

XIANDAI JIANYAN YU LINCHUANG

现代检验 与临床



主编◎ 牛 磊 高雅敏 宗新峰
魏 静 张守健 庄永华

天津出版传媒集团



天津科学技术出版社

现代检验与临床

主编◎ 牛 磊 高雅敏 宗新峰

魏 静 张守健 庄永华

天津出版传媒集团
 天津科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

现代检验与临床 / 牛磊等主编. — 天津: 天津科学技术出版社, 2018.5

ISBN 978-7-5576-5071-1

I. ①现… II. ①牛… III. ①临床医学-医学检验
IV. ①R446.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第085426号

责任编辑：王朝闻

责任印制：王莹

天津出版传媒集团 出版
 天津科学技术出版社

出版人：蔡颖
天津市西康路35号 邮编 300051
电话 (022) 23332397
网址：www.tjkjcb.com.cn
新华书店经销
北京虎彩文化传播有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 35.5 字数 840 000
2018年5月第1版第1次印刷 2018年9月第2次印刷
定价：178.00元

《现代检验与临床》

编委会名单

主编

牛 磊 高雅敏 宗新峰
魏 静 张守健 庄永华

副主编

贾美萍 邵君召 高忠波 宗绪章
慕 岩 房 昆 王甜甜 成 枫

编 委

(排名不分先后)

| | |
|-----|-------------|
| 牛 磊 | 邹平县人民医院 |
| 高雅敏 | 北大医疗淄博医院 |
| 宗新峰 | 邹平县结核病防治所 |
| 魏 静 | 日照市岚山区虎山卫生院 |
| 张守健 | 日照市岚山区虎山卫生院 |
| 庄永华 | 青岛市中心血站 |
| 贾美萍 | 北大医疗淄博医院 |
| 邵君召 | 威海市立医院 |
| 高忠波 | 平度市中医医院 |
| 宗绪章 | 平度市中医医院 |
| 慕 岩 | 青岛市中心血站 |
| 房 昆 | 威海市立医院 |
| 王甜甜 | 威海市立医院 |
| 成 枫 | 青岛市中心血站 |
| 翟 敏 | 日照市岚山区虎山卫生院 |
| 周忠利 | 青岛市中心血站 |
| 李新红 | 泰安市岱岳区马庄卫生院 |

前　言

检验技术的发展日新月异,特别是分子生物学、免疫学等技术进展迅速。新的检验技术、检验项目和检验方法不断进入临床实验室,其操作方法也进一步规范。

全书分为四篇,共十九章,紧密结合我国临床诊疗工作实际和临床检验新进展,对检验技术基础项目进行了详细的阐述。内容充实,文字简明,表达准确,十分易于医务人员掌握。相信本书的出版,可以为进一步统一和规范各医疗机构的临床检验操作带来帮助,进一步推动实验室室内质量控制和室间质量评价工作,促进检验医学的发展。

尽管编者希望本书能融最实用、最前沿的检验知识和技术于其中,但在医学知识日新月异的今天,在编写过程中难免存在一些不足之处,望同道们不吝赐教,以便再版时修正和补充。

编　者

目 录

第一篇 临床血液检验

| | |
|---------------------------------|-------|
| 第一章 临床血液一般检验 | (2) |
| 第一节 血液一般检验标本的采集与处理 | (2) |
| 第二节 血细胞分析 | (8) |
| 第三节 血细胞形态学检查 | (26) |
| 第四节 红细胞沉降率测定 | (38) |
| 第五节 血液流变学检查 | (41) |
| 第二章 骨髓细胞学检验..... | (49) |
| 第一节 骨髓细胞形态学检验 | (49) |
| 第二节 细胞遗传学检验 | (77) |
| 第三节 细胞分子生物学检验 | (79) |
| 第四节 骨髓细胞学检验在造血和淋巴组织肿瘤中的应用 | (80) |
| 第三章 贫血的检验 | (86) |
| 第一节 溶血性贫血的检验 | (86) |
| 第二节 造血原料缺乏性贫血的检验 | (116) |
| 第四章 血栓与止血的检验 | (125) |
| 第一节 血栓与止血检验标本的采集与处理 | (125) |
| 第二节 血栓与止血自动化仪器检测的通用规则 | (127) |
| 第三节 血管壁和内皮细胞的检验 | (129) |
| 第四节 血小板的检验 | (133) |
| 第五节 凝血因子的检验 | (142) |
| 第六节 抗凝因子检验 | (151) |
| 第七节 病理性抗凝物质检验 | (158) |
| 第八节 纤溶系统的检验 | (163) |
| 第五章 血型血清学检查 | (179) |
| 第一节 ABO 血型鉴定 | (179) |
| 第二节 Rh 血型鉴定 | (187) |
| 第三节 其他血型鉴定 | (191) |
| 第四节 血型血清学常用检查方法 | (193) |

| | | |
|------------|------------------------------|--------------|
| 第五节 | 红细胞血型抗体筛查 | (200) |
| 第六节 | 红细胞血型抗体鉴定 | (204) |
| 第七节 | 交叉配血试验 | (206) |
| 第八节 | 胎儿新生儿溶血病的血型血清学检查 | (210) |
| 第六章 | 白细胞检验的理论基础 | (217) |
| 第一节 | 粒细胞 | (217) |
| 第二节 | 淋巴细胞-浆细胞 | (223) |
| 第三节 | 单核-巨噬细胞 | (226) |
| 第四节 | 白细胞抗原 | (229) |
| 第七章 | 血型及输血检验的临床应用 | (236) |
| 第一节 | 输血前免疫学检查 | (236) |
| 第二节 | 输血免疫反应的检验 | (241) |
| 第三节 | 输血相关传染病 | (252) |
| 第八章 | 输血单采治疗 | (268) |
| 第一节 | 单采治疗流程 | (268) |
| 第二节 | 单采治疗项目 | (272) |
| 第三节 | 淋巴细胞去除在系统性自身免疫病中的应用 | (285) |
| 第四节 | 单采过程中常见问题处理 | (286) |
| 第五节 | 常见的血细胞分离机介绍 | (289) |
| 第九章 | 输血不良反应和经输血传播的感染 | (303) |
| 第一节 | 概述 | (303) |
| 第二节 | 红细胞相关性输血不良反应 | (306) |
| 第三节 | 急性溶血性输血不良反应 | (313) |
| 第四节 | 慢性溶血性输血不良反应 | (317) |
| 第五节 | 血小板相关性输血不良反应 | (319) |
| 第六节 | 血浆蛋白相关性输血不良反应 | (323) |
| 第七节 | 白细胞相关性输血不良反应 | (325) |
| 第八节 | 细菌性输血不良反应 | (333) |
| 第九节 | 其他输血不良反应 | (335) |
| 第十节 | 经输血传播的感染 | (342) |

第二篇 临床体液检验

| | | |
|------------|-------------------|--------------|
| 第十章 | 尿液检验 | (348) |
| 第一节 | 尿液标本的采集与处理 | (348) |

| | | |
|-------------|----------------|-------|
| 第二节 | 尿液理学检验 | (350) |
| 第三节 | 尿液化学检验 | (351) |
| 第四节 | 尿液有形成分检验 | (365) |
| 第十一章 | 粪便检查 | (373) |
| 第一节 | 粪便标本的采集与处理 | (373) |
| 第二节 | 粪便理学检验 | (374) |
| 第三节 | 粪便隐血试验 | (374) |
| 第四节 | 粪便有形成分检验 | (376) |
| 第十二章 | 脑脊液检验 | (378) |
| 第一节 | 脑脊液标本的采集与处理 | (378) |
| 第二节 | 脑脊液理学检验 | (378) |
| 第三节 | 脑脊液化学检验 | (380) |
| 第四节 | 脑脊液有形成分分析 | (383) |
| 第十三章 | 精液检验 | (385) |
| 第一节 | 精液标本的采集与处理 | (385) |
| 第二节 | 精液理学检验 | (385) |
| 第三节 | 精浆果糖测定 | (386) |
| 第十四章 | 阴道分泌物检验 | (388) |
| 第一节 | 阴道分泌物标本的采集与处理 | (388) |
| 第二节 | 阴道分泌物理学检验 | (388) |
| 第三节 | 阴道分泌物化学检验 | (389) |

第三篇 临床化学检验

| | | |
|-------------|------------------------|-------|
| 第十五章 | 蛋白质测定 | (391) |
| 第一节 | 血清总蛋白测定 | (391) |
| 第二节 | 血清白蛋白测定 | (396) |
| 第三节 | 血清蛋白电泳 | (401) |
| 第四节 | 血清前白蛋白测定 | (408) |
| 第五节 | 血清转铁蛋白测定 | (410) |
| 第六节 | 血清铁蛋白测定 | (412) |
| 第七节 | 血清铜蓝蛋白测定 | (413) |
| 第八节 | 血清 α_1 -抗胰蛋白酶测定 | (415) |
| 第九节 | 血清 α_1 -微球蛋白测定 | (416) |
| 第十节 | 血清 α_2 -巨球蛋白测定 | (418) |

| | | |
|-------------|----------------------------|--------------|
| 第十一节 | 血清 α -淀粉样蛋白测定 | (419) |
| 第十二节 | 血清视黄醇结合蛋白测定 | (421) |
| 第十三节 | 血清妊娠相关蛋白 A 测定 | (422) |
| 第十六章 | 糖代谢测定 | (424) |
| 第一节 | 血液葡萄糖测定 | (424) |
| 第二节 | 口服葡萄糖耐量试验 | (430) |
| 第三节 | 糖化血红蛋白测定 | (431) |
| 第四节 | 糖化血清蛋白测定 | (437) |
| 第五节 | 血清 C 肽测定 | (440) |
| 第六节 | 血清胰岛素测定 | (440) |
| 第七节 | 脑脊液葡萄糖测定 | (440) |
| 第八节 | 尿液葡萄糖测定 | (441) |
| 第九节 | 血浆乳酸测定 | (441) |
| 第十节 | 血浆丙酮酸测定 | (444) |
| 第十一节 | 血清 β -羟丁酸测定 | (446) |

第四篇 临床免疫检验

| | | |
|-------------|---------------------------------|--------------|
| 第十七章 | 免疫球蛋白、循环免疫复合物与补体检测 | (449) |
| 第一节 | IgG、IgA 和 IgM 检测 | (449) |
| 第二节 | IgD 检测 | (454) |
| 第三节 | IgE 检测 | (455) |
| 第四节 | 游离轻链检测 | (460) |
| 第五节 | 冷球蛋白检测 | (461) |
| 第六节 | M 蛋白检测 | (463) |
| 第七节 | 循环免疫复合物检测 | (465) |
| 第八节 | 补体检测 | (467) |
| 第十八章 | 细胞免疫相关指标检测 | (473) |
| 第一节 | 淋巴细胞亚群检测 | (473) |
| 第二节 | 淋巴细胞增殖试验 | (480) |
| 第三节 | 细胞因子检测 | (483) |
| 第十九章 | 感染性疾病免疫检测 | (493) |
| 第一节 | 甲型肝炎病毒免疫检测 | (493) |
| 第二节 | 乙型肝炎病毒免疫检测 | (498) |
| 第三节 | 丙型肝炎病毒免疫检测 | (506) |
| 第四节 | 丁型肝炎病毒免疫检测 | (512) |

| | |
|------------------------|-------|
| 第五节 戊型肝炎病毒免疫检测 | (512) |
| 第六节 人类免疫缺陷病毒免疫检测 | (514) |
| 第七节 梅毒螺旋体免疫检测 | (518) |
| 第八节 弓形虫免疫检测 | (521) |
| 第九节 巨细胞病毒免疫检测 | (525) |
| 第十节 单纯疱疹病毒免疫检测 | (527) |
| 第十一节 风疹病毒免疫检测 | (528) |
| 第十二节 呼吸道病毒免疫检测 | (528) |
| 第十三节 肠道病毒免疫检测 | (543) |
| 第十四节 轮状病毒免疫检测 | (551) |
| 参考文献 | (554) |

第一篇 临床血液检验

第一章 临床血液一般检验

临床血液一般检验是血液学检验最基础、最常用的一类检验项目，主要包括全血细胞计数、外周血细胞形态学检查、红细胞沉降率测定、血液流变学检查等。血液一般检验取材容易，检测便捷，是临床最常用的初筛项目之一。

第一节 血液一般检验标本的采集与处理

一、静脉血的采集

【原理】

利用负压的原理，使用真空采血管或注射器将针头刺入浅静脉后，通过真空负压控制定量采集静脉血或通过手工控制吸取一定量的静脉血。

【试剂与器具】

压脉带、垫枕和手套；70%乙醇、消毒棉球或棉签；一次性无菌针头、持针器和真空采血管，或者使用注射器和试管；胶带。

【操作】

(1)对照申请单核对患者身份。

(2)采血部位的选择：患者取坐位或仰卧位，前臂置于桌面枕垫上或水平伸直。检查患者的肘前静脉，为使静脉血管充分暴露，可让患者握紧拳头，系上压脉带。采血人员可用示指触摸寻找合适的静脉，触摸时能感觉到静脉所在区域较周围其他组织的弹性大，一般肘臂弯曲部位或稍往下区域是比较理想的穿刺部位。如在一只手臂上找不到合适的静脉，则用同样的方法检查另一只手臂。如需从腕部、手背或脚部等处的静脉采血，最好由有经验的采血人员进行。

(3)静脉穿刺的准备：选择好合适的穿刺部位后，放松压脉带，依照《医疗机构消毒技术规范》(WS/T 2012-367)的要求，使用70%~80%(体积分数)的乙醇溶液擦拭消毒2遍，作用3分钟，消毒范围强调以穿刺部位为中心，由内向外缓慢旋转，逐步涂擦，共2次，消毒皮肤面积应 $\geqslant 5\text{cm} \times 5\text{cm}$ 。

(4)静脉穿刺：①将患者的手臂置于稍低位置，在穿刺点上方约6cm处系紧压脉带，嘱受检者紧握拳头，使静脉充盈显露。采血人员一手拿着采血装置，另一只手的手指固定穿刺部位下方的皮肤，以使静脉位置相对固定。②手握持针器或注射器，保持穿刺针的方向和静脉走向一致，穿刺针与皮肤间的夹角约为20°，针尖斜面朝上。③将穿刺针快速、平稳地刺入皮肤和静脉。使用真空采血器时一只手固定住持针器和穿刺针，另一只手将真空采血管从持针器另一端推入；使用注射器穿刺成功后右手固定针筒，左手解开压脉带后，再缓缓抽动注射器针栓至

采集到所需血量。④血液开始流出即可解开压脉带,或者在开始采最后一管标本后立即解开压脉带,同时嘱患者松开拳头。⑤消毒干棉球压住穿刺点,拔出针头,嘱患者继续按压棉球并保持手臂上举数分钟,如患者无法做到,则由采血人员按压穿刺点直至不出血。⑥在静脉穿刺处贴上不会引起过敏的胶条以助止血,如穿刺点的按压力度和时间不够,可能会导致皮下出血,形成瘀斑。⑦来回颠倒采血管数次将标本和抗凝剂混匀,但不可剧烈摇晃。⑧将采血针弃于利器盒内。⑨按实验室要求在每支采血管上贴好标签。⑩如是门诊患者,嘱其静坐片刻,确认无头晕、恶心等不良反应后再允许患者离开。

【注意事项】

(1)采血部位通常选择肘前静脉,如此处静脉不明显,可采用手背、手腕、胭窝和外踝部静脉;幼儿可采用颈外静脉。

(2)使用真空采血器前应仔细阅读厂家说明书。使用前勿松动一次性真空采血试管盖塞,以防采血量不准。

(3)使用注射器采血时,切忌将针栓回推,以免注射器中气泡进入血管形成气栓,造成严重后果。

(4)采血过程中应尽可能保持穿刺针位置不变,以免血流不畅。

(5)压脉带捆扎时间不应超过1分钟,否则会使血液成分的浓度发生改变。

(6)如果一次需要采集多管血液标本时,应按以下顺序采血:血培养管-需氧、血培养管-厌氧,凝血项管,无抗凝剂管(含或不含促凝剂和分离胶),有抗凝剂管。

(7)如遇受检者发生晕针,应立即拔出针头,让其平卧。必要时可用拇指压掐或针刺人中、合谷等穴位,嗅吸芳香氨酚等药物。

二、末梢血的采集

【试剂与器具】

(1)一次性使用的无菌采血针。

(2)70%乙醇棉球。

(3)一次性手套和消毒干棉球。

(4)不同检测所需特殊器具(如用于制作血涂片的玻片、微量移液管、血细胞计数稀释液、微量血细胞比容测量管)。

【操作】

(1)采血部位:成人以无名指或中指的指尖内侧为宜;特殊患者(如烧伤),必要时可从足跟部两侧或大拇指采血;婴儿理想的采血部位是足底面两侧的中部或后部,针刺的深度不应超过2mm,靠近足底面后部的针刺深度不应超过1mm。

(2)可轻轻按摩采血部位,使其自然充血,用70%乙醇棉球消毒局部皮肤,待干。

(3)操作者用左手拇指和示指紧捏穿刺部位两侧,右手持无菌采血针,自指尖内侧迅速有力地穿刺,即刻拔出采血针并弃于利器盒内。

(4)用消毒干棉球擦去第一滴血,按需要依次采血。采血顺序:血涂片、EDTA抗凝管、其他抗凝管、血清及微量采集管。

(5)可轻柔按压周围组织以获得足量的标本。

(6)采血完毕,用消毒干棉球压住伤口,止血片刻。

【注意事项】

(1)所选的采血部位要避开冻疮、炎症、水肿和瘢痕等患处;除特殊情况外,不宜从耳垂采血。

(2)不宜从婴儿的手指以及脚后方跟腱处采血,以防止可能造成骨组织和神经组织的损伤。

(3)采血部位宜保持温暖,有利于血液顺畅流出。

(4)消毒皮肤后应待乙醇挥发,皮肤干燥后方可采血,否则流出的血液不呈圆滴状,也可能导致溶血。

(5)穿刺深度一般不超过2mm;针刺后,稍加按压以血液能流出为宜。

三、抗凝剂的选用

血液一般检验常用的抗凝剂有以下3种:

1. 枸橼酸钠(柠檬酸钠)

枸橼酸能与血液中的钙离子结合形成螯合物,从而阻止血液凝固。市售枸橼酸钠多含2个分子的结晶水,分子量(MW)为294.12,常用浓度为109mmol/L(32g/L)。枸橼酸钠与血液的比例多采用1:9(V:V)。常用于凝血试验和红细胞沉降率测定(魏氏法血沉测定时抗凝剂为0.4ml加血1.6ml)。

2. 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂·H₂O, MW336.21)或乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂·2H₂O, MW404.47)

抗凝机制与枸橼酸钠相同。全血细胞分析用EDTA-K₂·2H₂O, 1.5~2.2mg可阻止1ml血液凝固。由于EDTA-Na₂溶解度明显低于EDTA-K₂,故EDTA-K₂特别适用于全血细胞分析,尤其适用于血小板计数。由于其影响血小板聚集及凝血因子检测,故不适合做凝血试验和血小板功能检查。

3. 肝素

是一种含有硫酸基团的黏多糖,分子量为15000,与抗凝血酶结合,促进其对凝血因子Ⅺ、Ⅸ、Ⅹ和凝血酶活性的抑制,抑制血小板聚集从而达到抗凝。通常用肝素钠盐或锂盐粉剂(125U=1mg)配成1g/L肝素水溶液,即每ml含肝素1mg。取0.5ml置小瓶中,37~50℃烘干后,能抗凝5ml血液。适用于血气分析、电解质、钙等测定,不适合凝血象和血液学一般检查(可使白细胞聚集并使血涂片产生蓝色背景)。

四、血涂片制备

【器材】

清洁、干燥、无尘、无油脂的载玻片(25mm×75mm,厚度为0.8~1.2mm)。

【操作】

血涂片制备方法很多,目前临床实验室普遍采用的是手工推片法,即用楔形技术制备血涂片方法,在玻片近一端1/3处,加1滴(约0.05ml)充分混匀的血液,握住另一张边缘光滑的推片,以30°~45°角使血滴沿推片迅速散开,快速、平稳地推动推片至载玻片的另一端。

【注意事项】

- (1) 血涂片应呈舌状,头、体、尾三部分清晰可分。
- (2) 推好的血涂片在空气中晃动,使其尽快干燥。天气寒冷或潮湿时,应于37℃恒温箱中保温促干,以免细胞变形缩小。
- (3) 涂片的厚薄、长度与血滴的大小、推片与载玻片之间的角度、推片时的速度及血细胞比容有关。一般认为血滴大、角度大、速度快则血膜越厚;反之则血膜越薄。血细胞比容高于正常时,血液黏度较高,保持较小的角度,可得满意结果;相反,血细胞比容低于正常时,血液较稀,则应用较大角度、推片速度较快。
- (4) 血涂片应在1小时内染色或在1小时内用无水甲醇(含水量<3%)固定后染色。
- (5) 新购置的载玻片常带有游离碱质,必须用约1mol/L HCl浸泡24小时后,再用清水彻底冲洗,擦干后备用。用过的载玻片可放入含适量肥皂或其他洗涤剂的清水中煮沸20分钟,洗净,再用清水反复冲洗,蒸馏水最后浸洗后擦干备用。使用时,切勿用手触及玻片表面。
- (6) 血液涂片既可直接用非抗凝的静脉血或毛细血管血,也可用EDTA抗凝血制备。由于EDTA能阻止血小板聚集,故在显微镜下观察血小板形态时非常合适。但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。
- (7) 使用EDTA-K₂抗凝血液样本时,应充分混匀后再涂片。抗凝血样本应在采集后4小时内制备血涂片,时间过长可引起中性粒细胞和单核细胞的形态学改变。注意制片前,样本不能冷藏。

五、血涂片染色

(一) 瑞氏染色法

【原理】

瑞氏(Wright)染色法使细胞着色既有化学亲合作用,又有物理吸附作用。各种细胞由于其所含化学成分不同,对染料的亲合力也不一样,因此,染色后各种细胞呈现出各自的染色特点。

【试剂】

1. 瑞氏染液

| | |
|------------|--------|
| (1) 瑞氏染料 | 0.1g |
| (2) 甲醇(AR) | 60.0ml |

瑞氏染料由酸性染料伊红和碱性染料亚甲蓝组成。将瑞氏染料放入清洁干燥研钵里,先加少量甲醇,充分研磨使染料溶解,将已溶解的染料倒入棕色试剂瓶中,未溶解的再加少量甲醇研磨,直至染料完全溶解,甲醇全部用完为止,即为瑞氏染液。配好后放室温,一周后即可使用。新配染液效果较差,放置时间越长,染色效果越好。久置应密封,以免甲醇挥发或氧化成甲酸。染液中也可加中性甘油2~3ml,除可防止甲醇过早挥发外,也可使细胞着色清晰。

2.pH 6.8 磷酸盐缓冲液

磷酸二氢钾(KH₂PO₄) 0.3g

磷酸氢二钠(Na₂HPO₄) 0.2g

加少量蒸馏水溶解,再用蒸馏水加至1000ml。

【操作】

以血涂片染色为例。

- (1)采血后推制厚薄适宜的血涂片(见血涂片制备)。
- (2)用蜡笔在血膜两头画线,然后将血涂片平放在染色架上。
- (3)加瑞氏染液数滴,以覆盖整个血膜为宜,染色约1分钟。
- (4)滴加约等量的缓冲液与染液混合,室温下染色5~10分钟。
- (5)用流水冲去染液,待干燥后镜检。

【注意事项】

(1)pH对细胞染色有影响。由于细胞各种成分均由蛋白质构成,蛋白质均为两性电解质,所带电荷随溶液pH而定。对某一蛋白质而言,如环境pH<pl(pl为该蛋白质的等电点),则该蛋白质带正电荷,即在酸性环境中正电荷增多,易与酸性伊红结合,染色偏红;相反,则易与亚甲蓝结合,染色偏蓝。因细胞着色对氢离子浓度十分敏感。

- (2)未干透的血膜不能染色,否则染色时血膜易脱落。
- (3)染色时间的长短与染液浓度、染色时温度及血细胞多少有关。染色时间与染液浓度、染色时温度成反比;染色时间与细胞数量成正比。
- (4)冲洗时不能先倒掉染液,应用流水冲去,以防染料沉淀在血膜上。
- (5)如血膜上有染料颗粒沉积,可用甲醇溶解,但需立即用水冲掉甲醇,以免脱色。
- (6)染色过淡,可以复染。复染时应先加缓冲液,创造良好的染色环境,而后加染液,或加染液与缓冲液的混合液,不可先加染液。
- (7)染色过深可用水冲洗或浸泡水中一定时间,也可用甲醇脱色。
- (8)染色偏酸或偏碱时,均应更换缓冲液再重染。
- (9)瑞氏染液的质量好坏除用血涂片实际染色效果评价外,还可采用吸光度比值(ratio of absorption, RA)评价。瑞氏染液的成熟指数以 $RA(A_{650nm}/A_{525nm})=1.3\pm0.1$ 为宜。

(二)瑞氏-吉姆萨复合染色法

【原理】

吉姆萨染色原理与瑞氏染色相同,但提高了噻嗪染料的质量,加强了天青的作用,对细胞核着色效果较好,但和中性颗粒着色较瑞氏染色法差。因此,瑞氏·吉姆萨(Wright-Giemsa)复合染色法可取长补短,使血细胞的颗粒及胞核均能获得满意的染色效果。

【试剂】

瑞氏·吉姆萨复合染色液

I液:取瑞氏染粉1g、吉姆萨染粉0.3g,置洁净研钵中,加少量甲醇(分析纯),研磨片刻,吸出上层染液。再加少量甲醇继续研磨,再吸出上层染液。如此连续几次,共用甲醇500ml。收集于棕色玻璃瓶中,每天早、晚各振摇3分钟,共5天,以后存放一周即能使用。

II液:pH 6.4~6.8 磷酸盐缓冲液

磷酸二氢钾(无水) 6.64g

磷酸氢二钠(无水) 2.56g

加少量蒸馏水溶解,用磷酸盐调整pH,加水至1000ml。

【操作】

瑞氏-吉姆萨染色方法基本上与瑞氏染色法相同。

(三)30秒快速单一染色法

【试剂】

1. 贮存液

| | |
|--------------|--------|
| 瑞氏染粉 | 2.0g |
| 吉姆萨染粉 | 0.6g |
| 天青Ⅱ | 0.6g |
| 甘油 | 10.0ml |
| 聚乙烯吡咯烷酮(PVP) | 20.0g |
| 甲醇 | 1000ml |

2. 磷酸盐缓冲液(pH 6.2~6.8)

| | |
|-------|--------|
| 磷酸二氢钾 | 6.64g |
| 磷酸氢二钠 | 0.26g |
| 苯酚 | 4.0ml |
| 蒸馏水加至 | 1000ml |

3. 应用液

1液、2液按3:1比例混合放置14天后备用。

【操作】

将染液铺满血膜或将血片浸入缸内，30秒后用自来水冲洗。

(四)快速染色法

【试剂】

I液：

| | |
|--------|-----------------|
| 磷酸二氢钾 | 6.64g |
| 磷酸氢二钠 | 2.56g |
| 水溶性伊红Y | 4.0g(或伊红B 2.5g) |
| 蒸馏水 | 1000ml |
| 苯酚 | 40ml |

煮沸，待冷后备用。

II液：

| | |
|------|--------|
| 亚甲蓝 | 4g |
| 蒸馏水 | 1000ml |
| 高锰酸钾 | 2.4g |

煮沸，待冷后备用。

【操作】

把干燥血涂片浸入快速染色液的I液中30秒，水洗，再浸入II液30秒，水洗待干。

(宗新峰)