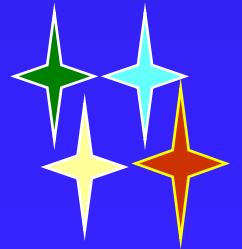
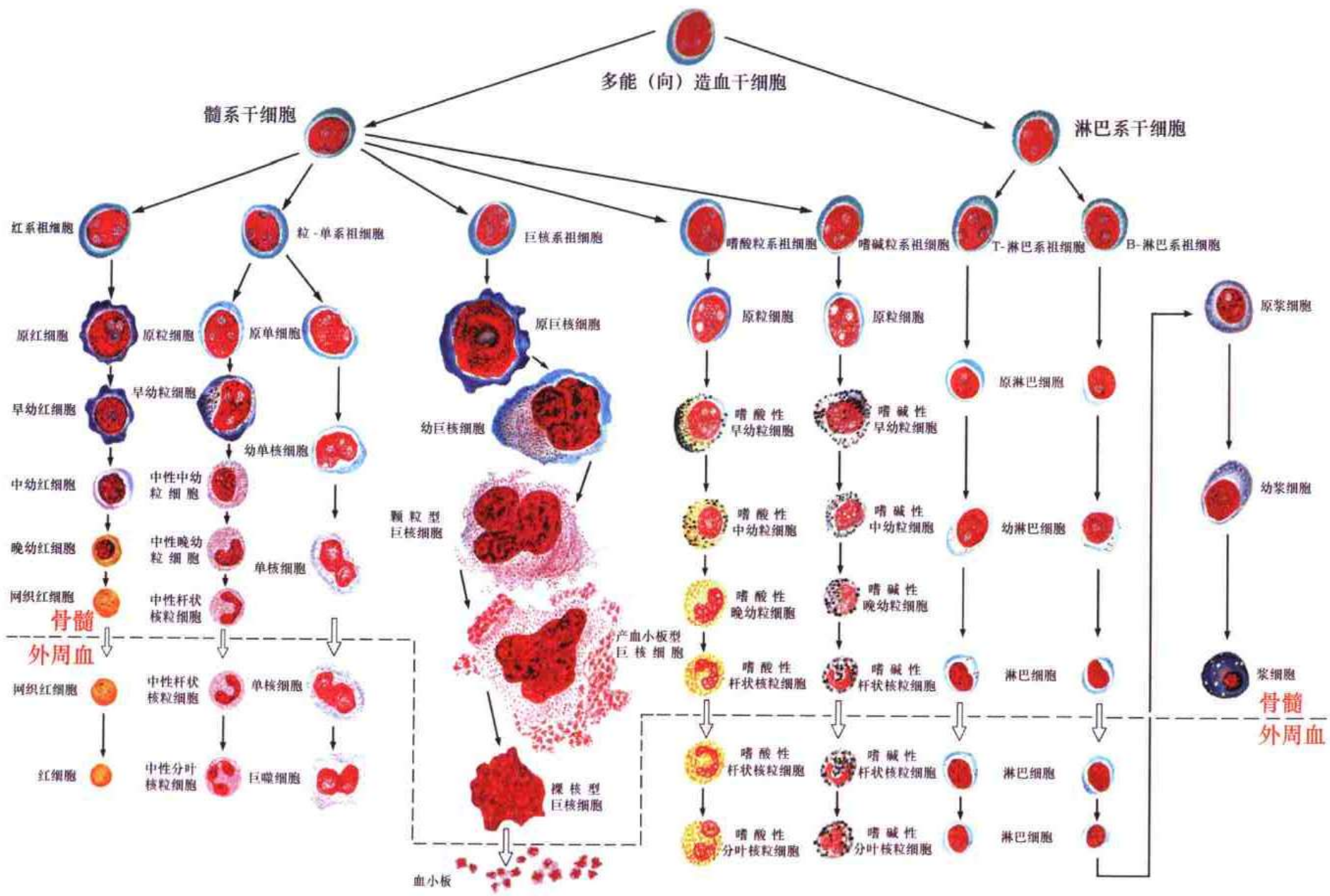


血液生物学

血液是由血浆、血细胞组成的红色液体，流动于血管，循环于全身，直接或间接与机体所有组织发生联系。机体的很多疾病都可以引起血液成分的变化，血液中各成分质量和数量的改变，均可由血液检验反映出来。如细菌或病毒感染、各种贫血等。所以，血液检查不仅帮助诊断各种血液病，对其他系统的疾病诊断都有帮助。同时血液检验对疾病治疗、预防和预后观察也有重要意义。





骨髓血细胞分化、发育、成熟演变规律示意图

第一节 血涂片制作

一、目的和要求

熟练掌握血涂片制作和染色方法（Wright染色和煌焦油蓝染色）。

二、内容

（一）原理

1. Wright氏染色的原理

Wright's染料是由美兰和伊红的化合物溶于甲醇而制成，伊红是带负电荷的酸性染料，美兰是带正电荷的硷性染料，两种染料结合在一起溶解在甲醇中后，美兰和伊红又重新分离开来，成为带负电荷的伊红离子与带正电荷的美兰离子，以使带不同电荷的蛋白质加以吸附。血细胞内含有不同等电点的蛋白质，在相同的酸度下带有不同的电荷，因而能选择性的吸附相应的染料而受染。Wright's染料对氢离子浓度极为敏感，因此用缓冲液稀释染液，可使染色作用稳定，便于识别和比较细胞的变化。

染色液在PH 6.4或PH 6.98的溶液中进行，有的蛋白质吸附酸性染料伊红，被染成红色，这种物质叫嗜酸性物质（如嗜酸性粒细胞的颗粒），有的物质吸附性染料美兰，被染成兰色，称为嗜硷性物质，如胞核、嗜硷性粒细胞颗粒。有的蛋白质在PH6.4时恰为等电点，既吸附酸性染料，又吸附硷性染料，称为嗜中性物质。

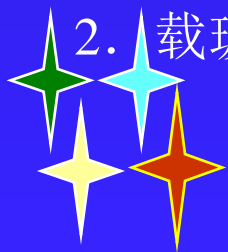
2. 煌焦油蓝染色的原理

煌焦油蓝为碱性染料，胞质内核糖体能与碱性染料中有染色作用的阳离子结合，故煌焦油蓝能将其显色。

（二）材料

1. 甲醛、乙醇、二甲苯、石蜡、 H_2O_2 、Wright's染料、煌焦油蓝染料、中性树脂等。

2. 载玻片、盖玻片、染色架等。



（三）操作步骤

1. Wright氏染色方法

（1）清洗：将载玻片放入清洁液浸泡→流水冲洗→95%乙醇浸泡→拭净待用。

（2）取血：用75%乙醇消毒耳垂或指尖皮肤，刺破，取血，置于载玻片一端。

（3）涂片：取边缘平整载玻片一张，使其一边与载有血滴的载玻片呈35~45°角相交于血滴，血滴沿载玻片的边缘展开，将斜置的载玻片向前推动，血滴即在载玻片上被铺成血膜。

（4）晾干：血涂片或骨髓涂片必须完全干燥后，才能染色，染色前先在涂片上用特种铅笔：画出染色区域，然后滴加染液，使染液完全淹没在画定的区域内。

(5) 染色：滴加Wright's染料静止1~2分钟后（此步主要起固定作用），加等量的双蒸水或磷酸盐缓冲液于染液中，染色5~10分钟。染液上若出现金属薄膜，这说明染料有效。染色时间视染料的成熟程度及室温条件而定。染色时不要摇动，否则易于产生沉淀。

(6) 冲洗：用滴管吸蒸馏水洗去染液，或用普通水洗，便可观察。

(7) 封片：晾干后树脂胶封片。

骨髓涂片方法与血涂片相同，直接取骨采取骨髓，因骨髓较浓，故需根据浓度大小，加入血清稀释5~19倍，充分摇匀后方能涂片，如抽取的人骨髓一般不需要稀释。

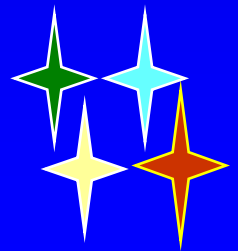
2. 煌焦油蓝染色方法

(1) 在洁净载玻片上加1%煌焦油兰酒精液一滴；待干。

1%煌焦油兰染液配制：煌焦油兰 1克

95%酒精 100ml

(2) 取新鲜血液一滴，滴于载玻片的染液上，用一小玻棒横置于载玻片上轻轻搅拌，然后将载玻片移入培养皿内，玻璃器皿底部置湿纱布一块，载玻片置于湿布上，保持湿度使载玻片上血液不致干涸，染色5~10分钟或更长。



(3) 取出载玻片，常规涂片方法，推成薄而均匀的血膜片。自然干燥。

(4) 用特种铅笔划定染色区，然后按照Wright氏方法染色。

(5) 干燥后，树脂封片。

(6) 如需作网织红细胞计数则不封片。以使用油镜检查，计数方法一般是计算1000个红细胞的百分率。

(7) 染色结果：网织红细胞胞质内可见兰色网状或线状物，此即为核糖体。

三、作业

制作一张血涂片，并进行Wright's染色。

四、思考题

简述Wright氏染色的原理和方法。

第二节 血涂片观察和计数

一、目的和要求

1. 掌握显微镜油镜的操作程序。
2. 掌握各种血细胞的镜下形态特征和计数方法。

二、内容

（一）油镜使用方法 先在低倍镜下找到白细胞最多的部位，在该部位加一滴香柏油，将油镜头接触油滴，再用细调节调至清楚为止，即可观察。使用完毕，用二甲苯清洗油镜头和血片。

（二）观察血液有形成分

1. 红细胞

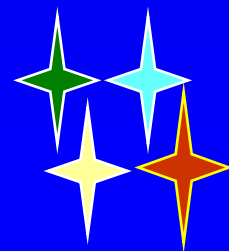
红细胞为圆形无核的桔红色细胞，数目最多，细胞中央着色浅，周缘着色较深。有时可见几个红细胞连在一起，似串钱状。

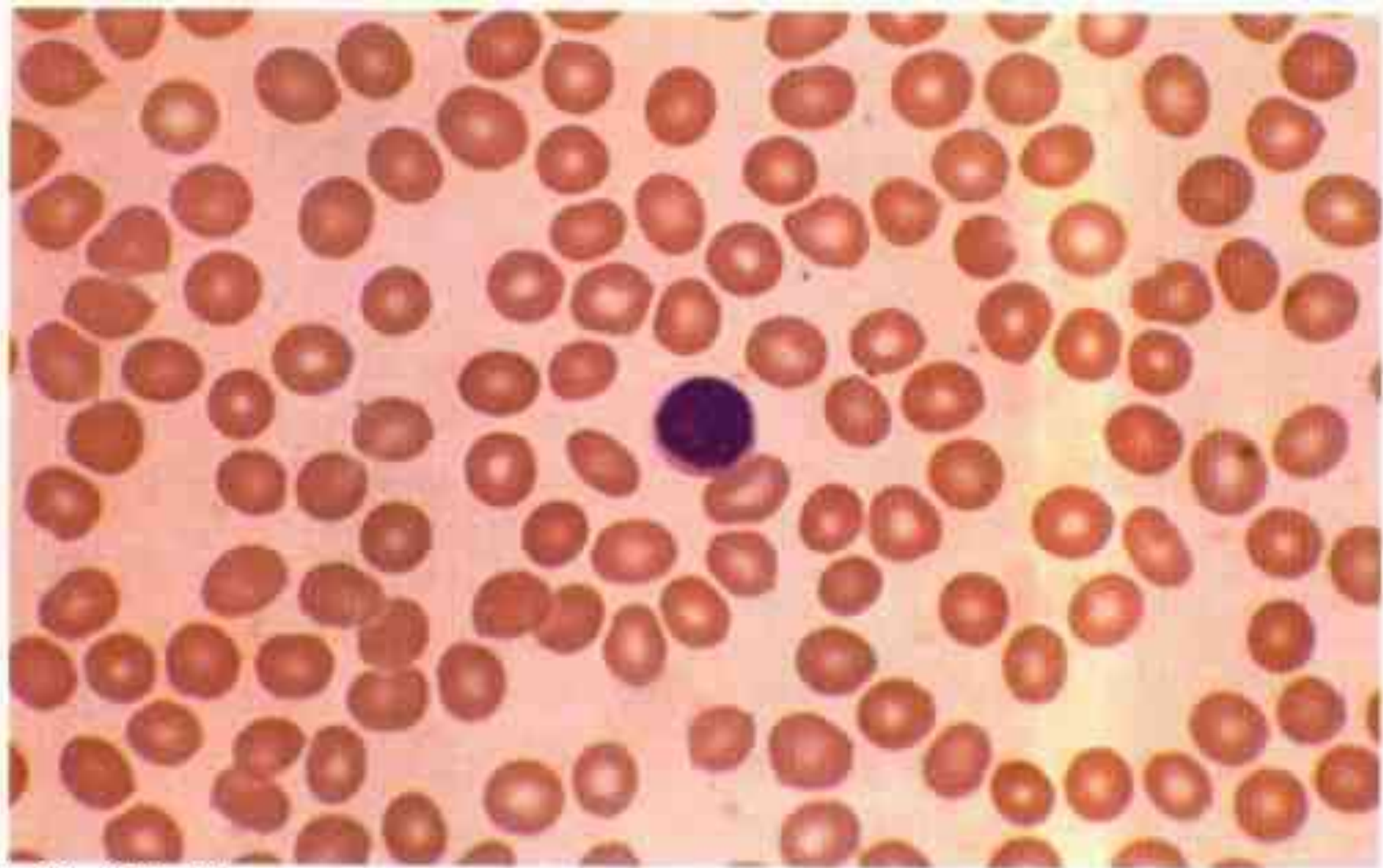
2. 中性粒细胞

白细胞中数目最多的细胞，易于找到。体积较红细胞大，呈圆形。细胞质内有分布均匀的细小的染成浅红色或浅紫色颗粒。细胞核呈杆状或分叶状，分叶核之间有染色质丝相连，分2~5叶不等，细胞核着色较深，染色质呈团块状。

3. 嗜酸性粒细胞

数目较少，胞体较中性粒细胞稍大，呈圆形。细胞质中充满粗大而均匀的染成亮红色的嗜酸性颗粒，细胞核多为2叶，染色质较致密。





血液生物学图:

正常红细胞: 双面微凹, 染粉红色, 中央有较小淡染区, 无细胞核, 片中有一个淋巴细胞

4. 嗜碱性细胞

数目最少，涂片中不易找到。胞体大小与中性粒细胞相近，核形状不规则，常呈S型，核着色较浅，轮廓常不清楚。胞质中可见大小不等、分布不均、呈深蓝紫色的嗜碱性颗粒。

5. 淋巴细胞

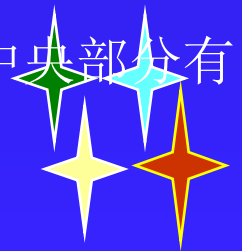
以小淋巴细胞居多，核圆或椭圆形，一侧常有凹痕。染色质呈粗块状，着色深；胞质很少，呈天蓝色，可见少量浅紫色的嗜天青颗粒。

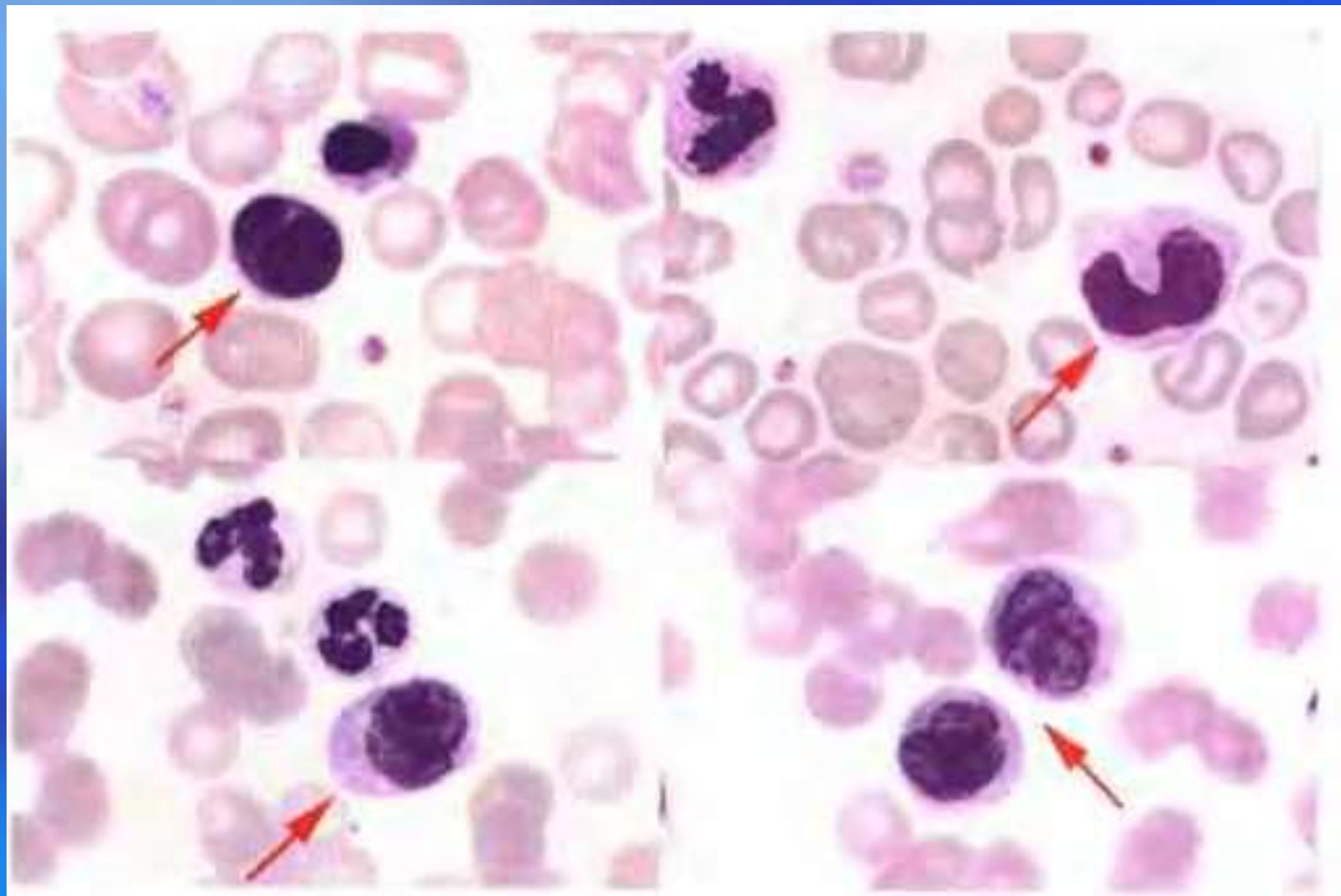
6. 单核细胞

是血细胞中体积最大的细胞，呈圆形或椭圆形，核为肾形或马蹄形，染色质稀疏。胞质较丰富，呈灰蓝色，也可见少量浅紫色的嗜天青颗粒。

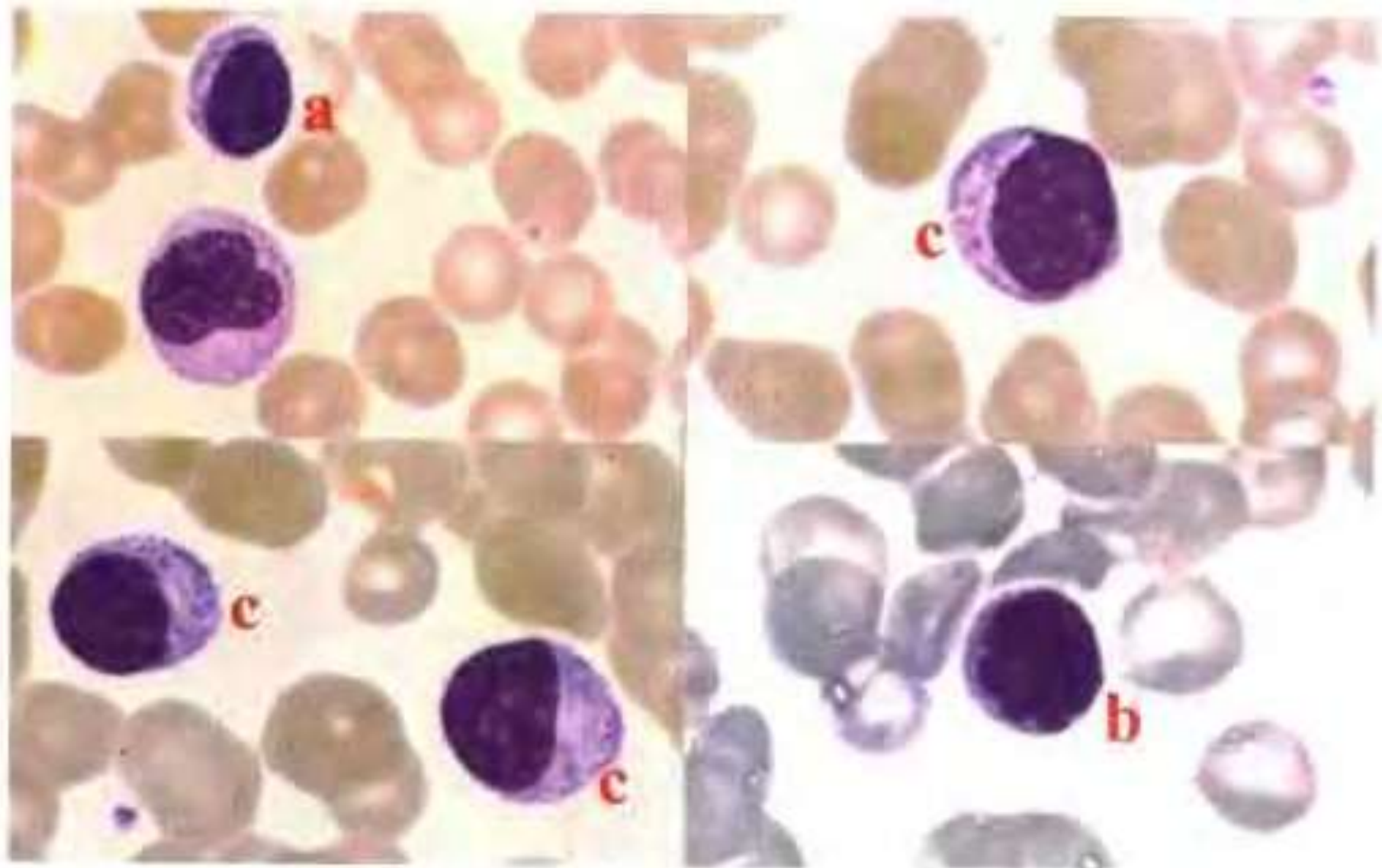
7. 血小板

其形状不规则，大多聚集在一起，周围部分呈透明浅蓝色，中央部分有紫蓝色颗粒。

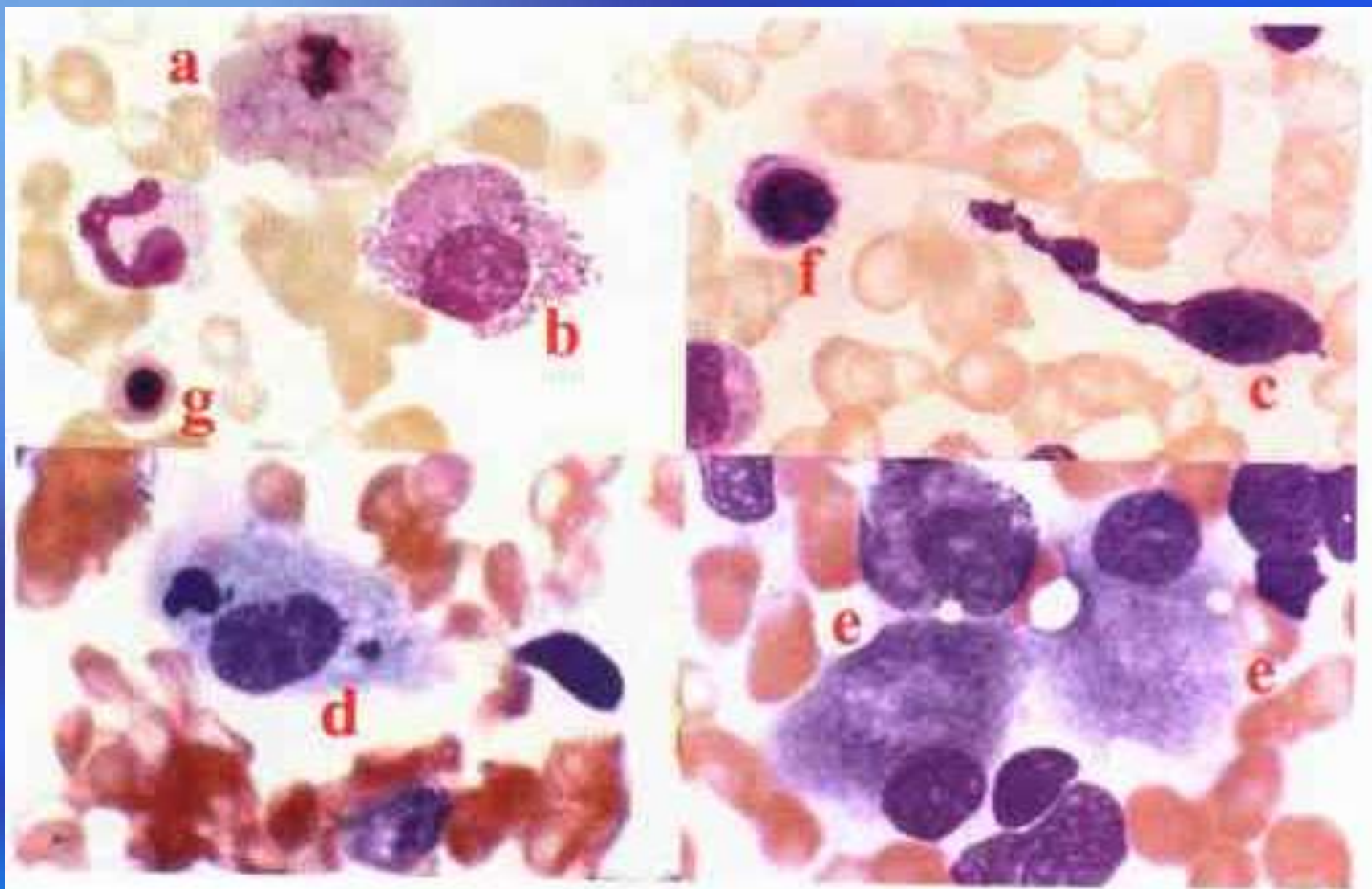




各种形态的正常单核细胞



各种正常淋巴细胞:小淋巴细胞(a)、中淋巴细胞(b)、大淋巴细胞(c)、核不规则形淋巴细胞(b)、大颗粒淋巴细胞(c)



脂肪细胞(a)、组织嗜酸细胞(b)、组织嗜碱细胞(肥大细胞)(c)、巨噬细胞(d)和成骨细胞(e), 还可见中幼红细胞(f)和晚幼红细胞(g)

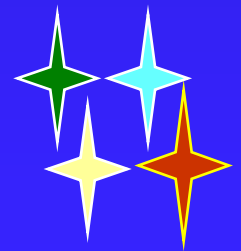
（三）血细胞计数

1. 制备红细胞悬液

取1ml血液，用0.9%NaCl溶液稀释适当倍数制成细胞悬液。

2. 加样

取一付擦拭干净的血球计数槽，将盖玻片盖在计数槽上（光洁透亮的区域）。用吸管将制备好的红细胞悬液混匀，吸管头紧挨盖玻片边缘。滴1滴悬液于血球计数板的斜坡和盖玻片之间的缝隙中，使之自然渗入到计数槽内。细胞悬液不可滴得过多，如果溢出槽外或计数槽内有气泡则需擦干血球计数板重新再做。



3. 计数

在低倍镜下调暗光线，观察血球计数槽上的格纹，共由9个大格组成，计数4个角上的4大格内的细胞数。每个大格分别由16小格组成，注意顺小格依次计数。压线的细胞遵循“数上不数下，数左不数右”的原则，以免重复计数或漏数。

4. 计算 按以下公式可计算出每毫升红细胞悬液中所含细胞数：

$$\frac{\text{四大格中细胞总数}}{4} \times 10000 = \text{细胞数/毫升细胞悬液}$$

三、作业

绘制血细胞图。

四、思考题

1. 光镜下，如何鉴别三种有粒白细胞及两种无粒白细胞？
2. 进行血细胞计数要注意什么？

第三节 血液检查

一、血红蛋白测定

血红蛋白测定的方法较多，常用的有比色法、比重法、测铁法、电子测定法。目前，我国应用国际血液学标准化委员会推荐的氰化高铁血红蛋白测定法为血红蛋白的参考方法。部分基层单位仍用酸化血红素比色法。

（一）氰化高铁血红蛋白测定法

1. 原理 血红蛋白被高铁氰化钾氯化为高铁血红蛋白，再与氰结合成稳定的棕红色氮化高铁血红蛋白，在规定的波长相液层厚度的条件下，具有一定的吸光系数，根据吸光度，即可求得血红蛋白浓度。正常值：

●男：120~160g / L； ●女：110~150g / L； ●新生儿：180~190g / L。

2. 方法

取转化液（氰化钾0.05g，高铁氰化钾0.2g，无水磷酸二氢钾0.14g，Triton X-100 1ml，蒸馏水加至1000ml）5ml，置于试管内。加末梢血20ul，混匀后静置5min。以校正过波长和灵敏度的分光光度计，波长540nm，光径1.00cm比色杯，转化液为空白，测定吸光度（A）。

计算：

$$\text{血红蛋白g / L} = A \times 367.7$$

（二）沙利（sahli）血红蛋白测定法

1. 原理 定量的血液加入稀酸后，红细胞溶解释出血红蛋白，被酸化成为褐色酸化血红素，其色泽深度与血红蛋白含量成正比。经与标准板比色后，即可得到每升血液中血红蛋白克数。

2. 方法

（1）在血红蛋白比色管内加0.1mol / L盐酸到2%g处。

（2）用经消毒的采血针，在经消毒过的指端上刺一深约2~3mm的切口，使血液自然流出，弃去第一滴血，用一次性采血管吸血20ul，擦去吸管外围血液，迅速将血液轻轻排入比色管盐酸溶液底部，用上清液洗吸管三次，从洗出吸管内残存血液，立即混匀。在室温放置10分钟后，进行比包。

（3）将比色管放入比色座中，用滴管沿比色管内壁徐徐加入蒸馏水或1mol / L盐酸，边加边摇，直到比包管内颜色与标准比色板一致为止。读取比包管内液体凹面的最低处所示刻度数×10，

3. 临床意义 见红细胞计数

(三) 临床意义

血红蛋白是红细胞的主要成分，因此红细胞数量和血红蛋白浓度有密切关系。一般情况下，红细胞增多和减少，血红蛋白也发生相应变化，两者的临床意义基本相同，但是在贫血时，红细胞和血红蛋白浓度下降的程度可不一致。利用这一性质可区别不同贫血的类型。

1. 红细胞及血红蛋白的增多

(1) 相对增多：连续呕吐、反复腹泻、大量失水，使血浆浓缩。

(2) 绝对增多：多由于缺氧而致的红细胞代偿性增多，红细胞增多的程度与缺氧的程度成正比，少数病例是造血系统疾病所致。

①生理性增多：胎儿、新生儿、高原居民、剧烈的体力劳动和体育活动、情绪激动时，红细胞可一时性增多。

②病理性增多：见于肺气肿、肺原性心脏病及某些紫绀型先天性心脏病，如紫绀型四联症（法乐氏四联症）等严重的心肺疾患。此外，在真性红细胞增多症时，红细胞增多可达 $7.0\sim 10.0\times 10^{12}/L$ ，血红蛋白增多达 $170\sim 250g/L$ 。

2. 红细胞和血红蛋白的减少

（1）生理性贫血：见于妊娠的中后期。

（2）病理性贫血；见于造血原料不足，如缺铁性贫血、溶血性贫血；造血功能障碍，如再生障碍性贫血。

三、红细胞的形态改变

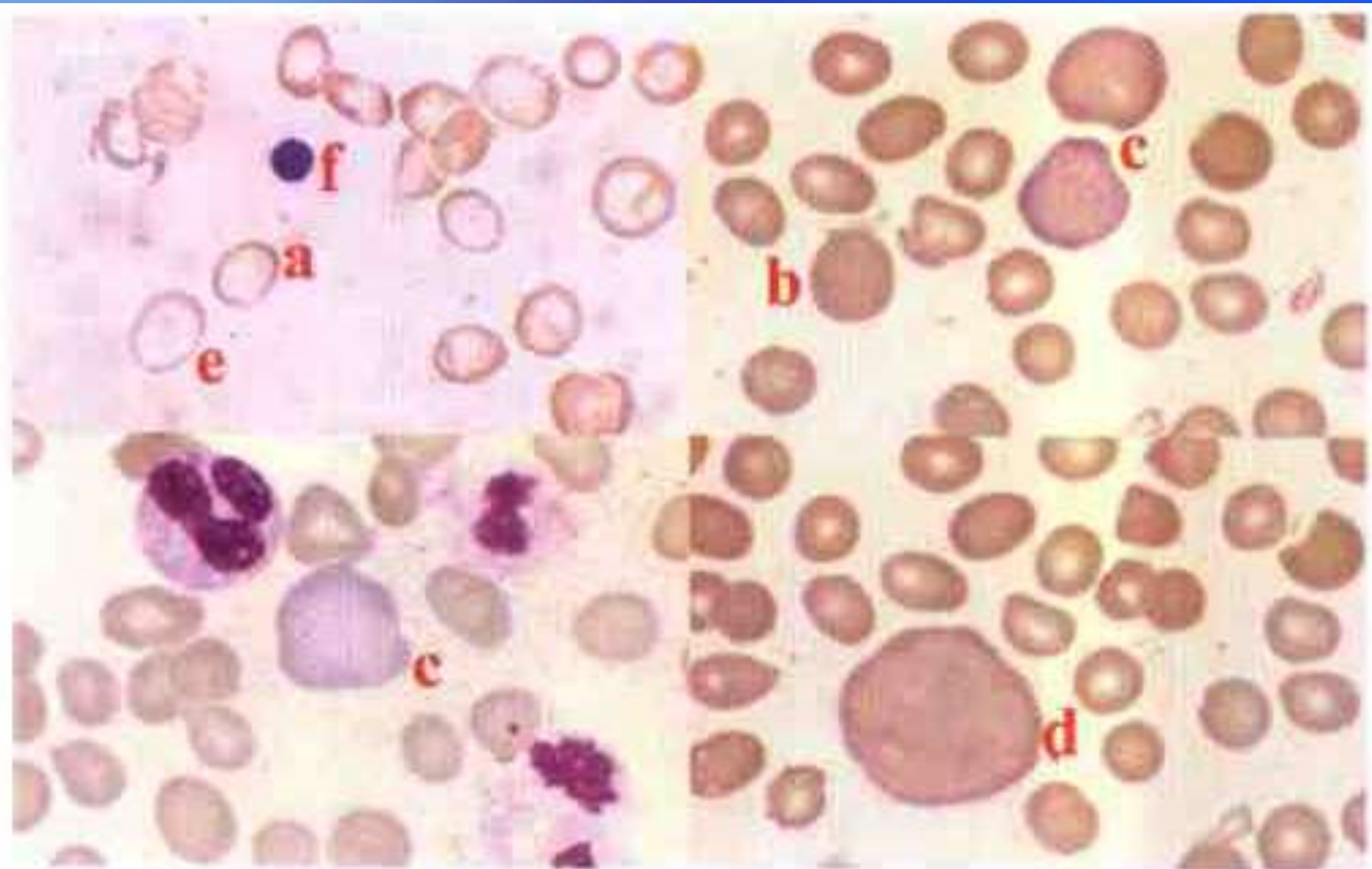
正常的红细胞经瑞氏染色后，在血涂片上为淡红色圆形无核细胞，中心着色较淡，周边着色较深，直径6~9um，平均7.2um。在各种贫血时由于不同原因，红细胞可有不同形态的改变。借助于形态的观察可诊断不同类型的贫血。

1. 红细胞大小不均

凡直径大于10um者称为大细胞，大于15um者称巨红细胞，小于6um者称小红细胞。在缺铁性贫血时，血片内以小细胞为主；在巨幼红细胞性贫血时，片内以大红细胞及巨红细胞为主，同一血片中红细胞大小不均，差异显著。

2. 红细胞形态不整

严重贫血，尤其是营养性巨幼红细胞性贫血，红细胞可呈梨形、新月形、哑铃形、水滴状等变异，称异形红细胞。



血液生物学图：细胞大小异常：小红细胞(a)、大红细胞(b)、巨红细胞(c)、超巨红细胞(d)，还可见环形红细胞(e)、晚幼红细胞脱出的细胞核(f)、嗜多色性红细胞(g)和红细胞大小不均

3. 红细胞染色异常

红细胞内血红蛋白含量不足时，中心浅染区扩大，甚至呈中空现象，是低色素性贫血的表现；如果红细胞着色过深，中心浅染区缩小或消失，是高色素性贫血的特征；若红细胞胞浆被染为灰蓝色，称为嗜多色性红细胞，它是一种未成熟的红细胞，它的增多表示骨髓造血功能活跃。

4. 靶形红细胞

红细胞中心深染，而其外围为苍白区域，红细胞边缘处又深染，形如射击靶，称为靶形红细胞，常见于地中海贫血。

5. 嗜碱性点彩红细胞（点彩红细胞）

在染色正常或嗜多色性红细胞内有大小不等、染色不定的深蓝色颗粒者称为点彩红细胞。正常人血中极少见，占0.01%。铅中毒病人此种细胞明显增多。

6. 染色质小体 (Howell-Jolly小体)

在红细胞的胞浆中，出现一个或数个圆形紫红色小体，大小约1~2um，称染色质小体，它是胞核的残余物。见于溶血性贫血、巨幼红细胞贫血、脾切除术后。

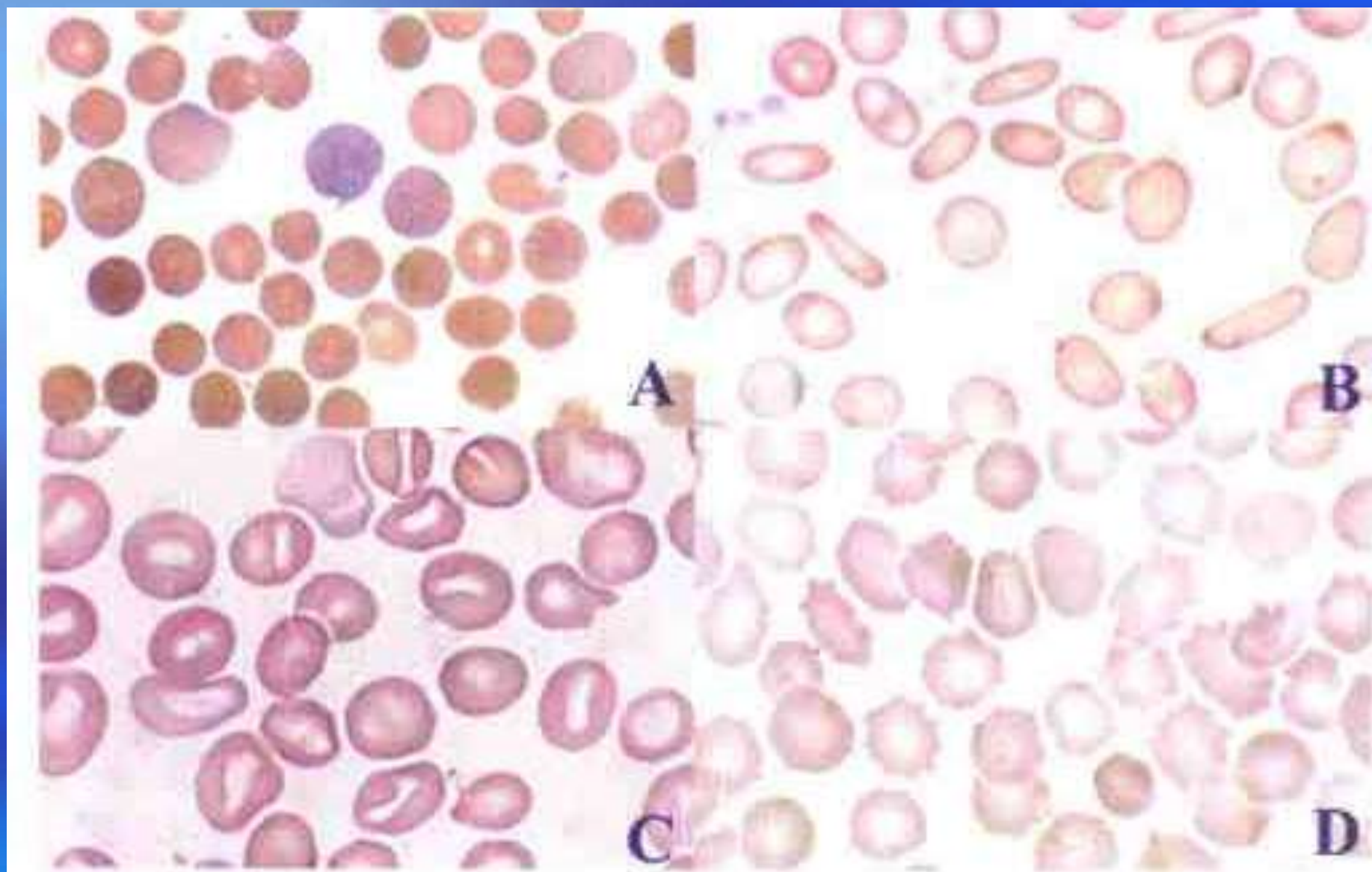
7. 卡波环 (cabot环)

为一细线状环，呈圆形成“8”字形紫红色，位于红细胞胞浆中。一般认为它是核膜残余。见于恶性贫血、营养性巨幼红细胞性贫血和溶血性贫血。

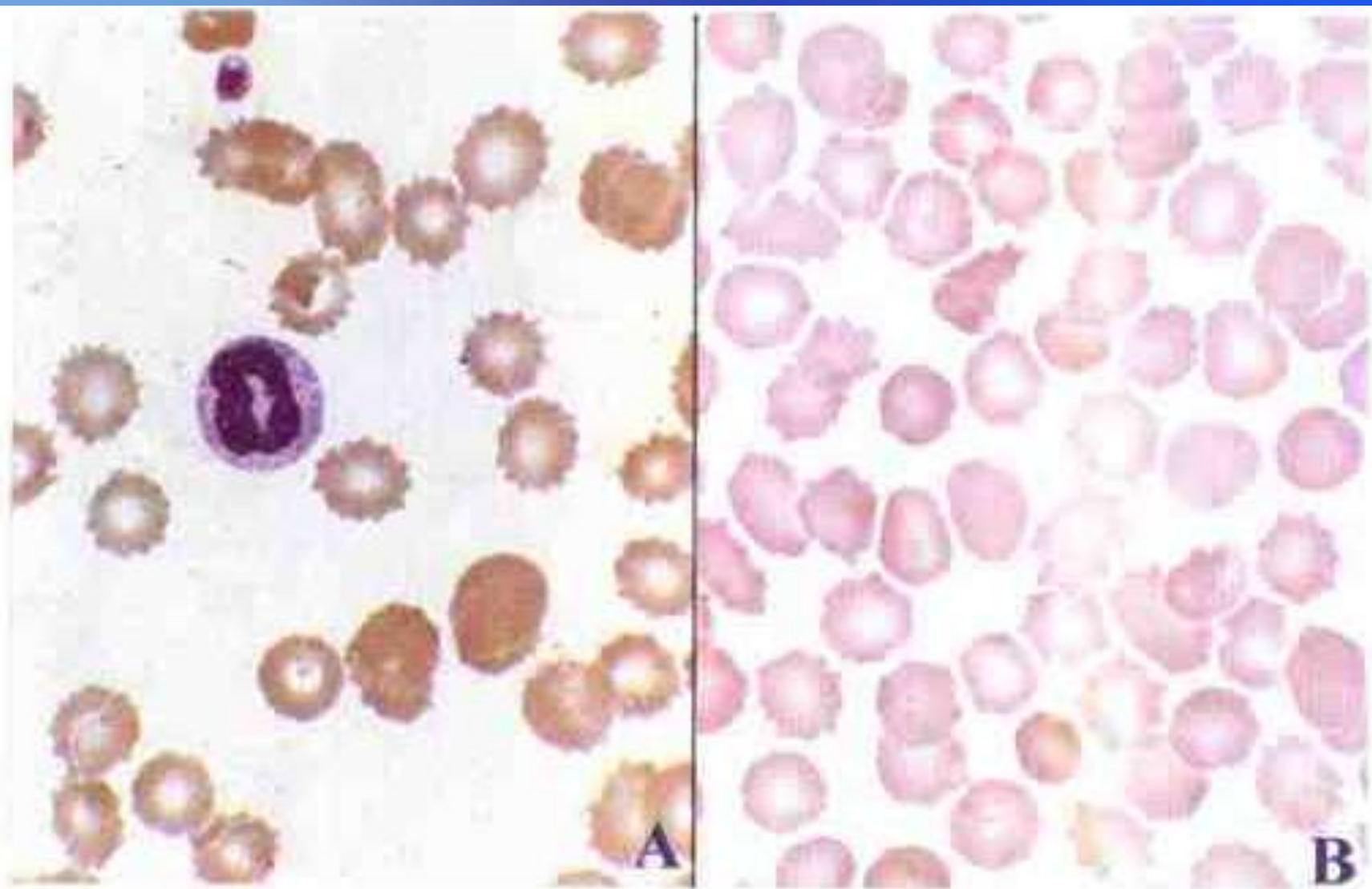
8. 有核红细胞

正常人血中都是成熟红细胞，如血片中出现有核红细胞，多表示红细胞系统增生活跃。见于溶血性贫血、巨幼红细胞性贫血、各种白血病，特别是红白血病。在末成熟儿或新生儿的外周血液中也可见到少量有核红细胞。

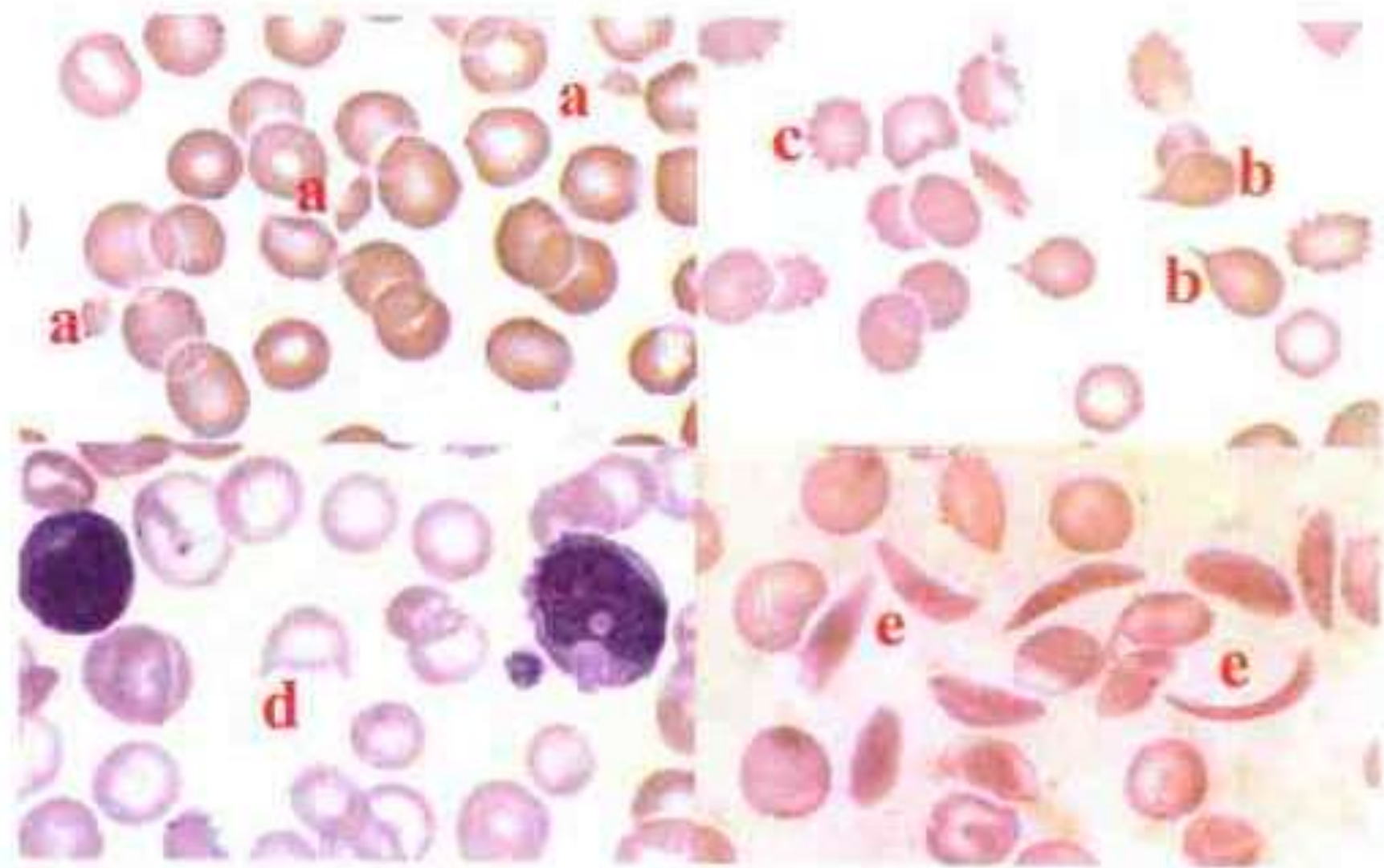




血液生物学图 红细胞形态异常：A—球形红细胞；B—椭圆形红细胞；C—口形红细胞；D—棘形红细胞

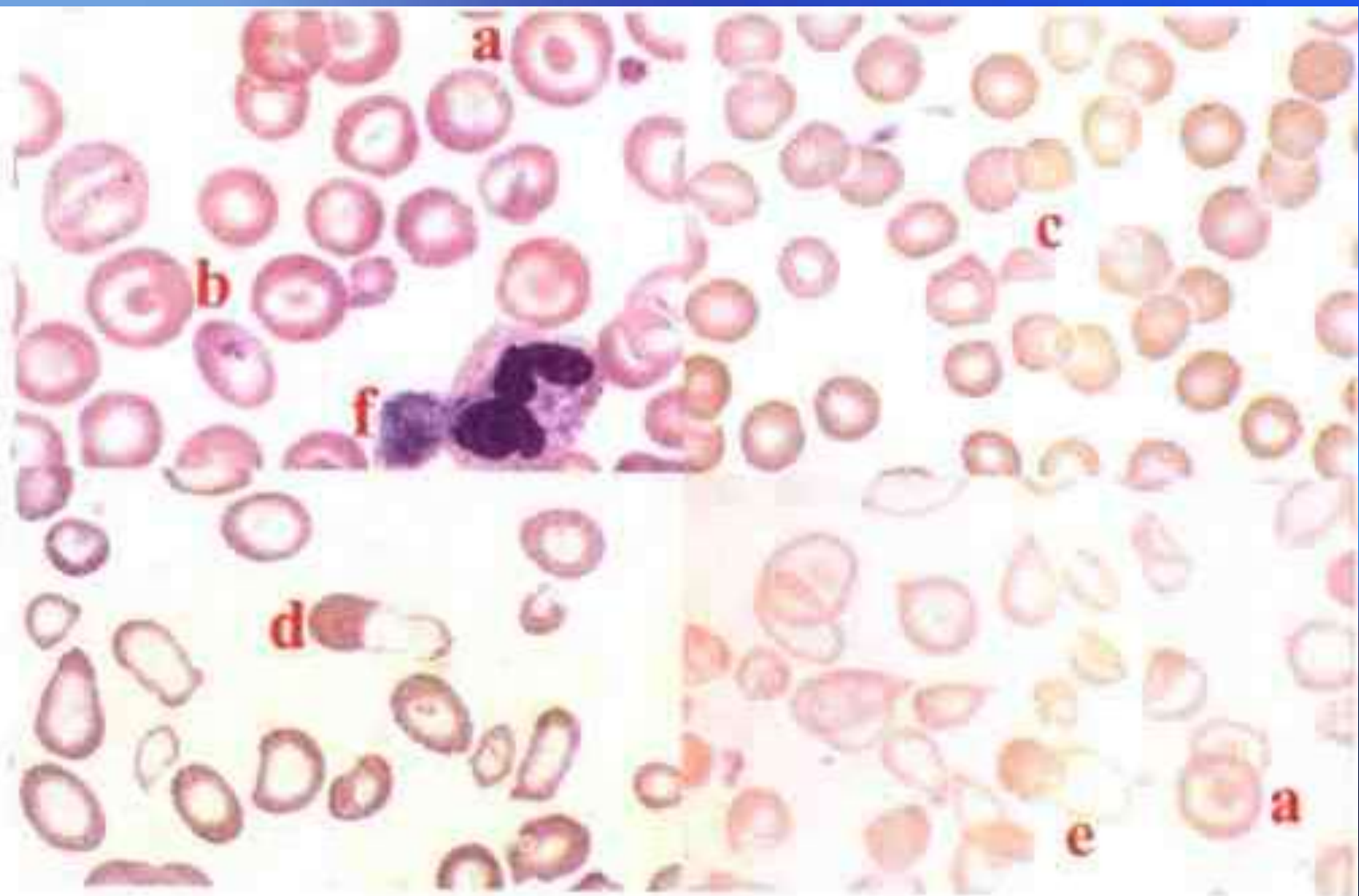


血液生物学图： 红细胞形态异常：人工涂片所致锯齿形红细胞(A)和棘形红细胞(B)比较，前者棘刺长短、大小较一致，后者棘刺长短及大小有差别

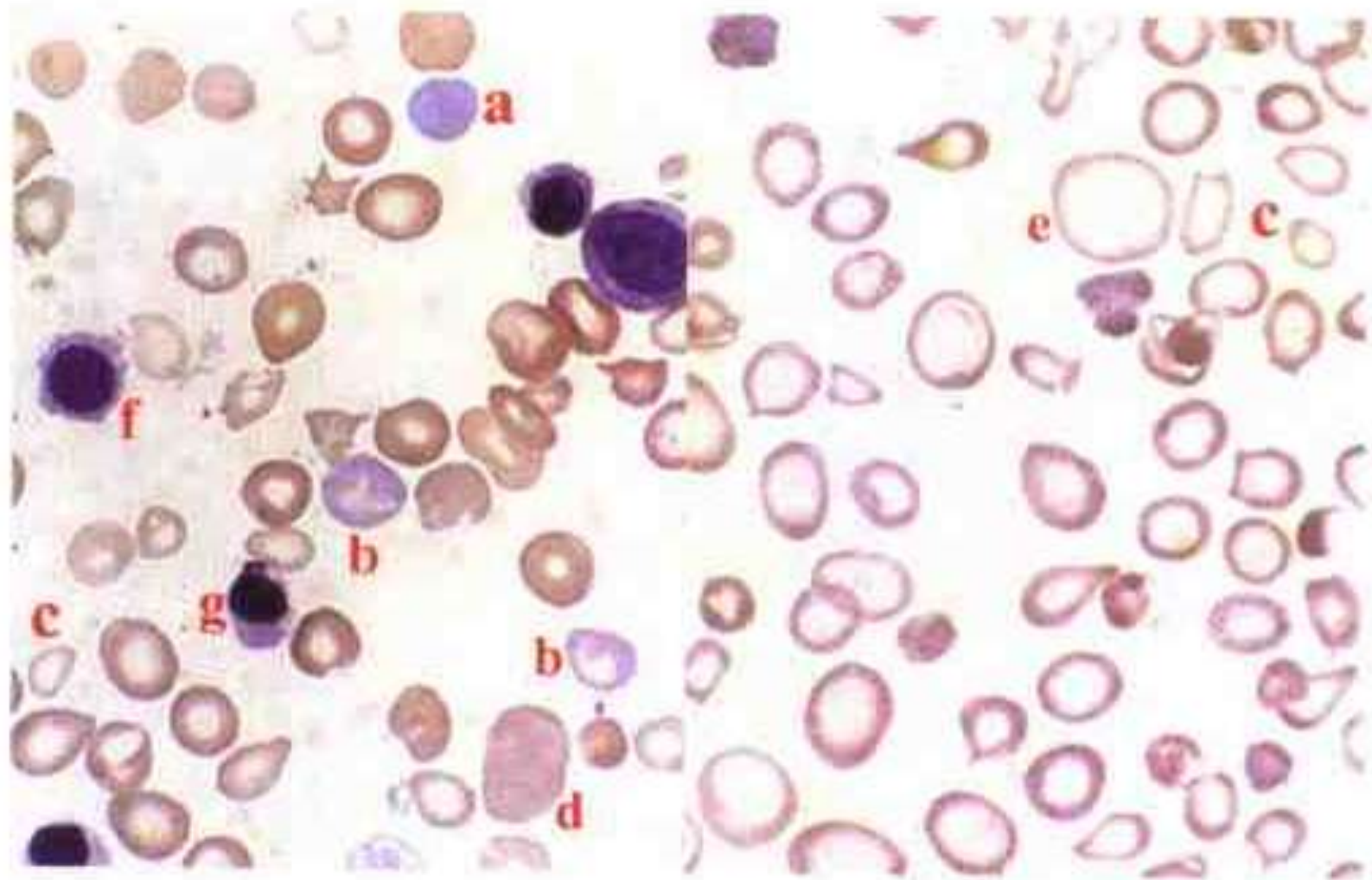


血液生物学图

红细胞形态异常：红细胞碎片(裂细胞)(a)、泪滴形红细胞(b)、锯齿形红细胞(c)、盔形红细胞(d)、镰形红细胞(e)等



血液生物学图： 胞形态异常：典型的靶形红细胞(a)、半岛形红细胞(b)、半月形红细胞(c)、拖鞋形红细胞(d)、环形红细胞(e)和红细胞形态不整，可见巨大血小板(f)



血液生物学图：

红细胞血红蛋白含量异常：嗜碱性红细胞(a)、嗜多色性红细胞(b)、低色素性小红细胞(c)、高色素性大红细胞(d)、低色素性大红细胞(e)。片中可见红细胞明显大小不均、形态不整，还可见中幼红细胞(f)、晚幼红细胞(g)

四、白细胞计数

白细胞（WRC）计数方法有显微镜计数法、细胞计数器计数法两种，目前应用较多的仍是显微镜计数法。

（一）原理

定量的血液加入定量的稀释液，使红细胞溶解显微镜下计数，求得每升血液中的白细胞数。

（二）方法

1. 用刻度吸管吸取0.01L/L盐酸或0.02L / L醋酸0.38ml，置于小试管内。
2. 用定量采血管吸血到20ul刻度处，擦去管外余血，将血液轻轻排入试管内稀释液中，并用上清液洗管三次，立即混匀，待液体显褐色后再轻轻振荡混匀，用玻棒取此稀释液充入计数池内，静置2~3min。
3. 用低倍镜观察，计数计算池内四角的四个大方格内的白细胞数，将其总和乘50乘 10^6 ，即得每升血液内白细胞数。

(三) 计算

$$\text{白细胞/L} = W/4 \text{ (变为0.1}\mu\text{l)} \times 10 \text{ (变为1}\mu\text{l)} \times 20 \text{ (稀释倍数)} \times 10^6 \text{ (变为1L)} = W \times 50 \times 10^6$$

(w为四个角大方格白细胞数总和)

(四) 正常值

成人 $4 \sim 10 \times 10^9/\text{L}$

儿童 $5 \sim 12 \times 10^9/\text{L}$

新生儿 $15 \sim 20 \times 10^9/\text{L}$

(五) 临床意见

见白细胞分类。

五、白细胞分类

血液中各种白细胞各有不同的生理功能，在各种病理情况下，不同种类的白细胞可发生数量和质的变化，进行白细胞分类同时观察白细胞总数的变化，对明确诊断有重要意义。

（一）白细胞种类及形态

经瑞氏染色后，外周血中常见白细胞按形态可分为粒细胞（包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞）、淋巴细胞及单核细胞。

1. 中性粒细胞（neutrocyte, N） 细胞呈圆形，直径10~15um。细胞核染为深紫红色，染色质紧密呈块状，核形弯曲呈杆状的称杆状核粒细胞，分叶状的称分叶核粒细胞，通常2~5叶，叶与叶之间以细丝相连。胞浆呈淡红色，内含许多淡紫红色的细小颗粒（中性颗粒）。

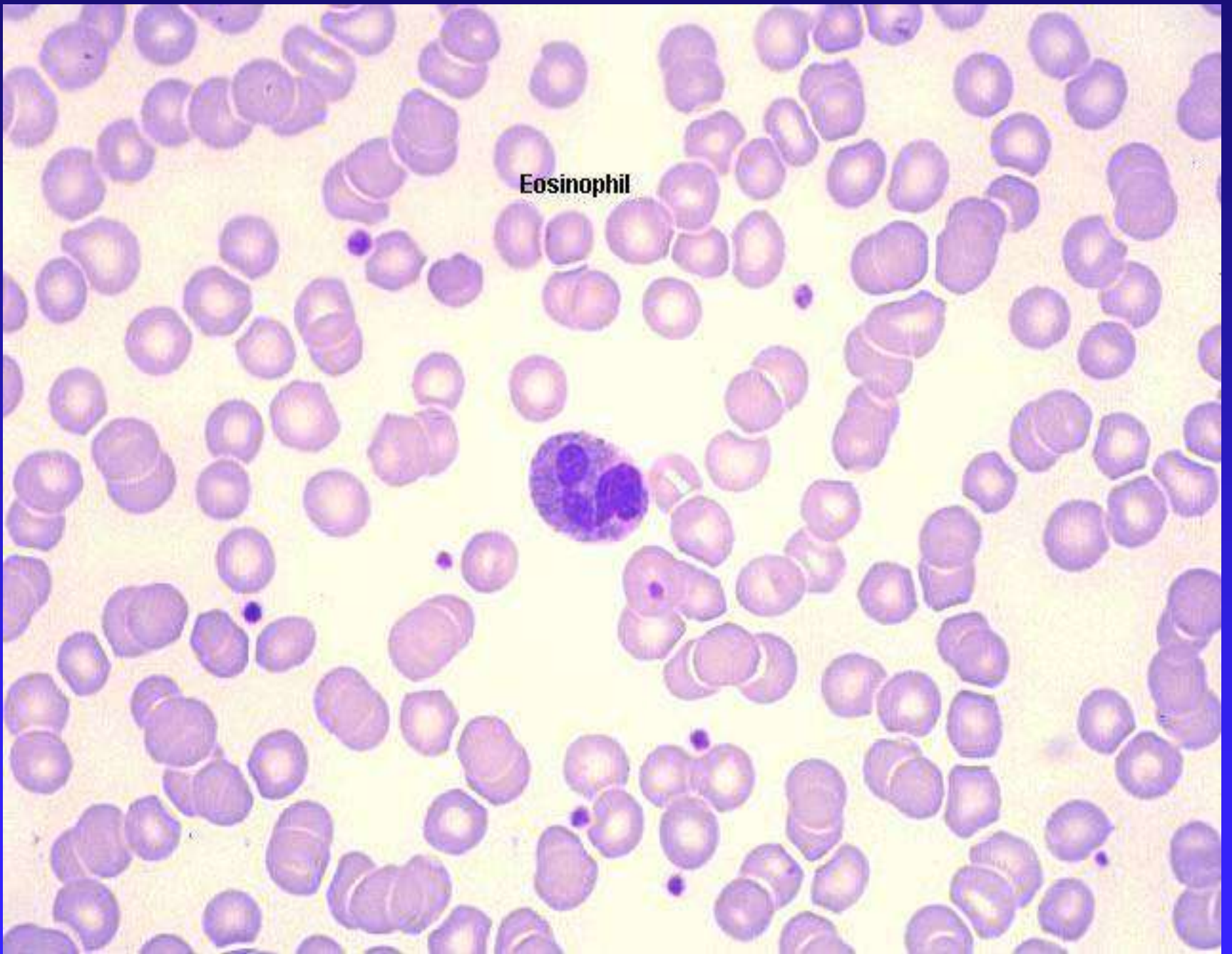
2. 嗜酸性粒细胞（eosinophil, E） 圆形，略大于中性粒细胞。胞核多为二叶，呈眼镜状，深紫色。胞浆淡红色，浆内充满粗大、均匀而圆的桔红色颗粒（嗜酸性颗粒）。

3. 嗜碱性粒细胞 (basophil, B) 较中性粒细胞略小, 胞核呈深紫色或不明显, 一般为2~3叶, 但多不明显。胞浆紫红色, 内有大小不等的排列不规则的黑蓝色颗粒 (嗜碱性颗粒), 有的覆盖于核上, 有时可见空泡。

4. 淋巴细胞 (lymphocyte, L) 可分为大淋巴细胞 (直径10~15um) 与小淋巴细胞 (直径5~10um), 前者占10%, 后者占90%。胞核呈圆形或椭圆形, 深紫色, 染色质粗密集成块状。大淋巴细胞胞浆呈蔚蓝色, 内有少量紫红色颗粒。小淋巴细胞的胞浆呈天蓝色, 量少, 有时几乎不显, 一般无颗粒。

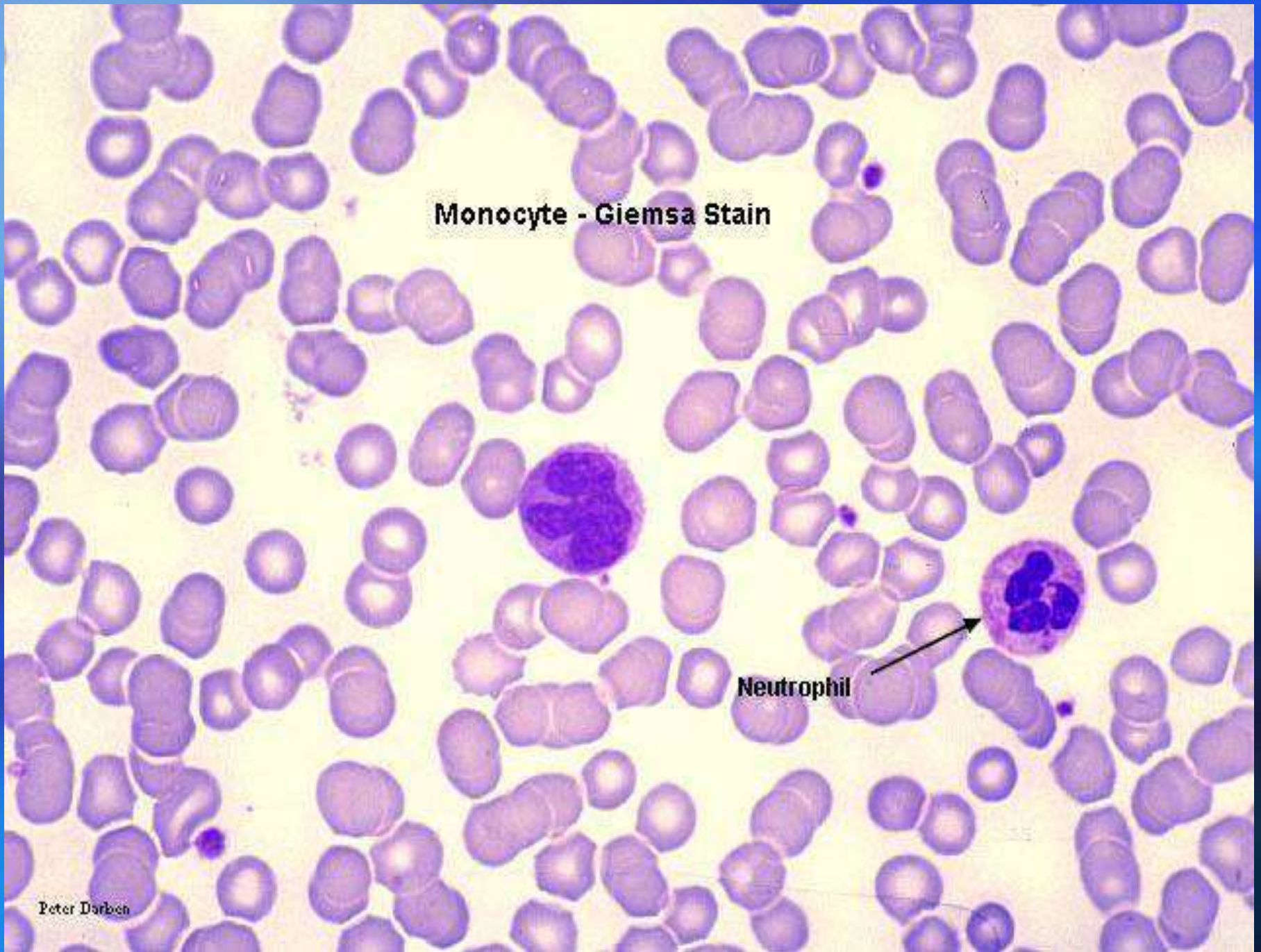
5. 单核细胞 (monocyte, M) 直径15~20um, 呈圆形或椭圆形, 但常见伪足。胞核大, 核形不规则, 可呈肾形、马蹄形或S形等, 淡紫红色, 染色质疏松网状。胞浆较多, 呈淡灰蓝色, 内含较多细小的紫红色颗粒。

Eosinophil



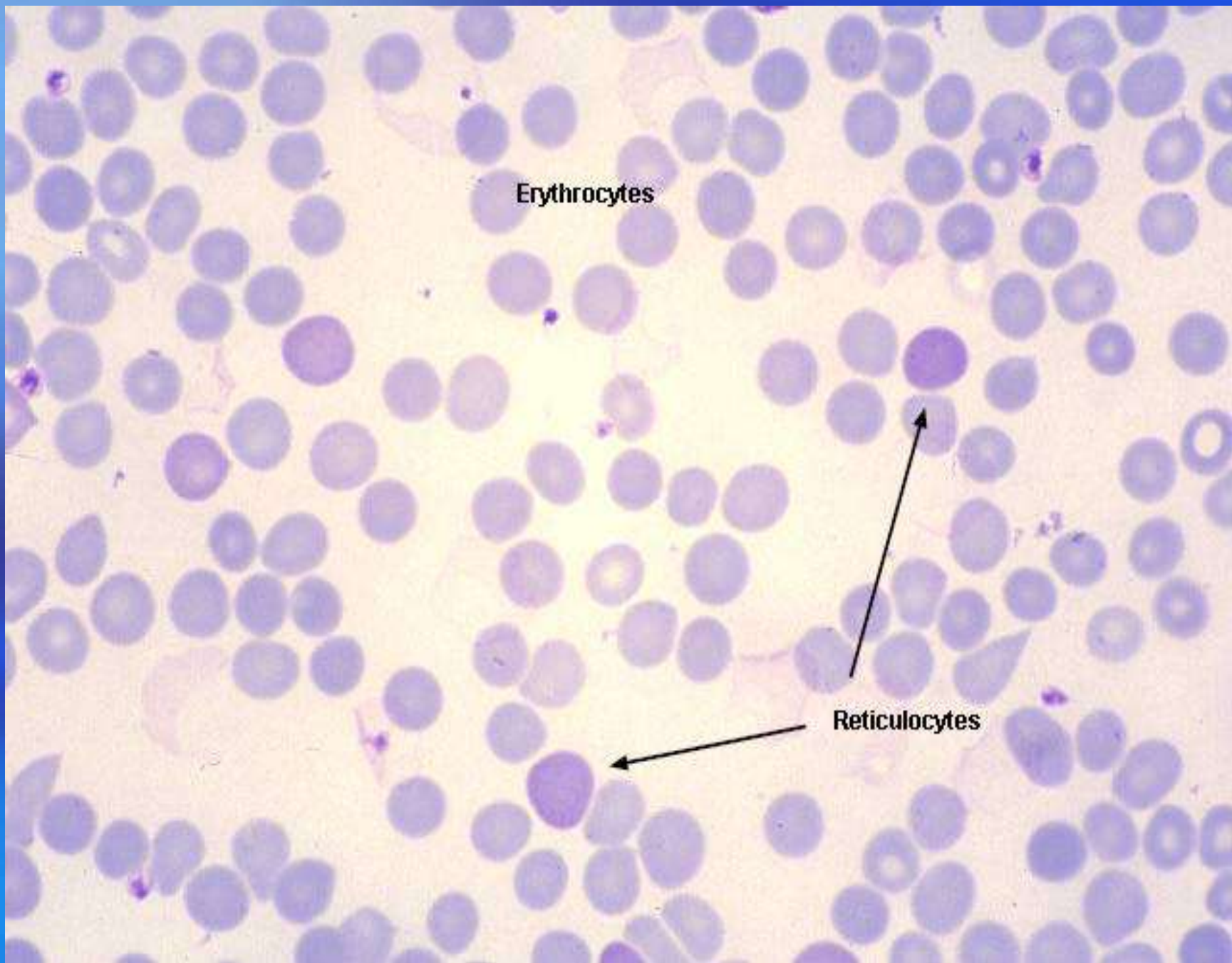
Monocyte - Giemsa Stain

Neutrophil

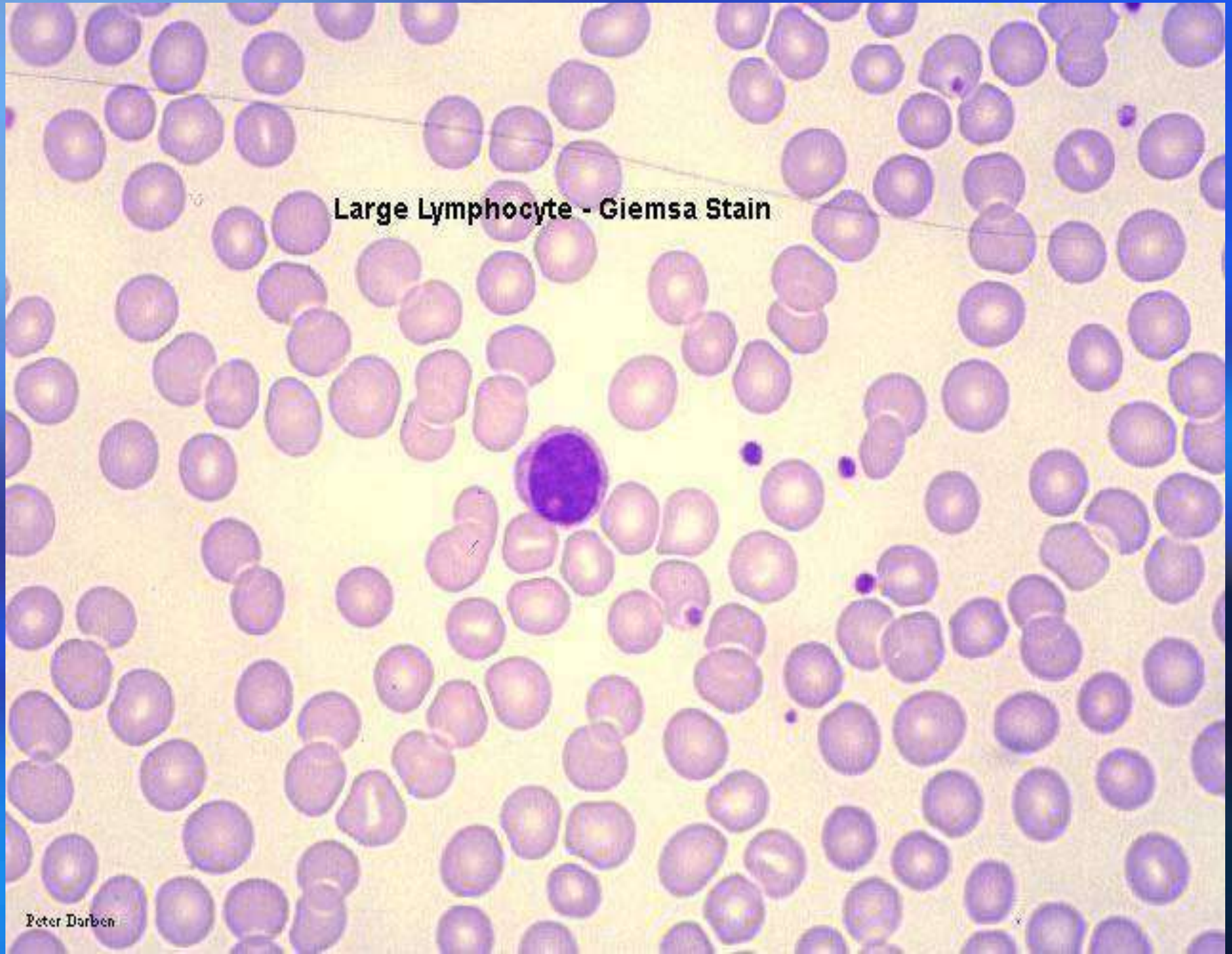


Erythrocytes

Reticulocytes



Large Lymphocyte - Giemsa Stain



（二）分类方法

1. 血片制备

于耳垂或指端常规消毒后进行穿刺，采血一小滴，加于载玻片一端。再用光滑平齐的推片一端，由血滴前方向后移，使推片与血滴接触，血滴即在推片与载玻片之间散升。使推片和载玻片之间的角度保持在40度左右，匀力向前推动推片，制成厚薄适宜的血膜片。

2. 染色法

血膜凉干后，放于染色架上，满加瑞氏染液，以盖住血膜为度。停半分钟到1min后，滴加PH6.4的磷酸盐缓冲液或蒸馏水为染液的1~3倍，使与染液混匀，放置5~15min，用清水缓缓冲洗去染液。待干后镜检。

3. 镜检分类

先用低倍镜观察已染色的血膜片，选择染色良好、细胞分布均匀处（一般在体尾交界部分），再用油镜进行分类。分别计数100个白细胞中各种细胞所占比值。

（三）正常值

●中性粒细胞增多见于急性感染、中毒、恶性肿瘤及白血病、急性大出血以及心肌梗塞及血管栓塞，

中性轻细胞减少见于：某些革兰氏阴性菌感染，化学药品中毒与放射线损伤，血液病及过敏性休克。

●嗜酸性粒细胞增见于过敏性疾病、皮肤病、寄生虫病、某些血液病；嗜酸性粒细胞减少见于伤寒、副伤寒等。

（四）临床意义

白细胞总数高于正常参考值（成人 $10 \times 10^9/L$ ）时称白细胞增多，低于正常参考值（成人 $4 \times 10^9 / L$ ）时称白细胞减少。白细胞总数的增减主要受中性粒细胞数量的影响，其次是嗜酸性粒细胞、淋巴细胞等数量的改变。

1. 中性粒细胞增减的临床意义

（1）中性粒细胞的增多；同时伴有白细胞总数的增多。

A. 生理性增多：妊娠末期及分娩时，剧烈运动后，饱餐或沐浴后，过度寒冷或劳动后等，中性粒细胞均可出现一时性增多，白细胞总数可达 $10 \sim 20 \times 10^9/L$ 或更多。

B. 病理性增多:

①急性感染：特别是化脓菌（如金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、肺炎双球菌等）感染时，白细胞总数可达 $20 \times 10^9/L$ 或更多。部分病例尚可出现较多的杆状核、晚幼粒、中幼粒细胞，呈所谓类白血病反应。如肺炎、丹毒、阑尾炎、败血症、脓肿等。

②中毒：如尿毒症、糖尿病、酸中毒、急性铅、汞中毒等。

③恶性肿瘤及白血病：慢性粒细胞性白血病，各类恶性肿瘤，特别是消化道恶性肿瘤。

④急性大出血，特别是内出血时或急性溶血及手术后。

⑤心肌梗塞和血管栓塞，肾移植术后的排异现象都可发生不同程度的中性粒细胞增多。

(2) 中性粒细胞的减少:

- ①某些传染病，如伤寒、副伤寒、布氏杆菌病、疟疾、麻疹、流行性感
冒等。
- ②化学药物中毒与放射线损伤；如X线和镭照射、抗癌药物、晚期或严重
的砷、铅、汞中毒等。
- ③血液病：如再生障碍性贫血，
- ④过敏性休克，高度恶病质。
- ⑤脾功能亢进和自身免疫性疾病。

2. 嗜酸性粒细胞增多和减少

(1) 嗜酸性粒细胞增多

①过敏性疾病：如支气管哮喘、食物过敏、过敏性肺炎、血管神经性水肿等。

②皮肤病：如牛皮癣、湿疹、疱疹样皮炎、霉菌性皮肤病。

③寄生虫病：如钩虫病、蛔虫病、丝虫病、绦虫病、血吸虫病等。

④某些血液病；如慢性粒细胞性白血病、淋巴网状细胞肉瘤等。

⑤其他：猩红热、溃疡性结肠炎、传染病的恢复期。

(2) 嗜酸性粒细胞的减少：多见于伤寒、副伤寒、以及应用肾上腺皮质激素和促肾上腺皮质激素后。

3. 嗜碱性粒细胞增多 多见于慢性粒细胞性白血病及罕见的嗜碱性粒细胞性白血病，其次见于铅、铋、锌中毒、转移瘤患者。

4. 淋巴细胞的增多和减少

(1) 淋巴细胞增多：常见于中性粒细胞减少所致的相对增多，即每升血液中淋巴细胞浓度数并不增加，由于中性粒细胞显著减少，使淋巴细胞分类计数的比值相对增高。淋巴细胞绝对增高指淋巴细胞的分类比值和每升血液中浓度数都增多。可见于：

①某些传染病：如百日咳、结核病、水痘、麻疹、风疹、流行性腮腺炎、传染性肝炎、传染性单核细胞增多症、传染性淋巴细胞增多症。

②某些血液病：淋巴细胞性白血病。

③肾移植术后排异前期及许多传染病的恢复期。

(2) 淋巴细胞减少：多见于传染病的急性期、放射病、细胞免疫缺陷病等。此外各种中性粒细胞增多症时，淋巴细胞相对减少。

●淋巴细胞增生见于病毒感染的疾病及某些血液病等。

5. 单核细胞增多

- (1) 某些细菌感染：如结核、伤寒、恶急性细菌性心内膜炎等。
- (2) 某些寄生虫病：如疟疾、黑热病等。
- (3) 单核细胞白血病、粒细胞缺乏症恢复期。
- (4) 许多急性传染病的恢复期。

六、中性粒细胞常见形态变化

(一) 核象变化

正常人周围血液的中性粒细胞分叶核占绝大多数，以2~3叶为主，在病理状态下，中性粒细胞可出现核左移或核右移现象。

1. 核左移

周围血液中出现不分叶核（包括杆状核及晚幼粒、中幼粒或早幼粒等）的百分比率增高（超过5%）时，称为核左移。常见于各种感染，特别是急性化脓性感染时。轻度核左移伴白细胞百分率增高者，表示感染较轻，说明病人的抵抗力在增强；明显核左移伴白细胞总数及中性粒细胞比值增高者，表示感染严重；显著核左移但白细胞总数不高甚至降低者，说明感染极为严重，在白血病或类白血病反应，也可出现极度左移现象。

- 杆状核以前的幼稚细胞增多 $>5\%$ 为核左移。
- 核左移明显提示感染。

2. 核右移

周围血液中若中性粒细胞出现5叶或更多分叶，其比值超过3%者，称为核右移。此时常伴有白细胞总数减少。可由于缺乏造血物质或骨髓造血功能减退所致，主要见于营养性巨幼红细胞性贫血、恶性贫血时，但在其他疾病的病情进展过程中，如突然出现核右移，常表示预后不良；而在炎症的恢复期中，一过性地出现核右移是正常现象。此外，在应用抗代谢药如阿糖胞苷或6-巯基嘌呤等之后，也可出现核右移现象。

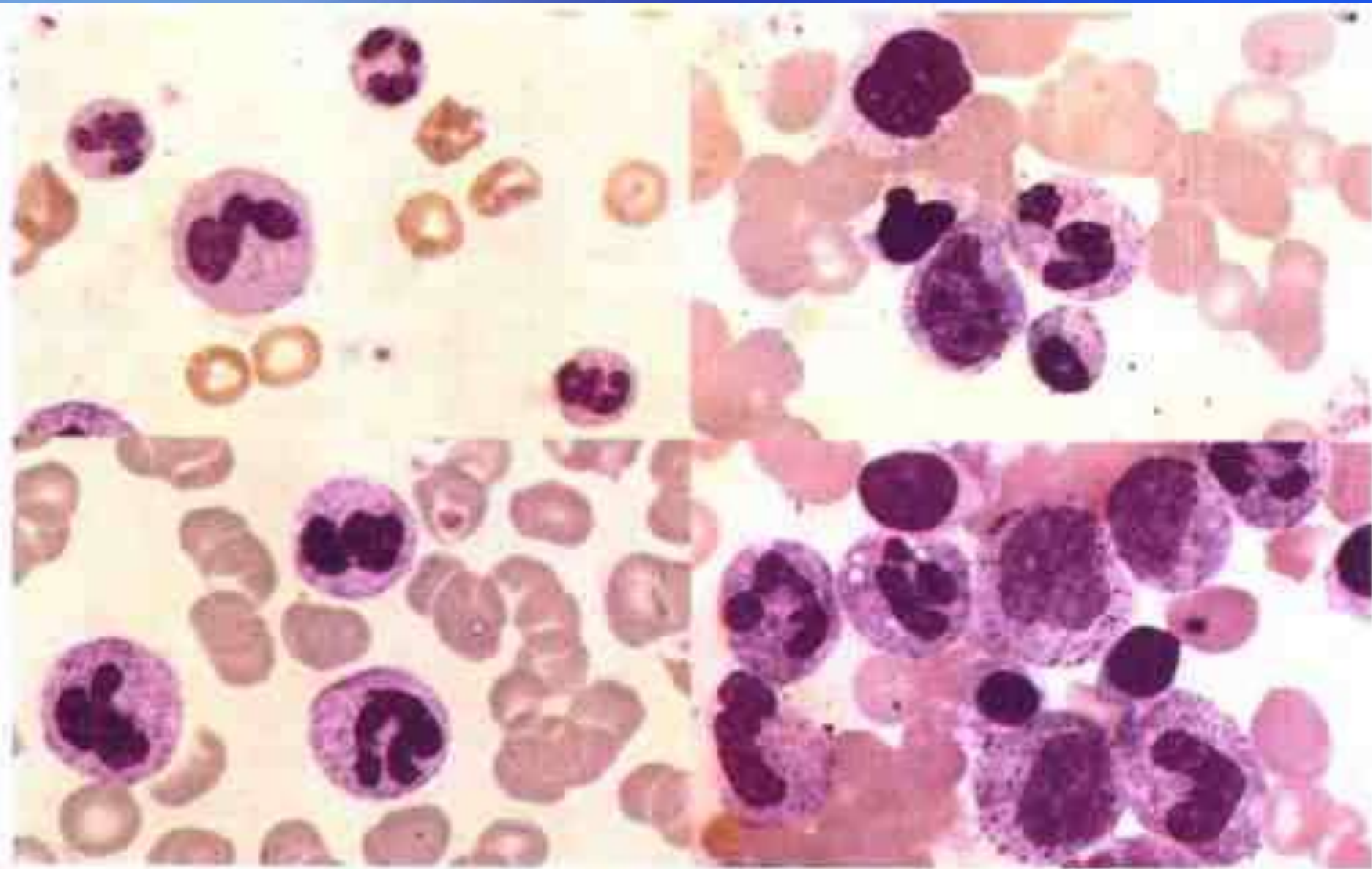
- 中性粒细胞出现5叶以上超过3%为核右移。
- 核右移说明造血物质缺乏或造血功能减退。

（二）中性粒细胞的毒性变化

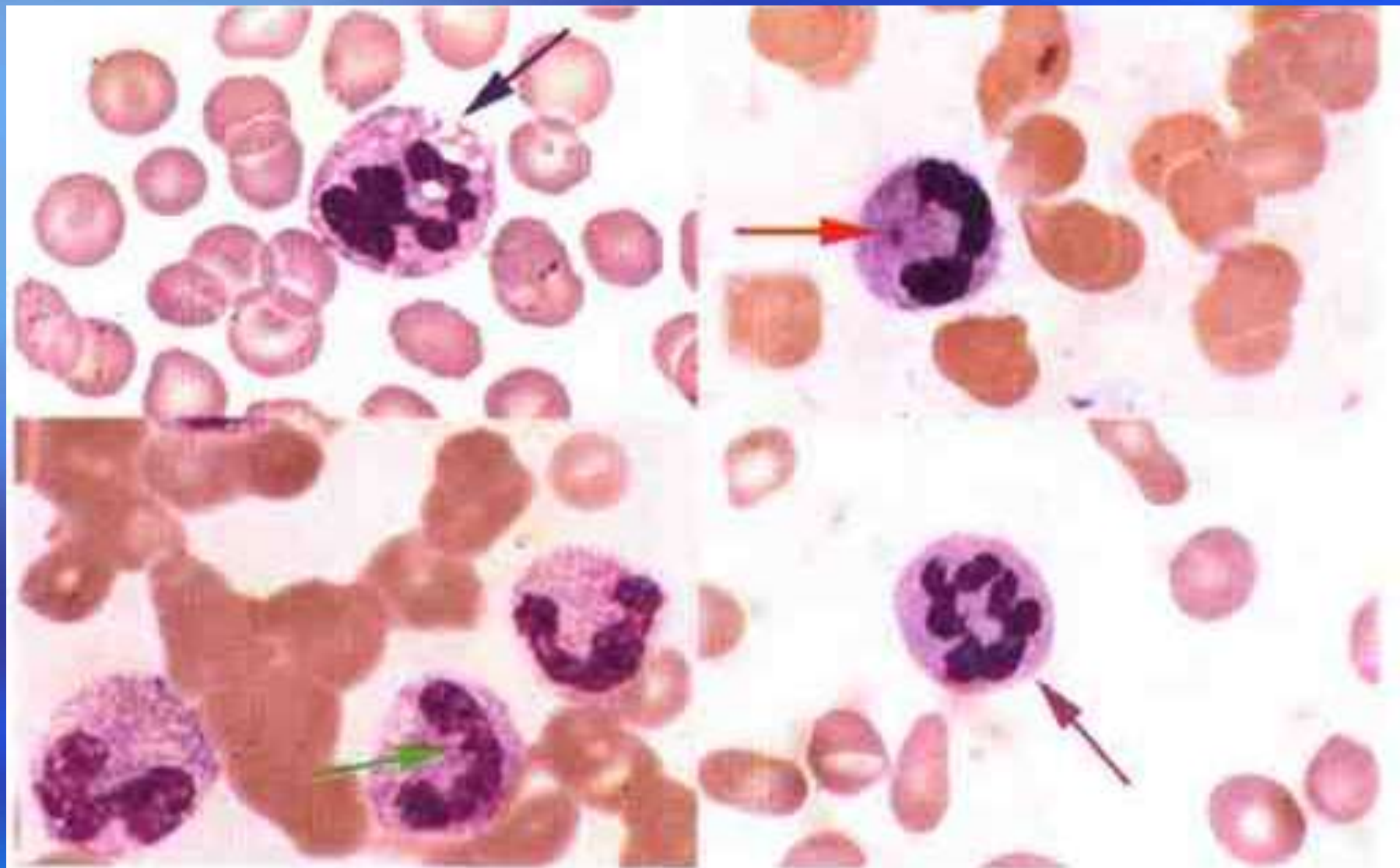
中性粒细胞在理化及生物学等致病因素下，可出现下列形态学改变。

1. 大小不均 见于病情较长的化脓性炎症或慢性感染时。
2. 中毒颗粒 胞浆中出现粗大的分布不均匀的黑蓝色颗粒，是一种变性颗粒，见于较严重的感染及大面积烧伤等。
3. 空泡 胞浆内出现一个或数个空泡，是胞浆脂肪变性所致，最常见于严重感染，特别是败血症。
4. 杜勒（Dohle）体 是中性粒细胞严重毒性变时，胞浆中呈圆形、梨形或云雾状直径1~2um、深蓝色或灰蓝色的嗜碱性区域。
5. 核变性 细胞核可发生深蓝色块状凝固或出现细胞核膨胀着色浅淡的溶解现象，常伴有轮廓不清的核破碎现象。见于严重感染。

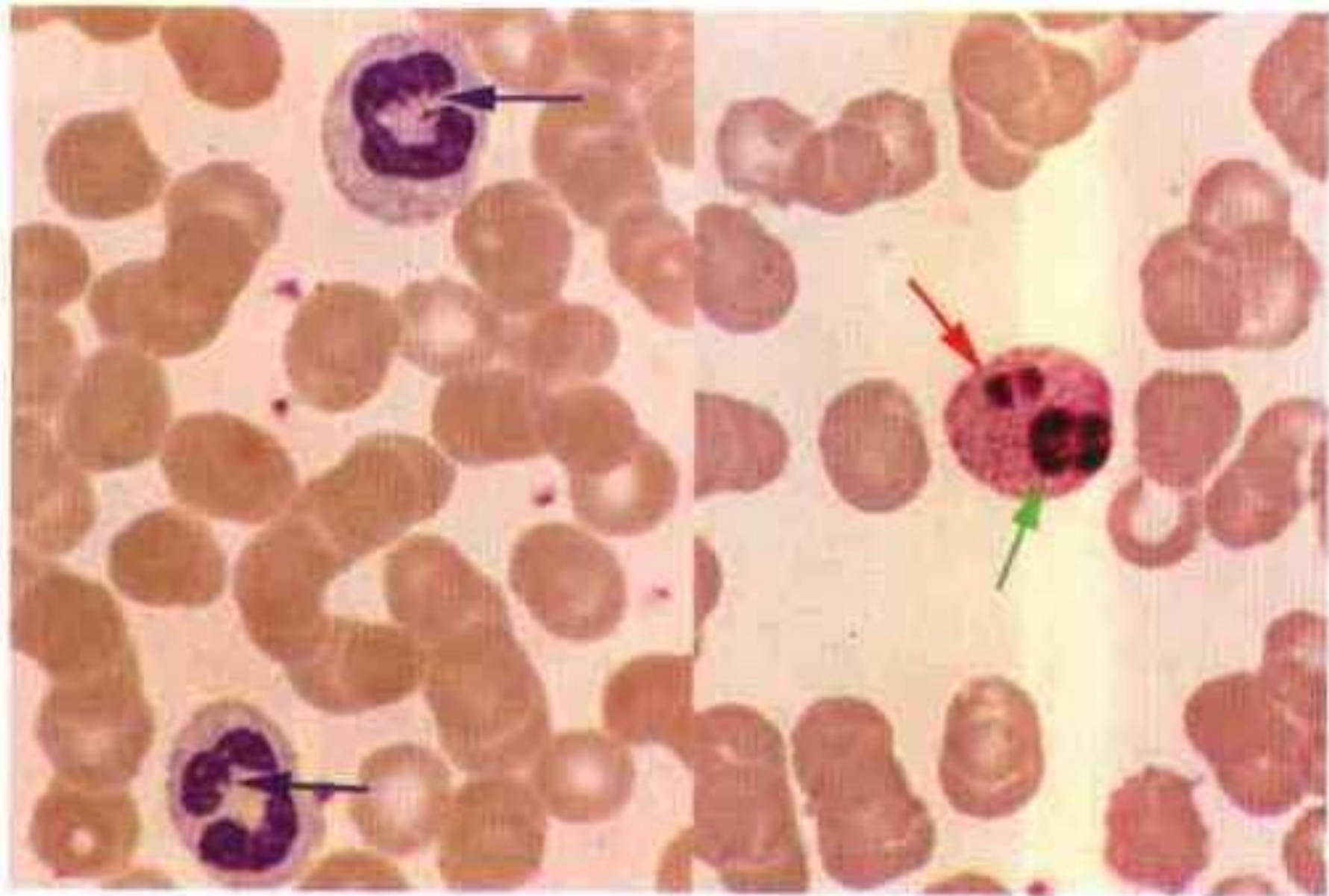
●中性粒细胞出现中毒性颗粒、空泡、杜勒体、核变性为严重感染的迹象。



血液生物学图： 中性粒细胞毒性变化：中性粒细胞胞浆中出现深紫色或黑蓝色粗大的中毒颗粒，并可见粒细胞空泡变性、大小不均、核象左移现象



血液生物学图： 中性粒细胞毒性变化：中性粒细胞胞浆空泡变性(↑)、胞浆中出现Döhle小体(↑)、核棘突(↑)和退行性变，并可见中性粒细胞核分叶过多(↑)(核象右移)



血液生物学图：

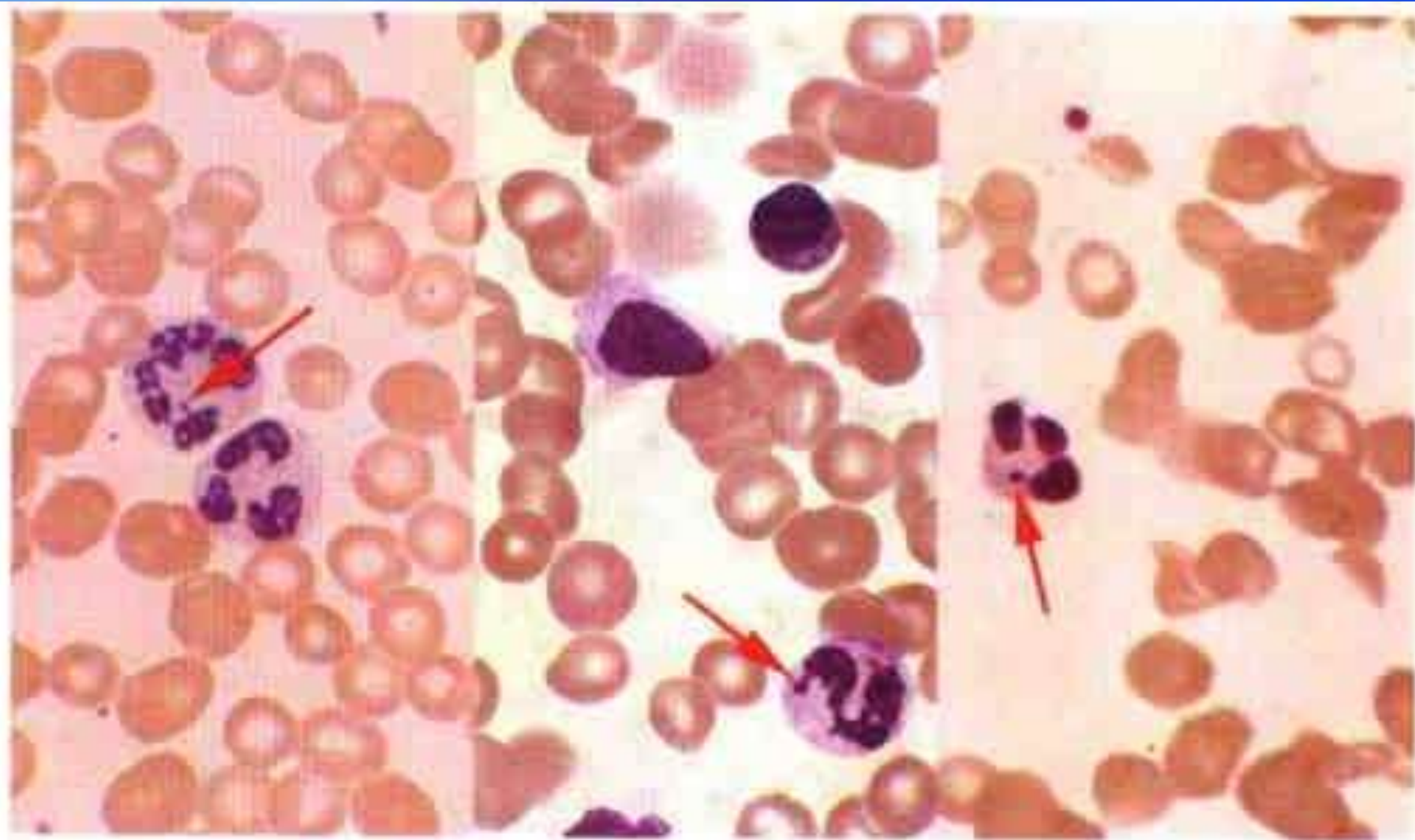
中性粒细胞毒性变化：核棘突(↑)、核碎裂(↑)和

核固缩(↑)

（三）棒状小体（Auer）

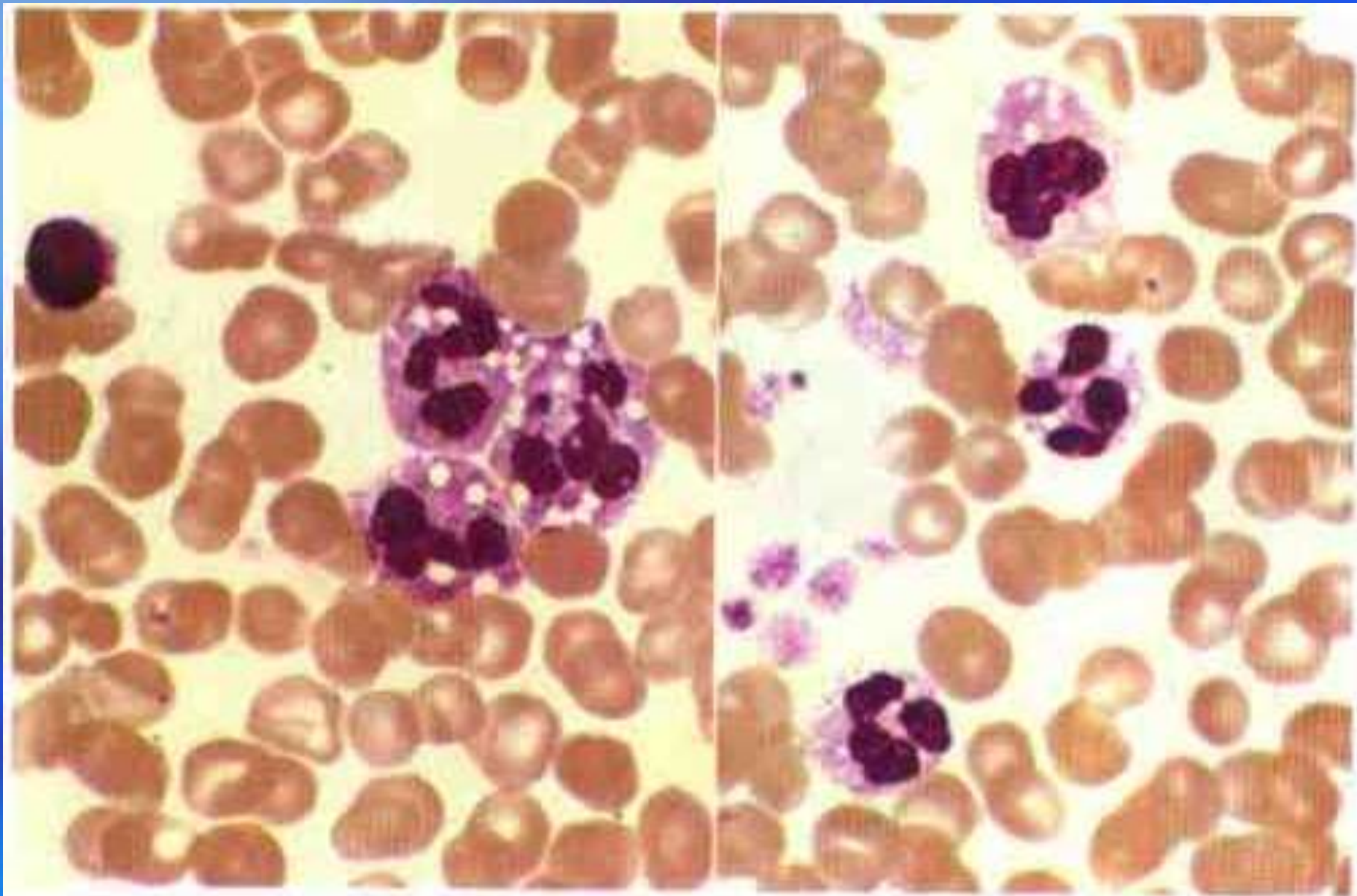
为红色细杆状物质，一个或数个，长约1~6um，内含酸性磷酸酶及过氧化酶。此种棒状小体存在于原始粒细胞、早幼粒细胞及原始单核细胞胞浆中。对鉴别急性白血病的类型有重要价值，在急性淋巴细胞白血病时，不见此小体，在急性粒细胞性和急性单核细胞性白血病则可见到。

- 棒状小体见于急粒、急单，而急淋则不见。

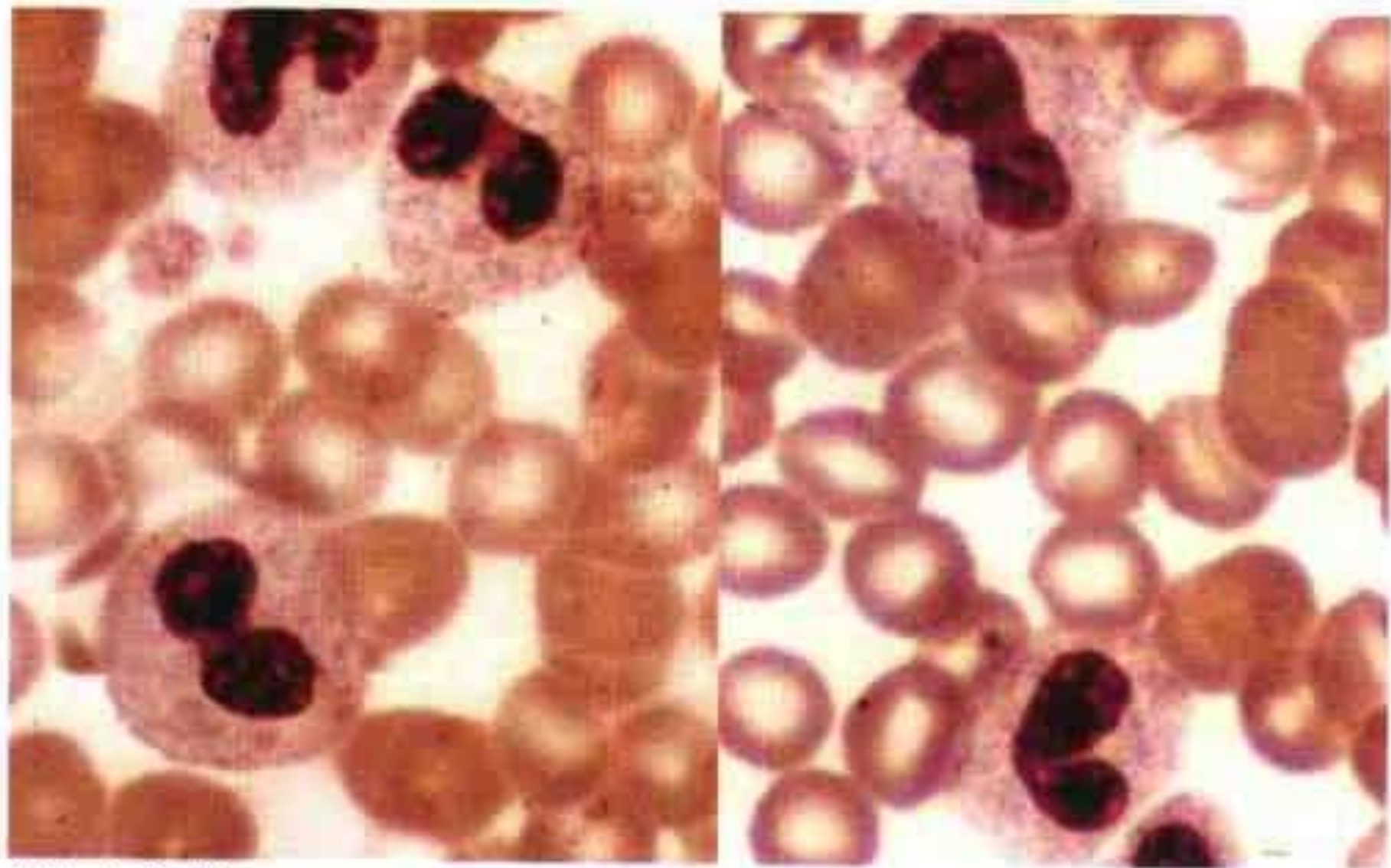


血液生物学图：

中性粒细胞核鼓槌状物：核上鼓槌状的小突起，形如网球拍或高尔夫球棍，(↑)可能由x或y染色体浓缩形成



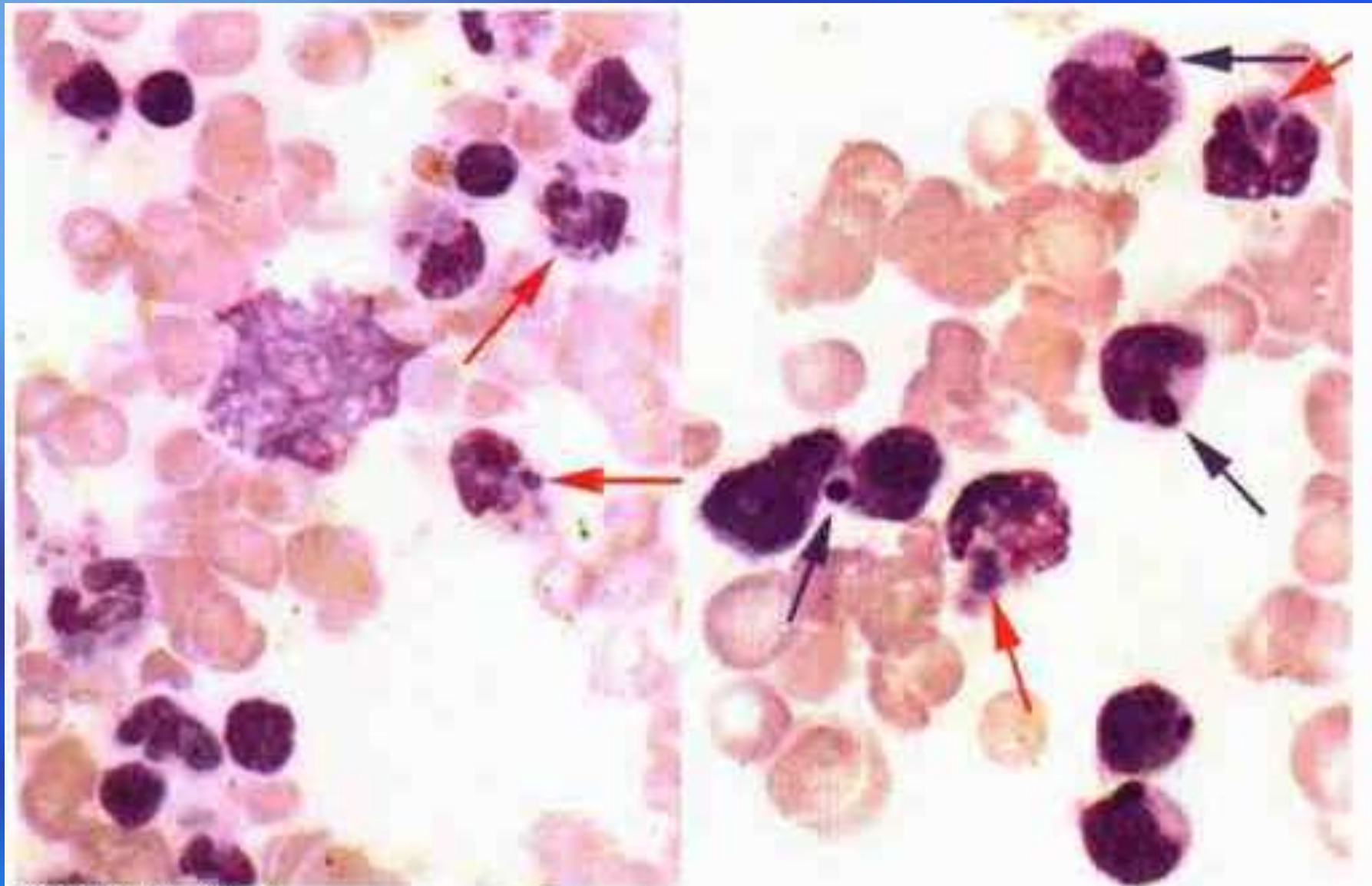
血液生物学图： 家族性白细胞空泡形成(Jordan畸形)：中性粒细胞胞浆中有较多空泡形成



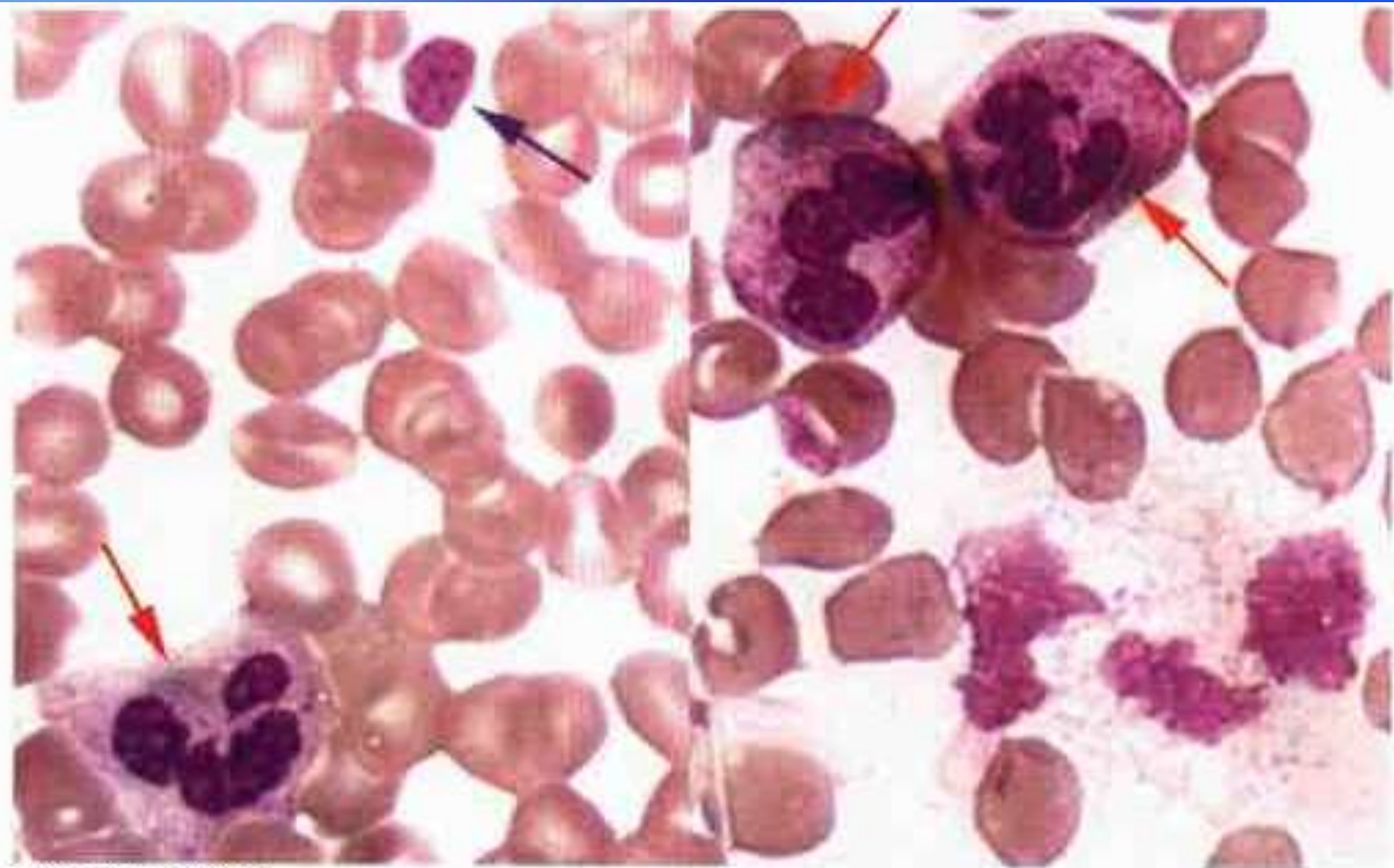
血液生物学图：

遗传性中性粒细胞核分叶不能(Pelger - Huët 畸形)：

中性粒细胞核分叶不良，一般核形呈落花生状，核染色质浓缩成块



血液生物学图： 膜结构缺陷性白细胞异常(Chediak-Higashi畸形)：
中性粒细胞浆内出现较多巨大的蓝色颗粒(↑)，为异常的溶酶体。淋巴细胞胞浆中可见巨大紫红色嗜苯胺蓝颗粒(↑)



血液生物学图：

粒细胞异常蓝斑形成(May - Hegglin 畸形)：中性粒细胞胞浆中出现直径2 - 5 μm 的淡蓝色斑块(↑)，还可见巨大血小板(↑)

七、淋巴细胞的形态变化

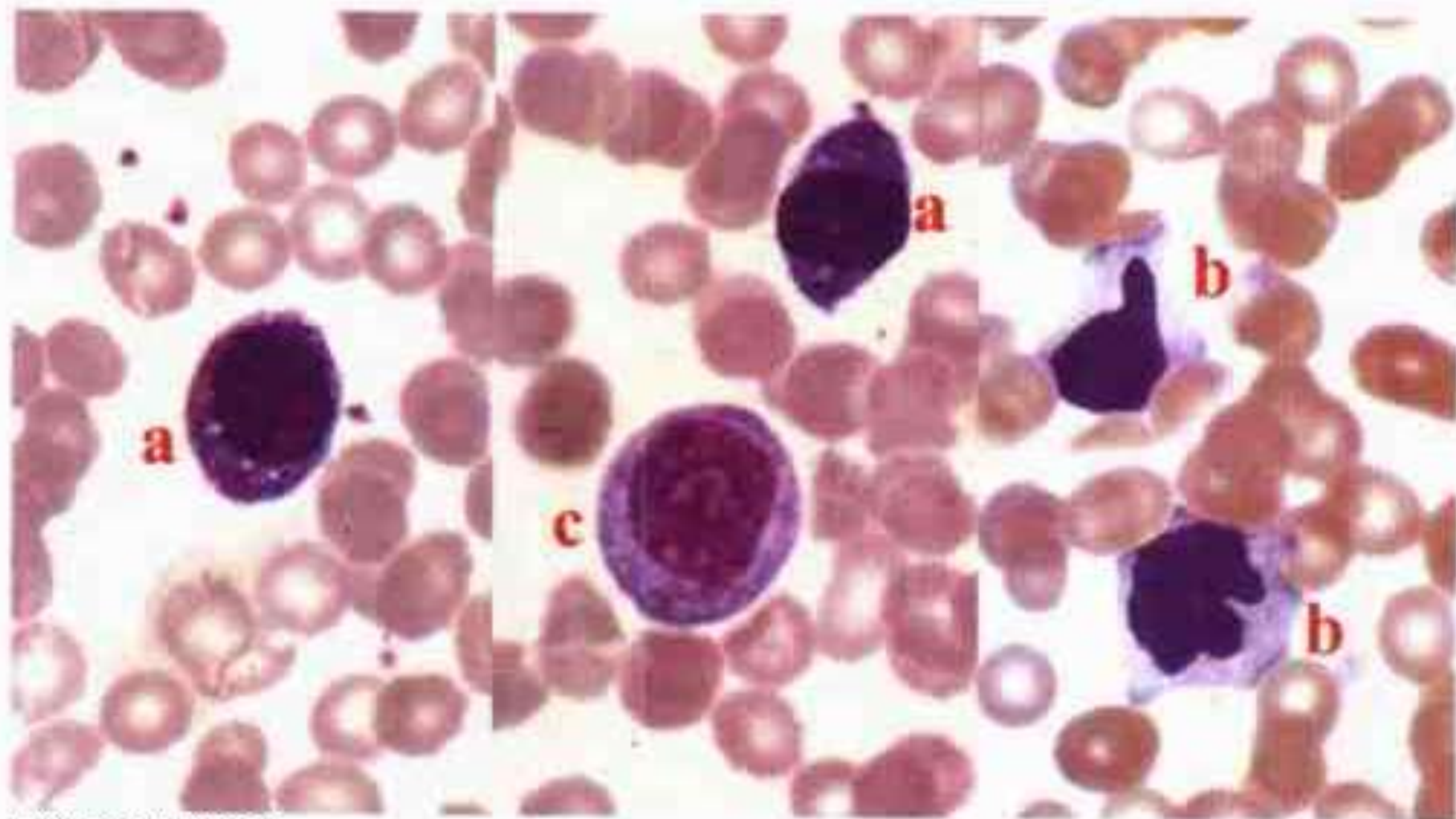
部分病毒感染性疾病病人的血液中，淋巴细胞发生空泡、不规则、幼稚细胞型变化，称为异型淋巴细胞，变称Downey细胞。常见于传染性单核细胞增多症、风疹、病毒性肺炎等病人的血片中。异型淋巴细胞分三型：

（一）I型（空泡型） 此型较常见，似淋巴细胞大小，也可稍大，圆或卵圆形。核略变异，但属淋巴结构。胞浆较多，染深蓝色，无颗粒，呈含小空泡的泡沫样。

（二）II型（不规则型） 细胞较I型大，核型不规则，染色质比I型疏松，仍粗糙。胞浆量多染均匀浅蓝或灰蓝色有透明感，边缘较深，无空泡，偶见少数紫红色颗粒。

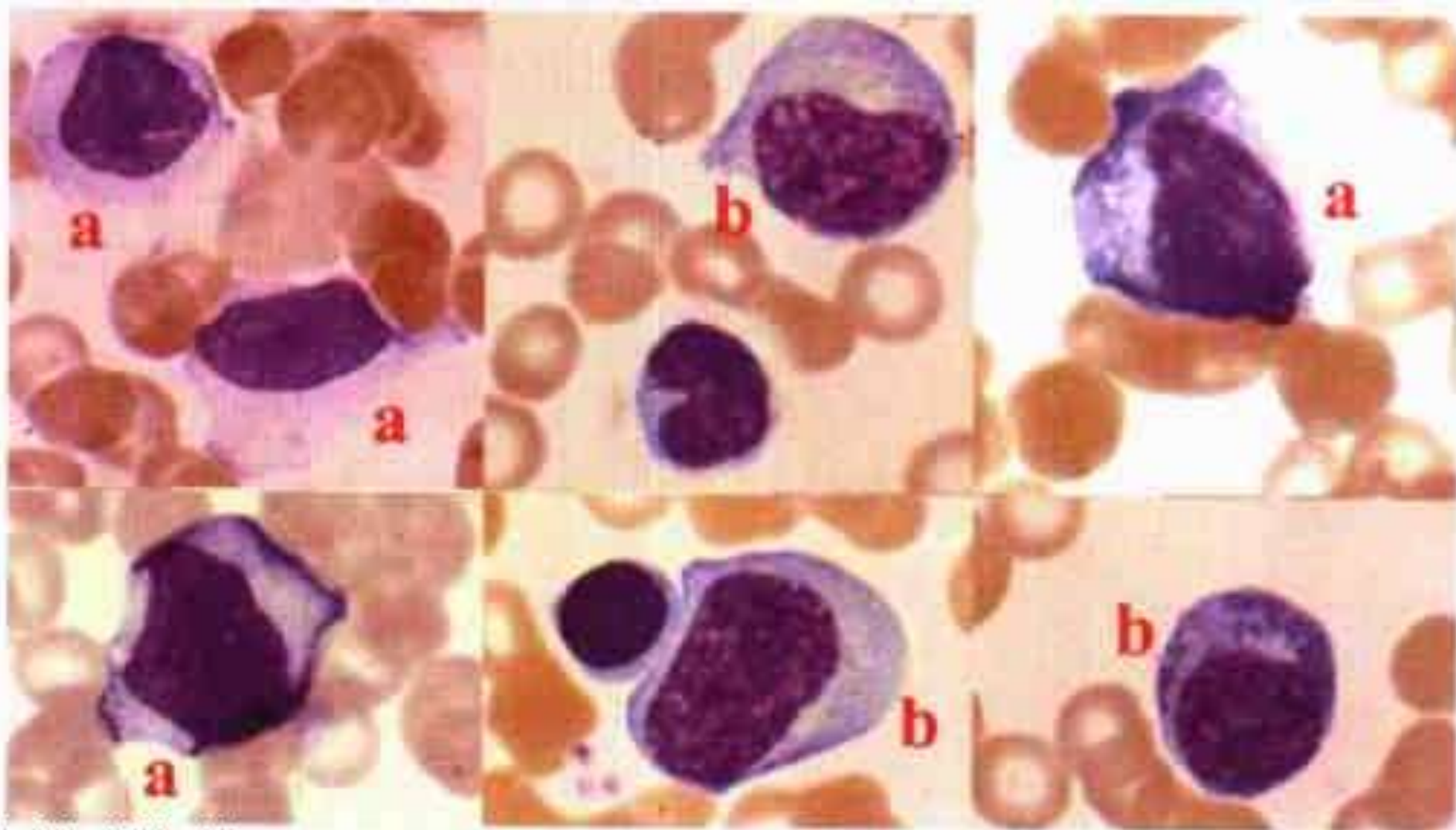
（三）III型（幼稚型） 细胞较大，直径18um。核大，较规则，染色质细致均匀，似幼稚细胞，能见核仁者，称原始型。胞浆丰富，染蓝色或深蓝色，一般无颗粒，偶有小空泡。

● 异型淋巴细胞分为空泡型、不规则型、幼稚型



血液生物学图：

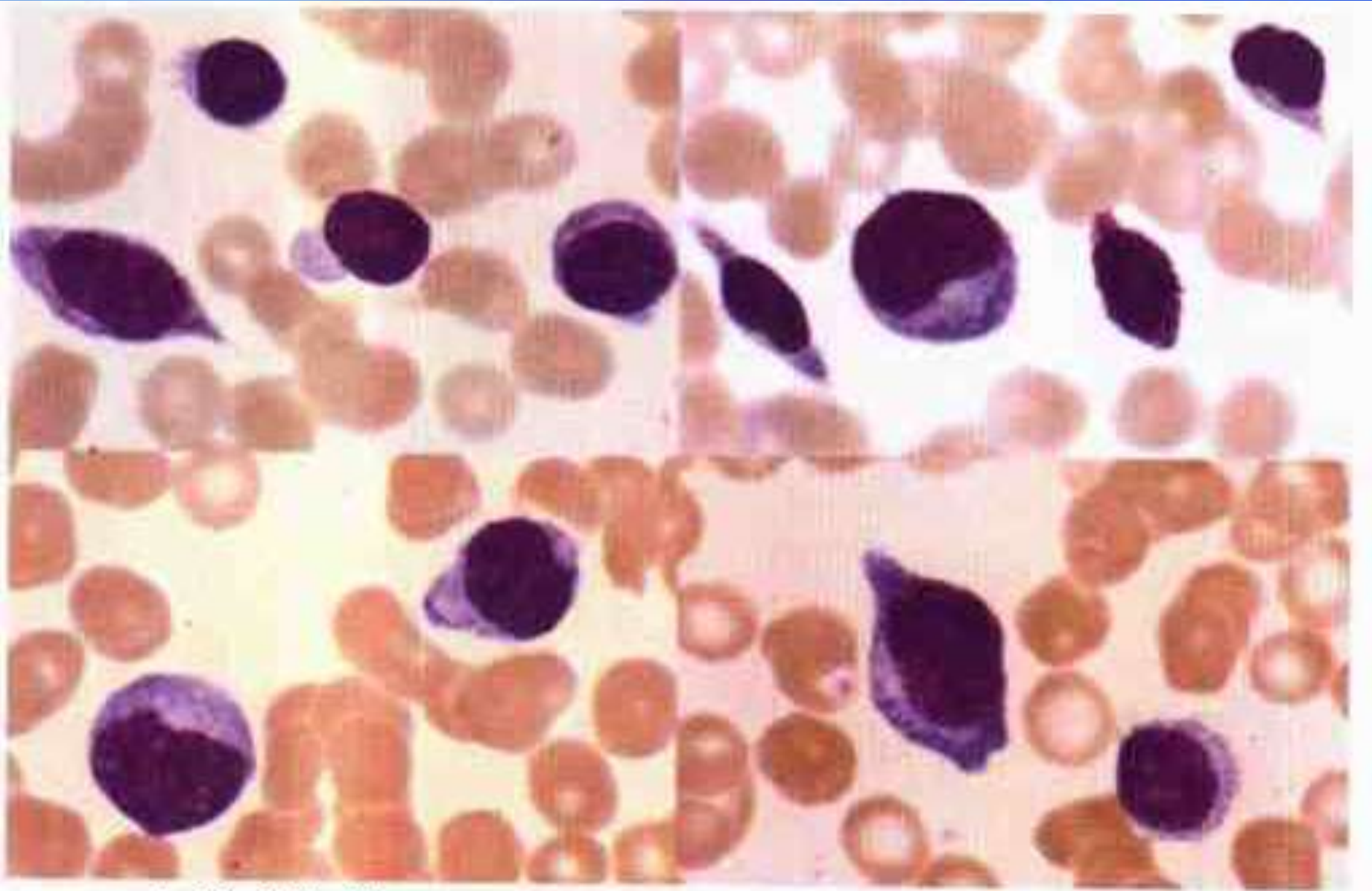
典型的 Downey I 型(泡沫型)(a)、II 型(不规则型)(b)和 III 型(幼稚型)(c)异型淋巴细胞



血液生物学图:

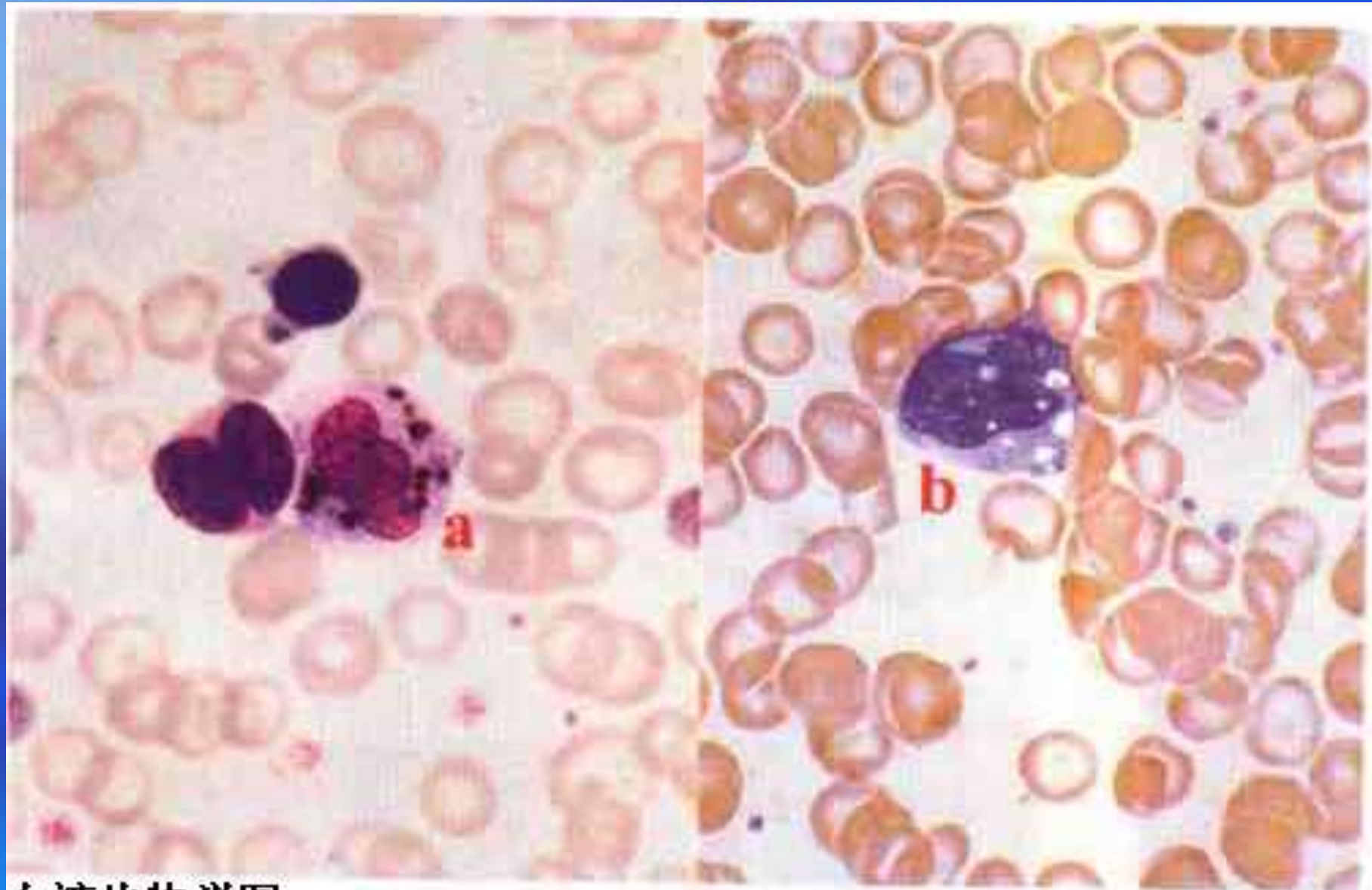
典型的 Downey I 型(不规则型)(a)和 II 型(幼稚型)

(b) 异型淋巴细胞



血液生物学图：

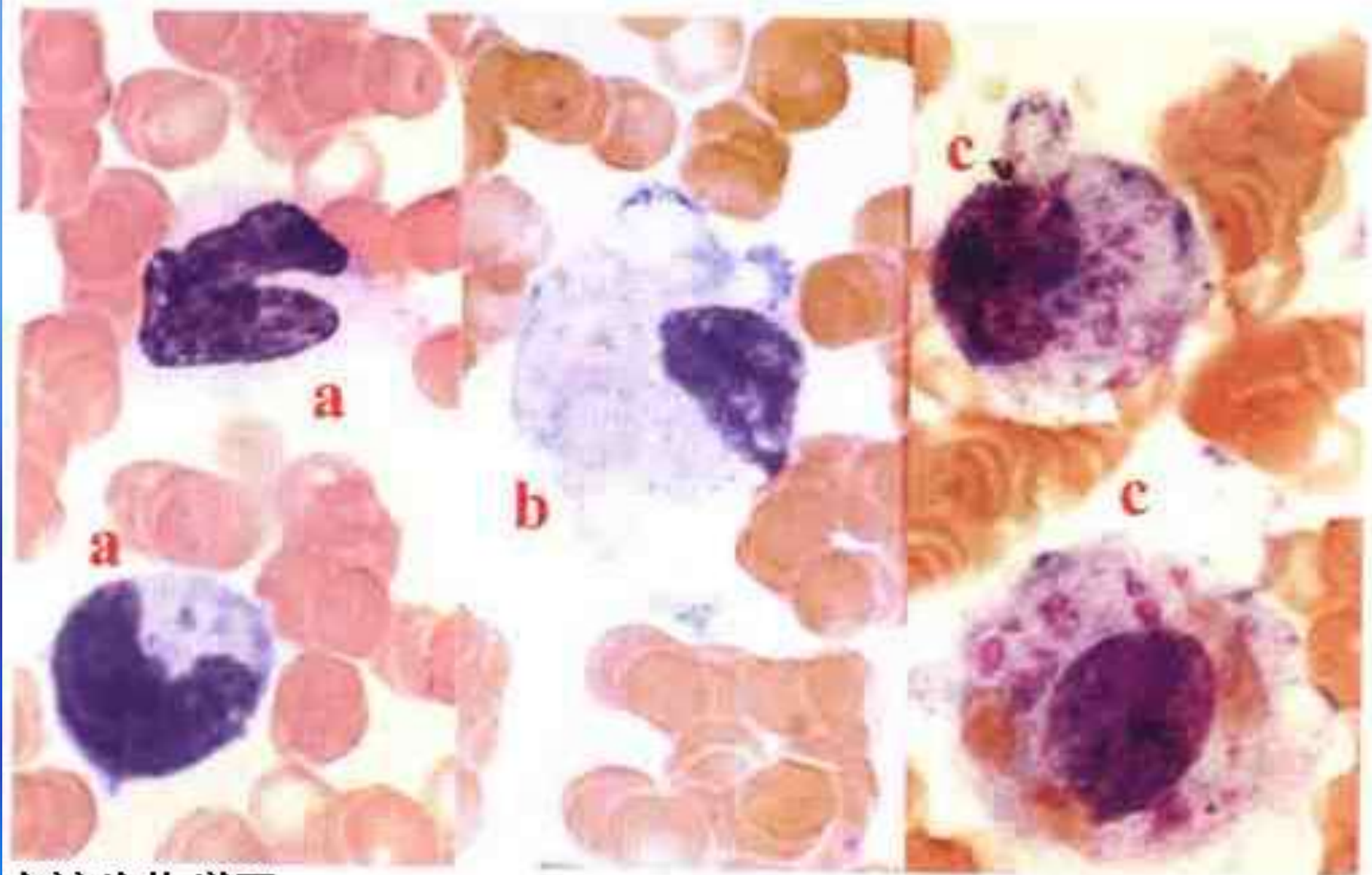
各种形态的异型淋巴细胞



血液生物学图：

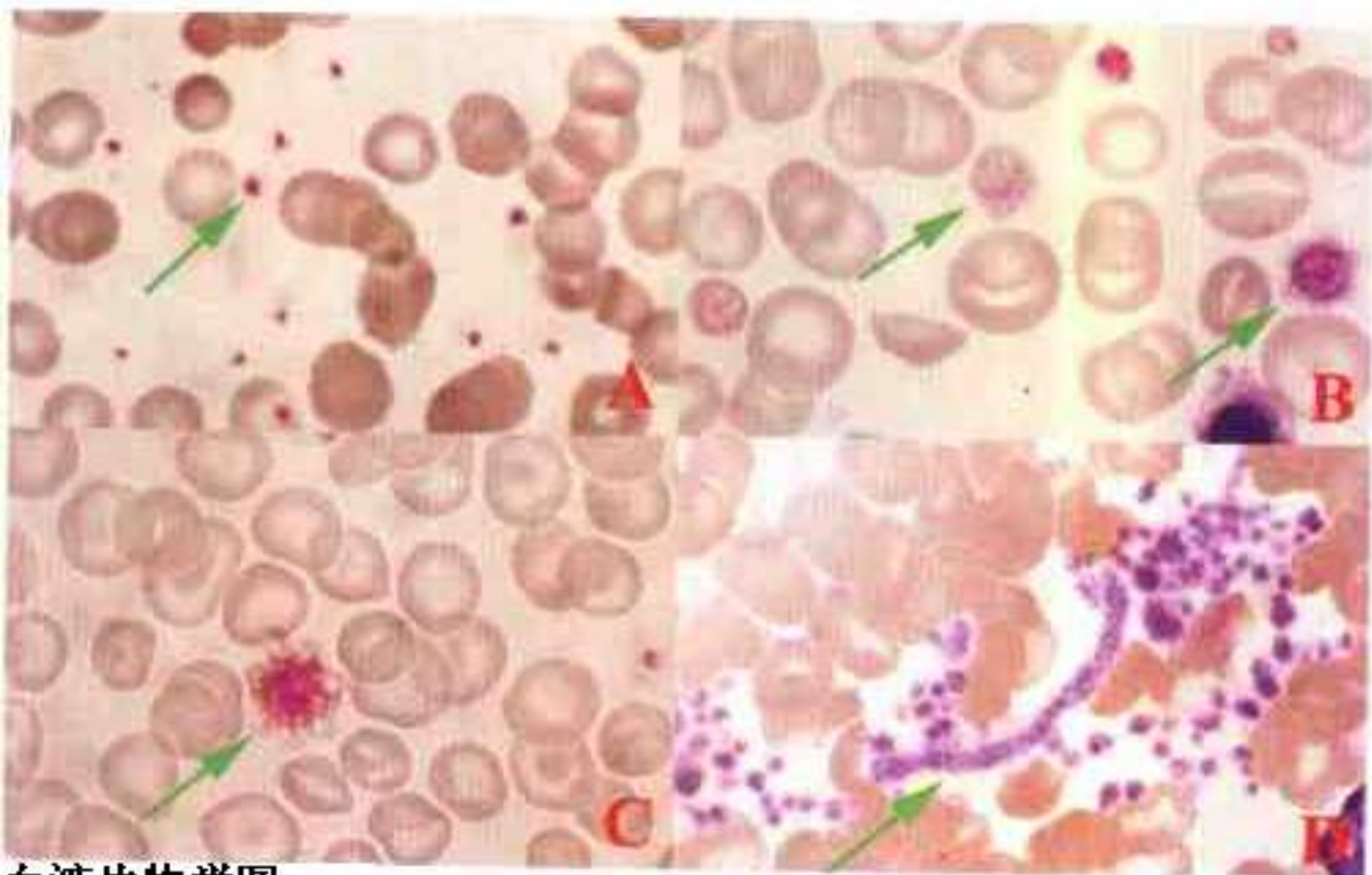
核细胞(b)

血液中吞噬色素颗粒的单核细胞(a)和空泡变性的单



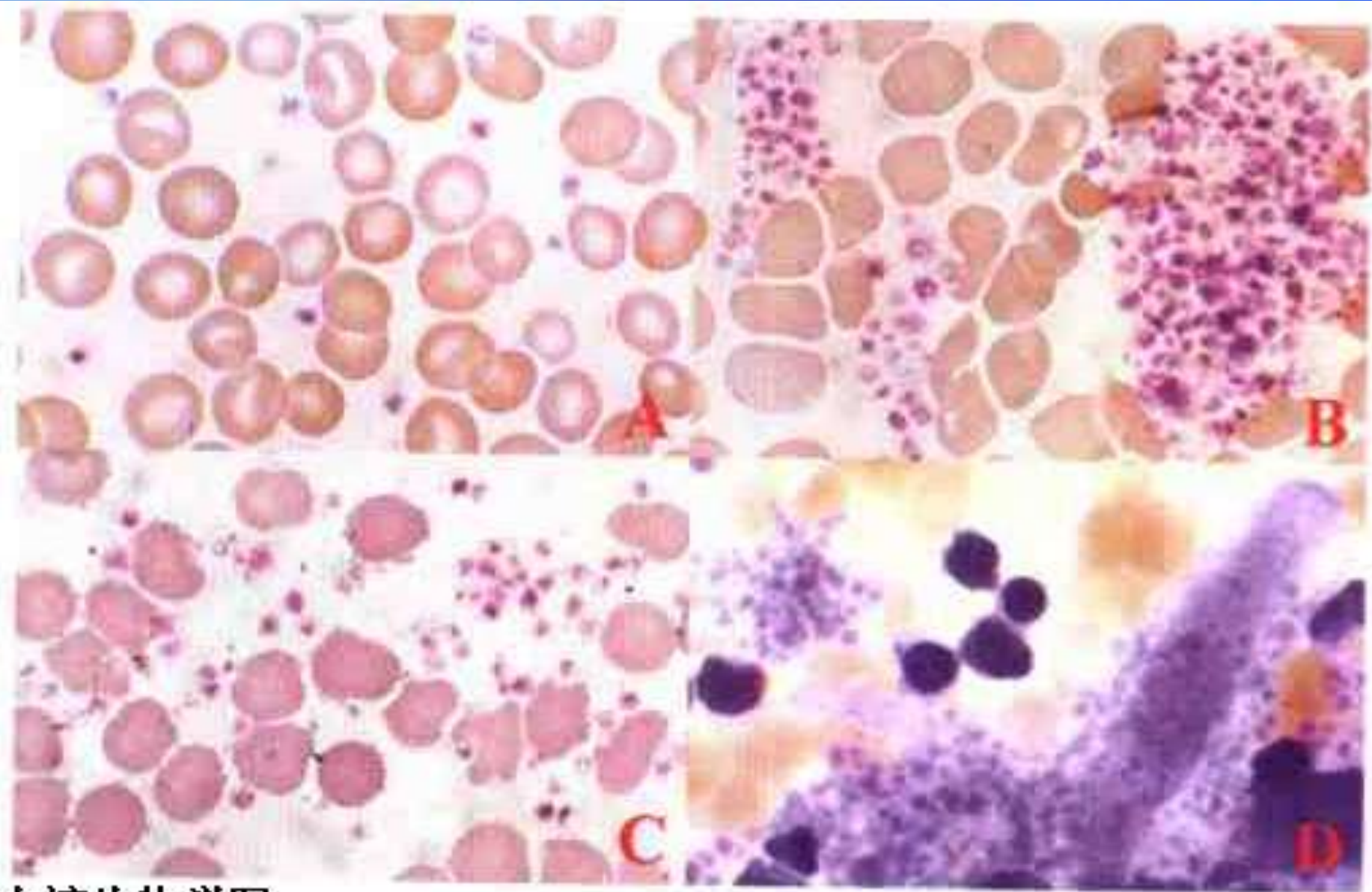
血液生物学图：

血液中的大单核细胞吞噬血小板(a)、吞噬血小板的单核细胞(b)、吞噬血小板和红细胞的巨噬细胞(c)，此种现象多与某些病毒感染有关



血液生物学图:

血小板形态异常: A—小血小板; B—大血小板;
C—巨血小板; D—蛇形血小板



血液生物学图:

血小板形态异常: A—血小板散在分布(血小板无力症); B—血小板大簇状聚集; C—星芒状血小板; D—巨大杆状血小板

八、嗜酸性粒细胞直接计数

(一) 原理

用稀释液将血液稀释一定倍数，并破坏红细胞，将嗜酸性粒细胞颗粒染色，混匀后充入计数池中。计数一定体积内嗜酸性粒细胞数，即可算得每升血液嗜酸性粒细胞数。

(二) 方法

1. 于一小试管中加入0.38ml稀释液（丙酮5ml，2%伊红水溶液5ml，蒸馏水加至100ml），再加入血液0.02ml，立即混匀。

2. 10min后再混匀，分别用吸管充入计数池两测池内，静置片刻后，用低倍镜或高倍镜计数10个大方格内嗜酸性粒细胞数，乘以20再乘10⁶，即得每升血液中嗜酸性粒细胞数。

(三) 正常值

$50\sim 300 \times 10^6 / L$

(四) 临床意义

附：血液带规检查的发展

近几十年来多种型号的电子血细胞计数仪不断增多，并由单机能向客机能发展。生产的型号较多。

RBC (红细胞计数)

WBC (白细胞计数)

PC (血小板计数)

HL (血红蛋白测定)

H2t(红细胞比积测定)

MCV (红细胞平均容量)

MCH (红细胞平均血红蛋白量)

MCHC (红细胞平均血红蛋白浓度)

RDW (红细胞体积分布宽度)

Pct (血小板比积测定)

PDw (血小板体积分布宽度)

)

MPV (血小板平均体积)

LymPh (淋巴细胞计数)

Lymph% (淋巴细胞百分率)

MoM (单核细胞计数)

MmM% (单核细胞百分率)

G12n6 (粒细胞数)

LBn% (粒细胞百分串)

九、红细胞沉降率检查

红细胞沉降率（erythrocyte sedimentation rate, ESB）简称血沉，是指红细胞在特制的玻璃管中于一定单位时间内下沉的距离。红细胞的下沉快慢取决于两种对立力量的相互作用，在红细胞下沉的每一瞬间必须与等体积的血浆发生位置交换，这就形成了一股向上的阻逆力。正常情况下红细胞下沉力与血浆阻逆力相差不多，由于红细胞的密度大于血浆的密度，在地心吸引的作用下产生自然下沉力，因此血沉很慢。

正常值：●男 < 15mm / h，●女 < 20mm / h。

（一）影响红细胞沉降率的因素

1. 红细胞的因素

（1）红细胞的数量：如血浆粘滞性不变，红细胞数量越多，受到的阻力越大，血沉越慢，反之，血沉越快。但红细胞太少时，因为不易形成串钱状，血沉的加快不与红细胞的减少成比例。

（2）红细胞的形态；球形、镰形等异形红细胞或红细胞严重大小不等时，不易形成串钱状，因此血沉较慢。

(3) 红细胞的聚集状态：单个红细胞是一个微小的胶体集团，红细胞膜的表面有一层水化膜，使红细胞互相隔离，细胞膜上的负电荷又使红细胞相互排斥，许多红细胞悬浮在血浆中，下沉时受阻力很大，故血沉很慢。在妊娠和许多疾病时红细胞互相聚集成串钱状，聚集的红细胞数越多块儿越大，血沉加快越明显。

临床意义：●增高见于：结核、结缔组织病及恶性肿瘤。

影响血沉的因素：●红细胞的数量、形态、聚集状态；●血浆中白蛋白和球蛋白及纤维蛋白原的比例。

2. 血浆的因素

血浆中白蛋白带负电荷，球蛋白与纤维蛋白原带正电荷，如血浆中纤维蛋白原或球蛋白增加时，或白蛋白减少时，都可使红细胞所带负电荷减少，红细胞间易发生串钱状凝集，使血沉增快。反之血沉减慢。

（二）方法

通常用魏（westergren）氏法：在试管中加109mmol/L枸橼酸钠液0.4ml。静脉采血，取下针来，加血1.6ml，混合。用血沉管吸取抗凝血至刻度“0”处，垂直固定于血沉架上。在室温静置一小时，观察红细胞下沉的毫米数。

（三）正常值

男 < 15mm / h

女 < 20mm / h

（四）临床意义

1. 生理变化

正常成年男性血沉率变化不大。新生儿因纤维蛋白原水平红细胞数高，血沉减慢。12岁以下儿童、老年人血沉可加快，月经期、妊娠三个月后血沉亦快。

2. 病理变化

病理情况下凡是纤维蛋白原、球蛋白增多及能导致红细胞形成串钱状的各种疾病，皆可使血沉加快。如多数急、慢性感染（结核病），恶性肿瘤（多发性骨髓瘤）、结缔组织疾病（系统性红斑狼疮），组织坏死性疾病（心肌梗塞）等，血沉都可加快。

血沉测定并无特异性的诊断意义。在各种血沉增高的病例中，往往器质性疾病的血沉高于功能性疾病，炎性疾病高于肿瘤，恶性肿瘤高于良性肿瘤。临床上常用于：

(1) 观察结核病、风湿病等病情变化及中医活血化瘀治疗。血沉增快表示病情活动或复发，血沉逐渐恢复正常表示病情静止或好转。

(2) 某些疾病的鉴别诊断：如心肌梗塞和心绞痛、盆腔炎性包块和无并发症的卵巢囊肿，胃癌和胃溃疡等，均是前者血沉明显增快，后者正常或略增。

(3) 健康检查：血沉测定虽无特异性，但与体温、血压、白细胞计数一样，可以了解机体健康状况的一般信息。血沉增高往往暗示某些疾病的存在，可以提示临床注意。

临床意义：●增高见于：溶血性贫血、缺铁性贫血治疗后；

●减少：表示骨髓造血功能低下。

十、思考题

1. 外周血中有少量网织红细胞，在你制作的血涂片中是否看到？为什么？网织红细胞的计数有何临床意义？
2. 如何从细胞形态判断血细胞的幼稚与成熟？有何临床意义？
3. 根据血细胞的正常值，判断你所观察的血涂片是否属于正常？
4. 如何计算每毫升细胞悬液中所含细胞数？请算出你所使用的悬液中红细胞的密度？
5. 为什么红细胞在某些溶液中会发生溶血？

第四节 骨髓片观察

一、目的和要求

学会观察骨髓片，并熟悉血细胞形态发生的共同变化规律。

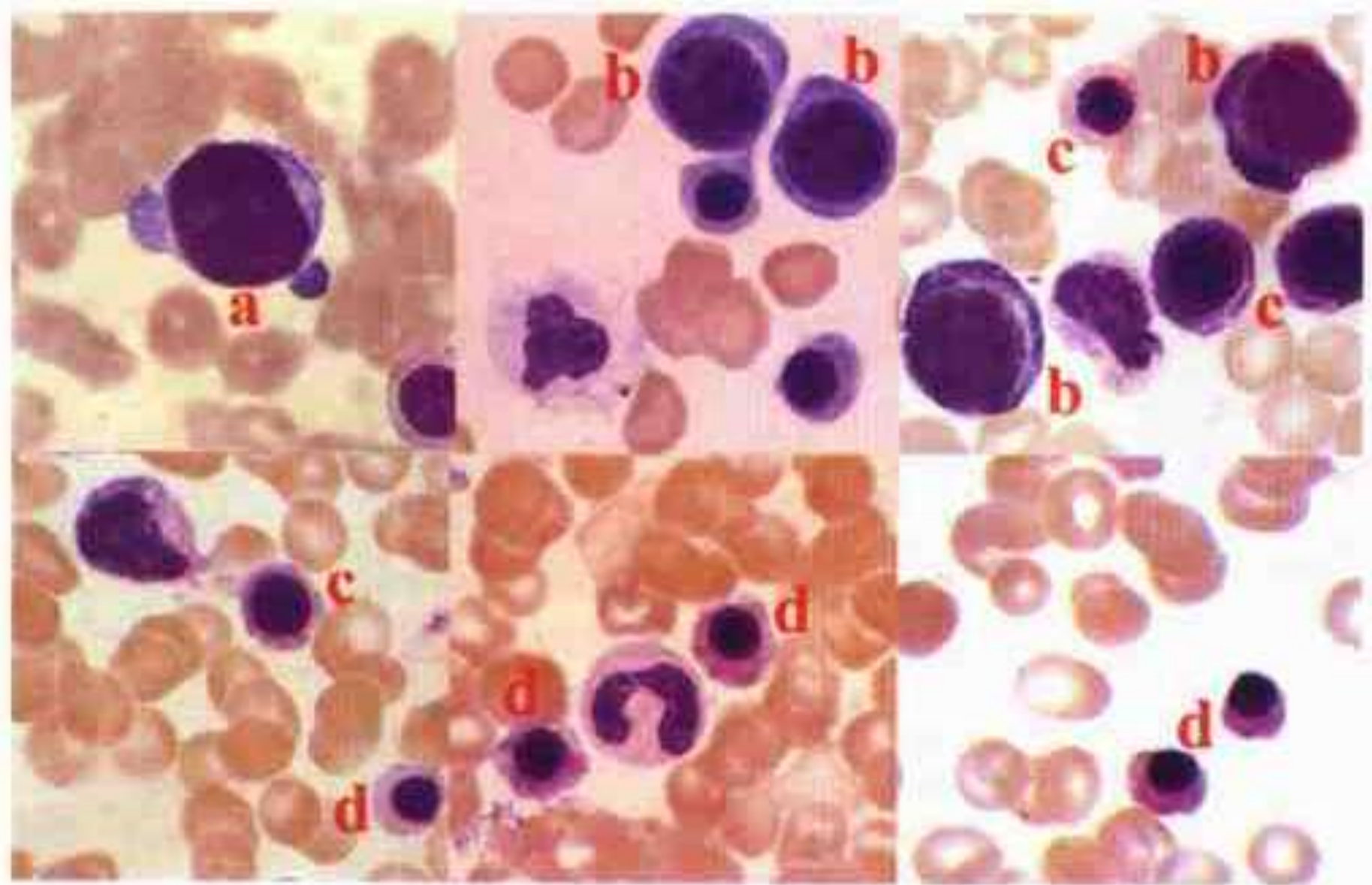
二、内容

(一) 红细胞发生

红细胞发生起始于红系祖细胞，经原红细胞、早幼红细胞、中幼红细胞、晚幼红细胞，后者脱去细胞核成为网织红细胞，最终为成熟红细胞。红细胞发生过程中，其形态变化特点：胞体由大→小；核由大→小→丢失；染色质由细疏→粗密；胞质由墨水蓝→淡蓝→红蓝相间→红色。

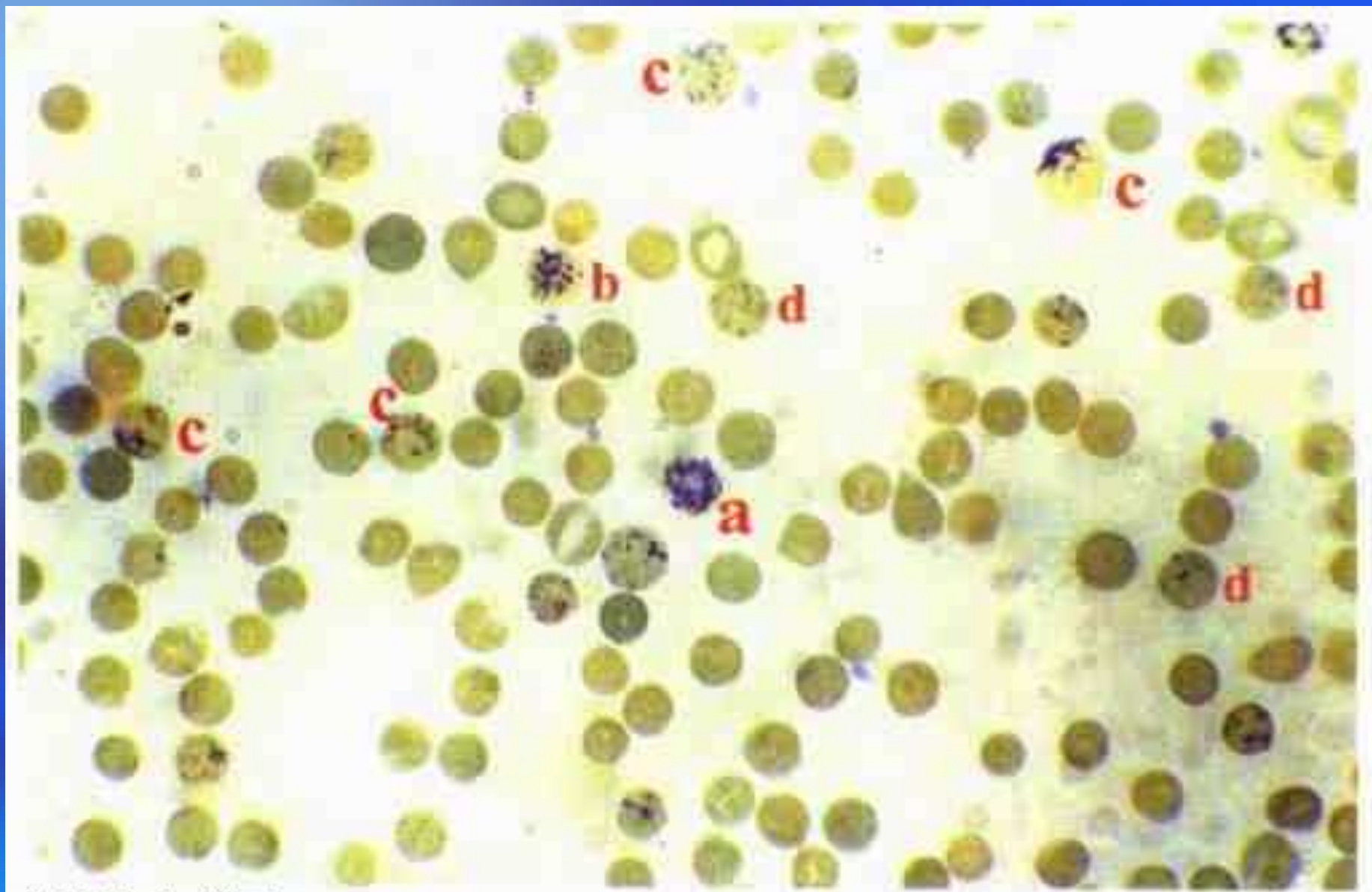


1. 原红细胞：胞体大，核大，染色质呈细颗粒状，有2~3个核仁，胞质嗜碱性强，呈墨水蓝。
2. 早幼红细胞：胞体较大，核较大，染色质呈粗粒状，偶见核仁，胞质嗜碱性较强，呈墨水蓝。
3. 中幼红细胞：胞体较小，核较小，染色质呈粗块状，核仁消失，胞质嗜碱性减弱，呈红蓝相间色。
4. 晚幼红细胞：胞体小，核更小，染色质呈致密块状，核仁消失，胞质呈红色。



血液生物学图:

正常红系各阶段细胞: 原红细胞(a)、早幼红细胞(b)、中幼红细胞(c)、晚幼红细胞(d)



血液生物学图：

各型网织红细胞(煌焦油蓝活体染色)：丝球型(a)、网型(b)、破网型(c)、点粒型(d)网织红细胞

（二）粒细胞发生

粒细胞发生起始于粒-巨噬细胞祖细胞，经原粒细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞，进而分化成熟的粒细胞入血。其形态变化为：胞体由大→小；核由大→小，其形态由圆形→卵圆形→肾形→分叶；染色质由细疏→粗密；胞质嗜碱性由强→弱，并产生特殊颗粒，颗粒数量逐步增多。

1. 原粒细胞：胞体较大，核大，呈圆形，染色质呈细网状，可见2~6个核仁，胞质嗜碱性强，呈天蓝色，无颗粒。
2. 早幼粒细胞：胞体大，核呈卵圆形，染色质粗网状，偶见核仁，胞质嗜碱性减弱，呈淡蓝色，内有大量嗜天青颗粒及少量特殊颗粒。



3. 中幼粒细胞：胞体较小，核呈半圆形，染色质呈块状，核仁消失，胞质嗜碱性弱，呈浅蓝色，有少量嗜天青颗粒，特殊颗粒增多。
4. 晚幼粒细胞：胞体小，核呈肾形，染色质呈块状，核仁消失，胞质嗜碱性极弱，呈浅红，有少量嗜天青颗粒及大量特殊颗粒。
5. 杆状核粒细胞：胞体小，核呈杆状，染色质粗块状，核仁消失，胞质嗜碱性消失，呈淡红色，含少量嗜天青颗粒和大量特殊颗粒。



（三）血小板发生

巨核细胞的胞质脱落形成血小板。巨核细胞胞体大而不规则，胞质弱嗜酸性，含丰富的血小板颗粒。核呈分叶状，染色质排列密集，着色深。

三、作业

绘制各级原始红细胞图。

四、思考题

1. 总结血细胞发生的共同变化规律。
2. 简述红细胞发生各阶段形态特征。

第五节 贫血的一般检查

一、网织红细胞计数

（一）原理

网织红细胞（reticulocyte, Ret）是未完全成熟的红细胞，胞浆中含有核糖体（嗜碱性物质），经煌焦油蓝活体染色呈浅蓝色或深蓝色网状结构，称网织红细胞。

（二）方法

在载玻片一端，加10g/L煌焦油蓝酒精溶液一滴，任其自然干燥备用。加末梢血一滴于已干燥染料上，用推片角搅动混匀后，将两玻片盖合，待3~5min后，推制血片。干燥后用油镜计数1000个红细胞中网织红细胞数，最后按百分率报告。

（三）正常值

正常成人网织红细胞0.5%~1.5%，新生儿3%~6%。

（四）临床意义

网织红细胞增多，表示骨髓红细胞生成旺盛，常见于溶血性贫血（可达70%），其次为急性失血性贫血。营养性巨幼红细胞性贫血、缺铁性贫血和巨幼红细胞性贫血治疗有效时，网织红细胞迅速增多，一周左右达最高峰，其后即降至正常或增高。网织红细胞的减少表示造血功能低下，主要见于再生障碍性贫血。但某些慢性再生障碍性贫血的病人，其网织红细胞数可正常或略增（因骨髓中尚有代偿性造血岛），但给予各种抗贫血药物后却不见增长，说明其造血功能低下。



二、红细胞比积测定

（一）原理

红细胞比积（hematocrite, Ht）测定是特定量的抗凝血，用一定速度和时间离心沉淀，即得沉积红细胞和血浆的比例，从而得知每升血中红细胞所占体积的百分率。正常值：●男42%~49%，●女37%~43%。临床意义：●增高见于：脱水、大面积烧伤病人，●减少见于：各种贫血。

（二）方法

1. 静脉采血2ml，注入含干燥EDTA-Na₂，2mg的抗凝瓶中，立即混匀。
2. 用细长毛细管吸取混匀抗凝血，插入温氏管底部，然后将血液缓慢注入至刻度“10”处，注意防止气泡产生。
3. 用水平离心机以3000r / min离心30min，读取红细胞层的柱高。

（三）正常值

男 42%~49%

女 37%~43%

（四）临床意义

1. 各种贫血时，红细胞比积随红细胞的减少而降低，但因红细胞大小不同，二者下降程度不一定平行，临床上常用于计算红细胞的平均值，有助于贫血的鉴别和分类。
2. 大面积烧伤、自身输血、体外循环和脱水病人等，红细胞比积增加。
3. 临床上常用于脱水和烧伤病人的补液依据，是掌握血液稀释程度的可靠标准。



三、红细胞平均值

根据红细胞数，血红蛋白浓度和红细胞比积，计算红细胞平均血红蛋白量、红细胞平均体积、红细胞平均血红蛋白浓度，作贫血的形态学分类。

（一）红细胞子均血红蛋白量（mean corpuscular hemoalobin, MCH）

红细胞平均血红蛋白量，即每个红细胞内所含血红蛋白的平均量，以皮克（pg）为单位（ $1\text{pg}=10^{-12}\text{g}$ ）。

正常值 27~31pgh



(二) 红细胞平均容量 (mean corpascular volume. MCV) 红细胞平均容量就是每个红细胞的平均体积, 以飞升为单位 ($1\text{L}=10^{15}\text{fl}$)。

正常值 $82\sim92\text{fl}$ 。

(三) 红细胞平均血红蛋白浓度 (MCHC)

红细胞平均血红蛋白浓度指平均每升红细胞中所含血红蛋白浓度。

正常值 $320\sim360\text{g} / \text{L}$ 。

(四) 临床意义

贫血的形态分类



四、红细胞脆性试验（erythrocyte fragility test, EFT）

（一）原理

红细胞脆性试验可测定红细胞膜有无异常，将红细胞悬浮于不同浓度的氯化钠溶液中，等渗溶液中红细胞无变化，低渗溶液中，则发生膨胀直至破裂溶血，故可观察红细胞膜的最小抵抗力（开始溶血）和最大抵抗力（完全溶血），以了解其渗透脆性。

（二）正常值

开始溶血 4.6~3.8g/L

完全溶血 3.6~2.8 g/L

（三）临床意义

红细胞渗透脆性增加见于先天性球形红细胞增多症，由于球形红细胞的面积储备减少，少量水进入即可溶血，于6.8g/L氯化钠溶液时开始溶血，于4.0g / L氯化钠溶液时完全溶血。此外其它先天性和后天性溶血性贫血时，脆性亦增加。

五、酸溶血试验（Hame试验）

（一）原理

正常人红细胞在其自身新鲜血中（内含补体及裂解素等），在弱酸性（pH6.6~5.8）条件下孵育一小时，不发生溶血现象。如被检者的红细胞膜有异常，对补体的溶血效应敏感，则可呈溶血现象。

（二）临床意义

正常人本试验为阴性，阵发性睡眠性血红蛋白尿症常呈阳性。先天性球形红细胞增多症亦可阳性。其与阵发性睡眠性血红蛋白尿症的区别在于加热破坏溶解了补体的血清，作试验时前者仍为阳性，后者为阴性。

第六节 病理血涂片

一、增生性贫血

由骨髓以外的病因导致的贫血。周围血象虽见红细胞及血红蛋白减少，但骨髓象中则见红细胞系呈代偿性增生。增生性贫血包括缺铁性贫血、溶血性贫血及急性失血性贫血，它们的血液学特点如下：

（一）缺铁性贫血

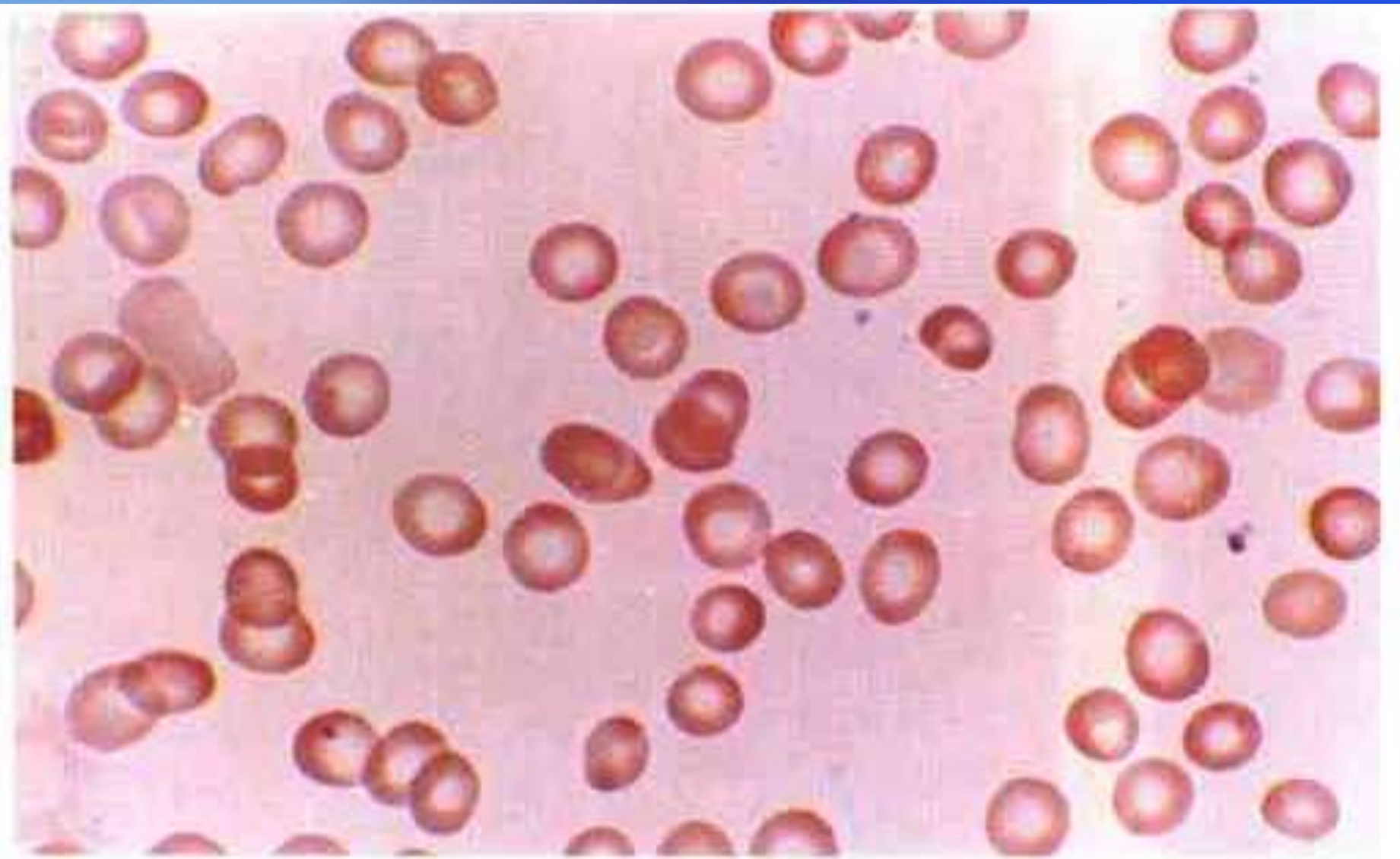
1. 血象

小细胞低色素性贫血，红细胞大小不等，多数较小，中心淡染区扩大，严重者甚至成环形，嗜多色性红细胞和点彩红细胞均多，网织红细胞数增多或正常。

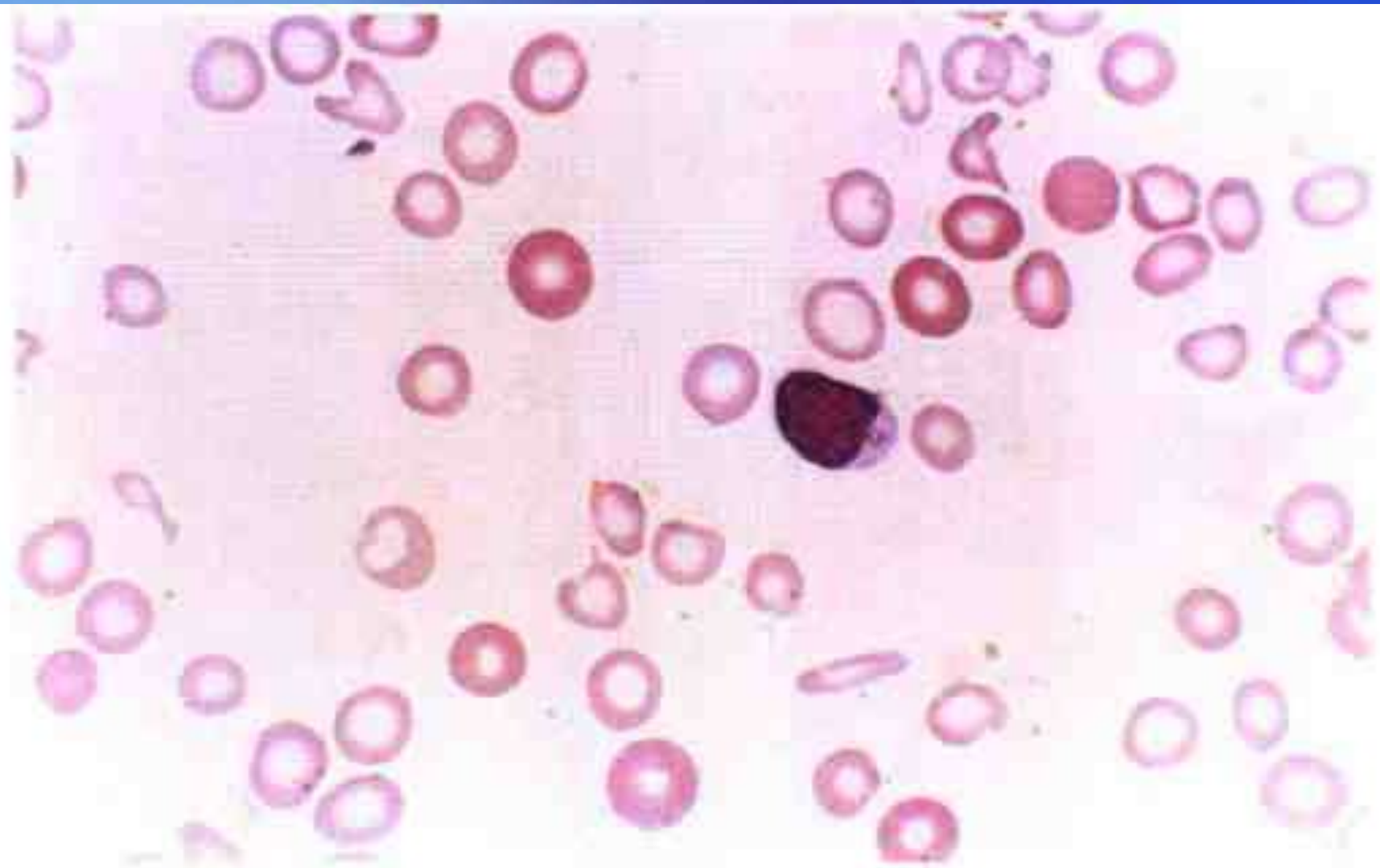
2. 骨髓象

增生活跃或明显活跃，红细胞系增生更明显，各阶段红细胞均增多，中、晚幼红细胞较多，以晚幼红为主。幼红细胞体积小，核形较小，染色质致密深染。胞浆量少，边缘不整齐，有血红蛋白形成缓慢相不足现象。粒、红比值减低。骨髓铁染色，细胞外铁阴性，细胞内铁明显减少或仅微量。

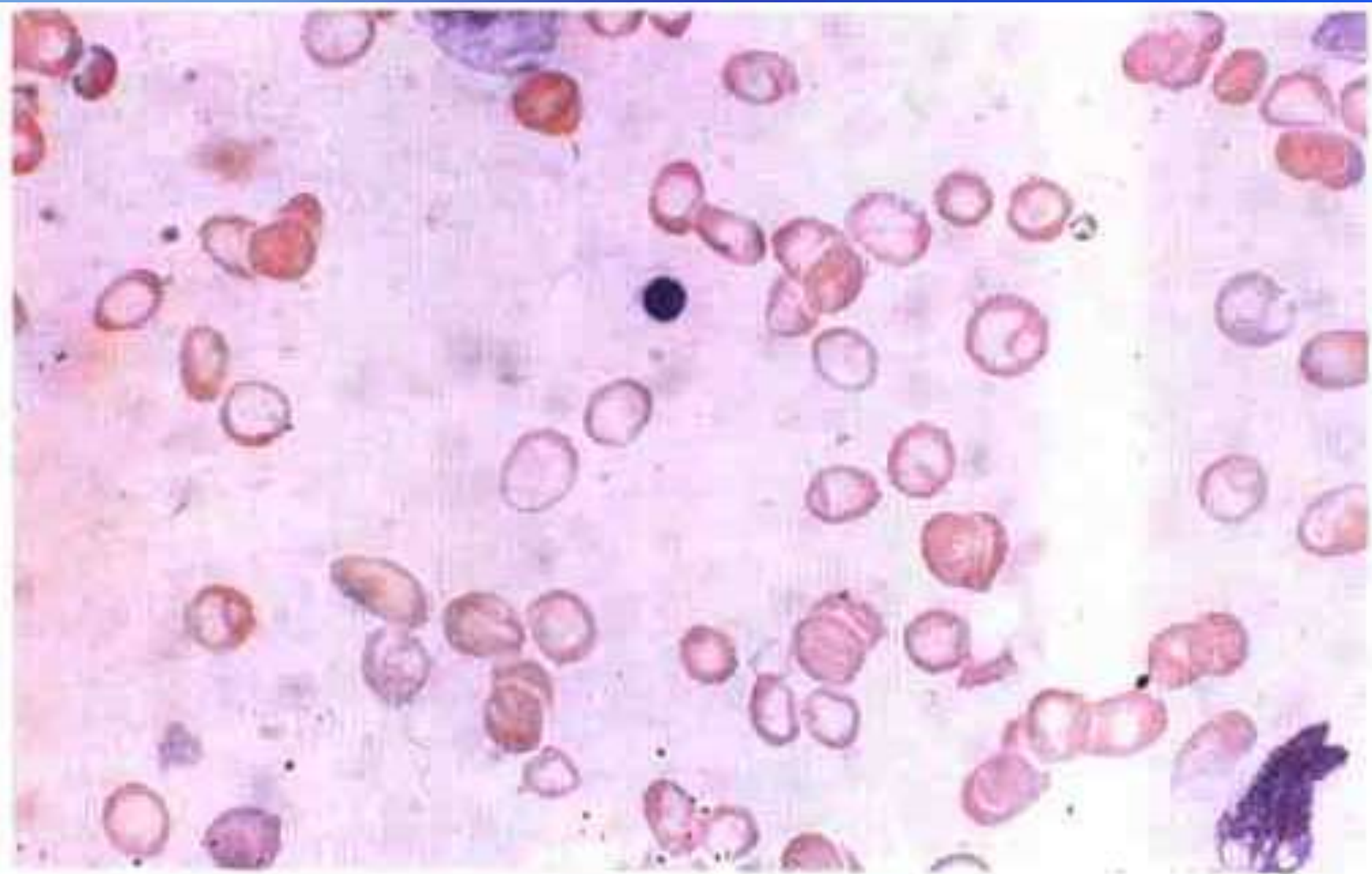
●各阶段红细胞均增多，中、晚幼红细胞较多，以晚幼红细胞为主。



IDA 血象：红细胞轻度大小不均，中心浅染区扩大
呈小细胞低色素性贫血表现，临床有轻度贫血



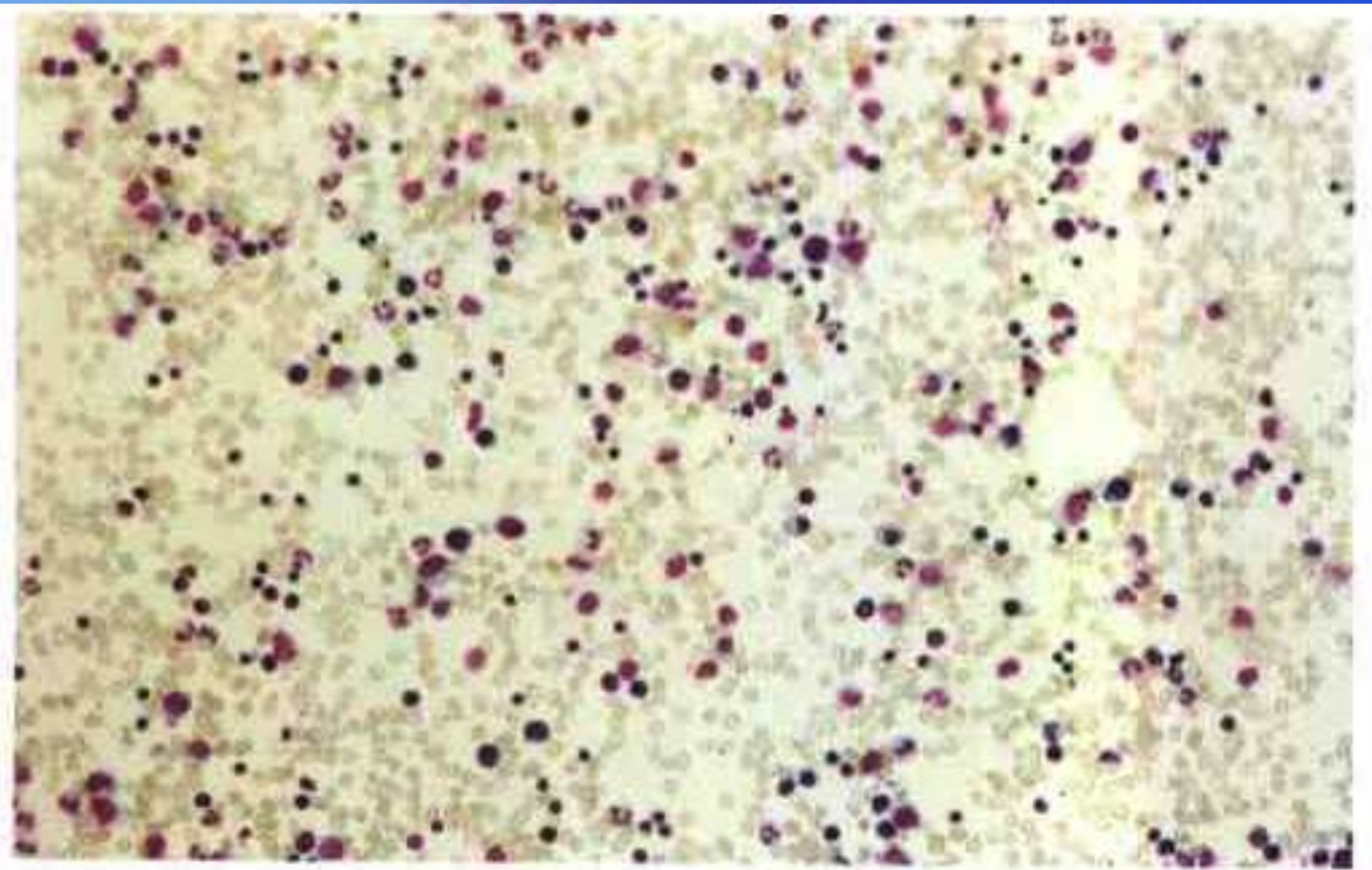
IDA 血象: 红细胞中度大小不均, 中心浅染区明显扩大并出现较多畸形小红细胞, 呈中度小细胞低色素性表现。临床呈中度 IDA



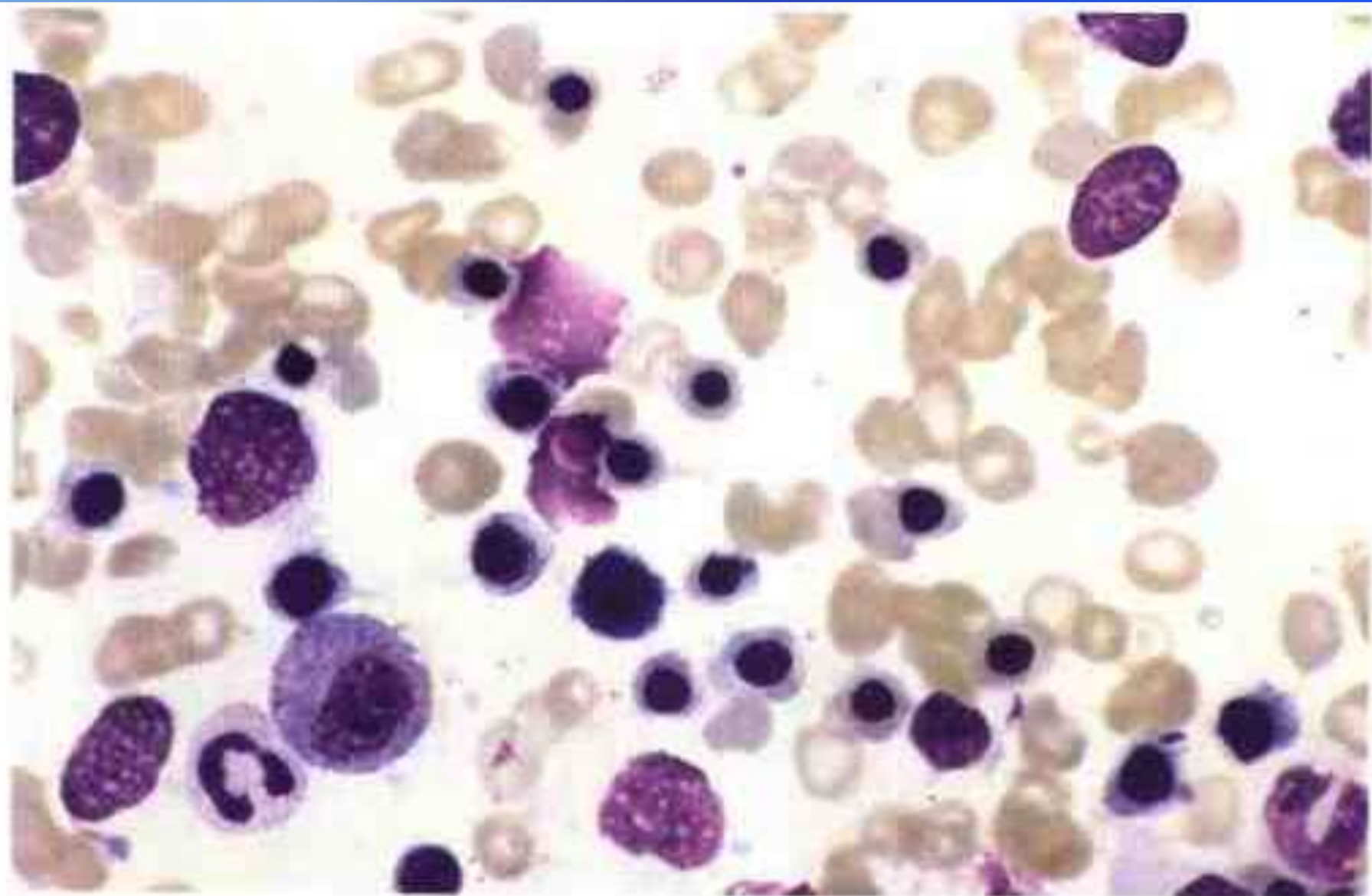
IDA 血象: 红细胞呈明显小细胞低色素性表现, 红细胞因血红蛋白含量重度减低致染色浅淡, 部分红细胞呈环状, 临床呈重度 IDA



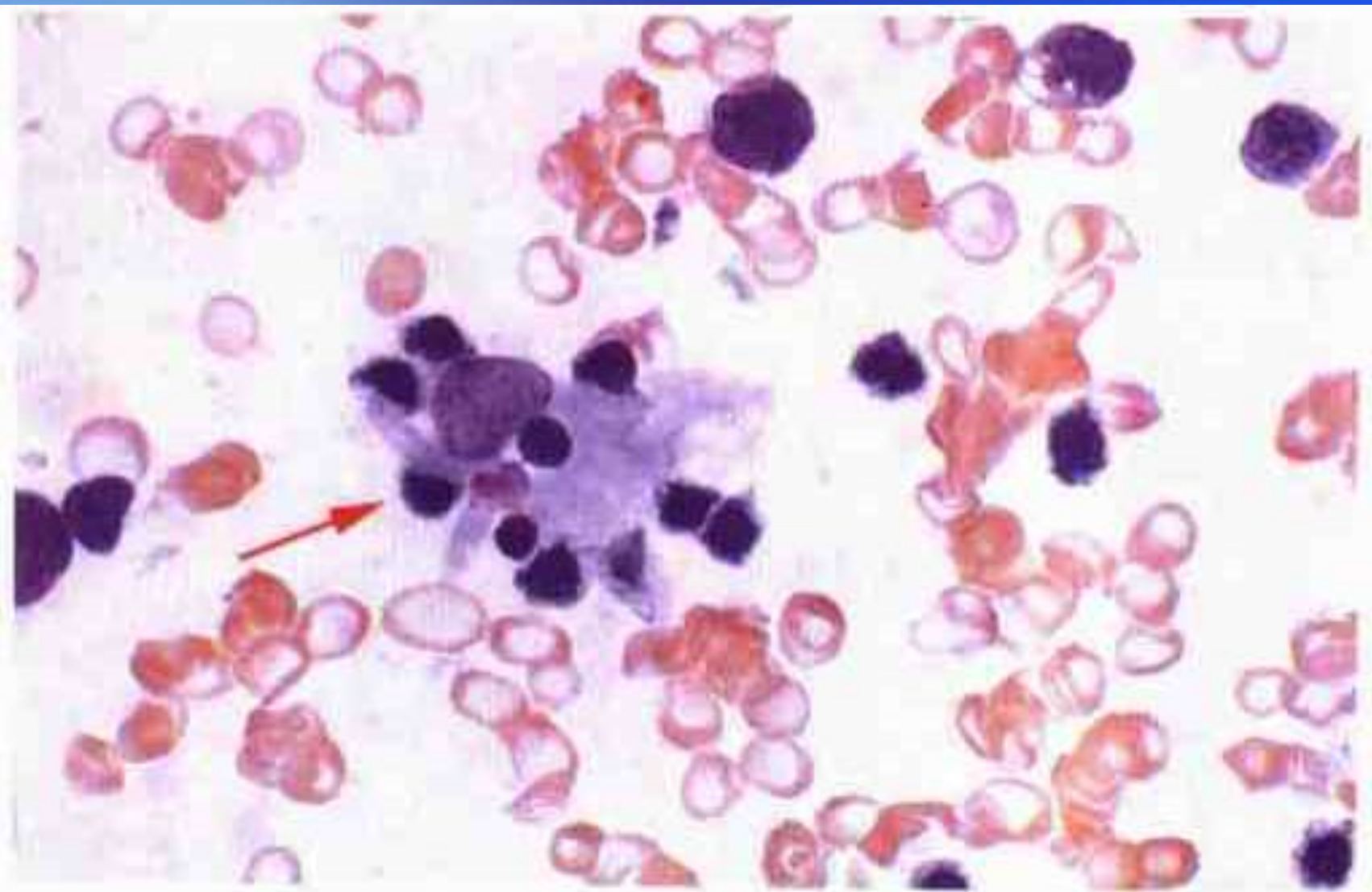
IDA 血象：网织红细胞(煌焦油蓝染色)增多，达 3.5%，可见破网型网织红细胞，但以点粒型为主



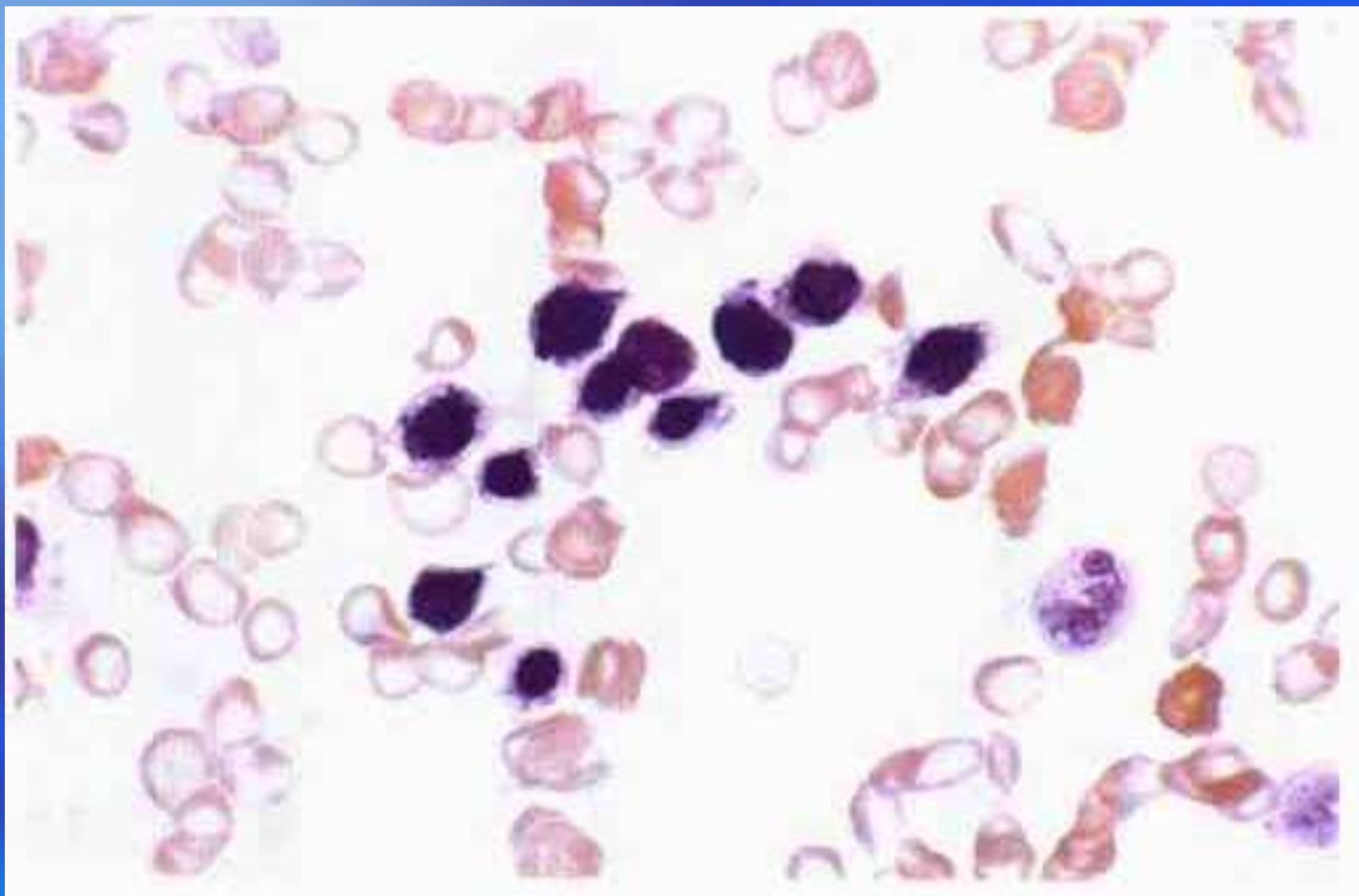
IDA 骨髓象：有核细胞增生明显活跃



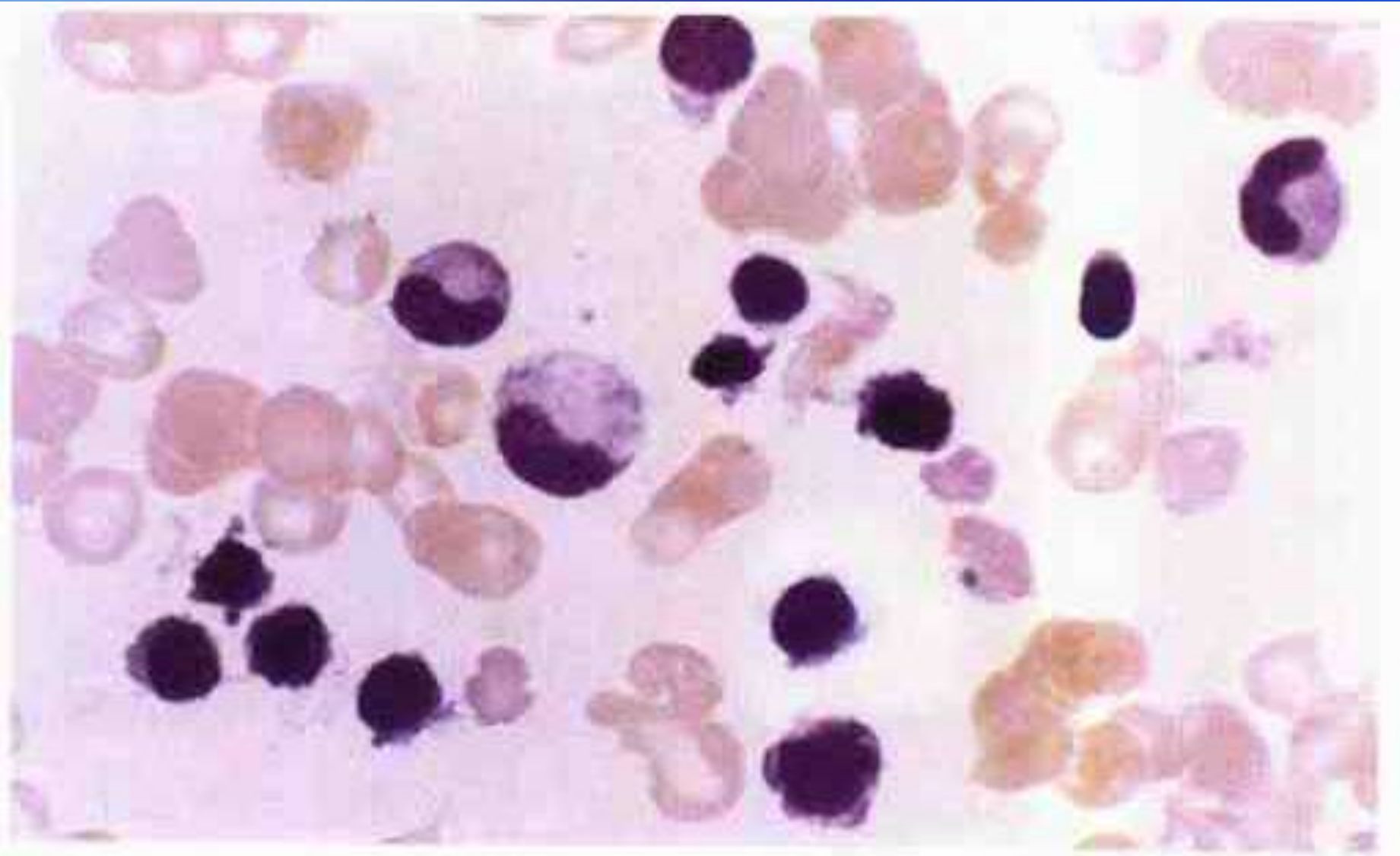
IDA骨髓象：中幼红细胞、晚幼红细胞增生为主，核小而浓染、胞浆偏蓝，呈“幼浆老核”现象



IDA 骨髓象: 幼红细胞造血岛(↑), 一个中心巨噬细胞胞浆周围有8个中、晚幼红细胞, 幼红细胞胞体较小, 胞浆量少, 核浓染。红细胞中心浅染区明显增大呈环形



IDA骨髓象：中幼红细胞、晚幼红细胞核小而浓染、胞浆量少且边缘不整齐并呈较强嗜碱性(因血红蛋白含量不足)。红细胞体积小，大部分因血红蛋白减少而成环形红细胞



IDA 骨髓象：中幼红细胞、晚幼红细胞增生为主，其胞体较小，胞浆边缘不规则呈锯齿状，胞浆染较深蓝色

（二）溶血性贫血

1. 血象

为正常细胞性贫血。网织红细胞、嗜多色性红细胞明显增多见有核细胞。

2. 骨髓象

有核细胞增生明显活跃，红细胞系增生显著均增多，以中幼红细胞增多明显。粒、红比值显著降低。

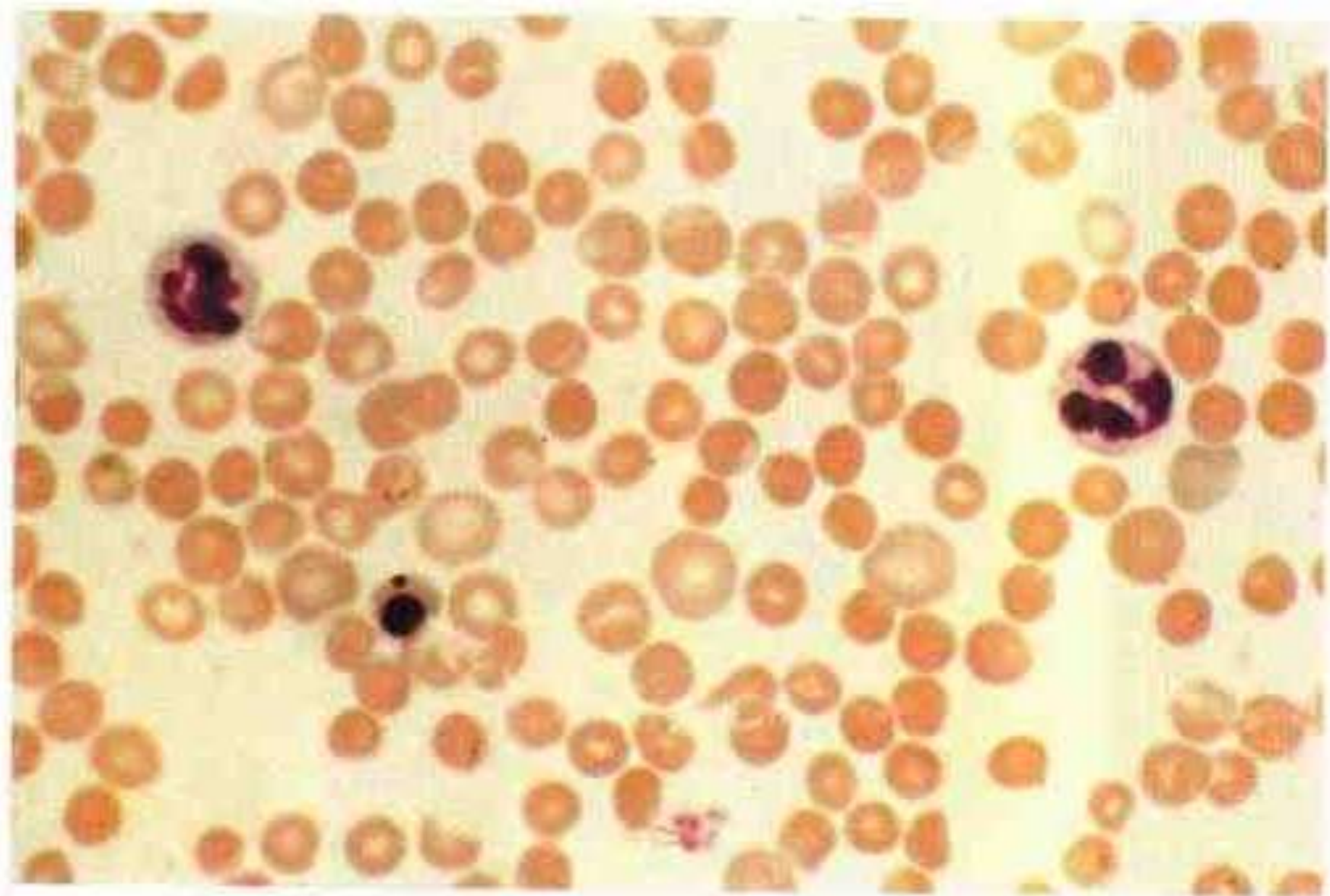
（三）急性失血性贫血

1. 血象

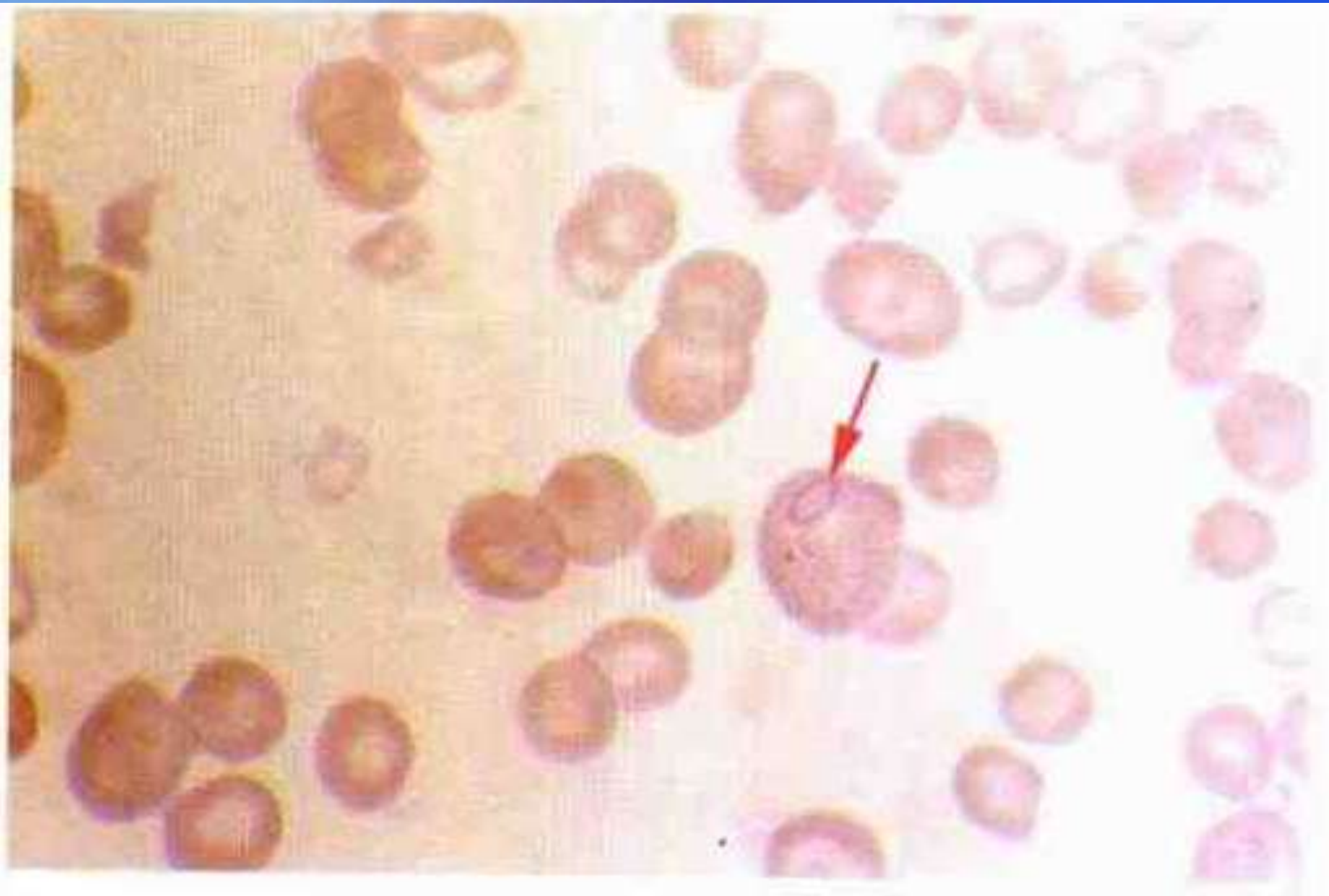
为正常细胞性贫血，网织红细胞增多，出现有核红细胞。

2. 骨髓象

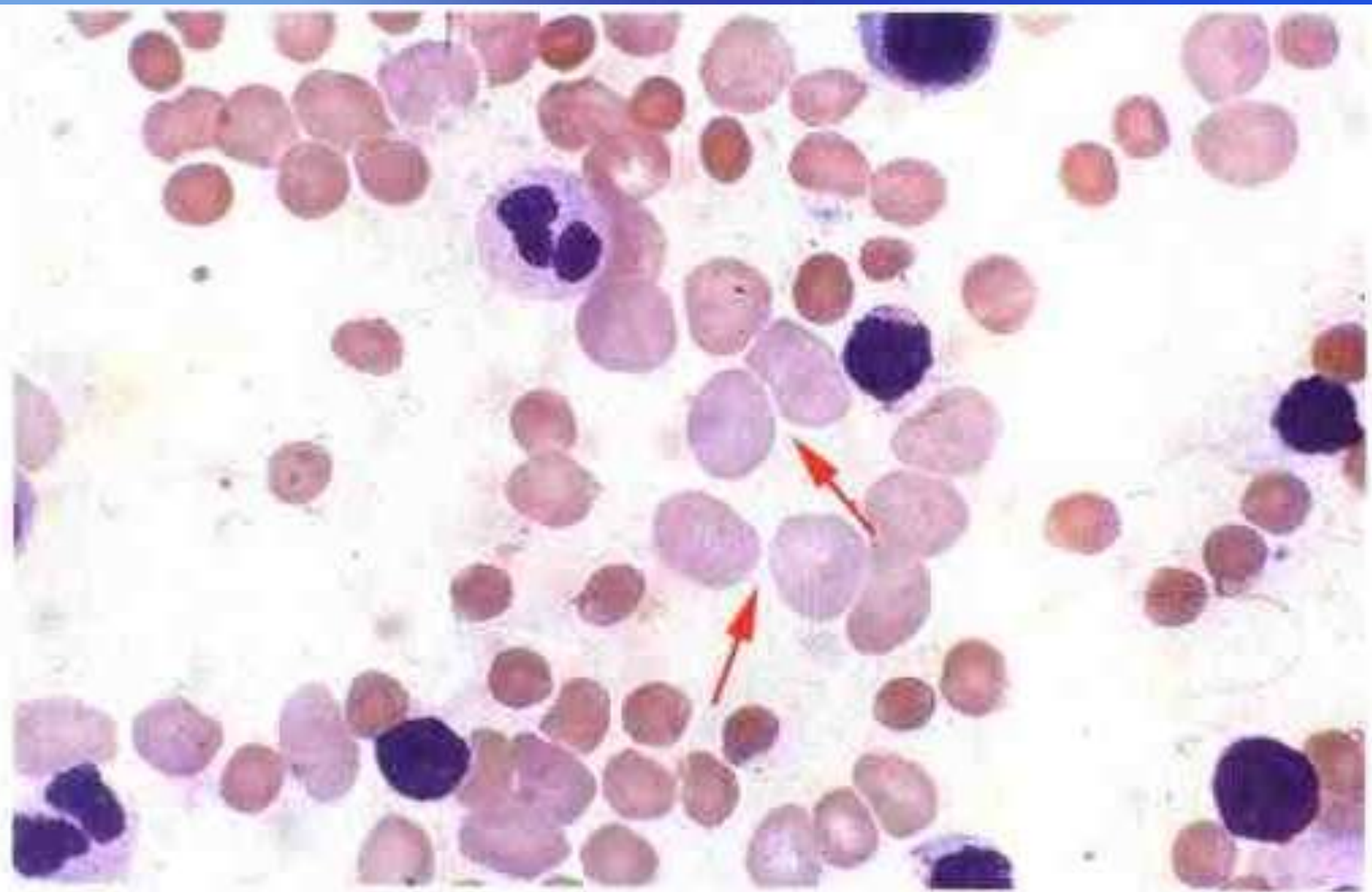
增生活跃，以红细胞系明显，贫血明显时，中幼红细胞增多，其他无大变化。



HA 血象：红细胞轻度大小不等，可见球形红细胞增多，晚幼红细胞胞浆中有Howell - Jolly小体。中性粒细胞数量增多



HA 血象: 点彩红细胞中含有 Cabot 环(↑)



HA 血象: 嗜多色性红细胞(+)和小红细胞增多

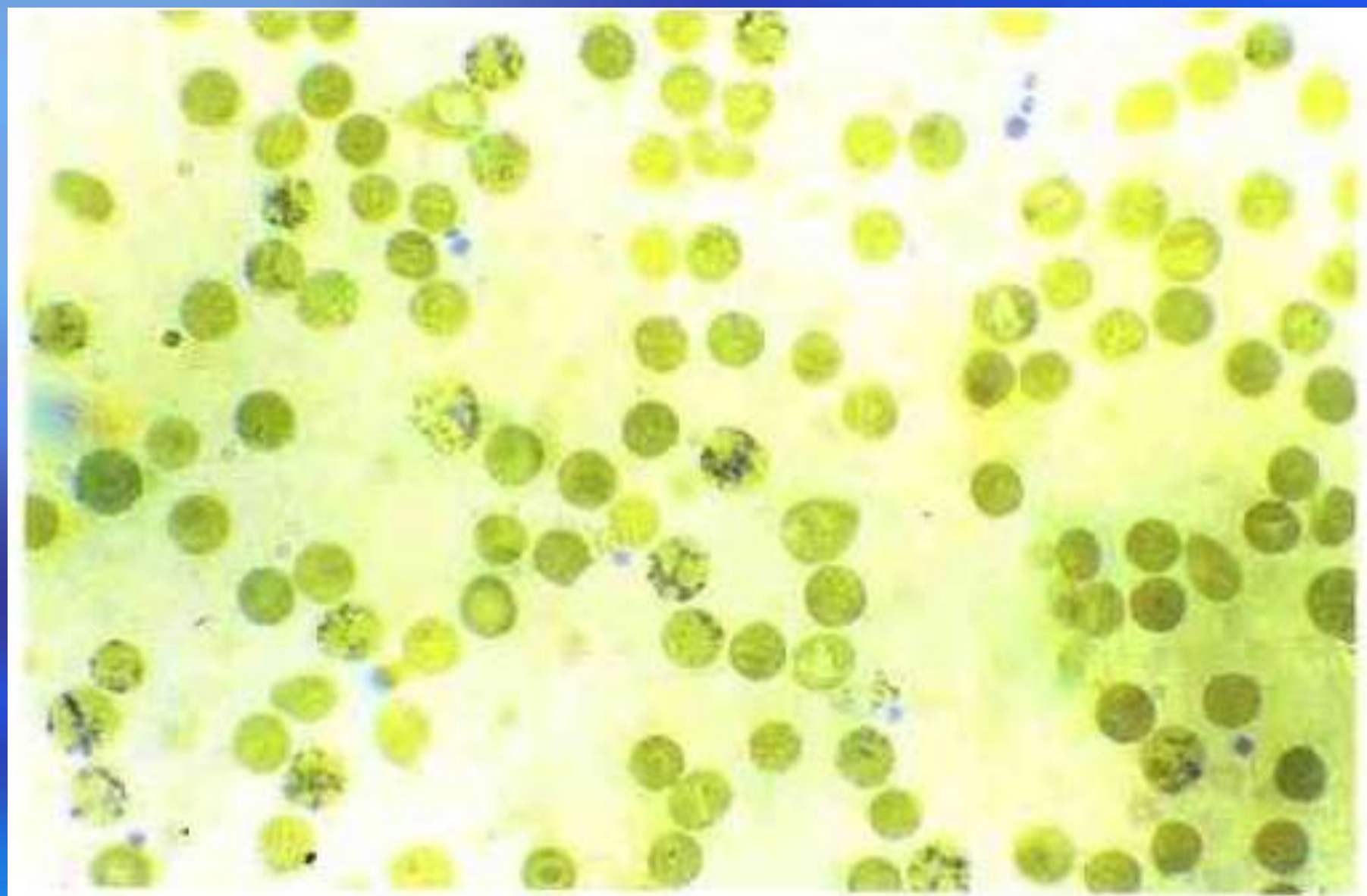
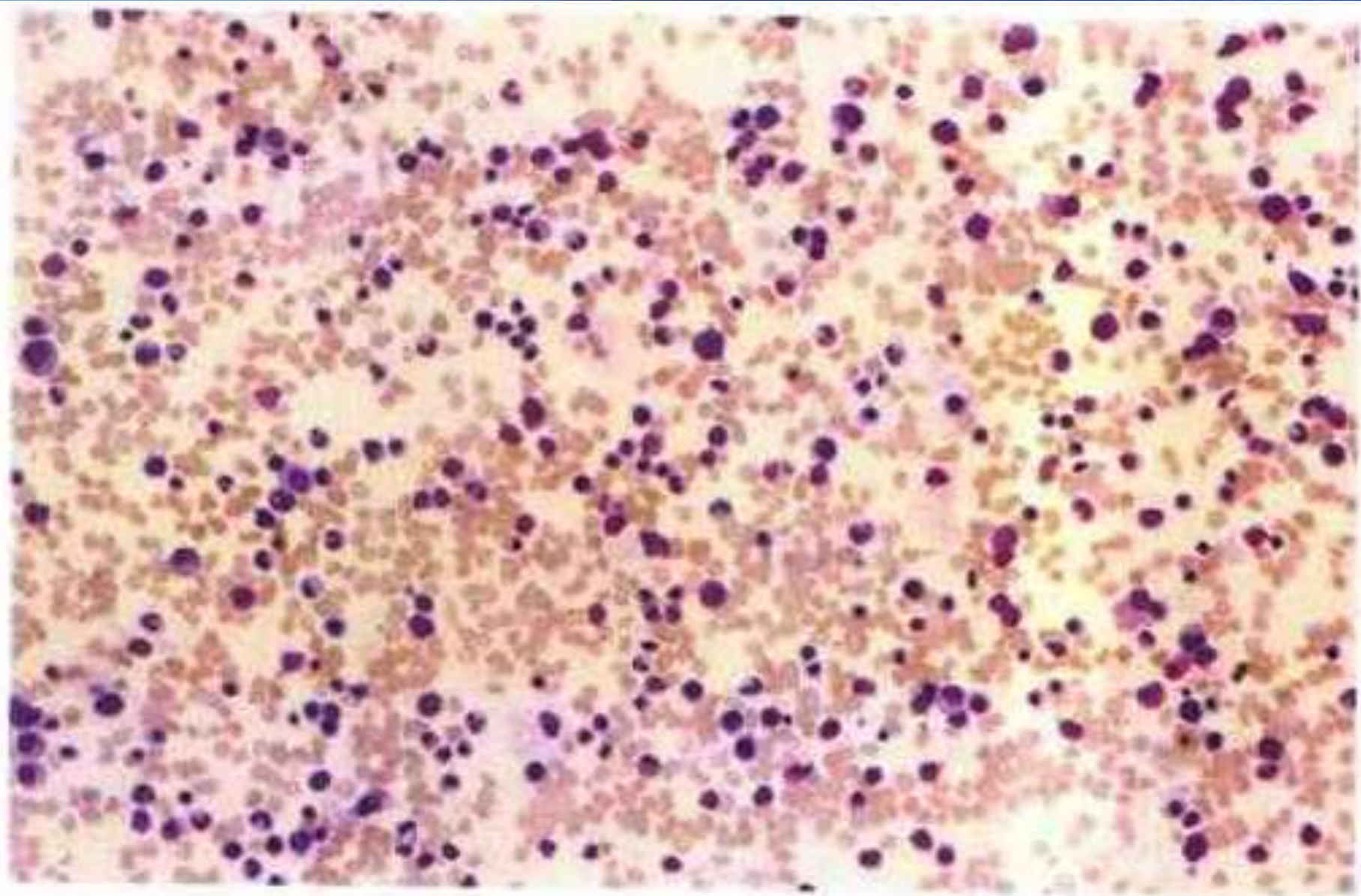
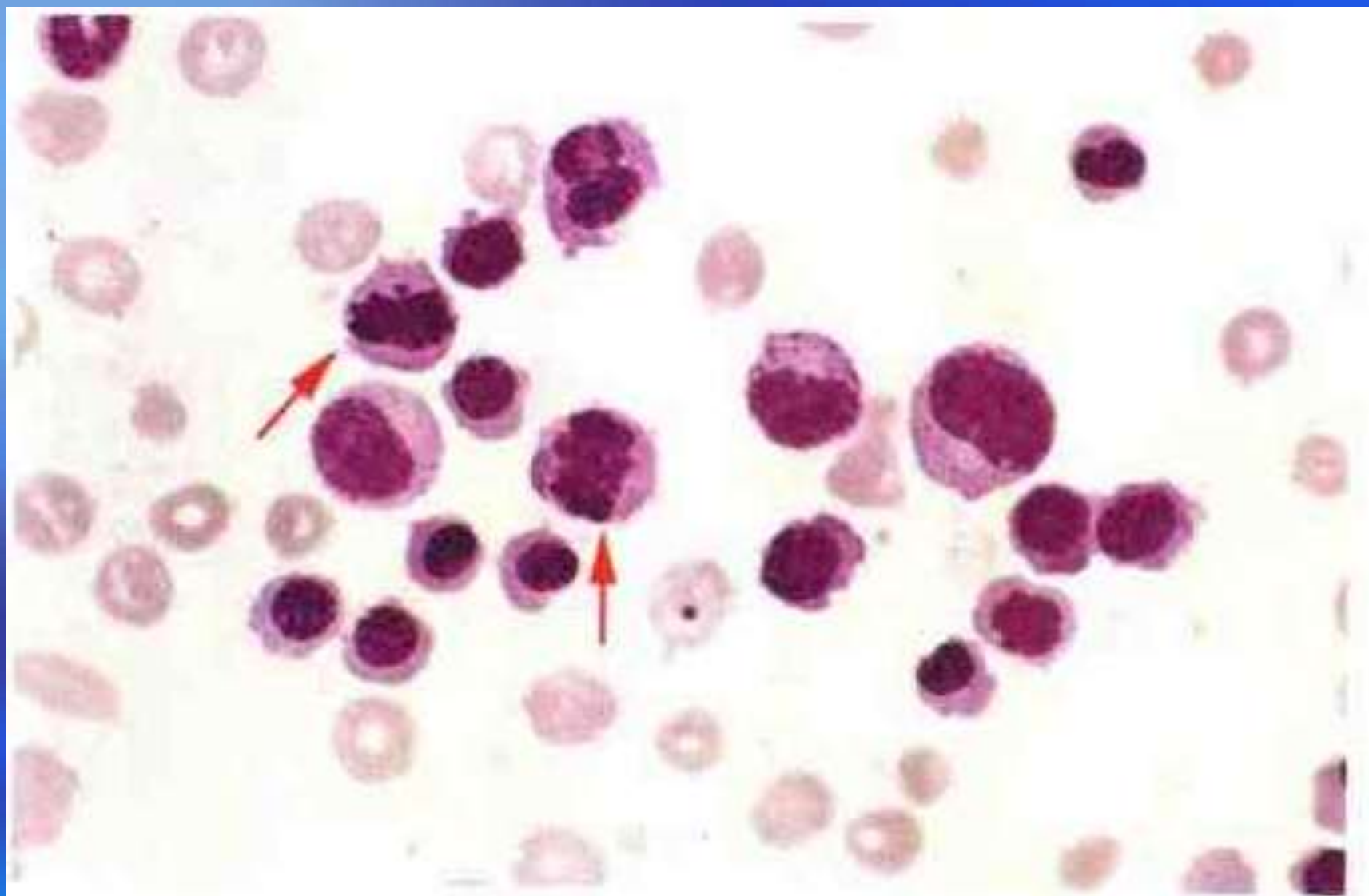


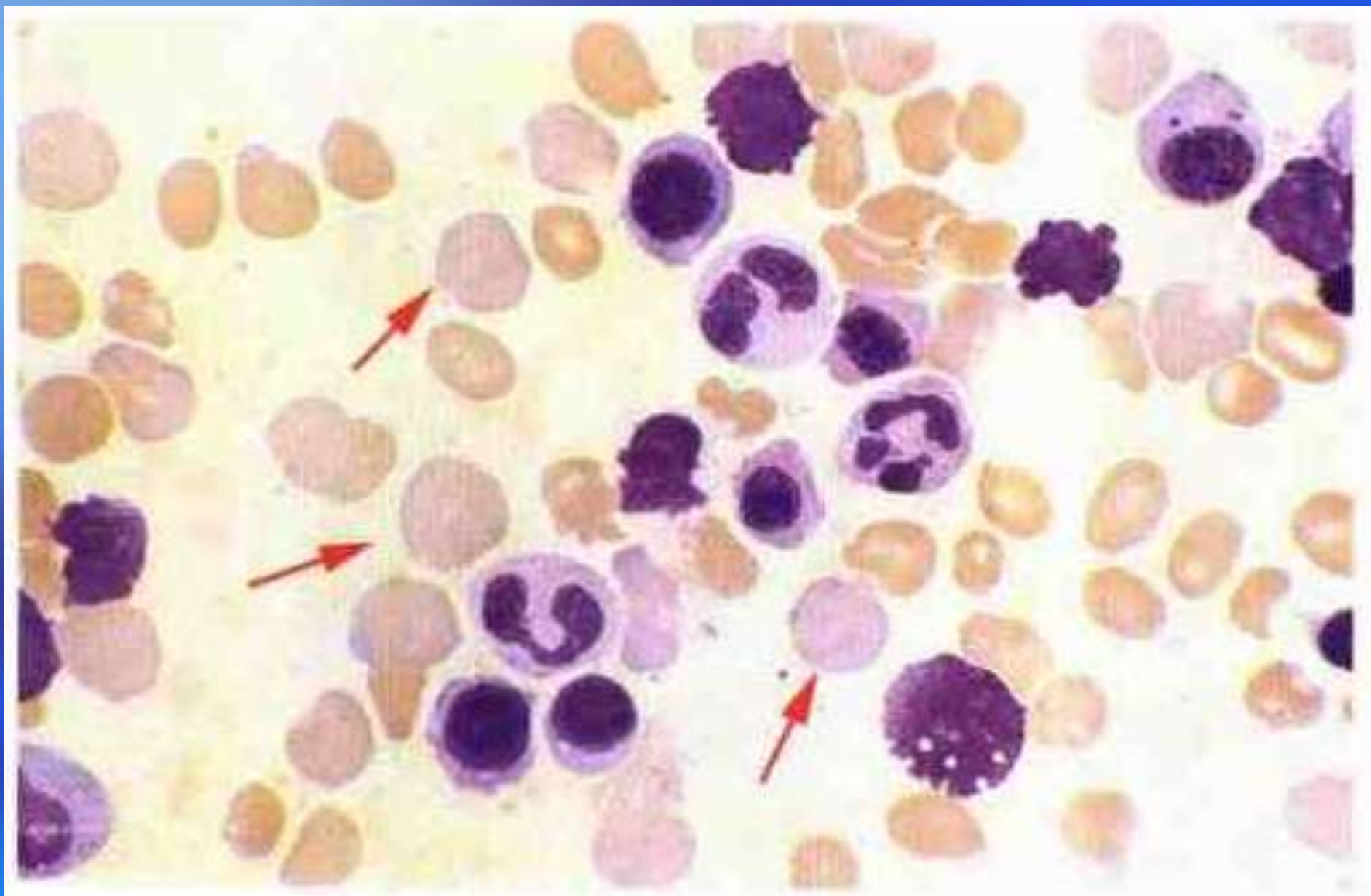
图 3-3-4 HA 血象：网织红细胞显著增多，各型网织红细胞均可见，表明骨髓红系细胞增生活跃



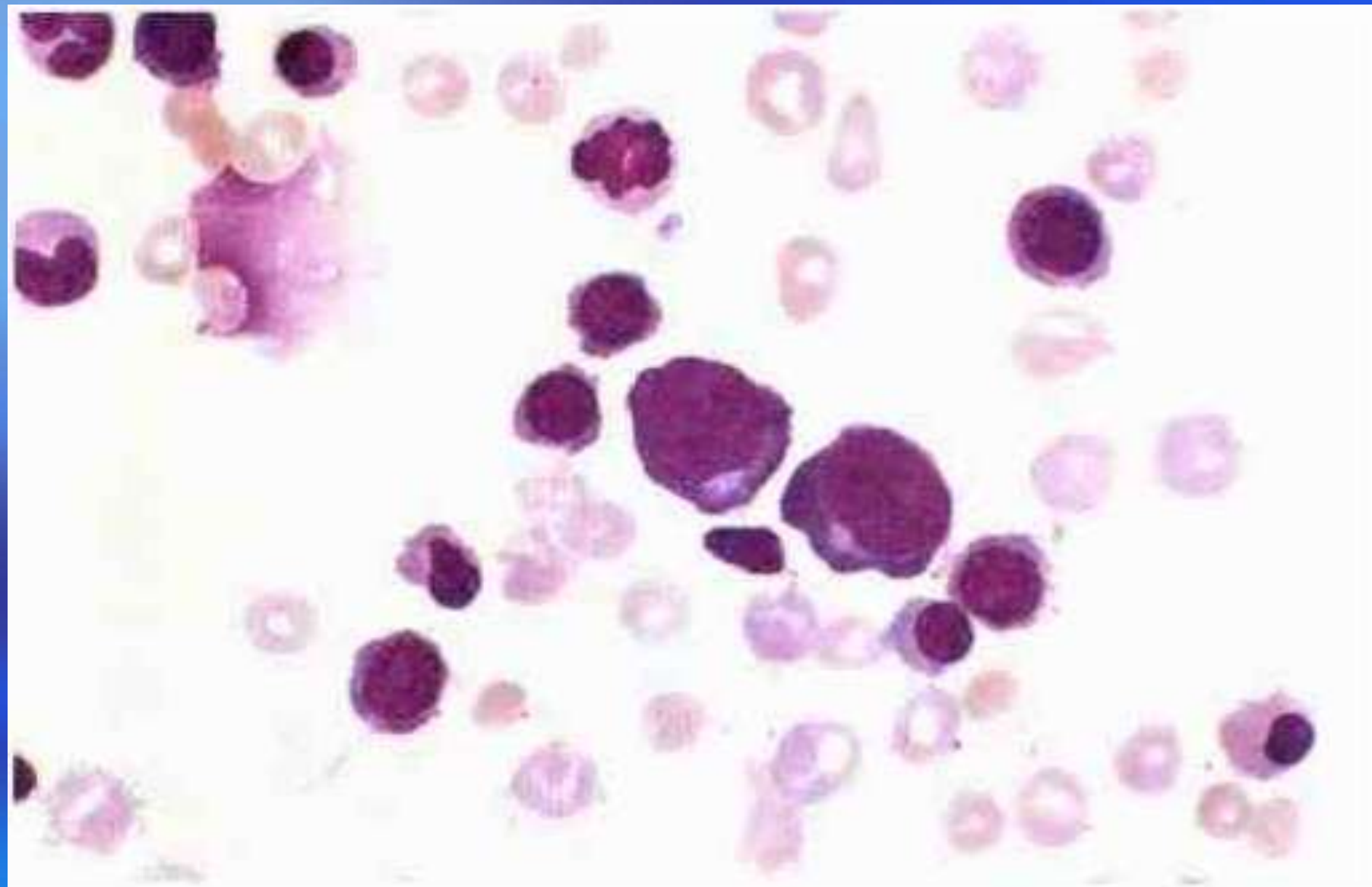
HA 骨髓象：有核细胞增生明显活跃



HA骨髓象：中幼红细胞、晚幼红细胞增生为主，易见幼红细胞核分裂相(↑)，红细胞中可见Howell - Jolly小体，表明红系细胞增生活跃



HA 骨髓象：中幼红细胞、晚幼红细胞、嗜多色性红细胞(↑)增多、表明红系细胞增生活跃



HA骨髓象：早幼红细胞、中幼红细胞、晚幼红细胞增多、幼红细胞核分裂相易见

二、增生不良性贫血

系由于骨髓病变导致造血功能低下所致的贫血，即原发性和继发性的再生障碍性贫血。

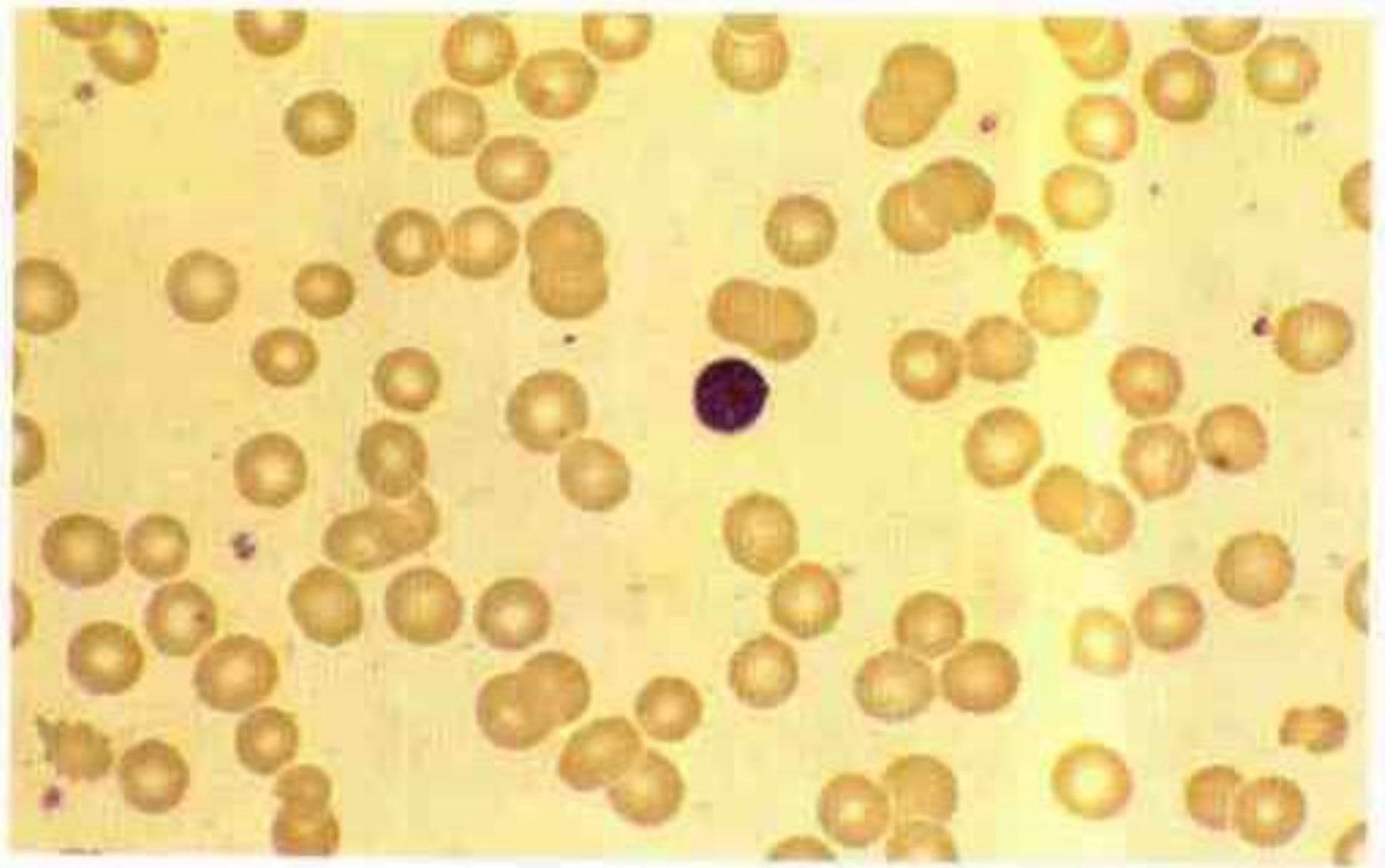
（一）急性再生障碍性贫血

1. 血象

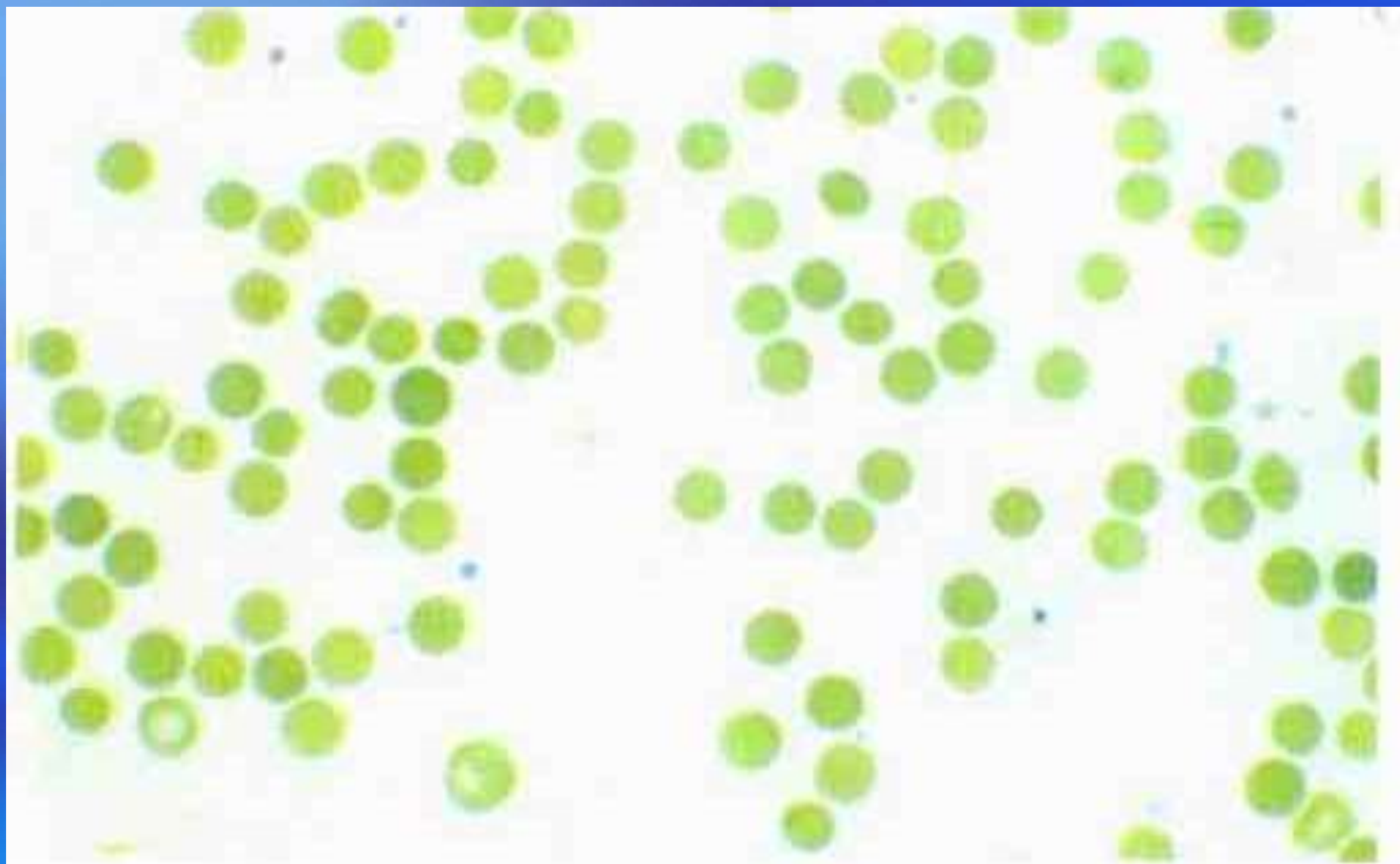
全血细胞减少，粒、红细胞和血小板减少的程度可先后不同，网织红细胞减少。

2. 骨髓象

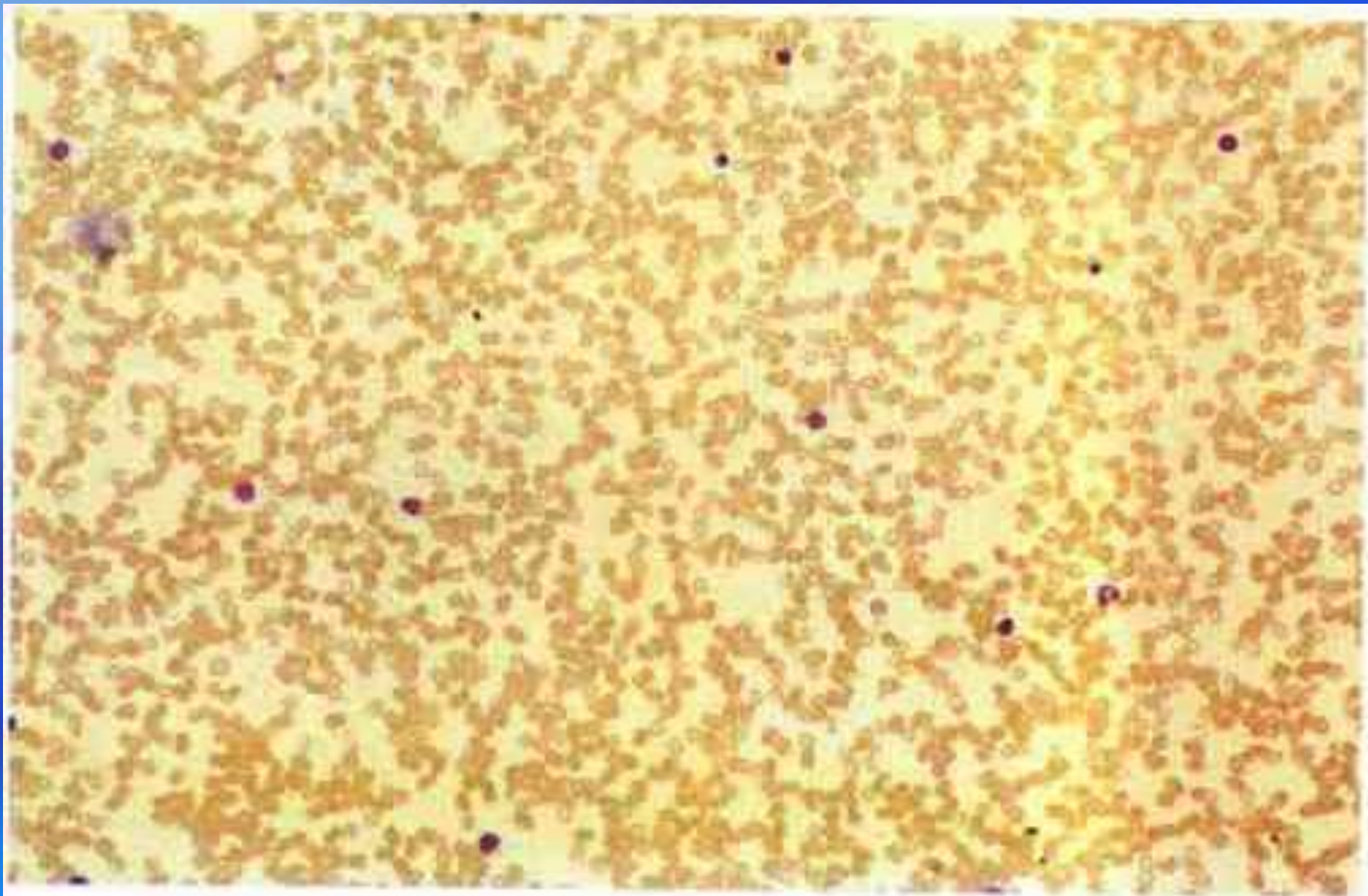
增生成低或极度减低，粒、红、巨核细胞三系统减少，中以晚幼红多见，粒细胞以成熟的粒细胞最多见，巨核细胞消失或偶见。淋巴细胞相对增多。浆细胞、组织嗜碱细胞、网状细胞等相对增多。



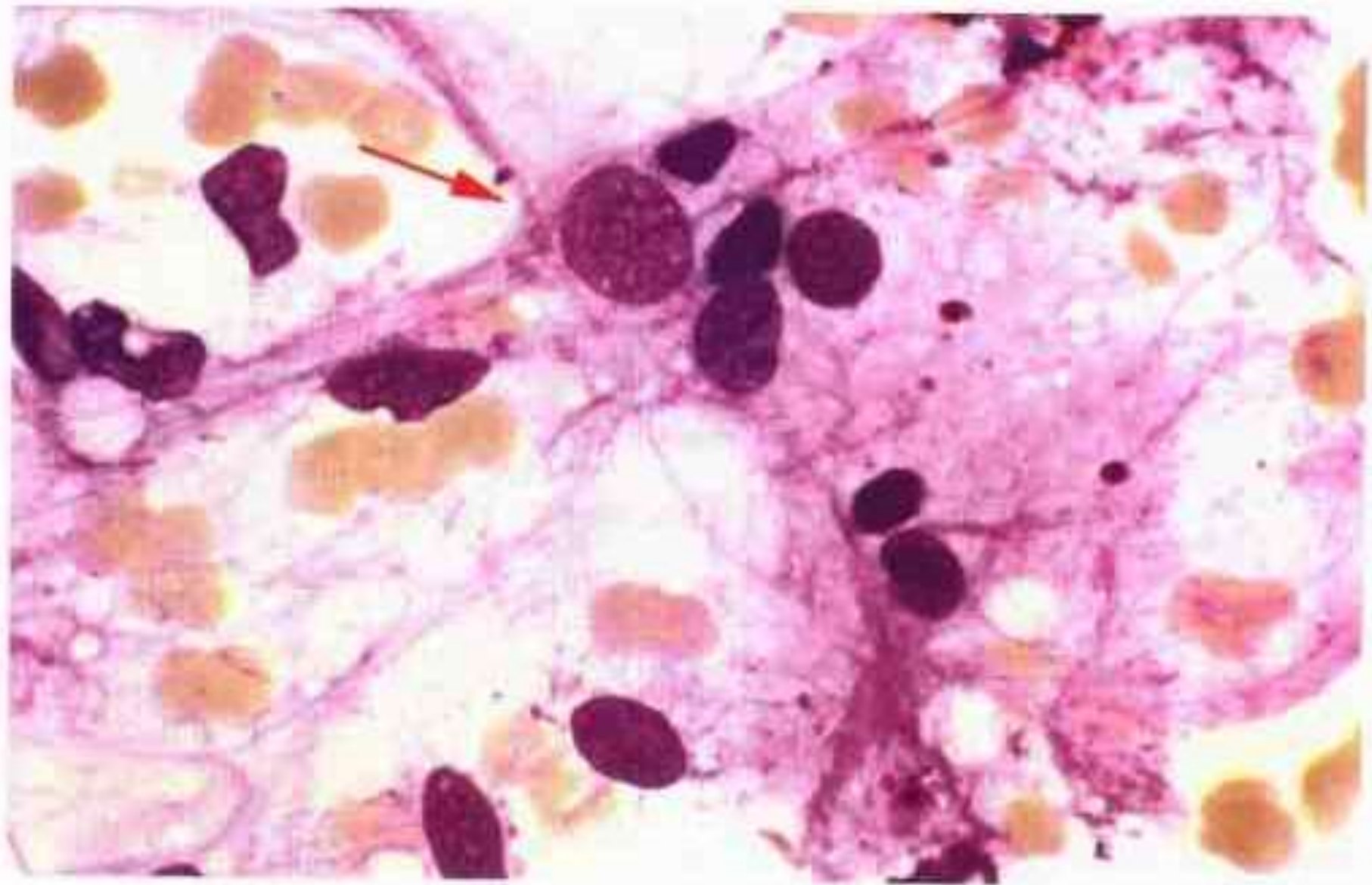
急性再生障碍性贫血血象：红细胞形态大致正常，白细胞仅见一个淋巴细胞，血小板极少



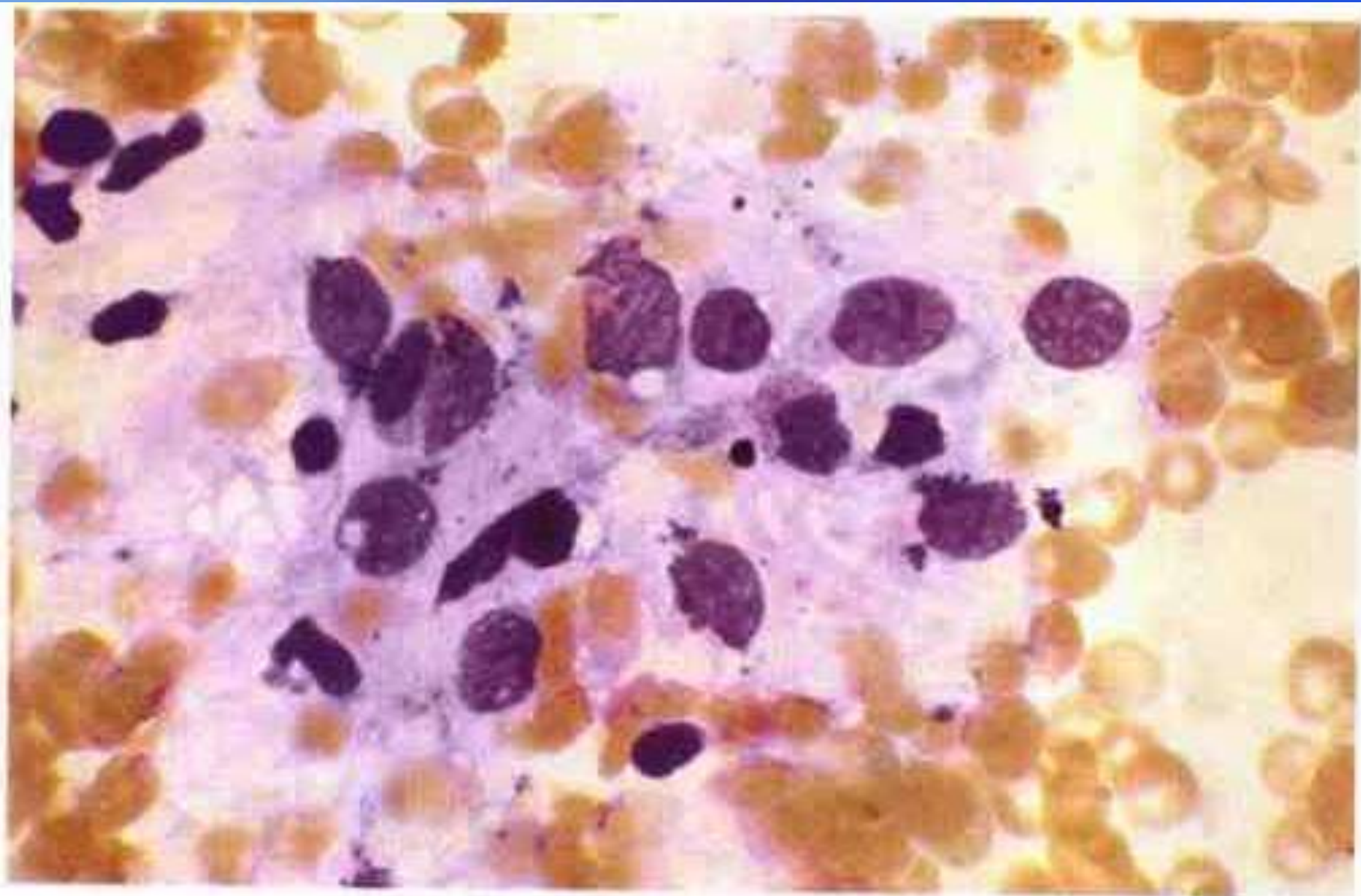
AAA 血象：煌焦油蓝活体染色未见网织红细胞



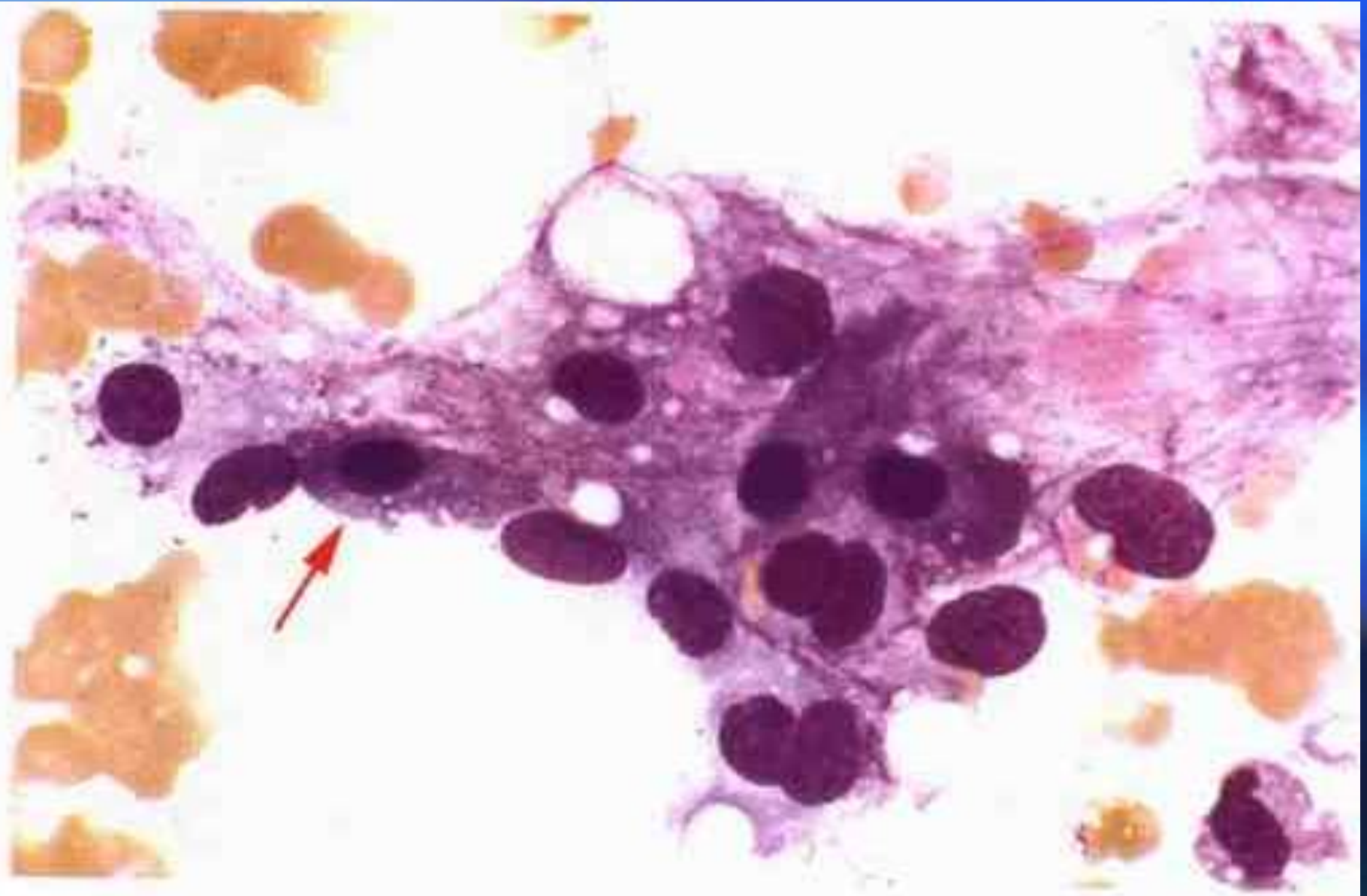
AAA 骨髓象：有核细胞增生重度减低。



AAA骨髓象：骨髓造血岛呈空网状，仅见成纤维细胞(↑)、淋巴细胞和大量网状纤维，未见造血细胞



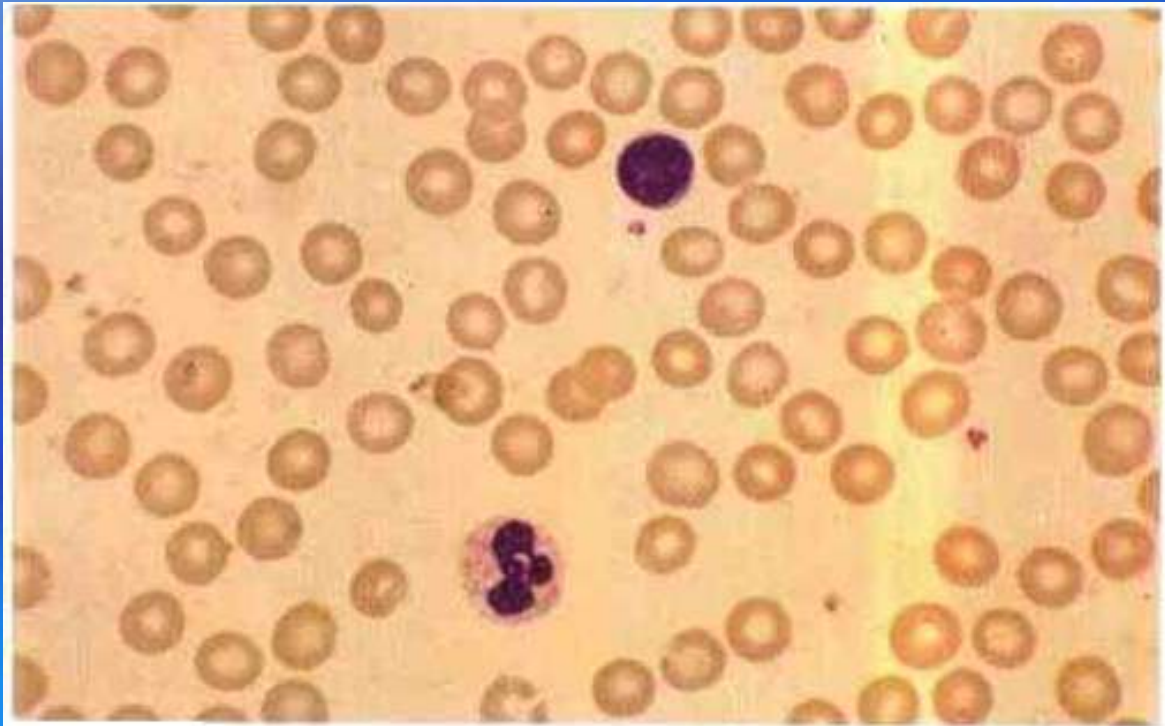
AAA 骨髓象：“非造血细胞团”增多



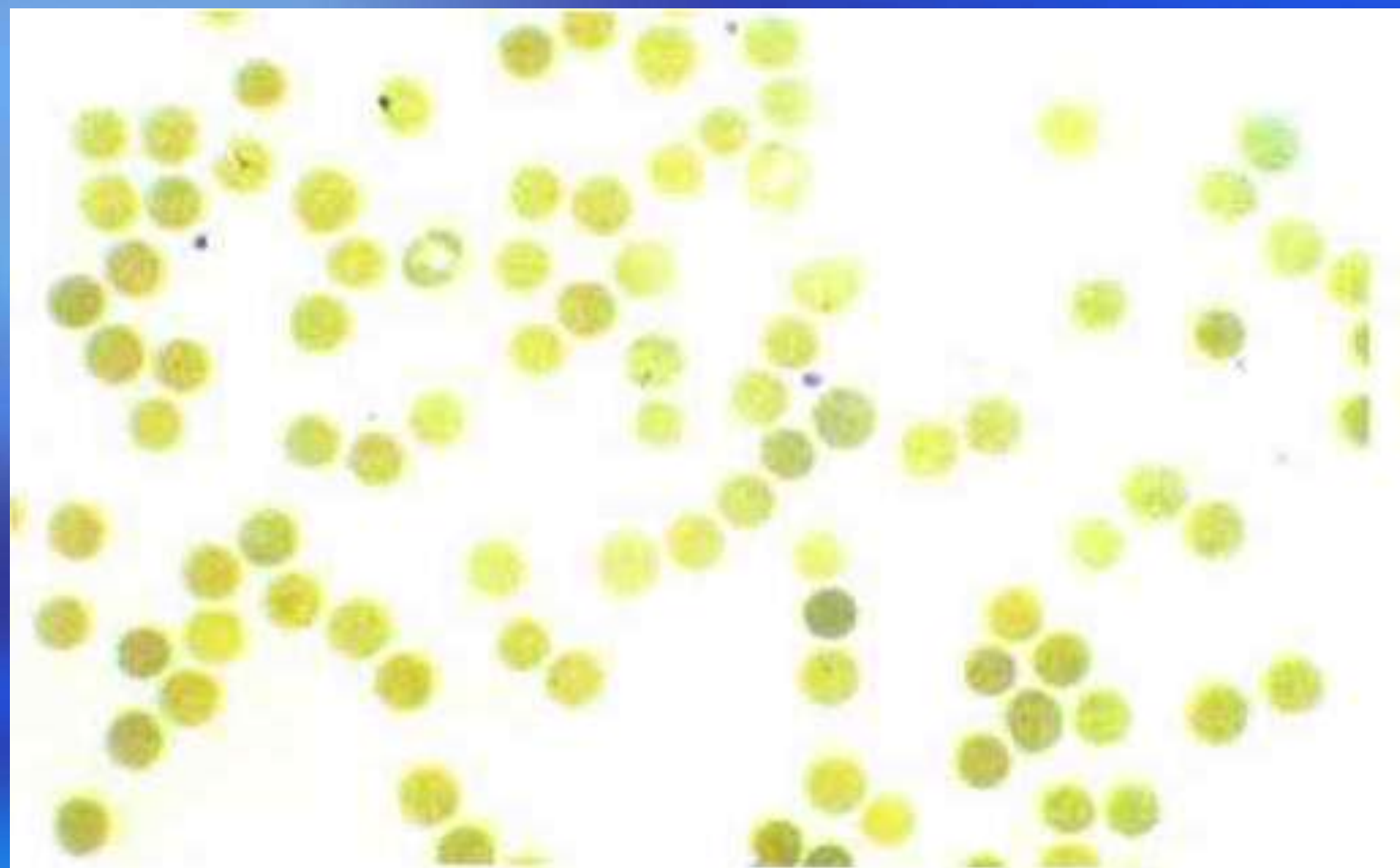
AAA 骨髓象：造血岛中仅见成纤维细胞和大量网状纤维和 3 个浆细胞(↑)，无造血细胞

（二）慢性型再生障碍性贫血

1. 血象 与急性型相似，但不如急性型显著。
2. 骨髓象 增生减低，但因有灶性造血，有时也可见到骨髓增生活跃、甚至明显活跃。但巨核细胞减少，非造血细胞增多，成熟的红细胞形态极度异常。



CAA 血象：红细胞形态大致正常，可见淋巴细胞和中性粒细胞和血小板



CAA 血象：网织红细胞减少，煌焦油蓝染色仅见一个点粒型网织红细胞

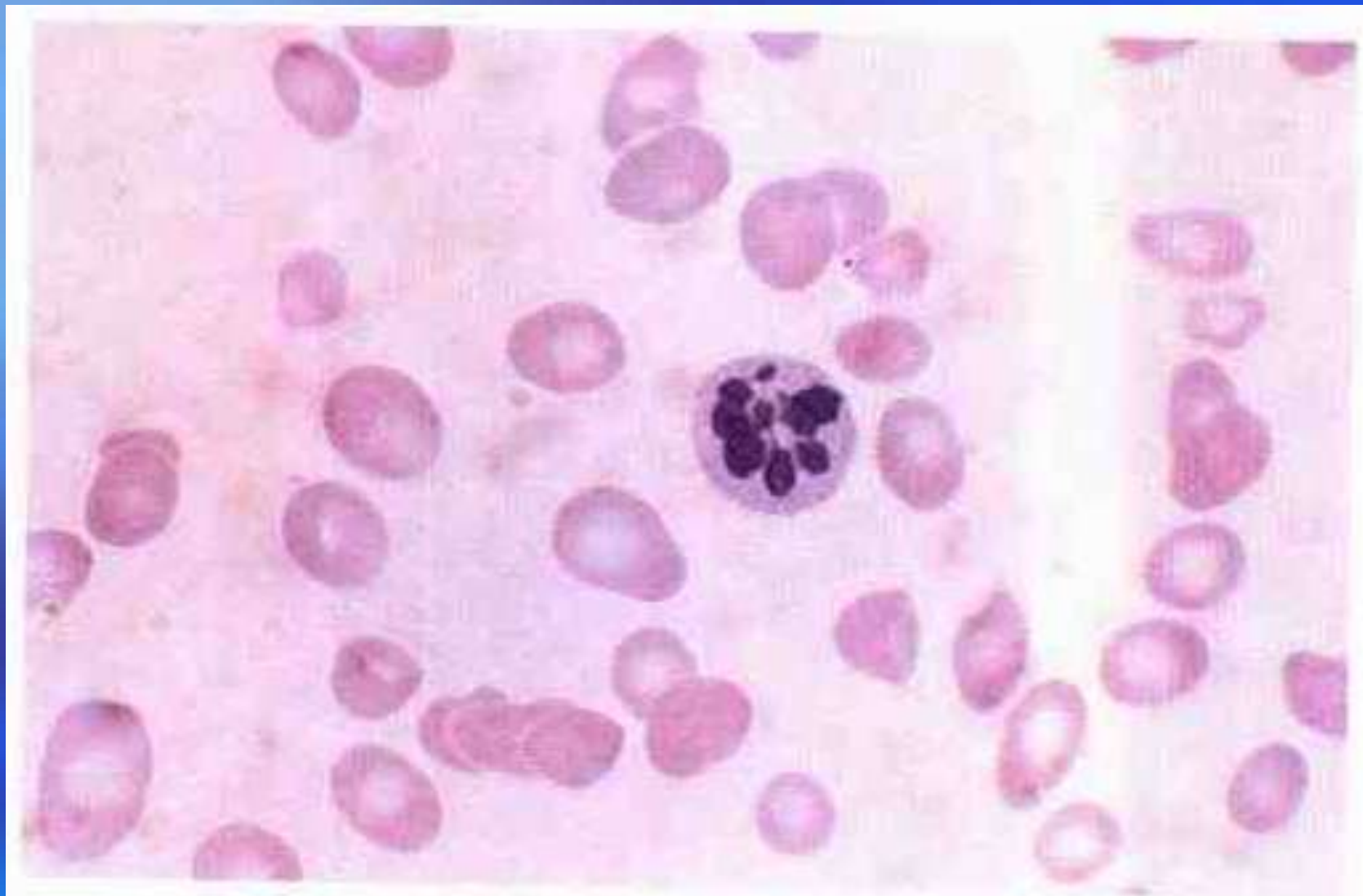
三、巨幼红细胞性贫血

由于叶酸和维生素B₁₂缺乏引起的贫血，出现巨幼红细胞为特点的一组贫血。包括恶性贫血、营养不良性巨幼红细胞性贫血，以及由于妊娠、胃癌、胃切除或小肠吸收不良等而致的巨幼红细胞性贫血。

1. 血象 为大细胞性贫血，红细胞大小不均，但多数较大，并有异形红细胞，染色质小体等，偶见晚巨幼红细胞，网织红细胞正常或稍高。

2. 骨髓象 增生明显活跃，粒红比值低于正常，出现各期的巨幼红细胞，并可见多核的巨幼红细胞。成熟的红细胞可见多量点彩红细胞、嗜多色性红细胞、异形红细胞及染色质小体等。粒系相对减少，可见各阶段的巨型粗细胞，巨核细胞系亦可出现分叶过多和巨大等巨幼变化。

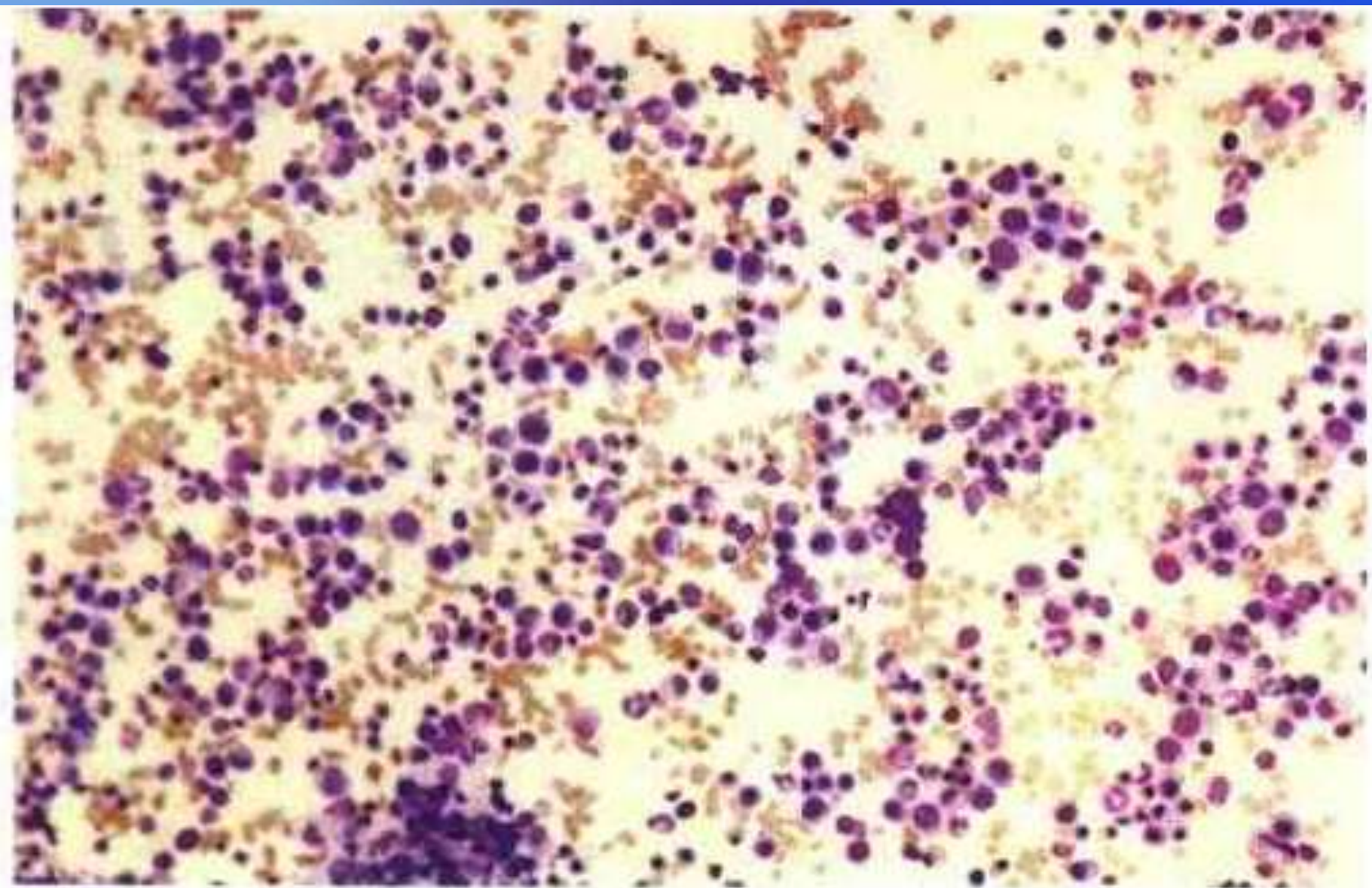
● 出现各期的巨幼红细胞，并可见多核巨幼红细胞。



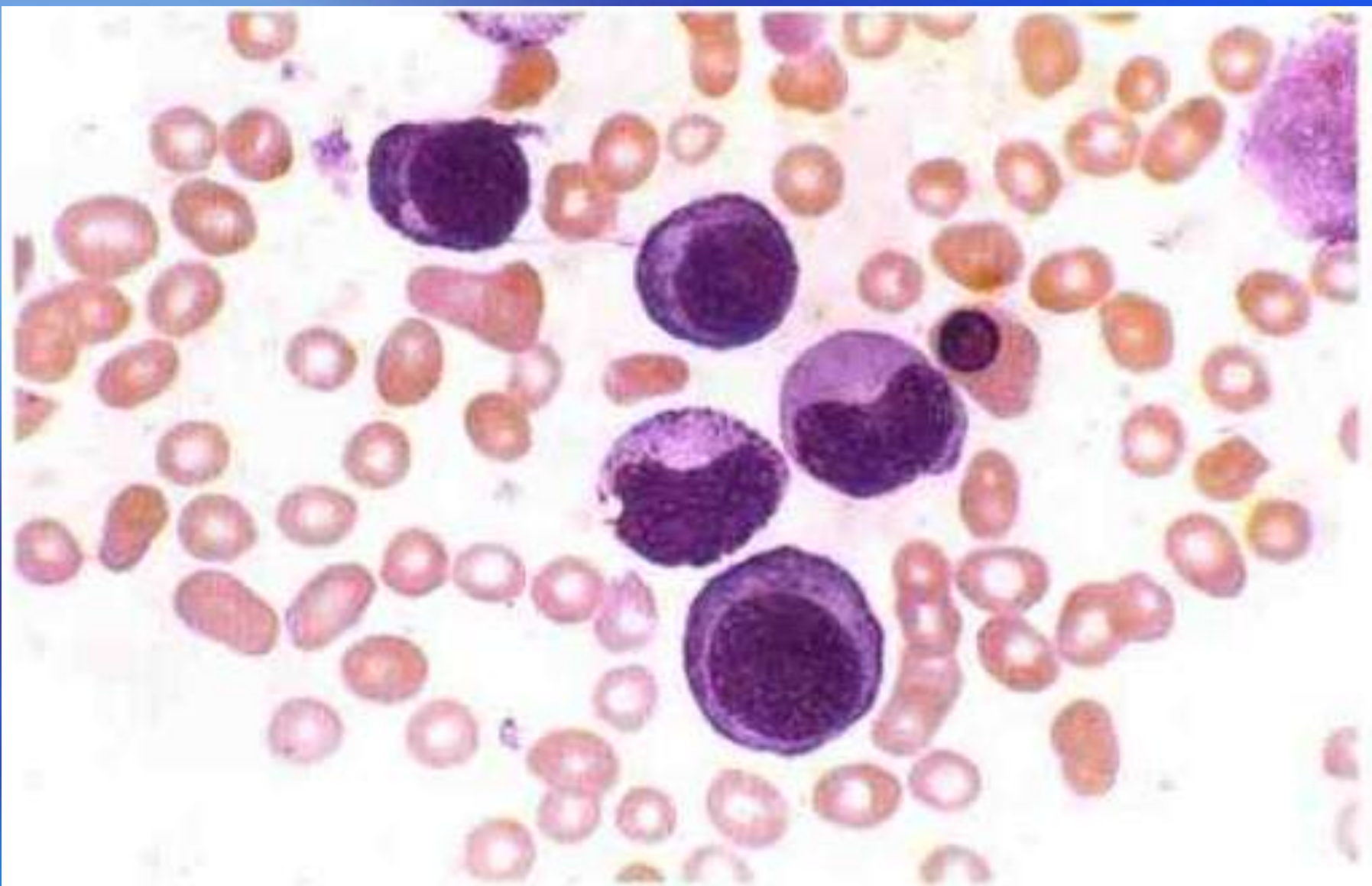
MA 血象：红细胞大小不均，易见大红细胞、巨红细胞、椭圆形红细胞，一个分叶过多的中性粒细胞。可见高色素性大红细胞、中心浅染区消失



MA 血象：双核巨晚巨幼红细胞、含一个Howell - Jolly小体，嗜多色性红细胞中有一个Cabot环(↑)。易见高色素性巨红细胞、椭圆形红细胞



MA 骨髓象：有核細胞增生明顯活跌



MA骨髓象：巨中幼红细胞，胞体巨大、核染色质疏松呈细颗粒状。巨中性晚幼粒细胞，胞体较大、核染色质疏松

四、白血病

是血细胞呈恶性增生的一类疾病，根据临床过程及血细胞的形态特点，白血病可分急性和慢性两类。

（一）急性白血病

常见的急性白血病有粒细胞性、淋巴细胞性和单核细胞性等，它们的血液学改变有共同的特点。

1. 血象 白细胞数一般为轻度增加，个别亦可达 $100 \times 10^9/L$ 以上，但也有正常或减少者；白细胞增多时，其血象变化与骨髓相似，以相应的原始细胞及早期幼稚细胞为主；白细胞正常或减少时，相应的原始细胞或早期的幼稚细胞较少，淋巴细胞相对增多。红细胞及血小板致皆显著减少。



2. 骨髓象

增生明显活跃或极度活跃，相应的白细胞系高度增生，以原始及幼稚细胞为主。如急性粒细胞白血病以原粒及早幼粒细胞为主；如以异形早幼粒细胞为主，则称急性早幼粒细胞白血病；急性淋巴细胞白血病以原淋及幼淋巴细胞为主；急性单核细胞白血病以原单及幼单核细胞为主。红细胞系明显减少，红白血病时则增多。巨核细胞系显著减少。

- 相应的白细胞系的细胞高度增生，以原始和幼稚细胞为主。

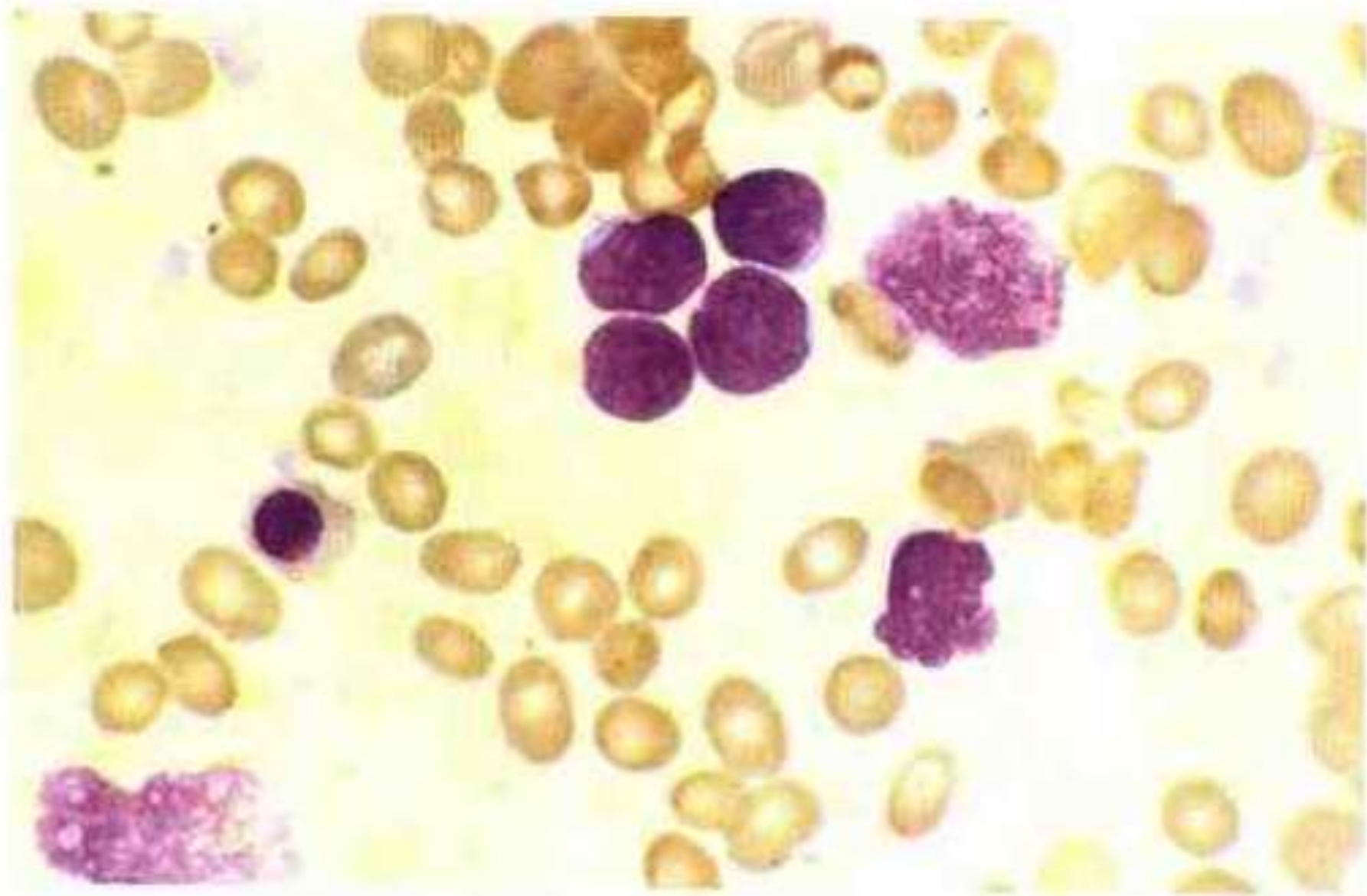
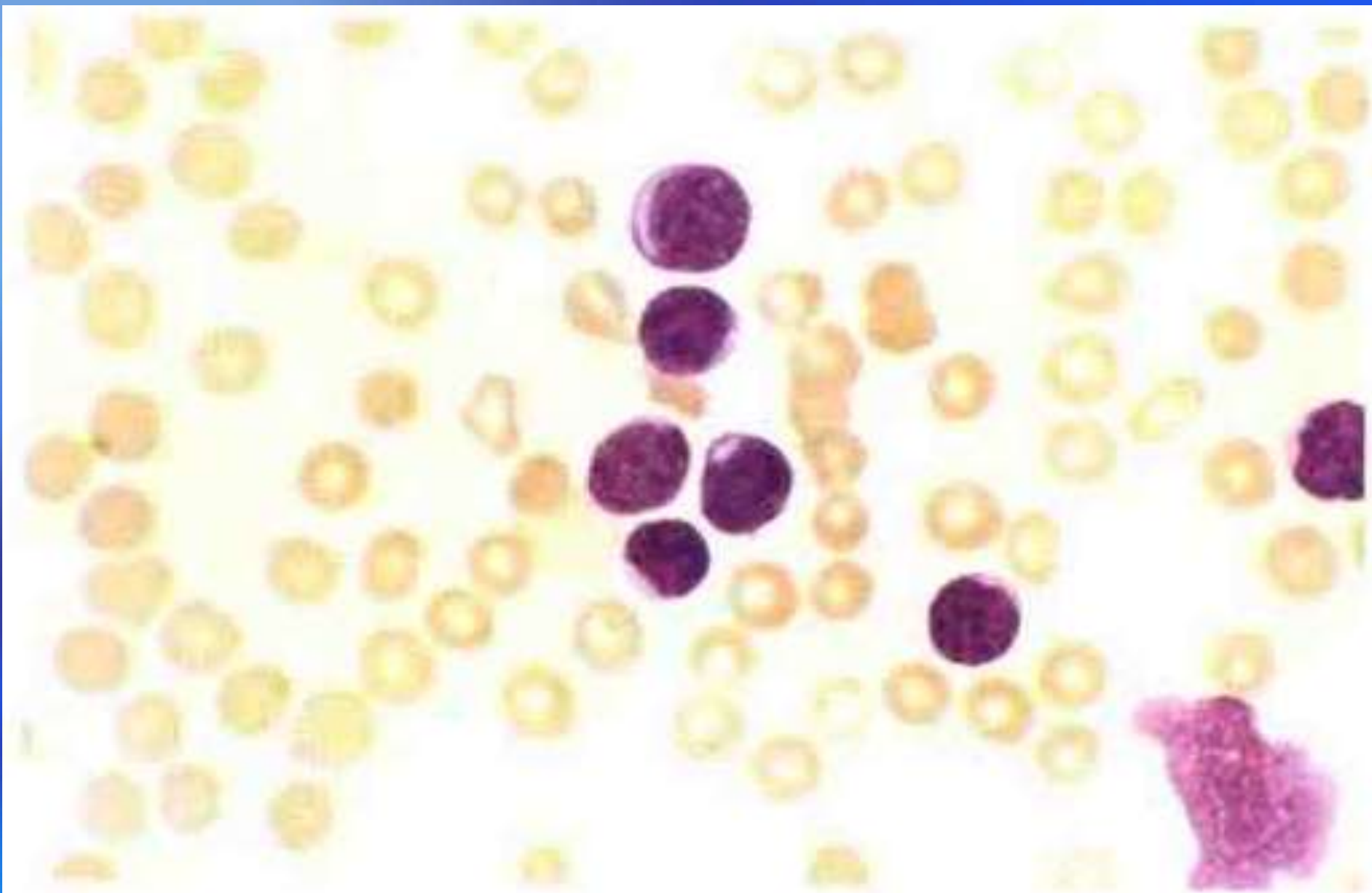
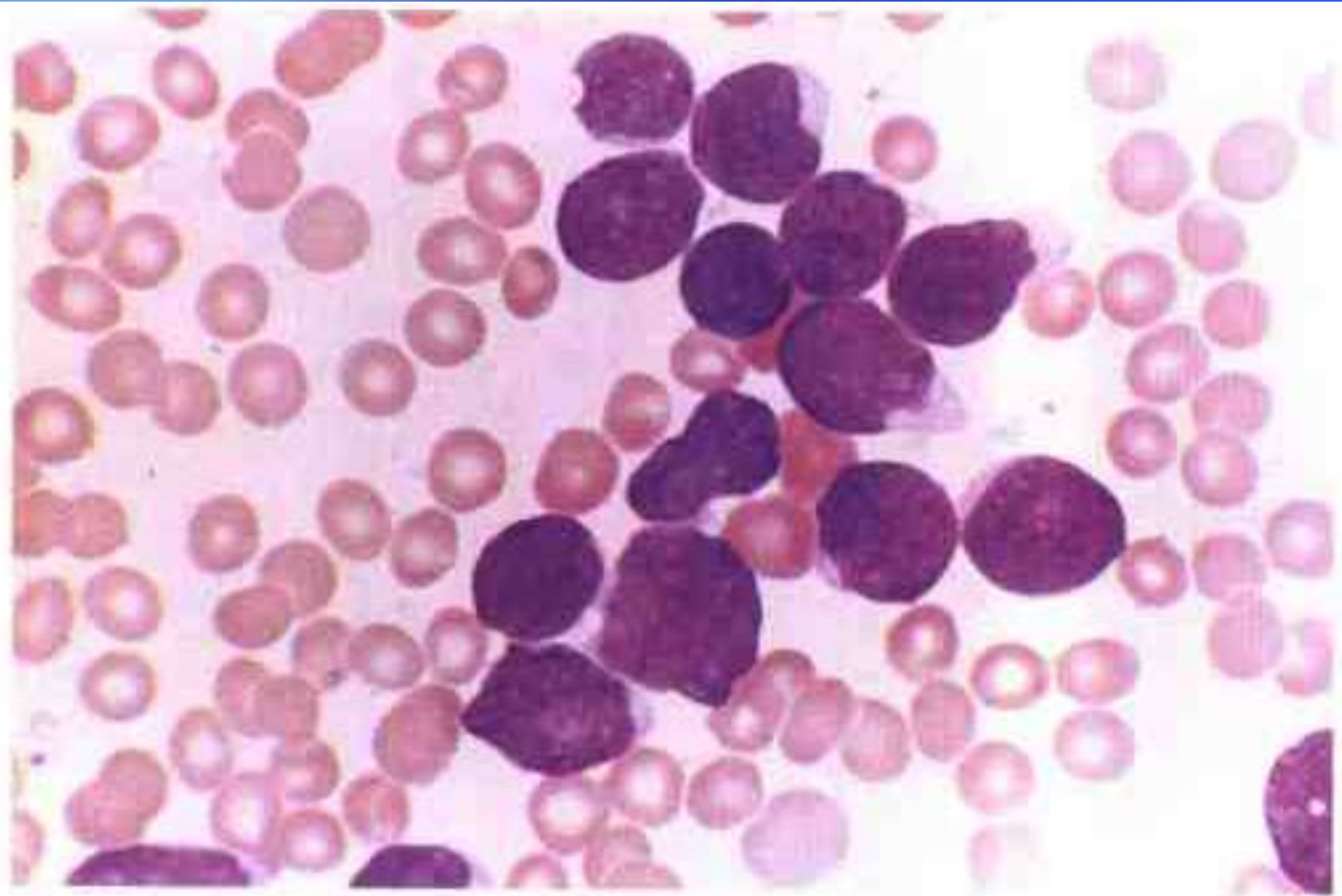


图 4-1-1 ALL - L1 血象: 小原淋巴细胞增多, 胞浆量较少, 核仁不明显。篮状细胞增多。可见晚幼红细胞

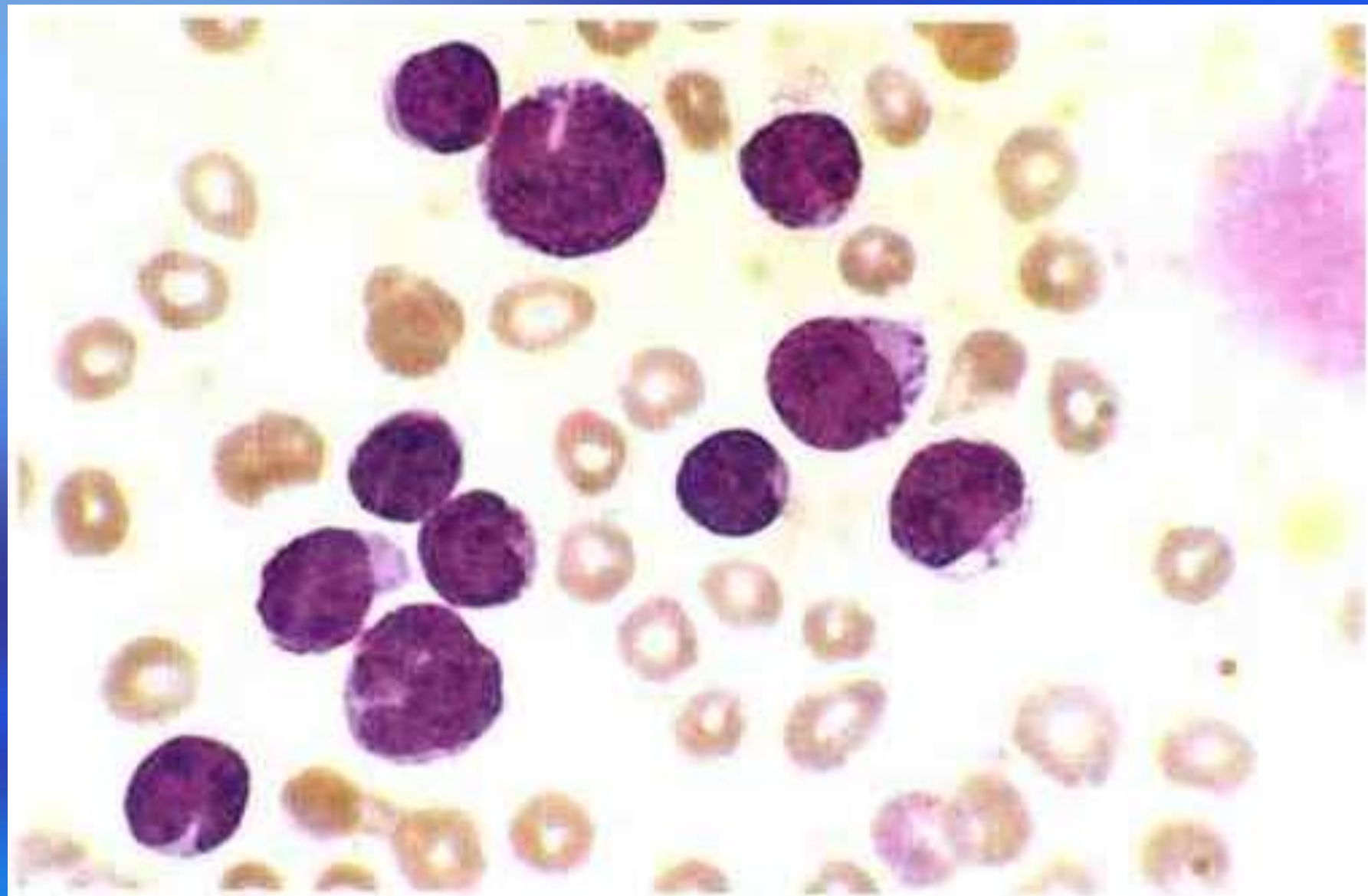


ALL - L1 血象: 小原淋巴细胞增多, 红细胞形态大

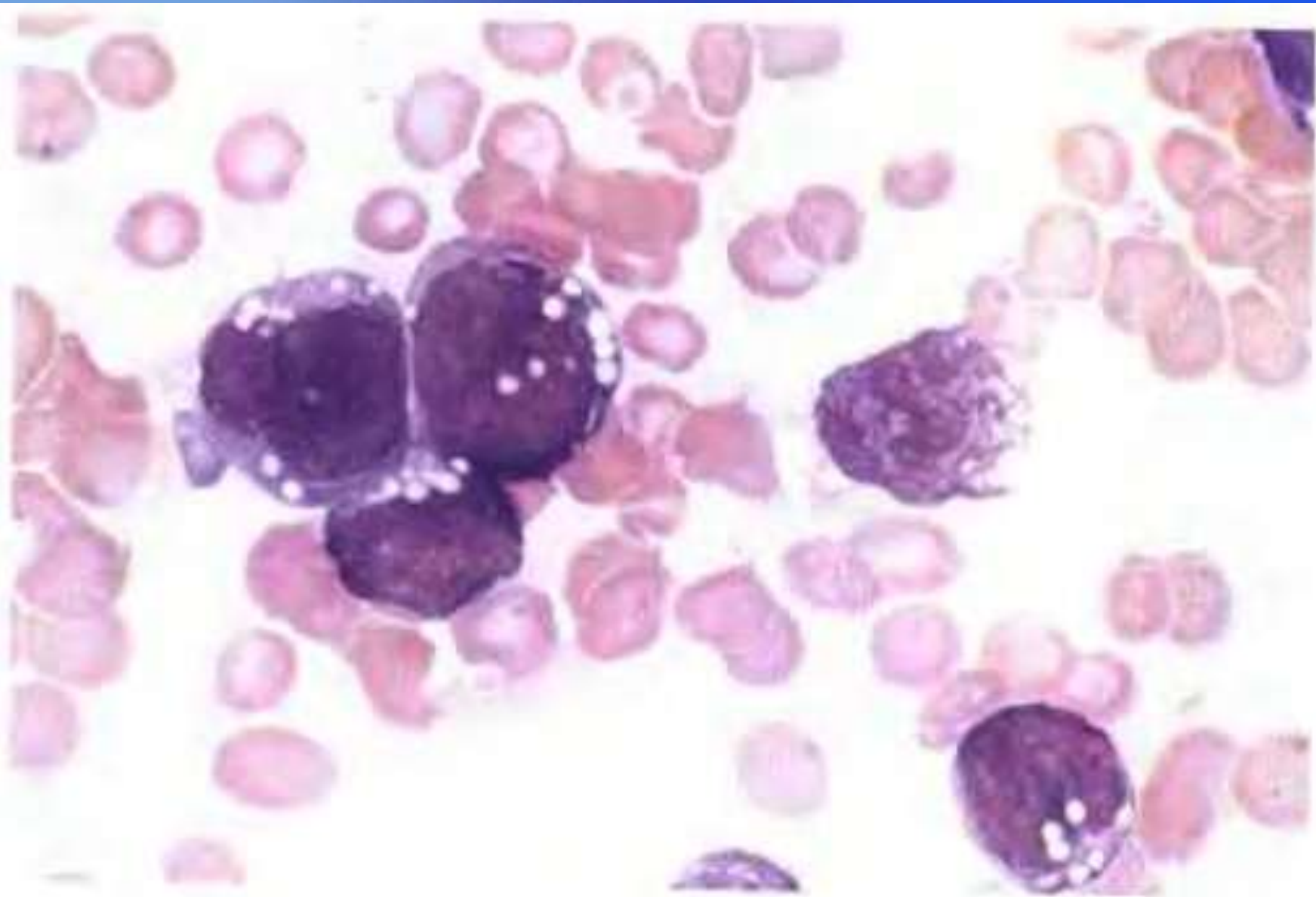
致正常



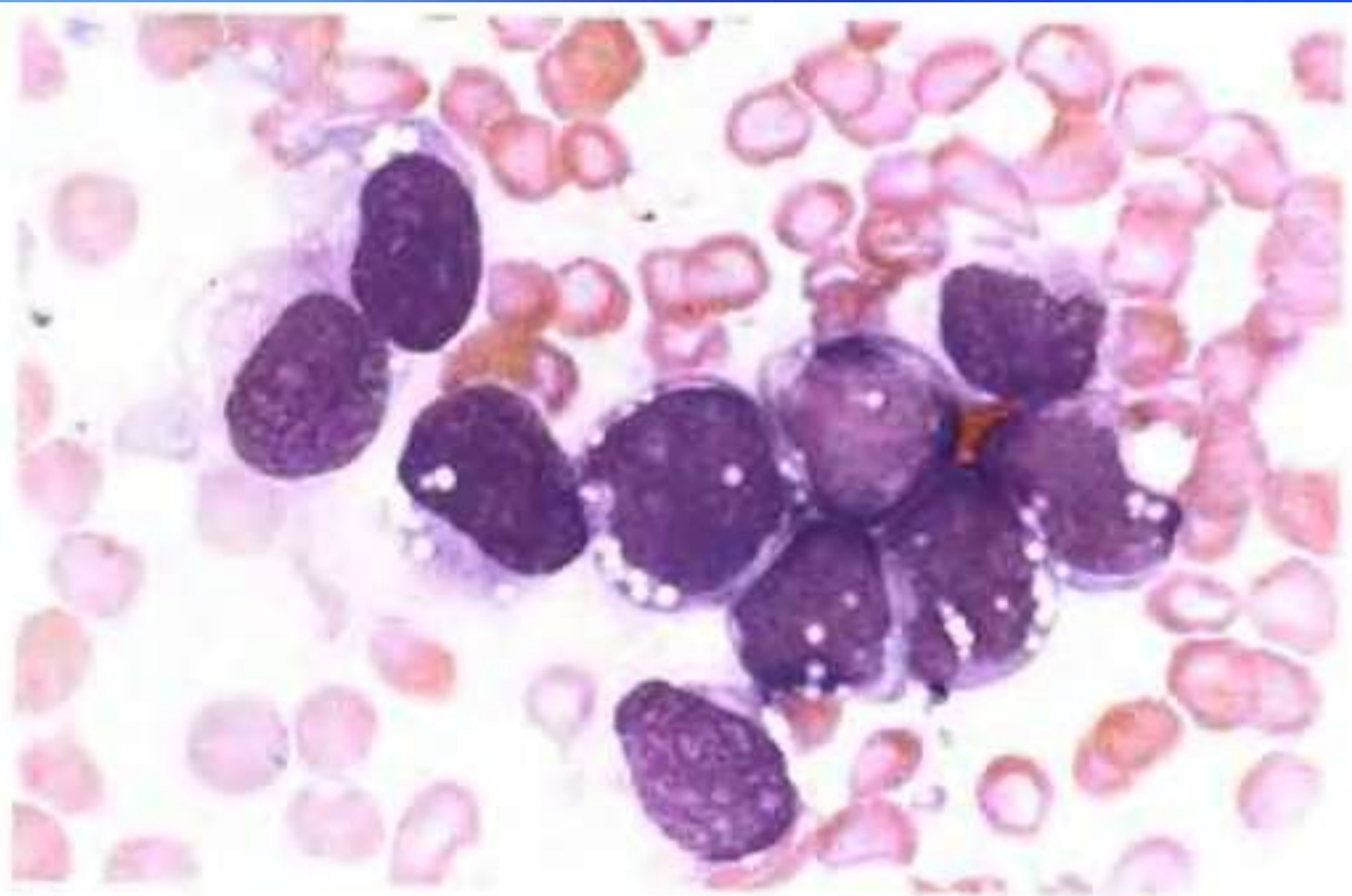
ALL - L2血象: 原淋巴细胞增多, 胞体较大且大小不均, 核形不规则, 染色质呈细粒状, 核仁可见。红细胞形态大致正常



ALL - L2血象：原淋巴细胞明显大小不均，核畸形，染色质较粗



ALL - L3血象: 原淋巴细胞胞体较大, 核和胞浆中均有空泡, 胞浆嗜碱性较强, 染深蓝色, 有一个原淋巴细胞已退化



ALL - L3 血象：成堆含有空泡的原淋巴细胞，核染色质较粗，核仁大而明显

（二）慢性粒细胞白血病

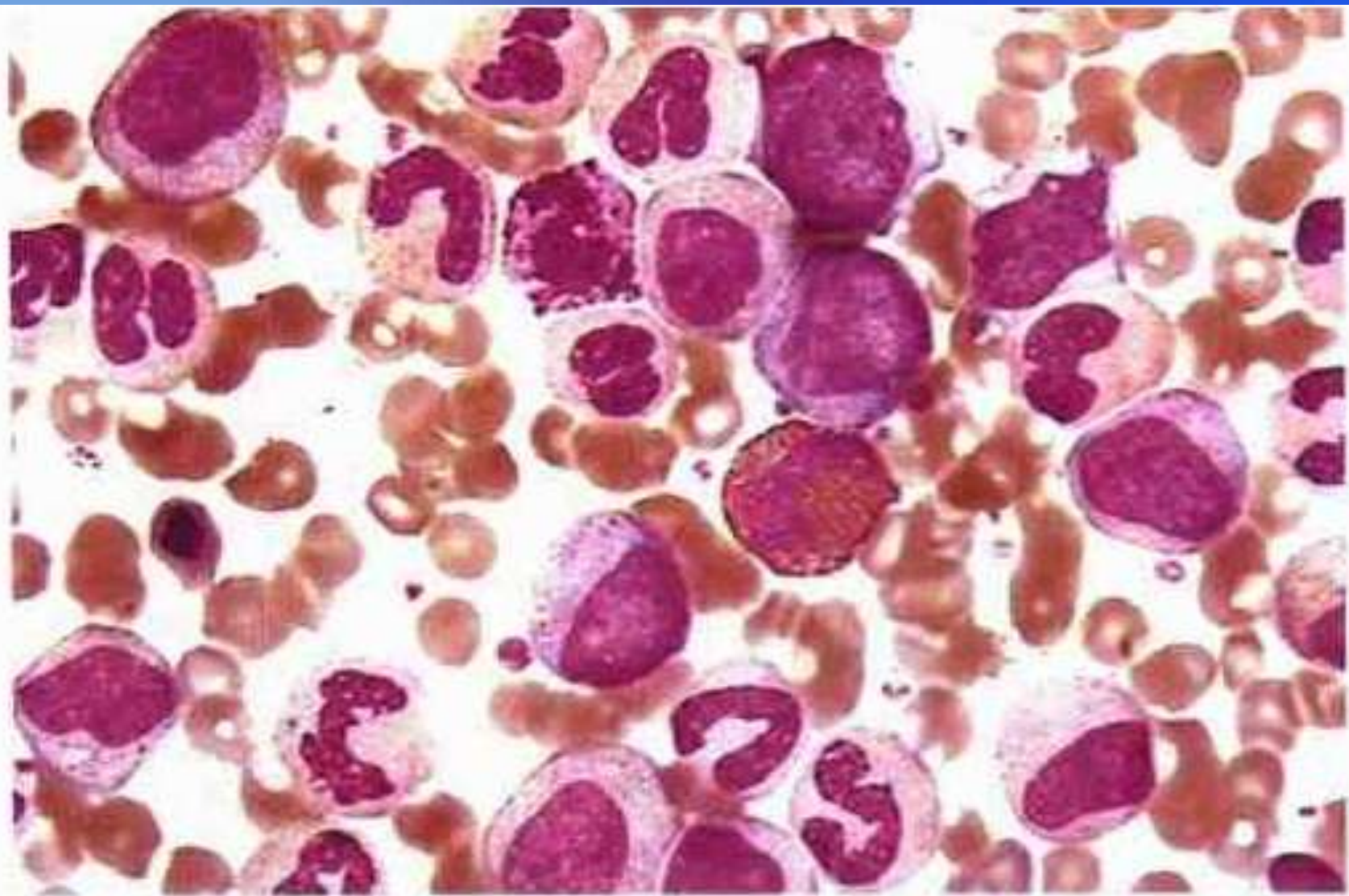
1. 血象

白细胞数明显增高，多在 $200 \times 10^9/L$ ，少数可达 $1000 \times 10^9/L$ ，粒细胞占绝对优势，以成熟型和接近成熟型为主，出现原始及早幼粒细胞，二者比值之和低于10%。嗜酸性及嗜碱性粒细胞明显增多，部分病人血小板增多。红细胞及淋巴细胞减少。

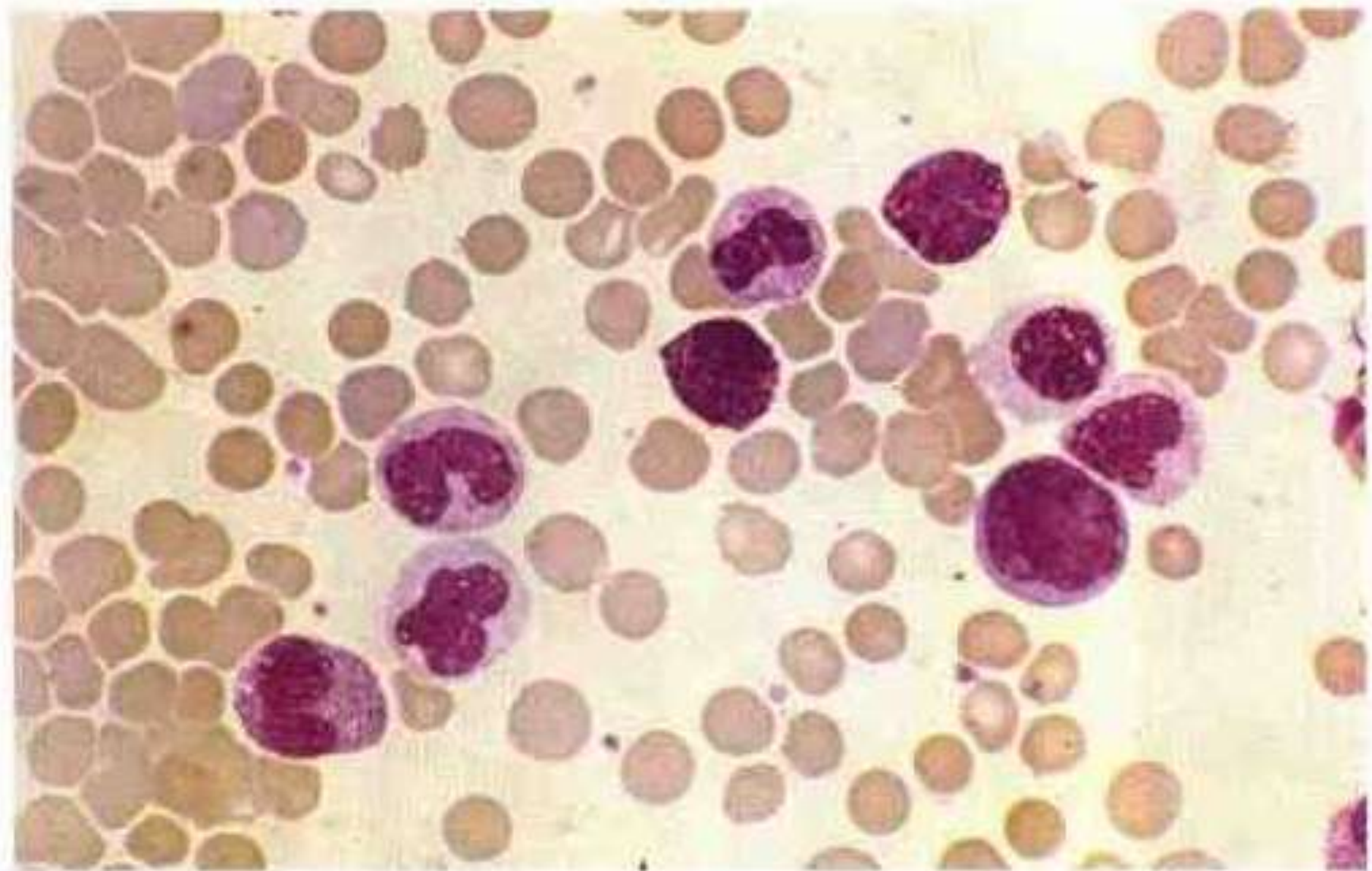
2. 骨髓象

与血象大致相似。但分类比外周血象左移程度更显著。粒细胞系极度增生。红细胞系严重受抑制。原粒及早幼粒一般不超过10%，嗜碱和嗜酸细胞增多，巨核细胞增多。

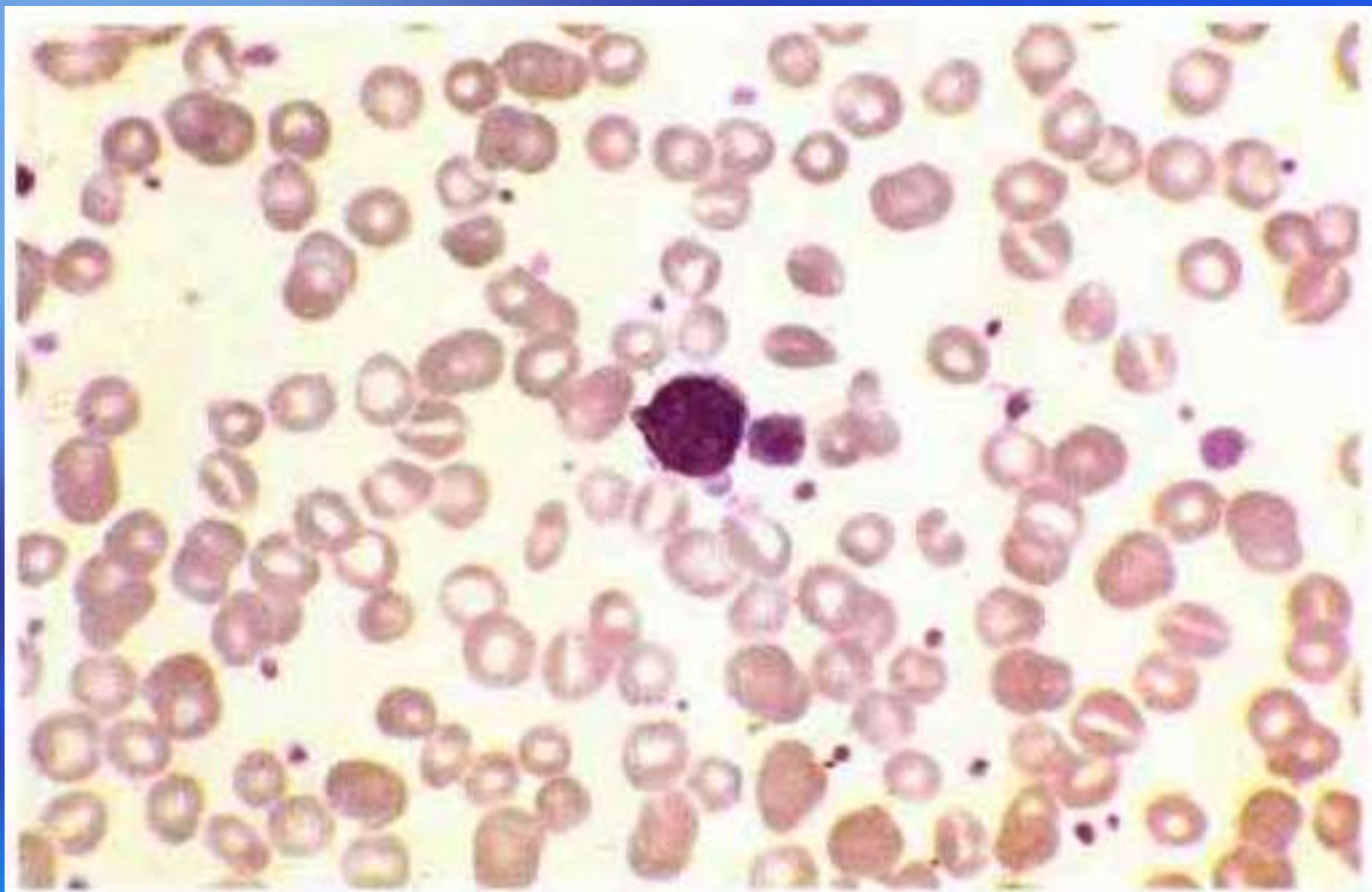
● 粒细胞系极度增多，各阶段均增多，以成熟和接近成熟阶段细胞为主。



CML 慢性期血象：白细胞增多，以中性中幼粒细胞及其以下阶段粒细胞为主，嗜碱性和嗜酸性粒细胞明显增多，红细胞形态大致正常



CML 慢性期血象：原粒细胞可见，中性中幼粒细胞以下阶段的细胞增多为主，嗜酸性粒和嗜碱性粒细胞也明显增多



CML 慢性期血象，早期可见小巨核细胞和血小板增多，可见大血小板

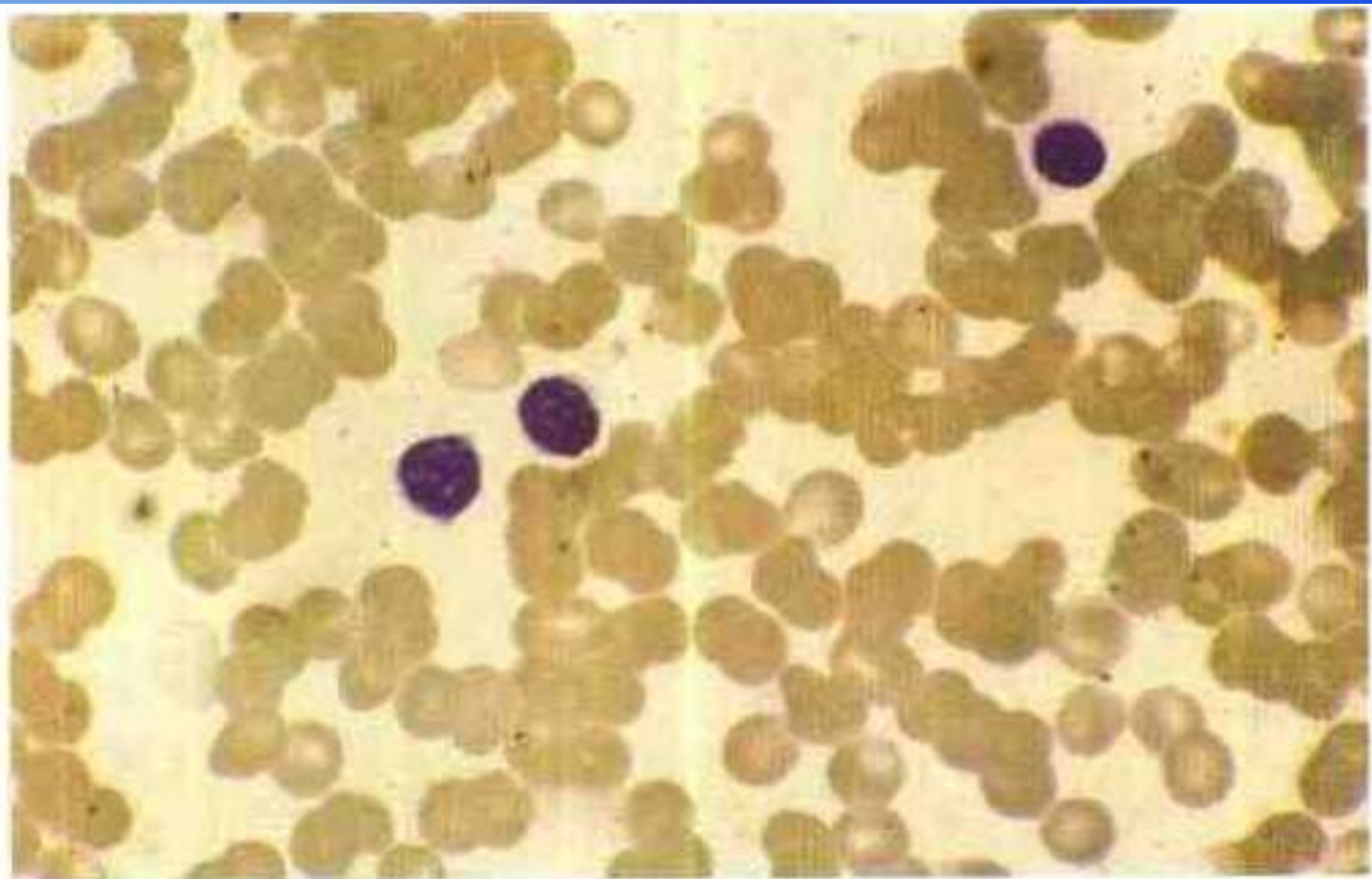
（三）慢性淋巴细胞白血病

1. 血象

白细胞数增多，可达 $30\sim 200\times 10^9/L$ ，以成熟淋巴细胞占大多数，可见少量幼淋巴细胞。粒细胞、红细胞及血红蛋白减少。血小板数正常。

2. 骨髓象

增生明显活跃或极度活跃，细胞分类与血象相仿，唯较为幼稚。粒细胞系和红细胞系减少，巨核细胞不增多。



CLL 血象：淋巴细胞增多，形似正常小淋巴细胞，染色质呈不规则聚集，粒细胞缺乏

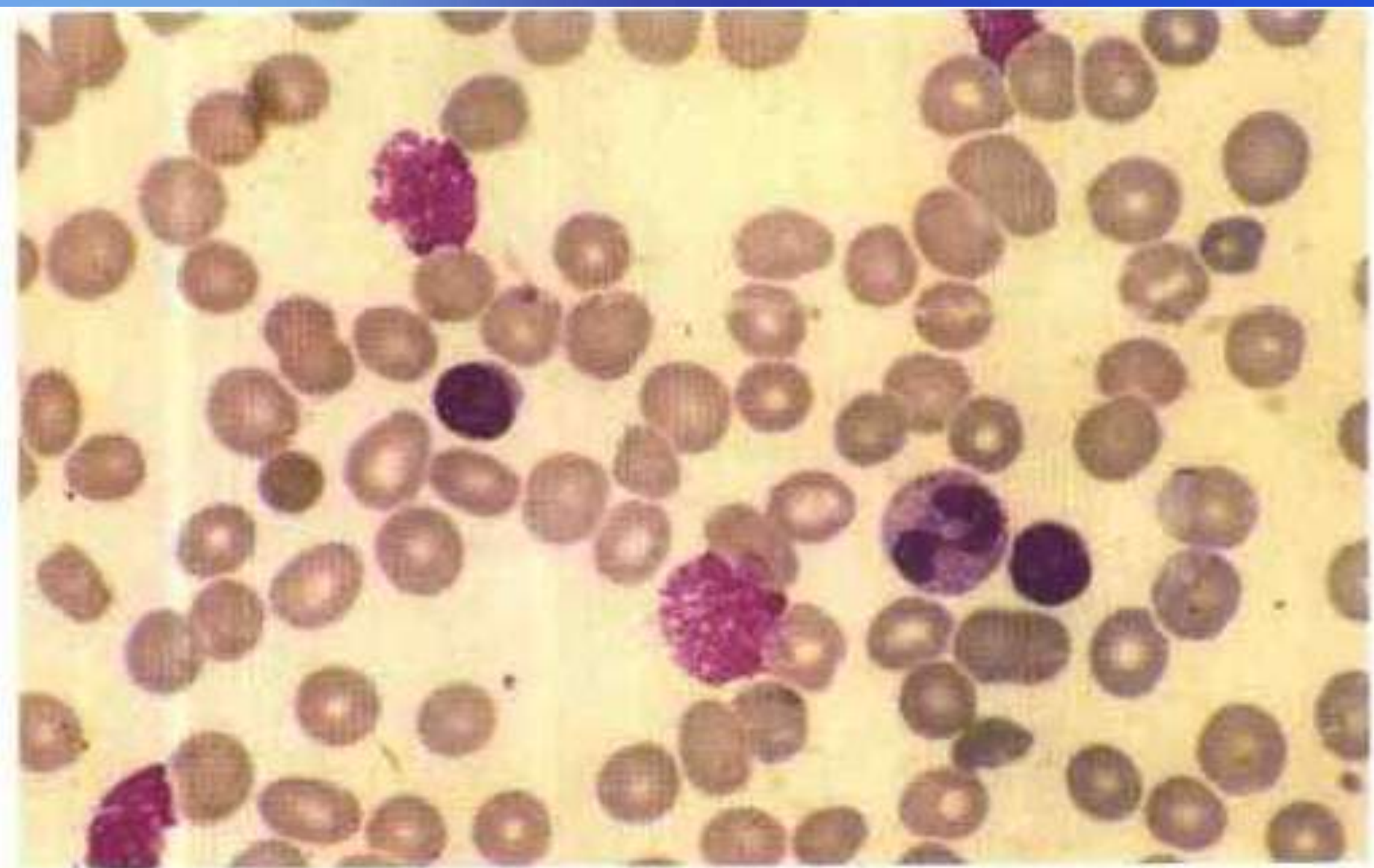


图 4-3-41 CLL 血象：淋巴细胞和篮状细胞增多

五、原发性血小板减少性紫癜

1. 血象

血小板减少，红细胞常随出血程度而减少，白细胞正常或增高。

2. 骨髓象

增生活跃或明显活跃，巨核细胞数在急性型正常或减少，以幼稚居多，胞浆少，颗粒少或无，可有空泡；在慢性型巨核细胞常增多，也可正常或减少，以幼稚型及成熟型多见，但血小板形成减迟或消失，粒细胞系、红细胞系无明显改变。





六、厚薄血膜制作与疟原虫

（一）目的和要求

1. 掌握疟原虫厚、薄血片制作方法；
2. 掌握疟原虫厚、薄血片染色的基本操作方法。

（二）内容

1. 原理

疟原虫的染色，临床上用得最广泛的是瑞氏染剂（Wright stain）和姬氏染剂（Giemsa stain）。这些染剂都含有美蓝、伊红和美蓝氧化物（天青），统称罗氏类染剂。此外，还可用荧光素吖啶橙染色。

血细胞和疟原虫的蛋白质均由多种氨基酸组成，每个氨基酸分子都有氨基（ $-\text{NH}_2$ ）及羧基（ $-\text{COOH}$ ）。电离时， $-\text{NH}_2$ 挟得1个 H^+ 成为带正电荷的 $-\text{NH}_3^+$ ；而 $-\text{COOH}$ 则失去1个 H^+ 成为带负电荷的 $-\text{COO}^-$ 。罗氏类染剂中伊红的有色基团带阴离子，是酸性染料，可与细胞中带正电荷的 $-\text{NH}_3^+$ 部分结合，使之呈红色。美蓝的有色基团带阳离子，是一种碱性染料，可与细胞中带负电荷的 $-\text{COO}^-$ 部分结合，使之呈蓝色。疟原虫、淋巴细胞、大小单核细胞的胞质和嗜碱性粒细胞的颗粒均含酸性蛋白质，故被染成蓝色。

。

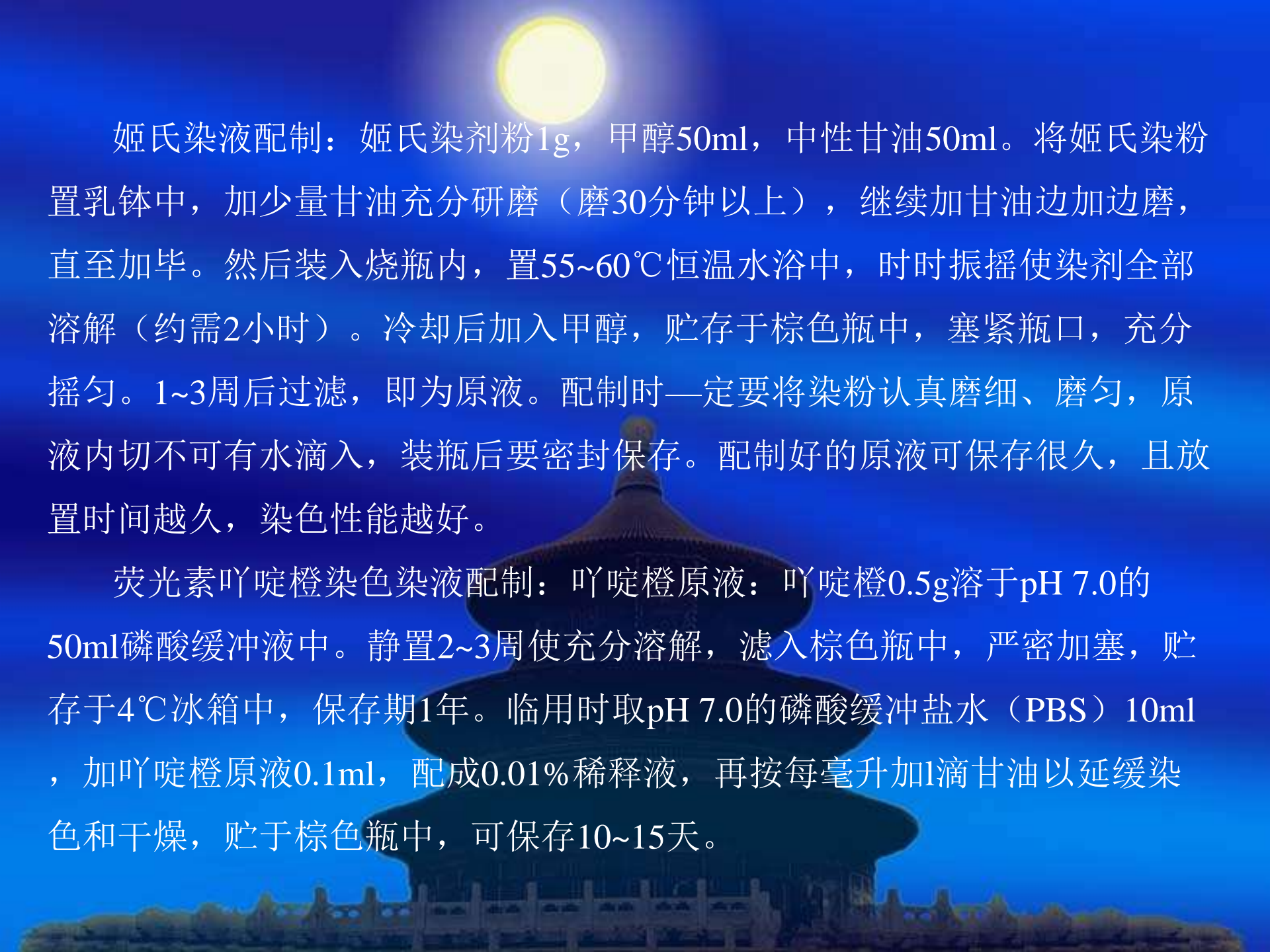
美蓝和伊红都不能使疟原虫和白细胞的核着色。但美蓝氧化后产生的天青有媒染作用，于是，在媒染物与染料的作用下，疟原虫和白细胞的核被染成紫红色。蛋白质和氨基酸都是两性电解质，其所带电荷可因溶液的pH不同而改变。在偏酸的溶液中，所带的正电荷增加，易与伊红结合；在偏碱的溶液中，则相反，带的负电荷增加，易与美蓝相结合。故当染液偏酸时，红细胞和疟原虫的核会染成鲜红色，而疟原虫的胞质着色较差；当染液偏碱时，红细胞被染成紫蓝色，不易观察。所以染剂稀释液的pH值很重要，宜用pH6.8~7.2的缓冲液作稀释液。较理想的染色结果是，红细胞为淡红或淡紫红色，疟原虫的胞质呈蓝色，核为深紫红色，疟色素为其原来的棕褐色。

2. 材料与amp;方法

器材：显微镜等。

缓冲液的配制：1/15mol/L磷酸氢二钠原液：无水 Na_2HPO_4 9.46g（或 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 11.87g，或 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 23.88g）溶于蒸馏水1000ml中。1/15mol/L磷酸二氢钾原液： KH_2PO_4 9.07g溶于蒸馏水1000ml中。使用时将上述原液配成不同pH的缓冲工作液。原液贮存于4℃冰箱中，如出现沉淀，应弃去重配。若时间紧迫可用蒸馏水作稀释液，但常偏酸。

瑞氏染液配制：瑞氏染剂粉0.2~0.5g（根据不同批号产品的质量决定用量）置于乳钵中，加3.0ml中性甘油充分研磨并逐步加入甲醇，将溶液倒入棕色瓶内，再将剩余的甲醇（总量为97ml）冲洗乳钵中的残留染液，全部装入瓶中。塞紧瓶口充分摇匀，置阴暗处，在室温下放置1~2周（或37℃温箱中24小时），过滤后备用。



姬氏染液配制：姬氏染剂粉1g，甲醇50ml，中性甘油50ml。将姬氏染粉置乳钵中，加少量甘油充分研磨（磨30分钟以上），继续加甘油边加边磨，直至加毕。然后装入烧瓶内，置55~60℃恒温水浴中，时时振摇使染剂全部溶解（约需2小时）。冷却后加入甲醇，贮存于棕色瓶中，塞紧瓶口，充分摇匀。1~3周后过滤，即为原液。配制时一定要将染粉认真磨细、磨匀，原液内切不可有水滴入，装瓶后要密封保存。配制好的原液可保存很久，且放置时间越久，染色性能越好。

荧光素吖啶橙染色染液配制：吖啶橙原液：吖啶橙0.5g溶于pH 7.0的50ml磷酸缓冲液中。静置2~3周使充分溶解，滤入棕色瓶中，严密加塞，贮存于4℃冰箱中，保存期1年。临用时取pH 7.0的磷酸缓冲盐水（PBS）10ml，加吖啶橙原液0.1ml，配成0.01%稀释液，再按每毫升加1滴甘油以延缓染色和干燥，贮于棕色瓶中，可保存10~15天。

3. 操作步骤

(1) 采血

1) 采血时间：根据各种疟原虫在人体外周血中出现的规律，间日疟和三日疟患者可在发作后任何时间进行采血，但以发作后10小时以内最佳。恶性疟原虫应在发作开始后不久即作血检。患者刚开始发作时原虫密度很低，血检时可能查不到疟原虫，应在第二次发作时再次血检以免漏诊。

2) 采血部位：成人可从耳垂或指尖采血，婴幼儿宜取脚跟或脚大拇指。

3) 采血方法：先用手指揉捏耳垂或指尖，使充血，再以70%酒精棉球消毒皮肤。待干后用左手拇指和食指捏住采血部位，使组织绷紧，右手持一次性无菌取血针迅速刺入皮肤约2mm，轻挤压穿刺点周围皮肤，用消毒干棉球擦去第一滴血，取第二滴血在载玻片上推成血膜。采血完毕后，用干棉球稍压伤口止血。

(2) 涂片

制作血涂片的载玻片要求表面光滑，清洁无油。新玻片先用清水冲洗后晾干，再浸泡在稀清洁液（工业浓硫酸60ml，重铬酸钾60g，清水1000ml。先将重铬酸钾溶于冷水中，再将浓硫酸缓缓加入，边加边搅。切勿将水加入浓硫酸中，否则会发生爆炸）中1~2天。取出后用自来水彻底冲洗干净，最后用蒸馏水冲洗1次，再经95%酒精浸泡后擦干。如系用过的旧载玻片，则应先将玻片逐步投入沸腾的5%肥皂水（或洗衣粉、洗涤剂的溶液）中，浸泡1~2时，用纱布擦洗，再以清水冲洗。待干后放入稀清洁液中浸泡1~2天，再用流水彻底洗净，烤干。在95%酒精中浸泡1天后擦干。已清洗的玻片要用干净无油的纸包好备用。

薄血膜或厚血膜法多用于疟原虫检查。前者取血量少，涂面大，原虫分散，但原虫形态结构清晰，易于作虫种鉴别；后者取血量较多，红细胞较集中，在原虫数量较少时便于发现，但因制片时血细胞相互堆积挤压，原虫皱缩变形，较难辨认。

1) 薄血膜的制作：取洁净载玻片2张，选1张边缘光滑平整者（最好是磨口边缘）作推片，另1张则平置在桌上，或以左手拇指和食指夹持其两端。以推片一端的中央粘取1小滴血（约2ul，使血滴与平置的玻片接触。血滴必然沿推片边缘向两侧展开，随即将推片与载玻片保持 $30^{\circ}\sim 45^{\circ}$ 夹角，从右向左迅速推成薄膜。亦可用载玻片直接粘取血滴，然后将推片置于血滴前方，待血液展开后再将推片迅速向前推动。操作时血量不宜太多或太少，两玻片间的夹角要恰当，否则血膜会过厚或过薄。推片时用力要均匀，一次推成，切勿中途停顿或重复推片。质量好的薄血膜应呈舌形，血细胞分布均匀。

2) 厚血膜的制作：用推片的一角取血约3ul，置于载玻片薄血膜的右方，再以此玻片角由里向外顺一个方向旋转，使血滴涂成直径约1cm大小的圆形血膜。血膜厚度要求均匀适中，过厚者易于脱落，过薄则达不到浓集原虫的目的。厚、薄血膜之间应用蜡笔划线分开，以免厚血膜溶血时影响薄血膜，或以甲醇固定薄血膜时影响厚血膜。待厚血膜完全干燥后，滴加蒸馏水于血膜上，使红细胞溶解。倾去含血红蛋白的液体，血膜呈灰白色，待干后染色。血膜制作完毕后应贴上标签或以记号笔写明编号。

除厚血膜法外，还可用离心法浓集疟原虫。由于被疟原虫大滋养体、裂殖体和配子体寄生的红细胞比重变小，故可以含抗凝剂的微玻管或塑料管取血，1500r/min离心3分钟，被寄生的红细胞浓集于正常红细胞的上层。取该部分血细胞制成涂片，固定染色后镜检。但此法对环状体疟原虫无浓集作用。

(3) 染色

1) 瑞氏染剂染色法

染色前用蜡笔在血膜周围划线以防染液溢满全片，厚血膜则先用蒸馏水溶血并待干。滴加瑞氏染液数滴，使之布满厚、薄血膜，约1分钟后血膜已被染剂中的甲醇固定，再加与染液等量的缓冲液或蒸馏水，轻摇载玻片，使染液与稀释液混匀。此时见有金属铜色膜上浮，约3~5分钟后，用自来水从载玻片的一端冲洗，切勿先倾去染液后再用水冲洗，或使自来水直接对血膜冲洗，以防染料颗粒沉着于血膜上。染色过程中不能使染液变干，否则也会产生大量沉渣。玻片冲洗干净后竖立于片架上晾干或用电吹风吹干以便镜检。

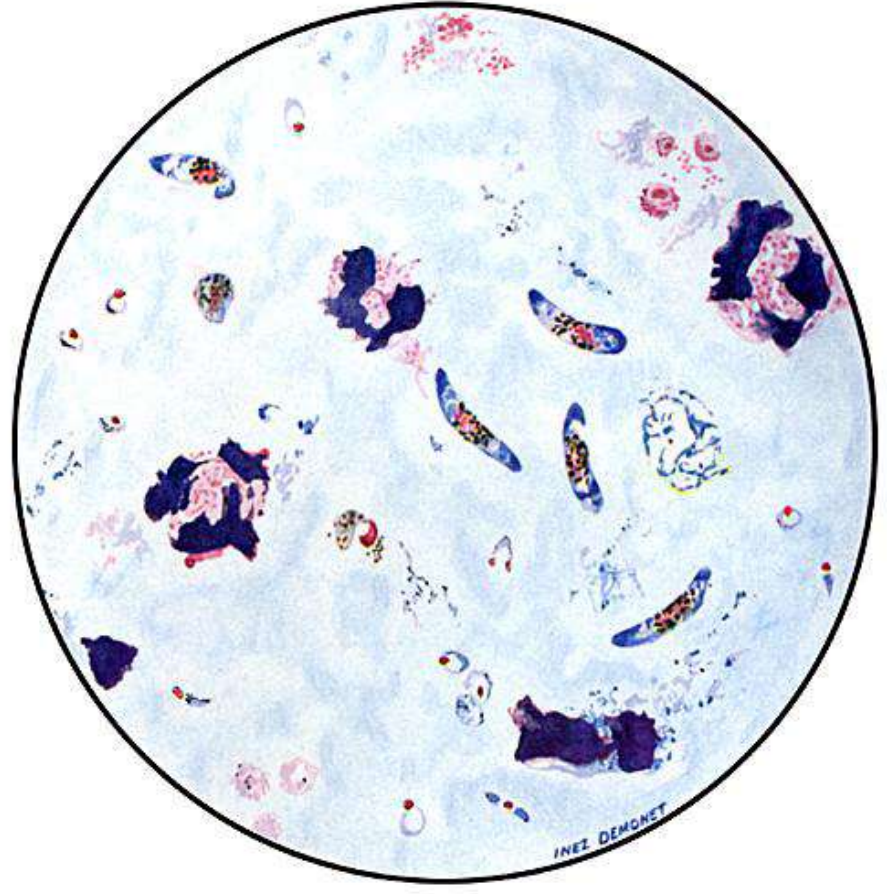
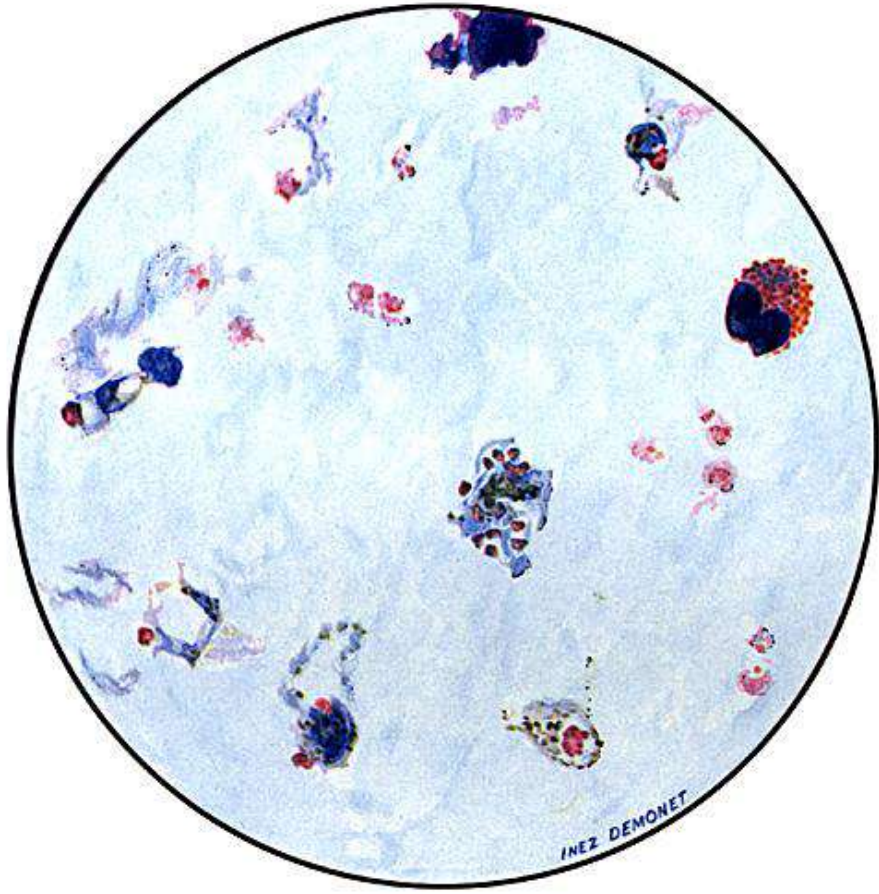
温度与染色所需时间有密切关系，气温低时应适当延长染色时间。本法染色快速，适于检验，但较易褪色，保存时间不长。

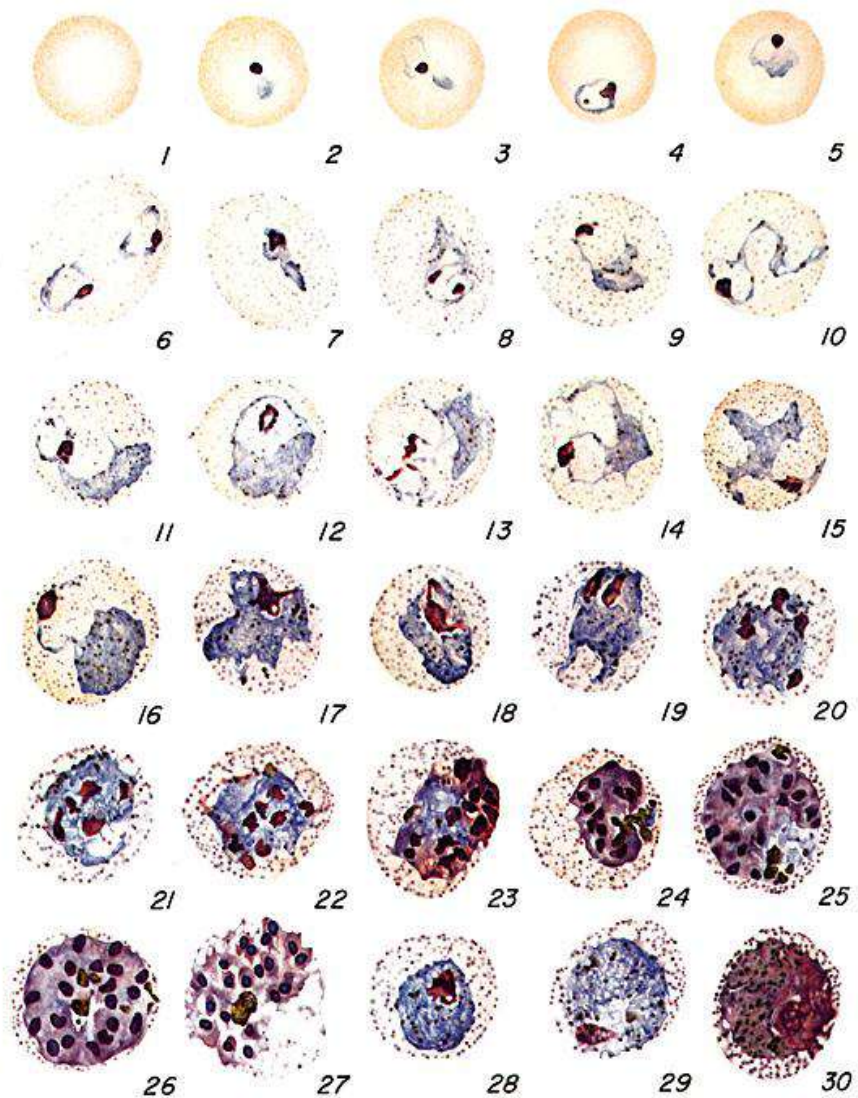
2) 姬氏染剂染色法

厚血膜应先溶血，薄血膜则用甲醇固定（吸取甲醇的吸管不能有水分）。将姬氏原液用pH 6.8~7.2的缓冲液作1: 15~1: 20稀释。在厚、薄血膜上滴加稀释的姬氏染液，染色20~30分钟（37℃温箱中仅需15分钟），用自来水轻轻冲洗，晾干后镜检，稀释后染液会产生沉淀，故不宜久放，必须临用时配制。

本法染色效果稳定，疟原虫色泽鲜明，且保存时间久，是目前染制血液涂片最可靠的染剂，尤其适用于教学、科研标本的制作。

瑞氏或姬氏染液染色后疟原虫的特征及与其他形态类似物的区别：薄血膜疟原虫均有以下特征：①红内期疟原虫及配子体均在红细胞内。油镜下，清晰的疟原虫轮廓与红细胞边缘在同一水平上。②疟原虫均有紫红色的核和蓝色的胞质。③晚期滋养体以后以及配子体期，原虫的胞质内均有棕褐色疟色素颗粒。

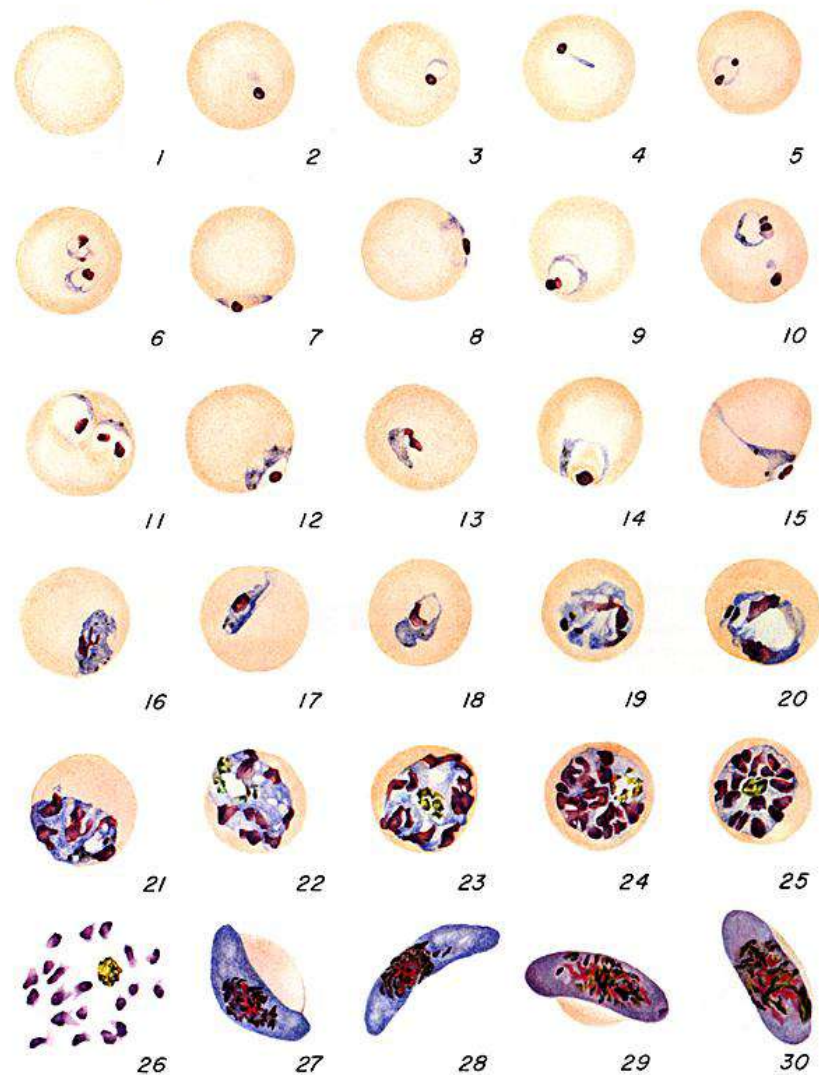




0 10 μ

PLASMODIUM VIVAX

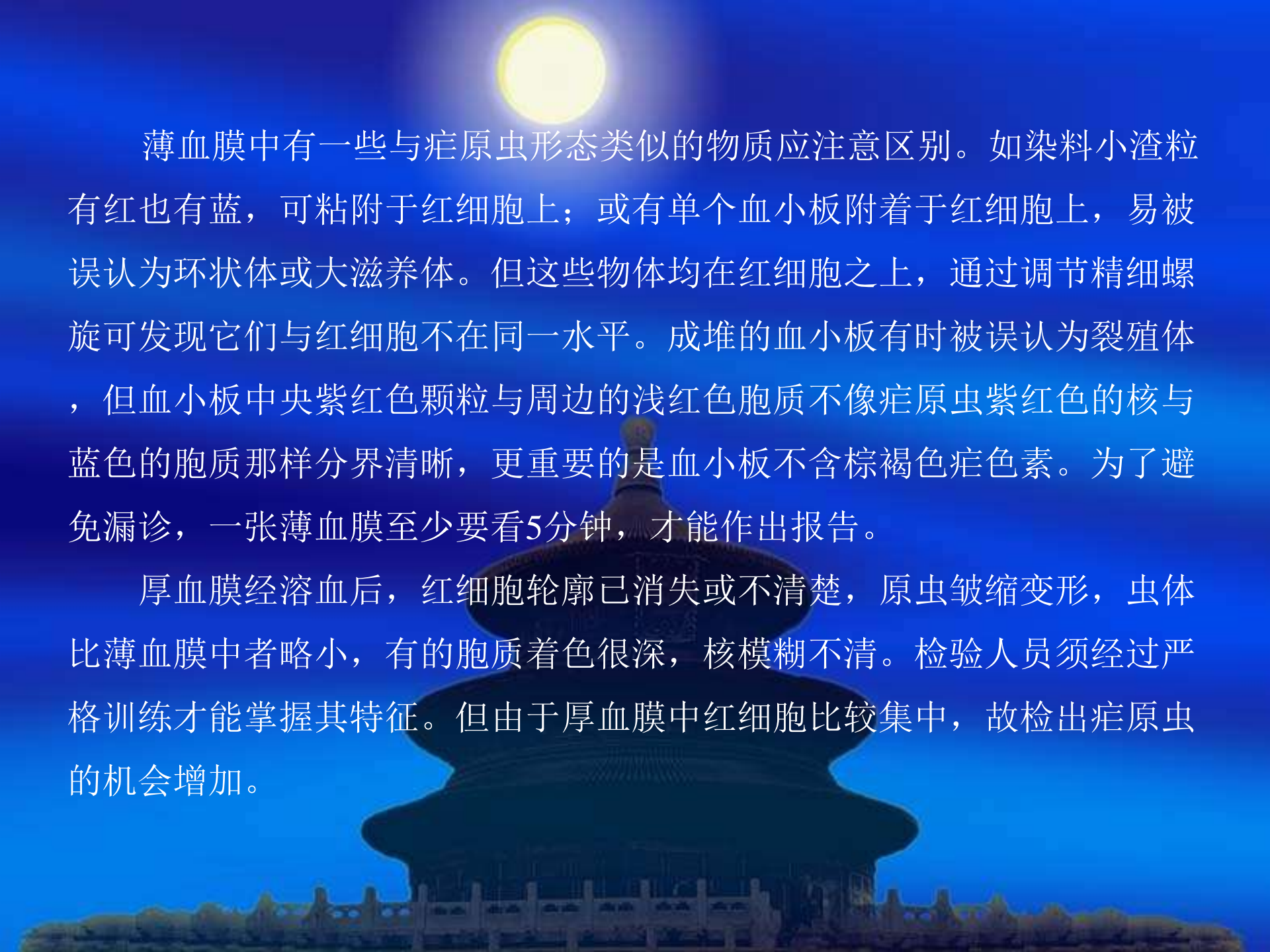
R. H. Nicholson



0 10 μ

PLASMODIUM FALCIPARUM

R. H. Nicholson

The background of the slide features a traditional Chinese architectural structure, possibly a pavilion or temple, with a prominent yellow sun in a clear blue sky. The building has multiple tiers of eaves and is partially obscured by the text.

薄血膜中有一些与疟原虫形态类似的物质应注意区别。如染料小渣粒有红也有蓝，可粘附于红细胞上；或有单个血小板附着于红细胞上，易被误认为环状体或大滋养体。但这些物体均在红细胞之上，通过调节精细螺旋可发现它们与红细胞不在同一水平。成堆的血小板有时被误认为裂殖体，但血小板中央紫红色颗粒与周边的浅红色胞质不像疟原虫紫红色的核与蓝色的胞质那样分界清晰，更重要的是血小板不含棕褐色疟色素。为了避免漏诊，一张薄血膜至少要看5分钟，才能作出报告。

厚血膜经溶血后，红细胞轮廓已消失或不清楚，原虫皱缩变形，虫体比薄血膜中者略小，有的胞质着色很深，核模糊不清。检验人员须经过严格训练才能掌握其特征。但由于厚血膜中红细胞比较集中，故检出疟原虫的机会增加。

3) 荧光素吖啶橙染色

薄血膜用甲醇固定，厚血膜溶血后亦用甲醇固定。滴加上述已稀释染液，1~2分钟后覆加盖玻片，吸去多余染液，置荧光显微镜下观察。吖啶橙染色后，含DNA的疟原虫核和白细胞核发出黄绿色荧光，含RNA的疟原虫胞质和白细胞胞质发橙红色荧光，红细胞不发光。根据核和胞质的大小形态辨认疟原虫。本法简捷，易于观察，但需用荧光显微镜在暗室内观察，且有时可将染料渣误认为疟原虫。

4. 标本观察

(1) 间日疟原虫（薄血片染色玻片标本）

1) 环状体（早期滋养体）：被寄生的红细胞尚无改变，原虫本身形似宝石戒指。一个点状的红色核，位于细胞质的一侧。天兰色的细胞质呈环状，中央有一个不染色的空泡，整个虫体大小约占被寄生红细胞直径的 $1/3\sim 1/4$ 左右。

2) 大滋养体（晚期滋养体）：被寄生的红细胞涨大，颜色较淡，常可看到许多细小而颜色鲜红的薛氏小点（Schuffner's dots）。主要特征是兰色的细胞质有不规则的阿米巴的足伸出，并形成明显的空泡。一个紫红色的细胞核显著地增大，但尚未分裂，细胞质内开始出现微小短杆状（烟丝状）疟色素。

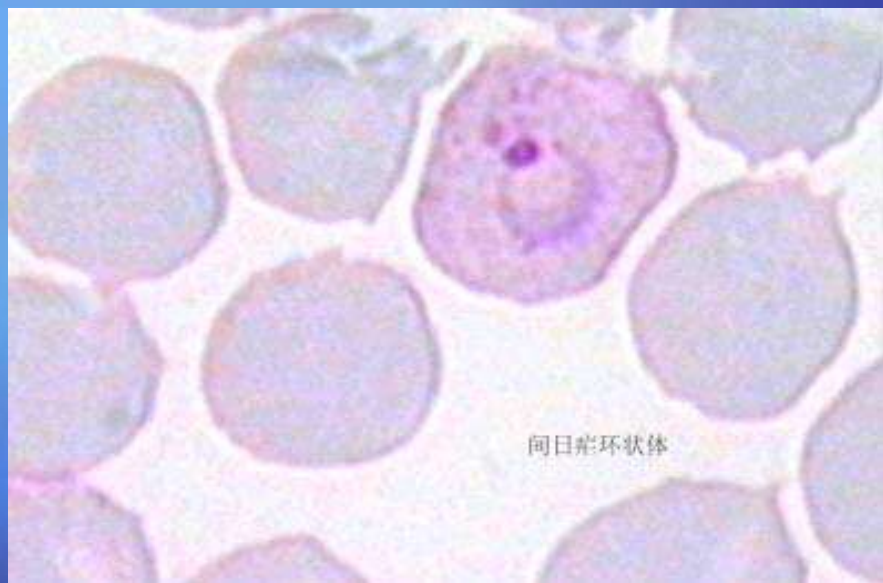


3) 裂殖体：细胞质开始变为致密，失去空泡及伪足。主要特征是细胞核开始分裂，疟色素增加。早期裂殖体形状仍不规则，核已分裂为一个以上。成熟裂殖体的核已分裂到12~24，最后细胞质亦随核的分裂而分裂为相应的数目，每一个核被部分细胞质包绕而形成12~24个裂殖子，平均16个。黄褐色的疟色素集中在虫体的中央或一侧。

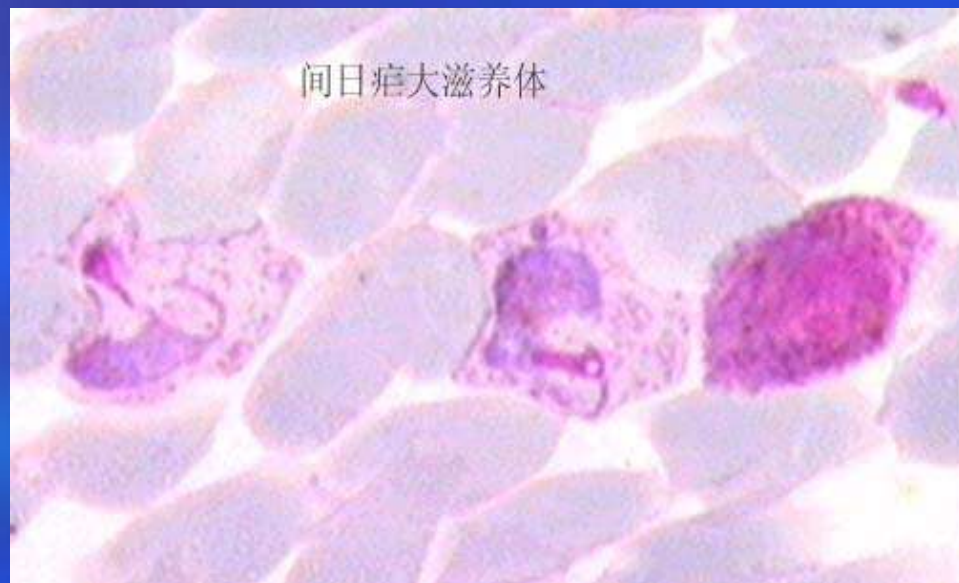
4) 配子体：被寄生的红细胞显著涨大，疟原虫几乎充满整个红细胞。有雌、雄配子体之别。

①雌配子体（大配子体） 细胞质染成深兰色，核小而坚实，染深红色，位于一侧。疟色素均匀分散在细胞质内。

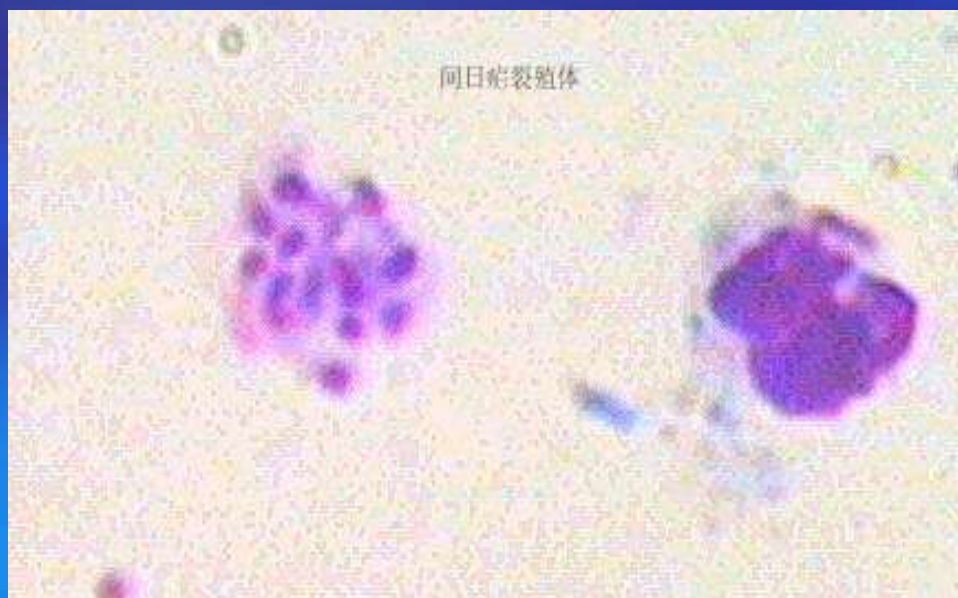
②雄配子体（小配子体） 细胞质染成淡兰色核大而疏松，染淡红色，位近中央。疟色素均匀分散在细胞质内，亦有沿边缘分布的趋向。



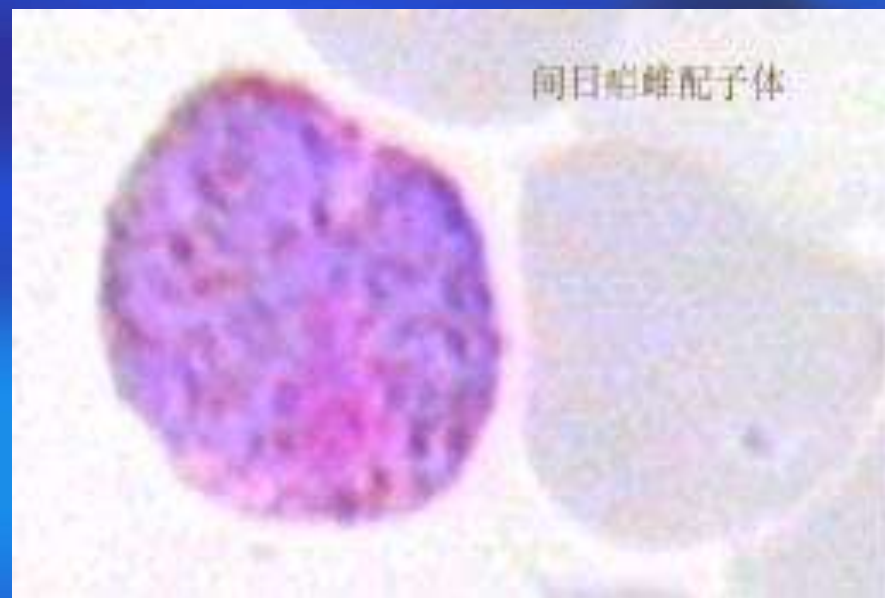
间日疟环状体



间日疟大滋养体



间日疟裂殖体



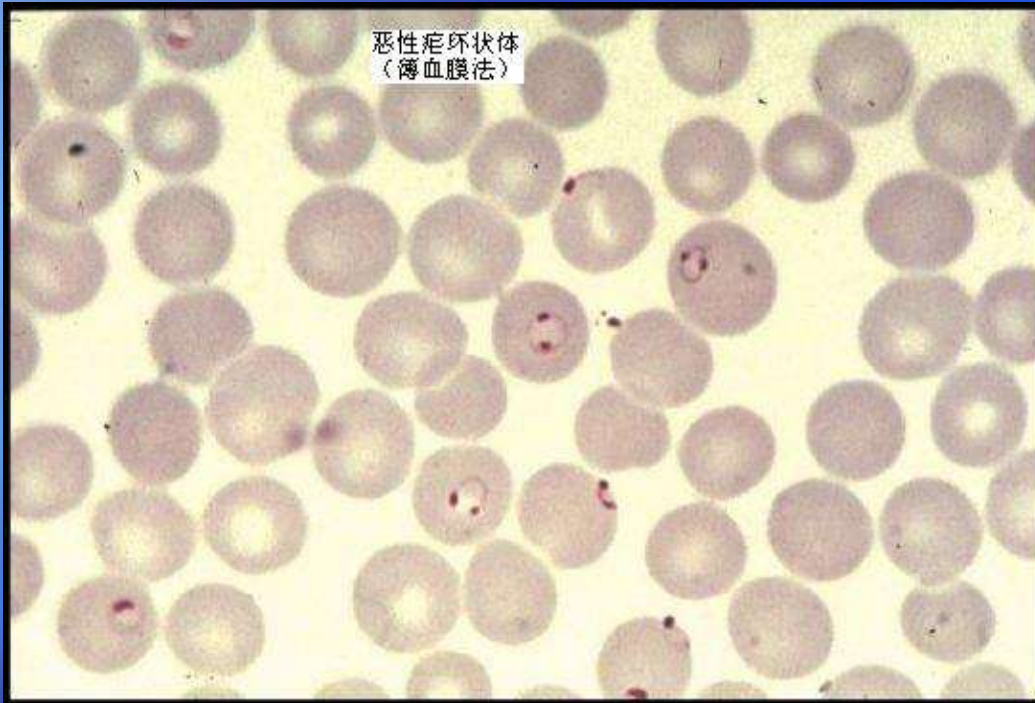
间日疟雌配子体

(2) 恶性疟原虫（染色玻片标本）

1) 环状体：被寄生的红细胞大小一般正常。环状体较小，约占被寄生红细胞直径的 $1/5\sim 1/6$ ，细胞质纤细，核亦较小，常具有以下三个特点：① 常具有二个细胞核；② 在同一个红细胞内，常有一个以上的环状体寄生；③ 环状体多位于红细胞边缘，有时环状体的细胞质可沿红细胞边缘伸展如飞鸟状。

2) 配子体：呈半月形或香蕉形，被寄生的红细胞常因涨破而不见或仅能见到一部分，附在配子体凹面的一侧。核在虫体中部，黑褐色疟色素颗粒往往围绕在红色核的周围，因此不易分辨核的大小，甚至有时只能看到疟色素而看不到核。雌、雄配子体的区别是：① 雌配子体：两端较尖呈半月形，细胞质染成深兰色，一个染成深红色小而较致密的核，位于虫体近中央，深褐色疟色素密集团绕在核的周围。② 雄配子体：两端钝圆呈香蕉形，细胞质染成浅兰色，一个染成淡红色大而疏松的核，位于虫体中央，棕黄色的疟色素分散围绕在核的周围。

恶性疟环状体
(薄血膜法)



恶性疟雌配子体



（三）作业

用彩色铅笔绘制所观察到的各期疟原虫，并注明结构名称，简述其特征。

（四）思考题

1. 熟悉疟原虫生活史对理解致病关系及疟原虫的防治有何现实意义？
2. 厚、薄血片检查疟原虫各有哪些优缺点？结合自己的操作，谈谈制作一张满意的厚、薄血片应具备哪些条件？

七、血液寄生虫

我国只有班氏丝虫和马来丝虫，随着国际交往的增加，还要注意来自非洲的几种丝虫病传入的可能。其中如罗阿丝虫、常现曼森线虫和欧氏曼森线虫病，均可在患者外周血液中查见微丝蚴。

（一）目的和要求

1. 掌握的血液中微丝蚴的形态特征。
2. 熟悉血液中微丝蚴的检查方法。

（二）内容

1. 原理

班氏丝虫和马来丝虫微丝蚴均有夜现周期性，故应在晚上9时至次晨2时间采血为宜。但罗阿丝虫、常现曼森线虫和欧氏曼森线虫则应在白昼取血查微丝蚴。除昼夜节律外，还有季节性差异，夏季查见的微丝蚴常较冬季多几倍。

2. 材料与amp;方法

器材：显微镜、载玻片、刺血针、酒精棉球。

晶蓝染色染液配制：甲液：取晶蓝2.5g溶于150ml蒸馏水中，加热促溶。另取高锰酸钾1.5g溶于50ml蒸馏水中。将二液混合并煮沸20分钟，冷却后过滤，补足煮沸时失去的水分，即可备用。乙液：取1mol/L盐酸4ml，伊红0.25g，加95%酒精96ml，使伊红充分溶解，过滤后备用。

德氏（Delafield）苏木精染色染液配制：将苏木精1g溶于10ml 95%酒精中，慢慢淌入10%硫酸铝铵水溶液100ml，混匀后贮存于棕色大口瓶中。瓶口用数层纱布扎住，暴露于空气和阳光下，使之氧化。2~4周后过滤，再加入甘油与甲醇各半的混合液50ml，此时染液变为暗色，再过滤1次即为母液。密封可保存数年，临用前以蒸馏水稀释为1：10~1：20的工作染液。

3. 操作步骤

(1) 厚血膜法

准备洁净无油的载玻片。从受检者耳垂或指尖取血3大滴，涂成2cm~3cm的长方形厚血膜，干放，干燥过夜（注意：厚血膜干燥时间不宜过久，室温中2~3天内为宜，否则，溶血较困难）。蒸馏水溶血，待完全干燥后用甲醇固定，再染色镜检。如作定量计数，应采血60ul。

(2) 离心浓集法

有时患者外周血中的微丝蚴数量太少，可用此法浓集之。静脉采血1~3ml，肝素或柠檬酸钠抗凝，加9倍量的蒸馏水溶血，离心沉淀，吸取沉渣镜检。

(3) 薄膜过滤浓集法（微孔或核孔薄膜过滤浓集法）

以含有0.1ml 5%柠檬酸钠抗凝剂的注射器抽吸患者末梢血0.6ml，再吸9ml 1%洗洁净液混匀，使之充分溶血。取下针尖接上过滤器。此过滤器内装有一层微孔（孔径5um）或核孔（孔径3um）薄膜，膜下垫一层湿滤纸，徐徐推动注射器内芯，使已溶血的悬液通过过滤器。然后以生理盐水注入过滤器洗膜3次。取出滤膜置于有0.1%美蓝染液的血内染色3分钟，水洗，待干后经二甲苯透明，置载玻片上覆加盖玻片镜检。此法对微丝蚴的检出率和检出数均高于厚血膜法，最适用于低密度微丝蚴患者。

(4) 鲜血滴法

自耳垂或指尖取血1大滴于载玻片上，加蒸馏水1滴溶血，加盖玻片后在低倍镜下观察活动的微丝蚴。此法主要用于教学和宣传教育。

(5) 常用的染色法有以下几种。

1) 晶蓝染色法:

染色方法: 将已溶血、固定的厚血膜放入乙液中染10秒, 取出后流水冲洗, 再放入甲液中染10秒, 水洗待干后镜检, 或趁有水时加盖玻片, 在低倍镜下作初步检查, 如发现有微丝蚴, 待干后再作进一步检查。

2) 德氏 (Delafield) 苏木精染色法:

染色方法: 将已固定的厚血膜在稀释的染液中染2~6小时, 镜下检查微丝蚴的颜色, 如色太浅, 可重染; 如染色太深, 可用0.5%~1.0%盐酸褪色。矫正后用流水冲洗, 晾干, 中性树胶封片后镜检。如在封片前经逐级酒精脱水及二甲苯透明, 则标本更为清晰美观。

3) 姬氏与瑞氏染剂染色法: 具体操作方法与疟原虫染色法相同。

4. 标本观察

(1) 未染色微丝蚴（玻片标本）：低倍镜下观察厚血膜片，微丝蚴呈丝状，无色透明，反光性强，体前端钝圆，后端尖细，有一定的体态、大小和弯曲。注意和其它纤维区别，其它纤维大小不等，边缘不整齐，两端钝而平截，无一定结构和形态。

(2) 班氏微丝蚴（染色玻片标本）：先用低倍镜在视野中找到白细胞间有小弯曲的微丝蚴，然后转高倍观察（亦可加一小滴镜油后转油镜观察），班氏微丝蚴体态弯曲比较自然柔和，前端钝圆，后端尖细，体外被有一层鞘膜呈均匀染色。在虫体前端最为明显。体内有许多细胞核，染成兰色，称体核，大小相仿，呈园形或椭圆形，排列整齐，间隔清楚。体前端为一无核的空隙，称头间隙，此头间隙较短，长宽之比为1：1，体核分布到后端略前处为止，无尾核。

(3) 马来微丝蚴（染色玻片标本）：较班氏微丝蚴细小，体外被有鞘膜，虫体弯曲自然，比较僵直，并有小的曲折；体核大小形状不一，排列不整齐，常重叠在一起，数不清；头间隙较长，长宽之比为2：1；尾部有前后排列的二个尾核。注意与班氏微丝蚴鉴别的特征。



（三）作业

1. 绘班氏微丝蚴染色标本图（油镜或高倍镜）。
2. 绘马来微丝蚴染色标本图（油镜或高倍镜）。
3. 记录血检结果。

（四）思考题

1. 怎样诊断丝虫病？
2. 丝虫病诊断中，虫种鉴定有何实用价值？
3. 厚血片法检查微丝蚴阴性结果其原因有哪些？

病例分析1:

患者女性，42岁、5年来因痔疮经常大便后出血，近2年来面色苍白，乏力气短。

(一) 血象

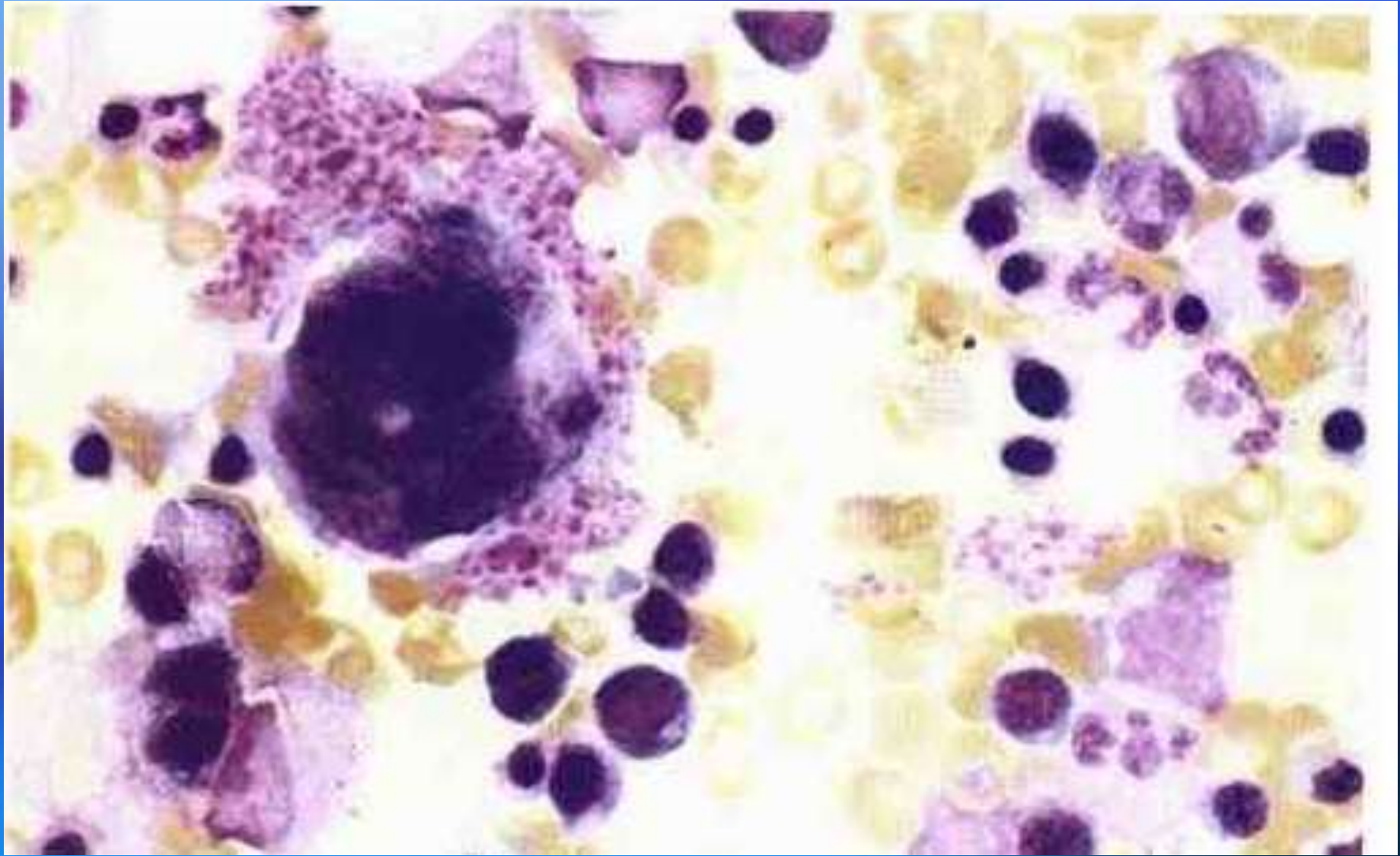
Hb 72g / L, RBC 3.9×10^{12} / L、RDW 19%，网织红细胞3.5%，WBC 4.2×10^9 / L，血小板 100×10^9 / L。白细胞分类结果大致正常、血涂片中RBC大小不均，以小型者为主，大多中心染色过浅，偶见嗜多色性红细胞。

(二) 骨髓象

骨髓增生明显活跃，红系共占32%，中、晚幼红细胞共达27%，胞体小，胞浆嗜碱性色调较强、核小而浓染，呈“幼浆老核”现象、粒系总百分率为40%，各阶段百分率及形态染色大致正常，M：E为1.5：1。在15cm×3cm骨片膜内见巨核细胞30个、多为产板型，成熟RBC形态与外周血相似。

(三) 其他化验检查 骨髓铁染色显示内、外铁阴性。





(四) 诊断 从血象、骨髓象所见符合小细胞低色素性贫血、结合多年痔疮大便失血史，考虑为慢性失血导致的缺铁性贫血。

病例分析2: 患者男性, 16岁、自幼体弱, 面色苍白, 乏力、近2年来常于感冒后面色发黄、并感左下腹不适。其母及妹也面色苍白, 未进行过检查, 体检: 贫血貌, 巩膜及皮肤轻度黄染, 脾中度肿大。

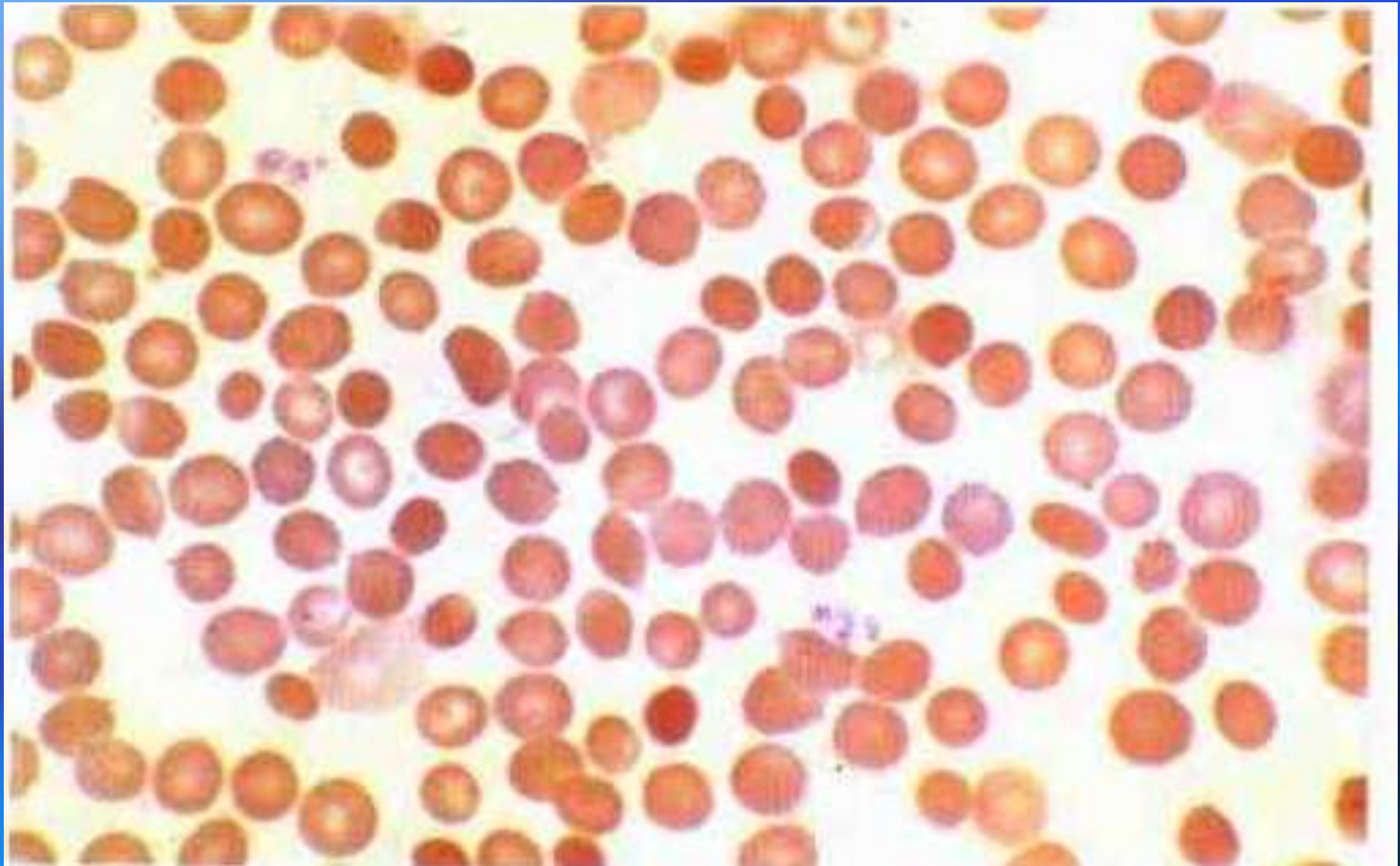
(一) 血象 Hb 60g / L, RBC 2.0×10^{12} / L、RDW 19%, 网织红细胞8.4%, WBC 5.2×10^9 / L, 血小板 100×10^9 / L。由细胞分类大致正常, 血涂片中易见胞体较小, 生理性淡染区消失的球形红细胞, 占全部红细胞的28%。

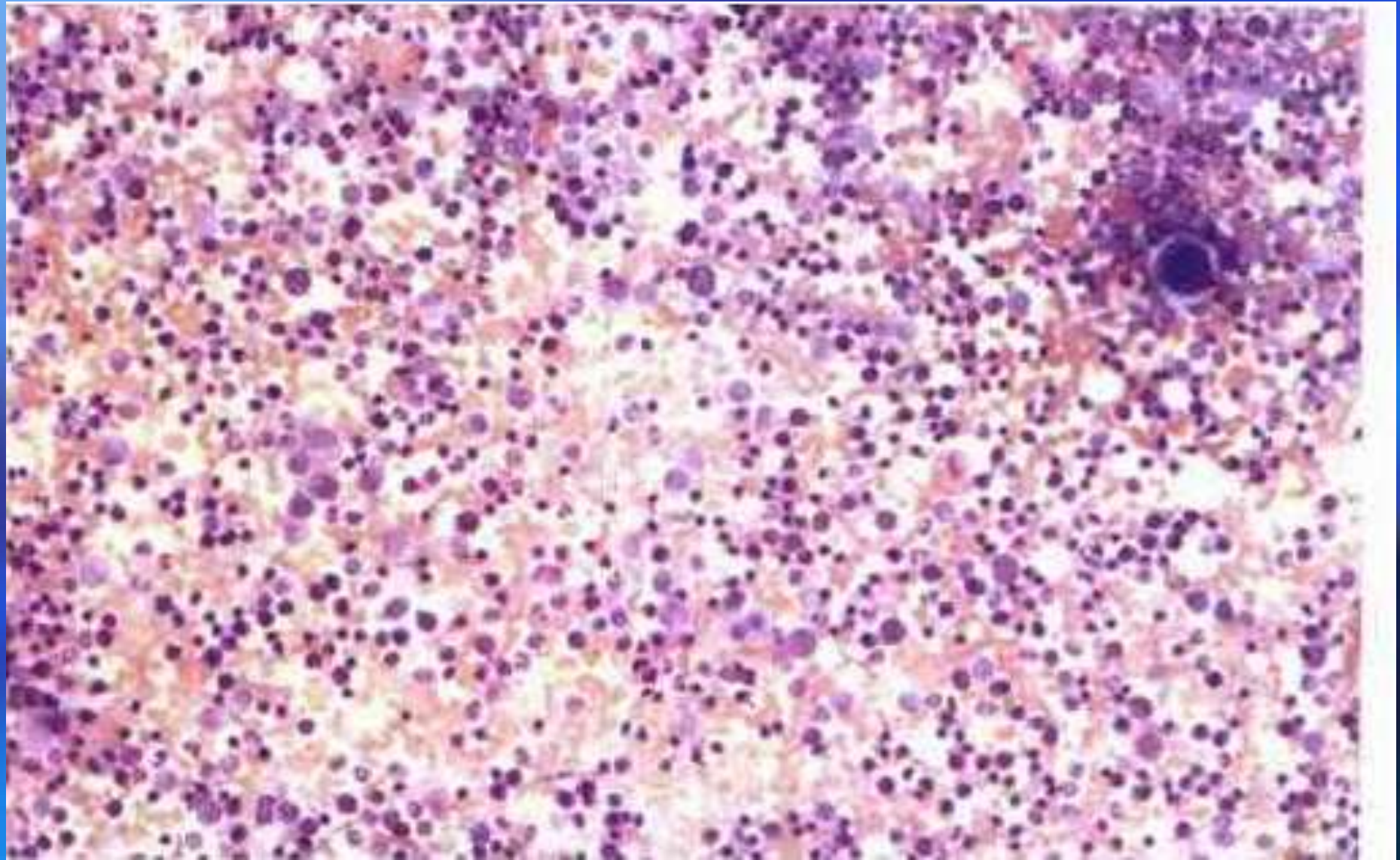
(二) 骨髓象 增生明显活跃, 幼红细胞的总百分率达52%, 以中幼红细胞为主; 其他阶段者也相应增多; 粒系细胞总百分率相对减低38%, 各阶段百分率及形念染色均大致正常; M: E比值0.73: 1。巨核系细胞在1.5cm \times 3cm片膜内共见18个, 多为产血小板型巨核细胞; 成熟红细胞形态同外周血。

(三) 其他化验检查

1. 红细胞渗透脆性试验: 开始溶血: 6.0g/L NaCl, 完全溶血: 4.2g/L NaCl, 正常对照结果在参考值范围内。

2. 血清总胆红素含量增高达21 μ mol/L, 间接胆红素含量增高为10 μ mol/L。尿胆原含量增高、尿液稀释1: 40倍后仍呈阳性反应。





（四）诊断

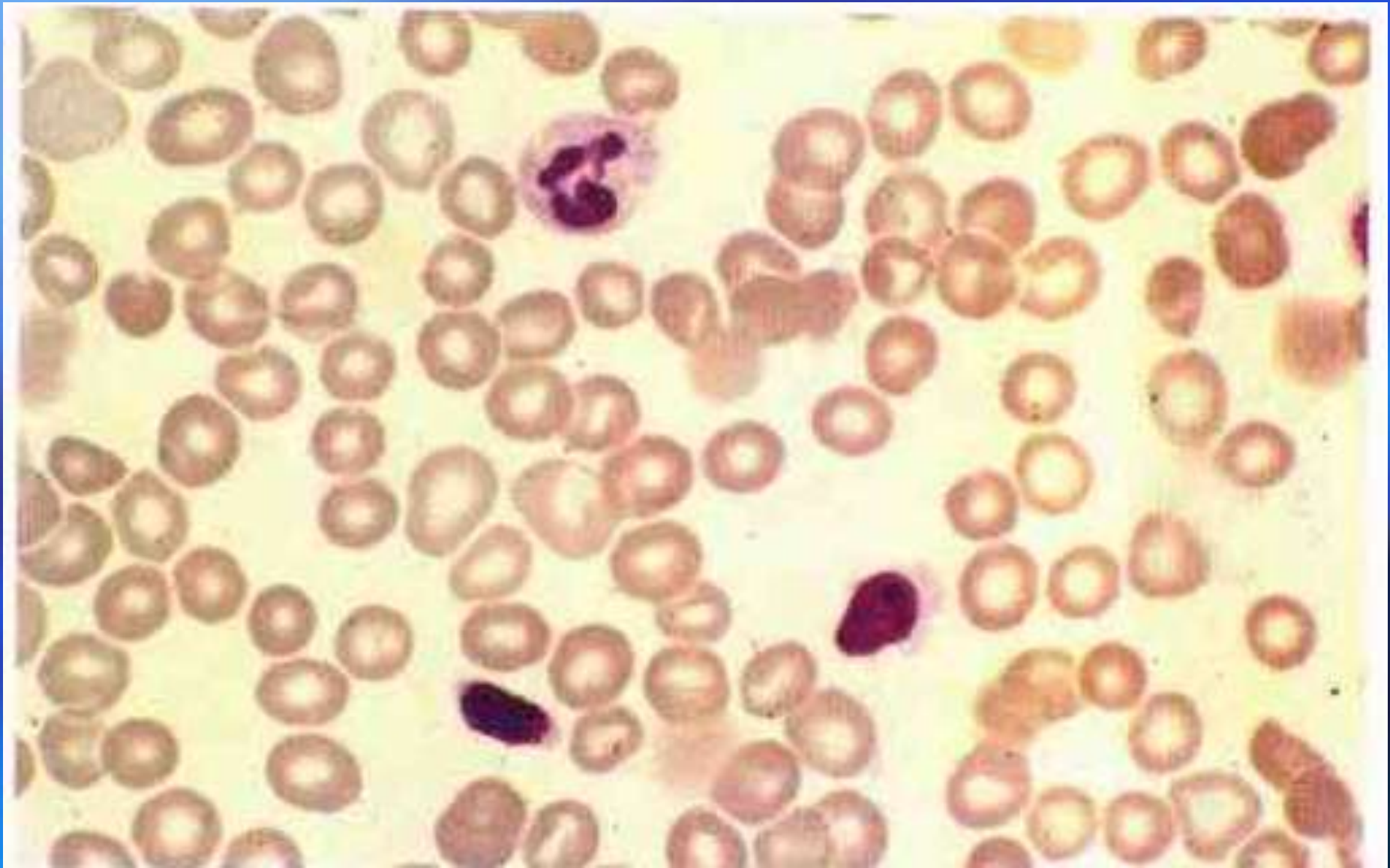
综合血象、骨髓象所见，结合尿液、血清生化检查结果及临床资料诊断为遗传性球形细胞增多症所导致的溶血性贫血。红细胞渗透脆性试验结果确证上述诊断。

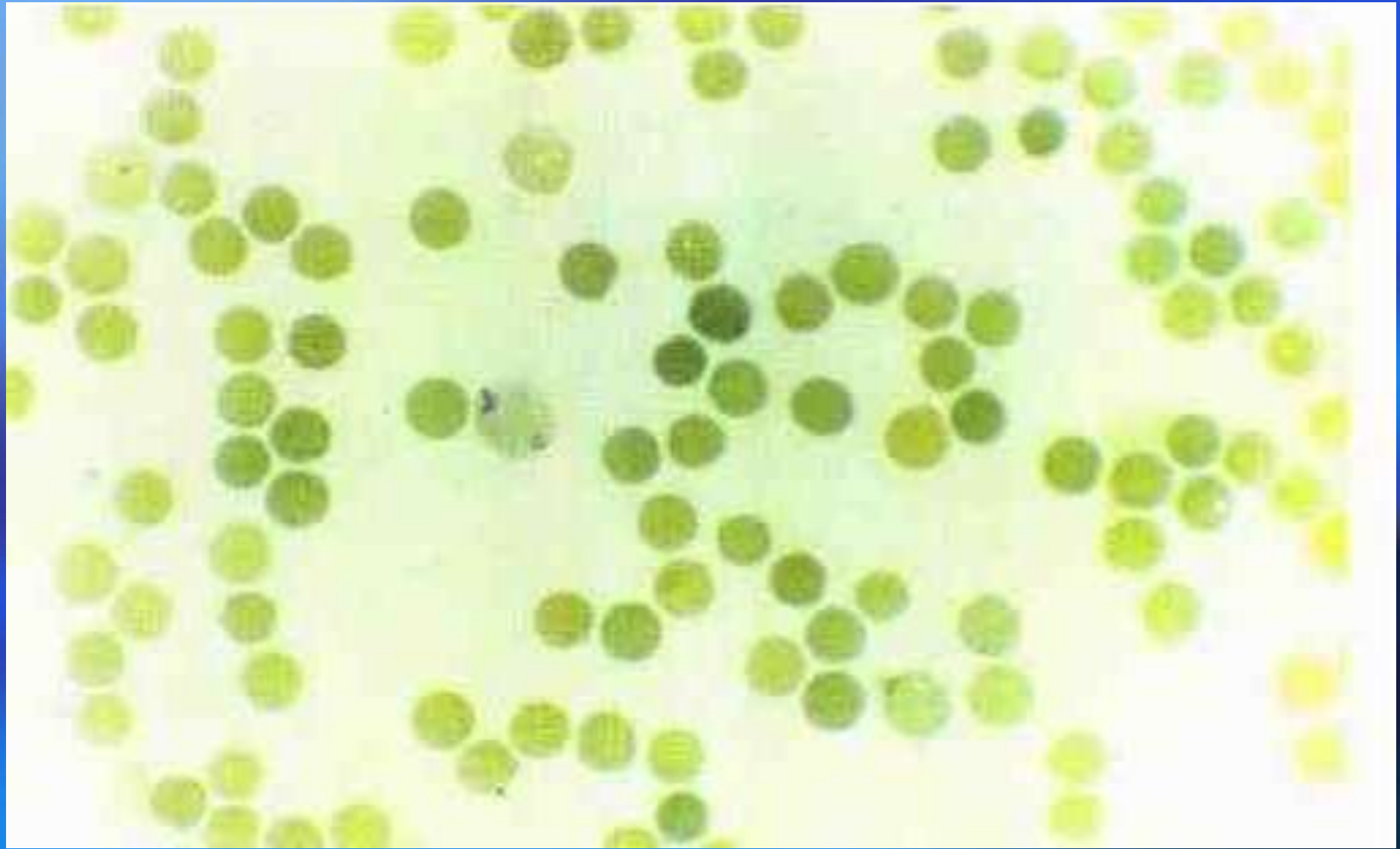
病例分析3:

患者女. 40岁, 3年来面色渐苍白、乏力, 刷牙时常有牙龈出血, 易感冒, 月经量不多。一年来经各种抗贫血治疗效果不明显。体检: 贫血貌, 两下肢有少数陈旧性出血点、脾不大。

1. 血象: Hb 78g / L。RBC 25×10^{12} / L, 网织红细胞0.3%, WBC 3.5×10^9 / L, 血小板 65×10^9 / L。白细胞分类: 淋巴细胞百分率占48%, 中性杆状核粒细胞5%, 分叶核粒细胞39%, 嗜酸粒细胞3%, 单核细胞5%, 成熟RBC大小、形态、染色均大致正常。NAP染色阳性率80%, 积分值120。

2. 骨髓象: 骨髓增生减低, 粒系细胞共占40%, 各阶段百分率及形态染色大致正常、幼红细胞总百分率为22%、中幼红占8%, 晚幼红占14%, 胞核多呈炭核样, M: E为18: 1, 淋巴细胞占25%。易见浆细胞和网状细胞。在1.5cm×22.5cm全部骨髓片内未找见巨核细胞, 成熟RBC形态同外周血。





3. 诊断：综合血象、骨髓象所见，结合临床资料诊断为慢性型再生障碍性贫血。

谢谢