

临床医学检验

实用操作规程

(内部资料)

6
U4

前 言

《临床医学检验实用操作规程》一书是按黑龙江省煤炭系统医学检验统一操作规程学术会议精神要求而编写的。全书分为临床检验、微生物学检验、生化检验、免疫血清学检验、血型血库基本技术及附录等六个部份。在内容上选择具有先进性而切合实用的检验方法、阐明基本原理、试剂配制、操作程序、注意事项和正常值。本书可做为广大基层检验人员日常工作中的顺手工具。对医学检验方法的标准化和初、中级检验人员的培训提高也有所补益。

《临床医学检验实用操作规程》一书由煤炭部所属鸡西煤矿卫生学校主任检验师王魁点同志主编，陆清雨、李余昌、代光烈、王焯等同志参加了编写和校对，初稿业经东北三省检验协作组负责同志审阅。本书在编写和印刷过程中得到了有关方面同志的大力支持，在此表示感谢。由于编者水平有限，错误难免。敬请指正。

鸡西市科学技术协会
黑龙江省煤炭系统医学检验学组

目 录

第一部份 临床检验	
一、 血液一般临床检验	1
二、 贫血鉴别检验	12
三、 出血性疾病的检验	19
四、 骨髓涂片检验	29
五、 尿液检验	41
六、 粪便检验	59
七、 痰液检验	65
八、 胃液检验	67
九、 十二指肠液和胆汁检验	71
十、 脑脊液检验	73
十一、 浆膜腔穿刺液检验	77
十二、 精液检验	79
十三、 其它标本涂片检验	81
十四、 结石的检验	84
十五、 脱落细胞学检验	90
第二部分 微生物学检验	
一、 微生物检验室准备工作	95
二、 细菌分离鉴定的基本方法	101
三、 临床标本细菌学检验	107
四、 常见病原菌的鉴定	112
五、 药物敏感试验	132
六、 病原性真菌检验	135
七、 病原性螺旋体检验	138
附(一) 自体菌苗制作及 临床应用	140
(二) 无菌效果的检查	140
第三部份 生化检验	
I 标本的采集与处理	142
血液无旦白滤液的制备	144
II 血糖测定	147
尿糖定量	151

III 旦白及含氮物质的测定	152
血清总旦白、白旦白、 及球旦白测定	153
一、双缩脲法	153
二、血清白旦白结合染料测定法	154
三、血清球旦白乙醛酸测定法	155
血清旦白电泳分析	156
醋酸纤维素薄膜	158
二、纸上旦白电泳	160
血浆纤维旦白元测定	163
血液粘旦白测定	163
IV 非旦白氮测定	165
血清或血浆二乙酰一脲 法测定尿素氮	167
血液肌酐测定	169
血液肌酸测定	171
血氮测定	172
一、血氮纳氏试剂显色法	172
二、酚一次氯酸盐显色法	173
V 离子测定及CO ₂ CP 及血氧测定	174
血清钾测定	174
血清钠测定	177
氯化物测定	180
血清Ca测定	182
血磷测定	183
全血铁测定	186
二氧化碳含量测定 一、量积法	188
CO ₂ CP滴定法	189
血氧含量测定	190
血氧结合量测定	192

血氧饱和度测定	192
IV 血脂测定:	193
血清总脂测定	194
甘油三酯测定	195
总胆固醇测定	198
血清磷脂测定	202
血清B-脂旦白测定	203
脂旦白电泳测定	204
IX 肝功能测定:	207
黄疸指数测定	207
胆红素测定	207
麝香草酚浊度及絮状试验	208
硫酸锌浊度试验	210
碘试验	211
X 酶测定: 血清GPT测定	212
血清谷-草转氨酶测定	214
淀粉酶测定	217
r-谷氨酰转肽酶	218
血清乳酸脱氢酶测定	220
血清硷性磷酸酶测定	222
酸性磷酸酶测定	225
血清肌酸磷酸激酶 (CPK)测定	226
乳酸脱氢酶同工酶测定	230
血清铜氧化酶测定	232
5'、核苷酸酶测定	233
胆硷脂酶测定(全血、血清)	235
XI 激素测定: 血清旦白 结合碘(PB I)测定	237
尿17-酮类固醇测定	239
尿17-羧皮质类固醇测定	241
VMA测定	243
尿儿茶酚胺定性试验	246
第四部份 免疫血清学检验	
一、临床血清学检验	
(一)肥达氏反应	247
(二)外斐氏反应	249
(三)布氏杆菌凝集试验	249

(四)抗链球菌溶 血素“O”测定	252
(五)类风湿因子胶 乳凝集试验	254
(六)梅毒胶乳凝集试验	255
(七)康氏试验	256
(八)华氏试验	257
二、临床免疫学检验	
(一)甲种胎儿蛋白 (AFP)免疫学测定	263
(二)乙型肝炎抗原 (HBSAg)测定	265
(三)反向血凝试验	266
(四)免疫荧光法诊断 梅毒性肺炎	268
(五)溶血酶含量测定	269
(六)E玫瑰花结形成试验	271
(七)硝基兰四氮唑(N、 B、T)还原试验	273

第五部份血型及血库基本技术

一、血型鉴定	275
二、采血输血器材的清洗处理	280
三、采血	282
四、血液保存及血液质量鉴定	284
五、分血与分浆	285
六、配血试验	285
附: 配血试验中出现的异常 情况及其处理	

附 录

一、光电比色计的使用和维护	
(一)581-G型光电比色计	290
(二)72型分光光度计	291
二、化学试剂和溶液	
(一)化学试剂的规格和保管	293
(二)溶液浓度的计算	296
(三)溶液的配制	300

第一部分 临床检验

一、血液一般临床检验

1 标本采取

(1) 对毛细血管采血的要求:

①采血部位成人可在耳垂或手指尖, 婴儿可在姆趾尖或足跟。采取部位不得有紫绀、水肿、发炎等病变;

②局部皮肤必须很好的消毒, 所用采血针每次均需消毒(常用75%酒精棉球);

③采血穿刺深度应2~3mm, 使血液自行流出, 否则可稍加压力, 但切不可用力挤压;

④将最先流出的一小滴血擦去不用, 再流出的血液要迅速吸取供做标本应用;

⑤同时做几项检查时, 对取血之先后顺序应予注意。如血常规检查时, 做血涂片可放在最后取血。

(2) 对静脉采血的要求:

①一般由肘前静脉采血。小儿可取外踝或颈静脉等其他部位的浅表静脉;

②采血部位皮肤必须严格消毒, 最好先用碘酒棉球, 再以酒精棉球擦去碘酒;

③注射器及针头应无菌、干燥、通畅、不漏气。

④穿刺时不得过猛, 防止刺通血管壁造成皮下血肿。抽血时速度不应过快, 不得向里推。

⑤采血完毕后, 要将针头除去, 再慢慢将血液注入盛器, 不得将气泡注入, 以防溶血。

2、血液涂片和染色

(1) 合格之血涂片的标准: 能分出头体尾部且尾部呈一弧形, 边缘正齐, 涂膜两边与玻片边缘应有1~2mm的距离; 涂膜长度应为2~3Cm, 厚薄适宜(镜下观察时细胞不重叠, 但又不过分散), 质地均匀。

(2) 瑞特氏染色法

原理 瑞氏染粉是氯化美兰(碱性染料)和伊红钠盐(酸性染料)在水中混合时生成的中性沉淀物, 它易溶于甲醇但基本不解离。甲醇又有固定血膜的作用, 在加入适当PH值的水溶液后, 染料解离。血细胞中不同的酸碱性的成份主要是吸附相对应的有色离子而染上不同的颜色。

试剂 ①瑞氏染剂: 配方比例为瑞氏粉0.1g加甲醇60ml。配制时将染粉放乳钵

中，逐加甲醇研溶至溶完为止。配好之染液贮棕色瓶中。24小时后可用，放置时间越久，染色性能越佳。

②缓冲液： $M/15$ 酸性磷酸钙溶液（酸性磷酸钙 KH_2PO_4 9.08g 加蒸馏水至1000ml）和 $M/15$ 磷酸氢二钠溶液（磷酸氢二钠 Na_2HPO_4 9.74g 加蒸馏水至1000ml）等量混合。其PH约为6.8。

缓冲液亦可用PH 6.7~7.0的新鲜蒸馏水代替。

方法 ①将已干的血片平放，滴加染剂数滴，使其复盖整个血膜，约1分钟；

②滴加缓冲液约为染剂的2倍量，并与染剂混匀，染5~10分钟；

③用细流清水冲去染剂，将血片直立晾干（也可用吸水纸吸去水分，再晾干）即可镜检。

注意事项 ①染色时间长短与室温、染剂质量及涂片上有核细胞的多少等因素有关，应凭经验掌握之；

②染色后冲洗时不要先倒去染液，应加少许水后轻轻摇动玻片，再缓缓加水冲洗；

③染色过浅的血膜可用一份染剂加缓冲液两份的染液复染。染色过深时可用甲醇脱色；

④染色满意的涂片应为：肉眼观察为粉红色，显微镜下观察时，白细胞的核为紫兰色，染色质清晰，中性颗粒为浅紫红色，嗜酸性颗粒为红色。无染料沉渣。

（3）基姆萨氏染色法

原理 基本与瑞氏法相同。

试剂 配方比例：基氏染粉0.5g，纯甘油3.3ml，甲醇3.3ml。配制时先将染粉溶于甘油中，置60℃水浴2小时，再加入甲醇混匀，保存于棕色瓶内备用。此为原液。临用前以蒸馏水做10倍稀释即成应用染剂。

方法 ①涂片先用甲醇固定约3分钟；

②浸入应用染剂中染15~30分钟；

③取出，以水冲洗，晾干后镜检。

附注 此法对寄生虫及血细胞核的染色效果较好。

3 血紅蛋白測定（沙利氏法）

原理 加盐酸使血紅蛋白变成棕色之酸化血紅蛋白，与特制的标准比色玻片做稀释比色以求得含量。

器材及试剂 器材主要是沙利氏血紅蛋白计。试剂：盐酸（ $N/10$ ）或近似于1%即取浓盐酸1.0ml，加蒸馏水至100ml

方法 ①于稀释管内加盐酸4滴；

②吸血2.0微升，擦去管外之血液，将血液注入盐酸之底部，用上层清晰之盐酸吸洗吸管两三次，混匀待10分钟；

③向管内逐滴加入蒸馏水，随加随比色，至颜色与标准玻片一致为止；

④读取管内液柱凹面最低处所对之刻度(g%或百分率)。一般报告g%数。

附注 ①加入血液后应酸化10分后再稀释比色；

②比色应在一固定的管灯下进行，距离管灯以半尺为准；

③必须注意比色管的清洁。

正常值 成人男性11~15g%；女性10~13克%婴儿较高，可达20g%。

4、紅细胞计数(试管稀释法)

原理 以等渗溶液将血液做适当倍数的稀释后注入特制的计数室中，于显微镜下计数一定容积中的红细胞数(此时也将白细胞计入，但因数量很少，一般情况下可忽略)量换算成每微升血液中的红细胞数报告之。

试剂 稀释液(赫母氏液)：氯化钠1.0g，无水硫酸钠2.5g(如用结晶硫酸钠5.0g)，氯化高汞0.5g，蒸馏水加至200ml，混溶。可加入少许伊红做标记。

亦可用生理盐水做稀释液，但效果不如前者好。

方法 ①于试管(或青霉素小瓶)中置稀释液2.0ml；

②常法取血10微升，加入稀释液中，必须将吸管内壁上的血液全洗入，混匀；

③将试管或小瓶充分振混(约半分钟)后以吸管或玻璃棒将混悬液适量注入予先准备好的计算盘的计数池中，不得有气泡产生；

④静置2分钟后，在低倍镜(用高倍镜更好)下计数红细胞大方格中的四角四个及中央一个中方格(即80个小方格)内的红细胞数，记录之；

⑤计算及结果报告：将数得之数目乘以10,000，即得每微升血液中红细胞的个数。或在数得数目后面加一“万”字即可。例如，数得红细胞425个，则报告为425万/微升。

附注 ①为保证结果的准确性，对血液的稀释倍数、滴注前混匀、滴注技术及镜下计数等操作一定要符合要领；

②遇白细胞数明显增高的病例，应予校正。其方法为用本法所得之细胞总数/微升减去白细胞数/微升即得真正红细胞数/微升。

正常值 成年男性430~540万/微升；女性390~480万/微升。新生儿较高，可达600万/微升。

5、白細胞计数(試管稀释法)

原理 用含酸的稀释液将血液稀释一定倍数并使红细胞溶解，注入计算板中，在显微镜下计数一定容积内的白细胞数，再换算成每微升血液中的白细胞数。

试剂 稀释液①：冰醋酸3ml，加蒸馏水至100ml。再加入1%美兰液少许做标志。此液效果较好；

稀释液②：N/10(相当于1%)的盐酸液。用此液稀释血液后，还可做血红蛋白测定用。

方法 ①于小试管中加入稀释液0.38ml；

- ②常法取血20微升，加入稀释液中，混匀；
 ③充分摇匀后取一滴注入计算池中；
 ④静置2分钟后，在低倍镜下计数四角四个大方格中的白细胞总数乘以50，即得每微升血液中的白细胞数。在细胞分布均匀的前提下（任意两大格间白细胞数相差不超过8个），亦可数对角两个大格中的总数乘以100（即加两个零）。报告方式为：白细胞数/微升。

附注 ①操作技术方面的要求，与红细胞计数类同；

②在周围血液中有较多的有核红细胞时则应校正。其方法是先在染色涂片上求出计数100个白细胞时发现的有核红细胞数，即对比值。再按下式计算：

$$\text{有核细胞总数/微升} \times \frac{100}{100 + \text{对比值}} = \text{白细胞数/微升}$$

正常值 成人4000~10000/微升。儿童较高可达12000/微升。

6. 白细胞分类计数

原理 将血液涂成薄膜，经染色后，在显微镜下依据形态特点分类计出各种白细胞占白细胞总数的百分率。

方法 ①常法涂制血片和染色；

②在血膜的头尾相交处加镜油一滴，以油镜按一定顺序（常用曲径法）移动视野（使视野不遗漏又不重复）仔细辨认所见到之白细胞，确定种类记录之；

③以各种白细胞占白细胞总数的百分率报告之。

注意事项 ①在一般情况下，镜下数100个白细胞即可，此时求百分率不必经过计算。如患者白细胞总数超过20,000，应计数200个白细胞，但仍按百分率报告；

②正常人周围血液中的白细胞分为中性分叶核粒细胞、带形核粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞六类。其中对中性分叶核和带形核粒细胞的划分标准要特别注意掌握（核之最窄部份的横径小于最宽部份的三分之一者为分叶核）。发现幼稚白细胞时，同样以百分率计算；

③如果发现有核红细胞，则应单独记录，报告计数100个白细胞所见到的有核红细胞的个数；

④在分类计数的同时应注意白细胞的形态、成熟红细胞的形态、血小板的数量分布和形态以及有否特殊的病理细胞、血液寄生虫等。对所见的异常情况应在报告单上予以注明。

正常值 中性带形核粒细胞 1~4%
 中性分叶核粒细胞 50~70%
 嗜酸性粒细胞 1~4%
 嗜碱性粒细胞 0~1%
 淋巴细胞 20~30%

单核细胞 2~6%

以上为成人的参考正常值。小儿的淋巴细胞百分率较高而中性粒细胞的百分率较低。可参见下表。

正常儿童中性粒细胞和淋巴细胞的百分率表

年 令(岁)	婴 儿	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
中性粒细胞%	18~30	35	38	42	47	52	52	53	54	55	60
淋巴细胞 %	70~80	53	51	47	41	39	37	35	33	31	30

绝对值的计算及正常值

绝对值是指每微升血液内各种白细胞的数目；有了白细胞总数和各种白细胞的百分率之后可用算法求得。即

白细胞总数/微升×某种白细胞%=某种白细胞绝对值

其参考正常值如下：中性带形核粒细胞200~700；中性分叶核粒细胞3,000~6,000；淋巴细胞1,000~3,000；单核细胞300~600；嗜酸性粒细胞50~300；嗜碱性粒细胞0~75。

附：关于血常规的应用问题

(1) 传统应用的血常规检验包括血红蛋白测定、红细胞计数、白细胞计数和白细胞分类四项。从多年应用中体会到这种规定既增加实验室的负担对患者又无多大必要。一般情况下，如果需要了解是否贫血，只做血红蛋白测定即可；如果要了解白细胞系统变化的情况，做白细胞总数和分类即可。即便是为了全面了解病人血液改变情况的初筛试验，有了以上三项检查也足够。红细胞计数应做为进一步对贫血分类鉴别时的一项检验。因此我们建议血常规只包括上述三个项目。

(2) 不应允许在实验室中用血红蛋白的百分率乘上某一系数（例如5）得出红细胞百万数的办法。因为这样做不科学，特别在贫血时可能导致对贫血分类认识上的错误。病人如果需要做红细胞计数，就要认真操作，报告真实数值。

(3) 在实验室中做白细胞计数和血红蛋白测定可以选用盐酸稀释液，用一份血液标本完成两个项目。但做白细胞计数时应以血红蛋白吸管取10微升混悬液滴注入计数池中，做白细胞计数用。剩余液体倒入沙利氏比色管后还要用少许蒸馏水洗净试管中残留的液体。这样可保证血红蛋白测定结果的一致性。其测得值比原来约低2.5%，可加上此系数纠正。

附 中性粒细胞中毒颗粒的检查

在严重感染或中毒时，中性粒细胞可呈细胞边缘不清，核致密或有时肿胀，染色较深，染色质模糊。胞浆染色较蓝，时常有空泡，特别是浆内颗粒变得粗大，大小及形态不一，分布不均匀，呈较深的紫兰色。此种颗粒称作中毒性颗粒。

中毒性颗粒的显现与染色是否适当有关，必要时可做如下之证实染色观察。方法

与：涂片用甲醇固定2分钟，以吕弗硫氏美兰染液（美兰酒精胞和液30ml，10%—氧化钾液0.1ml，蒸馏水加至100ml，混匀滤过）染2分钟，水洗，干后镜检。正常颗粒不染色或呈极小的细针尖样颗粒，而中毒性颗粒染成深兰或兰紫色，胞浆呈灰兰色。在油镜下计数100个中性粒细胞，记录中毒性颗粒细胞所占之百分率。

7、嗜酸性粒细胞直接计数

原理 于稀释液中加入某些化学药品和染料，使红细胞和其它种白细胞破坏（有时其它白细胞仍保留），而嗜酸粒细胞则着色显现，在显微镜下计数，再计算每微升血液中嗜酸性粒细胞的数目。

试剂 稀释液的种类较多，列两种供选用。

①伊红0.5g，石碳酸0.5ml，甲醛0.5ml，蒸馏水加至100ml。溶解过滤后使用。

此液在室温中可保存半年。嗜酸粒细胞染成鲜明的红色。

②0.02%溴甲酚紫水溶液。溴甲酚紫0.02g，加蒸馏水至100ml，溶解过滤。此液可较长时间保存。嗜酸粒细胞染成紫兰色。

方法 ①于小试管中放稀释液0.38ml；

②常法取血20微升加入稀释液中，混匀（注意不要剧烈振荡）；

③取混悬液分别注入计数盘两边的两个计数池中，静置3~4分钟；

④于低倍镜下计数两个计数池的所有红白细胞计数区（共十大格）内的嗜酸粒细胞数，乘以20，即得每微升血液中的嗜酸粒细胞数。

正常值 50~300/微升

附 桑氏试验

原理 此试验用于测验肾上腺皮质机能是否健全。脑垂体前叶所分泌的促肾上腺皮质激素（ACTH），能使正常的肾上腺皮质分泌肾上腺皮质激素，使血循环内的嗜酸粒细胞减少。如肾上腺皮质功能不全，则不能引起这种反应。

方法 ①受检者试验前一天晚8时后不得进食，于试验当日清晨空腹取血，做嗜酸粒细胞直接计数一次；

②随即以ACTH25mg，加于葡萄糖生理盐水约500ml中静脉滴注。由上次采血起隔8小时再做一次嗜酸粒细胞直接计数；

③计算求出第二次嗜酸粒细胞数较第一次嗜酸粒细胞数减少（或增加）的百分数，报告之。例如：第一次为300/微升，第二次为100/微升，第二次数为第一次数的

$\frac{100}{300} \times 100 = 33\%$ ，即减少了 $100\% - 33\% = 67\%$ 。应报告：减少了67%。

正常值应减少63~97%（平均77%）

8、血沉测定

原理 将抗凝血置于特制的玻管中直立静止，经一定时间后红细胞下沉的速度，即为红细胞沉降率，简称血沉。影响血沉的内在因素主要是红细胞在抗凝血中是否聚集成缗钱状，如有聚集则血沉加快。

试剂 抗凝剂用3.8%枸橼酸钠溶液。

方法（长管法即未氏法）

- ①于试管或小瓶中置抗凝剂0.4 ml；
- ②静脉采血1.6 ml注入抗凝剂中，立即轻轻混匀；
- ③用血沉管吸抗凝血至刻度“0”处，垂直置于血沉架上，记录时间；
- ④一小时正，读取红细胞下沉之距离（即血浆层的mm数），报告之。

注意事项

- ①血液与抗凝剂的比例应准确，并要很好混匀，不得有凝块；
- ②血沉管一定要清洁、干燥。试验中血沉管一定要垂直放置。血液在管中不得含有气泡；
- ③血液标本应新鲜，最迟必须于3小时之内完成；
- ④试验时室内合适之温度为18~25℃。

正常值 男性0~15 mm/1小时

女性0~20 mm/1小时

9、点彩红细胞计数

原理 一般认为所谓点彩（或称嗜硷性点彩）是受毒物作用变化了的网织红细胞。可被瑞氏染液染成紫兰色之点粒状结构。如用美兰染色效果更佳。

试剂 硷性美兰染液：美兰0.5g，碳酸氢钠3.0g，蒸馏水加至100mm，溶解后过滤备用。如发现沉淀即不可再用。

方法 ①常法涂制薄血膜，以甲醇固定2分钟；

②加上上述染液染1分钟，水洗，晾干；

③油镜检查（红细胞呈浅兰色，点彩颗粒呈深兰色）。

④计数法：选择红细胞分布均匀的区域，计数50个视野中点彩红细胞的总数，同时数出其中5个视野中的红细胞总数，再依下列公式计算点彩红细胞占红细胞总数的百分率报告之。

$$\frac{50 \text{ 个视野中点彩红细胞总数}}{5 \text{ 个视野中红细胞总数} \times 10} = \text{点彩红细胞} \%$$

正常值 不超过0.3%

10、红细胞碱粒凝集试验

原理 红细胞未被固定而用硷性美兰液染色，细胞破裂，血红蛋白析出，若红细胞浆内含有嗜硷物质，即沉着被染成兰色颗粒。故硷粒是嗜硷性物质的总体。

试剂 染色液：硼砂 1g，溶于沸水 100ml 中，加入美兰 2g，完全溶解后过滤备用。

方法 ①常法涂制血膜，自然干燥；

②用浸有甲醇的滤纸条覆盖血膜的一半（按顺长方向），固定 2 分钟，拿去纸条；

③干后浸入染液中染 10 分钟，水冲，干后镜检。先看已固定的一边，计数 5 个视野中的红细胞总数；再看未固定的一边，计数 20 个视野中含碱粒红细胞的总数，按下式计算百分率。

$$\frac{20 \text{ 个视野中含碱粒红细胞总数}}{5 \text{ 个视野中红细胞总数} \times 4} = \text{碱粒红细胞 \%}$$

正常值 0.4~0.8%

11、一氧化碳血红蛋白定性试验

原理 一氧化碳与血红蛋白的亲合力比氧约大 300 倍。依据正常血红蛋白和一氧化碳血红蛋白于蒸馏水和碱液中的颜色不同可做定性试验。

方法 于试管中加蒸馏水 15ml，加入血液一滴，混合使红细胞溶解，呈浅粉红色。说明有 HbCO 存在（正常 Hb 呈棕红色）。再加入 20% 氢氧化钠液 5 滴，立即混匀，观察颜色变化。立即变为稻草黄色时，说明 HbCO 含量少于 20%。含量为 25~75% 者需 7~70 秒才变为草黄色。一般有症状的一氧化碳中毒病人，HbCO 含量均超过 20%。

同时应做正常人血液的对照试验。

12、红斑狼疮细胞检查

原理 所谓红斑狼疮细胞（LE 细胞）是指一种嗜中性粒细胞吞噬了经红斑狼疮因子作用过的细胞核（即均匀体）所呈现的吞噬细胞形态。红斑狼疮细胞的形成，首先是病人血浆中的因子（抗核抗体）作用于退化的细胞核，使核染色质溶解变成均匀体，然后再由活的嗜中性粒细胞吞噬均匀体。一般认为此过程只在体外的适宜条件下进行。

方法（改良凝血块法）

①静脉采血 3ml，放入干燥试管中，待血液凝固后，以玻棒将凝块搅碎，并将残余凝块除去；

②置 37℃ 温箱 2 小时（加棉塞）；

③弃去血清，取白细胞层之混悬液置于红细胞压积管内，以 2000 转/分离心沉淀 10 分钟；

④再弃去上清，吸取白细胞部份悬液涂制血膜 3~4 张；

⑤干燥后以瑞氏染色法染色，镜检。应先以高倍镜总览全片，特别注意边缘和尾部，对可疑者换油浸镜鉴定。

在形态学上除典型的红斑狼疮细胞外，尚须注意“前红斑狼疮细胞”、“游离的均

匀体”、“玫瑰花形细胞簇”等有参考价值的形态改变。典型红斑狼疮细胞应注意与所谓果馅细胞鉴别，前者主要为核溶解现象；后者为单纯的核被吞噬现象，且吞噬细胞常为单核细胞。

报告方式 找到红斑狼疮细胞或未找到红斑狼疮细胞。

13、疟原虫检查

概述 疟原虫是疟疾的病原体。人体感染的疟原虫有四种：间日疟原虫、三日疟原虫、恶性疟原虫和卵圆疟原虫。在我国以间日疟最多见，恶性疟次之，三日疟很少见，卵圆形疟原虫更罕见。由于党和政府的重视，疟疾的发病率逐年减少。

人体的疟原虫由按蚊传播。疟原虫在蚊体内进行有性生殖，在人体内则主要是无性生殖。人体内所见者可分为以下几期：小滋养体（环状体）、大滋养体（变形虫样滋养体）、裂殖体及小配子体（雌）和大配子体（雄）。

常见三种疟原虫鉴别要点如下表

常见三种疟原虫的鉴别要点

	间 日 疟	恶 性 疟	三 日 疟
被寄生的红细胞	胀大，色较淡，常有薛氏小点（均匀分布的红色小点），红细胞内通常仅一个原虫。	大小正常，偶可缩小。色较深。可有较大，数目少的红点。红细内可见两个原虫者	大小正常，颜色正常，可有细小红点。红细胞内仅见一个原虫
环状体	环较大（约为红细胞直径的 $1/3$ ），通常一个核，浆淡兰色，较薄。	环较小（约为红细胞的 $1/6$ ），常有两个核者，浆较纤细，常位于红细胞边缘	环较大，通常一个核浆深兰，较厚
大滋养体	较大，形状不规则，通常一个核，浆中常有空泡。有细小，杆状分散的绿褐色色素颗粒	周围血内不易查见。常二个以上核。胞体圆形。变化较小，有细砂样黑褐色色素颗粒，常集成团块	胞体较小，圆形，有时带状，一个核（点状或不规则），有粗大、分散、较多的深褐色色素颗粒

裂殖体	体大，裂殖子有12~24个(平均16个)，排列不规则，有绿褐色、细杆状色素	周围血内不易查见。裂殖子有8~36个(通常16~24个。)有黑褐色色素	胞体较小，裂殖子6~12个(通常8个)排列较正齐，散呈花朵状
小配子体(雌)	圆形，核较大，疏松，位近中心，浆淡兰色，色素颗粒分散	腊肠形，核同左，浆淡兰色，黑褐色色素围于核周	圆形，核同左浆淡兰色，深棕色色素颗粒，散在
大配子体(雄)	圆形，核小，色深红，致密位于一边，浆深兰色，色素同上。	半月形，两端较尖，核形同左，位于中央，浆深兰色，色素同上，	圆形，核形同左，位于一边，浆深兰色，色素同上。

方法 可选用下述方法之一。

(1) 薄片法：一般情况多采用该法。

取毛细管血液制成薄血膜2~3张，以瑞氏或基氏染色后，油镜仔细检查。

(2) 厚片法：本法为一简易浓缩法，但形态辨认要困难些。

①取血2~3滴于玻片之中央，用另一玻片之一角将血液涂开成直径1Cm的圆形血膜；

②干燥后于涂膜上加蒸馏水数滴，使红细胞溶解，血红蛋白脱出(涂膜成灰白色)；

③倒掉水，干后以瑞氏或基氏法染色，油镜检查。

附注 ①取血时间以即将发作之前为好，也可在发作时检查。注射副肾素后检查能提高阳性率；

②染色必须适宜。以白细胞的核和浆均染得清晰为准；

③对一些易误认为疟原虫的物体，如染色质颗粒、血小板及脱落的胞浆等需仔细辨认。各期疟原虫均有紫红色的核和兰色的胞浆。

报告方式 可按如下两种情况报告：

①检出疟原虫。最好能分类报告，如果只检出环状体，应报告检出环状体期疟原虫。如发现两种疟原虫混合感染，应分别报告。

②未检出疟原虫。发出此报告必须慎重，甚少应查100个视野。特别是当发现红细胞染色异常如嗜多色性红细胞、点彩细胞、半月形红细胞及单核细胞内有紫颗粒等

现象时，更应加倍注意。

14、黑热病原虫检查

概述 黑热病原虫或称利朵氏小体，是黑热病的病原体。此症由白蛉子传播。在人体内只能见到利什曼型（利朵体），在白蛉子体内或体外培养时可见到鞭毛体。此虫主要寄生在人体的肝、脾、骨髓、淋巴结等的网状内皮细胞内，脾、骨髓穿刺液涂片检查的阳性率较高。周围血液中也检出，但费时，阳性率也低。

利朵体的形态为圆形或卵圆形，直径2~3微米，有时可达5微米。胞浆染成浅蓝色可有空泡，有一红或紫红色的大核和一个纤细的棍形小核。多存在内皮细胞、单核细胞或中性分叶核粒细胞的胞体内，有时可很多聚在一起。

方法 常法涂制片片，用效果满意的瑞氏或基氏染色，油镜下仔细检查。

附 黑热病辅助诊断试验

原理 黑热病原虫寄生造成网状内皮细胞大量增生，进而引起血浆球蛋白升高，白蛋白相对或绝对减少。此种蛋白比例倒置的表现可用如下两种简便的方法检查，以做为本病的非特异性辅助诊断。

方法

(1) 蒸馏水沉淀试验：

于小试管中加蒸馏水0.6ml，加入血液（或血清更好）20微升，混匀。于1小时内注意观察结果。

15分钟内出现明显的沉淀为（++++）；

15~30分钟发生沉淀为（+++）；

30~45分钟出现沉淀为（++）；

45~60分钟出现沉淀为（+）；

1小时后仍为透明清晰无沉淀物（-）。

(2) 醛脲试验

取血清一滴加于清洁玻片上。将玻片倒置，使血清复盖于打开的40%甲醛瓶口，使甲醛蒸气作用于血清，不时观察结果。

在20分钟内血清凝固变白为（++++）；

20~40分钟内凝固变白为（+++）；

40~60分钟内凝固变白为（++）；

1~2小时内凝固变白为（+）；

2小时后微凝但仍透明或无反应（-）。

15、血丝虫微丝幼的检查

概述 丝虫为丝虫病的病原体，种类颇多。在我国常见的有班氏丝虫和马来丝虫两种。此病由蚊子传播。丝虫的成虫为细长线状园虫，寄生于人体淋巴管、淋巴结或皮下组织，如局部淋巴管阻塞破裂可发生乳糜尿或乳糜性渗出液。周围血液中只能见到其幼虫；即微丝幼。该幼虫白天多聚于内脏毛细血管中，夜间易出现于末梢血液内。

微丝幼的形态：长约200~300微米，宽约5~6微米，前端钝圆，后端头

细，外面包有鞘膜。生态时运动活泼。两种微丝幼的鉴别要点如下表。

班氏和马来微丝幼鉴别要点

	班氏微丝幼	马来微丝幼
大小	较长(270×5.5)	较短(210×5)
形态	外观平滑，弯曲小。 头隙短	外观僵直，起伏弯曲大 头隙较长
尾部	小细，无尾核	稍膨大，有1~2个尾状

检查方法 可依情况不同选用下述方法。

(1) 鲜血滴法 取末梢血液2滴于载玻片中央，制成厚膜(或加一盖片)，在低倍镜下查找活动的幼丝虫。

(2) 厚片染色法 同疟原虫厚片法。瑞氏或基氏染色时间应稍长。

(3) 浓缩法静脉采血1~2ml，以枸橼酸钠抗凝，再加入蒸馏水数毫升，混摇，离心沉淀倒去上清。如此反复二次，再加生理盐水数毫升混匀，离心沉淀取沉渣滴到玻片上镜检。

注意事项 ①取血标本应在夜间10点至次晨2点之间；

②末梢采血时第一滴血不可弃去，往往初流出之血液含虫可能性更大；

③鲜血检查标本查后应做消毒处理。

报告方式 查到或未查到微丝幼。查到者应尽量做出种类鉴定。

二、贫血鉴别检验

在临床上做贫血的鉴别涉及的实验室检查项目较多，有关血常规检查在前面已述及。这一章中列入了一些常用的项目包括溶血性贫血的一些简便试验。其它一些有关检验项目如抗人球蛋白试验列入血型血库技术部份中，骨髓涂片检查另列专章。溶血性贫血中较复杂的试验则没有收入。

1、红细胞比积测定

原理 用能保持红细胞体积不变的抗凝剂抗凝之血液，置于特制之温氏测定管中，经充分离心沉淀后，红细胞的容积占全血容积的百分数，即为红细胞比积。也称红细胞

压积容量或压积。

试剂 抗凝剂：草酸钾0.8g,草酸铵1.2g,加蒸馏水至100ml,溶解混匀。取此双草酸盐抗凝剂0.2ml于小瓶内,在80℃以下烘干备用。

方法 ①静脉采血2ml,注入抗凝瓶中,迅速混匀;

②用细长吸管将混匀的抗凝血注入温氏管中,准确的到刻度“10”处。不可产生气泡;

③以每分钟3,000转之速度离沉30分钟(或先沉淀20分钟读取结果后再离沉10分钟)直至红细胞不再下沉时为止;

④读取红细胞层的高度之读数乘以10即为红细胞比积之百分数。

附注 注意红细胞上面的白细胞和血小板层不可读入;用倾斜式离心机时应取红细胞层斜面之中点。

正常值 男性40~51%;女性35~47%

附 三种红细胞平均值的计算

①红细胞平均体积(MCV);

计算公式:求得数值的单位为立方微米。

$$MCV = \frac{\text{红细胞比积}(\%) \times 10}{\text{红细胞百万数}/\text{微升}}$$

正常值:82~92立方微米。

②红细胞平均血红蛋白(M、C、H);

计算公式:求得数值的单位为微微克。

$$MCH = \frac{\text{血红蛋白}(\text{g}\%) \times 10}{\text{红细胞百万数}/\text{微升}}$$

正常值 27~31微微克。

③红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC);

系指红细胞中血红蛋白的平均浓度,通常以百分数表示(g/100ml)。

计算公式:

$$MCHC = \frac{\text{血红蛋白}(\text{g}\%)}{\text{红细胞比积}(\%)} \times 100\%$$

正常值 32~36%

附注 做此平均值的计算时三项检验要用做红细胞比积用的同一份血液标本。

2、网织红细胞计数

原理 网织红细胞是一种无核的幼稚红细胞,其胞浆中残留有嗜碱性的核糖核蛋白痕迹,用碱性染料在活体时染色可见兰色之点状、粒状、丝状或网状结构。