

XIANDAI
LINCHUANG
ZHENLIAO
JISHU

现代临床诊疗技术

•(上)

现代保健杂志社 编



中国科学技术出版社

现代临床诊疗技术(上)

现代保健杂志社 编



中国科学技术出版社

· 北京 ·

图书在版编目(CIP)数据

现代临床诊疗技术·上,医学检验分册/现代保健
杂志社编. —北京:中国科学技术出版社,2008. 9

ISBN 978 - 7 - 5046 - 5260 - 7

I. 现… II. 现… III. 医学检验 IV. R44

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 138399 号

自 2006 年 4 月起本社图书封面均贴有防伪标志,未贴防伪标志的为盗版图书。

中国科学技术出版社出版

北京市海淀区中关村南大街 16 号 邮政编码:100081

电话:010 - 62103210 传真:010 - 62183872

<http://www.kjpbooks.com.cn>

科学普及出版社发行部发行

廊坊圣轩印刷有限公司印刷

*

开本:787 毫米×1092 毫米 1/16 印张:45.75 字数:1100 千字

2008 年 9 月第 1 版 2008 年 9 月第 1 次印刷

定价(全两册):90.00 元

ISBN 978 - 7 - 5046 - 5260 - 7/R · 1357

(凡购买本社的图书,如有缺页、倒页、
脱页者,本社发行部负责调换)

编委会名单

(按姓氏笔画排序)

王伟智
朱德全
邹薇薇
高 伟
戴启宇

王庆山
孙丽婷
陈国千
高卫东

王爱武
李 欣
赵继敏
蔡雨珍

艾成柏
李良亮
郝万鹏
霍伊军

责任编辑：张 楠 许媛媛
责任校对：刘红岩
责任印制：安利平

前　　言

医学科学的迅猛发展,新的诊疗设备不断出现,催生了许多新的诊疗方法。临床医生在诊断决策时,有时会对一些诊疗方法有不明之处。因此,为了适应临床工作的需要,同时及时反映当今先进的诊疗水平,特编写了《现代临床诊疗技术》,为各临床医师提供准确快速的参考。

本书是《现代临床诊疗技术》之上册——《医学检验分册》。本书内容共分六篇三十八章:第一篇总论;第二篇临床血液学检验;第三篇临床体液及排泄物检验;第四篇临床化学实验检查;第五篇临床免疫学检验;第六篇临床细菌学检验。本书的特点是:①全面、系统。基本概括了检验医学的整个体系和范围。②简便、实用。本书以实用和密切联系临床为原则,力求详尽、新颖。③检验的应用。将检验项目合理应用于临床诊断、鉴别诊断、疗效观察和预后判断。④加大对质量控制的编写力度,以期达到检验报告的准确性。

本书可供综合性医院、专科医院、卫生防疫站、职业病医院的检验工作者参考使用,也可供临床医师参考使用。由于时间仓促,加之水平有限,本书编者虽经努力,书中亦难免有不足之处,企盼读者批评、指正。

编者

2008年9月



第一篇 总 论

第一章 检验诊断学概论	3
第一节 检验诊断学的应用	3
第二节 临床检验质量管理	4
第二章 PCR 反应技术	6
第一节 PCR 技术基本原理	6
第二节 PCR 操作方法	10
第三节 PCR 技术常见影响因素的排除	12
第四节 PCR 技术的临床应用	14
第五节 PCR 污染与对策	22
第三章 流式细胞术	24
第一节 流式细胞术的基本原理	24
第二节 流式细胞术的应用	27
第四章 高效液相色谱技术	30
第一节 高效液相色谱技术原理	30
第二节 高效液相色谱仪的基本结构	30
第三节 高效液相色谱的基本理论方法	32
第五章 免疫荧光测定	38
第一节 微粒子酶免疫分析技术	38
第二节 荧光偏振免疫分析技术	38
第三节 酶免疫荧光分析	39
第四节 时间分辨荧光免疫分析技术	40
第六章 化学发光免疫技术	41
第一节 化学发光过氧化物酶免疫分析	41
第二节 化学发光碱性磷酸酶标记免疫	41
第三节 化学发光吖啶酯标记的免疫测定	42
第四节 电化学发光免疫测定	42

第二篇 临床血液学检验

第七章 概论	47
第一节 血液生理概要	47
第二节 血液标本的采集和抗凝	48

第八章 红细胞检验	50
第一节 红细胞计数	50
第二节 血红蛋白测定	51
第三节 红细胞比积测定 (Hct)	53
第四节 红细胞参数平均值的计算	53
第五节 红细胞形态异常	54
第六节 网织红细胞计数	57
第七节 红细胞沉降率测定	59
第八节 一氧化碳血红蛋白定性试验	61
第九章 白细胞检验	62
第一节 白细胞概述	62
第二节 白细胞计数	64
第三节 白细胞形态检查	66
第十章 血小板检查	68
第一节 血小板数量和功能检查	68
第二节 出血时间测定	71
第三节 凝血时间测定	71
第四节 血块收缩时间测定	72
第十一章 骨髓细胞学检查	73
第一节 骨髓细胞学检查的临床应用价值	73
第二节 标本采集和送检注意事项	73
第三节 骨髓细胞学检查步骤	74
第四节 各阶段血细胞形态学特征	76
第五节 细胞化学染色	80
第六节 常见血液病的血象及骨髓象	83
第十二章 血液流变学检测	97
第一节 血液黏度检测	97
第二节 红细胞变形性检测	99
第三节 红细胞聚集性检测	101
第四节 红细胞及血小板电泳测定	102
第五节 血小板黏附和聚集功能的检测	103
第六节 血液流变学诸指标的综合分析	105
第十三章 输血血型血清学检验	106
第一节 红细胞血型系统	106
第二节 标准血清及标准红细胞的制备	108
第三节 ABO 血型鉴定	108
第四节 Rh 血型鉴定	110
第五节 其他血型鉴定	112
第六节 交叉配血	113
第七节 血型鉴定与交叉配血中容易发生的错误	115
第八节 血型血清学检验常用方法	115
第九节 血液制品种类、特性及临床适应证	118

第十节 血液和血液成分输注	122
---------------	-----

第三篇 临床体液及排泄物检验

第十四章 尿液检验	129
第一节 尿液标本的收集与保存	129
第二节 尿液一般性状检查	130
第三节 化学筛选检查	133
第四节 显微镜检查	137
第五节 尿液浓缩稀释试验	138
第六节 妊娠试验	139
第十五章 粪便检验	142
第一节 粪便标本的收集	142
第二节 粪便理学检验	142
第三节 粪便显微镜检查	144
第四节 粪便潜血检验	144
第五节 粪便检验的质量控制	145
第十六章 其他体液及排泄物检查	147
第一节 脑脊液检查	147
第二节 浆膜腔积液检查	151
第三节 精液检验	152
第四节 前列腺液检验	155
第五节 阴道分泌物检验	157

第四篇 临床化学实验检查

第十七章 绪论	161
第十八章 酶类测定	162
第一节 概论	162
第二节 血清丙氨酸转换酶	163
第三节 血清门冬氨酸氨基移换酶	163
第四节 血清碱性磷酸酶	164
第五节 酸性磷酸酶	164
第六节 血清乳酸脱氢酶	165
第七节 血清 γ -谷氨酰基移换酶	165
第八节 血清肌酸激酶	166
第九节 血清淀粉酶	168
第十节 胆碱酯酶	168
第十一节 血清脂肪酶	169
第十二节 α -羟丁酸脱氢酶	169

第十九章 非蛋白氮类化合物测定	170
第一节 尿素	170
第二节 血清肌酐及肌酐清除率	170
第三节 血清尿酸	171
第四节 血氨测定	171
第五节 胆红素	172
第二十章 蛋白质测定	173
第一节 血清总蛋白测定	174
第二节 血清白蛋白和球蛋白测定	174
第三节 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳法	175
第四节 血浆纤维蛋白原测定	176
第五节 血清黏蛋白测定	177
第六节 脑脊液总蛋白测定	177
第七节 血清前白蛋白测定	178
第八节 糖化血红蛋白测定	178
第九节 糖化血清蛋白测定	179
第十节 血清肌红蛋白测定	179
第十一节 血清铁蛋白的测定（ELISA 法）	180
第十二节 尿液蛋白测定	180
第二十一章 电解质测定	182
第一节 钾、钠、氯、碳酸氢盐	182
第二节 钙、镁、磷	183
第三节 铁、锌、铜	184
第二十二章 葡萄糖及其代谢的检验	189
第一节 检验项目	189
第二节 检验项目选择和临床应用评价	192
第二十三章 血脂检验	194
第一节 检验项目	194
第二节 血脂检验项目的选择和临床应用评价	200
第二十四章 酸、碱平衡检验	201
第一节 检验项目	201
第二节 检验项目的选择与临床应用	205
第二十五章 激素及其代谢物的测定	207
第一节 尿液儿茶酚胺测定	207
第二节 肾上腺皮质激素及代谢产物测定	210
第三节 性激素的测定	215
第四节 甲状腺功能试验	225
第二十六章 肾功能检验	228
第一节 检验项目	228
第二节 肾功能项目的选择与临床应用	237

第五篇 临床免疫学检验

第二十七章 免疫学基础	241
第一节 免疫的基本概念	241
第二节 非特异性免疫和特异性免疫	241
第三节 抗原	243
第二十八章 免疫器官和免疫细胞	247
第一节 免疫器官	247
第二节 免疫细胞	248
第二十九章 免疫球蛋白	256
第一节 免疫球蛋白的结构	256
第二节 免疫球蛋白的生物学活性	258
第三节 免疫球蛋白的特性和作用	259
第四节 单克隆抗体和基因工程抗体	262
第三十章 总补体和单个成分的测定	263
第一节 总补体溶血活性测定	263
第二节 补体旁路活化途径溶血活性测定	263
第三节 C1q 含量测定（单扩散法）	264
第四节 C3 含量测定（单扩散法）	264
第五节 C3 裂解产物（C3SP）测定	264
第六节 C4 含量测定（单扩散法）	265
第七节 C5 含量测定（单扩散法）	265

第六篇 临床细菌学检验

第三十一章 临床细菌学检验的基本技术	269
第一节 细菌的形态与结构	269
第二节 细菌的形态学检查	271
第三节 培养基	272
第三十二章 细菌的接种与培养技术	275
第一节 细菌的一般接种法	275
第二节 细菌的培养法	276
第三节 基本生化鉴定试验和诊断血清	278
第四节 细菌对药物的敏感试验	279
第三十三章 常见临床标本的细菌学检验	283
第一节 从临床标本分离、鉴定细菌的基本要领	283
第二节 血液及骨髓标本的细菌学检验	283
第三节 化脓及创伤感染标本的细菌学检验	286
第四节 尿标本的留取、处理及细菌学检验	289
第五节 粪便标本的细菌学检验	292
第六节 呼吸道标本的留取、处理和细菌学检验	294

第七节	胆汁标本的细菌学检验	296
第八节	脑脊液标本的采集、处理和细菌学检验	298
第九节	穿刺液标本的细菌学检验	300
第十节	眼、耳、鼻、喉拭子标本的采集、处理和细菌学检验	302
第十一节	脓汁标本的采集、处理和细菌学检验	305
第十二节	生殖器官分泌物标本的采集、处理和细菌培养	307
第三十四章	常见微生物的常规鉴定	310
第一节	细菌鉴定工作必须遵循的原则	310
第二节	葡萄球菌属	312
第三节	链球菌属	316
第四节	奈瑟氏菌属	321
第五节	卡他布兰汉氏菌属	323
第六节	肠球菌属	324
第七节	棒状杆菌属	326
第八节	李斯特菌属	327
第九节	炭疽杆菌	327
第十节	弧菌属	328
第十一节	气单胞菌属和邻单胞菌属	330
第十二节	弯曲菌属	332
第十三节	肠杆菌科	333
第十四节	结核杆菌的标本采集、分型及鉴定	335
第十五节	嗜血杆菌属	340
第十六节	黄杆菌属	341
第十七节	摩拉氏菌属	341
第十八节	革兰氏阴性厌氧无芽孢杆菌	342
第十九节	革兰氏阳性厌氧芽孢杆菌	343
第三十五章	非发酵菌的常规鉴定	344
第一节	假单胞菌属	344
第二节	不动杆菌属	347
第三节	产碱杆菌属	348
第三十六章	临床常见酵母样真菌的鉴定	349
第一节	念珠菌属	349
第二节	隐球菌属	351
第三十七章	其他病原微生物的鉴定	353
第一节	病原性螺旋体	353
第二节	衣原体	356
第三节	病原性支原体	357
第三十八章	临床细菌学检验的质量控制	360
第一节	室内质量控制	360
第二节	室间质量评价	363
参考文献		365

第一章 检验诊断学概论

第一节 检验诊断学的应用

各种病理变化常可导致人体内环境发生改变，血液、尿液和排泄物等均是内环境的重要组成部分，因此及时检查这些标本有助于深入了解临床医学、基础医学和保健医学的情况和动态，特别对病因诊断、疾病诊断、鉴别诊断、疗效观察、病情演变、预后判断、预防保健具有重要的指导意义。

一、为疾病的诊断和鉴别诊断提供依据

检验的结果可为临床提供支持诊断、鉴别诊断、确定诊断和否定诊断的依据。

二、为疗效观察和预后判断提供依据

在疾病的演变过程中，动态观察相关的检验指标对疗效观察和预后判断提供重要依据。

三、为预防疾病和健康保健提供资料

预防为主是我国卫生工作的基本方针。例如，在人群中（如学校）发现一例病毒性肝炎患者，除对患者需及时进行隔离和治疗，以杜绝传染源外，尚需对患者的生活用品和居住环境进行消毒，以防止肝炎病毒传播；也需对与患者有密切接触的人群进行体格检查和必要的血清酶试验、肝炎病毒抗体或抗原检测，以及早发现新的患者；对高危患者进行免疫疫苗接种，起到预防和保健作用。此为预防病毒性肝炎提供了有价值的资料。

四、为科学研究提供数据

检验诊断不仅可为临床研究提供可靠的结果和数据，而且也可为基础研究提供可靠的依据。例如，应用检验诊断中的各种技术和方法，为感染病、呼吸病、心脏病、消化病、血液病、内分泌病、代谢病、泌尿病、生殖病、神经病、精神病、外科病、妇产科病、遗传病、恶性肿瘤、药物筛选、器官移植等的临床研究和基础研究提供可靠的数据和依据，促进研究工作的深入和发展。

第二节 临床检验质量管理

一、临床检验质量管理概述

1. 什么是临床实验室的质量 实验室为患者提供的检验服务，以往认为发出的检验报告是否准确就是检验的质量。当今，检验质量的要求有三个方面：①使检验结果最好地符合患者实际情况；②必须及时地发出检验报告；③依据检验结果结合患者临床状况，主动为临床诊断提供咨询。这即是当今国际标准化（ISO）对质量广义定义“满足需求和期望”在实验室中的体现。

2. 什么是实现质量目标的质量管理

（1）建立质量方针和质量目标，并达到这些目标的体系为质量管理体系（ISO 9000 定义）。

在医院内实验室和医院所有科室、部门，按照院长的质量目标都是全院质量管理体系的一个分支，实验室按照自身工作的特点，明确实验室的质量目标，完善实验室的质量管理体系，进行质量管理，保证日常工作实现质量目标。

（2）用于质量管理体系的一组完整的过程为质量管理（ISO 9000 定义）。在临床检验质量管理体系中，质量管理涉及检验的整个过程的每一阶段、每一方面的具体管理内容。

在质量管理中，主要包括质量控制和质量保证两个大内容：①质量控制（ISO 9000 定义）。质量管理中致力于实现质量要求的措施、方法等，以及上述检验工作中的方方面面的管理的具体措施和方法；②质量保证。质量管理中致力于提供实现质量要求的活动。

二、做好检验必须使用的合格工具

要有好的检验质量结果一定要使用好的检验工具，包括仪器、试剂、校准品和操作程序等。当今，检验用品都是高科技的结合产品；检验工作大多已经实现了自动化。检验质量有了明显的提高。随着临床在对患者诊断、随访和疗效监视中，对检验的要求和依赖性越来越高，检验质量备受大家关注。

任何一次检验都有误差。检验的测定值和理想的真值的差异即为误差。检验人员时刻都应尽可能使患者标本的检验结果具有最小的误差，这是检验人员的职责和道德。

从质量管理意义上可以将误差分为实验方法学的稳定状态（固有）误差及除此以外的不稳定状态（外加）误差。要使检验结果符合质量要求，除了有质量控制外，还必须要对使用的检测系统，即方法学，包括仪器、试剂、方法、原理、校准品、检测程序等一体作严格的选择和评价。实验室只有使用总误差水平在临幊上可接受的低水平的检测系统，才能真正使检验结果符合临幊要求。

三、临床检验分析过程中的质量控制（统计质量控制）

临床检验工作和其他分析领域工作最突出的差异，是临床检验对每份患者标本只做一次

检验就发出报告。使每份报告引入的误差，比取多份样品，做多次检验取均值报告结果含有的误差大，特别是随机误差。因此必须强调做检验一定要有质量控制。将控制品和患者样品一起做检验分析，以控制品检验结果（控制值）了解分析过程的质量情况称之为分析过程的质量控制。又使用了统计方法对控制值进行归纳分析，便于了解质量状况，则称为统计质量控制。

以往的统计质量控制都是以统计概率理论为基础。随着分析方法的进步，在自动化仪器较手工操作误差明显减小的情况下，被控制的误差越来越小，检验人员提出究竟以控制怎样大小的误差为目标是对统计质量控制的挑战。

四、重视分析前和分析后检验的质量管理

随着检测系统和质量控制方法的发展，分析中的质量已有了极其显著的改进。近几年，将改进实验室质量的努力已逐渐置于分析前和分析后阶段。没有好标本，检测系统无法获得可靠结果，质量控制方法也无能为力。因此从患者被临床要求进行检验起，直至取样品作检测前，必须重视患者准备和识别，标本采集、运送、处理、保存等每一环节，确保患者标本的质量。分析后对检验结果的数据运送、计算、打印出检验报告单中，任一疏忽出现的问题，应属于差错，不是分析误差。差错不是要控制而是要消除。应充分重视分析前、后的检验过程的质量管理，尽早改变目前国内这一方面的落后状况。

五、检验项目在临床运用中的价值

加强检验和临床的联系和交流，让临床了解各个检验项目在诊断和治疗、随访中的价值，了解诊断和体检中检验结果应用的不同。使临床医生在申请检验时，可以有目的地选择有关项目，使每个检验结果都在临幊上发挥作用。

第二章 PCR 反应技术

第一节 PCR 技术基本原理

PCR 技术的基本原理类似于 DNA 天然复制过程，其特异性依赖于与靶序列两端互补的寡核苷酸引物。PCR 由变性 - 退火 - 延伸三个基本反应步骤（称一个 PCR 反应周期）构成，首先是：①模板 DNA 的变性：模板 DNA 经加热至 93℃ 左右一定时间后，使模板 DNA 双链或经 PCR 扩增形成的双链 DNA 解离，使之成为单链，为下轮反应作准备；②模板 DNA - 引物的退火（复性）：模板 DNA 经加热变性成单链后，温度降到 55℃ 左右，引物与模板 DNA 单链的互补序列配对结合；③引物链的延伸：DNA 模板 - 引物，在 TaqDNA 聚合酶的作用下，以 dNTP 为反应原料，以靶基因序列为模板，按碱基配对与半保留复制原理，合成一条新的与模板 DNA 链互补的半保留复制链。重复循环变性 - 退火 - 延伸三个过程，就可获得更多的“半保留复制链”。

PCR 的三个反应步骤反复进行，使扩增量呈指数上升。最终的 DNA 扩增量 (Y) 可用 $Y = (1 + X)^n$ 计算，Y 代表 DNA 片断扩增后的拷贝数，X 表示平均每次的扩增效率，n 代表循环次数，平均扩增效率的理论值为 100%，经过 30 次扩增后，靶 DNA 的量应该增长 100 万倍，但在反应中，由于受靶序列结构与长度、酶活性等反应条件的影响，平均效率达不到理论值，在 PCR 反应初期，靶序列 DNA 反应的增加呈指数形式，经过一定数量的循环后，随着催化效率趋于饱和，被扩增的 DNA 片断不再呈指数增加，而进入线性增长期或静止期，即出现“停滞效应”，这种效应称平台期，到达平台期所需 PCR 循环次数取决于样品中模板的拷贝数、PCR 扩增效率、DNA 聚合酶的种类及活性和非特异性产物的竞争等因素。大多数情况下，平台期的到来是不可避免的，但一般在此之前，扩增的靶基因序列足以满足实验需要，若需较大量的 PCR 产物，还可进行多次 PCR 扩增。

PCR 扩增产物可分为长产物片断和短产物片断两部分，短产物片断的长度严格地限定在两个引物 5' 端之间，是需要扩增的特定片断，短产物片断和长产物片断是由于引物所结合的模板不一样而形成的，以一个原始模板为例，在第一个反应周期中，以两条互补的 DNA 为模板，引物是从 3' 端开始延伸，其 5' 端是固定的，3' 端则没有固定的止点，长短不一，这就是“长产物片断”，进入第二周期后，引物除与原始模板结合外，还要同新合成的链（即“长产物片断”）结合，引物在与新链结合时，由于新链模板的 5' 端序列是固定的，这就等于这次延伸的片断 3' 端被固定了止点，保证了新片断的起点和止点都限定于引物扩增序列以内，形成长短一致的“短产物片断”，不难看出“短产物片断”是指数倍数增加，而“长产物片断”则以算术倍数增加，几乎可以忽略不计，这使 PCR 的反应产物不需要再纯化，就能保证足够纯 DNA 片断供分析与检测用。

一、PCR 反应体系与反应条件

(一) PCR 反应体系

标准的 PCR 反应体系如下：

10 × 扩增缓冲液	10 μL
4 种 dNTP 混合液	各 200 μmol/L
引物 1	10 ~ 100 pmol
引物 2	10 ~ 100 pmol
模板 DNA	0.1 ~ 2 μg
加双蒸馏水或三蒸馏水至	100 μL
TaqDNA 聚合酶 (MgCl ₂ 1.5 mmol/L)	2.5 U

(二) PCR 反应五要素

参加 PCR 反应的物质主要有五种即引物、酶、dNTP、模板和 Mg²⁺。

1. 引物 是 PCR 特异性反应的关键，PCR 产物的特异性取决于引物与模板 DNA 互补的程度。

理论上，只要知道任何一段模板 DNA 序列，就能按其设计互补的寡核苷酸链做引物，将模板 DNA 在体外大量扩增，设计引物应遵循以下原则。

(1) 引物长度：15 ~ 30 bp，常用为 20 bp 左右。

(2) 引物扩增跨度：以 200 ~ 500 bp 为宜，特定条件下可扩增长至 10 kb 的片断。

(3) 引物碱基：G + C 含量以 40% ~ 60% 为宜，G + C 太少扩增效果不佳，G + C 过多易出现非特异性条带。ATGC 最好随机分布，避免 5 个以上的嘌呤或嘧啶核苷酸排列。

(4) 避免引物内部出现二级结构，避免两条引物间互补，特别是 3' 端的互补，否则会形成引物二聚体，产生非特异的扩增条带。

(5) 引物 3' 端的碱基，特别是最末及倒数第二个碱基，应严格按要求配对，以避免因末端碱基不配对而导致 PCR 失效。

(6) 引物中有合适的酶切位点，被扩增的靶序列最好有适宜的酶切位点，这对酶切分析或分子克隆很有好处。

(7) 引物的特异性：引物应与核酸序列数据库的其他序列无明显同源性。

(8) 引物量：每条引物的浓度 0.1 ~ 1 μmol 或 10 ~ 100 pmol，以最低引物量产生所需要的结果为好，引物浓度偏高会引起配错和非特异性扩增，且可增加引物之间形成二聚体的机会。

2. 酶及其浓度 目前有两种 TaqDNA 聚合酶供应，一种是从栖热水生杆菌中提纯的天然酶，另一种为大肠杆菌合成的基因工程酶，催化一典型的 PCR 反应约需酶量 2.5 U（指总反应体积为 100 μL 时），浓度过高可引起非特异性扩增，浓度过低则合成产物量减少。

3. dNTP 的质量与浓度 dNTP 的质量、浓度与 PCR 扩增效率有密切关系，dNTP 粉呈颗粒状，如保存不当，易变性而失去生物学活性。

dNTP 溶液呈酸性，使用时配成高浓度后，用 NaOH 将其 pH 调节到 7.0 ~ 7.5，小量分