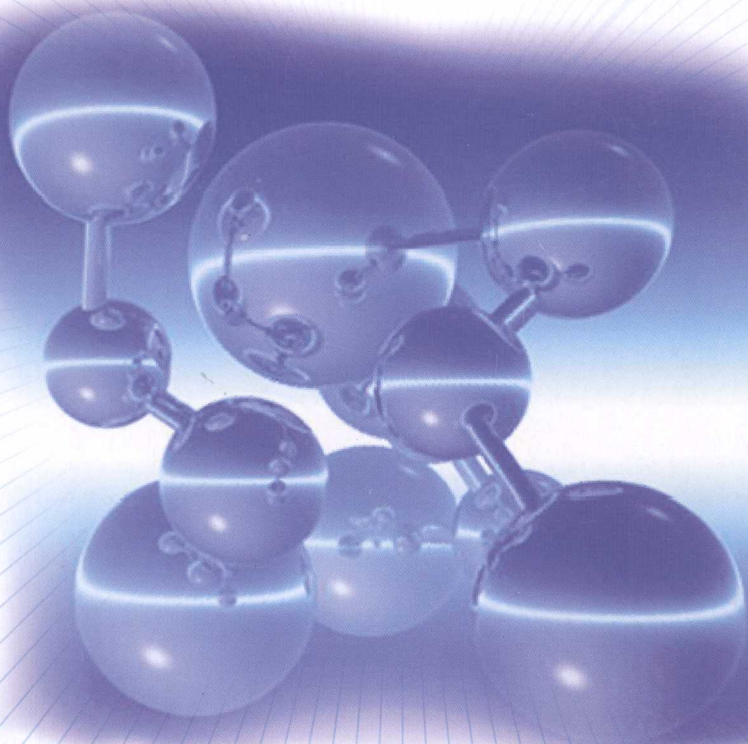


基础医学类实验系列丛书

实验诊断学

实验指导

主编 张群智



云南民族出版社

图书在版编目(CIP)数据

基础医学类实验系列丛书

ISBN 978-7-2267-3784-6

实验诊断学实验指导

主 编：张群智

主 审：钱金楸 段利华

参 编：孔 山

云南民族出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

实验诊断学实验指导/张群智主编. —昆明: 云南民族出版社, 2007. 7

(基础医学类实验系列丛书)

ISBN 978 - 7 - 5367 - 3784 - 6

I. 实… II. 张… III. 实验室诊断 IV. R446

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 127674 号

责任编辑	岳灵玉
装帧设计	云南师范大学印刷厂工作室
出版发行	云南民族出版社 (昆明市环城西路 170 号云南民族大厦 5 楼 邮编: 650032) http://www.ynbook.com ynbook@vip.163.com
印刷	云南师范大学印刷厂
开本	787 × 1092 1/16
印张	(总) 60
字数	(总) 1460 千
版次	2007 年 9 月第 1 版
印次	2007 年 9 月第 1 次
印数	1 ~ 1000 套
定价	94.00 元 (全 7 本)
书号	ISBN 978 - 7 - 5367 - 3784 - 6/R · 114

前 序 言

实验诊断学是一门独立的实验科学，技术性强，要求严格，是培养医学生科学思维、科学实验技能的重要组成部分，同时是巩固基础理论，学好临床课的一个桥梁。实验诊断学是以检验结果的临床应用为目的，培养学生的临床思维，对检验结果所反映的机体功能状态、病理变化或病因等客观资料，结合临床症状、体征全面系统的综合分析来判断健康状况及指导临床诊断、病情监测、疗效观察和预后评估，因此对学生今后在工作中诊断、治疗疾病都十分重要。根据实验诊断学大纲要求，参考有关资料编写了《实验诊断学实验指导》，全书内容按教材编排，以便与理论课紧密结合。实验的形式以学生个人操作及示教相结合，内容均编入在内。此外，增补了必要的插图和图表等，以便学生应用和参考。

编写中因水平所限，书中不当之处在所难免，恳请应用本书的教师、学生批评指正。

编 者 张群智

2007年8月

作为分管教学的副校长，我要感谢为之付出辛勤劳作的编者老师，感谢为把此系列丛书正式出版做出努力的医学科研服务中心的同志们。

大理学院副校长 钱金波 教授

2007年6月30日

序

我国的高等教育，从20世纪末逐步进入了大众化教育阶段，高等教育的发展进入了快速发展时期，大学的分类分层也更加明显。

大理学院根据学校的实际和社会的需求，在总结国内外高等教育先进思想的基础上，于2004年教学工作会上，比较早地提出了要培养“思想品德优良、基础理论扎实、个性充分发展、具有较强实践能力和创新精神、能适应地方经济、社会发展需要的高素质应用型人才”的人才培养定位。这个办学理念 and 定位，将把学校带入一个崭新的发展快车道。随着时间的推移，将更加证明它的先进性和正确性，并深刻地影响着学校的未来。

医学教育本来就是一个实践性很强的学科。培养应用型人才，不仅要求教师要重视专业理论教学的传授，更要重视实验教学环节，尤其是综合运用各方面知识解决实际问题的能力，重视学生专业核心技能的培养和实践能力的提高。开展好实验教学工作、让学生有更多的机会练习，在培养合格学生过程中具有重要的、不可替代的作用。

为了推动我校的实验教学改革，培养更多优秀的应用型人才，我校教学科研服务中心牵头，组织编写大理学院医学教辅材料丛书，并与出版社联系出版事宜，无疑是一件大好事。

大理学院医学教辅材料丛书的各个分册，都是各个老师经过多年教学工作的经验总结，有的已经在教学工作中使用了多年，具有很强的实用性，解决了学生部分实验教学和课程练习的问题，为教学提供了比较规范的、有我校特色的教辅材料。希望教师们在学习中，不断修改完善，让它绽放出更绚丽的色彩来。

作为分管教学的副校长，我要感谢为之付出辛勤劳作的编者老师，感谢为把此系列丛书正式出版做出努力的教学科研服务中心的同志们。

大理学院副校长 钱金楸 教授

2007年6月30日

实验室须知

1. 准时参加学习，进实验室必须穿好白大衣，戴好帽子，遵守课堂纪律，注意保持实验室的整齐和安静。
2. 对教师的提问，应严肃、认真回答。
3. 爱护公物，节约实验材料，遇有仪器损坏，应填写损坏登记本，并赔偿。
4. 培养实事求是、理论联系实际科学作风。实验过程中要认真操作，仔细观察并联系有关理论进行思考，注意检验数据的准确性和严谨性，按要求按时完成实验报告。
5. 注意安全，凡病人标本均应视为有传染性，应防止污染自己及他人。意外事件必须立即报告教师。
6. 保持实验室内清洁，实验结束后轮流搞好实验室的清洁卫生，最后关好水、电闸门及门窗。

目 录

实验室须知

实验一

- 血液一般检验(一) General Examination of Blood (1)
- 一、毛细血管采血 (2)
- 二、血红蛋白测定(Hemoglobin 简称 Hb) (2)
- 三、红细胞计数(red blood cell count 简称 RBC) (2)

实验二

- 血液一般检验(二) General Examination of Blood (6)
- 一、白细胞计数(White blood cell count 简称 WBC) (6)
- 二、白细胞分类计数(Differential count 简称 DC) (7)
- 三、白细胞常见的病理形态 (9)

实验三

- 血液一般检验(三) General Examination of Blood (10)
- 一、网织红细胞计数(Recitudocto Count) (10)
- 二、红细胞比容(Determination of Hematocrit Hct)测定 (11)
- 三、红细胞沉降率(Determination of Erythrocyte sedimentation rate 简称 ESR)测定
..... (12)

实验四

- 骨髓细胞学检验(Cytological Examination Of Bone Marrow) (13)

实验五

- 出血与血栓性疾病的实验室检查(Laboratory Examination of Hemorrhagic
Thrombotic Disorders) (16)
- 一、血小板计数(Platelet count 简称 PC) (16)
- 二、出血时间测定(bleeding time 简称 BT) (17)
- 三、凝血时间测定(Coagulation time 简称 CT) (18)

四、血块退缩试验(C1et retraction time CRT) (19)

五、毛细血管脆性试验(Capillary resistance test) (20)

实验六

——血型鉴定与配血(Blood group typing and matching of blood) (21)

一、ABO 血型鉴定 (ABO blood group typing) (21)

二、ABO 血型交叉配血试验 (23)

三、Rh 血型鉴定(Rhesus monkey blood group typing) (23)

实验七

——尿液检验(Examination urine) (24)

一、尿液检验 (24)

二、尿胆原定性试验改良欧立式(Ehrlich)法 (30)

三、尿胆红素定性试验(Harrison 法) (30)

四、尿胆素定性试验(schlesinger 法) (31)

五、尿酮体检查(Rothera 改良法) (31)

实验八

——粪便检验(Examination of Feces) (33)

一、粪便检验(Examination of Feces) (33)

二、粪便隐血试验(OBT occult blood test) (35)

实验九

——几种常用全自动分析仪器参观 (36)

一、全自动生化分析仪简介 (36)

二、全自动血细胞分析仪 (37)

三、尿液十一项分析仪 (38)

实验十

——脑脊髓液和浆膜腔积液检验(Examination of Cerebrospinal fluid and serous cavity

Effusion) (41)

一、脑脊髓液检验(Examination of Cerebrospinal fluid) (41)

二、浆膜腔穿刺液检验(Examining of serous cavity Effusion) (44)

实验一

——血液一般检验（一） General Examination of Blood

【内容】

1. 毛细血管采血法
2. 血红蛋白测定
3. 红细胞计数
4. 细胞计数板的应用
5. 正常及异常红细胞形态（示数）

【目的要求】

1. 掌握细胞计数池的结构及应用范围。
2. 掌握红细胞直接计数，血红蛋白测定的原理、操作方法、参考区间、临床意义及标本送检要求。

【器材】

721 - 型分光光度计、血红蛋白测定仪、血细胞计数板、血红蛋白吸管、75%酒精棉球及干棉球、三棱针、玻棒及试管、显微镜

【试剂】

1. HicN 试剂的配制：

氰化钾 50mg

高铁氰化钾 200mg

无水磷酸二氢钾 140mg

Triton X-100 1.0mL

蒸馏水： 加至 1000mL，纠正 PH 为 7.0 ~ 7.4。

此液为淡黄色透明溶液，贮存在棕色有塞玻璃瓶中，放 4℃ 冰箱保存，一般可用数月。

2. 赫姆（Hayem）液：

氯化钠 1.0g

结晶硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 5.0g (或无水硫酸钠 2.5g)

氯化高汞 0.5g

蒸馏水加至 200mL

溶解后加 20g/L 伊红水溶液 1 滴，过滤后用。

一、毛细血管采血

[器材]

1. 三棱针, 预先高压消毒, 采血针、血红蛋白吸管保证一人一针一管以避免交叉感染
2. 消毒干棉球
3. 75% 乙醇棉球
4. 20 μ L 血红蛋白吸管

[方法]

1. 采血部位以左手无名指指端内侧为宜。
2. 轻轻按摩采血部位, 使其自然充血, 用 75% 酒精棉球消毒局部皮肤, 待干。
3. 紧捏刺血部位, 用无菌采血针迅速刺入皮肤 2~3mm, 让血液自然流出, 如血液不流出可在其周围轻轻加压, 但不要过重。
4. 用干棉球擦去第一滴血、按需要依次用血红蛋白吸管采血。
5. 采血完毕, 用干棉球压住伤口, 止血片刻。
6. 血红蛋白吸管的使用: 在采血前首先练习一下吸管使用, 使其达到得心应手。

二、血红蛋白测定 (Hemoglobin 简称 Hb)

[原理]

血红蛋白中的亚铁离子 (Fe^{2+}) 被高铁氰化钾氧化成高铁离子 (Fe^{3+}), 血红蛋白转化成高铁血红蛋白, 高铁血红蛋白与氰离子 (CN^-) 结合, 生成稳定的氰化高铁血红蛋白, 用光电比色计在 540nm 波长比色, 从 HicN 参考液制作的标准曲线上读取血红蛋白克数。

[试剂]

HicN 试剂: 前述

[方法]

取 HicN 试剂 5mL 加入血液 20 μ L 混匀置 5min 后用 721 - 型分光光度计, 选 540nm 波长, 试剂为空白调 0 点比色, 读取光密度, 查标准曲线得结果。

示教: 血红蛋白测定仪测定方法及结果观察。

[参考区间]

男性成人: 120 ~ 160g/L

女性成人: 110 ~ 150g/L

新生儿: 170 ~ 200g/L

三、红细胞计数 (red blood cell count 简称 RBC)

[原理]

一定量的血液经一定量等渗性稀释液稀释后, 充入血细胞计数池中显微镜下计数一

定容积内的细胞，再换算成每升标本的细胞数报告。

[血细胞计数板]

血细胞计数板中央有两个刻度平台（即血细胞计数池），每个平台划分为9个大方格，每个大方格的面积为 1mm^2 ，加特制盖片的深度为 0.1mm ，故每个大方格的容积为 0.1mm^3 。四角的大方格又等分为16个中方格，作为计数白细胞用。中央大方格又等分为25个中方格，每个中方格又等分为16个小方格，共为400个小方格，作为计数红细胞和血小板之用。计数台之上覆以特制的盖片（厚度 0.4mm ，表面平直，质地较硬）后构成计数室。每个大方格体积是 0.1mm^3 （ $1\text{mm} \times 1\text{mm} \times 0.1\text{mm}$ ），参阅图1、图2及图3。

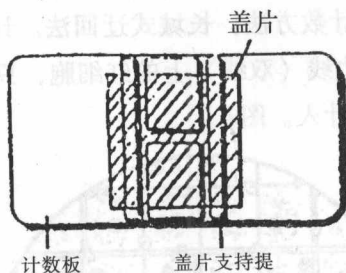


图1 血细胞计数板正面图

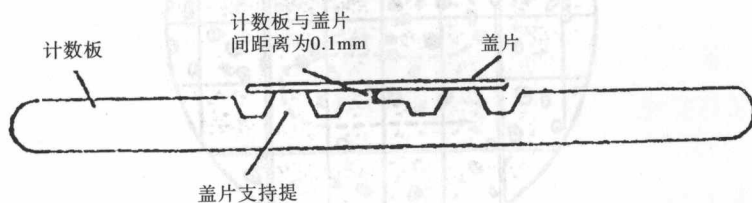


图2 血细胞计数板侧面图

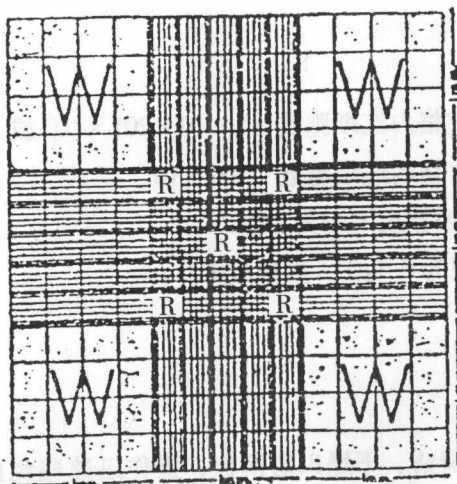


图3 血细胞计数台镜下结构

[方法]

1. 取红细胞稀释液 2.0mL, 放入一小试管内。
2. 用血红蛋白吸管吸血至 10 μ L 处。
3. 擦去管尖外部余血将血液迅速轻轻吹入盛有红细胞稀释液的试管内, 吸上清液洗吸管 2~3 次, 立即摇匀。
4. 用玻棒取混悬液少量, 充入计数池内。
5. 待 2~3min, 让红细胞完全下沉后, 将计数板平放在显微镜台上, 用低倍镜观察, 如红细胞分布均匀即可换高倍镜进行计数。红细胞计数的区域是中心大方格中的 5 个中方格 (正中一个和四角各一个)。计数方法: 长城式迂回法。计数原则: “数上不数下, 数左不数右”, 即: 凡压在中方格边线 (双线) 上的红细胞, 只计数压上侧与左侧线上的细胞, 而压在下侧与右侧线上者不计入。图 4。

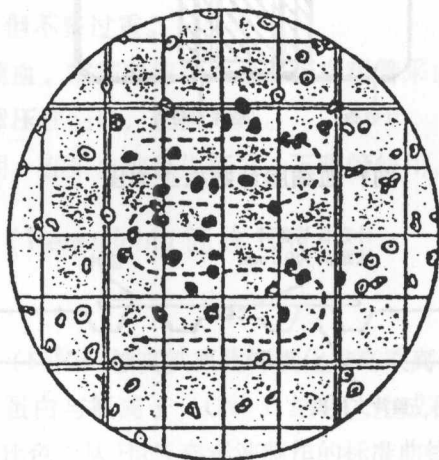


图 4 红细胞计数的方式

[计算]

红细胞数/L = 5 个中方格内红细胞数 $\times 5 \times 10 \times 201 \times 10^6$ 或

红细胞数/L = 5 个中方格内红细胞数 $\div 100 \times 10^{12}$

式中 $\times 5$ 5 个中方格换算成 1 个大方格

$\times 10$ 1 个大方格容积为 0.1 μ L, 换算成 1.0 μ L

$\times 20$ 血液的稀释倍数

$\times 10^6$ 由 μ L 换算成 L

[注意事项]

1. 吸管、试管要注意清洁、干燥以防溶血, 操作迅速避免血液凝固, 如有血凝块应重新采血, 同时做血红蛋白测定、红细胞计数、白细胞计数和分类计数, 在采血时应先做血膜, 其次做红细胞, 然后做白细胞, 血红蛋白检验, 避免红细胞破坏。

2. 充液前，红细胞悬液要充分摇匀，红细胞悬液注入计数池内要求分布均匀，不可有气泡，亦不可有多余液体外溢。

3. 中方格内红细胞分布应均匀，健康成人每中方格红细胞数为 80~100 个，各中方格内之红细胞相近，如悬殊过大（超过 10 个细胞的）应重混匀再充填。

[参考区间]

男性成人：(4~5.5) × 10¹²/L

女性成人：(3.5~5) × 10¹²/L

新生儿：(6~7) × 10¹²/L

式中，+4 为每个大方格（即 0.1cm³）内白细胞平均数

× 10¹² / L 个大方格容积为 0.1μl，换算成 1μl

× 20 由液稀释倍数

[参考区间]

成人：(4~10) × 10⁹/L

新生儿：(15~30) × 10⁹/L

6 个月至 2 岁：(11~12) × 10⁹/L

1. 白细胞计数的注意事项

2. 计数时，两次重复计数误差不得超过 10%

3. 在某些病理情况下，血中可出现大量有核红细胞以致影响白细胞计数，此时应同时测定其网织红细胞计数（染色涂片）兰亚甲蓝 0.8mL，1% 亚甲蓝 2mL，蒸馏水加至 98mL，蒸馏水加至 98mL，蒸馏水加至 98mL

[校正公式]

白细胞校正数 = X × 100 / 100 + Y

X = 未校正前白细胞数

Y = 校正前网织红细胞百分数 × 100

网织红细胞百分数 = 网织红细胞数 / 白细胞总数 × 100

网织红细胞百分数 = 网织红细胞数 / 白细胞总数 × 100

白细胞计数 (White blood cell count, WBC) 计数池

二、白细胞分类计数 (Differential count)

1. 血片制备法

(1) 左手拇指取血一小滴置于玻片一端，把推片的一端浸入血液内，然后将推片

向右移动，并左右移动一二次使血液铺开。置于小试管内，置于小试管内，置于小试管内

置于小试管内，置于小试管内，置于小试管内

实验二

——血液一般检验 (二) General Examination of Blood

【内容】

1. 白细胞计数
2. 白细胞分类计数
3. 白细胞常见的病理形态 (示教)

【目的要求】

1. 掌握白细胞直接计数, 分类计数的原理、方法、参考区间、临床意义及标本送检要求, 并换算出白细胞绝对值。
2. 掌握血液涂片的制作与瑞氏染色方法。
3. 熟悉并能识别三类五种白细胞的正常形态及白细胞常见的病理形态。

【器材】

血细胞计数板、玻片、推片、手掀计数器、染色架、吸耳球、三棱针、酒精棉球及干棉球、血红蛋白吸管、小试管、显微镜

【试剂】

1. 白细胞稀释液:

冰醋酸 2mL, 蒸馏水加至 98mL, 1% 亚甲兰 (或结晶紫) 数滴显色借以区别其他稀释液。

2. 瑞氏染液、缓冲液或蒸馏水、香柏油。

瑞氏—姬姆萨复合染色液:

取瑞氏染粉 1g, 姬姆萨染粉 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 3min 共 5 天, 以后存放一周即能使用。

一、白细胞计数 (White blood cell count 简称 WBC)

【原理】

血液经稀酸稀释后, 成熟红细胞全部被溶解, 注入血细胞计数板, 在显微镜下计数一定范围内的白细胞, 经换算求得每升血液中白细胞总数。

【方法】

1. 取白细胞稀释液 0.38mL, 置于小试管内。

2. 用血红蛋白吸管吸血液至 $20\mu\text{L}$ 处，擦去管尖多余的血液，将血液迅速放入稀释液中再吸上清液冲洗几次，立即混匀。

3. 待液体呈褐色后，摇匀用玻棒充填入血细胞计数板内（与红细胞计数操作相同）。

4. 静置 $2\sim 3\text{min}$ ，低倍镜下计数四角 4 个大方格中白细胞总数。计数原则压边线的白细胞，仍为数上不数下，数左不数右。计数方法：长城式迂回法。

[计算]

4 个大方格内白细胞总数：

$$\text{白细胞数/L} = \frac{\text{4 个大方格内白细胞总数}}{4} \times 10 \times 20 \times 10^6$$

式中 $\div 4$ 为每个大方格（即 $0.1\mu\text{L}$ ）内白细胞平均数

$\times 10$ 1 个大方格容积为 $0.1\mu\text{L}$ ，换算成 $1\mu\text{L}$

$\times 20$ 血液稀释倍数

$\times 10^6$ 由 $1\mu\text{L}$ 换算成 1L

[参考区间]

成人： $(4\sim 10) \times 10^9/\text{L}$

新生儿： $(15\sim 20) \times 10^9/\text{L}$

6 个月至 2 岁： $(11\sim 12) \times 10^9/\text{L}$

[注意事项]

1. 与红细胞计数的注意事项相同。
2. 计数时，两次重复计数误差不得超过 10%。
3. 在某些病理情况下，血中可出现大量有核红细胞以致影响白细胞计数，此时应通过分类计数将有核红细胞从总数中减去。

[校正公式]

白细胞校正数 = $X \times 100/100 + Y$

X = 未校正前白细胞数

Y = 在分类计数时，计数 100 个白细胞的同时，计数到的有核细胞数

例：某标本校正前“有核细胞数”为 $10 \times 10^9/\text{L}$ ，血片分类计数 100 个白细胞过程中见有核红细胞 20% 个。则校正后的白细胞数应为：

$$\text{白细胞数/L} = 10 \times 10^9/\text{L} \times \frac{100}{100 + 20} = 8.3 \times 10^9/\text{L}$$

二、白细胞分类计数（Differential count 简称 DC）

1. 血片制备法：

(1) 自手指端取血一小滴置于玻片一端，把推片的一端放在血滴前方，将推片略向后移，并左右移动一二次使血滴散开。

(2) 使推片与玻片之间形成 $30^{\circ} \sim 40^{\circ}$ 角，均匀向前推成一个厚薄均匀，头、体、尾分明的血片。(见图 5)

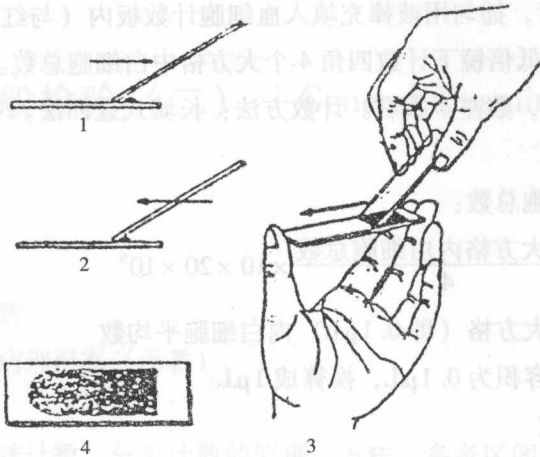


图 5 血涂片的制备

2. 瑞氏染色法:

[原理]

瑞氏染色液中含有甲醇，起固定细胞的作用，其中还含有碱性染料（美兰及少量天青）和酸性染料（伊红），在一定 PH 下细胞蛋白质因等电点不同，可选择性地吸附上述染料而着色。

[方法]

(1) 待血片干燥后，于血膜上滴加瑞氏染色液数滴以盖住血膜为宜，静置约 1min。

(2) 再加等量的缓冲液与染液混匀（边加边用洗耳球打气或口吹），静置 8 ~ 10min，染色的时间随室外温度升高而适当缩短，反之可延长。

(3) 用自来水缓缓地将染料液冲去，干后油镜分类。

3. 分类计数:

(1) 将染好的血片先用低倍镜观察选染色良好、厚薄适宜、细胞分布均匀处，以油镜进行分类。

(2) 在血片的体尾交界处染色良好的部分滴加香柏油一滴，用油镜对好视野，以曲径推动血片，向尾部上下迂回移动，如图 6 白细胞分类的镜检顺序。同时将遇到的各类白细胞分别记录下来至总数达 100 个为止，每类的白细胞数目即为其百分率，

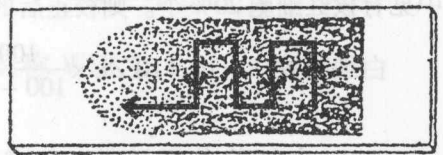


图 6 白细胞分类的镜检顺序

一般来说粒细胞、单核细胞以及体积大的细胞多分布于涂片上下边缘及其尾端，淋巴细胞多分布于体部。(图 6)

4. 各种白细胞绝对值计算, 由每立方毫米内的白细胞总数, 乘以该白细胞的百分数, 即得出绝对值。

如: 白细胞数为 $10 \times 10^9/L$, 淋巴细胞为 30%, 淋巴细胞的绝对值为 $10 \times 30\% = 3 \times 10^9/L$

[参考区间]

嗜中性杆状核粒细胞 (neutrophilic stab granulocyte Nst) 0 ~ 5% 国际单位 0 ~ 0.05

嗜中性分叶核粒细胞 (neutrophilic segmented granulocyte, Nsg) 50% ~ 70% 国际单位 0.5 ~ 0.7

嗜酸性粒细胞 (E Eosinophil) 0.5% ~ 5% 国际单位 0.005 ~ 0.05

嗜碱性粒细胞 (B Basophil) 0 ~ 1%, 国际单位 0 ~ 0.01

淋巴细胞 (L Lymphocyte) 20% ~ 40%, 国际单位 0.2 ~ 0.4

单核细胞 (M Monocyte) 3% ~ 8%, 国际单位 0.03 ~ 0.08

[注意事项]

1. 在白细胞分类计数时, 如遇到幼稚红细胞, 要注意不要将此种细胞包括在白细胞的百分数内, 应另行报告。

2. 儿童的白细胞分类计数, 其正常值随年龄的大小而不同, 特别是淋巴细胞的变化较大。新生儿及 2 岁以内的幼儿淋巴细胞可为 0.7 ~ 0.8, 3 ~ 5 岁时, 淋巴细胞为 0.42 ~ 0.6, 6 ~ 8 岁时为 0.5 左右, 8 ~ 14 岁则接近成人。

三、白细胞常见的病理形态

中毒颗粒、空泡变性。