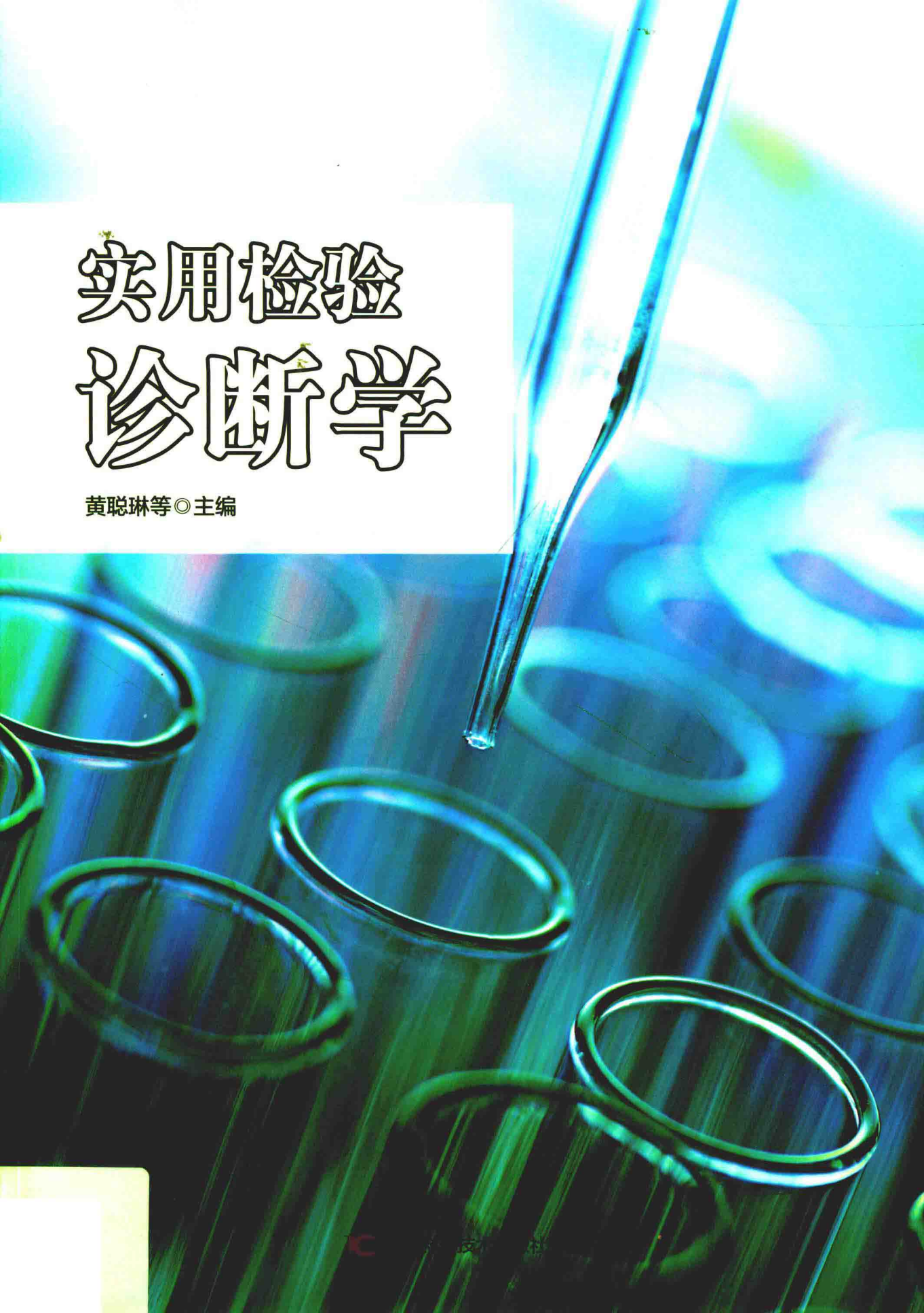


实用检验 诊断学

黄聪琳等◎主编



实用检验诊断学

黄聪琳等◎主编

 吉林科学技术出版社

图书在版编目 (C I P) 数据

实用检验诊断学 / 黄聪琳等主编. — 长春 : 吉林科学技术出版社, 2018. 6

ISBN 978-7-5578-4374-8

I. ①实… II. ①黄… III. ①医学检验 IV.
①R446

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第094483号

实用检验诊断学

主 编	黄聪琳等
出 版 人	李 梁
责任编辑	赵 兵 张 卓
封面设计	长春创意广告图文制作有限责任公司
制 版	长春创意广告图文制作有限责任公司
幅面尺寸	185mm×260mm
字 数	261千字
印 张	14.25
印 数	650册
版 次	2019年3月第2版
印 次	2019年3月第2版第1次印刷

出 版	吉林科学技术出版社
发 行	吉林科学技术出版社
地 址	长春市人民大街4646号
邮 编	130021
发行部电话/传真	0431-85651759
储运部电话	0431-86059116
编辑部电话	0431-85677817
网 址	www.jlstp.net
印 刷	虎彩印艺股份有限公司

书 号	ISBN 978-7-5578-4374-8
定 价	55.00元

如有印装质量问题 可寄出版社调换

因本书作者较多,联系未果,如作者看到此声明,请尽快来电或来函与编辑部联系,以便商洽相应稿酬支付事宜。

版权所有 翻印必究 举报电话: 0431-85677817

前言

随着基础医学和临床医学的飞速发展，许多新的技术、新的理念、新的管理模式已融入检验医学。检验医学作为“古老”而又“新兴”的边缘学科，发生了本质的变化，从检验技术转变为检验医学，其在现代化医学的地位越来越重要，对医学检验专业人员的要求也越来越高。为适应我国检验医学事业的发展，检验科技人员在提高检验技能的同时，也要加强临床知识的学习，掌握检验项目的临床意义，以便更好地协助临床，服务患者。

《实用检验诊断学》以医学检验为主线，以疾病诊断治疗为目标，以检验临床结合为中心，涵盖了临床检验基础、临床血液学检验、临床生物化学与分子生物学检验、临床微生物学检验。论述详尽，内容新颖，科学性与实用性强。本书是各位作者结合多年丰富的临床经验，参考大量相关书籍，详细总结，深入思索，并加以汇总、提炼而成，适用于广大医学检验工作者、临床医生及检验医学科研人员参考使用。

由于编写人员较多，时间紧促，尽管在编写过程中再三校对、反复审核，但书中难免有不足之处，望各位读者不吝赐教，提出宝贵意见和建议，以便再版时修订。

编 者
2018年5月

目 录

第一篇 临床检验基础

第一章 标本采集和处理	3
第一节 血液样本采集和血涂片制备	3
第二节 尿液生成和标本采集及处理	8
第三节 粪便标本采集及处理	11
第四节 体液标本采集及处理	12
第二章 血液一般检验	13
第一节 血红蛋白测定	13
第二节 红细胞检验	15
第三节 白细胞计数	17
第四节 血小板计数	20
第五节 红细胞沉降率测定	21
第三章 尿液一般检验	24
第一节 尿液一般性状检查	24
第二节 尿液渗量测定	26
第三节 尿液化学检查	27
第四节 尿沉渣检查	34
第四章 粪便一般检验	40
第一节 一般性状检查	40
第二节 粪便显微镜检查	40
第三节 粪便隐血试验	47
第五章 体液一般检验	49
第一节 脑脊液检查	49
第二节 精液检查	52
第三节 阴道分泌物检查	56
第四节 痰液检查	57

第二篇 临床血液学检验

第六章 贫血疾病检验	61
第一节 贫血实验室诊断概论	61
第二节 缺铁性贫血	65
第三节 巨幼细胞性贫血	70
第四节 再生障碍性贫血	74

第五节 纯红细胞再生障碍性贫血	79
第六节 阵发性睡眠性血红蛋白尿症	81
第七节 微血管病性溶血性贫血	87
第七章 出血与血栓性疾病检验	90
第一节 过敏性紫癜	90
第二节 血友病	94
第三节 原发性血小板减少性紫癜	106
第四节 继发性血小板减少性紫癜	112
第八章 白血病与淋巴瘤检验	116
第一节 急性淋巴细胞白血病	116
第二节 急性髓细胞白血病	117
第三节 慢性白血病	121
第四节 特殊类型白血病	122
第五节 淋巴瘤	124
第九章 与机体防御和代谢相关的白细胞疾病检验	127
第一节 白细胞的发育与成熟	127
第二节 成熟白细胞的代谢和功能	128
第三节 中性粒细胞和吞噬细胞的检测	133
第四节 淋巴细胞的检测	138

第三篇 临床生物化学与分子生物学检验

第十章 光谱分析技术	145
第一节 光谱分析技术概述	145
第二节 吸收光谱分析	145
第三节 发射光谱分析	148
第四节 散射光谱分析	152
第十一章 色谱分析技术	155
第一节 色谱法概述	155
第二节 薄层层析法	157
第三节 高效液相色谱法	159
第四节 气相色谱法	161
第十二章 其他生化检验常用技术	164
第一节 常用电泳分析技术	164
第二节 物质谱技术	168
第三节 血气分析仪及临床应用	169

第四篇 临床微生物学检验

第十三章 细菌检验技术	177
第一节 细菌形态学检查	177
第二节 培养基的种类和制备	179
第三节 细菌的接种和培养	183
第四节 常用染色技术	189

第五节	细菌数量测定	193
第六节	细菌的生化反应	194
第七节	分子微生物学检验技术	200
第八节	免疫学检测技术	203
第九节	生物芯片技术	204
第十节	菌株保存和管理	206
第十四章	病毒检验技术	209
第一节	病毒形态学检查	209
第二节	病毒的分离和鉴定	210
第三节	病毒免疫学检测	212
第四节	病毒的分子生物学检测	213
第十五章	真菌检验技术	215
第一节	真菌形态检验技术	215
第二节	真菌的培养技术	216
第三节	真菌的其他检验技术	217
参考文献		218

第一篇

临床检验基础



标本采集和处理

第一节 血液样本采集和血涂片制备

一、血液生理概要

(一) 血液的组成

血液由血细胞（红细胞、白细胞、血小板）和血浆组成。离体后血液自然凝固，分离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。血清与血浆的差别是：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、VIII 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 指存在于血液循环系统中全部血液的总量，相当于血浆量与血细胞量的总和。正常人血量为 (70 ± 10) ml/kg 体重，成人 4 ~ 5L，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的血红蛋白。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 CO 中毒或氰化物中毒者血液呈樱红色。餐后，尤其是高脂膳食后，血浆呈乳白色。溶血患者血浆呈红色。

3. 酸碱度 受人体饮食中摄入的酸性或碱性物质、体内代谢产生的酸性物质，如乳酸、乙酰乙酸、 β -羟丁酸、 H_3PO_4 、 H_2SO_4 等影响，血液 pH 波动在很小范围内。正常人血液 pH 为 7.35 ~ 7.45，动脉血 pH 为 7.40，静脉血 pH 为 7.35。

4. 比密和渗透量

(1) 血液比密：正常男性为 1.055 ~ 1.063，女性为 1.051 ~ 1.060，相对黏度为 4 ~ 5；血浆比密为 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：正常人为 290 ~ 310mOsm/kg · H_2O 。

(三) 血液的特性

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（形成 Zeta 电位使红细胞间相互排斥，保持一定距离）、正常血浆成分、血浆黏度及血流动力学等因素有关。

2. 黏滞性 正常人全血黏度为生理盐水黏度的 4 ~ 5 倍，血浆黏度约为生理盐水黏度的 1.6 倍。血液黏度与血细胞比容和血浆黏度有关，其中，血浆黏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,血浆黏度越高。此外,血管内壁和血流动力学因素亦可影响血液黏度。

3. 凝固性 通常,血液从血管取出后在数分钟内便自行凝固,是凝血因子激活的结果。

(四) 血液的生理功能

1. 运输功能 可将自肺部吸入的氧气和自消化道吸收的各种营养成分(如葡萄糖、氨基酸、矿物质等),经过血液运输到全身各个脏器和组织,同时将各个脏器和组织产生的各种代谢产物(如 CO_2 、尿素等),通过血液输送到肺、肾等排泄器官排出体外。

2. 协调功能 将各种激素、酶类运输到相关组织器官,实现对全身各组织器官功能活动的协调。

3. 维持机体内环境稳定 通过循环与身体各部位广泛沟通,对体内水电解质平衡、酸碱平衡、体温恒定有重要作用,使机体保持一个适宜而稳定的理化环境。

4. 防御功能 白细胞、抗体、补体、细胞因子具有强大免疫功能。血小板、凝血因子具有止血和凝血作用。

二、采血方法

血样本的正确采集是获得准确、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的注射器,并配备相应的针头。但某些特殊检查,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。目前已有商品化的真空采血系统的采血法。

2. 操作方法和注意事项

(1) 患者准备:采血前应向患者耐心解释,以消除其疑虑和恐惧心理。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) 检查注射器: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) 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。

(4) 穿刺: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。

(5) 抽血:针栓只能外抽,不能内推,以免静脉内注入空气形成气栓,造成严重后果。

(6) 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。

(二) 皮肤采血法

1. 概述 曾被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;婴幼儿可采集大脚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,细微的光束打在手指上,在很短时间内使皮肤组织溶解、挥发,出现一个小孔,

而打孔后的残留物呈等离子状态，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，可确保检测结果准确，同时也可消除交叉感染，达到无痛采血的效果。

2. 操作方法和注意事项

(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 75% 乙醇挥发后采血，否则流出的血液扩散而不成滴。

(4) 采血时，先应按摩左手手中指或无名指指端内侧，使局部组织自然充血。针刺深度 2 ~ 3mm。

(5) 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。

(6) 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、白细胞计数等。

(三) 真空采血法

是一种新的静脉采血法。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，适于不同的检验项目（表 1-1）。

表 1-1 常用彩色真空采血容器的用途

容器盖颜色	添加剂	注意事项	用途
红色	无	凝块形成需 30 ~ 60min	化学、血清学、血库
紫色	EDTA	须颠倒混匀 8 次	全血细胞计数（CBC）
淡蓝色	枸橼酸钠	须颠倒混匀 3 ~ 4 次；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；须颠倒混匀 8 次	化学
灰色	氟化钠	须颠倒混匀 8 次	葡萄糖、糖耐量
黄色	多聚茴香脑磺酸钠	须颠倒混匀 8 次	血培养
金黄色	分离胶/凝块激活剂	须颠倒混匀 5 次	化学
淡绿色	分离胶/肝素锂	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；须颠倒混匀 8 次	血沉
橘红色	促凝剂	须颠倒混匀 8 次，静置 5min，离心	快速生化实验

(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，皮肤采血检查易发生凝块，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。如正常人一日之间，白细胞数、嗜酸性粒细胞数、血小板数等均有一定的波动。

2. 采血 采血前，患者应尽量少运动，保持平静。住院患者应在早晨卧床时取血。冬天，患者从室外进入室内，应等其暖和后再采血。止血带结扎时间应小于 1 分钟，如超过 2 分钟，大静脉血流受阻而使毛细血管内压增高，血管内液与组织液交流，使分子质量 < 5 000 的物质逸入组织液，或缺氧引起血液成分的变化，使检查结果增高或减低。

3. 溶血 血细胞内、外各种成分有梯度差，有的成分相差数十倍（表 1-2），故在采集、运输、保管、分离血细胞时应尽量避免溶血。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增高或减低，不能确切地反映原始标本的实际含量。

表 1-2 溶血引起部分物质血清浓度的变化

相关成分	红细胞内浓度与血清比率	1% 溶血后血清浓度变化（%）
乳酸脱氢酶	160 : 1	+272.5
AST	40 : 1	+220.0
钾	23 : 1	+24.4
ALT	6.7 : 1	+55.0
葡萄糖	0.82 : 1	-5.0
磷酸盐	0.78 : 1	+9.1
钠	0.11 : 1	-1.0
钙	0.10 : 1	+2.9

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。血浆在 4℃ 保存 24h 后，某些凝血因子活性减少 95%。低温（4℃）保存血液可使血小板计数结果减低。因此，应根据实验项目确定最佳的保存条件。

5. 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。如患者有严重腹泻或呕吐时，红细胞计数可因脱水而相对性增高。

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。常用的抗凝剂及其使用方法如下。

1. 乙二胺四乙酸（EDTA）盐 常用的有钠盐（EDTA - Na₂ - H₂O）或钾盐（EDTA - K₂ - 2H₂O），能与血液中钙离子结合成螯合物，使 Ca²⁺ 失去凝血作用，阻止血液凝固。根据国际血液学标准化委员会（ICSH）建议，CBC 抗凝剂用量为 EDTA - K₂ - 2H₂W1.5 ~ 2.2mg/ml 血液。不适于凝血检查、血小板功能试验。

2. 草酸盐 常用的有草酸钠、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 Ca²⁺ 失去凝血作用，阻止血液凝固。2mg 草酸盐可抗凝 1ml 血液。但不适于凝血检查。而且，草酸盐浓度过高还会导致溶血，改变血液 pH，干扰血浆钾、钠、氯和某些酶活性的测定。现应用已减少。

双草酸盐抗凝剂：适用于血细胞比容、CBC、网织红细胞计数等检查，不适于血小板计数、白细胞分类计数。

3. 肝素 有加强抗凝血酶（AT）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。肝素是红细胞透渗脆性试验的理想抗凝剂。但不适于 CBC、细胞形态学检查。每毫升血液肝素用量为（15 ± 2.5）U，多为肝素钠盐或钾盐。

4. 枸橼酸盐 常用的有枸橼酸钠，能与血液中钙离子结合形成螯合物，阻止血液凝固。枸橼酸盐抗凝剂的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，必须以 1mol/L HCl 清洗。载玻片应清洁、干燥、中性、无油腻。

(二) 血涂片的制备

1. 手工推片法 影响涂片厚薄的因素有：血滴大小、推片与载玻片间夹角、推片速度、血细胞比容。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。

2. 厚血膜涂片法 载玻片中央置血1滴，用推片角将血由内向外旋转涂成厚薄均匀、直径约1.5cm的圆形血膜，待干后，加蒸馏水使红细胞溶解，再干后染色镜检。

五、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，常用的有瑞氏染色法、吉姆萨染色法。

(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，即氯化亚甲蓝，有色部分为阳离子。亚甲蓝容易氧化为一、二、三甲基硫堇等次级染料(即天青)。将适量伊红、亚甲蓝溶解在甲醇中，即为瑞氏染料。甲醇的作用：一是溶解亚甲蓝和伊红；二是固定细胞形态。

2. 染色原理 既有物理的吸附作用，又有化学的亲合作用。各种细胞成分化学性质不同，对各种染料的亲和力也不一样。如血红蛋白、嗜酸性颗粒为碱性蛋白质，与酸性染料伊红结合，染粉红色，称为嗜酸性物质；细胞核蛋白、淋巴细胞、嗜碱性粒细胞胞质为酸性，与碱性染料亚甲蓝或天青结合，染紫蓝色或蓝色，称为嗜碱性物质；中性颗粒呈等电状态与伊红和亚甲蓝均可结合，染淡紫红色，称为嗜中性物质；原始红细胞、早幼红细胞胞质、核仁含较多酸性物质，染成较浓厚的蓝色；中幼红细胞既含酸性物质，又含碱性物质，染成红蓝色或灰红色；完全成熟红细胞，酸性物质彻底消失后，染成粉红色。

3. pH的影响 细胞各种成分均属蛋白质，因蛋白质系两性电解质，所带电荷随溶液pH而定。在偏酸性环境中正电荷增多，易与伊红结合，红细胞和嗜酸性粒细胞染色偏红，细胞核呈淡蓝色或不染色；在偏碱性环境中负电荷增多，易与亚甲蓝结合，所有细胞呈灰蓝色，颗粒呈深暗，嗜酸性颗粒呈暗褐，甚至棕黑色，中性颗粒偏粗，呈紫黑色。稀释染液必须用缓冲液，冲洗用水应近中性，否则可导致细胞染色呈色异常，形态难以识别，甚至错误。

4. 染色方法和注意事项

(1) 血涂片干透后固定，否则细胞在染色过程中容易脱落。

(2) 冲洗时应以流水冲洗，不能先倒掉染液，以防染料沉着在血涂片上。冲洗时间不能过久，以防脱色。如血涂片上有染料颗粒沉积，可滴加甲醇，然后立即用流水冲洗。

(3) 染色过淡可以复染，复染时应先加缓冲液，然后加染液；染色过深可用流水冲洗或浸泡，也可用甲醇脱色。

(4) 瑞氏染色Ⅰ液由瑞氏染料、甲醇(AR级以上)和甘油组成，Ⅱ液为磷酸盐缓冲液(pH 6.4~6.8)。

(二) 吉姆萨染色法

1. 染色原理 吉姆萨染液由天青、伊红组成。染色原理和结果与瑞氏染色基本相同。

2. 染色方法和注意事项 ①需先用甲醇固定3~5分钟。②吉姆萨染液由吉姆萨染料、甘油和甲醇组成。染色前，用磷酸盐缓冲液(pH 6.4~6.8)稀释吉姆萨染液10~20倍。

六、法学评价

(一) 血涂片制备

手工推片法用血量少、操作简单,是应用最广泛的方法。此外,疟原虫、微丝蚴等检查可采用厚血膜涂片法。

(二) 血液细胞染色

瑞氏染色法是最经典、最常用的染色法,尤其对于细胞质成分、中性颗粒等可获得很好的染色效果,但对细胞核的着色能力略差。吉姆萨染液对细胞核、寄生虫(如疟原虫等)着色较好,结构更清晰,但对细胞质成分的着色能力略差。采用瑞-吉姆萨复合染液可使细胞胞质、颗粒、胞核等均获得满意的染色效果。

瑞氏染料的质量规格用吸光度比值(rA)来评价。 rA 测定方法:取瑞氏染液 15~25 μ l,加甲醇 10ml 稀释,混匀,以甲醇为空白管,分别在波长 650nm(亚甲蓝吸收峰波长)、525nm(伊红吸收峰波长)测定吸光度($rA = A_{650}/A_{525}$)。新配制染料 rA 接近 2,随亚甲蓝逐渐氧化为天青 B(其吸收峰为 650nm,吸光度约为亚甲蓝一半), rA 也下降,降到 1.3 ± 0.1 时,染料即可使用。新鲜配制的染料偏碱,须在室温或是 37 $^{\circ}$ C 下贮存一定时间,待亚甲蓝逐渐变为天青 B,贮存时间愈久,染色效果愈好。在贮存过程中,必须加塞,以防甲醇挥发(如加甘油)和氧化成甲酸。所用甲醇须为 AR 级,若其中含过多丙酮,会使染色偏酸,白细胞着色不良。

七、质量控制

(一) 血涂片制备

制备涂片时,血滴愈大、角度愈大、推片速度愈快,血膜愈厚,反之则愈薄。血细胞比容增高、血液黏度较高时,应采用小血滴、小角度、慢推,可得满意结果;血细胞比容减低、血液较稀时,应采用大血滴、大角度、快推。

(二) 血液细胞染色

染色过深、过浅与血涂片中细胞数量、血膜厚度、染色时间、染液浓度、pH 密切相关。过深纠正是缩短染色时间、稀释染液、调节 pH 值;过浅纠正是延长染色时间、调节 pH 值。

(黄聪琳)

第二节 尿液生成和标本采集及处理

一、尿液生成

尿是血液流经肾脏时,经肾小球的滤过、肾小管和肾集合管的重吸收与分泌后生成,再流经输尿管,在膀胱内暂时贮存,最终排出体外。

(一) 肾组织基本结构

肾单位是肾脏生成尿的基本功能单位,由肾小体和肾小管组成。集合管包括皮质集合小管、直集合小管、乳头管。肾脏基本结构与功能的完整性是完成泌尿功能的基础。

(二) 尿液生成机制

1. 肾小球滤过 当机体的循环血液流经肾小球时,由于肾小球滤过膜的屏障作用,血液中的细胞成分及大部分血浆蛋白无法通过,而其余成分几乎全部被滤入肾小囊腔内,形成肾小球滤过液,称为原尿。

(1) 屏障作用:①孔径屏障:肾小球滤过膜的毛细血管内皮细胞间缝隙为直径 50~100nm,是阻

止血细胞通过的屏障，称为细胞屏障；基膜是滤过膜中间层，由非细胞性的水合凝胶构成，除水和部分小分子溶质可以通过外，它还决定着分子大小不同的其他溶质的滤过，称为滤过屏障，是滤过膜的主要孔径屏障。正常情况下，肾小球滤过膜只允许相对分子质量小于1.5万的小分子物质自由通过；1.5万~7万的物质可部分通过；而相对分子质量大于7万的物质（如球蛋白、纤维蛋白原等）几乎不能通过。

②电荷屏障：指肾小球滤过膜的內皮细胞层与上皮细胞层带负电荷的结构，可阻止那些带负电荷较多的大分子物质的滤过。

(2) 滤过膜通透性：主要取决于被滤过物质相对分子质量大小及其所带的电荷性质。物质相对分子质量有效半径增大，滤过量则减低。带正电荷的物质较易被滤过，而带负电荷的物质则较难通过滤过膜。

(3) 原尿成分：原尿除了无血细胞及含极少蛋白质外，其他物质如葡萄糖、氯化物、无机磷酸盐、尿素、肌酐和尿酸等的浓度，渗透压及酸碱度几乎与血浆相同。

2. 肾小管与集合管重吸收 在近曲小管，滤过液中的葡萄糖、小分子蛋白质、大部分水等重吸收，而肌酐则几乎不被重吸收而随尿排出体外。肾近曲小管是重吸收的主要场所。原尿物质，当其浓度超过肾小管重吸收能力时，则可出现于终尿中。在抗利尿激素的作用下，远曲小管、集合管是肾脏最终实现浓缩和稀释尿液功能的主要场所。

3. 肾小管分泌 肾小管分泌作用包括肾小管和集合管的泌 H^+ 、 NH_4^+ 的作用及 $Na^+ - H^+$ 交换作用。

二、尿液检验目的

尿检验是临床上最常用的重要检测项目之一，主要用于：

1. 泌尿系统疾病诊断和治疗监测 肾病时尿就可能会出现蛋白、细胞、管型等病理成分；发生炎症、结石、肿瘤、血管病变等，各种产物可进入尿，引起尿成分的变化。

2. 其他系统疾病诊断 任何系统疾病的病变影响血液成分改变时，均可引起尿成分的变化。如糖尿病时尿糖增高、急性胰腺炎时尿淀粉酶增高、肝胆疾病时尿胆色素增高等。

3. 安全用药监测 庆大霉素、卡那霉素、多黏菌素 B、磺胺药、抗肿瘤药等药物，常可引起肾脏的损害，监测尿的改变，可及时采取措施，确保用药安全。

4. 职业病辅助诊断 检验尿中重金属如铅、镉、铋、汞等排出量，对职业病的诊断、预防及开展劳动保护，具有实用的价值。

5. 健康状况评估 尿检验是一种无创伤性检查，可筛查肾、肝、胆疾病和糖尿病等疾病，有助于发现亚健康人群，进行早期诊断及疾病预防。

尿一般检验临床应用价值见表 1-3。

表 1-3 尿一般检验临床应用价值

检验类型	检测目标	临床主要应用阶段			
		筛检	诊断	监测	预后
尿干化学检查 (试带法)	糖尿	+++	+/-	+	+
	蛋白尿	+++	+/-	+	+
	血尿	+++	+/-	+	+
	白细胞尿	+++	+/-	+	+
	感染	+++	+/-	+	+
尿湿化学检查	糖尿	++++	++	++	+
	蛋白尿	++++	++	++	+
	血尿	++++	++	++	+
	白细胞尿	++++	++	++	+

检验类型	检测目标	临床主要应用阶段			
		筛检	诊断	监测	预后
尿微生物检查 尿细胞学检查	感染	++++	++	++	+
	管型尿	++++	++	++	+
	结晶尿	++++	++	++	+
	感染	++	++++	++	+
	肿瘤	+	++	+	-
	炎症	+	++	+	-
	病毒感染	+	++	+	-

注：++++~+：表示临床应用价值大小；-：表示无临床应用价值。

三、尿标本采集

尿标本采集是尿检验基础。必须坚持尿检验全过程：分析前、中、后全面质量控制。标本需具备最基本的内容是：①患者全名、性别、科别、床号。②采集日期、时间、标本类别。③采集方法、尿量、保存条件等。不合格标本是造成假阳性或假阴性结果的主要原因之一。

（一）患者准备

为了正确收集尿标本，应以口头和书面形式指导患者正确收集尿标本。如：清洁标本采集部位；明确标记；避免月经、阴道分泌物、粪便、清洁剂等各种物质的污染；使用合格容器，细菌培养的标本应使用消毒培养瓶或无菌、有盖的容器。

清洁尿：包括中段尿、导尿标本或耻骨上穿刺尿。

（二）标本容器准备

容器应符合以下条件：材料由不与尿成分发生反应的惰性一次性环保型材料制成；一般应能容纳50ml以上尿的容积；必须干燥、清洁，无污染物、无渗漏、无化学物质。

（三）尿标本采集种类

尿标本种类主要有：

- 1. 晨尿 即清晨起床后第一次排尿时收集的尿标本，即为首次晨尿。这种标本尿较为浓缩，可用于肾脏浓缩能力评价。首次晨尿常偏酸性，其中的血细胞、上皮细胞、病理细胞、管型等有形成分，以及如人绒毛膜促性腺激素（hCG）等的浓度较高。但夜尿在膀胱内停留时间过长，硝酸盐及葡萄糖易被分解，不利于检出在酸性环境中易变的物质，因而推荐采集第2次晨尿代替首次晨尿。
- 2. 随机尿 这种标本不受时间限制。但此尿标本仅反映某一时段的现象，且易受多种因素（如运动、饮食、用药、情绪、体位等）的影响，可致尿检成分浓度减低或增高。
- 3. 计时尿 按特定时间采集尿标本。
 - （1）3小时尿：一般是收集上午6~9时时段内的尿。多用于检查尿有形成分，如1小时尿排泄率检查等。
 - （2）餐后尿：通常收集午餐后至下午2时的尿。这种尿标本，有利于检出病理性糖尿、蛋白尿或尿胆原。有助于肝胆疾病、肾脏疾病、糖尿病、溶血性疾病等的临床诊断。
 - （3）24小时尿：患者上午8时排尿一次，将膀胱排空，弃去尿，此后收集各次排出的尿，直至次日上午8时最后一次排尿的全部尿。尿中某些成分24小时不同时间内的排泄浓度不同，如肌酐、总蛋白质、电解质等。为了较准确地定量分析这些成分，必须采集24小时尿。
 - （4）特殊试验尿：①尿三杯试验：多用于男性下尿路及生殖系统疾病定位初步判断。②耐受性试验尿：如经前列腺按摩后排尿收集尿标本。