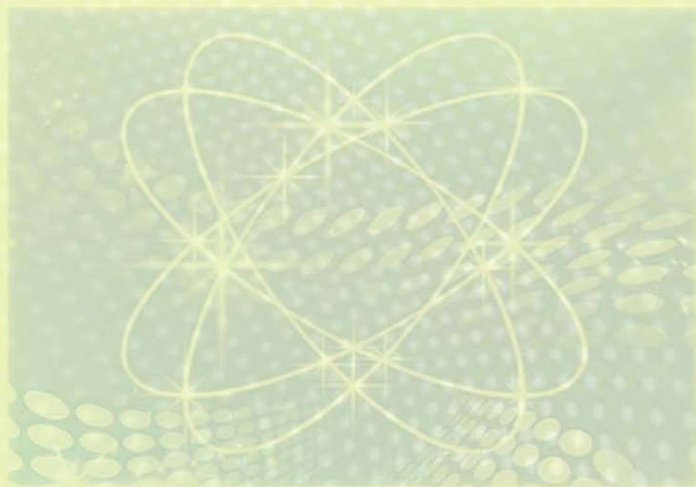


临床检验基础实验实训指导

章英 主编



江西科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床检验基础实验实训指导/章英主编. —南昌:江西科学技术出版社,2012.9
ISBN 978-7-5390-4616-7

I. ①临… II. ①章… III. ①临床医学-医学检验-实验-医学院校-
教学参考资料 IV. ①R446.1-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第253824号

国际互联网(Internet)地址:

<http://www.jxkjcs.com>

选题序号:ZK2012084

图书代码:X12014-101

临床检验基础实验实训指导

章英主编

出版	江西科学技术出版社
发行	
社址	南昌市蓼洲街2号附1号
	邮编:330009 电话:(0791)86623341 86610326(传真)
印刷	江西千叶彩印有限公司
经销	各地新华书店
开本	787mm×1092mm 1/16
字数	115千字
印张	5.75
版次	2012年11月第1版 2012年11月第1次印刷
书号	ISBN 978-7-5390-4616-7
定价	11.50元

赣版权登字-03-2012-119

版权所有,侵权必究

(赣科版图书凡属印装错误,可向承印厂调换)

目录

学习情境一 临床检验基本检验技术

项目一 显微镜的使用

项目二 改良牛鲍计数板的使用

项目三 微量吸管的使用

项目四 血液标本的采集

项目五 静脉采血法

项目六 血涂片的制备与染色

学习情境二 血液的一般检验

项目七 白细胞计数

项目八 白细胞分类计数

项目九 红细胞计数

项目十 血红蛋白测定

项目十一 血细胞比容测定

项目十二 红细胞平均直径测量

项目十三 网织红细胞计数

项目十四 红细胞沉降率测定

项目十五 血液分析仪的使用及其结果分析

学习情境三 血型鉴定与交叉配血

项目十六 ABO 血型鉴定

项目十七 交叉配血

项目十八 Rh 血型鉴定(酶介质法)

学习情境四 尿液的一般检验

项目十九 尿液理学检查

项目二十 尿蛋白定性试验

项目二十一 尿葡萄糖定性试验(班氏法)

项目二十二 尿沉渣显微镜检查

项目二十三 尿液干化学自动分析仪的应用

项目二十四 尿液绒毛膜促性腺激素检查

学习情境五 脑脊液常规检查

项目二十五 脑脊液一般性状检查

项目二十六 脑脊液蛋白定性试验(Pandy 试验)

项目二十七 脑脊液显微镜检查

学习情境六 浆膜腔积液常规检查

项目二十八 一般性状检查

项目二十九 黏蛋白定性试验(李凡他实验)

项目三十 浆膜腔积液显微镜检查

学习情境七 粪便检查

项目三十一 粪便隐血试验

项目三十二 粪便显微镜检查

学习情境八 生殖系统分泌物检验

项目三十三 精子计数

项目三十四 抗精子抗体测定

学习情境九 脱落细胞检验

项目三十五 脱落细胞检验的基本染色方法

项目三十六 阴道脱落细胞检查

主要参考书目

项目一 显微镜的使用

(一) 训练目的

1. 掌握光学显微镜的使用和维护方法。
2. 掌握光学显微镜常见故障的排除。

(二) 原理

主要由焦距很短的物镜和焦距较长的目镜来完成,当被观察物体置于物镜前的焦点稍远处时,通过光线反射经物镜放大后成一倒立放大的实像,再经目镜放大成倒立虚像位于观察者的明视距离(距人眼约 250mm)处。

(三) 材料准备

1. 器材:改良牛鲍计数板、光学显微镜、擦镜纸。
2. 试剂:香柏油、醇醚混合液(70%乙醇+30%乙醚)。
3. 标本:瑞-吉染色血涂片。

(四) 训练步骤

1. 准备:将光学显微镜放置在清洁、干燥、无震动的实训台上,插上电源,打开开关。向上转动粗调螺旋置一高度后,将改良牛鲍计数板放于载物台上。

2. 调焦和低倍镜观察:将低倍镜(10×)对准镜筒,转动粗调螺旋镜筒下降到快接触标本处后,选择适当的光源亮度,关掉光栅并调整聚光器的高度,使目镜亮度适宜,再用细调螺旋上下调节焦点,直到计数板的网格线清晰为止。

3. 高倍镜观察:转换高倍镜(40×)对准镜筒,一般不需重新调焦,仅调节细螺旋即可看到清晰网格线。

4. 油镜观察:于瑞-吉染色血涂片体尾交界处滴加香柏油一小滴,将玻片放在载物台上。转用油镜头(100×)对准镜筒,转动粗调螺旋使之降至与玻片轻轻接触(使油镜头和香柏油轻轻接触)。然后升高聚光器使其与载物台平齐,打开光栅并放至最大,将光源亮度也调至最大。再转动细调螺旋使物象清晰。

5. 显微镜使用后的处理:显微镜使用完毕,取下载玻片,加1~2滴醇醚混合液于擦镜纸上,将油镜头擦拭干净,将物镜转成“八”字形,镜筒、聚光器下降至最低位,关上电源开关,按下电源。

6. 灯源不亮:首先检查电源、开关、插座是否正常工作,在电源、开关、插座都正常的前提下,打开底座,检查灯泡,若灯丝断裂,则更换灯泡;若灯泡内的锡箔纸挡住光源,应调整灯

泡的位置。

(五) 注意事项

1. 要培养良好的操作习惯,工作台与凳子高度要适宜,坐姿端正,胸背挺直。左手持粗调螺旋,右手持载物台推进器,双筒镜注意调好瞳距。
2. 放置载玻片标本的观察区域要对准载物台上的通光孔中央,且不能反放玻片。
3. 使用螺旋时注意,当对焦时以转动粗调螺旋为主,尽量少用细调螺旋。在转换高倍镜特别是油镜时,切忌粗调螺旋时只能将镜头上移而不能下移,以免压碎载玻片,损坏镜头。
4. 显微镜维护主要应做到防尘、防潮、防热、防腐蚀。用后及时将镜头擦拭干净。
5. 经常检查目镜旋转器的镜筒固紧螺丝是否松动,避免镜筒滑脱。

(六) 达标测试

1. 选择题:

(1) 观察牛鲍计数板的网格线,正确的是()。

- A. 打开光栅
- B. 关闭光栅
- C. 使用油镜
- D. 以上都不正确
- E. 以上都正确

(2) 下列关于显微镜操作叙述中正确的是()。

- A. 移动显微镜时,应左手握镜臂,右手托镜座
- B. 显微镜对光时,转动转换器,使高倍镜头对准通光孔
- C. 拿出显微镜后,把显微镜放在自己稍偏左处
- D. 调焦时,眼睛注视物镜镜头,直到物象清晰
- E. 显微镜使用完毕,将物镜与目镜相对

(3) 当上升载物台时,操作显微镜的人的目光将注视的部位是()。

- A. 粗准焦螺旋
- B. 目镜
- C. 物镜
- D. 物镜与装片的距离
- E. 细准焦螺旋

2. 填空题:

(1) 显微镜应放在()、()、()的实验台上。

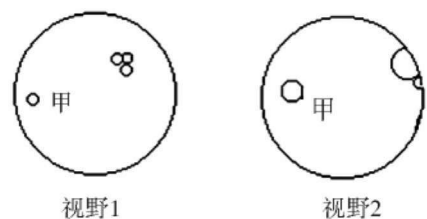
(2) 观察染色血涂片时,首先用()对准镜筒,找到视野。

(3) 使用油镜镜头后,应用()拭净油镜镜头。

3. 问答题:

(1) 简述显微镜使用的注意事项。

(2) 下图为显微镜观察中的两个视野,其中细胞甲为主要观察对象,请简述从视野1到视野2的操作过程。



项目二 改良牛鲍计数板的使用

(一) 训练目的

掌握改良牛鲍(Neubauer) 计数板的使用方法。

(二) 原理

一定倍数稀释的血液或体液,混匀后充入具有固定体积和精密划分刻度的改良牛鲍计数板中,在显微镜下对所选择区域中的细胞进行计数,再乘以稀释倍数,即可换算成单位体积内的细胞数。

(三) 材料准备

器材: 改良牛鲍计数板及专用盖玻片、纱布、显微镜。

(四) 训练步骤

1. 准备计数板: 用纱布拭净计数板和盖玻片,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(图 1-1)。

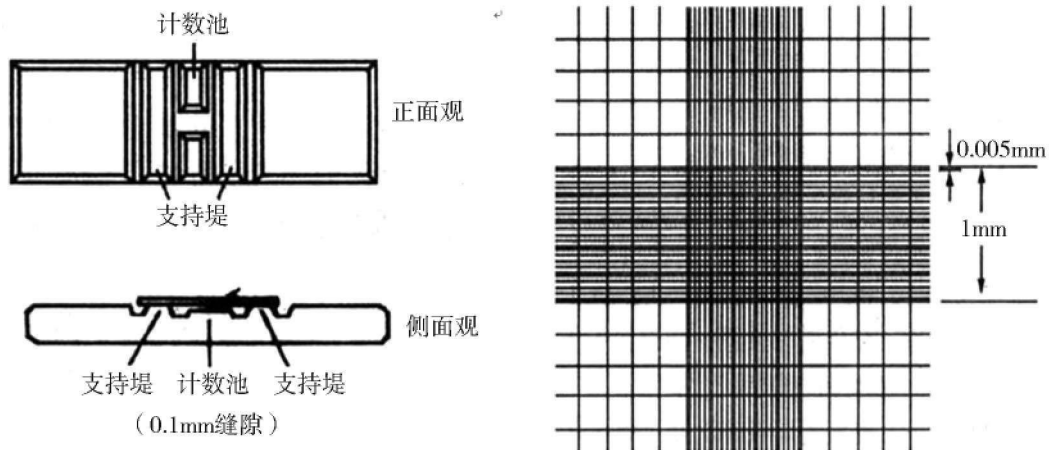


图 1-1 计数板结构图

2. 显微镜观察: 先在低倍镜(10×)下观察,通过调节显微镜光栅减少光线进入量,以便观察整个计数板的结构(大、中、小方格)及特征,同时观察白细胞分布区域的网格线。再用高倍镜(40×)观察红细胞计数范围(图 1-2)。

(五) 注意事项

1. 保证计数板和盖玻片清洁: 操作中勿让手指接触计数板表面,以防污染,致使充池时产生气泡。如使用血液充池,计数板和盖玻片使用后应依次用 95% 乙醇、蒸馏水、棉球擦拭,最后用清洁纱布揩净。千万勿用粗糙织物擦拭,以免磨损计数板上的刻度。

2. 改良牛鲍计数板应每隔 1 年鉴定 1 次,以防不合格或磨损而影响计数结果的准确性。

3. 充池: 一次完成充池,如充池过少、过多、有气泡或出现任何碎片,应拭净计数板及盖玻片后重新操作。

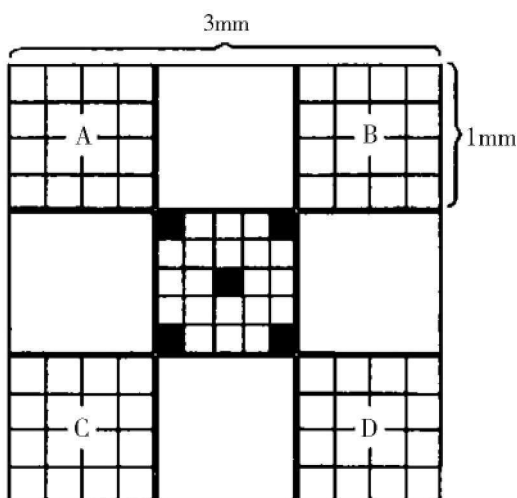


图 1-2 血细胞计数区

4. 静置计数板: 平放计数板, 不能在充池后移动盖玻片。白细胞和红细胞计数一般需沉淀 2 ~ 3min, 血小板应沉淀 10 ~ 15min, 且须注意保湿, 因沉淀时间过长会因稀释液挥发造成计数结果不准确。

5. 计数: 计数板中细胞如果严重分布不均, 应重新充池计数。计数红细胞和血小板用高倍镜, 计数白细胞用低倍镜。

6. 计数原则: 凡压线的细胞应按照数上不数下、数左不数右的原则, 避免漏数或重复计数。注意识别非细胞成分。

(六) 达标测试

1. 选择题:

(1) 血清和血浆的主要区别是()。

- A. 血清中无凝血因子 I (纤维蛋白原)
- B. 血清中无钙离子
- C. 血清中无镁离子
- D. 血浆是全血经抗凝后而得
- E. 血清中钠离子水平低

(2) 目前使用的血细胞计数板称为()。

- A. 牛巴氏计数板
- B. 巴斯特氏计数板
- C. 新巴氏计数板
- D. 改良牛鲍计数板
- E. 改良巴斯特氏计数板

(3) 关于改良牛鲍计数板构造的叙述, 错误的是()。

- A. 计数板分为 2 个计数池
- B. 在计数池两侧各有 1 条支柱, 比计数池高出 1mm
- C. 每个计数池边长均为 3mm
- D. 每个计数池划成 9 个大方格
- E. 白细胞计数采用计数池四角 4 个大方格

2. 填空题:

- (1) 每个计数室分成()个大方格,这样每个大方格的边长是(),面积是(),加盖后体积是(),而四角上的4个大方格又用单线均匀地分为()个中方格,作()。中央大方格用双线均匀地分为()个中方格,()是红细胞计数区域。
- (2) 请指认图 1-2 中哪个区域是白细胞计数区,哪个为红细胞计数区。

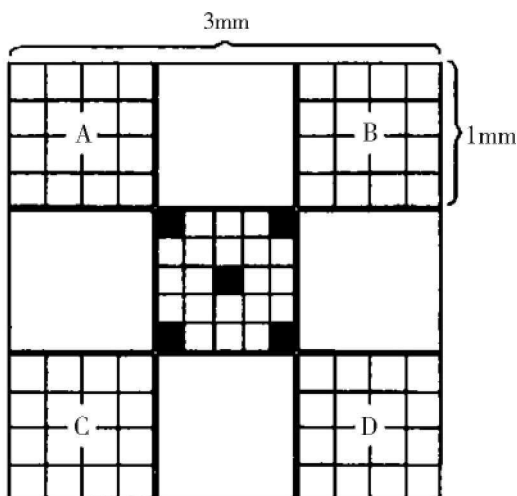


图 1-2 血细胞计数区

- (3) 请计数图 1-3 方格中的全部细胞数(),并说出第 2 行第 3 列这个方格的细胞数()。

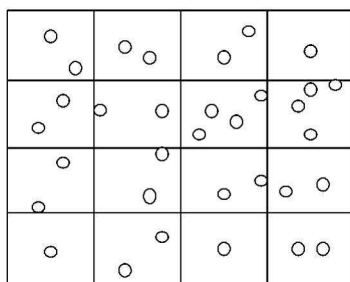


图 1-3 白细胞计数

3. 问答题:

- (1) 简述改良牛鲍计数板的结构。
- (2) 简述白细胞计数时,改良牛鲍计数板的使用步骤。

项目三 微量吸管的使用

(一) 训练目的

掌握微量吸管的吸液操作技术。

3. 简答题:

- (1) 简述微量吸管使用的注意事项。
- (2) 简述使用微量吸管的步骤。

项目四 血液标本的采集

(一) 训练目的

掌握毛细血管采血法,了解不同部位采血对检验结果的影响。

(二) 原理

采血针刺破毛细血管后,用微量吸管吸取所需量的血液。

(三) 材料准备

1. 器材: 一次性消毒采血针、一次性微量吸管、试管、2ml 吸管、无菌干棉球。
2. 试剂: 碘伏。

(四) 训练步骤

1. 准备: 取试管 1 支,加入细胞稀释液。
2. 采血部位按摩: 轻轻按摩受检者左手中指或无名指指尖腹内侧,使局部组织自然充血。
3. 消毒皮肤: 用碘伏擦拭采血部位,待干;否则血流后会四处扩散难成血滴。
4. 针刺: 用左手拇指和示指固定采血部位,右手持一次性消毒采血针,自指尖腹内侧迅速刺入,深度约为 2~3mm,再立即拔出采血针(图 1-4)。

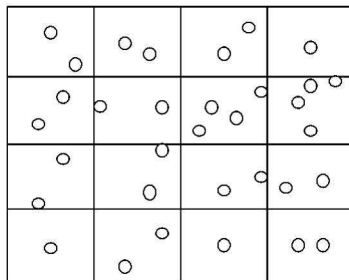


图 1-4 采血示意图

5. 擦去第 1 滴血: 待血液自然流出后,用无菌干棉球擦去混有组织液的第 1 滴血。
6. 吸血: 血液自然流出时,用一次性微量吸管吸血至 10 μ l 刻度,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尖稍施加压力至血液流出为宜。切勿用力挤压,以免造成组织液混入,影响结果准确性。
7. 释放血液: 用无菌干棉球擦净一次性微量吸管外部后,将吸管插入盛有生理盐水的试管底部,慢慢排出吸管内的血液,并用上清液冲洗管内的余血 2~3 次,将试管内的液体轻轻混匀。

(五) 注意事项

1. 所选择的采血部位应皮肤完整,不能有烧伤、冻伤、发绀、水肿和炎症。
2. 婴、幼儿由于手指小,可自拇指、脚趾或足跟内、外侧缘采血;严重烧伤者可选皮肤完

整处采血。

3. 本实验因是创伤性检查,故要严格按无菌技术操作,以防止采血部位感染;要做到 1 人 1 针,避免交叉感染。

4. 在进行多项目检查时,采取标本的顺序是血小板计数(不擦去第 1 滴血)、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数与分类;出血时间测定时,应另刺 1 针,且不能擦去第 1 滴血。

5. 如取血用于自动化血细胞分析仪,最好以无菌纸片擦血,以免棉球纤维混入,堵塞仪器。

(六) 达标测试

1. 选择题:

(1) 新生儿做血细胞计数,多用下列哪个部位采血()。

- A. 手背 B. 耳垂毛细血管 C. 足跟毛细血管
D. 肘部静脉 E. 无名指

(2) 关于毛细血管采血法,下列正确的是()。

- A. 耳垂血的 Hb、红细胞、白细胞、红细胞比积结果均比静脉血低 10% 左右
B. 耳垂采血时用力挤压出的第 1 滴血即可用于检查
C. 婴幼儿宜用耳垂或手指采血
D. 成人要推荐用手指采血,因其检查结果比较恒定
E. 以上都不对

(3) 关于毛细血管采血法,下列叙述中错误的是()。

- A. 一般用三棱针或专用采血针
B. 宜 1 人 1 针 1 管
C. 针刺入皮肤深度以 2~3mm 为宜
D. 如血流不畅可在刺处周围用力挤压
E. 成人毛细血管采血推荐使用左手无名指内侧

2. 填空题:

(1) 正常血液 pH 为()。

(2) 世界卫生组织(WHO)推荐采集(),婴幼儿可采集()和()

内外侧缘血液。

(3) 严重烧伤患者,可选择()。

3. 简答题:

(1) 简述毛细血管采血法的操作步骤。

(2) 简述毛细血管采血法的注意事项。

项目五 静脉采血法

(一) 训练目的

掌握静脉采血的方法和无菌操作技术。

(二) 原理

注射器刺入浅静脉后,用负压吸取所需的血量。

(三) 材料准备

1. 器材: 一次性静脉采血针、压脉带、垫枕、消毒棉签、真空抗凝管。
2. 试剂: 碘伏。

(四) 训练步骤

1. 选择静脉: 受检者取坐位, 前臂水平伸直置手桌面垫枕上。暴露穿刺部位, 选择容易固定、明显可见的肘前静脉。
2. 消毒: 先用碘伏自所选静脉穿刺处从内向外、顺时针方向消毒皮肤, 待干。
3. 扎压脉带: 在采血部位之上扎压脉带(注意勿污染消毒部位), 嘱受检者紧握拳头, 使静脉充盈显露。
4. 穿刺: 左手固定患者上臂, 以 $15^{\circ} \sim 30^{\circ}$ 角斜面快速进针, 进入血管后, 将采血针的试管侧针刺入试管的胶塞, 由于采血管内的负压作用, 血液可自动流入采血管内。
5. 采血完毕, 拔下采血针, 用棉签或棉球轻压采血点, 让患者压迫止血 10min, 直到不出血为止。拔出连接真空抗凝管的针头, 并迅速将含有抗凝剂的真空抗凝管颠倒混匀 5 ~ 6 次, 使其充分和抗凝剂混匀(颠倒时注意动作轻柔, 避免溶血)。
6. 将用过的采血针丢到固定的容器内。

(五) 注意事项

1. 止血带捆绑时间最好不要超过 1min, 因为捆绑时间过长时, 血液中的成分会向周围组织扩散, 影响检测结果。
2. 有关松开止血带的时间问题, 正确的方法是血液流入采血管时, 即可松开止血带。
3. 尽量避免在同一部位多次穿刺, 因为会造成组织损伤, 组织液混入血液中可造成血液凝固。
4. 颠倒混匀时, 请不要剧烈振荡, 以免产生溶血。
5. 如遇受检者发生晕针, 应立即拔出针头, 让其平卧, 休息片刻即可恢复。必要时可用拇指压掐或针刺人中、合谷等穴位, 嗅吸芳香氨酊等药物。

(六) 达标测试

1. 选择题:
 - (1) 成人静脉采血的最佳部位是()。
A. 手背静脉 B. 胭静脉 C. 外踝静脉
D. 肘部静脉 E. 颈静脉
 - (2) 关于静脉采血, 下列错误的是()。
A. 注射针头在解除止血带后拔出
B. 注射针头越细越容易引起溶血, 以 7 号针头为宜
C. 血液注入试管时, 如产生泡沫则容易溶血
D. 肘正中静脉采血时, 肘关节应取屈曲位
E. 注射针头沿静脉走向与皮肤成 30° 角
 - (3) 关于采血的叙述正确的是()
A. 皮肤采血缺点是易于溶血、凝血、混入组织液
B. 开放式采血法的操作环节少

- C. 容器不洁不会引起溶血
- D. 采血时患者情况不会影响结果
- E. 样本保存不当不影响结果

2. 填空题:

- (1) 静脉采血以()、手背静脉、内踝静脉或股静脉为多。
- (2) 肝素,阻止()的形成和(),是()的理想抗凝剂,但不适合于()检查。

3. 简答题:

- (1) 实验室常见的抗凝剂有几种?
- (2) 简述静脉采血时的注意事项。

项目六 血涂片的制备与染色

(一) 训练目的

掌握血片的制备和瑞氏-姬姆萨复合染色的方法,解释瑞氏-姬姆萨复合染色的原理。

(二) 原理

把血液制成细胞分布均匀的薄膜涂片,用复合染料染色。细胞染色包括物理吸附及化学亲和作用。不同的细胞种类及细胞的不同成分,对酸性及碱性染料的结合能力不同,从而使各种细胞呈现出各自的染色特点。

(三) 材料准备

- 1. 器材: 一次性静脉采血针、压脉带、垫枕、消毒棉签、真空抗凝管、无菌干棉球、载玻片、推玻片、染色架、吸耳球、标记笔、蜡块。
- 2. 试剂: 碘伏、瑞氏-姬姆萨染色液(Baso 染色液试剂盒)。
- 3. 标本: 静脉血(学生自取)。

(四) 训练步骤

1. 血片的制备:

(1) 采血: 操作同静脉采血法。静脉采血后,在载玻片的一端1cm处加1滴抗凝血,如果使用手指采血则直接用洁净玻片蘸1滴血。

(2) 推片: 左手平执载玻片,右手持推片从后方移动接近血滴,使血液沿推片边缘展开,将推片与载玻片呈 $30^{\circ} \sim 45^{\circ}$ 角,用均匀速度向前将血液推成厚薄适宜的血涂片(图1-5),血涂片应呈舌状,头、体、尾3部分,且清晰可见。所有血液必须在推片到达末端前用完。

(3) 干燥: 将推好的血涂片在空气中晃动,使其迅速干燥。

(4) 标记: 在载玻片的一端用记号笔编号。

2. 染色:

(1) 待血涂片干透后,用蜡块在两端画线,以防染色时染液外溢。

(2) 平置玻片于染色架上,滴加瑞氏-姬姆萨染液A液3~5滴,使其迅速覆盖血膜。

(3) 0.5~1min后,滴加瑞氏-姬姆萨染液B液5~10滴,轻轻摇动玻片或用洗耳球对准血片吹气,与染液充分混合。



图 1-5 血涂片制成

(4) 3~5min 后用流水冲去染液,待干(染前需做预实验)。

3. 镜检:

观察染色结果。

(五) 注意事项

1. 许多因素可影响血涂片的厚度。血滴大、血黏度高、推片角度大、推片速度快,则血涂片厚;反之,则血涂片薄。
2. 血膜必须干燥,否则细胞尚未牢固地附着在玻片上,在染色过程中血膜易脱落。
3. 染色时间与染液的浓度、室温的高低、有核细胞的多少有关,故应酌情确定其染色时间。
4. 染液不可过少,以防蒸发,染料沉着于血片上,难以冲洗干净。
5. 冲洗时不可先倒掉染液,应以流水从一端缓缓冲去,以防染料渣沉着于血膜上。

(六) 达标测试

1. 选择题:

(1) 关于瑞氏染色,错误的是()。

- A. 室温越高,染色时间越短
- B. 染液浓度越高,染色时间越短
- C. 细胞数量越多,染色时间越长
- D. 先倒去染液再用流水冲洗
- E. 用缓慢的流水冲去染液

(2) 关于瑞氏染色后细胞着色情况,错误的是()。

- A. 中性颗粒为淡紫红色
- B. 淋巴细胞胞质为蓝色
- C. 嗜碱性颗粒为紫红色
- D. 嗜酸性颗粒为橘红色
- E. 单核细胞胞质为灰蓝色

(3) 关于血细胞染色,正确的是()。

- A. 瑞氏染色法是最常用的方法
- B. 瑞氏染色法对细胞质染色不及吉姆萨染色法
- C. 瑞氏染色法对嗜酸性细胞染色效果尤其好
- D. 吉姆萨染色法对细胞核和寄生虫着色较差
- E. 吉姆萨染色法为最常用的染色方法

(4) 血涂片制作的好坏不受()的影响。

- A. 血滴大小
- B. 推片速度
- C. 推片与载片夹角
- D. 推片厚薄
- E. 室内温度

2. 填空题:

(1) 瑞氏染液是由()和()溶于()组成。

(2) 瑞氏染色的磷酸盐缓冲液的 pH 值是()。

(3) 一张制作良好的血涂片要求(),(),(),边缘整齐,两侧留有空隙。

(4) 细胞的染色既有()作用,又有()作用。

3. 简答题:

(1) 简述瑞氏染色法的原理。

(2) 简述瑞氏染色法的注意事项。

(王斌)

项目七 白细胞计数

(一) 训练目的

掌握显微镜计数的原理及操作方法。

(二) 原理

用白细胞稀释液将血液稀释一定的倍数并破坏红细胞,充入血细胞计数池,显微镜下计数一定体积内的白细胞数,经换算求出每 L 血液中的白细胞数量。

(三) 材料准备

1. 器材:一次性消毒采血针、一次性微量吸管、试管、2ml 吸管、无菌干棉球、改良牛鲍计数板、显微镜。

2. 试剂:碘伏、白细胞稀释液(2%冰醋酸加亚甲蓝数滴)。

3. 标本:末梢血(学生自取)。

(四) 操作步骤

1. 加稀释液:取白细胞稀释液 0.38ml 于小试管中。

2. 加血:采用毛细血管采血法采新鲜全血,并用微量吸管吸取 20 μ l 加入白细胞稀释液中,用其上清液清洗管腔内残余液体 2~3 次。

3. 混匀:混匀后室温静置,待液体变为棕褐色,即红细胞被完全破坏。

4. 充池:再次将小试管中的细胞悬液混匀,充入改良牛鲍计数板的计数池中,室温静置 2~3min,待细胞下沉后显微镜计数。

5. 计数:低倍镜下,按一定方向计数图 2-1 四角 4 个大方格内的白细胞总数。

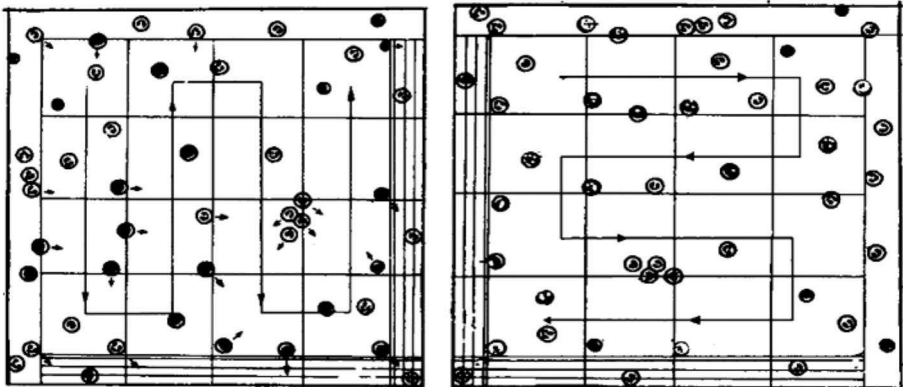


图 2-1 白细胞计数方向