

全国高等学校“十二五”医学规划教材
医学教育改革教材
(供医学检验专业用)

临床检验基础 实验指导

主编 丁 磊

■ 中国科学院
■ 中国科学院植物研究所

临床检验手册 实验室手册

第二版

■ 中国科学院
■ 中国科学院植物研究所

全国高等学校“十二五”医学规划教材
医学教育改革教材
(供医学检验专业用)

临床检验基础实验指导

Linchuang Jianyan Jichu Shiyan Zhidao

主 编 丁 磊

副主编 郭素红

主 审 左大鹏

编 者 (以姓氏笔画为序)

丁 磊(上海交通大学)

王跃国(南通大学)

左大鹏(首都医科大学)

托 娅(内蒙古医学院)

李正祎(吉林医药学院)

张秋菊(郑州大学)

郑善銮(第四军医大学)

夏 涵(第三军医大学)

徐建萍(福建医科大学)

郭素红(吉林医药学院)

蒋筠斐(上海交通大学)

熊陈岭(武汉大学)



高等
教育
出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

内容简介

本教材作为《临床检验基础》配套实验教材，共编写了49个实验，内容包括：临床检验基本技术、血液标本采集技术、血液一般检验、尿液一般检验、粪便检验、浆膜腔积液一般检验、脑脊液一般检验、生殖道分泌物检验、细胞病理学检验等。结构上统一按“实验目的”、“实验原理”、“器材试剂”、“标本要求”、“操作步骤”模块进行编写，并在每一实验后附有“问题思考”供学生复习总结。操作步骤创新地使用了框图式结构，力求简单明了。结合临床实际，将数个实验整合成一个实验报告，以方便教学和学生使用。

本教材主要供医学检验四年制、五年制专业学生使用，也可作为临床检验工作者的参考书。

图书在版编目（C I P）数据

临床检验基础实验指导 / 丁磊主编. -- 北京 : 高等教育出版社, 2012.7
ISBN 978-7-04-035728-8

I. ①临… II. ①丁… III. ①临床医学—医学检验—医学校—教学参考资料 IV. ①R446.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第122228号

策划编辑 孙葵葵
责任编辑 孙葵葵
责任校对 刘春萍

责任印制 韩刚

封面设计 于文燕

版式设计 杜微言

出版发行	高等教育出版社	咨询电话	400-810-0598
社址	北京市西城区德外大街4号	网 址	http://www.hep.edu.cn
邮政编码	100120		http://www.hep.com.cn
印 刷	廊坊市文峰档案印务有限公司	网上订购	http://www.landraco.com
开 本	787mm×1092mm 1/16		http://www.landraco.com.cn
印 张	11	版 次	2012年7月第1版
字 数	230千字	印 次	2012年7月第1次印刷
购书热线	010-58581118	定 价	20.00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 35728-00

全国高等学校医学检验专业教育改革教材 编写委员会

顾问 孙荣武 王鸿利 杨振华

主任委员 康熙雄 首都医科大学

副主任委员 (以教材计划出版顺序为序)

郑铁生	江苏大学	王惠民	南通大学
胡晓波	上海交通大学	府伟灵	第三军医大学
裘宇荣	南方医科大学	刘运德	天津医科大学
高东英	北京市红十字血液中心	陈文明	首都医科大学

委员 (以姓氏拼音为序)

曹珮华	西安医学院	常晓彤	河北北方学院
陈安	第三军医大学	陈发林	福建省临床检验中心
陈晓婷	南京医科大学	陈筱菲	温州医学院
崔巍	协和医科大学	丁邦胜	安徽医科大学
顾国浩	苏州大学	姜锐	中山大学
姜旭淦	江苏大学	蒋显勇	湘南学院
鞠少卿	南通大学	孔长虹	浙江省血液中心
孔令魁	深圳血液中心	李锋	济宁医学院
李山	广西医科大学	李薇	吉林大学
李艳	吉林医药学院	李艳	武汉大学
李贵星	四川大学	李洪春	徐州医学院
李丽花	海南医学院	李平法	新乡医学院
梁文飚	江苏省血液中心	梁晓华	大连血液中心
林东红	福建医科大学	林雪松	哈尔滨医科大学
刘荣臻	山西医科大学	芦慧霞	东南大学

欧超伟	广东医学院	潘 卫	贵阳医学院
秦 雪	广西医科大学	邵启祥	江苏大学
涂建成	武汉大学	王艾琳	北华大学
王昌富	华中科技大学	王开正	泸州医学院
王晓春	中南大学	王学锋	上海交通大学
王玉明	昆明医学院	王跃国	南通大学
王治国	卫生部临床检验中心	武文娟	蚌埠医学院
徐 霞	广州医学院	徐国宾	北京大学
杨国珍	贵阳医学院	伊正君	潍坊医学院
袁永强	重庆医科大学	张 钧	浙江大学
张 清	武汉职业病防治所	张 展	郑州大学
张朝霞	新疆医科大学	张吉才	湖北医药学院
张军力	内蒙古医学院	赵春艳	大连医科大学
郑 芳	天津医科大学	郑善銮	第四军医大学
朱自严	上海血液中心		

秘书

张国军 吕 虹 首都医科大学

编写说明

医学检验专业教育改革系列教材是全国高等学校医学检验专业教育改革教材编写委员会,根据《教育部关于“十二五”普通高等教育本科教材建设的若干意见(教高〔2011〕5号)》文件精神规划,组织全国60多所高等院校及附属医院积极参与编写的立体化教材。编写的指导思想是:综合考虑医学检验各专业课程目标的多维度、教学对象的多层次、表现形式的立体化,充分发挥各种教学媒体的优势,从而形成媒体间的立体互动和互补,为培养科学态度严谨、捕获知识能力强、实践能力强、开拓创新能力强的高等医学检验人才,提供先进实用的教学资源。

本系列教材的构建体系主要由纸质、网络、数字三部分组成。纸质教材是用于课堂教学的核心教材,注重实用性;网络资源(数字课程)是一套与纸质教材各章节内容同步使用的网络教学资源系统,资源框架贯穿在整个教学环节中,注重全面性;数字教材是一本集纸质理论、实验,网络资源为一体的教材,注重方便性。教材的各组成部分在教学思想、教学内容、教学目标、教学策略上做到了有机融合,互为补充,形成了以纸质教材为核心,配集网络、数字教材为一体的综合的知识体系和立体的教学系统,以实现精品教材资源共知、共建、共享,实现教学效益的最大化。为提高医学检验本科教学质量,实现教学改革工程发展目标提供了丰富资源。

本系列教材具有立体化可伸可缩的功能,可供医学检验四年制和五年制专业及成人教育(专升本)等各层次学生使用,可作为临床检验诊断学研究生、临床医学专业实验诊断学必修课或选修课教材,也可作为临床检验工作者日常工作、继续教育和职称考试的参考用书。

本系列教材的编写,得到了高等教育出版社、全国诊断学指导委员会、教育部医学技术教育指导委员会的领导和孙荣武、王鸿利、杨振华等老一辈医学检验教育专家、教授的指导,得到了首都医科大学、江苏大学、南通大学、上海交通大学、天津医科大学、南方医科大学、第三军医大学等全国60多所兄弟院校的热情关心和支持,在此一并表示真诚的谢意。

本系列教材由长期从事医学检验教育教学和临床实践工作的一线专家、教授共同编写,全体编委为此付出了艰辛的劳动,但由于首次大范围尝试立体化教材编写,难免有不完善的地方,望读者不吝批评指正,以便再版时改进。

本系列教材包括《临床检验基础》《临床生物化学检验》《临床免疫学检验》《临床微生物学检验》《临床寄生虫学检验》《临床分子生物学检验》《临床实验室管理学》《临床血液学检验》和《输血技术学基础》。

全国高等学校医学检验专业教育改革教材编写委员会

2012年5月

前　　言

“临床检验基础”是全国医药院校医学检验专业的必修课之一。高等教育出版社为适应“十二五”期间教学改革的需求,为医学检验专业组织编写了《临床检验基础》。《临床检验基础实验指导》作为其配套实验教材,既可供高等医药院校和全国医学专科学校医学检验专业师生使用,也可供广大临床医师和检验人员在实际工作中参考。

《临床检验基础实验指导》编写目的是使学生通过实验课学习,巩固所学理论知识,掌握临床检验基本操作技能,提高综合分析能力。其主要内容包括:临床检验基本技术、血液标本采集技术、血液一般检验、尿液一般检验、粪便检验、浆膜腔积液一般检验、脑脊液一般检验、生殖道分泌物检验、细胞病理学检验等,共编写了49个实验,统一按“实验目的”、“实验原理”、“器材试剂”、“标本要求”、“操作步骤”项目进行编写,并在每一实验后附有“问题思考”供学生复习总结。编写力求简单明了和实用方便,着重强调实验标本的采集、保存和处理规范化要求,实验操作的规范化和标准化要求。尤其是操作步骤创新使用了框图式结构,左栏为规范的实验操作步骤,右栏为每步操作时应注意的问题。并按临床检验工作的实际情况,将数个实验整合成一个实验报告供教学和学生使用。

本教材在编写过程中得到了高等教育出版社席雁社长、首都医科大学康熙雄教授的大力支持,在此谨表衷心的感谢。

限于编者的经验、水平有限,书中难免缺点和错误,谨请广大学生和检验人员多提宝贵的意见和建议,一并致谢。

丁　磊
2012年3月

目 录

实验一 显微镜的使用	1
实验二 血细胞计数板的使用	4
实验三 毛细血管血标本采集	8
实验四 静脉血标本采集	11
实验五 血涂片制备	14
实验六 血涂片染色	16
实验七 红细胞计数	18
实验八 白细胞计数	20
实验九 血小板计数	22
实验十 网织红细胞计数	24
实验十一 血红蛋白测定	27
实验十二 血细胞比容测定	30
实验十三 红细胞形态学检查	32
实验十四 白细胞分类计数	34
实验十五 血小板形态学检查	37
实验十六 红细胞沉降率测定	39
实验十七 血液分析仪操作	41
实验十八 血液分析仪校准	44
实验十九 血液分析仪性能验证	47
实验二十 尿液理学检查	50
实验二十一 尿干化学分析仪操作	55
实验二十二 尿液有形成分显微镜检查	57

实验二十三 尿蛋白定性试验	60
实验二十四 尿糖定性试验	63
实验二十五 尿酮体定性试验	65
实验二十六 尿胆红素定性试验	67
实验二十七 尿胆原定性试验	69
实验二十八 尿肌红蛋白定性试验	71
实验二十九 尿绒毛膜促性腺激素定性试验	73
实验三十 粪便隐血试验	75
实验三十一 粪便显微镜检查	78
实验三十二 浆膜腔积液黏蛋白定性试验	80
实验三十三 浆膜腔积液细胞计数和分类	82
实验三十四 脑脊液蛋白质定性试验	85
实验三十五 脑脊液葡萄糖定量试验	87
实验三十六 脑脊液细胞计数和分类	89
实验三十七 精液检查	92
实验三十八 前列腺液检查	97
实验三十九 阴道分泌物检查	99
实验四十 细菌性阴道病检查	102
实验四十一 细胞病理学标本制备技术	104
实验四十二 细胞病理学标本染色技术	109
实验四十三 女性生殖道细胞病理学检验	114
实验四十四 呼吸道细胞病理学检验	116
实验四十五 浆膜腔积液细胞病理学检验	118
实验四十六 泌尿道细胞病理学检验	120
实验四十七 淋巴结细胞病理学检验	122
实验四十八 乳腺细胞病理学检验	124
实验四十九 甲状腺细胞病理学检验	126
实验报告	129

实验一 显微镜的使用

【实验目的】 显微镜种类繁多,用途多样,如普通光学显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、相差显微镜、电子显微镜等。普通光学显微镜用途广泛,是医学工作者最基本的工具。通过本次实验,应了解普通光学显微镜的结构和掌握使用的方法。

【实验原理】 通过显微镜光源、焦距等的操作调节,使标本在不同放大倍数的视野中呈现清晰的图像。

【器材试剂】 普通光学显微镜(图 1-1)、镜油、擦镜液(二甲苯或乙醚乙醇混合液)、擦镜纸。

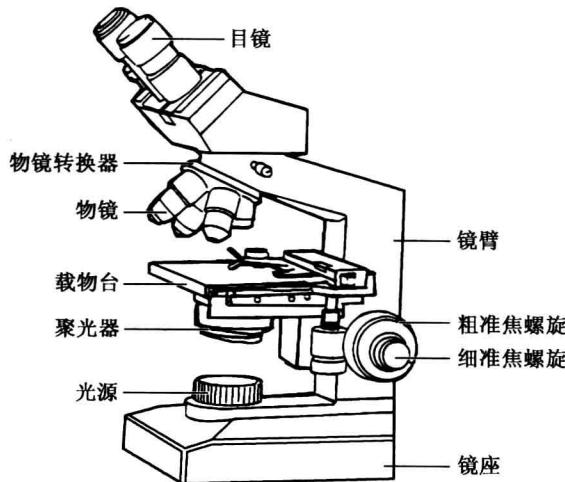


图 1-1 显微镜结构图

【标本要求】 瑞特染色血涂片(也可使用已封片的标本片)。

【操作步骤】

启用显微镜:右手握镜臂,左手托镜座,将显微镜置于胸前实验桌上,使镜筒朝前镜臂朝后。了解显微镜机械部分和光学部分的结构与功能(图 1-1)。检查显微镜电源线和镜头,连接电源,开启光源。

1. 取镜:勿单手持镜。
2. 放置显微镜:电源线勿置于胸前。
3. 检查镜头:检查目镜和物镜镜头是否清洁,高倍镜、油镜镜头是否可以回缩调节。
4. 开关电源:光源亮度调到最小时开关光源,以延长光源的使用寿命。



置放标本:将血涂片置于载物台上,用弹簧夹片固定。调节标本位置,使待观察部位对准通光孔的中心。

← 血涂片血膜面朝上。



低倍镜操作:转动物镜转换器,使低倍镜镜头垂直向下。降低聚光器,关小光圈,调节亮度到最适状态。以左手逆时针方向转动粗准焦螺旋,在显微镜侧面观察载物台缓慢上升至最高。双眼自目镜中观察,同时左手顺时针方向缓慢转动粗准焦螺旋降低载物台至见到物像。顺时针或逆时针微调细准焦螺旋,使所见物像最为清晰。

1. 光源亮度:以操作舒适,无疲劳感为宜。
2. 观察顺序:任何观察都须从低倍镜开始。低倍镜视野大,利于观察全貌或寻找观察目标。
3. 移动物像:玻片左右前后移动的方向与视野物像移动的方向是相反的。



高倍镜操作:将低倍镜下清晰物像的目标观察物移至视野中央,转动物镜转换器,使高倍镜镜头垂直向下,并从侧面观察镜头与玻片的距离。双眼自目镜观察,同时顺时针或逆时针微调细准焦螺旋直至看清物像。

1. 转换高倍镜镜头:动作要慢,避免镜头接触标本;否则,说明未调好低倍镜焦距,应重新调节。
2. 调节亮度:稍升高聚光器、开大光圈,得到合适亮度。
3. 更换标本:先降低载物台或移转镜头,避免被观察物损伤镜面。



油镜操作:将低、高倍镜观察到的目标观察物移至视野中央,升高聚光器到最高位,光圈开至最大。移转物镜转换器使高倍镜离开通光孔,在标本待观察处加1滴镜油。慢慢转动物镜转换器使油镜镜头垂直向下与镜油接触,同时从侧面观察镜头与玻片的距离。双眼自目镜观察,同时顺时针或逆时针微调细准焦螺旋直至看清物像。



显微镜用毕后操作:左手顺时针方向转动粗准焦螺旋,使载物台下降至最低,取出标本。先用擦镜纸拭去油镜上大量镜油,再取少量二甲苯拭净油镜上剩余油污,最后用擦镜纸吸尽二甲苯。清洁载物台,把镜头转成“八”字形,套上镜罩后放回原位。

1. 转换油镜镜头和更换标本要求:同“高倍镜操作”。
2. 调节细准焦螺旋:油镜镜头离标本最近,必须缓慢调节,同时观察镜头与标本距离,避免压碎标本、损伤镜面。
3. 载物台:应保持平整,避免镜油流动。



1. 清洁镜油:必须及时,避免镜油凝结损害镜头。
2. 减少二甲苯毒害:使用中尽量减少吸入;使用后立即清洁干净;手接触后立即清洗。
3. 镜头位置:转成“八”字形,使所有物镜均移离通光孔。



【问题思考】

使用低倍镜、高倍镜和油镜,应如何调节光源亮度、光圈大小及聚光器,才能获得好的图像效果?

(夏 涵)

实验二 血细胞计数板的使用

【实验目的】 血细胞计数板不仅用于血细胞计数,也用于脑脊液、胸腹水等体液的细胞和微生物的计数。通过本次实验,应掌握血细胞计数板使用的方法。

【实验原理】 经一定倍数稀释的血液,混匀后注入有固定体积和精密刻度的血细胞计数板中,在显微镜下计数选定区域中的细胞,最后换算成单位体积内的细胞数。

【器材试剂】

1. 器材:血细胞计数板(如改良牛鲍计数板)、盖玻片、显微镜、绸布、微量吸管、乳胶吸头、小试管。

改良牛鲍计数板:2个相同“H”形凹槽计数池,计数池两侧各有一条支持柱,高出计数池平面0.10 mm。将专用盖玻片覆盖于计数池支持柱上,形成高0.10 mm的计数池(图2-1)。计数池长、宽各3.0 mm,均分为9大格,每大格面积为 1.0 mm^2 ,容积为 $0.1 \text{ mm}^3 (\mu\text{L})$ 。中央大方格用双线分成25个中方格,每中方格又用单线分为16个小方格,四角的4个大方格直接用单线划分为16个中方格。中央大方格正中的1个中方格及四角的4个中方格是红细胞和血小板的计数区域,四角的4个大方格是白细胞计数区域(图2-2)。

2. 试剂:白细胞稀释液、红细胞稀释液。

【标本要求】 新鲜EDTA-K₂抗凝血或毛细血管血。

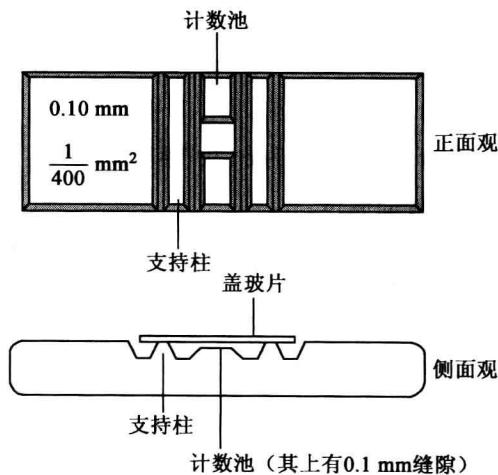


图2-1 改良牛鲍计数板大体图

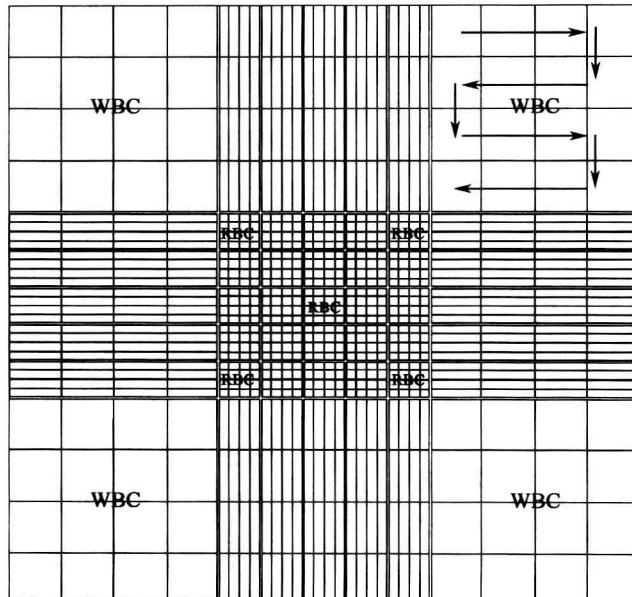


图 2-2 改良牛鲍计数板计数池结构图

【操作步骤】

准备:清洗计数板和盖玻片,用绸布拭净,采用推压法从计数板下缘向前平推盖玻片,将其盖在计数池上。

1. 擦拭计数板:勿用粗糙织物,避免磨损计数板刻度。
2. 持用计数板:计数板和盖玻片清洁后勿再用手指接触计数区域表面。



稀释:取试管2支,标明A、B。在A管中加白细胞稀释液0.38 mL,抗凝全血20 μL。在B管中加红细胞稀释液2 mL,抗凝全血10 μL。均混匀。

1. 抗凝血标本:吸取前必须充分混匀。
2. 加液:尽量采用小试管,准确加入稀释液和抗凝全血。



充池:充分混匀 A 液,用微量吸管将 1 滴稀释血液滴于计数板一侧计数池与盖玻片边缘交界处,使液体顺其间隙充满计数池;同样,在对侧计数池充上 B 液。

- ←
1. 充池过程:吸取适量稀释血液,缓缓压出,在吸管口形成悬滴,再让悬滴接触计数板与盖玻片边缘交界处,一次性完成充池。间断充池易造成气泡和充池不均。
 2. 充池结果:充池量过少、满溢或有气泡均影响池内体积,应擦拭干净后重新充池。

静置:充池完毕,应将计数板于桌面上水平静置 2~3 min,待细胞下沉。

- ←
1. 充池后:切勿移动盖玻片。
 2. 计数池保湿:避免液体挥发致计数误差。

计数:先用低倍镜观察整个计数板结构(大、中、小方格)和血细胞分布情况。分别计数两个计数池中特定计数区域中的白细胞和红细胞。

- ←
1. 细胞分布:分布严重不均时应重新充池。
 2. 计数顺序:逐格依次计数(按图 2-2 箭头所示顺序),避免重复或遗漏。对压线的细胞,采用“数上不数下,数左不数右”的计数原则(图 2-3)。

换算:白细胞计数($\times 10^9/L$)=(所数白细胞总数/4)×稀释倍数(20)×容积换算(10)×容积换算(10^6)。红细胞计数($\times 10^{12}/L$)=所数红细胞总数×5×稀释倍数(200)×容积换算(10)×容积换算(10^6)。

细胞计数原则:均先计算每大格容积内细胞数,再乘上稀释倍数,最后再换算成每升细胞数。

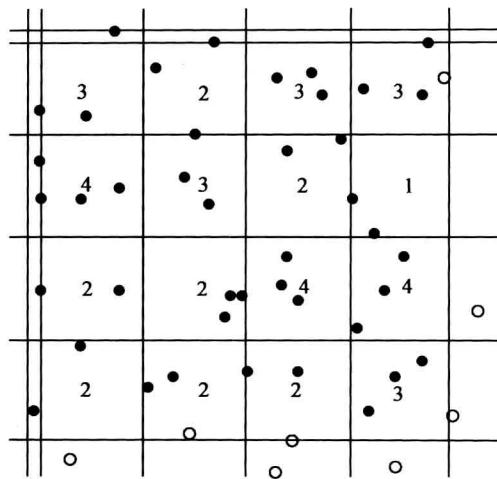


图 2-3 计数原则

此为计数池右下方大方格，黑点为本大方格需计人的细胞，
方格内数字为每个中方格应计人的细胞数

【问题思考】

怎样运用血细胞计数板的原理来计数其他细胞？

(夏 涵)