯化物测定方法相同，常用方法有硝酸汞滴定法、硫氰酸汞比色法、离子选择电极法、电量分析法等。

【方法学评价】 常用脑脊液氯化物测定的方法学评价见表 7-10。

表 7-10 常用脑脊液氯化物测定的方法学评价

方法	评价
硝酸汞滴定法	手工检测(操作复杂)、以目测判断滴定终点,精密度低,影响因素多,多被离子选择电极法和电量分析法取代
硫氰酸汞比色法	既可手工操作,又可自动化分析,准确度和精密度良好,为临床常规方法
离子选择电极法	为常规方法,变异系数小,准确度和精密度良好,比硫氰酸汞比色法和电量分析法使用更广泛
电量分析法	准确度和精密度高,为参考方法

【质量保证】 ①电量分析法:如试剂含有杂质,可影响电流效率。可用纯试剂进行空白校正,并通过预电解除去杂质。②电极法:氯电极使用一段时间后,电极上会出现 AgCl 而影响检测结果,应及时擦去或更换电极。

【参考区间】 成人:120~130mmol/L; 儿童:111~123mmol/L。

【临床意义】 减低见于:①细菌性脑膜炎和真菌性脑膜炎早期、结核性脑膜炎,后者的氯化物减低早于葡萄糖的减低,这是因血氯含量减低、脑膜渗透性改变,而脑脊液内蛋白质增高,使氯离子代偿性流向血液所致。还与脑膜粘连,吸附大量氯离子有关。②呕吐、肾上腺皮质功能减退症和肾脏病变。③病毒性脑炎、脊髓灰白质炎、脑肿瘤时,脑脊液氯化物稍减低或不减低。增高见于:尿毒症、脱水、心力衰竭和浆液性脑膜炎等。

4. 酶及其他成分

(1) 酶:健康人脑脊液含有 20 多种酶,中枢神经系统病变时部分酶的活性可增高。常见检测指标有天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、乳酸脱氢酶(LD)、肌酸激酶(CK)、腺苷脱氨酶(ADA)等。

【检测原理】 酶速率法(与血清酶检测方法相同)。

【质量保证】 ①避免溶血:溶血可使红细胞内的 LD 和 AST 等逸入血清,出现假性增高。②避免高温、剧烈振荡:可使酶蛋白变性失去活性,影响测定结果。

【临床意义】 脑脊液主要酶的浓度增高的临床意义见表 7-11。

表 7-11 脑脊液主要酶的浓度增高的临床意义

项目	参考区间(U/L)	临床意义
AST	<20	脑栓塞、脑萎缩、中毒性脑病、急性颅脑损伤、中枢神经系统转移癌
ALT	<15	脑栓塞、脑萎缩、中毒性脑病、急性颅脑损伤、中枢神经系统转移癌
LD	<40	化脓性脑膜炎、脑组织坏死、蛛网膜下腔出血、脑出血、脑梗死、脑肿瘤、脱髓鞘病急性期
CK	0.5~2	化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、进行性脑积水、继发性癫痫、多发性硬化症、蛛网膜下腔出血、脑肿瘤、脑供血不足、慢性硬膜下血肿等
ADA	0~8	结核性脑膜炎、脑出血、脑梗死、Guillain-Barre 综合征等

(2) 其他成分

1) 谷氨酰胺 (glutamine, Gln)

【参考区间】 0.41~1.10mmol/L (硫酸加热水解法)。

【临床意义】 脑脊液谷氨酰胺增高可反映脑组织中游离氨的增多,可用于诊断肝性脑病。晚期肝硬化、肝昏迷患者谷氨酰胺可高达 3.4mmol/L。出血性脑膜炎、呼吸衰竭继发性脑病时可轻度增加。

2) 乳酸 (lactic acid, LA)

【参考区间】 1.0~2.9mmol/L。

【临床意义】 LA 增高的意义: ①细菌性脑膜炎: 细菌通过无氧糖酵解获得能量, 以及炎症和水肿时乳酸在体内大量积聚, 超过其排泄量。常见于化脓性脑膜炎和结核性脑膜炎, 而病毒性脑炎时乳酸含量正常。②脑供血不足、低碳酸血症、脑积水、癫痫发作或持续状态、脑脓肿和急性脑栓塞等, 脑脊液 pH 和 PO₂ 减低而乳酸增高, 对诊断具有一定意义。③脑死亡: 其含量常达到 6.0mmol/L 以上。

3) 溶菌酶 (lysozyme, LZM)

【参考区间】 无或含量甚微。

【临床意义】 细菌性脑膜炎、结核性脑膜炎脑脊液 LZM 增高, 后者增高的程度明显高于化脓性脑膜炎, 且与病情变化相一致。

5. 蛋白质电泳

【检测原理】 常用醋酸纤维薄膜电泳法、琼脂糖凝胶电泳法。

【方法学评价】 脑脊液蛋白质电泳常用醋酸纤维薄膜或琼脂糖凝胶作为载体, 电泳条件与血白蛋白电泳相同。若采用等电聚焦电泳可提高电泳图谱的分辨率。

【质量保证】 因脑脊液蛋白质含量少, 在电泳前必须将脑脊液标本在 高分子聚乙二醇或右旋糖酐透析液中进行浓缩。

【参考区间】 前白蛋白: 3%~6%; 白蛋白: 50%~70%; α₁ 球蛋白: 4%~6%; α₂ 球蛋白: 4%~9%; β 球蛋白: 7%~13%; γ 球蛋白: 7%~8%。

【临床意义】 脑脊液蛋白质电泳检查的临床意义见表 7-12。

表 7-12 脑脊液蛋白质电泳检查的临床意义

项目	临床意义
前白蛋白	增高: 舞蹈症、帕金森病、脑积水等; 降低: 神经系统炎症
白蛋白	增高: 脑血管病, 如脑梗死、脑出血等; 降低: 脑外伤急性期
α ₁ 球蛋白	增高: 脑膜炎、脊髓灰质炎等
α ₂ 球蛋白	增高: 脑肿瘤、转移癌、胶质瘤等
β 球蛋白	增高: 退行性变, 如帕金森病、外伤后偏瘫等
γ 球蛋白	增高: 脑胶质瘤、重症脑外伤、癫痫、视神经脊髓炎、多发性硬化症、脑部感染、周围神经炎等

注: 前白蛋白即甲状腺结合前白蛋白 (thyroxine-binding prealbumin, TBPA)

6. 免疫球蛋白

【检测原理】 免疫球蛋白检测方法主要有免疫电泳法、免疫散射比浊法和免疫扩散法。抗原和抗体在凝胶或特殊缓冲液中特异性结合, 形成抗原抗体复合物, 再通过测定凝胶中

抗原抗体复合物沉淀环的直径，或特殊缓冲液中抗原抗体复合物的浊度，计算出免疫球蛋白的含量。

【方法学评价】 ①经典凝胶沉淀试验（免疫电泳法和免疫扩散法）：操作繁琐、灵敏度低，耗时长且不能自动化操作。②免疫比浊法：具有灵敏、快速且能自动化的优点，临床应用广泛。

【参考区间】 IgG：10～40mg/L；IgA：0～6mg/L；IgM：0～0.22mg/L；IgE：极少量。

【临床意义】 脑脊液免疫球蛋白增高的临床意义见表 7-13。

表 7-13 脑脊液免疫球蛋白增高的临床意义

免疫球蛋白	临床意义
IgG	神经梅毒、化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、病毒性脑膜炎、舞蹈症、神经系统肿瘤和多发性硬化症等
IgA	化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、病毒性脑膜炎、肿瘤等
IgM	化脓性脑膜炎、病毒性脑膜炎、肿瘤、多发性硬化症等
IgE	脑寄生虫病等

7. 髓鞘碱性蛋白测定

【检测原理】 髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein, MBP）是神经组织独有的蛋白质，是脑组织实质性损伤的特异性标记，也是反映神经细胞有无实质性损伤的灵敏指标，其含量高低与损伤范围、病情的严重程度相关。

【参考区间】 <4μg/L。

【临床意义】 MBP 增高是髓鞘遭到破坏的近期指标，约 90% 的多发性硬化症的急性期表现为 MBP 显著增高，50% 的慢性活动者 MBP 可出现增高。非活动者 MBP 不增高，但神经性梅毒、脑血管病及脑外伤患者的脑脊液中 MBP 也可增高。因此，MBP 只能作为多发性硬化症的辅助诊断指标。

（三）细胞学检查

【检测原理】

1. 细胞总数计数

（1）仪器计数法：体液细胞分析仪可自动分析计数细胞。

（2）显微镜计数法：①比较清亮或微浑的脑脊液：用滴管吸取已混匀的脑脊液标本少许，充入血细胞计数板内，静置 2～3 分钟，低倍镜下计数 2 个计数室内四角和中央大方格共 10 个大方格内的细胞数，即每微升脑脊液细胞总数，报告时再换算成每升脑脊液中的细胞总数。②细胞过多、浑浊或血性的脑脊液：可采用红细胞稀释液稀释后再计数，最后换算成每升脑脊液的细胞总数。

2. 白细胞计数

（1）仪器计数法：体液细胞分析仪可自动分析计数细胞。

（2）显微镜计数法：①非血性标本，用吸管吸取冰乙酸后全部吹出，使管壁仅附着少许冰乙酸，然后用同一吸管吸取少量混匀的脑脊液标本，充入血细胞计数板内计数。②白细胞过多，可用白细胞稀释液稀释后再计数，计数结果应乘以稀释倍数。

3. 白细胞分类计数

（1）仪器分类法：体液细胞分析仪可用于白细胞分类计数。

(2) 显微镜分类法：在白细胞直接计数后，在高倍镜下根据细胞形状和细胞核的形态进行分类，共计数 100 个有核细胞，分别计算单个核细胞和多个核细胞所占的比例，以百分数表示。如白细胞总数不足 100 个，则直接写出单个核细胞和多个核细胞的具体数字。如白细胞总数在 30 以下，可不作直接分类计数或改用染色分类计数。

(3) 染色分类法：脑脊液标本离心后，取沉淀物制备涂片(均匀薄膜)，置于室温或 37℃ 孵箱中，干燥后行 Wright 染色，油镜下分类计数，结果以百分率表示。如有内皮细胞，需要另作描述并报告。

【方法学评价】

1. 脑脊液细胞计数 体液细胞分析仪的精密度高、速度快、报告及时。但对于异常细胞形态识别有偏差，若仪器出现形态学报警，必须进行显微镜计数法复查。显微镜计数法虽然操作繁琐，但可作为校正仪器的参考方法。

2. 脑脊液白细胞分类计数 脑脊液白细胞分类计数的方法学评价见表 7-14。

表 7-14 脑脊液白细胞分类计数的方法学评价

方法	评价
仪器分类法	①简单、快速，可自动化。②影响因素多(组织和细胞碎片、高蛋白质、凝块等)。③无法识别异常细胞
显微镜分类法	操作简单、快速，但准确性差。尤其是陈旧性标本，细胞变形，分类困难，误差较大
染色分类法	细胞识别率高，结果准确可靠，尤其是可以发现异常细胞，故为首选方法。但操作较复杂、费时

【质量保证】

1. 细胞计数 ①脑脊液细胞计数的质量保证见表 7-15。②血性标本的白细胞计数的校正：混有血液的脑脊液标本混匀后，用 1% 的冰乙酸溶液稀释后计数。为了排除因出血而带来的白细胞，可用以下公式进行校正：

$$WBC_{(校正)} = WBC_{(未校正)} - \frac{RBC_{(脑脊液)} \times WBC_{(血液)}}{RBC_{(血液)}}$$

2. 染色分类法 离心速度不宜过快、时间不宜过长，以减少脑脊液细胞的破坏和变形。细胞涂片应均匀集中，以利于观察。

表 7-15 脑脊液细胞计数的质量保证

项目	质量保证
及时检查	细胞计数应在标本采集后 1 小时内完成。如放置过久，细胞会破坏、沉淀或纤维蛋白凝集成块，导致计数不准确。标本必须充分混匀后才可进行计数，否则影响结果的准确性
准确校正	穿刺损伤导致的血性脑脊液，此时细胞总数已无意义，白细胞计数必须进行校正
注重形态	细胞计数时，如发现较多皱缩或肿胀的红细胞，应予以描述，以鉴别陈旧性与新鲜性出血
辨别成分	注意鉴别红细胞、淋巴细胞与新型隐球菌 ①新型隐球菌具有“出芽”现象 ②新型隐球菌不溶于乙酸，滴加 0.35mol/L 乙酸后，仍保持原形，红细胞则被乙酸溶解消失，淋巴细胞则胞核和胞质更为明显 ③滴加印度墨汁 1 滴，新型隐球菌有荚膜，不着色，而红细胞或淋巴细胞无此现象
保护器材	检查完毕，采用 75% 乙醇消毒计数板 60 分钟。勿用苯酚消毒，以防损伤计数室的刻度

【参考区间】 红细胞：无；白细胞：成人 $(0\sim 8)\times 10^6/L$ ，儿童 $(0\sim 15)\times 10^6/L$ ；有核细胞分类(图 7-1，图 7-2)：多为淋巴细胞及单核细胞(7:3)；偶见内皮细胞。

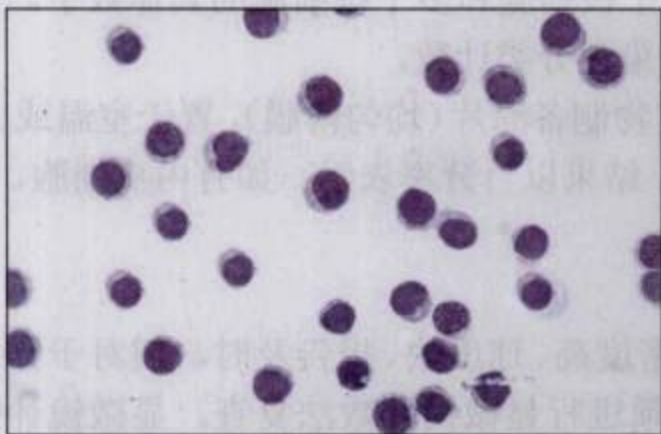


图 7-1 脑脊液淋巴细胞

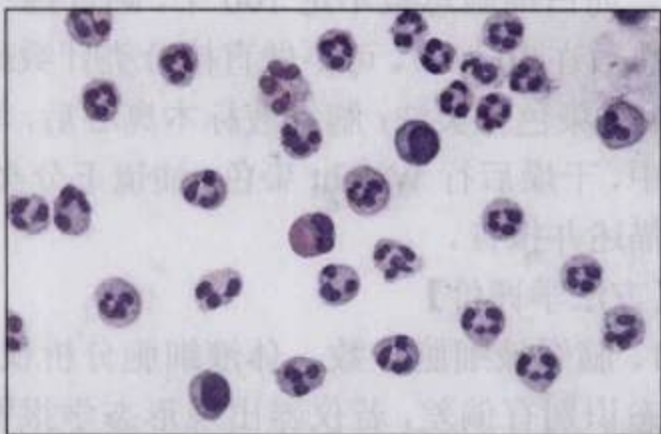


图 7-2 脑脊液中性粒细胞

【临床意义】 脑脊液细胞数增多见于中枢神经系统病变，其增多程度及细胞种类与病变的性质及转归有关(表 7-16)。①结核性脑膜炎不同时期脑脊液中的细胞种类和数量不同。②化脓性脑膜炎经有效的抗生素治疗后，细胞总数可迅速下降。

表 7-16 中枢神经系统病变时脑脊液细胞分类计数的变化

疾病	细胞数量	细胞种类
化脓性脑膜炎	↑↑↑	中性粒细胞为主
结核性脑膜炎	↑↑↑	早期以中性粒细胞为主，中期中性粒细胞、淋巴细胞和浆细胞并存，后期以淋巴细胞为主
病毒性脑膜炎	↑	淋巴细胞为主
真菌性脑膜炎	↑	淋巴细胞为主
肿瘤性疾病	↑或↑↑	红细胞、肿瘤细胞
寄生虫性疾病	↑或↑↑	嗜酸性粒细胞
脑室或蛛网膜出血	↑↑或↑↑↑	红细胞为主

注：↑轻度增高；↑↑中度增高；↑↑↑显著增高

脑脊液细胞学检查是显微镜检查的重要内容之一。近年来，常采用玻片离心法、沉淀室法、微孔薄膜筛滤法、纤维蛋白网细胞捕获法等采集细胞，并进行染色。常用染色方法有 May-Grünwald-Giemsa 染色法、高碘酸 - 雪夫染色法、POX 染色法、脂类染色法、硝基四氮唑蓝染色法和吖啶橙染色法等，以检查脑脊液腔壁细胞、肿瘤细胞和污染细胞(图 7-3~图 7-7)。脑脊液细胞学检查的临床意义见表 7-17。

表 7-17 脑脊液细胞学检查临床意义

细胞	细胞类型	临床意义
腔壁细胞	脉络丛室管膜细胞 蛛网膜细胞	脑积水、脑室穿刺、气脑、脑室造影或椎管内给药所致 气脑、脑室造影或椎管穿刺后，多为蛛网膜机械性损伤所致
肿瘤细胞	恶性细胞	原发性肿瘤、转移性肿瘤、白血病和淋巴瘤
污染细胞	骨髓细胞	穿刺损伤将其带入脑脊液中所致
红细胞		穿刺损伤脊膜管所致

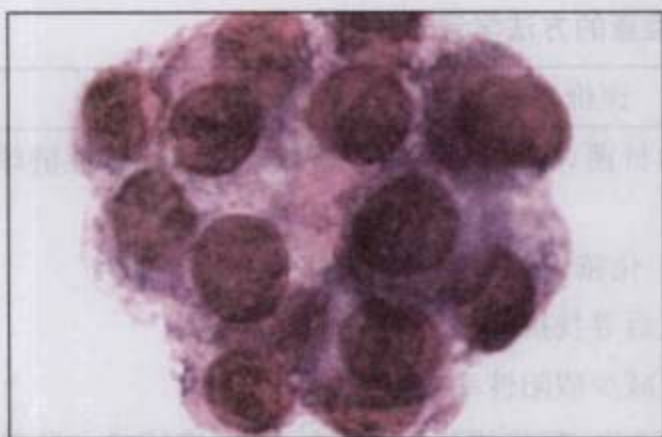


图 7-3 脑脊液脉络丛细胞



图 7-4 脑脊液原始细胞团



图 7-5 脑脊液原始粒细胞
(急性粒细胞白血病)

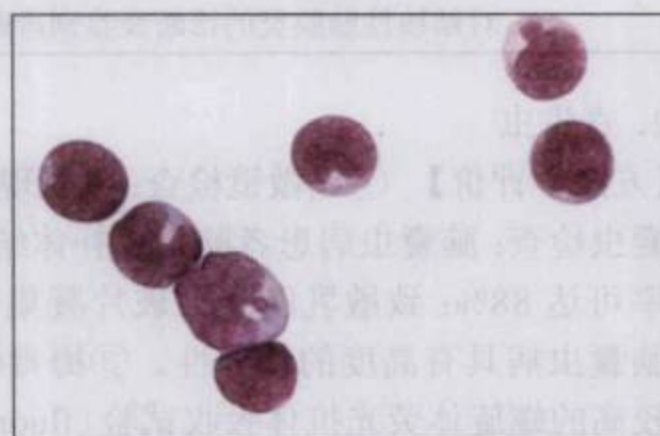


图 7-6 脑脊液原始淋巴细胞
(急性淋巴细胞白血病)

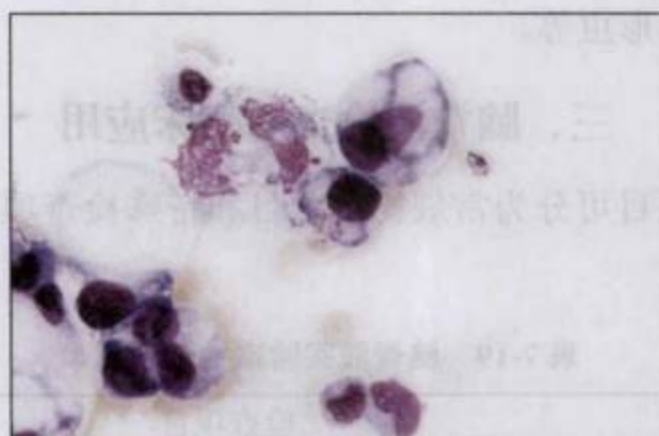


图 7-7 脑脊液肿瘤细胞(胃癌转移)

(四) 病原学检查

1. 细菌 脑脊液细菌检查的方法有显微镜检查、细菌培养和 ELISA 法。

【方法学评价】 脑脊液细菌学检查的方法学评价见表 7-18。

【质量保证】 因流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌等属于苛养菌,故宜在床旁接种,同时作涂片检查,以及时获得初步诊断。颅内脓肿需要在厌氧条件下转运标本和进行厌氧培养。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 脑脊液为无菌体液,在排除污染的前提下,若检出细菌应视为有病原菌感染。

表 7-18 脑脊液细菌学检查的方法学评价

方法	评价
显微镜检查	①革兰染色：检查肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、葡萄球菌、铜绿假单胞菌、化脓性链球菌、大肠埃希菌等 ②碱性亚甲蓝染色：检查脑膜炎奈瑟菌。化脓性脑膜炎的阳性率为 60%~90% ③抗酸染色：疑为结核性脑膜炎，可染色后寻找抗酸杆菌 ④印度墨汁染色法：检查新型隐球菌，可减少假阳性率
细菌培养	常见病原菌包括脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌、葡萄球菌、大肠埃希菌、流感嗜血杆菌等。同时，也应注意真菌及厌氧菌的培养
ELISA 法	结核杆菌感染时，可产生特异性抗结核抗体。如果脑脊液中抗结核抗体水平高于血清，对结核性脑膜炎的诊断及鉴别诊断具有特殊价值

2. 寄生虫

【方法学评价】 ①显微镜检查：可发现血吸虫卵、肺吸虫卵、弓形虫、阿米巴滋养体等。②脑囊虫检查：脑囊虫病患者脑囊虫补体结合试验(cysticercus-complement fixation test)的阳性率可达 88%；致敏乳胶颗粒玻片凝集试验诊断脑囊虫的符合率为 90%；ELISA 法对诊断脑囊虫病具有高度的特异性。③梅毒螺旋体检查：神经梅毒的诊断首选灵敏度、特异性均较高的螺旋体荧光抗体吸收试验(fluorescent treponemal antibody absorption test, FTA-ABStest)，其灵敏度为 50%~60%，特异性为 90%。

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 在脑脊液中发现寄生虫虫卵即可诊断为脑寄生虫病。病理情况下，脑脊液中还可能检出阿米巴、弓形虫等。

三、脑脊液检查的临床应用

临床上，脑脊液检查项目可分为常规检查项目和特殊检查项目两大类(表 7-19)。常规检查项目临床应用如下。

表 7-19 脑脊液实验室检查项目

项目类别	检查项目
常规项目	脑脊液压力测定(由临床医师采集时测定)、细胞总数(红细胞和白细胞)计数、细胞分类计数、脑脊液/血浆葡萄糖比值、总蛋白测定等
特殊项目	培养(细菌、真菌、病毒、结核分枝杆菌)、革兰染色、抗酸染色、细菌和真菌抗原、酶(LDH、ADA、CK-BB)、乳酸、PCR 法检测结核分枝杆菌和病毒、蛋白电泳、特殊蛋白测定(C- 反应蛋白、转铁蛋白等)、梅毒试验等

(一) 在中枢神经系统感染性疾病诊疗中的应用

1. 病毒性脑膜炎 脑脊液以淋巴细胞增多为主，早期也可出现中性粒细胞增多，数天内即被小、中淋巴细胞和胞质着色较深的激活的淋巴细胞所替代。当异常细胞消退和正常淋巴细胞、单核细胞达到正常比例时，提示病情有好转，反之则反映病情加重或复发。蛋白质轻度增高，葡萄糖和氯化物一般正常；脑脊液 AST 活性增高者脑组织损害较重，预后差；特异性 IgM 抗体检测可用于早期诊断。

2. 结核性脑膜炎 病变早期脑脊液中性粒细胞增多,随着病程的进展,大部分患者以淋巴细胞增多为主。70%~85% 患者脑脊液葡萄糖低于 2.2mmol/L,蛋白质含量达到 1~2g/L。如脑脊液涂片见抗酸杆菌或结核杆菌培养阳性即可确诊,但灵敏度不高。

3. 真菌性脑膜炎 最常见于新型隐球菌感染。脑脊液细胞学特点常与结核性脑膜炎相似,甚至难以区别,但新型隐球菌菌体常呈现大小不一、染色深、周边带有较多明显毛刺状,部分菌体还可出现芽孢而易于鉴别,隐球菌乳胶凝集试验阳性可确诊。真菌性脑膜炎脑脊液葡萄糖含量降低。

(二) 在中枢神经系统肿瘤诊疗中的应用

脑脊液检查发现肿瘤细胞,有助于中枢神经系统肿瘤的诊断。但是,原发肿瘤(髓母细胞瘤除外)阳性率较低,脑转移癌和脑膜癌阳性率可达 80% 左右。

常见中枢神经系统疾病的脑脊液改变见表 7-20。

表 7-20 常见中枢神经系统疾病脑脊液改变

疾病	外观	蛋白质	葡萄糖	氯化物	细胞	细胞分类	细菌
化脓性脑膜炎	浑浊、脓性、有凝块	↑↑	↓↓	↓	↑↑	N 为主	可见致病菌
结核性脑膜炎	雾状微浑,薄膜形成	↑	↓	↓↓	↑	早期: N 为主 后期: L 为主	抗酸染色阳性或结核分枝杆菌培养阳性
病毒性脑炎	清晰或微浑	↑	正常	正常	↑	L 为主	无
乙型脑炎	清晰或微浑	↑	正常	正常	↑	早期: N 为主 后期: L 为主	无
新型隐球菌脑膜炎	清晰或微浑	↑	↓	↓	↑	L 为主	新型隐球菌
脑室及蛛网膜下腔出血	红色浑浊	↑	↑	正常	↑	N 为主	无
脑肿瘤	清晰	↑	正常	正常	↑	L 为主	无
脑脊髓梅毒	清晰	↑	正常	正常	↑	L 为主	无

注: ↑: 增高或轻度增高; ↑↑: 显著增高; ↓: 减低或稍低; ↓↓: 显著减低; N: 中性粒细胞; L: 淋巴细胞

第二节 浆膜腔积液检查

人体胸膜腔、腹膜腔和心包膜腔统称为浆膜腔(serous cavity)。正常情况下,浆膜腔内仅含有少量液体起润滑作用,如胸膜腔液 < 20ml,腹膜腔液 < 50ml,心包膜腔液约为 10~30ml。病理情况下,浆膜腔内有大量液体滞留而形成浆膜腔积液(serous effusion)。因部位不同,浆膜腔积液可分为胸膜腔积液、腹膜腔积液和心包膜腔积液。根据产生的原因及性质不同,浆膜腔积液可分为漏出液和渗出液。

漏出液多为双侧性、非炎性积液,渗出液多为单侧性、炎性积液。漏出液和渗出液产生的机制和常见原因见表 7-21。

表 7-21 漏出液和渗出液产生的机制和原因

类型	发生机制	常见原因
漏出液	毛细血管流体静压增高	静脉回流受阻、充血性心力衰竭和晚期肝硬化
	血浆胶体渗透压减低	血浆白蛋白明显减低的各种疾病
	淋巴回流受阻	丝虫病、肿瘤压迫等所致的淋巴回流障碍
	钠水潴溜	充血性心力衰竭、肝硬化和肾病综合征
渗出液	微生物毒素、缺氧以及炎性介质	结核性或细菌性感染
	血管活性物质增高、癌细胞浸润	转移性肺癌、乳腺癌、淋巴瘤、卵巢癌
	外伤、化学物质刺激	血液、胆汁、胰液和胃液等刺激，外伤

一、浆膜腔积液标本采集和处理

1. 标本采集 浆膜腔积液标本由临床医师行浆膜腔穿刺术采集，采集中段液体于消毒试管内，且根据需要采用适当的抗凝剂予以抗凝（表 7-22）。另外，采集 1 管不加抗凝剂的标本，用于观察积液有无凝固现象。

表 7-22 浆膜腔积液检查项目的标本采集要求

检查项目	标本量及抗凝剂
常规检查及细胞学检查	2ml, EDTA-K ₂ 抗凝
化学检查	2ml, 肝素抗凝
厌氧菌培养	1ml
结核杆菌检查	10ml

2. 标本转运

（1）及时送检：为防止标本出现凝块、细胞变形、细菌自溶等，标本采集后要及时送检，否则应将标本置于 4℃ 冰箱内保存。浆膜腔积液标本久置可引起细胞破坏或纤维蛋白凝集成块，导致细胞分布不均，而使细胞计数不准确。另外，葡萄糖酵解可造成葡萄糖含量假性减低。

（2）生物安全：标本转运必须保证安全，防止标本溢出。如果标本溢出，应立即采用 0.2% 过氧乙酸溶液或 75% 乙醇溶液消毒。

3. 保存和接收 ①妥善保存：标本收到后应及时检查，浆膜腔积液常规及化学检查必须在采集后 2 小时内完成，否则应将标本冷藏保存。如果进行细胞学计数与分类可将标本保存 24 小时。②注意标识：采集标本容器的标识应与检验申请单一致。

二、浆膜腔积液一般检查

（一）理学检查

1. 量 健康人胸膜腔、腹膜腔和心包膜腔内均有少量的液体。病理情况下液体量增多，且与病变部位和病情严重程度有关，可由数毫升至上千毫升。

2. 颜色

【参考区间】 淡黄色。

【临床意义】 渗出液的颜色因疾病而不同，漏出液的颜色一般较浅(表 7-23)。

表 7-23 浆膜腔积液常见颜色变化及临床意义

颜色	临床意义
红色	恶性肿瘤、结核病急性期、风湿性疾病等
黄色	各种原因引起的黄疸
绿色	铜绿假单胞菌感染
乳白色	化脓性胸膜炎、丝虫病、淋巴结肿瘤、淋巴结结核、肝硬化、腹膜癌等
咖啡色	内脏损伤、恶性肿瘤、出血性疾病及穿刺损伤等
黑色	曲霉菌、厌氧菌感染等

3. 透明度

【参考区间】 清澈透明。

【临床意义】 浆膜腔积液透明度常与其所含的细胞及细菌的数量和蛋白质浓度等有关。漏出液因所含细胞和蛋白质少而透明或微浑；渗出液因含细胞、细菌等成分较多而呈不同程度浑浊。

4. 比重

【参考区间】 漏出液 < 1.015，渗出液 > 1.018。

【临床意义】 浆膜腔积液比重高低与其所含的溶质有关。漏出液因含细胞、蛋白质少而比重 < 1.015。渗出液因含细胞、蛋白质多而比重常 > 1.018。

5. 酸碱度

【参考区间】 pH 7.40～7.50。

【临床意义】 ①胸膜腔积液：pH < 7.4 提示炎性积液；如 pH < 7.3 且伴有葡萄糖含量减低，提示类风湿积液、恶性积液或有并发症的炎性积液等；如 pH < 6.0，多因胃液进入胸膜腔使 pH 减低所致，见于食管破裂或严重脓胸。②腹膜腔积液：腹膜腔积液并发感染时，细菌代谢产生酸性物质增多，使 pH 减低。pH < 7.3，见于自发性细菌性腹膜炎。③心包膜腔积液：pH 明显减低可见于风湿性、结核性、化脓性、恶性、尿毒症性等心包炎，其中恶性、结核性积液 pH 减低程度较明显。

6. 凝固性

【参考区间】 不易凝固。

【临床意义】 渗出液因含有较多纤维蛋白原和凝血酶等凝血物质而易于凝固，但当其含有大量纤维蛋白溶解酶时也可不凝固。

(二) 化学检查

1. 蛋白质

【检测原理】 浆膜腔积液蛋白质检测的方法有黏蛋白定性检查(Rivalta 试验)、蛋白质定量检测和蛋白电泳等，其原理见表 7-24。

【方法学评价】 ① Rivalta 试验是一种简易的黏蛋白筛检试验，可粗略区分炎性积液和非炎性积液。②蛋白质定量检测可以测定白蛋白、球蛋白、纤维蛋白原等含量。③蛋白电泳可对蛋白组分进行分析。

表 7-24 浆膜腔积液蛋白质检测的原理

方法	原理
Rivalta 试验	黏蛋白是一种酸性糖蛋白，浆膜间皮细胞受炎症刺激时分泌增加，其等电点为 pI 3~5，在稀乙酸溶液中(pH 3~5)产生白色雾状沉淀
蛋白质定量	采用与血清蛋白质相同的双缩脲法
蛋白电泳	可对蛋白质组分进行分析

【质量控制】 ① Rivalta 试验：在蒸馏水中加冰乙酸后应充分混匀，加标本后需要在黑色背景下观察结果。肝硬化腹膜腔积液因球蛋白增高且不溶于水可呈云雾状浑浊，Rivalta 试验可出现假阳性。②必要时离心后取上清液进行检查：血性浆膜腔积液测定蛋白质时可出现假阳性，因此应离心后取上清液进行测定。

【参考区间】 ① Rivalta 试验：非炎性积液为阴性；炎性积液为阳性。②蛋白质定量：漏出液 <25g/L；渗出液 >30g/L。

【临床意义】 综合分析浆膜腔积液蛋白质的变化对鉴别渗出液和漏出液以及积液形成的原因有重要意义(表 7-25)。①胸膜腔积液：蛋白质对鉴别积液的性质有一定误诊率，需要结合其他指标综合判断，如胸膜腔积液与血清蛋白质浓度比值 >0.5，多为渗出液。②心包膜腔积液：蛋白质对鉴别积液的性质意义不大。③血清腹膜腔积液白蛋白梯度(serum ascites albumin gradient, SAAG)：对鉴别肝硬化腹膜腔积液与其他疾病所致的腹膜腔积液有一定的价值。肝硬化门脉高压性积液 SAAG>11g/L，其他原因的腹膜腔积液 SAAG<11g/L。

表 7-25 漏出液和渗出液蛋白质的鉴别

方法	漏出液	渗出液
Rivalta 试验	阴性	阳性
蛋白质定量(g/L)	<25	>30
蛋白电泳	α、γ 球蛋白低于血浆，白蛋白相对较高	与血浆相近
积液蛋白 / 血清蛋白比值	<0.5	>0.5

2. 葡萄糖

【检测原理】 测定方法为葡萄糖氧化酶法或己糖激酶法。

【参考区间】 3.6~5.5mmol/L。

【临床意义】 漏出液葡萄糖含量与血清相似或稍低；渗出液葡萄糖较血糖明显减低。浆膜腔积液葡萄糖减低或与血清含量的比值 <0.5，一般见于风湿性积液、积脓、恶性积液、结核性积液、狼疮性积液或食管破裂。因此，葡萄糖定量测定对积液性质的鉴别具有一定的价值。

3. 脂类

【检测原理】 胆固醇、甘油三酯均采用酶法测定。

【临床意义】 腹膜腔积液胆固醇 >1.6mmol/L 时多为恶性积液。而胆固醇 <1.6mmol/L 时多为肝硬化性积液。胆固醇增加的积液中有可见胆固醇结晶。甘油三酯含量 >1.26mmol/L 提示为乳糜性胸膜腔积液，<0.57mmol/L 可排除乳糜性胸膜腔积液。真性与假性乳糜性积液的鉴别见表 7-26。

表 7-26 真性与假性乳糜性积液的鉴别

鉴别点	真性乳糜性积液	假性乳糜性积液
病因	胸导管阻塞或梗阻	慢性胸膜炎症所致积液
外观	乳糜性	乳糜性
乙醚试验	变清	无变化
脂肪含量(%)	>4	<2
脂蛋白电泳	乳糜微粒区带明显	乳糜微粒区带不明显或缺如
胆固醇	低于血清	高于血清
甘油三酯(mmol/L)	>1.26	<0.57
蛋白质含量(g/L)	>30	<30
脂肪	大量, 苏丹Ⅲ染色阳性	少量, 有较多脂肪变性细胞
胆固醇结晶	无	有
细菌	无	有
细胞	淋巴细胞增高	混合性细胞

4. 酶学

(1) 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LD)

【检测原理】 采用酶速率法测定。

【参考区间】 漏出液: LD<200U/L, 积液 LD/ 血清 LD<0.6; 渗出液: LD>200U/L, 积液 LD/ 血清 LD>0.6。

【临床意义】 积液 LD 检测主要用于鉴别积液性质, 渗出液 LD 在化脓性感染积液中活性最高, 其均值可达正常血清的 30 倍, 其次为恶性积液, 结核性积液略高于血清。恶性胸膜腔积液 LD 约为自身血清的 3.5 倍, 而良性积液约为 2.5 倍。

(2) 腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)

【检测原理】 采用比色法或紫外分光光度法。

【方法学评价】 ①比色法: 适用于血标本和胸膜腔积液标本的检查。②紫外分光光度法: 灵敏度高, 但需要较好的设备, 应用有待普及。

【参考区间】 0~45U/L。

【临床意义】 浆膜腔积液 ADA 检测主要用于鉴别结核性与恶性积液, 结核性积液 ADA 显著增高, >40U/L 应考虑为结核性, 对结核性胸膜腔积液诊断的特异性达 99%, 优于结核菌素试验、细菌学和活组织检查等方法。抗结核药物治疗有效时 ADA 下降, 故可作为抗结核治疗效果的观察指标。

(3) 淀粉酶(amylase, AMY)

【检测原理】 与血清及尿液 AMY 检测方法相同。

【参考区间】 0~300U/L。

【临床意义】 AMY 检测主要用于判断胰源性腹膜腔积液和食管穿孔所致的胸膜腔积液, 以协助诊断胰源性疾病和食管穿孔等。胰腺炎、胰腺肿瘤或胰腺损伤时腹膜腔积液 AMY 可高于血清数倍甚至数十倍; 胸膜腔积液 AMY 增高主要见于食管穿孔及胰腺外伤合并胸膜腔积液。

(4) 溶菌酶(lysozyme, LZM)

【检测原理】 采用 ELISA 法测定。

【参考区间】 0~5mg/L, 胸膜腔积液 LZM 与血清 LZM 比值 <1.0。

【临床意义】 LZM 主要存在于单核细胞、吞噬细胞、中性粒细胞及类上皮细胞溶酶体内, 淋巴细胞和肿瘤细胞无 LZM。感染性积液 LZM 增高, 结核性积液 LZM 与血清 LZM 比值 >1.0, 恶性积液 LZM 与血清 LZM 比值 <1.0。故浆膜腔积液 LZM 变化有助于鉴别良性与恶性积液。

(5) 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)

【检测原理】 采用酶速率法测定。

【参考区间】 40~150U/L。

【临床意义】 大多数小肠扭转穿孔患者发病后 2~3 小时, 腹膜腔积液 ALP 增高, 并随着病情进展而变化, 约为血清 ALP 的 2 倍。浆膜表面癌的癌细胞可释放 ALP, 故胸膜腔积液 ALP 与血清 ALP 比值 >1.0; 而其他癌性胸膜腔积液比值则 <1.0。

(6) 其他: 浆膜腔积液其他酶学检测指标的临床意义见表 7-27。

表 7-27 浆膜腔积液其他酶学检测指标的临床意义

指标	临床意义
血管紧张素转换酶	结核性积液显著增高; 恶性胸腔积液低于血清水平
β- 葡萄糖苷酶	结核性积液增高; 与 ADA 联合检测, 则更有助于鉴别诊断
透明质酸酶	胸膜腔积液增高提示为胸膜间皮瘤

5. 肿瘤标志物及其他指标 浆膜腔积液肿瘤标志物和其他指标的临床意义见表 7-28。

表 7-28 浆膜腔积液肿瘤标志物和其他指标的临床意义

指标	临床意义
癌胚抗原(CEA)	正常: 0~5μg/L (CLIA)。CEA > 20μg/L, 积液 CEA/ 血清 CEA > 1.0 时, 有助于恶性积液诊断(对腺癌所致积液诊断价值最高)
甲胎蛋白(AFP)	正常: 0~8.1μg/L (CLIA)。积液 AFP 与血清浓度呈正相关。腹膜腔积液 AFP > 300μg/L 时, 有助于诊断原发性肝癌
糖链抗原 125(CA125)	腹膜腔积液 CA125 增高; 可能为卵巢癌转移
组织多肽抗原(TPA)	诊断恶性积液的特异性较高。肿瘤治疗后, 若 TPA 又增高, 提示肿瘤可能复发
鳞状细胞癌抗原(SCC)	对诊断鳞状上皮细胞癌有价值, 积液中 SCC 浓度增高与宫颈癌侵犯或转移程度有关
γ- 干扰素(γ-INF)	结核性积液 γ-INF 明显增高; 类风湿积液 γ-INF 减低
肿瘤坏死因子(TNF)	TNF 明显增高见于结核性积液, 也见于风湿病、子宫内膜异位所致腹膜腔积液, 但增高的程度低
C- 反应蛋白(CRP)	< 10mg/L 为漏出液; > 10mg/L 为渗出液
类风湿因子(RF)	积液 RF 效价 > 1:320, 且积液 RF 效价高于血清, 可作为诊断类风湿积液的依据
铁蛋白	①癌性积液铁蛋白 > 600μg/L, 积液铁蛋白 / 血清铁蛋白 > 1.0, 且溶菌酶水平不高 ②结核性积液铁蛋白增高, 同时溶菌酶极度增高
纤维连接蛋白(FN)	恶性腹膜腔积液明显高于非恶性腹膜腔积液

(三) 显微镜检查

1. 细胞计数

【检测原理】 与脑脊液细胞计数法相同，应计数全部有核细胞（包括间皮细胞）。

【质量保证】 ①标本必须及时送检，防止浆膜腔积液凝固或细胞破坏使结果不准确。②标本必须混匀，否则影响计数结果。③因穿刺损伤引起的血性浆膜腔积液，白细胞计数结果必须校正。校正公式：

$$WBC_{(校正)} = WBC_{(未校正)} - \frac{RBC_{(浆膜腔积液)} \times WBC_{(血液)}}{RBC_{(血液)}}$$

【参考区间】 漏出液 $< 100 \times 10^6/L$ ；渗出液 $> 500 \times 10^6/L$ 。

【临床意义】 浆膜腔积液出现少量红细胞多因穿刺损伤所致，故少量红细胞对渗出液和漏出液的鉴别意义不大，但大量红细胞提示为血性渗出液，可来自恶性肿瘤、肺栓塞、结核病等。浆膜腔积液细胞增高的临床意义见表 7-29。

表 7-29 浆膜腔积液细胞增高的临床意义

细胞	数量($\times 10^6/L$)	临床意义
红细胞	$> 100\ 000$	恶性肿瘤(最常见)、创伤(包括标本采集穿刺伤)、肺栓塞等
淋巴细胞	> 200	结核性、肿瘤性积液
中性粒细胞	> 1000	化脓性积液

2. 白细胞分类计数

【检测原理】

(1) 直接分类法：如白细胞数量 $< 150 \times 10^6/L$ ，可不分类计数；否则应分类计数。在高倍镜下根据细胞核的形态分别计数单个核细胞（包括淋巴细胞和单核细胞）与多个核细胞，计数 100 个白细胞，以百分比表示。

(2) 染色分类法：如直接分类不易区分细胞时，可将浆膜腔积液离心，取沉淀物制备涂片，置于室温或 $37^{\circ}C$ 温箱内，干燥后行 Wright 染色、油镜下分类计数。如有不能分类的细胞，应另行描述报告。

【质量保证】 离心速度不能过快，否则影响细胞形态；采用玻片离心沉淀或细胞室沉淀法采集细胞效果会更好。涂片固定时间不宜过长，固定温度不宜过高。

【临床意义】 ①中性粒细胞增高：常见于化脓性渗出液（细胞总数常超过 $1000 \times 10^6/L$ ）、结核性早期渗出液。②淋巴细胞增高：主要见于结核、梅毒、肿瘤或结缔组织病所致渗出液；如同时出现胸膜腔积液 T 淋巴细胞增多，外周血液 T 淋巴细胞减少，且两者之比 > 1 时，则更支持诊断。也见于慢性淋巴细胞白血病、乳糜胸膜腔积液；如见大量浆细胞样淋巴细胞，可能是骨髓瘤。③嗜酸性粒细胞增高：常见于变态反应和寄生虫病所致渗出液；也见于多次反复穿刺、人工气胸、术后积液、结核性渗出液吸收期、系统性红斑狼疮、充血性心力衰竭、肺梗死、霍奇金病、间皮瘤等（图 7-8～图 7-11）。

3. 寄生虫 乳糜样积液离心后沉淀物中可检查有无微丝蚴；包虫病患者胸膜腔积液可检查有无棘球蚴头节和小钩；阿米巴积液可检查有无阿米巴滋养体。

4. 其他 胆固醇结晶(cholesterol crystal)可见于陈旧性胸膜腔积液脂肪变性及胆固醇性胸膜炎积液，含铁血黄素颗粒可见于浆膜腔出血。

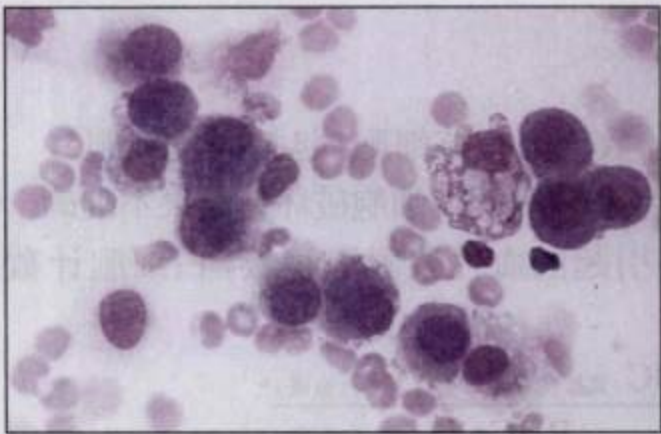


图 7-8 间皮细胞(胸膜腔积液)

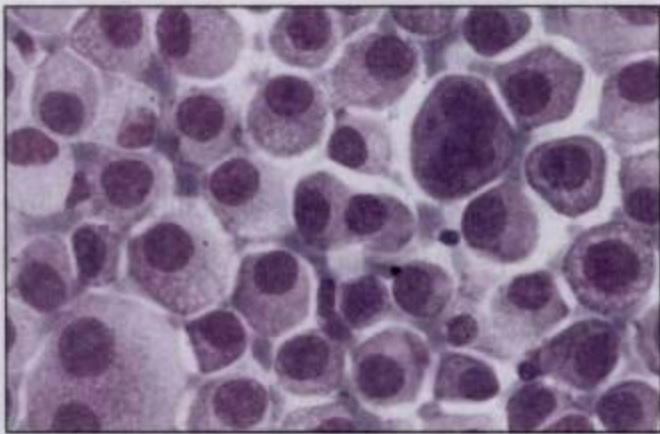


图 7-9 间皮瘤细胞(胸膜腔积液)

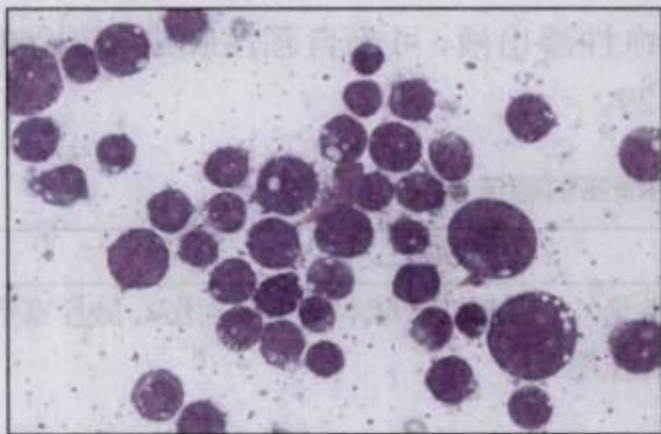


图 7-10 非霍奇金淋巴瘤细胞(胸腔膜积液)

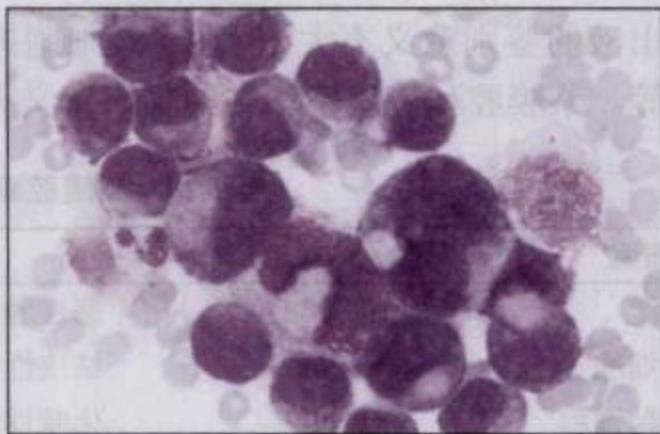


图 7-11 腺癌细胞(腹膜腔积液)

三、浆膜腔积液检查的临床应用

浆膜腔积液检查的目的在于鉴别积液的性质和明确积液的原因。常规检查项目仅限于理学、化学和细胞学检查，鉴别积液性质的符合率较低；随着特异性化学和免疫学检测指标的增加，提高了浆膜腔积液性质诊断的符合率。

1. 浆膜腔积液检查项目分级 20 世纪 90 年代以来，浆膜腔液检查发展到细胞学、生物化学、微生物学、免疫学、遗传学等多项优化组合检查。除了提供鉴别漏出液与渗出液的依据外，还提供鉴别良性和恶性、结核性和化脓性积液的依据。目前，根据诊断需要，将积液检查项目分为 3 级(表 7-30)。

表 7-30 浆膜腔积液检查项目分级

分级	检查项目
一级检查	颜色、透明度、比重、Rivalta 试验、酸碱度、总蛋白、细胞计数及分类、微生物学检查等
二级检查	CRP、纤维蛋白降解产物、LD、ADA、AMY、糖蛋白等
三级检查	CEA、AFP、肿瘤特异性抗原、hCG、同工酶、蛋白质组分分析等

2. 渗出液和漏出液鉴别 原因不明的浆膜腔积液，经检查大致可分为渗出液或漏出液。但是，有些浆膜腔积液既有渗出液的特点，又有漏出液性质，这些积液称为“中间型积液”。其形成的原因可能是：①漏出液继发感染。②漏出液长期滞留在浆膜腔，致使积液浓缩。③漏出液混有大量血液。因此，判断积液的性质除了依据实验室的检查结果外，还应结合临床其他检查结果，进行综合分析，才能准确诊断。漏出液与渗出液的鉴别见表 7-31。

表 7-31 漏出液与渗出液的鉴别

项目	漏出液	渗出液
病因	非炎症性	炎症性、外伤、肿瘤或理化刺激
颜色	淡黄色	黄色、红色、乳白色
透明度	清晰透明或琥珀色样	浑浊或乳糜样
比重	<1.015	>1.018
pH	>7.3	<7.3
凝固性	不易凝固	易凝固
Rivalta 试验	阴性	阳性
蛋白质含量(g/L)	<25	>30
积液蛋白/血清蛋白	<0.5	>0.5
葡萄糖(mmol/L)	接近血糖水平	<3.33
LD(U/L)	<200	>200
积液 LD/ 血清 LD	<0.6	>0.6
细胞总数($\times 10^6/L$)	<100	>500
有核细胞分类	淋巴细胞为主, 可见间皮细胞	急性炎症以中性粒细胞为主, 慢性炎症或恶性积液以淋巴细胞为主
肿瘤细胞	无	可有
细菌	无	可有

3. 寻找积液病因 浆膜腔积液是临床常见的体征,其病因比较复杂。腹膜腔积液主要病因有肝硬化、肿瘤和结核性腹膜炎等,约占 90% 以上。胸膜腔积液主要病因为结核性胸膜炎和恶性肿瘤,且有向恶性肿瘤为主发展的趋势。心包膜腔积液主要病因为结核性、非特异性和肿瘤性,结核性仍占首位,但呈逐年减低的趋势,而肿瘤性则呈逐年上升趋势。

(1) 脓性渗出液(purulent exudate): 黄色浑浊,含大量脓细胞和细菌。常见致病菌为大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肠球菌、葡萄球菌、脆弱类杆菌属等,约 10% 积液为厌氧菌感染。放线菌性渗出液浓稠恶臭,可见特有菌块;葡萄球菌性渗出液稠厚呈黄色;链球菌性渗出液呈淡黄色,量多而稀薄;铜绿假单胞菌性渗出液呈绿色。

(2) 血性渗出液(sanguineous exudate): 一般呈红色、暗红色或果酱色,常见于创伤、恶性肿瘤、结核性积液及肺梗死等。肿瘤性血性积液采集后很快凝固,其 LD 增高、肿瘤标志物阳性,铁蛋白、纤维连接蛋白及纤维蛋白降解产物均增高,而 ADA、LZM 却不高,经涂片检查可找到肿瘤细胞。结核性血性积液凝固较慢,ADA、LZM 明显增高。果酱色积液提示阿米巴感染,涂片中可找到阿米巴滋养体。积液呈不均匀血性或混有小凝块,可能为创伤所致。

(3) 浆液性渗出液(serous exudate): 黄色微浑半透明黏稠液体,有核细胞多为 $(200\sim 500)\times 10^6/L$,蛋白质为 30~50g/L,常见于结核性积液、化脓性积液早期和浆膜转移癌。无菌积液中葡萄糖含量与血清葡萄糖含量相近,而结核性积液葡萄糖减低,可通过检查结核特异性抗体、LD、ADA 及 LZM 等进行鉴别。

(4) 乳糜性渗出液(chylous exudate): 呈乳白色,浑浊,以脂肪为主,因胸导管阻塞、破裂或受压引起。常见于丝虫感染、纵隔肿瘤、淋巴结结核。涂片检查可见淋巴细胞增多,积液甘油三酯 $>1.26\text{mmol/L}$ 。当积液含有大量脂肪变性细胞时,可呈乳糜样,以类脂(磷脂酰胆碱、胆固醇)为主,即假性乳糜。

(5) 胆固醇性渗出液(cholesterol exudate): 呈黄褐色浑浊, 强光下可见许多闪光物, 显微镜检查可见胆固醇结晶, 与结核杆菌感染有关。

(6) 胆汁性渗出液(biliary exudate): 呈黄绿色, 胆红素定性检查呈阳性。多见于胆汁性腹膜炎引起的腹膜腔积液。

结核性与恶性胸膜腔积液鉴别见表 7-32。

表 7-32 结核性和恶性胸膜腔积液鉴别

鉴别点	结核性	恶性
外观	黄色、血性	血性多见
ADA (U/L)	>40	<25
积液 ADA/ 血清 ADA	>1.0	<1.0
LZM (mg/L)	>27	<15
积液 LZM/ 血清 LZM	>1.0	<1.0
CEA (μg/L)	<5	>15
积液 CEA/ 血清 CEA	<1.0	>1.0
铁蛋白 (μg/L)	<500	>1000
LD (U/L)	>200	>500
细菌	可见结核杆菌	无
细胞	淋巴细胞	可见肿瘤细胞

第三节 关节腔积液检查

健康人关节腔分泌极少量滑膜液(synovial fluid, SF), 当关节有炎症、损伤等病变时, 滑膜液增多, 称为关节腔积液。

一、关节腔积液标本采集和处理

1. 标本采集 关节腔积液标本由临床医师在无菌操作下进行关节腔穿刺术采集。标本采集时应记录采集量, 并根据需要分别置入 3 个无菌试管中, 第 1 管用于微生物学检查, 第 2 管肝素抗凝(肝素钠 25U/ml)用于细胞学及化学检查, 第 3 管不加抗凝剂用于观察有无凝固。不宜选用草酸盐和 EDTA 粉剂抗凝剂, 以免影响关节腔积液结晶的检查。

2. 标本转运、保存和处理 ①避免标本被污染。②及时送检, 如需要保存标本, 必须离心去除细胞后再保存, 因为细胞内酶释放会改变滑膜液成分; 2~4℃环境下可保存数天; 用于检查补体或酶等指标的标本应置于-70℃保存。③试验性关节腔穿刺为阳性时, 可将穿刺针内的血液成分或组织做晶体检查、革兰染色及培养等; 如怀疑关节感染而穿刺结果为阴性时, 可采集关节腔清洗液作细菌培养。

二、关节腔积液一般检查

(一) 理学检查

1. 量

【参考区间】 约 0.1~2.0ml。

【临床意义】 在关节发生炎症、创伤和化脓性感染时，关节腔积液增多。积液量多少可初步反映关节局部刺激、炎症或感染的严重程度。

2. 颜色

【参考区间】 无色或淡黄色。

【临床意义】 病理情况下，关节腔积液可出现不同的颜色变化(表 7-33)。

表 7-33 关节腔积液常见颜色变化及临床意义

颜色	临床意义
淡黄色	穿刺损伤出血
红色	创伤、全身出血性疾病、恶性肿瘤、关节置换术后及血小板减少症
金黄色	积液内胆固醇增高
脓性黄色	严重细菌感染性关节炎
乳白色	结核性、慢性类风湿关节炎、痛风、系统性红斑狼疮、丝虫病、大量结晶等
绿色	铜绿假单胞菌性关节炎
黑色	褐黄病

3. 透明度

【参考区间】 透明清亮。

【临床意义】 关节腔积液浑浊主要与细胞成分、细菌、蛋白质增多有关。浑浊多见于炎性积液，炎性病变越重，浑浊越明显，甚至呈脓性积液。当积液内含有结晶、脂肪小滴、纤维蛋白或块状退化的滑膜细胞形成的悬浮组织时，也可出现浑浊。

4. 黏稠度

【参考区间】 高度黏稠。

【临床意义】 关节炎症时，因积液中透明质酸被中性粒细胞释放的酶降解，以及因积液稀释均可使积液黏稠度降低。关节炎症越重，黏稠度越低。重度水肿、外伤性急性关节腔积液，因透明质酸被稀释，即使无炎症，黏稠度也降低。

5. 凝块形成

【参考区间】 无凝块。

【临床意义】 健康人滑膜液不含纤维蛋白原和其他凝血因子，因此不凝固。炎症时血浆凝血因子渗入关节腔积液中可形成凝块，凝块形成的速度、大小与炎症程度呈正相关。根据凝块占试管中积液体积的多少，一般将凝块形成程度分为 3 度，其临床意义见表 7-34。

表 7-34 关节腔积液凝块形成的程度及临床意义

程度	判断类型	临床意义
轻度	凝块占试管中积液体积的 1/4	骨关节炎、系统性红斑狼疮、系统性硬化症及骨肿瘤
中度	凝块占试管中积液体积的 1/2	类风湿关节炎、晶体性关节炎
重度	凝块占试管中积液体积的 2/3	结核性、化脓性、类风湿关节炎

(二) 化学检查

1. 黏蛋白凝块形成试验

【参考区间】 阳性。

【临床意义】 健康人滑膜液中含有大量黏蛋白，主要是透明质酸与蛋白质的复合物，在乙酸作用下形成坚实的黏蛋白凝块，有助于反映透明质酸、蛋白质含量和聚合作用情况。健康人滑膜液的黏蛋白凝块形成良好，凝块形成不良多见于化脓性关节炎、结核性关节炎、类风湿关节炎及痛风。

2. 蛋白质

【参考区间】 11~30g/L；白蛋白与球蛋白之比为4:1，无纤维蛋白原。

【临床意义】 蛋白质增高主要见于化脓性关节炎，其次是类风湿关节炎和创伤性关节炎。关节炎时关节腔积液中的总蛋白、白蛋白、球蛋白和纤维蛋白原均增高。关节腔积液中蛋白质高低可反映关节感染的程度。

3. 葡萄糖

【参考区间】 3.3~5.3mmol/L。

【质量保证】 关节腔积液葡萄糖应与空腹血糖同时测定，尤其在禁食或低血糖的情况下。因餐后血糖与积液葡萄糖的平衡较慢，且不易判断，故以空腹积液葡萄糖浓度为准。标本采集于含氟化物的试管内，并立即检查，以避免葡萄糖转化为乳酸。

【临床意义】 健康人滑膜液葡萄糖较血糖稍低，两者相差 $<0.5\text{mmol/L}$ 。化脓性关节炎时，因白细胞增多使葡萄糖转化为乳酸和细菌消耗葡萄糖，积液葡萄糖含量减少，使血糖与积液葡萄糖差值增大($>2.2\text{mmol/L}$)。结核性关节炎、类风湿关节炎的积液葡萄糖减低的程度比化脓性关节炎小。

4. 乳酸

【参考区间】 1.0~1.8mmol/L。

【临床意义】 化脓性关节炎关节腔积液细胞对葡萄糖的利用率和需氧量增高，同时，局部炎症使血液循环不足及低氧代谢等导致乳酸含量增高。类风湿关节炎积液中乳酸轻度增高，而淋病奈瑟菌感染的关节腔积液乳酸含量可正常。虽然关节腔积液乳酸的特异性较差，但仍可作为关节感染早期诊断的指标之一。

5. 类风湿因子

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 约60%类风湿关节炎患者血清类风湿因子(rheumatoid factor, RF)呈阳性，关节腔积液RF阳性率较血清高，但并非特异性指标。RF阳性也可见于感染性(如结核性)和其他非感染性关节炎。

6. 抗核抗体

【参考区间】 阴性。

【临床意义】 抗核抗体除了存在于血清中，也可存在于关节腔积液、胸膜腔液和尿液中。70%系统性红斑狼疮和20%类风湿关节炎患者关节腔积液中可检出抗核抗体。因此，系统性红斑狼疮患者有关节炎症状时，可采集关节腔积液标本检查抗核抗体。

7. 补体

【参考区间】 约为血清补体的10%。

【临床意义】 风湿性关节炎患者血清补体多正常，而关节腔积液补体可减低30%；活动性系统性红斑狼疮患者血清和关节腔积液补体均减低；感染性关节炎、痛风、Reiter综合征患者关节腔积液补体可增高，且与关节腔积液蛋白质含量呈正相关。

(三) 显微镜检查

关节腔积液显微镜检查应注意：①积液要充分混匀后检查。②用生理盐水或白细胞稀释液稀释积液，不能用草酸盐或乙酸稀释，以防黏蛋白凝块形成。③标本采集后应立即检查，以避免白细胞自发凝集和产生假性晶体。

1. 细胞计数 健康人滑膜液中无红细胞，有极少白细胞，约为 $(200\sim700)\times 10^6/L$ 。虽然，白细胞计数结果对诊断关节炎无特异性，但可初步区分炎症性和非炎症性积液。关节炎时白细胞总数增高，化脓性关节炎的细胞总数往往超过 $50\,000\times 10^6/L$ 。急性痛风、风湿性关节炎时细胞总数可达 $20\,000\times 10^6/L$ 。

2. 细胞分类计数 健康人滑膜液中的细胞约65%为单核-吞噬细胞，10%为淋巴细胞，20%为中性粒细胞，偶见软骨细胞和组织细胞。关节腔积液白细胞分类计数增高的临床意义见表7-35。

表 7-35 关节腔积液白细胞分类计数增高的临床意义

细胞	临床意义
中性粒细胞	①炎症性积液中性粒细胞增高>80% ②化脓性关节炎积液的中性粒细胞高达95% ③风湿性关节炎、痛风、类风湿关节炎的中性粒细胞>50% ④创伤性关节炎、退变性关节炎、肿瘤(非感染性疾病)等中性粒细胞<30%
淋巴细胞	主要见于类风湿关节炎早期、慢性感染、结缔组织病等
单核细胞	病毒性关节炎、血清病、系统性红斑狼疮等
嗜酸性粒细胞	风湿性关节炎、风湿热、寄生虫感染及关节造影术后等

3. 特殊细胞检查 关节腔积液涂片采用 Giemsa 或 Wright 染色后显微镜检查，以检查有无特殊细胞(图7-12, 图7-13)，特殊细胞的形态特点与临床意义见表7-36。

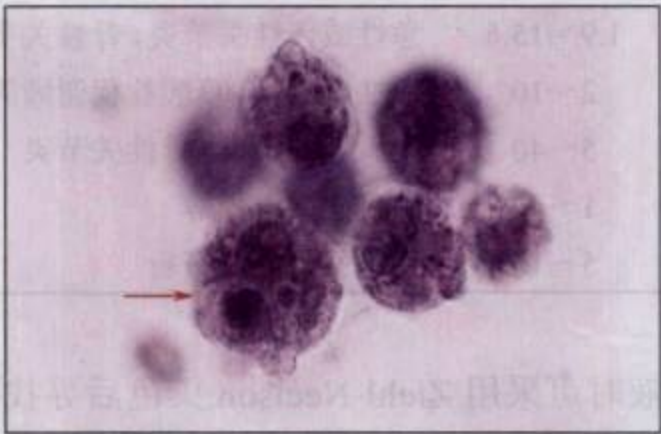


图 7-12 Reiter 细胞

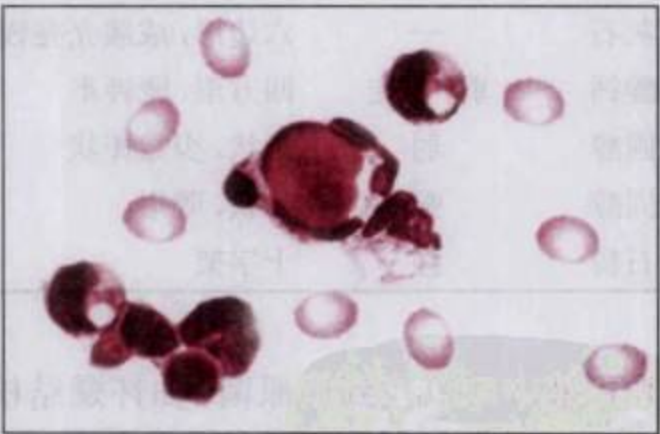


图 7-13 狼疮细胞

4. 结晶 关节腔积液中常见的结晶有尿酸盐结晶、焦磷酸钙结晶、磷灰石结晶、草酸钙结晶等，见于各种痛风。外源性结晶多见于关节手术中手套滑石粉脱落，以及注射皮质类固醇形成的结晶，不同类型的结晶可同时存在。关节腔积液结晶检查主要用于鉴别痛风和假性痛风。尿酸钠结晶见图7-14，几种关节腔积液结晶特性及临床意义见表7-37。

5. 微生物学检查 关节腔积液微生物学检查应列入常规检查项目。首先应作涂片革兰染色检查，大约75%链球菌感染、50%革兰阴性杆菌感染以及25%的淋病奈瑟菌感染在

表 7-36 关节腔积液特殊细胞的形态特点与临床意义

细胞	形态特点	临床意义
类风湿细胞	吞噬有抗原抗体复合物的一种带有折射周边的多核白细胞	主要见于类风湿关节炎,尤其是 RF 阳性者预后较差;也可见于化脓性关节炎等
Reiter 细胞	吞噬了退化变性的中性粒细胞的吞噬细胞	多见于 Reiter 综合征,也可见于痛风、幼年类风湿关节炎
狼疮细胞	①在狼疮因子的作用下,受累的白色细胞核变成肿胀的“游离均匀体”。②中性粒细胞吞噬了 1 个或数个淡红色的“均匀体”,胞质减少、胞核被挤在一边(保持正常染色质结构)	特异性差;可见于系统性红斑狼疮、药物性狼疮关节炎、类风湿关节炎

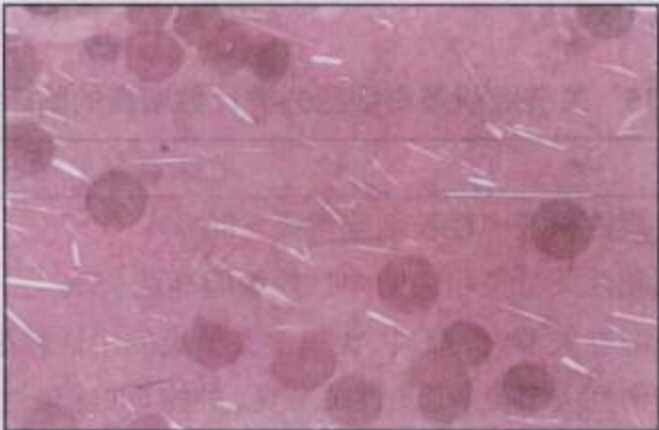


图 7-14 痛风患者尿酸钠结晶(偏振光)

表 7-37 关节腔积液各种结晶特性及临床意义

结晶	光强度	形状	大小(μm)	临床意义
尿酸钠	强	细针状或短棒状	5~20	痛风
焦磷酸钙	弱	棒状或菱形	1~20	假性痛风,骨性关节炎
磷灰石	—	六边形,成簇光亮钱币形	1.9~15.6	急性或慢性关节炎,骨性关节炎
草酸钙	弱,不定	四方形,哑铃形	2~10	慢性肾衰竭,草酸盐代谢障碍
胆固醇	弱	盘状,少数棒状	5~40	类风湿关节炎,骨性关节炎
类固醇	强	针状、菱形	1~40	注射皮质类固醇
滑石粉	强	十字架	5~10	手术残留的滑石粉

关节腔积液中可以找到病原菌,如怀疑结核性积液时可采用 Ziehl-Neelson 染色后寻找抗酸杆菌,但阳性率仅 20% 左右时,应考虑作结核杆菌培养或分子生物学方法(如 PCR)检查,以提高阳性率。约 30% 细菌性关节炎查不出病原菌。因此,需氧培养阴性时,也不能排除感染,还应进行厌氧菌和真菌培养。

三、关节腔积液检查的临床应用

不同疾病关节腔积液的变化各不相同,关节腔积液检查主要用于各种类型关节病变的诊断、疗效观察及预后判断。关节腔积液检查项目的选择见表 7-38,常见关节病变的积液特征见表 7-39。

表 7-38 关节腔积液检查项目的选择

分类	检验项目
常规检查	理学检查(颜色、透明度)、白细胞总数与分类计数、革兰染色与细菌培养(需氧和厌氧培养)、结晶检查
特殊检查	真菌、抗酸染色和细菌培养,PCR 检测细菌 DNA,血清葡萄糖与积液葡萄糖比值,乳酸和其他有机酸,补体,酶学,尿酸等

表 7-39 常见关节病变关节腔积液检查特征

疾病	外观	黏度	黏蛋白凝块形成	细胞计数及分类	蛋白质	葡萄糖	结晶	细菌
损伤性关节炎	黄、血色,常浑浊	高	良好	↑,L 为主	↑	正常	无	无
骨关节炎	黄,清亮	高	良好	↑,L 为主	↑	正常	无	无
类风湿关节炎	黄、浅绿色,浑浊	低	一般,差	↑,N 为主	↑	正常	偶见胆固醇结晶	无
风湿热	黄,稍浑浊	低	良好,一般	↑,N 占 50%	↑	正常	无	无
痛风	黄、乳白色,稍浑浊	低	一般,差	↑,N 为主	↑	正常	尿酸盐结晶	无
结核性关节炎	黄,浑浊	低	差	↑,早期 N 为主,后期 L 为主	↑	↓	无	阳性
化脓性关节炎	浅灰、白色,浑浊,脓样	低	差	↑↑,N 为主	↑↑	↓	无	阳性
关节创伤、出血性疾病、过度治疗	红色,浑浊	低	一般	↑,N 为主	↑	正常	无	无

注: L: 淋巴细胞; N: 中性粒细胞; ↑: 增高或中度增高; ↑↑: 明显增高; ↓: 中度减低

(李 艳)

第四节 精 液 检 查

精液(semen)由精浆(spermatic plasma)和精子(sperm)组成。精子产生于睾丸,在附睾内发育成熟,为男性生殖细胞,占精液的 5% 左右。精浆是由男性附属腺,如精囊、前列腺、尿道旁腺和尿道球腺等分泌的混合液(表 7-40),是输送精子必需的介质,并为精子提供营养物质和能量。

表 7-40 精浆的组成及作用

组成	含量(%)	成分与性状	作用
精囊液	50~80	主要成分为蛋白质、果糖、凝固酶,呈胶冻样	果糖供给精子能量,蛋白质和凝固酶使精液呈胶冻状
前列腺液	15~30	主要成分为酸性磷酸酶、纤溶酶,呈乳白色	纤溶酶能使精液液化
尿道球腺液	2~3	清亮液体	润滑和清洁尿道的作用
尿道旁腺液	2~3	清亮液体	润滑和清洁尿道的作用

精液中水分约占 90%，其余为有形成分，包括精子和生殖道脱落的少量上皮细胞、白细胞及未成熟生精细胞。精液的化学成分很复杂，主要包括蛋白质（白蛋白、纤维蛋白原、免疫球蛋白、 α_2 巨球蛋白等）、酶（酸性磷酸酶、凝固酶、蛋白酶、乳酸脱氢酶 -X、纤溶酶、柠檬酸酶等）、微量元素（镁、钙、铁、铜、锌等）及激素、果糖等。

精液检查的主要目的：①评价男性生殖功能，提供不育症的诊断和疗效观察依据。②男性生殖系统疾病的辅助诊断。③输精管结扎术后的疗效观察。④为体外授精和精子库筛选优质精子。⑤法医学鉴定。

一、精液标本采集和处理

（一）标本采集

精液标本采集以手淫法为宜。将一次射出的全部精液采集于干净的容器内；容器加盖，并标明标本采集日期和时间。采集用于细菌培养的标本需要无菌操作。精液采集后立即于 20~37℃ 条件下保温，并在 1 小时内送检。

【方法学评价】 精液标本采集方法有手淫法、电按摩法、专用安全套法和性交中断法，其方法学评价见表 7-41。

表 7-41 精液标本采集的方法学与评价

方法	评价
手淫法	标准采集方法，可采集到完整的精液，送检及时，受外界温度的影响较少。但是部分患者不能采集到精液
电按摩法	通过刺激阴茎头部使之射精，其刺激性较强，在手淫法不能采集到精液时可采用
安全套法	方法易行，但必须使用专用安全套。普通乳胶安全套内的物质可杀灭精子
性交中断法	一般不采用，因其可能丢失精子浓度最高的初始精液，阴道酸性环境可能影响精子活力

【质量保证】 检查前应向患者解释精液标本采集方法、禁欲时间（2~7 天）、标本采集前排尿等。标本采集室最好在实验室附近，室温控制在 20~28℃。不能用乳胶安全套作为容器，以免影响精子的活动力。准备用来储存精液的容器使用前应置于 20~37℃ 条件下，以免影响精子细胞的活性。

（二）标本处理

精液内可能含有 HBV、HIV 和疱疹病毒等，故精液需要按潜在生物危害物质进行处理。标本检查完毕后应焚烧，或浸入 0.1% 过氧乙酸 12 小时或 5% 甲酚皂溶液中 24 小时后再处理。

二、精液一般检查

（一）理学检查

1. 外观

【参考区间】 灰白或乳白色，不透明。

【临床意义】 精液放置一段时间后可自行液化，呈半透明乳白色；久未射精者的精液可呈浅黄色。黄色脓性精液见于精囊炎或前列腺炎。红色或酱油色伴大量红细胞者为血精，见于精囊腺和前列腺炎、结核、结石或肿瘤。

2. 量 用刻度吸管或小量筒测定全部液化的精液量。

【参考区间】 一次排精量 1.5~6ml。

【临床意义】 一次排精量与排精间隔时间有关。根据精液量的变化可分为精液减少(oligospermia)、无精液症(azoospermia)和精液增多症(polyspermia)，其意义见表 7-42。

表 7-42 精液量的变化与临床意义

变化	临床意义
精液减少	若 5~7 天未射精，精液量少于 1.5ml，视为精液减少。排除人为因素，如采集时部分精液丢失或禁欲时间过短等，病理性减少见于雄激素分泌不足、副性腺感染等
无精液症	禁欲 3 天后精液量减少到数滴甚至排不出时，见于生殖系统的特异性感染（如淋病、结核）及非特异性炎症等。逆行射精时有射精动作，但无精液排出（逆行射入膀胱）
精液增多症	超过 6.0ml，常见于附属腺功能亢进。精液增多可致精子浓度减低，不利于生育

3. 凝固及液化 健康人精液射出后呈胶冻状，即精液凝固。精液由胶冻状转变为流动状所需时间称为精液液化时间(semen liquefaction time)。

【检测原理】 精液标本采集后立即观察其是否凝固，然后置于 37℃ 水浴中，每 5 分钟检查 1 次，直至液化，记录精液从凝固至完全液化所需要的时间。

【参考区间】 射精后精液立即凝固，液化时间 < 60 分钟。

【临床意义】 ①精液凝固障碍：见于精囊腺炎或输精管缺陷等。精囊腺炎时，由于蛋白质分泌减少可引起精液凝固障碍。②液化不完全：见于前列腺炎，因前列腺分泌纤溶酶减少所致。不液化或液化不全可抑制精子活动力，进而影响生殖能力。精液液化缓慢，超过 1 小时或数小时不液化称为精液延迟液化症(semen delayed liquefaction)。

4. 黏稠度 精液黏稠度(semen viscosity)是指精液完全液化后的黏度。

【检测原理】 ①直接玻棒法：将玻璃棒插入精液标本，提棒时可拉起黏液丝。精液黏稠度分为 3 级，其评价见表 7-43。②滴管法：用 Pasteur 滴管吸入液化精液，然后让精液依靠重力滴落，并观察其拉丝长度。

表 7-43 直接玻棒法精液黏稠度的分级与评价

分级	评价
I 级	30 分钟精液基本液化，玻璃棒提拉精液呈丝状黏稠丝
II 级	60 分钟精液不液化，玻璃棒提拉可见粗大黏稠丝，涂片有较明显黏稠感
III 级	24 小时精液不液化，难以用玻璃棒提起精液，黏稠性很高，涂片困难

【方法学评价】 常用的直接玻璃棒法和滴管法操作简便，适合临床应用。

【参考区间】 拉丝长度 < 2cm，呈水样，形成不连续小滴。

【临床意义】 ①黏稠度减低：即新排出的精液呈米汤样，可见于先天性无精囊腺、精子浓度太低或无精子症。②黏稠度增加：多与附属腺功能异常有关，如附睾炎、前列腺炎，且常伴有精液不液化，可引起精子活动力降低而影响生殖能力。另外，精液黏稠度增加可干扰精子计数、精子活动力和精子表面抗体的测定。

5. 酸碱度

【检测原理】 用精密 pH 试纸或 pH 计测定液化精液酸碱度。

【方法学评价】 pH 试纸法简便，pH 计法准确。

【质量保证】 测定精液 pH 应在射精后 1 小时内完成，精液放置时间过长会影响测定结果。细菌污染可以使精液 pH 升高。

【参考区间】 7.2~8.0(平均 7.8)。

【临床意义】 ① pH<7.0 并伴有精液量减少，可能是输精管阻塞、射精管和精囊腺缺如或发育不良所致。② pH>8.0，常见于急性前列腺炎、精囊炎或附睾炎，可能是精囊腺分泌过多或前列腺分泌过少所致。

(二) 化学检查

精液化学成分和某些酶主要反映了附属腺的分泌功能，对男性不育症的诊断、治疗及病因分析有重要临床意义(表 7-44)。

表 7-44 精液化学检查的临床意义

指标	参考区间	临床意义
酸性磷酸酶	磷酸苯二钠比色法：48.8~208.6U/ml	减低见于前列腺炎，可使精子活动减弱，受精率下降。增高见于前列腺癌和前列腺肥大
乳酸脱氢酶 -X (LD-X)	聚丙烯酰胺电泳法：相对活性≥42.6%。 绝对活性(1430±940)U/L	减低：见于少精液症或无精液症
中性 α- 葡萄糖苷酶	比色法：≥20mU/1 次射精	其活性与精子密度、精子活力呈正相关，有助于鉴别输精管阻塞、睾丸生精障碍所致的无精子症
精子顶体精氨酸酰胺酶	比色法：48.2~217.7μIU/10 ⁶	其活性与精子计数、精子顶体完整率呈正相关。活性减低可导致不育
柠檬酸	紫外比色法：50μmol/1 次射精 吡啶比色法：≥13μmol/1 次射精	显著减少见于前列腺炎。与睾酮水平相关，可以评价雄激素分泌状态
果糖	间苯二酚比色法：9.11~17.67mmol/L 吡啶比色法：≥13μmol/1 次射精	减低见于精囊腺炎和雄激素分泌不足；缺如见于先天性精囊腺缺如、逆行射精等
锌	①比色法：(1.259±0.313)mmol/L 或≥2.4μmol/1 次射精； ②原子吸收光谱法：(2.12±0.95)mmol/L 或(163.02±45.26)mg/L； ③中子活化法：(2.24±1.45)mmol/L	严重缺锌可致不育症。青春期缺锌，则影响男性生殖器官和第二性征发育。可作为评价男性生殖功能和诊治不育症的指标之一

(三) 显微镜检查

采用普通光学显微镜观察未染色精液标本的有形成分和染色后的精子形态。推荐使用相差显微镜观察新鲜、未染色或未洗涤过的标本。

取 1 滴液化而混匀的精液置于载玻片上，加盖玻片静置片刻，在显微镜下观察有无精子。若未见精子，将标本离心 15 分钟(3000r/min)后，取沉淀物重新检查。仍未见精子，则不必继续检查。

1. 精子活动率 精子活动率(sperm activity rate)是指在显微镜下直接观察活动精子所占精子总数的比例。

【方法学评价】 因误差较大，此法只能作为初筛检查。

【质量保证】 检查应在射精后 2 小时内完成。标本注意保暖,宜在保温镜台上进行观察。直接涂片检查,若不活动精子过多(> 75%),应采用体外精子活体染色技术检测活精子的数量。

【参考区间】 排精后 60 分钟内,精子活动率为 80%~90%(至少> 60%)。

【临床意义】 精子活动率减低是男性不育的重要因素。当精子活动率低于 70% 时,可使生育力下降,如低于 40% 则可导致不育。引起精子活动率下降的因素较多:①精索静脉曲张。②生殖系统感染,如淋病、梅毒等。③物理因素,如高温环境(热水浴)、放射线因素等。④化学因素,如某些药物(抗代谢药、抗疟药、雌激素)、乙醇等。

2. 精子活动力 精子活动力(sperm motility)是指精子前向运动的能力。WHO 将精子活动力分为 3 级(表 7-45),即前向运动(progressive motility, PR)、非前向运动(non-progressive motility, NP)和无运动(immotility, IM)。

表 7-45 WHO 精子活动力分级与评价

分级	特点
前向运动	精子运动积极,表现为直线或大圈运动,速度快
非前向运动	精子所有的运动方式都缺乏活跃性,如小圈的游动,鞭毛力量(flagellar force)难以推动头部,或只有鞭毛的抖动
无运动	精子没有运动

【方法学评价】 除了采用显微镜检查精子活动力外,还有连续摄影法及精子质量分析仪测定。连续摄影法需要高精度设备,方法较复杂,尚不能普及。精子质量分析仪操作简便、准确、客观,是较理想的精子活动力分析方法。

【质量保证】 ①精子活动力的检测应尽量在精液液化后 30 分钟内完成,由于脱水、pH 和环境温度的改变均会影响精子活动力。因此,无论如何也必须保证在精液液化后 1 小时之内完成检测。②精子活动力依赖于环境温度,包括显微镜镜台和其他操作器材等表面的温度,故应尽可能在 37℃ 的环境下测定精子活动力。

【参考区间】 总活动力(PR+NP)≥40%,前向运动(PR)≥32%。

【临床意义】 精子活动力低下常见于:①精索静脉曲张、静脉血回流不畅,睾丸组织缺氧等。②生殖系统非特异性感染、使用某些药物(抗代谢药、抗疟药、雌激素、氧化氮芥等)。

3. 精子存活率 精子存活率(sperm vitality)采用活精子所占比例表示。精子死亡后,细胞膜完整性受损,失去屏障功能,很容易着色。用伊红 Y(eosin Y)或台盼蓝(trypan blue)等染料对液化精液进行染色,在高倍镜下观察 200 个精子,以不着色精子的百分率报告。当精子活动率低于 50% 时,应检查精子存活率。

【方法学评价】 湿片法和干片法操作简便,适合临床应用。

【参考区间】 存活率≥58%(伊红染色法)。

【临床意义】 精子存活率降低是男性不育症的重要原因之一。死精子超过 50%,即可诊断为死精子症(可能与附属性腺炎症和附睾炎有关)。

4. 精子凝集 精子凝集(agglutination of spermatozoa)是指活动的精子相互黏附在一起,如头对头,尾对尾或其他方式的凝集等。这些精子常呈旺盛的摇动式的运动,但有时也因黏附而使精子运动受到限制。WHO 将精子凝集分为 4 级:① 1 级:多数精子是游离的,

低于 10% 的精子发生凝集。② 2 级：10%~50% 的精子发生凝集。③ 3 级：> 50% 的精子发生凝集。④ 4 级：所有精子发生了凝集。

【参考区间】 无凝集。

【临床意义】 精子凝集虽然不能作为免疫因素引起不孕的充分证据，但可提示抗精子抗体的存在。

5. 精子计数 精子计数(sperm count)有两种方式，一种是指计数单位体积内的精子数量，即精子浓度。另一种是精子总数(即单次排出的精子的绝对数量)，以精子浓度乘以本次的精液量，即得到 1 次射精的精子总数。

【参考区间】 精子计数 $\geq 15 \times 10^9/L$ ；精子总数 $\geq 39 \times 10^6/1$ 次射精。

【临床意义】 精子计数持续 $< 20 \times 10^9/L$ 时为少精子症；精液多次检查无精子时为无精子症(连续检查 3 次，离心后沉淀物中仍无精子)。常见于：①男性结扎术后：一般在结扎术后第 6 周开始检查，每周 1~2 次，连续检查 3 次无精子，则表明手术成功。②睾丸病变：如精索静脉曲张；睾丸畸形、炎症、结核、淋病、肿瘤及隐睾等。③输精管疾病：如输精管阻塞、输精管先天性缺如和免疫性不育(睾丸创伤和感染使睾丸屏障的完整性受到破坏，产生抗精子抗体所致)。④其他：逆行射精、有害金属或放射性损害、环境因素、老年人、应用抗癌药物等。

6. 精子形态

【检测原理】 ①湿片法：精子计数后，采用高倍镜或相差显微镜(600×)直接检查精子形态。②染色法：将液化精液涂成薄片，经干燥、固定后染色(如 H-E、Giemsa、改良 Papanicolaou、Bryan-Leishman 和 Shorr 染色等)，油镜下观察计数 200 个精子，报告形态正常和异常的精子百分率。

现已有预先固定染料的商品化载玻片，在载玻片上直接滴加 5~10μl 液化精液，加盖玻片，数分钟后精子着色，可以清楚地显示精子形态。

正常精子外形似蝌蚪状，分头、体、尾三部分(表 7-46，图 7-15，图 7-16)。Papanicolaou 染色后，正常精子头部顶体染成浅蓝色，顶体后区域染成深蓝色，中段染成浅红色，尾部染成蓝色或浅红色。异常精子形态包括精子头部、颈段、中段和尾部的各种异常(表 7-47)。

表 7-46 正常精子的形态特点

部位	特点
头部	正面呈椭圆形，侧面呈扁平梨形；长 4.0~5.0μm，宽 2.5~3.0μm；顶体的界限清楚，占头部的 40%~70%
中段	细，宽度 $< 1\mu m$ ，长度是头部的 1.5 倍，且在轴线上紧贴头部
尾部	尾部均一且直，比中段细，长 45μm
胞质小滴	小于头部大小的一半

表 7-47 精子形态异常

部位	异常
头部	大头、小头、圆头、双头、多头、无头、锥形头、无定形头、有空泡头、顶体过小等
颈段和中段	颈部弯曲、中段不规则、增粗、变细或联合异常等
尾部	短尾、双尾、多尾、卷曲尾、断尾、发夹状尾、尾部消失、尾部伴有末端微滴或联合异常

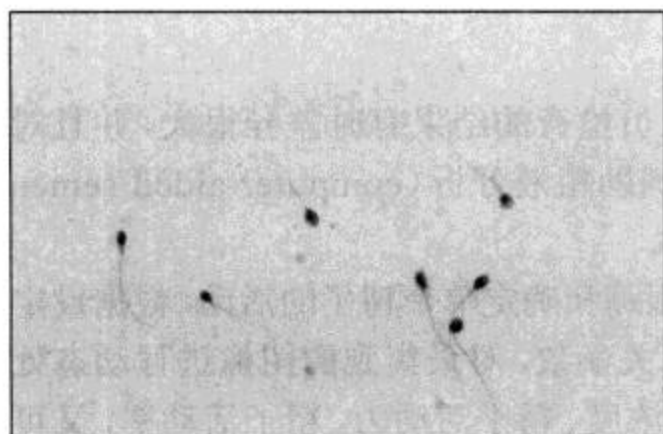


图 7-15 正常形态精子

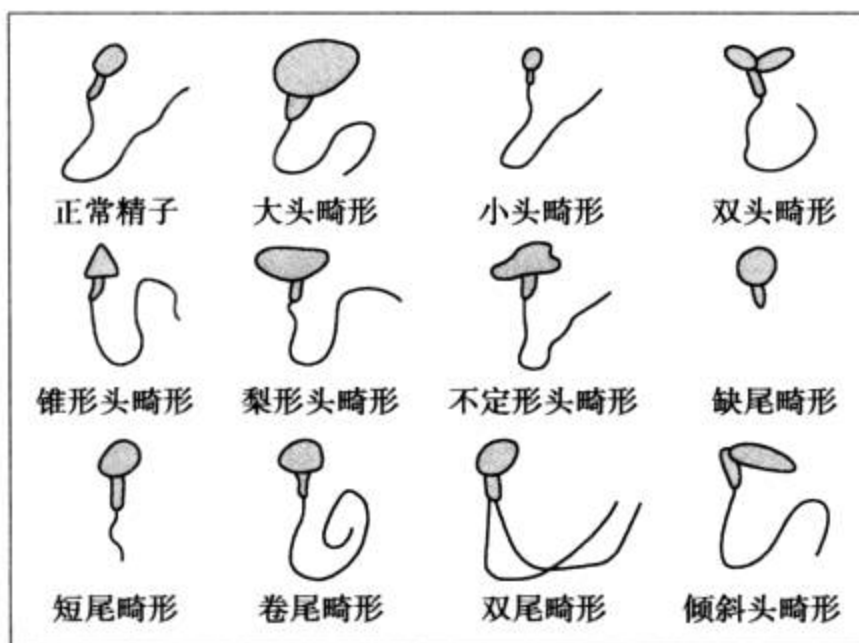


图 7-16 正常及异常形态精子模式图

【方法学评价】 ①湿片法：操作简便，但要求检验人员经验丰富，否则会因识别错误而导致结果差异较大，故不推荐使用。目前，在临床上相差显微镜检查应用仍较少。②染色法：WHO 推荐的方法。操作相对费时、复杂，但染色后精子结构清楚，易于辨认，结果更为准确，重复性好。

【质量保证】 ①当精子有多种缺陷同时存在时，此时只需记录 1 种，应先记录头部缺陷，其次为尾部缺陷。②计数脱落或游离的精子头作为异常形态，但不计数游离尾（避免重复）。③卷尾与精子衰老有关，但高卷尾率与低渗透压有关。

【参考区间】 正常形态精子 $\geq 30\%$ 。

【临床意义】 畸形精子增多见于感染、外伤、高温、放射线、乙醇中毒、药物、工业废物、环境污染、激素失调或遗传因素导致睾丸异常、精索静脉曲张等。

7. 其他细胞

(1) 生精细胞(spermatogenic cell)：即未成熟生殖细胞，指各阶段发育不全的生殖细胞，如精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞及发育不全精子细胞。

【质量保证】 各阶段生精细胞的形态、大小及核的形态、大小均不规则，如采用未染色精液检查时，易与中性粒细胞相混淆。故 WHO 推荐正甲苯胺蓝过氧化酶染色法，中性粒细胞呈阳性，而生精细胞则呈阴性。对不含过氧化物酶的其他白细胞建议采用免疫细胞化学法检测。

【参考区间】 $< 1\%$ 。

【临床意义】 当睾丸曲细精管生精功能受到药物或其他因素的影响时，精液中可出现较多未成熟生殖细胞。

(2) 上皮细胞、红细胞、白细胞：健康男性精液中偶见前列腺上皮细胞（呈柱状或立方形、圆形及多边形）、精囊细胞（呈圆形或卵圆形，胞质嗜碱性，含色素颗粒）、尿道移行上皮细胞（呈多边形）、柱状或鳞状上皮细胞，少量红细胞和白细胞。前列腺增生患者还可见到较多增大的前列腺上皮细胞。

【参考区间】 红细胞、白细胞和上皮细胞 < 5 个/HP。

【临床意义】 精液中红细胞、白细胞增多见于生殖系统炎症、结核、恶性肿瘤等。健康男性精液白细胞 $< 1 \times 10^9/L$ （正甲苯胺蓝过氧化酶染色）。精液白细胞超过 $1 \times 10^9/L$ 称为白

细胞精子症 (leukocytospermia), 可伴有精子浓度、精液量、精子活动力等改变, 和 (或) 精子功能丧失。精液中检查到癌细胞, 对生殖系统恶性肿瘤的诊断将提供重要依据。

三、计算机辅助精液分析

(一) 计算机辅助精液分析系统

传统的精液检查带有很大的主观性, 不同检验人员检查的结果有时差异很大, 并且对精子运动能力的判断缺少严格的量化指标。计算机辅助精液分析 (computer-aided semen analysis, CASA) 系统是 20 世纪 80 年代发展的新技术。

【检测原理】 通过摄像机或录像与显微镜连接, 跟踪和确定单个精子的活动, 根据设定的精子运动的移位、精子大小和灰度及精子运动的有关参数, 对采集到的图像进行动态处理分析, 并打印结果。CASA 系统既可定量分析精子浓度、精子活动力、精子活动率, 又可分析精子运动速度和运动轨迹特征。

CASA 系统检测参数有曲线速度 (curvilinear velocity, VCL)、平均路径速度 (average path velocity, VAP)、直线运动速度 (straight-line velocity, VSL)、直线性 (linearity, LIN)、精子头侧摆幅度 (amplitude of lateral head displacement, ALH)、前向性 (straightness, STR)、摆动性 (wobble, WOB)、鞭打频率 (beat-cross frequency, BCF)、平均移动角度 (mean angle of deviation, MAD), 其意义见表 7-48。

表 7-48 CASA 系统的检测参数及意义

参数	意义
VCL	也称为轨迹速度, 即精子头部沿其实际行走曲线的运动速度
VAP	精子头部沿其空间轨迹移动的平均速度, 可因不同型号的仪器而有所改变
VSL	精子头部在开始检测的位置与最后所处位置之间的直线运动的平均速度
LIN	精子运动曲线轨迹的直线性, 即 VSL/VCL
ALH	精子头部沿其空间平均轨迹侧摆的幅度, 以侧摆的最大值或平均值表示。不同型号的 CASA 系统用不同的方法计算, 因此相互之间不可直接比较
STR	空间平均路径的直线性, 即 VSL/VAP
WOB	精子头部沿其实际运动轨迹的空间平均路径摆动的尺度, 即 VAP/VCL
BCF	也称摆动频率 (鞭打次数 / 秒), 即精子头部曲线轨迹跨越其平均路径轨迹的时间平均速率
MAD	精子头部沿其运动轨迹瞬间转折角度的时间平均绝对值

【方法学评价】

- 1. 优缺点 CASA 系统具有高效客观、高精度的特点, 但价格较昂贵。
- 2. 影响因素 CASA 系统识别精子的准确性受精液中细胞和非细胞成分的影响。计算精子活动率时, 精子只有发生了一定的移位, CASA 系统才认为是活动精子, 而对原地摆动的精子则判定为不活动精子, 其结果常低于实际结果。另外, CASA 系统测定的是单个精子的运动参数, 缺乏对精子群体的了解。
- 3. 局限性 CASA 系统对检测精子浓度有一定局限性, 在 $(20\sim50)\times10^9/L$ 的范围内检测结果较理想。精子浓度过高, 标本应适当稀释, 还应在培养基中加入牛血清白蛋白 (0.3g/L) 和葡萄糖 (1g/L), 以防止因标本稀释而造成精子运动改变; 精子浓度过低时应多检查几个

视野。目前，WHO 仍推荐使用显微镜直接检测精子浓度和精子活动率。

(二) 精子质量分析仪

20 世纪 90 年代初，精子质量分析仪 (sperm quality analyzer, SQA) 问世。通过显示精子浓度、精子活动力、精子形态等来反映精子的质量。

【检测原理】 光电检测原理：当光束通过液化的精液时，精液中精子的运动引起光密度变化。光密度变化包括光密度频率和振幅。频率、振幅变化愈大，则精子质量愈好；反之，则精子质量愈差。

SQA 检测参数有功能性精子浓度 (functional sperm concentration, FSC)、活动精子浓度 (motiles sperm concentration, MSC)、精子活动指数 (sperm motility index, SMI)、总功能精子浓度 (total functional sperm concentration, TFSC)、总活动精子浓度 (total motile sperm concentration, TMSC)，其意义见表 7-49。

表 7-49 SQA 检测参数及意义

参数	意义
FSC	具有正常形态及快速前向运动的精子数量
MSC	快速前向运动的精子数量
SMI	在 1 秒内，毛细管载样池中的精子运动所产生的在光源路径上的偏移振幅与数量，以反映浓度与平均前向运动速度相乘的精液参数
TMSC	精液中活动精子的总数，以 MSC 与精液量的乘积来表示
TFSC	精液中功能性精子的总数，以 FCS 与精液量的乘积来表示

【方法学评价】 SQA 具有操作简便、客观性强、重复性好、精密度较高、参数多等优点，能直观、快速、客观地评价精液的质量。但是，SQA 仍有一定的局限性，并不能完全取代显微镜检查。

第五节 前列腺液检查

前列腺液 (prostatic fluid) 是由前列腺分泌的不透明的淡乳白色液体，是精液的重要组成部分 (占精液的 30%)。其主要成分包括酶类、无机离子、免疫物质和一些有形成分等。前列腺液能维持精液的 pH、参与精子能量代谢、抑制细菌生长、促使精液液化。

前列腺液检查主要用于前列腺炎、前列腺结核和前列腺癌的辅助诊断和疗效观察及性传播性疾病 (sexual transmitted disease, STD) 的诊断。

一、前列腺液标本采集和处理

(一) 标本采集和转运

前列腺液标本由临床医师行前列腺按摩术后采集。标本量少时可直接涂于载玻片上，量多时弃去第 1 滴前列腺液后，采集于洁净干燥的试管中。若标本用于细菌培养，无菌采集并立即送检。

【质量保证】 检查前应掌握前列腺按摩禁忌证，如疑有前列腺结核、脓肿、肿瘤或急性炎症且有明显压痛者，应禁止或慎重采集标本。检查前患者要禁欲 3 天，以免造成白细

胞增多。

（二）检查后标本处理

检查后的标本、试管、载玻片要浸入 5% 甲酚皂溶液中浸泡 24 小时或 0.1% 过氧乙酸中浸泡 12 小时。试管和载玻片如要反复使用，再煮沸、流水冲洗、晾干或烘干后备用。

二、前列腺液一般检查

（一）理学检查

1. 量 健康成人前列腺液为数滴至 2ml 左右。①减少：见于前列腺炎；若前列腺液减少至采集不到，提示前列腺分泌功能严重不足，常见于某些性功能低下者和前列腺炎。②增多：见于前列腺慢性充血、过度兴奋时。

2. 颜色和透明度 健康成人前列腺液呈乳白色、稀薄、不透明而有光泽的液体。①红色：提示出血，见于精囊炎、前列腺炎、前列腺结核、结石及恶性肿瘤等，也可由按摩过重引起。②黄色浑浊、脓性黏稠：提示化脓性感染，见于化脓性前列腺炎或精囊炎。

3. 酸碱度 健康成人前列腺液 pH 6.3~6.5。75 岁以后 pH 可略增高；若混入较多精囊液，则 pH 可增高。

（二）显微镜检查

【检测原理】 采用非染色直接涂片法进行显微镜检查，也可采用 Wright 染色法、H-E 染色法或 Papanicolaou 染色法等进行细胞形态学检查。前列腺液还可以直接进行革兰染色或抗酸染色，寻找病原微生物。

1. 非染色检查 一般采用非染色直接涂片进行湿片检查。

（1）磷脂酰胆碱小体：主要成分为磷脂酰胆碱（phosphatidylcholine, PC），呈圆形或卵圆形，折光性强，大小不均，形似血小板，但略大，故观察时应与血小板区分。

（2）前列腺颗粒细胞（prostatic granular cell）：体积较大，可能是吞噬了磷脂酰胆碱小体的吞噬细胞。

（3）淀粉样小体（starchy body）：呈圆形或卵圆形，形态似淀粉样颗粒。小体中央常含有碳酸钙沉淀物，具有同心圆线纹的层状结构，呈褐色或微黄色。此小体随年龄增长而增多。

2. 染色检查 当直接显微镜检查见到畸形、巨大细胞或疑有肿瘤细胞时，应作 Papanicolaou 染色或 H-E 染色，有助于前列腺炎和前列腺肿瘤的鉴别；如 Wright 染色发现嗜酸性粒细胞增多，有助于变态反应性或过敏性前列腺炎的诊断。

【方法学评价】 ①非染色法操作简便快速，临床较常用。②染色法可辨别细胞结构，适用于细胞学检查。③直接革兰染色或抗酸染色寻找病原微生物，但直接染色法检查病原微生物的检出率很低，故宜作细菌培养。

【质量保证】 检验人员要掌握前列腺液正常和异常有形成分形态特点、提高阳性检出率。①检测前：注意标本采集。②检测中：注意前列腺涂片、显微镜检查等。③检测后：审核报告，复查无误后，才可发出报告。具体质量保证要求见表 7-50。

【参考区间】 ①磷脂酰胆碱小体：多量，均匀分布满视野。②前列腺颗粒细胞： $<1/\text{HPF}$ 。③红细胞：偶见， <5 个/HPF。④白细胞： <10 个/HPF。

【临床意义】 前列腺液常见的有形成分及临床意义见表 7-51。

表 7-50 前列腺液检查的质量保证

项目	质量保证
标本采集	采集前列腺液标本时，第 1 滴弃去，采集后立即送检，以免干涸
前列腺液涂片	厚薄要适宜
显微镜检查	①用低倍镜观察全片，然后用高倍镜检查，至少观察 10 个以上高倍镜视野并记录观察结果 ②对有形成分较少或标本量较少的标本，应扩大观察视野 ③对检查结果有疑问时，及时请上级检验医师验证，复查结果，以达到有效监控目的 ④湿片下发现较大的、形态异常的细胞应进行染色检查
统一报告方式	①高倍镜下磷脂酰胆碱小体满布视野可报告为“++++” ②高倍镜下磷脂酰胆碱小体占视野的 3/4 为“+++” ③高倍镜下磷脂酰胆碱小体占视野的 1/2 为“++” ④高倍镜下磷脂酰胆碱小体数量显著减少，分布不均占视野的 1/4 为“+” ⑤其他成分按尿液有形成分显微镜检查方法报告
注意复查	1 次取材失败或检验结果阴性，而指征明确者，可隔 3~5 天再次取材送检

表 7-51 前列腺液常见的有形成分及临床意义

成分	临床意义
磷脂酰胆碱小体	前列腺炎时可见磷脂酰胆碱小体减少、成堆或分布不均；炎症较严重时磷脂酰胆碱小体被吞噬细胞吞噬而消失
前列腺颗粒细胞	增多多见于老年人、前列腺炎（可增加 10 倍，伴大量脓细胞）
淀粉样小体	一般无临床意义，可与胆固醇结合形成前列腺结石
红细胞	增多见于前列腺炎、前列腺结石、前列腺结核或恶性肿瘤、前列腺按摩后
白细胞	增多并成簇，是慢性前列腺炎的特征之一
滴虫	发现滴虫可诊断为滴虫性前列腺炎
病原生物	相应感染

第六节 阴道分泌物检查

阴道分泌物(vaginal discharge)是女性生殖系统分泌的液体，主要由阴道黏膜、宫颈腺体、前庭大腺及子宫内膜的分泌物混合而成，俗称白带(leukorrhea)。

阴道分泌物的检查常用于雌激素水平的判断和女性生殖系统炎症、肿瘤的诊断及 STD 的检查。

一、阴道分泌物标本采集和处理

阴道分泌物由妇产科医师采集。根据不同的检查目的可自不同部位采集标本。一般采用消毒刮板、吸管、棉拭子自阴道深部或穹隆后部、宫颈管口等部位进行采集，浸入盛有生理盐水 1~2ml 的试管内，立即送检。也可将其制成生理盐水涂片，以 95% 乙醇固定，经 Giemsa、革兰或 Papanicolaou 染色，进行病原微生物和肿瘤细胞筛检。

【质量保证】

1. 减少干扰因素 ①标本采集前,停用干扰检查的药物。②月经期间不宜进行阴道分泌物检查。③检查前 24 小时内禁止盆浴、性交、局部用药及阴道灌洗等。④标本采集后要防止污染。
2. 标本容器符合要求 标本采集容器和器材要清洁干燥,不含任何化学物质或润滑剂。
3. 特殊要求 采集用于细菌学检查标本,应无菌操作。检查滴虫时,应注意标本保温(37℃),并立即送检。

二、阴道分泌物一般检查

(一) 理学检查

正常阴道分泌物为白色稀糊状、无气味,量多少不等,其性状与生殖器充血情况及雌激素水平高低有关。①临近排卵期,分泌物清澈透明,稀薄似蛋清,量多。②排卵期 2~3 天后,分泌物浑浊黏稠,量减少。③行经前分泌物又增多。④妊娠期分泌物较多。⑤绝经期后分泌物减少,多因雌激素减少、生殖器官腺体减少所致。病理情况下,阴道分泌物的理学变化及临床意义见表 7-52。

表 7-52 阴道分泌物的理学变化及临床意义

变化	临床意义
无色透明黏性	应用雌激素后、卵巢颗粒细胞瘤
脓性	①黄色或黄绿色、味臭:滴虫性或化脓性感染 ②泡沫状脓性:滴虫性阴道炎 ③其他:慢性宫颈炎、老年性阴道炎、幼儿阴道炎、阿米巴性阴道炎、子宫内膜炎、宫腔积脓及阴道异物引发的感染
豆腐渣样	凝乳状小碎块,常伴外阴瘙痒,见于假丝酵母菌性阴道炎
血性	①带血:宫颈息肉、子宫黏膜下肌瘤、老年性阴道炎、重度慢性宫颈炎、宫内节育器的副反应等 ②血性、有特殊臭味:恶性肿瘤(宫颈癌、宫体癌)
黄色水样	病变组织坏死所致,见于子宫黏膜下肌瘤、宫颈癌、宫体癌、输卵管癌等
灰白色奶油样	稀薄均匀、黏稠度低,见于阴道加德纳菌感染

(二) 显微镜检查

1. 阴道清洁度 阴道清洁度(cleaning degree of vagina)是指阴道清洁的等级程度。正常情况下,阴道内有大量乳酸杆菌,也含有少量棒状菌、非溶血性链球菌、肠球菌、表皮葡萄球菌、大肠埃希菌和加德纳菌、消化菌、类杆菌、梭杆菌、支原体和假丝酵母菌等,并与这些菌群形成平衡状态。当机体抵抗力低下、内分泌水平变化、病原生物感染等破坏这种平衡后,杂菌或某种病原生物增多,并出现大量白细胞及脓细胞,此时阴道清洁度下降。通过对阴道清洁度检查,可了解阴道内有无炎症病变。

【检测原理】 阴道清洁度是根据阴道分泌物的白细胞与上皮细胞和乳酸杆菌与杂菌的数量对比进行分级的,其分级判断标准见表 7-53。

表 7-53 阴道清洁度判断标准

清洁度分级	杆菌	球菌	白细胞或脓细胞(个/HPF)	上皮细胞
I	多	—	0~5	满视野
II	中	少	5~15	1/2 视野
III	少	多	15~30	少量
IV	—	大量	>30	—

【方法学评价】 湿片法简便易行，但阳性率较低，重复性较差，易漏检。

【质量保证】 ①检测前：载玻片必须干净，生理盐水要新鲜。标本要新鲜，防止被污染。②检测中：涂片应均匀平铺，不能聚集成滴状；先用低倍镜观察全片，选择薄厚适宜的区域，再用高倍镜检查；观察标准和报告方式应一致，避免漏检。③检测后：对可疑或与临床诊断不符的标本应进行复查。

【参考区间】 I~II度。

【临床意义】 ①阴道清洁度与女性激素的周期变化有关：排卵前期，雌激素逐渐增高，阴道上皮增生，糖原增多，乳酸杆菌随之繁殖，pH 下降，杂菌消失，阴道趋于清洁。当卵巢功能不足（如经前及绝经期后）或感染病原体时，阴道易感染杂菌，导致阴道清洁度下降，故阴道清洁度的最佳检查时间应为排卵期。②阴道炎：清洁度Ⅲ级提示炎症，如阴道炎、宫颈炎。Ⅳ级多见于严重阴道炎，如滴虫性阴道炎、淋菌性阴道炎等。但在细菌性阴道炎时，仅为乳酸杆菌的减少、杂菌的增多，而白细胞不增多，上皮细胞却增多，故不能仅用阴道清洁度作为判断是否存在感染的唯一标准，还应根据不同疾病的诊断标准和检查结果进行综合分析。

2. 阴道毛滴虫 阴道毛滴虫(*trichomonas vaginalis*, TV)属鞭毛虫纲，是一种寄生于阴道的致病性厌氧寄生原虫。虫体直径为 8~45μm，呈颈宽尾尖倒置梨形，大小为白细胞的 2~3 倍，虫体顶端有鞭毛 4 根，后端有鞭毛 1 根，体侧有波动膜(图 7-17)，前后鞭毛和波动膜均为其运动器官。其生长的最适宜 pH 为 5.5~6.0，适宜温度为 25~42℃。能通过性接触或污染的物品传播，引起滴虫性阴道炎。



图 7-17 阴道毛滴虫

【检测原理】 ①直接涂片法：用生理盐水悬滴法置于高倍镜下观察。② Wright 或革兰染色后，用油镜观察虫体结构，可以提高检出率。③培养法和免疫学方法：如胶乳凝集试验、单克隆抗体检查、酶联免疫吸附法和多克隆抗体乳胶凝集法等。

【方法学评价】 阴道毛滴虫检查的方法有直接涂片法、涂片染色法、胶乳凝集试验和培养法等，其方法学评价见表 7-54。

表 7-54 阴道毛滴虫检查的方法学评价

方法	评价
直接涂片法	简单易行、快速，为常用的方法，但易受检查时间、温度、涂片厚度影响
涂片染色法	可用油镜观察虫体结构，提高检出率，易受涂片厚度和染色的影响
胶乳凝集试验	操作简便、快速，灵敏度和特异性高，但可出现非特异性反应
培养法	阳性率高，但操作复杂

3. 阴道加德纳菌 正常情况下阴道内不见或见少许阴道加德纳菌 (*gardnerella vaginalis*, GV)。检查乳酸杆菌和阴道加德纳菌可作为细菌性阴道炎诊断的参考。①正常情况：乳酸杆菌为 6~30 个 /HPF 或 >30 个 /HPF。②非细菌性阴道病：乳酸杆菌 >5 个 /HPF，仅见少许阴道加德纳菌。③细菌性阴道炎：乳酸杆菌 <5 个 /HPF 或无乳酸杆菌，但阴道加德纳菌、其他细小的革兰阳性或阴性细菌大量增多。

在阴道分泌物中发现线索细胞 (clue cell) 是诊断加德纳菌性阴道炎的重要指标之一。线索细胞主要特征：阴道鳞状上皮细胞黏附了大量加德纳菌及其他短小杆菌，而形成巨大的细胞团，上皮细胞表面毛糙，有斑点和大量细小颗粒 (图 7-18)。

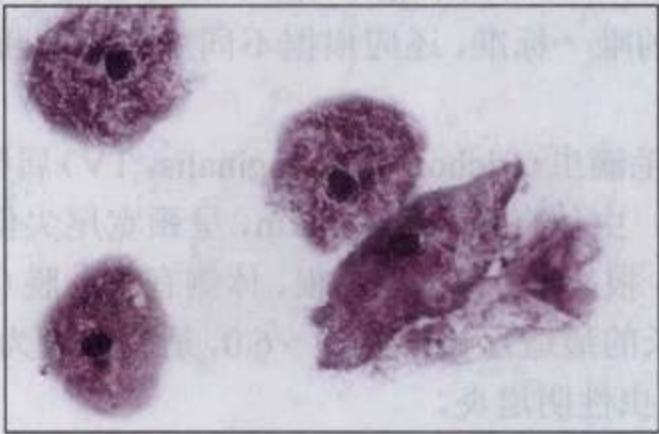


图 7-18 线索细胞

细菌性阴道病 (bacterial vaginosis, BV) 是主要由阴道加德纳菌、各种厌氧菌及支原体等引起的混合感染。其临床诊断标准为：①阴道分泌物稀薄均匀。②分泌物 pH >4.5。③胺试验阳性。④线索细胞阳性。凡有线索细胞再加其他 2 条，细菌性阴道病的诊断即成立。

4. 淋病奈瑟菌 俗称淋球菌 (*gonococcus*)，为革兰阴性双球菌，直径 0.6~0.8μm。肾形或卵圆形，常成对凹面相对排列，无芽胞、无鞭毛，有荚膜和菌毛。检查淋病奈瑟菌常用的方法与评价见表 7-55。

5. 真菌 真菌呈卵圆形、革兰阳性孢子或与出芽细胞相连接的假菌丝，呈链状及分枝状菌丝。85% 阴道真菌为白假丝酵母菌。当阴道抵抗力减低或局部环境改变时，易引起真菌性阴道炎，并可通过性交传染。真菌性阴道炎的阴道分泌物呈凝乳状或“豆腐渣”样。诊断真菌性阴道炎以找到真菌为依据。可采用湿片直接作阴道分泌物涂片检查，或染色法、培养法检查。

表 7-55 检查淋病奈瑟菌常用的方法与评价

方法	评价
革兰染色法	方法简便,但病情较轻者,涂片中淋球菌较少,形态不典型,又位于细胞之外时,常难以确定。另外,必须从形态上与其他革兰阴性双球菌鉴别
培养法	对于涂片检查阴性而可疑者,可作淋球菌培养
直接协同凝集反应	操作简便,特异性高
PCR 法	可检测到微量淋球菌的 DNA,灵敏度较高,但要防止污染
直接荧光抗体染色法	简便,但死菌也可呈阳性
非放射性标记系统	灵敏度高、特异性强、简便快速,已成为淋球菌及其抗药性检查的重要的方法
其他	淋球菌 DNA 探针、RNA 探针和菌毛探针等

第七节 胃液和十二指肠引流液检查

一、胃 液 检 查

胃液(gastric juice)是由胃黏膜细胞分泌的液体。胃液检查对于了解胃的分泌功能,胃、十二指肠相关疾病诊断和鉴别诊断有较好的实用价值。胃液检查结果与胃液标本的采集密切相关,患者应在 24~72 小时内停药影响检查结果的药物;检查前晚只能进食流质食物,检查前 12 小时内不能进食或饮水。

(一) 理学检查

在日常膳食刺激下,24 小时胃液分泌量为 2.5~3.0L,其中夜间分泌量为 400~500ml。在空腹不受刺激的情况下,24 小时胃液分泌量为 1.2~1.5L,正常空腹 12 小时的胃液残余量约为 50ml。胃液理学变化及临床意义见表 7-56。

表 7-56 胃液理学变化及临床意义

项目	变化	临床意义
胃液量	正常	基础胃液量为 10~100ml(持续吸引 1 小时所得的胃液总量,代表标准状态下胃的分泌功能)
	增多	增多(>100ml):十二指肠溃疡、胃泌素瘤、胃排空障碍(如幽门梗阻、胃蠕动功能减退)、十二指肠液反流等
	减少	减少(<10ml):萎缩性胃炎、胃蠕动功能亢进等
颜色	正常	无色透明液体,不含血液、胆汁,无食物残渣
	灰白色浑浊	混有大量黏液所致
	鲜红血丝	多因插胃管时损伤胃黏膜所致
	棕褐色	胃内出血与胃酸作用所致,见于胃炎、胃溃疡、胃癌等
	咖啡渣样	胃内有大量陈旧性出血,见于胃癌、胃溃疡及糜烂性胃炎等
	黄色、黄绿色	混有胆汁。见于插管时恶心、呕吐及幽门闭锁不全、十二指肠狭窄等胆汁反流
黏液	正常	少量、分布均匀,润滑和保护黏膜,中和、缓冲胃酸和抵抗胃蛋白酶消化
	增多	胃有炎症,特别是慢性炎症。黏液呈弱碱性,大量增多可影响胃液的酸度

续表

项目	变化	临床意义
气味	正常	可略带酸味,而无其他臭味
	发酵味	消化不良、胃液潴留、有机酸(乳酸、氨基酸等)增多:幽门梗阻、胃张力高度缺乏
	氨味	尿毒症
	恶臭味	晚期胃癌
	粪臭味	小肠低位梗阻、胃大肠痿等
食物残渣	正常	空腹 12 小时后胃液无食物残渣
	残渣增多	胃扩张、胃下垂、幽门溃疡、幽门梗阻及胃蠕动功能减退时,可呈食糜样
组织碎片	正常	无组织碎片
	有碎片	胃癌、胃溃疡
酸碱度	正常	pH 0.9~1.8
	pH 升高	萎缩性胃炎、胃癌、继发性缺铁性贫血、胃扩张、甲状腺功能亢进症等
	pH 降低	十二指肠球部溃疡、胃泌素瘤、幽门梗阻、慢性胆囊炎等

(二) 化学检查

胃液中的盐酸以游离酸和结合酸的形式存在,两者结合即为总酸。胃酸主要的功能是为激活胃蛋白酶原(pepsinogen)提供酸化条件,同时也可以对水解多肽和多糖起到一定的作用,胃酸还可杀死随食物进入的细菌。胃酸测定分为基础胃酸排量(basic acid output, BAO)、最大胃酸排量(maximum acid output, MAO)、高峰胃酸排量(peak acid output, PAO)等。胃液化学检查的临床意义见表 7-57。

1. 基础胃酸排量 采集无食物和药物刺激 1 小时内分泌的全部胃液量。
2. 最大胃酸排量 注射五肽胃泌素刺激剂,每隔 15 分钟采集 1 次胃液,连续 1 小时内 4 次测定之和为 MAO。
3. 高峰胃酸排量 在测定 MAO 中取 2 次最高值之和乘以 2 即得。

表 7-57 胃液化学检查的临床意义

成分	参考区间	临床意义
BAO、MAO、PAO (mmol/h)	BAO: 2~5 MAO: 3~23 PAO: 20.60±8.37	①分泌过多:十二指肠球部溃疡、胃泌素瘤及少数早期幽门癌; PAO>40mmol/h 提示十二指肠溃疡合并出血与穿孔等。②分泌过少:胃溃疡、胃癌、慢性胃炎、慢性萎缩性胃炎、幽门狭窄、恶性贫血、维生素 B ₁₂ 缺乏症、重症消耗性疾病,某些肝脏、胆道及胰腺疾病等
乳酸(mg/L)	<500	增高:幽门梗阻、慢性胃扩张、恶性肿瘤等
尿素(mmol/L)	>1	减低:幽门螺旋杆菌感染。灵敏度 90%~95%,特异性 98%
胆汁	阴性	阳性:十二指肠张力增高、幽门闭锁不全、十二指肠乳头下梗阻

(三) 显微镜检查

1. 细胞学检查

- (1) 红细胞:健康人胃液内无红细胞,插管损伤食管或胃黏膜时可出现红细胞。若大量

出现则提示溃疡、糜烂、炎症或肿瘤等。

(2) 白细胞：健康人胃液内可见白细胞，约为 $(100\sim1000)\times10^9/L$ ，中性粒细胞少于 25%。当白细胞 $>1000\times10^9/L$ ，且中性粒细胞高于 50% 时，多见于胃黏膜炎症。若咽下鼻咽部及呼吸道分泌物，则可见成堆的白细胞及鳞状上皮细胞。

(3) 上皮细胞：柱状上皮细胞提示有胃炎等病变。

2. 细菌学检查 胃液细菌检查的临床意义见表 7-58。

表 7-58 胃液细菌检查的临床意义

细菌	方法	临床意义
八叠球菌	十二指肠液细菌培养显微镜检查	消化性溃疡、幽门梗阻
博-奥杆菌	十二指肠液细菌培养显微镜检查	肺结核
化脓性球菌	十二指肠液细菌培养显微镜检查	胃黏膜、胆管化脓性感染
幽门螺旋杆菌	单克隆抗体免疫金标记法	慢性胃炎、消化性溃疡、十二指肠炎、非溃疡性消化不良、胃癌
酵母菌	涂片染色显微镜检查	增多见于幽门梗阻、胃排空减慢

二、十二指肠引流液检查

十二指肠引流液(duodenal fluid drainage)分 4 段采集留取，分别置于标记为 D、A、B、C 的 4 支试管内，包括十二指肠液、胰液(pancreatic fluid)、胆汁，也有少量胃液混合物。引流时首先引流出 D 液(十二指肠液)，然后给予 330g/L 温硫酸镁刺激 Oddi 括约肌，使之松弛，再依次引流出 A 液(胆总管液)、B 液(胆囊液)和 C 液(胆管液)。

(一) 理学检查

健康人十二指肠引流液的理学特性见表 7-59。病理性十二指肠引流液的临床意义见表 7-60。

表 7-59 健康人十二指肠引流液的理学特性

项目	D 液	A 胆汁	B 胆汁	C 胆汁
量(ml)	10~20	10~20	30~60	随引流时间而异
颜色	无色或淡黄色	金黄色	深褐色	柠檬黄色
透明度	透明或微浑	透明	透明	透明
黏稠度	较黏稠	略黏稠	黏稠	略黏稠
pH	7.6	7.0	6.8	7.4
比重		1.009~1.013	1.026~1.032	1.007~1.010
团絮状物	少量	无	无	无

表 7-60 病理性十二指肠引流液的临床意义

项目	异常	临床意义
排出异常	无任何胆汁排出	可因刺激强度不够所致，用硫酸镁后可有胆汁流出；如仍无胆汁流出，见于结石、肿瘤所致的胆总管梗阻
	无 B 胆汁流出	胆总管上段、胆囊管梗阻，或胆囊收缩不良、胆囊摘除术后

续表

项目	异常	临床意义
	B 胆汁流出增多	特别是在未用刺激剂之前已有大量 B 胆汁流出, 常因 Oddi 括约肌松弛、胆囊运动过强所致
黏稠度异常	异常黏稠胆汁	胆石症所致的胆囊淤积
	稀薄胆汁	慢性胆囊炎所致的胆汁浓缩不良
透明度异常	加入 NaOH 后浑浊并有较多团絮状物	因十二指肠炎、胆管炎、胆结石、消化性溃疡、胰头癌等所致的胆汁白细胞、上皮细胞及血液增多
沉淀物和胆砂	B 胆汁沉淀物或胆砂	胆石症
	C 胆汁沉淀物或胆砂	肝内胆管结石
颜色异常	血丝	多因插管损伤所致
	血性	急性十二指肠炎症、消化性溃疡、胆囊癌、肝内出血或全身出血性疾病等
	污秽、陈旧血块	胆囊癌
	白色	因胆囊水肿、胆汁酸显著减少、黏液增多所致
	脓性	化脓性胆囊炎
	绿色或黑褐色	胆管扩张伴感染, 或胆石症所致的胆汁淤积

(二) 化学检查

化学检查主要检查胰腺外分泌功能, 即促胰酶素 - 促胰液素试验 (pancreozymin-secretin test)。

【参考区间】 ①胰液流出量: 70~230ml/h。②最高碳酸氢盐浓度: 70~125mmol/L。

【临床意义】 促胰酶素 - 促胰液素试验主要用于检查胰腺囊性纤维性变。

(三) 显微镜检查

- 1. 白细胞 健康人十二指肠引流液白细胞 < 10 个 /HPF, 硫酸镁刺激后 < 20 个 /HPF, 增多见于十二指肠炎和胆道感染。
- 2. 红细胞 健康人十二指肠引流液无红细胞。少量可见于插管损伤, 大量见于十二指肠、肝、胆、胰等部位炎症以及消化道溃疡、胆结石或肿瘤等。
- 3. 其他 健康人十二指肠引流液偶见来自胆管或胆囊的柱状上皮细胞及少量胆固醇结晶, 但无胆红素结晶、寄生虫虫卵及细菌。

三、胃液和十二指肠引流液检查的临床应用

(一) 胃液检查

目前, 虽然胃液检查的价值已逐渐降低, 但在胃分泌功能检查、贫血的鉴别诊断和肺结核的辅助诊断等方面有一定的价值。

- 1. 胃分泌功能检查 胃液检查对胃泌素瘤、胃癌和十二指肠溃疡的诊断与鉴别诊断有重要意义。如果空腹胃液量 > 100mL, BAO > 15mmol/h, MAO > 30mmol/h, 且 BAO/MAO > 0.6, 即可考虑胃泌素瘤。临床上通过胃液检查和血清胃泌素的测定, 可确诊 95% 的胃泌素瘤。
- 2. 贫血的鉴别诊断 由于内因子生成减少和体内有抗内因子抗体的存在, 使维生素

B₁₂ 吸收减少所致的恶性贫血是一种巨幼细胞性贫血。胃液检查为真性胃酸缺乏,五肽胃泌素刺激后无盐酸分泌,给予维生素 B₁₂ 治疗后贫血纠正,但仍无胃酸分泌,依此可与营养性巨幼细胞性贫血鉴别。

3. 肺结核的辅助诊断 肺结核患者,特别是不会咳痰的儿童,常将含有结核杆菌的痰液咽下,如果胃液浓缩找到结核杆菌,则可协助肺结核的诊断。

(二) 十二指肠引流液检查

随着影像学诊断技术的发展,十二指肠引流液检查对胆管疾病诊断的价值已越来越不明显,但在影像学诊断技术不能确诊的情况下,十二指肠引流液检查对诊断某些胆管疾病仍有一定的价值。

1. 协助诊断某些寄生虫病 对可疑有寄生虫感染而又需确诊时,十二指肠引流液检查常可获得理想的结果。如肝吸虫病、阿米巴肝脓肿和胆管蛔虫的诊断等。

2. 诊断胆石 国内最常见的胆石为胆固醇结石、胆红素结石和胆红素钙结石。对于胆囊造影不显影或 B 超检查不能确诊的结石,十二指肠引流液检查是唯一的选择,并且可进一步做胆石化学成分分析,以确定胆石的性质。

3. 诊断伤寒带菌者 胆汁中培养出伤寒杆菌即可诊断为伤寒带菌者。

4. 诊断胰腺疾病 采用促胰酶素-促胰液素试验,观察胰液量、碳酸氢盐和淀粉酶的变化。对诊断慢性胰腺炎、胰腺癌有一定价值。

(郑峻松)

第八节 羊水检查

羊水(amniotic fluid, AF)是妊娠期母体血浆通过胎膜进入羊膜腔的液体。妊娠早期羊水成分与组织间漏出液相似。随着胎儿的发育成长,妊娠中后期羊水的来源发生了改变,成分也随之改变。目前,通过羊水检查进行产前诊断越来越受到重视。

一、羊水标本采集和处理

羊水标本多由临床医师行羊膜穿刺术获得,但应注意:①一般采集 20~30ml 羊水,并立即送检,以避免细胞及化学成分受影响。否则,应置于 4℃ 保存,但保存时间不能超过 24 小时。②细胞培养和染色体分析的标本采集后立即离心,取沉淀物细胞培养后做染色体核型分析,沉淀物也可做脂肪细胞及其他有形成分检查。③避免使用玻璃容器采集细胞学检查的标本,以防细胞黏附于玻璃上。④使用棕色容器采集胆红素测定的标本,并避光保存。⑤离心羊水标本取上清液做化学分析,且在冷冻下转运。

二、羊水一般检查

(一) 理学检查

随着妊娠时间的增加,羊水量也逐渐增加,以达到保护胎儿的目的。在妊娠早期,羊水量相对较少,羊水可为无色或淡黄色、清晰、透明。妊娠晚期,因上皮细胞、胎脂等混入,羊水可呈乳白色、清晰或稍浑浊。羊水理学变化及临床意义见表 7-61。

表 7-61 羊水理学变化及临床意义

理学	原因	临床意义
羊水量增多	30~37 周: >1700ml, 或过期 43 周	胎儿畸形, 胎盘脐带病变, 多胎妊娠
羊水量减少	胎儿肾脏或泌尿道发育不良、胎儿尿闭症	胎儿先天肾缺如、过期妊娠、胎盘功能减退、胎儿宫内发育迟缓
黄色, 深黄色	胆红素含量增高	胎儿溶血、红细胞缺陷遗传性疾病, 胎盘功能减退、过期妊娠等
黄绿, 深绿色	羊水中混有胎粪	胎儿窘迫症
金黄色	金黄色葡萄球菌感染	羊膜腔内炎症
棕红色或褐色	宫内陈旧出血	多为胎儿已死亡

(二) 化学检查

妊娠早期羊水成分与母体血浆成分相似, 只是蛋白质偏低。其中 98%~99% 为水分, 1%~2% 为溶质。溶质成分中有 50% 为无机物, 有少量有机物及胎儿与羊膜的脱落细胞和代谢物。随着妊娠的进展, 羊水成分也不断地改变, 在妊娠第 16 周后, 胎尿成为羊水的主要来源, 此时羊水成分也发生相应变化, 肌酐、尿素、尿酸、钾离子等含量逐渐增高, 渗透压减低, 钠离子含量减低。

羊水化学检查的项目较多, 如甲胎蛋白(AFP)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、反三碘甲状腺氨酸(reverse triiodothyronine, rT₃)等, 对预测和了解胎儿的生长发育、某些遗传性疾病的诊断有重要意义(表 7-62)。

表 7-62 羊水化学成分的检查及其临床意义

成分	方法	参考区间	临床意义
AFP(mg/L)	CLIA	妊娠 16~20 周: 40 妊娠 32 周: 25	增高见于: ①开放性神经管缺损, 羊水 AFP 与孕妇血清 AFP 已被作为产前诊断指标。②胎儿脑膨出与消化道畸形、先天性食管炎。③死胎。④先天性肾病、共济失调毛细血管扩张及胰腺纤维囊性变等。⑤多胎妊娠。减低见于葡萄胎、先天愚型等
CHE(U/L)	化学比色法	<10.43	增高见于脐疝胎儿、流产等, 应同时测定羊水 AChE、PChE 及其比值, 开放性神经管畸形胎儿以 AChE 增高为主
睾酮(μg/L)	CLIA	男: 224±11, 女: 39±2	结合染色体检查应用于鉴别胎儿性别
雌三醇(mg/L)	CLIA	0.8~1.2	减低见于胎儿预后不良, 如母婴 Rh 血型不合, 先兆流产, 妊娠合并糖尿病、重度妊娠高血压综合征时的宫内死胎
rT ₃ (μmol/L)	CLIA	2.62~8.31	减低主要见于胎儿甲状腺功能减退症
瘦素(μg/L)	ELISA	1.5~52.8	反映胎儿生长发育情况等

注: CLIA: 化学发光免疫法

(三) 显微镜检查

1. 羊水脂肪细胞计数

【检测原理】 羊水脂肪细胞是胎儿皮脂腺及汗腺的脱落细胞, 可以反映胎儿皮肤成熟

程度。随着妊娠的进展,胎儿皮脂腺逐渐成熟,脂肪细胞也逐渐增多。将羊水涂片用尼罗蓝(nile blue)水溶液染色后,显微镜下观察并计数200~500个细胞,计算脂肪细胞阳性率。

【参考区间】 妊娠34周前羊水脂肪细胞 $\leq 1\%$,34~38周为 $1\% \sim 10\%$,38~40周为 $10\% \sim 15\%$,40周以后 $> 50\%$ 。

【临床意义】 羊水脂肪细胞 $> 20\%$ 为胎儿皮肤成熟的指标, $10\% \sim 20\%$ 为临界值, $< 10\%$ 为皮肤不成熟, $> 50\%$ 为皮肤过度成熟。

2. 羊水快速贴壁细胞检查

【检测原理】 正常羊水细胞需要4~5天才能贴壁生长。胎儿畸形,如神经管缺陷及脐疝时,羊水细胞仅需20小时即可贴壁生长,此种细胞称为快速贴壁细胞(rapid adhering cell, RAC)。RAC能快速生长是由于神经管缺陷,暴露于羊水细胞为神经组织中的吞噬细胞,这种细胞贴壁生长快、活细胞贴壁率高。通过计算活细胞贴壁率来判断胎儿有无畸形。

【参考区间】 $< 4\%$ 。

【临床意义】 RAC主要用于胎儿畸形的诊断。脐疝畸形的RAC为 $9\% \sim 12\%$,无脑儿的RAC为 100% 。

三、胎儿成熟度检查

胎儿成熟度检查可作为高危妊娠选择有利分娩时机和采取措施的参考。判断胎儿成熟度的指标有胎儿肺成熟度、肾脏成熟度、肝脏成熟度、皮肤成熟度、唾液腺成熟度等。

(一) 胎儿肺成熟度

磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)与鞘磷脂(sphingomyelin, S)是肺表面活性物质的主要成分,是观察胎儿肺成熟度(fetal lung maturity)的重要指标,通常以羊水泡沫试验(foam stability test, shake test)、薄层层析色谱法、磷脂酰胆碱与鞘磷脂比值(PC/S)、磷脂酰甘油(phosphatidyl glycerol, PG)作为评估指标。

【检测原理】

1. 羊水泡沫试验 如果羊水中存在肺泡表面活性物质和磷脂,振荡后可在试管液面上形成稳定的泡沫层,经过抗泡剂乙醇的作用,可在室温下保持数小时,而其他非肺泡表面活性物质所形成的泡沫迅速消除。在2支试管中分别加入羊水与95%乙醇,第1支按1:1比例,第2支按1:2比例。振荡20秒后静置15分钟,第2管液面上有完整的泡沫环,表示 $PC/S \geq 2$,提示胎儿肺成熟;若仅第1管液面上有完整的泡沫环,表示 $PC/S < 2$;若2个试管均无泡沫环,提示胎儿肺未成熟。

2. 磷脂酰胆碱与鞘磷脂比值(PC/S) 在妊娠34周前,羊水中磷脂酰胆碱与鞘磷脂的含量无明显差别。妊娠35周开始,磷脂酰胆碱的合成明显增加,在妊娠37周时其含量达到高峰,而鞘磷脂却维持在原来的水平或下降。采用薄层层析色谱法可区分出两者的变化,将标本与标准品对照,检测标本的磷脂酰胆碱与鞘磷脂色谱斑面积,或用光密度计扫描并求出PC/S,作为判断胎儿肺成熟度的参考指标。

3. PG测定 妊娠35周后羊水出现PG,并随妊娠时间的延长而增加,可采用酶法或快速胶乳凝集试验测定PG。

4. 羊水吸光度 羊水中磷脂类物质的含量与其浊度成正比,在波长为650nm时,磷脂

类物质越多，则吸光度越大。

【方法学评价】 胎儿肺成熟度测定的方法学评价见表 7-63。

表 7-63 胎儿肺成熟度测定的方法学评价

方法	评价
羊水泡沫试验	最常用的床边检查，设备简单、操作简便，报告迅速，为间接估量羊水磷脂的方法。但灵敏度低，假阴性率高
薄层层析色谱法	是评估胎儿肺成熟度的参考方法；但费力、耗时，需特殊试剂和器材。溶血、胎粪以及薄层层析的精密度均影响其准确性
PG 测定	直接检测羊水中 PC 和 PG，不受血液或胎粪影响，灵敏度和特异性高。但操作复杂、费时
羊水吸光度测定	间接估量羊水磷脂的方法，易受磷脂类物质以外成分形成的浊度影响

【质量保证】

1. 检测时机 在 34 周前 PC/S 基本一致，且不易比较，应 35 周后采集羊水送检。
2. 标本处理 PC 易被细菌产生的酶分解，采集标本后立即测定，否则要将标本置于 0~4℃ 保存。标本离心后取上清液做化学检查，且在冷冻下转运。否则，在室温下磷脂等化学成分可大量丢失。
3. 校准仪器 应定期校准仪器比色的波长。
4. 设立对照 应设空白、阴性和阳性对照，并作质量考核。

【参考区间】 ①羊水泡沫试验：2 支试管液面均有完整泡沫环为阳性。②薄层层析色谱法：PC/S≥2。③ PG：妊娠 35 周后能检出 PG。④羊水吸光度测定： $A_{650} > 0.15$ 为临界值。

【临床意义】 羊水泡沫试验阳性、PC/S≥2，以及妊娠 35 周后羊水 PG 阳性，均提示胎儿肺已成熟。胎儿肺不成熟时，其产生或释放磷脂等肺表面活性物质不足，可引起广泛性肺泡萎缩和肺顺应性减低，导致肺泡表面张力增高和稳定性减低，产生进行性肺膨胀不全。检查胎儿肺成熟度对预防新生儿特发性呼吸窘迫综合征有重要价值。

(二) 胎儿肾脏成熟度

随着妊娠的进展，胎儿肾脏逐渐成熟，测定羊水肌酐和葡萄糖浓度可作为评估、观察胎儿肾脏成熟度 (fetal kidney maturity) 的指标。

【检测原理】 在肌酐酶的作用下肌酐生成肌酸，在肌酸酶的作用下肌酸生成肌氨酸，在肌氨酸氧化酶作用下肌氨酸生成过氧化氢，后者在过氧化氢酶作用下可氧化 N,N- 双(4- 丁磺酸钠基)-3- 甲苯生成红色醌色素 (波长 548nm)。羊水葡萄糖测定用葡萄糖氧化酶法。

【质量保证】 胆红素和维生素 C 干扰本试验的偶联反应，可加入亚铁氰化钾和抗坏血酸氧化酶予以消除。羊水肌酐浓度接近血液 (是尿液的 2~3 倍)，在采集标本时应注意鉴别，避免采集到胎儿尿 (羊水有蛋白和葡萄糖，尿液则无)。

【参考区间】 肌酐 $> 176.8\mu\text{mol/L}$ ，葡萄糖 $< 0.56\text{mmol/L}$ 。

【临床意义】 羊水肌酐和葡萄糖浓度判断胎儿肾脏成熟度的临床意义见表 7-64。

羊水肌酐为胎儿代谢产物，是反映胎儿肾脏成熟度的可靠指标。但其浓度受羊水量、胎儿肌肉发育程度和孕妇血浆肌酐浓度的影响，在解释结果时须加以注意。

羊水葡萄糖主要来源于母体血浆，部分来自胎尿。妊娠 23 周羊水水中的葡萄糖逐渐增

高,至 24 周达峰值(约为 2.29mmol/L)。此后胎儿肾脏逐渐发育成熟,肾小管对葡萄糖重吸收作用增强,由胎儿尿液排入羊水水中的葡萄糖减少,由母体血浆进入羊水的葡萄糖也相应减少。因此,测定羊水中葡萄糖含量可反映胎儿肾脏发育情况。但羊水葡萄糖个体间存在较大的差异,其评价肾脏成熟度的价值较羊水肌酐差。

表 7-64 羊水肌酐和葡萄糖判断胎儿肾脏成熟度的临床意义

指标	变化	临床意义
肌酐(μmol/L)	> 176.8	胎儿肾脏已成熟
	132.6~176.7	可疑
	< 131.7	胎儿肾脏未成熟
葡萄糖(mmol/L)	< 0.56	胎儿肾脏已成熟
	> 0.80	胎儿肾脏未成熟

(三) 胎儿肝脏成熟度

胎儿肝脏成熟后,处理间接胆红素能力增强,排入羊水的胆红素逐渐减少。检测羊水中胆红素浓度可以反映胎儿肝脏成熟度(fetal liver maturity)。妊娠晚期羊水中胆红素 $\Delta A_{450} < 0.02$ 即提示胎儿肝脏成熟。胎儿患有溶血症时羊水中间接胆红素可明显增高。

【检测原理】 在 25℃、波长 450nm 条件下,将新鲜无浑浊羊水标本在波长 700nm 与 340nm 之间测定,求得羊水本底吸光值,读取 450nm 的吸光值,计算出 450nm 与本底吸光值的差(ΔA_{450}), ΔA_{450} 与胆红素含量成正比关系。

【质量保证】 ①标本采集后立即离心取上清液测定或保存。②使用棕色容器采集标本,以防标本受光氧化。③在波长 412~540nm 处 HbO₂ 和胎粪也有吸收峰值,故羊水标本应避免混有血液和胎粪。④应定期校准分光光度计的波长。

【参考区间】 $\Delta A_{450} < 0.02$ (胆红素 < 1.71μmol/L)。

【临床意义】 羊水胆红素测定主要用于判断胎儿安危、观察胎儿肝脏成熟程度(表 7-65)。羊水胆红素的变化也可用于监测胎儿溶血的程度,若连续检测胆红素 ΔA_{450} 值均为阴性或可疑范围内,则胎儿安全;如果 ΔA_{450} 值在阳性范围或逐渐升高,表明胎儿已有溶血,可根据妊娠时间选择分娩时机。

表 7-65 羊水胆红素变化用于判断胎儿安危和肝脏成熟度的临床意义

目的	变化	临床意义
判断胎儿安危	< 1.71μmol/L	胎儿安全
	1.71~4.61μmol/L	临界值,胎儿可能有异常
	> 4.61μmol/L	胎儿安全受到影响
	> 8.03μmol/L	多有胎儿窘迫
	> 16.20μmol/L	胎儿多难以存活,应终止妊娠
判断肝脏成熟度	$\Delta A_{450} < 0.02$	肝脏成熟
	$\Delta A_{450} 0.02 \sim 0.04$	肝脏成熟可疑
	$\Delta A_{450} > 0.04$	肝脏未成熟

(四) 胎儿皮肤成熟度

羊水脂肪细胞随着胎龄增加而增多，计数羊水脂肪细胞的百分率可作为胎儿皮肤成熟度(fetal skin maturity)的指标(详见前文)。

(五) 胎儿唾液腺成熟度

羊水淀粉酶活性随着妊娠(36 周后)的进展而逐渐增强，而血清淀粉酶则无变化，提示羊水淀粉酶并非来源于母体血液，而是来源于胎儿胰腺(P 型)和唾液腺(S 型)，故测定羊水淀粉酶是评估胎儿唾液腺成熟度(fetal salivary glands maturity)的可靠指标之一。

【检测原理】 Somogyi 法。

【方法学评价】 羊水淀粉酶测定方法简单、快速，测定结果与 PC/S 有良好的相关性。羊水淀粉酶测定受母体羊水量的影响。妊娠期间胰腺淀粉酶同工酶(Ap)随着妊娠的进展变化不大，而唾液淀粉酶同工酶(As)则随妊娠的进展而迅速增加。因此，可测定 Ap 和 As，计算 Ap 与 As 比值(Ap/As)，以提高判断的可靠性。

【质量保证】 羊水淀粉酶来自胎儿的胰腺和唾液腺，妊娠 28 周前两者变化不大，但 28~36 周后唾液腺同工酶迅速上升，故测定羊水淀粉酶应于 36 周后为宜。测定管吸光值大于空白管吸光值 1 倍时，应加大羊水的稀释倍数或减少羊水标本量，测定结果乘以稀释倍数，以防止酶与底物水解不完全引起的误差。

【参考区间】 >120U/L 提示唾液腺成熟。

【临床意义】 测定妊娠 36 周后的羊水淀粉酶活性可作为判断胎儿唾液腺成熟度的指标。

四、羊水检查的临床应用

羊水检查对监测胎儿生长发育、诊断各种先天性和遗传性疾病、降低遗传病的发病率、实现优生优育等具有重要意义，但羊水检查也有一定的危险性。因此，必须严格掌握其适应证和禁忌证(表 7-66)。

表 7-66 羊水检查的适应证和禁忌证的内容

适应证 / 禁忌证	内容
适应证	①诊断性：遗传病、高危妊娠、Rh 同种免疫、评价胎儿成熟度、必要的胎儿性别诊断 ②治疗性：羊水过多症、羊膜腔内注射治疗性流产
禁忌证	妊娠 <16 周或 >42 周、先兆流产、稽留流产、宫内感染和盆腔感染者

(一) 产前诊断

产前诊断(prenatal diagnosis)是在遗传咨询的基础上，通过遗传学和影像学检查，对高风险胎儿进行明确诊断，通过对患胎的选择性流产以达到选择胎儿的目的，从而降低出生缺陷率，提高人口素质。产前诊断的指征见表 7-67。

表 7-67 产前诊断的指征

危险因素	指征
一般危险因素	①孕妇年龄≥35 岁 ②妊娠早期、中期血清筛检阳性的孕妇

续表

危险因素	指征
特殊危险因素	①曾生育过残疾或染色体病患儿 ②有不明原因自然流产史、畸胎、死胎或死产史 ③夫妇一方有先天性残疾或染色体病 ④有囊性纤维化病、代谢性疾病、X-连锁隐性遗传等家族史 ⑤孕妇有糖尿病、苯丙酮尿症病史 ⑥有放射线、抗惊厥药、锂、乙醇等致畸物质接触史 ⑦有巨细胞病毒、风疹病毒、弓形虫等感染史
种族性危险因素	① α 、 β -珠蛋白生成障碍性贫血 ②镰状细胞性贫血 ③Tay-Sachs病(GM2I型神经节苷酯储积症,又称家族性黑蒙性痴呆)

1. 神经管缺陷性疾病 ①羊水 AFP 明显增高是诊断神经管缺陷性疾病(neural tube defect, NTD)的主要依据。②羊水 AFP 增高还可见于死胎、先天性食管闭锁及某些染色体病。因此,必须结合羊水 AChE 水平的变化,以弥补单一 AFP 变化对诊断 NTD 的不足,并减少诊断 NTD 的假阴性和假阳性。③ RAC 对诊断 NTD 具有高度的特异性和灵敏度。无脑儿的 RAC 为 100%,脐疝畸形的 RAC 为 9%~12%。

2. 遗传性代谢病 遗传性代谢病多为单基因遗传病,包括氨基酸、有机酸、脂肪酸等先天性的代谢缺陷,绝大多数表现为酶的缺陷。羊水酶学检查、限制性片段长度多态性(RFLP)连续分析可以提高诊断价值,以降低遗传性疾病的发生率。

3. 染色体病 通过羊水检查可对因染色体的数量或结构异常引起的疾病进行诊断,但目前尚无有效的治疗手段,只能通过产前诊断、遗传咨询等预防措施来控制染色体病胎儿的出生。凡高龄孕妇、有反复自然流产史或生育过畸形儿的孕妇均应进行产前检查,发现胎儿有染色体异常时应终止妊娠,对有染色体病家族史者,也应进行染色体检查,以便指导婚配和生育。

4. 性连锁遗传病 通过检查羊水细胞的性染色体来预测胎儿的性别,估计性连锁遗传病发病率,以便取舍胎儿。常见的性连锁遗传病有血友病(hemophilia)、原发性低丙种球蛋白血症(primary hypogammaglobulinemia)、肌营养不良(muscular dystrophy)、黏多糖沉积病Ⅱ型、糖原代谢病Ⅱ型、红绿色盲(red blindness)、自毁面容综合征等。

产前检查诊断遗传性疾病的方法见表 7-68。

表 7-68 产前检查诊断遗传性疾病的方法

危险性	诊断方法
神经管缺陷	母体或羊水 AFP, RAC, 必要时结合 AChE
遗传性代谢病	酶学或分子生物学检查
染色体病	羊膜细胞培养或孕 9~12 周的绒毛标本培养
性连锁遗传病	羊水细胞性染色体、单链构象多态性(SSCP)、Southern 印迹法

(二) TORCH 感染的诊断

TORCH 是指可导致先天性宫内感染及围产期感染而引起围产儿畸形的病原体，它是一组病原生物的英文名称缩写，即弓形虫(*toxoplasma gondii*)、其他病原微生物(*others*)、风疹病毒(*rubella virus*)、巨细胞病毒(*cytomegalovirus*)、单纯疱疹病毒(*herpes simplex virus*)首个英文字母的组合。这组病原生物常可造成母婴感染，导致流产、死胎、早产、先天畸形和智力障碍等。通过检测羊水中弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒的抗体，可了解 TORCH 感染情况，对优生优育具有重要意义。

第九节 痰液与支气管肺泡灌洗液检查

一、痰液检查

痰液(*sputum*)是气管、支气管或肺泡的分泌物。正常情况下，支气管黏膜的腺体和杯状细胞分泌少量黏液，使呼吸道黏膜保持湿润。病理情况下，当呼吸道黏膜受到理化因素、感染等刺激时，黏膜充血、水肿，浆液渗出，黏液分泌增多。各种细胞(红细胞、白细胞、吞噬细胞等)、纤维蛋白等渗出物与黏液、吸入的灰尘和某些组织坏死产物等混合形成痰液。

痰液的成分很复杂，由 95% 水分和 5% 灰尘、蛋白质等组成，主要包括：①黏液、浆液。②细胞成分及细胞产物等，如白细胞、红细胞、上皮细胞、吞噬细胞等。③各种蛋白质、酶、免疫球蛋白、补体和电解质。④各种病原生物、坏死组织和异物等。⑤非痰液成分，如唾液、鼻咽部分泌物等。

痰液检查主要用于呼吸系统炎症、结核、肿瘤、寄生虫病的诊断，对支气管哮喘、支气管扩张、慢性支气管炎等疾病的诊断、疗效观察和预后判断也有一定价值。

(一) 标本采集和处理

痰液标本采集方法根据检查目的和患者情况而定，自然咳痰法是常用的方法。痰液标本采集的方法学评价见表 7-69。标本采集后应立即送检，以防细胞分解、细菌自溶。不能及时送检时，可暂时冷藏保存，但不能超过 24 小时。应连续送检 3 次，以提高检查的阳性率。

表 7-69 痰液标本采集的方法学评价

方法	评价
自然咳痰法	常用和主要的方法。采集前嘱患者用清水漱口数次后，用力咳出气管深部或肺部的痰液，采集于干燥洁净容器内，避免混杂唾液或鼻咽分泌物
雾化蒸气吸入法	因操作简单、方便、无痛苦、无毒副作用，患者易于接受，适用于自然咳痰法采集标本不理想时
一次性吸痰管法	适用于昏迷患者、婴幼儿
气管穿刺吸取法	操作复杂、有一定的痛苦，较少使用
经支气管镜抽取法	操作复杂、有一定的痛苦，较少使用

采集标本时注意防止痰液污染容器的外壁；为了防止痰液污染，用过的标本应灭菌后再处理。

(二) 理学检查

1. 量 健康人无痰液或仅有少量泡沫样或黏液样痰液。呼吸系统疾病患者一般有咳嗽、咳痰的症状，痰液量的多少因病种和病情而异。急性呼吸系统感染较慢性炎症者痰液量多；细菌感染较病毒感染者痰液量多。

痰液量增多常见于支气管扩张、肺脓肿、肺水肿和肺空洞性病变等，有时痰液量可超过100ml/24h。在疾病治疗过程中，如痰液量减少，一般提示病情好转；如有支气管阻塞使痰液不能排出时，可见痰液量减少，反而表明病情加重。

2. 颜色 健康人仅有少量白色或灰白色黏液痰，病理情况下痰液颜色可发生改变，但缺乏特异性。痰液颜色改变的常见原因及临床意义见表 7-70。

表 7-70 痰液颜色改变的常见原因及临床意义

颜色	常见原因	临床意义
黄色、黄绿色	脓细胞增多	肺炎、慢性支气管炎、支气管扩张、肺脓肿、肺结核
红色、棕红色	出血	肺结核、肺癌、支气管扩张
铁锈色	血红蛋白变性	急性肺水肿、肺炎球菌性肺炎、肺梗死
砖红色		肺炎克雷伯杆菌肺炎
粉红色泡沫样	肺瘀血、肺水肿	左心功能不全
烂桃样灰黄色	肺组织坏死	肺吸虫病
棕褐色	红细胞破坏	阿米巴肺脓肿、肺吸虫病
灰色、灰黑色	吸入粉尘、烟雾	矿工、锅炉工、长期吸烟者
无色(大量)	支气管黏液溢出	肺泡细胞癌

3. 性状 不同疾病产生的痰液可有不同的性状，甚至出现异物，这种性状改变有助于临床诊断。痰液性状改变及临床意义见表 7-71。

表 7-71 痰液性状改变及临床意义

性状	特点	临床意义
黏液性	黏稠、无色透明或灰色	急性支气管炎、支气管哮喘、早期肺炎；白色黏痰、牵拉成丝见于白假丝酵母菌感染
浆液性	稀薄、泡沫	肺水肿、肺淤血；稀薄浆液性痰液内含粉皮样物见于棘球蚴病
脓性	脓性、浑浊、黄绿色或绿色、有臭味	支气管扩张、肺脓肿、脓胸向肺内破溃、活动性肺结核等
黏液脓性	黏液、脓细胞、淡黄白色	慢性气管炎发作期、支气管扩张、肺结核等
浆液脓性	痰液静置后分 4 层，上层为泡沫和黏液，中层为浆液，下层为脓细胞，底层为坏死组织	肺脓肿、肺组织坏死、支气管扩张
血性	痰液中带鲜红血丝、血性泡沫样痰、黑色血痰	肺结核、支气管扩张、肺水肿、肺癌、肺梗死、出血性疾病等

4. 气味 健康人的新鲜痰液无特殊气味。血腥味见于肺癌、肺结核等；粪臭味见于膈下脓肿与肺相通时、肠梗阻、腹膜炎等；恶臭见于肺脓肿、晚期肺癌、化脓性支气管炎或支气管扩张等；大蒜味见于砷中毒、有机磷中毒。

(三) 显微镜检查

【检测原理】

1. 直接涂片检查 取可疑部分痰液直接涂片或加少量生理盐水混合后制成涂片，加盖玻片轻压后显微镜检查。

2. 涂片染色检查 主要用于细胞学和病原生物学检查。常用的染色方法有 Papanicolaou 染色、H-E 染色、革兰染色、抗酸染色、银染色 (silver stain)、Wright 染色等，其临床应用见表 7-72。

【方法学评价】 痰液显微镜检查的方法学评价见表 7-73。

表 7-72 痰液涂片染色方法与临床应用

方法	临床应用
Wright 染色	用于痰液中各种细胞的分类与识别
Papanicolaou 染色或 H-E 染色	对 Wright 染色检查发现的巨大或成堆的疑似肿瘤细胞进行确认
银染色	主要用于艾滋病患者等卡氏肺孢子虫感染的检查
铁染色	检查痰液中的含铁血黄素
革兰染色或抗酸染色	主要用于细菌检查

表 7-73 痰液显微镜检查的方法学评价

方法	评价
直接涂片法	常规方法，简便、快速，对临床诊断帮助较大
涂片染色法	可清晰地显示有形成分的结构，有利于细胞的识别和进行细菌鉴定，有较高的临床应用价值

【参考区间】 ①无红细胞。②少量中性粒细胞和少量上皮细胞。

【临床意义】 病理性痰液可见较多的红细胞、白细胞及其他有形成分 (图 7-19)，其临床意义见表 7-74。

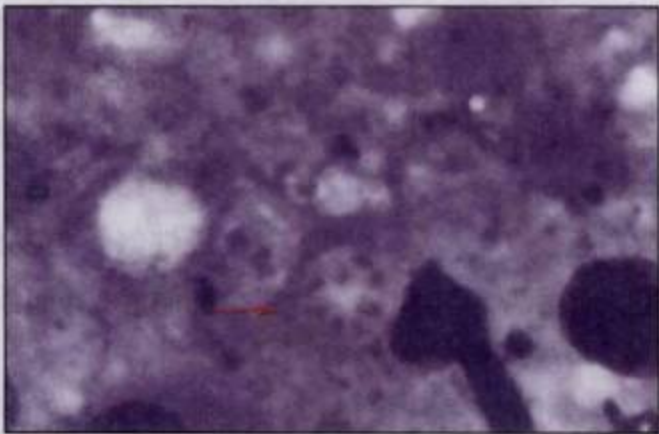


图 7-19 肺孢子虫

表 7-74 痰液中常见有形成分及临床意义

有形成分	临床意义
细胞	①红细胞：支气管扩张、肺癌、肺结核 ②白细胞：中性粒细胞增多见于化脓性感染；嗜酸性粒细胞增多见于支气管哮喘、过敏性支气管炎、肺吸虫病；淋巴细胞增多见于肺结核等 ③上皮细胞：鳞状上皮、柱状上皮、肺上皮细胞无临床意义，增多见于呼吸系统炎症 ④肺泡巨噬细胞：肺炎、肺淤血、肺梗死、肺出血 ⑤肿瘤细胞：肺癌
结晶	① Charcot-Leyden 结晶：支气管哮喘、肺吸虫病 ②胆固醇结晶：慢性肺脓肿、脓胸、慢性肺结核、肺肿瘤 ③胆红素结晶：肺脓肿
病原生物	①寄生虫和虫卵：寄生虫病 ②抗酸杆菌：肺结核 ③放线菌：放线菌病
弹性纤维	肺脓肿、肺癌

（四）痰液检查的质量保证

痰液检查应严格遵循检测前（标本采集和处理）、检测中（显微镜检查）等环节的质量要求，以确保检查结果准确可靠。

1. 标本采集和处理 痰液标本采集、处理的注意事项见表 7-75。

表 7-75 痰液标本采集、处理的注意事项

项目	注意事项
采集方法	①采用合适的痰液。采集痰液标本时，先用清水漱口，用力咳出气管深处的痰液，注意勿混入鼻咽部分泌物 ②咳痰时最好有医护人员在场，以指导患者正确咳痰
送检时间	及时送检，若不能及时送检，可暂时冷藏保存，但不能超过 24 小时
标本容器	注意采用专用容器收集痰液
采集时间	
理学检查	①痰液理学检查以清晨第一口痰标本最适宜 ②测定 24 小时痰量或观察分层情况时，容器可加少量石碳酸防腐
细胞学检查	以上午 9～10 时留取深咳的痰液最好
病原生物学检查	①采集 12～24 小时的痰液，用于漂浮或浓集抗酸杆菌检查 ②无菌采集标本（先用无菌水漱口，以避免口腔内正常菌群的污染），用于细菌培养的标本 ③经气管穿刺吸取法和经支气管镜抽取法采集标本，用于厌氧菌培养
检测后的处理	已检查过的标本及容器应煮沸消毒 30～40 分钟，若容器为纸盒可烧毁，不能煮沸的容器可用 5% 苯酚消毒后再行处理

2. 显微镜检查的质量保证

(1) 检验人员：要强化责任意识，严肃对待每一份标本，熟练掌握痰液中正常和异常有形成分的形态特点，提高阳性检出率。

(2) 标本涂片：选择标本中有脓液、血液等异常部分进行检查，取适量痰液标本进行涂片，涂片要均匀、厚薄适中；用于染色检查的涂片要薄。

(3) 显微镜检查：痰液显微镜检查的质量保证见表 7-76。

(4) 审核报告：发放报告前应仔细核对报告单与送检单是否一致，诊断结果与临床资料等情况是否一致，复核无误后，才可审核报告。

表 7-76 痰液显微镜检查的质量保证

项目	质量保证
严格检查	严格遵守操作规程，统一观察标准和报告方式，严格控制各种主观因素的影响
观察区域	先用低倍镜观察全片，再用高倍镜观察，至少观察 10 个以上高倍镜视野（细致的观察涂片每一个视野），客观记录观察结果
提高阳性率	①对标本较少或有形成分较少的标本，应扩大检查视野，不能有遗漏 ②直接涂片检查发现较大、形态异常的细胞应进行染色检验，或采用液基细胞学技术，以提高阳性率
双重复核	对检查结果有疑问时应请上级检验技师（医师）验证，对检查结果进行双重复核

二、支气管肺泡灌洗液检查

支气管肺泡灌洗术（bronchoalveolar lavage, BAL）是一种通过纤维支气管镜对支气管以下肺段或亚肺段水平反复以无菌生理盐水灌洗、回收、获取样本，并对其进行一系列检查与分析的技术。BAL 适用于：①评价间质性肺疾病（interstitial lung disease, ILD）的炎症反应程度（分期）。②诊断肺部疾病，鉴别病原菌，确定感染的复发或持续的病程。③治疗性灌洗。BAL 检查的适应证与相对禁忌证见表 7-77。

表 7-77 BAL 检查的适应证与相对禁忌证

适应证	相对禁忌证
①评价已确诊的肺间质疾病的炎症反应程度（分期）	①患者不合作
②诊断肺部感染性疾病和某些肺间质疾病	②FEV ₁ < 1000ml
③为肺部感染性疾病和肺间质性疾病的鉴别诊断和确定治疗方案收集更多的资料	③支气管哮喘伴气道阻塞，高碳酸血症，难以纠正的低氧血症
④治疗性灌洗：肺泡蛋白沉着症、伴有黏液栓塞的支气管哮喘	④最近 6 周内发生心肌梗死，难以纠正的出血因素和凝血障碍

根据灌洗范围和应用的不同，将 BAL 分为全肺灌洗和肺段或亚段灌洗。

1. 全肺灌洗 主要用于肺泡蛋白沉着症、严重哮喘发作、肺尘埃沉着症、肺泡微石症、黏液黏稠病（囊性肺纤维化）、重症或难治性下呼吸道感染的治疗。

2. 肺段灌洗 主要用于弥漫性间质性肺炎 - 肺纤维化、石棉沉着病、结节病、弥漫性肺泡癌和卡氏肺孢子虫肺炎的诊断和疗效的判定,探讨弥漫性肺间质纤维化的发病机制。当支气管、肺感染严重,尤其是因支气管结构异常,如支气管扩张症、肺囊肿、囊性纤维化等继发感染时,引流不畅、全身用药难以奏效,可通过 BAL 反复灌洗、注药进行治疗。

(一) 标本采集和处理

支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 由临床医生在常规纤维支气管镜检查气道后,于活检和刷检前进行 BAL 获得。合格的 BALF 标本有严格的要求: ①回收率 >40%。若选择下叶或其他肺叶肺段灌洗,回收率 >30%。②不可混入血液,红细胞 <10%、上皮细胞 <3%。

(二) 显微镜检查

1. 细胞 健康人细胞总数为 $(5\sim10)\times10^6/L$, 其中肺泡巨噬细胞占 85%、淋巴细胞 <12%、中性粒细胞 <2%、嗜酸性粒细胞 <1%。淋巴细胞中 T 细胞约占 2/3, T 淋巴细胞亚群 $CD4^+/CD8^+ < 1.7$ 。吸烟者的细胞总数、巨噬细胞和中性粒细胞数量均明显高于非吸烟者,而淋巴细胞数量无明显差异,但 $CD8^+$ 明显增高, $CD4^+/CD8^+$ 显著降低。

2. 病原生物

(1) 细菌: BALF 不易遭受上呼吸道杂菌的污染,也不含食管和大支气管的分泌物,因此, BALF 涂片细菌学检查更有意义。

(2) 寄生虫: 痰液中一般检查不到寄生虫或虫卵,但在 BALF 沉淀物中可检出卡氏肺孢子虫、卫氏并殖吸虫卵。

(三) 化学检查

白蛋白、球蛋白 (IgG、IgM、IgA、IgE、 α_2 - 巨球蛋白)、补体、癌胚抗原 (CEA)、纤维连接蛋白 (FN)、Ⅲ型前胶原 (PC-Ⅲ)、透明质酸 (HA)、酶学 (α - 抗胰蛋白酶、胶原酶、弹性蛋白酶、血管紧张素转换酶) 和细胞因子 (IL-1、IL-6、 $TNF\alpha$ 、NCF、 $TGF\beta$ 、FGFs) 等发生变化。

(四) 临床意义

BALF 的细胞学、化学、酶学和免疫学等检查结果,可作为探讨肺部疾病的病因、发病机制、诊断、评价疗效和预后判断的重要依据。BALF 检查对诊断和治疗有价值的疾病见表 7-78。

表 7-78 BALF 检查对诊断和治疗有价值的疾病

分类	性质	疾病
可提供诊断和 治疗帮助	非感染性	结节病、特发性肺纤维化、累及肺的系统疾病、过敏性肺炎、嗜酸性肺炎、特发性肺含铁血黄素沉着症 (Ceelen 病)、石棉沉着病
	感染性	病毒感染 (单纯疱疹病毒、巨细胞病毒)、细菌感染、非典型分枝杆菌感染、曲霉菌病、肺假丝酵母菌病、肺隐球菌病
可诊断	非感染性	肺泡蛋白沉着症 (PAP)、肺组织细胞增生症 X (PHX)、铍中毒
	感染性	卡氏肺孢子虫病、弓形虫病、军团菌病、肺组织胞浆菌病、结核病、非典型病原菌感染、分枝杆菌感染、肺炎衣原体肺炎、肺炎支原体肺炎、流感病毒和呼吸道合胞体病毒感染

1. 肺部感染的病原学诊断 检查 BALF 的原虫、病毒、细菌学等,对免疫功能低下合并肺部感染的诊断也有价值。卡氏肺孢子虫肺炎是免疫功能显著低下或缺陷者的肺部发生机会性感染的疾病,常见于 AIDS、血液系统恶性肿瘤或脏器移植术后,被认为是 AIDS 的肺部标志性疾病,其确诊有赖于病原体检查,因病变集中于肺泡,痰液检查阳性率极低,开胸或经纤维支气管镜穿刺肺活检是确诊的主要手段。通过对 BALF 进行 Giemsa 染色或特殊染色检查可见囊虫或滋养体,诊断阳性率可达 88.9%。

2. 非感染性疾病的诊断 主要用于间质性肺疾病的诊断、疗效评价和预后评估。弥漫性间质性肺疾病中特发性肺间质纤维化、外源性过敏性肺泡炎、结节病和结缔组织病伴肺纤维化时,细胞总数均增高,细胞分类与 T 细胞亚群变化各有特点(表 7-79)。一般将中性粒细胞 $\geq 10\%$ 、T 淋巴细胞 $\geq 28\%$,称为高密度肺泡炎,如特发性肺间质纤维化时的肺泡病变;中性粒细胞 $< 10\%$ 、T 淋巴细胞 $< 28\%$,称为低密度肺泡炎,如结节病时的肺泡病变。

表 7-79 间质性肺疾病 BALF 成分变化

疾病	细胞总数	淋巴细胞	中性粒细胞	T 淋巴细胞亚群			IgG/ 白蛋白
				CD ₄ ⁺	CD ₈ ⁺	CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺	
特发性肺纤维化	↑	—	↑	—	—	↓	—
外源性过敏性肺泡炎	↑	↑	—	↓	↑	↓	>1
结节病	↑	↑	—	↑	↓	↑	<1

非感染性疾病 BALF 的特征性变化见表 7-80,非感染性疾病 BALF 检查结果与评价见表 7-81。

表 7-80 非感染性疾病 BALF 的特征性变化

疾病	特征性变化
肺泡蛋白沉着症	PAS 染色阳性,肺泡巨噬细胞内有板层小体,无细胞颗粒
肺组织细胞增生症 X	X 小体(胞质包涵体)或 Birbeck 颗粒(棒状、网球拍状小体)呈阳性,朗格汉斯细胞>5%
铍中毒	淋巴细胞转化试验阳性(吸烟者可假阳性),CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺ >4.0,肺泡巨噬细胞增多

表 7-81 非感染性疾病 BALF 检查结果与评价

疾病	检查结果与评价
结节病	肺泡炎,伴有淋巴细胞>18%,CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺ >4.0(4%的患者<1.0),肺泡巨噬细胞增多
特发性肺纤维化	肺泡炎,伴有中性粒细胞、嗜酸性粒细胞(治疗后的反应)和淋巴细胞增多,淋巴细胞减低提示预后不良
累及肺的系统性疾病	多为外源性肺泡炎,有向特发性肺纤维化过渡的倾向
过敏性肺炎	急性期可见中性粒细胞性肺炎,亚急性期和慢性期为弥漫性淋巴细胞性肺炎(淋巴细胞>80%),伴有CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺ 降低,HLA-DR 表达增高和细胞毒性细胞增多
嗜酸性粒细胞性肺炎	嗜酸性粒细胞>60%(可不伴有外周血液嗜酸性粒细胞增多),中性粒细胞稍增多

续表

疾病	检查结果与评价
特发性肺含铁血黄素沉着症	肺泡巨噬细胞中典型的铁颗粒。若检查时仍有急性出血，则灌洗液为红色
石棉沉着病	灌洗液中的石棉纤维数量与肺实质中的石棉纤维数量有关(每毫升灌洗液中超过 1 根石棉纤维相当于每克干燥肺中含有超过 1000 根的石棉纤维)，可伴有相应的中性粒细胞性肺炎和淋巴细胞性肺炎

3. 恶性肿瘤的检查 BALF 检查可发现原发性或继发性恶性肿瘤，其中以腺癌和肺泡癌的检出率较高。

(姜忠信)

本 章 小 结

脑脊液检查标本分别收集于 3 个无菌容器中，第 1 管做细菌学检查，第 2 管做化学或免疫学检查，第 3 管做常规检查。脑脊液理学检查和常规化学检查项目包括蛋白质、葡萄糖、氯化物测定；脑脊液显微镜检查包括细胞总数计数、白细胞计数、白细胞分类计数和病原体检查。这些检查对于中枢神经系统疾病的诊断和鉴别诊断具有重要价值。脑脊液酶学、免疫学等检查也有助于中枢神经系统疾病的诊断和鉴别诊断。

浆膜腔积液分为漏出液和渗出液，其产生的机制和原因不同，前者为非炎性，后者为炎性。浆膜腔积液不但需要鉴别漏出液和渗出液，还需要鉴别良性和恶性积液。因此，除了常规检查项目包括物理、化学和细胞学检查外，还发展了特异性化学、免疫学、肿瘤标志物等检测指标，提高了浆膜腔积液性质诊断的符合率。

关节腔积液理化检查如黏蛋白凝块形成试验、蛋白质、葡萄糖、乳酸、类风湿因子等检查、显微镜检查如结晶等对于区别不同类型的关节炎具有实用价值。

精液检查是男性学重要实验室检验，传统的精液检查内容已不能完全解释男性不育症的原因。计算机辅助精子分析、精子功能检查、精浆化学和免疫学成分以及遗传基因的检验为男性不育症的诊断提供了新的技术。

前列腺液检查是前列腺炎、前列腺肿瘤的辅助诊断方法，传统的检验项目结合化学、免疫学成分检验，为前列腺疾病诊断提供了良好的指标。

胃酸检查是胃液化学检查中最重要的内容，胃酸分泌测定包括 BAO、MAO、PAO。胃酸增高见于十二指肠球部溃疡，胃泌素瘤(Zollinger-Ellison 综合征)等；胃酸减低可见于胃癌、胃溃疡、萎缩性胃炎、恶性贫血等。十二指肠引流液理学检查有助于区分不同引流部位的疾病状态。

羊水检查主要用于判断胎儿肺、肾脏、肝脏、皮脂腺成熟度，预防先天性异常或遗传性疾病胎儿的出生，降低遗传性疾病的发生率。

痰液检查对肺结核、肺炎、肿瘤和寄生虫病有确诊价值，但标本采集及理学检查必须符合要求，确保检验结果的准确性。

参 考 文 献

1. 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程,第3版. 南京:东南大学出版社,2006: 312-314.

2. Diane I. Szamosi MA, Josephine M, et al. Body Fluid Analysis for Cellular Composition: Approved Guideline. CLSI document H56-A, 2006, 26(26): 1-112.
3. Lee HY, Kim KM, Kang MH, et al. Concurrent craniospinal radiotherapy and intrathecal chemotherapy in patient with acute promyelocytic leukemia second relapsed in central nervous system (CNS) following allogeneic stem cell transplantation. J Neurooncol, 2006, 79(1): 73-75.
4. 陈勇, 张克翰. 常规脑脊液细胞学检查在颅内感染中的应用价值. 浙江临床医学, 2007, 9(2): 203-204.
5. WHO. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th. WHO press, 2010.

通过本章学习,你将能够回答下列问题:

1. 细胞病理学标本采集和处理方法有哪些?
2. 细胞病理学涂片固定和染色方法有哪些?
3. 细胞病理学诊断原则和基本步骤是什么?
4. 损伤细胞的形态学特点是什么?
5. 良性细胞与恶性细胞的形态学区别有哪些?
6. 恶性细胞的细胞病理学诊断要点有哪些?
7. 女性生殖道正常上皮细胞的形态学特点是什么?
8. 女性生殖道非炎症和反应性变化的细胞形态学特点是什么?
9. 女性生殖道恶性肿瘤的细胞病理学特点是什么?
10. 正常呼吸道细胞的形态学特点是什么?
11. 呼吸道良性病变细胞的形态学特点是什么?
12. 各类型肺癌细胞的形态学特点是什么?
13. 良性病变积液和恶性病变积液中常见细胞的形态学特点是什么?
14. 良性肿大淋巴结细胞的形态学涂片特点是什么?
15. 恶性淋巴瘤细胞的形态学特点是什么?
16. 常见淋巴结转移性肿瘤的形态学特点是什么?

细胞学是一门研究细胞结构和功能的科学。细胞病理学(cytopathology)是通过检查细胞的形态学特点,进行健康和疾病的筛检、诊断和研究,即对无症状个体进行癌前病变的筛检,对有症状或体征患者进行诊断和鉴别诊断。根据标本采集方法不同,细胞学分为脱落细胞学(exfoliative cytology)和细针吸取细胞学(fine-needle aspiration cytology)。

第一节 细胞病理学基本检验技术

细胞病理学诊断多基于光学显微镜观察,在作出诊断前应首先考虑标本的质量。所采集的细胞能否代表病变靶组织或器官的细胞群体,是细胞病理学诊断结果准确和可靠的前提。因此,规范的标本采集、标本固定、涂片制备和染色等基本技术,对细胞病理学检查尤为重要。

一、标本采集

(一) 脱落细胞标本的采集

1. 自然脱落细胞 自然脱落细胞是指从上皮表面自然脱落的细胞。其采集方法包括：①咳出：如痰液。②排泄或导尿：如尿液。③挤压：如乳头分泌物等。自然脱落的细胞与采用机械方法采集的细胞不同，前者常单个散在，后者常聚集成群。脱落细胞常呈圆形，与细胞膜僵硬、细胞骨架、表面张力、局部微环境和脱落时间长短有关，细胞质和细胞核会出现一系列退化性改变。其适用范围见表 8-1。

表 8-1 自然脱落细胞检查的适用范围

靶器官	操作方法	主要用途	次要用途
女性生殖道	吸取法获得标本，涂片用乙醇固定	阴道、子宫颈、子宫内膜癌前病变和癌的诊断，罕用于卵巢和输卵管肿瘤的诊断	识别病原微生物，如细菌、病毒、真菌或寄生虫
呼吸道	新鲜或采集于固定液中的痰液，制成涂片或细胞块	原位癌和肺癌的诊断	识别病原微生物，如细菌、病毒、真菌或寄生虫
泌尿道	新鲜尿液或采集于固定液中的尿液，制成涂片或细胞离心涂片	原位癌和分化好的恶性肿瘤诊断	识别病毒性感染和药物影响

主要特点有：①易从病变器官采集标本。②标本内常含有大量不同来源、不同类型的上皮细胞，亦可含有炎性细胞、巨噬细胞、微生物和外源性污染物。③细胞成分保存较差。④能进行多次标本采集。

2. 非自然脱落细胞 非自然脱落细胞是指通过物理刮擦作用取得的细胞。其采集方法包括：①刷取 (brushings)：如气管、子宫颈。②刮取 (scrapings)：如乳头、皮肤、子宫颈。③灌洗 (lavage)：用生理盐水溶液冲洗所得的液体，如支气管。其适用范围见表 8-2。

表 8-2 非自然脱落细胞检查的适用范围

靶器官	操作方法	主要用途	次要用途
子宫颈、阴道、外阴、子宫内膜	刷取或刮取法获得标本。涂片立即用乙醇固定	癌前病变、早期癌和癌的诊断和鉴别诊断	其他部位或器官 (如卵巢、输卵管) 肿瘤的诊断，识别病原微生物
呼吸道	支气管灌洗和支气管肺泡灌洗	癌前病变、肺癌和感染的鉴别诊断	识别病原微生物，做灌洗液化学和免疫学分析
泌尿道	膀胱冲洗液 (新鲜或固定后)	原位癌和相关病变的鉴别诊断	治疗监测，做冲洗液 DNA 分析
食管	刷取或球囊法制片	癌前病变、早期癌或治疗后复发的鉴别诊断	—
胃	刷取涂片，罕用球囊法	癌前病变、早期癌或治疗后复发的鉴别诊断	识别病原微生物
积液 (胸膜腔、腹膜腔、心包膜腔)	新鲜或采集于固定液中的积液，制成涂片或细胞块	转移性肿瘤和原发性间皮瘤的诊断	识别病原微生物
其他 (脑脊液、滑膜液等)	采集于固定液中的标本，细胞离心法制片	炎症和转移性肿瘤的鉴别诊断	识别病原微生物，如病毒和真菌

主要特点有：①能直接从病变器官表面采集标本，如子宫颈和支气管。②能借助纤维镜直接从病变器官内部采集标本。③能获得上皮下病变的标本。④细胞成分保存良好，在解释结果时不能采用与脱落细胞相同的标准。

(二) 细针穿刺细胞标本的采集

通过穿刺吸取或非吸取法，可从充满液体的器官或实体性器官中采集细胞标本，如肿瘤、心包膜腔积液、胸膜腔积液、腹膜腔积液和脑脊液等。其适用范围见表 8-2。影像学技术能对小而深、移动且难以触摸的病变部位进行定位，有助于穿刺采集标本。

主要特点有：①通过触摸或导引法，可从体内任何实体器官采集标本，如借助内镜技术可经直肠、阴道、胸膜腔、腹膜腔等部位穿刺采集标本。②方法简捷、费用低、创伤小、并发症少、禁忌证少，经皮肤穿刺无须麻醉。③需要借助病理学知识解释结果。④良好的标本采集和制片技术可获得最佳的结果，但对结缔组织、透明变性、血管性病变、大量坏死物、囊性变或出血性病变等可导致标本采集不足。

二、涂片制备

直接涂片(direct smear)是将新鲜标本直接涂在载玻片上。间接涂片(indirect smear)是将各种液体标本进行浓缩处理后再涂片。涂片制备方法见图 8-1, 图 8-2。

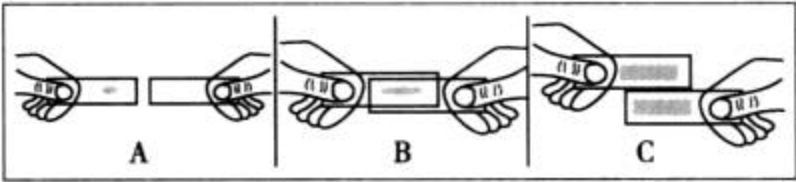


图 8-1 涂片制备方法(用于黏液性标本)

- A. 将 1 滴标本加在载玻片上; B. 将另一张载玻片盖在上面, 并施加压力;
- C. 将 2 张载玻片水平分开

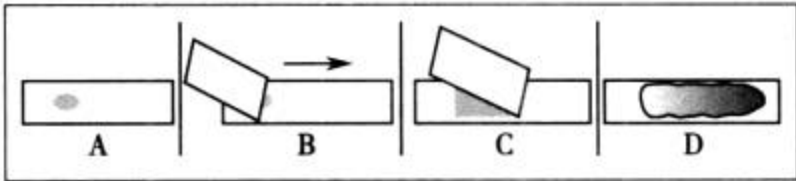


图 8-2 涂片制备方法(用于非黏液性标本)

- A. 将 1 滴标本加在载玻片一端; B. 取 1 张推片向后接触标本;
- C. 小心将推片向前移动制成涂片; D. 成群细胞分布在涂片周边和末端

渗出液、灌洗液和尿液等标本不易黏附在载玻片上, 宜采用蛋白类(如牛血清白蛋白)或离子类(如多聚赖氨酸)黏附剂, 增强细胞和载玻片之间的黏附力, 最大限度的保存标本中的细胞。

三、标本固定

1. 湿固定 湿固定(wet fixation)是通过使细胞的胞质脱水、蛋白质凝固而达到固定的目的。常用的固定液为乙醇类液体, 常用方法有浸润法和包被法。湿固定可引起细胞皱缩, Carnoy 固定液(乙醇 - 氯仿 - 冰乙酸固定液)能溶解红细胞, 适用于处理明显血性的标本。聚乙二醇固定液能在涂片表面形成一层保护性蜡质膜, 适用于标本的长途转运和大规模人

群筛检。

2. 空气干燥固定 空气干燥固定 (air drying fixation) 是通过空气蒸发的方法达到固定目的。最好是逆着气流方向尽快将涂片干燥。与湿固定相比, 空气干燥固定有使细胞增大的趋势 (图 8-3)。

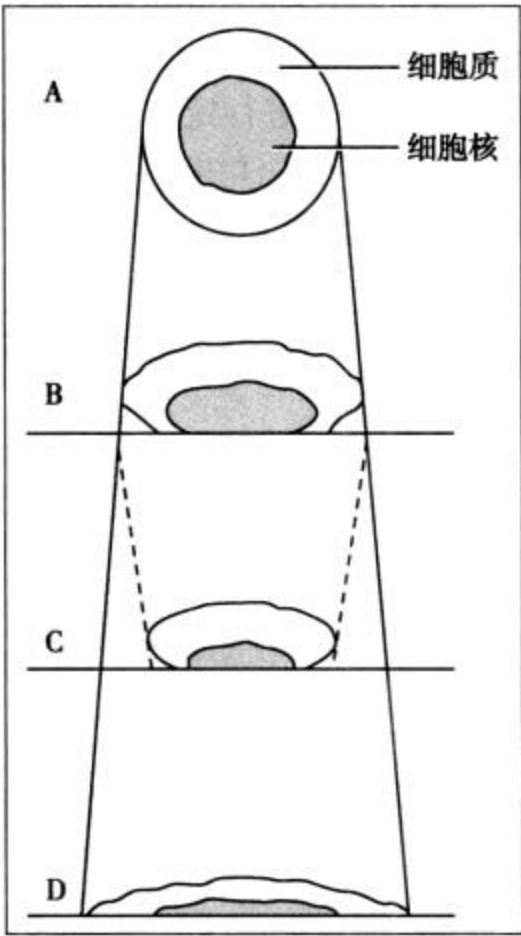


图 8-3 标本固定方法比较
A. 呈圆形未固定的细胞; B. 平铺在载玻片上; C. 湿固定; D. 空气干燥固定

涂片空气干燥后应作甲醇固定, 以防交叉感染。对于使用运送培养基的囊性液体或细针吸取穿刺液, 应考虑其潜在的生物危害。

四、标本浓缩技术

(一) 传统技术

1. 离心法和细胞离心法 ①离心法: 适用于大量液体的标本, 如浆液性积液、尿液或生理盐水灌洗液等。②细胞离心法: 适用于少量液体、中等量细胞的标本, 是将细胞直接离心到载玻片上, 制成单层细胞涂片, 但部分物质会被滤纸吸收而损失, 不适用于富含黏液或细胞的标本。

2. 滤膜过滤法 滤膜过滤法 (membrane filtration) 适用于大量液体、少量细胞的标本, 是用各种孔径的滤膜 (如醋酸纤维薄膜、聚碳酸酯微孔膜), 通过施加一定压力使液体标本中的细胞过滤到滤膜上, 制成涂片。与离心法相比, 滤膜过滤法能最大限度的捕获标本中的细胞。

3. 细胞块法 细胞块法 (cell block) 适用于大多数悬液标本, 是将标本中细胞聚集成团, 形成与传统组织块类似的细胞块, 可制作细胞块切片, 用于特殊染色, 如免疫细胞化学染色。制备方法有血浆凝血酶法和琼脂法等。

(二) 液基细胞学技术

液基细胞学 (liquid based cytology, LBC) 技术是一种半自动或全自动标本处理技术, 是将刷取或灌洗法采集的标本, 置于特殊的运送液或保存液中, 制成细胞悬液, 经过进一步处理, 除去血液、蛋白质和炎性渗出物, 制成分布均匀的薄片。其本质是滤膜过滤法实现了自动化。优点是: ①涂片上细胞分布均匀、分布范围小、背景清晰。②筛检简便、快速。③能提高诊断的灵敏度和特异度。④能显著降低标本的不满意率。⑤可用于原位杂交和免疫细胞化学染色。

LBC 技术是对传统技术的有效补充, 但对某些非妇科标本, 因 LBC 涂片缺乏背景成分, 会影响细胞学的诊断。目前, 常用的 LBC 技术有 ThinPrep 法和 SurePath Prep 法。LBC 技术与传统技术比较见表 8-3。

表 8-3 LBC 技术和传统技术的比较

项目	传统技术	ThinPrep 法	SurePath Prep 法
采集设备	压舌板、专用刷子	压舌板、专用刷子	专用刷子
固定方法	乙醇	甲醇	乙醇
采集方法	直接涂片	标本冲洗入小瓶	采集设备留在小瓶内
涂片细胞分布	随机分布	均匀分布在 20mm 范围内	均匀分布在 13mm 范围内
人为影响	空气干燥、血液、炎症、细胞分布不均匀	明显减少	明显减少
过程自动化	不适用	真空压力透过滤膜	重力沉降过程
影像学技术	不适用	可用	可用
其他实验	不适用	HPV、衣原体、淋病奈瑟菌	HPV、衣原体、淋病奈瑟菌

1. ThinPrep 法 标本采集于含有甲醇保存液的塑料小瓶内, 将小瓶放入 ThinPrep 仪器中。将含聚碳酸酯滤膜的塑料圆筒插入小瓶内, 在自动处理过程中, 圆筒和小瓶同时旋转, 使细胞聚集减少, 除去黏液和背景碎片, 并借助真空压力使细胞吸附到滤膜上, 最后在负压作用下使滤膜上的细胞黏附到载玻片上, 使细胞分布在直径 20mm 范围内, 将制成的薄层涂片迅速固定后染色。

2. SurePath Prep 法 标本采集于含有乙醇保存液的容器内, 将容器放入 SurePath 仪器中。在处理过程中, 标本中的细胞先悬浮于密度梯度溶液中, 利用旋涡法使聚集的细胞团和黏液分解, 再利用密度梯度离心法使细胞成分和非上皮细胞成分 (如炎症碎片等) 分开, 使细胞在重力作用下沉淀到载玻片上, 制成直径为 13mm 的薄层涂片, 并迅速固定后染色。

五、染色方法

Papanicolaou 染色法适用于湿固定的涂片。Romanowsky 染色法 (如 MGG、Diff Quik 染色) 适用于空气干燥固定的涂片, 在非妇科标本染色中常用。苏木素和伊红染色法是组织切片最常用的染色方法, 也是许多细胞病理学实验室常用的染色方法。不同染色技术均适用于妇科或非妇科标本的永久性染色。

其他染色方法有组织细胞化学染色, 如过碘酸 Schiff 染色、三色染色和 Grocott 碘化银染色, 以及免疫细胞化学染色等, 染色有助于识别微生物或鉴别肿瘤细胞分化程度。

六、细胞病理学诊断

细胞病理学诊断是一个复杂的过程,但不能过分强调最终结论的重要性。因为细胞学检查的影响因素很多(表 8-4),当涂片上有大量保存良好的细胞时,会提高诊断的准确性,而缺乏背景资料、涂片不佳、染色模糊等则会导致误诊。

表 8-4 细胞病理学检查的影响因素

类别	影响因素
患者信息	年龄和性别、激素水平(如妊娠)、临床表现、病史、其他检验结果
病变部位	局部解剖学知识、放射学特征、技术局限性
细胞特点	细胞量、细胞类型、细胞群体、细胞分布和黏附性、细胞形态、涂片背景
其他信息	电子显微镜、组织化学、免疫细胞化学、流式细胞术、细胞遗传学

涂片中的成分通常由各种复杂的细胞成分组成,因采集病变组织或标本的部位不同,涂片上可同时见到正常和异常细胞。细胞核反映细胞的增殖状态和能力,细胞质则反映细胞的起源、功能状态和分化程度。细胞活性增强可以是生理性的,如激素调节性细胞增生;也可以是损伤性的,如炎症反应性细胞变化;或是肿瘤性的异常。细胞活性减低多为激素水平、衰老或凋亡等生理性变化。

迄今为止,还没有一项细胞形态学特征或一套规范的细胞形态学标准,能准确可靠地鉴别良性与恶性细胞。因此,检验人员需要依据涂片上细胞的数量、分布、大小和形态、细胞质和细胞核的特征等,进行系统性分析才能做出最终结论。

(一) 细胞形态学判断的基本原则

1. 细胞数量和类型 细胞数量和类型提供了靶组织或器官的重要信息,足够量的标本是提高结果可靠性的重要因素。细胞过多(hypercellularity)表示增殖过程指数增加,代表增生或肿瘤。但细胞过少(paucicellularity)也并非表示无恶性细胞的存在,因为分化差的恶性肿瘤细胞常散在脱落。

2. 结构特征 在细胞学涂片中常常缺乏结构特征。正常上皮细胞常保持细胞极性(cell polarity)和细胞间黏附性(intercellular adhesion)。如腺上皮细胞多规则排列、单层成片,正面观呈“蜂窝状”,侧面观呈“尖板条栅栏状”。增生和良性肿瘤的上皮细胞常保持良好的黏附性,呈乳头状、玫瑰花样或桑椹样等特殊形态。合胞体样细胞的边界改变和极性紊乱,应考虑肿瘤的可能。典型的恶性上皮细胞的极性差,细胞间相互重叠,有时三维状聚集呈圆形。分化差的癌细胞黏附性更差,多散在分布。

3. 细胞核特征 细胞核特征是判断良性与恶性细胞的关键。正常细胞核体积相对较小,呈圆形或卵圆形,边界光滑,染色质呈细颗粒状。涂片上同一类型细胞之间的差别很小,称为单形性。①若胞核 DNA 含量增加会产生核染色过深(hyperchromasia),染色质分布不规则,呈粗颗粒状、核膜增厚。②细胞核不均(anisokaryosis)时,常伴核膜异常,边界不规则,呈沟状、切迹状、皱缩状。③核的大小、形态和染色异常又称为核多形性(nuclear pleomorphism),并常用核质比(nuclear/cytoplasmic ratio, N/C)来表达细胞核和细胞质的相对比例,分化差的细胞常具有大核,而细胞质的量无变化,故核质比增大。细胞核变化与特征见表 8-5。

表 8-5 细胞核的变化与特征

变化	特征
数量	①正常细胞核常单个 ②破骨细胞、合体滋养层细胞可见多核 ③再生或修复细胞，如肝细胞和软骨细胞可见双核 ④多核常见于炎症和肿瘤
核仁	①正常细胞核常含有小的单个核仁和相关蛋白质 ②肿瘤或非肿瘤性增生时，常见大核仁
核变性	①变性染色质常呈致密浓缩状，称为核固缩(karyopyknosis)，如核破裂、核溶解、染色质溶解 ②细胞溶解形成裸核，常淡染 ③核残余物、核膜破裂成丝球状，常见于淋巴样细胞或小细胞未分化癌细胞
有丝分裂	正常细胞罕见有丝分裂，若有丝分裂增多代表细胞增生，肿瘤常见异常纺锤体(三极或四极)

4. 细胞质特征 细胞质由 Golgi 体、核糖体、内质网、线粒体和代谢物等组成，是影响细胞染色性的重要因素之一。正常细胞或分化好的肿瘤细胞常见黏液球、泡沫状微空泡、微绒毛刷状缘和纤毛(cilia)。邻近细胞会出现细胞质铸模(moulding)现象。少数细胞有吞噬现象，见于良性或恶性疾病，后者更常见。细胞质变性包括水肿性和空泡样(vacuolation)变化等，质膜完整性丧失使细胞内容物溢出，即细胞溶解(cytolysis)。

5. 涂片背景和人为因素

(1) 涂片背景：包括细胞和非细胞成分，有助于疾病的诊断，但明显的血性或炎症反应背景会掩盖上皮细胞的细致结构，从而影响诊断。另外，应注意结缔组织成分、黏液、纤维蛋白渗出物或类砂样小体(psammoma body)，同时也应注意微生物，如共生性微生物有乳酸杆菌和假丝酵母菌，病原性微生物有病毒、细菌、真菌和原虫等。浸润性肿瘤常伴有血性、炎症坏死性、变性细胞碎片的肿瘤素质(tumor diathesis)。

(2) 人为因素：是指人为污染或涂片制作过程引起细胞形态学变化，与标本采集、运送和涂片制备等因素有关。在操作过程中引入“外来成分”是影响结果准确性的重要因素，包括：①内源性：如蔬菜和肉类纤维、胆固醇结晶等。②外源性：如染液沉淀物、滑石粉颗粒等。

(二) 显微镜筛检原则

1. 观察全片获取基本信息 先用 10 倍物镜浏览涂片，得到标本制备的初步信息，包括细胞组成、固定和染色等。除极少数情况外，仅含血液或无细胞成分的涂片应考虑为标本缺陷。

2. 鉴别异常细胞 对用 10 倍物镜观察到的少量异常细胞，再用 40 倍物镜进行观察、辨认和确定。

3. 明确 2 个问题 在采用显微镜筛检标本的同时，必须回答 2 个问题：①细胞群体与器官来源有何关系？②如果细胞群体异常，是非特异性异常还是明确异常？

七、细胞病理学诊断的质量保证

(一) 细胞病理学诊断的准确性和局限性

评价细胞病理学诊断的准确性和可靠性有助于比较各种不同检验技术的性能。常用的指标有灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确性等，如 Papanicolaou 试验(Pap

test)是一项女性生殖系统细胞病理学筛检试验,经循证检验医学研究表明,其诊断灵敏度为30%~87%,特异度为86%~100%。假阴性结果常由筛检错误或解释错误造成。假阳性结果常因某些疾病之间有类似细胞学改变所致。通常,统计学结果受标本满意程度影响,故在评价诊断价值时,必须排除干扰因素,以便准确反映检查的诊断性能。

(二) 细胞病理学诊断的质量保证

质量保证是保证细胞学诊断准确性的基础,包括内部质量保证机制(internal quality assurance mechanisms, IQAM)和外部质量保证机制(external quality assurance mechanisms, EQAM)。

1. IQAM ①每年必须从所有报告中随机抽取10%阴性结果重新复查,复查高度鳞状上皮细胞内病变或肿瘤病例与5年内原阴性结果的不一致性。②对已诊断为高度鳞状上皮细胞内病变、腺癌和其他恶性肿瘤病例,复查细胞学与组织学的关系。③所有非妇科标本和妇科异常标本的细胞病理学结果必须由病理学家复查。④技术人员每天筛检细胞学涂片应不超过100张,应采用规定的术语报告结果。⑤每年应统计所有检测标本量,并按标本来源分类和文件化保存所有细胞病理学筛检结果等。

2. EQAM 定期参加由国家或地区组织的能力验证活动,技术人员宜参加细胞病理学继续教育项目等。

第二节 正常细胞形态学

经染色后,大多数正常细胞在光学显微镜下能按组织类型和来源进行分类。通过细胞质和细胞核所提供的信息,可反映上皮细胞类型、来源和功能。在缺乏上述信息时,就很难进行分类。根据细胞学的特点,将细胞分为上皮源性细胞和非上皮源性细胞,要掌握同一来源细胞的组织学和细胞学之间的差别(图8-4)。在组织学上,细胞呈侧面观;在细胞学涂片上,细胞多呈正面观。

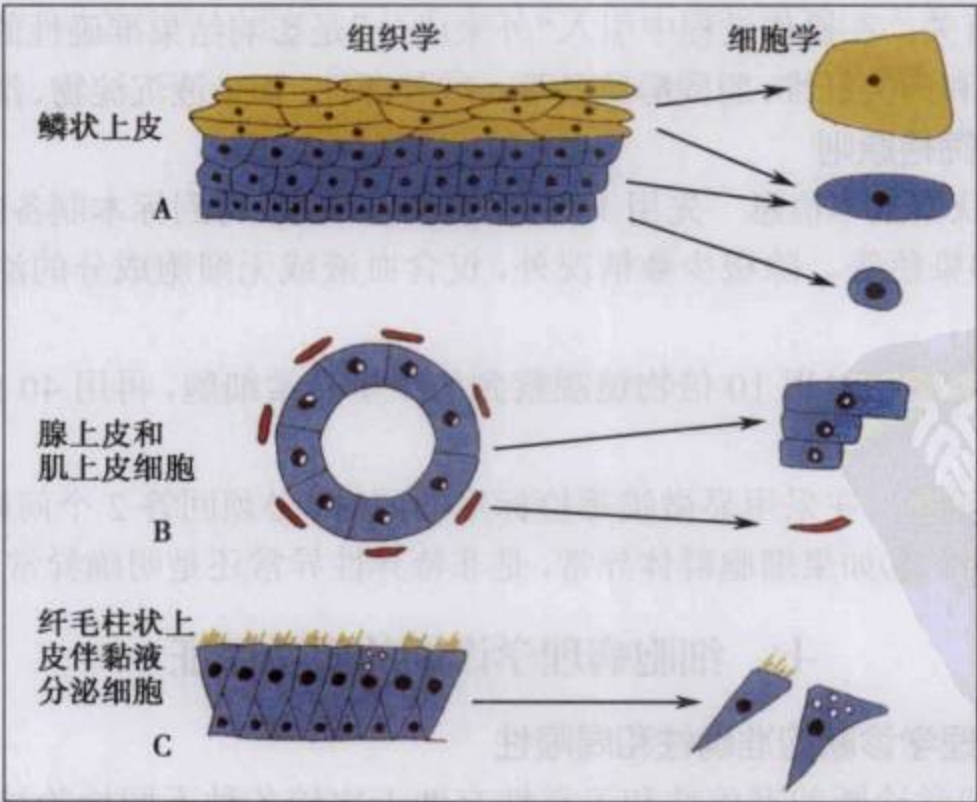


图 8-4 三种类型上皮组织学和细胞学差异

一、上皮细胞

上皮细胞覆盖于器官表面或形成腺体和腺体样结构。各种器官和系统组成的上皮细胞类似,根据上皮细胞功能分为4种:鳞状上皮细胞(squamous epithelia cell)、分泌性腺上皮细胞(glandular epithelia cells with secretory functions)、纤毛上皮细胞(ciliated epithelia cells)和间皮细胞(mesothelial cells)。

(一) 鳞状上皮细胞

1. 组织学 鳞状上皮细胞是一种多层上皮细胞,覆盖于器官表面,直接与外部环境接触,分为2种亚型:①角化型:分布于皮肤和外阴表层。②非角化型:分布于口腔前庭、角膜、咽、食管、阴道、外阴内层和子宫颈阴道口。

2. 细胞学 在细胞学涂片上,鳞状上皮细胞形态完整。多数鳞状上皮细胞呈扁平、多角形、边界清晰,其大小与来源有关。鳞状上皮细胞由多层上皮细胞组成,通常分为4层,其中:①基底层细胞(basal cell)最小,直径约 $10\mu\text{m}$,正常情况下罕见(很少脱落),具有较强的增生能力。②副底层细胞(parabasal cell)直径约 $10\sim 15\mu\text{m}$,由2~3层圆形细胞组成。③中层细胞(intermediate cell)直径约 $15\sim 40\mu\text{m}$,由数层多边形细胞组成。④表层细胞(superficial cell)最大,直径约 $40\sim 60\mu\text{m}$,由各种多边形细胞组成。

基底层、副基底层、中层的细胞核呈圆形或卵圆形,染色质颗粒疏松,直径约 $8\mu\text{m}$ 。表层非角化型鳞状上皮细胞有小的胞核,但致密、染色深,核质交界处有狭窄空晕,核多固缩(图8-5)。表层角化型鳞状上皮细胞无核,呈透明多角形,含大量角蛋白丝,成为无核鳞状上皮细胞(anucleated squames)。在某些异常情况下,如宫颈或口腔前庭的黏膜白斑,也可见非角化型鳞状上皮发生角化现象。表层上皮的细胞质常嗜酸性,底层上皮的细胞质常嗜碱性。空气干燥固定涂片的染色性可从嗜碱性变为嗜酸性。

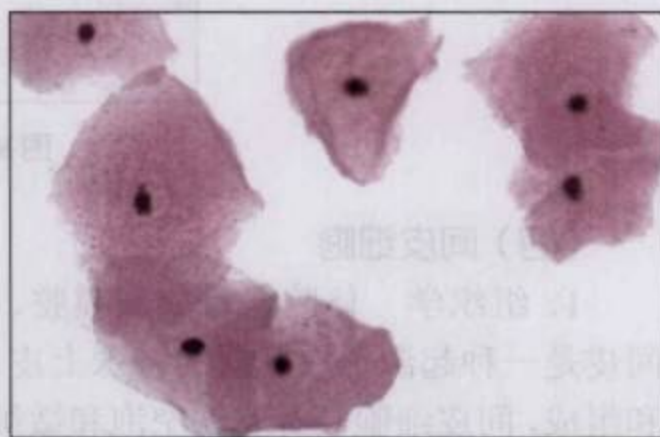


图8-5 表层鳞状上皮细胞(核固缩)

(二) 分泌性腺上皮细胞

1. 组织学 分泌性腺上皮是具有分泌功能的上皮器官,能与外部环境进行交换,分布于消化道和相关腺体、男性和女性生殖道。覆盖在肠道和子宫颈内膜表面形成内陷或腺管,或与表面导管相连形成腺体,或单个散在分布,如呼吸道纤毛上皮中的杯状细胞。

2. 细胞学 在细胞学涂片上,保存良好的分泌细胞(secretory cell)呈立方形或柱状,长约 $10\sim 20\mu\text{m}$,宽约 $10\mu\text{m}$,具有极性。细胞质呈透明状或浑浊,常含黏液(图8-6)。细胞核结构疏松,平均直径 $8\mu\text{m}$,多偏位,位于细胞底部,常有小核仁。分泌细胞很难保存,涂片上细胞边界常消失、形态破坏,细胞质呈淡嗜碱性,由储备细胞更新而来。细针吸取标本中还可可见梭形的、具有收缩功能的肌上皮细胞,其体积较小,呈逗点形,细胞核深

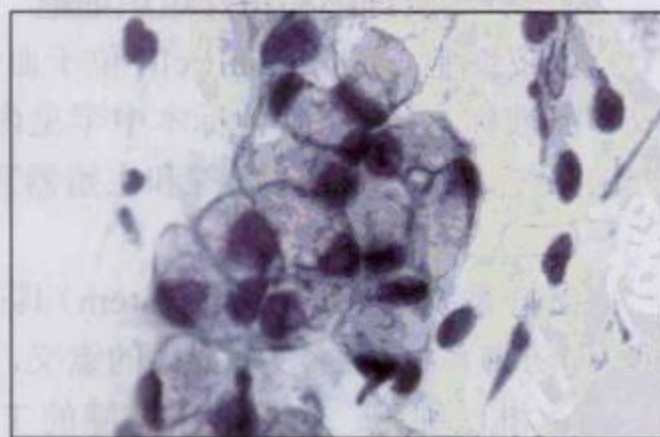


图8-6 子宫颈黏液柱状上皮细胞

染,细胞质极少。

(三) 纤毛上皮细胞

1. 组织学 纤毛上皮分布于呼吸道、子宫颈峡部内膜、输卵管和子宫内膜。纤毛上皮常由几层细胞组成,纤毛朝向器官腔面,而小的基底层细胞是上皮细胞更新的来源。纤毛细胞(ciliated cell)常与分泌黏液或黏液相关物质的分泌细胞同时出现。在呼吸道中支气管纤毛细胞被黏液覆盖,通过纤毛运动,能将灰尘或其他外来物质包裹于黏液中并排出体外。

2. 细胞学 在细胞学涂片上,纤毛细胞很容易识别。细胞呈柱状,罕见立方形,一侧扁平有纤毛,具有嗜酸性,常固定在细胞的致密层上(即终板)(图 8-7)。一旦纤毛被破坏,出现终板的细胞即纤毛细胞。纤毛细胞的长度和宽度不定,在呼吸道中,纤毛细胞长约 20~25 μm ,宽约 10 μm ,而其他纤毛细胞较小。纤毛细胞呈逗点形,细胞质缩窄的一侧,呈鞭状,细胞核透明,有时呈颗粒状,直径约 8 μm ,常偏位。在恶性肿瘤细胞学涂片中罕见纤毛细胞。



图 8-7 支气管纤毛细胞

(四) 间皮细胞

1. 组织学 体腔器官如胸膜腔、心包膜腔和腹膜腔由单层扁平上皮覆盖,称为间皮。间皮是一种起源于中胚层的特殊上皮。在正常环境下,间皮的功能是调节体腔内液体的量和组成,间皮细胞具有胞饮空泡和微绒毛能力。发生异常情况时,体腔内液体量增加,形成积液,间皮层增厚。

2. 细胞学 源自于脱落标本的间皮细胞(mesothelial cell)常单个、成双或成片排列;源自于穿刺和刷取法的标本,间皮细胞常呈成片或成团排列。

二、非上皮细胞

(一) 内皮细胞和特殊组织细胞

内皮细胞(endothelial cell)位于血管内膜表面,形似间皮细胞,表面表达 FVIII,除细针吸取和血液标本外,在其他标本中罕见内皮细胞。体内特殊功能的组织,如中枢神经系统、内分泌系统、肾脏、肝脏、胰腺和生殖器官等,是由各种特殊类型的细胞组成。

(二) 支持系统

支持系统(supporting system)具有支持、传递和防御等功能,如肌肉、神经和骨髓等。其中,防御系统(免疫)有很大的意义。

1. 淋巴细胞 包括源于胸腺的 T 淋巴细胞和源于骨髓干细胞的 B 淋巴细胞。淋巴细胞体积较小,呈圆形,直径约 8 μm ,细胞质少且常呈嗜碱性,细胞核呈圆形、不透明。经刺

激后, T 淋巴细胞会转化为淋巴母细胞, 胞体和细胞核增大, 出现 1 个或多个核仁。B 淋巴细胞末期为浆细胞, 后者体积较淋巴细胞大, 细胞质因免疫球蛋白积累形成嗜酸性颗粒或 Russell 小体, 常含有大量粗面内质网, 细胞核偏位, 染色质呈车轮状排列。

2. 巨噬细胞或组织细胞 巨噬细胞 (macrophage) 具有吞噬外来物质的能力, 如细菌、真菌、原虫和异物等, 起源于骨髓单核细胞, 并在各个组织器官中分化成熟。而组织细胞源自巨噬细胞。在细胞学涂片上, 单个核巨噬细胞大小不一, 细胞核呈圆形、肾形, 细胞质充满小空泡, 并含有颗粒或吞噬碎片。活化巨噬细胞的核常偏位; 多核巨噬细胞源自单个核巨噬细胞的融合, 胞体巨大, 细胞核常偏位, 分散在细胞质周边, 称为 Langhans 细胞或 Touton 细胞 (图 8-8)。

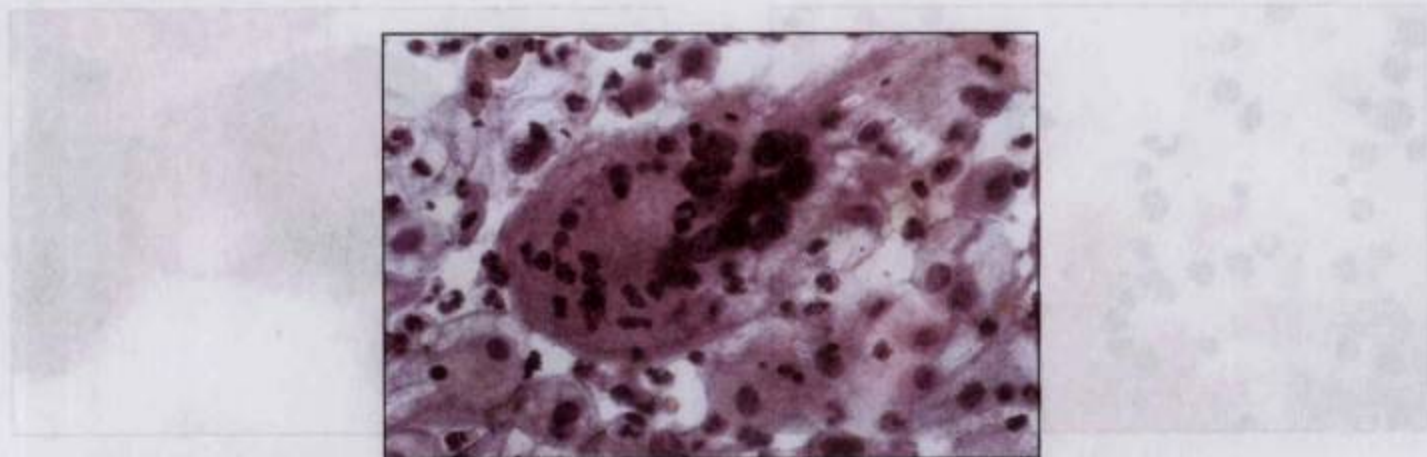


图 8-8 巨噬细胞 (子宫颈阴道分泌物涂片中多个核巨噬细胞)

(三) 血细胞

在细胞学涂片上, 常见红细胞和白细胞。保存良好的红细胞常提示新鲜出血, 有生理性 (如月经出血)、病理性 (如创伤) 或医源性。出现中性粒细胞多为炎症, 少数为生理性。嗜酸性粒细胞常见于过敏性疾病, 如哮喘、寄生虫感染等。

第三节 细胞损伤形态学

细胞学诊断是在光学显微镜下识别细胞变化, 必要时, 需要借助细胞化学、免疫细胞化学、电子显微镜或分子生物学技术来鉴别损伤性和肿瘤性细胞的变化。引起细胞损伤的原因包括: ①物理和化学因素: 热、冷、放射、药物和化学物质等。②感染因子: 细菌、病毒、真菌和寄生虫等。③内部因子: 如贮存池病、代谢性疾病、分子结构缺陷病、新生儿免疫缺陷、获得性免疫缺陷、自身免疫性疾病。④细胞生长异常: 良性 (自限性), 如增生或化生; 肿瘤性, 如良性或恶性。

在光学显微镜下, 细胞损伤可引起细胞病理学的变化有 3 种: ①死亡 (坏死或凋亡)。②短暂或永久性形态学变化。③短暂或持续性有丝分裂活性异常, 出现正常或异常子细胞和传代细胞。

一、细胞死亡

细胞死亡是一种不可避免的结果, 程序性死亡称为凋亡 (apoptosis), 发生于某种特定疾病的死亡称为坏死 (necrosis), 两者既有区别又有联系。

1. 凋亡 凋亡多发生于淋巴细胞，上皮细胞较少见。凋亡细胞呈特征性细胞核和细胞质变化。细胞核变化是染色质致密，先在核周形成新月形帽子，然后碎裂、降解，染色质碎裂成大小一致的小颗粒状，称为核碎裂或凋亡小体 (apoptotic body)。细胞质常皱缩，细胞膜多破裂 (图 8-9)。凋亡与周围组织炎症无关。

2. 坏死 坏死多见于理化损伤、制备涂片不当或部分癌细胞，有一定诊断价值。坏死细胞常缺乏典型的形态学表现。通常先是细胞质空泡形成 (图 8-10)，细胞核体积增大，细胞核均质化、染色质致密，称为核匀化 (nuclear homogenization) 或核固缩，然后细胞膜破坏，细胞完整性丧失，最后形成细胞碎片、核碎片或核丝，被核染液 (如苏木素) 染成蓝色。坏死常与周围组织的炎症有关。

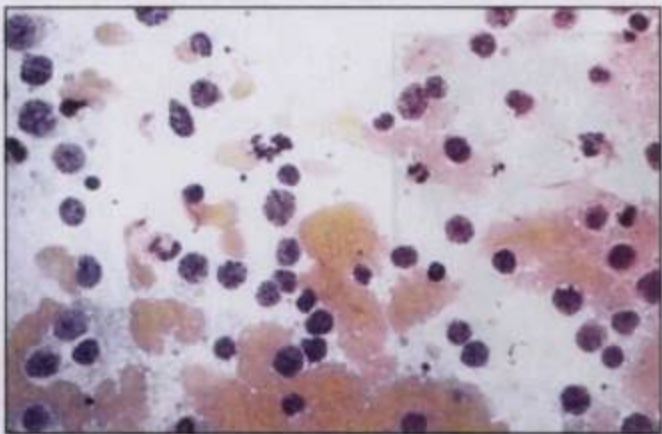


图 8-9 恶性淋巴瘤凋亡细胞 (淋巴结涂片)

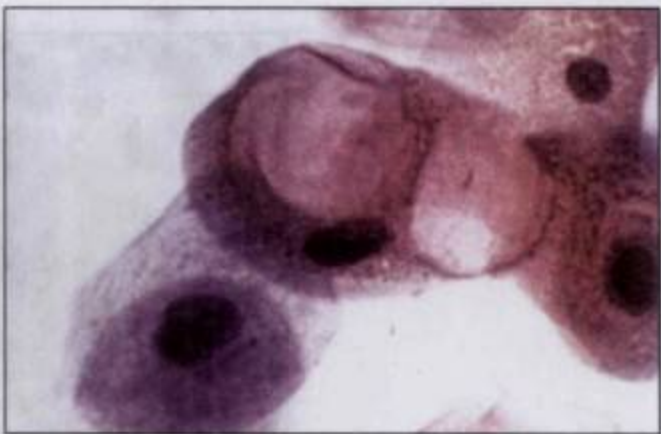


图 8-10 鳞状上皮细胞的放射线影响 (坏死细胞中巨大的细胞质空泡)

二、修复和再生

因物理或感染所致的局部细胞损伤和死亡，最终能引起损伤组织的更新或再生称为修复。上皮由邻近上皮更新，结缔组织由成纤维细胞再生。

修复的新上皮细胞的细胞质通常呈嗜碱性，细胞核异常，体积增大，有多个大的、不规则的核仁，并可见异常有丝分裂，易与癌细胞相混淆。

再生的成纤维细胞体积增大，细胞质呈嗜碱性，细胞核增大，核仁增大，并出现异常有丝分裂，易与结缔组织恶性肿瘤或肉瘤混淆。常发生于肌肉、筋膜和皮下组织，形成浸润性或假肉瘤性筋膜炎。

三、良性上皮异常

1. 基底层细胞增生 慢性损伤引起基底层细胞数量增加，可见于癌前病变。当采用细针吸取法采集标本时，可见基底层细胞增多，体积小、细胞核大、核质比增大，偶见核仁，易被误认为小型恶性细胞。

2. 化生 化生是一种分化成熟的上皮转化成另一种分化成熟上皮的过程。分为上皮组织化生和间叶组织化生。常见于炎症、机械创伤等损伤或慢性刺激的过程。如支气管黏液柱状上皮被鳞状上皮替代所形成的鳞化细胞，其形态通常异常，有时具有化生前细胞的特征，如含黏液和偶见核增大，此种鳞化细胞最终可能会发展为肺癌细胞。

3. 增生和萎缩

(1) 增生 (hyperplasia): 为细胞数量增多伴有组织和器官体积增大。常见正常鳞状上

皮或腺上皮层数增加,如子宫内膜增厚。增生伴细胞组成异常,称为不典型增生(atypical hyperplasia)。在细胞学涂片上,除非增生细胞发生明显不典型改变,否则很难识别。

(2) 萎缩(atrophy): 正常发育的器官、组织、细胞发生物质代谢障碍而引起的体积减小。在细胞学涂片上,很难判断萎缩上皮细胞。

四、非肿瘤性疾病细胞学变化

(一) 炎症性疾病

炎症是组织对损伤的一种常见反应,根据时间不同分为急性、亚急性和慢性。

1. 急性炎症 在细胞学涂片上,可见中性粒细胞增多以及坏死物质,伴少量淋巴细胞等。其中,坏死物质常含有细胞碎片、纤维蛋白、红细胞和白细胞等。并伴有组织再生、损伤修复或发展为慢性炎症。

2. 亚急性炎症 较少见,可见于寄生虫感染。在细胞学涂片上,可见少量坏死组织、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞等非特异性变化。

3. 慢性炎症 在细胞学涂片上,可见淋巴细胞、浆细胞和巨噬细胞等典型变化。巨噬细胞为单个核或多个核,有细胞核增大和染色质增多的现象,上皮细胞和成纤维细胞表现为再生和修复特征。

4. 肉芽肿性炎症 肉芽肿性炎症是一种特异性炎症的形式,由上皮样细胞(类似上皮细胞的巨噬细胞)组成,伴有多核巨细胞。常见于结核杆菌或真菌感染等。

(二) 特殊感染性物质的识别

在光学显微镜下,能明确识别真菌,尤其是在肺部、脑脊液和细针吸取标本中。少数细菌、病毒、寄生虫能产生特征性的细胞学变化,如阴道加德纳菌感染会出现线索细胞(clue cell),沙眼衣原体感染会出现细胞质包涵体,艾滋病肺炎会出现卡氏肺孢子虫。某些病毒感染的特征性细胞学变化见表 8-6。

表 8-6 常见病毒引起的细胞学变化

病毒	细胞质	细胞核	包涵体
单纯疱疹病毒	增多	早期:毛玻璃样、多核、细胞核增大;末期:出现铸模状核内包涵体	嗜酸性
巨细胞病毒	含小卫星状包涵体	大包涵体形成透明带	嗜碱性,有时嗜酸性
人乳头状瘤病毒	有明显的大的核周透明带	细胞核增大,有时固缩	无
人多瘤病毒	正常或增多	细胞核增大,染色质被大的包涵体替代(decoy 细胞)	大、嗜碱性、均一性,无核周晕或卫星的包涵体

五、细胞损伤的其他变化

1. 反应性核变化 反应性核变化(reactive nuclear change)较少见,多发生于炎症过程,可见于癌组织周围。细胞核轻度至中度增大,核膜轻度不规则,染色质颗粒增加,偶见大核仁(图 8-11)。此类细胞也称为修复反应(repair reaction)或化生(metaplasia)。

2. 多核 多核多见于细菌或病毒感染。间质细胞、上皮细胞或巨噬细胞均会形成多核

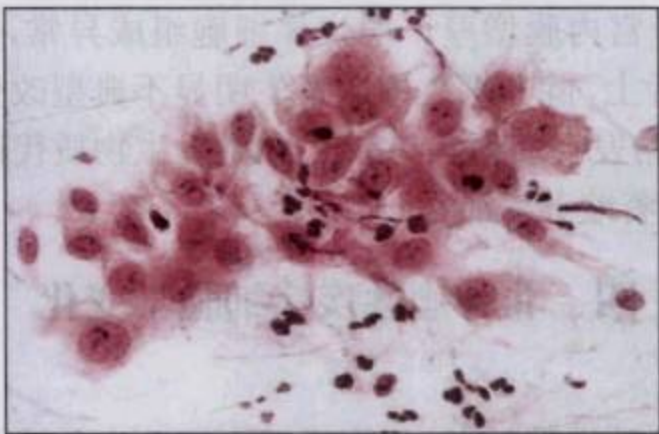


图 8-11 反应性鳞状上皮细胞(细胞核增大和明显核仁)

细胞。多核巨细胞(multinucleated giant cell)是上皮细胞(如支气管上皮或腺上皮)通过胞饮作用或核内有丝分裂,形成的核分裂、质不分裂的细胞,其细胞膜边界消失、融合,多个核,有时可见纤毛。

3. 其他 ①吞噬现象:在炎症或肿瘤时,巨噬细胞、上皮细胞、间皮细胞和癌细胞等都会出现吞噬现象,细胞质中可见外来异物、细胞碎片或完整细胞。②核异常:病变组织中各类细胞均可见核异常,表现为核皱褶或核沟。③细胞质异常:在某些恶性肿瘤中,可见核内细胞质包涵体,是细胞质折叠入细胞核所致。在放疗、某些病原微生物(如沙眼衣原体)感染、细胞内脂肪贮存时,可见细胞质形成多个大小不一透明的圆形包涵体,内含水分或水溶性物质,称为细胞质空泡。

第四节 肿瘤细胞学基础

肿瘤是机体内形成的新生组织,可以是良性的,也可以是恶性的。在细胞学上常借助显微镜技术来诊断和鉴别诊断恶性肿瘤。

一、良 性 肿 瘤

(一) 定义和分类

良性肿瘤是细胞发生异常增殖且呈局限性增生,但细胞排列和数量异常,可发生于任何组织或器官。常见良性肿瘤分类和术语见表 8-7。良性肿瘤常表现为上皮细胞增生,伴有结缔组织和毛细血管增生。

表 8-7 人类常见肿瘤的分类和术语

组织起源	良性肿瘤	恶性肿瘤
鳞状上皮组织	乳头状瘤	鳞状上皮细胞癌,膀胱上皮细胞癌
柱状上皮组织	息肉	腺癌,黏液表皮样癌
间皮组织	良性间皮瘤	恶性间皮瘤
中胚层组织	命名为××瘤,如脂肪瘤、骨瘤	命名为××肉瘤,如脂肪肉瘤、骨肉瘤
淋巴组织	增生	恶性淋巴瘤
血细胞	—	白血病
多种组织组成	良性畸胎瘤	恶性畸胎瘤

(二) 细胞学特征

- 1. 上皮源性良性肿瘤细胞 与正常上皮细胞差异很小。在细胞学涂片上,细胞多互相黏附,形成扁平的细胞群,细胞边界清晰,呈蜂窝状,细胞质透明,核仁小,有时可见有丝分裂。
- 2. 间质源性良性肿瘤细胞 如脂肪瘤、平滑肌瘤和纤维瘤,通过细针吸取法获取标本,在细胞学涂片上,与正常间质源性细胞类似,如脂肪细胞、平滑肌细胞或成纤维细胞。
- 3. 其他 某些良性肿瘤,如内分泌或神经源性肿瘤、皮肤疣、生殖道或膀胱尖锐湿疣,在细胞学涂片上,细胞形态明显异常,体积增大、细胞核深染,可见多核,易与癌细胞混淆,细胞学很难作出正确诊断。

二、恶性肿瘤

(一) 定义和分类

原发性恶性肿瘤是形态异常细胞的自主增生,形成特征性组织学图像。肿瘤组织呈浸润性生长,能越过组织学边界,浸润至邻近组织。肿瘤细胞能克隆性生长形成转移,能侵入淋巴道或血道。常见恶性肿瘤分类和术语见表 8-7。

- 1. 癌 源于上皮组织的恶性肿瘤称为癌(carcinoma),如鳞状上皮来源的称为鳞状上皮细胞癌(squamous carcinoma)。分化好的鳞癌具有明显的角化形成。腺上皮来源的称为腺癌(adenocarcinoma)。同时出现 2 种类型细胞的称为腺鳞癌(adenosquamous carcinoma)或黏液表皮样癌(mucoepidermoid carcinoma)。
 - 2. 肉瘤 源于中胚层组织的恶性肿瘤称为肉瘤(sarcoma),如骨肉瘤、肌肉瘤、成纤维细胞肉瘤等。
- 其他恶性肿瘤命名具有高度器官特异性,如血细胞和淋巴系统癌变称为白血病和淋巴瘤,神经胶质细胞癌变称为胶质瘤,黑色素细胞癌变称为黑色素瘤等。

(二) 细胞学特征

借助光学显微镜能正确识别癌细胞,但有局限性:①良性增生或修复细胞与癌细胞易混淆。②与正常细胞类似的癌细胞很难鉴别。因此,细胞学诊断有时完全依赖于检查者的经验和临床知识。恶性和良性肿瘤细胞形态学主要区别见表 8-8 和图 8-12。



图 8-12 良性与恶性细胞的形态学区别

表 8-8 良性细胞与恶性细胞的形态学区别

鉴别要点	良性细胞	恶性细胞
细胞大小	在生理性变化范围内	超出生理性变化范围
细胞形态	在生理性变化范围内与组织类型有关	异常
核大小	在细胞周期变化范围内	明显异常(核大小不一)
核质比	在生理性变化范围内	增大
核形态	常呈圆形、卵圆形或肾形	形态和结构异常
染色质特征	细颗粒状,“透明状”	粗颗粒状,“浑浊状”
核深染	罕见	常见
核仁	小,形态规则,数量有限	增大,形态不规则,数量增加
黏附性	良好(除淋巴结、脾脏、骨髓外)	差
细胞间连接	和组织类型有关	不一定异常
在培养中生长特性	具接触抑制性	无接触抑制性
在培养中细胞世代数	± 50	无限
电镜下细胞表面结构	有嵴、皱褶和细胞泡,仅特定部位可见微绒毛	表面全部覆盖微绒毛
有丝分裂	两极	异常形态
能有丝分裂更新的上皮	仅基底层	不一定是基底层
细胞周期	16~22 小时	正常或更长

在细胞学涂片上,根据癌细胞的大小、形态、黏附性、细胞核和细胞质等特征能识别癌细胞的起源和类型。

1. 细胞大小 癌细胞与相同起源的正常细胞大小不同。癌细胞大小变化多超出生理性范围(图 8-13),体积大者超过多核巨细胞,小者极小。在一个癌细胞群体中,大小不一很常见。在空气干燥固定涂片中,癌细胞大小不一更明显。但是,在缺乏细胞核异常的情况下,不能仅凭细胞大小就诊断为癌。

2. 细胞形态 恶性细胞形态异常不常见,特别是进展期肿瘤,多数与正常细胞形态类似。有时,恶性细胞形态呈各种畸形怪状。但是,良性肿瘤也可见畸形细胞,特别是增生的结缔组织或上皮组织。在诊断前,必须考虑细胞核特征。

3. 细胞黏附性 黏附性差是癌细胞主要形态学特征之一。在细针吸取细胞学涂片上,癌细胞多单个散在或疏松聚集(图 8-14),而良性肿瘤细胞多紧密排列,呈有序的聚集,且细

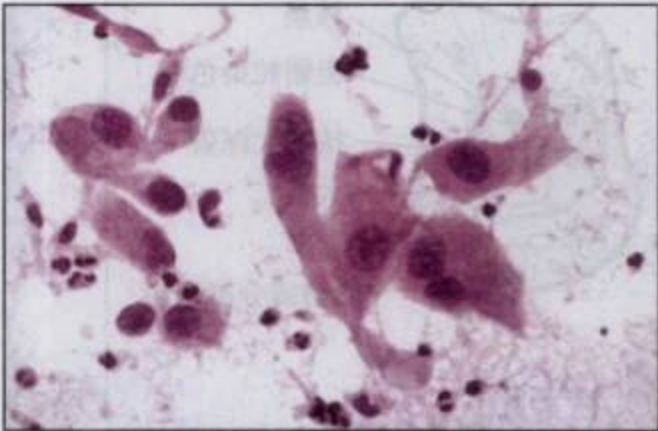


图 8-13 癌细胞大小不一
(大细胞肺腺癌,细针吸取涂片)

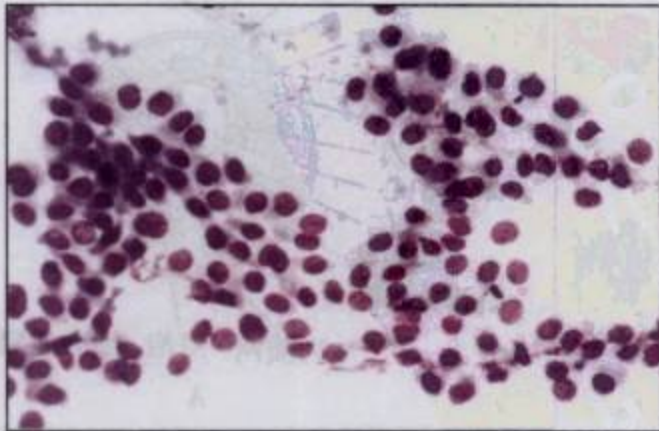


图 8-14 癌细胞排列疏松
(疏松聚集的肺腺癌细胞)

胞边界清晰。分化差的恶性细胞比分化好的恶性细胞的黏附性差。故恶性淋巴瘤和肉瘤细胞倾向于单个散在, 罕见成堆。

4. 细胞核 核异常是癌细胞主要形态学特征之一。主要变化有: ①细胞核增大, 特别是核质比增大。②细胞核的形态和轮廓不规则。③染色过深、染色质呈粗颗粒状。④女性出现异常的性染色质小体。⑤核膜异常。⑥核仁异常。⑦有丝分裂异常。⑧其他变化。

(1) 大小: 与已知大小的细胞进行比较, 如红细胞(约 $7\mu\text{m}$) 或良性细胞核等。在细胞学涂片上, 细胞多平铺在载玻片表面, 故细胞核大小以核直径代表。正常细胞核大小随细胞周期变化, S 期、G₂ 期细胞(占 1%~2%)的核体积大。大多数恶性细胞有细胞核增大的特点, 但细胞质的量多正常, 导致核质比增大。同一类型癌细胞有细胞核大小不一的现象, 称为核大小不一(anisonucleosis), 与染色体数量或肿瘤干细胞有关。

(2) 形态和轮廓: 细胞核形态常与细胞质密切相关。圆形或多角形癌细胞的核呈圆形、卵圆形。梭形癌细胞的核呈长形或梭形。通常细胞核轮廓异常, 有小的突起或切迹, 有时呈指状突起, 但较难识别。在细胞学涂片上, 细胞核形态和轮廓异常, 伴有细胞核和核质比增大, 应高度怀疑为癌细胞。

(3) 核染色: 采用恰当的染料(如苏木素)染色时, 在有丝分裂间期癌细胞的核多染色过深, 核染色质呈粗颗粒状和核膜增厚。但是, 正常器官也可见核增大和染色过深, 如胚胎性肾上腺皮质和内分泌器官(甲状腺腺泡)。

(4) 女性性染色质小体: 女性性染色质小体(Barr 小体)呈致密的半圆形结构, 靠近核膜。Barr 小体实质是失活的女性 X 染色体, 出现 2 个或 2 个以上 Barr 小体称为 X 染色体异常(图 8-15), 多见于癌细胞, 特别是乳腺癌、宫颈癌细胞。

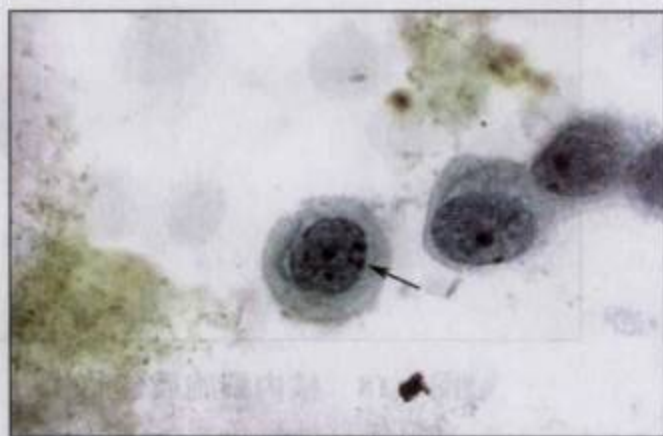


图 8-15 有 2 个性染色体的乳腺癌细胞

(5) 核膜: 多数癌细胞的核膜增厚且不规则。有时出现核孔增厚。核孔厚度与 DNA 有关, DNA 含量增加使核孔增厚, 而且核孔厚度与核体积一致。

(6) 核仁异常: 核仁常呈嗜酸性、居中, 伴体积和数量增加, 若见到巨大核仁(直径 $5\sim 7\mu\text{m}$)就可诊断为恶性(图 8-16)。核仁形态常异常, 呈逗点形或“切饼干刀样”。有时, 可见多个核仁(超过 5 个), 特别是分化差的肿瘤, 如卵巢癌和子宫内膜癌。

(7) 有丝分裂异常: 在细胞学涂片上, 有丝分裂异常是癌细胞的重要特征之一。其原因是癌细胞常出现染色体移动缺陷、不分离、染色体延滞、有丝分裂纺锤体异常、染色体数量异常和有丝分裂异常定位等(图 8-17)。与癌细胞的无限增殖性有关。

(8) 其他变化: 癌细胞常见 2 个或多个核。但是, 多核是一种常见现象, 也可见于良性细胞, 无诊断价值。部分恶性肿瘤可出现特殊的核异常, 如甲状腺肿瘤、恶性黑色素瘤细胞可出现细胞质或核内包涵体(图 8-18), 核周出现透明区。在细针吸取细胞学涂片上, 甲状腺癌细胞可出现细胞核皱褶、沟或折叠, 使细胞核呈“毛虫样”外观。但是, 某些正常和良性病变细胞, 如肝细胞、支气管纤毛细胞、口腔、角膜或子宫颈鳞状上皮细胞、间皮细胞、卵巢颗粒细胞瘤细胞、室管膜细胞瘤细胞等也可出现类似变化。

5. 癌细胞起源和类型的识别 根据癌细胞的细胞核和细胞质特征, 常能判断其起源和

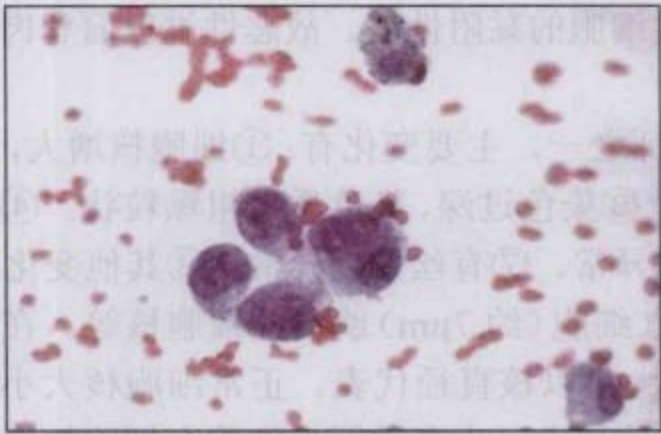


图 8-16 癌细胞的核仁
(大细胞肺癌多个大核仁)

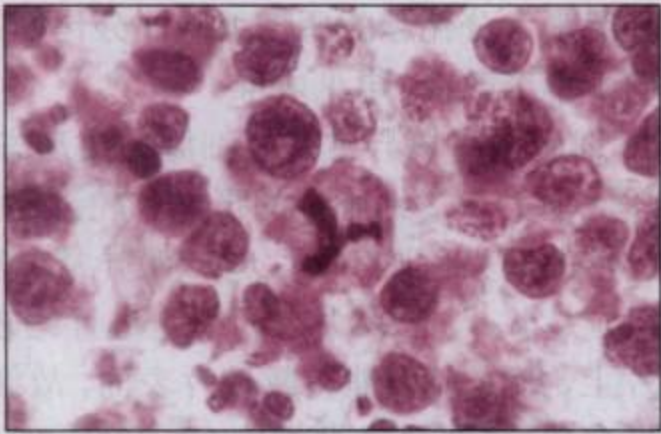


图 8-17 异常有丝分裂
(睾丸胚胎癌的三极有丝分裂)

分化程度。①癌细胞起源多表达于细胞质,如支气管源性癌细胞与支气管细胞类似。②鳞癌细胞常含有大量的角蛋白丝,细胞呈多角形,细胞质呈强嗜酸性。③鳞状上皮珠(又称癌珠)形成,由鳞状上皮细胞组成的圆形结构,中央包裹角蛋白,常发生于鳞癌细胞。④源于腺上皮的癌细胞常显示产生和分泌黏液的证据。⑤源自横纹肌的恶性细胞,其细胞质多呈条纹状。⑥源自产色素的恶性肿瘤,如黑色素瘤,其细胞质多有黑色素沉淀(图 8-19)。

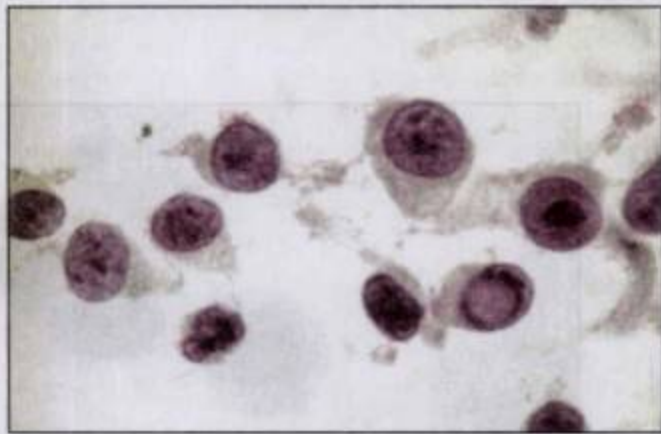


图 8-18 核内细胞质包涵体
(肝转移性黑色素瘤细胞)

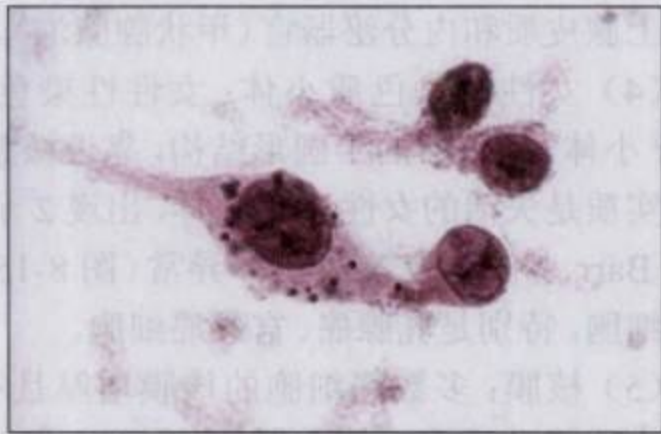


图 8-19 癌细胞起源的识别
(肝转移性黑色素瘤细胞)

三维结构在分化好的癌细胞中不常见。腺样或管状结构在腺癌很常见,并与组织学结构类似。大多数分化差的癌细胞很难鉴别,需要借助电镜或免疫细胞化学染色才能显示其复杂的分化特征,如神经母细胞瘤在电镜下才能显示特殊的细胞连接和神经微纤维,内分泌肿瘤行免疫细胞化学染色,才能证明内分泌颗粒的种类。

第五节 女性生殖道细胞病理学检查

一、正常生殖道上皮细胞形态学

女性生殖道细胞病理学检查主要是对子宫和阴道 3 种上皮细胞的检查,包括外阴、阴道和子宫颈阴道口的非角化鳞状上皮细胞(nonkeratinizing squamous epithelium)、子宫颈管上皮细胞和子宫内膜上皮细胞。鳞状上皮细胞和子宫内膜上皮细胞受激素影响较大。生育年龄的上皮细胞形态变化最有价值。

(一) 鳞状上皮细胞

1. 表层鳞状上皮细胞 表层鳞状上皮细胞为大的扁平多角形细胞,有时较小。有的细胞质内含深褐色小颗粒,常位于核周,偶见大的、圆形的、淡褐色包涵体,称为大圆点细胞(polka-dot cell)(图 8-20)。

2. 中层鳞状上皮细胞 与表层细胞大小类似或更小。有的中层细胞呈船形,说明糖原沉积在细胞质,Papanicolaou 染色呈黄色,细胞核被挤至细胞边缘,常见于妊娠和绝经早期(图 8-21)。

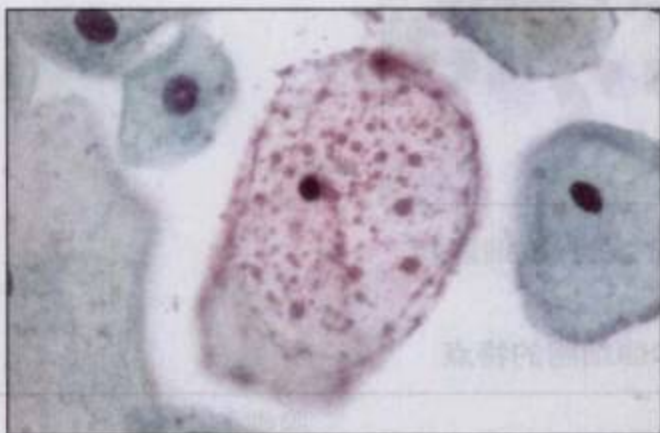


图 8-20 大圆点表层鳞状上皮细胞

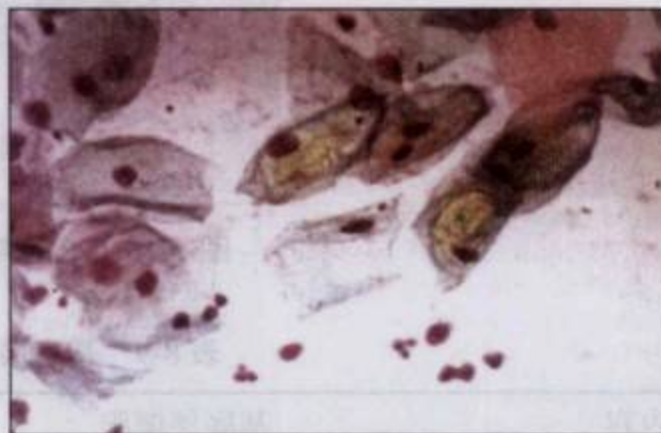


图 8-21 中层鳞状上皮细胞(船形细胞)

3. 副基底层细胞 与中层细胞形态类似,体积较小,常见于绝经后妇女和子宫颈阴道炎症患者。在刮擦法涂片上,细胞常成堆,大小各异,呈镶嵌样(mosaic-like)结构(图 8-22)。

4. 基底层细胞 涂片上很罕见,形态类似副基底层细胞,体积更小(图 8-23)。需要与小型癌细胞鉴别。

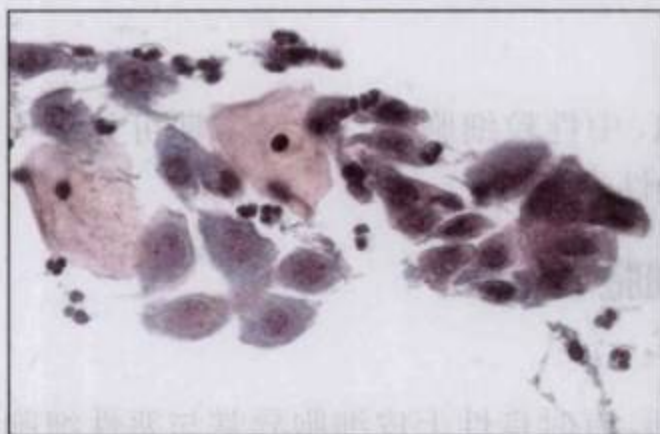


图 8-22 副基底层细胞



图 8-23 基底层细胞

(二) 子宫颈管上皮细胞

在吸取法涂片上,保存良好的子宫颈管上皮细胞少见。在刮擦法涂片上,可见大量保存良好的子宫颈黏液柱状上皮细胞,常单个或成片排列成栅栏样或蜂窝状(图 8-24)。子宫颈纤毛细胞可见纤毛和终板,出现纤毛细胞表明有管状化生,有时可见退变纤毛细胞丛,类似于纤毛细胞衰变。

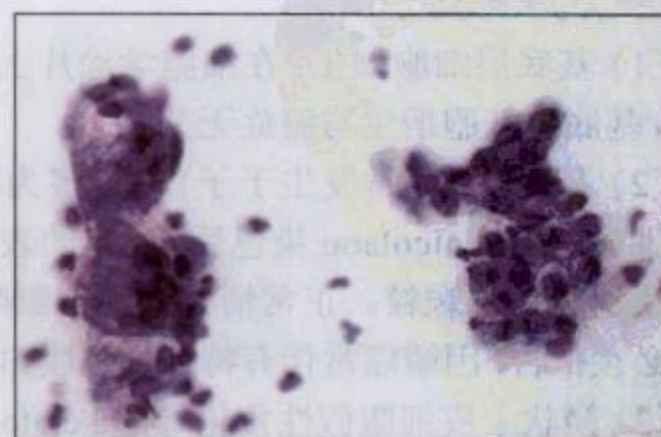


图 8-24 子宫颈黏液柱状上皮细胞

（三）子宫内膜上皮细胞

在月经出血期，可见成片子宫内膜细胞，周围是血液和细胞碎片。子宫内膜上皮细胞包括基底层细胞和腺细胞（图 8-25）。基底层细胞和腺细胞的特点见表 8-9。

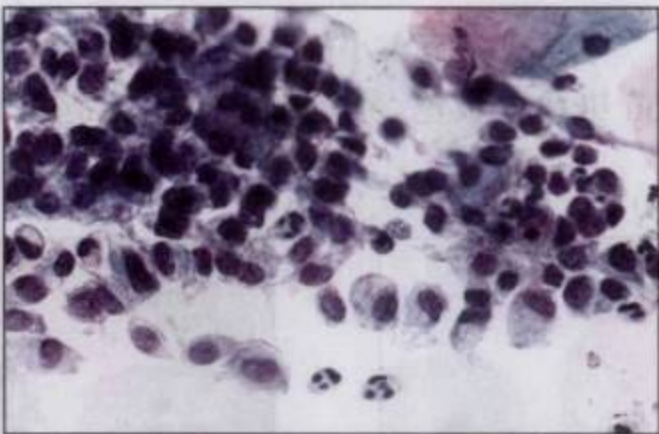


图 8-25 子宫内膜上皮细胞（腺细胞）

表 8-9 基底层细胞和腺细胞的特点

内容	基底层细胞	腺细胞
大小	较小，常单个或成片，直径约 10~12μm	较大，常成堆，直径约 10~20μm
形状	呈圆形或卵圆形，形态不规则	呈圆形或长形
细胞质	嗜碱性或嗜酸性，含吞噬颗粒，类似小巨噬细胞	嗜碱性，含 1 个或多个空泡，大小不一，可将核挤至一边
细胞核	核小，呈圆形或肾形	呈圆形，直径约 8μm，染色质呈细颗粒状，有时可见小核仁

（四）其他细胞

在细胞学涂片上，慢性炎症者可见淋巴细胞、中性粒细胞等。月经末期可见小单个核巨噬细胞。大单个核巨噬细胞多见于月经期和慢性炎症。

二、良性病变细胞形态学

（一）非炎症和反应性病变

识别良性上皮细胞异常是细胞学检查的基础，有时良性上皮细胞异常与恶性细胞很难区分。虽然可按照上皮来源进行分类，但同一涂片上可出现各种良性上皮细胞异常。

1. 鳞状上皮细胞

（1）基底层细胞增生：在细胞学涂片上，无法判断基底层细胞增生，成熟上皮细胞形态正常，基底层细胞增生与癌症无关。

（2）黏膜白斑：常发生于子宫颈，多为黏膜表层异常角化，为癌前病变，偶见于角化型浸润性癌。Papanicolaou 染色后，脱落的表层角化鳞状上皮细胞呈淡黄色、无核（图 8-26），细胞质偶见棕色颗粒。正常情况下，无核鳞状上皮细胞的比例 <0.5%。出现无核鳞状上皮细胞必须报告，因鳞癌常伴有特征性黏膜白斑和异常深染核。

（3）鳞状上皮细胞假性角化（parakeratosis of squamous epithelium）：在细胞学涂片上，出现大片形态不规则的小鳞状上皮细胞，直径约 10μm。细胞质呈嗜碱性或嗜酸性。细胞核呈

圆形,大小一致、常偏位、固缩(图 8-27)。见于子宫颈低度或高度鳞状上皮内病变。与人乳头状瘤病毒(HPV)感染所致的异常角化(dyskeratocytes)不同,假性角化细胞无 HPV 感染后的细胞学变化特点。



图 8-26 无核鳞状上皮细胞(子宫颈黏膜白斑标本)

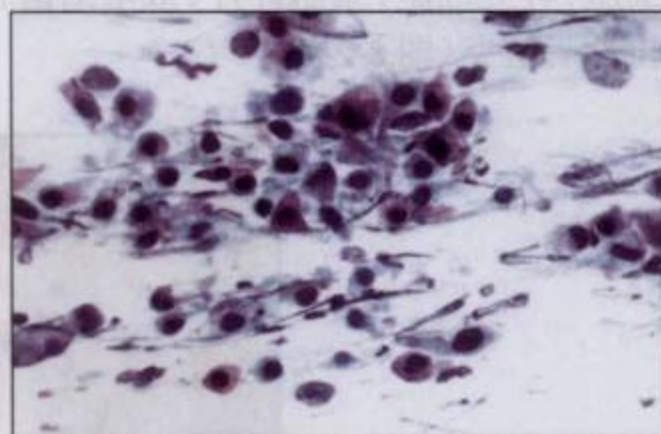


图 8-27 鳞状上皮细胞假性角化

2. 子宫内膜细胞

(1) 基底层细胞增生: 罕见,在保存良好的标本中,增生的基底层细胞需要与小型癌细胞鉴别。

(2) 鳞化(squamous metaplasia): 在细胞学涂片上,仅能识别未成熟鳞化细胞。成熟鳞化细胞和正常鳞状上皮细胞形态相同。成片的多角形副基底层鳞化细胞的细胞质呈嗜碱性或嗜酸性,可见细小空泡,偶见大空泡,特殊染色证明为黏液,细胞核呈圆形,直径约 $8\mu\text{m}$ 或更大,偶见小核仁,罕见核固缩。

在 LBC 涂片上,鳞化细胞典型的片状结构消失,常见单个散在的副基底层鳞化细胞,细胞不规则,呈多角形。与来自子宫颈、阴道的基底层细胞形态类似,很难判断。

(3) 不典型鳞化(atypical squamous metaplasia): 偶见。轻度异常时,成堆细胞中有少数细胞和细胞核增大或双核。重度异常时,细胞和细胞核明显增大,且大小不一,染色质呈粗颗粒状,核仁明显。

3. 修复细胞 在细胞学涂片上,可见成片紧密聚集的细胞,类似鳞化细胞。细胞大小不一,偶见畸形。细胞质内有空泡。细胞核大小不一、深染,含有 1 个或多个大小不一的核仁,可见有丝分裂(图 8-28)。背景有大量新鲜血液和炎症细胞。与高度鳞状上皮内病变和子宫颈腺癌细胞形态类似,是造成细胞学假阳性和假阴性的最常见原因。

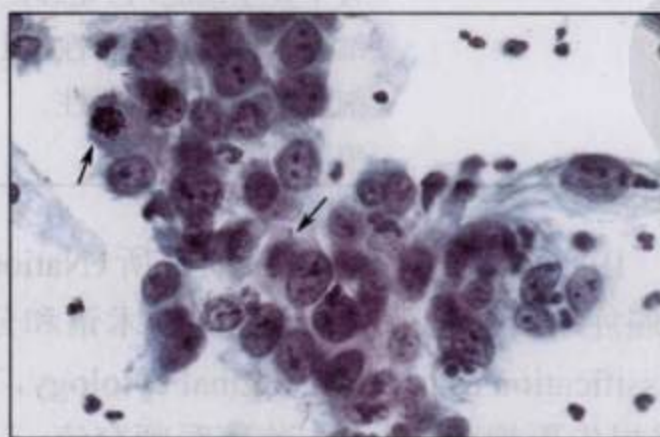


图 8-28 修复细胞

(二) 女性生殖道炎症

1. 子宫颈和阴道的急性炎症

(1) 急性宫颈炎和阴道炎：涂片外观很“脏”，多因炎症渗出物所致。炎性渗出物由中性粒细胞、坏死细胞、细胞碎片、成堆细菌和新鲜血液组成，鳞状上皮细胞胞质常呈嗜酸性。如滴虫性阴道炎(图 8-29)。

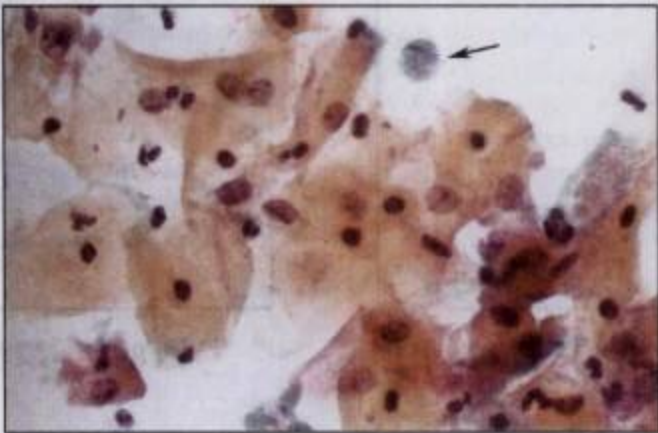


图 8-29 滴虫性阴道炎涂片

(2) 急性炎症伴不典型细胞：急性炎症可引起鳞状上皮表层、中层和副基层细胞坏死，副基层细胞数量增加，子宫内膜细胞出现修复细胞的特点，有时与癌前病变或腺癌细胞很难鉴别。

2. 慢性炎症 慢性炎症较常见，上皮细胞呈特殊的形态学变化，如鳞化和修复。背景常见淋巴细胞，偶见浆细胞、巨噬细胞等。

三、恶性肿瘤细胞病理学

(一) Papanicolaou 分类和 Bethesda 系统分类

1. Papanicolaou 分类 细胞学的分级报告最初由 Papanicolaou 提出，分为 5 级(表 8-10)。该分级方法被全世界接受，但不同国家和实验室对“分级”方法进行了修订。该分类法主要缺陷是Ⅱ级和Ⅲ级难以界定。

表 8-10 Papanicolaou 细胞学分级评价

分级	评价
I 级	无不典型或异常细胞
Ⅱ级	有不典型细胞，但无恶性证据
Ⅲ级	细胞学提示可能恶性，但无恶性证据
Ⅳ级	细胞学强烈提示恶性
V 级	细胞学为恶性

2. Bethesda 系统分类 1988 年，美国国家癌症研究所(National Cancer Institute, NCI)发布了《Bethesda 系统：国家癌症研究所宫颈 / 阴道细胞学术语和分类》(the Bethesda system: the NCI terminology and classification of cervical/vaginal cytology, TBS)，1991 年和 2001 年作了 2 次修订，使细胞学分级报告更规范，便于与临床医师交流，已成为各国逐步推广运用的方法。2007 年又出版了甲状腺细胞病理学 Bethesda 报告系统，说明细胞病理学报告正趋向

标准化。

(1) 标本质量评估：因女性生殖道细胞学检查的主要目的是发现癌症或癌前病变，涂片上细胞数量和组成具有重要意义。因此，在 TBS 中规定必须评估标本质量。

在传统细胞学涂片上，一张满意的涂片细胞评估最小数量，需要 8000~12 000 个保存良好且形态清晰的鳞状上皮细胞；应有足量的子宫颈管 / 移行区成分；需要至少 10 个保存良好的子宫颈管上皮细胞或鳞化细胞，以单个或成团的形式分布。

在 LBC 涂片上，一张满意的涂片细胞评估最小数量，需要 5000 个保存良好且形态清晰的鳞状上皮细胞；应有足量的子宫颈管 / 移行区成分；需要至少 10 个保存良好的子宫颈管上皮细胞或鳞化细胞，以单个或成团的形式分布。

标本质量评估分为阅片满意标本和阅片不满意标本，其评价见表 8-11。

表 8-11 标本质量评估的结果及评价

标本	评价
阅片满意	应说明有无子宫颈管 / 移行区成分，和其他质量评估指标，如部分血性涂片、炎症等
阅片不满意	①标本拒收 / 未进入制片过程 ②标本经制片并进行了阅片，但对判读上皮异常不满意，进一步说明原因

(2) 非肿瘤性病变和恶性肿瘤：非肿瘤性病变和恶性肿瘤按 TBS 分级及评价见表 8-12。

表 8-12 非肿瘤性病变和恶性肿瘤的分级及评价

病变	评价
未见上皮内病变或恶性病变	①病原微生物：滴虫、形态符合白色假丝酵母菌、菌群失调提示细菌性阴道病、形态符合放线菌和形态符合单纯疱疹病毒的细胞学改变 ②其他非肿瘤性病变：如反应性细胞变化（如炎症、放疗、宫内节育器）、子宫切除术后是否有腺细胞和萎缩 ③其他：子宫内膜细胞（见于≥40 岁的妇女）
鳞状上皮细胞异常	①非典型鳞状上皮细胞，包括意义不明的不典型鳞状上皮细胞（ASC-US）和不排除高度鳞状上皮细胞内病变细胞（ASC-H） ②低度鳞状上皮细胞内病变，包括 HPV 感染、轻度不典型增生、子宫颈上皮细胞内肿瘤（CIN1） ③高度鳞状上皮细胞内病变，具有可能浸润的特点，包括原位癌或 CIN2 和 CIN3 ④鳞癌
腺上皮细胞异常	①不典型腺上皮细胞，包括子宫颈管细胞、子宫内膜细胞和腺细胞 ②倾向于肿瘤的不典型腺上皮细胞：包括子宫颈管细胞 ③子宫颈管原位腺癌 ④腺癌，包括子宫颈管型、子宫内膜型、子宫外类型
其他恶性肿瘤	

(二) 鳞癌和癌前病变的形态学

1. 低度鳞状上皮细胞内病变 低度鳞状上皮细胞内病变 (low-grade squamous intraepithelial lesions, LSIL) 多发生于表层细胞，细胞单个或成片排列，细胞大。细胞质多且成熟，边界清楚。细胞核增大，至少比中层细胞大 3 倍，核质比轻度增大，细胞核不同程度深染，染色质

分布均匀,但常呈粗颗粒状,有时呈煤球状或浓缩不透明,核膜轻度不规则,一般无核仁,即使有也不明显,常见双核和多核。核周空晕(是由边界清楚的核周透亮区及浓染的边缘细胞质组成)或细胞质浓稠呈橘黄色是 LSIL 的特征(图 8-30)。

2. 高度鳞状上皮细胞内病变 高度鳞状上皮细胞内病变(high-grade squamous intraepithelial lesions, HSIL)多发生于中、底层细胞,细胞单个或成片排列,细胞大小不一,可与 LSIL 相似,也可为小型基底层细胞。细胞质形态多样,可表现为不成熟淡染或化生性浓染,偶见成熟并浓染角化。细胞核增大、深染,因细胞质减少,故核质比明显增大(图 8-31)。染色质呈颗粒或块状,分布均匀。核膜不规则,常有明显内凹或核沟,一般偶见无核仁。



图 8-30 低度鳞状上皮细胞内病变细胞

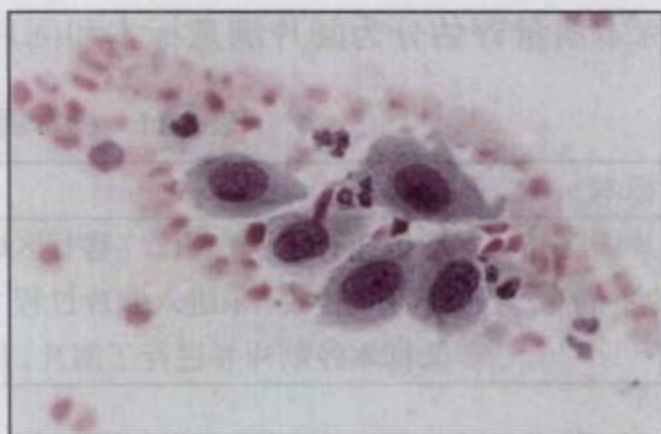


图 8-31 高度鳞状上皮细胞内病变细胞

3. 鳞癌 在女性生殖系统恶性肿瘤中,以宫颈癌最为多见,宫颈癌以鳞癌多见(占 95%),其次为腺癌(约占 5%),未分化癌极少见。在同一张涂片上可见角化型鳞癌和非角化型鳞癌细胞,以非角化型鳞癌细胞多见。

(1) 角化型鳞癌:癌细胞较少,常单个散在,聚集的细胞团较少见,细胞大小和形态各异,可呈梭形、尾形。细胞质多角化性改变。细胞核大小不一,核膜不规则,常有多深染不透明核,染色质呈粗颗粒状,不规则分布,有透亮副染色质,可见大核仁(图 8-32)和癌性背景。

(2) 非角化型鳞癌:癌细胞呈单个或界限不清的合体样排列,细胞一般较 HSIL 小。细胞质呈嗜碱性。细胞核染色质呈粗块状,分布不均匀,核仁大而明显(图 8-33)。常见肿瘤素质(包括坏死性碎屑和陈旧性出血)。还有一种少见变异型的非角化型大细胞型鳞癌,细胞单个或合体样排列,细胞质中等量、呈嗜碱性,核仁明显。

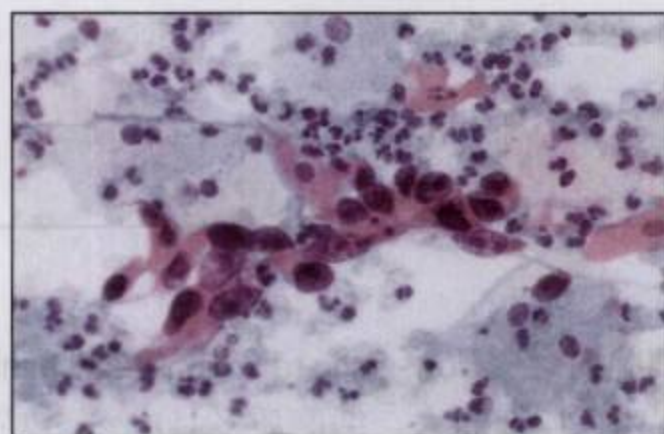


图 8-32 角化型鳞癌细胞

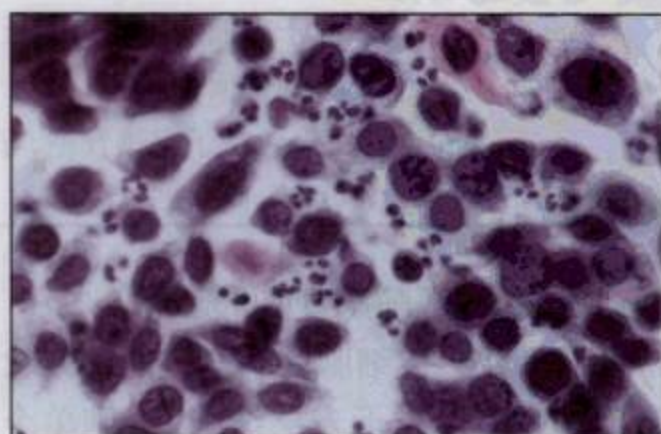


图 8-33 非角化型鳞癌细胞

(三) 腺癌和癌前病变的形态学

1. 子宫颈管原位腺癌 为高度子宫颈管腺上皮细胞内病变。癌细胞排列成片状、簇状、带状或菊花形，失去蜂窝状结构。细胞质少，黏液少。细胞核排列呈栅栏状或羽毛状，细胞核增大，且大小不一，呈卵圆形或伸长形，染色过深，染色质呈粗颗粒状，分布均匀，核仁小或不明显，核质比增大。背景干净(图 8-34)。

2. 子宫颈管腺癌 癌细胞可单个散在、片状或成团，合体排列常见。细胞质常含细小空泡。细胞核增大，形态多样，染色质分布不均匀，染色质旁区空亮，核膜不规则，可见巨大核仁和肿瘤素质(图 8-35)。

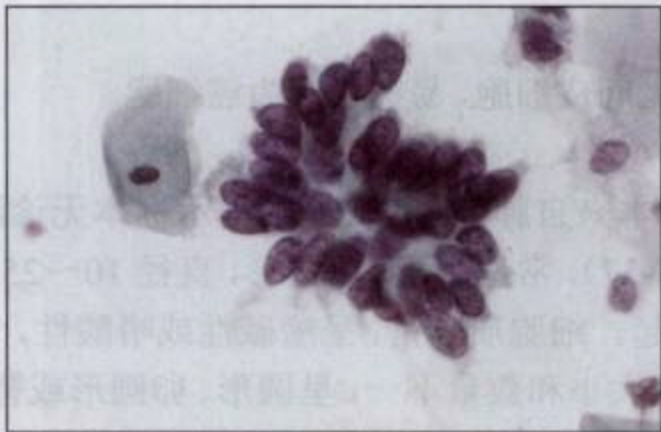


图 8-34 子宫颈管原位腺癌细胞

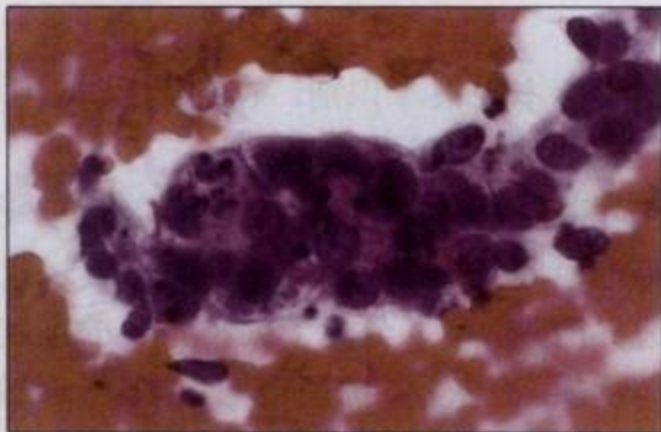


图 8-35 子宫颈管腺癌细胞

3. 子宫内膜腺癌 癌细胞常单个散在或紧密成小簇团。细胞质少，嗜碱性，常有空泡。细胞核轻度增大且大小不一，极性明显消失，中度深染，染色质分布不均伴旁区空亮，核仁小而明显。

第六节 呼吸道细胞病理学检查

一、正常呼吸道细胞形态学

(一) 鳞状上皮细胞

来自于口腔、形态类似于女性生殖道表层和中层鳞状上皮细胞，有时可见梭形鳞状上皮细胞。出现大量无核鳞状上皮细胞代表口腔黏膜白斑。

(二) 呼吸道上皮细胞

正常呼吸道上皮细胞不会自然脱落，痰液标本中少见，而在支气管刷取或穿刺标本中常见。

1. 纤毛细胞 细胞常单个、成团或聚集，有时在储备细胞周围可见羽毛状排列的纤毛细胞。源自大支气管的纤毛柱状上皮细胞具有典型的形态学特征。保存良好的标本，纤毛染成粉红色。有时可见核内细胞质包涵体或核内空泡，后者常见于癌细胞核。

2. 杯状细胞 分泌黏液的杯状细胞较少见。与纤毛细胞大小类似，细胞质丰富，可见嗜碱性小空泡，细胞核偏位，靠近狭窄的细胞末端(图 8-36)。

3. 其他上皮细胞 正常呼吸道上皮还可见基底层细胞、Clara 细胞(位于细支气管和终末细支气管的一种无纤毛的分泌型柱状上皮细胞)、神经内分泌细胞、I 型或 II 型肺泡细胞，



图 8-36 杯状细胞

在细胞学标本中很难识别。在穿刺标本中，还可见间皮细胞，易被误认为癌细胞。

(三) 肺泡巨噬细胞

在呼吸道标本中出现肺泡巨噬细胞，表明标本来自肺部，若缺乏则提示标本无诊断价值。肺泡巨噬细胞又称为尘细胞(dust cell)(图 8-37)，常呈圆形、卵圆形，直径 10~25 μm 。细胞边界清晰，有 1 至多个大小不一的细胞质突起。细胞质丰富，呈嗜碱性或嗜酸性，含大量吞噬物质，有灰色、棕色或黑色颗粒。细胞核的大小和数量不一，呈圆形、卵圆形或肾形，直径 5~10 μm ，染色质呈细颗粒状，核仁小，常见双核。多核巨细胞的核数量可达 3~10 个。

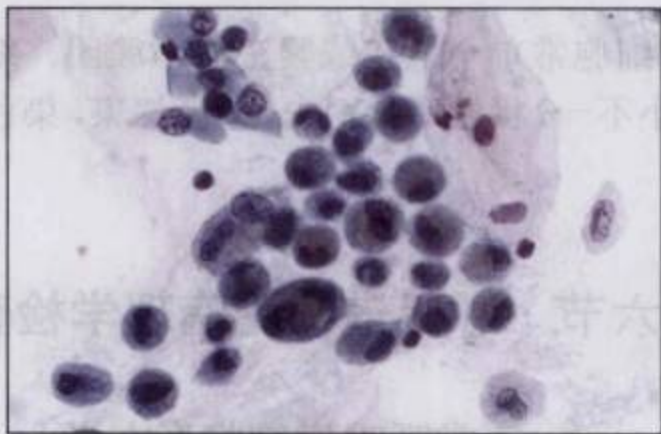


图 8-37 肺泡巨噬细胞

(四) 白细胞

中性粒细胞常见于吸烟者、肺炎或肺脓肿。嗜酸性粒细胞和 Charcot-Leyden 结晶，见于支气管哮喘。淋巴细胞见于滤泡性支气管炎、淋巴瘤。

(五) 非细胞成分

1. Curschmann 螺旋体 Curschmann 螺旋体是浓缩的黏液管型，源自小支气管，外观呈螺旋状，有一个较深的中轴，周边透明，常见于慢性支气管炎、支气管哮喘和吸烟者(图 8-38)。
2. 石棉小体 在异常支气管肺泡灌洗液(BALF)和痰液中常出现石棉小体(asbestos body)或铁锈色小体(ferruginous body)，宽约 1 μm ，长约 50 μm ，透明状，包被蛋白质和铁后呈黄褐色，分叶状或竹节状，末端突起(图 8-39)。有时可被巨噬细胞吞噬。多见于建筑人员、装卸人员、吸烟者和肺纤维化者。
3. 其他 痰液标本中，还可见浓缩黏液、淀粉样体、钙结石、未消化的食物颗粒、植物细胞、肉类纤维和花粉颗粒等。



图 8-38 Curschmann 螺旋体



图 8-39 石棉小体

二、良性病变细胞形态学

(一) 良性支气管上皮细胞异常

各种损伤均可使支气管上皮细胞出现异常,包括细胞增大、细胞核增大、多核、核仁增大、纤毛细胞衰变(ciliocytophthoria, CCP)和杯状细胞异常。

1. 细胞增大 单个纤毛细胞体积增大,有时达到2倍以上。
2. 细胞核增大、多核 细胞核增大,含1个大核仁或多个小核仁,可见纤毛或终板。分化良好的单个纤毛细胞发生核复制或分裂,形成合胞体细胞,细胞核2~20个,甚至上百个,核小、规则、大小一致(图8-40)。
3. 核仁增大 纤毛细胞体积轻度增大,出现单个或多个明显核仁,易被误认为腺癌细胞,但可见纤毛或终板。
4. 纤毛细胞衰变 纤毛细胞远端的纤毛脱落,形成无核的纤毛小体和有核的细胞质残留物,细胞核退变,类似凋亡,有时细胞质内出现各种大小的嗜酸性包涵体(图8-41)。

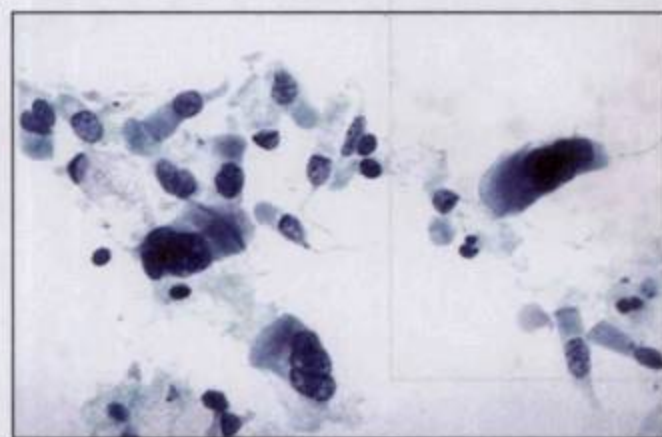


图 8-40 非特异性支气管细胞异常(多核)

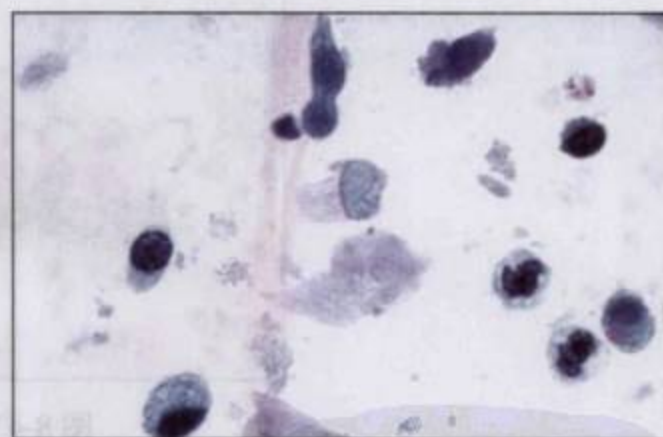


图 8-41 纤毛细胞衰变

5. 杯状细胞异常 慢性炎症性疾病,如慢性支气管炎、支气管扩张、哮喘的痰液,支气管穿刺和刷取标本中,可见杯状细胞数量增加,部分细胞体积增大。

(二) 良性呼吸道上皮细胞增生

良性增生是对损伤的反应,通常为乳头状增生、基底层细胞增生和支气管黏膜鳞化。

1. 乳头状增生 增生的支气管黏膜脱落形成圆形、卵圆形乳头状聚集(图8-42)。保存良好的细胞具有纤毛或终板。增生黏膜富含杯状细胞,细胞核大小和形态正常,部分有单个小核仁。常见于成人急性病毒性疾病、婴儿病毒性肺炎或急性呼吸窘迫综合征。易与支

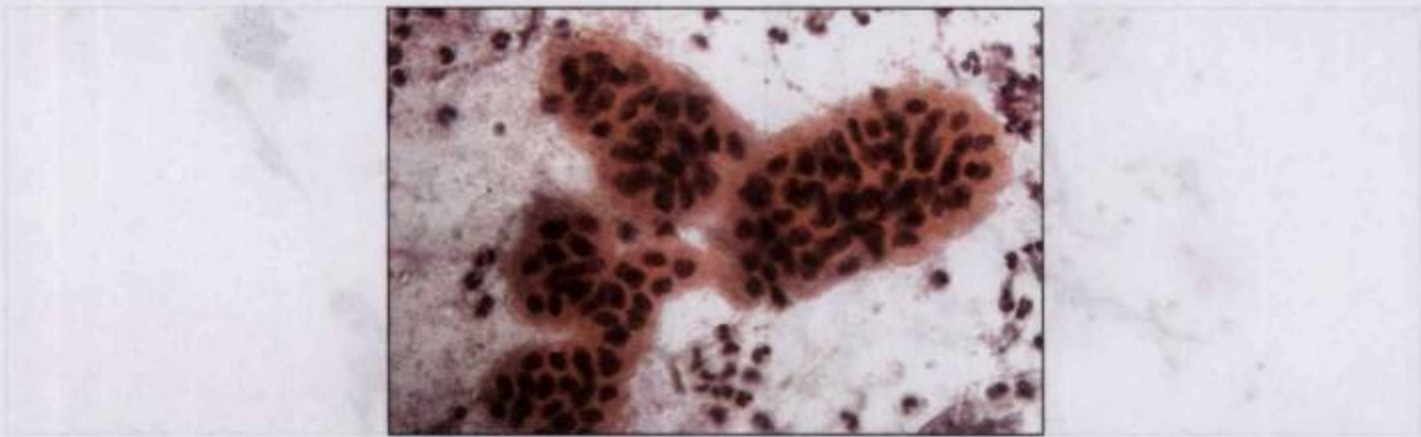


图 8-42 乳头状增生细胞

气管肺泡腺癌细胞相混淆。

2. 基底层细胞增生 正常情况下,痰液标本中无基底层细胞,其他采集法可见呈疏松黏附的基底层细胞团,易被误认为小型癌细胞。

3. 鳞化 痰液标本中鳞化细胞很难与来自口腔、咽喉部的正常鳞状上皮细胞区分,而支气管灌洗、穿刺和刷取标本中出现的鳞状上皮细胞就是鳞化细胞。典型的小型鳞化细胞,常成堆或成片,互相黏附,细胞质呈嗜酸性,细胞核结构疏松、深染,类似副基底层细胞,部分细胞还保留呼吸道上皮的特性(如纤毛)。

(三) 鳞状上皮的良性病变

1. 炎症性变化 口腔、口咽部急性炎症可出现鳞状上皮细胞坏死、核固缩和凋亡、染色质粗颗粒状、核膜增厚等现象,易与鳞癌混淆。

2. Pap 细胞 由 Papanicolaou 发现而命名。上呼吸道感染和咽喉炎时,可见小型鳞状上皮细胞,细胞核深染、呈圆形或卵圆形的单个细胞(图 8-43)。

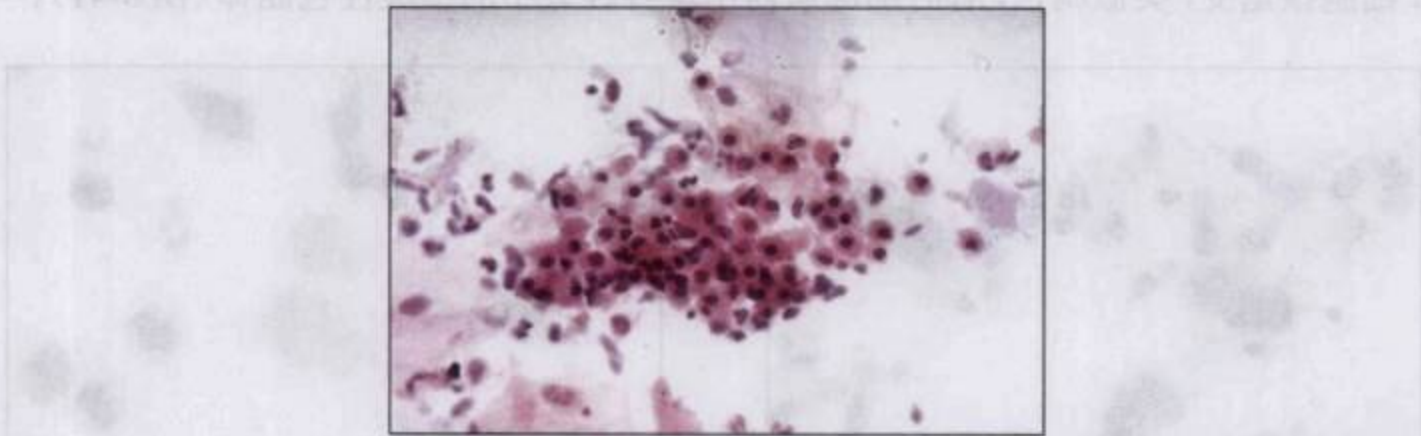


图 8-43 Pap 细胞

(四) 肺泡上皮细胞异常

1. 肺泡上皮细胞支气管化生 在 BALF 涂片中,单个细胞呈立方形或柱状,伴有肺泡巨噬细胞,支气管上皮细胞罕见,常提示肺泡支气管化生。

2. II 型肺泡细胞异常 反应性增生的肺泡细胞是不典型的 II 型肺泡细胞,易被误诊为支气管腺癌。在痰液、支气管穿刺、肺泡灌洗标本中,细胞常单个、成片或呈玫瑰花样排列,体积类似副基底层细胞。细胞质呈嗜碱性,有时可见大空泡。细胞核大,核膜光滑,染色质呈细或中粗颗粒状,分布不规则,有 1 或多个核仁。很难与不典型增生的支气管肺泡细胞相区别。

(五) 肺泡巨噬细胞异常

1. 细胞核异常 肺泡巨噬细胞可出现多核, 常为 2~3 个或多个。偶见明显的核仁, 但细胞质内有灰色吞噬颗粒。罕见退化性核异常, 其细胞巨大, 细胞核大、深染、均质化, 有时多个且不规则, 易与癌细胞混淆。

2. 吞噬脂质和含铁血黄素 在脂质性肺炎, 可见大巨噬细胞内含有大的细胞质空泡或大量脂质小空泡, 单个或多个细胞核, 小且不明显。慢性心功能不全患者的痰液或支气管灌洗液标本中, 可见大量吞噬含铁血黄素的细胞, 称为心衰细胞(heart failure cell), 呈黄褐色, 有时颗粒覆盖在核上(图 8-44)。

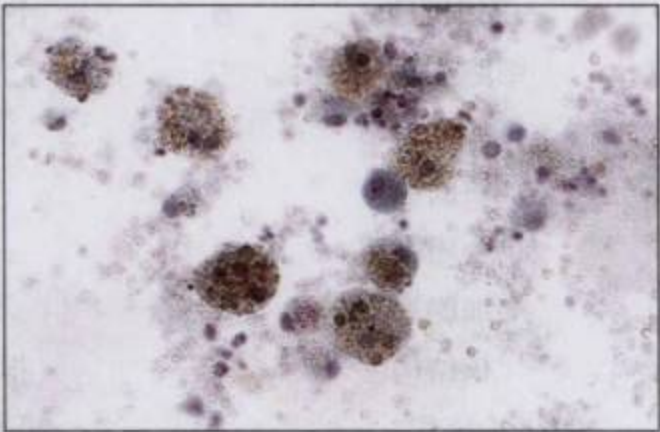


图 8-44 巨噬细胞(心衰细胞)

三、肺癌细胞病理学

(一) 支气管癌

1. 鳞癌 痰液和支气管分泌物能快速准确的诊断肺鳞癌。鳞癌细胞(图 8-45)的共同特点见表 8-13。痰液和支气管刷取、穿刺标本鳞癌细胞的形态学差异见表 8-14。

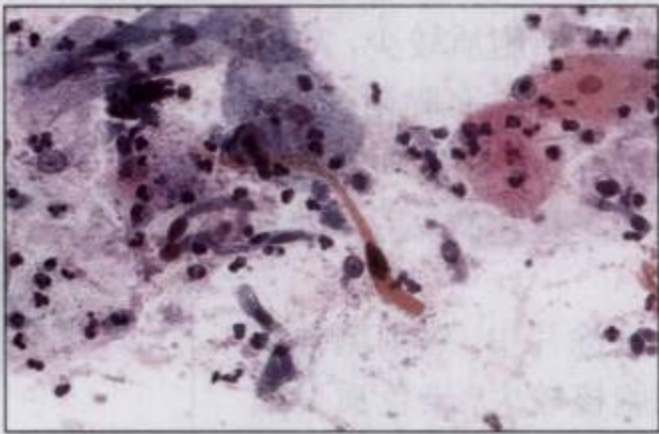


图 8-45 肺鳞癌细胞

表 8-13 鳞癌细胞的共同特点

项目	特点
形态和大小异常	癌细胞大多数畸形, 常见梭形和蝌蚪形, 并可见极大和极小鳞癌细胞。背景有炎性细胞和坏死物质
细胞质异常	癌细胞能产生角蛋白, Papanicolaou 染色呈亮橘黄色或黄色, 细胞质较厚且有折光性。角化细胞的边界清晰。在痰液或支气管灌洗液中有无核黄色或橘黄色癌细胞, 强烈提示鳞癌。非角化型鳞癌的细胞质呈嗜碱性或嗜双色性, 较透明, 量较少
细胞核异常	部分癌细胞核淡染、溶解, 特别是角化型或坏死型癌细胞。部分癌细胞核深染, 类似印度墨汁, 称为核固缩。细胞核畸形, 呈多角形或不规则畸形, 小型癌细胞 N/C 增大, 大型癌细胞 N/C 减小。可见异常核仁, 是分化差肿瘤的诊断标准之一
癌细胞吞噬现象	可见大型癌细胞的细胞质内有小型癌细胞。有时癌细胞能吞噬小型颗粒、灰尘或含铁血黄素颗粒等。鳞癌细胞珠形成是典型特征之一
散在分布	癌细胞有明显单个散在分布的倾向, 是鳞癌诊断依据之一

表 8-14 痰液和支气管刷取、穿刺标本癌细胞形态差异

细胞学特征	痰液	支气管刷取和穿刺
癌细胞量	不定, 较少	常很多
细胞质角化	明显	少数有, 常缺乏
核质比异常	不定	多增加
核固缩	明显	不明显, 常缺乏
单个癌细胞	常见	不常见
癌细胞聚集	不常见	为主
核结构	很难识别	易识别
核仁	可疑或缺乏	常可见, 明显

2. 大细胞未分化癌 癌细胞常单个散在, 大小较一致, 倾向于成堆, 呈疏松结构。细胞质丰富, 常淡染, 呈嗜酸性或嗜碱性, 偶见小的、红色的细胞质包涵体。细胞核大, 有时核膜不规则, 边界清晰, 染色质呈粗颗粒状或细颗粒状、深染, 有 1 或多个核仁。偶见乳头状结构和细胞质空泡。

3. 小细胞癌 小细胞癌 (small cell carcinoma, SCC) 包括燕麦细胞癌 (oat cell carcinoma) 和中型细胞癌两类。燕麦细胞癌很难诊断, 因为小型癌细胞易被误认为淋巴细胞。

(1) 燕麦细胞癌: 在痰液涂片中, 癌细胞小, 常呈疏松片状, 大小不一, 有时较淋巴细胞大, 邻近细胞间有铸模现象, 细胞质较少, 常呈嗜碱性; 细胞核相对较大, 常见裸核。在刷取涂片中, 癌细胞倾向于聚集, 具有黏附性, 细胞核互相重叠, 常见铸模现象 (图 8-46), 细胞核深染、固缩或疏松结构, 染色质呈粗颗粒状, 有时有小核仁, 可见核碎片。

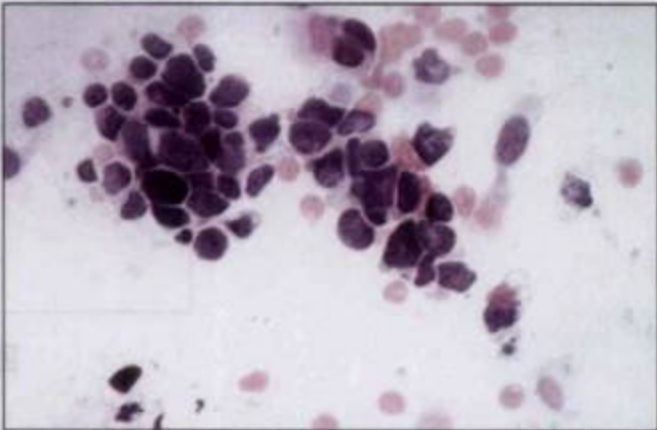


图 8-46 肺燕麦细胞癌

(2) 中型细胞癌: 在痰液涂片中, 癌细胞体积相对较大, 细胞质较多, 细胞核较大, 染色质呈细颗粒状, 可相互黏附成片。在刷取和穿刺涂片中, 细胞群体单一, 呈圆形、卵圆形或长形, 细胞核疏松或深染, 染色质呈粗颗粒状, 有时有小核仁, 大小不一, 核膜不规则。

4. 腺癌 癌细胞大, 呈圆形或多角形, 偶见柱状, 常成堆或散在。成堆细胞具有三维乳头状或圆形结构, 保存良好时细胞质丰富, 常见细小空泡, 染色较淡, 常呈嗜碱性。若含有大黏液空泡时可将细胞核挤到一边, 形成单个空泡状癌细胞, 易被误认为巨噬细胞。细胞核较大, 常见多核, 染色质呈细颗粒状, 常轻度深染, 核膜清晰, 罕见核固缩, 有 1 或多个明显的核仁。原发性腺癌与大细胞分化差腺癌很难鉴别, 出现乳头状结构或柱状癌细胞可诊断为腺癌。

(二) 肺转移性癌

肺部转移性肿瘤很常见, 在确立原发性肺癌诊断前, 必须考虑: 有无肿瘤病史、是否转移、是否是良性病变等。在肺部肿瘤中, 转移性肿瘤约占 50%, 在痰液涂片检查中, 最常见的转移性肿瘤是食管癌, 其次是结肠癌、乳腺癌、淋巴瘤、白血病、前列腺癌、胃癌和恶性黑

色素瘤等。在细针吸取细胞学涂片中,最常见的转移性肿瘤是乳腺癌,其次是结肠癌、肾癌、膀胱癌和恶性黑色素瘤等。

第七节 浆膜腔积液细胞病理学检查

一、良性积液细胞形态学

(一) 间皮细胞

1. 穿刺和刷取标本 间皮细胞呈成片多角形,直径约 $20\mu\text{m}$,相互之间有透明区域,细胞表面充满微绒毛,边界清晰。细胞质呈嗜碱性或嗜酸性。细胞核呈圆形或卵圆形,常居中,染色质呈细颗粒状;核仁明显(1~2个),居中,偶见核皱褶。

2. 积液 脱落的间皮细胞在液体中漂浮,可单个、双个或成堆存在,细胞大小和形态不一。单个间皮细胞常呈圆形或卵圆形,直径约 $15\sim 20\mu\text{m}$,细胞边界清晰。细胞质呈嗜碱性或轻度嗜酸性,可见核周透明、致密带和细胞间透明带,尤其在空气干燥固定涂片上更明显。细胞核相对较大,占细胞直径的一半,常居中,核膜明显,染色质呈明显网状,偶见1~2个小核仁(图8-47)。

3. 成堆间皮细胞 游离的间皮细胞可形成各种形态和大小的聚集,如呈玫瑰花样、乳头状等,单层细胞团的边界常光滑,胞体、细胞核的大小和形态容易识别,而多层圆形细胞团与恶性间皮瘤细胞很难鉴别,常见于慢性积液。

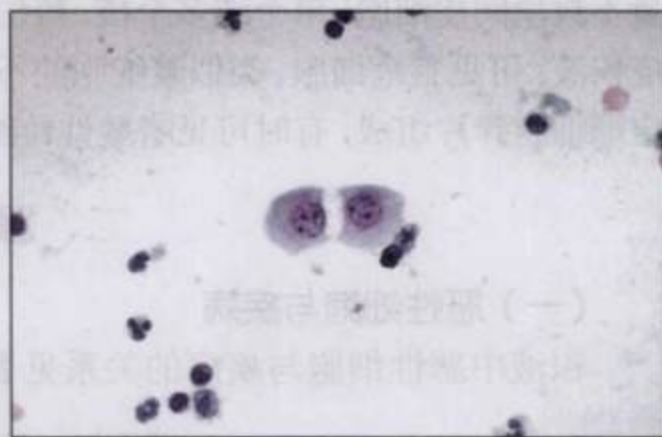


图8-47 间皮细胞(积液标本)

(二) 巨噬细胞

所有积液中都可出现巨噬细胞,最高达85%,且女性比男性高,与癌症无关。巨噬细胞易被误认为间皮细胞,特别是具有大空泡的细胞,大部分应为巨噬细胞。巨噬细胞形态类似间皮细胞,直径约 $15\sim 20\mu\text{m}$,常单个散在或疏松成团,无透明带现象,细胞质呈泡沫状,含少量空泡或吞噬颗粒,有时含有大的透明空泡,细胞边界模糊。细胞核常为1~2个,多偏位,呈肾形,较间皮细胞核染色更深,深染,染色质呈细颗粒状,有时可见小核仁(图8-48)。

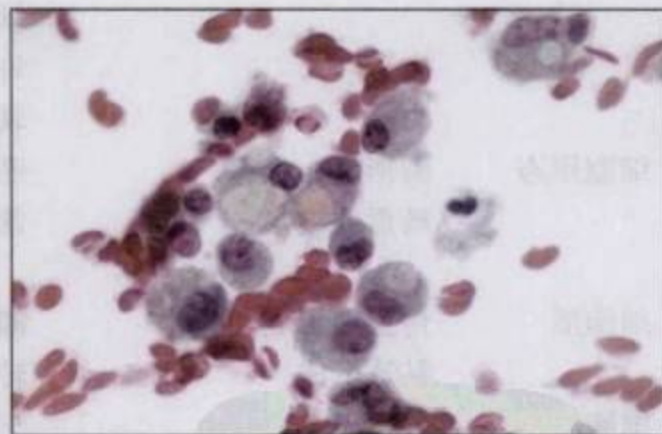


图8-48 各种巨噬细胞(单个核巨噬细胞)

(三) 血细胞

1. 红细胞 完整的红细胞多因创伤所致。血性积液的背景有纤维蛋白。肾透析、EBV感染的患者可见巨噬细胞吞噬和消化自身红细胞的现象,称为红细胞吞噬作用。

2. 白细胞 慢性积液以淋巴细胞为主,如果淋巴细胞数量很多,而无其他白细胞时,应怀疑结核、慢性淋巴细胞白血病、恶性淋巴瘤等。出现中性粒细胞提示炎症,多继发于感染、癌症等。嗜酸性粒细胞常见于各种炎症。浆细胞常见于多发性骨髓瘤、Hodgkin淋巴瘤等。

(四) 非恶性疾病伴积液的细胞学

1. 循环系统疾病 低蛋白血症、心力衰竭者积液仅见少量间皮细胞。伴炎症时会出现大量中性粒细胞、成片或成堆巨噬细胞和间皮细胞。肺梗死的积液涂片可见成片或成堆增生的间皮细胞。
2. 感染性疾病 急性炎症积液可见大量中性粒细胞和坏死物质。病毒性肺炎积液可见淋巴细胞和巨噬细胞。
3. 慢性炎症 结核性积液以淋巴细胞为主，伴少数巨噬细胞或间皮细胞时，需要与白血病、恶性淋巴瘤、病毒性肺炎和创伤性乳糜积液相鉴别。以成片或成堆间皮细胞增生为主时，需要与恶性间皮瘤、转移性肿瘤相鉴别。但是，结核病的诊断不能仅仅依赖细胞学表现，出现 Langhans 细胞并非结核的特征性变化。梅毒性积液可见淋巴细胞和巨噬细胞，银染色可见梅毒螺旋体。
4. 其他 ①肝硬化腹水：可见散在间皮细胞或巨噬细胞，伴少量炎症细胞。有时可见间皮细胞增生。②胰腺炎腹水：可见异常间皮细胞，易被误认为恶性细胞。③肾病腹水：可见大量不典型间皮细胞，单个或多个核，核仁增多，不规则，易被误认为恶性细胞。④系统性红斑狼疮积液：可见狼疮细胞、类似浆细胞的不典型大吞噬细胞。⑤类风湿关节炎积液：由粒细胞、无定形细胞碎片组成，有时可见嗜酸性粒细胞、梭形成纤维样细胞(上皮样细胞)和退化白细胞。

二、恶性积液细胞病理学

(一) 恶性细胞与疾病

积液中恶性细胞与疾病的关系见表 8-15。

表 8-15 积液中恶性细胞与疾病的关系

项目	细胞特征	诊断价值	误诊原因
细胞大小	小	燕麦细胞癌、部分乳腺癌、小细胞淋巴瘤、儿童肿瘤	慢性淋巴细胞浸润(如结核)
	中等	许多肿瘤	不典型间皮细胞
	大	软组织肉瘤、部分癌	反应性巨细胞
细胞形态	圆形	癌	—
	畸形或梭形	常为恶性肿瘤	良性成纤维细胞(如类风湿关节炎)
细胞质	角蛋白形成	鳞癌	皮肤鳞状上皮细胞
	黏液形成	转移性肿瘤	—
细胞产物	黑色素	与恶性黑色素瘤有关	含铁血黄素、血红蛋白色素
	沙样小体	卵巢、甲状腺、间皮瘤	钙化异常
细胞表面	长微绒毛	间皮瘤、多种癌	间皮细胞微绒毛短
细胞聚集性	三维结构(细胞块)	恶性间皮瘤、多种癌	间皮细胞聚集，常小而扁平
细胞核	深染，N/C 异常，大核仁	许多恶性肿瘤	罕见间皮细胞的大核仁
	畸形核和大量凋亡	恶性淋巴瘤	—
	核内细胞质包涵体	甲状腺癌、黑色素瘤	—
有丝分裂	正常形态	疑为癌	罕见于正常，间皮细胞和巨噬细胞
	异常形态	癌	—

(二) 原发性肿瘤

1994 年, Battifora 和 McCaughey 将间皮细胞或结缔组织来源的肿瘤进行了新分类, 分为: ①间皮细胞性肿瘤: 良性包括反应性间皮细胞增生、乳头状间皮瘤、多囊性间皮瘤; 恶性包括癌性(上皮性)间皮瘤和变异体。②结缔组织性肿瘤: 良性包括纤维性斑块、纤维瘤; 恶性包括纤维肉瘤间皮瘤。③混合性肿瘤: 滑膜瘤样间皮瘤。

1. 癌性(上皮性)间皮瘤 大量肿瘤细胞多单个散在, 并可见圆形聚集。聚集细胞呈三维结构, 常有扇贝样边界, 类似桑椹。桑椹中央细胞互相堆积, 形成很复杂的外观。积液中出现三维桑椹样乳头状聚集的细胞, 若无原发性肿瘤, 应考虑诊断为癌性间皮瘤。

单个癌细胞常大于正常间皮细胞, 形态类似, 偶见细胞质小空泡, 常伴有明显的细胞周边和核周透明区。细胞核 1~2 个, 体积增大, 核膜不规则, 染色质疏松, 含有几个大的不规则核仁(图 8-49), 核质比可能改变, 细胞表面有长的微绒毛, 偶见钙化小体。若癌细胞仅轻度增大, 类似正常间皮细胞, 此时很难鉴别。

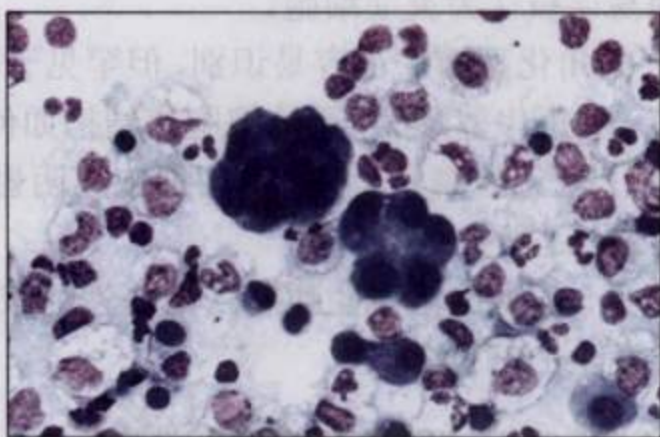


图 8-49 癌性间皮瘤(三维乳头状聚集)

2. 纤维肉瘤性间皮瘤 直接穿刺获取的标本, 其细胞呈梭形, 类似梭形成纤维细胞样细胞, 但细胞体积大, 细胞核深染, 常成片或呈螺旋状。

3. 混合性恶性间皮瘤 少见, 由各种间皮瘤细胞组成, 可见成小片的梭形细胞, 伴有立方形细胞, 形成腺腔样结构。积液中的细胞常呈梭形, 伴有不典型或典型的恶性间皮细胞特性。

(三) 转移性肿瘤

积液中转移性肿瘤有腺癌、鳞癌、内分泌肿瘤、恶性淋巴瘤等, 最常见的类型为腺癌、分化差的癌和小细胞肿瘤。有时可见角化型鳞癌。

1. 腺癌 常见为肺腺癌、乳腺癌、浆液性卵巢癌、子宫内膜腺癌、食管腺癌、肾癌和甲状腺癌等。其细胞学特点是: ①呈腺体样或管状结构。②形成多层、圆形或卵圆形聚集, 提示乳头状增生。③单个癌细胞呈柱状, 与其他肿瘤类型有明显区别。④印戒样癌细胞(signet ring cancer cell), 其细胞核异常, 偏位, 细胞质内含巨大黏液空泡(图 8-50)。但是, 仅见细胞质空泡不是诊断腺癌的依据, 必须有明显的核异常。⑤分化差的腺癌细胞鉴别诊断很困难。

2. 大细胞型分化差的癌 积液出现分化差的肿瘤细胞常容易判断, 但难以鉴别肿瘤类型, 如分化差的肺鳞癌、胰腺导管癌、膀胱上皮癌、软组织骨肉瘤等。细胞学特点: ①细胞大小各异, 与原发性肿瘤有关, 但积液中细胞大小变化不大。②细胞常散在分布, 呈疏松

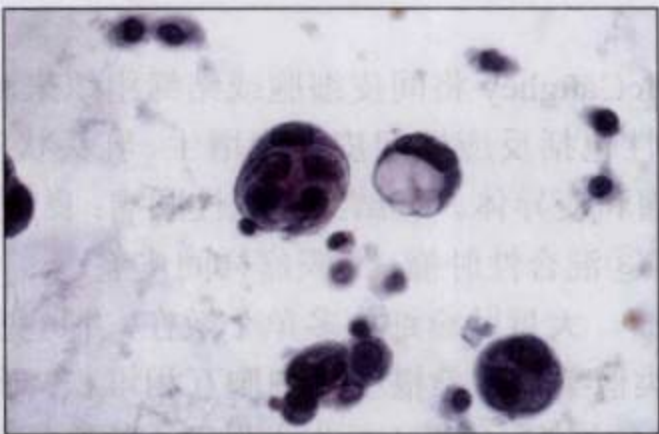


图 8-50 转移性大肠癌的印戒样细胞

结构,不规则聚集。③细胞块中的肿瘤细胞数量多,细胞质常透明和呈嗜碱性,可见大量空泡。④细胞核较大,有时不规则,常深染,含有大的不规则的多个核仁。

3. 小细胞肿瘤 常见为肺燕麦细胞癌、小细胞乳腺肿瘤、儿童小细胞恶性肿瘤或恶性淋巴瘤。积液中小型癌细胞易误被认为炎症细胞。

4. 角化型鳞癌 分化好的角化型鳞癌很容易识别,但罕见于积液,如角化型肺鳞癌、咽或食管鳞癌等。细胞学特点:①角化型鳞癌,无论细胞核结构如何,积液中可出现类似正常鳞状上皮细胞的癌细胞。②出现无核鳞状上皮细胞、细胞核阴影、淡化或消失。③鳞状细胞珠形成是诊断角化型鳞癌的标志之一。

积液中原发性肿瘤不多见,主要是转移性肿瘤。在缺乏临床病史的情况下,表 8-16 的信息可提示原发肿瘤最可能发生的部位。

表 8-16 积液中常见的转移性肿瘤

积液	男性	女性	儿童
胸水	肺,胃肠道(食管、胃、结肠),恶性淋巴瘤	乳腺,卵巢,胃肠道(胃、食管、结肠),肺,恶性淋巴瘤	白血病,淋巴瘤, Wilms 肿瘤,神经母细胞瘤,胚胎性横纹肌肉瘤, Ewing 瘤
腹水	胃肠道(结肠、胰腺、胃),恶性淋巴瘤	卵巢,乳腺,胃肠道(结肠、胃、胰腺),恶性淋巴瘤	白血病,淋巴瘤, Wilms 肿瘤,神经母细胞瘤,胚胎性横纹肌肉瘤, Ewing 瘤

第八节 淋巴结细胞病理学检查

一、非肿瘤性淋巴结肿大细胞形态学

淋巴结穿刺细胞学检查是一项传统技术,肿大淋巴结的细针吸取细胞学检查常作为淋巴结病变的诊断方法(表 8-17)。非肿瘤性病变有炎症、感染、自身免疫和超敏反应性疾病。大多数肿瘤最常见的转移部位是淋巴结。应用免疫细胞化学技术能进一步鉴别原发性恶性淋巴瘤的种类。

表 8-17 肿大淋巴结的主要病变

良性淋巴结病变	淋巴瘤	转移性肿瘤
急性或亚急性淋巴结炎	霍奇金淋巴瘤	各种原发部位转移
增生性淋巴结病变(滤泡性,副皮质性,肉芽肿性,窦性)	非霍奇金淋巴瘤	

1. 急性淋巴结炎 多因细菌或药物所致。病变早期可见中性粒细胞和淋巴细胞。后期可见中性粒细胞、浆细胞和含有吞噬碎片的大巨噬细胞。

2. 慢性淋巴结炎 淋巴结增生性反应是淋巴结肿大的最常见原因。慢性病变引起淋巴结肿大、淋巴结滤泡增大、反应性淋巴结增生,其细胞学特点是:

(1) 滤泡性和副皮质性淋巴结增生:细胞成分较多,散在分布,单个细胞形态和大小不一,以小淋巴细胞为主(图 8-51)。滤泡中心细胞由小淋巴细胞和大淋巴细胞组成,细胞核有切迹,大细胞核疏松,有时形成小细胞聚集。大无裂细胞(中心母细胞)含有 2~3 个核仁,靠近核膜。免疫母细胞含有 1 个居中的、不规则的核仁。常伴浆细胞和巨噬细胞,后者体积大,含吞噬颗粒。有时可见凋亡细胞。

(2) 病毒感染:EBV 和 HIV 感染常伴淋巴结肿大,偶见于巨细胞病毒、风疹病毒、麻疹病毒、单纯疱疹病毒感染。在细胞学涂片上,显示混合性变化,可见大或小转化淋巴细胞、免疫母细胞、巨噬细胞、浆细胞、嗜酸性粒细胞和肥大细胞。增生的免疫母细胞易被误诊为淋巴瘤细胞,但淋巴瘤不会见到各成熟阶段的浆细胞样淋巴母细胞。双核淋巴细胞类似 Reed-Sternberg 细胞,但形态不典型。多核巨细胞类似于破骨细胞和上皮样细胞。

(3) 肉芽肿性淋巴结肿大:在细胞学涂片上出现上皮样细胞,背景可见淋巴细胞和浆细胞。上皮样细胞呈长的多角形,细胞质淡染,细胞边界清晰,细胞核呈椭圆形,有时呈逗点形,染色质呈细颗粒状、淡染,常有切迹。细胞多疏松聚集,吞噬外来异物的多核巨细胞的胞核多散开,类似 Langhans 细胞(图 8-52)。

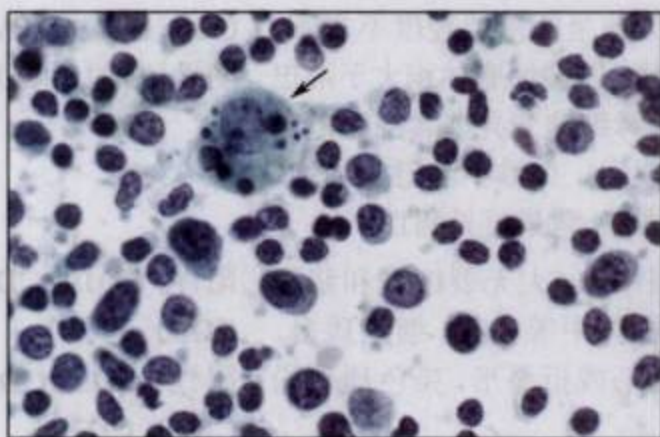


图 8-51 反应性淋巴细胞增生
(箭头指示为巨噬细胞)

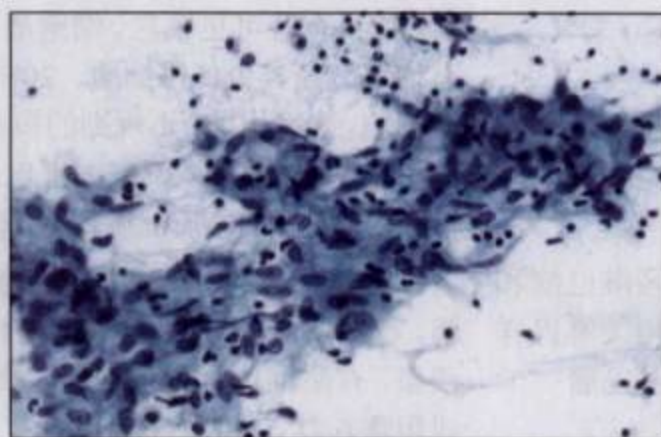


图 8-52 肉芽肿性淋巴结肿大的细胞学变化

(4) 窦性淋巴结肿大:发生于儿童和青少年的罕见疾病,又称为 Langerhans 细胞组织细胞增多症(Langerhans cell histiocytosis)。在细胞学涂片上,可见巨噬细胞、Langerhans 细胞(细胞约 10~12 μ m,细胞质呈弱嗜酸性,细胞核致密或有切迹,呈圆形或卵圆形,核染色质细致),伴多量嗜酸性粒细胞、浆细胞、中性粒细胞和多核巨细胞。嗜酸性粒细胞是诊断依据之一。

二、恶性淋巴瘤细胞病理学

1. 恶性淋巴瘤诊断原则 早期,恶性淋巴瘤的分类是根据组织学和细胞学特点,分为霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。随着免疫学、细胞遗传学和分子生物学的发展,1998 年 WHO 提出了形态学和免疫学分类,将恶性淋巴瘤分为 B 细胞淋巴瘤、T 细胞和 NK 细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

在细胞学涂片上，B 或 T 细胞淋巴瘤呈单一性变化，细胞大小较一致，保存良好的淋巴瘤细胞常单个散在，保存不良时则互相重叠。根据细胞的大小，将恶性淋巴瘤的淋巴样细胞分为小、中、大三类。①“小”指的是与淋巴细胞体积相同或稍大的细胞。②“中”指的是淋巴细胞 1~1.5 倍的细胞，但不超过巨噬细胞。③“大”指的是淋巴细胞 2 倍或更大的细胞。恶性淋巴瘤的淋巴样细胞核常呈圆形，有切迹、分叶状，核膜不规则，有小突起，染色质呈粗颗粒状，有或无核仁。

2. B 细胞淋巴瘤 B 细胞淋巴瘤的分类和细胞学特点见表 8-18，图 8-53~图 8-56。

表 8-18 B 细胞淋巴瘤的分类和细胞学特点

分类	细胞学特点	免疫细胞化学特点
小淋巴细胞性淋巴瘤	瘤细胞单一，以小圆形淋巴瘤细胞为主，核均质化，如棋盘样排列。背景有少量大淋巴瘤细胞，如幼淋巴细胞和类免疫母细胞。幼淋巴细胞较类免疫母细胞大，两者核均呈圆形，核仁明显，细胞质灰蓝色。进展期和加速期可见有浆细胞样细胞、有丝分裂、凋亡小体、坏死物质和黏液样“脏”背景。以大淋巴瘤细胞为主时，提示从小 B 细胞淋巴瘤转向大 B 细胞淋巴瘤	阳性：CD19、CD20、CD5、CD43、CD23 阴性：CD10、FMC7
淋巴浆细胞性淋巴瘤	大量小淋巴瘤细胞、浆细胞样淋巴瘤细胞和浆细胞，偶见核内包涵体	阳性：CD19、CD20 阴性：CD5、CD10、CD23 不定：CD43
套细胞淋巴瘤	以单一性小和中等淋巴瘤细胞为主，核膜不规则，致密，染色质细颗粒状，有时可见核仁，细胞质少，部分核呈圆形或轻度不规则，有切迹。无类免疫母细胞。20% 套细胞淋巴瘤细胞体积大于淋巴瘤母细胞，含有大的、不规则的核仁，称为母细胞变异型套细胞淋巴瘤，此时以单一性、中或大淋巴瘤细胞为主，少量小淋巴瘤细胞，核膜不规则，染色质细颗粒状，有多个核仁，背景可见凋亡小体	阳性：CD19、CD20、CD5、CD79b、FMC7 阴性：CD10、CD23
边缘区淋巴瘤和黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤	瘤细胞呈混合性，有单核样细胞、小裂细胞、大无裂细胞和浆细胞，有时可见巨噬细胞。单核样细胞胞体中等大小，细胞质多，淡染，有浆细胞样细胞外观，核呈卵圆形或折叠形，染色质疏松或粗颗粒状，有时有核仁	阳性：CD19、CD22、CD20 阴性：CD5、CD10、CD23、CD103
滤泡性淋巴瘤	瘤细胞呈混合性，有小不规则淋巴瘤细胞和大淋巴瘤细胞。小淋巴瘤细胞较正常淋巴细胞稍大，核膜不规则，有时可见核仁。大淋巴瘤细胞是中心母细胞，细胞质嗜碱性，核呈圆形，无裂，染色质呈细颗粒状，有 2~3 个核仁	阳性：CD19、CD20、bcl-2 阴性：CD10、CD5、CD43
大 B 细胞淋巴瘤	瘤细胞呈混合性，由大裂和无裂淋巴瘤细胞组成。大无裂细胞核呈圆形或卵圆形，含有 1 或多个核仁。大裂细胞胞核多不规则，有突起，较疏松，有时可见核仁。背景常见大量淋巴腺小体	阳性：CD19、CD20 不定：CD45、CD10
Burkitt 淋巴瘤	淋巴瘤细胞核呈圆形，染色质呈细或粗颗粒状，含 2~5 个核仁，细胞质强嗜碱性，明显空泡，可见典型的满天星变化。常伴巨噬细胞、坏死物质和有丝分裂	阳性：CD19、CD20、CD10 阴性：CD5、CD23
浆细胞瘤或浆细胞骨髓瘤	瘤细胞形态类似于成熟或幼稚浆细胞，细胞质丰富，核偏位，呈圆形，染色质呈粗颗粒状，如车轮状排列，可见类免疫母细胞样细胞	阳性：CD38 阴性：CD19、CD20 不定：CD43、CD45、CD56、EMA

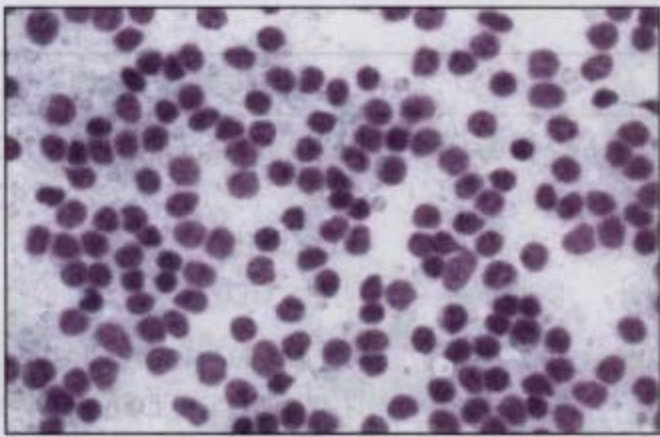


图 8-53 小淋巴细胞性淋巴瘤

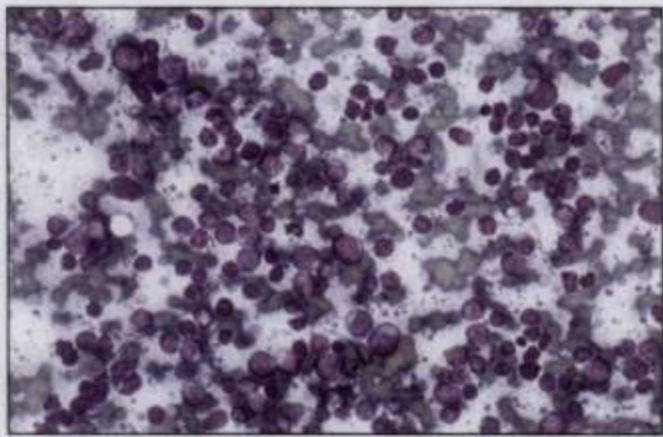


图 8-54 大 B 细胞淋巴瘤

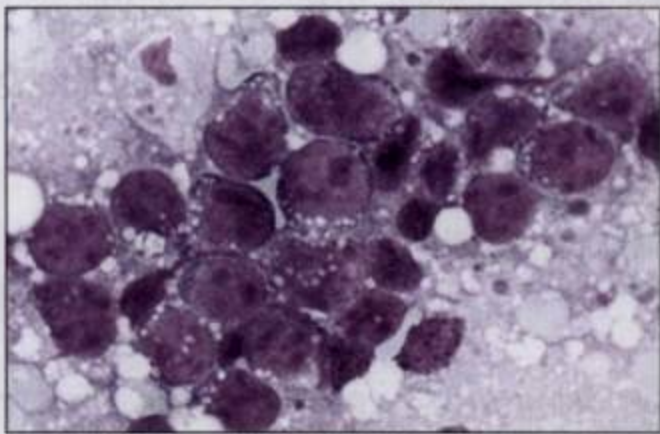


图 8-55 Burkitt 淋巴瘤

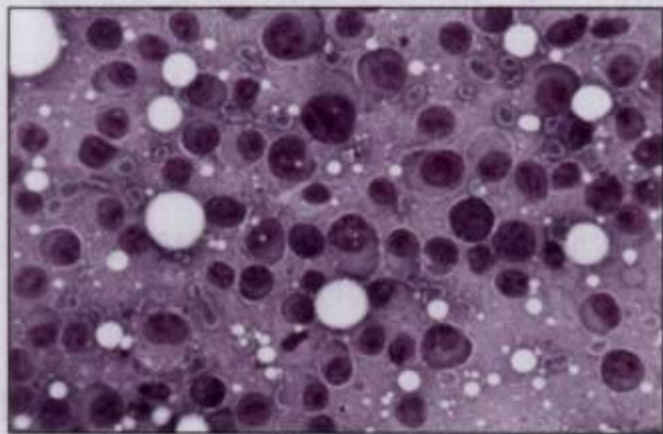


图 8-56 浆细胞瘤

3. T 细胞和 NK 细胞淋巴瘤 T 细胞和 NK 细胞淋巴瘤的分类和细胞学特点见表 8-19, 图 8-57, 图 8-58。

表 8-19 T 细胞和 NK 细胞淋巴瘤的分类和细胞学特点

分类	细胞学特点	免疫细胞化学特点
外周 T 细胞淋巴瘤	不典型淋巴瘤细胞的核形态不一, 从小到大。小的核常曲折, 染色质致密, 大的核圆形或不规则, 染色质疏松或致密。背景含有中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、浆细胞、上皮样细胞和非上皮样细胞。有时细胞畸形, 类似 Reed-Sternberg 细胞	阳性: CD2、CD3、CD5、CD7
蕁样真菌病和 Sézary 综合征	是皮肤 T 细胞淋巴瘤, 异常淋巴瘤细胞具有核形态不规则, 核仁大的特点。典型的小淋巴瘤细胞胞核有曲折, 染色质呈脑回样	阳性: CD2、CD3、CD4、CD5 阴性: CD7、CD26 不定: CD8
淋巴母细胞淋巴瘤	瘤细胞呈单一性, 中等大小, 核分叶、曲折、圆形或卵圆形, 染色质呈细颗粒状或透明, 有时可见核仁和大量有丝分裂	阳性: CD3、CD7 阴性: CD4、CD8 不定: CD1、CD2、CD5
不典型大细胞淋巴瘤	多为形态多样的大淋巴瘤细胞, 细胞核深染, 细胞质丰富, 易与上皮源性癌细胞混淆。可见小淋巴瘤细胞和淋巴样淋巴瘤细胞, 外观形态多样, 细胞核呈分叶状、马蹄形、环形, 含有 1 或多个明显核仁, 多核类似 Reed-Sternberg 细胞, 可伴有多量中性粒细胞, 易被误诊为脓肿	阳性: CD30、CD45

续表

分类	细胞学特点	免疫细胞化学特点
成人 T 细胞白血病/淋巴瘤	由小和大的不典型白血病 / 淋巴瘤细胞组成, 核异形明显, 可见 Reed-Sternberg 样细胞	阳性: CD2、CD3、CD4、CD5、CD25, 部分表达 CD30、CCF4 和 FOXP3 阴性: CD7
肠病相关 T 细胞淋巴瘤	由小、中和大的淋巴瘤细胞组成	阳性: CD3、CD7、CD4、CD103 阴性: CD5、CD56、TIA-1、穿孔素、颗粒酶 B 不定: CD8、CD30
肝脾肿大 T 细胞淋巴瘤	由中型淋巴瘤细胞组成, 细胞核轻度致密, 核仁小, 细胞质边缘淡染	阳性: CD3、TCR γ/δ 、TIA-1、颗粒酶 M 阴性: CD5、CD4、 β F1、穿孔素、颗粒酶 B 不定: CD56、CD8
原发性皮肤大细胞淋巴瘤	以多形性大淋巴瘤细胞为主, 伴小淋巴瘤细胞, 可见浆细胞和嗜酸性粒细胞	阳性: CD4、CD30 阴性: CD2、CD5、CD3、CD15、EMA、ALK-1
牛痘样水疱病样 NK/T 细胞淋巴瘤	是皮肤 NK/T 细胞淋巴瘤, 细胞小, 缺乏典型细胞学异常	阳性: CD2、CD3、CD56、TIA-1
结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤	淋巴瘤细胞胞核轮廓不规则, 伴免疫母细胞、浆细胞和少数嗜酸性粒细胞和组织细胞, 常见大量凋亡小体	阳性: CD2、CD56、浆 CD3 ϵ 、TIA-1、穿孔素、颗粒酶 B 阴性: 表面 CD3、CD4、CD5、TCR δ 、 β F1、CD8、CD16、CD57

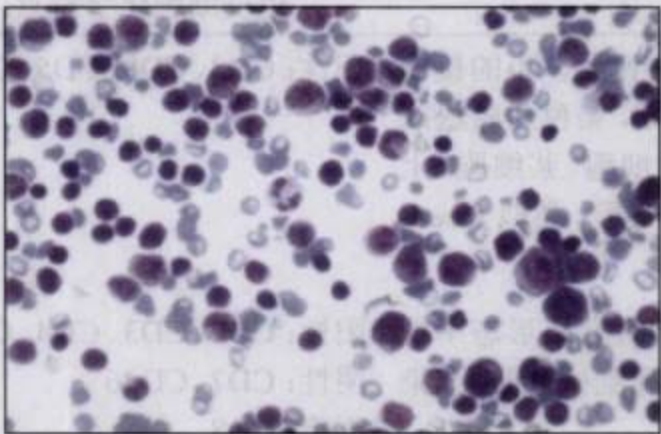


图 8-57 外周 T 细胞淋巴瘤

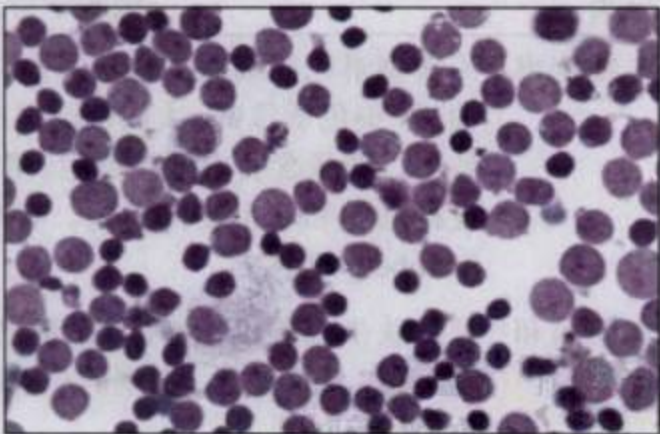


图 8-58 淋巴母细胞淋巴瘤

4. 霍奇金淋巴瘤 约占恶性淋巴瘤的 20%, WHO 将霍奇金淋巴瘤分为典型淋巴瘤和以结节性淋巴细胞为主型的淋巴瘤, 其中典型淋巴瘤分为结节硬化型、淋巴细胞为主型、混合细胞型和淋巴细胞消减型。

典型霍奇金淋巴瘤的细胞学诊断基于典型的 Reed-Sternberg 细胞, 背景有淋巴细胞、浆细胞、中性粒细胞和巨噬细胞。典型的 Reed-Sternberg 细胞体积大, 具有大的双核或多核, 细胞质淡染, 细胞核染色质疏松, 明显大核仁, 核周有透明区(图 8-59)。有时, 可见霍奇金

细胞。霍奇金细胞是大的单个核细胞，染色质呈疏松网状，1 个或多个核仁。虽然组织学上可以分型，但细胞学很难分型。

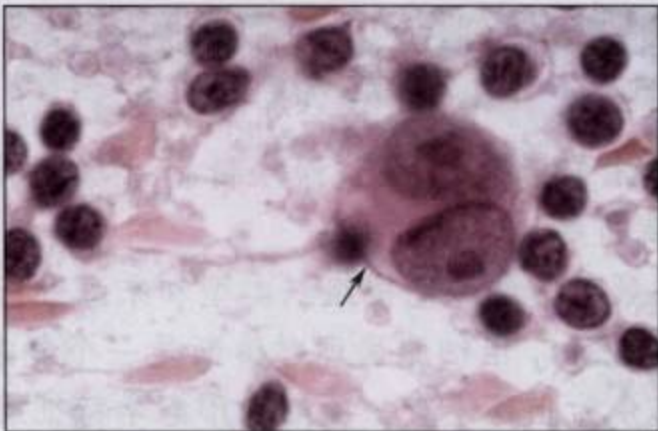


图 8-59 霍奇金淋巴瘤 (Reed-Sternberg 细胞)

以结节性淋巴细胞为主型的淋巴瘤常由上皮样细胞、Reed-Sternberg 细胞变异体 (L-H 细胞) 组成，背景是成熟淋巴细胞。L-H 细胞呈多核，淡染，核仁居中，如“爆玉米花”外观。

三、淋巴结转移性肿瘤细胞病理学

转移性肿瘤是淋巴结肿大的最常见原因，淋巴结穿刺不仅能诊断转移性肿瘤，而且能寻找组织学类型和器官起源 (表 8-20)。

表 8-20 常见淋巴结转移和肿瘤原发部位关系

转移部位	原发肿瘤部位
颈部	口腔, 咽喉, 鼻咽, 甲状腺, 面部皮肤
腹部	胃肠道, 胰腺胆道, 肾, 子宫体, 性腺
锁骨上	胃肠道, 头颈部, 肺, 前列腺, 肾, 皮肤, 卵巢
盆腔	子宫颈, 子宫体, 前列腺
纵隔	肺
腹股沟	皮肤, 子宫颈, 阴道, 直肠
腋窝	乳腺, 皮肤

- 1. 鳞癌 角化型癌细胞呈梭形或蝌蚪形，细胞边界清晰，细胞质丰富，嗜酸性，核固缩，可见无核鳞状上皮细胞、鹰眼细胞或鳞状细胞珠。非角化型癌细胞呈圆形、卵圆形或多角形，细胞边界清晰，细胞质淡染，核染色质呈粗颗粒状，易与分化差的腺癌混淆。
- 2. 腺癌 细胞常单个或成团，大小各异，有球样、乳头状疏松聚集或腺腔样结构。细胞呈圆形、立方形或柱状。细胞质均匀或含明显小或大空泡，细胞核偏位。胃癌常见大的印戒样细胞。结直肠癌常见柱状长形细胞，细胞核呈栅栏状，背景见大量坏死物质。
- 3. 小细胞癌 细胞常单个或成团，较淋巴细胞大 2~3 倍，细胞质少，核染色质细颗粒状，深染，有时见核固缩或核仁。成团时出现铸模现象和大量坏死物质，很难和淋巴瘤细胞鉴别。
- 4. 恶性黑色素瘤 细胞常散在分布，呈圆形、多角形或梭形。圆形和多角形细胞的胞质丰富，细胞边界清晰，细胞质内常见细颗粒状棕色黑色素颗粒，细胞核常偏位，使细胞呈

浆细胞样外观,可见双核或多核,核呈圆形或多角形,染色质呈细颗粒状,有1个至多个明显核仁,常见核内细胞质包涵体。

(胡晓波)

本章小结

细胞病理学检查基本技术包括标本采集、涂片制备、标本固定、标本浓缩、染色、显微镜筛检原则、结果报告、质量保证等。

在光学显微镜下,大多数正常细胞能按组织类型和来源进行分类。根据细胞学涂片特点分为上皮细胞、非上皮细胞等。但细胞病理学诊断是一个复杂的过程,千万不能过分强调最终结论的重要性,且迄今为止还没有一项细胞形态学特征或一套规范的细胞形态学标准就能准确可靠地鉴别良性与恶性细胞。

上皮源性良性肿瘤细胞与正常细胞差异很小,多互相黏附呈蜂窝状,边界清晰,胞质透明,核仁小。间质源性良性肿瘤细胞与正常细胞类似,如脂肪、平滑肌、成纤维细胞。某些良性肿瘤,如内分泌、神经性肿瘤,易与癌细胞混淆。

恶性肿瘤细胞学特点是:①癌细胞大小多超出生理范围,在单一群体中常见癌细胞大小不一。②癌细胞形态异常,也可与正常细胞形态类似。③癌细胞之间黏附性差。④癌细胞核变化具有特征性,通常会出现核增大、核质比增大、核形态和轮廓不规则、染色过深、染色质呈粗颗粒状、性染色质小体异常、核膜异常、核仁异常和有丝分裂异常等。⑤癌细胞质常能判断其起源和分化程度,如鳞癌细胞常含有大量角蛋白丝,腺癌细胞常显示黏液特性。

女性生殖道细胞病理学检查:良性上皮异常分类是细胞学检查基础,有时与恶性细胞很难区分,并且在同一涂片上可同时出现各种良性细胞异常变化。目前,女性生殖道细胞病理学检查结果多采用TBS报告方式,便于与临床医师交流,将结果分为未见上皮内病变或恶性病变、鳞状上皮异常、腺上皮异常和其他恶性肿瘤等类别。女性生殖道恶性肿瘤以宫颈癌多见,宫颈癌以鳞癌多见,其次为腺癌,未分化癌极少见。

呼吸道细胞病理学检查:各种呼吸道良性病变均会影响细胞学组成,出现良性支气管上皮异常、呼吸道上皮增生和鳞状上皮异常。大多数原发性肺癌源自支气管和细支气管上皮,部分源自肺泡上皮,以支气管鳞癌为主,还可见大细胞未分化癌、腺癌和燕麦细胞癌。肺部转移性肿瘤很常见,约占50%。

浆膜腔积液细胞病理学检查:漏出液中细胞数量很少,仅少量间皮细胞和白细胞,而渗出液不透明或浑浊,常为原发性、转移性肿瘤或良性病变所致。积液中原发性肿瘤为恶性间皮瘤,转移性肿瘤以腺癌、大细胞分化差癌和小细胞肿瘤最常见。

淋巴结细胞学检查:大多数肿瘤和良性病变都可导致淋巴结肿大。肿大淋巴结的细针吸取细胞学检查常作为淋巴结病变的诊断方法。良性病变如慢性淋巴结炎常表现为滤泡性和副皮质性淋巴结增生、肉芽肿性淋巴结增生和窦性淋巴结增生。肿瘤性病变包括恶性淋巴瘤和转移性肿瘤。近年,WHO将恶性淋巴瘤分为B细胞淋巴瘤、T细胞和NK细胞淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤。B或T细胞淋巴瘤以小、中或大淋巴样瘤细胞组成的单一性图像为特征。霍奇金淋巴瘤常见典型的Reed-Sternberg细胞、霍奇金细胞或L-H细胞。转移性肿瘤以鳞癌、腺癌、小细胞癌和恶性黑色素瘤较常见。

参 考 文 献

1. 马博文. 子宫颈细胞病理学诊断图谱. 北京: 人民军医出版社, 2008.
2. 赵蕊, 周羨梅, 朱元莉. 子宫颈细胞与组织病理. 北京: 北京大学医学出版社, 2008.
3. Solomon D, Nayar R. 子宫颈细胞学 Bethesda 报告系统: 定义、标准和注释. 黄受方, 张长淮, 余小蒙, 译. 第2版. 北京: 人民军医出版社, 2009.
4. 杨斌, 薛得彬, 译. 甲状腺细胞病理学 Bethesda 报告系统: 定义、标准和注释. 北京: 北京科学技术出版社, 2010.
5. Bibbo M, Wilbur DC. Comprehensive Cytopathology. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008.
6. Kjeldsberg CR, Perkins SL. Practical diagnosis of hematologic disorders. 5th ed. Chicago: ASCP Press, 2010.

中英文名词对照索引

Mie 同质性球体光散射理论	Mie theory of light scatter for homogenous spheres	94
Papanicolaou 试验	Pap test	273
α_2 微球蛋白	α_2 -microglobulin, α_2 -M	144
β_2 微球蛋白	β_2 -microglobulin, β_2 -M	144
β -羟丁酸	β -hydroxybutyrate	151

A

癌	carcinoma	281
---	-----------	-----

B

白带	leukorrhea	243
白蛋白排泄率	albumin excretion rate, AER	163
白细胞	leukocyte	42
白细胞分类计数	differential leukocyte count, DLC	45
白细胞管型	leukocyte cast	176
白细胞计数	white blood cell count	43
白细胞减少	leukopenia	45
白细胞精子症	leukocytospermia	239
白细胞增多	leukocytosis	45
摆动性	wobble, WOB	240
棒状小体	auer body	60
本周蛋白	Bence Jones protein, BJP	147, 161
苯二酸	phthalic acid	98
比对(原系统)血液分析仪	comparing automated hematology analyzer, CAA	118
比移值	rate of flow, Rf	148
边缘池	marginal pool	42
鞭打频率	beat-cross frequency, BCF	240
扁平上皮细胞	pavement epithelial cell	174
变形红细胞性血尿	metamorphotic erythrocyte hematuria	171
变异系数	coefficient of variation, CV	115

标本老化	sample ageing	118
标准操作程序	standard operation procedure, SOP	113
标准差	standard derivation, SD, <i>s</i>	115
表层细胞	superficial cell	275
丙酮	acetone	151
薄层层析法	thin layer chromatography, TLC	148
不典型鳞化	atypical squamous metaplasia	287
不典型增生	atypical hyperplasia	279

C

参考区间	reference interval, RI	119
草酸钙结晶	calcium oxalate crystal	179
产前诊断	prenatal diagnosis	256
尘细胞	dust cell	292
晨尿	first morning urine	128
成熟池	maturation pool	42
出血时间	bleeding time, BT	71
出血时间测定器法	template bleeding time, TBT	71
促胰酶素 - 促胰液素试验	pancreozymin-secretin test	250

D

大小不均	anisocytosis	59
大血小板	giant platelet	69
大圆点细胞	polka-dot cell	285
待测(新系统)血液分析仪	testing automated hematology analyzer, TAA	118
单个核	mononuclear, MN	99
单核细胞	monocyte, M	42, 54
胆固醇结晶	cholesterol crystal	181
胆固醇性渗出液	cholesterol exudate	228
胆红素	bilirubin	152
胆红素管型	bilirubinic cast	178
胆红素结晶	bilirubin crystal	180
胆汁性渗出液	biliary exudate	228
蛋白尿	proteinuria	144
等渗尿	isosthenuria	141
低度鳞状上皮细胞内病变	low-grade squamous intraepithelial lesions, LSIL	289
低渗尿	hyposthenuria	141
低荧光强度网织红细胞	low fluorescent reticulocyte, LFR	37

滴定法	titration	142
碘化丙啶	propidium iodide	99
电导性	electrical conductivity	94
电阻抗原理	principle of electrical impedance	93
淀粉颗粒	starch granule	200
淀粉样小体	starchy body	242
凋亡	apoptosis	277
凋亡小体	apoptotic body	278
定量检测下限	lower limit of quantitation, LLoQ	118
多分叶核	polymorphonuclear, PMN	99
多分叶核中性粒细胞	hypersegmented neutrophil	62
多核巨细胞	multinucleated giant cell	280
多角度偏振光散射法	multi angle polarized scatter separation, MAPSS	99
多尿	polyuria	136
多散点图分析	multi scatterplot analysis, MSA	99

E

噁嗪	oxazine	95
二甲基月桂胺氧化物	dimethyl laurylamine oxide	96

F

反应性核变化	reactive nuclear change	279
反应性淋巴细胞	reactive lymphocyte	65
非角化鳞状上皮细胞	nonkeratinizing squamous epithelium	284
非晶形磷酸盐	amorphous phosphate	180
非晶形尿酸盐	amorphous urates	180
非均一性红细胞血尿	dysmorphic erythrocyte hematuria	170
非前向运动	non-progressive motility, NP	237
非选择性蛋白尿	non-selective proteinuria	146
菲啶	phenanthridine	190
分裂池	mitotic pool	42
分泌细胞	secretory cell	275
分泌性腺上皮细胞	glandular epithelia cells with secretory functions	275
分析测量范围	analytical measuring range, AMR	118
分析测量区间	analytical measuring interval, AMI	118
粪便	feces	194
粪便分析工作站	feces analysis workstation	203
粪便隐血试验	fecal occult blood test, FOBT	196

粪胆原	stercobilinogen	154
复粒细胞	compound granular cell	175
副底层细胞	parabasal cell	275
副染色质	parachromatin	18

G

干细胞池	stem cell pool	42
高度鳞状上皮细胞内病变	high-grade squamous intraepithelial lesions, HSIL	290
高峰胃酸排量	peak acid output, PAO	248
高铁血红蛋白	hemoglobin, Hi; methemoglobin, MetHb	25
高荧光强度网织红细胞	high fluorescent reticulocyte, HFR	37
功能性蛋白尿	functional proteinuria	146
功能性精子浓度	functional sperm concentration, FSC	241
刮取	scrapings	268
管型	cast	175
灌洗	lavage	268
胱氨酸结晶	cystine crystal	180
国际标准化比值	international normalization ratio, INR	74
国际病理学会	International Academy of Pathology, IAP	25
国际临床化学联合会	International Federation of Clinical Chemistry, IFCC	25
国际敏感指数	international sensitivity index, ISI	74
国际输血协会	International Society of Blood Transfusion, ISBT	84
国际血栓与止血学会	International Society on Thrombosis and Hemostasis, ISTH	71
国际血液学标准化委员会	International Committee for Standardization in Haematology, ICSH	25
过氧化物酶	peroxidase, POX	98
过氧化物酶平均指数	mean peroxidase index, MPXI	98

H

核不均	anisokaryosis	272
核大小不一	anisonucleosis	283
核多形性	nuclear pleomorphism	272
核固缩	karyopyknosis	273
核象	nuclear shift	61
核右移	shift to the right	62
核匀化	nuclear homogenization	278
核质比	nuclear/cytoplasmic ratio, N/C	272
核左移	shift to the left	61
核左移指数	left index, LI	99

红细胞沉降率	erythrocyte sedimentation rate, ESR	39
红细胞淡影	blood shadow	170
红细胞管型	erythrocyte cast	176
红细胞计数	red blood cell count	22
红细胞平均体积	mean corpuscular volume, MCV	34
红细胞平均血红蛋白量	mean corpuscular hemoglobin, MCH	34
红细胞平均血红蛋白浓度	mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC	34
红细胞体积分布宽度	red cell volume distribution width, RDW	120
滑膜液	synovial fluid, SF	228
化生	metaplasia	279
坏死	necrosis	277
还原血红蛋白	deoxyhemoglobin; reduced hemoglobin, HHb, Hbred	25
环形杆状核粒细胞	ring-shaped nuclei granulocyte	62
煌焦油蓝	brilliant cresyl blue	36
磺基水杨酸法	sulfosalicylic acid method, SSA	144
浑浊度	turbidity	137
混合性蛋白尿	mixed proteinuria	146
混合性血尿	mixture hematuria	171
活动精子浓度	motiles sperm concentration, MSC	241
活化部分凝血活酶时间	activated partial thromboplastin time, APTT	75

J

肌红蛋白	myoglobin, Mb	163
肌红蛋白尿	myoglobinuria	163
基础胃酸排量	basic acid output, BAO	248
基底层细胞	basal cell	275
计时尿	timed collection urine	128
计数室误差	chamber error	45
计数域误差	field error	23, 45
计算机辅助精液分析	computer-aided semen analysis, CASA	240
技术误差	technical error	23
加热乙酸法	heat and acetic acid method	144
间接涂片	indirect smear	269
间皮细胞	mesothelial cell	275, 276
间质性肺疾病	interstitial lung disease, ILD	262
检测下限	lower limit of detection, LLoD	118
碱潮	alkaline tide	143
碱羟血红蛋白	alkaline haematin detergent, AHD ₅₇₅	25

碱性槐黄	auramine	95
浆膜腔积液	serous effusion	219
浆细胞	plasma cell	66
浆液性渗出液	serous exudate	227
交叉配血试验	cross matching test	88
交互核查	cross check	118
结合胆红素	conjugated bilirubin, CB	152
解释性程序	interpretive program, IP	109
精浆	spermatic plasma	233
精密度	precision	118
精液	semen	233
精液减少	oligospermia	235
精液延迟液化症	semen delayed liquefaction	235
精液液化时间	semen liquefaction time	235
精液增多症	polyspermia	235
精子	sperm	233
精子存活率	sperm vitality	237
精子活动力	sperm motility	237
精子活动率	sperm activity rate	236
精子活动指数	sperm motility index, SMI	241
精子计数	sperm count	238
精子凝集	agglutination of spermatozoa	237
精子头侧摆幅度	amplitude of lateral head displacement, ALH	240
精子质量分析仪	sperm quality analyzer, SQA	241
静脉采血法	venipuncture for blood collection	7
镜下脓尿	microscopic pyuria	172
镜下血尿	microscopic hematuria	170
巨大未成熟细胞	large immature cell, LIC	101
巨噬细胞	macrophage	277
聚亚甲基蓝	polymethylene blue	95
均一性红细胞血尿	isomorphic erythrocyte hematuria	170

K

颗粒分析	particle analysis	169
颗粒管型	granular cast	176
可比性	comparability	118
可滴定酸度	titratable acidity	142
可信限	confidence limit, CL	115
空白检测限	limit of blank, LoB	117

空泡形成	vacuolation, vacuolization	60
空泡样	vacuolation	273
空气干燥固定	air drying fixation	270
库尔特原理	Coulter principle	93
宽大管型	broad cast	178

L

蜡样管型	waxy cast	177
酪氨酸结晶	tyrosine crystal	181
类白血病反应	leukemoid reaction	50
类风湿因子	rheumatoid factor, RF	230
类砂样小体	psammoma body	273
粒细胞	granulocyte, GRAN	42
亮氨酸结晶	leucine crystal	181
临床可报告区间	clinically reportable interval, CRI	118
淋巴细胞	lymphocyte, L	42, 53
淋巴细胞减少	lymphopenia	54
淋巴细胞增多	lymphocytosis	53
淋球菌	gonococcus	246
磷酸铵镁结晶	ammoniomagnesium phosphate crystal	180
磷酸钙结晶	calcium phosphate crystal	180
磷脂酰胆碱	phosphatidylcholine, PC	242, 253
鳞化	squamous metaplasia	287
鳞状上皮细胞	squamous epithelia cell	173, 275
鳞状上皮细胞癌	squamous carcinoma	281
鳞状上皮细胞假性角化	parakeratosis of squamous epithelium	286
流体动力学聚焦	hydrodynamic focusing	94
滤膜过滤法	membrane filtration	270
氯唑黑 E	chlorazol black E	100
螺旋体荧光抗体吸收试验	fluorescent treponemal antibody absorption test, FTA-ABStest	218

M

美国临床实验室标准化研究所	Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI	39
咪唑	imidazole	96

N

内皮细胞	endothelial cell	276
脑脊液	cerebrospinal fluid, CSF	207
黏稠度	semen viscosity	235

黏液表皮样癌	mucoepidermoid carcinoma	281
尿比重计	urinometer	140
尿卟啉	uroporphyrin	137
尿胆素	urobilin	137, 154
尿胆原	urobilinogen, UBG, URO	137, 154
尿量	urine volume	136
尿色素	urochrome	137
尿渗量	osmolality, Osm	141
凝血酶时间	thrombin time, TT	77
凝血酶原比率	prothrombin rate, PTR	74
凝血酶原活动度	prothrombin activity, PTA	74
凝血酶原时间	prothrombin time, PT	72
凝血时间	clotting time, CT	76
脓细胞	pus cell	172
脓性渗出液	purulent exudate	227

O

偶然性蛋白尿	accidental proteinuria	146
--------	------------------------	-----

P

皮肤采血法	skin puncture for blood collection	6
平均路径速度	average path velocity, VAP	240
平均移动角度	mean angle of deviation, MAD	240
葡萄糖氧化酶	glucose oxidase, GOD	148
葡萄糖氧化酶 - 过氧化物酶法	glucose oxidase-peroxidase method	148

Q

前列腺颗粒细胞	prostatic granular cell	242
前列腺液	prostatic fluid	241
前向散射光脉冲宽度	forward scattered light intensity width, Fscw	190
前向散射光强度	forward scattered light intensity, Fsc	190
前向性	straightness, STR	240
前向荧光脉冲宽度	forward fluorescent light intensity width, Flw	190
前向运动	progressive motility, PR	237
鞘磷脂	sphingomyelin, S	253
氰化高铁血红蛋白	hemiglobincyanide, HiCN	25
曲线速度	curvilinear velocity, VCL	240
全面质量管理	total quality management, TQM	126

全血	whole blood	5
----	-------------	---

R

染色过深	hyperchromasia	272
染色质	chromatin	18
人类白细胞抗原	human leukocyte antigen, HLA	81
人绒毛膜促性腺激素	human chorionic gonadotropin, hCG	158
肉瘤	sarcoma	281
肉眼脓尿	macroscopic pyuria	172
肉眼血尿	macroscopic hematuria	138
乳糜尿	chyluria	160
乳糜脓尿	chylus-pyuria	160
乳糜微粒	chylomicron	160
乳糜性渗出液	chylous exudate	227
乳糜血尿	hematochyluria	160

S

噻唑橙	thiazole orange, TO	95
散点图	scattergram, scatterplot	106
闪光细胞	glitter cell	172
少尿	oliguria	137
射频	radio frequency, RF	94
神经管缺陷性疾病	neural tube defect, NTD	257
肾上皮细胞管型	renal epithelial cast	177
肾衰竭管型	renal failure casts	178
肾糖阈	renal glucose threshold	147
肾小管上皮细胞	renal tubular epithelium	173
肾小管性蛋白尿	tubular proteinuria	146
肾小球性蛋白尿	glomerular proteinuria	146
肾性糖尿	renal glucosuria	150
生精细胞	spermatogenic cell	239
生理性蛋白尿	physiologic proteinuria	146
湿固定	wet fixation	269
十二烷基硫酸钠血红蛋白	sodium dodecyl sulfate hemoglobin, SDS-Hb	25
十二指肠引流液	duodenal fluid drainage	249
石棉小体	asbestos body	292
实验室信息系统	laboratory information system, LIS	143
试带法	reagent strip method	139

嗜碱性点彩红细胞	basophilic stippling cell	39
嗜碱性粒细胞	basophil, B	42, 51
嗜碱性粒细胞减少	basopenia	53
嗜碱性粒细胞增多	basophilia	52
嗜酸性粒细胞	eosinophil, E	42, 55
嗜酸性粒细胞减少	eosinopenia	57
嗜酸性粒细胞增多	eosinophilia	56
刷取	brushings	268
双流体(双鞘流)动力连续系统	double hydrodynamic sequential system, DHSS	100
随机尿	random urine	128
羧花氰	carbocyanine	190

T

胎儿肺成熟度	fetal lung maturity	253
胎儿肝脏成熟度	fetal liver maturity	255
胎儿皮肤成熟度	fetal skin maturity	256
胎儿肾脏成熟度	fetal kidney maturity	254
碳氧血红蛋白	carboxyhemoglobin, COHb, HbCO	25
糖尿	glucosuria	147
体位性蛋白尿	postural proteinuria	146
铁锈色小体	ferruginous body	292
酮尿	ketonuria	151
酮体	ketone bodies	151
酮血症	ketonemia	151
透明管型	hyaline cast	175
退行性变	degeneration	60
吞噬细胞	phagocyte	172
脱落细胞学	exfoliative cytology	267
唾液腺成熟度	fetal salivary glands maturity	256

W

网织红细胞成熟指数	reticulocyte maturity index, RMI	122
网织红细胞平均血红蛋白量	mean hemoglobin content of reticulocytes, CHr	122
网织红细胞血红蛋白含量	reticulocyte hemoglobin equivalent, RET-He	122
微量白蛋白尿	microalbuminuria, MA	162
微丝蚴	microfilariae	182
尾形上皮细胞	tailed epithelium cell	173
萎缩	atrophy	279

未成熟髓细胞信息	immature myeloid information, IMI	98
未成熟网织红细胞	immature reticulocyte fraction, IRF	121
未结合胆红素	unconjugated bilirubin, UCB	152
未染色大细胞计数	large unstained cell count, LUC	99
胃蛋白酶原	pepsinogen	248
胃液	gastric juice	247
无核鳞状上皮细胞	anucleated squames	275
无精液症	azoospermia	235
无尿	anuria	137
无运动	immotility, IM	237

X

吸管误差	pipet error	45
细胞病理学	cytopathology	267
细胞管型	cellular cast	176
细胞过多	hypercellularity	272
细胞过少	paucicellularity	272
细胞极性	cell polarity	272
细胞间黏附性	intercellular adhesion	272
细胞块法	cell block	270
细胞溶解	cytolysis	273
细菌管型	bacterial cast	178
细菌性阴道病	bacterial vaginosis, BV	246
细针吸取细胞学	fine-needle aspiration cytology	267
纤毛	cilia	273
纤毛上皮细胞	ciliated epithelia cells	275
纤毛细胞	ciliated cell	276
纤毛细胞衰变	ciliocytophthoria, CCP	293
纤维蛋白(原)降解产物	fibrin/fibrinogen degradation products, FDP	77
纤维蛋白原	fibrinogen, Fg	76
线索细胞	clue cell	246, 279
腺癌	adenocarcinoma	281
腺鳞癌	adenosquamous carcinoma	281
小红细胞贫血因子	microcytic anemia factor, MAF	122
小细胞癌	small cell carcinoma, SCC	296
小血小板	small platelet	69
携带污染	carryover	117
心衰细胞	heart failure cell	295

新亚甲蓝	new methylene blue	36
性传播性疾病	sexual transmitted disease, STD	241
修复反应	repair reaction	279
溴麝香草酚蓝	bromothymol blue, BTB	142
选择性蛋白尿	selective proteinuria	146
血红蛋白	hemoglobin, Hb 或 HGB	24
血红蛋白分布宽度	hemoglobin concentration distribution width, HDW	122
血红蛋白管型	hemoglobin cast	176
血红蛋白尿	hemoglobinuria	138, 155
血红蛋白血症	hemoglobinemia	155
血尿	hematuria	138, 170
血清腹膜腔积液白蛋白梯度	serum ascites albumin gradient, SAAG	222
血糖增高性糖尿	hyperglycemic glycosuria	150
血糖正常性糖尿	normoglycemic glycosuria	150
血细胞比容	hematocrit, Hct, HCT	32
血细胞计数板	hemocytometer	22
血细胞计数仪	blood cell counter	92
血小板成分平均浓度	mean platelet component, MPC	124
血小板计数	platelet count	67
血小板吞噬现象	platelet phagocytosis	70
血小板卫星现象	platelet satellitism	70
血性渗出液	sanguineous exudate	227
血液管型	blood cast	176
循环池	circulating pool	42

Y

亚甲蓝	methylene blue	16
燕麦细胞癌	oat cell carcinoma	296
羊水	amniotic fluid, AF	251
羊水泡沫试验	foam stability test, shake test	253
药物结晶	drug crystal	181
液基细胞学	liquid based cytology, LBC	271
医院信息系统	hospital information system, HIS	143
胰液	pancreatic fluid	249
移行上皮细胞	transitional epithelium	173
乙酰乙酸	acetoacetic acid	151
异常角化	dyskeratocytes	287
异型淋巴细胞	atypical lymphocyte	65

溢出性蛋白尿	overflow proteinuria	147
阴道分泌物	vaginal discharge	243
阴道加德纳菌	gardnerella vaginalis, GV	246
阴道毛滴虫	trichomonas vaginalis, TV	245
阴道清洁度	cleaning degree of vagina	244
印戒样癌细胞	signet ring cancer cell	299
荧光强度	fluorescent light intensity, FI	190
影形红细胞	ghost cell	170

Z

造血干细胞	hematopoietic stem cell, HSC	42
增生	hyperplasia	278
折射计	refractometer	140
真酸度	genuine acidity	142
支气管肺泡灌洗术	bronchoalveolar lavage, BAL	262
支气管肺泡灌洗液	bronchoalveolar lavage fluid, BALF	263
脂肪管型	fatty cast	178
脂肪颗粒细胞	fatty granular cell	174
脂肪尿	lipiduria	160
脂肪泻	steatorrhea	199
直方图	histogram	106
直接涂片	direct smear	269
直立性蛋白尿	orthotic proteinuria	146
直线性	linearity, LIN	240
直线运动速度	straight-line velocity, VSL	240
指示剂	indicator	142
中层细胞	intermediate cell	275
中胆素原	mesobilirubinogen	154
中毒颗粒	toxic granulation	59
中性分叶核粒细胞	neutrophilic segmented granulocyte, Nsg	42
中性杆状核粒细胞	neutrophilic stab granulocyte, Nst	42
中性粒细胞	neutrophil	42, 49
中性粒细胞减少症	neutropenia	51
中性粒细胞增多症	neutrocytosis	50
中荧光强度网织红细胞	middle fluorescent reticulocyte, MFR	37
肿瘤素质	tumor diathesis	273
贮存池	storage pool	42
铸模	moulding	273

自动血液分析仪	automated hematology analyzer, AHA	92
总蛋白质	total protein, TP	129
总功能精子浓度	total functional sperm concentration, TFSC	241
总活动精子浓度	total motile sperm concentration, TMSC	241
组织性蛋白尿	histic proteinuria	147
最大胃酸排量	maximum acid output, MAO	248