

全国卫生专业技术资格考试专家委员会 • 编写

2004

# 卫生专业技术资格 考试指导

临床医学检验(上)

山东大学出版社

全国卫生专业技术资格考试专家委员会 编写

2004

# 卫生专业技术资格考试指导

## 临床医学检验（上）

### 编委会名单

夏铁安	胡翊群	王清涛	熊立凡	丁 磊
马纪平	王小林	王也飞	王志国	王建中
冯珍如	许淑珍	闫存玲	孙立颖	杨铁生
罗春丽	秦晓光	倪 麟	徐国宾	黎斌斌
关薇薇				

山东大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床医学检验 / 全国卫生专业技术资格考试专家委员会编写 . — 济南 : 山东大学出版社 , 2004. 2

( 卫生专业技术资格考试指导 )

ISBN 7-5607-2737-9

I . 卫 … II . 全 … III . 临床医学检验 - 医药卫生人员  
- 资格考核 - 自学参考资料 IV : R446

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 006391 号

孙立强 王志刚 王立伟 刘春国 张晓东  
王中平 王国志 王广山 王林 小王 平昌平  
王玉海 王立群 王春国 张晓东 刘春国  
王立群 王国强 王晓东 张晓东 刘春国  
王立群 王国强 王晓东 张晓东 刘春国

山东大学出版社出版

( 山东省济南市山大南路 27 号 邮政编码 : 250100 )

河北省〇五印刷厂印装

787 毫米 × 1092 毫米 1/16 93.5 印张 2050 千字

2004 年 2 月第 1 版 2004 年 2 月第 1 次印刷

定价 : 190.00 元 ( 上、下 )

版权所有，盗版必究

凡购本书，如有缺页、倒页、脱页，由本社医学部负责调换

# 出版说明

为贯彻国家人事部、卫生部《关于加强卫生专业技术职务评聘工作的通知》等相关文件的精神,自2001年全国卫生专业初、中级技术资格以考代评工作正式实施。通过考试取得的资格代表了相应级别技术职务要求的水平与能力,作为单位聘任相应技术职务的必要依据。

为了帮助广大考生做好考前复习工作,特组织国内有关专家、教授编写了《卫生专业技术资格考试指导》临床医学检验部分。本书是在保持2001~2003版《卫生专业技术资格考试指南》权威性、科学性和针对性的基础上,结合近三年的考试情况修订而成。修订的原则是以相应技术资格评审条件为基本依据,根据考试大纲中的具体要求,参考国内外权威著作,将考试大纲中的各知识点与学科的系统性结合起来,以便于考生理解、记忆。

本书包括了临床化学、临床血液学、临床检验基础、临床免疫学、临床微生物学、寄生虫学和实验室质量管理七个部分,涵盖了基础知识、相关专业知识、专业知识、专业实践能力4个考试科目的复习范围。其中融入了许多近些年发展起来的新知识、新技术,也不失为检验医学工作者的一本很好的参考书。

临床医学检验技术专业初级(士)、初级(师)资格考试范围包括临床化学、临床血液学、临床检验基础、临床免疫学、临床微生物学、寄生虫学和实验室质量管理七个部分;临床医学检验技术专业中级资格(主管技师)、临床医学检验主治医师资格考试范围包括临床化学、临床血液学、临床检验基础、临床免疫学、临床微生物学和实验室质量管理六个部分。

本书将临床医学检验技术专业(技师系列职称)初、中级资格以及临床医学检验专业(医师系列)中级资格考试涉及的内容合编在一起,但由于篇幅有限,不能将所有知识点在此进行详尽叙述,请根据各级别、专业大纲要求,以本书为基础,参考相关教材进行复习。

检验医学是一门将临床医学和实验技术相结合,在实验室内通过对各种项目的检验,对疾病的预防、诊断、疗效和预后判断提供重要信息的学科。这一学科涉及物理、化学、病理生理学、生物化学、免疫学、微生物和寄生虫学等多门基础学科,也涉及内、外、妇、儿等多个临床学科,其本身是一门与多学科相关的交叉性、边缘性医学学科。对于实验技术的主要考核内容包括各种检测的基本原理、实验设计、检测的注意事项;对于医学知识,主要考核病理生理学因素对各种实验室检测项目的影响及与实验诊断相关的疾病的诊断和鉴别诊断。建议考生在临床医学检验的实践活动中,要特别注意不断加强检验医学基础知识、专业知识和专业相关知识的学习与积累,这样才能打下扎实的基础。

本书编者认真地研究了考试大纲,并反复讨论、修改、校对编写内容,力求能满足考生及检验工作者复习和参考的需要,但由于时间比较仓促,缺点和错误在所难免,敬请读者批评指正,以便再版时更臻完善。

# 目 录 上 册

临床医学检验专业资格考试指导 ..... 1

## 第一篇 临床基础检验 ..... 3

第一章 血液一般检查 ..... 3
第二章 血型和输血 ..... 24
第三章 尿液分析 ..... 36
第四章 人绒毛膜促性腺激素检查 ..... 51
第五章 粪便检查 ..... 53
第六章 胃液检查 ..... 58
第七章 脑脊髓液检查 ..... 61
第八章 浆膜腔穿刺液检查和关节腔穿刺液检查 ..... 66
第九章 精液检查 ..... 70
第十章 前列腺液检查 ..... 74
第十一章 阴道分泌物检查 ..... 76
第十二章 痰液检查 ..... 78
第十三章 羊水检查 ..... 81
第十四章 脱落细胞学检查 ..... 83
第十五章 细针吸取细胞学检查 ..... 86

## 第二篇 临床血液检验 ..... 87

第一章 绪论 ..... 87
第二章 造血与血细胞分化发育 ..... 88
第三章 骨髓细胞学检查的临床意义 ..... 90
第四章 血细胞化学染色的临床应用 ..... 93
第五章 血细胞超微结构检查的临床应用 ..... 102
第六章 血细胞染色体检查的临床应用 ..... 109
第七章 贫血概述 ..... 111
第八章 溶血性贫血的实验诊断 ..... 113
第九章 红细胞膜缺陷性贫血及其实验诊断 ..... 116
第十章 红细胞酶缺陷性贫血及其实验诊断 ..... 118
第十一章 血红蛋白异常所致的贫血及其实验诊断 ..... 120
第十二章 自身免疫性溶血性贫血及其实验诊断 ..... 123

第十三章	铁代谢障碍性贫血及其实验诊断	125
第十四章	脱氧核苷酸合成障碍性贫血及其实验诊断	128
第十五章	造血功能障碍性贫血	129
第十六章	白血病概述	131
第十七章	急性淋巴细胞白血病及其实验诊断	135
第十八章	急性髓细胞白血病	136
第十九章	慢性白血病	142
第二十章	少见类型白血病	144
第二十一章	骨髓增生异常综合征及其实验诊断	147
第二十二章	恶性淋巴瘤及其实验诊断	149
第二十三章	浆细胞病及其实验诊断	151
第二十四章	骨髓增生性疾病及其实验诊断	153
第二十五章	恶性组织细胞病及其实验诊断	156
第二十六章	其他白细胞疾病及其实验诊断	158
第二十七章	类脂质沉积病及其实验诊断	161
第二十八章	血管壁异常所致疾病及其实验诊断	162
第二十九章	血小板异常所致疾病及其实验诊断	165
第三十章	凝血因子异常所致出血性疾病的实验诊断	169
第三十一章	血栓性疾病及其实验诊断	175
第三十二章	抗栓与溶栓治疗的实验室监测	183
<b>第三篇</b>	<b>临床化学检验</b>	<b>185</b>
第一章	绪论	185
第二章	糖代谢紊乱及糖尿病的检查	186
第三章	脂代谢及高脂蛋白血症	211
第四章	血浆蛋白质检查	224
第五章	诊断酶学	231
第六章	体液平衡紊乱及其检查	243
第一节	机体水及电解质平衡理论、重要电解质的检查方法、参考值及临床意义	243
第二节	血气及酸碱平衡紊乱的理论、检查指标、参考值及临床意义	250
第三节	血气分析技术	258
第七章	钙、磷、镁代谢与微量元素	260
第八章	治疗药物浓度监测	267
第九章	心肌损伤的检查	271
第十章	肝胆疾病的实验室检查	275
第十一章	肾功能及早期肾损伤的检查	288

804	第十二章 胰腺疾病的检查 .....	303
851	第十三章 内分泌疾病的检查 .....	308
754	第十四章 临床化学常用分析技术 .....	327
754	第十五章 血清酶和代谢物检测技术 .....	332
754	第十六章 临床化学自动分析仪 .....	338
	第十七章 标本、试剂、量器常识 .....	339
	<b>第四篇 免疫学检验</b> .....	<b>344</b>
104	第一章 基本概念 .....	344
115	第二章 抗原 .....	346
104	第三章 免疫球蛋白与抗体 .....	348
121	第四章 补体系统 .....	352
121	第五章 免疫系统 .....	355
004	第六章 细胞因子 .....	358
004	第七章 主要组织相容性复合体 .....	361
174	第八章 免疫应答 .....	363
154	第九章 免疫炎症 .....	366
224	第十章 抗原抗体反应 .....	368
174	第十一章 免疫原和抗血清的制备 .....	371
174	第十二章 单克隆抗体的制备 .....	373
024	第十三章 沉淀反应 .....	375
124	第十四章 凝集反应 .....	378
124	第十五章 免疫溶血反应与补体结合试验 .....	380
104	第十六章 酶免疫技术 .....	382
202	第十七章 放射免疫分析 .....	385
210	第十八章 免疫荧光技术 .....	387
123	第十九章 发光免疫技术 .....	389
222	第二十章 金免疫技术 .....	391
231	第二十一章 免疫细胞的分离与保存 .....	393
232	第二十二章 淋巴细胞标志和功能检测 .....	395
222	第二十三章 吞噬细胞的检测 .....	398
232	第二十四章 细胞因子的检测 .....	399
240	第二十五章 变态反应病的检测 .....	401
240	第二十六章 自身免疫性疾病的检测 .....	405
225	第二十七章 免疫增殖病的检测 .....	410
222	第二十八章 免疫缺陷病的检测 .....	412
222	第二十九章 感染性疾病的检测 .....	415

第三十章	肿瘤标志物的检测	418
第三十一章	移植免疫的检验	422
第三十二章	免疫学检验的质量管理	425
<b>第五篇 微生物学检验</b>		<b>427</b>
第一章	绪论	427
第二章	细菌的形态与结构	430
第三章	细菌的生理	435
第四章	细菌的分布	440
第五章	外界因素对细菌的影响	442
第六章	细菌的遗传与变异	446
第七章	微生物的致病性与感染	451
第八章	细菌的分类与命名	458
第九章	细菌形态学检查法	460
第十章	微生物学检验概述	466
第十一章	培养基	471
第十二章	细菌的培养与分离技术	472
第十三章	细菌的生物化学试验	475
第十四章	血清学试验	477
第十五章	动物实验	478
第十六章	菌种保存与管理	480
第十七章	细菌检验的自动化、微型化设备	482
第十八章	病原性球菌及检验	483
第十九章	肠杆菌科及检验	491
第二十章	弧菌科及检验	505
第二十一章	弯曲菌属和幽门螺杆菌及检验	510
第二十二章	厌氧性细菌及检验	513
第二十三章	需氧/或兼性厌氧革兰阳性杆菌及检验	525
第二十四章	分支杆菌属及检验	531
第二十五章	非发酵菌及检验	535
第二十六章	其他革兰阴性杆菌及检验	538
第二十七章	衣原体及检验	542
第二十八章	立克次体及检验	546
第二十九章	支原体及检验	549
第三十章	病原性放线菌及检验	552
第三十一章	螺旋体及检验	555
第三十二章	病毒感染的实验诊断	558

第三十三章	真菌检验	571
第三十四章	临床标本微生物学检验概述	578
第三十五章	细菌对药物的敏感试验	583
第三十六章	临床细菌检验的质量	592
第三十七章	医院感染	595
第三十八章	临床微生物自动化检测鉴定和药敏分析系统	598
<b>第六篇 寄生虫学及检验</b>		<b>600</b>
第一章	总论	600
第二章	医学蠕虫	602
第三章	医学原虫	609
第四章	医学节肢动物	613
第五章	实验检验技术	616
<b>第七篇 临床实验室质量管理学</b>		<b>619</b>
第一章	绪论	619
第二章	误差	621
第三章	准确度及精密度	624
第四章	有效数字	627
第五章	基本统计学	629
第六章	室内质量控制	632
第七章	室间质量评价	666
第八章	临床检验方法学评价	683
第九章	实验室认可	694
第十章	临床实验室安全	698
<b>下册</b>		
<b>临床医学检验专业资格考试精选习题解析</b>		<b>701</b>
<b>临床医学检验专业资格考试题集</b>		<b>719</b>
练习题		721
技士资格		721
技师资格		734
主管技师资格		749

112	主治医师资格	769
122	模拟试卷(一)技士资格	790
132	基础知识	790
142	相关专业知识	798
152	专业知识	806
162	专业实践能力	814
172	答案	822
182	模拟试卷(二)技师资格	826
192	基础知识	826
202	相关专业知识	835
212	专业知识	843
222	专业实践能力	853
232	答案	862
242	模拟试卷(三)主管技师资格	866
252	基础知识	866
262	相关专业知识	875
272	专业知识	884
282	专业实践能力	894
292	答案	904
302	模拟试卷(四)主治医师资格	908
312	基础知识	908
322	相关专业知识	917
332	专业知识	927
342	专业实践能力	937
352	答案	946
362	模拟试卷(五)技士资格	950
372	基础知识	950
382	相关专业知识	960
392	专业知识	968
402	专业实践能力	975
412	答案	983
422	模拟试卷(六)技师资格	987
432	基础知识	987
442	相关专业知识	996
452	专业知识	1006
462	专业实践能力	1013
472	答案	1021
482	模拟试卷(七)主管技师资格	1025

基础知识 .....	1025
相关专业知识 .....	1036
专业知识 .....	1044
专业实践能力 .....	1053
答案 .....	1061
模拟试卷(八)主治医师资格 .....	1065
基础知识 .....	1065
相关专业知识 .....	1075
专业知识 .....	1083
专业实践能力 .....	1094
答案 .....	1103
2001 年考试试题 技士资格 .....	1107
基础知识 .....	1107
相关专业知识 .....	1120
专业知识 .....	1133
专业实践能力 .....	1146
2001 年考试试题 技师资格 .....	1159
基础知识 .....	1159
相关专业知识 .....	1171
专业知识 .....	1184
专业实践能力 .....	1198
2001 年考试试题 主管技师资格 .....	1211
基础知识 .....	1211
相关专业知识 .....	1224
专业知识 .....	1237
专业实践能力 .....	1250
2001 年考试试题 主治医师资格 .....	1263
基础知识 .....	1263
相关专业知识 .....	1276
专业知识 .....	1290
专业实践能力 .....	1304
 临床医学检验专业资格考试大纲 .....	1319
技士资格考试大纲 .....	1321
技师资格考试大纲 .....	1351
主管技师资格考试大纲 .....	1387
主治医师资格考试大纲 .....	1425

# 临床医学检验专业 资格考试指导



# 第一篇 临床基础检验

## 第一章 血液一般检查

### 一、采血、抗凝及血标本保存

#### 1.耳垂及指端采血的应用评价

##### (1)毛细血管采血法

1)耳垂采血:①优点:痛感较轻、操作方便,适用于反复采集;②缺点:耳垂外周血液循环较差,血细胞容易停滞,受气温影响较大,实验结果不够恒定。红细胞、白细胞、血红蛋白和血细胞比容结果均比静脉血高,特别是冬季波动幅度更大。

2)手指采血:①优点:操作方便,可获较多血量,检测结果比较恒定;婴幼儿手指太小,可用拇指或足跟采血;②缺点:指血与静脉血标本存在着差异;严重烧伤患者,应选择皮肤完整处采血。

耳垂和指端采血均应注意穿刺的足够深度,切忌用力挤压,以免混入组织液,影响检验结果的准确性。

##### (2)采血方法

1)采血部位:WHO 推荐采血部位以左手中指或无名指尖内侧为宜。

2)采血步骤:采血时轻轻按摩采血部位,使中指或无名指尖自然充血,消毒局部皮肤后,操作者用左手拇指和示指适度捏紧刺血部位,右手持消毒采血针自指尖内侧迅速刺入2~3mm,以稍加挤压血液能流出为宜。切忌用力挤压,以免混入大量组织液,使血液稀释或促使血液凝固。用消毒干棉球拭去第1滴血后,按需要依次采血,采血完毕,用消毒干棉球压住伤口片刻即可。

3)注意事项:①采血部位不能有冻疮、发绀、水肿、炎症等。②皮肤消毒后,一定要待乙醇挥发干后采血。③严格按照无菌技术操作。④采血针刺入深度以2~3mm为宜。⑤进行多项检查时,采取标本的顺序为:血小板计数、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数等。

#### 2.静脉采血、抗凝剂选择与剂量

##### (1)静脉采血

1)方法:患者静卧位或坐位,消毒穿刺处皮肤后,扎上压脉带,嘱患者握紧拳头,暴露静脉。操作者以左手拇指固定静脉穿刺部位的下端,右手持注射器,针头斜面和针筒刻度向上(如属真空定量采血试管可不顾及此),先以约与皮肤成30°角的位置迅速刺破皮肤,然后适当降低角度穿破静脉壁进入静脉腔中,见回血后,将针头顺势深入少许,以免采血

时针头滑出,但不可用力深刺,以免穿破静脉造成血肿。用右手手指将针头固定,左手缓缓抽动注射器内芯至所需血量,解开压脉带,嘱患者松拳,用无菌干棉球压住伤口,拔出针头。取下针头后,将血液沿试管壁缓缓注入容器中,防止产生泡沫。待血液自行凝固,收缩后即可分离出草黄色透明血清,如需全血或血浆,则将血液注入事先准备好的抗凝管中,轻轻混匀防止凝固,即为抗凝全血,经离心后即可分离出草黄色血浆。血清和血浆的主要差别是血清中没有纤维蛋白原。

2)注意事项:①如患者进针时或采血后发生眩晕,应立即拔出针头,让其平卧休息,必要时可给患者嗅吸芳香氨酚、针刺(或拇指压掐)人中和合谷、静脉注射葡萄糖或口服糖水。如有其他情况,应立即找医生共同处理。②防止血标本溶血。造成溶血的原因有:注射器和容器不干燥、不清洁;压脉带捆扎时间太长,淤血过久;穿刺不顺损伤组织太多;抽血速度太快;血液注入容器时未取下针头或用力推出产生大量气泡;抗凝血用力振荡;离心机速度过快等。③避免淤血和浓缩:压脉带压迫时间最好不超过30min。④抽血时,只能向外抽,不能向静脉内推,避免空气注入形成气栓,造成严重后果。

(2)抗凝剂的选择:抗凝剂种类很多,必须根据检验目的作不同选择。

1)乙二胺四乙酸(EDTA)盐:EDTA有二钠、二钾和三钾盐(均可与血液中的钙离子结合形成螯合物,从而阻止血液凝固)通常配成15g/L水溶液,每瓶0.4ml,干燥后可抗凝5ml血液。EDTA盐对红、白细胞形态的影响很小。国际血液学标准化委员会建议,血细胞计数用 $\text{EDTA-K}_2$ 作抗凝剂,用量 $\text{EDTA-K}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , $1.5\sim 2.2\text{ mg / ml}$ 血液。 $\text{EDTA-Na}_2$ 与 $\text{EDTA-K}_2$ 对血细胞计数,尤其是血小板计数影响均较小,但前者溶解度明显低于后者,有时影响抗凝效果。其他抗凝剂不适合于血细胞计数。EDTA影响血小板聚集,故不适于作凝血象检查和血小板功能试验。

2)枸橼酸钠:枸橼酸钠有枸橼酸钠三钠和二钠等多种晶体,与血液中的钙离子形成可溶性螯合物,从而阻止血液凝固。通常用枸橼酸钠三钠配成 $109\text{ mmol/L}$ ( $32\text{ g/L}$ )水溶液(或用 $106\text{ mmol/L}$ 的浓度),与血液按 $1:9$ 或 $1:4$ 体积比例使用,条件是血细胞比容须正常(Hct在 $40\% \sim 50\%$ )的血液。贫血(Hct< $20\%$ )或红细胞增多症患者(Hct> $70\%$ ),如仍按 $1:9$ 的比例加入抗凝剂时,就会发生抗凝剂不足或相对过多。因此,有人建议抗凝剂用量( $m_1$ )= $0.00185 \times \text{血量}(\text{ml}) \times (100 - \text{患者血细胞比容}\%)$ 这一公式来计算实际抗凝剂的需要量。枸橼酸钠可减低、减缓凝血V因子活性,故常用于凝血象检查、红细胞沉降率测定。又因其毒性小,故又是血液保养液成分之一。

3)草酸钠:草酸钠可与血液中的钙离子形成草酸钙沉淀,从而阻止血液凝固。通常用 $0.1\text{ mol/L}$ 浓度,与血液按 $1:9$ 比例使用。草酸钠过去主要用于凝血象检查,但草酸盐对凝血V因子保护功能差,影响凝血酶原时间测定效果;草酸盐与钙结合形成的沉淀物,影响自动凝血仪的使用。因此,凝血象检查宜选用枸橼酸钠为抗凝剂。

4)肝素:肝素可加强抗凝血酶III(AT-III)灭活丝氨酸蛋白酶、阻止凝血酶形成,对抗凝血酶和阻止血小板聚集等多种作用。每毫升血液抗凝需要肝素 $15 \pm 2.5\text{ IU}$ 。肝素虽是红细胞脆性试验理想的抗凝剂,但可引起白细胞聚集并使血涂片染色时产生蓝色背景,因此,不适于血液学一般检查。

3.真空采血法 又称为负压采血法。国内已生产专供医学检验使用的真空采血装置,

有套筒式和头皮静脉式两种。真空采血为封闭式，血标本运转方便，特别适用于病房和野外流动采血；可避免对医护人员的感染和病人血标本间的交叉感染；可减少溶血现象，能完好保持待验血标本的原始性状，使检验结果更近真实，为临床医学诊断提供可靠依据。传统非封闭(开放)式采血，由于操作环节多、难于规范统一，在移液及丢弃注射器时可能造成血液污染；血标本暴露，易受空气中尘埃、微生物和二氧化碳等异物的污染。

各种真空定量贮存抗凝试管，根据需要标有不同的色码备用，适于不同的检验项目（表 1-1）。

表 1-1 真空采血容器色泽及应用范围

颜 色	抗 凝 剂	应 用 范 围
灰	草酸盐、氟化钠	全血、血浆，抑制糖原分解的酶
黄		消毒容器
绿	肝素	全血、血浆
红		血清、血浆
蓝	枸橼酸盐	全血、血浆，凝血一般检查
紫	乙二胺四乙酸盐	全血、血浆
		钾盐用于血细胞、血小板和血液学检查

4. 血标本保存 血液标本采集后应立即送检，实验室接到标本后应尽快进行检查。如不能及时检测，则血液标本的保存条件非常重要，不适当的保存直接影响实验结果。如血浆置于 4℃ 冰箱内保存 24h 后，凝血因子活性仅为采血后即刻实验结果的 5% (减少 95%)；供血液分析仪进行细胞计数的血液，只能在室温下保存，因低温 (4℃) 保存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。

## 二、涂片、染色

1. 血涂片制备要求及注意事项 涂片好坏与血滴大、推片角度、推片时速度有关。血滴愈大，角度愈大推片速度愈快，则血膜愈厚，反之血膜愈薄，如果推片不光滑，血膜则成毛刷状，推片用力不均匀，血膜呈断续的搓板状，载玻片不清洁，血膜中则有气泡，血量过多，血膜无尾。

一张良好血涂片的标准是：厚薄适宜、头体尾分明、细胞分布均匀、血膜边缘整齐、两边和两端留有空隙各 0.3cm 和 0.5cm，血膜长度占载玻片的 2/3 左右。

### 2. 瑞氏染色

(1) 染液配制要求：瑞氏 (Wright) 染料为酸性染料伊红和碱性染料亚甲蓝 (又名美蓝) 组成的复合染料。通常美蓝为氯盐，容易氧化为一、二、三甲基硫堇等次级染料 (即天青)，伊红为钠盐。美蓝和伊红水溶液混后，产生一种憎液性胶体伊红化美蓝的中性沉淀，即瑞氏染料。

瑞氏染粉 0.1g，甲醇 (AR) 60.0ml。使染料溶解，将已溶解的染料倒入棕色试剂瓶中，未溶解的再加入少量甲醇研磨，直至染料溶完，甲醇全部用完为止。配好后放室温，1 周后即可使用。新配染液效果差，放置时间越长，染色效果越好。染液中可加入中性甘油 3ml，

防止染色中甲醇过早挥发,还可使细胞着色清晰。新配制的染液染色效果差,放置愈久,天青愈多,染色效果愈好。

(2)缓冲液:pH应恒定在6.4~6.8;以维持稳定的酸碱环境,降低甲醇对染料的溶解度,促进细胞受色。

### 3.血涂片瑞氏染色原理、过程及注意事项

(1)瑞氏染色原理

1)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。因此,染色后,在同一血片上,可以呈现各种不同的色彩。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;细胞核蛋白和淋巴细胞胞浆为酸性,与碱性染料美蓝或天青结合,染紫色或蓝色,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,称为中性物质。

2)染色液:pH对细胞染色的影响:细胞许多成分均为蛋白质,由于蛋白质为两性电解质,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,染色偏红;在偏碱性环境中负电荷增多,易与美蓝或天青结合,染色偏蓝。因此,血涂片染色用的玻片必须清洁,配制瑞氏染液必须用优质甲醇,稀释染液必须用缓冲液,冲洗染片必须用中性水。

(2)染色过程:在清洁干燥的血涂片血膜上,先加瑞氏染液,覆盖整个血膜约1min,再滴加等量的缓冲液,两液充分混匀,染色5~10min后,流水冲去染液,待干后镜检。

(3)注意事项:染色前血涂片必须干透;染色时间与染液浓度、室温成反比,而与细胞数量成正比;不能先倒去染液再流水冲洗,必须一开始就用缓慢的流水冲尽染液,以免染料沉淀;冲洗完的血片应沥干水分。

### 4.瑞-吉氏复合染色法

#### (1)吉姆萨(Giemsa)染液配制

1)贮存染液:Giemsa染粉0.5g;甲醇(AR)33.0ml;纯甘油33.0ml。先将Giemsa粉置于甘油中,60℃水浴2h使其溶解,然后加入60℃预热的甲醇,混合后置棕色瓶内数天,方能使用。

2)染色方法:①将干燥血膜用甲醇固定3~5min。②贮存染液用缓冲液(pH6.8PBS)稀释10~20倍,将固定后的血膜片浸染10~30min。③取出后用流水冲洗待干后镜检。

(2)瑞-吉复合染色法特点:吉姆萨染色原理与瑞特染色法基本相似,但吉姆萨法对细胞核和寄生虫着色较好,结构显示更为清晰,而胞质和中性颗粒则着色较瑞特染色差。因此,瑞-吉复合染色法,以稀释的吉姆萨染液代替缓冲液,按瑞氏染色法染色或先用瑞氏染色法染色后,再用稀释吉姆萨液复染,则具有两者染色的长处。

## 三、显微镜细胞计数法

1.改良Neubauer计数板构造 计数板可分为两个计数室。在计数室两侧各有一条支柱,比计数室高出0.10mm。将血细胞计数专用盖玻片覆盖其上时,盖玻片底面与计数室表面形成0.1mm的缝隙。

每个计数室边长均为3mm,划成9个大方格,其长宽均为1.0mm,面积为1mm<sup>2</sup>。加上