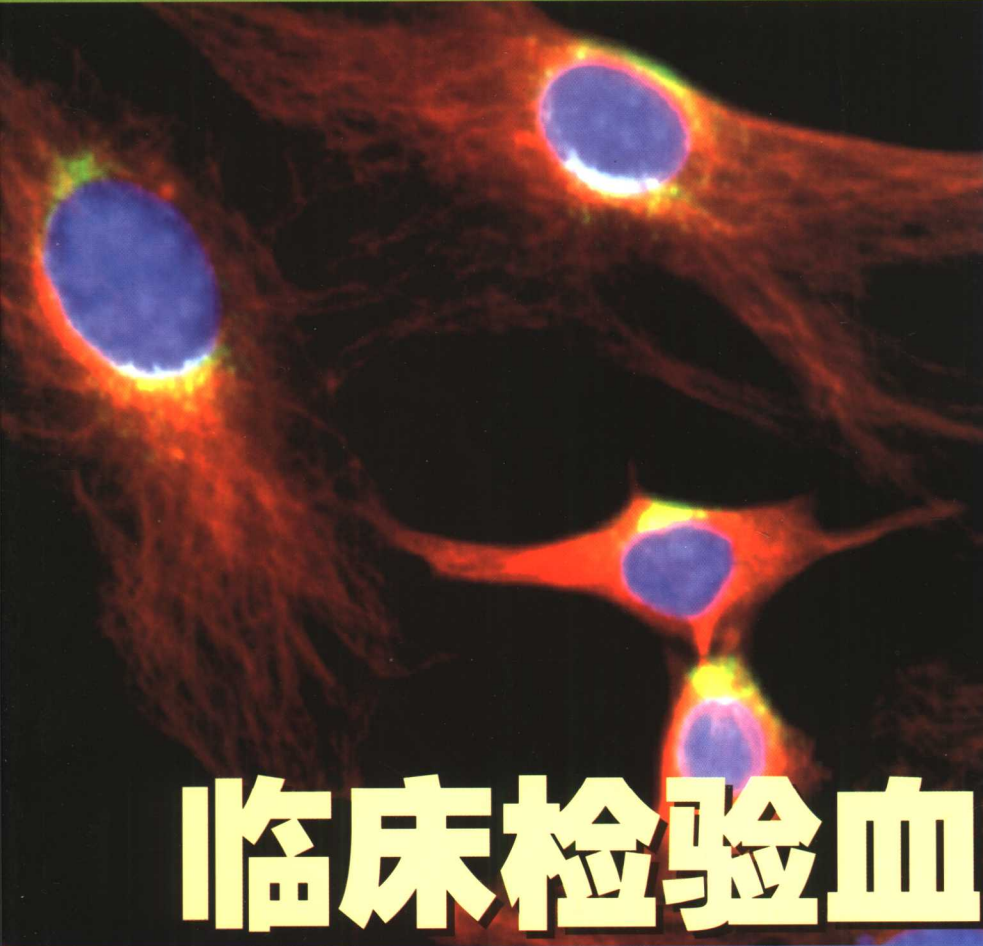




普通高等教育“十一五”国家级规划教材

全国高等学校医学规划教材（供医学检验等专业用）



临床检验血液学

实验指导

主编 冯文莉



高等教育出版社
Higher Education Press



普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等学校医学规划教材

(供医学检验等专业用)

临床检验血液学 实验指导

主 编 冯文莉



高等教育出版社
Higher Education Press

内容简介

《临床检验血液学实验指导》共八章,分上、中、下三篇。上篇是临床检验血液学验证性实验,重点介绍骨髓细胞形态学和细胞化学染色检查法、贫血的形态学和部分病因学检验、白血病的细胞学检验和常用血栓与止血检验方法。中篇是临床检验血液学综合性和设计性实验,选择了造血检验、红细胞疾病检验、白细胞疾病检验和血栓与止血障碍性疾病检验中的代表性实验。下篇是临床检验血液学自动化仪器应用与质量控制部分,主要介绍常见血液学自动化仪器在血液系统疾病检验中的应用和止血与血栓检验方法的质量控制等内容。本书除保持传统实验教材的优点外,结合本学科领域现代化仪器的进展以及学生创新能力和实践能力的培养要求,重点增加了综合性和设计性实验和临床检验血液学自动化仪器应用与质量控制的内容,选择的实验尽量贴近临床的实际应用。书后附有常见血液疾病骨髓检查图文报告单,随书还配有血液学典型实验的真人规范化演示视频材料。

实验教材编写整体风格有特色,内容新颖,重点突出,既适于教师讲授,也便于学生学习,体现了很强的实用性。可作为高等医药院校医学检验本科及相关专业学生的实验教材,同时也可作为临床医学本科生、研究生、临床检验工作者、医学专业研究人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

临床检验血液学实验指导/冯文莉主编. —北京:高等教育出版社,2006.12

ISBN 7-04-020249-2

I. 临... II. 冯... III. 血液检查-医学院校-教学参考资料 IV. R446.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 146467 号

策划编辑 刘晋秦 责任编辑 刘晋秦 封面设计 张楠 责任绘图 朱静
版式设计 张岚 责任校对 王超 责任印制 陈伟光

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100011
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 北京市白帆印务有限公司

开 本 850×1168 1/16
印 张 13.25
字 数 430 000
插 页 12

购书热线 010-58581118
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2006 年 12 月第 1 版
印 次 2006 年 12 月第 1 次印刷
定 价 30.30 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 20249-00

《临床检验血液学实验指导》编写委员会

(以姓氏笔画为序)

王小中	南昌大学医学院
王霄霞	温州医学院
冯文莉	重庆医科大学
张 伶	重庆医科大学
杨志刚	广东医学院
周丽艳	佳木斯大学临床医学院
赵谢兰	中南大学湘雅医学院
崔宇杰	天津医科大学

全国高等学校医学规划教材(供医学检验等专业用)

编写指导小组名单

组 长 涂植光 重庆医科大学

成 员 (排名不分先后)

樊琦诗	上海交通大学医学院
刘新光	广东医学院
刘 辉	大连医科大学
邹 雄	山东大学医学院
徐克前	中南大学湘雅医学院
刘运德	天津医科大学
李 萍	四川大学华西临床医学院
毕胜利	北华大学医学院
许文荣	江苏大学医学技术学院
周 新	武汉大学医学院
张进顺	河北北方学院
刘成玉	青岛大学医学院
张学宁	昆明医学院
童明庆	南京医科大学
杨国珍	贵阳医学院
章 尧	蚌埠医学院
尹一兵	重庆医科大学
钱士匀	海南医学院
蒲晓允	第三军医大学
吕建新	温州医学院
胡建达	福建医科大学
陈芳梅	广西卫生干部管理学院
张纯洁	四川省卫生干部管理学院
宁 勇	湖北中医学院

秘 书 尹一兵

编者的话

医学检验(laboratory medicine)又称检验医学,是细胞病理学、化学病理学、分子病理学与临床医学有机结合,以生物分析化学、分子生物学、免疫学、病原生物学、细胞学技术、生物信息学等为技术支撑的交叉学科。其任务是为疾病诊断、病情判断和治疗决策提供信息,为临床和科研提供实验室方法和数据。我国高等医学检验教育始于1983年,到2006年为止,已有70余所高等院校相继建立了医学检验本科专业。23年的探索发展历程中,其培养目标和要求已趋统一。教育部本科专业目录中对该专业的培养目标是:“具有基础医学、临床医学、医学检验等方面的基本理论知识和基本能力,能在各级医院、血站及防疫部门从事医学检验及医学类实验室工作的医学高级专门人才。”业务培养要求为:“本专业学生主要学习基础医学、临床医学、医学检验等方面的基本理论知识,受到医学检验操作技能系统训练,具有临床医学检验及卫生检验的基本能力。”

作为特殊的知识载体和教学基本要素的教材,必须体现服务于培养目标,遵循其培养人才的业务要求的基本属性。由国内18所有影响的院(校)医学检验系(学院)参与,进行的国家“十五”重点立项课题——“21世纪中国高等学校人才培养体系的创新与实践”子课题“21世纪中国高等学校医学检验专业课程体系与教学内容的创新与实践”中,将教材建设作为主要内容之一。在此教学改革研究的基础上,经过全国高等医学检验教育界同仁的努力,在高等教育出版社的大力支持下,编写出版了这套体现上述教学改革研究成果的高等医学检验专业教材。该套教材有以下特点:

1. 适应现代教育思想和观念,突出调动学生主动学习积极性,培育学生应用所学知识解决问题能力和创新精神。充分体现教学改革研究课题形成的办学模式、课程体系、教学内容和手段的改革成果。

2. 应用现代化教学手段,坚持教材的一体化建设,使教材成为教学全过程的资源库。该套教材除文字教材外,每本均附包括教学大纲、多媒体教案、模拟试题、案例分析、扩展知识和参考材料、典型实验规范化实验操作的视频材料等的教学光盘。既有利于教师组织教学,亦可为学生主动学习,进一步发展提供帮助,是一套真正的立体化教材。

3. 基于医学检验是以生物分析化学、分子生物学、免疫学、病原生物学、遗传学、细胞学技术、生物信息学等技术为支撑,而上述技术在各亚专业中均交叉应用。因此,本套教材单独编写了《基本检验技术及仪器学》一书,将医学检验涉及的通用性基本技术集中介绍。这既符合教育部对实验教学改革的要求,有利于学生在掌握基本技术后举一反三,也避免了各亚专业肤浅地重复介绍,更有利于学生能力和技能的培养。

4. 在借鉴国内外同类教材基础上,除坚持基本理论、基本知识、基本技能,思想性、科学性、先进性、启发性、适用性原则外,本套教材注重突出医学检验专业教材的特点。与现有同类教材相比,内容上除根据学科发展,进行了必要的增、减调整外,尤其注意避免片面追求理论系统性而大量、系统重复已学知识的弊病,根据专业特点,重点介绍检验项目的依据、怎样做和做好、项目的临床意义等。力求重点突出、深入浅出、图文并茂。每章前以Key Points概括了该章的知识要点,章末客观介绍了存在问题与发展趋势,并附有主要参考资料及网站,有利于学生主动学习,培养创新能力。这是本套教材的又一鲜明特点。

本文完成之际,欣悉本套教材有10本遴选入“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”,这是对本套教材的充分肯定和认可,也是对广大编写人员的鞭策和鼓励。

全国高等学校医学规划教材(供医学检验等专业用)编写指导小组

2006年9月

前 言

《临床检验血液学实验指导》是“21 世纪中国高等学校医学检验专业课程体系与教学内容的创新与实践”教学改革课题中教材建设与改革的组成部分,也是《临床检验血液学》理论教材的配套教材。参与编写的同志均为高等医药院校从事血液学临床和教学一线的高级职称教师。作为国家“十一五”规划教材,它的编写思路充分体现了现代教育思想和观念,内容比较贴近医学检验专业人才培养目标。整体编写风格除突出基础理论、基本知识及基本技能,注意内容的系统性、科学性、逻辑性外,主要特色体现在:

1. 新颖性 一是在内容编排、分类上突出新:全书分为上、中、下三篇;二是反映本学科领域的新进展和新技术,如造血干/祖细胞的培养与鉴定;珠蛋白生成障碍性贫血的基因诊断;白血病的 MICM 分型技术;流式细胞仪在血液学中的应用等;三是注重检验与临床相结合,同时将现代检验仪器学的进展引入血液学领域。

2. 创新性 增加了综合性、设计性实验内容,体现对现代大学生素质教育、创新能力和实践能力的培养。有利于引导学生主动学习的积极性,还注意启发和训练学生利用所学的知识在临床上开展新的实验项目的能力,注重其专业的可持续发展。

3. 先进性 充分应用现代化教学手段加强教材的一体化建设,使教材参与到教学的全过程。本教材配有血液学典型实验的真人规范化演示视频材料,附录中还提供了临床上常见血液病骨髓检查图文报告单,可供教师组织教学和学生学时参考。

4. 实用性 本教材编写前期经过了对国内近 20 余所院校医学检验专业的临床检验血液学实验教学现状的调研过程,按照与专业目标培养相符的教学大纲,摒弃既往教材编写中求多求全、在教学中欠实用的思想,吸取了同类教材的精华部分,选择了目前大多数医学检验专业教学正在开设的或临床一线直接应用的实验。一方面加深学生对理论基础知识的理解,加强学生对实验评价、影响结果的因素和诊断疾病的实验筛选等方面的学习;另一方面注重提高学生的临床思维及结合临床开展实验室检查的能力,能够达到老师上课好教、学生好用的目的。同时对学生毕业后的临床工作也有一定指导意义。

本书为第一版,由于水平和经验有限,不妥之处甚至错误在所难免,恳请同行专家、教师、学生和读者批评指正。

冯文莉

2006 年 6 月

郑 重 声 明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话：(010) 58581897/58581896/58581879

传 真：(010) 82086060

E - mail: dd@hep.com.cn

通信地址：北京市西城区德外大街 4 号

高等教育出版社打击盗版办公室

邮 编：100011

购书请拨打电话：(010)58581118

目 录

上篇 临床检验血液学验证性实验

第一章 造血细胞基本检验 3

第一节 骨髓细胞形态学检验 3

实验一 骨髓穿刺术 3

实验二 骨髓涂片制备及染色技术 5

实验三 骨髓红细胞系各期细胞形态观察 6

实验四 骨髓粒细胞系各期细胞形态观察 8

实验五 骨髓淋巴细胞系和浆细胞系各期细胞的形态观察 11

实验六 骨髓单核细胞系各期细胞形态观察 13

实验七 骨髓巨核细胞系各期细胞形态观察 14

实验八 骨髓其他细胞形态观察 15

实验九 骨髓涂片细胞形态学分析 17

第二节 血细胞化学染色检验 23

实验一 过氧化物酶染色 23

实验二 氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶染色 25

实验三 α -醋酸萘酚酯酶染色 27

实验四 过碘酸-希夫染色 28

实验五 中性粒细胞碱性磷酸酶染色 30

实验六 铁染色 33

第二章 红细胞疾病检验 35

第一节 贫血的形态学检查 35

实验一 缺铁性贫血血片及骨髓片观察 35

实验二 巨幼细胞性贫血血片及骨髓片观察 36

实验三 再生障碍性贫血血片及骨髓片观察 37

实验四 溶血性贫血血片及骨髓片观察 39

第二节 贫血的病因学检查 40

实验一 血清铁蛋白检测 40

实验二 血清(红细胞)叶酸检测 42

实验三 血清维生素 B₁₂ 检测 43

实验四 红细胞渗透脆性试验 44

实验五 高铁血红蛋白还原试验 45

实验六 G-6-PD 活性检测 46

实验七 血红蛋白电泳 47

实验八 抗碱血红蛋白检测 49

实验九 异丙醇沉淀试验 50

实验十 酸化血清溶血试验 51

实验十一 蔗糖溶血试验 52

第三章 白细胞疾病检验 54

第一节 白血细胞形态学检查 54

实验一 急性淋巴细胞白血病骨髓片及血片观察 54

实验二 急性粒细胞白血病未分化型骨髓片及血片观察 57

实验三 急性粒细胞白血病部分分化型骨髓片及血片观察 58

实验四 急性早幼粒细胞白血病骨髓片及血片观察 60

实验五 急性单核细胞白血病骨髓片及血片观察 61

实验六 急性红白血病骨髓片及血片观察 63

实验七 慢性粒细胞白血病骨髓片及血片观察 64

实验八 慢性淋巴细胞白血病骨髓片及血片观察 65

实验九 其他白血病骨髓片和血片观察 66

第二节 其他白细胞疾病细胞形态学检查 69

实验一 多发性骨髓瘤骨髓片及血片观察 69

实验二 骨髓增生异常综合征骨髓片及血片观察 71

实验三 类白血病反应骨髓片及血片观察 73

实验四 传染性单核细胞增多症骨髓片及

血片观察	74	实验二 活化部分凝血活酶时间测定	91
实验五 非霍奇金淋巴瘤骨髓片及 血片观察	76	实验三 凝血酶原时间测定	93
实验六 其他疾病骨髓片及血片观察	77	实验四 凝血酶时间测定	94
第四章 血栓与止血障碍性疾病的 检验	82	实验五 凝血因子活性检测	95
第一节 血管壁和内皮细胞检验	82	实验六 血浆纤维蛋白原含量检测	97
实验一 毛细血管脆性试验	82	第四节 抗凝物质检验	98
实验二 出血时间测定	83	实验一 抗凝血酶活性测定	98
实验三 血管性血友病因子检测	84	实验二 蛋白 C 测定	100
第二节 血小板检验	86	第五节 纤溶活性检验	102
实验一 血块收缩试验	86	实验一 优球蛋白溶解时间测定	102
实验二 血小板黏附试验	87	实验二 血浆组织型纤溶酶原活化剂 检测	103
实验三 血小板第 3 因子有效性检测	88	实验三 纤溶酶原活化抑制剂检测	106
实验四 血小板相关抗体检测	89	实验四 纤溶酶原检测	109
第三节 凝血因子检验	90	实验五 血浆硫酸鱼精蛋白副凝固试验	111
实验一 凝血时间测定	90	实验六 纤维蛋白(原)降解产物检测	111
		实验七 D-二聚体测定	112
中篇 临床检验血液学综合性和设计性实验			
第五章 临床检验血液学综合性 实验	117	紫癜的检验	151
实验一 小鼠粒-单核细胞系祖细胞的 培养和鉴定	117	第六章 临床检验血液学设计性 实验	156
实验二 溶血性贫血的检验	120	实验一 贫血的实验室诊断	157
实验三 急性白血病 MICM 分型诊断	133	实验二 白细胞疾病动物模型的 实验评价	158
实验四 特发性血小板减少性		实验三 DIC 动物模型的实验评价	159
下篇 临床检验血液学自动化仪器应用与质量控制			
第七章 血液学自动化仪器应用	163	实验一 血栓与止血检验方法常规的质量 控制	184
实验一 自动凝血仪在血液系统疾病中 的应用	163	实验二 抗凝治疗的监测与质量控制	188
实验二 血小板聚集仪在血液系统疾病中 的应用	165	实验三 溶血栓治疗的检测与质量 控制	189
实验三 血液流变仪在血液系统疾病中 的应用	167	附录一 血液学常用试剂配制	191
实验四 流式细胞仪在血液系统疾病中 的应用	171	附录二 参考书目	199
第八章 血栓与止血检验方法的质量 控制	184	附录三 常见血液学疾病骨髓细胞学 检查图文报告单	200
		附录四 血液学常用自动化仪器 彩图	220

上篇 临床检验血液学验证性实验

第一章 造血细胞基本检验

正常情况下,出生后造血主要在骨髓,其次是淋巴器官,包括胸腺、脾脏和淋巴结等。骨髓是出生后惟一产生红细胞、粒细胞和血小板的场所,也产生淋巴细胞和单核细胞。骨髓检查是造血细胞检验的主要方法之一,骨髓检查包括骨髓细胞形态学检查、骨髓细胞化学检查、骨髓组织学和组织化学检查,骨髓细胞免疫学检查、骨髓细胞遗传学检查和骨髓分子生物学检查等内容。随着单克隆抗体、流式细胞技术、细胞免疫标记技术、造血干/祖细胞培养技术、染色体显带技术、分子生物学及超微结构研究的发展,骨髓检查的内涵也在不断扩大,使其在血液病及相关疾病的诊断、鉴别诊断及治疗中占有越来越重要的地位。其中骨髓细胞形态学是骨髓检查中最常用、最基本的方法。造血细胞的形态学检验可以通过普通显微镜、相差显微镜、透射电镜、扫描电镜和荧光显微镜来了解骨髓中细胞的数量、分布、细胞的形态与结构等。

本章重点介绍应用普通光学显微镜对瑞氏染色和常用几种细胞化学染色的骨髓(或外周血)涂片的检验方法。

第一节 骨髓细胞形态学检验

通过普通显微镜对造血细胞形态学的检验,可以了解骨髓或外周血中各种血细胞的数量、形态,以及有无异常细胞及寄生虫等,从而确定或协助某些疾病的诊断,观察其疗效和判断预后。骨髓细胞形态学检查的主要临床应用是:①诊断某些造血系统疾病:各种类型的白血病、再生障碍性贫血、巨幼细胞性贫血、恶性组织细胞病、多发性骨髓瘤等,还有一些少见病如戈谢病、尼曼-匹克病、海蓝色组织细胞增生症也通过骨髓细胞学检查来确诊。并可通过复查骨髓象来评价疗效或判断预后;②协助诊断某些造血系统疾病:淋巴瘤骨髓浸润、骨髓增生异常综合征、骨髓增生性疾病、缺铁性贫血、溶血性贫血、脾功能亢进、原发性血小板减少性紫癜等;③提高某些非造血系统疾病的诊断率:恶性肿瘤骨髓转移、疟疾(可在骨髓中找到疟原虫)、系统性红斑狼疮(可找到狼疮细胞)、细菌感染(培养可找到细菌)、黑热病(可找到黑热病小体)。骨髓细胞形态学是临床检验血液学实验教学的重难点内容,也是要求医学检验专业学生掌握的血液学基本检验技术。

实验一 骨髓穿刺术

【目的要求】

1. 掌握骨髓穿刺的适应证及临床意义。
2. 熟悉骨髓穿刺术的操作方法。

【实验内容】

一、适应证

1. 外周血检查发现有一系、二系或三系减少或增多;或一系增多伴二系减少;或外周血中出现异常细胞,如原始细胞、幼稚细胞等。
2. 临床上出现不明原因的发热,抗生素治疗效果不好;不明原因的肝大、脾大、淋巴结肿大;不明原因的骨骼疼痛;不明原因的黄疸或紫癜等。
3. 检查发现不明原因的骨质破坏、肾功能异常、血沉增加等。

4. 恶性血液病需要观察化疗的效果或定期复查。

5. 其他 需取骨髓做造血干/祖细胞培养、染色体核型分析或其他检验;做骨髓活检;微生物及寄生虫学检查,如败血症、疟疾、伤寒、副伤寒、黑热病等。

二、禁忌证

骨髓穿刺的禁忌证是血友病患者。有明显出血倾向的患者和晚期妊娠的孕妇做骨髓穿刺应慎重。小儿及不合作者不宜作胸骨穿刺。

三、穿刺部位

1. 髂骨后上棘 此部位骨皮质薄、骨髓腔大、进针容易、骨髓液丰富,被血液稀释的可能性小,是骨髓穿刺的首选部位。

2. 髂骨前上棘 此部位骨质硬、骨髓腔较小,是骨髓穿刺的次选部位。

3. 棘突 穿刺部位小,容易滑动,需一定的穿刺技巧,但此处造血功能旺盛,常用于其他部位穿刺不成功时,常采用第2、3、4腰椎的棘突为穿刺部位。

4. 胸骨 是人体骨髓造血功能最旺盛的部位,但胸骨骨板薄,髓腔狭小,且胸骨下方是大动脉及心脏,操作需十分慎重,故不能常规穿刺部位,常用于其他部位穿刺不成功时。

5. 其他部位 小于3岁的小儿可选择胫骨粗隆为穿刺点。局部有症状者,还可穿刺有症状的部位,即定位穿刺。

四、操作方法

1. 选择体位 根据穿刺部位不同而选择不同的体位,如髂骨后上棘常取俯卧位或侧卧位,髂骨前上棘和胸骨采用仰卧位,棘突可采取坐位或侧卧位。

2. 定位 髂骨后上棘穿刺点为脊柱两旁臀部上方突出的骨性标志,约相当于第5腰椎的水平;髂骨前上棘穿刺点为髂前上棘顶端往后约1~2 cm处;胸骨穿刺点为第2、3肋间隙所对应的胸骨中点,或与胸骨体交接处的胸骨体。确定穿刺点后,标上“十”字形记号,然后甲紫标记。

3. 常规消毒 用络合碘和乙醇按无菌操作要求进行常规消毒,打开已消毒的骨髓穿刺包,带上无菌手套,铺上孔巾。

4. 局部麻醉 用2%利多卡因,在皮内注射形成一小皮丘,然后垂直进针,直到骨膜,边进针边注局麻药,并以穿刺点为中心,多点麻醉其周围的骨膜。拔针后,局部轻轻按摩片刻。

5. 进骨髓穿刺针 将穿刺针套上针芯,调整固定器离针尖约1~1.5 cm,左手拇指和示指固定穿刺部位的皮肤,右手持穿刺针从穿刺点沿垂直方向左右旋转进针(胸骨穿刺除外),直至骨皮质时阻力增加,再用力后阻力突然下降,穿刺针固定表明已进入了骨髓腔。

6. 抽吸骨髓液 拔除针芯,套上干燥的无菌针筒,抽吸骨髓液约0.2 mL,置于事先准备好的干净玻片上,由助手立即涂片。

7. 拔穿刺针 取针筒后,套上针芯,将整个穿刺针拔出。

8. 包扎伤口 用消毒纱布压迫伤口,用络合碘消毒穿刺点然后敷以消毒纱布,胶布固定,或盖以创可贴。

【注意事项】

1. 对于初诊的患者,骨髓穿刺检查要在治疗前进行。

2. 整个骨髓穿刺操作过程严格按无菌操作,防止骨髓感染。

3. 抽吸骨髓之前,注射器内留存少量的空气,以方便将注射器乳头内的骨髓液挤出。抽吸骨髓液时,量不宜过多,一般以小于0.2 mL为宜,以免骨髓液被外周血稀释。如同时需要做有核细胞计数、细菌培养、造血细胞培养、染色体分析、免疫表型分析等其他检查时,应先抽少许作骨髓涂片,然后再抽取一定量

骨髓液(肝素抗凝)送检。

4. 骨髓取材良好的指标包括:①在骨髓液抽出的一瞬间,患者有特殊的疼痛感觉;②肉眼见骨髓液中应含有骨髓小粒;③显微镜下可发现骨髓特有细胞,如幼红细胞、幼粒细胞、巨核细胞、浆细胞、成骨细胞、破骨细胞、脂肪细胞、肥大细胞、组织细胞、纤维细胞等;④有核细胞数大于外周血有核细胞数,骨髓中性杆状核粒细胞/分叶核粒细胞比值大于外周血中性杆状核粒细胞/分叶核粒细胞比值。

5. 骨髓稀释与干抽

(1) 完全稀释 与血片完全一样。

(2) 部分稀释 骨髓小粒、油滴少或不见,骨髓特有细胞少,有核细胞少,成熟细胞/幼稚细胞 $>3/5$ 。

(3) 干抽(dry tap) 是指非技术错误或穿刺位置不当而抽不出骨髓液或只抽到少量血液。常见于:①原发性和继发性骨髓纤维化症;②骨髓极度增生,细胞过于紧密结实,如白血病、真性红细胞增多症等;③骨髓增生减低,如再生障碍性贫血;④肿瘤骨髓浸润,包括恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓转移癌。当发生干抽时,在针头中有时可有少量骨髓组织,如用针心将其推出,可以制作一张涂片,仍可供检查。一般可更换部位再行穿刺,部分病例(如骨髓纤维化)必须做骨髓活检。

6. 做骨髓细胞学检查时,同时取外周血涂片一并送检。

7. 送检的标本要有标识性的记号,以免出现差错。

实验二 骨髓涂片制备及染色技术

【目的要求】

1. 掌握骨髓细胞涂片的制备方法。
2. 掌握骨髓细胞涂片的瑞氏染色方法。

【实验内容】

一、涂片制备

(一) 玻片的准备

1. 将玻片放入肥皂水中煮沸约 20 min,再用热水将肥皂水洗涤干净、晾干。
2. 将玻片置含重铬酸钾的浓硫酸洗液中浸泡 24 h 以上。
3. 将玻片用自来水冲洗干净后再用蒸馏水冲洗 1~2 次。

(二) 涂片方法

取小绿豆大小的血滴或相当量的骨髓液置于玻片的一端,将推片一侧或一端置于血滴上,并将推片稍向后移,使血滴沿推片边缘散开,然后使推片与玻片成一定夹角,将推片均匀地移向玻片的另一端,使血滴在玻片上形成均匀的血膜。

(三) 注意事项

1. 玻片要干净,推片的边缘必须平整光滑。
2. 血滴或骨髓置玻片上后应立即涂片,否则就会凝固,影响阅片的效果。
3. 一张好的涂片应该是有头、有体、有尾;厚薄适当,分布均匀。血滴大小应适中,血滴太少,涂片太短;血滴太大,涂片过长,则没有尾。
4. 因骨髓中含有骨髓小粒和脂肪,有核细胞数量多,较血液黏稠,在推片时角度应略小些,速度要慢些。推片与玻片的夹角约为 $30^{\circ}\sim 45^{\circ}$,夹角大,血膜就厚;夹角小,血膜则薄。
5. 推片的速度应适中,速度过快,涂片就会过厚,速度太慢,涂片则太薄。
6. 做骨髓涂片检查时,应制片至少 6~10 张,全部送检,以备其他检查所用。在涂片血膜未干之前,不能互相叠放。同时制备外周血涂片一并送检,以便进行比较观察。

二、瑞氏(Wright)染色法

瑞氏染色法是目前应用最为广泛的染色法之一。

1. 染色原理 瑞氏染料中含有伊红及亚甲蓝。伊红呈酸性,亚甲蓝呈碱性,细胞核中核酸和蛋白质以及原始细胞的胞质均为酸性物质,可与亚甲蓝起作用而被染成蓝色;同时,胞质中的血红蛋白可与伊红起作用而被染成淡红色。又因为酸碱度的变化可影响蛋白质与染料结合,瑞氏染色法的 pH 为 6.4~6.8。加上缓冲液的目的是:偏碱性的染料可与缓冲液中的酸基起作用,偏酸性的染料可与缓冲液中的碱基起作用,因此能维持染色的一定酸碱度,使细胞的结构更清晰可辨。

2. 瑞氏染液与缓冲液的配制

(1) 瑞氏染液的配制 称取瑞氏染料粉 1 g,直接倒入 500 mL 纯甲醇溶液中,盖紧塞子,颠倒混匀数次。每天颠倒混匀 2 次,一周后即可使用。

(2) 缓冲液的配制 取 KH_2PO_4 6.64 g、 Na_2HPO_4 2.56 g,加蒸馏水至 1 000 mL 即可。根据此配方配制的缓冲液其 pH 为 6.4~6.8,一般不需要用磷酸盐调整 pH。

3. 染色方法 先用蜡笔在涂片的两端、血膜或骨髓膜的外侧画上一道,以防止染液外流,然后滴染液数滴盖满整个血膜部分,约 10 s 后加缓冲液,染液与缓冲液的量之比约为 1:2~1:3,用洗耳球轻轻吹动液体,使其混匀;约 15 min(天气较冷,细胞较多时,染色时间需较长;相反,天气较热,细胞较少时,染色时间需稍短)后,便可用流水将染液冲洗掉,将涂片立于置片架晾干。

4. 注意事项

- (1) 染液必须足量,染液过少在染色过程中挥发变浓,易在涂片上留下沉淀物。
- (2) 冲洗时先不必将染液倒掉,直接在流水下冲洗,否则易在涂片上留下沉淀物。
- (3) 染色后发现涂片细胞染色过浅,还可复染一次,复染时先加缓冲液,后加瑞氏染液,用洗耳球使两液混匀。
- (4) 染色时不要一次性将所有涂片染完,应留有涂片以备加做其他检查之需,同时也避免因染色失败影响检验结果。

实验三 骨髓红细胞系各期细胞形态观察

【目的要求】

1. 掌握骨髓红细胞系统形态的总特征,并能与非红系细胞加以区别。
2. 掌握骨髓红细胞系各期细胞形态特点。

【实验标本】

1. 基本正常骨髓涂片。
2. 红细胞系形态正常的溶血性贫血骨髓涂片等。

【实验内容】

1. 各期有核红细胞形态总特征

- (1) 核圆、居中。
- (2) 胞质中无颗粒。
- (3) 胞质有明显的变化规律(深蓝色→灰蓝色→灰色→灰红色→浅红色)。
- (4) 胞体圆形(原红细胞和早幼红细胞有时可见瘤状突起)。

2. 观察各期有核红细胞形态特点 见表 1-1。

3. 各期有核红细胞划分的主要指标 见表 1-2。

【注意事项】

1. 骨髓片的选择与保养

- (1) 肉眼选择好的骨髓片 即厚薄适宜、分布均匀、头体尾分明,尾部有骨髓小粒、血膜染色后呈略带

表 1-1 各期有核红细胞形态特点

细胞名称	直径(μm)	胞体形态	细 胞 核			细 胞 质		
			核形	核仁	染色质	浆量	颗粒	浆色
原红细胞	15~25	圆或椭圆,常有瘤状突起	圆形,常居中	1~2个	颗粒状	少	无	深蓝色不透明,常有核周淡染区
早幼红细胞	10~18	圆或椭圆,可有瘤状突起	圆形,常居中	模糊或无	细颗粒状或小块	稍增多	无	同上,可见核周淡染区
中幼红细胞	8~15	圆形	圆形,常居中	无	块状如击碎木块,出现副染色质	较多	无	灰蓝、灰红或灰色
晚幼红细胞	7~10	圆形	圆形或核碎裂核居中或偏位	无	固缩成团块状,未见副染色质	多	无	浅红色或略带灰色

表 1-2 各期有核红细胞划分的主要指标

划分细胞	细胞划分的主要指标
原红细胞与早幼红细胞	核仁、染色质
早幼红细胞与中幼红细胞	染色质、浆色、胞体大小
中幼红细胞与晚幼红细胞	染色质、浆色、胞体大小

淡红色的片子。

(2) 要确定骨髓片的正反面,有血膜的面反光性差,反之反光性好,如反面放置错误,油镜将看不到片中细胞,易把片子压碎。

(3) 选择厚薄适宜、染色好的部位观察细胞,合适的部位多在血膜的体尾交界处,其细胞分布均匀,成熟红细胞不重叠也不过分稀疏,细胞形态完整,染色好,细胞结构清楚。

(4) 骨髓片观察完毕,应在片上滴加适量镜头清洁液,然后用干净的擦镜纸或棉花轻轻地一次性擦过去。未干净者再加少许清洁液擦一次,直至油被擦干净。

2. 显微镜的使用与保养

(1) 要按号码取放自己的显微镜。

(2) 使用显微镜时一律用左手移片子并调微调,右手拿笔记录。

(3) 每位同学使用显微镜时要调整好眼距,学会用双目观察镜下视野。

(4) 要正确掌握带有光源显微镜的开灯、关灯的顺序。开灯顺序:接上电源→按显微镜“开”键→将灯光调至适当位置;关灯顺序:将灯光推至零位→按显微镜“关”键→断开电源;如果暂时不用显微镜,请将灯光推至零位即可。

(5) 显微镜使用完毕后,用擦镜纸蘸少许镜头清洁液,将镜头上的油擦干净,再用干净擦镜纸再擦一次,并将物镜旋转至正确位置。

3. 骨髓细胞形态的观察

(1) 第一次观察骨髓片时要对正常骨髓中的有核细胞组成有所了解。正常骨髓片中粒细胞系统约占40%~60%,红细胞系统约占20%~25%,成熟淋巴细胞约占20%~25%,成熟单核细胞<4%,成熟浆细胞<2%,巨核细胞约7~35个/1.5 cm×3.0 cm血膜上。由于细胞成分较多,对初学者来说不易掌握,因此在观察某系细胞时应先要掌握该系的形态总特征。

(2) 观察一个细胞一定要全面,要观察胞体大小、形态、浆量、浆色、颗粒、核形、核染色质、核仁、核位置等,同时要与周围细胞加以比较。由于细胞的形态的变化多端,故观察细胞时不能抓住某一点不符合就