

全国卫生专业技术资格考试专家委员会 | 编写

2007



全国卫生专业技术资格
考试指导

临床医学检验技术(士)

临床医学检验技术
(士)

[附赠考试大纲]



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

全国卫生专业技术资格考试专家委员会 | 编写

2007

全国卫生专业技术资格
考试指导

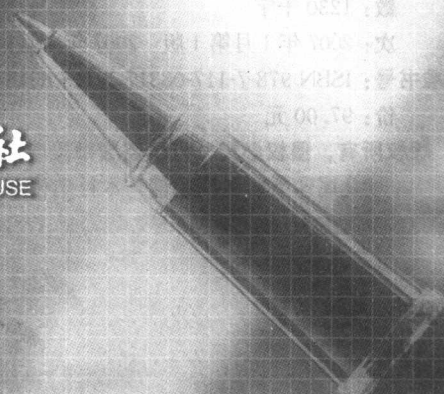
临床医学检验技术(士)

适用专业

临床医学检验技术(士)



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



图书在版编目(CIP)数据

临床医学检验技术(士)/全国卫生专业技术资格考试专家委员会编写. —北京:人民卫生出版社,2007.1

(2007 全国卫生专业技术资格考试指导)

ISBN 978-7-117-08317-1

I. 临… II. 全… III. 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(2006)第 146562 号

本书本印次封一贴有防伪标。请注意识别。

2007 全国卫生专业技术资格考试指导

临床医学检验技术(士)

编 写:全国卫生专业技术资格考试专家委员会

出版发行:人民卫生出版社(中继线 010-67616688)

地 址:北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编:100078

网 址:<http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线:010-67605754 010-65264830

印 刷:北京人卫印刷厂

经 销:新华书店

开 本:787×1092 1/16 印张:55.5

字 数:1230 千字

版 次:2007 年 1 月第 1 版 2007 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号:ISBN 978-7-117-08317-1/R·8318

定 价:97.00 元

版权所有,侵权必究,打击盗版举报电话:010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

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》临床医学检验技术（士）部分。本书根据最新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。

临床医学检验技术（士）专业资格考试基础知识、相关专业知识、专业知识、专业实践能力四个科目的具体考核内容请参见考试大纲。

目 录

临床医学检验技术专业技师资格考试指导

第一篇 临床检验基础	3
第一章 血液样本采集和血涂片制备	3
第二章 红细胞检查	11
第三章 白细胞检查	29
第四章 血液分析仪及其临床应用	40
第五章 血型和输血	49
第六章 尿液生成和标本采集及处理	64
第七章 尿理学检验	68
第八章 尿有形成分检查	74
第九章 尿液化学检查	85
第十章 尿液分析仪及其临床应用	101
第十一章 粪便检验	110
第十二章 脑脊液检验	118
第十三章 浆膜腔积液检验	127
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	144
第十七章 羊水检查	147
第十八章 痰液与支气管灌洗液检验	151
第十九章 胃液和十二指肠引流液检验	155
第二十章 脱落细胞检查	160
第二篇 临床血液学检验	175
第一章 绪论	175
第二章 造血与血细胞分化发育	176
第三章 骨髓细胞学检查	180
第四章 血细胞化学染色	186
第五章 溶血性贫血及其实验诊断	193
第六章 其他贫血及其实验诊断	201
第七章 白血病概述	207

第八章 急性淋巴细胞白血病及其实验诊断	212
第九章 急性髓细胞白血病及其实验诊断	214
第十章 慢性白血病及其实验诊断	218
第十一章 特殊类型白血病及其实验诊断	220
第十二章 骨髓增生异常综合征及其实验诊断	222
第十三章 恶性淋巴瘤及其实验诊断	224
第十四章 浆细胞病及其实验诊断	226
第十五章 骨髓增生性疾病及其实验诊断	228
第十六章 恶性组织细胞病及其实验诊断	230
第十七章 其他白细胞疾病及其诊断	232
第十八章 出血与血栓的基础理论	234
第十九章 血栓与止血检验的基本方法	239
第二十章 常见出血性疾病的实验诊断	250
第二十一章 血栓性疾病及其实验诊断	258
第二十二章 抗栓与溶栓治疗的实验室监测	263
第二十三章 凝血仪的检测原理和方法	265
 第三篇 临床化学	267
第一章 绪论	267
第二章 糖代谢紊乱及糖尿病的检查	269
第三章 脂代谢及高脂蛋白血症	295
第四章 血浆蛋白质检查	309
第五章 诊断酶学	316
第六章 体液平衡紊乱及其检查	328
第七章 钙、磷、镁代谢与微量元素	345
第八章 治疗药物浓度监测	352
第九章 心肌损伤的生化标志物	356
第十章 肝胆疾病的实验室检查	377
第十一章 肾功能及早期肾损伤的检查	390
第十二章 胰腺疾病的检查	405
第十三章 内分泌疾病的检查	410
第十四章 临床化学常用分析技术	429
第十五章 血清酶催化活性浓度和代谢物浓度酶法检测技术	434
第十六章 临床化学自动分析仪	440
第十七章 标本、试剂、量器常识	441
 第四篇 临床免疫学和免疫检验	447
第一章 概论	447
第二章 抗原抗体反应	454

第三章 免疫原和抗血清的制备	457
第四章 单克隆抗体与基因工程抗体制备技术	461
第五章 凝集反应	464
第六章 沉淀反应	466
第七章 免疫电泳技术	469
第八章 放射免疫分析	471
第九章 荧光免疫技术	473
第十章 酶免疫技术	477
第十一章 生物素-亲和素免疫放大技术	487
第十二章 免疫组织化学技术	489
第十三章 免疫细胞分离及检测技术	499
第十四章 吞噬细胞功能检测及应用	504
第十五章 细胞因子测定及应用	507
第十六章 细胞粘附分子测定及应用	511
第十七章 免疫球蛋白检测及应用	512
第十八章 循环免疫复合物检测及应用	517
第十九章 补体检测及应用	518
第二十章 自身抗体检测及应用概述	524
第二十一章 MHC 与 HLA 检测及应用	529
第二十二章 流式细胞仪分析技术及应用	532
第二十三章 免疫自动化仪器分析	535
第二十四章 免疫学检验的质量管理	540
第二十五章 超敏反应性疾病及其免疫检测	543
第二十六章 自身免疫性疾病及其免疫检测	554
第二十七章 免疫增殖性疾病及其免疫检测	557
第二十八章 免疫缺陷性疾病及其免疫检测	561
第二十九章 肿瘤免疫及其免疫检测	568
第三十章 移植免疫及其免疫检测	572
 第五篇 微生物学检验	 579
第一章 绪论	579
第二章 细菌的形态与结构	583
第三章 细菌的生理	588
第四章 细菌的分布	593
第五章 外界因素对细菌的影响	595
第六章 细菌的遗传与变异	599
第七章 微生物的致病性与感染	603
第八章 细菌的分类与命名	613
第九章 微生物学检验概述	616

第十章 细菌形态学检查法	623
第十一章 培养基	627
第十二章 细菌的培养与分离技术	630
第十三章 细菌的生物化学试验	635
第十四章 血清学试验	640
第十五章 动物实验	641
第十六章 菌种保存与管理	643
第十七章 细菌检验的商品化、自动化设备	645
第十八章 病原性球菌及检验	647
第十九章 肠杆菌科及检验	655
第二十章 弧菌科及检验	669
第二十一章 弯曲菌属和幽门螺杆菌及检验	674
第二十二章 厌氧性细菌及检验	677
第二十三章 需氧/或兼性厌氧革兰阳性杆菌及检验	688
第二十四章 分枝杆菌属及检验	693
第二十五章 非发酵菌及检验	696
第二十六章 其他革兰阴性杆菌及检验	699
第二十七章 衣原体及检验	703
第二十八章 立克次体及检验	705
第二十九章 支原体及检验	708
第三十章 病原性放线菌及检验	710
第三十一章 螺旋体及检验	712
第三十二章 病毒感染的实验诊断	715
第三十三章 真菌检验	729
第三十四章 临床标本微生物学检验概述	735
第三十五章 细菌对药物的敏感试验	741
第三十六章 医院感染	748
第三十七章 临床细菌检验的质量控制及实验室安全防护	751
 第六篇 寄生虫学及检验	 755
第一章 总论	755
第二章 医学蠕虫	758
第三章 医学原虫	767
第四章 医学节肢动物	772
第五章 实验检验技术	775

临床医学检验专业技士资格考试模拟试卷

模拟试卷	783
------------	-----

基础知识	783
相关专业知 识	791
专业知 识	800
专业实践能力	809
答案	817

临床医学检验技术
专业技士资格
考试指导

第一篇 临床检验基础

第一章 血液样本采集和血涂片制备

一、血液生理概要

(一) 血液组成

血液由血细胞(红细胞、白细胞、血小板)和血浆组成。离体后的血液自然凝固,分离出来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、VII 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** 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。严重一氧化碳中毒或氰化物中毒者血液呈樱红色。

3. **酸碱度** 正常人血液 pH 值 7.35~7.45,动脉血 pH 值 7.40,静脉血 pH 值 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、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。

3. 凝固性 正常血液离开血管后,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

血液具有运输功能、协调功能、维护机体内环境稳定和防御功能。

二、采血方法

正确采集血样本是获得准确、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。

(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

(1) 准备试管:取合适数量和规格的试管备用。

(2) 检查注射器:打开一次性注射器包装,左手持针头下座,右手持针筒,将针头和针筒紧密连接,并使针头斜面对准针筒刻度,抽拉针栓检查有无阻塞和漏气。最后排尽注射器中的空气,备用。

(3) 选择静脉:患者取坐位,前臂水平伸直置于桌面枕垫上。暴露穿刺部位,选择容易固定、明显可见的肘部静脉。

(4) 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,待干。

(5) 扎压脉带:在采血部位上端扎压脉带或止血带,并嘱患者反复握拳几次后握紧拳头,使静脉充盈暴露,便于穿刺。

(6) 穿刺:取下针头无菌帽,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。

(7) 抽血:以左手固定注射器,缓缓抽动注射器内芯至所需血量后,用消毒干棉球压住针孔,请患者松拳,迅速拔出注射器。嘱患者继续按压针孔数分钟,以防出血。

(8) 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。轻轻混匀抗凝血,切忌振荡试管,盖紧试管塞备用。

3. 注意事项

(1) 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) 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) 如果肥胖患者静脉暴露不明显，可用左手食指经碘酊、乙醇消毒后，在采血部位触摸，发现静脉走向后凭手感的方向与深度试探性穿刺。

(4) 抽血时针栓只能向外抽，不能内推，以免静脉内注入空气形成气栓，造成严重后果。

(二) 皮肤采血法

1. 概述 曾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、血红蛋白和血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

(1) 准备：取合适试管，加适量稀释液。取微量吸管和乳胶吸头相连，检查连接处是否漏气，或取一次性微量吸管备用。

(2) 按摩：轻轻按摩左手中指或无名指指端内侧，使局部组织自然充血。

(3) 消毒：用 75% 乙醇棉签擦拭采血部位，待干。

(4) 针刺：用左手拇指和食指固定采血部位使皮肤和皮下组织绷紧，右手持一次性消毒采血针自指端腹内侧刺入，深度 2~3mm，立即出针。

(5) 拭血：待血液自然流出后，用无菌干棉球擦去第 1 滴血。

(6) 吸血：用一次性微量吸管吸血，然后用无菌干棉球压住伤口止血。如血流不畅，可用左手自采血部位远端向指端稍施压使血液流出。

(7) 稀释：用无菌干棉球擦净微量吸管外部，将吸管伸入装有稀释液的试管底部，慢慢排出吸管内的血液，并用上清液冲洗管内余血 2~3 次，最后将试管内的液体混匀。

3. 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，应待乙醇挥发后采血，否则流出的血液扩散而不成滴。

(4) 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。

(5) 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）。

表 1-1-1 常用彩色真空采血容器的用途

盖子颜色	添加抗凝剂	注意事项	用 途
红色	无	凝块形成约需 30min	化学、血清学、血库
紫色	EDTA	须颠倒混匀 6~8 次	全血细胞计数 (CBC)
淡蓝色	枸橼酸钠	须颠倒混匀；血液与抗凝剂比例为 9:1	凝血检查 (PT、APTT、因子测定)
绿色	肝素钠、肝素锂、肝素铵	根据实验需要，选择不同类型的肝素	化学
灰色	氟化钠、草酸钾	不能用于其他化学检查	葡萄糖、糖耐量、乙醇浓度
黄色	多茴香脑磺酸钠 (SPS)	须颠倒混匀 8 次	血培养
深蓝色	无抗凝剂或肝素钠、EDTA	化学清洁的试管	毒理学、微量金属
金黄色	分离胶/凝块激活剂	须颠倒混匀 5 次，使血液与激活剂充分接触。凝块完全形成后离心	化学，不适于血库
淡绿色	分离胶/肝素锂	—	钾测定
橘黄色	凝血酶	须颠倒混匀 8 次	化学
黑色	枸橼酸钠	血液与抗凝剂比例为 4:1	血沉
棕色	肝素钠	铅浓度 < 0.1μg/ml	铅测定
粉红色	无	—	血库

(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,防止院内血源性传染病。

(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。

2. **采血** 止血带结扎时间超过 2min,大静脉血流受阻而使毛细血管内压增高,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,使检查结果不可靠。

3. **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发生变化。

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。

5. **实验结果分析** 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。

三、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。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($\text{EDTA-Na}_2\text{H}_2\text{O}$)或钾盐($\text{EDTA-K}_2\text{H}_2\text{O}$),能与血液中钙离子结合成螯合物,使 Ca^{2+} 失去凝血作用,阻止血液凝固。

EDTA盐对血细胞形态、血小板计数影响很小,适用于血液学检查,尤其是血小板计数。但钠盐溶解度低于钾盐,有时影响抗凝效果。根据国际血液学标准化委员会(ICSH)建议,CBC抗凝剂用 $\text{EDTA-K}_2\text{H}_2\text{O}$,量为 $1.5\sim 2.2\text{mg/ml}$ 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 Ca^{2+} 失去凝血作用,阻止血液凝固。

草酸盐优点是溶解度好、价廉。草酸盐对凝血因子V的保护作用差,影响凝血酶原时间测定,而且草酸盐与钙结合后形成的沉淀物,影响自动凝血仪检测结果,因此,草酸盐不适于凝血检查。

双草酸盐抗凝剂:草酸钾可使红细胞体积缩小,草酸铵则可使红细胞胀大,二者按适当比例混合,恰好不影响红细胞形态和体积,可用于血细胞比容、CBC、网织红细胞计数等项目检查,若单用草酸钾或草酸钠作为抗凝剂,与肝素为抗凝剂测定的血细胞比容比较,测定结果可减低 $8\%\sim 13\%$ 。双草酸盐抗凝剂可使血小板聚集、影响白细胞形态,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。

肝素广泛存在于肺、肝、脾等几乎所有组织和血管周围肥大细胞和嗜碱性粒细胞颗粒中,带有较多负电荷。肝素具有抗凝力强、不影响血细胞体积、不易溶血等优点,绝

大多数检查都可用肝素作为抗凝剂，是红细胞透渗脆性试验的理想抗凝剂。但肝素可引起白细胞聚集，瑞氏染色后产生蓝色背景，不适于 CBC、细胞形态学检查。每毫升血液肝素用量为 $15 \pm 2.5\text{U}$ ，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。枸橼酸盐的溶解度低，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。

四、血液涂片制备

(一) 载玻片的清洁

新载玻片常带有游离碱质，必须约 1mol/L HCl 浸泡 24h，清水冲洗，干燥后备用。用过的载玻片可用适量肥皂或其他洗涤剂中煮沸 20min，趁热刷去血膜，清水冲洗，必要时蒸馏水浸泡，干燥后备用。要保持载玻片的清洁、干燥、中性、无油腻。

(二) 血涂片的制备

有手工推片法、载玻片压拉法、棕黄层涂片法等。血涂片可用非抗凝静脉血或毛细血管血，也可用 EDTA 抗凝血液制备。因 EDTA 抗凝血有时能引起红细胞皱缩和白细胞聚集，因此最好使用非抗凝血制备血涂片。

1. **手工推片法** 取血 1 滴置载玻片一端，以边缘平滑的推片，从血滴前方接触血液，使血液沿推片散开，通常推片与载玻片保持 $25 \sim 30^\circ$ 夹角，平稳地向前推动，血液即在载玻片上形成薄层血膜。涂片厚薄与血滴大小、推片与载玻片间夹角、推片速度、血细胞比容有关。

2. **载玻片压拉法** 取 2 张载玻片，将血液滴于一张载玻片近中央处，将另一张载玻片与之贴合，四角对齐，先将血液沿纵向轻压展开，再将两玻片沿横向均匀拉开。适用于血细胞活体染色。

3. **棕黄层涂片法** 使用离心法能获得较多有核细胞。将抗凝血离心 ($\text{RCF} = 2260\text{g}$, 5min)，分层，取红细胞层上的棕黄层（有核细胞和血小板集中层）进行制涂。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。

五、血液细胞染色

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^-) 和碱性染料亚甲蓝 (M^+) 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。