

# 临床检验学讲义

华图卓坤

## 目录

《临床检验学》 .....	2
第一章 血液样本采集和血涂片制备 .....	2
第一节 血液生理概要 .....	2
第二节 采血方法 .....	3
第三节 抗凝剂选择 .....	6
第四节 血涂片制备 .....	6
第五节 细胞染色 .....	7
第六节 方法学评价 .....	8
第七节 质量控制 .....	9
第二章 红细胞检查 .....	9
第一节 概要 .....	9
第二节 红细胞计数 .....	10
第三节 血红蛋白测定 .....	14
第四节 红细胞形态检查 .....	17
第五节 血细胞比容 (HCT) 测定 .....	20
第六节 红细胞平均指数 .....	22
第七节 红细胞体积分布宽度 .....	24
第八节 网织红细胞计数 .....	25
第九节 点彩红细胞 .....	28
第十节 红细胞沉降率测定 .....	28
第三章 白细胞检查 .....	30
第一节 白细胞生理概要 .....	30
第二节 白细胞计数 .....	32
第三节 白细胞分类计数 .....	34
第四节 嗜酸性粒细胞计数 .....	39
第五节 白细胞形态检查 .....	42
第四章 血液分析仪及其临床应用 .....	44
第一节 概述 .....	44
第二节 检测原理 .....	44
第三节 白细胞直方图 .....	46
第四节 红细胞、血小板直方图 .....	46
第五节 方法学评价 .....	46
第六节 临床应用 .....	47
第五章 血型 and 输血 .....	50
第一节 红细胞 ABO 血型系统 .....	50
第二节 红细胞 Rh 血型系统检查 .....	56
第三节 新生儿溶血病检查 .....	58
第五节 人类白细胞抗原检查 .....	59
第六节 血小板血型系统检查 .....	60

第七节 血液保存液.....	61
第八节 输血与输血反应.....	61
第六章 尿液生成和标本采集及处理.....	64
第一节 尿液生成.....	64
第二节 尿液检验目的.....	64
第三节 尿标本采集.....	65
第四节 尿标本处理.....	66
第七章 尿理学检验.....	67
第一节 尿量.....	67
第二节 尿颜色和透明度.....	68
第三节 尿比密测定.....	71
第四节 尿渗量测定.....	72
第五节 尿气味.....	72
第八章 尿有形成分检查.....	72
第一节 检测方法.....	72
第二节 尿细胞检查.....	74
第三节 尿管形检查.....	78
第四节 尿结晶检查.....	81
第五节 尿沉渣定量检查.....	82
第九章 尿液化学检查.....	83
第一节 尿液酸碱度测定.....	83
第二节 尿液蛋白质检查.....	85
第三节 尿液糖检查.....	87
第四节 尿液酮体检查.....	89
第五节 尿液胆红素检查.....	90
第六节 尿液尿胆原和尿胆素检查.....	91
第七节 尿血红蛋白检查.....	92
第八节 尿液本周蛋白检查.....	93
第九节 尿液微量清蛋白测定.....	94
第十节 尿液蛋白电泳.....	95
第十一节 尿液肌红蛋白检查.....	96
第十二节 尿液 $\beta_2$ -微球蛋白测定.....	96
第十三节 尿液人绒毛膜促性腺激素检查.....	97
第十四节 尿液 Tamm-Horsfall 蛋白测定.....	99
第十五节 尿液 $\alpha_1$ -微球蛋白测定.....	100
第十六节 尿液纤维蛋白降解产物检查.....	100
第十七节 尿乳糜液和脂肪检查.....	100
第十八节 其他化学物质检查.....	101
第十章 尿液分析仪及其临床应用.....	103
第一节 尿干化学分析仪.....	103
第二节 尿有形成分分析仪.....	108

第三节 方法学评价.....	110
第十一章 粪便检验.....	111
第一节 标本采集.....	111
第二节 理学检查.....	112
第三节 化学检验.....	113
第四节 显微镜检查.....	115
第五节 粪便检验的质量控制.....	117
第十二章 脑脊液检验.....	118
第一节 标本采集与处理.....	118
第二节 理学检查.....	119
第三节 显微镜检查.....	120
第四节 化学与免疫学检查.....	122
第五节 病原生物学检查.....	125
第六节 质量控制与临床应用.....	125
第十三章 浆膜腔积液检验.....	128
第一节 胸腔、腹腔和心包腔积液检查.....	128
第二节 关节腔积液检查.....	134
第十四章 精液检查.....	137
第十五章 前列腺液检查.....	142
第十六章 阴道分泌物检查.....	143
第十七章 羊水检查.....	146
第十四章 免疫学检验.....	149
第一节 免疫原和抗血清制备.....	149
第二节 免疫佐剂.....	149
第十五章 单克隆抗体与基因工程抗体的制备.....	150
第一节 杂交瘤技术的基本原理.....	150
第十六章 凝集反应.....	151
第一节 凝集反应的特点.....	151
第二节 直接凝集反应.....	151
第三节 间接凝集反应.....	152
第四节 抗球蛋白试验.....	152
第十七章 沉淀反应.....	153
第一节 沉淀反应的特点.....	153
第二节 液体内沉淀试验.....	153
第三节 凝胶内沉淀试验.....	154
第四节 免疫电泳技术.....	154
第十八章 放射免疫技术.....	155
第一节 放射免疫技术(RIA).....	155
第二节 免疫放射分析(IRMA).....	155
第十九章 荧光免疫技术.....	156
第一节 有关荧光的基本知识.....	156

第二节	荧光免疫分析的类型.....	157
第二十章	酶免疫技术.....	157
第一节	酶免疫技术的特点.....	157
第二节	酶联免疫吸附试验.....	159
第二十一章	化学发光免疫分析技术.....	160
第一节	概述.....	160
第二节	化学发光剂.....	160
第二十二章	生物素-亲和素免疫放大技术.....	161
第一节	生物素理化性质与标记.....	161
第二十三章	固相膜免疫测定.....	162
第一节	概述.....	162
第二节	免疫金标记技术.....	163
第三节	膜载体免疫测定的种类与原理.....	163
第二十四章	免疫细胞的分离及其表面标志检测技术.....	164
第一节	免疫细胞的分离.....	164
第二节	淋巴细胞表面标志的检测.....	165
第二十五章	免疫细胞功能检测技术.....	166
第一节	淋巴细胞的功能检测.....	166
第二节	吞噬细胞功能检测技术.....	166
第三节	免疫细胞功能检测的临床应用.....	166
第二十六章	细胞因子与细胞粘附因子的测定.....	167
第一节	细胞因子的概述.....	167
第二节	细胞因子测定方法及应用.....	167
第二十七章	免疫球蛋白检测及应用.....	167
第一节	血清 IgG、IgA、IgM 测定.....	167
第二节	血清 IgD、IgE 测定.....	168
第三节	异常免疫球蛋白的检测及临床意义.....	168
第二十八章	补体检测及应用.....	169
第一节	补体系统的组成和性质.....	169
第二节	补体系统的生物活性.....	169
第三节	补体总活性测定.....	170
第四节	补体结合试验.....	171
第五节	单个补体成分测定.....	171
第二十九章	免疫检验自动化仪器分析.....	171
第一节	自动化免疫浊度分析系统.....	171
第二节	自动化学发光免疫分析系统.....	173
第三十章	临床免疫检验的质量保证.....	173
第一节	概述.....	173
第二节	免疫检验的质量控制原则.....	174
第三十一章	感染性疾病与感染免疫检测.....	175
第三十二章	超敏反应性疾病及免疫学检测.....	177

第一节	I型超敏反应.....	177
第二节	II型超敏反应.....	178
第三节	III型超敏反应.....	179
第四节	IV型超敏反应.....	180
第三十三章	自身免疫性疾病及其免疫检测.....	181
第一节	概述.....	181
第二节	自身免疫疾病与免疫损伤.....	181
第三节	常见的自身免疫性疾病.....	182
第四节	常见自身免疫性疾病的自身抗体检测.....	182
第三十四章	免疫增殖性疾病及其免疫检测.....	184
第一节	免疫增殖性疾病的概念及分类.....	184
第二节	免疫增殖性疾病的免疫损伤机制.....	184
第三节	常见免疫球蛋白增殖病.....	185
第四节	免疫球蛋白异常增生常用的免疫检测.....	186
第三十五章	免疫缺陷性疾病及其免疫检验.....	187
第一节	免疫缺陷病的分类和特点.....	187
第二节	原发性免疫缺陷病.....	188
第三节	继发性免疫缺陷病.....	189
第四节	获得性免疫缺陷综合征.....	189
第五节	免疫缺陷病的实验室检测.....	190
第三十六章	肿瘤免疫与免疫学检验.....	192
第一节	肿瘤抗原.....	192
第二节	机体抗肿瘤的免疫学效应机制.....	192
第二节	肿瘤免疫学检验.....	193
第三十七章	移植免疫及其免疫检测.....	195
第一节	引起排斥反应的靶抗原.....	195
第二节	排斥反应的种类及发生机制.....	195

# 《临床检验学》

## 第一章 血液样本采集和血涂片制备

### 第一节 血液生理概要

#### (一) 血液的组成

血液由血细胞（红细胞、白细胞、血小板）和血浆组成。离体后血液自然凝固，分离的淡黄色透明液体称为血清。血液加抗凝剂后分离出来的淡黄色液体称为血浆。血清与血浆差别是：血清缺少某些凝血因子，如凝血因子 I（纤维蛋白原）、II（凝血酶原）、V、VIII等。

全血适用于临床血液学检查，如血细胞计数、分类和形态学检查等。血浆适用于血浆生理性和病理性化学成分的测定，特别是内分泌激素测定；血浆除钙离子外，含有其他全部凝血因子，也适用于血栓与止血的检查。血清适用于临床化学和临床免疫学检查。

#### (二) 血液理化性质

1. 血量：指存在于血液循环系统中全部血液的总量，相当于血浆量与血细胞量的总和。正常人血量约为  $70 \pm 10 \text{ ml / kg}$  体重，成人约 4~5L，约占体重的 6%~8%，其中血浆占 55%，血细胞占 45%。小儿血量与体重之比略高于成人，男性比女性血量稍多，但女性妊娠期间血量可增加 23%~25%。

2. 颜色：血液的红色来自红细胞内血红蛋白。动脉血氧合血红蛋白含量较高，呈鲜红色；静脉血还原血红蛋白含量高，呈暗红色。严重贫血者血液红色变浅。严重 CO 中毒或氰化物中毒者血液呈樱红色。餐后，尤其是高脂膳食后，血浆呈乳白色。溶血患者血浆呈红色。

3. 酸碱度：随人体饮食中摄入的酸性或碱性物质、体内代谢产生的酸性物质，如乳酸、乙酰乙酸、 $\beta$ -羟丁酸、 $\text{H}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{H}_2\text{SO}_4$  等影响，血液 pH 波动在很小范围内。正常人血液 pH 为 7.35~7.45，动脉血 pH 7.40，静脉血 pH 为 7.35。

#### 4. 比密和渗透量

(1) 血液比密：正常男性约为 1.055~1.063，女性约为 1.051~1.060，相对粘度为 4~5；血浆比密约为 1.025~1.030；血细胞比密约为 1.090。血液比密与红细胞含量、红细胞内血红蛋白含量有关。血浆比密和血浆内蛋白浓度有关。

(2) 血浆渗透量：正常人约为  $290 \sim 310 \text{ mOsm / kg} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 。

#### (三) 血液特性

1. 红细胞的悬浮稳定性：正常人血液中红细胞呈均匀混悬状态。与红细胞膜表面的唾液酸根（形成 Zeta 电位使红细胞间相互排斥保持一定距离）、正常血浆成分、血浆粘度及血流动力学等因素有关。

2. 粘滞性：正常人全血粘度约为生理盐水粘度的 4~5 倍，血浆粘度约为生理盐水粘度的 1.6 倍。血液粘度与血细胞比容和血浆粘度有关。其中，血浆粘度受血浆中纤维蛋白原、球蛋白等大分子蛋白质的影响，它们的浓度越高，血浆粘度越高。此外，血管内壁和血流动力学因素亦可影响血液粘度。

3. 凝固性：通常，血液从血管取出后，在数分钟内便自行凝固，是凝血因子激活的结果。

#### （四）血液生理功能

1. **运输功能**：可将自肺部吸入的氧气和自消化道吸收的各种营养成分（如葡萄糖、氨基酸、矿物质等），经过血液运输到全身各个脏器和组织，同时将各个脏器和组织产生的各种代谢产物（如 CO<sub>2</sub>、尿素等），通过血液输送到肺、肾等排泄器官排出体外。

2. **协调功能**：将各种激素、酶类运输到相关组织器官，实现对全身各组织器官功能活动的协调。

3. **维持机体内环境稳定**：通过循环与身体各部位广泛沟通，对体内水电解质平衡、酸碱平衡、体温恒定有重要作用，使机体保持一个适宜而稳定的理化环境。

4. **防御功能**：白细胞、抗体、补体、细胞因子具有强大免疫功能。血小板、凝血因子具有止血和凝血作用。

## 第二节 采血方法

血样本的正确采集是获得准确、可靠实验结果的关键。在样本采集前，应根据实验要求，决定采血方法、所需血量及适用抗凝剂。

本节要点：

- （1）静脉采血法
- （2）皮肤采血法
- （3）真空采血法
- （4）方法学评价
- （5）质量控制

### （一）静脉采血法



1. 概述：静脉采血多采用位于体表的浅静脉，通常采用肘部静脉、手背静脉、内踝静脉或股静脉。小儿可采颈外静脉血液。根据采血量可选用不同型号注射器，配备相应的针头。某些特殊检查，为避免血小板激活，要使用塑料注射器和硅化处理后的试管或塑料试管。

## 2. 操作方法和注意事项

(1) 患者准备：采血前应向患者耐心解释，以消除疑虑和恐惧心理。如个别患者进针时或采血后发生眩晕，应让其平卧休息。必要时可嗅吸芳香氨酊、针刺（或指压）人中和合谷等穴位。若因低血糖诱发眩晕，可立即静脉注射葡萄糖或让患者口服糖水。如有其他情况，应找医生共同处理。

(2) 检查注射器：静脉采血前要仔细检查针头是否安装牢固，针筒内是否有空气和水分。所用针头应锐利、光滑、通气，针筒不漏气。

(3) 消毒：先用 30g/L 碘酊棉签自所选静脉穿刺处从内向外、顺时针方向消毒皮肤，待碘酊挥发后，再用 75%乙醇棉签以同样方法拭去碘迹。

(4) 穿刺：以左手拇指固定静脉穿刺部位下端，右手拇指和中指持注射器针筒，食指固定针头下座，使针头斜面和针筒刻度向上，沿静脉走向使针头与皮肤成 30°角斜行快速刺入皮肤，然后以 5°角向前穿破静脉壁进入静脉腔。见回血后，将针头顺势探入少许，以免采血时针头滑出；但不可用力深刺，以免造成血肿，同时立即去掉压脉带。

(5) 抽血：针栓只能外抽，不能内推，以免静脉内注入空气形成气栓，造成严重后果。

(6) 放血与混匀：取下注射器针头，将血液沿试管壁缓缓注入抗凝管中，防止溶血和泡沫产生。

## (二) 皮肤采血法

1. 概述：曾被称为毛细血管采血法，是采集微动脉、微静脉和毛细血管的混合血，同时含细胞间质和细胞内液。通常，选择耳垂或手指部位。耳垂采血痛感较轻、操作方便，但血循环较差、受气温影响较大、检查结果不够恒定（如红细胞、白细胞、血红蛋白和红细胞比容等测定结果比手指血或静脉血高），一般情况下不宜使用。手指采血操作方便，检查结果比较恒定，世界卫生组织（WHO）推荐采集左手无名指指端内侧血液，婴幼儿可采集大拇趾或足跟内外侧缘血液，严重烧伤患者，可选择皮肤完整处采血。

目前可用激光无痛采指血仪采血，原理是仪器中激光发生器发出一串单脉冲激光束，在一次性耗材（镜头片）的配合下，细微的光束打在手指上，在很短时间内使皮肤组织溶解、挥发，出现一个小孔，而打孔后的残留物成等离子状态，吸附在镜头片表面。仪器采血有效地避免了皮肤浅层组织液、细胞外液等渗入血液，确保检测结果准确，同时也可消除交叉感染，达到无痛采血的效果。

## 2. 操作方法和注意事项

(1) 所选择采血部位的皮肤应完整，无烧伤、冻疮、发绀、水肿或炎症等。除特殊情况外，不要耳垂采血。

(2) 本试验具有创伤性，必须严格按无菌技术操作，防止采血部位感染，做到一人一针一管，避免交叉感染，最好用一次性器材。

(3) 皮肤消毒后，应待 75%乙醇挥发后采血，否则流出的血液扩散而不成滴。

(4) 采血时，先应按摩左手中指或无名指指端内侧，使局部组织自然充血。针刺深度 2~3mm。

(5) 因第 1 滴血混有组织液，应擦去。如血流不畅切勿用力挤压，以免造成组织液混入，影响结果的准确性。

(6) 进行多项检查时，采血的顺序依次为血小板计数、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数、血型鉴定等。

### (三) 真空采血法

又称为负压采血法。真空采血装置有套筒式、头皮静脉式两种。封闭式采血无需容器之间的转移，减少了溶血现象，能有效保护血液有形成分，保证待验样本原始性状的完整性，使检验结果更可靠，同时，样本转运方便，能有效避免医护人员和患者间交叉感染。各种真空定量采血容器，根据需要标有不同的色码，适于不同检验项目（表 1-1-1）。

### (四) 方法学评价

1. 皮肤采血：缺点是易于溶血、凝血、混入组织液，而且局部皮肤揉擦、针刺深度不一、个体皮肤厚度差异等都影响检查结果，所以，皮肤采血检查易发生凝块，结果重复性差、准确性不好。

2. 静脉采血：开放式采血法的操作环节多、难于规范统一，在移液和丢弃注射器时可能造成血液污染。封闭式采血法的操作规范，有利于样本收集运送和保存，防止院内源性传染病。

### (五) 质量控制

1. 患者：患者活动情况、精神状态、药物、年龄、性别、种族、样本采集时间、吸烟、季节等都会影响检测结果。如正常人一日之间，白细胞数、嗜酸性粒细胞数、血小板数等均有一定的波动。

2. 采血：采血前，患者应尽量减少运动保持平静。住院患者应在早晨卧床时取血。冬天，患者从室外进入室内，应等其暖和后再采血。止血带结扎时间超过 2 分钟，大静脉血流受阻而使毛细血管内压增高，血管内液与组织液交流，使分子质量 < 5000 的物质逸入组织液，或缺氧引起血液成分的变化，使检查结果增高或减低。

3. 溶血：血细胞内、外各种成分有梯度差，有的成分相差数 10 倍（表 1-1-2），故在采集、运输、保管、分离血细胞时应尽量避免溶血。因容器不洁、接触水、强力振荡、操作不慎等可引起溶血，使红细胞计数、血细胞比容、血浆或血清化学成分（如钾、镁、转氨酶、胆红素）等多项指标检验结果增高或减低，不能确切反映原始标本的实际含量。

4. 样本处理：血液样本采集后应立即送检，并尽快进行检查，样本保存不当直接影响实验结果。血浆在 4℃ 保存 24h 后，某些凝血因子活性减少 95%。低温（4℃）保存血液可使血小板计数结果减低。因此，应根据实验项目确定最佳的保存条件。

5. 结果分析：分析结果时，应考虑药物、饮食等因素对结果的影响。同时，应密切结合临床。如患者有严重腹泻或呕吐时，红细胞计数可因脱水而相对性增高。

### 第三节 抗凝剂选择

#### 抗凝剂选择

抗凝是用物理或化学方法除去或抑制血液中的某些凝血因子的活性，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。

#### 一、常用抗凝剂和使用方法如下

1. 乙二胺四乙酸（EDTA）盐：常用有钠盐（EDTA- $\text{Na}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ）或钾盐（EDTA- $\text{K}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ），能与血液中钙离子结合成螯合物，使  $\text{Ca}^{2+}$  失去凝血作用，阻止血液凝固。根据国际血液学标准化委员会（ICSH）建议，CBC 抗凝剂用量为 EDTA- $\text{K}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，量为 1.5~2.2mg / ml 血液。不适于凝血检查、血小板功能试验。

2. 草酸盐：常用有草酸钠、草酸钾、草酸铵，溶解后解离的草酸根离子能与样本中钙离子形成草酸钙沉淀，使  $\text{Ca}^{2+}$  失去凝血作用，阻止血液凝固。2mg 草酸盐可抗凝 1ml 血液。但不适于凝血检查。而且，草酸盐浓度过高还会导致溶血、改变血液 pH，干扰血浆钾、钠、氯和某些酶活性的测定。

双草酸盐抗凝剂：适用于血细胞比容、CBC、网织红细胞计数等检查，不适于血小板计数、白细胞分类计数。

3. 肝素：是加强抗凝血酶 III（AT-III）灭活丝氨酸蛋白酶作用，阻止凝血酶的形成，并阻止血小板聚集等作用，从而阻止血液凝固。肝素是红细胞透渗脆性试验的理想抗凝剂。但不适于 CBC、细胞形态学检查。每毫升血液肝素用量为（15±2.5）U，多为肝素钠盐或钾盐。

4. 枸橼酸盐：常用有枸橼酸钠，能与血液中钙离子结合形成螯合物，阻止血液凝固。枸橼酸盐抗凝剂的抗凝力不如上述抗凝剂。枸橼酸钠与血液的抗凝比例为 1：9 或 1：4。适用于红细胞沉降率、凝血检查，是输血保养液的成分。

### 第四节 血涂片制备

#### 一、玻片的清洁

新载玻片常带有游离碱质，必须以  $1\text{mol/L}$  HCl 浸泡，清洗。载玻片应清洁、干燥、中性、无油腻。

## 二、血涂片的制备

1. 手工推片法：影响涂片厚薄的因素有：血滴大小、推片与载玻片间夹角（ $25^\circ - 30^\circ$ ）、推片速度、血细胞比容。一张良好的血片，应厚薄适宜、头体尾明显、细胞分布均匀、血膜边缘整齐、并留有一定空隙。

2. 载玻片压拉法：适用于血细胞活体染色。

3. 棕黄层涂片法：适用于白细胞减低患者的白细胞分类计数、红斑狼疮细胞检查等。

一般良好的涂片是：厚薄适宜，头体尾分明，细胞分布均匀，边缘整齐，两边和两端留有空隙各  $0.3\text{cm}$  和  $0.5\text{cm}$ ，血膜占血片的  $2/3$ 。

## 第五节 细胞染色

血涂片在用光学显微镜观察前需要固定和染色。固定是将细胞蛋白质和多糖等成分迅速交联凝固，以保持细胞原有形态结构不发生变化。染色是使细胞的主要结构，如细胞膜、细胞质、细胞核等染上不同的颜色，以便于镜下观察识别。

血涂片染色方法大多源自罗氏染色法，常用瑞氏染色法、姬姆萨染色法。

### 一、瑞氏染色法

#### 1. 瑞氏染料

由酸性染料伊红（E<sup>-</sup>）和碱性染料亚甲蓝（M<sup>+</sup>）组成。伊红通常为钠盐，有色部分为阴离子。亚甲蓝（又名美蓝）为四甲基硫堇染料，有对醌型和邻醌型两种结构。通常为氯盐，即氯化美蓝，有色部分为阳离子。美蓝容易氧化为一、二、三甲基硫堇等次级染料（即天青）。将适量伊红、美蓝溶解在甲醇中，即为瑞氏染料。**甲醇的作用：一是溶解美蓝和伊红；二是固定细胞形态。**

#### 2. 染色原理

既有物理的吸附作用，又有化学的亲和作用。各种细胞成分化学性质不同，对各种染料的亲和力也不一样。如血红蛋白、嗜酸性颗粒为碱性蛋白质，与酸性染料伊红结合，染粉红色，称为嗜酸性物质；细胞核蛋白、淋巴细胞、嗜碱性粒细胞胞质为酸性，与碱性染料美蓝或天青结合，染紫蓝色或蓝色，称为嗜碱性物质；中性颗粒呈等电状态与伊红和美蓝均可结合，染淡紫红色，称为嗜中性物质、原始红细胞、早幼红细胞胞质、核仁含较多酸性物质，染成较浓厚的蓝色；中幼红细胞既含酸性物质，又含碱性物质，染成红蓝色或灰红色；完全成熟红细胞，酸性物质彻底消失后，染成粉红色。

#### 3. pH 的影响（ $\text{pH}6.4 \sim \text{pH}6.8$ ）

细胞各种成分均属蛋白质，因蛋白质系两性电解质，所带电荷随溶液 pH 而定，在偏酸性环境中正电荷增多，易与伊红结合，红细胞和嗜酸性粒细胞染色偏红，细胞核呈淡蓝色或不染色；在偏碱性环境中负电荷增多，易与美蓝结合，所有细胞呈灰蓝色，颗粒呈深暗，嗜酸性颗粒呈暗褐，甚至棕黑色，中性颗粒偏粗，呈紫黑色。稀释染液必须用缓冲液，冲洗用水应近中性，否则可导致细胞染色呈色异常，形态难以识别，甚至错误。

#### 4. 染色方法和注意事项

- (1) 血涂片干透后固定，否则细胞在染色过程中容易脱落。
- (2) 冲洗时应以流水冲洗，不能先倒掉染液，以防染料沉着在血涂片上。冲洗时间不能过久，以防脱色。如血涂片上有染料颗粒沉积，可滴加甲醇，然后立即用流水冲洗。
- (3) 染色过淡可以复染，复染时应先加缓冲液，然后加染液。染色过深可用流水冲洗或浸泡，也可用甲醇脱色。
- (4) 瑞氏染色 I 液由瑞氏染料、甲醇（AR 级以上）和甘油组成，II 液为磷酸盐缓冲液（pH6.4~pH6.8）。

## 二、姬姆萨染色法

### 1. 染色原理

姬姆萨染液由天青、伊红组成。染色原理和结果与瑞氏染色基本相同。

### 2. 染色方法和注意事项

- ①需先用甲醇固定 3~5 分钟。
- ②姬姆萨染液由姬姆萨染料、甘油和甲醇组成。染色前，用磷酸盐缓冲液（pH6.4~pH6.8）稀释姬姆萨染液 10~20 倍。

## 第六节 方法学评价

### 一、血涂片制备

手工推片法用量少、操作简单，是应用最广泛的方法。棕黄层涂片法可提高异常情况的阳性检出率。此外，疟原虫、微丝蚴等检查可采用厚血涂片法。离心涂片法，可获得分布均匀、形态完好的细胞涂片。

### 二、血液细胞染色

瑞氏染色法是最经典、最常用染色法，尤其对于细胞质成分、中性颗粒等可获得很好的染色效果，但对细胞核的着色能力略差。姬姆萨染液对细胞核、寄生虫（如疟原虫等）着色较好，结构更清晰，但对细胞质成分的着色能力略差。采用瑞氏-姬姆萨复合染液可使细胞胞质、颗粒、胞核等均获得满意的染色效果。

瑞氏染料的质量规格用吸光度比值（rA）来评价，rA 测定方法：取瑞氏染液 15~25  $\mu$ l，加甲醇 10ml 稀释，混匀，以甲醇为空白管，分别在波长 650nm（美蓝吸收峰波长）、525nm（伊红吸收峰波长）测定吸光度（ $rA=A_{650}/A_{525}$ ）。新配制染料 rA 接近 2，随美蓝逐渐氧化为天青 B（其吸收峰为 650nm，吸光度约为美蓝一半），rA 也下降，降到  $1.3 \pm 0.1$  时，染料即可使用。新鲜配制的染料偏碱，须在室温或是 37℃ 下贮存一定时间，待美蓝逐渐变为天青 B，贮存时间愈久，染色效果愈好。在贮存过程中，必须加塞，以防甲醇挥发（如加甘油）和氧化成甲酸，所用甲醇须为 AR 级，若其中含过多丙酮，会使染色偏酸，白细胞着色不良。

## 第七节 质量控制

### 一、血涂片制备

制备涂片时，血滴愈大、角度愈大、推片速度愈快，血膜愈厚，反之则愈薄。血细胞比容增高、血液粘度较高时，应采用小血滴、小角度、慢推，可得满意结果；血细胞比容减低、血液较稀时，应采用大血滴、大角度、快推。

### 二、血液细胞染色

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。过深纠正方法是缩短染色时间、稀释染液、调节 pH，过浅纠正方法是延长染色时间、调节 pH。

## 第二章 红细胞检查

### 第一节 概要

#### （一）红细胞生理

红细胞是血液中数量最多的有形成分，起源于骨髓造血干细胞，在红细胞生成素作用下，经红系祖细胞阶段，分化为原红细胞，经数次有丝分裂发育为早幼、中幼和晚幼红细胞。晚幼红细胞通过脱核成为网织红细胞，这一过程在骨髓中进行，约需 72h。网织红细胞经约 48h 成完全成熟的红细胞，释放入血液，平均寿命约 120d，衰老红细胞主要在脾破坏，分解为铁、珠蛋白和胆红素。

一方面，红细胞衰老过程中细胞内酶活性减低、膜生理功能所需能量减少、膜脂质成分发生变化，使红细胞膜变形性减低、脆性增加，使红细胞容易被脾脏“阻滞”而吞噬、破坏；另一方面，衰老红细胞膜表面所带负电荷减少、红细胞间排斥效应减低、易于聚集、体积增大，使红细胞容易被脾脏“阻滞”而吞噬、破坏。

红细胞生理功能是通过胞内的血红蛋白来实现的。红细胞有交换和携带气体的功能。红细胞经过肺部时，肺泡中氧气经肺泡壁、毛细血管壁进入红细胞内，与红细胞内血红蛋白结合，随血液被带到各组织；同时，将组织代谢产生的二氧化碳与血红蛋白结合，经血流带回肺部，经肺泡排出体外。如此往复，使全身组织能及时、充分地得到代谢所需的氧气，并排出体内多余的二氧化碳。

#### （二）血红蛋白

血红蛋白（Hb 或 HGB）分子是一种微红色的胶体物质，相对分子质量为 64458，是一种呼吸载体，每克血红蛋白可携带 1.34ml 氧，成人约含 600g 血红蛋白，可携约 800ml 氧。研究发现，红细胞内充满小颗粒，最小直径约 6.5nm，相当于 1 个血红蛋白分子，颗粒分布：近红细胞膜处最多，细胞中央最少，与红细胞有生理性中央淡染区现象完全一致。

### 1. 血红蛋白分子结构及成分

血红蛋白分子是有核红细胞、网织红细胞内形成的一种含色素蛋白质。色素部分为亚铁血红素，蛋白质部分为珠蛋白。亚铁血红素由原卟啉、铁组成，受  $\delta$ -氨基- $\gamma$  酮戊酸合成酶、血红素和  $\text{Fe}^{2+}$  的调节。 $\text{Fe}^{2+}$  位于卟啉环中心，有 6 个配位键，4 个配位键与原卟啉分子的 4 个氮原子相连，第 5 个配位键与珠蛋白肽链 F 肽段咪唑基相连，第 6 个配位键为空缺，能可逆地与氧结合，完成运氧功能。

珠蛋白肽链分为  $\alpha$ 、 $\beta$  两类：①  $\alpha$  类链包括： $\alpha$ 、 $\xi$  (zeta) 和  $\theta$  (theta) 链；②  $\beta$  类链包括： $\beta$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$  和  $\epsilon$  (epsilon) 链。 $\alpha$  链由 141 个氨基酸组成， $\beta$  链由 146 个氨基酸组成。每个 Hb 分子由 2 条  $\alpha$  类肽链和 2 条  $\beta$  类肽链组成，每条珠蛋白肽链含有 1 个亚铁血红素。在正常情况下，99% Hb 的铁原子呈  $\text{Fe}^{2+}$  状态，称为还原 Hb，1% 呈  $\text{Fe}^{3+}$  状态，称为高铁血红蛋白，只有  $\text{Fe}^{2+}$  状态的 Hb 才能与氧结合，称为氧合血红蛋白。

### 2. 血红蛋白的合成

血红蛋白的合成受激素的调节，一类是红细胞生成素，可促进  $\delta$ -氨基- $\gamma$  酮戊酸生成和铁的吸收，从而促进血红素、Hb 的合成；二类是雄激素，睾酮在肝脏内由 5- $\beta$  还原酶转变为 5- $\beta$  氢睾酮，能促进  $\delta$ -氨基- $\gamma$  酮戊酸合成酶、红细胞生成素的生成。合成过多时，血红素自发氧化为高铁血红素，高铁血红素能直接抑制  $\delta$ -氨基- $\gamma$  酮戊酸合成酶，阻止  $\delta$ -氨基- $\gamma$  酮戊酸合成酶生成，以减少血红素合成。

在人体生长各期，Hb 种类与比例不同。在胚胎发育早期，约妊娠第 5 周， $\zeta$  与  $\epsilon$  基因表达于卵黄囊的成红细胞中，形成个体发育中第一个有功能的胚胎期血红蛋白： $\zeta_2\epsilon_2$  (Hb Gower I)；妊娠第 6 周，成红细胞开始由卵黄囊游移到肝脏， $\zeta$  表达水平显著减低， $\alpha$  和  $\gamma$  基因开始表达，形成 Hb Gower I ( $\zeta_2\epsilon_2$ )、Hb Gower II ( $\alpha_2\epsilon_2$ )、Hb Portland ( $\zeta_2\epsilon_2$ ) 和 HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) 等胚胎期血红蛋白；妊娠第 8 周， $\zeta$  和  $\epsilon$  链逐渐消失， $\gamma$  链合成达到最高峰， $\beta$  链开始合成，形成 HbA ( $\alpha_2\beta_2$ )；妊娠第 36 周， $\beta$  链合成迅速增加， $\gamma$  链合成速率减低；刚出生时， $\beta$  链与  $\gamma$  链合成量大致相等；出生后 3 个月， $\beta$  链合成继续增加， $\gamma$  链合成迅速减低，HbA 逐步占 Hb 总量 95% 以上，而 HbF 逐步降至 1% 以下。 $\delta$  链开始合成时间不很清楚，出生后 HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) 占 Hb 总量的 2%~3%。

### 3. 血红蛋白的代谢

血红蛋白降解产物为珠蛋白和血红素。珠蛋白由蛋白酶、肽酶分解为氨基酸，进入氨基酸代谢，可再参与蛋白质、多肽合成或转变成其他含氮物质；血红素中铁由单核-吞噬细胞系统处理，与运铁蛋白结合进入铁代谢库，珠蛋白经一系列蛋白酶和肽酶作用分解为内源性氨基酸，与外源性氨基酸混在一起，进入氨基酸代谢，再参与合成蛋白质、多肽、其他含氮物。

## 第二节 红细胞计数

### 一、检测原理（基础知识，专业知识，掌握）

1. 手工显微镜法：用等渗稀释液将血液稀释一定倍数，充入血细胞计数池，在显微镜下计数一定体积内的红细胞数，经换算求出每升血液中红细胞数量。

2. 血液分析仪法：用电阻抗和（或）光散射原理。

### 二、方法学评价（专业知识，专业实践能力）

1. 手工显微镜法：是传统方法，不需要特殊设备，但操作复杂、费时。但可作为：①对照核实仪器法白细胞减少或血小板减少的情况；②受小红细胞干扰的血小板计数结果的校正。

2. 血液分析仪法：是常用方法，比手工法精确（如电阻抗计数法的变异系数为 2%，手工法则 >11%），且操作简便、快速。当白细胞数量明显增高时，会干扰红细胞计数和体积测定而产生误差。

### 三、质量控制（专业知识，专业实践能力）

1. 手工法：误差原因为：①样本：血液发生凝固；②操作：稀释、充池、计数不规范；③器材：微量吸管、计数板不标准；④固有误差（计数域误差）。

(1) 标本：血液发生凝固，使细胞计数减少或分布不均。

(2) 操作：稀释、充池、计数不规范。

(3) 器材：微量吸管、计数板不标准。

(4) 固有误差（计数域误差）：估计细胞计数的 95% 可信限和变异系数。

2. 仪器法：仪器应严格按规程操作，并定期进行室内和室间质控。

### 四、参考值（相关专业知识，专业实践能力）

1. 参考值：成年男性  $(4\sim 5.5) \times 10^{12} / L$ ；成年女性  $(3.5\sim 5.0) \times 10^{12} / L$ ；新生儿  $(6.0\sim 7.0) \times 10^{12} / L$ 。

2. 医学决定水平：高于  $6.8 \times 10^{12} / L$ ，应采取治疗措施；低于  $3.5 \times 10^{12} / L$ ，为诊断贫血界限，应寻找病因；低于  $1.5 \times 10^{12} / L$  应考虑输血。

### 五、临床意义（相关专业知识，专业实践能力，掌握）

1. 生理性变化

(1) 年龄与性别的差异：新生儿，由于出生前处于生理性缺氧状态，故红细胞明显增高，较成人约增加 35%，出生 2 周后逐渐下降，2 个月婴儿约减少 30%。男性在 6~7 岁时最低，随年龄增大而逐渐上升，25~30 岁达到高峰，30 岁后随年龄增大而逐渐下降，直到 60 岁尚未停止。

女性也随年龄增大而逐渐上升，13~15 岁达到高峰，随后受月经、内分泌等因素影响而逐渐下降，21~35 岁维持最低水平，以后随年龄增大而逐渐上升，与男性水平相当。红细胞计数男女在 15~40 岁期间差别明显，主要是男性雄性激素水平较高，其中睾酮有促进红细胞造血的作用。

(2) 精神因素：感情冲动、兴奋、恐惧、冷水浴刺激等可使肾上腺素增多，导致红细胞暂时增多。

(3) 剧烈体力运动和劳动：安静时全身每分钟耗氧 0.3~0.4L，运动时可达 2~2.5L，最高可达 4~4.5L，因需氧量增加，使红细胞生成素生成增加、骨髓加速释放红细胞，导致红细胞增多。

(4) 气压减低：高山地区居民和登山运动员因大气稀薄、氧分压低，在缺氧刺激下，红细胞代偿性增生，骨髓产生更多红细胞，导致红细胞增高。高海拔人群约增加 14%。

(5) 妊娠和老人：妊娠中、后期，为适应胎盘循环需要，通过神经、体液调节，孕妇血浆容量明显增加使血液稀释，导致红细胞减少，妊娠约减少 16%。老年人因造血功能明显减退，导致红细胞减少。



## 2. 红细胞和血红蛋白量减少

见于临床上各种原因的贫血。通过红细胞计数、血红蛋白测定或血细胞比容测定可诊断贫血，明确贫血程度。贫血原因分析应结合体检和进一步检查。按病因将贫血分成：

### (1) 造血原料不足

(A) 缺铁，铁是制造血红蛋白的原料，铁供应或吸收不足，原料不足使铁重新利用率减少、血红蛋白合成量减少。

(B) 铁失利用，例如，如铁粒幼细胞贫血（红细胞小、中心淡染区扩大、血清铁和贮存铁增加、幼稚细胞核周有铁颗粒）或先天性或后天性红细胞酶缺陷者铁不能被利用、堆积在细胞内外，使发育中细胞的功能障碍，红细胞过早死亡所致。再如，某些药物，如异烟肼、硫唑嘌呤等。继发于某些疾病，如类风湿性关节炎、白血病、甲状腺功能亢进、慢性肾功能不全、铅中毒等。

### (2) 骨髓造血功能减退

骨髓造血机制破坏，如再生障碍性贫血、骨髓纤维化骨髓增生异常综合症；骨髓被肿瘤细胞侵占，如白血病、骨髓瘤、骨转移癌等。以及某些药物，如抗肿瘤药物、磺胺类药物、保泰松、有机砷、马利兰等可抑制骨髓造血功能；物理因素，如X线、钴、镭照射等可抑制骨髓造血功能；继发于其他疾病对骨髓的抑制，如慢性肾功能衰竭（因尿素、肌酐、酚、吡啶等物质潴留使骨髓造血功能受影响）。

### (3) 急性、慢性红细胞丢失过多

各种原因出血，如月经过多、消化性溃疡、痔疮、十二指肠钩虫病等。

### (4) 红细胞破坏过多（红细胞寿命缩短）

各种原因溶血，如输血溶血反应、蚕豆病、遗传性球形细胞增多症等。

## 3. 红细胞增多

### (1) 原发性红细胞增多

这是一种骨髓异常增生的疾病。

如真性红细胞增多症、良性家族性红细胞增多症等。真性红细胞增多症是一种原因不明红细胞异常增殖性疾病，红细胞计数在 $(7\sim 10)\times 10^{12}/L$ ，发生于40~70岁年龄组，其外周血红细胞明显增多、白细胞和血小板增高、有时伴慢性粒细胞性白血病。

### (2) 继发性红细胞增多

实际上是骨髓对缺氧的一种代偿或者是对骨髓的刺激。

①心血管病：各种先天性心血管疾病，如房室间隔缺损、法洛四联症。②肺部疾病：肺气肿、肺源性心脏病、肺纤维化、矽肺和各种引起肺气体交换面积减少。③异常血红蛋白病。④肾上腺皮质功能亢进（库欣病），可能与皮质激素刺激骨髓使红细胞生成偏高有关。⑤某些药物，如肾上腺素、糖皮质激素、雄激素等。

### (3) 相对性红细胞增多

是由于血液浓缩所致。

如呕吐、严重腹泻、多汗、多尿、大面积烧伤、晚期消化道肿瘤而长期不能进食等引起血液浓缩、血液中有形成分相对增多，多为暂时性增多。

## 六、操作方法

血细胞计数板（改良牛鲍计数板）：用优质厚玻璃制成。每块计数板由H形凹槽分为2个同样的计数池。计数池两侧各有一条支持柱，将特制的专用盖玻片覆盖其上，形成高

0.10mm 的计数池。计数池内划有长、宽各 3.0mm 的方格，分为 9 个大格，每个大格面积为  $1.0\text{mm}^2$ ，容积为  $0.1\text{mm}^3$  ( $\mu\text{l}$ )。

中央大方格用双线分成 25 个中方格，位于正中及四角的 5 个中方格是红细胞和血小板计数区域，每个中方格用单线分为 16 个小方格。四角的 4 个大方格是白细胞计数区域，用单线划分为 16 个中方格。

根据 1941 年国际标准局 (NBS) 规定，大方格每边长度允许误差为  $\pm 1\%$ ，即  $1 \pm 0.01\text{mm}$ ，盖玻片与计数池间隙深度允许误差为  $\pm 2\%$ ，即  $0.1 \pm 0.002\text{mm}$ 。

2. 盖玻片：是专用的玻璃盖片，要求表面平整光滑，两面平整度在  $0.002\text{mm}$  以内，盖玻片规格是  $24\text{mm} \times 20\text{mm} \times 0.6\text{mm}$ 。

3. 微量吸管：为一次性定量 ( $10$  或  $20 \mu\text{l}$ ) 毛细玻璃管采血，使用前须经水银称重法校正 (误差应  $\leq \pm 1\%$ )。使用后，应经  $2\text{g/L}$  过氧乙酸消毒 2 小时，然后依次用蒸馏水冲洗、95%乙醇脱水、乙醚干燥。

#### 4. 红细胞计数操作和注意事项

(1) 计数和计算：在  $2\text{ml}$  红细胞稀释液中加血  $10 \mu\text{l}$ ，混匀后，充入计数池，静置  $3 \sim 5\text{min}$  后，在高倍镜下，计数中央大方格内 4 角和正中 5 个中方格内的红细胞数。计数时需遵循一定方向逐格进行，以免重复或遗漏，对压线细胞采用数左不数右、数上不数下的原则。

计算公式为：

$$\text{红细胞/L} = N \times 25/5 \times 10 \times 10^6 \times 200 = N \times 10^{10} = N/100 \times 10^{12}.$$

N 表示 5 个中方格内数得红细胞数

$\times 25/5$ ：由 5 个中方格红细胞数，换算为一个大方格红细胞数

$\times 10$ ：由一个大方格红细胞数，换算为  $1 \mu\text{l}$  稀释血液内红细胞数

$\times 10^6$ ： $1\text{L} = 10^6 \mu\text{l}$

$\times 200$ ：为血液稀释倍数

(2) 清洁：应保证计数板和盖玻片清洁。操作时，勿接触计数板表面，以防污染。使用后，依次用 95%乙醇、蒸馏水棉球、清洁绸布擦净。

(3) 充池：需一次完成充池，如充池过少、过多或有气泡、继续充液，应重新操作，充池后不能移动盖玻片。红细胞在计数池中若分布不均，每个中方格间相差超过 20 个应重新充池，两次红细胞计数相差不得超过 5%。

(4) 计数板：改良计数板每年要鉴定 1 次，以免影响计数结果的准确性。

(5) 白细胞影响：通常白细胞总数较少，仅相当于红细胞的  $1/500 \sim 1/1000$ ，对结果影响很小，可以忽略不计。但白细胞过高者 ( $WBC > 100 \times 10^9 / L$ )，红细胞计数结果应进行校正。

方法有两种：一是直接将患者红细胞数减去白细胞数，二是在高倍镜下观察勿将白细胞计入，白细胞体积常比红细胞略大，中央无凹陷，细胞核隐约可见，无黄绿色折光。

(6) 红细胞稀释液：传统稀释液 (Hayem 液) 由 NaCl (氯化钠，调节渗透压)、 $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$  (结晶硫酸钠，提高比密防止细胞粘连)、 $HgCl_2$  (氯化高汞，防腐) 和蒸馏水组成。枸橼酸钠稀释液由枸橼酸钠 (抗凝和维持渗透压)、甲醛 (防腐和固定红细胞)、氯化钠 (调节渗透压) 和蒸馏水组成。普通生理盐水或加 1% 甲醛生理盐水。

### 第三节 血红蛋白测定

#### 一、检测原理

##### 1. 氰化高铁血红蛋白 (HiCN) 测定法

血液中除硫化血红蛋白 (SHb) 外的各种 Hb (如氧合血红蛋白、碳氧血红蛋白、高铁血红蛋白 (Hi) 或其他衍生物) 均可被高铁氰化钾氧化为高铁血红蛋白，再和 CN<sup>-</sup> 结合生成稳定的棕红色复合物——**氰化高铁血红蛋白**，其在 **540nm** 处有一吸收峰，用分光光度计测定该处的吸光度，**经换算**即可得到每升血液中的血红蛋白浓度，或通过制备的**标准曲线**查得血红蛋白浓度。

##### 2. 十二烷基硫酸钠血红蛋白 (SDS) 测定法

血液中除 SHb 外的各种 Hb 均可与低浓度 SDS 作用，生成 SDS-Hb 棕红色化合物，用分光光度计测定波峰 538nm 处吸光度，经换算可得到每升血液中的血红蛋白浓度。

#### 二、方法学评价

Hb 测定方法大致分为：①根据 Hb 分子组成测 Hb (全血铁法)；②根据血液物理特性测 Hb (比密法、折射仪法)；③根据 Hb 与  $O_2$  可逆性结合的特性测 Hb (血气分析法)，④根据 Hb 衍生物光谱特征定量测 Hb (比色法)。

1. **氰化高铁血红蛋白法 (HiCN)**：1966 年被 ICSH 推荐为参考方法。该法操作简单、显色快、结果稳定可靠、读取吸光度后可直接定值等优点。其致命的弱点是氰化钾 (KCN) 试剂有剧毒，使用管理不当可造成公害。

2. **十二烷基硫酸钠血红蛋白测定法 (SDS)**：该法操作简单、呈色稳定、准确性和精确性符合要求、无公害等优点。但由于摩尔消光系数尚未最后确认，不能直接用吸光度计算 Hb 浓度，而且 SDS 试剂本身质量差异较大会影响检测结果。

3. 叠氮高铁血红蛋白 (HiN<sub>3</sub>) 法: 该法优点与 HiCN 测定法相似、最大吸收峰在 542nm、显色快、结果稳定、试剂毒性仅为 HiCN 测定法的 1 / 7, 但仍存在公害问题。
4. 碱羟血红蛋白 (AHD 575) 测定法: 该法试剂简单、呈色稳定、无公害、吸收峰在 575nm、可用氯化血红素作为标准品。但仪器多采用 540nm 左右滤光板, 限制了此法使用。
5. 溴代十六烷基三甲胺 (CTAB) 血红蛋白测定法: 该法试剂溶血性强又不破坏白细胞, 适用于仪器上自动检测 Hb 和白细胞。缺点是测定结果的准确度和精密度不佳。
6. 沙利 (Sahli) 酸化血红蛋白法: 该法简单易行, 但重复性差、误差较大, 已被列为县以上医院淘汰的实验项目。
7. **血细胞分析仪**: 优点是操作简单、快速、同时可获得多项红细胞参数, 血红蛋白测定原理与手工法相似, 但由于各型仪器使用溶血剂不同, 形成 Hb 的衍生物不同。仪器须经 HiCN 标准液校正后才能使用。仪器法测定精度 (CV) 约为 1%。

### 三、质量控制

1. 样本: **异常血浆蛋白质、高脂血症、白细胞数超过  $30 \times 10^9 / L$ 、脂滴等可产生浊度, 干扰 Hb 测定。**
2. 采血部位: 部位不同, 结果不同, **静脉血比毛细血管血低 (10~15) %。**
3. 结果分析: 测定值假性增高的原因是稀释倍数不准、红细胞溶解不当、血浆中脂质或蛋白质质量增加。
4. HiCN 参考液: 是制备标准曲线、计算 K 值、校准仪器和其他测定方法的重要物质。ICSH 公布了制备方法和规格, 我国 HiCN 部级参考品质量标准为:
  - (1) 图形扫描波峰 540 ± 1nm, 波谷 504~502nm。
  - (2)  $A_{\lambda 540nm} / A_{\lambda 504nm} = 1.590 \sim 1.630$ 。
  - (3)  $A_{\lambda 750nm} \leq 0.002$ 。
  - (4) 无菌试验: 普通培养和厌氧培养阴性。
  - (5) 精密度: 随机抽样 10 支测定,  $CV \leq 0.5\%$ 。
  - (6) 准确度: 以 WHO HiCN 参考品为标准进行测定, 测定值与标示值之差  $\leq \pm 0.5\%$ 。
  - (7) 稳定性: 3 年内不变质, 测定值不变。
  - (8) 分装于棕色安瓿内, 每支不少于 10ml。
  - (9) 标签应写明产品名称、批号、含量、有效期、生产日期、贮存法等。

#### 5. 质控物

- (1) **ACD 抗凝全血**：4℃可保存 3~5 周，用于 RBC、Hb 和 WBC 质控。
- (2) **进口全血质控物**：用于多参数血细胞分析仪 RBC、Hb 和 WBC 质控。
- (3) **醛化半固定红细胞**：4℃可保存 50~60d，用于 RBC、Hb 质控。
- (4) **溶血液**：用于 Hb 质控。
- (5) **冻干全血**：可长期保存，用于 Hb 质控。

#### 四、参考值

成年男性 成年女性 新生儿

RBC (4.0-5.5) × 10<sup>12</sup>/L (3.5-5.0) × 10<sup>12</sup>/L (6.0-7.0) × 10<sup>12</sup>/L

Hb 120-170g/L 110-150g/L 170-200g/L

HCT 0.47 ± 0.04 0.42 ± 0.05

老年（70 岁以上）：男性 94.2~122.2g / L；女性 86.5~111.8g / L。

#### 五、临床意义

##### 1. 生理性变化

- (1) **年龄**：随年龄增长，Hb 可增高或减低，和红细胞变化相似。
- (2) **时间**：红细胞和血红蛋白量有日内波动，上午 7 时达高峰，随后下降。

##### 2. 病理性变化

血红蛋白测定临床意义和红细胞计数相似，但在**贫血程度的判断上优于红细胞计数**。需注意的是：

(1) 某些疾病，血红蛋白和红细胞浓度不一定能正确反映全身红细胞的总容量。如大量失血时，在补充液体前，虽循环血容量缩小，但血液浓度很少变化，从血红蛋白浓度来看，很难反映出存在贫血。如水潴留时，血浆容量增大，即使红细胞容量正常，但血液浓度减低，从血红蛋白浓度来看，已存在贫血，反之，失水时，血浆容量缩小，即使血液浓度增高，但红细胞容量减少，从血红蛋白浓度来看，贫血不明显。

(2) 发生大细胞性贫血或小细胞低色素贫血时，红细胞计数与血红蛋白浓度不成比例。大细胞性贫血的血红蛋白浓度相对偏高，小细胞低色素贫血的血红蛋白减低，但红细胞计数可正常。

#### 六、HiCN 法操作注意事项

1. 测定：在 5ml HiCN 转化液中，加血 20  $\mu$ l，充分混合，静置 5min 后，在波长 540nm 处，光径（比色杯内径）1.000cm，HiCN 转化液或蒸馏水调零，测定吸光度（A）。

2. 计算：

（1）直接按公式计算：

$$\text{Hb (g/L)} = \frac{A}{44} \times \frac{64458 (\text{mg})}{1000} \times 251 = A \times 367.7$$

A 是在 540nm 处 HiCN 的吸光度

64458mg 是 Hb 分子量

1000 是将毫克转换为克

251 血液稀释倍数

（2）绘制标准曲线：

采用 HiCN 参考液（50g/L、100g/L、150g/L、200g/L），在分光光度计上，波长 540nm 处，测定各种参考液的吸光度，以参考液血红蛋白含量为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，或求出换算常数 K（K=SHb/ SA）。根据样本吸光度从曲线上查出对应的 Hb，或用 K 值计算：

$$\text{Hb (g/L)} = K \times A。$$

3. HiCN 储存：棕色容器（在塑料容器中 CN<sup>-</sup>丢失，测定结果偏低），有塞。4℃ 保存数月，不能在 0℃ 保存，试剂失效。

4. 干扰：WBC 过高或球蛋白过高，干扰检测结果。解决办法：WBC 过高可先离心后取上清比色；球蛋白过高可在比色液中加入少量固体 NaCl 或碳酸钾，混匀后溶液澄清再比色。

5. 氰化钾试剂处理：废液先以水 1: 1 稀释，再加次氯酸钠 35ml/L，充分混匀，放置 15h 以上，使 CN<sup>-</sup>氧化成 CO<sub>2</sub> 和 N<sub>2</sub> 挥发，或水解成 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>，再排入下水道。废液不能和酸性溶液混合，否则产生剧毒氰氢酸气体。

## 第四节 红细胞形态检查

### 一、检测原理：显微镜观察

红细胞形态检查与血红蛋白测定、红细胞计数结果相结合可粗略推断贫血原因，对贫血诊断和鉴别诊断有很重要临床价值。将细胞分布均匀的血涂片，进行染色（如瑞氏染色）后，根据各种细胞和成分各自的呈色特点，在显微镜下进行观察和识别。

## 二、方法学评价

血涂片观察一方面用于估计血细胞的相对数量，作为仪器质控方法之一，另一方面通过形态学识别，初步判断贫血原因。但制片不当，常使细胞鉴别发生困难，甚至产生错误结论。

## 三、质量控制

1. 选择细胞分布均匀的区域。

2. 注意检查顺序的完整性：应先在低倍镜下估计细胞分布和染色情况，再用油镜观察血膜体尾交界处细胞形态，同时浏览是否存在其他异常细胞，如幼稚或有核红细胞等，有时异常成分常集中分布在血片边缘，应注意观察。

## 四、参考值

正常红细胞形态特点：双凹圆盘形，大小一致，平均直径  $7.2\mu\text{m}$ ，淡粉红色，中央  $1/3$  为生理性淡染区，无异常结构。

## 五、临床意义

1. 红细胞体积大小变化

(1) 小红细胞：直径  $<6\mu\text{m}$  的红细胞。正常人偶见。小红细胞血红蛋白合成障碍，生理性淡染区扩大，见于缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血。小红细胞血红蛋白充盈良好，生理性淡染区消失，见于遗传性球形细胞增多症。

(2) 大红细胞：直径  $>10\mu\text{m}$  的红细胞，为未完全成熟红细胞，体积较大，因残留脱氧核糖核酸，瑞氏染色后呈多色性或嗜碱性点彩。见于巨幼细胞性贫血、溶血性贫血、恶性贫血等。

(3) 巨红细胞：直径  $>15\mu\text{m}$  的红细胞，因叶酸、维生素  $\text{B}_{12}$  缺乏使幼稚细胞内 DNA 合成不足，不能按时分裂，脱核后成为巨大红细胞，血涂片还可见分叶过多中性粒细胞。见于巨幼细胞性贫血。

(4) 红细胞大小不均：红细胞间直径相差一倍以上，大者可达  $12\mu\text{m}$ ，小者仅  $2.5\mu\text{m}$ ，与骨髓粗制滥造红细胞有关。见于严重的增生性贫血（如巨幼细胞性贫血）。

2. 红细胞内血红蛋白含量改变

(1) 正常色素性：红细胞呈淡红色，中央有生理性浅染区。见于正常人、急性失血、再生障碍性贫血和白血病等。

(2) 低色素性：红细胞中央生理性浅染区扩大，成为环形红细胞，提示血红蛋白含量明显减少。见于缺铁性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血、铁幼粒细胞性贫血、某些血红蛋白病。

(3) 高色素性：红细胞中央浅染区消失，整个红细胞染成红色，胞体增大，平均红细胞血红蛋白含量增高，平均血红蛋白浓度正常。见于巨幼细胞性贫血。

(4) 多色性：是尚未完全成熟的红细胞，胞体较大，胞质内尚存少量嗜碱性物质（RNA），红细胞染成灰红色或淡灰蓝色。见于正常人（占1%左右）、骨髓造红细胞功能活跃（如溶血性或急性失血性贫血）。

(5) 细胞着色不一：同一血涂片同时出现低色素、正常色素性两种细胞，又称双形性贫血。见于铁粒幼红细胞性贫血。

### 3. 红细胞形状改变

(1) 球形红细胞：细胞中央着色深、体积小、直径与厚度比小于2.4:1（正常值3.4:1），球形红细胞气体交换功能较正常红细胞为弱，且容易导致破坏、溶解。见于遗传性和获得性球形细胞增多症（如自身免疫溶血性贫血、直接理化损伤如烧伤等）和小儿。

(2) 椭圆形红细胞：细胞呈椭圆形、杆形、两端钝圆、长轴增大，短轴缩短、长是宽的3~4倍，长径为12.5 μm，横径为2.5 μm，其红细胞生存时间一般正常也可缩短，血红蛋白正常，与遗传性细胞膜异常基因有关，细胞成熟后呈椭圆形，置于高渗、等渗、低渗、正常血清内，其椭圆形保持不变。见于遗传性椭圆形细胞增多症（可达25%~75%）、大细胞性贫血（可达25%）、缺铁性贫血、骨髓纤维化、巨幼细胞贫血、镰形细胞性贫血、正常人（约占1%，不超过15%）。

(3) 靶形细胞：细胞中央染色较深，外围为苍白区域，而边缘又深染，形如射击之靶。有时，中央深染区呈细胞边缘延伸的半岛状或柄状。细胞直径比正常大，但厚度变薄，由于红细胞内血红蛋白化学成分发生变异和铁代谢异常所致，形成过程是：红细胞中血红蛋白溶解成镰状或弓形空白区，随后弓形空白区两端继续弯曲延伸，形成环形透明带，细胞生存时间约为正常细胞的一半或更短。见于各种低色素性贫血（如珠蛋白生成障碍性贫血、HbC病）、阻塞性黄疸、脾切除后。

(4) 口形红细胞：细胞中央有裂缝，中央淡染区呈扁平状，似张开的口形或鱼口，细胞有膜异常，Na<sup>+</sup>通透性增加，细胞膜变硬，使脆性增加，细胞生存时间缩短。见于口形红细胞增多症、小儿消化系统疾患引起的贫血、酒精中毒、某些溶血性贫血、肝病和正常人（<4%）。

(5) 镰形红细胞：细胞呈镰刀状、线条状或L、S、V形等，是含有异常血红蛋白S（HbS）的红细胞，在缺氧情况下，溶解度减低，形成长形或尖形结晶体，使细胞膜发生变形。检查镰形红细胞时需加还原剂如偏亚硫酸钠后观察。见于镰状细胞贫血（HbS-S，HbS-C）、镰状细胞特性样本（HbA-S）。

(6) 棘红细胞：细胞表面有针状突起、间距不规则、长和宽不一。见于遗传性或获得性β-脂蛋白缺乏症（高达70%~80%）、脾切除后、酒精中毒性肝病、尿毒症。需与皱缩红细胞（锯齿状红细胞）鉴别，皱缩红细胞边缘呈锯齿形、排列紧密、大小相等、外端较尖。

(7) 裂红细胞：为红细胞碎片或不完整红细胞，大小不一、外形不规则、呈刺形、盔形、三角形、扭转形等，是细胞通过阻塞的、管腔狭小的微血管所致。见于弥散性血管内凝血、微血管病性溶血性贫血、重型珠蛋白生成障碍性贫血、巨幼细胞性贫血、严重烧伤。正常人（<2%）。

(8) 缙钱状红细胞：红细胞互相连接如缙钱状，是因为血浆中某些蛋白（纤维蛋白原、球蛋白）增高，使红细胞正负电荷发生改变所致。



(9) 有核红细胞(幼稚红细胞): 除1周内婴幼儿血涂片中可见少量有核红细胞外, 其他则为病理现象, 包括:

①溶血性贫血: 严重的溶血性贫血、新生儿溶血性贫血、自身免疫性溶血性贫血、巨幼细胞性贫血。因红细胞大量破坏、机体相对缺氧, 使红细胞生成素水平增高, 骨髓红系增生, 网织红细胞和部分幼稚红细胞提前释放入血, 说明骨髓有良好的调节功能。

②造血系统恶性疾患或骨髓转移性肿瘤: 各种急、慢性白血病、红白血病。由于骨髓充满大量白血病细胞而使幼红细胞提前释放, 或因髓外造血所致, 有核红细胞以中、晚幼红细胞为主。红白血病时可见更早阶段幼稚红细胞, 并伴形态异常。

③慢性骨髓增生性疾病: 如骨髓纤维化, 血涂片可见有核红细胞, 来自髓外造血和纤维化的骨髓。

④脾切除后: 骨髓中个别有核红细胞能到达髓窦, 当脾切除后, 不能被脾脏扣留, 从而进入外周血。

(10) 其他: ①新月形红细胞: 红细胞着色极淡、残缺不全、体积大、状如新月形、直径约  $20\mu\text{m}$ , 见于某些溶血性贫血(如阵发性睡眠性血红蛋白尿症)。②泪滴形红细胞: 红细胞形如泪滴样或梨状, 因细胞内含有 Heinz 小体或包涵体, 或红细胞膜被粘连而拉长所致。见于贫血、骨髓纤维化和正常人。③红细胞形态不整: 出现不规则的奇异形状, 如豆状、梨形、蝌蚪状、麦粒状、棍棒形等。见于某些感染、严重贫血、巨幼细胞性贫血。

#### 4. 红细胞内出现异常结构

(1) 嗜碱性点彩红细胞: 瑞氏染色后, 胞质内出现形态不一的蓝色颗粒(RNA), 属于未完全成熟红细胞, 颗粒大小不一、多少不等, 原因为重金属损伤细胞膜, 使嗜碱性物质凝集, 或嗜碱性物质变性, 或血红蛋白合成中阻断原卟啉与铁结合。见于铅中毒。正常人血涂片中很少见到嗜碱性点彩红细胞(约占  $1/10000$ )。其他各类贫血见到点彩红细胞表明骨髓造血旺盛或有紊乱现象。

(2) 豪焦小体(Howell-Jolly's body、染色质小体): 成熟红细胞或幼红细胞胞质内含有一个或多个直径为  $1\sim 2\mu\text{m}$  暗紫红色圆形小体, 为核碎裂、溶解后的残余部分。见于脾切除后、无脾症、脾萎缩、脾功能低下、红白血病、某些贫血(如巨幼细胞性贫血)。

(3) 卡波环: 在嗜多色性、碱性点彩红细胞胞质中出现紫红色细线圈状结构, 呈环形、8字形, 为核膜残余物、纺锤体残余物(电镜下, 可见形成纺锤体的微细管着色点异常)、脂蛋白变性物。见于白血病、巨细胞性贫血、增生性贫血、铅中毒、脾切除后。

(4) 寄生虫: 红细胞胞质内可见疟原虫、微丝蚴、杜利什曼原虫等病原体。

## 第五节 血细胞比容(HCT)测定

### (一) 检测原理

血细胞比容(Hct、Ht、HCT或PCV)是指在一定条件下, 经离心沉淀压紧的红细胞在全血样本中所占比值。

1. 离心法: 包括温氏法(Wintrobe法)、微量法: 是将抗凝血置于孔径统一的温氏管或毛细玻管中, 以一定转速离心一定时间后, 计算红细胞层占全血的体积比。

2. 血液分析仪法：原理是当细胞通过计数小孔时，形成相应大小的脉冲，脉冲的多少即为细胞数量，脉冲高度为细胞体积，通过红细胞平均体积（MCV）和红细胞计数（RBC）即求得血细胞比容， $Hct=MCV \times RBC$ 。

## （二）方法学评价

1. 手工法：有折射计法、粘度法、比密测定法、离心法和放射性核素法。温氏法：采用中速离心，不能完全排除红细胞间残留血浆，测定结果偏高，已属淘汰。微量法：采用高速离心，细胞间残留血浆比温氏法少（约 2%），且样本用量小、操作简便、残留血浆 1%~3%。

2. 血液分析仪法：仪器法 CV 为 1%，手工法 CV 为 2%，仪器法应注意红细胞增多症或血浆渗透压异常时会出现误差。

## （三）质量控制

1. 手工法：抗凝剂量不准确、混匀不充分、离心速度不够会产生误差。红细胞形态异常（如小红细胞、大红细胞、椭圆形红细胞、镰形红细胞）或红细胞增多症可使血浆残留量增加 6%。当红细胞增多时，Hct 明显增高，血浆残留也会增加。

2. 血液分析仪法：要注意 Hct 是否与 RBC、MCV 相关。

## （四）参考值

Wintrobe 法：男性 0.40~0.54；女性 0.37~0.47。

微量法：男性  $0.47 \pm 0.04$ ；女性  $0.42 \pm 0.05$ 。

## （五）临床意义

1. 增高：见于各种原因所致血液浓缩，如大量呕吐、大手术后、腹泻、失血、大面积烧伤、真性红细胞增多症（可达 0.80L/L）、继发性红细胞增多症等。

2. 减低：见于各种贫血，但不同类型的贫血，Hct 减少程度与 RBC 计数值不完全一致。

3. 输液评估：用于评估血浆容量有无增减或浓缩稀释程度，有助于控制补液量 and 了解体液平衡情况，是临床输血、输液治疗疗效观察的指标。

4. 计算平均值：作为红细胞平均体积、红细胞平均血红蛋白浓度计算的基础数据。也是影响全血粘度的决定因素之一。

## （六）操作方法和注意事项

1. 温氏法：取 EDTA-K<sub>2</sub> 或肝素钠抗凝静脉血 2ml，加入温氏管中，用水平离心机以 2264g（即有效半径 22.5cm，3000r/min），离心 30 分钟，离心后血液分为 5 层，自上而下分别为血浆层、血小板层、白细胞层和有核红细胞层、还原红细胞层（紫黑红色）、带

氧红细胞层（鲜红色）。读取还原红细胞层柱高的毫米数，乘以 0.01，即为每升血液中红细胞体积的升数。

2. 微量法：取抗凝全血或末梢血，充入一次性毛细玻管（管长 75mm，内径约 0.8~1.0mm，壁厚 0.20~0.25mm，每支含肝素 2U）的 2/3（50mm）处，封口后，用水平式毛细管 Hct 离心机以 12000r/min（相对离心力 RCF≥10000g），离心 5min，用专用读数板或刻度尺，读取还原红细胞层和全层长度，计算 Hct 值。

3. 注意事项：橡皮泥封管口底面应平整，以深入毛细血管内 2mm 左右为宜。应做双份试验，结果之差应 < 0.01。

## 第六节 红细胞平均指数

### （一）检测原理

1. 手工法：通过红细胞计数、血红蛋白量和血细胞比容值计算红细胞平均指数。

（1）红细胞平均容积：MCV，代表每个红细胞平均体积的大小。

$$MCV = \frac{Hct}{RBC} (fl) \quad 1ml = 10^{12} fl$$

（2）红细胞血平均红蛋白含量：MCH，代表每个红细胞内平均所含血红蛋白的量。

$$MCH = \frac{Hb}{RBC} (pg) \quad 1g = 10^{12} pg$$

（3）红细胞平均血红蛋白浓度：MCHC，代表平均每升红细胞中所含血红蛋白浓度。

$$MCHC = \frac{Hb}{Hct} (g/L)$$

2. 血液分析仪：能直接导出 MCV 值，再结合直接测定的 RBC 和 Hb，计算出 MCH (=Hb / RBC) 和 MCHC (=MCH×MCV)。

### （二）方法学评价

1. MCV：当红细胞凝集（如冷凝集综合征）、严重高血糖症（葡萄糖高于 60000mg/L）可使 MCV 假性增高。

2. MCH：高脂血症、白细胞增多症可使 MCH 假性增高。

3. MCHC：受 Hct（血浆残留或出现异常红细胞）和 Hb（高脂血症、白细胞增多症）的影响。

### （三）质量控制

1. 手工法：红细胞计数、血红蛋白、血细胞比容测定数据必须准确可靠。

2. 血液分析仪法：利用人群红细胞平均指数相当稳定的原理，用  $X_B$  分析法或浮动均值法对血液分析仪进行质量控制。

(四) 参考值见表 1-2-1

表 1-2-1 不同人群红细胞指数的参考范围\*

	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/L)
新生儿	91~112	29~36	280~360
1~2岁	70~84	22~30	320~380
成人	80~100	27~34	320~360
老年人	81~103	27~35	310~360

\*摘自 Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3<sup>rd</sup>. Philadelphia, WB Saunders Company, 1995.

1ml=10<sup>12</sup>f1, 1g=10<sup>12</sup>pg

(五) 临床意义

红细胞平均指数可作为贫血形态学分类依据（表 1-2-2）。

小红细胞性贫血可低至 MCV50f1、MCH15pg、MCHC220g / L；大红细胞可高至 MCH150f1、MCH50pg，但 MCHC 正常或减低；MCHC 增高见于球形细胞增多症，但不超过 380g / L。

红细胞平均指数仅代表红细胞平均值，有一定局限性。如溶血性贫血和急性白血病，虽属正细胞性贫血，但红细胞可有明显的大小不均和异形，大细胞性贫血，也可有小细胞存在，小细胞贫血，也可有大红细胞，必须作血涂片检查才能较为准确地诊断。

表 1-2-2 贫血的红细胞形态学分类

贫血分类	MCV	MCH	MCHC	贫 血
正细胞贫血	正常	正常	正常	再生障碍性贫血、急性失血性贫血、某些溶血性
大细胞贫血	增高	增高	正常	各种造血物质缺乏或利用不良的贫血
单纯小细胞贫血	减低	减低	正常	慢性感染、慢性肝肾疾病性贫血
小细胞低色素贫血	减低	减低	减低	缺铁性贫血及铁利用不良贫血，慢性失血性贫血

## 第七节 红细胞体积分布宽度

### （一）检测原理

红细胞体积分布宽度（RDW）反映样本中红细胞体积大小的异质程度，即反映红细胞大小不等客观指标，常用变异系数（CV）表示，由血液分析仪的红细胞体积直方图导出。

### （二）方法学评价

RDW 是对红细胞体积大小的评价，比血涂片红细胞形态大小的观察更为客观和准确。

### （三）质量控制

RDW 异常受样本中红细胞碎片、红细胞凝集、双相性红细胞的影响。

### （四）参考值

表 1-2-3 RDW 参考值

作者	例数	RDW ( $X < 1.64s$ )	时间 (年)
Bessman	229	<13.9	1983
McClure	90	<14.8	1985
Robert	29	<12.1	1985
Marti	61	<48 (SD)	1987
丛玉隆等*	2013	<14.9	1996

### （五）临床意义

1. 贫血形态学分类：根据红细胞形态大小不同，将贫血分成 6 类（表 1-2-4）。

1983 年由 Bessman 提出的新贫血分类法对贫血病因鉴别诊断具有更大意义。MCV 和 RDW 联合检测对贫血形态学鉴别诊断灵敏度为 86.7%~100%，特异度为 83.4%~100%。

表 1-2-4 贫血 MCV/RDW 分类法\*

		MCV		
		减少	正常	增高
	减少	轻型珠蛋白生成障碍性贫血	正常	再生障碍性贫血
	正常	慢性病贫血	慢性病贫血、遗传性球形红细胞贫血 (RDW 也可增高)、某些重型血红蛋白病 (如 AS)	骨髓增生异常综合征
RDW	增高	缺铁性贫血、HbH 病、 $\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血 (非轻型)、重型血红蛋白病 (如 AC)、某些慢性病贫血、G6PD 缺乏症、红细胞碎片	铁缺乏早期、镰状细胞贫血、HbS、C 病	维生素 B <sub>12</sub> 或叶酸缺乏性贫血、免疫性溶血性贫血、冷凝集素、酗酒

\*摘自 Wallach J. Interpretation of Diagnostic Tests, 7<sup>th</sup>. Philadelphia, Lippincott: Williams & Wilkins, 2000.

2. 作为缺铁性贫血 (IDA)：筛选诊断和疗效观察的指标：RDW 增大对 IDA 的诊断灵敏度达 95% 以上，特异性不强，可作为 IDA 的筛选诊断指标。当铁剂治疗有效时，RDW 开始增大，随后逐渐降至正常。

3. 鉴别缺铁性贫血和  $\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血：RDW 增大对 IDA 的诊断灵敏度达 95% 以上，特异性不强，可作为 IDA 的筛选诊断指标。当铁剂治疗有效时，RDW 开始增大，随后逐渐降至正常。

## 第八节 网织红细胞计数

### (一) 检测原理

网织红细胞 (Ret, RET) 是晚幼红细胞脱核后到完全成熟红细胞间的过渡细胞，属于尚未完全成熟的红细胞，其胞质中残存嗜碱性物质核糖核酸 (RNA)，经活体染色 (新亚甲蓝、灿烂甲酚兰 (煌焦油蓝)、中性红等染料) 后，形成核酸与碱性染料复合物，呈深染的颗粒状或网状结构。凡含两个以上的深染颗粒或具有线网状结构的无核红细胞，即为网织红细胞。

1. 普通光学显微镜法：在显微镜下计数 1000 个红细胞中网织红细胞的百分比或分数。
2. 网织细胞计数仪法和血液分析仪法：用荧光染料 (如吖啶橙、派若宁-Y、噻唑橙) 使网织红细胞内 RNA 着色，用流式细胞术 (FCM) 得到网织红细胞数。

### (二) 方法学评价

1. 普通光学显微镜法：试管法操作简便、重复性较好。玻片法取血量少、染色时水分易蒸发，造成结果偏低。但显微镜法受主观因素影响较多，且耗时费力。

2. 网织细胞计数仪法：可客观地将 Ret 分成高荧光强度网织红细胞（HFR）、中荧光强度网织红细胞（MFR）、低荧光强度网织红细胞（LFR）三类，有助于化疗、放疗、移植患者的监测。

3. 血液分析仪法：可提供网织红细胞绝对值（Ret）、网织红细胞百分比（Ret%）、网织红细胞分布宽度（RDW<sub>r</sub>）、网织红细胞平均体积（MCV<sub>r</sub> / MRV）、网织红细胞血红蛋白浓度（HCr）、网织红细胞平均血红蛋白浓度（MCHCr）、网织红细胞血红蛋白分布宽度（HDW<sub>r</sub>）、LFR、MFR、HFR、网织红细胞成熟指数（RMI，RMI=（MFR+HFR） / LFR×100）。仪器法优点是测量细胞多、避免主观因素、方法易于标准化。

### （三）质量控制

#### 1. 显微镜法

影响因素有：操作人员对网织红细胞识别不同、血涂片质量好坏、计数红细胞数量多少、计数方法等。Miller 窥盘法计数网织红细胞误差可减小，网织红细胞 95%可信限为：

$$Ret \pm 2\sqrt{\frac{Ret(100-Ret)}{N}}$$

2. 仪器法：仪器法计数红细胞 10000~50000 个。出现 Howell-Jolly 小体、有核红细胞、巨大血小板会使结果假性增高。

### （四）参考值

显微镜计数法：成人 0.008~0.02 或（25~75）×10<sup>9</sup> / L，新生儿 0.02~0.06。仪器法：表 1-2-5。RMI：男性为 9.1%~32.2%，女性为 12.8%~33.7%。

表 1-2-5 血液分析仪网织红细胞参数参考值

	Ret(%)	LFR(%)	MFR(%)	HFR(%)	RDW <sub>r</sub> (%)	HDW <sub>r</sub> (pg)	MCV <sub>r</sub> (fl)
均值	1.0	86.1	11.3	2.6	17.75	33.4	111.8
s	0.41	4.77	4.14	1.73	2.35	5.2	5.3

### （五）临床意义

网织红细胞计数（尤其是网织红细胞绝对值）是反映骨髓造血功能的重要指标。正常情况下，骨髓中网织红细胞均值为 150×10<sup>9</sup> / L，血液中为 65×10<sup>9</sup> / L。当骨髓 Ret 增多，外周血减少时，提示释放障碍；骨髓和外周血 Ret 均增加，提示为释放增加。从网织红细胞成熟类型获得红细胞生成活性的其他信息，正常时，外周血网织红细胞中 III 型约占 20%~30%，IV 型约占 70%~80%，若骨髓增生明显，可出现 I 型和 II 型 Ret。

#### 1. 判断骨髓红细胞造血情况

##### （1）增多：见于

①溶血性贫血：溶血时大量网织红细胞进入血循环，Ret 可达 6%~8%，急性溶血时，可达约 20%，甚至 50%以上，绝对值超过 100×10<sup>9</sup> / L。急性失血后，5~10d 网织红细胞达高峰，2 周后恢复正常。

②放疗、化疗后：恢复造血时，Ret 短暂和迅速增高，是骨髓恢复较敏感的指标。

③红系无效造血：骨髓中红系增生活跃，外周血网织红细胞计数正常或轻度增高。

(2) 减少：见于再生障碍性贫血、溶血性贫血再障危象。**典型再生障碍性贫血诊断标准之一**是 Ret 计数常低于 0.005，绝对值低于  $15 \times 10^9 / L$ 。

#### 2. 观察贫血疗效

缺铁性贫血、巨幼细胞性贫血患者治疗前，Ret 仅轻度增高（也可正常或减少），给予铁剂或维生素 B<sub>12</sub>、叶酸治疗后，用药 3~5 天后，Ret 开始上升，7~10 天达高峰，2 周左右，Ret 逐渐下降，表明治疗有效。

#### 3. 骨髓移植后监测

骨髓移植后第 21 天，如 Ret >  $15 \times 10^9 / L$ ，表示无移植并发症；小于  $15 \times 10^9 / L$ ，伴嗜中性粒细胞和血小板增高，可能为骨髓移植失败。

#### 4. 网织红细胞生成指数 (RPI)

是网织红细胞生成相当于正常人的倍数。不同生理、病理情况下，Ret 从骨髓释放入外周血所需时间不同，故 Ret 计数值不能确切反映骨髓红细胞系统造血功能，还应考虑 Ret 生存期限。通常 Ret 生存期限约为 2d，若未成熟网织红细胞提前释放入血，Ret 生存期限将延长，为了纠正网织红细胞提前释放引起的偏差，**用网织 RPI 来反映 Ret 生成速率。**

**计算公式为：**
$$RPI = \frac{\text{被测 Hct}}{\text{正常人 Hct}} \times 1/2 \times \text{被测网织红细胞百分比}$$
。在估计红细胞生成有效性方面，使用 RPI 较准确。

### (六) 操作方法和注意事项

#### 1. 操作方法

在 2 滴 10g / L 煌焦油蓝生理盐水溶液中加入血 2 滴，混匀，37℃ 放置 15~20min，制片后，在油镜下计数至少 1000 个红细胞中网织红细胞数，计算网织红细胞百分数 (%) 和网织红细胞绝对值 ( $\times 10^9 / L$ ) (= 红细胞数  $\times$  网织红细胞百分数)。

#### 2. 网织红细胞分型

根据不同发育阶段分 5 型，分别是：0 型，有核红细胞、胞质内含网状物，见于骨髓。I 型（丝球型），红细胞充满网状物，见于骨髓。II 型（网型），红细胞网状物结构松散，见于骨髓。III 型（破网型），红细胞网状结构稀少，呈不规则枝点状排列，见于外周血。IV 型（点粒型），红细胞内为分散的，细颗粒，短丝状网状物，见于外周血。ICSH 分为 I~IV 型，不包括 0 型。

#### 3. 染料和染色

WHO 推荐使用网织红细胞活体染液是新亚甲蓝，其染色力强且稳定。灿烂甲酚染液操作简单，但易产生沉淀，工作效率不高，精密度差 (CV 可达 20% 以上)。染色时间不能太短，温度控制 37° C，染液与血液比例为 1:1。严重贫血可适当增加血量。

#### 4. Miller 窥盘

ICSH 推荐使用 Miller 窥盘计数网织红细胞。为提高网织红细胞计数精度和速度，ICSH 推荐使用 Miller 窥盘，方法是将 Miller 窥盘置于目镜内，选择红细胞散在且分布均匀的部位，用小方格 (A) 计数红细胞，大方格 (B) 计数网织红细胞，

将 Miller 窥盘置于目镜内，是一个厚 1mm、直径 19mm 的圆形玻片，玻片上用微细刻线画出两个正方形格子，如左图。大方格 B 面积为小方格 A 的 9 倍，计数时只数小方格内



红细胞和大方格内的网织红细胞，然后将小方格内数得红细胞乘以 9 来折算成大方格的红细胞，按公式计算：

$$\text{网织红细胞}\% = (\text{大方格内网织红细胞数} / \text{小方格内红细胞数} \times 9) \times 100\%$$

5. 注意鉴别网织红细胞和 HbH 包涵体：前者为蓝绿色网状或点粒状物质，分布不均；后者为蓝绿色圆形小体，均匀分布。

## 第九节 点彩红细胞

### （一）检测原理

点彩红细胞是尚未完全成熟的红细胞在发育过程中受到损害，其胞质中残存变性的嗜碱性 RNA，碱性亚甲基蓝染色后，呈大小、形状不一蓝色颗粒，瑞氏染色后，颗粒呈蓝黑色，在油镜下计数点彩红细胞数百分率。

### （二）方法学评价

由于点彩红细胞较少且分布不均，必要时可扩大红细胞计数量。

### （三）质量控制

须选择红细胞分布均匀的区域。

### （四）参考值

<0.03%。

### （五）临床意义

增高：①中毒，如铅、汞、银、铋、硝基苯、苯胺等。②各类贫血：如溶血性贫血、巨幼细胞性贫血、恶性贫血、恶性肿瘤等，表示造血旺盛。

### （六）操作方法

取新鲜血 1 滴制片，用甲醇固定 3min，以 50g/L 碱性亚甲蓝液染色 1~2min，然后在油镜下计数 1000 个红细胞中点彩红细胞数，最后计算点彩红细胞数百分率。

## 第十节 红细胞沉降率测定

### （一）检测原理

红细胞沉降率（ESR，血沉）：指离体抗凝血静置后，红细胞在单位时间内沉降的速度，分为 3 期：①缗钱状红细胞形成期，约数分钟至 10min；②快速沉降期，缗钱状红细胞以等速下降，约 40min；③细胞堆积期（缓慢沉积期），红细胞堆积到试管底部。

1. 魏氏法：将离体抗凝血液置于特制刻度测定管内，垂直立于室温中，1h 准红细胞层下沉距离，用毫米（mm）数值报告。

2. 血沉仪法：用发光二极管、光电管检测红细胞和血浆界面的透光度改变，得到血沉值，显示红细胞沉降高度（H）与时间（t）关系的 H-t 曲线。

### （二）方法学评价

1.手工法：方法有魏氏法、潘氏法等。魏氏法简便实用、ICSH 推荐方法、器材和操作  
方法应严格规范。潘氏法用血量少（适用于儿童）。因抗凝剂、用血量、血沉管规格、观  
察时间不同，所以各种方法参考值不同。潘氏法与魏氏法相关性好、用血量少，适于儿童。

2.血沉仪法：仪器测量时间短、重复性好、不受环境温度影响等。血沉仪可动态记录  
整个血沉过程变化，绘出红细胞沉降曲线。

3.血沉率（ZSR）：是将抗凝血注入特制血沉管，以 400r / min 正反方向旋转，每次  
45s，同时作 180°旋转。特点是不受年龄、性别、贫血、试验条件的影响，但需特殊离心仪  
器 Zetafuge。

### （三）质量控制

影响血沉的理化因素与红细胞数量、表面积、厚度、直径、血红蛋白量和血浆等有关。  
**血沉加快的最重要因素是红细胞相互重叠呈“缙钱”状或积聚成堆。**影响红细胞缙钱状形成  
的主要因素有：

#### 1.血浆蛋白质比例

小分子蛋白如清蛋白、卵磷脂等使血沉减缓，大分子蛋白如急性反应蛋白（如 C 反应  
蛋白、纤维蛋白原、触珠蛋白、铜蓝蛋白、 $\alpha_1$  酸性糖蛋白、 $\alpha_1$  抗胰蛋白酶）、免疫球蛋白、  
巨球蛋白、胆固醇、甘油三酯等使血沉加快。急性反应蛋白增加见于急性组织损伤（如急  
性心肌梗死）、慢性炎症（如肺结核）、慢性感染（如尿路感染）、血管胶原性疾病（如  
类风湿性关节炎）、恶性肿瘤、妊娠等。

#### 2.红细胞数量和形状

（1）红细胞数量：通常，红细胞沉降率和血浆阻逆力保持平衡。如数量减少，使总面  
积减少、所承受血浆逆阻力减少，引起血沉加快。数量增多使血沉减慢。但数量太少，则  
影响了红细胞缙钱状形成，导致血沉也减慢。

（2）红细胞直径：直径越大血沉越快，如靶形红细胞，但球形红细胞、镰形红细胞不  
易聚集而使血沉减慢。

#### 3.血沉管

血沉管置血沉架上应完全直立，血沉管倾斜时，红细胞沿管壁一侧下沉，而血浆沿另  
一侧下降，会加速红细胞沉降，如血沉管倾斜 3°，沉降率增加 30%。

#### 4.血样本

抗凝剂浓度增加、血液凝固（血浆纤维蛋白原减少）使血沉减慢。但样本冷藏  
4~24h，测定前平衡至室温，并混匀后，不影响检测结果。

#### 5.温度

室温过高（>25℃）使血沉加快，可按温度系数校正。室温过低（<18℃）使血沉减  
慢，但无法校正。

### （四）参考值

#### 1.魏氏法

- （1）<50 岁：男性 0~15mm / h，女性 0~20mm / h。
- （2）>50 岁：男性 0~20mm / h，女性 0~30mm / h。
- （3）>85 岁：男性 0~30mm / h，女性 0~42mm / h。
- （4）儿童：0~10mm / h。

2.潘氏法：成人：男性 0~10mm/h，女性 0~12mm/h。

### (五) 临床意义

#### 1.血沉增快

(1)生理性：女性高于男性。妇女月经期、妊娠3个月以上者血沉增快，因生理性贫血、血浆纤维蛋白原增加。老年人血沉增快，因纤维蛋白原增高。

#### (2)病理性

1)各种炎症：急性细菌性炎症，如 $\alpha_1$ 胰蛋白酶、 $\alpha_2$ 巨球蛋白、C反应蛋白、转铁蛋白、纤维蛋白原等急性期反应物增多，2~3d后血沉增快，严重感染时 $ESR>100mm/h$ 。慢性炎症，如结核病、结缔组织炎症、风湿热等，活动期血沉增快、病情好转血沉减慢、非活动期血沉正常。

2)组织损伤及坏死：组织损伤、手术创伤使血沉增快，若无并发症，2~3周内恢复正常。心肌梗死2~3d后血沉增快，持续1~3周，而心绞痛血沉正常。

3)恶性肿瘤：因 $\alpha_2$ 巨球蛋白、纤维蛋白原增高、肿瘤组织坏死、继发感染、贫血等因素使血沉增快。手术切除、治疗好转，血沉可正常。复发或转移时，血沉又增快( $ESR>100mm/h$ )。良性肿瘤血沉多正常。

4)高球蛋白血症：如系统性红斑狼疮、恶性淋巴瘤、亚急性感染性心内膜炎、肝硬化、慢性肾炎等因免疫球蛋白增高使血沉增快。如多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症导致高粘滞性综合征时血沉正常或减慢。

5)贫血：贫血( $Hb<90g/L$ )使血沉轻度增快，并随贫血加重而增快，但严重贫血时，因红细胞过少不易形成缗钱状聚集，血沉加快与红细胞减少不成正比。遗传性红细胞增多症、镰形细胞性贫血、红细胞异形症等因异形红细胞不易聚集成缗钱状使血沉可减慢。

6)高胆固醇血症：如动脉粥样硬化、糖尿病、肾病综合征、粘液性水肿、原发性家族性高胆固醇血症等血沉增快。

#### 2.血沉减慢

如真性或相对性红细胞增多症、DIC消耗性低凝血期、继发性纤溶期、肝病、肿瘤、其他严重疾病因未产生急性反应蛋白等使血沉减慢。

### (六) 操作方法和注意事项

1.操作：取109mmol/L枸橼酸钠0.4ml，加静脉血1.6ml，混匀，用血沉管吸入混匀全血，并直立于血沉架上，1h末准确读取红细胞下沉后的血浆段高度，即红细胞沉降率。

2.血沉管：内径应标准(2.5mm)。

3.血沉架：应避免直接光照、移动和振动。

## 第三章 白细胞检查

### 第一节 白细胞生理概要

#### 白细胞生理作用

白细胞(WBC、LEU)是外周血常见的有核细胞，根据形态特征，可分为粒细胞(GRA)、淋巴细胞(L)和单核细胞(M)三类。粒细胞胞质中含有特殊颗粒，根据颗

粒特点分为中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞三个亚类。中性粒细胞又分为中性分叶核粒细胞、中性杆状核粒细胞两类。白细胞通过不同方式、不同机制消灭病原体、消除过敏、参加免疫反应，是机体抵抗病原微生物等异物的主要防线。

### (一) 粒细胞

粒细胞起源于造血干细胞，在高浓度集落刺激因子作用下粒系祖细胞分化为原粒细胞，经数次有丝分裂，依次发育为早幼粒、中幼粒、晚幼粒（丧失分裂能力）、杆状核和分叶核粒细胞。一个原粒细胞经过增殖发育，最终生成 8~32 个分叶核粒细胞。此过程在骨髓中约需 10d，成熟粒细胞进入血液后仅存活 6~10h，然后逸出血管进入组织或体腔内。

粒细胞在组织中可行使防御功能 1~2d，衰老的粒细胞主要在单核巨噬细胞系统破坏，其余从口腔、气管、消化道、泌尿生殖道排出，同时，骨髓释放新生的粒细胞补充周围血而保持白细胞数量相对恒定。正常情况下，每小时进行更新的粒细胞约有 10%。

目前，根据粒细胞群发育阶段，人为地分为分裂池、成熟池、贮备池、循环池和边缘池等。

①分裂池：包括原粒细胞、早幼粒细胞和中幼粒细胞，能合成 DNA，具有分裂能力；

②成熟池：包括晚幼粒细胞和杆状核粒细胞，失去分裂能力；

③贮备池：包括杆状核粒细胞和分叶核粒细胞，成熟粒细胞贮存于骨髓，在贮备池中停留 3~5d，数量为外周血 5~20 倍，贮备池中细胞，在机体受到感染和其他应激反应时，可释放入循环血液，通常只有杆状核或分叶核中性粒细胞能从贮备池进入血液，当病情严重时，少量晚幼粒细胞也能进入外周血；

④循环池：进入外周血的成熟粒细胞有一半随血液而循环，白细胞计数值就是循环池的粒细胞数；

⑤边缘池：进入外周血的另一半成熟粒细胞，粘附于微静脉血管壁，边缘池和循环池粒细胞保持动态平衡，由于多种因素的影响，边缘池和循环池中的粒细胞可一过性地从一方转向另一方，使白细胞计数显示大幅度甚至成倍波动。

中性粒细胞具有趋化、变形、粘附作用以及吞噬、杀菌等功能。在机体防御和抵抗病原菌侵袭过程中起着重要作用，这有助于解释病理性中性粒细胞增高的原因。

嗜酸性粒细胞（E）与红细胞、巨核细胞一样有独立的祖细胞，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，嗜酸性粒细胞增殖和成熟过程与中性粒细胞相似。嗜酸性粒细胞内的颗粒不含溶菌酶和吞噬细胞素，而含有较多的过氧化物酶和碱性蛋白，作用是对组胺、抗原抗体复合物、肥大细胞有趋化性，并分泌组胺酶灭活组胺，起到限制过敏反应的作用，并参与对蠕虫的免疫反应。

嗜酸性粒细胞趋化因子有 6 个来源：①肥大细胞、嗜碱性粒细胞的组胺。②补体的 C3a、C5a、C567。③致敏淋巴细胞。④寄生虫。⑤某些细菌，如乙型溶血性链球菌。⑥肿瘤细胞。成熟的嗜酸性粒细胞在外周血中很少，约占总量的 1%，大部分存在于骨髓和组织中。因此临床需要了解嗜酸性粒细胞变化时，应采用直接计数法。

嗜碱性粒细胞（B）也是由骨髓干细胞所产生。嗜碱性粒细胞内的颗粒含有组胺、肝素、过敏性慢反应物质、嗜酸性粒细胞趋化因子、血小板活化因子等，突出的作用是参与过敏反应，细胞表面有 IgE 和 Fc 受体，与 IgE 结合即被致敏，当再次受到相应抗原刺激时，引起颗粒释放反应，使平滑肌收缩、毛细血管扩张、腺体分泌增加，导致速发性变态反应。嗜碱性粒细胞对各种血清因子、细菌、补体和激肽释放酶等物质有趋化作用。嗜碱性粒细胞是一种少见粒细胞，在外周血中很少。

## (二) 单核细胞

骨髓多功能造血干细胞分化为髓系干细胞和粒-单系祖细胞，而后发育为原单核细胞，幼单核细胞及单核细胞，释放至外周血中单核细胞，大部分粘附于血管壁，少数随血液循环，在血中停留 3~6d 后即进入组织或体腔内，转变为幼吞噬细胞，再成熟为吞噬细胞，寿命可达 2~3 个月。单核-巨噬细胞具有吞噬病原体功能（如病毒、原虫、真菌、结核杆菌等）、吞噬和清理功能（如组织碎片、衰老血细胞、抗原抗体复合物、凝血因子等）、吞噬抗原传递免疫信息功能，还参与杀菌、免疫和抗肿瘤作用。

## (三) 淋巴细胞

淋巴细胞起源于骨髓造血干细胞 / 祖细胞，是人体主要免疫活性细胞，约占白细胞总数的 1 / 4。分为：在骨髓、脾、淋巴结、其他淋巴组织生发中心发育成熟者的 B 淋巴细胞，占 20%~30%，B 淋巴细胞寿命较短，一般 3~5d，经抗原激活后分化为浆细胞，产生特异性抗体，参与体液免疫；在胸腺、脾、淋巴结和其他淋巴组织，依赖胸腺素发育成熟者称为 T 淋巴细胞，占 60%~70%，T 淋巴细胞寿命较长，可达数月~数年，被抗原致敏后可产生多种免疫活性物质，参与细胞免疫。还有少数 NK 细胞（杀伤细胞）、N 细胞（裸细胞）、D 细胞（双标志细胞）。观察淋巴细胞数量变化，有助于了解机体免疫功能状态。

# 第二节 白细胞计数

## (一) 检测原理

白细胞计数是测定单位体积血液中各种白细胞总数。包括显微镜计数法和血液分析仪计数法。

## (二) 方法学评价

### 1. 显微镜计数法：

简便易行、不需昂贵仪器，但重复性和准确性较差，受微量吸管、血细胞计数板、细胞分布、人为因素等多种情况影响。

### 2. 血液分析仪计数法：

计数细胞数量多、速度快、易于标准化、计数精确性较高，适合大规模人群健康筛查，但需特殊仪器。某些人为因素（如抗凝不充分）、病理情况（如出现有核红细胞、巨大血小板、血小板凝集等）可干扰白细胞计数。使用前须按 NCCLS 规定方法对仪器进行校准，且须认真坚持日常质控工作。

## (三) 质量控制

### 1. 经验控制

(1) 与红细胞数比较：正常情况下，红细胞数 / 白细胞数约为 (500~1000) : 1。根据红细胞计数值，可估计白细胞计数是否正确。

**表 1-3-1 血涂片上 WBC 分布密度  
与 WBC 数量关系**

血涂片上 WBC 数/HP	WBC ( $\times 10^9/L$ )
2~4	(4~7)
4~6	(7~9)
6~10	(10~12)
10~12	(13~18)

## 2. 计数误差

(1) 技术误差：通过熟练操作、仪器校准而减小，甚至避免。

(2) 固有误差：是计数室内每次血细胞分布不可能完全相同所致的误差，与计数细胞数量成反比，计数量越大，误差越小。若白细胞数太低 ( $< 3 \times 10^9/L$ )，可增加计数量 (数 8 个大方格白细胞数) 或减低稀释倍数，太高 ( $> 15 \times 10^9/L$ )，可增加稀释倍数。

(3) 有核红细胞：正常情况下，外周血中不会出现有核红细胞。若出现大量有核红细胞，其不能被白细胞稀释液破坏，计数时与白细胞一同被计数，使白细胞计数值假性增高，此时，白细胞计数应进行校正，公式为：校正后白细胞数 / L = 校正前白细胞数  $\times 100 / 100 + Y$  (Y 为白细胞分类计数时，100 个白细胞中有核红细胞的数目)。

## (四) 参考值

成人 (4-10)  $\times 10^9/L$ ;

新生儿 (15-20)  $\times 10^9/L$ ;

6 个月-2 岁 (11-12)  $\times 10^9/L$ ;

儿童 (5-12)  $\times 10^9/L$ 。

## (五) 临床意义

中性粒细胞占白细胞总数的 50-70%，其增高和降低直接影响白细胞总数的变化，临床意义同白细胞。

## (六) 操作方法和注意事项

### 1. 显微镜计数法操作：

(1) 加稀释液：吸取白细胞稀释液 0.38ml 于小试管中。

(2) 吸取血液：吸取新鲜全血或末梢血 20  $\mu l$ ，擦去管尖外部余血。将吸管插入试管底部，轻轻放出血液，并吸取上层白细胞稀释液清洗吸管 2~3 次。

(3) 混匀：将试管中血液与稀释液混匀，待细胞悬液完全变为棕褐色。

(4) 充池：将试管中细胞悬液混匀。用滴棒蘸取细胞悬液 1 滴，充入改良 Neubauer 计数板的池中，室温静置 2~3min，待白细胞完全下沉。

(5) 计数：在低倍镜下计数四角 4 个大方格内的白细胞总数。镜下白细胞呈圆形、胞质透亮、胞核深染突出。

(6) 计算：白细胞数

$$\begin{aligned} & \frac{\text{4个大方格内的白细胞数 (N)}}{4} \times 10 \times 20 \times 10^6 \\ &= \frac{N}{20} \times 10^9 / \text{L} \end{aligned}$$

2. 注意事项：

(1) 稀释用吸管、微量吸管、血细胞计数板使用前须严格校正，否则直接影响计数结果准确性。

(2) 充液不足、液体外溢、继续充液、产生气泡、充液后盖玻片移动等，均会造成计数结果不准确。

(3) 各大方格间细胞计数结果相差不超过 10%，否则应重新充池计数。

### 第三节 白细胞分类计数

#### (一) 检测原理

白细胞分类计数 (DC) 是将血液制成涂片，经染色后在油镜下进行分类，求得各种类型白细胞的比值 (百分率)，并可计算出各类白细胞的绝对值 (各类白细胞绝对值 = 白细胞计数值 × 白细胞分类计数百分率)。方法包括显微镜分类法和血液分析仪分类法。

#### (二) 方法学评价

1. 显微镜分类法 能准确地根据细胞形态特征进行分类，并可发现细胞形态及染色有无异常，是白细胞分类计数参考方法，但耗时、精确性和重复性较差。

2. 血液分析仪分类法 有三分群和五分类两法，速度快、准确性高、易于标准化、能提示异常结果、结果以数据、图形、文字等多种形式展示，是白细胞分类和筛检首选方法，但不能完全代替显微镜检查法对异常白细胞进行鉴别和分类。

#### (三) 质量控制

1. 影响分类计数准确性因素

(1) 细胞分布不均：通常涂片尾部嗜中性粒细胞较多、淋巴细胞较少，单核细胞沿涂片长轴均匀分布。大细胞和幼稚细胞分布在涂片尾部和边缘，淋巴细胞、嗜碱性粒细胞分布在涂片头部和体部。采用“城墙”式移动进行涂片分类，有助于弥补涂片中细胞分布的差异。若离心后制片，准确性可提高 10%。当白细胞有聚集现象时，细胞分布极不规则，以致无法准确地进行分类。

(2) 形态识别差异：主要因素是：①杆状核和分叶核诊断标准差异；②单核细胞和大淋巴细胞鉴别能力差异；③染色较差的涂片，嗜碱性粒细胞和中性粒细胞难以区分。凡不能识别的细胞应归为“未能识别白细胞”。

## 2. 影响分类计数精确性因素

精确度常用重复计数的 S 或 CV 来表示。人工计数准确性虽高，但精确性差，与分类计数细胞数量较少有关。计数细胞量越大，误差越小。

## 3. 白细胞分类计数参考方法

美国国家临床实验室标准化委员会 (NCCLS) 提供的参考方法是：使用 EDTA-K<sub>3</sub> 抗凝静脉血；每份样本制作 3 张血涂片（玻片要求清洁、干燥、无尘，大小为 25mm×75mm，厚度为 0.8~1.2mm。并有明确标记），用楔形技术制备血涂片（即在玻片近一端 1/3 处，加 1 滴血液，握住另一张较狭窄的、边缘光滑的推片，以 30°~45° 角使血滴沿推片迅速散开，然后快速、平稳地推动推片至玻片的另一端，使血液拖在后面）；以 Romanowsky 类染液进行染色；

显微镜检查时，首先在低倍镜下进行浏览，观察有无异常细胞和细胞分布情况，然后在油镜下，观察细胞浆内的颗粒和核分叶情况，采用“城墙式”方法观察血涂片，需分类的细胞有中性分叶核粒细胞、中性杆状核粒细胞、淋巴细胞、异型淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞；每张血涂片应计数 200 个白细胞；白细胞分类结果以百分率和绝对值表示；有核红细胞，结果以每 100 个白细胞计数中见到几个表示。

进行仪器性能评价时，参考方法应由两位具备资格的检验人员，按照参考方法步骤，每份患者样本分析 400 个细胞，每张血涂片分析 200 个细胞。仪器应对每份样本进行双份测定。

## 4. 报告方式

白细胞分类计数结果以各种白细胞所占比值或百分率表示。发现幼稚或异常白细胞，应分类报告，并包括在白细胞分类比值或百分率中。见到有核红细胞，不应列入白细胞分类比值或百分率，而是报告分类计数 100 个白细胞所见到的有核红细胞数。发现疟原虫等应报告。发现红细胞、血小板异常形态等也应报告。

## (四) 临床意义

### 1. 中性粒细胞

#### (1) 生理性增多

正常中性分叶核粒细胞中，2 叶核占 10%~30%，3 叶核占 40%~50%，4 叶核占 10%~20%，5 叶核占 <5%。中性分叶核粒细胞 >70%，绝对值 >7×10<sup>9</sup>/L 称为增多。生理性中性粒细胞增多通常不伴有白细胞质量改变。通常原因为：

1) 年龄变化：新生儿白细胞较高（可达 (15~30)×10<sup>9</sup>/L），3~4d 后降至 10×10<sup>9</sup>/L，约保持 3 个月，逐渐减至成人水平。新生儿中性粒细胞占绝对优势 (6~28)×10<sup>9</sup>/L，1 周内降至 5×10<sup>9</sup>/L，第 6~9d 减至与淋巴细胞大致相等，随后淋巴细胞逐渐增多，婴儿期以淋巴细胞数为主（可达 70%），2~3 岁后，淋巴细胞逐渐减低，中性粒细



胞逐渐增高，4~5岁两者基本相等，形成中性粒细胞和淋巴细胞2次交叉变化曲线，到青春期时与成人相同。

2) 日间变化：在安静、休息时白细胞数较低，在活动、进食后白细胞数较高。早晨较低、下午较高。一日内最高值和最低值可相差1倍。

3) 运动、疼痛、情绪变化：脑力和体力劳动、冷热水浴、日光或紫外线照射等使白细胞轻度增高。严寒、暴热使白细胞数高达 $15 \times 10^9 / L$ 或更高。剧烈运动、剧痛、情绪激动使白细胞显著增高，可达 $35 \times 10^9 / L$ ，以中性粒细胞为主，是因循环池和边缘池粒细胞重新分配所致。

4) 妊娠与分娩：妊娠超过5个月白细胞可达 $15 \times 10^9 / L$ 以上，妊娠最后1个月波动于 $(12 \sim 17) \times 10^9 / L$ ，分娩时白细胞可达 $34 \times 10^9 / L$ ，分娩后2~5d内恢复正常，但只有定时和反复观察才有意义。

5) 其他：吸烟者白细胞计数高于非吸烟者30%（包括嗜中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞）。

### (2) 反应性增多

是机体的应激反应，动员骨髓贮备池中的粒细胞释放或边缘池粒细胞进入血循环，增多白细胞大多为分叶核粒细胞或杆状核粒细胞。

1) 急性感染或炎症：如化脓性球菌、某些杆菌（如大肠杆菌和绿脓杆菌等）、真菌、放线菌、病毒（如流行性出血热、流行性乙型脑炎和狂犬病等）、立克次体如斑疹伤寒、螺旋体（如钩端螺旋体和梅毒等）、寄生虫（如肺吸虫等）。

增高程度与病原体种类、感染部位、感染程度、机体反应性有关。如急性化脓性胆管炎， $WBC > 20 \times 10^9 / L$ 可作为诊断标准之一。如急性胰腺炎，WBC、中性粒细胞增高与炎症程度成正比， $WBC > 10 \times 10^9 / L$ 时，水肿性急性胰腺炎占67.5%，坏死性急性胰腺炎达78.6%，中性粒细胞 $> 85\%$ 时，水肿性急性胰腺炎占86.2%，坏死性急性胰腺炎占88.5%，死亡率高达100%。如肠缺血、坏死破裂， $WBC > 10 \times 10^9 / L$ 可作为早期坏死指标之一。

如轻度感染，WBC可正常，但中性粒细胞百分率增高；中度感染，WBC可达 $(10 \sim 20) \times 10^9 / L$ ，中性粒细胞百分率增高，并伴有核左移；严重感染（如菌血症、败血症、脓毒血症），WBC明显增高可达 $(20 \sim 30) \times 10^9 / L$ ，中性粒细胞百分率明显增高，并伴明显核左移和中毒改变；上述情况说明机体反应良好。如感染过重，WBC不高，但核左移明显，患者可能处于中毒性休克状态，原因是白细胞再分布，聚集于内脏血管内；或白细胞大量逸出血管壁，趋向病患部位；或骨髓暂时供应不足。

2) 广泛组织损伤或坏死：如严重外伤、手术创伤、大面积烧伤、冻伤、血管栓塞（如心肌梗死和肺梗死等）。在12~36h内WBC增高，达 $10 \times 10^9 / L$ 以上，中性分叶核粒细胞增高。

3) 急性溶血：红细胞大量破坏、红细胞分解产物刺激骨髓贮备池中粒细胞释放。

4) 急性失血：如急性大出血、消化道大量出血、内脏破裂（如脾破裂或输卵管妊娠破裂等）。急性大出血，WBC在1~2h内迅速增高，达 $(10 \sim 20) \times 10^9 / L$ ，中性分叶核粒细胞增多。消化道大出血、内脏破裂，WBC增高，PLT也增高，与骨髓贮备池中细胞释放有关，但此时RBC和Hb仍可正常，与体内血浆和血细胞比值尚未改变有关，所以，WBC增高可作为早期诊断内出血的指标之一。

5) 急性中毒：外源性中毒（如化学物质、汞、铅、安眠药、昆虫毒、蛇毒、毒蕈等）、内源性中毒（如尿毒症、糖尿病酮症酸中毒、子痫、内分泌疾病危象等）。以中性分叶核粒细胞增高为主。

6) 恶性肿瘤：如非造血系统恶性肿瘤，WBC 持续增高，以中性分叶核粒细胞增多为主，主要机制为：肿瘤组织坏死分解产物刺激骨髓粒细胞释放；某些肿瘤细胞产生促粒细胞生成因子；肿瘤细胞骨髓转移，破坏骨髓对粒细胞释放的调控作用。

7) 其他原因：如类风湿性关节炎、自身免疫性溶血性贫血、痛风、严重缺氧、应用皮质激素、肾上腺素、氯化锂等。

### (3) 异常增生性增多

为造血干细胞克隆性疾病，造血组织中粒细胞大量增生。见于白血病（如急性白血病、慢性白血病）、骨髓增殖性疾病（如真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化症）。

1) 白血病：急性白血病，以幼稚白血病细胞增多为主，如急性髓性白血病（AML）和急性淋巴细胞白血病（ALL），骨髓中，病理性原始粒细胞大量增生，外周血中，约 50% 患者的 WBC 为  $(10\sim 50) \times 10^9 / L$ ，甚至超过  $100 \times 10^9 / L$ 。慢性白血病，以成熟白血病细胞增高为主，如慢性粒细胞白血病，患者 WBC 高达  $(100\sim 600) \times 10^9 / L$ ，粒细胞占 90% 以上，可见各阶段粒系细胞，以中幼、晚幼粒细胞为主，原粒、早幼粒细胞不超过 10%。有时，须与类白血病反应鉴别（表 1-3-6）。

表 1-3-6 白血病和类白血病的比较\*

	白血病	类白血病
WBC ( $\times 10^9 / L$ )	>100	<50
中性粒细胞	可见幼稚粒细胞	成熟为主，杆状核粒细胞 <10%
嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、常见单核细胞增多	常见	缺乏
PLT ( $\times 10^9 / L$ )	常见异常形态，通常 >1 000，血小板也可减少	通常较小，聚集性正常，罕见 >600，无血小板减少
外周血 RBC	有核红细胞，异常形态（泪滴形红细胞、多色素性红细胞）	红细胞正常，无有核红细胞

\* 摘自 Wallach J. Interpretation of Diagnostic Tests, 7<sup>th</sup>. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2000.

### 2) 骨髓增殖性疾病

包括真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、骨髓纤维化症等。系多能干细胞病变所致，特点为有一种以上血细胞增生，WBC 可达  $(10\sim 30) \times 10^9 / L$ ，中性粒细胞增多。

(4) 中性粒细胞减低：当中性粒细胞绝对值低于  $1.5 \times 10^9 / L$ ，称为粒细胞减低症，低于  $0.5 \times 10^9 / L$  时，称为粒细胞缺乏症。

1) 某些感染：如伤寒、副伤寒、流感等。如无并发症，WBC 减低 ( $< 2 \times 10^9 / L$ )，与细菌内毒素、病毒作用使边缘池粒细胞增多，循环池粒细胞减低，或抑制骨髓释放粒细胞等有关。

2) 血液病: 如典型的再生障碍性贫血、少数急性白血病。如典型再生障碍性贫血, 呈“三少”(红细胞、白细胞和血小板均减低), WBC 低于  $1 \times 10^9 / L$ , 以淋巴细胞为主。当中性粒细胞绝对值  $< 0.5 \times 10^9 / L$  时, 感染危险性极高,  $< 0.2 \times 10^9 / L$  时, 预后很差。

3) 慢性理化损伤: 如电离辐射(X线等)、长期服用氯霉素后, 可抑制骨髓细胞有丝分裂使 WBC 减低。临床上, 药物性中性粒细胞减低症很常见, 与免疫、细胞毒性、过敏体质有关, 儿童和年轻人约占 10%, 老年人约占 50%, 有药物过敏史者更易受累, 女性比男性易发病, 在用药早期中性粒细胞就减低, 停药 4~7d 后, 中性粒细胞恢复正常。

4) 自身免疫性疾病: 如系统性红斑狼疮(SLE), 约 60% 患者 WBC 为  $(2 \sim 5) \times 10^9 / L$ , 中性粒细胞绝对值减低。

5) 脾功能亢进: 如门脉性肝硬化、班替综合征。机制为脾脏单核-吞噬细胞系统破坏白细胞, 或肿大脾脏能分泌过多脾素, 灭活促粒细胞生成因子。

#### (5) 中性粒细胞核象

①核象定义: 是指外周血中中性粒细胞的分叶状况。

②正常核象: 中性粒细胞以 3 叶核为主, 杆状核与分叶核之比为 1:13, 无幼稚细胞。

##### 1) 核左移

外周血中杆状核粒细胞增多或(和)出现晚幼粒、中幼粒、早幼粒等细胞时称为核左移。包括: **再生性左移: 指核左移伴有白细胞总数增高者, 表示机体反应性强、骨髓造血功能旺盛。见于感染(尤其急性化脓性感染)、急性中毒、急性溶血、急性失血等。**分为: 轻度左移, 白细胞总数及中性粒细胞百分数略增高, 仅杆状核粒细胞增多( $> 5\%$ ), 表示感染程度较轻, 机体抵抗力较强。中度左移, 白细胞总数及中性粒细胞百分数均增高, 杆状核粒细胞  $> 10\%$  并有少数晚幼粒细胞和中毒性改变, 表示有严重感染。重度左移, 白细胞总数及中性粒细胞百分数明显增高, 杆状核粒细胞  $> 25\%$ , 并出现幼稚的粒细胞。**退行性左移: 指核左移而白细胞总数不增高、甚至减低者。见于再生障碍性贫血、粒细胞减低症、严重感染(如伤寒、败血症等)。**

##### 2) 核右移

中性粒细胞核分叶 5 叶以上者超过 3% 则称为核右移, 常伴白细胞总数减低, 为造血物质缺乏、脱氧核糖核酸减低、骨髓造血功能减退所致。见于营养性巨幼细胞性贫血、恶性贫血、应用抗代谢药物(如阿糖胞苷、6-巯基嘌呤等)、炎症恢复期。在炎症恢复期出现一过性核右移, 属正常现象, 但进行期突然出现核右移, 表示预后不良。

#### 2. 嗜碱性粒细胞

(1) 增多: **外周血嗜碱性粒细胞绝对值超过参考上限 ( $> 0.05 \times 10^9 / L$ )。**

1) 过敏性或炎症性疾病: 如荨麻疹、溃疡性结肠炎。荨麻疹因过敏体质对特异抗原过敏或物理因素(寒冷等)引发, 血清 IgE 增高, 寒冷性荨麻疹患者血清中还可出现冷球蛋白或冷纤维蛋白原等。溃疡性结肠炎可见 RBC 减低、缺铁性贫血、急性期 WBC、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞增多。

2) 骨髓增生性疾病: 如真性红细胞增多症、原发性骨髓纤维化、慢性粒细胞性白血病。嗜碱性粒细胞持续  $> 0.1 \times 10^9 / L$ , 是骨髓增生性疾病的共同特征。真性红细胞增多症, 嗜碱性粒细胞轻度增高( $1 \times 10^9 / L$ )。原发性纤维化, 贫血、出现幼稚红细胞、幼稚粒细胞、WBC 增高、以中性粒细胞为主、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞轻度增多。慢性粒细胞性白血病, 轻度贫血、WBC 增多、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞增多, 达 2%~3%, 高达 20%~90% 者提示预后不良。

3) 嗜碱性粒细胞白血病: 罕见类型白血病, 嗜碱性粒细胞异常增多, 达 20% 以上, 且多幼稚型。

(2) 减少: 见于甲状腺功能亢进、妊娠、放疗、化疗、糖皮质激素治疗、感染急性期。

### 3. 淋巴细胞

(1) 生理性增多: 外周血淋巴细胞绝对值成人  $>4 \times 10^9 / L$ 、儿童  $>7.2 \times 10^9 / L$ 、4 岁以下  $>9 \times 10^9 / L$ 。见于儿童期淋巴细胞生理性增多。

(2) 病理性增多: 见于急性传染病 (如风疹、流行性腮腺炎、传染性淋巴细胞增多症、传染性单核细胞增多症、百日咳等)、某些慢性感染 (如结核病等)、肾移植术后 (如发生排异反应)、白血病 (如淋巴细胞性白血病、白血性淋巴瘤)、再生障碍性贫血、粒细胞缺乏症。

1) 传染性单核细胞增多症: 由 EB 病毒引起的急性或亚急性良性淋巴细胞增多性传染病, WBC 正常或轻度增高, 早期以中性粒细胞增多为主, 随后淋巴细胞增多 ( $>50\% \sim 97\%$ ), 异型淋巴细胞在发病 4~5d 出现, 7~10d 达高峰, 多数  $>10\% \sim 20\%$ , 1~2 个月后消退。

2) 百日咳: 淋巴细胞达  $30 \times 10^9 / L$ , 范围为  $(8 \sim 70) \times 10^9 / L$ , 以 CD4 阳性细胞为主。

3) 肾移植术后: 发生排异反应前, 淋巴细胞绝对值增高。

4) 白血病: 慢性淋巴细胞性白血病, 以白血病性成熟淋巴细胞为主。急性淋巴细胞性白血病和白血性淋巴瘤, 以原、幼淋巴细胞为主。

(3) 减低: 见于接触放射线、应用肾上腺皮质激素、促肾上腺皮质激素、严重化脓性感染、艾滋病、传染性非典型肺炎等。

### 4. 单核细胞

(1) 生理性增多: 外周血单核细胞绝对值计数超过  $0.8 \times 10^9 / L$ 。儿童外周血单核细胞较成人稍多, 平均为 9%, 出生后 2 周婴儿可呈生理性单核细胞增多, 可达 15% 或更多, 妊娠时生理性增高与中性粒细胞变化相平行。

(2) 病理性增多: 见于某些感染 (如亚急性感染性心内膜炎、疟疾、黑热病等)、急性感染恢复期、活动性肺结核 (如严重的浸润性和粟粒性结核)、某些血液病 (如粒细胞缺乏症恢复期、恶性组织细胞病、淋巴瘤、单核细胞白血病、骨髓增生异常综合征)。

1) 某些感染: WBC 达  $20 \times 10^9 / L$  以上, 外周血单核细胞明显增多, 达 30% 以上, 以成熟单核细胞为主。

2) 某些血液病: 粒细胞缺乏症恢复期可见单核细胞一过性增多。

3) 恶性组织细胞病、淋巴瘤、单核细胞性白血病: 可见幼单核细胞增多。

## 第四节 嗜酸性粒细胞计数

用嗜酸性粒细胞稀释液将血液稀释一定倍数, 同时破坏红细胞和大部分白细胞, 并将嗜酸性粒细胞着色, 然后滴入细胞计数盘中, 计数一定范围内嗜酸性粒细胞数, 即可求得每升血液中嗜酸性粒细胞数。

### (一) 方法学评价

1. 显微镜计数法：重复性差、精确性较差。作白细胞分类时，嗜酸性粒细胞百分率准确性取决于血涂片质量，故而，嗜酸性粒细胞绝对值比百分率更有临床价值。

2. 血液分析仪法：提供嗜酸性粒细胞百分率、绝对值、直方图和散点图，是目前最有效的嗜酸性粒细胞筛检方法，若仪器提示嗜酸性粒细胞增多、直方图或散点图异常时，应进一步用显微镜作嗜酸性粒细胞直接计数。

## (二) 参考值

成人： $(0.05\sim 0.5) \times 10^9 / L$ 。

## (三) 临床意义

### 1. 生理变化

(1) 年龄变化：5岁以下儿童嗜酸性粒细胞约为 $(0\sim 0.8) \times 10^9 / L$ ，5~15岁约为 $(0\sim 0.5) \times 10^9 / L$ ；

(2) 日间变化：外周血嗜酸性粒细胞浓度在1d内有波动，白天低、夜间高、上午波动大、下午较恒定，变异可达30多倍，与糖皮质激素脉冲式分泌有关。糖皮质激素作用为：①抑制骨髓释放成熟嗜酸性粒细胞进入外周血；②使循环中嗜酸性粒细胞附着于小血管壁。

(3) 劳动、寒冷、饥饿、精神刺激等使肾上腺皮质产生肾上腺皮质激素增高，导致嗜酸性粒细胞减低。

### 2. 增多

成人外周血嗜酸性粒细胞 $> 0.5 \times 10^9 / L$ 。

(1) 变态反应性疾病：嗜酸性粒细胞呈轻度或中等度增高，通常为 $(1\sim 2) \times 10^9 / L$ ，支气管高反应性与嗜酸性粒细胞计数呈负相关，如支气管哮喘药物过敏反应、荨麻疹、血管神经性水肿、血清病、异体蛋白过敏、枯草热等，坏死性血管炎嗜酸性粒细胞可明显增高 $(> 8 \times 10^9 / L)$ ，且伴有贫血。

(2) 寄生虫病：寄生虫感染时血中嗜酸性粒细胞增多可达10%以上。如血吸虫、华支睾吸虫、肺吸虫、丝虫、包虫等、钩虫感染时，嗜酸性粒细胞显著增高，嗜酸性粒细胞分类可达90%以上，使用驱虫药后，可逐渐恢复正常。

(3) 皮肤病：如湿疹、剥脱性皮炎、天疱疮、银屑病等嗜酸粒细胞呈轻度或中度增高。

(4) 血液病：如慢性粒细胞白血病（嗜酸性粒细胞常达10%以上）、真性红细胞增多症、多发性骨髓瘤、脾切除后等。嗜酸性粒细胞白血病时，嗜酸性粒细胞极度增高（达90%以上），以幼稚型居多，嗜酸性颗粒大小不均、着色不一、分布紊乱、胞质易见空泡等。霍奇金病，嗜酸性粒细胞可达10%左右。

(5) 某些恶性肿瘤：癌肿伴有嗜酸性粒细胞增高（如肺癌），是嗜酸性粒细胞对白细胞介素5（IL-5）和肿瘤细胞因子的反应。在实体瘤诊断前，嗜酸性粒细胞可中度增高，治疗有效时，嗜酸性粒细胞减低。

(6) 某些传染病：传染病感染期时，嗜酸性粒细胞常减低，在恢复期时，嗜酸性粒细胞暂时性增高。但猩红热急性期，嗜酸性粒细胞增高。如乙型溶血性链球菌产生的酶能活化补体成分引起嗜酸性粒细胞增多。

(7) 其他：风湿性疾病、脑垂体前叶功能减低症、肾上腺皮质功能减低症、过敏性间质性肾炎等。

(8) 高嗜酸性粒细胞综合征：包括伴有肺浸润的嗜酸性粒细胞增多症、过敏性肉芽肿、嗜酸性粒细胞心内膜炎等。

### 3. 减低

见于长期应用肾上腺皮质激素、某些急性传染病，如伤寒极期。

### 4. 其他应用

(1) **观察急性传染病的预后**：肾上腺皮质有促进机体抗感染的能力，当急性感染（如伤寒）时，肾上腺皮质激素分泌增高，嗜酸性粒细胞减低，疾病恢复期时嗜酸性粒细胞又增多。如临床症状严重，嗜酸性粒细胞不减低，说明肾上腺皮质功能衰竭，预后不良。如嗜酸性粒细胞持续减低，甚至完全消失，说明病情严重。

(2) 观察手术和烧伤患者的预后：手术后 4h 嗜酸性粒细胞显著减低，甚至消失，24~48h 后逐渐增多。大面积烧伤患者，数小时后嗜酸性粒细胞完全消失，且持续时间较长。

(3) 测定肾上腺皮质功能：患者作嗜酸性粒细胞直接计数后，然后肌注或静脉滴注 ACTH25mg，直接刺激肾上腺皮质，或注射 0.1% 肾上腺素 0.5ml，刺激垂体前叶分泌 ACTH，间接刺激肾上腺皮质。肌注后 4h 或静脉滴注后 8h，再作嗜酸性粒细胞直接计数。结果判断：①在正常情况下，注射 ACTH 或肾上腺素后，嗜酸性粒细胞比注射前应减低 50% 以上。②肾上腺皮质功能正常，而垂体前叶功能不良者，则直接刺激时减低 50% 以上，间接刺激时不减低或减低很少。③垂体功能亢进时，直接和间接刺激均可减低 80%~100%。④垂体前叶功能正常，而肾上腺皮质功能不良者，直接和间接刺激减低均小于 50%，如艾迪生 (Addison) 病。

## (四) 操作方法和注意事项

### 1. 操作方法

取嗜酸性粒细胞稀释液 0.38ml，加血 20  $\mu$ l，混匀后充入计数板 2 个计数池中，静置 3~5min，然后，在低倍镜下计数 2 个计数池共 10 个大方格内嗜酸性粒细胞数量，计算：

$$\text{嗜酸性粒细胞/L} = \frac{10 \text{ 个大方格内的嗜酸性粒细胞}}{10} \times 10 \times 20 \times 10^6$$

### 2. 试剂

嗜酸性粒细胞稀释液种类繁多，虽配方不同，但作用大同小异，分为：嗜酸性粒细胞保护剂（如乙醇、丙酮、乙二醇）、嗜酸性粒细胞着色剂（如溴甲酚紫、伊红、固绿等）、破坏其他细胞和增强嗜酸性粒细胞着色物质（如碳酸钾、草酸铵）、抗凝剂（如柠檬酸钠、EDTA）、防止乙醇和液体挥发剂（如甘油）。

### 3. 注意事项

(1) 时间：嗜酸性粒细胞直接计数最好固定时间，以排除日间生理变化。操作应在 30~60min 内完成，否则嗜酸性粒细胞逐渐破坏或不易辨认，使结果偏低。

(2) 混匀：嗜酸性粒细胞在稀释液中易发生聚集，要及时混匀。嗜酸性粒细胞又易于破碎，振荡不宜太猛烈。

## 第五节 白细胞形态检查

### (一) 检测原理

血涂片经染色后，在普通光学显微镜下作白细胞形态学观察和分析。常用的染色方法有：瑞氏染色法、姬姆萨染色法、May-Grünwald 法、Jenner 法、Leishman 染色法等。

## （二）方法学评价

1. 显微镜分析法：对血液细胞形态的识别，特别是异常形态，推荐采用人工方法。
2. 血液分析仪法：不能直接提供血细胞质量（形态）改变的确切信息，需进一步用显微镜分析法进行核实。

## （三）临床意义

### 1. 正常白细胞形态

瑞氏染色正常白细胞的细胞大小、核和质。

### 2. 异常白细胞形态

#### （1）中性粒细胞

1) **毒性变化**：在严重传染病、化脓性感染、中毒、恶性肿瘤、大面积烧伤等情况下，中性粒细胞有下列形态改变：**大小不均**（中性粒细胞大小相差悬殊），**中毒颗粒**（比正常中性颗粒粗大、大小不等、分布不均匀、染色较深、呈黑色或紫黑色），**空泡**（单个或多个、大小不等），**Döhle 体**（是中性粒细胞胞质因毒性变而保留的嗜碱性区域，呈圆形、梨形或云雾状、界限不清、染成灰蓝色、直径约 1~2 μm、亦可见于单核细胞），退行性变（胞体肿大、结构模糊、边缘不清晰、核固缩、核肿胀、核溶解等）。上述变化反映细胞损伤的程度，可以单独出现，也可同时出现。

**毒性指数**：计算中毒颗粒所占中性粒细胞（100 个或 200 个）的百分率。1 为极度，0.75 为重度，0.5 为中度，<0.25 为轻度。

中性粒细胞中毒性改变和其他异常形态

中性粒细胞中毒性改变

2) **巨多分叶核中性粒细胞**：细胞体积较大，直径 16~25 μm，核分叶常在 5 叶以上，甚至在 10 叶以上，核染色质疏松。见于巨幼细胞贫血、抗代谢药物治疗后。

3) **棒状小体**：细胞质中出现呈紫红色细杆状物质，长约 1~6 μm，1 条或数条，见于急性白血病，尤其是颗粒增多型早幼粒细胞白血病（M3 型）可见数条~数十条成束棒状小体，急性单核细胞白血病可见 1 条细长的棒状小体，而急性淋巴细胞白血病则不出现棒状小体。

4) **Pelger-Huet 畸形**：细胞核为杆状或分 2 叶，呈肾形或哑铃形，染色质聚集成块或条索网状。为常染色体显性遗传性异常，也可继发于某些严重感染、白血病、骨髓增生异常综合征、肿瘤转移、某些药物（如秋水仙胺、磺基二甲基异噻唑）治疗后。

5) **Chediak-Higashi 畸形**：细胞质内含有数个~数十个包涵体，直径约 2~5 μm，呈紫蓝、紫红色。见于 Chediak-Higashi 综合征（切-东综合征），为常染色体隐性遗传。

6) **Alder-Reilly 畸形**：细胞质内含有巨大的、深染的、嗜天青颗粒，染深紫色。见于脂肪软骨营养不良、遗传性粘多糖代谢障碍。

7) **May-Hegglin 畸形**：细胞质内含有淡蓝色包涵体。见于严重感染。

#### （2）淋巴细胞

1) 异型淋巴细胞，有三型：

**空泡型**；**不规则型**；**幼稚型**。多为 T 淋巴细胞。

主要见于传染性单核细胞增多症（10%以上）、病毒性肺炎、病毒性肝炎、肾综合征出血热等病毒性感染。

**I型（空泡型，浆细胞型）**：胞体比正常淋巴细胞稍大，多为圆形、椭圆形、不规则形。核圆形、肾形、分叶状，常偏位。染色质粗糙、呈粗网状或小块状、排列不规则。胞质丰富、染深蓝色、**含空泡或呈泡沫状**。

**II型（不规则型，单核细胞型）**：胞体较大，外形常不规则，可有多个伪足。核形状及结构与I型相同或更不规则，染色质较粗糙致密。胞质丰富、染淡蓝或灰蓝色、有透明感、边缘处着色较深、一般无空泡、可有少数嗜天青颗粒。

**III型（幼稚型）**：胞体较大，核圆形、卵圆形。**染色质细致呈网状排列、可见1~2个核仁**。胞质深蓝色、可有少数空泡。

2) 放射线损伤后淋巴细胞形态变化：淋巴细胞受电离辐射后出现形态学改变：**核固缩、核破碎、双核、卫星核淋巴细胞（胞质中主核旁出现小核）**。

3) 淋巴细胞性白血病时形态学变化：在急、慢性淋巴细胞白血病，出现各阶段原幼细胞，并有形态学变化。

### （3）浆细胞

正常浆细胞直径8~9 μm，胞核圆、偏位，染色质粗块状、呈车轮状或龟背状排列；胞质灰蓝色、紫蓝色、有泡沫状空泡，无颗粒。如外周血出现浆细胞，见于传染性单核细胞增多症、流行性出血热、弓形体病、梅毒、结核病等。异常形态浆细胞有：

1) Mott细胞：浆细胞内充满大小不等、直径2~3 μm蓝紫色球体，呈桑椹样。见于反应性浆细胞增多症、疟疾、黑热病、多发性骨髓瘤。

2) 火焰状浆细胞：浆细胞体积大，胞质红染、边缘呈火焰状。见于IgA型骨髓瘤。

3) Russell小体：浆细胞内有数目不等、大小不一、直径2~3 μm红色小圆球。见于多发性骨髓瘤、伤寒、疟疾、黑热病等。

Russell小体是浆细胞浆内的一种数目不等，大小不一染成肉红色的球形小体，它是浆细胞中分泌免疫球蛋白的一种小体。如胞浆内充满此小体，核常被挤到一边，称为葡萄细胞（grape cell）或称Mott细胞（桑椹状细胞）。Russell小体在染色中有时会溶解，以致染成淡黄色或形成空泡，成为泡沫样细胞，须与脂肪细胞区别。

火焰状细胞是指浆细胞内沉集了一些无定形沉淀物，并常染成红色，故名。现已知沉积物也是免疫球蛋白，且多见于IgA型多发性骨髓瘤。

Dutcher小体是一种含于核内的PAS阳性包涵体，经罗氏染色后，较核染色为淡，可在约7%的骨髓瘤患者中见到，以IgA型骨髓瘤较多见。

## 第四章 血液分析仪及其临床应用

### 第一节 概述

20世纪50年代初，电子血细胞计数仪开始应用于临床，随着电子技术、流式细胞术、激光技术、单克隆抗体、计算机等高科技在血细胞分析仪上的应用，血液分析仪的研制水平不断提高，检测原理不断完善，测量参数不断增多，现代血液分析仪（HA）具有下列特点：



1. 自动化程度越来越高。
2. 通过条形码识别、自动运输装置、自动混匀、自动进样、自动检测、自动报告、自动清洗、自动涂片，形成了模块式自动化血液分析流水线。
3. 提供参数越来越多：能提供 18~40 多个参数，如有核红细胞数、淋巴细胞亚群数等。
4. 精度越来越高：采用定容计量、定时监控、三次平均法计数、延时计数等使精密度大大提高。
5. 速度越来越快：每小时可分析 50~150 份样本。
6. 强大的质控功能：有自动记录质控结果、可供选择的质控规则、自动绘制质控图、失控报警、患者结果浮动均值和患者结果 Delta 核查和报警等功能。
7. 智能化程度越来越高：提供简明直观的直方图或散点图、提示异常结果报警信号、备有专家诊断系统和远程会诊等功能。

## 第二节 检测原理

本节要点：

- (1) 电阻抗法血液分析仪检测原理
- (2) 光散射法血液分析仪检测原理

### (一) 电阻抗法血液分析仪检测原理

#### 1. 电阻抗法血细胞计数原理（库尔特原理）

将等渗电解质溶液稀释的细胞悬液置入不导电的容器中，将小孔管（也称传感器）插入细胞悬液中。小孔管内充满电解质溶液，并有一个内电极，小孔管的外侧细胞悬液中有一个外电极。当接通电源后，位于小孔管两侧电极产生稳定电流，稀释细胞悬液从小孔管外侧通过小孔管壁上宝石小孔（直径 $<100\ \mu\text{m}$ ，厚度约 $75\ \mu\text{m}$ ）向小孔管内部流动，使小孔感应区内电阻增高，引起瞬间电压变化形成脉冲信号，脉冲振幅越高，细胞体积越大，脉冲数量越多，细胞数量越多，由此得出血液中血细胞数量和体积值。

#### 2. 白细胞分类计数原理

根据电阻抗法原理，经溶血剂处理的、脱水的、不同体积的白细胞通过小孔时，脉冲大小不同，将体积为 $35\sim 450\text{f1}$ 白细胞，分为 256 个通道，其中，淋巴细胞为单个核细胞、颗粒少、细胞小，位于 $35\sim 90\text{f1}$ 的小细胞区，粒细胞（中性粒细胞）的核分多叶、颗粒多、胞体大，位于 $160\text{f1}$ 以上的大细胞区，单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、原始细胞、幼稚细胞等，位于 $90\sim 160\text{f1}$ 的单个核细胞区，又称为中间型细胞。仪器根据各亚群占总体的比例，计算出各亚群细胞的百分率，并同时计算各亚群细胞的绝对值，显示白细胞体积分布直方图。

#### 3. 血红蛋白测定原理

当稀释血液中加入溶血剂后，红细胞溶解并释放出血红蛋白，血红蛋白与溶血剂中的某些成分结合形成一种血红蛋白衍生物，在特定波长（530~550nm）下比色，吸光度变化与稀释液中 Hb 含量成正比，最终显示 Hb 浓度。不同类型血液分析仪，溶血剂配方不同，所形成血红蛋白衍生物不同，吸收光谱不同，如含氰化钾的溶血剂，与血红蛋白作用后形成氰化血红蛋白，其最大吸收峰接近 540nm。

## （二）光散射法血液分析仪检测原理

### 1. 光散射法白细胞计数和分类计数原理

容量、电导、光散射（VCS）法

1) 利用电阻抗法原理测量细胞体积（V）。

2) 利用电导（C）技术测量细胞内部结构。原理是利用高频电磁探针测量细胞内部结构，根据细胞核和细胞质比例、细胞内颗粒大小和密度来识别体积相同、但性质不同的两类细胞群体，如小淋巴细胞和嗜碱性粒细胞。

3) 利用光散射（S）技术测量细胞形态和核结构。原理是利用激光照射进入计数区的每个细胞，根据散射光角度（ $10^{\circ} \sim 70^{\circ}$ ）的不同，提供每个细胞形态、核结构信息来鉴别中性粒细胞、嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

V（volume）体积测量采用电阻抗原理；C（conductivity）电导性是根据细胞壁能产生高频电流的性能，采用高频电磁探针测量细胞内部结构；S（scatter）光散射是来自激光的单色光束对细胞进行扫描，提供细胞结构和形态的变化。

根据 VCS 原理，显示 3 种细胞散点图：DF1（体积和散射光）、DF2（体积和电导）、DF3（体积和电导，但只显示嗜碱性粒细胞群）。

多角度偏振光散射（MAPSS）法

当激光束照射到单个细胞时，从 4 个角度测定散射光密度：① $0^{\circ}$ ：前角光散射（ $1^{\circ} \sim 3^{\circ}$ ），可测定细胞大小；② $10^{\circ}$ ：狭角光散射（ $7^{\circ} \sim 11^{\circ}$ ），可测定细胞内部结构特征；③ $90^{\circ}$ ：垂直光散射（ $70^{\circ} \sim 110^{\circ}$ ），可测定细胞核分叶情况；④ $-90^{\circ}$ ：消偏振光散射（ $70^{\circ} \sim 110^{\circ}$ ），可将嗜酸性粒细胞和其他细胞区分出来。

### 4. 网织红细胞计数原理

（1）利用新亚甲蓝使网织红细胞 RNA 着色，加入使红细胞内 Hb 溢出的试剂，使其成为“影细胞”，然后采用 VCS 原理，得出网织红细胞数和相关参数。

（2）利用碱性槐黄 O 等荧光染料与网织红细胞内的 RNA 结合，以波长 488nm 氩氛激光束为激光源照射网织红细胞，得到前向散射光强度（细胞体积大小）和荧光强度（胞质内 RNA 多少），形成二维显示散点图，得出网织红细胞数和相关参数。

## 第三节 白细胞直方图

血液分析仪在计数细胞数量的同时，还提供细胞体积分布图形，横坐标为细胞体积大小，纵坐标为不同体积细胞的相对频率，称为细胞直方图。

### （一）白细胞直方图代表意义

正常白细胞直方图，在 35~450f1 范围内将白细胞分为 3 群，左侧峰又高又陡为淋巴细胞峰，最右侧峰又低又宽为中性粒细胞峰，左右两峰间的谷区较平坦为单个核细胞峰。

所以，当发现某患者白细胞直方图改变为一个单一峰的曲线，务必要对血涂片进行检查，以排除急性白血病。千万不要漏诊。

## 第四节 红细胞、血小板直方图

红细胞直方图曲线的峰顶对应的是红细胞的 MCV，而曲线基底的宽度基本上反映红细胞的 RDW。

### （一）正常红细胞直方图

在 36~360f1 范围内分布两个细胞群体，从 50~125f1 区域有一个两侧对称、较狭窄的曲线，为正常大小的红细胞，从 125~200f1 区域有另一个低而宽的曲线，为大红细胞、网织红细胞。当红细胞体积大小发生变化时，峰左移或右移，或出现双峰。

### （二）血小板直方图

正常血小板直方图，在 2~30f1 范围内分布，呈左偏态分布，集中分布于 2~15f1 内。当有大血小板或小红细胞、聚集血小板时，直方图显示异常。

受干扰的异常血小板直方图（a）大量红细胞碎片，（b）多数血小板聚集，（c）小红细胞增多。

## 第五节 方法学评价

### 本节考点：

- （1）仪器性能的评价
- （2）干扰血液分析仪检测的因素

### （一）仪器性能评价

1989 年，ICSH 公布了用于评价血液分析仪性能、优点和局限性的《含白细胞分类、网织红细胞计数和细胞标志检测的血液分析仪评价指南》。

#### 1. 样本要求

血液样本要求在采集后 4 小时内进行处理，并需要各种类型的样本，以反映血液中各种成分质和量的变化。

#### 2. 性能评价

（1）稀释效应：包括①受倍比稀释影响的参数：用同源乏血小板血浆稀释压积细胞，得到各种浓度，如 100%，90%，80%，20%，10%，评价稀释度与参数之间的线性关系。理想情况下，线性范围越宽越好、回归线应通过原点。②不受稀释效应影响的参数：如红细胞平均指数，不受稀释度影响，理论上应为一条水平回归线。

(2) 精密度：包括批内、批间精密度和总精密度。①批内和批间精密度：是对同一批样本（批内或重复精密度）或二至多批样本（批间精密度）的重复测定，用 CV 值表示。理论上，精密度研究样本应覆盖整个病理范围，包括高、中、低值，进行重复测定，采用双因素方差分析进行批内、批间精密度评价。批间精密度受仪器校准和仪器漂移的影响。②总精密度：总重复性由批内、批间精密度和携带污染结果得出。实验时从一个较大范围中随机抽取样本，并在几小时内测定，采用单因素方差分析进行评价。若总精密度评价在较长时间内完成，样本贮存和稳定性也是重要影响因素。

(3) 携带污染：在运行临床样本前，必须对高值和低值样本的携带污染进行评价，保证交叉测量时仪器结果的稳定性。方法是连续测试高值样本 3 次（ $i_1$ 、 $i_2$ 、 $i_3$ ），随后立即连续测试低值样本 3 次（ $j_1$ 、 $j_2$ 、 $j_3$ ），按下列公式计算：

(4) 相关性：是仪器测定结果与常规方法相比的满意程度。采用大量的、未经选择的、覆盖所有预期范围的样本，用图形表达方式显示被评估仪器（Y 轴）和常规方法（X 轴）测定结果的差异，采用配对 t 检验进行统计分析。

(5) 准确度：是“估计值与真值之间的一致性”。真值由决定性方法或参考方法获得。

(6) 样本老化：是采集静脉血样本，观察随时间增加测定结果的变化量。采集 10 份样本，5 份为正常，5 份为异常，样本分别贮存在室温和 4℃，并在 0 小时、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 小时内测试。以百分比或绝对值-时间作图，观察被测参数的变化。

(7) 样本异常干扰物和敏感性：在相关性研究中，应测试大量的非选择性样本，若有必要，可对异常样本或已知干扰物样本进行特殊研究。

## 第六节 临床应用

### （一）部分检测参数临床意义（相关专业知识和专业实践能力）

#### 1. 红细胞血红蛋白分布宽度（HDW）

反映红细胞内 Hb 含量异质性的参数，用单个红细胞 Hb 含量的标准差表示，正常参考范围为 24~34g/L。遗传性球形红细胞增多症时 RDW、HDW 明显增高，为小细胞不均一性高色素性贫血。

#### 2. 血小板平均体积（MPV）

(1) 鉴别血小板减低的病因：MPV 增高，见于外周血血小板破坏过多所致血小板减低。MPV 减低，见于骨髓病变所致血小板减低。

(2) 评估骨髓造血功能恢复情况：局部炎症时，骨髓造血未抑制，MPV 正常。败血症时，骨髓造血受抑制，MPV 减低。白血病缓解时，MPV 增高。骨髓造血衰竭，MPV 和血小板计数持续减低。骨髓功能恢复时，MPV 先上升，血小板计数随后上升。

#### 3. 血小板分布宽度（PDW）（相关专业知识和专业实践能力）

仪器测量一定数量血小板体积后，计算所得外周血血小板体积大小异质性参数。用血小板体积变异系数来表示（CV）。PDW 增大见于急性白血病化疗后、巨幼细胞性贫血、慢性粒细胞白血病、脾切除后、巨大血小板综合征、血栓性疾病、原发性血小板增多症、再生障碍性贫血。PDW 减低见于反应性血小板增多症。

表 18 血小板参数在不同血液病中鉴别意义

血液病名称	PLT	PCT	MPV	PDW
免疫性血小板减少症	↓↓	↓↓	↑	↑
再生障碍性贫血	↓↓	↓↓	↓	↓
巨幼红细胞贫血	↓	↓	↓	↑
骨髓增生异常综合征	↑	↑		↑

4. 低荧光率网织红细胞（LFR）和高荧光率网织红细胞（HFR）（专业知识）

（1）骨髓移植：网织红细胞计数是监测骨髓造血恢复的重要参数，通常移植成功后网织红细胞比白细胞提前 3~4d 增高。HFR 增高提示有较多未成熟细胞从骨髓进入外周血，故 HFR 变化比网织红细胞计数变化具有更重要意义。

（2）贫血：溶血性贫血时 Ret、LFR、HFR 明显增高。肾性贫血时 HFR 上升、LFR 下降、Ret 正常。

（3）放疗和化疗：长期化疗导致网织红细胞亚群发生变化，HFR、MFR（平均荧光率网织红细胞）减低早于 LFR。骨髓恢复时，HFR、MFR 又迅速上升。

5. 网织红细胞成熟指数（RMI）

$RMI = (MFR + HFR) / LFR \times 100$ ，参考值见表 1-4-11。RMI 增高，见于溶血性贫血、特发性血小板减少性紫癜（ITP）、慢性淋巴细胞白血病（CLL）、急性白血病、真性红细胞增多症、再生障碍性贫血、多发性骨髓瘤。RMI 减低，提示骨髓衰竭和造血无效，见于巨幼细胞性贫血。

6. 未成熟网织红细胞指数（IRF）

指未成熟网织红细胞与总网织红细胞百分比。未成熟网织红细胞体积较大，含 RNA 的量多。

（1）IRF 与网织红细胞计数关系：见表 1-4-12。

表 1-4-12 不同疾病 IRF 与网织红细胞计数的关系

IRF	RET	临床疾病
↑	↓	骨髓移植
↑	↑	溶血性贫血
↑	正常或 ↓	缺铁性贫血、B <sub>12</sub> 或叶酸缺乏
↑	正常或 ↑	近期出血
↑或正常	↑或正常	β 海洋性贫血
↑或正常	正常或 ↓	骨髓异常综合征
↑或正常	↓	增生低下性贫血
正常或 ↓	↓	再障危象
↓	↓	再生障碍性贫血
↓	正常	骨髓淋巴瘤

（2）监测骨髓移植后恢复情况：骨髓移植后，全血细胞计数、白细胞分类计数、网织红细胞计数是监测骨髓恢复造血的早期指标。IRF 较中性粒细胞绝对值、网织红细胞计数更早反映骨髓细胞生成和骨髓移植成功。IRF 比骨髓移植前增高 >20% 时，表示红系移植成功。IRF 是骨髓移植成功最早、最灵敏的指标。

(3) 监测肾移植后红细胞生成情况：肾移植后，IRF 增高比网织红细胞计数早 7d，是肾移植成功较早、较灵敏的指标。

#### 7. 单个网织红细胞血红蛋白量 (CHr)

可用于鉴别缺铁性贫血(减少)和非缺铁性贫血，是缺铁性贫血治疗有效的早期指标，在珠蛋白生成障碍性贫血患者 CHr 也可减少。

### (二) 红细胞直方图在贫血中的应用(相关专业知识, 专业实践能力)

#### 1. 小细胞性贫血

(1) RDW 正常：红细胞主峰左移，分布在 55~100fl，波峰在 75fl 处，基底较窄，为小细胞低色素均一性图形，见于轻型地中海贫血。

(2) RDW 轻度增高：红细胞主峰左移，分布在 55~100fl，波峰在 65fl 处，为小细胞低色素和细胞不均一性图形，见于缺铁性贫血。

(3) RDW 明显增高：红细胞显示双峰，小细胞峰明显左移，波峰在 50fl 处，大细胞峰顶在 90fl 处，基底较宽，为小细胞低色素不均一性图形，见于铁粒幼细胞性贫血、缺铁性贫血经治疗有效时。

#### 2. 大细胞性贫血

(1) RDW 正常：红细胞主峰右移，分布在 75~130fl，波峰在 100fl 处，为大细胞性图形，见于溶血性贫血、白血病前期、再生障碍性贫血、巨幼细胞性贫血。

(2) RDW 轻度增高：红细胞峰右移，基底增宽，分布在 75~150fl，波峰在 105fl 处，为大细胞不均一性图形，见巨幼细胞性贫血。

(3) RDW 明显增高：红细胞峰右移，出现双峰，以 100fl 处峰为主，为大细胞不均一性图形，见于巨幼细胞性贫血治疗初期。

#### 3. 正细胞性贫血

(1) RDW 正常：红细胞分布在 55~110fl，波峰在 88fl 处，为正常红细胞图形，见于慢性病贫血、急性失血、骨髓纤维化、骨髓发育不良。

(2) RDW 轻度增高：红细胞分布在 44~120fl，波峰在 80fl 处，为红细胞不均一性图形，见于血红蛋白异常、骨髓纤维化。

(3) RDW 明显增高：红细胞分布在 40~150fl，波峰在 90fl 处，为红细胞不均一性图形，见于早期或混合性营养不良。

## 第五章 血型和输血

血型定义：早期指红细胞表面抗原的差异，现知，血小板和白细胞表面抗原也存在差异，因此，血型是抗原抗体系统的遗传特征。

血型研究的应用：治疗输血、器官移植、骨髓移植、法医鉴定、考古研究等。

### 第一节 红细胞 ABO 血型系统

#### (一) ABO 血型系统的抗原及抗体检查

1996年，国际输血协会（ISBT）将红细胞表面抗原分为23个血型系统、5个血型关联和2个血型系列。血型系统指由一个或数个基因所编码的数个相关联抗原的组成。目前，国际输血协会对红细胞血型系统的命名，有2种方法：一种是6位数字法，如001001为ABO血型系统的A抗原；另一种是字母加数字法，如RH1为Rh血型系统D抗原。

### 1. ABO 血型抗原

（1）ABO 抗原的遗传：ABO 血型系统的产生及定位：**由3个分离位点的基因所控制，即ABO、Hh、Sese基因。**基因Hh和Sese紧密相连在第9对染色体上。现在一般接受“三复等位基因”学说：认为在决定ABO血型遗传的基因座上，有A、B、O三个等位基因。ABO遗传座位在第9号染色体的长臂3区4带。**A和B基因对于O基因而言为显性基因，O基因为隐性基因。**父母双方如各遗传给子代一个基因，则可组成**6个基因型；00、AA、AO、BB、BO、AB；4种表现型：A、B、O、AB。**

（2）ABO 抗原的发生：5~6周胎儿红细胞已可测出ABH抗原。新生儿A、B抗原位点较成人少，一般在生后18个月时才能充分表现出抗原性，但抗原性也仅为成人的20%。此外，ABH抗原频率亦随种族而不同。

（3）ABO 分泌型：ABH抗原不仅存在于红细胞膜上，也可存在于白细胞、血小板及其他组织细胞上。ABH血型特异物质存在于**唾液（含量最丰富）、尿、泪液、胃液、胆汁、羊水、血清、精液、汗液、乳汁等体液中，但不存在于脑脊液。这些可溶性抗原又被称为“血型物质”。凡体液中有血型物质者为分泌型（可以中和或抑制抗体与具有相应抗原的红细胞发生凝集），无血型物质者为非分泌型。**

血型物质意义：①测定唾液血型物质，可辅助鉴定血型。②中和ABO血型系统中的“天然抗体”，有助于检查免疫性抗体，鉴别抗体的性质。③检查羊水可预测胎儿ABO血型等。

### 2. ABO 系统抗体

（1）天然抗体与免疫性抗体：**天然抗体**是在没有可觉察的抗原刺激下而产生的抗体，以**IgM为主**，又称完全抗体或盐水抗体；也可能是由一种无觉察的免疫刺激产生而得。**免疫性抗体**：有IgM、IgG、IgA，但**主要是IgG**。抗A和抗B可以是IgM与IgG，甚至是IgM、IgG、IgA的混合物，但**主要是IgM**，而O型血清中以IgG为主。

#### （2）天然抗体和免疫抗体的主要区别。

（3）抗A、B抗体：O型人血清中不仅有抗A、抗B抗体，还含有一种抗A、B抗体。它与A型或B型红细胞都能凝集，但当用A或B型红细胞分别吸收时，不能将其分为特异的抗A和抗B。它与两种红细胞反应的活性不能通过特异吸收来分离。即使用A和B型红细胞反复吸收，它仍保持与A和B型红细胞都发生反应的活性。所以，不可能在抗A和抗B的混合液中找到抗A、B具有的血清学活性。这可能是O型血清中的抗A、B是一种直接针对A和B抗原的共同抗体结构。

## (二) ABO 血型系统的亚型

亚型是指属同一血型抗原，但抗原结构和性能或抗原位点数有一定差异。ABO 血型系统中以 A 亚型最多见，A 亚型主要有 A<sub>1</sub> 和 A<sub>2</sub>，占全部 A 型血的 99.9%，其他 A 亚型 (A<sub>3</sub>、A<sub>X</sub>、A<sub>M</sub>) 为数少；作 ABO 血型鉴定时，应加 O 型血清，以防对 A 亚型误定型。B 亚型 (B<sub>3</sub>、B<sub>M</sub>、B<sub>X</sub>) 比 A 亚型少见，临床意义不大。

### 1. A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 亚型基本特征

A<sub>1</sub> 亚型的红细胞上具有 A<sub>1</sub> 和 A 抗原，其血清中含有抗 B 抗体；A<sub>2</sub> 亚型的红细胞上只有 A 抗原，其血清中除含抗 B 抗体外，还有少量抗 A<sub>1</sub> 抗体。在直接凝集反应中，A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 亚型两种红细胞的 A<sub>1</sub> 与 A<sub>2</sub> 抗原均能与抗 A 试剂发生凝集反应。但抗 A<sub>1</sub> 不仅存在于 A<sub>2</sub> 亚型，在 B 型和 O 型人的血清中除含抗 A 外还有抗 A<sub>1</sub>，所以可以从 B 型人血清中获取抗 A<sub>1</sub> 试剂。

### 2. A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 亚型的鉴定方法

以抗 A<sub>1</sub> 试剂可区别 A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 血清，方法是：①可从 B 型人血清获取抗 A<sub>1</sub> 试剂，B 型血清有抗 A、抗 A<sub>1</sub>，其中抗 A 抗体能与 A 型红细胞的 A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 抗原凝集，如吸收抗 A，就只剩下抗 A<sub>1</sub>。②鉴定 A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 亚型，凡与抗 A<sub>1</sub> 试剂发生凝集反应者为 A<sub>1</sub>，如果同时还与抗 B 凝集，则为 A<sub>1</sub>B 型；不与抗 A<sub>1</sub> 试剂凝集者，为 A<sub>2</sub> 或 A<sub>2</sub>B 型。

### 3. A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 亚型鉴定的意义

目的是防止误定血型。尽管我国 A<sub>2</sub>、A<sub>2</sub>B 型在 A 与 AB 型中所占比例少于 1%，但定型时易将弱 A 亚型误定为 O 型，如果给其输入 O 型血，不会有太大问题，但是如果把弱 A 亚型误定为 O 型，并输给 O 型人，则受血者的抗 A 抗体就可能与输入的弱 A 亚型的红细胞起反应，引起血管内容血性输血反应。因此，**应避免将弱的 A 亚型定为 O 型**，如：A<sub>X</sub> 型红细胞与 B 型血清（抗 A 抗体）不发生凝集，但与 O 型血清可发生程度不一的凝集，这可能是因 O 型血中抗 A 效价比 B 型血抗 A 效价高，**故现做 ABO 血型鉴定时，应加 O 型血清（内含抗 A、抗 B 及抗 AB），以防将 A<sub>X</sub> 型误定为 O 型。**

## (三) ABO 血型鉴定

### 1. 原理

常用**盐水凝集法**检测红细胞上存在的血型抗原，以及血清中存在的血型抗体，依据抗原抗体存在的情况判定血型。常规的方法有：①**正向定型**：用已知抗体的标准血清检查红细胞上未知的抗原。②**反向定型**：用已知血型的标准红细胞检查血清中未知的抗体。结果判定：**凡红细胞出现凝集者为阳性，呈散在游离状态为阴性。ABO 血型定型原则见表 1-5-2。**

### 2. 鉴定方法

(1) 生理盐水凝集法：①**玻片法**：操作简单，适于大量标本检查，但反应时间长；被检查者如血清抗体效价低，则不易引起红细胞凝集，因此，**不适于反向定型**。②**试管法**：



由于离心作用可加速凝集反应，故反应时间短，而且，借助于离心力可以使红细胞接触紧密，促进凝集作用，**适于急诊检查**。

红细胞亚型抗原性弱，如抗 A 抗 B 标准血清效价低时，易造成漏检或误定。**如加用 O 型（抗 A、B）血清和反向定型，可避免此类错误。**

玻片法凝集结果判断：红细胞呈均匀分布，无凝集颗粒，镜下红细胞分散。在低倍镜下凝集程度强弱判断标准：①呈一片或几片凝块，仅有少数单个游离红细胞为（++++）。②呈数个大颗粒状凝块，有少数单个游离红细胞为（+++）。③数个微凝集颗粒和一部分微凝集颗粒，游离红细胞约占 1/2 为（++）。④肉眼可见无数细沙状小凝集颗粒。于镜下观察，每凝集团中有 5~8 个以上红细胞凝集为（+）。⑤可见数个红细胞凝集在一起，周围有很多的游离红细胞（±）。⑥可见极少数红细胞凝集，而大多数红细胞仍呈分散分布为混合凝集外观。⑦镜下未见细胞凝集，红细胞均匀分布为（-）。

（2）凝胶微柱法：是红细胞抗原与相应抗体在凝胶微柱介质中发生凝集反应的免疫学方法。血型抗体为单克隆抗体，加入试剂、标本，用专用离心机离心后可直接用肉眼观察结果或用血型仪分析。此法操作标准化，定量加样，确保结果准确性。

### 3. 抗 A、抗 B 和抗 AB 标准血清标准

准血清均采自健康人，并应符合下述条件：①特异性：只能与相应的红细胞抗原发生凝集，无非特异性凝集。②效价：我国标准抗 A 和抗 B 血清效价均在 1:128 以上。③亲和力：我国标准要求抗 A 对 A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> 及 A<sub>2</sub>B 发生反应开始出现凝集的时间分别是 15s、30s 和 45s；抗 B 对 B 型红细胞开始出现凝集的时间为 15s。凝集强度为 3min 时，凝块不小于 1mm<sup>2</sup>。④冷凝集素效价：在 1:4 以下。⑤无菌。⑥灭活补体。

### 4. 血型鉴定操作时注意事项

一般注意事项：①所用器材必须干燥清洁、防止溶血，凝集和溶血的意义一样。为避免交叉污染，建议使用一次性器材。标准血清从冰箱取出后，应待其平衡至室温后再用，用毕后应尽快放回冰箱保存。②加试剂顺序：**一般先加血清，然后再加红细胞悬液**，以便核实是否漏加血清。③虽然 IgM 抗 A 和抗 B 与相应红细胞的反应温度以 4℃ 最强，但为了防止冷凝集现象干扰，**一般在室温 20℃~24℃ 内进行试验**，而 37℃ 条件，可使反应减弱。④幼儿红细胞抗原未发育完全、老年体弱者抗原性较弱，最好采用试管法鉴定血型。⑤玻片法反应时间不能少于 10min，否则较弱凝集不能出现，造成假阴性。⑥正、反定型结果一致才可发报告。⑦反定型法：先天性免疫球蛋白缺陷，长期大量应用免疫抑制，血型抗体可减弱或消失；血清中存在自身免疫性抗体、冷凝集素效价增高、多发性骨髓瘤、免疫球蛋白异常均可造成反定型困难；新生儿体内可存在母亲输送的血型抗体，且自身血型抗体效价又低，因而出生 6 个月以内的婴儿不宜做反定型。老年人血清中抗体水平大幅度下降或被检者血清中缺乏抗 A 及（或）抗 B 抗体，可引起假阴性或血型鉴定错误。

### （四）交叉配血法

**最重要的是 ABO 血型配合。必须在 ABO 血型相同，且交叉配血无凝集时才能输血。**

1. 目的：检查受血者与供血者是否存在血型抗原与抗体不合的情况。

2. 原则：**主侧加受血者血清与供血者红细胞；次侧加受血者红细胞与供血者血清**，观察两者是否出现凝集。

3. 方法

(1) 盐水配血法：简便快速。主要缺点是只能检出不相配合的完全抗体，而不能检出不完全抗体。

(2) 抗球蛋白法配血法：又称 Coombs 试验。是最可靠的确定不完全抗体的方法，但操作繁琐。抗球蛋白法配血法是最早用于检查不完全抗体的方法。

**直接抗球蛋白法可检查受检者红细胞是否已被不完全抗体致敏；间接抗球蛋白法可用于鉴定 Rh 血型及血清中是否存在不完全抗体。**本法虽较灵敏，但也有一定限度，且操作复杂，不利于急诊检查和血库的大批量工作。

试剂：抗球蛋白试剂盒：包括抗广谱、抗 C3、抗 IgG 3 种试剂。阳性对照：IgG 型抗 D 致敏 5%RhD 阳性红细胞生理盐水悬液。阴性对照：正常人 5%红细胞生理盐水悬液。

注意事项：①标本采集后应立即进行试验，延迟试验或中途停止可使抗体从细胞上丢失。②抗人球蛋白血清应按说明书最适稀释度使用，否则可产生前带或后带现象而误为阴性结果。③阴性对照凝集：可能是抗人球蛋白血清处理不当，仍有残存的种属抗体，或被细菌污染，应更换血清重做试验。**核实阴性结果方法：在该试管中加 1 滴 IgG 致敏红细胞，如结果为阳性，则表示试管内的抗球蛋白血清未被消耗，阴性结果可靠。**④阳性对照不凝集：可能是抗人球蛋白血清或用于致敏红细胞的不完全抗 D 血清失效，或红细胞未洗净带人球蛋白所致，应更换血清或洗净红细胞后重做。⑤如需了解体内致敏红细胞的免疫球蛋白的类型，则可分别以抗 IgG、抗 IgM 或抗 C3 单价抗球蛋白血清进行试验。

(3) 聚凝胺法配血法：可以检出 IgM 与 IgG 两种性质的抗体，能发现可引起溶血性输血反应的几乎所有规则与不规则抗体，故本法已逐渐推广使用。配血原理：聚凝胺分子是带有高价阳离子多聚季铵盐，溶解后带有很多正电荷可以中和红细胞表面负电荷，有利于红细胞凝集，低离子强度溶液也能减低红细胞的 Zeta 电位，可进一步增加抗原抗体间的吸引力。当血清中存在 IgM 或 IgG 类血型抗体时，与红细胞发生紧密结合，此时加入枸橼酸盐解聚液以消除聚凝胺的正电荷，使 IgM 或 IgG 类血型抗体与红细胞产生凝集不会散开。如血清中不存在 IgM 或 IgG 类血型抗体，加入解聚液可使非特异性凝集消失。

(4) 凝胶配血法：又称微管（板）凝胶抗球蛋白试验，此法在凝胶中进行，保持了传统抗球蛋白试验的准确、具有简便、可靠的特点，全自动血型分析仪进行交叉配血，也是利用凝胶配血。

其他可检出不完全抗体的方法有蛋白酶法、胶体介质法等。

卡式配血 / 血型鉴定检测法已成为国际安全输血检查的推荐方法。

#### 4. 质量控制

(1) 血液标本：交叉配血的血液标本，受血者标本应为新鲜血，供血者标本应为血袋两端刚剪下小管中的血液。

(2) 选用方法：用试管法做交叉配血。

(3) 溶血现象：配血管出现溶血现象，为配血不合。

(五) ABO 血型鉴定及交叉配血中常见错误

##### 1. 分型血清方面的原因

(1) 自制分型血清抗体：效价太低、亲和力不强，造成定型不准确。

(2) 患者纤维蛋白原增高或为异常蛋白血症：如多发性骨髓瘤，巨球蛋白血症等，可产生缟线状假凝集。新生儿脐血中含有华顿胶或操作中使用了质量差的玻璃管（瓶），误认其脱下的胶状硅酸盐为串钱状凝集。

(3) 患者输入了高分子血浆代用品或静脉注射造影剂等药物：可引起红细胞聚集，易误认为凝集。

(4) 血清中可能存在的不规则抗体：如  $A_2$  和  $A_2B$  型患者血清内有抗  $A_1$  抗体，能凝集  $A_1$  红细胞。此外还有抗 I 抗体等。有些癌症患者（如胃癌、胰腺癌等）血中含有大量可溶性 A 或 B 物质，这些物质可中和抗血清的抗体，从而抑制反应。造成假性不凝集。克服的办法是红细胞先洗涤后再试验。

(5) 婴儿尚未产生自己的抗体或有从母亲获得的血型抗体：新生儿不宜用血清作反定型。

(6) 老年人血型抗体水平下降：某些免疫缺陷的人或慢性淋巴细胞白血病，遗传性无丙种球蛋白血症以及有些用了免疫抑制剂的患者，由于免疫球蛋白下降，血型抗体也下降甚至缺如。可出现反向定型错误。

##### 2. 红细胞方面的原因

(1) 用近期内输过血的患者血液做对照红细胞：此时，患者血液红细胞为混合型细胞。

(2) 患者红细胞被大量抗体包被：例如某些自身免疫疾病或新生儿溶血病患者的红细胞，或红细胞悬浮于高浓度蛋白的介质中，红细胞都会自发地发生凝集。

(3) 红细胞膜有遗传性或获得性异常。

(4) 抗原变异：A 或 B 的弱抗原易判为不凝集（假阴性），而由细菌引起的获得性类 B 抗原易误判为阳性。有些细菌含有乙酰基酶，能使特异性 A 型物质末端的 N-乙酰氨基半

乳糖水解成半乳糖，从而使 A 型获得类 B 抗原后易误定为 AB 型。由于患白血病或某些恶性肿瘤使 A 或 B 抗原变弱。婴儿及老年人的红细胞抗原也较青壮年为弱。

(5) 血清中有高浓度血型物质：当用血清配制红细胞悬液时，血型物质则会中和分型血清中的抗体，而不再与红细胞抗原起反应。

(6) 红细胞被细菌污染：细菌的酶消化了红细胞表面的唾液酸，暴露了人人都有 T 抗原，被具有抗 T 活性的 IgM 凝集。

(7) 嵌合体现象：混合细胞群见于异卵双生子。如，有 98% O 型红细胞，2% B 型红细胞会定为 O 型，但血清中只有抗 A 抗体。

3. 操作方面的原因：是最常见原因。

(1) 操作器材：玻璃器皿不洁或使用了严重污染的血清、红细胞，可出现假阳性。试管污染洗涤剂会造成假阴性。

(2) 红细胞与血清比例和离心：红细胞与血清比例不当、过度离心或离心不足可引起假阳性或假阴性。

(3) 溶血现象：误认为溶血现象为阴性结果。

(4) 试验温度：温度过高会造成假阴性。ABO 血型系统的 IgM 抗体最适温度为 4℃~22℃，如达 37℃凝集力即下降。

(5) 信息记录差错：标本、试剂、标签、加样弄错，或出现记录错误。大批标本检查时搞错标本号，张冠李戴最易造成错误。

(六) ABO 血型系统主要临床意义

1. 输血：是治疗与抢救生命的重要措施。输血前必须检查血型，选择血型相同的供血者，进行交叉配血，结果完全相合才能输血。

2. 新生儿溶血病：母婴 ABO 血型不合引起的新生儿溶血病（常为第 1 胎溶血），主要依靠血型血清学检查作出诊断。

3. 器官移植：受者与供者必须 ABO 血型相符才能移植

## 第二节 红细胞 Rh 血型系统检查

### (一) Rh 系统的命名

1. 起源：1940 年，Landsteiner 和 Wiener 发现用恒河猴的红细胞免疫家兔所得抗血清能与约 85% 白种人红细胞发生凝集反应，认为这些人红细胞含有与恒河猴红细胞相同的抗原，即命名为 Rh 抗原。但 Levine 与 Stetson 却从一名新生儿溶血病胎儿的妇女血清中发

现了与这种抗原反应的抗体。虽然，Landsteiner 用动物血清鉴别的抗原和 Levine 用人抗体确定的抗原仍不完全相同，但因为 Rh 这个术语已普遍采用，故一直沿用至今。因此，把 Landsteiner 用动物血清鉴别的那种抗原命名为 LW 抗原。但目前，普遍用采自人体的血清抗体，而不用免疫动物得到的抗体。

2. Rh 系统的命名及遗传：有 Fisher-Race、Wiener、Rosenfield 3 种命名法。Fisher-Race 命名法又称 CDE 命名法，这种学说认为 Rh 遗传基因位于第 1 号染色体的短臂上，Rh 血型有 3 个紧密相连的基因位点，每一位点有一对等位基因（D 和 d，C 和 c，E 和 e），这 3 个基因是以一个复合体形式遗传。3 个连锁基因可有 8 种基因组合，即 CDe、cDE、cDe、CDE、Cde、cdE、cde 和 CdE，两条染色体上的 8 种基因组合可形成 36 种遗传型。

Rh 抗原命名为 C、D、E、c、d、e，虽从未发现过 d 抗原及抗 d 活性，但仍保留“d”，符号，以相对于 D。因此，Rh 抗原只有 5 种，有相应 5 种抗血清，可查出 18 种 Rh 表现型。临床上，习惯将有 D 抗原者称 Rh 阳性，而将虽有其他 Rh 抗原而无 D 抗原者称为 Rh 阴性。D 阴性人中最常见的基因型为 cde / cde。

## （二）Rh 的抗原与抗体

### 1. Rh 系统抗原

Rh 抗原：已发现 40 多种 Rh 抗原，与临床关系最密切的 5 种为 D、E、C、c、e，这 5 种抗原中 D 的抗原性最强，对临床更为重要。

D<sup>u</sup>（弱 D）：为一组弱 D 抗原。尽管 D<sup>u</sup> 的抗原性较 D 为弱，但仍是 Rh 阳性细胞，所以将 D<sup>u</sup> 血输给 Rh 阴性受血者时，仍有引起产生抗 D 的可能性，因此应将 D<sup>u</sup> 型供血者做 Rh 阳性处理，而 D<sup>u</sup> 型受血者归入 Rh 阴性则较为安全。如果把 D<sup>u</sup> 血输给有抗 D 者，也可以产生严重的溶血性输血反应。

-D-：-D-/-D-遗传基因型红细胞只有 D 抗原，而缺乏 C、c、E、e 抗原。此型能与抗 D 抗体在盐水中凝集。

### 2. Rh 系统抗体

Rh 抗体中，除偶尔可见天然的抗 E、抗 CW 抗体外，其余各种 Rh 抗原的抗体多系输血或妊娠时，由外来红细胞免疫刺激后产生。这些抗体均为 IgG，但在免疫应答的早期，也可有 IgM 成分。

D 抗原是非 AB0 红细胞抗原中免疫性最强的抗原，可以引起抗 D 的产生，抗 D 与 D 红细胞产生严重的溶血反应。习惯将 D 阴性者认为是 Rh 阴性，多不再进行其他 Rh 抗原检测，除 D 抗原外，通常抗 E 和抗 c 比较常见。抗 C<sup>w</sup> 及抗其他 Rh 抗原的抗体偶尔也可引起迟发性溶血性输血反应或新生儿溶血病。

## （三）Rh 系统血型鉴定

红细胞 Rh 表型可用特殊的具有抗 D、C、c、E 和 e 抗血清检测来鉴定。虽然 Rh 血型系统中有许多种抗原，但常规只用抗 D 血清检查有无 D 抗原。当有特殊需要如家系调查、父权鉴定、配血不合等情况时才需用抗 C、抗 c、抗 E、抗 e 等标准血清做全部表型测定。Rh 抗体属 IgG，不能在盐水介质中与红细胞发生凝集，因此必须采用以下几种鉴定方法：

1. 低离子强度盐水试验：可提高抗 D 抗体与 D 阳性红细胞结合率，并提高其灵敏度。

2. **酶介质法**：木瓜酶或菠萝酶可以破坏红细胞表面的唾液酸，使红细胞膜失去电荷，缩小红细胞间的距离；同时酶还可以部分地改变红细胞表面结构，使某些隐蔽的抗原得以暴露，增强凝集性；且对 IgG 的作用 > IgM，故有利于检出不完全抗体。

(1) 试剂：IgG 型抗 D 标准血清、1%木瓜酶（或菠萝蛋白酶）溶液、5%D 阳性红细胞生理盐水悬液、5%D 阴性红细胞生理盐水悬液。

(2) 注意事项：①Rh 血型系统的抗体多由获得性免疫产生，血清中很少有天然抗体，故不需要做反定型。②对照：酶易失活，故每次试验都要设置阳性对照。若阳性对照不出现凝集，表明酶或抗血清已经失效。酶活性过强出现假阳性结果，因而要设立阴性对照，以排除假阳性。只有在阳性对照管出现凝集而阴性对照管不凝集的情况下，才说明被检管的结果是可靠的。③结果阴性：说明被检红细胞上无相应抗原，但由于 D<sup>u</sup> 抗原性弱，因此，如被检者无凝集，还应进一步检查以排除 D<sup>u</sup> 的可能。

#### (四) 交叉配血法

Rh 血型系统的交叉配血的原则与 ABO 血型系统的交叉配血相同。由于此系统的抗体为不完全抗体，故应选用酶介质法、抗球蛋白法或聚凝胺法等。

#### (五) 质量控制

1. 严格设定试剂和抗原阳性和阴性对照系统。
2. 严格控制反应条件：试验介质、浓度、温度、离心、反应时间等条件。
3. 受检者红细胞必须洗涤干净，以免血清蛋白中和抗球蛋白，出现假阴性。

#### (六) Rh 血型系统临床意义

抗 Rh 抗体主要通过输血或妊娠免疫而产生，较大的 Rh 阳性（D 抗原阳性）细胞进入 Rh 阴性者体内后，2~5 个月内血浆中可测到抗体，如经再次免疫，3 周内抗体浓度可达高峰。

受血者或孕妇血浆中含有 Rh 抗体时，当再与含相应抗原血液相遇，将引起严重输血反应或新生儿溶血病（常为第 2 胎溶血）。因此 Rh 抗体具有十分重要的临床意义。

## 第三节 新生儿溶血病检查

### 一、发病机制

新生儿溶血病（HDN）主要原因为母婴血型不合，孕母体内 IgG 类血型抗体通过胎盘进入胎儿体内，胎儿红细胞被母亲的同种抗体包被，这种抗体是针对胎儿红细胞上父源性的抗原。被包被的红细胞在分娩前后加速破坏，发生溶血，造成胎儿发生以溶血为主要损害的一种被动免疫性疾病。

### 二、临床表现

主要表现为：①贫血：正常新生儿血红蛋白为 180~220g/L，此时病儿的血红蛋白多低于 180g/L，甚至低于 120g/L。②高胆红素血症：由于溶血后产生大量胆红素，浓度可达  $255\ \mu\text{mol/L}$ ~ $340\ \mu\text{mol/L}$ ，超过  $340\ \mu\text{mol/L}$  可疑存在核黄疸，血清中未结合胆红素增高。患儿皮肤严重黄染。③肝脾肿大：由于贫血使器官组织缺氧，导致代偿性肝脾肿大。④组织水肿。⑤肌张力减低，各器官功能障碍等。

本病的血型抗体以抗 A，抗 B，抗 A、B，抗 D 等为多见，病情程度从重到轻依次为：抗 D 抗体、Rh 系统其他抗体、ABO 血型抗体。

### 三、新生儿溶血病实验室检查及诊断依据

HDN 的诊断除应注意产妇的妊娠史，分娩史、输血史及健在子女的血型和健康状况外，无论对诊断与治疗实验室诊断都是非常重要的。

#### 1. 确诊患婴的依据

(1) 红细胞直接抗球蛋白试验阳性：从患儿红细胞上直接查到了被吸附的抗体，证明红细胞已经受累。本试验为直接证据。

(2) 从红细胞上释放了具有血型特异性的抗体：①用热释放法检查 ABO 血型不合婴儿的红细胞是否释放了抗 A，抗 B，抗 A、B 抗体或 ABO 血型系统以外的抗体。②用乙醚释放法检查 Rh 血型不合的婴儿红细胞是否释放了抗 D、抗 C 或抗 E 抗体。本试验也为直接证据。

(3) 血清中存在与患婴红细胞上抗原相对应的游离抗体。

#### 2. 辅助诊断依据

(1) 高胆红素血症：出生时脐血胆红素超过  $85.8\ \mu\text{mol/L}$  ( $50\text{mg/L}$ )，24h 血清胆红素超过  $102.6\ \mu\text{mol/L}$  ( $60\text{mg/L}$ )，且以未结合胆红素为主。

(2) 孕母血清内查到与胎儿红细胞不相合的完全抗体。

#### 3. 产前试验

如怀疑有 HDN 可能时，最好在产前开始检查，以期及早诊断及采取适当的预防与治疗措施。

(1) 血清学检查：首先要对孕妇做 ABO 血型系统及 Rh 系统的 D 抗原检查及不规则抗体筛选，所有筛选出阳性抗体都要区别是 IgG 或 IgM，并应进一步做抗体鉴定分析，以确定是否会引起 HDN。因为抗体的存在并不一定都会发生 HDN。

(2) 羊水分析：有必要时，并且在有条件的情况下可以做子宫穿刺抽取羊水进行分析，检查胎儿血型物质，确定胎儿血型。在 450nm 处测定胆红素含量的吸光度值，吸光度值越高表示宫内溶血越严重。

## 第五节 人类白细胞抗原检查

人类白细胞上有 3 类抗原：红细胞血型抗原、白细胞特有抗原、与其他组织共有但也是最强的人类白细胞抗原（HLA）。

### （一）HLA 抗原和抗体

1. 抗原：HLA 是糖蛋白抗原，又称组织相容性抗原、移植抗原和组织抗原。HLA 由一系列紧密连锁的基因编码，这些基因称为组织相容性复合物（MHC），也称为 HLA 基因，定位在第 6 号染色体短臂上，共有 6 个座位，至少含 4 个与移植有关的基因区：即 HLA-A、HLA-B、HLA-C 和 HLA-D。HLA-D 又分为 HLA-DR、HLA-DQ、HLA-DP 亚区。HLA-A、HLA-B、HLA-C 基因编码的抗原称 I 类抗原。HLA-DR、HLA-DQ、HLA-DP 基因编码的抗原称 II 类抗原。

HLA 也存在于其他许多组织细胞上，是调控人体特异性免疫应答和决定疾病易感性个体差异的主要基因系统，在破坏表达外来抗原的靶细胞方面有重要作用，通过 HLA 配型能提高移植物的存活率；HLA 已用于有关疾病及人类遗传学的研究，也有助于提高成分输血的疗效及防止输血反应。

2. HLA 抗体：大部分是 IgG、少数是 IgM。

### （二）HLA 分型方法

1. 淋巴细胞毒试验：为 HLA 抗原分型常用方法。原理：淋巴细胞膜上的 HLA 抗原与相应抗体结合后，在补体作用下，细胞膜损伤，细胞溶解破裂被染色，计算显微镜下观察着色细胞的百分率（>20%为阳性反应）。I 类抗原分型时可用 T 淋巴细胞或外周血淋巴细胞；进行 II 类抗原分型时需用 B 淋巴细胞。

2. 混合淋巴细胞培养试验：多用于组织相容性方面的研究，临床上主要用于器官移植。

3. 分子生物学技术：一类是 PCR 为基础的基因分型，一类是以测序为基础的基因分型。



### (三) HLA 检测临床意义

1. 器官移植：HLA 配型的作用为：①在肾移植中，供受双方共有的 DR 抗原越多，或已检出的 DR 错配抗原数越少，移植存活率就越高。②在移植前输血的患者中，DR 配型能提高存活率。③骨髓移植前不宜输血，以防受体被免疫。心、肝、肺等器官的移植，多用于生命垂危的患者，主要要求 ABO 血型相同。

2. 输血：成分输血疗法时，如 HLA 同型血液，则能提高疗效。临床输血的发热反应中，有些是由 HLA 抗体引起，尤其是多次输血的患者，HLA 抗体可以破坏白细胞，为避免 HLA 引起输血反应，可在输血前做交叉淋巴细胞毒试验。在 70% 的非溶血性输血反应是发热反应，一般认为是白细胞被 HLA 抗体破坏后释放致热原物质所致。可先将白细胞过滤后再输血。

3. 亲子鉴定：由于 HLA 系统的高度多态性，使 HLA 成为亲子鉴定中的一个有力工具，具有重要法医学意义。

4. 疾病诊断：发现许多疾病与 HLA 有关，例如强直性脊椎炎患者 91% 带有 B27 抗原，而正常人带 B27 抗原者只占 6.6%。但目前大多数疾病的 HLA 分型意义有限。

## 第六节 血小板血型系统检查

### (一) 血小板抗原

血小板表面有 2 类抗原：一类是为非特异性抗原或血小板相关抗原，与 ABO 血型系统和 HLA 有关，另一类是血小板特异的抗原。人类血小板特异性抗原 (HPA) 有 5 个血型系统和 10 个抗原，为 HPA-1 (Zw)、HPA-2 (Ko 系统)、HPA-3、HPA-4、HPA-5。

### (二) 血小板抗体

同种抗体：由输血或妊娠等同种免疫产生，多为 IgG 型。自身抗体：多在原发性血小板减少性紫癜中检出，也多为 IgG 型。

### (三) 检测方法

主要有：血清学法，操作简单，重复性和特异性较高。分子生物学法，常用 PCR 技术。

### (四) 临床意义

1. 提高血小板输注疗效：选择与患者血小板和 HLA 相配的供血者，可提高输注浓缩血小板效果。

2. 诊断新生儿同种免疫血小板减少性紫癜。

3. 诊断原发性血小板减少性紫癜。

## 第七节 血液保存液

### 一、血液保存液常用种类

配方可分为：ACD（A，腺嘌呤；C，枸橼酸三钠；D，葡萄糖）保存液与CPD（C，枸橼酸三钠；P，磷酸盐；D，葡萄糖；以及枸橼酸）两大类保存液。在CPD中加腺嘌呤即为CPDA-1。

### 二、血液保存液主要成分

（1）枸橼酸盐：是所有抗凝保存液中的基本抗凝物质。最常用的是枸橼酸三钠，除抗凝作用外，它还能阻止溶血的发生。

（2）枸橼酸：避免保存液中的葡萄糖在消毒中焦化。

（3）葡萄糖：是红细胞代谢所必需的营养成分，可延长红细胞保存时间，且防止溶血；并减慢细胞中有机磷的消失，防止红细胞储存损伤。

（4）腺嘌呤：可促进红细胞ATP合成，延长红细胞的保存期（达35天），并增强红细胞放氧功能。

（5）磷酸盐：提高保存液pH，延长红细胞的保存期。ACD液pH较低，对保存红细胞不利，只能保存21天，且放氧能力迅速下降。CPD保存液中加入腺嘌呤与磷酸，从而延长红细胞的生存期。

## 第八节 输血与输血反应

### （一）输血适应证、输血种类与选择

#### 1. 输血适应证

主要有：①出血；②严重贫血；③低蛋白血症；④严重感染；⑤凝血障碍。

#### 2. 输血种类与选择

（1）全血输注：全血是指血液的全部成分，包括各种血细胞及血浆中各种成分，还有抗凝剂及保存液。全血有保存全血及新鲜全血之分。常用保存于 $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的全血。

新鲜全血定义难以统一规定，要依输血目的而定。为了补充新鲜红细胞，可用保存5天的ACD全血或10天的CPD全血；如同时还要补充血小板或白细胞，则应分别用保存1天及12h内的全血。

全血中主要是含有载氧能力的红细胞和维持渗透压的白蛋白，可应用于：①各种原因（手术、创伤等）引起的急性大量失血需要补充红细胞及血容量时。②需要进行体外循环的手术时。③换血，特别是新生儿溶血病换血。

全血输注缺点有：全血中所含血小板与白细胞可引起的抗体，可在再输血时引起反应；对血容量正常的人，特别是老人或儿童，易引起循环超负荷。目前，全血输注已逐渐减少，而代之以成分输血。

（2）成分输血：优点：①疗效高：将血液成分提纯、浓缩而得到高效价的制品。②反应少：可减少输全血引起各种不良的抗原抗体的免疫反应。③合理用血液成分：将全血分离制成不同的细胞及血浆蛋白成分，供不同目的应用。④经济：既可节省宝贵的血液，又可减低患者的医疗费用。

### (3) 成分输血主要种类

1) 红细胞输注：①少浆血。②浓缩红细胞。③代浆血或晶体盐红细胞悬液。④少白细胞的红细胞。⑤洗涤红细胞。⑥其他：冰冻红细胞、年青红细胞、照射红细胞等。主要用于需要输注红细胞的患者，适用于：①任何原因的慢性贫血均可输注浓缩红细胞，因对血容量影响较少而不会引起心功能不全或肺水肿。②急性失血如无全血时，可输入代浆血。③洗涤红细胞：最常用于因输血而发生严重过敏的患者。④如输血后有反复发热的非溶血性输血反应时，可输少白细胞的红细胞。

2) 粒细胞输注：应用浓缩白细胞应十分慎重，因为粒细胞可引起输血副作用。主要适应证：①用于治疗：当患者白细胞少于  $0.5 \times 10^9 / L$ 、有严重细菌感染而经抗生素治疗 24~48h 无效时。②用于预防：当治疗白血病或骨髓移植后引起粒细胞缺乏症时，输白细胞可能减低合并严重感染的危险，但引起副作用的弊病可能更大。③新生儿败血症，可明显减低其死亡率。输粒细胞时必须用与患者 ABO 和 Rh 同型的血液，若 HLA 血型相配则更为有益。

3) 单个核细胞输注：包括淋巴细胞、单核细胞、造血干细胞。淋巴细胞输注用于病毒感染、肿瘤、白血病等。造血干细胞用于自体骨髓移植、肿瘤化疗后等。

血小板输注：①富含血小板血浆。②浓缩血小板。③少白细胞血小板。输血小板的适应证：①血小板数减少：一般血小板数  $< 20 \times 10^9 / L$  且合并出血时应给输血小板。②血小板功能异常：如血小板无力症、血小板病、巨大血小板综合征、药物或肝肾功能引起的血小板功能异常等。

4) 血浆及血浆蛋白输注：血浆适应于：①患有导致一种或多种凝血因子缺乏的疾病，如 DIC 等。②肝功能衰竭而伴有出血倾向时。③应用华法林等抗凝药物过量等。

血浆白蛋白：主要用于补充血管内或血管外白蛋白缺乏。扩充血容量是使用白蛋白的重要指征，如：血容量损失 50%~80% 者、白蛋白丢失（烧伤等）、体外循环、失代偿肝硬化。

免疫球蛋白输注：①预防某些传染病和细菌感染，如麻疹、传染性肝炎等，可使用正常人免疫球蛋白。②代替异种血清制品，如破伤风免疫球蛋白，以避免不良反应。免疫缺陷疾患、新生儿败血症等，可用正常免疫球蛋白或静脉注射免疫球蛋白。

凝血因子制品输注：①新鲜冰冻血浆：含有全部凝血因子，可用于凝血因子缺乏患者。②VIII 因子浓缩剂：可用于甲型血友病止血治疗及出血的预防。也可用 DNA 重组技术。③凝血酶原复合物浓缩制剂：是一种混合血浆制成的冻干制剂，含有维生素 K 依赖性的 II、VII、IX、X 因子。可用于血友病出血的治疗。

5) 自身输血：由于输血传播疾病，尤其是艾滋病的传播，现已重视自身输血法。自身输血的意义：①有利于稀有血型输血。②避免输血反应血型抗原等引起的同种免疫或免疫作用而引起的过敏反应。③避免输血传染疾病等。④自身输血者反复放血，可刺激红细胞再生。⑤为无条件供血的地区提供血源。

## (二) 输血不良反应

常见输血不良反应：

### 1. 免疫性

溶血反应、非溶血性发热反应、过敏反应、荨麻疹、非心源性肺水肿、移植物抗宿主病、输血后紫癜、对红细胞、白细胞、血小板或血浆蛋白的同种（异体）免疫等。

### 2. 非免疫性

高热（有休克）、充血性心力衰竭、理化性溶血、空气栓塞、出血倾向、枸橼酸钠中毒、钾中毒、血液酸化、高血氨、含铁血黄素沉着症、血栓性静脉炎、疾病传播（乙肝、丙肝、艾滋病、梅毒、疟疾，巨细胞病毒感染等）。

### （三）输血传播性疾病及预防

#### 1. 输血传播性疾病

常见的有：乙型、丙型肝炎，艾滋病，巨细胞病毒感染，梅毒，疟疾，弓形体病等。献血者有 EB 病毒感染，黑热病、丝虫病、回归热感染时，均有可能通过输血传播。此外，如血液被细菌污染，可使受血者由此引起菌血症，严重者可致败血症。在由输血引起的疾病中，以肝炎和艾滋病危害性最大。

#### 2. 预防

（1）肝炎：采用灵敏的乙型与丙型肝炎的筛选试验。对献血者和血液制品严格进行乙型与丙型肝炎血清学检测；提高献血者人群肝炎试验的灵敏度与特异性；提高血浆制品中肝炎病毒灭活效果；提倡使用一次性注射器和输血、输液器；对血液透析机应彻底消毒；所有被血液污染的物品和工作台面需彻底消毒处理；工作人员进行血液检验时需戴手套。

2）艾滋病：对高危人群和献血者加强监测，主要进行 HIV 抗体的检测并注意阻断 HIV 传播的途径，实验与临床工作者都应严格执行消毒制度。检测血清 HIV 抗体的初筛试验可选择酶联免疫吸附试验（ELISA）、明胶颗粒凝集试验（PA）、免疫荧光法（IF）、免疫酶法（IE）和乳胶凝集试验（LA），或其他世界卫生组织评价过的方法，可以使用混合血清法对献血者进行 HIV 抗体筛检。多聚酶链反应（PCR）技术现已开始用于 HIV、HBV、HCV 和 CMV 感染的诊断，但由于此种技术操作复杂，试剂昂贵，还需一定的仪器设备，故目前尚不能普遍用于献血者的检查。确认试验可选择蛋白印迹法（WB）或由卫生部门指定其他卫生组织评价或推荐方法。

## 第六章 尿液生成和标本采集及处理

### 第一节 尿液生成

尿是血液流经肾脏时，经肾小球的滤过、肾小管和肾集合管的重吸收与分泌后生成，再流经输尿管，在膀胱内暂时贮存，最终排出体外。

#### （一）肾组织基本结构

肾单位是肾脏生成尿的基本功能单位，由肾小体和肾小管组成。集合管包括皮质集合小管、直集合小管、乳头管。肾脏基本结构与功能的完整性，是完成泌尿功能的基础。

#### （二）尿液生成机制

##### 1. 肾小球滤过

当机体的循环血液流经肾小球时，由于肾小球滤过膜的屏障作用，血液中的细胞成分及大部分血浆蛋白无法通过，而其余成分几乎全部被滤入肾小囊腔内，形成肾小球滤过液，称为原尿。

(1) **屏障作用**①**孔径屏障**: 肾小球滤过膜的毛细血管内皮细胞间缝隙为直径50~100nm, 是阻止血细胞通过的屏障, 称为细胞屏障; 基膜是滤过膜中间层, 由非细胞性的水合凝胶构成, 除水和部分小分子溶质可以通过外, 它还决定着分子大小不同的其他溶质的滤过, 称为滤过屏障, 是滤过膜的主要孔径屏障。正常情况下, 肾小球滤过膜只允许相对分子质量小于1.5万的小分子物质自由通过; 1.5万~7万的物质可部分通过; 而相对分子质量>7万的物质(如球蛋白、纤维蛋白原等)几乎不能通过。②**电荷屏障**: 指肾小球滤过膜的内皮细胞层与上皮细胞层带负电荷的结构, 可阻止那些带负电荷较多的大分子物质的滤过。

(2) **滤过膜通透性**: 主要取决于被滤过物质相对分子质量大小及其所带的电荷性质。物质相对分子质量有效半径增大, 滤过量则减低。带正电荷的物质较易被滤过, 而带负电荷的物质则较难通过滤过膜。

(3) **原尿成分**: 原尿除了无血细胞及含极少蛋白质外, 其他物质如葡萄糖、氯化物、无机磷酸盐、尿素、肌酐和尿酸等的浓度, 渗透压及酸碱度几乎与血浆相同。

#### 2. 肾小管与集合管重吸收

在近曲小管, 滤过液中的葡萄糖、小分子蛋白质、大部分水等重吸收, 而肌酐则几乎不被重吸收而随尿排出体外。肾近曲小管是重吸收的主要场所。原尿物质, 当其浓度超过肾小管重吸收能力时, 则可出现于终尿中。在抗利尿激素的作用下, 远曲小管、集合管是肾脏最终实现浓缩和稀释尿液功能的主要场所。

#### 3. 肾小管分泌

肾小管分泌作用包括肾小管和集合管的泌 $H^+$ 、 $NH_4^+$ 的作用及 $Na^+-H^+$ 交换作用。

## 第二节 尿液检验目的

尿检验是临床上最常用的重要检测项目之一, 主要用于:

1. **泌尿系统疾病诊断和治疗监测**: 肾病时尿就可能会出现蛋白、细胞、管形等病理成分; 发生炎症、结石、肿瘤、血管病变等, 各种产物可进入尿, 引起尿成分的变化。

2. **其他系统疾病诊断**: 任何系统疾病的病变影响血液成分改变时, 均可引起尿成分的变化。如糖尿病时尿糖增高、急性胰腺炎时尿淀粉酶增高、肝胆疾病时尿胆色素增高等。

3. **安全用药监测**: 庆大霉素、卡那霉素、多粘菌素B、磺胺药、抗肿瘤药等药物, 常可引起肾脏的损害, 监测尿的改变, 可及时采取措施, 确保用药安全。

4. **职业病辅助诊断**: 检验尿中重金属如铅、镉、铋、汞等排出量, 对职业病的诊断、预防及开展劳动保护, 具有实用的价值。

5. **健康状况评估**: 尿检验是一种无创伤性检查, 可筛查肾、肝、胆疾病和糖尿病等疾病, 有助于发现亚健康人群, 进行早期诊断及疾病预防。

尿一般检验临床应用价值见表1-6-1。

**表 1-6-1 尿一般检验临床应用价值**

检验类型	检测目标	临床主要应用阶段			
		筛检	诊断	监测	预后
尿干化学检查 (试带法)	糖尿	+++	+/-	+	+
	蛋白尿	+++	+/-	+	+
	血尿	+++	+/-	+	+
	白细胞尿	+++	+/-	+	+
	感染	+++	+/-	+	+
尿湿化学检查	糖尿病	++++	++	++	+
	蛋白尿	++++	++	++	+
	血尿	++++	++	++	+
	白细胞尿	++++	++	++	+
	感染	++++	++	++	+
	管形尿	++++	++	++	+
	结晶尿	++++	++	++	+
尿微生物检查	感染	++	++++	++	+
尿细胞学检查	肿瘤	+	++	+	-
	炎症	+	++	+	-
	病毒感染	+	++	+	-

++++~+：表示临床应用价值大小 -：表示无临床应用价值

### 第三节 尿标本采集

#### (一) 患者准备

为了正确收集尿标本，应以口头和书面形式指导患者正确收集尿标本。如：清洁标本采集部位；明确标记；避免月经、阴道分泌物、粪便、清洁剂等各种物质的污染；使用合格容器，细菌培养的标本，应使用消毒培养瓶或无菌、有盖的容器。

清洁尿：包括中段尿、导尿标本或耻骨上穿刺尿。

#### (二) 标本容器准备（专业知识，专业实践能力，掌握）

容器应符合以下条件：材料由不与尿成分发生反应的惰性一次性环保型材料制成；一般应能容纳 50ml 以上尿的容积；必须干燥、清洁，无污染物、无渗漏、无化学物质。

#### (三) 尿标本采集种类

尿标本种类主要有：

1. **晨尿**：即清晨起床后第一次排尿时收集的尿标本，即为首次晨尿。这种标本尿较为浓缩，可用于肾脏浓缩能力评价。首次晨尿常偏酸性，其中的血细胞、上皮细胞、病理细胞、管形或管形等有形成分，以及如人绒毛膜促性腺激素（HCG）等的浓度较高。但夜尿在膀胱内停留时间过长，硝酸盐及葡萄糖易被分解，不利于检出在酸性环境中易变的物质，因而推荐采集第 2 次晨尿代替首次晨尿。

2. **随机尿**: 这种标本不受时间限制, 但此尿标本, 仅反映某一时段的现象, 且易受多种因素(如运动、饮食、用药、情绪、体位等)的影响, 可致尿检成分浓度减低或增高。

3. **计时尿**: 按特定时间采集尿标本。

(1) 3h 尿: 一般是收集上午 6~9 时时段内的尿, 多用于检查尿有形成分, 如 1h 尿排泄率检查等。

(2) 餐后尿: 通常收集午餐后至下午 2 时的尿。这种尿标本, 有利于检出病理性糖尿、蛋白尿或尿胆原。有助于肝胆疾病、肾脏疾病、糖尿病、溶血性疾病等的临床诊断。

(3) 24h 尿: 患者上午 8 时排尿一次, 将膀胱排空, 弃去尿, 此后收集各次排出的尿, 直至次日上午 8 时最后一次排尿的全部尿。尿中某些成分 24h 不同时间内的排泄浓度不同, 如肌酐、总蛋白质、电解质等, 为了较准确地定量分析这些成分, 必须采集 24h 尿。

(4) 特殊试验尿: ①尿三杯试验: 多用于男性下尿路及生殖系统疾病定位初步判断。②耐受性试验尿: 如经前列腺按摩后排尿收集尿标本。

4. **无菌尿**: 常用的方法有:

(1) 中段尿: 留尿前先清洗外阴, 在不间断排尿过程中, 弃取前、后时段的尿, 以无菌容器只接留中间时段的尿。

(2) 导管尿、耻骨上穿刺尿: 患者发生尿潴留或排尿困难时采用。

(四) 尿标本采集质量管理

尿标本采集质量管理的内容, 包括各种规范化管理文件, 涉及分析前的检验申请单要求、患者准备、标本采集(包括容器和器材准备)、按规定的标本转运时间、标本接收处理; 分析中的室内质量控制; 分析后的及时、准确报告检验结果等各个环节。

## 第四节 尿标本处理

### (一) 尿标本保存

尿标本采集后, 一般应在 2h 内及时送检, 最好在 30min 内完成检验, 或进行以下处理:

1. 保存: 多保存在 2℃~8℃冰箱内, 或保存于冰浴中。低温可抑制微生物迅速生长, 可保持尿中存在的有形成分形态基本不变。

2. 防腐: 常用的防腐剂有:

甲醛: 又称福尔马林。对尿细胞、管形等有形成分的形态结构有较好的固定作用。

甲苯: 可在尿标本表面形成一层薄膜, 阻止尿中化学成分与空气接触。常用于尿糖、尿蛋白等化学成分的定性或定量检查。

麝香草酚: 可抑制细菌生长, 保存尿有形成分, 用于尿显微镜检查、尿浓缩结核杆菌检查, 以及化学成分保存。

浓盐酸: 用作定量测定尿 17-羟, 17-酮、肾上腺素、儿茶酚胺、Ca<sup>2+</sup>等标本防腐。

冰乙酸: 用于检测尿 5-羟色胺、醛固酮等的尿防腐。

戊二醛: 用于尿沉淀物的固定和防腐。

### (二) 质量控制

1. 冷藏时间: 尿标本冷藏时间最好不超过 6h。

2. 甲醛：甲醛是一种还原性物质，可产生假阳性。用量过大可与尿素产生沉淀，干扰显微镜检查。
3. 甲苯：用量必须足够。取样检验时，应插入穿过甲苯液层，吸取尿。
4. 麝香草酚：用量过多时，可使尿蛋白加热乙酸法呈假阳性反应，干扰尿胆色素检出。

## 第七章 尿理学检验

### 第一节 尿量

**尿量：**一般指 24h 内排出体外的尿总量，有时也指每小时排出的尿量。尿量的多少主要取决于肾脏生成尿的能力和肾脏的浓缩与稀释功能。内分泌功能、精神因素、活动量、饮水量、环境温度、药物应用等多种因素可影响尿量。

#### （一）质量控制

尿量采集必须完全而准确，使用标准量筒尿量测定，精确至 1ml。

#### （二）参考值

成年人：1000~2000ml / 24h。儿童：按儿童每公斤体重计排尿量，约为成年人 3~4 倍。

#### （三）临床意义

##### 1. 多尿

是指 24h 尿总量超过 2500ml 者。

- （1）生理性多尿：可见于：
  - 1) 饮水过多或食用含水分高的食物。
  - 2) 服用有利尿作用的食物，如咖啡等。
  - 3) 使用某些药物，如咖啡因、噻嗪类、脱水剂等。
  - 4) 静脉输注液体过多，如输用生理盐水、糖盐水或其他液体等。
  - 5) 精神紧张、瘵病等，可引起暂时性、精神性多尿。

##### （2）病理性多尿

- 1) 代谢性疾病：如糖尿病（DM）引起的多尿，主要机制是渗透性利尿所致，患者尿比重、尿渗透压均增高。

- 2) 内分泌疾病：如尿崩症，指抗利尿激素（ADH）严重分泌不足或缺乏（中枢性尿崩症），或肾脏对 ADH 不敏感或灵敏度减低（肾源性尿崩症），患者 24h 尿量可多达 5~15L，尿比重常为 1.005 以下，尿渗透压在 50~200mmol / L 之间。多尿还见于甲状腺功能亢进、原发性醛固酮增多症等。

- 3) 肾脏性疾病：如慢性肾炎、慢性肾盂肾炎、慢性肾功能衰竭早期、肾小管酸中毒 I 型、急性肾功能衰竭多尿期、失钾性肾病等。肾小管破坏致肾浓缩功能逐渐减退均可引起多尿。肾性多尿常具有昼夜尿量的比例失常、夜尿量增多的特点，即昼夜间尿量比 <math>< 2: 1</math>。



## 2. 少尿

是指 24h 尿量少于 400ml，或每小时尿量持续小于 17ml（儿童  $<0.8\text{ml/kg}$ ）者为少尿。生理性少尿：多见于机体缺水或出汗过多，少尿可能在机体出现脱水的临床症状和体征之前。病理性少尿：如急性肾衰、慢性肾病。

（1）肾前性少尿：由于各种原因造成肾血流量不足，肾小球滤过率减低所致；如①肾缺血：各种原因引起的休克、过敏、失血过多、心力衰竭、肾动脉栓塞、肿瘤压迫等。②血液浓缩：严重腹泻、呕吐、大面积烧伤、高热等。③血容量减低：重症肝病、低蛋白血症引起全身水肿。④应激状态：严重创伤、感染（如败血症）等。

（2）肾后性少尿：多是由于各种原因所致的尿路梗阻引起，见于：①肾或输尿管结石、损伤、肿瘤、凝块或药物结晶（如磺胺类药）、尿路先天性畸形等。②膀胱功能障碍、前列腺肥大症、前列腺癌等。

（3）肾性少尿：因肾实质的病变导致肾小球和肾小管功能损害所致。在排除肾前和肾后性少尿后，可考虑肾性少尿，如：①急性肾小球肾炎、急性肾盂肾炎、慢性肾炎急性发作、急性间质性肾炎以及急性肾小管坏死等。此种尿具有高渗量的特性（比密  $>1.018$ ，尿渗量  $>600\text{mOsm/kg}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ）。②慢性疾病所致肾功能衰竭时，也可出现少尿，但特征为低尿比密、低尿渗量性少尿（比密  $<1.015$ ，尿渗量  $300\sim 500\text{mOsm/kg}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ），如高血压性和糖尿病肾血管硬化、慢性肾小球肾炎、多囊肾等。③血红蛋白尿、肌红蛋白尿等。④肾移植急性排斥反应时：尿量可突然减低。

## 3. 无尿

指尿量  $<100\text{ml}/24\text{h}$ ，或  $<17\text{ml}/\text{h}$ 。肾受汞等毒性物质损害，常可引起急性肾小管坏死，而突然引起少尿及尿闭。

## 第二节 尿颜色和透明度

### （一）检测原理

通过肉眼观察判断尿外观。透明度，可分为清晰透明、轻度混浊（雾状）、混浊（云雾状）、明显混浊 4 个等级。

### （二）方法学评价

尿色和透明度判断，受主观因素影响。尿透明度还易受某些盐类结晶的影响。临床应用仅作参考。

### （三）质量控制

1. 使用新鲜尿尿放置时间过长，盐类结晶析出、尿胆原转变为尿胆素、细菌增殖和腐败、尿素分解，均可使尿颜色加深、混浊度增高。

2. 防止污染。

### （四）参考值

新鲜尿：淡黄色、清晰透明。

### （五）临床意义

1. 生理性变化

(1) 代谢产物：生理性影响尿颜色主要是尿色素、尿胆素 (URB)、尿胆原 (URO) 等。

(2) 饮水及尿量：大量饮水、尿量多则尿色淡；尿色深见于尿量少、饮水少或运动、出汗、水分丢失。

(3) 药物的影响：如服用核黄素、呋喃唑酮、痢特灵、黄连素、牛黄、阿的平使尿呈黄色或深黄色；番泻叶、山道年等使尿呈橙色或橙黄色；酚红、番泻叶、芦荟、氨基匹林、磺胺药等使尿呈红色或红褐色。

(4) 盐类结晶及酸碱度：生理性尿混浊的主要原因是含有较多的盐类，常见有：①尿酸盐结晶：在浓缩的酸性尿遇冷时，可有淡红色结晶析出。②磷酸盐或碳酸盐结晶：尿呈碱性或中性时，可析出灰白色结晶。

## 2. 病理性变化

### (1) 血尿

1) 泌尿生殖系统疾病：是引起血尿最常见的原因 (约占 98%)，如肾或尿路结石、结核、肿瘤，各型肾小球肾炎、肾盂肾炎、多囊肾，肾下垂、肾血管畸形或病变，以及生殖系统炎症、肿瘤、出血 (如前列腺炎、肿瘤、输卵管炎、宫颈癌等)。

尿三杯试验，如血尿以第一杯为主，多为尿道出血；以第三杯为主，多为膀胱出血；如三杯均有血尿，多见于肾脏或输尿管出血。

2) 全身性疾病：包括①血液病：如白血病、再生障碍性贫血、血小板减低性紫癜、血友病等。②感染性疾病：如感染性心内膜炎、败血症、肾综合征出血热、高热、重症感冒。③结缔组织疾病：如系统性红斑狼疮、血管炎等。④心血管疾病：如高血压肾病、动脉硬化病、心力衰竭、心血管神经症等。⑤内分泌代谢疾病：如痛风、糖尿病等。

3) 泌尿系统邻近器官疾病：如急性阑尾炎、急性或慢性盆腔炎、宫外孕、结肠或直肠憩室炎症、恶性肿瘤，但血尿程度多较轻。

4) 药物毒副作用：如磺胺类、水杨酸类、抗凝血类、某些抗生素类、环磷酰胺等。

(2) 血红蛋白尿：尿游离血红蛋白超过 (参考值  $< 0.3\text{mg/L}$ ) 时，引起尿隐血试验阳性者称为血红蛋白尿。正常人，血浆中血红蛋白含量很低 ( $< 50\text{mg/L}$ )，且通过与肝脏结合珠蛋白结合后，形成大分子化合物结合血红蛋白，后者不能从肾小球滤过。当血管内发生大量溶血时，由于红细胞大量破坏，大量血红蛋白释放入血浆中形成血红蛋白血症，溶血产生的血红蛋白超过了肝脏结合珠蛋白所能结合的能力，可经肾小球滤过，若其含量超过了肾小管重吸收能力时，便形成血红蛋白尿。

血红蛋白尿多见于：血型不合的输血反应、阵发性睡眠性血红蛋白尿、蚕豆病、溶血性疾病等。

1) 与血尿鉴别：①离心沉淀后的尿上清液：前者仍为红色，后者红色消退。②镜检沉淀物：前者不见红细胞或仅见红细胞碎片，后者见大量完整的红细胞。③用上清液作隐血试验：前者强阳性，后者一般阴性或仅呈弱阳性。④用上清液作尿蛋白定性试验：前者阳性不变，后者结果减弱或呈阴性。

2) 与假性血尿鉴别：如：卟啉尿外观呈红葡萄酒色。碱性尿中存在酚红、番泻叶、芦荟等物质或酸性尿中存在氨基比林、磺胺类药物时，均显示不同程度的红色。

(3) 肌红蛋白尿：正常人尿中含量甚微，故不能从尿中检出。当机体心肌或骨骼肌组织发生严重损伤时，尿 Mb 检查呈阳性，称为肌红蛋白尿。

1) 病因: ①创伤: 如挤压综合征、电击伤、烧伤、手术创伤造成肌肉严重损伤者。②肌肉疾病: 如原发性皮炎、多发性肌炎等。③心肌梗死(MI): 引起心肌组织广泛坏死, 尿肌红蛋白测定可能对心肌梗死的早期诊断有一定参考价值。④代谢性疾病: 如恶性高热、肌糖原积累病。⑤缺血性肌损伤: 如剧烈运动后或长途行军后、惊厥性疾病发作等。

2) 与血红蛋白尿区别: 由于肌肉损伤也常伴有红细胞破坏, 故肌红蛋白尿同时也伴有血红蛋白尿。所以, 应注意 Mb 与 Hb 的区别: ①颜色: 肌红蛋白尿呈粉红色、暗褐色。②溶解性: Mb 能溶于 80% 饱和度的硫酸铵溶液中, 而 Hb 则不溶。

(4) 胆红素尿: 胆红素尿外观呈深黄色, 振荡后产生的泡沫亦呈黄色。此点可与正常尿或药物性深黄色尿鉴别, 后者尿振荡后泡沫呈乳白色。胆红素尿不宜在空气中久置。胆红素尿, 可见于阻塞性黄疸或肝细胞性黄疸。

(5) 乳糜尿: 乳糜液或淋巴液进入尿中, 尿呈乳白色混浊称为乳糜尿。乳糜尿产生的机制: ①泌尿系淋巴管破裂: 多因淋巴循环受阻, 从肠道吸收的乳糜液, 逆流进入泌尿系统淋巴管, 致使淋巴管内压不断增高而破裂, 淋巴液进入尿中所致。②深部淋巴管阻塞: 乳糜液不能流入乳糜池, 而逆流到泌尿系统淋巴管所致。

1) 常见疾病: 乳糜尿多为丝虫病所致, 少数为腹膜结核、肿瘤、胸腹部创伤或手术、先天性淋巴管畸形及肾病综合征等。

2) 鉴别特点: ①乳糜试验: 在尿中加入等量乙醚或氯仿, 提取乳糜, 用苏丹Ⅲ染色, 可呈阳性。②与脓尿与菌尿鉴别: 乳糜尿以脂肪颗粒为主, 少见血细胞、脓细胞、细菌。

(6) 脓尿与菌尿: ①脓尿: 常含有脓丝状悬浮物, 放置后可有云絮状沉淀。②菌尿: 尿内含大量的细菌; 多呈云雾状, 静置后也不下沉。

1) 常见病因: 脓尿、菌尿均见于肾盂肾炎、膀胱炎, 前列腺炎、精囊炎、尿道炎等。

2) 鉴别试验: ①镜检: 脓尿时可见大量白细胞及成堆的脓细胞; 菌尿则是以细菌为主。②蛋白定性: 脓尿、菌尿均为阳性, 且不论加热或加酸, 其混浊度均不消失。

(7) 结晶尿

1) 常见类型: ①磷酸盐和碳酸盐: 使尿呈淡灰色、白色混浊。②尿酸盐: 析出后尿呈淡粉红色混浊或沉淀。

2) 鉴别试验:

1) 与脓尿、菌尿鉴别: ①加热法: 混浊消失多为结晶尿。产生沉淀可能是脓尿、菌尿。②加酸或加碱: 磷酸盐和碳酸盐尿, 加入 5%~10% 乙酸数滴, 混浊可消失; 如同时有气泡产生则多为碳酸盐结晶。③镜检: 可见大量盐类结晶; 脓尿、菌尿, 镜下可见大量脓细胞、白细胞、细菌。④蛋白定性: 为阴性, 后者脓尿、菌尿多为阳性。

2) 与乳糜尿鉴别: 可用乳糜试验加以鉴别, 前者为阴性, 后者为阳性。

### 第三节 尿比重测定

比重又称比重(SG)。尿在 4℃ 时与同体积纯水重量之比, 称为尿比重。尿中可溶性的固体物质主要是: 尿素(25%)、肌酐和氯化钠(25%)。

#### (一) 检测方法

1. 化学试带法: 又称干化学法, 有目视比色法和仪器比色法。
2. 尿比重计法

3. 其他方法①折射计法。②超声波法。③称量法。

## (二) 方法学评价

1. **化学试带法**：测定简便，不受高浓度的葡萄糖、蛋白质或放射造影剂的影响，但精度差，只用作过筛试验。

2. 尿比重计法：现已很少使用。

3. **折射计法**：具有易于标准化、标本用量少（1滴尿）等优点。**折射计法被美国临床检验标准委员会（NCCLS）和中国临床检验标准委员会（CCCLS）建议作为参考方法。**

## (三) 质量控制

1. 化学试带法：①使用与仪器匹配、合格、有效期内的试带。②每天用标准色条进行校准。③如尿 pH>7.0，测定值应增高 0.005。④试带法对过高或过低的尿比重不敏感，应以折射计法为参考。⑤评价肾脏的浓缩、稀释功能时，应进行连续多次测定才有可靠价值。

2. 尿比重计法：尿比重计要通过校正后使用、测定时尿量要足，液面应消除泡沫、要尿温度、尿蛋白尿、糖尿的校正。

3. 其他方法：折射计法：测尿前应按操作时室温进行温度补偿调校。

## (四) 参考值

**晨尿或通常饮食条件下：1.015~1.025。**

**随机尿：成人 1.003~1.035（至少有 1 次在 1.023 或以上，1 次在 1.003 或以下）；新生儿 1.002~1.004。**

## (五) 临床意义

尿比重测定是临床上估计肾脏浓缩稀释功能常用的指标。

1. 高比重尿：见于：①急性肾小球肾炎、急性肾衰少尿期。②肾前性少尿疾病，如肝病、心功能不全、周围循环衰竭、高热、脱水以及糖尿病、蛋白尿、使用放射造影剂等。

2. 低比重尿：尿比重常<1.015 时，称低比重尿或低张尿。如尿比重固定在 1.010±0.003（与肾小球滤过液比重接近）者，称为等渗尿或等张尿，提示肾脏浓缩功能严重损害。

主要见于：①急性肾小管坏死，急性肾衰多尿期，慢性肾功能衰竭、肾小管间质疾病等。②尿崩症：常低比重尿（SG<1.003），尿比重测定有助于多尿时糖尿病与尿崩症的鉴别。

## 第四节 尿渗量测定

### (一) 定义

尿渗量，是反映溶解在尿中具有渗透作用的溶质颗粒（分子或离子等）数量的一种指标，是表示肾脏排泄到尿中所有溶质颗粒的总数量。

尿渗量主要与尿中溶质颗粒数量、电荷有关，而与颗粒大小关系不大。尿渗量能较好地反映肾脏对溶质和水的相对排出速度，**更确切地反映肾脏浓缩和稀释功能，因此是评价肾脏浓缩功能较好的指标。**

## （二）方法学评价

尿渗量和尿比重测定比较：两者都能反映尿中溶质的含量。虽然，尿比重测定比尿渗量测定操作简便，成本低，但尿比重测定易受溶质性质的影响；而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上，更优于尿比重。

## （三）参考值

尿渗量：600~1000mOsm / kg · H<sub>2</sub>O（相当于 SG 1.015~1.025）。尿渗量 / 血浆渗量之比：（3.0~4.7）：1。

## （四）临床意义

减低：见于肾小球肾炎伴有肾小管和肾间质病变。显著减低：见于慢性肾盂肾炎、多囊肾等，慢性间质性肾病患者，尿渗量 / 血浆渗量比可明显减低。

# 第五节 尿气味

## （一）正常尿

新鲜尿具有微弱芳香气味，如尿标本置放时间过久或冷藏时间过长，尿素分解，可出现氨臭味。食用葱、蒜、咖喱、韭菜，饮酒过多或服某些药物可有特殊异味。

## （二）病理性尿

新鲜排出的尿即有氨臭味，见于慢性膀胱炎、慢性尿潴留等。烂苹果味：见于糖尿病酮症酸中毒。腐臭味：见于泌尿系感染或晚期膀胱癌患者。大蒜臭味：见于有机磷中毒者。“老鼠尿”样臭味：见于苯丙酮尿症。

# 第八章 尿有形成分检查

## 第一节 检测方法

### （一）尿沉渣

是尿有形成分经离心沉淀、在显微镜下见到的尿有形成分。这些成分可来自肾脏或尿道脱落的细胞、形成的管型、结晶和感染的微生物、寄生虫等。

尿沉渣检查可以弥补尿理、化检查不足造成的漏诊，对辅助泌尿系统疾病的定位诊断、鉴别诊断及预后判断等具有重要意义。目前，尿有形成分检查常用的方法除了传统一般光学显微镜检查法和仪器检查法之外，还有特殊显微镜的检查，主要有：

1. 相差显微镜法：是以光的衍射和干涉现象照射标本，产生明暗不同的反差进行识别，有助于辨别透明管型、不典型红细胞、新鲜尿中血小板。

2. 偏振光显微镜法：利用光的偏振特性对具有双折射性的物体进行鉴别，如可显示盐类结晶的精细结构。

3. 透射电镜法：利用电子束作为“照明波源”可明显提高分辨率，将尿沉渣标本切成超薄片在电子显微镜下观察，可准确分辨出细菌管型、白色念珠菌管型、血小板管型、粗颗粒管型和细颗粒管型等。

## (二) 方法学评价

1. 显微镜检查：目前，尿沉渣检查虽可用尿沉渣分析仪进行定性或定量检查。但迄今为止，仍无任何一种仪器可以完全代替显微镜检查，**尿沉渣显微镜检查仍然是一种方法简便、价廉、结果最可靠的检查方法，尿沉渣显微镜检查同时也是最重要参考方法。**

(1) 直接镜检法：简便但阳性率低，重复性差，易漏诊。仅适用于急诊有明显混浊血尿、脓尿的检查。

(2) **离心法：敏感阳性率高**，但操作较繁琐费时。国内外对临床尿沉渣检查方法，已制定了标准化操作程序。

(3) **定量尿沉渣计数板法：使尿沉渣检查更符合标准化的要求。**

(4) 染色法：有助于识别细胞、管型等。

1) Sternheirner-Malbin (SM) 染色法：为常用的染色方法，能辨别管型尤其是透明管型及各种形态的红细胞、上皮细胞，并能区别存活及死亡的中性粒细胞和检出闪光细胞。

2) 巴氏染色法：观察有形成分的微细结构，对泌尿道肿瘤细胞和肾移植排异反应具有诊断意义。

3) 其他特殊染色：

①尿沉渣结合细胞化学染色、荧光抗体染色和酶免疫化学染色法：可清晰地辨别各种细胞、管型的形态结构。②细胞过氧化物酶染色：根据粒细胞含过氧化物酶的特点，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。③酸性磷酸酶染色：可区分透明管型与颗粒管型。④阿利新蓝、中性红等混合染色：可辨别白细胞种类和细胞存活情况；区分正常红细胞、小红细胞、影红细胞及上皮细胞、管型种类。

(5) 偏振光显微镜检查：可识别脂肪管型中的脂肪成分，如胆固醇酯，在管型的黑色背景中嵌有大小不等的明亮球体，中心为黑色的十字架形状，又称马尔他“十字”；鉴别和确认尿沉渣中各种结晶。

2. 仪器法：灵敏度较、重复性好，速度快，效率高；但目前尿沉渣分析仪特异性仍有待提高。

## (三) 质量控制

影响尿沉渣检验结果的因素较多，如，尿酸碱度和渗透压的影响（表 1-8-1）。因此，必须强调尿沉渣检查质量控制。

表 1-8-1 尿酸碱度和渗透压对有机沉渣物的影响

有形成分	红细胞	白细胞	管型
高渗尿 低渗尿 酸性尿 碱性尿	皱缩，体积变小，星形或桑葚状 膨胀，体积变大，不定形，无色 可存在一定时间体积缩小 溶解破裂，形成褐色颗粒	体积缩小 膨胀，易破坏 体积变小，能存在一定时间 膨胀，形成块状结构	可存在较久 易崩裂 可存在较久 溶解，崩溃

1. 标本采集：一般宜用**新鲜、随机中段尿**。要避免污染。**尽量不加防腐剂**。详细可参照“尿标本采集”。

2. 使用标准器材：如一次性清洁干燥容器、标准尿离心管、尿沉渣定量分析板等。

3. 采用可靠尿沉渣质控物：如无质控品，也可用患者新鲜尿标本作重复性试验进行考核。

#### 4. 我国尿沉渣检查标准化要求：

①标准化操作：取尿 10mL 离心，采用水平式离心机，有效离心半径 15cm×1500r/min，相对离心力（RCF）400g，离心 5min。手持离心管 45°～90° 弃除上层尿，保留 0.2ml 尿沉渣，轻轻混匀后，取 1 滴（大约 50 μL）置载玻片上，用 18mm×18mm 或 22mm×22mm 的盖玻片覆盖后（注意防止产生气泡）镜检。首先在低倍镜视野（10×10）下观察尿沉渣分布的情况，再转高倍镜视野（10×40）仔细观察细胞；检查细胞，应观察 10 个高倍视野，检查管型，应在观察 20 个低倍镜视野，分别记录每个视野的细胞和管型数，计算平均值报告；

如数量过多可报告有形成分所占视野的面积情况，如 1/3 视野、1/2 视野、满视野等。报告形式为：细胞 xx/HPF；管型：XX/LPF。②建议逐步实行尿沉渣定量板法报告方式（XX/μL）；还可采用尿沉渣分析工作站检查法，该法通过蠕动泵自动定量将尿沉渣吸入，并自动悬浮在流动池内，镜检后自动冲洗并定量报告，此 2 种方法均可实行标准化。

5. 与各种尿化学分析法互相参照。

6. 加强与临床联系。

## 第二节 尿细胞检查

### （一）红细胞

尿红细胞形态与尿酸碱度、渗透量有密切关系，因此，必须注意鉴别。

#### 1. 红细胞形态

（1）正常红细胞：尿中未经染色的红细胞形状为双凹圆盘状，浅黄色，直径大约 8 μm。

（2）异形红细胞：尿异形红细胞常见的形态有：①**大红细胞**，直径>8 μm。②**小红细胞**，直径<8 μm。③**棘形红细胞**，胞质常向一侧或多侧伸出、突起，如生芽样。④**环形红细胞（面包圈红细胞）**，因细胞内血红蛋白丢失或胞浆凝聚，形似面包圈样空心环状。⑤**新月形红细胞**，如半月形。⑥**颗粒形红细胞**，胞质内有颗粒状的间断沉积，血红蛋白丢失。⑦**皱缩红细胞**，高渗尿中多见。⑧**影细胞**，低渗尿中多见。⑨**红细胞碎片**。

2. 血尿根据尿中红细胞的形态可将血尿分为 3 种。

（1）**均一性红细胞血尿（非肾小球源性血尿）**：红细胞外形及大小多见正常，形态较一致。整个尿标本中红细胞形态**不超过 2 种**。

（2）**非均一性红细胞血尿（肾小球源性血尿）**：红细胞大小不一，体积可相差 3~4 倍，尿中可见**2 种形态以上红细胞**，如大红细胞、小红细胞、棘形红细胞等。

关于区分肾性或非肾性红细胞血尿，仍无统一的标准。多数认为：

**肾性血尿，变形红细胞≥80%；**

**非肾性血尿，变形红细胞≤50%，大部分红细胞为正常红细胞（或均一性红细胞）。**

近来，区分肾性和非肾性血尿的新方法有：①棘形红细胞百分率法：即红细胞具有1个或多个胞质突起的炸面圈样细胞 $\geq 5\%$ 为标准。②红细胞容积曲线法：肾性血尿，呈不对称曲线，尿红细胞平均容积（MCV）小于静脉血MCV；非肾源性血尿，红细胞容积曲线法呈对称曲线，尿红细胞的MCV $>$ 静脉血红细胞的MCV。③流式细胞术：测定抗血红蛋白抗体或抗Tamm-Horsfall蛋白抗体染色的红细胞，以鉴别血尿来源。

(3) 混合性血尿：指尿中含有均一性和非均一性两类红细胞。

### 3. 血尿红细胞形态变化的机制

(1) 肾小球基底膜的作用：目前认为，①肾性血尿：红细胞形态学变化的机制可能是由于红细胞通过有病理改变的肾小球基底膜时，受到挤压损伤、尿酸碱度和渗透压影响。

②非肾性血尿：主要是肾小球以下部位和泌尿通路上，毛细血管破裂的出血，红细胞未经肾小球基底膜的挤压损伤，因而形态正常；肾小管内红细胞受酸碱度及渗透压作用时间短，变化轻微。

4. 参考值：尿沉渣检查各种不同方法的参考值见表1-8-2。

直接检查法 0-3/HPF， $>5$ /HPF为镜下血尿。

表1-8-2 尿沉渣主要成分参考值

方法	红细胞	白细胞	管型	上皮细胞	结晶
直接镜检法	0~偶见/HP	0~3/HP	0~偶见/LP	少见	少
离心镜检法	0~3/HP	0~5/HP	0~偶见/LP	少见	见
尿沉渣定量分析仪	0~12/ $\mu$ l	0~12/ $\mu$ l	0~1/ $\mu$ l		少
定量分析板法	0~5/ $\mu$ l	0~10/ $\mu$ l			见

5. 临床意义：鉴别红细胞形态有助于判断血尿是肾源性还是非肾源性疾病。

(1) 肾源性血尿：见于急性或慢性肾小球肾炎、肾盂肾炎、红斑狼疮性肾炎、肾病综合征。肾源性血尿时，多伴尿蛋白增多明显，而红细胞增多不明显，还常伴有管型，如颗粒管型、红细胞管型、肾小管上皮细胞管型等。

(2) 非肾源性血尿：见于①暂时性镜下血尿，如正常人，特别是青少年在剧烈运动、急行军、冷水浴，久站或重体力劳动后。女性患者，还应注意是否有月经血污染尿，应通过动态观察加以区别。②泌尿系统自身疾病：如泌尿系统各部位的炎症、肿瘤、结核、结石、创伤、肾移植排斥反应、先天性畸形等均可引起不同程度的血尿。③其他：见于各种原因引起的出血性疾病，如特发性血小板减少性紫癜、血友病、再生障碍性贫血和白血病合并血小板减少、DIC、高血压、动脉硬化、高热；某些免疫性疾病如系统性红斑狼疮等；泌尿系统附近器官的疾病如前列腺炎、精囊炎、盆腔炎等。非肾性血尿的特点为尿红细胞增多，而蛋白不增多或增多不明显。

## (二) 白细胞

### 1. 白细胞形态

(1) 完整的白细胞：新鲜尿中完整白细胞呈圆形，直径10~14 $\mu$ m，不染色时核较模糊，浆内颗粒清晰可见；加入1%乙酸处理后，可清晰地看到细胞核；染色后粒细胞的胞核呈紫红色，细胞质中可见紫色颗粒；常分散存在。在低渗尿及碱性尿中，胞体常胀大，直径可达18 $\mu$ m左右，约半数可在2h内溶解。

(2) 闪光细胞：急性肾盂肾炎时，在低渗条件下，可见到中性粒细胞胞质内颗粒呈布朗分子运动，在高渗尿及酸性尿中，白细胞常萎缩，直径多为8~10 $\mu$ m。



(3) **脓细胞**：在炎症过程中破坏或死亡的中性粒细胞外形多变，不规则，结构模糊，浆内充满粗大颗粒，核不清楚，细胞常成团，边界不清，已为死亡细胞，称为脓细胞。

尿中白细胞形态受下列因素影响：①尿 pH 增高，白细胞容易破坏，pH8.4 时，白细胞可于数分钟内破坏。②尿稀释和尿渗透压减低，使尿中白细胞解体。③尿标本置于温度高的环境或放置时间过长，白细胞破坏。

## 2. 脓尿

**尿白细胞**： $>5/HPF$ ，称**镜下脓尿**。如尿乳白色含大量白细胞，甚至出现凝块，称为肉眼脓尿。

## 3. 临床意义

尿白细胞检查主要用于泌尿系统及邻近组织器官感染或炎症疾病诊断。

(1) **肾盂肾炎**：由细菌感染所致，尿细菌培养为阳性。**有些肾盂肾炎首发症状为血尿，或镜下血尿**；在急性期尿白细胞明显增多，还可见小圆上皮细胞、闪光细胞等；多数有白细胞管形。

(2) **膀胱炎**：尿白细胞增多常伴有脓尿，可见小圆上皮细胞、大圆上皮细胞、闪光细胞等，但无管形。急性期可有明显的肉眼脓尿。用尿三杯试验可区分脓尿部位：如脓尿出现于第三杯，提示为膀胱颈炎、膀胱三角区炎症；如三杯均为脓尿（全程脓尿），提示病变位于膀胱颈以上的尿路，见于膀胱炎、输尿管炎、肾盂肾炎、肾脓肿、肾积脓等。

(3) **女性阴道炎、宫颈炎和附件炎**：尿白细胞增多，常伴大量鳞状上皮细胞。在血尿中，如红细胞与白细胞比例为 500:1，应考虑出血，如比例为 200:1，应考虑为炎症。

(4) **肾移植后排异反应**：尿中可出现大量淋巴细胞及单核细胞。

(5) **其他**：药物性急性间质性肾炎，尿单核细胞增多，而急性肾小管坏死时单核细胞减少或消失。嗜酸性粒细胞尿，见于某些急性间质性肾炎患者、药物所致变态反应等。

## (三) 上皮细胞

尿上皮细胞来源：主要来自肾小管、肾盂、肾盏、输尿管、膀胱和尿道等。

### 1. 上皮细胞形态

(1) **肾小管上皮细胞**：来自肾小管立方上皮。肾小管上皮细胞形态不一，多为圆形或多边形，又称**多边细胞**，略 $>$ 中性粒细胞（约为 1.5 倍），一般不超过  $15\mu\text{m}$ ；胞核圆形，核膜厚，核突出易见；胞质中可有小空泡、分布不规则、有时见出现数量不等的含铁血黄素颗粒或脂肪小滴，此时，又称**复粒细胞**。**肾小管上皮细胞的形态与移行上皮细胞底层的小圆上皮细胞相似，须注意鉴别。**

(2) **移行上皮细胞**：由肾盂、输尿管、膀胱和尿道近膀胱段等处的移行上皮组织脱落而来。

1) **大圆上皮细胞**：为**表层移行上皮细胞**，胞体较大，如果在器官充盈时脱落，则胞体较大，约为白细胞的 4~5 倍，多呈不规则圆形，核较小，常居中；如在器官收缩时脱落，则胞体较小，约为白细胞的 2~3 倍，形态较圆。

2) **尾形上皮细胞**：多来自于肾盂，为中层移行上皮细胞，体积大小不一，常呈梨形、纺锤形或带尾形，核较大，呈圆形或椭圆形。

3) **小圆上皮细胞**：为底层移行上皮细胞，形态较圆，较肾小管上皮细胞略大，但胞核较小。

(3) **鳞状上皮细胞**：形体扁平而薄，又称**复层扁平上皮细胞**，来自于输尿管下部、膀胱、尿道和阴道的表层。胞体为尿上皮细胞中最大，形状不规则，多边多角，边缘常卷折；

胞核很小，呈圆形或卵圆形，有时可有两个以上小核，全角化者核更小或无核，为上皮细胞中胞核最小者；胞质丰富。

#### 2. 参考值

①肾小管上皮细胞：无。②移行上皮细胞：无或偶见。③鳞状上皮细胞：少见。

#### 3. 临床意义

(1) 肾小管上皮细胞：尿中一旦增多，即提示肾小管病变。见于：急性肾小管肾炎、肾病综合征、肾小管间质性炎症，如肾小管上皮细胞成堆出现提示肾小管有坏死性病变；慢性肾小球肾炎（可见复粒细胞）；肾移植术后1周，尿内可出现较多的肾小管上皮细胞，随后逐渐减少至恢复正常，但如发生排斥反应，则尿中可再度大量出现肾小管上皮细胞及管形；如肾小管上皮细胞中见含铁血黄素，则提示有慢性心力衰竭、肾梗死、血管内溶血等。

(2) 移行上皮细胞增多：尿中出现大量移行上皮细胞时，提示有相应部位的炎症或坏死性病变。膀胱炎时，可大量大圆上皮细胞或成片脱落；肾盂肾炎时，常见尾形上皮细胞增多。

(3) 鳞状上皮细胞增多：尿中大量出现或片状脱落，或伴白细胞、脓细胞，多见于尿道炎；女性患者，应排除阴道分泌物的污染。

#### (四) 吞噬细胞

1. 种类有2种：小吞噬细胞，来自中性粒细胞；大吞噬细胞，后者来自组织细胞，体积约为白细胞的2~3倍。

#### 2. 参考值：无

3. 临床意义：尿中出现吞噬细胞提示泌尿道急性炎症。可见于：急性肾盂肾炎、膀胱炎、尿道炎等，常伴白细胞、脓细胞增多和伴细菌。

#### (五) 其他细胞

1. 柱状上皮细胞：正常尿中，一般无柱状上皮细胞。如出现较多，提示慢性尿道炎、慢性腺性膀胱炎的可能。

2. 多核巨细胞：一般认为来源于尿道移行上皮细胞。正常尿中无此细胞，多见于麻疹、水痘、腮腺炎、流行性出血热等病毒感染。

3. 病毒感染细胞及其包涵体：细胞内包涵体可作为病毒感染的诊断依据。通常用瑞-姬染色显微镜检查，可获得一定的阳性率。常见细胞病毒包涵体有：人巨细胞病毒包涵体（CMV）、人乳头瘤病毒（HPV）包涵体、人多瘤病毒包涵体、单纯性疱疹病毒（HSP）等。

## 第三节 尿管形检查

### (一) 管形形成机制和条件

#### 1. 尿管形定义

是一些有机物或无机物，如蛋白、细胞或结晶等成分，在肾小管（远曲小管）和集合管内凝固聚合而形成的圆柱状结构物。

#### 2. 管形形成机制和条件

(1) **尿蛋白质和 T-H 蛋白浓度增高**：尿蛋白质和 T-H 蛋白，是形成管形的基础物质。病理情况下，由于肾小球基底膜的通透性增高，大量蛋白质由肾小球进入肾小管，肾小管的重吸功能减低，过多的蛋白质在肾远曲小管和集合管内积聚。

(2) **尿浓缩和肾小管内环境酸化**：尿浓缩可提高尿蛋白的含量，盐类增多，而尿酸化后又促进蛋白凝固、沉淀，由溶胶变为凝胶并进一步固化，致使尿流速减慢，促使肾小管远端形成管形。

(3) **有可供交替使用的肾单位**：病理情况下，也需要有交替使用的肾单位，使尿在肾单位的下部有足够停留时间，蛋白等物质才能浓缩、沉淀形成管形。

## (二) 管形种类、形态和临床意义

管形只在肾小管或集合管内形成，其外形长短、粗细，基本可反映肾小管和集合管内腔的形状。

### 1. 透明管形

(1) **形态**：透明管形一般呈规则圆柱体状，但大小、长短很不一致；通常两边平行，两端钝圆（但有时一端可稍尖细），平直或略弯曲，甚至扭曲，质地菲薄，但也有少许颗粒或少量细胞粘附在管形外或包含于其中；通常较窄而短，也有形态较大者；折光性较差，镜下观察时应将显微镜视野调暗，否则易漏检。

(2) **临床意义**：透明管形参考值为 0~1 / LPF。透明管形偶尔可见于成人浓缩尿、激烈运动后等。病理情况：透明管形可见于发热、麻醉、心力衰竭、肾受刺激后；如大量持续出现透明管形，同时可见异常粗大的透明管形和红细胞，表示肾小管上皮细胞有剥落现象，肾脏病变严重；可见于急、慢性肾小球肾炎、慢性进行性肾功能衰竭、急性肾盂肾炎、肾瘀血、恶性高血压、肾动脉硬化、肾病综合征等。

### 2. 细胞管形

细胞管形指含有脱落细胞、粘附于凝结的蛋白质之中而形成的管形。

#### (1) 红细胞管形

1) **形态**：管形中的红细胞常互相粘连而无明显的细胞界限，有的甚至残缺不全。有时红细胞形态完整、清晰，接近正常，易于识别，有时因溶血仅见红细胞残影。

2) **临床意义**：正常尿中无红细胞管形。病理情况：见到红细胞管形，提示肾小球疾病和肾单位内有出血；可见于急性肾小球肾炎、慢性肾炎急性发作、肾出血、肾充血、急性肾小管坏死、肾移植排斥反应、肾梗死、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、IgA 肾病等。

#### (2) 白细胞管形

1) **形态**：管形中含由退化变性坏死的白细胞（或脓细胞），一般为中性粒细胞，细胞呈球形，有时呈团性重合，因白细胞粘附性强，常可呈块状，也可单独存在，或与上皮细胞管形、红细胞管形并存。

2) **临床意义**：正常尿中无白细胞管形。出现白细胞管形，提示肾实质有细菌感染性病变，见于急性肾盂肾炎、肾脓肿、间质性肾炎、急性肾小球肾炎；非感染性炎症的肾病综合征、红斑狼疮肾炎；肾移植排斥反应（可见淋巴细胞管形）。

#### (3) 肾上皮细胞管形

1) **形态**：**管形内含肾小管上皮细胞**。可分为两大类：一类管形是由脱落肾小管上皮细胞与 T-H 糖蛋白组成，成片上皮细胞与基底膜分离，脱落细胞粘在一起；另一类管形为急性肾小管坏死时，胞体较大，形态多变，典型的上皮细胞呈瓦片状排列，可充满管形，细

胞大小不等，核形模糊，有时有浅黄色，此管形依其核形常难与白细胞管形区别，但管形内细胞比白细胞大，其大小和形态变化比白细胞复杂，用可加酸法呈现细胞核；酯酶染色呈阳性，过氧化物酶染色呈阴性，借此可与白细胞管形鉴别。

2) 临床意义：正常尿中无肾上皮细胞管形。肾上皮细胞管形增多，常见于肾小管病变，如急性肾小管坏死、急性肾小球肾炎、间质性肾炎、肾病综合征、子痫、肾淀粉样变性、慢性肾炎晚期、重金属（如镉、汞、铋等）及其他化学物质、药物中毒。**肾移植患者，在移植术 3 天内，尿出现肾小管上皮细胞管形为排异反应的可靠指标之一。**

### 3. 颗粒管形

(1) 形态：颗粒管形内含大小不等的颗粒物，**含量超过 1/3 管形面积以上时，称为颗粒管形**。颗粒来自崩解变性的细胞残渣、血浆蛋白及其他物质，这些物质直接聚集于 T-H 糖蛋白基质。颗粒管形常较透明管形短而宽大，呈淡黄褐色或棕黑色。按颗粒的粗细又分为粗颗粒管形和细颗粒管形两种，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。

(2) 临床意义：正常人尿中无粗颗粒管形。颗粒管形的出现和增多，提示肾脏有实质性病变。可见于脱水、发热，尤其多见于急性或慢性肾小球肾炎、肾病、肾小管硬化症、肾盂肾炎、病毒性疾病、慢性铅中毒、肾移植、急性排斥反应、药物中毒等。**在急性肾功能衰竭多尿早期，可大量出现宽幅的颗粒管形；如出现于慢性肾炎晚期，提示预后不良。**

### 4. 蜡样管形

(1) 形态：蜡样管形由细颗粒管形或细胞管形进一步衍化而来，也有认为来自淀粉样变性的上皮细胞溶解后逐渐形成的管形，或者是透明管形在肾小管内停留时间较长演变而成。其外形似透明管形，为蜡烛样浅灰色或淡黄色，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，两端常不整齐。

(2) 临床意义：**正常尿中无蜡样管形。出现蜡样管形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、长期无尿和少尿、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、肾移植慢性排异反应、重症肝病等。

### 5. 脂肪管形

(1) 形态：脂肪管形由肾小管上皮细胞脂肪变性、崩解，大量的脂肪滴进入管形内而形成。管形内可见大小不等的折光很强的脂肪滴，当脂肪滴较大时，用偏振荧光显微镜检查，可见马耳他“十”字，脂肪滴较小时则互相重叠，用苏丹Ⅲ染色染成橙红色或红色。

(2) 临床意义：正常尿中无脂肪管形。出现脂肪管形提示肾小管损伤、肾小管上皮细胞脂肪变性。可见于亚急性肾小球肾炎、慢性肾小球肾炎、中毒性肾病等，**尤多见于肾病综合征。**

### 6. 宽大管形

(1) 形态：宽大管形是来自于破损扩张的肾小管、集合管或乳头管，多数宽大管形由颗粒管形和蜡样管形演变而来，但也可由其他管形演变而成。其宽可达 50 μm 以上，是一般管形的 2~6 倍，既宽又长，可横跨整个视野，不规则，易折断，有时呈扭曲形。

(2) 临床意义：正常尿无宽大管形。出现宽大管形，见于重症肾病、急性肾功能衰竭患者多尿早期、慢性肾炎晚期尿毒症（**表示预后不良，故又称“肾衰管形”**）。

### 7. 细菌管形和真菌管形

正常尿无细菌或真菌管形。出现细菌管形表明肾脏有病原体感染，常见于肾脓毒性疾病；出现真菌管形提示真菌感染。

#### 8. 结晶管形

正常尿无结晶管形。出现结晶管形的临床意义类似相应的结晶尿，多见于代谢性疾病、中毒或药物所致的肾小管内结晶沉积伴急性肾衰、隐匿性肾小球肾炎、肾病综合征。

#### 9. 混合管形

混合管形指管形内同时含有不同细胞及其他有形成分。正常尿中无混合管形。混合管形见于肾小球肾炎反复发作、出血和血管坏死、肾梗死、肾移植后急性排异反应等。

#### 10. 其他管形和类管形相似物

##### (1) 其他管形

1) 血液管形：指血液进入肾小管后，红细胞崩解破坏，其各种成分所形成的管形称血液管形。其临床意义同红细胞管形。

2) 血红蛋白管形：管形内充满血红蛋白。可见于：急性肾小球肾炎、慢性肾炎急性发作、肾出血、肾充血、急性肾小管坏死、肾移植排斥反应、肾梗塞、肾静脉血栓形成、管腔内溶血、恶性高血压、狼疮性肾炎、亚急性心内膜炎、IgA 肾病、肾单位发生梗死等。

3) 血小板管形：主要见于弥散性血管内凝血。

4) 肌红蛋白管形：见于急性肌肉损伤引起的肌红蛋白尿症和急性肾功能衰竭等。

5) 胆红素管形：见于严重阻塞性黄疸患者，尿胆红素试验常强阳性，可伴亮氨酸和酪氨酸结晶。

##### (2) 类管形相似物

1) 粘液丝：为长线条形，边缘不清，末端尖细卷曲，大小不等，常见暗淡纹。可见于正常尿中，尤其妇女尿中较多；如大量存在常表示尿道受刺激或有炎症反应。

2) 假管形：为非晶形尿酸盐、磷酸盐等形成的圆柱体，其外型与管形相似，但无管形的基质，边缘不整齐、两端破碎、其颗粒粗细不均、色泽发暗，加温或加酸后即消失，而真管形不变。

3) 圆柱体：又称类管形，其形态与透明管形相似，但一端尖细，有时有扭曲或弯曲，如螺旋状，常伴透明管形同时出现。见于急性肾炎、肾血循环障碍或肾受刺激的患者。

易被误认为管型的物体

类圆柱体、假管型、细胞团、黏液丝

## 第四节 尿结晶检查

### (一) 尿结晶形成和检查方法（专业知识，专业实践能力）

1. 尿结晶形成：结晶食物产生各种酸性产物，与钙、镁、铵等离子结合生成各种无机盐及有机盐，再通过肾小球滤过、肾小管重吸收及分泌，排入尿中可形成结晶。结晶的形成与尿的 pH、温度、结晶物质及其胶体物质浓度和溶解度有关。

2. 尿结晶检查方法：尿中有大量盐类结晶时，肉眼可见尿色混浊或有沉淀，部分结晶经加热加酸等处理后可变清。检查尿结晶的常用方法是在光学显微镜下观察结晶形态。

3. 尿结晶种类：为了便于临床应用，将结晶分为生理性结晶和病理性结晶（表 1-8-3）。

表 1-8-3 常见生理性和病理性结晶

生理性	病理性
草酸盐结晶	胱氨酸结晶
尿酸结晶	胆红素结晶
非晶形尿酸结晶	酪氨酸结晶
马尿酸结晶体	亮氨酸
磷酸盐类结晶	胆固醇结晶
碳酸钙结晶	磺胺类结晶
碳酸铵结晶	含铁血黄素

## (二) 生理性结晶 (专业知识, 专业实践能力, 掌握)

生理性结晶多来自食物及机体正常的代谢, 一般无临床意义。但当大量持续出现于患者新鲜尿内, 可成为尿路结石诊断依据之一。

1. **草酸钙结晶**: 为无色、方形、闪烁发光的八面体, 有时呈菱形, 偶见哑铃形或饼状, 与红细胞相似。草酸钙结晶属正常代谢成分, 但在新鲜尿中大量出现此结晶伴随红细胞, 而又有肾或膀胱的刺激症状, 多为肾或膀胱结石的征兆, **尿路结石约 90% 为草酸钙结晶**。

2. **尿酸结晶**: 尿酸是核蛋白中嘌呤代谢的产物, 以尿酸或尿酸盐的形式经尿排出体外。尿酸结晶在尿中呈黄色、暗棕色; 形状有三棱形、哑铃形、蝴蝶形及不规则形。

正常情况下, 如多食含高嘌呤的动物内脏可使尿中尿酸增高, 一般无临床意义。尿中尿酸浓度增高, 可引起尿酸结晶增多 (高尿酸结晶)。大量尿酸沉淀于肾小管及间质中, 可产生高尿酸肾病及尿酸结石, **高尿酸亦可见于急性痛风症、儿童急性发热、慢性间质性肾炎等**。

3. 非结晶性尿酸盐: 外观呈黄色的非晶形颗粒状沉淀物。

4. 磷酸盐类结晶: 为正常尿成分, 来源于食物和机体代谢组织分解, 尿中长期出现时, 应注意有磷酸盐结石的可能。

(1) 磷酸钙结晶常见于弱碱性尿、中性尿有非结晶形、粒状形、三棱形, 排列成星状或束状。如长期在尿中见到大量磷酸钙结晶, 应考虑到甲状旁腺功能亢进、肾小管性酸中毒、长期卧床骨质脱钙等。

(2) 磷酸氢镁结晶 (三联磷酸盐): 呈方柱状、信封状或羽毛状, 无色, 有很强的折光性。一般无临床意义。

(3) 非晶型磷酸盐: 为白色颗粒状, 一般无临床意义。

5. 尿酸铵结晶: 此结晶呈黄色, 不透明, 有球状、哑铃形、树根状等形态, 常见于在陈旧尿中, 一般无临床意义。如在新鲜尿见到大量出现, 提示膀胱有细菌感染。

## (三) 病理性结晶 (专业知识, 专业实践能力)

尿出现病理性结晶, 与各种疾病因素和某些药物在体内代谢异常有关。

1. **胆红素结晶**: 此结晶外形为成束的针状或小块状, 黄红色, 由于氧化, 有时可呈非结晶体色素颗粒。见于各种黄疸患者、肝癌、肝硬化和有机磷中毒等。

2. **胱氨酸结晶**: 为无色、六边形, 边缘清晰、折光性强的薄片状结晶, 由蛋白分解而来。正常尿中少见, 大量出现多为肾或膀胱结石的征兆。

3. **亮氨酸与酪氨酸结晶**: 亮氨酸与酪氨酸结晶为蛋白分解产物。亮氨酸结晶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。酪氨酸结晶为略带黑色的细针

状结晶，成束成团或羽毛状。可见于组织大量坏死的疾病，如急性肝坏死、急性磷中毒；糖尿病性昏迷、白血病或伤寒等。

4. 胆固醇结晶：其外形为**缺角的长方形或方形**，无色透明，常浮于尿的表面，成薄片状，可见于膀胱炎、肾盂肾炎或有乳糜尿的患者；偶见于脓尿患者。

5. 含铁血黄素：为黄色小颗粒状，存在细胞内，可用亚铁氰化钾染色进行鉴别。当体内红细胞大量破坏时，各组织中均可有含铁血黄素沉积，如沉积于肾脏时，即可在尿中见到。

#### 6. 药物结晶

(1) 放射造影剂：如使用碘泛影剂、尿路造影剂后尿中出现束状、球状、多形性结晶。

(2) **磺胺类药物结晶**：①乙酰基磺胺嘧啶（SD）：易在酸性尿中形成结晶。磺胺嘧啶结晶为棕黄色、不对称的麦秆束状、球状，但其束偏在一侧，两端不对称，有时呈贝壳状。②磺胺甲基异恶唑结晶：为无色透明、长方形、正方形的六面体结晶，似厚玻璃块，厚度大，边缘有折光阴影，散在或集束成“+”、“×”形等排列。

如在新鲜尿中，查到大量磺胺结晶，同时与红细胞或管型并存，多表示肾脏已受磺胺药物损害，应立即停药，大量饮水，服用碱性药物使尿碱化，以保护肾不受进一步损害。

## 第五节 尿沉渣定量检查

### （一）方法学评价（专业知识，专业实践能力）

尿沉渣定量检查有传统的艾迪（Addis）计数法以及1小时计数法、尿沉渣计数板法和仪器计数法等。

传统的尿沉渣定量计数方法为艾迪计数法，由于该法标本留取时间长，尿有形成易于溶解破坏，重复性和准确性差，在国内外已很少应用，并被1小时尿有形成分计数法取代。

1. 1小时尿有形成分计数：本法较留12h尿简便，不需限制饮食（但不能大量饮水），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。

2. 尿沉渣定量分析板计数法：本法实验条件（尿量、离心、留一定量沉渣）较规范化和标准化，符合尿检验标准化要求。

### （二）参考值（相关专业知识，专业实践能力）

1小时尿中有形成分计数：成人红细胞：男 $<30000/h$ ，女 $<40000/h$ ；白细胞：男 $<70000/h$ ，女 $<140000/h$ 。

### （三）临床意义（相关专业知识，专业实践能力）

尿沉渣红细胞、白细胞、管形等定量计数，比随机性尿沉渣直接涂片镜检，能更准确反映泌尿系统疾病情况，并可动态观察、比较肾病变的程度及评价治疗效果和预后的评价。

### （四）1小时尿中有形成分计数操作方法（专业知识，专业实践能力）

1. 尿标本采集时间：上午6~9时，开始留尿时先排尿弃去。收集3h内的全部尿。

2. 充池计数：取混匀尿沉淀液 1 滴充入计数池，分别计数 10 个大方格中的红细胞、白细胞和管形数。

3. 测定：如酸性尿中有尿酸盐结晶析出，可将尿标本在 37℃ 下温育片刻，使结晶溶解；如碱性尿中有磷酸盐结晶析出时，则可加 1% 的乙酸 1~2 滴，尿 pH5 时，磷酸盐结晶便消失，但加酸不能过多，以免破坏红细胞等。计算公式： $1h \text{ 排泄率} = [(1000 \times C \times V) / 10T] = 33.3CV$ ，其中，1000 为微升转换为毫升数，C 为计数 10 大方格的细胞或管形数，V 为 3 小时内的总尿量（毫升），T 为留取标本的时间（3 小时）。

## 第九章 尿液化学检查

尿液是一种化学成分十分复杂而又很不稳定的体液，它来自血液，也来自泌尿系统及生殖系统的组织及其分泌，许多病理情况都会导致尿液化学成分的改变。

### 第一节 尿液酸碱度测定

#### （一）定义

尿液酸碱度是反映肾脏调节机体内环境体液酸碱平衡能力的重要指标之一，通常简称为尿液酸度。尿液酸度分两种：可滴定酸度和真正酸度。前者可用酸碱滴定法进行滴定，相当于尿液酸度总量，后者是指尿液中所有能离解的氢离子浓度，通常用 pH 来表示。

#### （二）检测方法及评价

1. 试带法：用 pH 广泛试带浸入尿液中，立即取出与标准色板比较测定。用肉眼判断出尿液的 pH，或用仪器判读结果。本法操作简单，可目测或用尿液分析仪检测，是目前最广泛应用的筛检方法，但试带易吸潮变质，易影响准确性。

2. 指示剂法：常用的指示剂为 0.4g/L 溴麝香草酚蓝溶液，显示黄色为酸性尿；显蓝色为碱性尿；显绿色为中性尿。本法操作简单，但溴麝香草酚蓝的 pH 变色范围为 6.0~7.6，当尿液 pH 偏离范围时，检测结果不准确。黄疸尿、血尿易干扰指示剂法。

3. 滴定法：本法可检查尿液酸度的总量。临床上，可用于观察尿液酸度的动态监测，但操作复杂。

4. pH 计法：用 pH 电极能直接精确地测定出尿液的 pH。本法精确度较高，可用于酸负荷试验后尿液 pH 检查，对于肾小管酸中毒的定位诊断、分型、鉴别诊断，有一定的应用价值，但需要特殊仪器，且操作更繁琐。

#### （三）质量控制

1. 标本必须新鲜：陈旧标本可因尿 CO<sub>2</sub> 挥发或细菌生长使 pH 增高，也可因细菌和酵母菌作用，使尿中葡萄糖降解为酸和乙醇而 pH 减低。

2. 试带法：试带应满足生理和病理尿 pH 的变化范围，未被酸、碱污染，未吸潮变质。



3. 指示剂法：一般指示剂多不易溶于水，配制指示剂溶液时，应先用少许碱液（如 NaOH 稀溶液）助溶后，再加蒸馏水稀释到适当浓度，以满足指示剂颜色变化范围，因为指示剂的解离质点状态与未解离质点状态呈现不同的颜色。

4. 滴定法：氢氧化物溶液浓度必须标准。

5. pH 汁法：应经常校准 pH 计，确保仪器在正常良好状态下检测。

#### （四）参考值

在正常饮食条件下，晨尿多偏弱酸性，多数尿标本 pH5.5~6.5，平均 pH6.0。随机 pH4.5~8.0。尿可滴定酸度为 20~40mmol/24h 尿。

#### （五）临床应用

##### 1. 生理性变化

（1）尿液 pH 易受食物影响：如进食含蛋白质高的食物过多或饥饿状态等，尿 pH 减低；而进食过多的蔬菜、水果等含碱性物质较多的食品时，尿 pH 增高。

（2）进餐后尿 pH 增高：机体每次进餐后，尿液的 pH 呈一过性增高，称之为碱潮。

（3）剧烈运动、饥饿、出汗、应激状态等生理活动，夜间入睡后呼吸减慢，体内酸性代谢产物增多均可使尿液 pH 减低。许多药物也会影响尿液 pH。尿内含有大量脓、血或细菌污染，分解尿素可使尿液碱化。

##### 2. 病理变化

（1）尿 pH 减低：见于①酸中毒、慢性肾小球肾炎、发热、服用氯化铵等药物时。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<sup>+</sup>增强，尿酸度增高）等。

③其他：如白血病、呼吸性酸中毒。

（2）尿 pH 增高：见于①碱中毒：如呼吸性碱中毒。②严重呕吐。③尿路感染：如膀胱炎、肾盂肾炎、变形杆菌性尿路感染，由于细菌分解尿素产生氨等。④肾小管性酸中毒：尿 pH 呈相对偏碱性。⑤应用利尿剂、进食太多蔬菜、水果等。

3. 观察尿液 pH 变化，指导临床用药，预防肾结石的形成和复发，减轻泌尿系统微生物的感染。

## 第二节 尿液蛋白质检查

正常人尿蛋白来源：正常人尿蛋白约有 200 多种，主要有：①小相对分子质量蛋白：如微球蛋白、溶菌酶、核糖核酸酶以及免疫球蛋白 Fc 片段等。②大相对分子质量蛋白：如 Tamm-Horsfall 糖蛋白及分泌型 IgA 等。③中相对分子质量蛋白：如相对分子质量为 4 万~9 万的清蛋白，占尿蛋白总量 50%左右。

### （一）蛋白尿定义

尿液中蛋白质超过 150mg/24h 或超过 100mg/L 时，蛋白定性试验呈阳性，即称为蛋白尿。

### （二）检测方法及评价

1. 尿蛋白定性试验：为蛋白尿的过筛试验。

(1) 试带法：利用 pH 指示剂的蛋白误差原理。本法对清蛋白较敏感，对球蛋白不敏感，仅为清蛋白的 1/100~1/50，且可漏检本周蛋白。尿液 pH 增高可产生假阳性。本法快速、简便、易于标准化，适于健康普查或临床筛检。

(2) 加热乙酸法：为传统的经典方法，特异性强、干扰因素少。能同时检出清蛋白及球蛋白尿，但敏感度较低，一般在 0.15g/L 左右。本法能使含造影剂尿液变清，可用于鉴别试验。

(3) 磺基水杨酸法：又称磺柳酸法。操作简便、反应灵敏、结果显示快，与清蛋白、球蛋白、糖蛋白和本周蛋白等均能发生反应；敏感度高达 0.05~0.1g/L，因而有一定的假阳性。**被 NCCLS 作为干化学法检查尿蛋白的参考方法，并推荐为检查尿蛋白的确证试验。**

## 2. 尿蛋白定量试验

检查方法有：沉淀法、比色法、比浊法、染料结合法、免疫测定法和尿蛋白电泳法等。目前染料结合法、比色法应用较广泛，免疫法及尿蛋白电泳法具有更高的灵敏度和特异性，有很好的临床应用前景。

尿蛋白检测方法的选择：对于进行现场快速检验，或初次就诊的门诊患者，采用试带法或磺基水杨酸法，基本可满足健康体检和疾病筛查的需要；在疾病确诊后需要进行疗效观察或预后判断时，则需要配合加热乙酸法，必要时需进行尿蛋白定量和特殊蛋白质分析。

## (三) 质量控制

1. 试带法：必须使用标准合格的试带，并严格按照注意事项操作（参见尿液分析仪及临床应用一章）。

2. 加热乙酸法：控制加酸量及盐类浓度，加酸过少、过多，导致远离蛋白质等电点时，可使阳性程度减弱。如尿液盐类浓度过低，又可致假阴性，此时可加饱和氯化钠溶液 1~2 滴后，再进行检查。

3. 磺基水杨酸法：使用某些药物（如青霉素钾盐、复方新诺明、对氨基水杨酸等）及有机碘造影剂时，以及尿内含有高浓度尿酸、草酸盐或粘蛋白时，可呈假阳性反应。此时，可通过加热煮沸后浊度是否消失予以鉴别。

4. 考马斯亮蓝法尿蛋白测定：应注意：①考马斯亮蓝试剂易吸附在比色杯上，每次使用后应立即用甲醇或乙醇或水加适量丙酮洗涤，并最好用专用比色杯。②试剂酸度对蛋白质测定影响较大，pH 越高灵敏度越低。③考马斯亮蓝试剂必须新鲜，否则对蛋白质结合能力下降。④线性范围较窄。

5. 注意方法间差异，加强质量控制用于尿蛋白定量的各种方法之间存在较大差异；应尽力作到：标本、试剂合格，操作规范，结果有可比性。

## (四) 参考值

定性试验：阴性。

定量试验：<0.1g/L；或<0.15g/24h。

## （五）临床应用

### 1. 生理性蛋白尿

（1）功能性蛋白尿：见于剧烈运动后、发热、寒冷刺激、精神紧张、过度兴奋等，呈混合性蛋白尿，一般为2~3天后消退。

（2）直立性蛋白尿：可见于站立时间过长、“行军性”蛋白尿等，多见于青少年，绝大多数无肾病证据。

（3）摄入性蛋白尿：输注成分血浆、清蛋白及其他蛋白制剂，或进食过多蛋白质时，尿液中可偶然被检出尿蛋白。

（4）偶然性蛋白尿：受白带、月经血、精液、前列腺液的污染，偶而出现假性蛋白尿。

（5）老年性蛋白尿：与年龄低于60岁的人相比。老年人蛋白尿的发生率增高。这些人应每隔6个月，随访检查血压等，但总体预后良好。

（6）妊娠性蛋白尿：妊娠时可有蛋白尿，但应注意随访。若无症状者，尿蛋白持续1~2g/d或伴血尿时，则预后比暂时性或体位性蛋白尿者差。

### 2. 病理性蛋白尿

病理性蛋白尿可分为：

（1）肾前性蛋白尿：见于①浆细胞病：如多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症、浆细胞白血病等。②血管内溶血性疾病：如阵发性睡眠性血红蛋白尿等。③大面积肌肉损伤：如挤压伤综合征、电灼伤、多发性肌炎，进行性肌肉萎缩等。④酶类增高：如急性单核细胞白血病尿溶菌酶增高，胰腺炎严重时尿淀粉酶增高等。

#### （2）肾性蛋白尿

1) 肾小球性蛋白尿：①肾病综合征：蛋白尿以清蛋白为主，少量小相对分子质量蛋白，定性试验多数为+++~++++，定量试验常为3.5~10g/d，最多可达20g/d。②原发性肾小球肾炎：如急性肾炎、慢性肾炎、膜性肾炎、膜增生性肾炎、肾功能衰竭等。③继发性肾小球疾病：糖尿病肾病：早期尿中即出现微量清蛋白，临床肾病期尿蛋白常>0.5g/d。狼疮性肾炎：轻型损害时，尿蛋白多在+~++之间，定量为0.5~2g/d。妊娠中毒症：正常妊娠时，尿蛋白可轻度增高；但妊娠中毒症者，尿蛋白多为+~++，严重时可达+++~++++，定量可>5g/d。

2) 肾小管性蛋白尿: ①肾小管间质病变: 如间质性肾炎、肾盂肾炎、Fanconi 综合征、肾小管性酸中毒等。②重金属中毒: 如汞、镉、铋、砷、铀等, 重金属类引起中毒性肾间质疾病。③药物中毒: 某些抗生素如庆大霉素、卡那霉素、多粘菌素等; 中草药类如马兜铃、木通等; 有机溶剂如苯中毒等。④器官移植: 如肾移植排斥反应等。

(3) 肾后性蛋白尿: ①泌尿、生殖系炎症反应: 如膀胱炎、尿道炎、前列腺炎、精囊炎等。②泌尿系结石、结核、肿瘤等。③泌尿系邻近器官疾病: 如急性阑尾炎、慢性盆腔炎、宫颈炎、盆腔肿瘤等, 泌尿系邻近器官炎症或肿瘤刺激。

### 第三节 尿液糖检查

#### (一) 定义

正常人尿液几乎不含或仅含微量葡萄糖, 一般尿糖定性试验为阴性。尿糖定性试验呈阳性的尿液称为糖尿, 葡萄糖是尿糖的主要成分, 偶尔亦可见乳糖、半乳糖、果糖、戊糖等。葡萄糖是否出现于尿液中, 主要取决于 3 个因素: ①血糖浓度; ②肾血流量; ③肾糖阈: 当血糖浓度超过  $8.88\text{mmol/L}$  时, 尿液中开始出现葡萄糖。把尿液中开始出现葡萄糖时的血浆葡萄糖(血糖)浓度水平, 称为肾糖阈值(简称肾糖阈)。

#### (二) 检测方法及评价

1. 班氏法: 利用葡萄糖的还原性, 是传统尿糖定性试验方法。本法是非特异性测定葡萄糖的试验, 可检出多种尿糖, 简便, 但易受其他还原物质干扰, 倾向于淘汰。
2. 试带法: 采用葡萄糖氧化酶法。本法检测葡萄糖的特异性强、灵敏度高、简便快速, 适用于自动化分析。
3. 薄层层析法: 操作复杂、费时、成本高, 多用于临床或基础研究, 临床上一般情况少用。

#### (三) 质量控制

1. 班氏法: 试验前, 必须首先煮沸班氏试剂, 避免试剂变质。维生素 C 可使其假阳性。
2. 试带法: ①避免假阳性: 假阳性可见于尿标本容器残留强氧化性物质如漂白粉、次亚氯酸等或低比密尿等。②避免假阴性: 尿液含有高浓度酮体、维生素 C、阿斯匹林; 使用氟化钠保存尿液; 标本久置, 葡萄糖被细菌或细胞酶分解, 可引起假阴性。
3. 容器清洁: 不含氧化性物质入漂白粉、次亚氯酸, 否则易导致班氏法假阴性而试带法假阳性。
4. 高比密及高酮体尿: 可使试带法糖定性呈假阴性。
5. 及时送检: 尿液必须信笺, 若长时间放置, 细菌繁殖等造成假阴性结果。

#### (四) 参考值

定性试验: 阴性。定量:  $0.56\sim 5.0\text{mmol}/24\text{h}$ 。

#### (五) 临床应用

尿糖检查，主要是作为糖尿病的筛检和病情判断的检测指标，但尿糖检查时，应同时检测血糖，以提高诊断准确性。

#### 1. 血糖增高性糖尿分为：

(1) 摄入性糖尿：①摄入增多：摄入大量的糖类食品、饮料、糖液时，可引起血糖短暂性增高而导致糖尿。②输入性增多：静脉输注高渗葡萄糖溶液后，可引起尿糖增高。

(2) 应激性糖尿：由于情绪激动、脑血管意外、脑溢血、颅脑外伤等情况下，出现暂时性高血糖和一过性糖尿。

(3) 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高血糖所致。最常见的是糖尿病。

**糖尿病：**①尿糖检测是糖尿病诊断、病情判断、治疗效果观察及预后的重要指标之一。

②尿糖与血糖检测关系：糖尿病如并发肾小球动脉硬化症，则因肾血流量减低，肾小球滤过率减低，肾糖阈增高，此时尽管血糖已超过一般的肾糖阈，尿糖检查仍可呈阴性；轻型糖尿病患者，其空腹血糖含量可能正常或轻度增高，尿糖检查亦可呈阴性，但进餐后 2h，由于负载增高，可出现血糖增高，尿糖阳性。

因此，疑糖尿病时，应该同时检查血糖、尿糖、餐后 2h 尿糖，还应该进一步作糖耐量试验，以明确糖尿病的诊断；对于糖尿病患者而言，尿糖检测无痛苦且廉价，因此，对于以饮食控制尿糖的患者，尿糖检查较为适用，但对胰岛素依赖的患者，尿糖检测结果与血糖的对应性较差，因而，宜用血糖监测患者的治疗。

(4) 内分泌性糖尿：①甲状腺功能亢进；②肢端肥大症；③嗜铬细胞瘤；

④Cushing（库欣）综合征。

#### 2. 血糖正常性糖尿

又称肾性糖尿。出现糖尿的原因是由于肾小管对滤过液中葡萄糖重吸收能力减低，肾糖阈减低所致的糖尿。如①家族性肾性糖尿：如 Fanconi 综合征患者，空腹血糖、糖耐量试验均正常，但由于先天性近曲小管对糖的重吸收功能缺损，空腹尿糖则为阳性。②新生儿糖尿：因肾小管对葡萄糖重吸收功能还不完善所致。③后天获得性肾性糖尿：可见于慢性肾炎、肾病综合征，伴有肾小管损伤者。④妊娠期或哺乳期妇女：因细胞外液容量增高，肾滤过率增高而近曲小管的重吸收能力受到抑制，使肾糖阈减低，出现糖尿；但如出现持久且强阳性尿糖时，应进一步检查原因。

#### 3. 其他糖尿

血液中除了葡萄糖外，其他糖类有：乳糖、半乳糖、果糖、戊糖、蔗糖等。如果进食过多或受遗传因素影响，体内糖代谢失调后，亦可使血液中浓度增高，易出现相应的糖尿。

## 第四节 尿液酮体检查

### （一）定义

**酮体（KET）**是尿液中乙酰乙酸（占 20%）、 $\beta$ -羟丁酸（占 78%）及丙酮（占 2%）的总称。酮体是机体脂肪氧化代谢产生的中间代谢产物，当糖代谢发生障碍、脂肪分解增高，酮体产生速度超过机体组织利用速度时，可出现酮血症，酮体血浓度一旦超过肾阈值，就可产生酮尿。

## （二）检测方法及评价

### 1. 试带法

基于传统的湿化学亚硝基铁氰化钠法而设计，是目前临床上最常用的尿酮体筛检方法。检测过程简易快速，尤其适合于床边检验。应注意不同试带对丙酮和乙酰乙酸的灵敏度不一。

### 2. 湿化学法

（1）Rothera 法：在碱性条件下，亚硝基铁氰化钠可与尿中的乙酰乙酸、丙酮起反应呈现紫色，但不与  $\beta$ -羟丁酸起反应。

（2）Gerhardt 法：高铁离子（ $\text{Fe}^{3+}$ ）与乙酰乙酸的烯醇式基团发生螯合，形成酒红色复合物。

### 3. 片剂法

基本原理为亚硝基铁氰化钠法。

## （三）质量控制

细菌在体内外可导致乙酰乙酸的丢失；室温保存，丙酮易丢失，密闭冷藏可避免挥发，但试验时标本应置于室温中恢复温度后再检测。

## （四）参考值

定性：阴性。定量：酮体（以丙酮计） $170\sim 420\text{mg/L}$ ；乙酰乙酸 $\leq 20\text{mg/L}$ 。

## （五）临床意义

尿酮体检查主要用于糖代谢障碍和脂肪不完全氧化疾病或状态的诊断，强阳性试验结果具有医学决定价值。

1. 糖尿病酮症酸中毒：①早期诊断：糖尿病由于未控制或治疗不当，血酮体增高而引起酮症，出现酸中毒或昏迷，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区别（尿酮体阴性）。但应注意，当患者肾功能严重损伤肾阈值增高时，尿酮体排出反而减低，甚至完全消失。故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等。

②治疗监测：糖尿病酮症酸中毒早期病例中，主要酮体成分是  $\beta$ -羟丁酸（一般试带法无法测定），而乙酰乙酸很少或缺乏，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， $\beta$ -羟丁酸转变为乙酰乙酸，反而使乙酰乙酸含量比急性期早期增高，此时易造成对病情估计过重。因此，必须注意病程发展，并与临床医生共同分析测定结果。当多次检测尿酮体均为阴性时，可视为疾病好转。③新生儿：出现尿酮体强阳性，应怀疑为遗传性疾病。

2. 非糖尿病性酮症者：如应激状态、剧烈运动、饥饿、禁食过久、饮食缺乏糖类或为高脂肪，感染性疾病如肺炎、伤寒、败血症、结核等发热期，严重腹泻、呕吐包括妊娠反应性、全身麻醉后等均可出现酮尿。

3. 中毒：如氯仿、乙醚麻醉后、磷中毒等。服用双胍类降糖药（如降糖灵）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。

## 第五节 尿液胆红素检查

### （一）概述

血浆胆红素有3种：未结合胆红素（UCB）、结合胆红素（CB）和 $\delta$ -胆红素。成人每日平均产生250~350mg胆红素，其中，约75%来自衰老红细胞中血红蛋白的分解，另25%主要来自骨髓内未成熟红细胞的分解及其他非血红蛋白的血红素分解产物。UCB不溶于水，在血中与蛋白质结合不能通过肾小球滤膜。UCB入肝后在葡萄糖醛酸转移酶作用下形成胆红素葡萄糖醛酸，即为CB。CB相对分子质量小，溶解度高，可通过肾小球滤膜由尿中排出。 $\delta$ -胆红素的反应性与结合胆红素相似，但它是未结合胆红素与清蛋白通过非酶促反应形成的共价结合物，通常在血浆中含量很低。当血中CB增高，超过肾阈值时，结合胆红素即从尿中排出，尿胆红素试验可呈阳性反应。

### （二）检测方法及评价

#### 1. 重氮法

干化学试带法多用此原理，操作简单，且可用于尿自动化分析仪，目前多用此法作定性筛检试验，如果反应不典型，应进一步分析鉴定。在尿液pH较低时，某些药物或其代谢产物如吡啶和依托度酸可引起假阳性反应；尿兰母产生橘红色或红色而干扰结果。VitC浓度达1.42mmol/L和亚硝酸盐存在时，可抑制重氮反应而假阴性。

#### 2. 氧化法

Smith碘环法最为简单，但灵敏度低，目前已很少使用；Harrison法操作稍繁，但灵敏度较高。

### （三）质量控制

胆红素在阳光照射下易转变为胆绿素，因此检测时应使用新鲜尿液标本，为避光宜用棕色容器收集标本。VitC、亚硝酸盐和某些药物，可引起假阴性结果。

### （四）参考值

定性：阴性。

### （五）临床意义

尿胆红素检测主要用于黄疸的诊断和黄疸类型的鉴别诊断。

#### 1. 胆汁淤积性黄疸

又称阻塞性黄疸，因胆汁淤积使肝胆管内压增高，导致毛细胆管破裂，结合胆红素不能排入肠道而逆流入血由尿中排出，故尿胆红素阳性。可见于各种原因引起的肝内或肝外、完全或不完全梗阻。如胆石症、胆管癌、胰头癌、原发性胆汁性肝硬化、门脉周围炎、纤维化及药物所致胆汁淤滞等。

## 2. 肝细胞性黄疸

见于各种使肝细胞广泛损害的疾病，如急性黄疸性肝炎、病毒性肝炎、肝硬化、中毒性肝炎、败血症等。因肝细胞损伤，致使肝细胞对胆红素的摄取、结合、排泄功能受损。肝细胞摄取血浆中未结合胆红素能力减低，使 UCB 在血中浓度增高，但受损的肝细胞仍能将 UCB 转变为 CB。在病毒性肝炎黄疸前期，当血清总胆红素增高或黄疸不明显时，尿胆红素阳性为最早出现阳性的检测指标之一，阳性率达 86%，因此尿胆红素的检测有利于病毒性肝炎的早期诊断。

## 3. 溶血性黄疸

由于大量红细胞的破坏，形成大量的 UCB，超过肝细胞的摄取、结合、排泄能力；同时，由于溶血性造成的贫血缺氧和红细胞破坏产物的毒性作用，削弱了肝细胞对胆红素的代谢功能，使 UCB 在血中滞留而引起黄疸。但肝细胞将 UCB 转变为 CB，并经胆管排泄均正常，因而血液中并无 CB 存在，故尿胆红素阴性。溶血性黄疸可见于各种溶血性疾病。

## 4. 先天性高胆红素血症

如①Dubin-Johnson 综合征；②Rotor 综合征；③Gilbert 综合征；④Crigler-Najjar 综合征。

# 第六节 尿液尿胆原和尿胆素检查

## （一）概述

结合胆红素排入肠腔转化为尿胆原，从粪便中排出为粪胆原。大部分 UBG 从肠道重吸收经肝转化为结合胆红素再排入肠腔，小部分 UEG 从肾小球滤过或肾小管排出后即尿 UBG。无色 UBG 经空气氧化及光线照射后转变成黄色的尿胆素。尿胆红素、UBG 及尿胆素，俗称尿三胆。由于送检的标本多为新鲜尿标本，UBG 尚未氧化成尿胆素，故一般检查胆红素和 UBG，又俗称尿二胆。

## （二）检测方法

1. 尿胆原：①湿化学 Ehrlich 法：UBG 在酸性溶液中，与对二甲氨基苯甲醛（Ehrlich 试剂）反应，生成樱红色化合物。具体操作是：于试管中加新鲜尿液 5ml，加 Ehrlich 试剂 0.5ml，混匀，室温下反应 10min，在白色背景下，直持试管，从管口向管底观察反应的色泽，如为阴性，可直接报告；如呈阳性反应，需将尿液稀释后继续试验，报告出现阳性的最高稀释倍数。②试带法：检测原理基于 Ehrlich 法。UBG 检测已成为尿分析仪试带法分析项目组合之一，用于疾病的尿筛检。采用 Ehrlich 醛反应方法，可用于定性和定量。

2. 尿胆素：用湿化学 Schleisinger 法。

## （三）参考值

尿胆原定性：阴性或弱阳性（1：20 稀释后阴性）。尿胆素定性：阴性。



#### (四) 临床意义

UEG 检查结合血清胆红素、尿胆红素和粪胆原等检查，主要用于黄疸的诊断和鉴别诊断。

#### (五) 质量控制

1. 尿胆原排出后易氧化为尿胆素，故应以新鲜尿作及时检查，否则导致结果假阴性。维生素 C 等还原性物质易抑制 Ehrlich 法检测尿胆原。

2. 如尿中含有结合胆红素，加 Ehrlich 试剂后显绿色，干扰尿胆原检测。可加氯化钡溶液吸附胆红素，离心沉淀后上清进行 Ehrlich 试验。

3. 尿胆原排出量每天波动很大，夜间和上午量少，于午后 2~4h 达高峰，同时尿胆原的清除与尿 pH 相关。嘱患者服碳酸氢钠，碱化尿液，收集午后 2~4h 排出的尿液进行测定，可提高尿胆原检出的阳性率。

## 第七节 尿血红蛋白检查

### (一) 概述

血红蛋白为含血红素的色素蛋白，正常人血浆中含有 50mg/L 游离血红蛋白，尿中无游离血红蛋白。当有血管内容血时，红细胞破坏，血红蛋白释放入血液形成血红蛋白血症。若血红蛋白超过结合珠蛋白所能结合的量，则血浆存在大量游离血红蛋白，当其量超过 1000mg/L 时，血红蛋白可随尿液排出。其特点为外观呈浓茶色、红葡萄酒色或酱油色，隐血试验阳性。

### (二) 检测方法及评价

#### 1. 湿化学法

常用邻联甲苯胺法、氨基比林（匹拉米洞）法等，操作简单，但试剂稳定性差，特异性较低；尿液中混入铁盐、硝酸、铜、锌、碘化物等均可使结果呈假阳性；尿液中含有过氧化物酶或其他对热不稳定酶也可呈假阳性。

#### 2. 试带法

基本克服了湿化学法试剂不稳定的弱点，但尿液中含有对热不稳定酶、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，可致结果呈假阳性；大剂量的 VitC 或其他还原物质导致假阴性；甲醛可使反应假阴性，大量亚硝酸盐则可延迟反应。试带法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、高比密尿液中，RBC 不溶解，试带灵敏度减低。

#### 3. 胶体金单克隆抗体法

灵敏度高、特异性强、操作快速、使用方便，基本克服了化学法试带法的缺点。

### (三) 质量控制

标本应新鲜。湿化学法所用试剂必须准确、可靠，3%过氧化氢易变质、失效，应新鲜配制。为防止假阳性，可将尿液煮沸 2min，破坏尿中白细胞过氧化物酶或其他易热性触酶。

1. 尿液标本：应新鲜。长时间放置可因细菌繁殖造成假阴性，或因红细胞破坏导致试带法与显微镜检查法的差异。

2. 湿化学法：所用试剂必须新鲜配置 3%过氧化氢，设阳性对照。为防止假阳性，可将尿液煮沸 2min，破坏尿中白细胞过氧化物酶或其它易热性触酶。

3. 试带法：试带要干燥、避光保存。

4. 胶体金单克隆抗体法：如怀疑尿标本血红蛋白浓度过高，可将尿液稀释后再测定，以避免抗原过剩而出现的假阴性现象。

#### （四）参考值

阴性。

#### （五）临床意义

尿血红蛋白测定，有助于辅助诊断泌尿系统疾病和血管内溶血疾病。

## 第八节 尿液本周蛋白检查

### （一）概述

本周蛋白（BJP）是游离的免疫球蛋白轻链，能自由通过肾小球滤过膜，当浓度增高超过近曲小管重吸收的极限时，可自尿中排出，即本周蛋白尿。BJP 在 pH4.9±0.1 条件下条件下，加热至 40℃~60℃时可发生凝固，温度升至 90℃~100℃时可再溶解，而温度减低至 56℃左右，又可重新凝固，故又称为凝溶蛋白，此为 BJP 的重要特性之一。BJP 主要通过两种机制损伤肾功能：当 BJP 通过肾排泄时，BJP 可在肾小管内沉淀，进而引起肾小管阻塞，抑制肾小管对其他蛋白成分的重吸收，损害近曲、远曲小管；其次，κ 轻链相对分子质量小，且具有肾毒性，可直接损害肾小管细胞。

### （二）检测方法评价

1. 热沉淀-溶解法：基于 BJP 在 56℃凝固，100℃溶解的特性。本法灵敏度不高，致使假阴性率高。操作时须注意：①标本新鲜，否则因白蛋白、球蛋白分解变性而干扰试验。②尿液混浊时需离心取上清液。③若为蛋白尿，须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。④BJP 过多，90℃以上不易完全溶解，需与对照管比较，也可将尿液稀释后再测。

2. 对-甲苯磺酸法：基于对-甲苯磺酸法能沉淀相对分子质量较小的 BJP，而与相对分子质量较大的清蛋白和球蛋白不起反应的原理而测定。本法操作简便、灵敏度高，是较敏感的筛检试验方法。但特异性较差。尿中有清蛋白时不产生沉淀反应，若球蛋白 >5g/L 可呈假阳性。

3. 蛋白电泳法：经醋酸纤维素膜电泳，BJP 可在  $\alpha_2$  至  $\gamma$  球蛋白区带间出现“M”带。但如尿中 BJP 含量较低，需预先浓缩 10~50 倍。

4. 免疫电泳：样品用量少、分辨率高、特异性强。但不同抗原物质在溶液中含量差异较大时，不能全部显示，需预测抗原与抗体的最适比。电泳条件可直接影响沉淀线的分辨率。结果判断需积累一定经验。

5. 免疫固定电泳：采用特异抗体来鉴别由区带电泳分离初的蛋白，比区带电泳和免疫电泳更敏感。

6. 免疫速率散射浊度法：测试速度快、灵敏度高、精确度高、稳定好，是目前免疫学分析中比较先进的方法。

### （三）参考值

阴性。

### （四）临床意义

1. 多发性骨髓瘤：患者尿中可出现 BJP。99%多发性骨髓瘤患者在诊断时有血清 M-蛋白或尿 M-蛋白。早期尿 BJP 可呈间歇性排出，50%病例每日  $>4\text{g}$ ，最长达  $90\text{g}$ 。

2. 巨球蛋白血症：80%的患者尿中有单克隆轻链。

3. 原发性淀粉样变性：70%以上的患者血和尿中发现单克隆蛋白，89%患者诊断时血或尿中有单克隆蛋白。

4. 其他疾病： $\mu$  重链病 2/3 病例有 BJP 尿；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、肾癌等患者尿中也偶见 BJP。20%“良性”单克隆免疫球蛋白血症病例可查出 BJP，但尿中含量低，多数小于  $60\text{mg/L}$ ；一些患者有稳定的血清 M 蛋白和尿 BJP，长达 15 年也未发展为多发性骨髓瘤或有关疾患。

## 第九节 尿液微量清蛋白测定

### （一）概述

微量清蛋白尿是指尿液中清蛋白超过正常水平、但低于常规试带法可检出的范围。微量清蛋白尿是早期糖尿病肾病的临床主要征象，其概念主要用以区别传统的临床蛋白尿。

### （二）检测方法及评价

尿液微量清蛋白尿，用磺基水杨酸法、加热乙酸法及试带法基本不能检出，因而多采用免疫学方法，如放射免疫法、酶免疫法、免疫浊度法等。

微量清蛋白标本收集及报告方式有 3 种：①定时尿法：计算出单位时间内的排出率（ $\mu\text{g}/\text{min}$  或  $\text{mg}/24\text{h}$ ）。②随机尿法：用肌酐比值报告排出率（ $\text{mg}/\text{mmolCr}$  或  $\text{mg}/\text{gCr}$ ）。③晨尿法：报告每升尿排出量（ $\text{mg}/\text{L}$ ）。推荐以 24h 尿清蛋白排泄总量，即尿清蛋白排泄率（UAE）表示。

1. 放射免疫法（RIA）：灵敏度高，特异性强，精密度高，准确性好。但核素的放射性对人体有危害性，必须加以防护。

2. 酶联免疫吸附剂测定法（ELISA）：具有高灵敏度和特异性，其优点在于标记试剂比较稳定，无放射性危害。

3. 免疫比浊法：操作简便，灵敏度高，稳定性好，测定时间快，可应用于仪器自动分析。

### （三）参考值

成人：（1.27 ± 0.78）mg/mmolCr  
或（11.21 ± 6.93）mg/gCr。

### （四）临床意义

尿微量清蛋白检测主要用于早期肾损害的诊断，尤其当尿清蛋白排泄率持续超过20 μg/min尿，常作为糖尿病、系统性红斑狼疮（SLE）等全身性疾病早期肾损害的敏感指标。微量清蛋白尿还见于：①大多数肾小球疾病、狼疮性肾炎、肾小管间质疾病等。②妊娠子痫前期、自身免疫性疾病、多发性骨髓瘤的肾功能衰竭、充血性心力衰竭、肝癌、肝硬化等。③高血压、肥胖、高脂血症、吸烟、剧烈运动与饮酒等。

## 第十节 尿液蛋白电泳

### （一）检测方法及评价

尿蛋白电泳常用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法（SDS-PAGE），亦称尿蛋白SDS盘状电泳。本法是目前分析蛋白质亚基组成和测定其相对分子质量的最好方法。

### （二）参考值

各相对分子质量的尿蛋白均显示微量蛋白区带，但以清蛋白区带为主。

### （三）临床意义

尿蛋白电泳主要用于蛋白尿的分型。

1. 低相对分子质量蛋白：见于以肾小管损害为主的疾病，如急性肾盂肾炎、肾小管性酸中毒、慢性间质性肾炎早期、重金属及药物引起肾损害等。

2. 中及高相对分子质量蛋白：见于以肾小球损害为主的疾病，如各类原发性、继发性肾小球肾炎、肾病综合征等。

#### 3. 混合性蛋白尿

见于整个肾单位受损的病理情况，如慢性肾炎晚期、严重间质性肾炎累及肾小球，以及各种病因引起的慢性肾衰竭等。

## 第十一节 尿液肌红蛋白检查

### （一）概述

肌红蛋白（Mb）是横纹肌、心肌细胞内的一种含亚铁血红素单链的蛋白质，其结构及特性与血红蛋白相似。当肌肉组织受损伤时，Mb可大量释放至细胞外进入血循环，因其相对分子质量较小可迅速通过肾小球滤过而由肾脏排出。肌红蛋白尿可用隐血试验法、80%饱和硫酸铵法进行检测。

### （二）参考值

定性：阴性。定量：<4mg/L。

### (三) 临床意义

Mb 尿见于：①阵发性肌红蛋白尿，易见于剧烈运动后。②创伤。③组织局部缺血：心肌梗死早期、动脉阻塞缺血。④代谢性 Mb 尿：酒精中毒，砷化氢、一氧化碳中毒，巴比妥中毒、肌糖原积累等。⑤原发性肌肉疾病：皮炎、多发性肌炎、肌肉营养不良等。

### (四) 检测方法及评价

1. 隐血试验 (OBT)：Mb 具有过氧化物酶样活性，能用尿隐血试验方法检出。

2. 80%饱和和硫酸铵法：在 80%饱和和硫酸铵浓度下，Mb 溶解，而 Hb 和其他蛋白沉淀。故在尿液中加入试剂分离 Mb，再进行隐血试验，若阳性，则为 Mb 尿。本法操作较麻烦，灵敏度较差。

3. 单克隆抗体免疫法：是最敏感、特异的方法，即可作为确证试验又可进行尿中肌红蛋白定量分析，尤其对急性心肌梗死的肌红蛋白尿检查有重要临床价值。

## 第十二节 尿液 $\beta_2$ -微球蛋白测定

### (一) 概述

$\beta_2$ -微球蛋白 ( $\beta_2$ -M) 是一种相对分子质量仅 11800、含 100 个氨基酸和 1 个二硫键的蛋白质，是体内除成熟红细胞和胎盘滋养层细胞外、所有细胞特别是淋巴细胞和肿瘤细胞膜上人类白细胞抗原的轻链蛋白组分，因电泳时出现于  $\beta_2$  区带而得名。因其相对分子质量小且不和血浆蛋白结合，可自由地经肾小球滤入原尿，其中 99.9% 由近端肾小管以胞饮形式重吸收，并在肾小管上皮细胞中分解破坏，因此，仅有微量  $\beta_2$ -M 自尿中排出。

### (二) 检测方法及评价

$\beta_2$ -M 为肾小管性蛋白尿，用试带法筛检常为阴性，用加热乙酸法可为阳性。可用放射免疫法、酶免疫法、特定蛋白检测仪法进行定量测定。

1. 特定蛋白检测仪法：采用速率散射比浊法原理。检测速度快，灵敏度，精确度高，稳定性好。

2. 酶联免疫吸附法：灵敏度和特异性高。测定简单，但受酶活性、温度、测定系统 pH、离子强度等影响。

3. 放射免疫法：灵敏度、精密度、准确度高，特异性强。但核素放射性对人体有一定危害性，必须加以保护。

### (三) 参考值

<0.2mg/L，或 370  $\mu$ g/24h。

### (四) 临床意义

尿  $\beta_2$ -M 检测主要用于评估肾脏早期损伤时肾小球和近端肾小管功能。尿  $\beta_2$ -M 增高见于：①肾小管-间质性疾病、药物或毒物（如庆大霉素、卡那霉素、汞、镉、铬、金制剂

等的肾毒性)所致早期肾小管损伤。②肾移植术后:若持续出现尿 $\beta_2$ -M增高,表明排斥反应未得到有效控制。

### (五) 质量控制

1. 标本处理: $\beta_2$ -M在pH5以下的酸性尿中极易分解破坏,故尿液标本收集后应及时测定。若需贮存批量检测,应将尿液调节至pH6.5~7.0,冷冻保存。

2. 试剂需要妥善保管:每批测定应有合格质控品。

## 第十三节 尿液人绒毛膜促性腺激素检查

### (一) 概述

人绒毛膜促性腺激素(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,其对促性腺激素受体具有高度的亲和性。HCG存在于孕妇的血液、尿液、初乳、羊水和胎儿体内。在受精后第6天受精卵滋养层形成时,开始分泌微量的HCG;受精卵着床后,采用特异性 $\beta$ -HCG抗血清能在母体血液中检测出HCG。在妊娠早期HCG分泌量增高极快,大约1.7~2.0d即可增高1倍,至妊娠8~10周时血清浓度达到高峰,持续1~2周后迅速减低,妊娠晚期血清HCG浓度仅为峰值的10%,持续至分娩。分娩后若无胎盘残留,约于产后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,几乎不进入胎血循环。HCG可通过孕妇血液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是由两个独立的非共价键相连的肽链( $\alpha$ 亚基和 $\beta$ 亚基)组成的糖蛋白激素,单个亚基不具有生物学活性,当其连接成完整的化合物时才具有活性。HCG $\alpha$ 亚基的氨基酸数量及其排列顺序与卵泡刺激素(FSH)、黄体生长激素(LH)、促甲状腺激素(TSH)的亚基几乎相同,故HCG $\alpha$ 亚基抗体均能与FSH、LH、TSH的 $\alpha$ 亚基发生交叉反应。HCG $\beta$ 亚基羧基端最后的28~32个氨基酸为其所特有,不存在于其他糖蛋白激素中,从而决定了其生物学活性及免疫学的高度特异性。因此,临床上均采用高效的抗HCG $\beta$ 亚基单克隆抗体进行特异性HCG检查。近年来,也采用抗 $\beta$ -HCG羧基末端肽单克隆抗体,以进一步提高HCG检查的灵敏度和特异性。

### (二) 检测方法和评价

检测HCG的方法很多,目前临床上主要采用免疫学方法,如ELISA法、单克隆抗体胶体金试验、电化学发光法、放射免疫试验、检孕卡法、胶乳凝集抑制试验、血凝抑制试验等。免疫学方法操作简单、快速、灵敏度高,其检测手段不断更新,正向着特异、快速、简便、敏感、普及的方向发展。

除以上检测方法外,HCG检测方法还有斑点免疫层析法、免疫化学发光法,前者简便易行,后者灵敏度高,但尚未普及。另外,生物学试验是早期检查HCG的主要方法。如果操作规范,试验的准确率可达98%以上,假阳性和假阴性很少。但试验方法繁琐,不适合大批量标本检测,目前已淘汰。

### (三) 质量控制

1. 标本采集与处理：宜采集首次晨尿（中段尿）100mL，离心取上清液用于检查。若为蛋白尿、血红蛋白尿，应加热煮沸 3min 后，离心取上清液检查。不宜使用严重的血尿、菌尿标本。

2. 检验过程：每批试验均应设定阳性对照和阴性对照。

3. 假阳性：尿中 LH、FSH、TSH 等，可与 HCG 产生试验的交叉反应，呈现假阳性。虽然。正常女性尿中 LH 含量很少，对 HCG 检查影响不大，但更年期妇女，排卵期、双侧卵巢切除的患者，尿液 LH 含量增高，可影响 HCG 检查。为避免假阳性，可：①尽量采用单克隆抗体二点酶免疫法，减低交叉反应。②应在排卵期或排卵后 3d，留尿检查。③对双侧卵巢切除的患者，可肌注丙酸睾丸酮，使 LH 下降，再留尿检查。

#### （四）参考值

定性：阴性。

#### （五）临床意义

1. 早期妊娠诊断：妊娠后尿液 HCG 增高，一般妊娠后 35~40d 时，HCG 为 200ng/L 以上；60~70d 出现高峰，HCG 可达 6.4~25.6  $\mu\text{g/L}$ ，常用的 HCG 检查方法即能显示阳性结果，单克隆抗体二点酶免疫法在受精卵着床后 5~7d 即能检测出 HCG。对于一般的早期妊娠诊断，可选择一般灵敏度和准确性的试验。但对于人工受精或药物促排卵的患者，则需要更早期做出妊娠诊断，以便加强监护，因此需选择灵敏度、准确性和特异性更高的试验。

#### 2. 流产诊断和监测

①先兆流产：尿液 HCG 仍维持在高水平一般不会发生难免流产，如 HCG 在 200ng/L 以下，并逐渐减低，则有流产或死胎的可能。当 HCG 降至 48ng/L 以下则难免流产。在保胎治疗过程中，如 HCG 不断增高，说明保胎有效。如果 HCG 持续减低，说明保胎无效，不必再继续保胎治疗，应尽早处理，以免死胎滞留过久而发生宫内感染。②不全流产：不全流产时，宫腔内尚有残留的胎盘组织，HCG 检查仍可呈阳性；完全流产或死胎时 HCG 由阳性转为阴性，因此，检查 HCG 可作为保胎治疗和判断流产的参考依据。

#### 3. 异位妊娠的诊断

异位妊娠时，只有 60%~80% 患者 HCG 呈阳性，但 HCG 阴性者仍不能完全排除异位妊娠。50% 异位妊娠的患者在阴道流血 3d 后，HCG 仍可呈阳性。由于异位妊娠的 HCG 值较正常妊娠时低，因此，临床检查时应选择特异性、灵敏度高的方法。如果 HCG 不是每 2 天成倍增长，超声影像检查无宫内妊娠征象，应高度怀疑异位妊娠。HCG 低于 8ng/L 时，很少发生异位妊娠破裂。因此，测定 HCG 有助于制定治疗方案。

#### 4. 妊娠滋养细胞疾病的诊断与病情观察

①妊娠滋养细胞疾病患者，HCG 浓度是正常妊娠妇女的 100 多倍，当子宫达到或超过 12 周妊娠大小，HCG 值仍维持在高峰水平而不减低时，提示滋养细胞疾病。②正常妊娠时，HCG 峰值在停经后 60~70d，可能与葡萄胎发病时间同期，而造成诊断困难。若连续测定 HCG 或与 B 超检查同时进行，即可作为鉴别。③葡萄胎清除后 12~16 周，HCG 转为阴性；若 HCG 减低缓慢或减低后又上升，或 12~16 周后仍未转为阴性者，则提示有妊娠滋养细胞肿瘤的可能，应给予预防性化学疗法。④妊娠滋养细胞肿瘤患者术后 3 周，HCG 应小于 4ng/L，8~12 周呈阴性；如 HCG 不减低或不转阴性，提示可能有残留病灶，应定期检查，以预防复发。

#### 5. 其他

畸胎瘤、睾丸间质细胞癌、肺癌、胃癌、肝癌、卵巢癌、子宫颈癌等患者血液和尿液中 HCG 也明显增高。当 HCG 作为肿瘤标志物应用时，必须结合临床表现和其他检查结果综合分析才能有意义。

### 第十四节 尿液 Tamm-Horsfall 蛋白测定

Tamm-Horsfall 蛋白 (THP) 为尿中粘蛋白的一种，经免疫荧光与免疫酶电镜证实它是由 Henle 袢升支与远曲小管的上皮细胞内高尔基复合体产生，是一种肾特异性蛋白质。

THP 为管形的主要基质成分。当机体炎症、自身免疫性疾病、尿路梗阻性疾病等引起肾脏实质损伤时，THP 可沉着于肾间质并刺激机体产生相应的自身抗体。

临床意义：

#### 1. 作为远端肾小管病变定位标志物

THP 在尿中含量增高提示远端肾小管各种原因的病变、THP 覆盖层破坏和刺激分泌增高。可见于上尿路炎症、感染、梗阻，自身免疫性疾病、药物毒性、金属铜和镉中毒等所引起的肾小管-间质性炎。尿 THP 一过性增高，可见于重铬酸钾中毒和肾移植后急性排斥反应期。

#### 2. THP 持续维持较高水平

提示易于形成尿结石。尿 THP 测定有助于判断泌尿道结石患者体外震波碎石治疗效果。

#### 3. 用于泌尿系统结石形成机制的研究。

### 第十五节 尿液 $\alpha_1$ -微球蛋白测定

$\alpha_1$ -微球蛋白 ( $\alpha_1$ -M) 主要由肝细胞和淋巴细胞产生，广泛分布于体液及淋巴细胞膜表面。血浆中  $\alpha_1$ -M 以两种形式存在，游离型或与 IgG、清蛋白结合型。结合型  $\alpha_1$ -M 不能通过肾小球滤过膜。游离型  $\alpha_1$ -M 可自由通过肾小球，但约 99% 被近曲小管上皮细胞以胞饮形式重吸收并分解，故仅微量  $\alpha_1$ -M 可从尿中排泄。

临床意义：

1. 尿  $\alpha_1$ -M 增高：是反映和评价各种原因包括肾移植后排斥反应所致早期近端肾小管功能损伤的特异、灵敏指标。与  $\beta_2$ -M 相比较， $\alpha_1$ -M 不受恶性肿瘤的影响，酸性尿中不会出现假阴性，故结果更为可靠。

2. 评估肾小球滤过功能：血清和尿  $\alpha_1$ -M 都增高，表明肾小球滤过功能和肾小管重吸收功能均受损，故测定血清  $\alpha_1$ -M 比检测血肌酐或  $\beta_2$ -M 在反映肾小球滤过功能和肾小管重吸收功能上更灵敏。

### 第十六节 尿液纤维蛋白降解产物检查

纤维蛋白或纤维蛋白原在纤维蛋白溶酶作用下产生纤维蛋白降解产物 (FDP)。正常人尿液中无 FDP。检测尿液 FDP 的临床意义主要有：①原发性肾小球疾病时，尿 FDP 阳性并



进行性增高，提示肾小球内有局部凝血、微血栓形成和纤溶变化。②弥散性血管内凝血、原发性纤溶性疾病、泌尿系统感染、肾移植排斥反应、肾肿瘤等也可见尿液 FDP 含量增高。

## 第十七节 尿乳糜液和脂肪检查

### （一）概述

尿液中混有淋巴液而呈稀牛奶状称乳糜尿，若同时混有血液称乳糜血尿；尿液中出现脂肪小滴则称脂肪尿。

乳糜尿形成机制：从肠道吸收的乳糜液未经正常的淋巴道引流入血而逆流至泌尿系淋巴管中，引起该处淋巴管内压力增高、曲张破裂，乳糜液流入尿中所致。乳糜尿主要含卵磷脂、胆固醇、脂肪酸盐及少量纤维蛋白原、清蛋白等。若合并泌尿道感染，则可出现乳糜脓尿。

### （二）检测方法及评价

1. 离心沉淀法：简便，实用；可初步区分乳糜尿、脓尿、高浓度结晶尿。
2. 有机溶剂抽提法：用乙醚抽提尿液后，如乳浊程度明显减轻或变为澄清可确诊为乳糜尿；将乙醚提取物经苏丹Ⅲ染色、置镜下观察，如见大小不等、桔红色脂肪球为乙醚试验阳性。

### （三）质量控制

1. 有机溶剂抽提法：可分为萃取、蒸发、染色及显微镜下观察 4 个步骤。
2. 注意鉴别脓尿：尿沉渣镜检可见大量白细胞；严重结晶尿：加热加酸或加碱后浑浊消失。
3. 乳糜微粒：如未发生球状结合，显微镜下不能见到；中性脂肪小滴因有折光性可于镜下发现。
4. 本试验阳性时应注意在尿沉渣中找微丝蚴。

### （四）参考值

阴性。

### （五）临床意义

1. 临床累及淋巴循环疾病的辅助诊断  
如：先天性淋巴管畸形；腹腔结核、肿瘤压迫或阻塞腹腔淋巴管或胸导管；胸腹创伤或手术损伤腹腔淋巴管或胸导管。
2. 丝虫病诊断
3. 其他，如：过度疲劳、妊娠及分娩后、糖尿病脂血症、肾盂肾炎、包虫病、疟疾等。

## 第十八节 其他化学物质检查

### (一) 尿液免疫球蛋白、补体 C<sub>3</sub>

参考值 IgG、IgA、IgM、C<sub>3</sub>：阴性。临床意义：①尿液 C<sub>3</sub> 及 IgG、IgM 阳性，提示非选择性蛋白尿。②微小病变型肾炎及肾小管疾病，尿液内 C<sub>3</sub> 及 IgG、IgM 多为阴性。③尿 IgM 阳性，提示肾小球滤过膜损害严重、治疗效果及预后差。

### (二) 尿酶

#### 1. 溶菌酶

主要来自单核细胞和中性粒细胞，可从肾小球基底膜滤出，但 90% 以上被肾小管重吸收，因而尿液中很少或无溶菌酶。测定尿液内的溶菌酶主要有助于判断肾小管的功能：①肾小管炎症、中毒时，尿液溶菌酶增高，可作为鉴别肾小管与肾小球病变的标志之一；②作为肾移植排异反应观察的指标；③作为判断急性肾小管坏死预后的指标；④急性单核细胞白血病化疗后尿溶菌酶增高。

#### 2. 尿 N-乙酰 β-D-氨基葡萄糖酐酶 (NAG)

NAG 广泛存在于各组织的溶酶体中，近端肾小管上皮细胞中含量特别丰富，正常情况下，血清中的 NAG 不能通过肾小球滤过膜，因而 NAG 是肾小管功能损害最敏感的指标之一。NAG 增高可见于各种肾病，因而特异性较差，如缺血或中毒引起的肾小管性肾炎、肾移植排斥、急性肾小球肾炎、梗阻性肾病、急性肾盂肾炎或慢性肾盂肾炎的活动期等。下尿路感染时尿 NAG 正常。

#### 3. 尿淀粉酶 (AMY)

淀粉酶主要来源于胰腺和腮腺，人血清淀粉酶易通过肾小球滤膜而出现在尿中。测定尿液淀粉酶的临床意义主要有：①急性胰腺炎：尿液淀粉酶活性一般于发病 12~24h 开始增高，比血清淀粉酶迟 6~10h，但由于肾脏对淀粉酶的清除率增强，尿淀粉酶活性可高于血清一倍以上，多数在持续 3~10 天后恢复正常。②慢性胰腺炎：血清和尿淀粉酶活性一般不增高，但如急性发作时可有中等程度的增高。③其他疾病：任何原因所致的胰腺管阻塞，如胰腺癌、胰腺损伤、急性胆囊炎等，均可使血和尿淀粉酶活性增高。

### (三) 尿氨基酸

#### 1. 胱氨酸尿

胱氨酸尿症是一种先天性、家族性、遗传性常染色体隐性代谢疾病，反复发生结石、尿路梗阻合并尿路感染；严重者可形成肾盂积水、梗阻性肾病，最后导致肾功能衰竭。

#### 2. 苯丙酮尿

为较常见的先天性常染色体隐性遗传性氨基酸代谢紊乱疾病。苯丙酮酸尿症患者，由于肝内苯丙氨酸羟化酶缺乏或不足，不能使苯丙氨酸转化为酪氨酸，只能在转氨酶作用下生成苯丙酮酸。游离苯丙氨酸及苯丙酮酸在患者血液、脑脊液和体内蓄积，对神经系统造成损害并影响体内色素代谢。大量的苯丙酮酸可自尿内排出，有特殊鼠臭气味。

#### 3. 酪氨酸尿

酪氨酸尿为较少见遗传代谢病。测定血清和尿液中酪氨酸有助于酪氨酸尿症的诊断。

### (四) 含铁血黄素

含铁血黄素为含有铁质的棕色色素颗粒，是一种不稳定的铁蛋白聚合物。当尿液中出现含铁血黄素则为含铁血黄素尿。当血管内溶血发生时，大部分血红蛋白自尿中排出；另有部分被肾小管上皮细胞重吸收，并在细胞内分解成含铁血黄素，尔后随细胞脱落由尿中排出。当尿液中细胞分解时含铁血黄素也可被释放到尿中。常用普鲁士蓝铁染色法检测。

1.参考值：阴性。

2.临床意义：阳性表示肾实质有铁的沉积。可见于：慢性血管内溶血、阵发性睡眠性血红蛋白尿、“行军”性肌红蛋白尿、自身免疫性溶血性贫血、恶性贫血、严重肌肉疾病等。当尿中血红蛋白量较少时，隐血试验可能阴性，此时可进一步检测是否有含铁血黄素。但是，应注意在溶血初期虽有血红蛋白尿，但因血红蛋白尚未被肾上皮细胞摄取，不可能形成含铁血黄素，因此本试验可呈阴性反应。

### （五）卟啉尿

卟啉是机体合成血红素的中间体，为构成动物血红蛋白、肌红蛋白、过氧化氢酶、细胞色素等的重要成分。卟啉尿是一种症状，产生卟啉尿的疾病为卟啉症，是一类先天性或获得性卟啉代谢紊乱的疾病：①急性间歇性卟啉症：是一种常染色体显性遗传性疾病。急性发作期，尿中卟胆原和 $\delta$ -氨基- $\gamma$ -酮戊酸的日排泄量显著增高，据此基本可以明确诊断。②先天性红细胞生成性卟啉症：是一种常染色体隐性疾病，由尿卟啉原III辅合酶缺乏引起。尿中的卟啉以尿卟啉和粪卟啉为主，卟胆原和 $\delta$ -氨基- $\gamma$ -酮戊酸水平正常，粪便中以粪卟啉为主。③迟发性皮肤卟啉症：是最常见且最易治疗的卟啉症，由肝脏中尿卟啉原脱羧酶缺乏引起。诊断特征是尿中以尿卟啉为主，且粪便中粪卟啉增多。尿中 $\delta$ -氨基- $\gamma$ -酮戊酸可以轻度增高而卟胆原正常。

## 第十章 尿液分析仪及其临床应用

### 第一节 尿干化学分析仪

#### （一）分类

干化学试带操作方便，测定迅速，利用肉眼观察试带中颜色的变化与标准色板进行比较，得出相应数值，结果易受主观因素影响。尿液分析仪（又称尿干化学分析仪）的出现，给临床实验室尿液分析带来了一个飞跃。随着高科技及计算机技术的高度发展和广泛应用，尿液分析已逐步由原来的半自动分析发展到全自动分析，检测项目由原来的单项分析发展到多项组合分析，尿液分析由此进入了一个崭新阶段。

#### （二）检测原理

1.尿液分析仪组成：尿液分析仪通常由机械系统、光学系统、电路系统三部分组成。

2.尿液分析仪试剂带：试带以滤纸为载体，将各种试剂成分浸渍后干燥，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。

多联试带是将多种检测项目的试剂块，按一定间隔、顺序固定在同一条带上的试带。使用多联试带，浸入一次尿液可同时测定多个项目。多联试带的基本结构采用了多层膜结

构：第一层尼龙膜起保护作用，防止大分子物质对反应的污染；第二层绒制层，包括碘酸盐层和试剂层，碘酸盐层可破坏 VitC 等干扰物质，试剂层与尿液所测定物质发生化学反应；第三层是固有试剂的吸水层，可使尿液均匀、快速地浸入，并能抑制尿液流到相邻反应区；最后一层选取尿液不浸润的塑料片作为支持体。有些试带无碘酸盐层，但相应增加了 1 块检测 VitC 的试剂块，以进行某些项目的校正。

不同型号的尿液分析仪使用其配套的专用试带，且测试项目试剂块的排列顺序是不相同的。通常情况下，试带上的试剂块要比测试项目多一个空白块，有的甚至多参考块又称固定块。空白块的目的是为了消除尿液本身的颜色在试剂块上分布不均等所产生的测试误差，以提高测试准确性；固定块的目的是在测试过程中，使每次测定试剂块的位置准确，减低由此而引起的误差。

### 3. 尿液分析仪检测原理：

尿液中相应的化学成分使尿多联试带上各种含特殊试剂的膜块发生颜色变化，颜色深浅与尿液中相应物质的浓度成正比；将多联试带置于尿液分析仪比色进样槽，各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讯号，再经微处理器由下列公式计算出各测试项目的**反射率**，然后与**标准曲线**比较后校正为测定值，最后以**定性或半定量**方式自动打印出结果。

图尿分析仪检测原理示意图

反射率计算公式：

$$R(\%) = \frac{T_m \times C_s}{T_s \times C_m} \times 100\%$$

式中：

R：反射率

T<sub>m</sub>：试剂膜块对测定波长的反射强度

T<sub>s</sub>：试剂膜块对参考波长的反射强度

C<sub>m</sub>：标准膜块对测定波长的反射强度

C<sub>s</sub>：标准膜块对参考波长的反射强度

尿液分析仪测试原理的本质是光的吸收和反射。试剂块颜色的深浅对光的吸收、反射是不一样的。颜色越深，吸收光量值越大，反射光量值越小，反射率越小；反之，颜色越浅，吸收光量值越小，反射光量值越大，反射率也越大。换言之，特定试剂块颜色的深浅与尿样中特定化学成分浓度成正比。

### (三) 检测参数

从最初的单一测试到现今的多项测试，尿分析仪检测参数随尿试带的发展而发展。尿试带常依测试参数分为两类：①用于初诊患者及健康体检使用的 8~11 项筛检组合试带。8 项检测项目包括酸碱度 (pH)、蛋白 (PRO)、葡萄糖 (GLU)、酮体 (KET)、胆红素 (BIL)、尿胆原 (URO)、红细胞或血红蛋白或隐血 (ERY 或 HB) 和亚硝酸盐 (NIT)；9 项检测项目在 8 项基础上增加了尿白细胞 (LEU, WBC)；10 项检测项目又在 9 项的基础上增加了尿比密 (SG)；11 项则又增加了 VitC。②用于已确诊疾病的疗效观察，如尿糖、尿蛋白等单项试带和各种组合型试带。

#### 1. 酸碱度

采用酸碱指示剂法。pH 试剂块含有甲基红 (pH4.6~6.2) 和溴麝香草酚蓝 (pH6.0~7.6) 两种酸碱指示剂, 在 pH4.5~9.0 的范围内。颜色由橙红经黄绿到蓝色变化。

## 2. 比密

采用多聚电解质离子解离法。尿比密偏高时, 尿液中所含盐类成分较多, 试剂带中电解质多聚体释放出的  $H^+$  增多, 溴麝香草酚蓝为分子型, 呈现黄色; 尿比密偏低时, 尿液中所含盐类成分较少, 试剂带中电解质多聚体释放出的  $H^+$  减低, 溴麝香草酚蓝多为离子型, 呈现蓝色。

## 3. 尿糖

采用葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法。常见的色素原有邻联甲苯胺、碘化钾等。

## 4. 蛋白质

采用 pH 指示剂蛋白质误差法。即在 pH3.2 的条件下, 溴酚蓝产生的阴离子, 与带阳离子的蛋白质结合发生颜色变化。

## 5. 酮体

采用亚硝基铁氰化钠法。在碱性条件下, 亚硝基铁氰化钠可与尿液中的乙酰乙酸、丙酮起反应, 试剂膜块发生由黄色到紫色的颜色变化, 颜色的深浅与酮体含量成正比。

## 6. 胆红素

采用偶氮反应法。在强酸性介质中, 结合胆红素与二氯苯胺重氮盐起偶联反应, 生成红色复合物。试剂膜块发生由黄色到红色的颜色变化, 颜色的深浅与胆红素含量成正比。

## 7. 尿胆原

采用醛反应法或重氮反应法。在强酸性条件下, 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。试剂膜块发生由黄色到红色的颜色变化, 颜色的深浅与尿胆原含量成正比。

## 8. 尿红细胞或血红蛋白

采用血红蛋白类过氧化物酶法: 血红蛋白类过氧化物酶催化试剂块中的过氧化氢烯钴和色素原四甲替联苯胺 (或邻甲联苯胺), 后者脱氢氧化而呈色。颜色深浅与血红蛋白或红细胞含量成正比。

## 9. 亚硝酸盐

采用硝酸盐还原法。当尿液中感染的具有硝酸盐还原酶的细菌增加时, 如大肠埃希菌, 可将硝酸盐还原为亚硝酸盐, 并可将膜块中的氨基苯磺酸重氮化而成重氮盐, 以此重氮盐再与 N-萘基乙二胺偶联, 使膜块呈现由黄至红色的变化, 颜色的深浅与亚硝酸盐含量成正比。

## 10. 白细胞

采用白细胞酯酶法。粒细胞中存在酯酶, 它能作用于膜块中的吲哚酚酯, 使其产生吲哚酚, 吲哚酚与重氮盐发生反应形成紫色缩合物, 试剂膜块区发生由黄至紫的颜色变化, 颜色的深浅与白细胞含量成正比。

## 11. VitC

采用还原法。VitC 具有 1, 2-烯二醇还原性基团, 在酸性条件下, 能将氧化态粉红色的 2, 6-二氯酚酞染料还原为无色的 2, 6-二氯二对酚胺。试剂膜块区发生由绿或深蓝至粉红色的颜色变化。

## 12. 其他

如采用校正块反射率测定原理来判断颜色，将颜色分为 23 种色调；采用散射比浊方法测定透明度，根据浊度不同将尿液透明度分为透明、混浊、高度混浊 3 个档次。

#### （四）临床应用

##### 1. 酸碱度

pH 的检测主要用于了解体内酸碱平衡情况，监测泌尿系统患者的临床用药情况，同时了解尿 pH 变化对试带上其他膜块区反应的干扰作用。①检测时应使用新鲜尿液标本。标本放置过久，因尿液中细菌繁殖，分解尿素产生氨，使尿液呈碱性；或尿液中  $\text{CO}_2$  自然扩散造成的丢失，使 pH 呈现假阳性结果。②检测时应严格按照使用说明书操作。试带在尿液中浸渍时间过长，有使尿 pH 减低的趋势，出现假阴性结果。

##### 2. 比密

主要用于了解尿液中固体物质的浓度，估计肾脏的浓缩功能。在出入量正常的情况下，比密增高表示尿液浓缩，比密减低则反映肾脏浓缩功能减退。须注意：①尿液标本必须新鲜，不能含有强酸、强碱等物质。使用干化学尿比密测定时，变化范围为 pH6.2~7.0。当尿液  $\text{pH} \geq 7.0$  时，造成结果偏低，应在干化学测定结果的基础上增加 0.005，作为由于碱性尿损失的补偿。②干化学尿比密测定结果表达值的变化范围在 1.000~1.030，间隔值较大（0.005），不能反映较小的比密变化。对于比密范围在 1.000~1.004 的新生儿尿液，也不宜使用此法。③尿液中蛋白或糖浓度增加将使比密结果增加；尿素  $> 10\text{g/L}$  或 pH 小于 6.5 时，致比密结果减低。

##### 3. 尿糖

尿糖检测主要用于内分泌性疾病如糖尿病及相关疾病的诊断与治疗监测等。

（1）干化学尿糖检测原理是基于葡萄糖氧化酶的酶促反应，只与葡萄糖反应，特异性强，用干化学法测定结果为阴性的标本，如用班氏法则可能呈现阳性结果。同时，干化学法较之于班氏法有更高的灵敏度，为 2~5mmol/L。当葡萄糖含量为 1.67~2.78mmol/L 时，用干化学法即可出现弱阳性，而班氏法在 8.33mmol/L 时才会呈现弱阳性。

（2）尿液在低葡萄糖浓度（14mmol/L）时，VitC 使干化学法产生假阴性反应，而使班氏法产生假阳性。

（3）尿液被过氧化物、次氯酸盐、强氧化性清洁剂污染可使尿糖呈现假阳性结果；尿液中含有 L-多巴、大量水杨酸盐、氟化钠、VitC 超过 500 mg/L、尿酮体超过 0.4g/L 或尿比密过高，则将使尿糖呈现假阴性结果。

##### 4. 蛋白质

尿蛋白检测主要用于肾脏疾病及其他相关疾病的诊断、治疗、预后等。

（1）尿液的 pH：由于蛋白测定采用指示剂的蛋白质误差原理，因此，尿液的 pH 是影响测试结果的重要因素之一。当患者服用奎宁、奎宁丁、嘧啶等药物，或尿液中含有聚乙烯、吡咯酮、洗必泰、磷酸盐、季铵盐消毒剂等时，引起尿液呈强碱性（ $\text{pH} \geq 9.0$ ），超过了试带的缓冲能力，使干化学法出现假阳性结果；当尿液  $\text{pH} \leq 3.0$  时，会引起干化学法出现假阴性结果。

（2）灵敏度：主要对清蛋白敏感（70~100mg/L），而对球蛋白、粘蛋白、本周蛋白不敏感，对球蛋白的灵敏度仅为清蛋白的 1/100~1/50。因此，对于肾病患者，特别是在疾病发展过程中需要系统观察尿蛋白含量的病例，最好使用对白、球蛋白灵敏度一致的磺柳酸法。

(3) 药物干扰：多种药物可使尿蛋白干化学法检查结果呈假阳性或假阴性，如青霉素族药物。结果表明：滴注青霉素 250 万 U、2h，320 万 U、3h，480 万 U、5h，可能对干化学法产生假阴性。

(4) 其他：标本含生殖系统分泌物或较多细胞成分时，可引起假阳性。

#### 5. 酮体

尿酮体检查主要用于糖代谢障碍和脂肪不完全氧化的疾病或状态的诊断及其他相关疾病的诊断和治疗。干化学法尿酮体检测采用亚硝基铁氰化钠法。①本法对酮体各组成成分的灵敏度不一：乙酰乙酸为 50~100mg/L，丙酮 400~700mg/L，与  $\beta$ -羟丁酸不发生反应。由于不同病因引起的酮症，其酮体成分不一，同一患者在不同病程，酮体成分亦会发生变化，因此干化学检测所得结果可能与实际总的酮体量有所差异。②尿酮体中丙酮和乙酰乙酸都具有挥发性，因此测定时应使用新鲜尿液标本。

#### 6. 胆红素与尿胆原

尿胆红素、尿胆原检测主要用于消化系统肝脏、胆道疾病及其他相关疾病的诊断、治疗，尤其对于黄疸的鉴别有特殊意义。①为避免胆红素在阳光照射下氧化为胆绿素、尿胆原氧化为尿胆素，检测时应使用新鲜尿液标本。②当患者接受大剂量氯丙嗪治疗、或尿液中含有高浓度的 VitC (>500 mg/L)、亚硝酸盐、或含有盐酸苯偶氮吡啶代谢产物时，可使胆红素检测呈现假阴性；尿液中含有酚噻嗪类或吩噻嗪类药物时，可使胆红素呈现假阳性。③尿液中一些内源性物质如胆色素原、吲哚、胆红素等和一些药物如酚噻嗪类、VitK、磺胺药等，因颜色干扰，尿胆原检测时呈现假阳性；而亚硝酸盐、重氮药物、对氨基水杨酸则在尿胆原检测时呈现假阴性。④正常人尿胆原排出量以下午 2~4 时达最高峰；为提高阳性检出率，可预先给患者服用碳酸氢钠以碱化尿液。

#### 7. 隐血

尿隐血主要用于肾脏、泌尿道疾病及其他相关疾病的诊断、治疗。尿液中含有肌红蛋白、对热不稳定酶、氧化剂或菌尿，可使干化学法尿隐血测定呈现假阳性结果；尿液中大量 VitC 的存在 (>100 mg/L)，可竞争性抑制反应，产生假阴性结果。

#### 8. 亚硝酸盐

尿亚硝酸盐是用于尿路细菌感染的快速筛检试验。

尿亚硝酸盐试验是细菌感染的指标，阳性结果的产生取决于 3 个条件：①尿液中的致病菌须含有硝酸盐还原酶。②体内有适量硝酸盐的存在。③尿液在膀胱内有足够的停留时间 (>4h) 且排除药物等干扰因素。

干化学法亚硝酸盐诊断大肠埃希菌感染的阳性符合率为 80%，但考虑到标本放置时间过久、尿液被亚硝酸盐或偶氮剂污染可呈假阳性结果的因素，因此对于阳性结果的解释仍须慎重。同时，如果试验阳性的 3 个条件不能满足，加之诸多因素可导致假阴性，因此，检测结果阴性并不能排除菌尿的可能。尿液中尿胆原、VitC、尿 pH>6、尿量过多，都有可能造成亚硝酸盐假阴性结果。

#### 9. 白细胞

尿白细胞检测主要用于肾脏、泌尿道疾病的诊断、治疗等。干化学法白细胞检测采用中性粒细胞酯酶法。①中性粒细胞胞质中含有酯酶，而单核细胞、淋巴细胞胞质中则无酯酶，因此，干化学白细胞检测方法只对粒细胞敏感。②尿液标本污染甲醛、或高浓度胆红素、或使用某些药物如呋喃妥因时，干化学法呈现假阳性结果。尿液中含 VitC、或尿液中

含有大剂量先锋霉素IV、庆大霉素等药物、或尿蛋白 $>5\text{g/L}$ 时，干化学法呈现假阴性结果。

#### 10. VitC

干化学法 VitC 的检测采用还原法。尿液中维生素 C 含量的高低对血红蛋白、胆红素、葡萄糖及亚硝酸盐可产生严重的负干扰，干扰的程度随维生素 C 浓度的增加而增加。因此，维生素 C 检测的作用在于提示其他项目检测结果的准确性，防止假阴性的出现，使各项干化学检测结果更准确、更科学。

#### (五) 质量控制

**1. 检测前质量控制：**包括正确的尿液标本收集方法、有效的标本标记与识别、适宜的防腐剂或冷藏装置、规定的时间内完成检测等，同时应了解患者可能影响尿化学检测的进食及用药情况等。

尿液干化学分析已在临床上广泛使用，操作简便、快速，但外源性物质或人为因素对尿标本或对多联试带模块的干扰，均可引起假阳性或假阴性结果。多联试带虽然使用方便，但其化学反应复杂，且不同试带的试剂成分不同，故反应呈色、灵敏度、特异性不同。因此，必须十分重视尿化学分析仪和多联试带的质量控制，保证尿液分析结果的准确、可靠。其质量控制主要环节有：

(1) 仪器：①新购进的尿液分析仪要进行全面鉴定，合格后方能使用。②使用中的仪器应根据操作需要和厂家对仪器的要求定期校准。③不同厂家、不同批号的尿试带质量不同，原则上选用仪器配套尿试带，以保证其准确性和可溯源性。

(2) 标本：应特别注意了解患者可能影响尿化学检测的进食及用药情况。

**2. 检测中质量控制：**包括严格、规范、正确的实验操作和合理的应用尿液质控物来监控、判断尿分析仪是否处于最佳或正常的工作状态。

(1) 仪器的使用：①保证仪器处于正常状态。②仪器和试带的质量控制，每日对仪器和试带按规范化质控程序进行，每次使用“正常”和“异常”两种浓度的质控尿液。任意一个试剂模块的测定结果与质控尿液期望“靶值”只允许有 1 个定性的等级的差异，超过此范围或结果在“正常或异常”之间跳跃均应视为失控。

(2) 试带：定期检查试带质量，注意有效期，保存时注意防潮，从冰箱取出后应先恢复到室温再使用。

(3) 操作：严格按操作规程进行操作，操作时应注意：①将试带完全浸入尿液中。②试带浸入尿液时间不能太长，一般 1-5s（按说明书要求执行），取出后将多余尿液除去。③检测完毕注意仪器清洁及定期保养。

**3. 检测后质量控制：**主要体现在对检验报告的审核、签发。除了注意检验报告的文字书写或计算机录入有无错误外，更应分析检测结果之间的关联性，即尿化学分析结果与显微镜镜检结果的相互关系，如出现：①化学分析隐血阴性，而镜检见多量红细胞。②化学分析隐血强阳性，而镜检却不见或仅见极少量红细胞。③化学分析白细胞阴性，而镜检见多量白细胞。④化学分析白细胞阳性，而镜检不见或仅见极少量白细胞。⑤化学分析亚硝酸盐为阳性，而尿蛋白质和白细胞均为阴性。⑥尿镜检红细胞、白细胞和管形增多，而尿化学分析蛋白质为阴性，等等。这些均被视为可疑结果，应进一步查明原因。可从尿干化学分析各测试项目的原理和影响因素来具体分析，如当尿液放置时间过长，摄食含硝酸盐丰富的食物等均可造成亚硝酸盐假阳性，因而出现上述⑤的情形。另外，应注意 VitC 含量



对其他检测结果的影响；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重大差异，应及时联系临床医师共同探讨造成差异的可能原因。

### （六）仪器维护与保养

#### 1. 尿液分析仪日常维护

尿液分析仪是一种精密的电子光化学仪，必须精心管理。不规范的操作仪器，会引起不良结果。仪器应避免长时间阳光照射及温度过高、湿度过大。

（1）建立操作程序：操作尿液分析仪之前，应仔细阅读使用说明书及尿试带说明书；每台尿液分析仪应建立操作程序，并按其进行操作。

（2）记录使用状态：对尿液分析仪要有专人负责，建立专用仪器登记本，对每天仪器操作的情况、出现的问题及维护、维护情况逐项记录。

（3）全面检查：开机测定前，要对仪器进行全面检查，确认无误后才能检测。测定完毕，要对仪器进行全面清理维护。

#### 2. 尿液分析仪的保养

（1）每日保养：须清洁①仪器表面：每日工作完毕，应用清水或中性清洗剂擦试干净。②试剂带托盘：每日测定完毕，使用无腐蚀性的洗涤剂清洗，也可用清水或中性清洗剂擦试干净。③传送带：避免用机溶剂清洗，勿使水滴入仪器内。④废物装置：每日用完应清除废物并用水清洗干净。

（2）每周或每月保养：根据仪器的保养手册定期进行保养。

## 第二节 尿有形成分分析仪

传统的尿液沉渣分析，是将尿液经过离心，取沉渣在显微镜下观察、计数。尿有形成分分析自动化的研究难度虽然较大，但已有实用性发展。目前，尿沉渣分析仪主要有两大类：①基于尿沉渣镜检影像分析原理。②基于尿沉渣流式细胞术和电阻抗检测原理。

影像式尿沉渣分析仪（或称“工作站”）其检测原理与人工显微镜检查原理基本相似，都是直观地观察有形成分的形态，但它须经过严格的定时、定速离心，尔后留取一定量的尿沉渣，由配套动力装置将其移至显微镜载物台上刻有标尺的流动样品池内，通过频闪光源灯、相聚光镜、彩色摄像机等，在电脑显示屏上得到清晰的尿沉渣画面，再由操作者在屏幕上统计出各种有形成分的数目，由计算机自动换算成每微升单位的数据。同普通光学显微镜方法相比，其分析标准定量、视野清晰、速度快捷、精确度较高。本节重点介绍流式细胞术尿沉渣分析仪。

### （一）检测原理

应用流式细胞术和电阻抗分析的原理：尿液中有形成分经荧光色素（如菲啉与羧花氰等）染料染色后，在鞘流液的作用下，形成单列、快速通过氩激光检测区，仪器检测荧光、散射光和电阻抗的变化；当仪器在捕获了荧光强度（F1）、前向荧光脉冲宽度（F1w）、前向散射光强度（Fsc）、前向散射光脉冲宽度（Fscw）、电阻抗信号后，综合识别和计算得到了相应细胞的大小、长度、体积和染色质长度等资料，并做出红细胞、白细胞、细菌、管形等的散点图及定量报告。

### （二）检测参数

1. 定量参数：主要包括：红细胞（RBC/ $\mu\text{l}$ ）、白细胞（WBC/ $\mu\text{l}$ ）、上皮细胞（EC/ $\mu\text{l}$ ）、管形（CAST/ $\mu\text{l}$ ）、细菌（BACT/ $\mu\text{l}$ ）。

#### 2. 标记参数

主要包括：病理管形（Path.CAST）、小圆上皮细胞（SRC）、类酵母细胞（YLC）、结晶（X'TAL）和精子（SPERM）。红细胞信息主要提示红细胞的均一性。此外仪器还提供白细胞平均前向散射强度（WBC-MF1）和电导率指标。

### （三）临床应用

1. 红细胞：尿沉渣红细胞数量可帮助血尿有关疾病的诊断和鉴别诊断，如肾炎、膀胱炎、肾结核、肾结石等；通过动态观察这类患者尿红细胞数量的变化，可以确定患者的治疗效果和判断预后。尿沉渣分析仪提供的红细胞形态相关信息，对鉴别血尿来源具有一定的过筛作用。

2. 白细胞与细菌：尿沉渣白细胞数量可协助诊断和鉴别泌尿系统的感染、膀胱炎、结核、肿瘤等疾病；动态观察患者尿白细胞数量的变化，有助于确定患者的治疗效果和预后。泌尿系感染时，患者尿液中除了有白细胞数量上的增高，常同时存在细菌。因此，白细胞、细菌组合检查对泌尿系感染的诊断有着重要意义。

3. 上皮细胞：尿沉渣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，但是由于仪器所标识的小圆上皮细胞是指细胞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，须用显微镜检查尿沉渣进行准确分类。

4. 管形：正常尿液中，可见极少量的透明管形。管形对诊断肾脏实质性病变有重要价值。由于管形的种类较多，且形态特点各不相同，仪器只能区分出透明管形和病理管形。因此，当仪器标明出现病理管形时，须进一步用显微镜检查尿沉渣进行准确分类。

5. 其他：流式细胞术尿沉渣分析仪，还能标记类酵母细胞（YLC）、结晶（X'TAL）和精子（SPERM）。结晶的种类较多，其分布区域可能与红细胞有所重叠，如尿酸盐，但因结晶的中心分布不稳定，仪器可据此将它与红细胞区分。当仪器提示有酵母细胞、精子细胞和结晶时，均应离心镜检。电导率反映尿中粒子的电荷，仅代表总粒子中带电荷的部分即电解质，与反映尿液中粒子总数的尿渗量既有关系又有差别。如患者尿液电导率长期偏高，表明尿液中存在大量易形成结石的电解质，应警惕发生结石的可能。

## 第三节 方法学评价

### （一）尿干化学分析仪检查与显微镜检查

#### 1. 尿干化学分析仪

（1）主要优点：标本用量少（10~20ml）；检测速度快、检测项目多，最快10余秒可完成1条多联试带11个项目的检测；检测准确性、重复性好；适用于大批量普查。

（2）主要不足：不能替代对病理性尿标本的显微镜检查，特别是管形、结晶、上皮细胞、淋巴细胞、单核细胞等其他有形物质；尿蛋白试带以检测清蛋白为主，对球蛋白不敏感，故不适用于肾病患者；易受多种药物或其他外源性物质或人为因素等因素的干扰，引起检测结果的错误，出现假阳性或假阴性；多联试带成本较昂贵、保存和使用要求高。

#### 2. 尿干化学分析检查与显微镜检查结果的比较

尿液干化学分析仪与传统显微镜检查是两种原理不同的检验技术，在临床上中可能出现化学法分析结果与镜检结果不相符的情形。如：

(1) 白细胞：①分析仪法(+)，镜检法(-)：可能的解释为尿液在膀胱贮存时间过长或其他原因致使白细胞破坏，中性粒细胞酯酶释放到尿中所致。②分析仪法(-)，镜检法(+)：这种情形多发生在肾移植患者发生排异反应时，尿中以淋巴细胞为主，另外尿液中以单核细胞为主时也会出现此结果，因干化学法检测的是尿中完整的及溶解的中性粒细胞，而与淋巴细胞及单核细胞不起反应，此时，应以显微镜检查为准。

(2) 红细胞：①分析仪法(+)，镜检法(-)：这种情形可由于尿液中红细胞常被破坏而释放出血红蛋白，多发生于肾病患者，或某些患者尿液中含有对热不稳定酶、肌红蛋白或菌尿，引起红细胞干化学法测定结果的假阳性；将尿液煮沸冷却后再测试可以排除对热不稳定酶的影响。②分析仪法(-)，镜检法(+)：这种情形一般很少，但可发生在尿液中含有大量 VitC (>100 mg/L) 或试带失效时；若使用尿十一联试带，可通过观察 VitC 的含量来加以判别。对于上述干化学法与显微镜镜检所出现的矛盾，要结合临床综合分析，动态观察，合理解析实验结果。

中华医学会经过多次专家研讨会，制定了尿液干化学分析仪筛检标准。即：当干化学尿试带质量合格、尿液分析仪运转正常情况下，试验结果中白细胞、红细胞、蛋白及亚硝酸盐全部为阴性时，可以免去对红细胞和白细胞的显微镜检查，但如果其中有一项阳性结果，必须同时进行显微镜检查。这个筛选条件的基本原则是能筛检出健康人标本，但不遗漏异常标本，避免出现假阴性。对出现假阳性的标本，则可以通过镜检进一步排除，以达到不误诊的目的。

但是这种筛检具有局限性：①肾科患者尿液不适合干化学检查，而应作湿化学及显微镜检查。②以镜检有形物质（如结石、结晶等）结果作为要诊断依据和观察疗效指标时，上述原则适用。

## (二) 尿有形成分分析仪检查与显微镜检查

显微镜方法通过显微镜的放大作用，将细胞等有形成分直观、真实地呈现于镜下，这种传统手工操作方法各环节难以进行控制和定量化报告，致使尿沉渣检查标准化进程缓慢。

影像式尿沉渣分析仪，经过严格的定时、定速离心，留取定量的尿沉渣，以标准单位定量报告，因此同手工显微镜方法相比，它的分析标准定量、视野清晰、精确度较高，但许多步骤仍需人为操作，故仍可能存在人为误差。

流式细胞术尿沉渣分析仪，尿液不需离心，标本用量少，检测细胞多；检测速度快；检测总粒子范围大；每一标本检测步骤模式一致，且易于质量控制和标准化，因而检测精确度较高。

但是，尿沉渣自动分析仪目前尚不能检出滴虫、胱氨酸、脂肪滴或药物结晶等，也不能鉴别异常细胞，大量细菌、酵母菌还会干扰计数，对影红细胞容易漏诊；尤其不能明确病理性管形的分类。因此，目前的流式细胞术尿沉渣分析仪还不能完全取代显微镜镜检。此外，国内尚未建立公认的尿沉渣分析仪检查结果的参考值，其临床实际应用价值尚须更多的临床实践。

## 第十一章 粪便检验

### 第一节 标本采集

#### （一）概述

正常粪便中水分约占 3/4，固体成分约占 1/4，后者包括食物残渣、消化道分泌物、肠道脱落的上皮细胞、无机盐及大量的细菌等。粪便检验的主要目的为：了解消化道以及肝脏、胆道、胰腺等器官有无炎症、出血、溃疡、肿瘤及寄生虫感染等；根据粪便的性状与组成，判断肝、胆、胰腺等器官的功能；分析有无肠道致病菌或肠道菌群失调，以防治肠道传染病；粪便隐血试验作为消化道恶性肿瘤的过筛试验。

#### （二）标本容器

盛标本的容器应清洁、干燥、有盖，无吸水和渗漏。细菌学检查，粪便标本应采集于灭菌、有盖的容器内。

#### （三）标本采集

1. 采集标本的量：一般采集指头大小（约 3~5g）的新鲜粪便，盛于清洁、干燥、无吸水性的有盖容器内。细菌学检验时的粪便标本应收集于无菌容器内。
2. 送检时间：标本采集后一般应于 1h 内检验完毕，否则可因 pH 改变及消化酶的作用等，使有形成分分解破坏及病原菌死亡而导致结果不准确。检查阿米巴滋养体时，应于排便后立即检验，冬季还需对标本进行保温处理。
3. 采集标本的性质：应尽可能挑取含有粘液、脓血等异常成分的粪便。外观无明显异常时，应于粪便内外多点取样。
4. 隐血试验标本：隐血试验时，应嘱咐患者素食 3d 后留取标本，禁服 VitC 及铁剂等药品。
5. 特殊情况的标本：无粪便排出而又必须检验时，可采用肛门指诊或采便管采集标本。
6. 寄生虫检验标本：检查蛲虫时需要用透明薄膜拭子或棉拭子于清晨排便前拭取肛门四周，并立即镜检。
7. 24h 标本检查胆石、胰石、寄生虫体及虫卵计数时，应收集 24h 内粪便送检。

### 第二节 理学检查

#### （一）量

粪便量的多少与进食量、食物的种类及消化器官的功能状态有直接关系。进食粗糙粮食及含纤维素较多的食物，粪便量相对较多。反之，则相对较少。

#### （二）外观

##### 1. 性状

正常成人粪便为成形的、黄褐色软便，婴儿粪便多为黄色、金黄色糊状便。

(1) 粘液便：正常粪便中含有少量粘液，但因与粪便均匀混合而不易被发现。粘液增多提示肠道受刺激或有炎症，常见于各种肠炎、细菌性痢疾及阿米巴痢疾、急性血吸虫病等。小肠炎症时，增多的粘液均匀混合于粪便之中；而来自大肠病变的粘液则一般附着于粪便表面。

(2) 鲜血便：提示下消化道有出血，常见于肛裂、痔疮、直肠息肉及结肠癌等。

(3) 脓便及脓血便：常见于细菌性痢疾、阿米巴痢疾、溃疡性结肠炎、结肠癌或直肠癌等。其中细菌性痢疾以脓及粘液为主，脓中带血；阿米巴痢疾以血为主，血中带脓，呈暗红色稀果酱样。

(4) 柏油样便：上消化道出血时粪便呈黑色或褐色、质软且富有光泽，故称柏油样便。上消化道出血量超过 50ml 时，可见到柏油样便。服用铁剂、活性炭之后也可排出黑色便，但无光泽，隐血试验为阴性。

(5) 胶状便：呈粘胶状、膜状或纽带状物，多见于肠易激综合征患者腹部绞痛之后。某些慢性细菌性痢疾患者也可排出类似的粪便，痉挛性便秘时粪便表面亦可有少量的粘胶。

(6) 稀糊状或稀汁样便：见于各种因素引起的腹泻，尤其是急性胃肠炎，为肠蠕动亢进或分泌增多所致。

(7) 白陶土样便：胆道梗阻时，进入肠道的胆汁减少或缺如，粪胆素生成减少甚至缺如，使粪便呈灰白色。主要见于梗阻性黄疸等。钡餐造影后也可使粪便呈现灰白色，但有明显的节段性。

(8) 米泔样便：呈乳白色淘米水样，多见于霍乱、副霍乱。

(9) 球形硬便：粪便在肠道内停留过久，水分过度吸收所致。常见于习惯性便秘患者，亦可见于老年人排便无力时。

(10) 乳凝块状便：婴儿粪便中可见白色、黄色或绿色的乳凝块，提示脂肪或酪蛋白消化不良，常见于婴儿消化不良等。

## 2. 颜色

正常人的粪便因含粪胆素而呈黄色或褐色。婴儿的粪便因含胆绿素故呈黄绿色。粪便的颜色易受食物及药物因素的影响。在病理情况下，粪便也可呈现不同的颜色变化（表 1-11-1）。

表 1-11-1 粪便颜色改变及可能的原因

颜色	可能的原因
鲜红色	肠道下段出血，如痔疮、肛裂、直肠癌等
暗红色（果酱色）	
白色或灰白色	阿米巴痢疾
绿色	胆道梗阻、钡餐造影
黑色或柏油色	乳儿的粪便中因含胆绿素而呈现绿色 上消化道出血，服（食）用铁剂、动物血、活性炭及某些中药

## （三）寄生虫与结石

粪便中的较大虫体（如蛔虫、蛲虫、绦虫节片等）肉眼即可以发现。而将粪便过筛冲洗后可发现钩虫、鞭虫等细小虫体。粪便中排出的结石，最重要的是胆结石。另外，还有胰石、肠石等。较大者肉眼可见，较小者需用铜筛淘洗粪便后才能发现。

### 第三节 化学检验

#### （一）隐血试验

胃肠道少量出血时，粪便外观的颜色可无明显变化，因红细胞被溶解破坏，故显微镜也观察不到红细胞，这种肉眼及显微镜均不能证明的出血称为隐血。隐血可以通过隐血试验来证实，用化学法或免疫法等方法来证实隐血的试验，称为隐血试验。

##### 1. 检测原理

（1）化学法：利用血红蛋白中的含铁血红素有类似过氧化物酶的作用，其可催化分解过氧化氢，释放新生态氧，新生态氧因氧化能力较强，可氧化色原物而使之呈色。目前，临床应用中有以四甲基联苯胺和愈创木酯为显色基质的隐血试带，使用非常方便，患者可自行留取标本进行检测，其可用于大规模胃肠道肿瘤的普查。其化学法隐血试验的比较见表 1-11-2。

表 1-11-2 几种化学法隐血试验的比较

灵敏度 (Hb 最小检出量)	检出血量	临床应用
高, 0.2~1mg/L	1~5ml	易出现假阳性
高, 0.2~1mg/L	1~5ml	易出现假阳性
高, 1mg/L		试剂不够稳定, 淘汰
中, 2mg/L	5~10ml	试剂有致癌性, 淘汰
中, 1~5mg/L	5~10ml	灵敏度适中, 较适宜
中, 1~5mg/L, 未加入 异喹啉时为 6~10mg/L	5~10ml	灵敏度适中, 较适宜
低, 6~10mg/L	20ml	假阳性极少, 假阴性较高

（2）免疫法：为了避免诸多因素的影响，目前临床上逐渐推广了免疫学方法，如酶联免疫吸附法、胶体金法、免疫斑点法、胶乳凝聚法及反向间接血凝法等。免疫学方法具有很好的灵敏度，一般血红蛋白为 0.2mg/L 或 0.03mg/g 粪便可得到阳性结果。

##### 2. 方法学评价

（1）化学法：操作简单易行，但缺乏特异性和准确性。虽然检测的基本原理相同，但实际应用中受试剂类型、粪便中血红蛋白的多少、过氧化氢的浓度、观察时间、血液在肠道中滞留时间、标本量的多少以及食物、药物等众多因素的影响，而使结果差异较大。①动物性食品可使隐血试验出现假阳性；大量生食蔬菜也可使结果出现假阳性。②如服用大量 Vit C 可出现假阴性。血液在肠道中停留过久，血红蛋白被细菌降解也会导致假阴性等。因此，采用此类方法检验隐血前，要求患者素食 3d，并且不要服用 VitC 等还原性的药物。

(2) 免疫学：具有快速、方便、特异、灵敏度和特异性高等众多优点，但在临床使用中也存在假阳性与假阴性。①假阳性：因灵敏度过高而引起，一些胃肠道生理性失血

( $<2\text{ml}/24\text{h}$ )，或服用刺激胃肠道的药物引起的消化道出血( $2\sim 5\text{ml}/24\text{h}$ )可为阳性。②假阴性：消化道出血后，血红蛋白在胃肠道中被消化酶及细菌作用后分解而使免疫原性减弱、消失或改变，而出现假阴性。故免疫学法主要用于下消化道出血检验，而40%—50%上消化道出血不能检出；大量出血时，血红蛋白(抗原)浓度过高造成的与单克隆抗体不匹配(即后带现象)，亦可出现假阴性。

3. 参考值：阴性。

4. 临床意义

消化道疾病如消化道溃疡，药物(如阿司匹林、糖皮质激素、吡哌美辛等)对胃黏膜的损伤、肠结核、克罗恩病、溃疡性结肠炎、钩虫病、结肠息肉以及消化道肿瘤(如胃癌、结肠癌等)，粪便隐血试验常为阳性。消化道溃疡经治疗后粪便颜色已趋正常，但隐血试验阳性仍可持续5~7d，隐血试验转为阴性可作为判断出血完全停止的可靠指标。隐血试验可作为消化道恶性肿瘤普查的一个筛选指标，其连续检测对早期发现结肠癌、胃癌等恶性肿瘤有重要的价值。

## (二) 脂肪

粪便脂肪检查常采用称量法、滴定法，在普通膳食情况下，脂肪约占粪便干重的10%~20%。正常成人24h粪便中的脂肪总量约为2~5g，如果超过6g，则称为脂肪泻。常见于梗阻性黄疸、慢性胰腺炎、胰腺癌、胰腺纤维囊性病以及小肠病变等。

## (三) 胆色素

1. 粪便胆红素：正常人粪胆红素阴性。婴幼儿因正常肠道菌群尚未建立，粪便胆红素常为阳性，粪便可呈金黄色。成年人可因大量应用抗生素、严重腹泻、肠蠕动加速等使胆红素也为阳性。

2. 粪胆原：正常人100g粪便中粪胆原含量为75~350mg。粪便中粪胆原含量在梗阻性黄疸时明显减少，并与梗阻程度密切相关；而各种溶血性疾病，如阵发性睡眠性血红蛋白尿症、珠蛋白生成障碍性贫血、自身免疫性溶血性贫血、蚕豆病、血型不合的输血反应及疟疾等可表现为强阳性。

3. 粪胆素：正常人胆汁中的胆红素在肠道经细菌作用后转变成尿(粪)胆原。尿胆原除部分被肠道重吸收进入肠肝循环外，大部分在结肠被氧化为粪胆素，并随粪便排出体外。胆道梗阻时，粪便中无粪胆素而呈白陶土色，氯化高汞试验为阴性反应。

# 第四节 显微镜检查

## (一) 操作方法

最常用的方法是粪便生理盐水涂片检验。滴加1~2滴生理盐水在载玻片上，以竹签挑取含有粘液或血液等可疑部分的少量粪便，若外观无异常则需粪便内外多点取材，混悬于生理盐水中制成涂片，厚度以通过悬液能看清纸上的字迹为宜。加上盖玻片，镜检时先用低倍镜观察全片，观察有无寄生虫卵、原虫及其包囊等，再用高倍镜仔细寻找和观察病理

性成分的形态结构。进行显微镜检验时，原则上要观察 10 个以上的高倍视野，并按表 1-11-3 方式报告结果。

表 1-11-3 粪便中镜检细胞报告方式

10 个以上高倍镜视野所见情况	报告方式 (/HPF)
仅看到一个某种细胞	偶见
有时不见，最多见到 2~3 个	0~3
最少可见 5 个，最多 10 个	5~10
细胞数大多超过 10 个以上	多数
细胞均匀布满视野不能计数	满视野

## (二) 细胞

1. 白细胞：正常粪便中偶可见到白细胞，主要是中性粒细胞。肠道炎症时其数量增多，一般肠炎少于 15 个/HPF，大量白细胞、成堆脓细胞或小吞噬细胞见于细菌性痢疾，嗜酸性粒细胞见于过敏性肠炎、寄生虫病和阿米巴痢疾。并且与炎症轻重程度及部位相关。在肠道寄生虫感染（尤其是钩虫病及阿米巴痢疾时）和过敏性肠炎时，粪便中可见较多的嗜酸粒细胞。

2. 红细胞：正常粪便中无红细胞，上消化道出血时红细胞在胃及肠道中被消化液破坏，必须通过隐血试验来证实。而下消化道的病变，如炎症、痔疮、直肠息肉、肿瘤及其他出血性疾病时可见到多少不等的红细胞。出现见于细菌性痢疾（RBC<WBC，多分散分布、形态正常）、阿米巴痢疾（RBC>WBC，多成堆分布、有残碎现象）、溃疡性结肠炎、结肠癌等。

3. 大吞噬细胞：在细菌性痢疾时，常可见到较多的吞噬细胞。因此，**吞噬细胞可作为诊断急性细菌性痢疾的依据**；吞噬细胞也可见于急性出血性肠炎或偶见于溃疡性结肠炎。

4. 上皮细胞：在生理条件下，少量脱落的肠道上皮细胞大多被破坏，故正常粪便中很难发现。在结肠炎症，如坏死性肠炎、霍乱、副霍乱、伪膜性肠炎等时上皮细胞数量增多。其中以伪膜性肠炎的肠黏膜柱状上皮细胞增多最明显。

## (三) 食物残渣

1. 脂肪：粪便中有中性脂肪（脂肪小滴）、游离脂肪酸和结合脂肪酸 3 种形式。正常情况下，食入的脂肪经胰脂肪酶消化分解后大多被吸收，故粪便中很少见到。镜检脂肪小滴>6 个 / HPF，为脂肪排泄增多，多见于腹泻、梗阻性黄疸及胰腺外分泌功能减退等。粪便量多、泡沫状、灰白色、有光泽、恶臭是慢性胰腺炎的粪便特征，镜检时可见较多的脂肪小滴。

2. 淀粉颗粒：正常粪便中较少见。碳水化合物消化不良及腹泻患者的粪便中可大量出现。

3. 肌肉纤维：正常人大量食肉后，粪便中可看到少量黄色、柱状、两端圆形、有不清楚横纹的肌肉纤维，但在一张标准盖玻片（18mm×18mm）范围内不应多于 10 个。肌肉纤维增多时可见于腹泻、肠蠕动亢进或蛋白质消化不良等。胰腺外分泌功能减退时，肌肉纤维增多，且其横纹易见，如果见到细胞核，则是胰腺功能障碍的佐证。

4. 结缔组织：为无色或微黄色、成束且边缘不清的线条状物。于玻片上加入数滴 5mol/L 乙酸后，弹力纤维可变得非常清晰；而胶原纤维变得膨大。在正常情况下结缔组织少见，胃蛋白酶缺乏时可较多的出现。



5. 植物纤维及植物细胞：形态多种多样，植物细胞可呈多角形、圆形、长圆形、双层胞壁等，细胞内有时含有淀粉颗粒或叶绿素小体。植物纤维导管常为螺线形，而植物毛则是一端呈尖形的管状、细长、有强折光的条状物。

#### （四）结晶

正常人粪便中可见到多种结晶，如草酸钙、磷酸钙、碳酸钙等结晶，一般无临床意义。病理性结晶有：①夏科-雷登结晶：为菱形无色透明结晶，其两端尖长、大小不等、折光性强，是嗜酸粒细胞破裂后嗜酸性颗粒相互融合形成。多见于阿米巴痢疾及过敏性肠炎的粪便中。②血红素结晶：斜方形结晶，棕黄色，不溶于氢氧化钾溶液，遇硝酸呈青色，见于胃肠道出血后的粪便内。③脂肪酸结晶：脂肪酸吸收不良所致，多见于梗阻性黄疸患者。

#### （五）病原微生物

##### 1. 细菌

细菌约占粪便干重的 1/3。成人粪便中主要的菌群是大肠埃希菌、肠球菌和厌氧菌，约占 80%。另外，还有少量的产气杆菌、变形杆菌、芽胞菌及酵母菌等。健康婴幼儿粪便中主要是双歧杆菌、拟杆菌、肠杆菌、肠球菌、葡萄球菌等。成人粪便中菌量与菌谱处于相对稳定状态，保持着细菌与宿主之间的生态平衡。粪便中球菌和杆菌的比例大约为 1:10。长期使用广谱抗生素、免疫抑制剂及慢性消耗性疾病患者可发生肠道菌群失调，引起革兰阴性杆菌数量严重减少甚至消失，而葡萄球菌或真菌等明显增多，粪便中球菌/杆菌比值变大。粪便涂片染色后油镜观察可初步判断细菌的种类，但确证需通过细菌培养与鉴定。采用粪便悬滴检验和涂片染色筛选霍乱弧菌。

##### 2. 寄生虫卵

粪便涂片中可见到蛔虫卵、鞭虫卵、钩虫卵、蛲虫卵、血吸虫卵、肺吸虫卵、肝吸虫卵、姜片虫卵等。检测时要注意虫卵的大小、色泽、形状、卵壳厚薄及内部结构等多方面特点，认真观察后予以鉴别。临床上常采用饱和盐水漂浮法、离心沉淀法、静置沉淀集卵法等方法来提高阳性检出率。

##### 3. 肠道原虫

①溶组织阿米巴：取新鲜粪便的脓血粘液部分进行粪便镜检可见到滋养体，并可找到包囊。②蓝贾第鞭毛虫：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。③隐孢子虫：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。④人芽孢子虫：人芽孢子虫与白细胞及原虫包囊形态十分相似，这时可借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验，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看见。

##### 4. 酵母菌

粪便中常可见到酵母菌，为卵圆形，其排列因芽生增殖呈出芽或短链状。

##### 5. 真菌

正常粪便中少见，应排除容器污染或粪便显露室温下过久污染所致。真菌孢子直径约 3~5 μm，椭圆形，有较强的折光性，革兰染色阳性，大都有菌丝同时出现。一般见于应用大量抗生素所致的肠道菌群紊乱，引起真菌性二重感染。

## 第五节 粪便检验的质量控制

### 本节要点:

- (1) 标本采集与运送
- (2) 粪便显微镜检验的质量控制
- (3) 隐血试验的质量控制

### (一) 标本的采集与运送

1.容器：要求干净、大小适宜，盛便后不漏不溢，无吸水性、不破坏粪便有形成分，且标志明显。最好是使用一次性的有盖塑料盒，细菌培养时要采用无菌容器。

2.取材：应尽可能采集含脓血、粘液等异常部分的新鲜粪便；外观无异常粪便应从浅、深处多处取材；常规检验应取指头大小（5~10g）或稀便 2ml，浓集卵时至少要取鸡蛋大小粪便，尽快处理。标本应无尿液、药物等的污染。

3.及时检验：标本采集后应在 1h 内完成检验，否则可因 pH 及消化酶等影响导致有形成分被破坏。

4.特殊检验：如阿米巴标本应注意保温等。

### (二) 粪便显微镜检验的质量控制

1.检验人员：要掌握粪便中正常和异常成分的形态特点以及相似物的鉴别方法，提高专业水平和镜检识别能力，并且要有责任心，能细致耐心地工作。

2.器材要求：玻片要用清洁的玻片，生理盐水要定期更换，防止被真菌污染。

3.涂片：取材时要求挑取适量的异常部分标本涂片，涂片要厚薄适宜。

4.显微镜检验：要按照操作规程，先用低倍镜观察全片，再用高倍镜检验。高倍镜要观察 10 个以上视野，以防漏检。

5.特殊检验：在温度较低时，检验阿米巴原虫要注意保温。除标本保温外，可将生理盐水及载玻片预温后涂片，并快速予以检验。必要时可采用集卵法检验寄生虫及虫卵，以提高检出率。

### (三) 隐血试验的质量控制

1.饮食控制：嘱咐患者在试验前 3d 内要禁食影响试验的食品和药物，如动物血、肉类、VitC 等，否则可能会出现假阳性或假阴性。

2.器材及试剂的要求：试验前要鉴定  $H_2O_2$ ，最好新鲜配制。试验器具要干净，标本不能被血液或脓液污染，否则可导致假阳性。

3.规范化操作：要严格控制操作时间，防止出现结果的误判。每天用阳性和阴性质控标本进行对照。

4.注意结果分析：免疫学法检测时要注意后带现象，必要时可将粪便稀释后重做实验。胶体金法要注意对照线的出现与否，无对照线要检验试带是否失效。

## 第十二章 脑脊液检验

脑脊液（CSF）是存在于脑室和蛛网膜下腔内的一种**无色透明的液体**，70%来自脑室脉络丛主动分泌和超滤所形成的液体，30%由大脑和脊髓细胞间隙所产生。**生理情况下，正常成人脑脊液总量为120~180ml（平均150ml）**。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调节神经系统碱贮量，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。

### 第一节 标本采集与处理

#### （一）脑脊液检验的适应证和禁忌证

脑脊液检验需要进行腰椎穿刺采集标本，必要时行小脑延髓池和脑室穿刺。脑脊液穿刺的时机与疾病有关，化脓性脑膜炎于发病后1~2d、病毒性脑膜炎于发病后3~5d、结核性脑膜炎于发病后1~3周、疱疹性脑膜炎于流行性感冒前驱症状期开始后5~7d穿刺采集标本。由于脑脊液标本采集有一定的创伤性，因此，临床应用中必须要严格掌握其适应证和禁忌证。脑脊液检验的适应证和禁忌证见表1-12-1。

表 1-12-1 脑脊液检查的适应证和禁忌证

适应证	禁忌证
有脑膜刺激征者	<b>颅内高压者（易诱发脑疝）</b>
可疑颅内出血者、脑膜白血病和肿瘤颅内转移者	<b>颅后窝占位性病变者</b>
原因不明的剧烈头痛、昏迷、抽搐或瘫痪者	<b>处于休克、全身衰竭状态者</b>
脱髓鞘疾病者	<b>穿刺局部有化脓性感染者</b>
中枢神经系统疾病椎管内给药治疗、麻醉和椎管造影者	

#### （二）标本采集与处理

腰椎穿刺成功后立即测定脑脊液压力，然后留取脑脊液标本于3个无菌试管中，每个试管1~2ml。第一管做病原生物学检验，第二管做化学和免疫学检验，第三管做理学和细胞学检验。标本采集后应立即送检，并于1h内检验完毕。因标本放置过久，可造成细胞破坏、葡萄糖等物质分解、细菌溶解等，影响检验结果。脑脊液标本应尽量避免凝固和混入血液。若混入血液应注明，进行细胞计数时应做校正。

### 第二节 理学检查

#### （一）颜色

肉眼观察脑脊液颜色变化，分别以**无色、乳白色、红色、棕色或黑色、绿色**等描述。**正常脑脊液无色透明，新生儿胆红素较多可呈黄色**。当中枢神经系统有炎症、损伤、肿瘤或梗阻时，破坏了血-脑脊液屏障，使脑脊液成分发生改变，而导致其颜色发生变化。脑脊

液的颜色变化及其常见的原因见表 1-12-2；脑脊液新鲜出血与陈旧性出血的鉴别见表 1-12-3；脑脊液呈黄色称为黄变症，其原因及临床意义见表 1-12-4。

表 1-12-2 脑脊液常见的颜色变化及临床意义

颜色	原因	临床意义
无色		正常脑脊液、 <b>病毒性脑炎</b> 、轻型结核性脑膜炎、脊髓灰质炎、神经梅毒
红色	<b>出血</b>	<b>穿刺损伤出血</b> 、蛛网膜下腔或脑室出血
黄色	<b>黄变症</b>	陈旧出血、黄疸、淤滞和梗阻、黄色素、胡萝卜素、黑色素、脂色素增高
白色	白细胞增高	脑膜炎双球菌、肺炎球菌、溶血性链球菌引起的 <b>化脓性脑膜炎</b>
绿色	脓性分泌物增多	<b>铜绿假单胞菌性脑膜炎</b> 、急性肺炎双球菌性脑膜炎
褐色	色素增多	脑膜黑色素肉瘤、 <b>黑色素瘤</b>

表 1-12-3 脑脊液新鲜性出血与陈旧性出血的鉴别

项目	新鲜性出血	陈旧性出血
<b>外观</b>	浑浊	清晰、透明
<b>易凝性</b>	易凝	不易凝
<b>离心后上清液</b>	无色、透明	红色、黄褐色或柠檬色
红细胞形态	无变化	皱缩
上清液 OB 试验	多为阴性	阳性
白细胞	不增高	继发性或反应性增高

表 1-12-4 脑脊液黄变症的原因及临床意义

黄变症	原因	临床意义
出血性	红细胞破坏，胆红素增加	陈旧性蛛网膜下腔出血或脑出血
黄疸性	胆红素增高	黄疸性肝炎、肝硬化、钩端螺旋体病、胆管梗阻、新生儿溶血症
淤滞性	红细胞渗出，胆红素增高	颅内静脉、脑脊液淤滞
梗阻性	蛋白质含量显著增高	髓外肿瘤等所致的椎管梗阻

## (二) 透明度

肉眼观察脑脊液透明度变化，分别以“**清晰透明**”、“**微浑**”、“**浑浊**”等描述。正常脑脊液清晰透明。脑脊液的透明度与其所含的细胞数量和细菌多少有关，当脑脊液白细胞超过  $300 \times 10^6 / L$  时，可呈浑浊；脑脊液中蛋白质明显增高或含有大量细菌、真菌时，也可使脑脊液浑浊。**结核性脑膜炎的脑脊液可呈毛玻璃样的浑浊，化脓性脑膜炎的脑脊液呈脓性或块样浑浊**，穿刺损伤性脑脊液可呈轻微红色浑浊。

### （三）凝固性

正常脑脊液放置 12~24h 后不会形成薄膜、凝块或沉淀。脑脊液形成凝块或薄膜与其所含的蛋白质，特别是与纤维蛋白原的含量有关，当脑脊液蛋白质含量超过 10g/L 时，可出现薄膜、凝块或沉淀。化脓性脑膜炎的脑脊液在 1~2h 内呈块状凝固；结核性脑膜炎的脑脊液在 12~24h 内呈薄膜或纤细的凝块；神经梅毒的脑脊液可有小絮状凝块；蛛网膜下腔梗阻的脑脊液呈黄色胶样凝固。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。

### （四）比密

脑脊液比密为：①腰椎穿刺：1.006~1.008。②脑室穿刺：1.002~1.004。③小脑延髓池穿刺：1.004~1.008。凡是脑脊液中的细胞数量增加和蛋白质含量增高的疾病，其比密均增高。常见于中枢神经系统感染、神经系统寄生虫病、脑血管病、脑肿瘤、脑出血、脑退行性变和神经梅毒等。

## 第三节 显微镜检查

### （一）细胞计数与分类计数

#### 1. 检测原理

①清亮或微浑的脑脊液标本，可以直接计数细胞总数，或稀释后再直接计数，将结果乘以稀释倍数。

②可采用直接计数法计数白细胞，或稀释后再直接计数，将结果乘以稀释倍数。

③白细胞直接计数后，在高倍镜下根据白细胞形态特征进行分类计数。也可采用 Wright 染色后，油镜下分类计数。

#### 2. 方法学评价

细胞总数计数和分类计数常用显微镜计数法。白细胞直接分类法简单、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。涂片染色分类法细胞分类详细，结果准确可靠，尤其是可以发现异常细胞如肿瘤细胞，故推荐使用此法。该法不足之处是操作较复杂，费时。

脑脊液细胞收集有几种方法，离心涂片法常影响细胞形态及分类。目前，玻片离心沉淀法和细胞室沉淀法已用于脑脊液细胞的浓缩和收集，其优点是收集的细胞形态完整（尤其是细胞室沉淀法），分类效果好。另外，玻片离心沉淀法阳性率高。

血细胞分析仪进行脑脊液计数和白细胞分类，此法简单、快速，可以自动化。但病理性、陈旧性标本中的组织、细胞的碎片和残骸以及细胞变形等都可以影响细胞分类和计数，故重复性、可靠性有待进一步探讨。另外，蛋白质含量高，尤其有凝块的脑脊液标本容易使仪器发生堵孔现象，故不推荐使用。

#### 3. 质量控制

（1）细胞计数：①标本采集后应在 1h 内进行细胞计数。标本放置过久，细胞可能凝集成团或被破坏，影响计数结果。②标本必须混匀后方可进行检查，否则会影响计数结果。

(2) 校正与鉴别：①因穿刺损伤血管，引起血性脑脊液，白细胞计数结果必须校正，以消除因出血带来的白细胞。②细胞计数时，应注意**红细胞、白细胞与新生隐球菌的鉴别**。新生隐球菌不溶于乙酸，加优质墨汁后可见未染色的荚膜；白细胞也不溶于乙酸，加酸后细胞核和细胞质更加明显；红细胞加酸后溶解。

(3) 检查方法：白细胞直接计数法的试管与吸管中的冰乙酸要尽量去尽，否则可使结果偏低。若标本陈旧、细胞变形时，白细胞直接分类法误差大，可采用涂片染色分类法分类计数。

(4) 染色固定：涂片染色分类计数时，离心速度不能太快，否则会影响细胞形态，可采用玻片离心法、沉淀室法收集细胞。涂片固定时间不能太长，更不能高温固定，以免使细胞皱缩，影响检验结果。

4. 参考值

①无红细胞。②白细胞极少，成人： $(0\sim 8) \times 10^6 / L$ ，儿童： $(0\sim 15) \times 10^6 / L$ ，主要为单个核细胞，淋巴细胞与单核细胞之比为 7: 3。

5. 临床意义

脑脊液白细胞达  $(10\sim 50) \times 10^6 / L$  为轻度增高， $(50\sim 100) \times 10^6 / L$  为中度增高， $>200 \times 10^6 / L$  为显著增高。脑脊液中血细胞增高的程度及临床意义见表 1-12-5。

表 1-12-5 脑脊液血细胞增高的临床意义

增高程度	细胞	临床意义
显著	中性粒细胞	化脓性脑膜炎
	红细胞	蛛网膜下腔出血或脑出血、穿刺损伤
轻度或中度	早期中性粒细胞、后期淋巴细胞	结核性脑膜炎，且有中性粒细胞、淋巴细胞、浆细胞同时存在的现象
	嗜酸粒细胞	寄生虫感染
正常或轻度	淋巴细胞	浆液性脑膜炎、病毒性脑膜炎、脑水肿

(二) 细胞学检查

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收集细胞，并进行染色。常用的染色方法有 May-Grunwald-Giemsa 染色法、PAS 染色法、过氧化酶染色法、脂类染色法、硝基四氮唑蓝 (NBT) 染色法和吖啶橙荧光染色法等，重点检查脑脊液腔壁细胞、肿瘤细胞和污染细胞 (表 1-12-6)。

表 1-12-6 脑脊液细胞学检查及临床意义

细胞	细胞类型	临床意义
腔壁细胞	脉络丛室管膜细胞	脑积水、脑室穿刺、气脑、脑室造影或椎管内给药
	蛛网膜细胞	气脑、脑室造影或腰椎穿刺后，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	穿刺损伤脊膜血管所致

## 第四节 化学与免疫学检查

### (一) 酸碱度

正常脑脊液 pH 为 7.31~7.34, 且相对稳定。中枢神经系统炎症时, 脑脊液 pH 低于正常, 化脓性脑膜炎时脑脊液的 pH 明显减低, 在测定脑脊液的 pH 的同时测定脑脊液中乳酸含量, 对判断病情变化更有参考价值。

### (二) 蛋白质

1. 检测原理: 脑脊液蛋白质的检验有定性和定量两种方法, 并可根据需要计算蛋白商(球蛋白/清蛋白)和脑脊液清蛋白指数( $R_{alb}$ ) [脑脊液清蛋白(g/L)/血清清蛋白(g/L)]。

#### (1) 定性法

1) Pandy 试验: 脑脊液中的蛋白质与苯酚结合形成不溶性蛋白盐而出现白色浑浊或沉淀。

2) 硫酸铵试验: 包括 Ross-Jone 试验和 Nonne-Apelt 试验。饱和硫酸铵能沉淀球蛋白, 出现白色浑浊或沉淀。若球蛋白增多则 Ross-Jone 试验阳性; Nonne-Apelt 试验可检测球蛋白和清蛋白。

3) Lee-Vinson 试验: 磺基水杨酸和氯化高汞均能沉淀脑脊液蛋白质, 根据沉淀物的比例不同, 可鉴别化脓性和结核性脑膜炎。

(2) 定量法: 利用比浊法、染料结合比色法和免疫学方法检测脑脊液蛋白质含量。常用的方法为磺基水杨酸-硫酸钠比浊法。

2. 方法学评价: 脑脊液蛋白质检验方法较多, 不同的方法由于所选用的试剂、条件不同, 其灵敏度和特异性也不相同。其方法学评价见表 1-12-7。

表 1-12-7 脑脊液蛋白质检验的方法学评价

分类	方法	优点	缺点
定性法	Pandy 试验	操作简便、标本量少、易于观察、灵敏度高	假阳性率高
	Ross-Jone	检测球蛋白, 特异性高	灵敏度低
	Nonne-Apelt	检测球蛋白和清蛋白, 特异性高	操作繁琐
	Lee-Vinson		操作繁琐、特异性低
定量法	比浊法	操作简便、快速, 无需特殊仪器	标本用量大、重复性差、影响因素多
	染料结合比色法	操作快速、灵敏度高、标本用量少、重复性好	要求高、线性范围窄
	免疫学方法	标本用量少	对试剂要求高

### 3. 质量控制

(1) 因穿刺出血, 脑脊液可有血液蛋白质混入, 可出现假阳性。

(2) 试验中所用试管和滴管须十分洁净, 否则易出现假阳性。

(3) 苯酚不纯可引起假阳性；室温低于 10℃、苯酚饱和度减低也可引起假阴性。

(4) 人工配制含球蛋白的溶液作阳性对照，可在正常脑脊液或配制与正常脑脊液基本成分相似的基础液中加入不同量的球蛋白。

#### 4. 参考值

定性：阴性（或弱阳性）。定量：腰椎穿刺：0.20~0.40g/L；小脑延髓池穿刺：0.10~0.25g/L；脑室穿刺：0.05~0.15g/L；蛋白商：0.4~0.8；清蛋白指数： $7 \times 10^{-3}$ 。

#### 5. 临床意义

脑脊液蛋白质含量增高是血-脑脊液屏障功能障碍的标志。由于脑脊液清蛋白只来自血清，因此， $R_{alb}$  更能反映血-脑脊液屏障完整性。脑脊液蛋白质增高可见于中枢神经系统的感染、梗阻和出血等多种疾病，其常见的原因见表 1-12-8。导致血-脑脊液屏障功能障碍的原因见表 1-12-9。

表面 1-12-8 脑脊液蛋白质增高常见的原因

原因	临床意义
感染	以化脓性、结核性脑膜炎脑脊液蛋白质增高最明显，病毒性脑膜炎则轻度增高
神经根病变	常见于急性感染性多发性神经根神经炎，有蛋白质-细胞分离的现象
梗阻	脊髓肿瘤、肉芽肿、硬膜外脓肿造成的椎管部分或完全梗阻，可有脑脊液自凝现象
出血	脑血管畸形、高血压病、脑动脉硬化症以及全身出血性疾病等
其他	肺炎、尿毒症等出现中枢神经系统症状时，脑脊液蛋白质含量也可增高

表 1-12-9 导致血-脑脊液屏障功能障碍的原因

屏障障碍的程度	可能的原因
轻度	多发性硬化、慢性 HIV 脑炎、带状疱疹神经节炎、乙醇性多发神经病、肌萎缩性侧索硬化
中度	病毒性脑炎、机会致病菌性脑膜脑炎、糖尿病性多发神经病、脑梗死、皮质萎缩
重度	Guillain-Barre 综合征、单纯性疱疹脑炎、结核性脑膜炎、化脓性脑膜炎

蛋白商反映了脑脊液球蛋白与清蛋白的比例变化。①蛋白商增高：提示脑脊液球蛋白含量增高，见于多发性硬化症、神经梅毒、脑脊髓膜炎、亚急性硬化性全脑炎等。②蛋白商减低：提示脑脊液清蛋白含量增高，见于化脓性脑膜炎急性期、脑肿瘤、脊髓压迫症等。

### (三) 葡萄糖

1. 检测原理：脑脊液葡萄糖含量大约为血糖的 50%~80%（平均 60%），其高低与血糖浓度、血-脑脊液屏障的通透性、葡萄糖的酵解程度有关。脑脊液葡萄糖检验多采用葡萄糖氧化酶法和己糖激酶定量法。

2. 参考值：①腰椎穿刺：2.5~4.4mmol/L。②小脑延髓池穿刺：2.8~4.2mmol/L。③脑室穿刺：3.0~4.4mmol/L。

#### 3. 临床意义

(1) 葡萄糖减低：①细菌性脑膜炎和真菌性脑膜炎，以化脓性脑膜炎早期减低最明显。②脑寄生虫病等。③脑肿瘤。④神经梅毒。⑤低血糖昏迷、胰岛素过量所致的低血糖状态。



(2) 葡萄糖增高：①新生儿及早产儿。②糖尿病或静脉注射葡萄糖。③脑或蛛网膜下腔出血所致的血性脑脊液。④病毒性脑膜炎或脑炎。⑤急性颅脑外伤、中毒、缺氧、脑出血等所致下丘脑损伤等。

#### (四) 氯化物

1. 检测原理：由于脑脊液中蛋白质含量较少，为了维持脑脊液和血浆渗透压的平衡（Donnan 平衡），氯化物含量约为血浆 1.2~1.3 倍。氯化物定量检验方法与血清氯化物检验方法相同，测定方法有硝酸汞滴定法、电量分析法、离子选择性电极法和硫氰酸汞比色法。临床常用电极法。

2. 方法学评价：几种脑脊液氯化物检测的方法学评价见表 1-12-10。

表 1-12-10 脑脊液氯化物检测的方法学评价

方法	优点	缺点
硝酸汞滴定法	操作简便、应用广泛、不需要特殊仪器	影响因素多、准确度差、效率低，多被电极法和电量法取代
硫氰酸汞比色法	准确度、精密度良好	不适合体液标本检测
电量分析法	精密度和准确度高，为参考方法	
电极法	准确度和精密度良好，为常规方法	专用仪器

3. 参考值：成人：120~130mmol/L。婴儿：110~130mmol/L。

#### 4. 临床意义

(1) 氯化物减低：①细菌或真菌感染，特别是化脓性、结核性和隐球菌性脑膜炎的急性期、慢性感染的急性发作期。②细菌性脑膜炎的后期，由于脑膜有明显的炎症浸润或粘连，局部有氯化物附着，使脑脊液氯化物减低。③呕吐、肾上腺皮质功能减退时，由于氯减低，使脑脊液氯化物含量亦减低。

(2) 氯化物增高：主要见于尿毒症、肾炎、心力衰竭、病毒性脑膜炎或脑炎。

## 第五节 病原生物学检查

### (一) 细菌学检查

1. 显微镜检查：脑脊液涂片革兰染色或碱性亚甲蓝染色检查致病菌。革兰染色用于检查肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、葡萄球菌、铜绿假单胞菌、链球菌、大肠埃希菌等；碱性亚甲蓝染色用于检查脑膜炎球菌。显微镜检查对化脓性脑膜炎诊断的阳性率为 60%~90%。如果怀疑为结核性脑膜炎，可采用抗酸染色，油镜下寻找抗酸杆菌。新生隐球菌检查常采用印度墨汁染色法，若呈假阳性，可采用苯胺墨染色法。

2. 细菌培养：主要适用于脑膜炎奈瑟菌、链球菌、葡萄球菌、大肠埃希菌、流感嗜血杆菌等。同时，也要注意厌氧菌、真菌的培养。

3. ELISA: 检测结核杆菌抗体: 结核杆菌感染时, 可产生特异性的抗结核抗体, 可采用最简便、灵敏度高的 ELISA 检测此抗体。如果脑脊液中抗结核抗体水平高于血清, 这对结核性脑膜炎的诊断及鉴别诊断具有特殊价值。

## (二) 寄生虫检查

1. 脑脊液涂片检查: 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: 脑囊虫补体结合试验诊断脑囊虫的阳性率可达 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、特异性均很高的螺旋体荧光抗体吸收试验 (FTA-ABS); 其次选用性病研究实验室玻片试验 (VDRL), 其灵敏度为 50%~60%, 特异性为 90%。现多使用快速血清反应素试验 (RPR) 为筛检, 梅毒螺旋体微粒凝集试验 (TPPA) 为梅毒确诊试验。

## 第六节 质量控制与临床应用

### (一) 质量控制

为了给临床诊断提供准确的依据, 必须严格质量控制, 以保证结果的准确性。因此, 脑脊液检验的质量控制应注意统一操作规程、加强室内质控等。

#### 1. 规范操作规程

由于操作方法和判断标准的不统一, 不仅为临床诊断、观察疗效和判断预后带来困难, 也不利于开展脑脊液检验的室内评价。因此, 脑脊液检验应统一操作规程, 采用标准化的检验方法, 并定期检查各种试剂的质量及仪器的性能。

目前, 脑脊液细胞计数和分类计数的室内质控尚无理想的方法。为了提高检验质量, 应该: ①严格操作规程, 控制各种影响因素。②白细胞分类采用染色分类法, 采用玻片离心沉淀法或细胞室沉淀法收集细胞。

#### 2. 设立阳性和阴性对照或质控物

①脑脊液化学和免疫学检验应选择灵敏度和特异性高、操作简便的方法。②对于定性检验, 为了防止假阳性和假阴性结果, 每次都应做阳性和阴性对照, 以保证结果的准确性和可靠性。对于定量检验, 可使用定值的质控物伴随常规检验做室内质控, 以减少结果的误差, 提高检验结果的可靠性和可比性。

### (二) 临床应用

1. 诊断与鉴别诊断中枢神经系统感染性疾病: 对于脑膜炎或脑炎的患者, 通过检查脑脊液压力、颜色, 并对脑脊液进行化学和免疫学、显微镜检查, 不仅可以确立诊断, 而且对鉴别诊断也有极大的帮助。另外, 对细菌性和病毒性脑膜炎的鉴别诊断也可选用 LD、ADA、溶菌酶等指标。

2. 诊断与鉴别诊断脑血管疾病: 头痛、昏迷或偏瘫的患者, 其脑脊液为血性, 首先要鉴别是穿刺损伤出血还是脑出血、蛛网膜下腔出血。若脑脊液为均匀一致的红色, 则可能为脑出血、蛛网膜下腔出血; 若第 1 管脑脊液为红色, 以后逐渐变清, 则多为穿刺损伤出

血；若头痛、昏迷或偏瘫患者的脑脊液为无色透明，则多为缺血性脑病。另外，还可选用LD、AST、CPK等指标诊断或鉴别诊断脑血管病。

3. 辅助诊断脑肿瘤：大约70%恶性肿瘤可转移至中枢神经系统，此时的脑脊液中单核细胞增加、蛋白质增高、葡萄糖减少或正常。因此，脑脊液细胞计数和蛋白质正常，可排除肿瘤的脑膜转移。若白血病患者脑脊液发现白血病细胞，则可诊断为脑膜白血病。脑脊液涂片或免疫学检查发现肿瘤细胞，则有助于肿瘤的诊断。 $\beta$ 2-M、LD、PHI、溶菌酶等指标也有助于肿瘤的诊断。

4. 诊断脱髓鞘病：脱髓鞘病是一类颅内免疫反应活性增高的疾病，多发性硬化症是其代表性疾病。除了脑脊液常规检查外，MBP、免疫球蛋白、AChE等检查也有重要诊断价值。

常见脑或脑膜疾病的脑脊液检验结果见表1-12-14。脑脊液实验室检查对疾病的诊断灵敏度(S)和特异性(Sp)见表1-12-15，脑脊液检查项目分类见表1-12-16。

表1-12-14 常见脑或脑膜疾病的脑脊液检验结果

疾病	外观	凝固	蛋白质	葡萄糖	氯化物	细胞增多	细菌
化脓性脑膜炎	浑浊	凝块	↑	↓	↓	显著,多核细胞	化脓菌
结核性脑膜炎	浑浊	薄膜	↑	↓	↓	中性,淋巴	结核菌
病毒性脑膜炎	透明或微浑	无	↑	正常	正常	淋巴细胞	无
隐球菌性脑膜炎	透明或微浑	可有	↑	↓	↓	淋巴细胞	隐球菌
流行性乙脑	透明或微浑	无	↑	正常或↑	正常	中性,淋巴	无
脑出血	血性	可有	↑	↑	正常	红细胞	无
蛛网膜下腔出血	血性	可有	↑	↑	正常	红细胞	无
脑肿瘤	透明	无	↑	正常	正常	淋巴细胞	无
脑脓肿	透明或微浑	有	↑	正常	正常	淋巴细胞	有或无
神经梅毒	透明	无	正常	正常	↑	淋巴细胞	无

表1-12-15 脑脊液实验室检查对疾病的诊断灵敏度和特异性

疾病	灵敏度	特异性
细菌性、结核性、真菌性脑膜炎	高	高
病毒性脑膜炎、蛛网膜下腔出血、多发性硬化症、中枢神经系统梅毒、感染性多神经根炎	高	中
脑膜恶性疾病	中	高

颅内出血、病毒性脑炎、硬膜下血肿	中	中
------------------	---	---

表 1-12-16 脑脊液检查项目分类

常规检查项目	特定检查项目
脑脊液压力	病原体培养（细菌、梅毒、结核分枝杆菌检测）
细胞总数测定	染色（革兰染色抗酸染色）
细胞分类	真菌和细菌抗原检测 PCR（结核菌、病毒检测）
血浆葡萄糖比值测定	细胞学检查
蛋白质测定	蛋白质电泳、性病研究室（VDRL）、梅毒检查、D 二聚体

表 2 常见脑及脑膜疾病的 CSF 检查结果（表 1-12-14）

疾病	外观	凝固	蛋白	葡萄糖	氯化物	细胞增高	细菌
化脑	浑浊	凝块	↑	↓	↓	显著，多核细胞	化脓菌
结脑	浑浊	薄膜	↑	↓	↓	中性、淋巴	结核菌
病毒	透明或微混	无	↑	正常	正常	淋巴	无
隐球菌	透明或微混	可有	↑	正常或↑	正常	淋巴	隐球菌
神经梅毒	透明	无	正常	正常	↑	淋巴细胞	无
肿瘤	透明	无	↑	正常	正常	淋巴	无

### 第十三章 浆膜腔积液检验

正常情况下，人体的胸腔、腹腔和心包腔、关节腔统称为浆膜腔，内有少量的起润滑作用的液体。病理情况下，浆膜腔内有大量液体滞留而形成浆膜腔积液。根据产生的原因及性质不同，将浆膜腔积液分为漏出液和渗出液。漏出液与渗出液产生机制和原因见表 1-13-1。

表 1-13-1 漏出液与渗出液产生机制和原因

积液	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	血浆清蛋白浓度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
	钠水滞留	充血性心力衰竭、肝硬化和肾病综合症
渗出液	微生物的毒素、缺氧以及炎性介质	结核性、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

润	
外伤、化学物质刺激等	血液、胆汁、胰液和胃液等刺激，外伤

## 第一节 胸腔、腹腔和心包腔积液检查

### (一) 标本采集与保存

积液标本分别行胸腔穿刺术、腹腔穿刺术和心包腔穿刺术采集。胸腔穿刺适应证为：①原因不明的积液或伴有积液症状。②需进行诊断性或治疗性穿刺的患者。腹腔穿刺的适应证为：①新发生的腹腔积液。②已有腹腔积液且有突然增多或伴有发热的患者。③需进行诊断性或治疗性穿刺的患者。心包腔穿刺的适应证为：①原因不明的大量心包积液。②有心包填塞症状需进行诊断性或治疗性穿刺的患者。

穿刺成功后，留取中段液体于无菌的容器内。理学检查、细胞学检查和化学检查各留取 2ml，厌氧菌培养留取 1ml，结核杆菌检查留取 10ml。由于积液极易出现凝块、细胞变性、细菌破坏和自溶等，所以留取标本后应及时送检，不能及时送检的标本可加入适量乙醇以固定细胞成分。理学检查和细胞学检查宜采用 EDTA-Na<sub>2</sub> 抗凝，化学检查宜采用肝素抗凝。另外，还要留取 1 份不加任何抗凝剂，用于检查积液的凝固性。

### (二) 理学检查

1. 量：正常浆膜腔内均有少量的液体。病理情况下液体增多，其量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：肉眼观察浆膜腔积液颜色，分别以淡黄色、黄色、红色、白色、绿色等描述。一般渗出液颜色随病情而改变，漏出液颜色较浅。正常浆膜腔液为淡黄色。病理情况下可出现不同的颜色变化及临床意义（表 1-13-2）。

表 1-13-2 浆膜腔积液的颜色变化及临床意义

颜色	临床意义
红色	见于穿刺损伤、结核、肿瘤、内脏损伤、出血性疾病等
白色	见于化脓性感染、真性乳糜积液、假性乳糜积液。有恶臭气味脓性积液多为厌氧菌感染所致
绿色	铜绿假单胞菌感染
棕色	阿米巴脓肿溃进入胸腔或腹腔
黄色或淡黄色	可见于各种原因的黄疸
黑色	曲霉菌感染
草黄色	多见于尿毒症引起的心包积液

3. 透明度：正常浆膜腔液清晰透明。渗出液因含有大量细菌、细胞而呈不同程度的浑浊，乳糜液因含有大量脂肪呈浑浊外观。漏出液因其所含细胞、蛋白质少，且无细菌而呈清晰透明外观。

4. 凝块：正常浆膜腔液无凝块。漏出液一般不易凝固或出现凝块。渗出液由于含有较多的纤维蛋白原和细菌，细胞破坏后释放凝血活酶，可自行凝固。

5. 比重：比重常采用比重计法和折射仪法测定，其高低与其所含溶质的多少有关。漏出液比重常小于 1.015，而渗出液比重常  $>1.018$ 。

### (三) 化学检查

#### 1. 酸碱度测定

酸碱度测定标本采集于肝素化的真空注射器内，并隔绝外界空气，及时送检。pH 减低对化脓性积液、恶性肿瘤性积液的诊断、预后判断及指导治疗均有一定的临床价值。漏出液 pH  $>7.4$ ，渗出液 pH 偏低。

#### 2. 蛋白质

##### (1) 检测原理

1) 粘蛋白定性检验：浆膜间皮细胞在炎症反应刺激下分泌粘蛋白增加。粘蛋白定性试验又称 Rivalta 试验，粘蛋白是一种酸性糖蛋白，其等电点为 pH 3~5，在稀乙酸溶液中产生白色雾状沉淀。

2) 蛋白质定量检验：浆膜腔积液中蛋白质定量，采用与血清蛋白质相同的双缩脲法测定。积液蛋白电泳可对积液的蛋白组分进行分析。

(2) 参考值：Rivalta 试验：漏出液：阴性。渗出液：阳性。蛋白质定量：漏出液  $<25\text{g/L}$ ，渗出液  $>30\text{g/L}$ 。

(3) 方法学评价：Rivalta 试验是一种简易过筛试验，简便、快速，无需特殊仪器，但只能测定粘蛋白。积液蛋白质定量可测定清蛋白、球蛋白、纤维蛋白原等蛋白质的含量。蛋白电泳可对蛋白组分进行分析，故蛋白质定量和蛋白电泳有助于积液性质的判断。

##### (4) 质量控制

1) 血性浆膜腔积液应离心取上清液进行蛋白质定性或定量试验。

2) 进行 Rivalta 试验时，量筒中的蒸馏水加入冰乙酸后应充分混匀。加入标本后，应在黑色背景下观察结果，如浑浊不明显、中途消失为阴性。

3) 若标本中球蛋白含量过高如肝硬化腹水，Rivalta 试验可呈假阳性。可用下述方法进行鉴别：将标本滴入未加冰乙酸的蒸馏水中，可出现白色雾状沉淀（球蛋白不溶于水）。

4) 人工配制含粘蛋白的溶液做阳性对照，按漏出液成分配制基础液并加入不同量的粘蛋白。

(5) 临床意义：积液中蛋白质的变化对鉴别渗出液和漏出液以及寻找积液的原因有重要意义。

#### 3. 葡萄糖

(1) 检测原理：测定方法同血清葡萄糖定量方法，多采用葡萄糖氧化酶法或己糖激酶法。

(2) 参考值：3.6~5.5mmol/L。①漏出液：较血糖稍减低。②渗出液  $<3.33\text{mmol/L}$ 。

##### (3) 临床意义

1) 判断积液的性质：葡萄糖减低主要见于：①化脓性积液，其次是结核性积液。②类风湿性积液、恶性积液、非化脓性感染性积液、食管破裂性积液。③恶性积液中葡萄糖含量减低，提示肿瘤有广泛转移、浸润，预后不良。④心包积液中葡萄糖减低见于细菌性、结核性、风湿性或恶性积液等。

2) 鉴别腹水的性质: 结核性腹水中葡萄糖与血糖比值为 0.25~0.93; 而肝硬化腹水中葡萄糖与血糖比值为 1.00~3.68。

#### (四) 显微镜检验

##### 1. 细胞计数

###### (1) 检测原理

1) 显微镜计数法: ①直接计数法: 清晰或微浑的浆膜腔积液标本, 可直接计数细胞总数和有核细胞数量。②稀释计数法: 浑浊的浆膜腔积液标本, 需用生理盐水或白细胞稀释液稀释后再做细胞总数计数或有核细胞计数, 结果需乘以稀释倍数。

2) 仪器法: 血细胞分析仪适用于血性积液的检测, 其他积液可采用流式原理的尿液沉渣分析仪检测。

###### (2) 方法学评价:

1) 显微镜计数法: 常用的简便方法, 但受主观因素影响, 结果准确性较差。

2) 仪器法: 可进行浆膜腔积液细胞计数。简便、快速, 可自动化。但病理性标本, 细胞形态改变及细胞碎片可影响仪器计数结果。

###### (3) 质量控制:

1) 细胞计数应在标本采集后 1h 内及时完成, 标本放置过久细胞可破坏, 影响计数结果。

2) 标本中有凝块将影响细胞计数。因此, 细胞计数前应混匀标本, 否则会影响结果的准确性。

3) 应计数 10 个大方格的细胞, 细胞总数和有核细胞计数时应包括间皮细胞。

(4) 参考值: 红细胞: 无。白细胞: 漏出液  $<100 \times 10^6 / L$ , 渗出液  $>500 \times 10^6 / L$ 。

(5) 临床意义: 红细胞计数对鉴别漏出液和渗出液的意义不大, 因为 1 000ml 积液中加 1 滴血液即可使积液呈红色, 如穿刺损伤等。淋巴细胞、中性粒细胞增高对诊断积液的性质有一定的帮助。浆膜腔积液细胞数增高的临床意义见表 1-13-3。

表 1-13-3 浆膜腔积液其他酶学检测及其增高的临床意义

酶学指标	临床意义
ACE	结核性胸水显著增高 ( $>30U/L$ ), 恶性胸水低于血清水平
AMY	胰源性腹腔积液显著增高、消化道穿孔所致腹腔积液或者食管穿孔所致胸腔积液也增高
ALP	恶性浆膜腔积液、小肠狭窄或穿孔所致腹腔积液明显增高, 非肿瘤性积液低于血清水平
$\beta$ -G	结核性积液 $\beta$ -G 显著增高
HA	胸膜间皮瘤 HA 增高

##### 2. 有核细胞分类计数

###### (1) 检测原理

1) 直接分类法: 细胞直接计数后, 将镜头转换为高倍镜, 在高倍镜下根据细胞形态进行有核细胞分类。

2) 染色法: 浆膜腔积液有核细胞分类应在抽取积液后立即离心沉淀, 沉淀物涂片瑞特染色后在油镜下进行有核细胞分类。必要时, 可用细胞玻片离心沉淀仪收集细胞, 以提高细胞分类的准确性。

(2) 方法学评价

1) 直接分类法: 简便、快速, 但准确性差, 如细胞变形则分类困难, 适用于新鲜的清晰或微浑的浆膜腔积液标本。

2) 染色法: 细胞易于识别, 结果准确, 可以发现异常细胞, 为推荐方法。但操作繁琐、费时。

(3) 临床意义: 漏出液中细胞较少, 以淋巴细胞和间皮细胞为主, 渗出液中细胞种类较多。浆膜腔积液细胞分类计数的临床意义见表 1-13-4。

表 1-13-4 浆膜腔积液细胞数增高的临床意义

细胞	数量 ( $\times 10^6/L$ )	临床意义
红细胞	$>100000$	创伤、穿刺损伤、恶性肿瘤、肺栓塞, 以恶性肿瘤最常见
淋巴细胞	$>200$	结核性、肿瘤性积液
中性粒细胞	$>1000$	化脓性积液

(五) 质量控制

浆膜腔积液检验特别是常规检验项目, 目前尚无理想的质控方法, 为了保证检验结果的准确性, 必须严格遵守操作规程, 加强室内质控措施。

1. 统一操作规程: 操作规程不统一势必影响结果的可比性, 为临床诊断、疗效观察、预后判断带来困难。因此浆膜腔积液检验应该统一操作规程, 采用规范化的检验方法, 统一报告方式。

2. 做好室内质控: ①定性试验应做阴性、阳性对照, 防止假阴性和假阳性结果, 保证结果的准确性和可靠性。②定量试验应随常规工作做室内质控, 以提高结果的准确性和可比性。

(六) 临床应用

浆膜腔积液检验对判断积液的性质、病因诊断具有重要价值。但常规检验项目鉴别积液性质符合率较低, 随着检验技术的发展, 化学、免疫学指标的应用, 提高了浆膜腔积液诊断的符合率。在分析检验结果时, 应结合临床综合分析, 才能准确诊断。

目前, 将浆膜腔积液的检验分为三级: ①一级检验: 一般检验项目, 包括比密、总蛋白、Rivalta test、细胞计数、细胞分类计数及细菌学检验。②二级检验: 主要为化学检验, 包括 CRP、LD、ADA、LYS、AMY、葡萄糖等。③三级检验: 主要为免疫学检验, 包括 CEA、AFP、肿瘤特异抗原、铁蛋白等。

1. 渗出液与漏出液的鉴别: 漏出液与渗出液的鉴别项目有许多交叉, 使积液既具有漏出液的性质, 又有渗出液的特点, 如“中间型积液”, 因此应结合临床其他检查结果, 综合分析检验结果。漏出液与渗出液的鉴别见表 1-13-5。

2. 结核性与恶性胸腔积液、良性与恶性腹腔积液: 其鉴别点见表 1-13-6、1-13-7。



表 1-13-5 浆膜腔积液细胞分类计数增高的临床意义

细胞	临床意义
中性粒细胞	化脓性积液、早期结核性积液、肺梗死、膈下脓肿
淋巴细胞	结核性积液、肿瘤、病毒、结缔组织疾病等所致积液
浆细胞	充血性心力衰竭、恶性肿瘤或多发性骨髓瘤浸润浆膜所致积液
嗜酸粒细胞	胸腔积液见于血胸和气胸、肺梗死、真菌或寄生虫感染、间皮瘤，过敏综合症；腹腔积液多见于腹膜透析、血管炎、淋巴瘤、充血性心力衰竭等
间皮细胞	主要见于漏出液，提示浆膜受刺激或损伤
恶性细胞	恶性肿瘤
其他细胞	组织细胞见于炎性积液，含铁血黄素细胞见于陈旧性血性积液

表 1-13-6 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、肿瘤或理性刺激
颜色	淡黄色	黄色、红色、乳白色
透明度	清晰透明	浑浊
比密	<1.015	>1.018
凝固性	不易凝固	易凝固
Rivalta 试验	阴性	阳性
蛋白质定量 (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	<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	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

细菌	无	有
----	---	---

表 1-13-7 结核性与恶性胸腔积液的鉴别

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
Lys (mg/L)	>27	<15
积液 Lys/血清 Lys	>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	结核杆菌	无
细胞	淋巴细胞	可见肿瘤细胞

表 1-13-8 良性与恶性腹腔积液的鉴别

鉴别点	良性	恶性
外观	少见血性	多见血性
总蛋白 (g/L)	>40	20~40
LD (U/L)	接近血清	>200
积液 LD/血清 LD	<0.6	>0.6
FN (mg/L)	<30	>30
铁蛋白 (μg/L)	<100	>500
CEA (μg/L)	<20	>20

续表

鉴别点	良性	恶性
积液 CEA/血清 CEA	<1.0	>1.0
AFP (μg/L)	<100	>100
LYS (mg/L)	增高	减低
CA <sub>125</sub>	正常	增高
细胞学检验	阴性	阳性

## 第二节 关节腔积液检查

### (一) 标本采集与保存

关节腔积液穿刺标本应分装在 3 支无菌试管内，第一管做理学和微生物学检查；第二管加用适量肝素抗凝做化学检查和细胞学检查；第三管不加抗凝剂用于观察积液的凝固性。

## (二) 理学检查

1. 量：正常关节腔内液体极少，约 0.1~2.0ml，且很难采集。在关节炎、创伤和化脓性感染时，关节腔液量增多，且积液的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：正常关节腔液为淡黄色、草黄色或无色粘稠液体。病理情况下可出现不同的颜色变化。常见关节腔积液颜色变化及临床意义见表 1-13-9。

表 1-13-9 常见关节强积液的颜色变化及临床意义

颜色	临床意义
淡黄色	关节腔穿刺损伤时红细胞渗出、轻微炎症
红色	穿刺损伤、创伤、出血性疾病、恶性肿瘤、关节置换术后
乳白色	结核性、慢性类风湿性关节炎，痛风、系统性红斑狼疮等，丝虫病或积液中有大量结晶
乳黄色	细菌感染性关节炎
绿色	绿脓杆菌性关节炎
黑色	褐黄病
金黄色	胆固醇含量增高

3. 透明度：正常关节腔液清晰透明，其浑浊主要与细胞成分、细菌、蛋白质增多有关，多见于炎性积液。炎性病变更重，浑浊越明显，甚至呈脓性。关节腔积液中含有的结晶、纤维蛋白、类淀粉样物、脂肪滴、软组织碎屑等也可致其浑浊，但临床较少见。

4. 粘稠度：正常关节腔液高度粘稠，其高低与透明质酸的浓度和质量呈正相关。炎性积液的粘稠度减低，关节炎越严重，积液的粘稠度越低。重度水肿、外伤引起的急性关节腔积液，因透明质酸被稀释，即使无炎症，粘稠度也减低。粘稠度增高见于甲状腺功能减退、系统性红斑狼疮、腱鞘囊肿及骨关节炎引起的粘液囊肿等。

5. 凝块形成：正常关节腔液由于不含纤维蛋白原及其他凝血因子，因此不发生凝固现象。当关节有炎症时，血浆中凝血因子渗出增多，可形成凝块，且凝块形成的速度、大小与炎症的程度成正比。凝块形成可分为 3 种类型（表 1-13-10）。

表 1-13-10 关节腔积液凝块形成的程度及意义

凝块程度	凝块占试管内积液体积	临床意义
轻度	1/4	骨性关节炎、系统性红斑狼疮、系统性硬化症及骨肿瘤等
中度	1/2	类风湿性关节炎、晶体关节炎
重度	2/3	结核性、化脓性、类风湿性关节炎

## (三) 化学检查

1. 粘蛋白凝块形成试验：正常关节腔液中含有大量的粘蛋白，在乙酸的作用下形成坚实的粘蛋白凝块，有助于反映透明质酸的含量和聚合作用。正常关节腔液的粘蛋白凝块形

成良好，粘蛋白凝块形成不良多见于化脓性关节炎、结核性关节炎、类风湿性关节炎及痛风。而创伤性关节炎、红斑狼疮的粘蛋白凝块形成良好。

2. 蛋白质：正常关节腔液蛋白质为  $11\sim 22\text{g/L}$ （平均  $13\text{g/L}$ ），清蛋白与球蛋白之比为  $4:1$ ，无纤维蛋白原。其增高主要见于化脓性关节炎，其次是类风湿性关节炎和创伤性关节炎。关节腔出现炎症改变时，滑膜渗出增多，使关节腔积液中的总蛋白、清蛋白、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：正常关节腔液葡萄糖为  $3.3\sim 5.3\text{mmol/L}$ 。其减低见于化脓性关节炎、结核性关节炎、类风湿性关节炎，以化脓性关节炎减低最明显。关节腔积液葡萄糖定量测定时应注意：①关节腔积液葡萄糖测定，最好与空腹血糖测定同时进行，特别是禁食或低血糖时。②采用含氟化物的试管留取积液标本，并且采集后立即检测，以防白细胞将葡萄糖转化为乳酸，影响其准确性。

#### （四）显微镜检查

##### 1. 细胞计数

（1）检测原理：①清晰或微浑的关节腔积液标本，可直接计数细胞总数和白细胞数。②浑浊关节腔的积液标本，需用生理盐水稀释后再做细胞总数和白细胞数计数，结果需乘以稀释倍数。

（2）参考值：无红细胞。白细胞： $(200\sim 700)\times 10^6/\text{L}$ 。

（3）临床意义：关节腔积液白细胞计数对诊断关节疾病是非特异的，但可筛选炎症性和非炎症性积液。化脓性关节炎的细胞总数往往超过  $50\ 000\times 10^6/\text{L}$ ；急性尿酸盐痛风、类风湿性关节炎时细胞数可达  $20\ 000\times 10^6/\text{L}$ ；淋病奈瑟菌感染的早期，关节腔积液细胞总数一般不增高。

##### 2. 细胞分类计数

（1）检测原理： $\text{WBC}>6\ 000\times 10^6/\text{L}$ ，可以直接涂片。如果细胞数少，需将积液离心后，取沉淀物涂片瑞特染色后进行检查。

（2）参考值：单核-吞噬细胞：0.65。淋巴细胞：0.10。中性粒细胞：0.20。偶见软骨细胞和组织细胞。

##### （3）临床意义

1) 中性粒细胞：炎症性积液中中性粒细胞增高  $>0.75$ ，化脓性关节炎积液的中性粒细胞高达 0.95。风湿性关节炎、痛风、类风湿性关节炎的中性粒细胞  $>0.50$ 。非感染性疾病如创伤性关节炎、退变性关节炎、肿瘤等，中性粒细胞小于 0.30。

2) 淋巴细胞：其增高主要见于类风湿性关节炎早期、慢性感染、胶原疾病等。

3) 单核细胞：其增高可见于病毒性关节炎、血清病、系统性红斑狼疮等。

4) 嗜酸粒细胞：其增高可见于风湿性关节炎、风湿热、寄生虫感染及关节造影术后等。

3. 结晶：采用光学显微镜，最好采用偏振光显微镜观察积液中结晶的类型。正常关节腔液结晶为阴性。其检查主要用于鉴别痛风和假性痛风。关节腔积液中常见结晶的特点和临床意义见表 1-13-11。

表 1-13-11 关节腔积液结晶的特点和临床意义

结晶	折光性	形状	大小 (μm)	临床意义
尿酸盐	强	细针状或杆状	5~20	痛风
焦磷酸钙	弱	棒状或菱形	1~20	软骨钙质沉着症
羟磷灰石	无	单个六边形或成簇光亮钱币形	3~65	急、慢性关节炎, 骨性关节炎
胆固醇	弱	针状或菱形	5~40	类风湿性、结核性、骨性关节炎
草酸钙	弱	菱形或四方形	2~10	慢性肾衰竭、先天性草酸盐代谢障碍所致关节炎
类固醇	强	针状或菱形	1~40	注射类固醇
滑石粉	强	十字架	5~10	手术残留所致

### (五) 病原生物学检查

大约 75%链球菌、50%革兰阴性杆菌及 25%淋病奈瑟菌感染的关节腔积液中可发现致病菌。如果怀疑结核性感染可行抗酸染色寻找结核杆菌, 必要时行关节腔积液结核杆菌培养或 PCR 检查, 以提高阳性率。大约 30%细菌性关节炎的关节腔积液中找不到细菌, 因此, 需氧菌培养阴性时, 不能排除细菌性感染, 还应考虑到厌氧菌和真菌的感染。

### (六) 关节腔积液检验质量控制

关节腔穿刺液分析技术已应用于临床 40 多年, 该技术已成为关节炎最有价值的检查方法之一。关节腔积液检验已成为关节炎的重要检验方法, 但其结果的准确性直接影响临床诊断。目前尚无理想的质控方法。因此, 为了保证关节腔积液检验质量应做到: ①严格执行操作规程。②标本及时检验。③化学和免疫学检验标本需预先用透明质酸消化处理, 以减低标本的粘稠度。④结晶检验最好采用偏振光显微镜。⑤采用生理盐水合理稀释积液, 不能用草酸盐或乙酸稀释。以防粘蛋白凝块的形成。⑥细胞分类采用染色分类法。

### (七) 临床应用

临床上将关节腔积液分为 4 类。常见关节腔积液的特征见表 1-13-12。

表 1-13-12 常见关节腔积液的特征

项目	非炎症性积液	炎症性积液	化脓性积液	出血性积液
病因	骨关节病、创伤性关节病	类风湿性、晶体性关节炎	化脓性、结核性关节炎	关节创伤、出血性疾病、多度的抗凝治疗
外观	淡黄色、清亮	黄色、微浑	黄或乳白色、浑浊	红色、浑浊
粘稠度	高	减低	低	低
白细胞	增高	中度增高	明显增高	增高
葡萄糖	正常	减低	中度减低	正常
细菌	阴性	阴性	阳性	阴性
结晶	阴性	阳性/阴性	阴性	阴性
乳酸	增高	中度增高	明显增高	正常
RF	阴性	阳性/阴性	阴性	阴性

## 第十四章 精液检查

### 一、概述

#### （一）精液的组成

精液主要由精子和精浆部分组成。精子产生于睾丸，在附睾内发育成熟，是男性的生殖细胞，约占精液的5%，其余95%为精浆。精浆是男性附性腺分泌的混合液，是运送精子的载体，也是营养精子、激发精子活力的重要物质。精液中含有大量维持精子生命活动的物质，如果糖、酸性磷酸酶、5-核苷酸酶、精胺、无机盐等（锌、镁、钙、铜、铁、钾、钠等）及其他各种具有催化作用的酶等。此外，精液中尚含有少量白细胞、生殖道脱落的上皮细胞等。

#### （二）精液检查的主要目的

1. 评估男性生育功能，提供不育症诊断和疗效观察的依据。
2. 辅助诊断男性生殖系统疾病。
3. 输精管结扎术疗效观察。
4. 计划生育科研。
5. 为体外授精和精子库筛选优质精子。
6. 法医学鉴定。

### 二、标本采集

#### （一）标本采集

采集标本前应禁欲3~5天、采前排净尿液；将一次射出的全部精液直接排入洁净、干燥的容器内（不能用乳胶避孕套）。采集微生物培养标本须无菌操作。送检时间不超过1h。

#### （二）标本运送

精液采集后应立即保温送检（<1h）。温度低于20℃或高于40℃影响精子活动。

#### （三）标本采集次数

一般应间隔1~2周检查一次。连续检查2~3次。

### 三、理学检查

#### （一）精液的外观和气味

正常人刚射出的精液一般为微混浊的灰白色，有一股腥味，自行液化后为半透明的乳白色，久未射精者的精液可略显浅黄色。红色或酱油色：见于前列腺和精囊腺炎症、结核、肿瘤或结石；黄色脓性精液见于前列腺炎或精囊炎。

#### （二）精液量

通常用规格为10ml刻度吸管测定精液全量。正常男性一次排精量为2~6ml，平均3.5ml。精液量少于1ml或>8ml，即可视为异常，不利于生育。

#### （三）精液液化时间

指新排出的精液由胶冻状转变为自由流动状态所需的时间。室温下正常精液在排出后30min内自行液化。刚离体的精液由于精囊腺分泌的凝固蛋白作用而呈稠厚的胶冻状，在前列腺分泌的蛋白分解酶作用下逐渐液化。室温下正常精液在排出后30min内自行液化，

若超过 60min 仍未液化，则称为精液迟缓液化症。前列腺炎时，可引起蛋白酶缺乏，导致液化时间延长，甚至不液化，抑制精子活动力，从而减少受孕机会。

检测方法：常用吸管法，即刚排出的精液较为稠厚，一般难以吸入吸管，置 37℃ 水浴中，每 5min 检查一次，直至液化，记录凝固精液至完全液化的时间。

#### （四）精液粘稠度

系指完全液化后的粘度。粘稠度增加的精液常伴有不液化，影响精子活力，致使精子穿透障碍；粘稠度下降，见于先天性无精囊腺及精子浓度太低或无精子症。检测方法：

1. 直接玻棒法：将玻棒插入精液标本，提棒时可拉起粘丝，正常精液粘丝长度不超过 2cm。粘稠度增加时，精液悬滴可形成长于 2cm 的长丝。

2. 粘度计法：测定 0.5ml 精液通过粘度计所需的时间即为精液粘稠度。

#### （五）精液酸碱度（pH）

用精密 pH 试带或酸度计在射精后 1h 内测定。正常精液 pH 为 7.2~7.8，pH<7.0，伴少精症，常反映输精管道阻塞、先天性精囊缺如或附睾病变；pH>7.8 常见于急性前列腺炎、精囊炎或附睾炎。

### 四、化学检查

#### （一）精浆果糖测定

##### 1. 测定方法及评价

①间苯二酚比色法（国内常用）：9.11~17.67mmol/L；②吡啶显色法： $\geq 13 \mu\text{mol}/1$  次射精，本法为 WHO 推荐方法。

##### 2. 临床意义

①先天性精囊腺缺如，果糖为阴性。②精囊腺炎时，果糖含量减低。③在无精症和射精量少于 1ml 者，若精浆中无果糖为精囊阻塞；有果糖，则为射精管阻塞。

#### （二）精浆 $\alpha$ -葡萄糖苷酶测定

##### 1. 测定方法及评价：

比色法可测定精浆中  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性。葡萄糖氧化酶法测定葡萄糖的生成量，反映  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性。国内临床上较为常用。

2. 临床意义：精浆  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性在一定程度上可反映附睾的功能状态。对某些与附睾有关的不育症，如阻塞性无精子症， $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性下降，具有肯定性诊断价值；对鉴别输精管阻塞病变所致与睾丸生精障碍所致的无精子症具有一定意义。

#### （三）精浆乳酸脱氢酶同工酶-X（LD-X）测定

1. 测定方法及评价：LD-X 的电泳位置在 LD<sub>3</sub>-LD<sub>4</sub> 之间。其活性测定多采用聚丙烯酰胺凝胶电泳、酶联染色及光度计扫描法，求得其相对百分率。国内临床上较为常用。

2. 参考值：LD-X 相对活性  $\geq 42.6\%$ 。

3. 临床意义：精子发生缺陷时无 LD-X 形成。少精或无精者可致 LD-X 活性减低，精液常规检查正常的不育患者，也可因 LD-X 活性下降而引起不育。

#### （四）精浆酸性磷酸酶测定（ACP）

1. 参考值：80~1000U/ml（速率法）；>200U/1 次射精（ $\beta$ -硝基酚法）。

2. 临床意义：前列腺炎时 ACP 活性减低；前列腺癌和前列腺肥大时，ACP 活性增高。

### 五、显微镜检查

#### （一）涂片检查

精液液化后，取 1 滴混匀的精液置于载玻片上，通常在低倍镜下粗略观察有无精子，是活动精子还是不活动精子。若遇无精子症，应将标本在 600g 下离心 15min 后取沉淀物重复检查。

## （二）检测指标

### 1. 精子活动率：是对精子活力的定性检查。

（1）检测方法：取液化均匀的精液 1 滴置载玻片上，加盖玻片放置片刻，在高倍镜下观察 100 个精子，计数活动精子与不活动精子的比例即为精子的活动率。

（2）参考值：正常人精液在排精 30~60min 内，精子活动率应  $>60\%$ 。

### 2. 精子存活率：是对精子存活率的观察。

（1）检测方法：取液化均匀的精液 1 滴置载玻片上，加等量染色液（伊红 Y、台盼蓝等）混匀，放置片刻，推成薄片，在高倍镜下观察计数 100 个精子中不着色的精子与着色精子的比例即为精子的存活率。一般精子死亡后，细胞膜的完整性受损，失去屏障功能，易于着色。

（2）参考值：有生育力男性精子存活率应  $\geq 75\%$ 。

### 3. 精子活动力：指精子向前运动的能力，是直接反映精子质量的一项指标。

（1）检测方法：取液化均匀的精液 1 滴置载玻片上，盖上盖玻片，放置片刻，在高倍镜下观察 5~10 个视野，计数 100 个精子并进行活动力分级，以百分率表示。

（2）结果判断：WHO 建议将精子活动力分为 4 级：a. 快速前向运动（III 级：直线运动）；b. 慢或呆滞的前向运动（II 级：运动缓慢）；c. 非前向运动 I 级：原地运动；d. 不动（0 级：不活动）。

（3）参考值：WHO 规定正常生育者精子活动力：射精后 60min 内，a 级精子应  $>25\%$ ；或 a 和 b 级精子的总和  $>50\%$ 。

（4）临床意义：精子活动率减低，精子存活率减低，0 级、I 级精子 40% 以上，见于精索静脉曲张，泌尿生殖系感染如前列腺炎等及使用某些药物如抗疟药，雌激素等。

## （三）精子计数

是指单位体积中的精子数，即精子浓度。精子计数乘以 1 次射精量，即 1 次射精的精子总数。测定方法及评价。

1. 粗略估计法：取液化均匀的精液 1 滴置载玻片上，盖上盖玻片，放置片刻，在高倍镜下观察 5 个视野，取每个视野的精子平均数  $\times 10^9$ ，即为大概精子数。该法操作简便，但只能作粗略估计。

2. 精确计数法：①血细胞计数板计数。只能用于精子数量的观察，不能同时进行精子活动率和活动度、运动轨迹和速度等的检查等。②Makler 精子计数板。它的特点是简便、快速，精液不需要稀释，一次加样不但可计数精子密度，还可分析精子的活动力和活动率。③计算机辅助精液分析（CASA）系统是利用图像和计算机视屏技术来进行精子计数，利用 CASA 计数精子简单、快速，但易受精液中细胞成分和非精子颗粒物质的影响。

3. 参考值：精子总数  $\geq 40 \times 10^6 / \text{次}$ ，精子浓度  $\geq 20 \times 10^9 / \text{L}$ 。

4. 临床意义：精子数量减低可见于：精索静脉曲张，先天性或后天性睾丸疾病，如睾丸畸形、萎缩、结核、淋病、炎症等，输精管或精囊缺如，重金属损害，如铅、镉中毒或放射性损害，某些药物，如抗癌药等或长期服用棉酚和 50 岁以上男性精子数逐年减少。

## （四）精子形态检查

### 1. 检测方法及评价



(1) 涂片染色检查：将精液涂成薄片、干燥、固定后进行 H-E 染色，或不固定直接进行瑞-吉染色，油镜下计数 200 个精子，报告正常或异常精子的百分率。本法不需特殊设备，目前临床上多用此法进行精子形态观察。

(2) 相差显微镜检查：用相差显微镜（600×）直接对新鲜精液湿片观察。本法操作较简单，但需特殊设备，目前在临床上开展较少。

## 2. 精子形态

(1) 正常形态：正常精子形似蝌蚪状，由头、体（颈、中段）、尾三部分构成。头部正面呈卵圆形，侧面呈扁平梨形；尾部轮廓直而规则，长约 5~7 /  $\mu\text{m}$ ，宽 1  $\mu\text{m}$ ；尾部细长，一般长约 50~60  $\mu\text{m}$ 。

(2) 异常形态：①头部异常：包括大头、小头、锥形头、梨形头、无定形头等。②体部异常：主要指肿胀和不规则。③尾部异常：包括短尾、多尾、发夹状尾及断尾等。

(3) 临床意义：正常精液中的异常精子应 < 20%。超过 40% 即会影响到精液质量，超过 50% 常可导致不育。感染、外伤、高温、放射线、酒精中毒、药物和精索静脉曲张均可使畸形精子数量增加。

## (五) 其他细胞

1. 未成熟生殖细胞：是指各阶段发育不完全的生精细胞，包括精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞及发育不全的精子细胞。参考值：未成熟生精细胞 < 1%。临床意义：正常人成熟精细胞 > 99%，在病理状况下，当曲细精管受损（如药物或其他因素），精液中可出现较多的未成熟生精细胞。

## 2. 红细胞、白细胞、上皮细胞

(1) 红细胞（偶见）和白细胞：正常 < 5 / HP。在生殖道炎症、结核、恶性肿瘤时，精液中红、白细胞数可增高。

(2) 上皮细胞：正常偶尔可见前列腺上皮细胞，增多见于前列腺增生。

3. 癌细胞：精液中查见癌细胞对生殖系恶性肿瘤的诊断将提供重要依据。

## 六、免疫学检查

### 抗精子抗体

1. 混合抗免疫球蛋白试验（MAR）：用混匀的未加处理的新鲜精液，与包被 IgG 的胶乳粒或绵羊红细胞混合，再加入特异的单克隆抗 IgG 抗血清。若胶乳粒和活动精子之间形成混合凝集即表示精子表面存在 IgG 抗体。

(1) 参考值：阴性。

(2) 临床意义： $\geq 50\%$  的精子与颗粒粘附，可能为免疫性不育；10%~50% 的精子与颗粒粘附，可疑为免疫性不育。

2. 免疫珠试验：免疫珠是免抗人免疫球蛋白与聚丙烯酰胺通过共价结合的一种微球，此试验可同时检测 IgG、IgA、IgM 类型的抗体。

(1) 参考值：免疫珠粘附率 < 20%。

(2) 临床意义：粘附率  $\geq 20\%$  为免疫珠粘附为阳性，但此时，精子在宫颈粘液中的穿透和体内受精无明显受损倾向；粘附率  $\geq 50\%$  有临床意义。

3. 精子凝集试验（SAT）：血清、生殖道分泌物中存在的 AsAb 与精子膜上抗原相结合，精子可出现各种各样的凝集现象，如头-头，头-尾，尾-尾凝集。

(1) 参考值：阴性。

(2) 临床意义：阳性结果提示血清、生殖道分泌物中存在 AsAb。

## 七、微生物学检查

男性生殖道任何部位感染均可从精液中检出微生物。常见的有金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、淋球菌、支原体、衣原体等。精液的微生物学检查应在常规消毒的条件下，以手淫法采集精液于无菌容器内，常规涂片进行革兰染色，亦可于 37℃ 液化 30min 后作细菌培养。精液中淋球菌、衣原体等检查方法见阴道分泌物检查。

## 八、精子功能检查

精子低渗肿胀试验 (HOS)：

1. 检测方法：将精子置入低渗溶液中，由于渗透压改变，精子为维持内外体液间的平衡，水分可通过精子膜进入精子，由于精子尾部的膜更柔软、疏松，所以尾部可肿胀 / 弯曲。用相差显微镜观察，计算 100~200 个精子中出现肿胀的百分率。

2. 结果判断 a 型，未出现肿胀；b 型，尾尖肿胀；c 型，尾尖弯曲肿胀；d 型，尾尖肿胀伴弯曲肿胀；e 型，尾弯曲肿胀；f 型，尾粗短肿胀；g 型，全尾部肿胀。

3. 参考值：g 型肿胀精子率 > 50%。

4. 临床意义：精子尾部低渗肿胀试验可作为体外精子膜功能及完整性的评估指标，预测精子潜在的受精能力。有研究表明，不育症的精子尾部肿胀率明显减低。

## 九、计算机辅助精子分析

### (一) 概述

计算机辅助精子分析 (CASA) 是利用计算机视屏技术，通过一台与显微镜相连接的录像机，确定和跟踪个体精子细胞的活动和计算精子活动的一系列“运动学”参数。CASA 对精液既可定量分析精子总数、活动力、活动率，又可分析精子运动速度和运动轨迹特征，所有参数均按 WHO 规定的标准设定，在分析精子运动能力方面显示了其独特的优越性。在进行 CASA 时，加 7  $\mu$ l 精液标本于专门的载玻片上，然后加 1 张规格为 22mm  $\times$  22mm 特制的盖玻片；也可使用特殊的精子计数板。

### (二) CASA 精子运动速度和运动轨迹特征

主要参数有：①轨迹速度 (VCL)：也称曲线速度，即精子头部沿其实际行走曲线的运动速度。②平均路径速度 (VAP)：精子头沿其空间平均轨迹的运动速度，这种平均轨迹是计算机将精子运动的实际轨迹平均后计算出来的，可因不同型号的仪器而有所改变。③直线运动速度 (VSL)：也称前向运动速度，即精子头部直线移动距离的速度。④直线性 (LIN)：也称线性度，为精子运动曲线的直线分离度，即  $VSL / VCL$ 。⑤精子侧摆幅度 (ALH)：精子头实际运动轨迹对平均路径的侧摆幅度，可以是平均值，也可以是最大值。不同型号的 CASA 系统由于计算方法不一致，因此相互之间不可直接比较。⑥前向性 (STR)：也称直线性，计算公式为  $VSL / VAP$ ，亦即精子运动平均路径的直线分离度。⑦摆动性 (WOB)：精子头沿其实际运动轨迹的空间平均路径摆动的尺度，计算公式为  $VAP / VCL$ 。⑧鞭打频率 (BCF)：也称摆动频率，即精子头部跨越其平均路径的频率。⑨平均移动角度 (MAD)：精子头部沿其运动轨迹瞬间转折角度的时间平均值。⑩运动精子密度：每毫升精液中  $VAP > 0 \mu\text{m} / \text{s}$  的精子数。

## 十、精液检查的质量控制

1. 标本处理要规范：标本收到后，应立即放入 37℃ 水浴中保温观察精液的液化时间和粘稠度。注意标本的正确收集。

2. 避免交叉污染:用于吸取标本吸管和测量精液量的刻度试管,应一人一管,避免吸管、试管等的交叉污染。

3. 尽可能用标准化检测方法:精液检查的项目较多,方法的标准化是结果准确的可靠保证。尽可能保证在同一实验室或同一地区,检查的项目、方法和结果判断一致。

4. 注意安全防护:由于精液标本的特殊性,试验操作者应做好安全防护,防止被精液污染所造成的意外伤害。用过的精液标本应用火烧毁,也可将其浸入 5%甲酚皂溶液中 24h 或 0.1%过氧乙酸中 12h 后倒掉。

## 第十五章 前列腺液检查

前列腺液是精液的重要组成部分,约占精液的 30%。前列腺液检查主要用于前列腺炎、结石、肿瘤和前列腺肥大的诊断及疗效观察,也可用于性传播性疾病检查。

### 一、标本采集

标本一般由临床医师行前列腺按摩术采集。标本量少时可直接滴在载玻片上,量多时收集在洁净干燥的小试管内,立即送实验室并及时进行检查。如需做细菌培养,需无菌操作,用无菌容器收集标本。疑为前列腺结核、脓肿或肿瘤的患者禁忌前列腺按摩。

### 二、理学检查

1. 量:成年男性经前列腺按摩一次可采集数滴至 1ml 前列腺液。前列腺炎时前列腺液减少。

2. 外观:为较稀薄、不透明的淡乳白色液体。黄色混浊呈脓性或脓血性:见于严重的化脓性前列腺或精囊炎;红色:见于前列腺炎、精囊炎、前列腺结核、结石和恶性肿瘤等或按摩时用力过重。

3. 酸碱度:正常呈弱酸性, pH 为 6.3~6.5。50 岁以上者或混入精囊液较多时 pH 可增高。

### 三、显微镜检查

#### (一) 检查方法

一般可用非染色法前列腺液直接涂片后,置高倍镜下观察;也可用瑞氏染色、巴氏染色或苏木精-伊红染色法(HE)等作细胞学形态检查。

#### 1. 非染色检查

(1) 卵磷脂小体:为圆形或卵圆形,大小不等,多 $>$ 血小板,小于红细胞,折光性强。正常前列腺液涂片中数量较多,分布均匀。前列腺炎时数量常减少或消失,分布不均,有成簇分布现象。

(2) 红细胞:正常前列腺液中偶见红细胞( $<5$  / HP)。前列腺炎、结核、结石和恶性肿瘤时可见红细胞增多;按摩时用力过重,也可导致出血而使红细胞增多。

(3) 白细胞:正常前列腺液中白细胞散在,一般 $<10$  / HP。前列腺炎时白细胞增多,并成堆分布,同时亦可伴有多量上皮细胞。如白细胞 $>10\sim 15$  / HP,即可诊断为前列腺炎。

(4) 前列腺颗粒细胞:胞体较大,多为白细胞的 3~5 倍,正常不超过 1 / HP,老年人增多。前列腺炎时可增加至数 10 倍并伴大量脓细胞。

(5) 淀粉样小体：体积较大，圆形或卵圆形，约为白细胞的10倍，呈微黄色或褐色的同心圆线纹层状结构，正常人前列腺液中可存在淀粉样小体，并随年龄增长而增多，一般无临床意义。

(6) 滴虫：发现滴虫，可诊断为滴虫性前列腺炎。

(7) 精子：多为前列腺按摩时，精囊受挤压使少量精子溢出，无临床意义。

2. 染色检查：当直接镜检见到畸形、巨大细胞或疑有肿瘤时，应作巴氏或HE染色，有助于前列腺肿瘤和前列腺炎的鉴别。

### (二) 微生物学检查

前列腺液可直接涂片，作革兰染色或抗酸染色；但直接涂片染色，微生物检出率低，且不能鉴别，故宜作细菌培养或用其他检查方法进行微生物学检查。

## 第十六章 阴道分泌物检查

阴道分泌物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，此外还有子宫内膜、阴道黏膜的分泌物。常用于女性生殖系统炎症、肿瘤的诊断及雌激素水平的判断。

### 一、标本采集

阴道分泌物通常由妇产科医师采集。标本采集前24h内禁止性交、盆浴、阴道灌洗和局部上药等。一般用消毒棉拭子自阴道深部或阴道穹隆后部、宫颈管口等处取材。制备成生理盐水涂片直接观察阴道分泌物，或制备成薄涂片，经固定、巴氏、姬姆萨或革兰染色后，进行肿瘤细胞或病原微生物检查。

### 二、一般性状检查

1. 外观：正常阴道分泌物，为白色稀糊状、无气味、量多少不等。其性状与雌激素水平及生殖器充血情况有关。

大量无色透明粘白带：常见于应用雌激素药物后及卵巢颗粒细胞瘤；

脓性白带：黄色有臭味，化脓性细菌感染引起，见于慢性宫颈炎、老年性阴道炎、子宫内膜炎、宫腔积脓、阴道异物等；

黄色泡沫状脓性白带，常见于滴虫性阴道炎；

豆腐渣样白带：常见于真菌性阴道炎；

血性白带，有特殊臭味：见于宫颈癌、宫颈息肉、子宫黏膜下肌瘤、慢性重度宫颈炎及使用宫内节育器的副反应等。

2. pH：正常阴道分泌物呈酸性，pH4~4.5。pH增高见于各种阴道炎，幼女和绝经后的妇女。

### 三、清洁度检查

#### (一) 检测方法

标本加生理盐水1滴，涂片后高倍镜检查，根据所见的上皮细胞、白细胞（或脓细胞）、阴道杆菌与杂菌的数量进行判断，并划分清洁度：I、II度为正常，III、IV度为不清洁（表1-16-1）。

表 1-16-1 阴道清洁度判断标准

清洁度	杆菌	上皮细胞	白(脓)细胞(个/HP)	球菌	临床意义
I	++ ++	++++	0~5	-	正常
II	++	++	5~15	-	正常
III	-	-	15~30	++	提示炎症
IV	-	-	>	++ ++	严重阴道炎

#### (二) 参考值

I~II度。

#### (三) 临床意义

1. I、II度：为正常。
2. III、IV度：为不清洁，常可同时发现病原微生物，提示存在感染引起的阴道炎。
3. 阴道清洁度与卵巢功能有关：排卵前期阴道趋于清洁。雌激素减低阴道不清洁。

### 四、病原学检查

#### (一) 阴道毛滴虫

可引起滴虫性阴道炎。为寄生于阴道的致病性原虫，呈梨形，大小为白细胞的2~3倍，前端有4根前鞭毛，生长的最适pH为5.5~6.0，适宜温度为25℃~42℃。

##### 检测方法评价：

1. 直接涂片法：将阴道分泌物与少许生理盐水混合涂片，高倍镜下观察。直接湿片高倍镜检查简便易行，是最常用的方法。阳性诊断率较低(约50%)。革兰或瑞特染色油镜观察可提高检出率。标本送检应注意保温。
2. 胶乳凝集快速检查法(LAT)：本法操作简便、快速，敏感性和特异性高，优于直接湿片镜检和培养法，适合于临床常规应用。
3. 培养法：阳性率可达98%。但本法操作复杂，不宜常规应用。

#### (二) 真菌检查

阴道真菌有时在阴道中存在而无害，但在阴道抵抗力减低时容易发病，真菌性阴道炎以找到真菌为诊断依据。阴道真菌多为白色假丝酵母菌，偶见阴道纤毛菌、放线菌等，使人类致病者85%为白色念珠菌。

##### 检测方法评价：

1. 湿片检查：同阴道滴虫检查。本法简便易行，是目前临床上最常用的方法。必要时可进行革兰染色后油镜观察。
2. 浓集法检查：取标本于清洁干燥试管内，加2.5mol/L NaOH溶液约1ml，混匀后置37℃水浴中3~5min，取出低速离心5min，取沉淀物作涂片镜检，可提高阳性检出率。
3. 培养法：本法阳性率高。但操作复杂、费时，临床应用较少。

#### (三) 加德纳菌检查

阴道加德纳菌为革兰染色阴性或染色不定(有时成革兰染色阳性)的小杆菌，和某些厌氧菌共同引起的细菌性阴道炎属性传播疾病之一。

加德纳菌性阴道炎的实验室诊断依据为：①线索细胞（clue cell）：为阴道鳞状上皮细胞粘附大量加德纳菌及其他短小杆菌后形成。②pH：>4.5。③胺试验：阳性。④乳酸杆菌：无乳酸杆菌（革兰阳性大杆菌），或<5个/油镜视野。

#### （四）淋球菌

淋病是发病率较高的性传播疾病，是淋球菌（革兰阴性双球菌），在泌尿生殖道黏膜引起的特殊炎症。目前，淋球菌的检查方法主要有涂片法、培养法、免疫荧光检查及淋球菌快速诊断法等。

检测方法及评价：

1. 涂片法：以宫颈管内分泌物涂片阳性率最高。女性阴道分泌物，因杂菌多等原因WHO不推荐用革兰染色检查女性患者，而推荐用亚甲蓝染色。
2. 培养法：本法对女性患者阳性检出率为80%~90%，是当前WHO推荐的唯一方法。
3. 直接荧光抗体染色法：本法简便、快速，且对死菌也可呈现阳性。但特异性欠佳，且要求特殊设备。
4. PCR技术检测：本法对淋病奈瑟菌数量少、杂菌过多的标本进行检测，有较高的特异性和灵敏度。

#### （五）衣原体

沙眼衣原体感染目前已成为最流行的性传播疾病。标本主要来自泌尿生殖道拭子或刮片，少数取前列腺液、精液、关节液或输卵管、直肠活检物。

检测方法及评价：

1. 衣原体培养分离法：本法可靠但技术难度大，特异性、敏感性均不理想，且费时费钱，目前临床上已很少应用。
2. 衣原体细胞学检查：本法虽操作简便，但特异性和敏感性较差，阳性率较低。
3. 衣原体抗原的检测：包括酶免疫反应（EIA）和直接荧光抗体检测（DFA）。目前国内已有上述方法试剂盒供应。需要有经验的实验室技术人员操作。
4. PCR技术检测：本法敏感性高，尤其对无症状感染者的检测有高的敏感性和特异性。

### 五、阴道分泌物检查的质量控制

阴道分泌物检查的质量控制包括：熟练掌握标本中的各种成分的辨认、注意治疗用药物的影响和操作的规范化。

## 第十七章 羊水检查

### 一、概述

妊娠期间，羊膜腔中的液体称为羊水。妊娠早期羊水来自两个途径：其一为母体血浆通过胎膜进入羊膜腔的透析液，其二为来自胎儿脐带和胎盘表面羊膜及尚未角化的胎儿皮肤产生的透析液。妊娠11~14周以后胎儿尿排入羊水，成为羊水的主要来源之一，羊水中，水分占98%~99%，有机物和无机盐为1%~2%。此外，尚有少量白细胞和胎儿脱落上皮细胞。

#### （一）适应证

由妇产科医师采集标本送实验室检查。羊水检查的适应证：

- ①高危妊娠有引产指征。

- ②既往有多次原因不明的流产、早产或死胎史，疑有胎儿遗传性疾病者。
- ③夫妇双方或一方有染色体异常或亲代患有代谢性缺陷病者及高龄孕妇。
- ④性连锁遗传病携带者需确定胎儿性别时。
- ⑤疑为母子血型不合。
- ⑥妊娠早期接受过大剂量电离辐射或患过严重病毒感染性疾病。
- ⑦检查胎儿有无宫内感染。

#### (二) 标本采集

穿刺时间的确定取决于羊水检查的目的。

1. 诊断胎儿是否患有遗传性疾病或进行胎儿性别的基因诊断：一般选择妊娠 16~20 周经羊膜穿刺，取羊水 20~30ml 送检。

2. 判断胎儿成熟度及疑有母婴血型不合则在妊娠晚期抽取羊水 10~20ml 送检。

抽出的羊水标本应立即送检，否则，应置 4℃ 冰箱保存。但也不能超过 24h。采集的羊水标本经 1000~2000r/min、离心 10min 后，取其上清液作生化检查。

## 二、羊水理化检查

### (一) 羊水理学检查

#### 1. 外观

(1) 正常：妊娠早期羊水为无色透明或淡黄色液体，妊娠晚期略显混浊。

(2) 异常：①胎儿窘迫时，羊水中因混有胎粪而呈黄绿色或深绿色。②母子血型不合时，羊水中因含有大量胆红素而成为金黄色。③羊膜腔内明显感染时，羊水呈脓性混浊且有臭味。④胎盘功能减退或过期妊娠，羊水为黄色、粘稠且能拉丝。

2. 比重及酸碱度：正常足月妊娠的羊水比重为 1.007~1.025、pH 为 7.20~7.60。

3. 渗透压及粘度：妊娠后期羊水渗透压为 230~270mmol/kg、粘度为 1.75~1.85。

4. 量：正常妊娠 16 周时约为 250ml，妊娠晚期约 1000ml (800ml~1200ml)，足月妊娠羊水量约为 800ml，羊水在胎儿与母体间不断交换，维持动态平衡。

临床意义：

(1) 羊水过多：妊娠期羊水量超过 2000ml 为羊水过多。临床意义：羊水过多见于：胎儿畸形、胎盘脐带病变、孕妇及胎儿各种疾病、多胎妊娠、原因不明特发性羊水过多。

(2) 羊水过少：妊娠晚期羊水量少于 300ml。临床意义：羊水过少见于：胎儿畸形、过期妊娠、胎儿宫内发育迟缓。

### (二) 羊水化学检查

羊水无机成分主要有：电解质钠、钾、氯、钙、镁；随着妊娠时间的增加而增加，足月妊娠羊水 PCO<sub>2</sub> 为 60mmHg。有机成分主要有：蛋白质、胆红素、葡萄糖、肌酐、尿酸、尿素。羊水酶有： $\gamma$ -谷氨酰转氨酶、肌酸激酶，胆碱酯酶、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶等，常用于胎儿遗传性代谢缺陷病产前诊断。甲胎蛋白 (AFP)：妊娠 16~20 周，羊水中 AFP 为 40mg/L，32 周为 25mg/L；羊水中 AFP 增高，主要见于开放型神经管畸形。

## 三、胎儿成熟度检验

### (一) 胎儿肺成熟度检查

#### 1. 羊水泡沫试验 (振荡试验)

(1) 检查方法：一般采用双管法，第 1 支试管羊水与 95%乙醇的比例为 1:1；第 2 支试管比例为 1:2，用力振荡 15~20s 后，静置 15min 后观察结果。

(2) 结果判断: ①两管液面均有完整的泡沫环为阳性, 意味着 L/S (卵磷脂/鞘磷脂)  $\geq 2$ , 提示胎儿肺成熟。②若第一管液面有完整的泡沫环, 而第二管无泡沫环为临界值, 提示 L/S (卵磷脂/鞘磷脂)  $< 2$ 。③若两管均无泡沫环为阴性, 提示胎儿肺未成熟。

(3) 评价: 本法是最常用的床边试验, 操作简单、快速, 无须特殊设备。

(4) 临床意义: 胎儿肺成熟度检查, 对判定新生儿特发性呼吸窘迫综合征或称新生儿透明膜病具有重要意义。

## 2. 羊水吸光度测定

羊水吸光度 (A) 试验是以羊水中磷脂类物质的含量与其浊度之间的关系为基础。检测方法: 测定波长为 650 nm 时羊水的吸光度值。结果判断:  $A_{650} \geq 0.075$  为阳性, 表示胎儿肺成熟;  $A_{650} \leq 0.050$  为阴性, 表示胎儿肺不成熟。

## 3. 卵磷脂/鞘磷脂 (L/S) 测定

(1) 检测方法: 薄层色谱法 (TLC)。

(2) 结果判断: ①正常 L/S=2。②L/S $< 1$  表示胎儿肺不成熟, 易发生 IRDS。③L/S=1.5~1.9 表示胎儿肺不够成熟, 可能发生 IRDS。④L/S=2.0~3.4 表示胎儿肺已成熟, 一般不会发生 IRDS。⑤L/S=3.5~3.9 表示胎儿肺肯定成熟。⑥L/S=4.0 表示过熟。

(3) 临床意义: 卵磷脂和鞘磷脂是肺泡表面活性物质的主要成分, 可维持肺的稳定性, 因此通过检测卵磷脂和鞘磷脂的含量及其比值可判断胎儿肺的成熟度。

## (二) 胎儿肾成熟度检查

### 1. 肌酐测定

(1) 结果判断: ①妊娠 34~36 周时肌酐  $> 132.4 \mu\text{mol/L}$ , 足月妊娠时肌酐  $> 176.5 \mu\text{mol/L}$ 。②危险值为  $< 132.4 \mu\text{mol/L}$ 。③安全值为  $> 176.5 \mu\text{mol/L}$ 。④132.4~176.5  $\mu\text{mol/L}$  为临界值。

(2) 临床意义: 从妊娠中期起, 羊水中肌酐逐渐增加。本试验主要反映胎儿肾小球的成熟度。

2. 葡萄糖的测定: 妊娠 23 周羊水中葡萄糖浓度逐渐增加, 24 周达高峰, 以后随胎儿肾成熟, 肾小管对葡萄糖重吸收作用增强, 胎尿排糖量减少, 加上胎盘通透性随胎龄增加而减低, 羊水葡萄糖浓度逐渐减低。

结果判断: ①临产时可减低至 0.40mmol/L 以下。②羊水葡萄糖  $< 0.50\text{mmol/L}$ , 提示胎儿肾发育成熟。③  $> 0.80\text{mmol/L}$  为不成熟。

## (三) 胎儿肝成熟度检查

### 测定羊水胆红素

1. 改良 J-G 法测定法结果判断: ①正常胎儿羊水胆红素应  $< 1.71 \mu\text{mol/L}$ 。②1.71~4.61  $\mu\text{mol/L}$  为临界值, 胎儿可能有不正常情况。③  $> 4.61 \mu\text{mol/L}$  胎儿安全受到威胁。④  $> 8.03 \mu\text{mol/L}$  多有胎儿窘迫。⑤母胎血型不合溶血时羊水中胆红素达 16.2  $\mu\text{mol/L}$  时, 应采取终止妊娠措施, 否则胎儿多难存活。

2. 分光光度计测定法结果判断: ①  $A_{450} < 0.02$ 。提示胎儿肝成熟。②0.02~0.04, 为胎儿肝成熟可疑。③  $> 0.04$ , 为胎儿肝未成熟。

## (四) 胎儿皮脂腺成熟度检查

1. 检测方法: 脂肪细胞经 1g/L 尼罗蓝溶液染色后为无核桔黄色细胞, 而其他细胞则染成蓝色。计数 200~500 个细胞, 计算出染桔黄色细胞百分率。



2. 结果判断：羊水中脂肪细胞出现率： $>20\%$ 则认为胎儿皮肤已经成熟； $10\% \sim 20\%$ 为临界值； $<10\%$ 则认为胎儿皮肤不成熟； $>50\%$ 表示过期妊娠。

#### （五）胎儿唾液腺成熟度检查

结果判断：羊水淀粉酶 $>300\text{u/L}$ ，为胎儿唾液腺成熟的指标； $200 \sim 300\text{u/L}$ 为临界值； $<200\text{u/L}$ 为胎儿唾液腺不成熟。

### 四、先天性遗传性疾病产前诊断

#### （一）产前诊断的概念

产前诊断即出生前诊断又称为宫内诊断：是指在胎儿出生前采用影像学、生物化学、细胞遗传学及分子生物学技术，通过观察胎儿外形，分析胎儿染色体核型、检测羊水和胎儿细胞的生化项目和基因等，判断胎儿是否患有先天性遗传性疾病，以确定是否进行选择流产。

（二）先天性遗传性疾病产前诊断的检查表 1-17-1 羊水的先天性遗传性疾病产前诊断项目

疾病产前诊断	检查项目
性连锁遗传病	羊水细胞性染色体检查：最常用 X 染色质检查和 Y 染色质检查性别基因诊断：最常用方法是 Y 特异 DNA 探针
神经管缺陷	甲胎蛋白（AFP）测定, 羊水总胆碱酯酶测定, 羊水中真性胆碱酯酶测定
黏多糖沉积病	甲苯胺蓝定性试验, 糖醛酸半定量试验
胰腺纤维囊性变	R 谷氨酰胺转移酶测定, 碱性磷酸酶（ALP）测定

见表 1-17-1。

## 第十四章 免疫学检验

### 第一节 免疫原和抗血清制备

#### 一、免疫原

指能诱导机体产生抗体或致敏淋巴细胞，并能在体内外与抗体或致敏淋巴细胞发生特异性反应的物质。

半抗原：某物质在独立存在时只具有反应原性而无免疫原性，这些物质称为半抗原。如一些分子量小于 4000 的有机物质，如多肽、大多数的多糖、甾族激素、脂肪胺、类脂质、核苷、某些小分子量的药物等。半抗原与蛋白质载体或高分子聚合物结合后才有免疫原性。

## 第二节 免疫佐剂

### 一、概念

与抗原同时或预先注射于机体能增强机体免疫应答或改变免疫应答类型的辅助物质称为免疫佐剂。应用最多的是福氏佐剂、细胞因子佐剂。

1.福氏佐剂：分完全福氏佐剂（石蜡油+羊毛脂+卡介苗）、不完全福氏佐剂（石蜡油+羊毛脂）两种。

2.细胞因子佐剂：细胞因子佐剂与抗原合用，可有效激发机体的免疫功能。

### 二、免疫佐剂的作用

应用佐剂的目的是为了增强抗原对机体的免疫原性，从而提高体液免疫应答和细胞免疫应答水平。

- 1.增强免疫原性。
- 2.增加抗体的滴度。
- 3.引起或增强迟发型超敏反应。

### 三、佐剂增强免疫应答的机制

- 1.改变抗原物理性状，使抗原在体内缓慢释放，延长抗原与免疫细胞作用时间。
- 2.抗原在佐剂的辅佐作用下，更易被巨噬细胞吞噬和有效加工处理及呈递。
- 3.刺激单核 / 巨噬细胞活化，释放细胞因子调节和增强淋巴细胞免疫应答能力。
- 4.刺激淋巴细胞增生、分化，从而增强和扩大免疫应答能力。

## 第十五章 单克隆抗体与基因工程抗体的制备

### 第一节 杂交瘤技术的基本原理

#### 一、单克隆抗体

由杂交瘤细胞产生的针对抗原分子上某一个抗原决定簇的抗体，称为单克隆抗体。其理化性状高度均一、生物活性单一、与抗原结合的特异性强、且来源容易。

#### 二、多克隆抗体

传统的方法是将抗原注入动物，由动物体内 B 细胞产生的抗体。由于多数天然的抗原分子具有多种抗原决定簇，每一种决定簇可激活具有相应抗原受体的 B 细胞产生针对某一抗原决定簇的抗体。因此，将抗原注入机体后，刺激多个 B 细胞克隆所产生的抗体是针对多种抗原决定簇的混合抗体，故称为多克隆抗体。

#### 三、杂交瘤技术

杂交瘤技术的基本原理是通过融合两种细胞而同时保持两者的主要特征。这两种细胞分别是经抗原免疫的小鼠脾细胞和小鼠骨髓瘤细胞。被特异性抗原免疫的小鼠脾细胞（B 淋巴细胞）的主要特征是它的抗体分泌功能，但不能在体外连续培养，小鼠骨髓瘤细胞则

可在培养条件下无限分裂、增殖，即具有所谓永生性。在选择培养基的作用下，只有 B 细胞与骨髓瘤细胞融合的杂交细胞才能具有持续培养的能力，形成同时具备抗体分泌功能和保持细胞永生性两种特征的细胞克隆。

#### 四、选择培养基的应用

细胞融合的选择培养基中有三种关键成分：次黄嘌呤（H）、氨甲蝶呤（A）、胸腺嘧啶核苷（T），所以取三者的字头称为 HAT 培养基。次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷是细胞 DNA 合成的途径；氨甲蝶呤（A）是叶酸的拮抗剂，可阻断瘤细胞利用正常途径合成 DNA，而融合作用的瘤细胞是经毒性培养基选取出的缺乏 HGPRT 细胞株，不能在该培养基上生长，只有融合细胞具有亲代双方遗传性能，才能在 HAT 培养基上长期存活与繁殖。

#### 五、单克隆抗体的特性

1. 高度特异性
2. 高度的均一性和可重复性
3. 弱凝集反应和不呈现沉淀反应
4. 对环境敏感性

#### 六、单克隆抗体的优点与局限性

1. 优点：
  - 1) 在体外“永久”地存活并传代
  - 2) 用相对不纯的抗原，获得大量高度特异的、均一的抗体。适用于以标记抗体为特点的免疫学分析方法
  - 3) 可用于体内的放射免疫显像和免疫导向治疗。
2. 局限性：
  - 1) 固有的亲和性和局限的生物活性限制了它的应用范围反应强度不如多克隆抗体
  - 2) 制备技术复杂、费时费工、价格较高

## 第十六章 凝集反应

### 第一节 凝集反应的特点

细菌、螺旋体、红细胞或细胞性抗原等颗粒性抗原，或可溶性抗原（或抗体）与载体颗粒结合成致敏颗粒后，它们与相应抗体（或抗原）发生特异性反应，在适当电解质存在下，形成肉眼可见的凝集现象。

#### 1. 反应阶段：

抗原抗体的特异性结合；  
出现肉眼可见的凝集现象。

#### 2. 反应特点：

- 1) IgM 的作用比 IgG 大数百倍
- 2) IgG 与抗原结合后，常不出现凝集反应，称不完全抗体。

## 第二节 直接凝集反应

颗粒性抗原直接与抗体结合，在电解质的作用下，出现肉眼可见的凝集现象。

玻片凝集试验

### 一、特点：

- 1.定性试验
- 2.简便和快速
- 3.敏感度低

### 二、临床应用：

- 1.菌种鉴定
- 2.血清学分型
- 3.血型鉴定

### 三、试管凝集试验

(一) 特点：

- 1.半定量试验
- 2.简便、快速
- 3.敏感度低可有假阳性

(二) 临床应用：

- 1.Widal reaction
- 2.Weil-felix reaction
- 3.交叉配血试验

## 第三节 间接凝集反应

将可溶性抗原或抗体吸附于颗粒性载体表面，然后与相应的抗体或抗原反应，在电解质的作用下，出现肉眼可见的凝集现象。

### 一、载体种类

- 1.RBC（醛化）
- 2.聚苯乙烯胶乳颗粒（羧化）

### 二、分类

- 1.正向间接凝集试验：用抗原致敏载体--检测抗体
- 2.反向间接凝集试验：用抗体致敏载体--检测抗原
- 3.间接凝集抑制试验：用抗原致敏载体--检测抗原
- 4.协同凝集试验：SPA:SPA-IgG Fc;SPA 抗体致敏-----测抗原
- 5.间接血凝试验
- 6.反向间接血凝试验

- 7.胶乳凝集试验
- 8.明胶凝集试验

### 三、间接凝集反应的应用

#### 1.抗原的检测

反向间接凝集试验可用于检测病原体的可溶性抗原，也可用于检测各种蛋白质成分。

#### 2.抗体的检测

检测细菌、病毒、寄生虫等感染后产生的抗体。

## 第四节 抗球蛋白试验

### 一.抗球蛋白试验

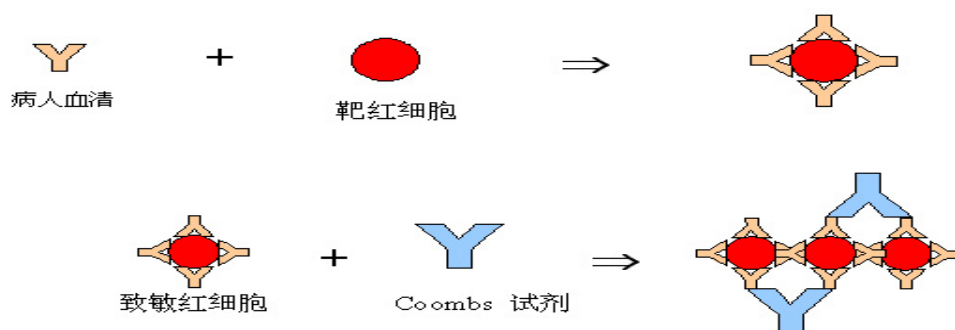
又称 Coombs 试验，是检测抗红细胞不完全抗体的一种很有用的方法。包括直接 Coombs 试验和间接 Coombs 试验，分别检测红细胞上的不完全抗体和游离在血清中的不完全抗体。

Coombs 试验除广泛应用于血液病的检测，如自身免疫性溶血性贫血、药物诱导的溶血、新生儿溶血症等。还可采用专一特异性的抗球蛋白的血清如抗 IgG 血清、抗 IgA 或抗 IgM 以及抗补体血清等，分析结合于红细胞上的不完全抗体的免疫球蛋白亚类。

#### 1.直接 Coombs 试验：检测红细胞上结合的不完全抗体



#### 2.间接 Coombs 试验：检测血清中游离的抗红细胞不完全抗体



## 第十七章 沉淀反应

### 第一节 沉淀反应的特点

沉淀反应是可溶性抗原与相应抗体在特定条件下特异性结合所出现的沉淀现象。

1.沉淀反应中的抗原多为蛋白质、多糖、血清、毒素等可溶性物质。

2.沉淀反应分两个阶段，第一阶段为抗原抗体发生特异性结合，几秒到几十秒即可完成，出现可溶性小复合物，肉眼不可见；第二阶段为形成可见的免疫复合物，约需几十分钟到数小时才能完成。如沉淀线、沉淀环。

### 第二节 液体内沉淀试验

#### 一.絮状沉淀试验

抗原抗体溶液在电解质的存在下结合，形成絮状沉淀物，这种絮状沉淀受抗原和抗体比例的直接影响，因此产生最适比例的测定方法，常见有：

- 1.抗原稀释法：抗原进行一系列稀释与恒定浓度抗血清反应。
- 2.抗体稀释法：抗体进行一系列稀释与恒定浓度抗原反应。

#### 二.免疫浊度法

免疫浊度法本质上属于液体内沉淀反应，其特点是将现代光学测量仪器、自动化检测系统和免疫沉淀反应相结合，可进行液体中微量抗原、抗体及小分子半抗原定量检测。

##### （一）免疫浊度法原理

当可溶性抗原与相应抗体在两者比例合适时，抗原抗体在特殊缓冲液中快速形成抗原抗体复合物，使反应液出现浊度，如形成的复合物增加，反应液的浊度随之增加，与一系列的标准品对照，即可计算出受检物的含量。

##### （二）与免疫浊度法测定密切相关的因素有：

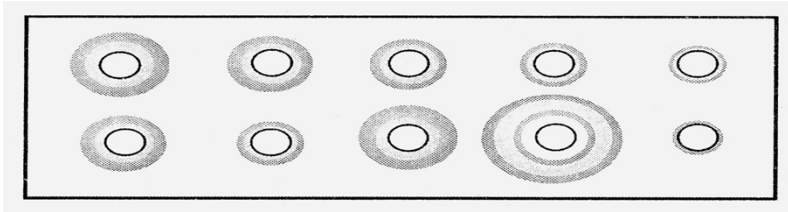
- 1.抗原与抗体的比例：理想状态是抗原与抗体比例合适全部结合，反应液中保持抗体过量时，复合物随抗原量的增加递增至抗原与抗体两者比例最合适时达高峰，因此免疫浊度法中保持抗体过量；
- 2.抗体的质量：应是特异性强、效价高、亲和力强、并使用R型抗血清；
- 3.抗原抗体反应的溶液：关键是pH及离子种类，通常用磷酸盐缓冲液作反应液；
- 4.增浊剂的应用：通常用非离子型亲水剂，如聚乙二醇（PEG）、吐温-20等。

### 第三节 凝胶内沉淀试验

凝胶内沉淀试验是利用可溶性抗原和相应抗体在凝胶内扩散，形成浓度梯度，在抗原与抗体浓度比例恰当的位置形成肉眼可见的沉淀线或沉淀环。

凝胶支持物的种类：凝胶支持物的种类有琼脂、琼脂糖、葡聚糖或聚丙烯酰胺凝胶等。不同分子量的物质在凝胶中扩散速度不同，藉此可用以识别不同待测物分子量的差别。

1.单向扩散试验：琼脂内混入抗体，待测抗原从局部向琼脂内自由扩散，如抗原和相应抗体结合，则形成沉淀环。



单向扩散试验检测时的注意点：

- 1) 抗血清必须特异性强、效价高、亲和力强，在良好条件下保存。
- 2) 每次测定都必须作标准曲线。
- 3) 每次测定时必须用质控血清作质控。
- 4) 注意双环现象（出现了两种抗原性相同成分）。
- 5) 应用单克隆抗体测量多态性抗原时，测定值偏低；用多克隆抗体测量单克隆病时，测定值偏高。

2.双向扩散试验：在琼脂内抗原和抗体各自向对方扩散，在最恰当的比例处形成抗原抗体沉淀线，根据沉淀线的位置、形状以及对比关系，可对抗原或抗体作出定性分析。

双向扩散试验也分为试管法和平板法。

## 第四节 免疫电泳技术

### 一、对流免疫电泳

1.原理：双向扩散+电泳，比双向扩散试验灵敏度提高 8~16 倍

2.结果分析：

- 1) 无沉淀线出现则表明无相应的抗原。
- 2) 沉淀线位于抗原抗体孔中间，说明两者比例较适合。
- 3) 沉淀线偏向抗原孔一方，表示抗体浓度 > 抗原，反之，则是抗体浓度 < 抗原浓度。

### 二.火箭免疫电泳

单向免疫扩散+电泳,定量检测技术

电泳时凝胶中抗体不移动，样品孔中的抗原向正极泳动，随着抗原量的逐渐减少，抗原泳动的基底区越来越窄，抗原抗体分子复合物形成的沉淀线逐渐变窄，形成一个形状如火箭的不溶性复合物沉淀峰，抗体浓度固定时，峰的高度与抗原量呈正相关。

### 三.免疫固定电泳

区带电泳+沉淀反应

免疫电泳原理，不同之处是将抗血清直接加于电泳后的蛋白质区带表面，抗原抗体在凝胶中直接发生沉淀反应，在适当位置形成抗原抗体复合物，经染色后，可对各类免疫球蛋白及其轻链进行分型。

## 第十八章 放射免疫技术

免疫技术：以抗原-抗体反应原理为基础，对样品中相应抗原或抗体进行检测。

标记技术：将可被探测的示踪物质用化学方法与化合物连接。

标记免疫分析：用可微量或超微量检测的示踪剂标记抗原、抗体，检测免疫反应结果并确定待检物。

### 第一节 放射免疫技术(RIA)

1.放射免疫：IA，以标记抗原与反应系统中未标记抗原竞争结合特异性抗体来测定待检样品中抗原量。

2.标记物，<sup>125</sup>I

#### 一.放射免疫分析—基本原理

放射免疫分析：竞争性结合反应的经典，为标记抗原（Ag\*）和非标记抗原（Ag）与限量抗体(Ab)竞争性结合，Ag\*和Ag具有等同的与Ab结合能力。Ab限量，Ag\*定量,Ag\*和Ag的量大于Ab结合位点，二者通过竞争方式与Ab结合；随着Ag增加，Ag\*与Ab结合形成Ag\*Ab复合物的放射量降低,二者变化成函数关系。

### 第二节 免疫放射分析（IRMA）

以过量<sup>125</sup>I标记抗体与待测抗原进行非竞争性免疫结合反应，用固相免疫吸附剂对B或F进行分离，其灵敏度和可测范围均优于RIA操作也较RIA简单。先用过量标记抗体与待测抗原进行反应，形成抗原抗体复合物；用固相抗原结合未结合标记抗体并将其分离，测定上清液的放射量。

IRMA 与 RIA 比较

	RIA	IRMA
标记物	抗原	抗体
原理	竞争性结合	非竞争结合
反应体系	Ag*、Ag、Ab	固相Ab、Ab*、Ag
反应动力学	慢	快
灵敏度	相对低	高
检测范围	窄	宽 1~2 数量级
特异性	差 (PcAb)	优 (McAb)
标准曲线	结合率与测值成反比	结合率与测值成正比
待测抗原	大小分子	二抗原决定簇



## 第十九章 荧光免疫技术

### 第一节 有关荧光的基本知识

#### 一. 荧光现象

一些化学物质能从外界吸收并储存能量（如光能、化学能等）而进入激发态，当其从激发态再回复到基态时，过剩的能量可以电磁辐射的形式放射（即发光）。荧光指的是当一个分子或原子吸收了给予的能量后即刻发光，停止能量供给，发光瞬间即停止的一种发光。荧光产生的原理：荧光物质的分子在特定条件下吸收激发光能量后，当其迅速回到基态时，以电磁辐射形式释放出所有的光能，这种幅射现象称为发光。

#### 二、荧光物质

##### （一）荧光色素

许多物质都可产生荧光现象，但并非都可用作荧光色素。只有那些能产生明显的荧光并能作为染料使用的有机化合物才能称为免疫荧光色素或荧光染料。常用的荧光色素有：

1. 异硫氰酸荧光素（FITC）：
2. 四乙基罗丹明（RB200）：
3. 四甲基异硫氰酸罗丹明（TRITC）：
4. 藻红蛋白（R-RE）

##### （二）其他荧光物质

1. 酶作用后产生荧光的物质：某些化合物本身无荧光效应，一旦经酶作用便形成具有强荧光的物质。例如 4-甲基伞酮- $\beta$ -D 半乳糖苷，受  $\beta$ -半乳糖苷酶的作用分解成 4-甲基伞酮，后者可发出荧光，激发光波长为 360nm，发射光波长为 450nm。

2. 镧系螯合物：某些 3 价稀土镧系元素如铕（Eu<sup>3+</sup>）、铽（Tb<sup>3+</sup>）、铈（Ce<sup>3+</sup>）等的螯合物经激发后也可发射特征性的荧光，其中以 Eu<sup>3+</sup>应用最广。Eu<sup>3+</sup>螯合物的激发光波长范围宽，发射光波长范围窄，荧光衰变时间长，最适合用于分辨荧光免疫测定。

#### 三. 荧光技术中有关的概念和参数

1. 发射光谱：指固定激发波长，在不同波长下所记录到的样品发射荧光的相对强度。
2. 激发光谱：指固定检测发射波长，在不同波长的激发光激发样品所记录到的相应的荧光发射强度。
3. 荧光效率：荧光分子不会将全部吸收的光能都转变成荧光，总或多或少地以其他形式释放。荧光效率是指荧光分子将吸收的光能转变成荧光的百分率，与发射荧光光量子的数值成正比。

### 第二节 荧光免疫分析的类型

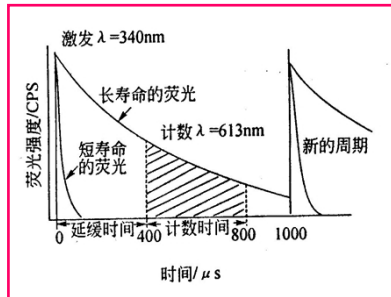
#### 一. 荧光免疫分析的基本原理

将抗原抗体反应与荧光物质发光分析相结合，用荧光检测仪检测抗原抗体复合物中特异性荧光强度，对液体标本中微量或超微量物质进行定量测定。

时间分辨荧光免疫测定

1.原理：时间分辨

- 1) 自发荧光寿命短:1ns~10ns
- 2) 镧系元素寿命长:10 μs~1000 μs
- 3) 短寿命荧光完全衰变后再测定镧系元素特异荧光



4) Stokes 位移:激发光谱和发射光谱的波长差，镧系元素 Stokes 位移大(273nm)，激发光谱和发射光谱不重叠。

- 5) 发射光谱带较窄：613nm ± 10nm，干扰少
- 6) 激发光谱带较宽：300nm~350nm，灵敏度高

## 第二十章 酶免疫技术

### 第一节 酶免疫技术的特点

#### 一.特点

酶免疫技术是利用酶催化底物反应的生物放大作用，提高特异性抗原-抗体免疫学反应检测敏感性的一种标记免疫技术。该技术所用的酶要求纯度高、催化反应的转化率高、专一性强、性质稳定、来源丰富、价格不贵、制备成的酶标抗体或抗原性质稳定，继续保留着它的活性部分和催化能力。最好在受检标本中不存在与标记酶相同的酶。另外它的相应底物应易于制备和保存，价格低廉，有色产物易于测定，光吸收高。

#### 二.酶和酶作用的底物

1.辣根过氧化物酶（HRP）：是一种糖蛋白，含糖量约 18%；分子量为 44kD；是一种复合酶，由主酶（酶蛋白）和辅基（亚铁血红素）结合而成的一种卟啉蛋白质。主酶为无色糖蛋白，在 275nm 波长处有最高吸收峰；辅基是深棕色的含铁卟啉环，在 403nm 波长处有最高吸收峰。HRP 对受氢体的专一性很高，除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 外，仅作用于小分子醇的过氧化物和尿素的过氧化物。后者为固体，作为试剂较 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 方便。

2.许多化合物可作为 HRP 的供氧体，在 ELISA 中常用的供氢体底物为邻苯二胺（OPD）、四甲基联苯胺（TMB）和 ABTS。OPD 为在 ELISA 中应用最多的底物，灵敏度高，比色方便。其缺点是配成应用液后稳定性差，而且具有致突变性。TMB 无此缺点。

TMB 经酶作用后由无色变蓝色，目测对比鲜明；加酸停止酶反应后变黄色，可在比色计中定量；因此应用日见增多。ABTS，虽然灵敏度不如 OPD 和 TMB，但空白值很低。

碱性磷酸酶（AP）：是从牛肠粘膜或大肠杆菌中提取。从大肠杆菌提取的 AP 分子量为 80kD，酶作用的最适 pH 为 8.0；用小牛肠黏膜提取的 AP 分子量为 100kD，最适 pH 为 9.6。一般采用对硝基苯磷酸酯（p-NPP）作为底物。它可制成片状试剂，使用方便。产物为黄色的对硝基酚，在 405nm 有吸收峰。用 NaOH 终止酶反应后，黄色可稳定一段时间。

### 三.酶标记抗体或抗原

酶标记的抗原或抗体称为结合物。抗原由于化学结构不同，可用不同的方法与酶结合，如为蛋白质抗原，基本上可参考抗体酶标记的方法。制备抗体酶结合物的方法通常有以下几种。

1.戊二醛交联法：戊二醛是一种双功能团试剂，可以使酶与蛋白质或其他抗原的氨基通过它而偶联。

2.过碘酸盐氧化法：本法只用于 HRP 的交联。过碘酸盐将其分子表面的多糖氧化为醛基。酶上的醛根很活泼，可与蛋白质结合，形成按摩尔比例结合的酶标结合物。

### 四.固相载体

酶免疫技术的主要试剂为固相的抗原或抗体、酶标记的抗原或抗体和与标记酶直接关联的酶反应底物。可作固相载体的物质很多，最常用的是聚苯乙烯。聚苯乙烯具有较强的吸附蛋白质的性能，抗体或蛋白质抗原吸附其上后保留原来的免疫活性。聚苯乙烯为塑料，可制成各种形式，在测定过程中，它作为载体和容器，不参与化学反应，价格低廉，所以被普遍采用。与聚苯乙烯类似的塑料为聚氯乙烯。作为 ELISA 固相载体，聚氯乙烯板的特点为质软板薄，可切割，价廉、但光洁度不如聚苯乙烯板。聚氯乙烯对蛋白质的吸附性能比聚苯乙烯高，但空白值有时也略高。

### 五.免疫吸附剂

将抗原或抗体固相化的过程称为包被。以聚苯乙烯 ELISA 板为载体，通常将抗原或抗体溶于缓冲液（最常用的为 pH9.6 的碳酸缓冲液）中，加于 ELISA 板孔中在 4℃ 过夜，经清洗后即可应用。如果包被液中的蛋白质浓度过低，固相载体表面有能被此蛋白质完全覆盖，其后加入的血清标本和酶结合物中的蛋白质也会部分地吸附于固相载体表面，最后产生非特异性显色而导致本底偏高。在这种情况下，如在包被后再用 1%~5% 牛血清白蛋白包被一次，可以消除这种干扰。这一过程称为封闭。包被好的 ELISA 板在低温可放置一段时间而不失去其免疫活性。

## 第二节 酶联免疫吸附试验

### 一.基本原理

酶联免疫吸附实验（ELISA）属固相酶免疫测定方法，其基本原理：在固相载体（如聚苯乙烯反应板）上包被抗原或抗体后，通过抗原抗体反应使酶标抗体（或酶标抗原）结合到载体上，经洗涤使结合的酶标抗体和游离的酶标抗体分离，洗去游离的酶标抗体（或酶标抗原），加入底物显色，根据颜色深浅进行定性或定量分析。

## 二.原理及特点

### 1.原理:

- 1) 酶标抗体(抗原)与抗原(抗体)的特异性反应
- 2) 酶对底物的显色反应
- 3) 对抗原或抗体进行定位、定性或定量的测定分析

### 2 特点:

- 1) 灵敏度高、特异性强、准确性好
- 2) 酶标记试剂能够较长时间保持稳定
- 3) 操作简便、对环境没有污染。
- 4) 易与其它技术偶联衍生出适用范围更广的新方法。

## 三.方法类型及反应原理

ELISA 可用于测定抗原,也可用于测定抗体。在这种测定方法中有 3 种必要的试剂:①固相的抗原或抗体;②酶标记的抗原或抗体;③酶作用的底物。根据试剂的来源和标本的性状以及检测的具备条件,可设计出各种不同类型的检测方法。

- (一) 双抗体夹心法
- (二) 双位点一步法

在双抗体夹心法测定抗原时,如应用针对抗原分子上两个不同抗原决定簇的单克隆抗体分别作为固相抗体和酶标抗体,则在测定时可使标本的加入和酶标抗体的加入两步并作一步。这种双位点一步法不但简化了操作,缩短了反应时间,如应用高亲和力的单克隆抗体,测定的敏感性和特异性也显著提高。

在一步法测定中,应注意钩状效应类同于沉淀反应中抗原过剩的后带现象。当标本中待测抗原浓度相当高时,过量抗原分别和固相抗体及酶标抗体结合,而不再形成夹心复合物,所得结果将低于实际含量。钩状效应严重时甚至可出现假阴性结果。

### (三) 间接法测抗体

间接法是检测抗体最常用的方法,其原理为利用酶标记的抗抗体以检测已与固相结合受检抗体,故称为间接法。

### (四) 竞争法

竞争法可用于测定抗原,也可用于测定抗体。以测定抗原为例,受检抗原和酶标抗原竞争与固相抗体结合,因此结合于固相的酶标抗原量与受检抗原的量成反比。

### (五) 捕获法测 IgM 抗体

血清中针对某些抗原的特异性 IgM 常和特异性 IgG 同时存在,后者会干扰 IgM 抗体的测定。因此测定 IgM 抗体多用捕获法,先将所有血清 IgM(包括特异性 IgM 和非特异性 IgM)固定在固相上,在去除 IgG 后再测定特异性 IgM。

## 第二十一章 化学发光免疫分析技术

### 第一节 概述

#### 一.发光免疫分析

将发光分析和免疫反应相结合而建立起来的一种新的检测微量抗原或抗体的新型标记免疫分析技术。发光:是指分子或原子中的电子吸收能量后,由基态(较低能级)跃迁到激发态(较高能级),然后再返回到基态,并释放光子的过程。

##### 1.化学发光

是指伴随化学反应过程所产生的光的发射现象。某些物质(发光剂)在化学反应时,吸收了反应过程中所产生的化学能,使反应的产物分子或反应的中间态分子中的电子跃迁到激发态,当电子从激发态回复到基态时,以发射光子的形式释放出能量,这一现象称为化学发光。

2.一些化学反应能释放足够的能量把参加反应的物质激发到能发射光的电子激发态,若被激发的是一个反应产物分子,则这种反应过程叫直接化学发光。

3.若激发能传递到另一个未参加化学反应的分子上,使该分子激发到电子激发态,该分子从激发态回到基态时发光,这种过程叫间接化学发光。

### 第二节 化学发光剂

#### 一.化学发光剂

在化学发光反应中参与能量转移并最终发射光子的形式释放能量的化合物,称为化学发光剂或发光底物。

作为化学发光剂的条件:

- 1.发光的量子产率高;
- 2.它的物理-化学特性要与被标记或测定的物质相匹配;
- 3.能与抗原或抗体形成稳定的偶联结合物;
- 4.其化学发光常是氧化反应的结果;
- 5.在所使用的浓度范围内对生物体没有毒性。

##### (一)直接化学发光剂

直接化学发光剂在发光免疫分析过程中不需酶的催化作用,直接参与发光反应,它们在化学结构上有产生发光的特有基团,可直接标记抗原或抗体。

1.吖啶酯:在碱性条件下被  $H_2O_2$  氧化时,发出波长为 470nm 的光,具有很高的发光效率,其激发态产物 N-甲基吖啶酮是该发光反应体系的发光体。

2.三联吡啶钌:三联吡啶钌  $[Ru(bpy)_3]^{2+}$  是电化学发光剂,它和电子供体三丙胺(TPA)在阳电极表面可同时失去一个电子而发生氧化反应。

在电化学发光免疫分析系统中,磁性微粒为固相载体包被抗体(抗原),用三联吡啶钌标记抗体(抗原),在反应体系内待测标本与相应的抗原(抗体)发生免疫反应后,形成磁性微粒包被抗体-待测抗原-三联吡啶钌标记抗体复合物,这时将上述复合物吸入流动室,同

时引入 TPA 缓冲液。当磁性微粒流经电极表面时，被安装在电极下面的电磁铁吸引住，而未结合的标记抗体和标本被缓冲液冲走。与此同时电极加压，启动电化学发光反应，使三联吡啶钌和 TPA 在电极表面进行电子转移，产生电化学发光，光的强度与待测抗原的浓度成正比。

(二) 酶促反应发光剂:

是利用标记酶的催化作用，使发光剂(底物)发光，这一类需酶催化后发光的发光剂称为酶促反应发光剂。

1. 鲁米诺及其衍生物
2. AMPPD

## 第二十二章 生物素-亲和素免疫放大技术

### 第一节 生物素理化性质与标记

#### 一、生物素

亲和素是一种糖蛋白，可由蛋清中提取。分子量 60kD，每个分子由 4 个亚基组成，可以和 4 个生物素分子亲密结合。

生物素又称维生素 H，分子量 244.31，存在于蛋黄中。用化学方法制成的衍生物，生物素-羟基琥珀亚胺酯(BNHS)可与蛋白质、糖类和酶等多种类型的大小分子形成生物素化的产物。

亲和素与生物素的结合，虽不属免疫反应，但特异性强，亲和力大，两者一经结合就极为稳定。由于 1 个亲和素分子有 4 个生物素分子的结合位置，可以连接更多的生物素化的分子，形成一种类似晶格的复合体。

生物素-亲和素系统的特点

灵敏度高，特异性好，稳定性高，适用广泛。

#### 二.生物素的理化性质与标记

(一) 生物素及其活化

1. 标记蛋白质氨基的活化生物素 N-羟基丁二酰亚胺酯(BNHS)
2. 标记蛋白质醛基的活化生物素 酰肼(BHZ)和肼化生物胞素(BCHZ)
3. 标记蛋白质巯基的活化生物素 3-(N-马来酰亚胺-丙酰)-生物胞素(MPB)
4. 标记蛋白质核酸的活化生物素 常用于标记核酸分子的活化生物素有光生物素、生物素脱氧核苷三磷酸、BNHS 和 BHZ。

(二) 生物素标记蛋白质

生物素化蛋白质衍生物的特性生物素化蛋白质衍生物有两类：一种是生物素化的大分子生物活性物质(如抗原、抗体)，另一种是标记材料(如酶)结合生物素后制成的标记物。

标记方法：(1) 标记抗体、抗原：常用于标记抗体的活化生物素是 BNHS；对于偏酸性的抗原，标记时多采用 BHZ。(2) 标记酶：以生物素标记 HRP 为例。

#### 三.亲和素、链霉亲和素理化性质与标记

- 1.亲和素及其活性：活性基团-色氨酸。
- 2.链霉亲和素及其活性：活性基团-色氨酸。
- 3.亲和素、链霉亲和素的标记：最常用的是酶、FITC 和胶体金。亲和素的标记（链霉亲和素的标记）（1）HRP-亲和素结合物的制备：改良过碘酸钠法，戊二醛法；（2）亲和素-生物素化 HRP 复合物的制备；（3）亲和素-生物素化碱性磷酸酶复合物的制备。

#### 四.生物素-亲和素系统的应用

1.生物素-亲和素系统基本类型及原理：基本类型有两种，一类以游离亲和素为中间物，分别连接包含生物素大分子的待检反应体系和标记生物素，称为 BAB 法；后来又在此基础上发展了亲和素-生物素化酶复合物技术（ABC）。另一类是直接标记亲和素连接生物素化大分子反应体系进行检测的 BA 法，或称标记亲和素-生物素法（LAB）。此外，依据待检反应体系中所用的是生物素化第一抗体或生物素化第二抗体，又分为直接法 BAS 和间接法 BAS。

2.生物素-亲和素系统可用于酶免疫测定、荧光免疫测定等方法中。

## 第二十三章 固相膜免疫测定

### 第一节 概述

#### 一.常用的固相膜

- 1.玻璃纤维素膜
- 2.尼龙膜
- 3.聚偏氟乙稀膜
- 4.硝酸纤维素膜

#### 二.固相膜的技术要求

- 1.孔径：0.2~0.6  $\mu\text{m}$
- 2.流速：以  $\text{ml/cm}^2/\text{min}$  表示
- 3.蛋白质结合力：吸附力很强，以  $\mu\text{g/cm}^2$  表示
- 4.均一性

### 第二节 免疫金标记技术

#### 一.免疫金标记技术

主要利用了金颗粒具有高电子密度的特性，在金标蛋白结合处，在显微镜下可见黑褐色颗粒，当这些标记物在相应的配体处大量聚集时，肉眼可见红色或粉红色斑点，因而用于定性或半定量的快速免疫检测。这一反应也可以通过银颗粒的沉积被放大，称之为免疫金银染色。

优点	不足之处
简便，快速	敏感度略低，价格略高（与 ELISA 比）
单份测定	精密度较差，质控困难
保存期长（优质试剂）	稳定性较差（普通试剂）
可测定物范围广（主要为定性试验）	不易制备定量、半定量试剂
感染性疾病的诊断	
妊娠、排卵的诊断	
肿瘤标志	
心肌标志	
滥用药物	

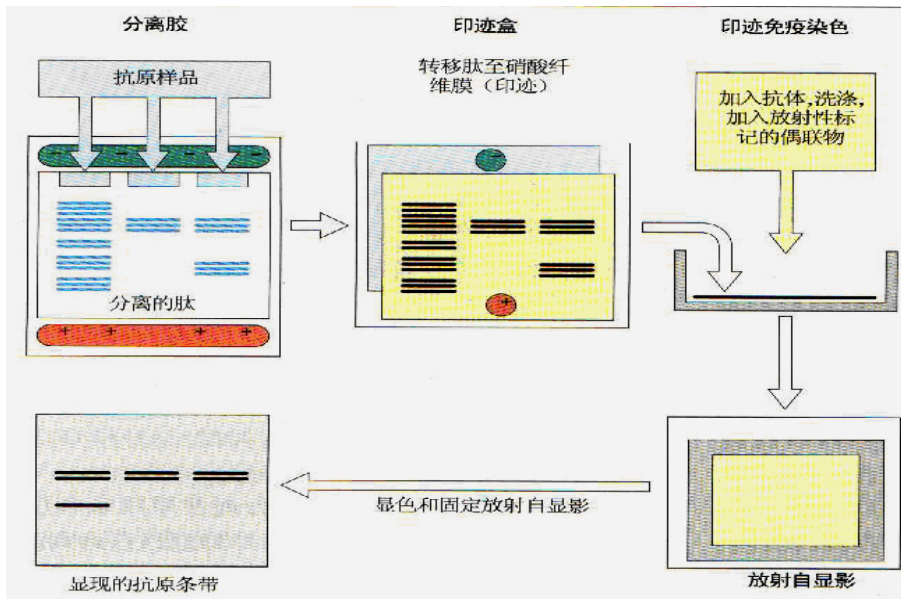
### 第三节 膜载体免疫测定的种类与原理

#### 一.固相微孔膜测定种类

- 1.斑点金免疫渗滤试验---双抗体夹心法测抗原
- 2.免疫层析试验---双抗体夹心法测抗原--间接法测抗体
- 3.斑点 ELISA
- 4.酶联免疫斑点试验
- 5.免疫印迹法
- 6.放射免疫沉淀试验

#### 二.免疫印迹法——Westernblot 法





## 第二十四章 免疫细胞的分离及其表面标志检测技术

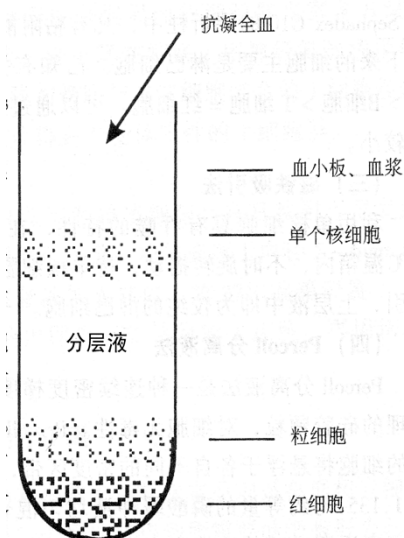
### 第一节 免疫细胞的分离

#### 一.外周血单个核细胞分离

外周血单个核细胞包括淋巴细胞和单核细胞。

Ficoll 分离液法主要用于分离外周血中的单个核细胞，是一种单次差速密度梯度离心的分离法。用  $1.077 \pm 0.001$  的分层液可将细胞分离

1.原理：外周血中单个核细胞（淋巴细胞和单核细胞）的比重与红细胞、多核白细胞及血小板不同，介于  $1.075 \sim 1.090$  之间，红细胞及粒细胞在  $1.092$  左右，血小板在  $1.030 \sim 1.035$  之间。因而可利用一种比重介于  $1.075 \sim 1.092$  之间，而近于等渗的溶液作密度梯度离心，使一定比重的细胞按相应密度梯度分布而加以分离。



## 二.淋巴细胞的分离

1.纯淋巴细胞群的采集：利用单核细胞在 37℃ 和  $Ca^{2+}$  存在时，能主动粘附在玻璃、塑料、尼龙毛、棉花纤维或葡聚糖凝胶的特性，从单个核细胞悬液中除去单核细胞，从而获得纯淋巴细胞群。主要的方法有：①粘附贴壁法；②吸附柱过滤法；③磁铁吸引法。

2.淋巴细胞亚群的分离原则：根据相应细胞的特性和不同的标志加以选择性纯化。根据细胞的特性和标志选择纯化所需细胞的方法是阳性选择法，而选择性去除不要的细胞，仅留下所需的细胞为阴性选择。常用的方法包括：①E 花环沉降法；T 细胞②尼龙毛柱分离法；B 细胞③亲和板结合分离法；T 细胞④磁性微球分离法及荧光激活细胞分离仪分离法。T 细胞

## 三.淋巴细胞的保存与活力测定

### 1.淋巴细胞的保存技术

1) 短期保存技术：将分离的细胞用适量含 10%~20% 灭活小牛血清的 Hanks、Tc-199、RPMI1640 或其他培养液稀释重悬。短期保存可置于 4℃ 保存。

2) 长期保存技术：液氮深低温 (-196℃) 环境保存细胞,加入二甲亚砜作为保护剂。

## 第二节 淋巴细胞表面标志的检测

### 一.T 细胞表面标志的检测

1.特异性抗原检测：用单克隆抗体检测 T 细胞表面抗原的方法有两大类：一类是用标记抗体染色，如免疫荧光法、酶免疫法、ABC 法及免疫金银染色法；另一类用抗体致敏的红细胞作花环试验。

2.特异性受体的检测原理：T 细胞表面有特异性绵羊红细胞 (E) 受体，T 细胞表面的 E 受体可与绵羊红细胞结合形成玫瑰花样的花环，称为活性 E (Ea) 花环。检测 Ea 花环形成细胞可反映受检者的细胞免疫水平。

3.T 细胞亚群检测：流式细胞仪分析技术。

1)  $CD3^+CD4^+CD8^+$  辅助性 T 细胞

2)  $CD3^+CD4^+CD8^+$  细胞毒性 T 细胞

3)  $CD4^+CD25^+$  调节性 T 细胞

### 二.B 细胞表面标志的检测

B 细胞具有多种特异性抗原和受体，据此建立了相应的检测方法，一般用以研究 B 细胞各分化发育阶段的特性，也可藉以鉴定和计数各阶段 B 细胞在人外周血和淋巴样组织的分布以及疾病时的变化动态，为临床提供诊治相关疾病的有用信息。

1.B 细胞表面抗原的检测：B 细胞表面有 CD19、CD20、CD21、CD22 和 CD29 等分化抗原，其中有些系全部 B 细胞所共有，而有些仅活化 B 细胞所特有，据此可用相应的 CD 系列单克隆抗体，通过间接荧光免疫法、酶免疫组化或 ABC 法加以检测。

SmIg、Fc 受体、补体受体、EB 病毒受体，部分 CD 分子是 B 细胞的重要表面标志，其中以 SmIg 为 B 细胞所特有，是鉴定 B 细胞可靠的指标。

CD19/CD5 分子：可将 B 细胞区分为 B1 细胞和 B2 细胞，B1 细胞为 CD19 和 CD5 双阳性，而 B2 细胞仅为 CD19 阳性，B2 细胞为通常所指的 B 细胞。

## 第二十五章 免疫细胞功能检测技术

### 第一节 淋巴细胞的功能检测

#### 一.T 细胞功能检测

- 1.T 细胞增殖试验
- 2.T 细胞分泌功能测定
- 3.T 细胞介导的细胞毒试验
- 4.体内试验

#### 二.B 细胞功能检测

- 1.B 细胞增殖能力的试验
- 2.溶血空斑试验
- 3.B 细胞抗体形成功能的检测
- 4.体内试验

### 第二节 吞噬细胞功能检测技术

吞噬细胞的吞噬活动大体分为趋化、吞噬和胞内杀灭作用三个阶段，据此建立相应的检测方法。

#### 一.中性粒细胞功能检测技术

#### 二.巨噬细胞功能检测技术

##### (一) 中性粒细胞功能的检测

- 1.细胞趋化功能的检测
- 2.吞噬和杀菌功能的检测

##### (二) 巨噬细胞功能检测

- 1.炭粒廓清试验
- 2.吞噬功能检测 巨噬细胞对颗粒性抗原物质具有很强的吞噬功能，常用鸡红细胞(CRBC)、白色念珠菌、酵母细胞等作为吞噬颗粒，用斑蝥敷贴法收集人巨噬细胞或从腹腔渗出液获得鼠巨噬细胞。

### 第三节 免疫细胞功能检测的临床应用

- 1.反映机体免疫功能状态。
- 2.肿瘤、免疫缺陷病等疾病的诊断和疾病预后监测。
- 3.组织器官移植后对受者的细胞免疫学功能监测则有利于排斥反应的早期发现，以便及时采取有效措施。

## 第二十六章 细胞因子与细胞粘附因子的测定

细胞因子在机体的免疫调节、炎症应答、肿瘤转移等生理和病理过程中起重要作用。检测这类因子不仅是基础免疫研究的有较手段，亦是临床上探索疾病发病机制、判断预后和考核疗效的指标。

### 第一节 细胞因子的概述

#### 一.概念

细胞因子是由免疫细胞产生的一大类能在细胞间传递信息，具有免疫调节和效应功能的蛋白质或小分子多肽。

#### 二.共同特性

- 1.化学性质大都为糖蛋白。
- 2.细胞因子可以旁分泌、自分泌或内分泌的方式发挥作用。
- 3.一种细胞可产生多种细胞因子，不同类型的细胞可产生一种或几种相同的细胞因子。

### 第二节 细胞因子测定方法及应用

#### 一.测定方法

检测细胞因子的方法主要有生物学检测法、免疫学检测法和分子生物学检测法。

##### (一) 生物学检测法

生物学检测又称生物活性检测，是根据细胞因子特定的生物活性而设计的检测法。由于各种细胞因子具有不同的活性，例如 IL-2 促进淋巴细胞增殖，TNF 杀伤肿瘤细胞，CSF 刺激造血细胞集落形成，IFN 保护细胞免受病毒攻击，因此选择某一细胞因子独特的生物活性，即可对其进行检测。

##### (二) 免疫学检测法

细胞因子均为蛋白或多肽，具有较强的抗原性。随着重组细胞因子的出现，可较方便地获得细胞因子的特异性抗血清或单克隆抗体，因此可利用抗原抗体特异性反应的特性，用免疫学技术定量检测细胞因子。

## 第二十七章 免疫球蛋白检测及应用

### 第一节 血清 IgG、IgA、IgM 测定

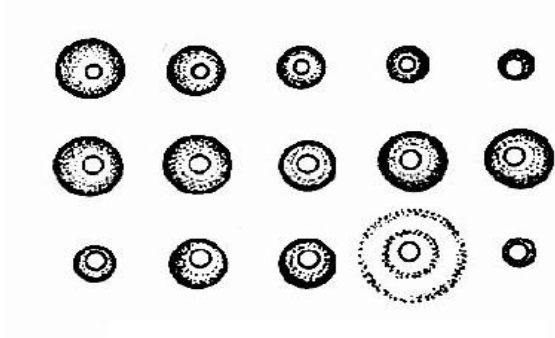
IgG 是血清中含量最高的免疫球蛋白，是血液和细胞外液中的主要抗体，也是机体再次免疫的主要抗体。

IgA 分为血清型和分泌型，是参与黏膜局部免疫的主要抗体，主要存在于胃肠道和支气管分泌液、初乳、唾液和泪液中。

IgM 是分子量最大的免疫球蛋白，是个体发育过程中最早合成和分泌的抗体，也是抗原刺激诱导的体液免疫应答中最早出现的抗体。

### 一.血清 IgG、IgA、IgM 测定

#### 1.测定方法：单向环状免疫扩散法



#### 2.免疫浊度法

- 1) 直接透射比浊法
- 2) 速率散射比浊法

### 二.血清 IgG、IgA、IgM 测定的临床意义

- 1.低 Ig 血症:先天性低 Ig 血症（免疫缺陷病）；获得性低 Ig 血症(蛋白丢失).
- 2.高 Ig 血症:多克隆 Ig 增高（感染）；单克隆 Ig 增高（免疫增殖病）.

## 第二节 血清 IgD、IgE 测定

正常人血清中 IgD 含量很低，膜结合型 IgD(mIgD)构成 BCR，是 B 细胞分化发育成熟的标志。

IgE 是正常人血清中含量最少的免疫球蛋白，主要由黏膜下淋巴组织中的浆细胞分泌，为亲细胞抗体，引起 I 型超敏反应；与机体抗寄生虫免疫也可能有关。

#### 1.IgE 临床意义：

- 1) 增高：变态反应性疾病、寄生虫感染、病毒感染、自身免疫性疾病。
- 2) 降低：意义不大

## 第三节 异常免疫球蛋白的检测及临床意义

### 一.单克隆免疫球蛋白的测定

1.单克隆免疫球蛋白的概念：单克隆免疫球蛋白，又称 M 蛋白，是 B 细胞或浆细胞单克隆异常产生的一种在氨基酸组成及顺序上十分均一的异常免疫球蛋白。

#### 2.方法

1) 血清蛋白区带电泳: 血清(或尿液)标本中不同性质的蛋白质可明显分开形成不同的区带, 与正常的电泳图谱进行比较, 可发现患者的血清蛋白区带电泳图谱上有一浓缩的集中带, 即 M 区带。

2) M 蛋白: B 淋巴细胞或浆细胞单克隆异常增殖产生的异常单克隆免疫球蛋白, 临床上多见于多发性骨髓瘤、高丙种球蛋白血症、恶性淋巴瘤、重链病、轻链病等。

## 第二十八章 补体检测及应用

补体是存在于人和脊椎动物正常新鲜血清及组织液中的一组具有酶样活性的球蛋白。

补体系统是补体加上其调节因子和相关膜蛋白共同组成一个反应系统, 称为补体系统。

补体系统参与机体的抗感染及免疫调节, 也可介导病理性反应, 是体内重要的免疫系统和放大系统。

### 第一节 补体系统的组成和性质

#### 一.组成

- 1.在体液中参与补体活化级联反应的各种固有成分;
- 2.以可溶性形式或膜结合形式存在的各种补体调节蛋白;
- 3.结合补体片段或调节补体生物效应的各种受体

#### 二.理化性质

补体的大多数组分都是糖蛋白, 且多属于  $\beta$  球蛋白, 约占血清球蛋白总量的 10%; Cl<sub>q</sub>, C8 等为  $\gamma$  球蛋白; Cl<sub>s</sub>, C9 为  $\alpha$  球蛋白。

正常血清中各组分的含量相差较大, C3 含量最多, C2 最低。各种属动物间血中补体含量也不相同, 豚鼠血清中含有丰富的补体, 故实验室多采用豚鼠血作为补体来源。

补体性质不稳定, 易受各种理化因素影响, 如加热、机械振荡、酸碱、酒精等均可使其失活; 在 0℃~10℃下活性只保持 3~4 天, 冷冻干燥可较长时间保持其活性; 加热 56℃ 30min 可使血清中绝大部分补体组分丧失活性, 称为灭活或灭能。

### 第二节 补体系统的生物活性

补体是机体重要的免疫效应系统之一。补体系统活化可以溶解细胞, 在活化过程中产生的中间复合物及某些片段也具有多种多样的生物活性, 所以补体系统对机体的作用是多方面的, 既可参与机体的防御效应和自身稳定, 亦可引起免疫损伤。

1.溶细胞作用: 不论何种途径活化, 补体系统都能对其粘附的细胞产生溶解作用。补体的溶细胞反应不仅可以抗菌, 也可抵抗其他微生物及寄生虫的感染。另一方面, 补体也常常引起病理性反应, 如异型输血时的溶血反应、自身免疫病时细胞损伤等;

2.免疫复合物的清除：补体在活化过程中生成的中间产物，对抗原抗体复合物有很强的亲和力，可共价结合到免疫复合物上，然后通过补体的其他效应对免疫复合物产生抑制或清除作用。常通过以下几种方式对免疫复合物的清除：

- 1) 吞噬调理作用；
- 2) 免疫粘附作用；
- 3) 免疫复合物抑制作用；

3.炎症介质作用：补体是机体重要的炎症介质之一，可通过过敏毒素作用、趋化作用、激肽作用等多种途径引起炎症；

4.中和与溶解病毒作用：其机理可能是阻止病毒对易感细胞的吸附和穿入，并可能干扰病毒在细胞中的增殖。

### 第三节 补体总活性测定

#### 一.实验原理

补体最主要的活性是溶细胞作用。特异性抗体与红细胞结合后可激活补体，引起红细胞肿胀而发生溶血。在一个适当的、稳定的反应系统中，溶血反应对补体的剂量依赖呈一特殊的S形曲线。如以溶血百分率为纵坐标，相应血清量为横坐标，可见在轻微溶血和接近完全溶血处，对补体量的变化不敏感。S形曲线在30%~70%之间最陡，几乎呈直线，补体量的少许变动，也会造成溶血程度的较大改变，即曲线此阶段对补体量的变化非常敏感。因此，实验常以50%溶血作为终点指标，它比100%溶血更为敏感，这一方法称为补体50%溶血实验即CH50。

#### 二.检测试剂

绵羊红细胞；溶血素；稀释缓冲液。

#### 三.方法评价

CH50试验是测定经典途径总补体溶血活性，所反映的是补体9种成分的综合水平。方法简便、快速，但敏感性较低。补体的溶血活性除与试验中反应体积成反比外，还与反应所用缓冲液的pH、离子强度、钙镁浓度、绵羊红细胞数量和反应温度有一定关系。缓冲液pH和离子强度增高，补体活性下降，虽可稳定溶血系统，但过量则反而抑制溶血反应，故实验时对反应的各个环节应严加控制，统一步骤。

#### 四.临床意义

CH50法检测是补体经典途径的溶血活性，所反映的主要是补体9种成分的综合水平。如果测定值过低或者完全无活性，首先考虑补体缺陷，可分别检测C4、C2、C3和C5等成分的含量；严重肝病时血浆蛋白合成能力受损。营养不良时蛋白合成原料不足，也可以不同程度地引起血清补体水平下降。

患系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎和强直性脊柱炎等自身免疫病时，血清补体水平随病情发生变化。疾病活动期补体活化过度，血清补体水平下降；病情稳定后补体水平又反应性增高。因此补体检测常可作为自身免疫病诊断或是否有疾病活动的参考指标。

## 第四节 补体结合试验

补体结合试验是用免疫溶血机制做指示系统，来检测另一反应系统抗原或抗体的试验。

### 一.补体结合试验原理、类型

补体结合试验中有 5 种成分参与反应，分属 3 个系统：1) 反应系统；2) 补体系统；3) 指示系统。其中反应系统（抗原与抗体）与指示系统（绵羊红细胞与溶血素）争夺补体系统。

如先加入反应系统和补体，给其以优先结合补体的机会，如果反应系统中存在待测的抗体（或抗原），则抗原、抗体发生反应后可结合补体，再加入指示系统（SRBL 与相应溶血素），由于反应中无游离的补体而不出现溶血，为补体结合试验阳性。

如待测系统中不存在待检的抗体或（抗原），则在液体中仍有游离的补体存在，当加入指示剂时会出现溶血，为补体结合试验阴性。因此补体结合试验可用已知抗原来检测相应抗体，或用已知抗体来检测相应抗原。

### 二.补体结合试验的临床应用

1. 传染病诊断，病原性抗原及相应抗体的检测；
2. 其他抗原的检测，如肿瘤相关抗原、血液中的蛋白质鉴定，HLA 分型等；
- 3 自身抗体的检测等。

补体结合试验的优点为灵敏度高、特异性强、应用面广、易于普及。缺点为试验参与反应的成分多，影响因素复杂，操作步骤繁琐并且要求十分严格，容易出现错误。

## 第五节 单个补体成分测定

在 30 多种补体成分中，主要检测 C3、C4，测定方法分为免疫溶血法及免疫化学法。

### 1. 免疫溶血法

溶血法主要根据抗原与其特异性抗体（IgG、IgM 型）结合后可激活补体的经典途径，导致细胞溶解。

### 2. 免疫化学法

免疫化学法分为单向免疫扩散法、火箭免疫电泳、透射比浊法和散射比浊法。自动免疫化学法检测补体成分方法简单、特异、重复性好，是当前主要检测方法。

## 第二十九章 免疫检验自动化仪器分析

### 第一节 自动化免疫浊度分析系统

免疫浊度分析的基本原理是：



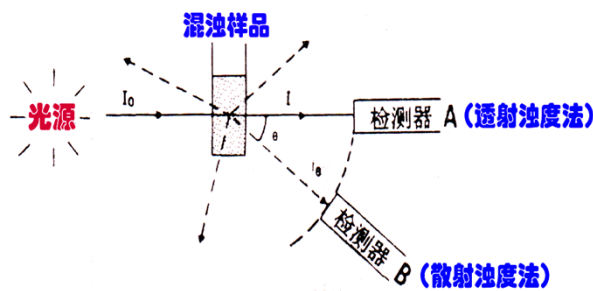
抗原、抗体在特定的电解质溶液中反应，形成小分子免疫复合物（ $<19S$ ），在增浊剂（如 PEG、NaF 等）的作用下，迅速形成免疫复合物微粒（ $>19S$ ），使反应液出现浊度。在抗体稍微过量且固定的情况下，形成的免疫复合物量随抗原量的增加而增加，反应液的浊度亦随之增大，即待测抗原量与反应溶液的浊度呈正相关。

### 一.免疫透射比浊法

1.原理：一定波长的入射光线通过抗原抗体反应后的溶液时，被其中的免疫复合物微粒吸收、反射和折射而减弱，在一定范围内，吸光度与免疫复合物量呈正相关，而形成的免疫复合物量与参与反应的抗原和抗体的量呈函数关系。与已知浓度的抗原标准品比较，可确定标本中抗原含量。

2.不足：

- 1) 抗体用量较大；
- 2) 溶液中存在的抗原-抗体复合物分子应足够大
- 3) 透射比浊测定在抗原-抗体反应的第二阶段，检测需在抗原抗体反应达到平衡后进行，耗时较长。



透射浊度法和散射浊度法的光路图

### 二.免疫胶乳比浊法

用抗体致敏的大小适中、均匀一致的胶乳颗粒（一般为  $0.2 \mu m$ ），在遇到相应抗原时，胶乳颗粒上的抗体与抗原特异结合，引起胶乳颗粒凝聚，使透射光和散射光即出现显著变化。如图所示：a 为单个胶乳颗粒不阻碍光线透过，b 为抗原抗体结合形成的凝聚胶乳大颗粒使透射光减弱或散射光增强。

### 三.免疫散射比浊法

粒子对光线的散射作用是溶液中的微粒子受到光线照射后，微粒子对光线产生反射和折射而形成散射光。悬浮微粒对光散射形成的散射光强度与微粒的大小、数量、入射光的波长和强度、测量角度等因素密切相关。

### 四.免疫比浊分析的影响因素和临床应用

1.免疫比浊分析的影响因素

- 1) 抗原抗体比例
- 2) 抗体的质量
- 3) 增浊剂的使用
- 4) 伪浊度
- 5) 入射光光源和波长

- 6) 结果报告中的计量单位
- 7) 标准曲线制备与质量控制

## 第二节 自动化学发光免疫分析系统

### 一.吡啶酯标记化学发光免疫分析仪

吡啶酯标记的化学发光免疫分析仪是一种用发光剂直接标记抗体或抗原的一类免疫分析法。该仪器利用化学发光技术和磁性微粒子分离技术，以吡啶酯为化学发光剂，以细小的顺磁性微粒为固相载体。其测定原理与双抗体夹心法、双抗原夹心法和竞争结合法等相同。

### 二.酶联发光免疫分析仪

酶联发光免疫分析仪是用参与催化某一化学发光或荧光反应的酶来标记抗原或抗体，在抗原抗体反应后，加入底物(发光剂)，由酶催化和分解底物发光，通过光信号的强弱来进行被测物的定量。

常用的标记酶有辣根过氧化物酶（HRP）和碱性磷酸酶(ALP)，常用的发光底物有鲁米诺、AMPPD 和 4-MUP 等。

### 三.电化学发光免疫分析仪

电化学发光免疫分析（ECLIA）是一种在电极表面由电化学引发的特异性化学发光反应，它包括电化学和化学发光两个过程。电化学发光免疫分析仪是采用电化学发光技术，生物素放大技术，以顺磁性微粒为固相载体，用三联吡啶钌标记抗原或抗体，三丙胺(TPA)为电子供体，而设计的一种自动化分析仪器。电化学发光稳定、持续时间长，易于控制并可根据待测分子的大小设计成多种反应模式如夹心法、竞争法等。

## 第三十章 临床免疫检验的质量保证

### 第一节 概述

为保证病人临床诊疗或临床实验研究的有效性，临床实验室采取一系列有效的措施证明其测定数据能够达到所确定的质量标准，这就是质量保证的内容。

1.质量保证 为一产品或服务满足特定质量要求提供充分可信性所必要的有计划的和系统的措施。

2.室内质量控制 由实验室工作人员，采取一定的方法和步骤，连续评价本实验室工作的可靠性程度。

3.室间质量评价：为客观比较一实验室的测定结果与靶值的差异，由外单位机构客观地评价实验室的结果，发现误差并校正结果

4.准确度：待测物的测定值与其真值的一致性程度。

5.偏倚：待测物的测定值与一可接受参考值之间的差异。

6.精密度：在一定条件下所获得的独立的测定结果之间的一致性程度。

## 第二节 免疫检验的质量控制原则

### 一.标本的正确收集及处理

- 1.标本类型及采集容器
- 2.标本采集时间及患者准备
- 3.内源性干扰因素：类风湿因子、补体、异嗜性抗体
- 4.外源性干扰因素：溶血、细菌污染、标本贮存时间过长、凝固不全、反复冻融以及注意避免出现严重溶血。血红蛋白类似过氧化物的活性，使反应显色。标本在 2~8℃ 下保存时间过长，IgG 可聚合成多聚体，在间接法免疫测定中会导致本底过深、甚至造成假阳性。血清标本如是以无菌操作分离，则可以在 2~8℃ 下保存一周，如为有菌操作，则建议冰冻保存。样本的长时间保存，应在 -70℃ 以下。

### 二.标准品和质控品的应用

标准品即含量确定的处于一定基质中的特性明确的物质。标准品分级：

- 1.一级标准品，为国际标准品
- 2.二级标准品，为国家标准品
- 3.三级标准品，为商品校准品

### 三.临床免疫检测质控图的选择、绘制及质控结果判断

#### 1. Levey-Jennings 质控图方法

1) 统计学含义：稳定条件下，在 20 个 IQC 结果中不应有多于 1 个结果超过 2SD (95.5% 可信限) 限度；在 1000 个测定结果中超过 3SD (99.7% 可信限) 的结果不多于 3 个。如以  $\pm 3s$  为失控限，假失控的概率为 0.3%。

2) 对待质控品应如对待病人标本一样同等对待，不能进行特殊处理，在每批病人标本测定的同时测定质控品，将所得结果标在质控图上，质控品在控时，方能报告该批病人标本的测定结果，质控品失控时，说明测定过程存在问题，不能报告病人标本结果，应解决存在的问题，并重新测定在控后方能报告；

3) 当使用一个以上浓度的质控品想在同一张质控图描点时，则质控图上均值和  $s$  可不标具体数据，而仅以  $\bar{x}$  和  $s$  表示；

4) 若以均值  $\pm 2s$  为失控限，假失控的概率太高，通常不能接受；以均值  $\pm 3s$  为失控限，假失控的概率低，但误差检出能力不强。当质控测定值超出控制限时，即该批测定判为失控。常用的 13S 质控规则，其确切的含义为：在质控测定值中，如果有一个测定值超出均值  $\pm 3s$  范围，即可将该批测定判为失控。

符号

定义

12S 一个质控测定值超出  $\pm 2s$  控制限。

13S 一个质控测定值超出  $\pm 3s$  控制限。

22S 两个连续的质控测定值同时超出  $+2s$  或  $-2s$  控制限。

R4S 同一批测定中，两个不同浓度质控物的测定值之间的差值超出  $4s$  控制限。

41S 四个连续的质控测定值同时超出  $+1s$  或  $-1s$  控制限。

7T 七个连续的质控测定值呈现一个向上或向下的趋势变化。

10X 十个连续的质控测定值同时处于均值 (X) 的同一侧。

2. Levey-Jennings 质控图结合 Westgard 多规则质控方法

Westgard 多规则质控方法即是前所述的多个质控规则同时应用进行质控判断的方法。

最初常用的有六个质控规则，即 12S、13S、22S、R4S、41S 和 10X，其中 12S 规则作为警告规则。13S 和 R4S 规则反映的是随机误差。22S、41S 和 10X 反映的是系统误差，系统误差超出一定的程度，也可从 13S 和 R4S 规则反映出来。

## 第三十一章 感染性疾病与感染免疫检测

### 一.链球菌感染

1.生物学性状

- 1) 是引起化脓性疾病的常见细菌
- 2) A 群链球菌有较强的侵袭力
- 3) 可产生多种酶和外毒素

2.免疫学检查

- 1) 抗链球菌溶血素“O”ASO 增高常见于：急性咽炎等上呼吸道感染，风湿性心肌炎，

心包炎，风湿性关节炎，急性肾小球肾炎等，免疫功能不全 ASO 可不增高

- 2) 抗链激酶试验
- 3) 抗透明质酸酶 (ADH)
- 4) 抗 DNA 酶 B (DNA-B)

### 二.伤寒沙门氏菌感染

肥达氏凝集试验：凝集时抗体效价  $\geq 1:80$  为阳性

### 三.结核分枝杆菌感染

1.生物学性状

- 1) 分枝杆菌科分枝杆菌属
- 2) 人型和牛型是人类的主要致病菌
- 3) 可诱导抗感染细胞免疫和体液免疫反应

2.结核菌素试验

3.结核杆菌抗原检测

4.结核特异性 IgG 的检测

### 四.流感病毒感染

1.生物学性状

流感病毒可分为甲、乙、丙三型，甲型和乙型流感病毒经常发生变异易造成暴发和新的流行。

2.病毒抗原的检测

常采用免疫荧光或酶标记技术快速、灵敏度高有助早期诊断。

### 3.病毒抗体的检测

血凝抑制试验，补体结合试验，时间分辨免疫荧光技术

## 五.肝炎病毒感染

### (一) 甲型肝炎病毒

#### 1.生物学性状

属小 RNA 病毒科仅有 1 个血清型

#### 2.特异性抗体检测 ELISA，化学发光法

### 乙型肝炎病毒

#### 1.乙型肝炎表面抗原(HBsAg)

##### (1) 生物学性状

存在于 Dane 颗粒的表面，位于病毒表面是一种糖蛋白，4 种亚(adr,adw,ayr,ayw)，作为判断 HBV 感染的指标之一，可刺激机体产生保护性抗体即抗-HBs。

##### (2) 临床意义

1) 乙肝的筛选和普查。

2) HBsAg 阴性不能完全排除乙型肝炎。

3) 同时出现 HBsAg 和抗-HBs，可能是不同亚型重复感染。

4) 如果仅表现为 HBsAg 阳性者，传染性较弱。

#### 2.乙型肝炎表面抗体(HBsAb)

##### (1) 生物学性状

是一种保护性抗体 位于病毒表面，是机体感染或接种乙肝疫苗的标志，如一过性 HBsAg 阳性，则抗-HBs 可以为阴性。

##### (2) 临床意义

1) 抗-HBs 阳性提示急性感染后的康复。

2) 在接受抗-HBs 阳性血液的受血者中，可出现短暂性的抗-HBs 阳性。

3) HBV 疫苗接种后，可出现抗-HBs 阳性。

4) 抗-HBs 与 HBsAg 同时阳性可见于暴发性肝炎或慢性活动性肝炎患者。

5) HBsAg 含量消失同时伴抗-HBs 的出现，是目前临床上慢性乙型肝炎治疗的最终目标。

#### 3.乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)

##### (1) 临床意义

是乙肝传染性的标志，HBeAg 阳性，传染可能性越大，HBsAg 效价越高检出率就越高，HBeAg 阳性标志着较强的感染和传染性。

#### 4.乙型肝炎 e 抗体(HBeAb)

##### (1) 临床意义

多出现于急性肝炎恢复期的病人中，比抗-HBs 转阳要早，常在 HBsAg 即将消失或已经消失时检出，存在于乙肝恢复期及痊愈的病人血清中，也可出现于慢性肝炎，肝硬化或无症状的 HBsAg 携带者可长期存在。

#### 5.乙型肝炎核心抗体(HBcAb-IgM)

##### (1) 临床意义

早期 HBV 感染的特异性血清学标志，效价降低常提示预后较好，有助于区分慢性活动性或非活动性肝炎，暴发型乙型肝炎诊断

#### 6.乙肝病毒前 S1 蛋白(pre-S1)

##### (1) 生物学性状

仅在 HBV-DNA 阳性血清中检出, 传播病毒的危险性明显高

#### 7.乙肝病毒前 S2 蛋白(pre-S2)

##### (1) 生物学性状

有一个高免疫性的抗原决定簇, 具有多聚蛋白受体, HBV 的感染和复制有密切的关系, 作为 HBV 复制标志之一, 与 HBV-DNA 活动呈正相关

##### (三) 丙型肝炎病毒感染

##### 1.生物学性状

丙肝病毒是导致丙型肝炎的重要病原体, 抗 HCV 不是中和抗体, 无保护性, 抗 HCV 是 HCV 感染的标志性物质。HCV-IgM 阳性可作为 HCV 活动性复制的血清学标志。

HCV-IgM 与慢性丙肝患者的急性发作有关。

##### (四) 丁型肝炎病毒感染

##### 1.生物学性状

HDV 是一种缺陷病毒, 丁肝的临床表现一定程度上取决于同时伴随的 HBV 感染状态, HDV 是一种单股负链 RNA 病毒。

##### (五) 戊型肝炎病毒感染

戊型肝炎病毒是一单股正链无包膜的 RNA 病毒。

## 第三十二章 超敏反应性疾病及免疫学检测

超敏反应:机体对某些抗原初次应答后, 再次接受相同抗原刺激时, 发生的一种以机体生理功能紊乱或组织损伤为主的特异性免疫应答。

变应原:引起超敏反应的抗原物质

### 第一节 I 型超敏反应

I 型超敏反应主要由特异性 IgE 抗体介导产生, 其发生速度最快, 常在第二次接触相同抗原后数分钟内即出现临床反应, 其反应可发生于局部, 亦可发生于全身, 故又称速发型超敏反应。

特点: 发生快, 消退快, 一般无组织损伤, IgE 抗体介导, 无补体参与, 发病有明显个体差异和遗传倾向。

#### (一) 参与反应主要成分

1.变应原: 药物或化学物质, 吸入性变应原, 食物变应原, 酶类物质等。

2.细胞: 肥大细胞, 嗜碱性粒细胞, 嗜酸性粒细胞。

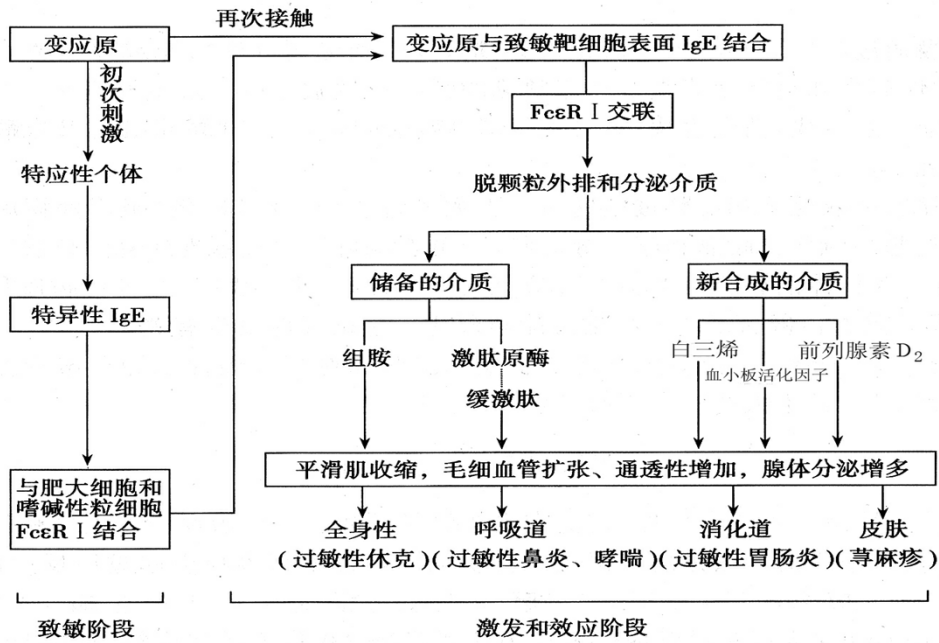
3.生物活性介质: 组胺、白三烯、前列腺素、血小板活化因子

作用主要有: 毛细血管扩张、通透性增加、平滑肌收缩、腺体分泌增加

4.常见 I 型超敏反应性疾病

1) 全身性超敏反应 药物过敏性休克、血清过敏性休克;

2) 局部性超敏反应 呼吸道过敏反应、消化道过敏反应、皮肤过敏反应。



## 第二节 II型超敏反应

II型超敏反应又称细胞毒型或细胞溶解型超敏反应，它是由靶细胞表面的抗原与相应IgG或IgM类抗体结合后，在补体、巨噬细胞和NK细胞参与下，引起的以细胞溶解或组织损伤为主的病理性免疫反应。

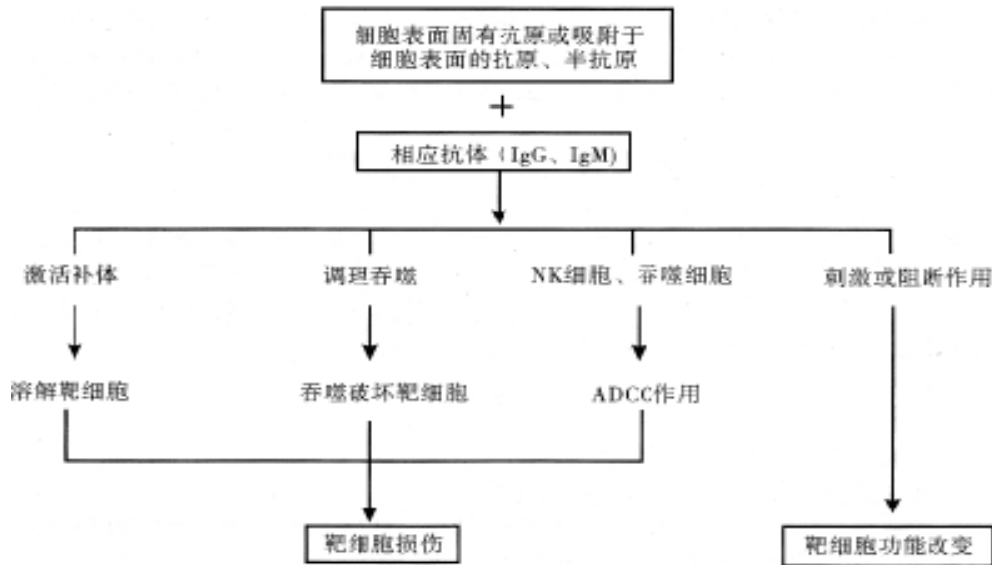
### 1.参与反应主要物质

抗原：同种异型抗原、共同抗原、变性自身抗原、外来抗原 抗体：IgG和IgM类抗体  
参与细胞损伤的物质：补体、吞噬细胞、NK细胞

2.结果：细胞溶解，吞噬作用，ADCC作用，刺激或抑制靶细胞

### 3.常见II型超敏反应性疾病

- 1) 输血反应
- 2) 新生儿溶血症
- 3) 自身免疫性溶血性贫血
- 4) 甲状腺功能亢进
- 5) 重症肌无力
- 6) 药物过敏性血细胞减少症
- 7) 肺出血肾炎综合征



### 第三节 III型超敏反应

III型超敏反应是指由可溶性免疫复合物沉积于局部或全身多处毛细血管基底膜，通过激活补体,并在血小板、嗜碱性粒细胞、中性粒细胞等的参与下，引起的以充血水肿、局部坏死和中性粒细胞浸润为主要特征的炎症反应和组织损伤。

#### 1.参与反应主物质

- 1) 可溶性抗原
- 2) 抗体: IgG、IgM
- 3) 补体: C3a、C5a、C3b
- 4) 参与细胞: 中性粒细胞、碱性粒细胞、肥大细胞、血小板

#### 2.常见III型超敏反应性疾病

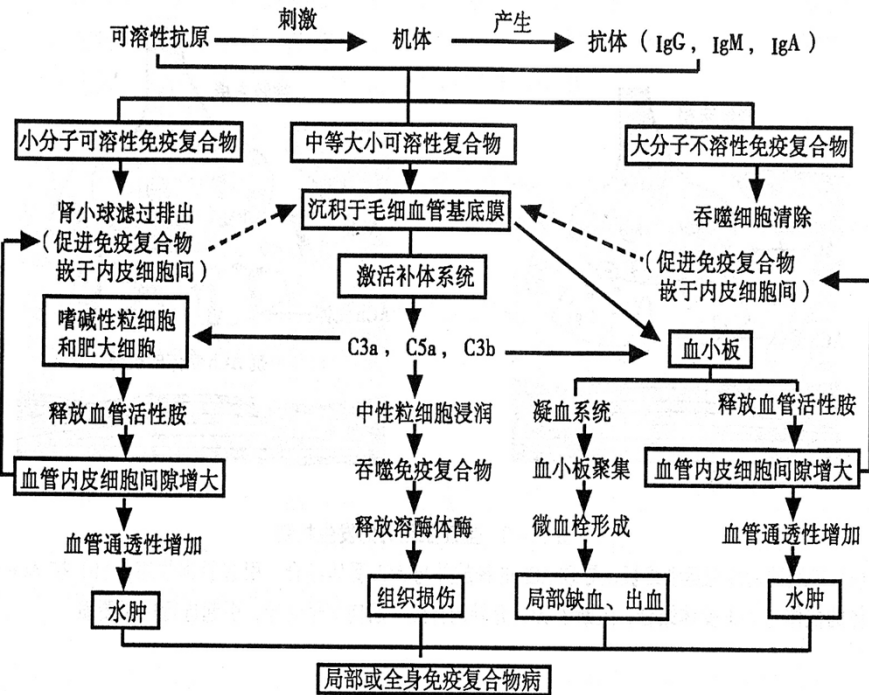
##### 1) 局部免疫复合物病

Arthus 反应、类 Arthus 反应

##### 2) 全身免疫复合物病

血清病、链球菌感染后肾小球肾炎、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮



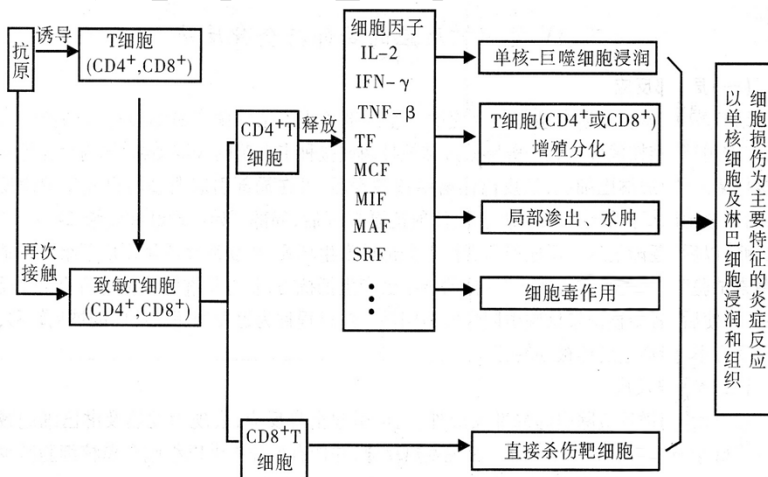


### 第四节 IV型超敏反应

IV型超敏反应又称迟发型超敏反应。是效应T细胞与特异性抗原结合后，引起的以单个核细胞浸润和组织损伤为主要特征的炎症反应。

1.特点:反应发生慢(24~72h)，消退慢;抗体和补体不参与，由T细胞介导;发病无明显个体差异;以单个核细胞浸润为主的炎症反应;炎症细胞因子参与。

2.常见 IV型超敏反应性疾病：感染性超敏反应接触性皮炎 移植排斥反应



## 第三十三章 自身免疫性疾病及其免疫检测

### 第一节 概述

自身免疫耐受:正常情况下,机体免疫系统能识别“自我”,对自身组织成分不发生免疫应答反应,或仅产生微弱的免疫应答,此为自身免疫耐受。

自身免疫:是指机体免疫系统对自身成分发生免疫应答反应,出现自身抗体或致敏淋巴细胞的现象。

自身抗体:针对自身组织器官、细胞及细胞内成分的抗体。

#### 一.自身免疫性疾病的共同特征

- 1.多数病因不明
- 2.患者以女性居多,并随年龄增加发病率有所增加
- 3.有遗传倾向
- 4.患者血清中有多种自身抗体或自身反应性致敏淋巴细胞存。
- 5.疾病有重叠现象,即一个病人可同时患一种以上自身免疫病
- 6.病程一般较长,多迁延为慢性
- 7.病损局部可发现淋巴细胞、浆细胞、中性粒细胞等浸润,免疫抑制剂治疗可取得一定疗效

### 第二节 自身免疫疾病与免疫损伤

在某些情况下,机体的自身耐受遭到破坏,禁忌细胞株活跃,机体免疫系统针对某些自身组织成份产生了免疫应答,就可能自身免疫病的发生。

#### 一.自身抗原

- 1.隐蔽抗原的释放:隐蔽抗原是指某些与免疫系统在解剖位置上隔绝的抗原成分。
- 2.自身成分的改变 物理、化学、生物因素可以使自身抗原抗原性改变,改变的自身抗原可引起自身免疫性疾病。
- 3.共同抗原引发的交叉反应 多种病毒、细菌与正常人体某些组织细胞或细胞外成分有相类似的抗原决定基,针对这些抗原决定基的免疫应答可以引起起自身免疫性疾病。

#### 二.免疫调节异常

- 1.淋巴细胞旁路活化
- 2.多克隆刺激剂的旁路活化
- 3.辅助刺激因子表达异常
- 4.自身致敏 T 细胞与自身抗原应答

#### 三.遗传因素

### 第三节 常见的自身免疫性疾病

由于病理性的自身免疫应答可发生在体内任何组织器官，临床上常以病理损害的机制来区分各类自身免疫性疾病，而许多自身免疫性疾病与超敏反应的发生密切相关，因此，可分为由II型超敏反应引起的自身免疫性疾病，由III型超敏反应引起的自身免疫性疾病及由T细胞对自身抗原应答引起的自身免疫性疾病。当两种或两种以上的自身免疫病出现混合的临床表现时，称为混合性结缔组织病。

### 第四节 常见自身免疫性疾病的自身抗体检测

自身抗体是指抗自身细胞内、细胞表面和细胞外抗原的免疫球蛋白，是自身免疫和自身免疫病重要特征之一，某些自身免疫病伴有特征性的自身抗体(谱)。

分类：脏器特异性自身抗体以及脏器非特异性自身抗体

#### 一.自身抗体的特性

- 1.自身免疫性疾病的重要标志
- 2.高滴度存在于自身免疫性疾病患者
- 3.与疾病的活动性相关
- 4.参与免疫病理性损伤

#### 二.抗核抗体的检测与应用

1.抗核抗体:以真核细胞(如HEp-2细胞、肝细胞)的各种细胞核成分为靶抗原所检测的自身抗体的总称。

- 1) 抗 dsDNA 抗体与细胞核 DNA 脱氧核糖磷酸框架结合。
- 2) 抗 dsDNA 抗体是 SLE 患者的特征性标志抗体。其抗体滴度与疾病的活动程度有相关性，抗体滴度的动态测定为监控治疗提供了有效的实验室手段。
- 3) 间接免疫荧光检测，是目前国内外临床常规检测抗 dsDNA 抗体最常用的方法。
- 4) 抗 dsDNA 抗体诊断 SLE 的特异性可达 95%~100%，但其敏感性仅为 30%~50%，因此抗 dsDNA 抗体阴性不能排除 SLE 的诊断。

#### 三.抗核小体抗体

核小体是真核生物细胞核染色质的基本单位。凋亡细胞是核小体的重要来源，当 SLE 患者的吞噬细胞对凋亡细胞的清除能力受损或降低，导致核小体在患者体内大量存积，激活 B 细胞产生抗核小体抗体，具有同抗 ds-DNA 抗体相同的诊断特异性，可达到 95%，在系统性硬化(SSc)病中可有 20%~50%低浓度阳性率，其他自身免疫性疾病中该抗体均为阴性。表达与 SLE 病情活动分数相关。

#### 四.抗 ENA 抗体谱的检测与应用

抗 ENA 抗体谱:可提取核抗原抗体的总称,临床常检测的抗 ENA 抗体谱主要包括:

抗 Sm, 抗 U1-RNP, 抗 SSA, 抗 SSB, 抗 Jo-1, 抗 Scl-70, 抗 rib-P 蛋白。

- 1.抗 Sm 抗体: SLE 标记性抗体 (20%~30%)

- 2.抗 nRNP 抗体: MCTD 95%~100% (高滴度)
- 3.抗 SSA 抗体: PSS 60%~75%, 其它 CTD
- 4.抗 SSB 抗体: PSS 10%~40%, 其它 CTD
- 5.抗 Scl-70 抗体: SSc 25%~75%, 标记性抗体
- 6.抗 Jo-1 抗体: PM/DM 25%, 标记性抗体
- 6.抗 rRNP 抗体: SLE 特异性抗体 (10%~30%)

### 五.类风湿因子 (RF)

是一种抗人或动物 IgG 分子 Fc 片段抗原决定簇的抗体, 是以变性 IgG 为靶抗原的自身抗体。可与人或动物的变性 IgG 结合, 而不与正常 IgG 发生凝集, 最多见于类风湿性关节炎患者。RF 有 IgM、IgG、IgA 和 IgE 型, IgM 型为主要类型。

RF 主要见于类风湿, 在类风湿性关节炎患者中的检出率很高, RF 阳性支持早期 RA 的倾向性诊断, 但 RF 也像 ANA 一样, 并不是 RA 独有的特异性抗体。在 SLE 患者约有 50%RF 阳性, RF 无严格特异性, 不是 RA 的唯一诊断标准。RF 阴性不能排除 RA。

### 六.抗核抗体

抗核抗体 (ANA) 是以自身真核细胞成分作为靶抗原的一组自身抗体的总称, 泛指各种核成分的抗体, 是一种广泛存在的自身抗体。性质主要是 IgG, 也有 IgM、IgA、IgD 和 IgE, 可与不同来源的细胞核起反应, 无器官特异性和种属特异性。ANA 主要存在于血清中, 也可存在于胸水、关节滑膜液以及尿液等体液中。

ANA 可见于多种疾病, 主要存在于自身免疫性疾病患者血清中, 如 SLE、SS、MCTD、类风湿性关节炎等。也可见于慢性肝病、病毒感染以及正常老年人、妊娠妇女等。ANA 阴性不能排除自身免疫性疾病的诊断; 阳性也不一定是自身免疫性疾病。

常用间接免疫荧光法作为总的 ANA 筛选试验。

常见 ANA 荧光图形及临床意义

- 1.均质型: 多是由抗 DNP 抗体所引起。也可由核小体抗体和抗双链 DNA 抗体引起。主要见于 SLE, 药物性狼疮。
- 2.斑点型: 是由抗 ENA 抗体所引起。主要见于 SLE、MCTD、PSS、SS 等。高滴度的斑点型常见于 MCTD。
- 3.周边型 (又称核膜型): 主要由抗 dsDNA 的抗体所引起。主要见于 SLE。特别是活动期患者。
- 4.核仁型: 主要见于硬皮病。相关抗体是抗核仁特异的低分子量 RNA 等。
- 5.着丝点型: 主要见于局限性硬皮病及 CREST 综合征。主要的靶抗原着丝点 B 抗原。

抗 dsDNA 抗体是 SLE 的特征性标记抗体, 是 SLE 活动期的重要指标。抗体滴度的动态检测对疗效的监测提供了有价值的实验室手段。抗 dsDNA 抗体对诊断 SLE 特异性较高; 可达 95%以上, 但敏感性较低, 仅为 30%~50%, 因此, 抗 dsDNA 抗体阴性不能排除 SLE 的诊断。

抗 dsDNA 抗体在 SLE 的发病机制中起到重要作用。如狼疮肾炎; 血管炎; 皮肤的蝶形红斑等均与该抗体有关。

抗 ENA 抗体的临床意义

1.抗 Sm 抗体：是 SLE 的血清标志抗体，阳性率 30%~40%。阴性不能排除 SLE 的诊断。抗 Sm 抗体水平与 SLE 活动性没有相关性，也不与临床表现相关，治疗后的 SLE 患者也可呈现抗 Sm 抗体阳性。抗 Sm 抗体的检测对早期或不典型的 SLE 以及治疗后的 SLE 的回顾性诊断具有帮助。

2.抗核 RNP 抗体：高滴度的抗核 RNP (nRNP) 抗体是 MCTD 诊断的重要依据。因其抗原为含有 U1RNA 的核蛋白复合物，故称 U1RNP。MCTD 阳性率可高达 95%。

3.抗 SSA / Ro / 抗 SSB / La：是干燥综合征 (SS) 最常见的自身抗体，抗 SSB 特异性较 SSA 高。两者同时检测可提高 SS 的诊断率，抗 SSA 抗体也可见于 SLE 和其他自身免疫病，亚急性红斑狼疮患者、补体缺陷的 SLE 患者、新生儿狼疮患者可以出现抗 SSA 抗体。

4.抗 Jo-1 抗体：最常见于多发性肌炎 (polymyositis, PM)。在其他 AID 一般为阴性。PM 与硬皮病重叠者阳性率较高。

5.抗 Scl-70 抗体：几乎仅见于进行性系统性硬化病。

## 第三十四章 免疫增殖性疾病及其免疫检测

### 第一节 免疫增殖性疾病的概念及分类

免疫增殖性疾病 (IPD)，主要是指因免疫器官，免疫组织或免疫细胞 (淋巴和单核-巨噬细胞) 异常增生 (包括良性或恶性) 所致的一组疾病，表现出免疫功能异常或免疫球蛋白水平增高。

免疫球蛋白异常增生性疾病是指由于浆细胞的异常增殖所致的 Ig 异常增生造成机体病理损伤的一组疾病。

### 第二节 免疫增殖性疾病的免疫损伤机制

#### 一.浆细胞异常增殖

浆细胞异常增殖常指单克隆浆细胞异常增殖并伴有单克隆 Ig 或其多肽链亚单位合成的异常。

#### 二.正常体液免疫抑制

正常的体液免疫是 B 细胞增殖分化并产生效应，细胞因子可有序地启动、调节 B 细胞的这一过程，以发挥正常的体液免疫。IL-4：启动休止期 B 细胞进入 DNA 合成期；IL-5：促进 B 细胞继续增殖；IL-6：促进 B 细胞分化为浆细胞。如 IL-6 异常 ↑，直接效应是抑制了 IL-4 的正常产生，抑制了体液免疫反应的过程而致。

#### 三.异常 Ig 增生所致造成的病理损伤

主要是无活性的 Ig 或其片段，又无正常的免疫功能，其含量异常 ↑，可直接或间接损害免疫系统和正常组织，产生病理损害。

#### 四.溶骨性病变

主要是由于骨质形成细胞调节功能紊乱（如 IL-6 的异常增高，可使破骨 C 增高和功能亢进），而使骨质发生溶骨性改变，与瘤向骨髓中浸润生长直接破坏也可能有关。

### 第三节 常见免疫球蛋白增殖病

单克隆免疫球蛋白增殖病是指患者体内存在异常增多的单克隆免疫球蛋白的一类疾病。又称丙种球蛋白增殖病，主要是由于 Ig 电泳位置在球蛋白区域（丙种球蛋白）。

特点是：单克隆细胞增生，Ig 理化性质十分均一，无活性和正常的免疫功能，所以又称副蛋白，也称 M 蛋白。M 蛋白可通过肾小球滤过从尿中排出（轻链），因轻链分子量小（45000），在尿中测出轻链故又称之为本周蛋白，它是 1847 年由 Bence-Jones 在尿中检出轻链而命名。

#### 一.多发性骨髓瘤

多发性骨髓瘤，是单株浆细胞异常增生的恶性肿瘤，亦称浆细胞瘤。

1.发病机制：不明

临床特征

(1) 骨质破坏：骨髓瘤细胞增生、浸润破坏骨组织→骨质疏松、溶骨改变→骨痛、骨折。

(2) 贫血：骨髓损害→贫血、粒细胞和血小板减少，出血。

(3) 感染。

(4) 肾功能损害。

(5) 其他组织损害，如神经系统。

(6) 预后不良，第(3)和(4)常为本病的死因。

3.免疫学特征

(1) 血清中有大量的 M 蛋白，

$IgG \geq 30g/L$ 、 $IgA \geq 10g/L$ 、 $IgM \geq 10g/L$ 、 $IgD \geq 2.0g/L$ 、 $IgE \geq 2.0g/L$  或尿中有本周蛋白 ( $>2.0g/24h$  尿)；

骨髓中有大量不成熟的浆细胞 ( $>15\%$ )，组织活检证实有浆细胞瘤；

(3) 正常的 Ig 水平明显下降。

MM 不同类型特征：发生率 IgG 型最常见 ( $>50\%$ )、IgA 型次之 (约  $20\% \sim 25\%$ )、IgD 型少见。

#### 二.巨球蛋白血症

巨球蛋白血症是以分泌 IgM 的浆细胞恶性增殖为病理基础的疾病，多见于老年男性。

1.病因不明：

2.临床特征：①淋巴结-肝-脾肿大为其特征；②老年发病；③有不明原因贫血及出血倾向；④有中枢和 / 或周围神经系统症状；⑤有雷诺现象；⑥有视力障碍。

3.免疫学特征：①血清中有单克隆 IgM 含量 ↑，一般  $>10g/L$ ，为其特点；②红细胞正色素性贫血、白细胞和血小板减少；③骨髓中有淋巴细胞样浆细胞浸润；④血清相对粘度 ↑；⑤本周蛋白尿 ( $10\% \sim 30\%$  患者可有，常为 κ)。

### 三.重链病

重链病：由于浆细胞发生突变和异常增殖，合成功能障碍，只产生 Ig 的重链或有缺陷的重链，致使血清和尿中出现大量的游离的无免疫功能的 Ig 重链所致的疾病。

1.原因和发病机制不明：可能与①重链基因群改变及 RNA 转录后拼接异常有关；②慢性感染（病毒等）有关。

2.根据重链的类别分为四型：IgG（ $\gamma$ ）、IgA（ $\alpha$ ）、IgM（ $\mu$ ）

### 四.轻链病

轻链病是由于浆细胞发生突变和异常增殖，产生大量的轻链，血浆中轻链含量异常增加，经肾脏从尿中排出，由此导致的疾病。

临床特点：①发病的年龄轻；②以发热、贫血，严重肾功能损害（ $\lambda$ 型）为特点；③多数有溶骨性损害；④有淀粉样变性。

免疫学特征：①血清中异常轻链水平升高，正常 Ig 水平下降或明显下降；②尿中和血清中可检出同类型的轻链片段；③本周蛋白尿。

### 五.良性单克隆丙种球蛋白血症

良性单克隆丙种球蛋白病是指血清中出现高水平 Ig 和 M 蛋白（低水平，IgG 常见），不呈进行性增加，不伴有浆细胞恶性增殖的疾病，正常老年人群中可见。特点是：①血中 M 蛋白水平不高；②血和尿中无游离的轻链和重链；③血中有高水平 Ig，但通常低于恶性浆细胞病，IgG<30g/L、IgA<20g/L、IgM 不定，其他 Ig 大多正常或轻度减少。④骨髓中浆细胞<10%，形态正常。

## 第四节 免疫球蛋白异常增生常用的免疫检测

### 一.血清区带电泳

是测定 M 蛋白的一种定性试验，常用醋酸纤维素膜和琼脂糖电泳两种方法。主要是以正常电泳图谱与标本图谱进行比较，可看出异常 Ig 的区带和位置。

M 区带：M 区带多见于  $\gamma$  区或  $\beta$  区。

### 二.血清 Ig 的定量测定

1.单向免疫扩散法（RID）：设备简单，操作简便，适用于基层，但敏感性差，检测阈值仅 30mg/L，时间长达 48~72h，准确性受多因素影响。

2.免疫比浊法：准确、快速、敏感、检测阈值可达 0.1mg/L，可自动化，常用速率散射比浊法，可测 Ig 和补体成分。

3.ELISA 法：敏感性高，检测阈值可达 0.1mg/L，简便，可自动化，重复性好。

意义：

Ig 定量测定①有利于丙种球蛋白病的诊断；②可用于良性和恶性的鉴别、良性单克隆丙种球蛋白病时：M 蛋白<20mg/L，恶性单克隆丙种球蛋白病时：M 蛋白>30mg/L。当 M 蛋白阳性时，宜进一步作亚型分析及轻链检测，轻链比重链之值有助于诊断，正常人血清中  $\kappa/\lambda$  为 2:1，当 >4:1 或 <1:1 时，应考虑  $\kappa$  型或  $\lambda$  型 M 蛋白血症。

4.免疫电泳（IFP）

免疫电泳是将区带电泳和免疫扩散结合起来的一种免疫学分析法。血清标本先经区带电泳将各种蛋白成分分离开，继而用各种特异性抗血清进行免疫扩散，根据 M 蛋白在免疫电泳中所形成的特殊沉淀弧，观察其电泳转移位置与抗原特异性，可将 M 蛋白的免疫球蛋白类型和其轻链型加以鉴定。IFP 还不能完全进行 M 蛋白分类时，可用免疫固定电泳做补充鉴定。

#### 5. 免疫固定电泳 (IFE)

原理：免疫区带电泳+免疫沉淀反应。本法将血清或其他标本在琼脂平板上作区带电泳，分离后于其上覆盖含抗血清（分别含抗  $\kappa$  或  $\lambda$  轻链，或各类重链抗血清）的滤纸，当抗体与某区带中的单克隆 Ig 结合后，便形成免疫复合物沉淀（固定）下来，再通过漂洗与染色，呈现浓而窄的着色区带，即可判别单 Ig 的轻链和重链的类别。

#### 6. 尿中轻链蛋白检测

主要测尿中本周蛋白。本周蛋白在 pH5.0 时，加热至  $40^{\circ}\text{C}\sim 60^{\circ}\text{C}$  时出现沉淀，继续加热至  $90^{\circ}\text{C}\sim 100^{\circ}\text{C}$  时又重新溶解，降温至  $56^{\circ}\text{C}$  时又出现凝固，故为凝溶蛋白。

常用方法为直接定量测定，可对尿中  $\kappa$  和  $\lambda$  链作定量分析。

定性为加热沉淀法，为筛查试验，阳性者再作免疫电泳分析。

## 第三十五章 免疫缺陷性疾病及其免疫检验

由遗传因素或其他原因造成的免疫系统发育或免疫应答障碍而导致的一种或多种免疫功能不全称为免疫缺陷由此所致的各种临床综合征称为免疫缺陷病。

### 第一节 免疫缺陷病的分类和特点

#### 一. 免疫缺陷病的分类

1. 按病因分为两大类：

- (1) 原发性免疫缺陷病 (PID)
- (2) 继发性免疫缺陷病 (SID)

2. 按损伤的免疫成分分为 5 类：

- (1) B 细胞免疫缺陷 (抗体)。
- (2) T 细胞免疫缺陷 (细胞)。
- (3) 联合细胞免疫缺陷 (B、T)。
- (4) 吞噬细胞免疫缺陷。
- (5) 补体免疫缺陷。

#### 二. 免疫缺陷病的特点

ID 的共同临床特点：

1. 反复、严重、难治性感染

- (1) 体液免疫、吞噬细胞、补体缺陷患者：以细菌感染，尤以化脓菌感染。
- (2) 细胞免疫缺陷患者：以病毒、真菌、原虫等胞内菌感染。
- (3) 病原体感染也可影响特异性和非特异性免疫功能，如 HIV 感染致 AIDS。



- 2.易继发自身免疫病和恶性肿瘤。
- 3.临床症状、病理损伤多样。

## 第二节 原发性免疫缺陷病

PIDD: 由于遗传因素、先天性免疫系统发育不良造成免疫功能障碍所致的疾病称为 PIDD。

### 一.原发性 B 细胞免疫缺陷病

原发性 B 细胞免疫缺陷病: 是由于 B 细胞发育缺陷或 B 细胞对 T 细胞传导的信号无法产生有效的应答所致的抗体形成障碍, 主要为体内 Ig 水平下降或缺失。

Ig 缺陷有三种主要临床表现: ①全部 5 类 Ig 缺陷; ②或某一 Ig 缺陷, 或某些 Ig 的亚类缺陷(选择性 Ig); ③Ig 正常, 但对 Ag 刺激无免疫应答。如成人 IgG 血清中  $<6\text{g/L}$  为低丙种蛋白血症。患者外周血 B 细胞减少,  $<2\text{g/L}$  为无丙种蛋白血症。T 细胞数目正常。

主要临床特征为反复细菌化脓菌感染。

常见疾病:

1.X-LA ( $\alpha$  连锁婴幼儿无丙种球蛋白血症): 先天性无丙种球蛋白血症, 又名 Bruton 综合征。最常见的 B 细胞 IDD。

2.选择性 IgA 缺陷: 最常见

### 二.原发性 T 细胞免疫缺陷病

原发性 T 细胞 IDD 是由于 T 细胞的遗传性缺陷, 涉及 T 细胞前体和 T 细胞的发生、发育、分化和功能障碍。最常见的 DiGeorge 综合征(先天胸腺发育不良)。

据病情程度和症状, 可分为: ①单纯的 T 细胞缺陷; ②伴有其他缺陷; ③严重联合 ID; ④其他

先天性胸腺发育不良综合征: 即 DiGeorge 综合征。主要免疫学及临床特点: ①T 细胞 ID、T 细胞功能缺陷、外周血 T 细胞减少, 也可正常。②血  $\text{Ca}^{2+}$  减少, 手足抽搐。③心脏大血管和颜面畸形。④反复感染(病毒、真菌、原虫等)。

伴 IgM 增多的免疫球蛋白缺陷病: 又称 IgM 增高综合征

原发性联合免疫缺陷病(CID): 主要由于先天性 T、B 细胞发育不全, 导致 T、B 细胞缺乏和功能紊乱。临床表现, 发病机制复杂, 免疫治疗效果不佳。

重症联合免疫缺陷病(SCID): SCID 是一组胸腺、淋巴组织发育不全及 Ig 缺失的遗传性疾病, 机制是不能产生体液免疫和细胞免疫应答。常可见常染色体隐性遗传(AR), 或 X 连锁隐性遗传(XL)。

### 三.原发性吞噬细胞缺陷

原发性吞噬细胞缺陷是由于遗传或先天原因使吞噬细胞先天缺陷, 中性粒细胞减少症最常见。

机制:

- 1.吞噬细胞趋化和粘附功能降低。
- 2.吞噬和杀菌活性障碍。

3.单核吞噬细胞的特殊异常。如 IgG Fc 受体缺陷。

常见疾病：

- 1.中性粒细胞减少症。
- 2.慢性肉芽肿（CGD）。
- 3.G-6-PD（葡萄糖-6 磷酸脱氢酶）缺乏症。

### 第三节 继发性免疫缺陷病

SIDD 是指发生在其他疾病基础上或某些理化，生物等因素所致的免疫功能障碍。最常见的诱因有：①浸润性和血液系统疾病。②肿瘤。③感染性疾病。④遗传性疾病。⑤外科手术创伤。⑥特殊器官系统功能不全及消耗性疾病。⑦免疫抑制疗法。⑧营养障碍（不良）。⑨衰老。⑩其他。

### 第四节 获得性免疫缺陷综合征

获得性免疫缺陷综合征（AIDS）又称艾滋病，它是由人类免疫缺陷病毒（HIV）所引起的。本病主要是通过性接触和体液传播，病毒主要侵犯和破坏辅助性 T 淋巴细胞（CD4+T 淋巴细胞），使机体细胞免疫功能受损，最后并发各种严重的机会性感染和肿瘤。

#### 一.HIV 的结构及基因组

HIV 属逆转录病毒科慢病毒属。为逆转录 RNA 病毒。形状为圆形或杆状，直径 100~140nm。

1.HIV 的结构蛋白：①包膜蛋白：含外膜蛋白和跨膜蛋白，信号肽。②核心蛋白：在细胞内合成，包括 p24、p17 和 p12 三种结构蛋白、RNA 逆转录酶、蛋白酶和整合酶。

2.HIV 基因组：基因组为两条相同的 RNA 单链，每条单链含有 9749 核酸，由结构基因和调节基因等组成。

3.结构基因有 3 个：

- （1）gag 基因（群抗原基因）、编码核心蛋白 p24。
- （2）pol 基因（多聚酶基因）、编码核心多聚酶。
- （3）env 基因（外膜蛋白基因）、编码外膜蛋白 gp120 和 gp41。结构基因主要编码核心蛋白、多聚酶和外膜蛋白。

4.调节基因 3 个：

- （1）tat 基因（反式激活因子）、对 HIV 基因起正调控作用。
- （2）rev 基因（病毒蛋白表达调节因子）、增加 gag 和 env 基因对结构蛋白的表达。
- （3）nef 基因（负因子）、有抑制 HIV 增殖作用。

调节基因主要通过调节蛋白作用于病毒基因组或其 mRNA 的某一段序列上。

5.HIV 有两型：

HIV-1：为常见。HIV-2：主要在西非

#### 二.AIDS 的发病机制与免疫学特征

### 1.发病机制

主要是 HIV 直接或间接损害、破坏 CD4+T 细胞，导致细胞免疫缺陷。免疫功能下降，促使并发感染和肿瘤等发生。

### 2.免疫学特征

(1) CD4+细胞受 HIV 感染。CD4+T 细胞受损、破坏而减少， $<200/\text{ml}$ ；进行性细胞免疫缺损。

(2) 继而体液免疫受损（B 细胞受损）。其他细胞受损；如 T 淋巴细胞、单核-巨噬细胞、滤泡树突状 C、NK 细胞受损。

(3) B 细胞多克隆激活伴免疫球蛋白增多。

## 三.HIV 感染的临床特点及预防

1.流行病学：①HIV 感染的高危人群：性乱者，吸毒者（静脉）、接受污染的注射者；②传播途径：a.性接触传播，b.注射途径，c.母婴垂直传播。

2.预防：①加强对 HIV 感染者和 AIDS 病人的管理；②切断传播途径；③保护易感人群，HIV 疫苗；④加大宣传预防力度。

3.特点：潜伏期长，病程进展缓慢。临床表现多种多样，可以无症状，也可发展为癌症和严重的条件致病微生物感染，最终导致死亡。可出现神经系统损害，如脑膜脑炎、周围神经病变等。机会性感染包括细菌、病毒、真菌和寄生虫等病原体，以卡氏肺孢子菌、白色念珠菌、单纯疱疹病毒、EB 病毒、新型隐球菌和弓形虫感染最常见。最常见的并发症是卡氏肺孢子虫肺炎和卡波济（kaposi）肉瘤。

## 第五节 免疫缺陷病的实验室检测

### 一.体液免疫的检测（B 细胞缺陷检测）

1.免疫球蛋白的检测：Ig 的浓度与 B 细胞数量和质量密切相关，可反映 B 细胞缺陷与否。常用检测方法：

(1) 单向免疫扩散法（RID）。

(2) 速率散射比浊法。

2.分泌型 IgA 测定（sIgA）主要了解呼吸道和胃肠道黏膜局部免疫功能情况，对反复呼吸道感染和慢性腹泻严重的患儿有意义。

### 3.B 细胞表面标志的检测

(1) 特异性分化抗原测定：可以测定 CD9、CD10、CD19 和 CD20 等 B 细胞标志。

(2) B 细胞表面膜免疫球蛋白测定（SmIg）：主要反映 B 细胞的数量，根据 SmIg 的类别鉴定 B 细胞的成熟程度。

### 二.细胞免疫的检测（T 细胞缺陷检测）

1.迟发型皮肤过敏反应：最常用的反映机体细胞免疫状态的体内检测方法。临床上应用较多的是 OT、PPD 和 PHA 皮试。

### 2.T 细胞及其亚群检测

(1) T 细胞绝对值 $<1.2 \times 10^9 / \text{L}$ ，提示有细胞免疫缺陷可能。

(2) 可用 CD 分子的单克隆抗体, 用间接免疫荧光法或 FCM 仪或酶免疫技术 (ABC 法) 测定 T 细胞表面不同 CD 抗原, 将 T 细胞及其亚群进行鉴定和分类, 了解细胞免疫功能。细胞免疫缺陷病常表现为 T 细胞减少, CD4+T 细胞减少, CD8+T 细胞可正常, CD4+ / CD8+ 比值减少, 常 <1 (正常 1.5~2.0)。

(3) 特异性受体 (E 受体) 的检测

T 细胞表面有特异性绵羊红细胞受体 (E 受体、即 CD2), 为特有标志, 代表 T 细胞的数量, 了解细胞免疫功能, 粗略判断 T 细胞的缺陷。现用检测 CD2+ 所代替。方法同上。免疫缺陷病时, CD2+ 减少, 常减少到正常值的 1/2~1/3。

3. 淋巴细胞增殖反应试验 (体外试验): 为淋巴细胞转化试验。淋巴细胞增殖的刺激物有两大类: ①非抗原性刺激物 (PHA、LPS、刀豆球蛋白 A), ②抗原性刺激物。T 淋巴细胞缺乏者其刺激指数降低, 如果 T 细胞总数无明显减少而刺激指数减少降低, 表明 T 细胞不够成熟。

### 三. 吞噬细胞功能的测定

吞噬细胞分单核巨噬细胞和中性粒细胞两大类, 主要功能有: 趋化、调理、吞噬和杀伤作用。免疫缺陷病时, 这些功能减弱或消失。方法有:

1. 吞噬细胞数量的检测: 可作中性粒细胞绝对数的计算和骨髓检查。中性粒细胞  $<1.5 \times 10^9 / L$  (成人  $<1.8 \times 10^9 / L$ ) 时, 可认为是中性粒细胞减少症, 可导致严重感染, 若  $<0.1 \times 10^9 / L$  可发生致死性感染。骨髓检查主要了解骨髓系粒细胞是否减少或缺如。

2. 趋化功能试验: 主要判断中性粒细胞运动状况, 以了解其趋化功能。3. 吞噬和杀伤试验: 主要检测白细胞或单核细胞的吞噬和杀菌功能。

### 四. AIDS 的实验室检测

AIDS 的免疫检测从三个方面进行: ①病毒标志; ②免疫标志; ③相关标志。

1. 病毒标志: 分离培养, 直接检测病毒颗粒或 HIV 组分。

2. 免疫标志: 主要是检测 HIV 抗体和 T 细胞亚群 (CD4、CD8) 为常用。

(1) 检测 HIV 抗体: 先用 ELISA 作初筛试验 (连续 3 次检测), 阳性者再用免疫印迹法作确证试验。我国判断标准: ①HIV 抗体阳性: 至少有两膜带 (gp41 / gp120 / gp160) 或至少一条膜带与 P24 带同时出现。②HIV 抗体阴性: 无 HIV 抗体特异性条带出现。③HIV 抗体可疑: 出现 HIV 特异性抗体带, 但带型不足以确认阳性者。

(2) T 细胞亚群: T 淋巴细胞总数减少, 常  $<1.5 \times 10^9 / L$ , CD4+ 细胞下降至  $(0.2 \sim 0.4) \times 10^9 / L$  (艾滋病相关综合征期),  $<0.2 \times 10^9 / L$  (艾滋病期) CD4 / CD8 比值下降, 常 <1 (正常 >2)。

3. 相关标志: 与 HIV 感染、AIDS 病情有关的一些检测内容, 如微生物、红细胞、血沉等。

4. 核酸检测: 用 RT-PCR 检测 HIV mRNA。

## 第三十六章 肿瘤免疫与免疫学检验

### 第一节 肿瘤抗原

肿瘤抗原是指在肿瘤发生、发展过程中新出现的或过度表达的抗原物质。机体产生肿瘤抗原的可能机制为:

- 1.基因突变;
- 2.细胞癌变过程使原本不表达的某些基因被激活;
- 3.抗原合成过程的某些环节发生异常,如糖基化异常;
- 4.胚胎时期抗原或分化抗原的异常、异位表达;
- 5.某些基因产物尤其是信号转导分子的过度表达;
- 6.外源性基因(如病毒基因)的表达。

#### 一.根据肿瘤抗原的特异性分类

##### 1.肿瘤特异性抗原

是肿瘤细胞所特有的新抗原,它只表达于肿瘤细胞,而不存在于正常组织细胞。

##### 肿瘤相关性抗原

是指非肿瘤细胞所特有的,正常组织或细胞也可表达的抗原物质,但此类抗原在癌变细胞的表达水平远远超过正常细胞。

#### 二.根据肿瘤抗原产生机制分类

##### 1.理化因素诱发的肿瘤抗原

##### 2.病毒诱生的肿瘤抗原

##### 3.自发性肿瘤抗原

##### 4.正常细胞成分的异常表达

###### (1)分化抗原:

###### (2)过度表达的抗原:

###### (3)胚胎抗原:

###### (4)细胞突变产生的独特型抗原:

### 第二节 机体抗肿瘤的免疫学效应机制

#### 一.抗肿瘤的细胞免疫机制

##### (一) T 细胞

###### 1.CD4+T 细胞

###### 2.CD8+T 细胞(在抗肿瘤效应中起关键作用)

###### 3. $\gamma$ $\delta$ +T 细胞

##### (二) NK 细胞

##### (三) 巨噬细胞

## 二.抗肿瘤的体液免疫机制

- 1.补体的溶细胞效应
- 2.抗体依赖的细胞介导的细胞毒效应
- 3.抗体的免疫调理作用
- 4.抗体封闭肿瘤细胞表面某些受体
- 5.抗体干扰肿瘤细胞粘附作用
- 6.其他机制

## 第二节 肿瘤免疫学检验

### 一.肿瘤标志物的概述

1.肿瘤标志物(tumor marker, TM)是指在肿瘤的发生和增殖过程中,由肿瘤细胞本身所产生的或者是由机体对肿瘤细胞反应而产生的,反映肿瘤存在和生长的一类物质,包括蛋白质、激素、酶(同工酶)、多胺及癌基因产物等。患者血液或体液中肿瘤标志物的检测,对肿瘤的辅助诊断、鉴别诊断、疗效观察、病情监测以及预后的评价具有一定的价值。

2.肿瘤标志物主要是用于疾病的筛查,而不具有确切的诊断意义。一般来说筛查试验主要用于高危人群,比如,患肝细胞癌的高危人群是指有慢性病毒性肝炎,特别是乙肝和丙肝的患者;前列腺癌的高危人群主要是指60岁以上的老年男性;有肿瘤家族史的健康人也应属于高危人群。

#### 3.肿瘤标志物的分类

- (1) 胚胎抗原类:如 AFP, CEA 等,
- (2) 糖链抗原类:如 CA125, CA15-3, CA19-9 等。
- (3) 激素类:如患甲状腺髓样癌时降钙素升高,患绒毛膜细胞癌时 hCG 明显升高。
- (4) 酶和同工酶类:  $\gamma$  GT, PAP 等。
- (5) 蛋白质类:  $\beta$  2 微球蛋白, 铁蛋白, 本周蛋白等
- (6) 癌基因产物类如 ras 基因蛋白, myc 基因蛋白, p53 抑癌基因蛋白等。

#### 4.肿瘤标志物的临床应用

- (1) 高危人群的筛查
- (2) 肿瘤的辅助诊断
- (3) 肿瘤治疗效果的评价
- (4) 肿瘤复发的监测和预后判断

## 二.临床常规检测的肿瘤标志物

### 1.AFP

性质: AFP 是胚胎时期的重要血清成分,由卵黄囊和肝细胞合成,胎儿出生后,其浓度急剧下降,几个月至一年可降至正常水平,正常值小于  $20 \mu\text{g} / \text{L}$ 。

参考值:

正常值  $<20 \mu\text{g} / \text{L}$ ; AFP  $>400 \mu\text{g} / \text{L}$  时,对原发性肝细胞癌有较大的诊断价值。

临床意义:

成人血清 AFP ↑:

- (1) 原发性肝细胞癌: 有辅助诊断, 早期诊断, 鉴别诊断的意义, 动态观察, AFP 不高者不能排除原发性肝癌。
- (2) 生殖系统胚胎瘤: 恶性畸胎瘤。
- (3) 消化道癌有部分 ↑。
- (4) 消化道肿瘤肝转移。
- (5) 妊娠, 急、慢性肝炎, 肝硬化有一过性 AFP ↑。

## 2.CEA

性质: 胎儿肠和结肠癌病人提取肿瘤相关抗原, 是一种糖蛋白。

检测方法: ELISA、RIA、荧光偏振免疫测定、免疫发光技术、自动化免疫分析等。

参考值: 正常情况下, 血清 CEA < 2.5 μg / L。若超过 20 μg / L 提示患有消化道肿瘤。

临床意义 (腺癌检测指标)

- (1) 可作为成人结肠癌辅助诊断的重要项目, 还有助于疗效评价和预后监测。
- (2) 作为胰腺癌、乳腺癌诊断的参考指标。

## 3.PSA (前列腺上皮细胞产生的糖蛋白)

检测方法: ELISA、RIA、荧光偏振免疫测定、免疫发光技术、自动化免疫分析等。

参考值: 正常值 0~4 μg / L

临床意义:

- (1) 作为前列腺癌的辅助诊断项目。
- (2) 可用来监测前列腺癌疗效, 判断预后。

常以 > 4 μg / L 作为前列腺癌的诊断标准。总 PSA (tPSA), 游离 PSA (fPSA) 升高, tPSA / fPSA 降低, 高度提示前列腺癌的可能。tPSA / fPSA 更有诊断价值。

## 4.糖链抗原 (CA)

1) CA125: CA125 是上皮性卵巢癌和子宫内膜癌的标志物, 浆液性子宫内膜样癌、未分化卵巢癌患者的 CA125 含量可明显升高。当卵巢癌复发时, 在临床确诊前几个月便可呈现 CA125 增高, 尤其卵巢癌转移患者的血清 CA125 更明显高于正常参考值 (< 35 μg / L)。CA125 测定和盆腔检查结合可提高试验的特异性。观察血清 CA125 浓度有助于卵巢癌的预后评价和治疗控制, 经治疗后, CA125 含量可明显下降, 若不能恢复至正常范围, 应考虑有残存肿瘤的可能。也见于早期妊娠, 子宫内膜病。

2) CA19-9: 正常人 < 37 μg / L, CA19-9 是胰腺癌和结、直肠癌的标志物, 血清 CA19-9 阳性的临界值为 37 μg / L, 胰腺癌患者 85%~95% 为阳性, 当 CA19-9 小于 1000 μg / L 时, 有一定的手术意义, 肿瘤切除后 CA19-9 浓度会下降, 如再上升, 则可表示复发。结直肠癌、胆囊癌、胆管癌、肝癌和胃癌的阳性率也会很高, 若同时检测 CEA 和 AFP 可进一步提高阳检测率, 如胰腺炎和黄疸, CA19-9 浓度也可增高, 但往往呈“一过性”, 必须加以鉴别。

3) CA15-3: 正常健康者血清 CA15-3 含量小于 28 μg / L, 30%~50% 乳腺癌患者的 CA15-3 明显升高, 它也是监测乳腺癌患者术后复发的最佳指标, 当 CA15-3 大于 100 μg / L 时, 可认为有转移性病变, 其含量的变化与治疗结果密切相关。肺癌、胃肠癌、卵巢癌及宫颈癌患者的血清 CA15-3 也可升高, 应予以鉴别, 特别要排除部分妊娠引起的含量升高。

5.神经元特异性烯醇化酶（NSE）：烯醇化酶是催化糖原酵解途径中甘油分解的最后的酶，NSE 是神经母细胞瘤和小细胞肺癌的标志物。神经母细胞瘤是常见的儿童肿瘤，NSE 作为神经母细胞瘤的标志物，对该病的早期诊断具有较高的临床应用价值。神经母细胞瘤患者的尿中 NSE 水平也有一定升高，治疗后血清 NSE 水平降至正常。血清 NSE 水平的测定对于监测疗效和预报复发性均具有重要参考价值，比测定尿液中儿茶酚胺的代谢物更有意义。

### 三.肿瘤标志物的联合检测

因单一种癌细胞能够产生多种肿瘤标记物，而在不同的肿瘤患者体内这些标志物的质和量差异较大。因此单独检测某一种肿瘤标志物，可能会因为方法的敏感性而只在该标志物含量高的患者体内测出，使含量低的患者漏检。联合应用多种标志物，可减少这种情况的发生，提高肿瘤的检出率。

### 四.肿瘤标志物免疫测定的临床意义

- 1.早期普查（主要针对高危人群）
- 2.肿瘤诊断（参考指标）
- 3.监测病情（有较强临床意义）

## 第三十七章 移植免疫及其免疫检测

### 第一节 引起排斥反应的靶抗原

移植抗原是代表个体特异性的同种抗原，亦即组织相容性抗原。主要是 HLA。与移植排斥反应相关的抗原还有：血细胞抗原、组织特异性抗原、次要组织相容性抗原。

#### 一.主要组织相容性抗原

同种异体移植移植后常发生免疫排斥反应，引起这种排斥反应的抗原称为移植抗原或组织相容性抗原。目前认为 HLA-DR 位点的抗原对移植最为重要，其次为 HLA-A、HLA-B、HLA-DQ 和 HLA-DP，HLA-C 在移植免疫过程中没有明显作用。

#### 二.其他组织相容性抗原

##### 1.AB0 抗原系统

AB0 血型系统也是主要组织相容性抗原。AB0 系统的抗原不仅存在于红细胞，亦存在于血管内皮及其他组织细胞表面，当供者与受者的 AB0 血型不符时，移植物的血循环重建后会即刻导致严重的排斥反应而使移植失败。

### 第二节 排斥反应的种类及发生机制

移植排斥反应是反映由移植抗原诱导的免疫应答所致的移植物功能丧失或受者的机体损害的一种免疫损伤。主要原因是供受体间组织相容性抗原的差异。排斥反应有两种基本类型：宿主抗移植物反应（HVGR）和移植物抗宿主反应（GVHR），临床上多见是前者；



根据发生的机制、时间、速度和临床表现，HVGR 又可分为 3 种类型：超急排斥反应；急性排斥反应；慢性排斥反应。

### 一.超急性排斥反应

超急排斥反应发生在移植物与受者血管接通的数分钟到数小时内，出现坏死性血管炎表现，移植物功能丧失，患者有全身症状。发生的基本原因是受者体内存有抗供者移植物的预存抗体，与抗原结合，激活补体和凝血系统，导致血管内凝血。常见于下列情况：

①ABO 血型不符；②由于多次妊娠或反复输血等使受者体内存在抗 HLA 抗体；③移植物保存或处理不当等其他原因。

### 二、急性排斥反应

急性排斥反应是排斥反应最常见的一种类型，多发生在移植后数周到 1 年内，发生迅速，临床表现多有发热、移植部位胀痛和移植器官功能减退等；病理特点是移植物实质和小血管壁上有以单个核细胞为主的细胞浸润、间质水肿与血管损害，后期在大动脉壁上有急性纤维素样炎症。急性排斥出现得早晚和反应的轻重与供——受者 HLA 相容程度有直接的关系，相容性高则反应发生晚、症状轻、有些可迟至移植后 2 年才出现。急性排斥反应经过及时恰当的免疫抑制治疗多可缓解。

### 三.慢性排斥反应

慢性排斥反应属于迟发型变态反应，发生于移植后数月甚至数年之后，表现为进行性移植器官的功能减退直至丧失；病理特点是血管壁细胞浸润、间质纤维化和瘢痕形成，有时伴有血管硬化性改变。其机制可能为急性排斥细胞坏死的延续；炎性细胞相关的慢性炎症；抗体和细胞介导的内皮损伤；管壁增厚和间质纤维化。本型反应虽然进展缓慢，但用免疫抑制治疗无明显的临床效果。

以上属宿主抗移植反应（HVGR）。移植物抗宿主反应（GVHR）多发生于同种骨髓移植者。