

卫生部规划教材

全国中等卫生学校教材

供医学检验 卫生检验专业用

临床检验学实验指导

主编 赵桂芝



四川科学技术出版社

前 言

本实验指导是根据(95)卫教材办(45)号文《关于组织编写各类配套教材的通知》精神,由编者分工写出初稿,经主编统稿而成。是全国中等卫生学校《临床检验学》(第三版)的配套教材。

本实验指导的编写力求贯彻理论联系实际,与当今临床检验新技术、新方法相适应的宗旨。编写中遵循以下几点:

一、充分考虑实验原理和方法的先进性,引用方法多采用中华人民共和国卫生部医政司推荐的《全国临床检验操作规程》(第二版)的检测方法,注重临床检验方法的标准化和规范化。

二、为使本实验指导能适应全国中等卫生学校医学检验专业的需要,同时也考虑到目前我国各级卫生学校教学设备的现有条件,编写中在注重先进性的同时,也适当编入一些虽不很先进,但不需特殊设备仍能达到对学生基本技能进行训练的目的且又有一定临床应用价值的方法。每项试验一般只选用1个~2个较可靠实用的方法。某些内容(标有*者)并非必作项目,可根据各校具体情况予以取舍;某些实验的编排顺序亦非不能变动,可根据具体情况加以调整。

三、为便于贯彻执行原国家教委在部分学校中进行理论与实验课单独记录成绩和加强对学生实践技能训练的要求,在本实验指导附录中也编入了8项实验考核内容和标准,以供教师在教学中参考使用。

四、为便于学生巩固所学知识,在每一实验之后紧紧围绕各有关单元所要求掌握的主要内容编写了部分复习题供选用。

五、本实验指导可满足该课程实践教学环节的需要。

参加本实验指导各章编写的同志是:胡宝琳(第一、二章),吴荣泉(第三、十五、十六、十七、十八、十九章),赵桂芝(第四、六、七、八、二十一章),须建(第五、九、十、十一、十二、十三、十四章),陈亦君、江忠仪(第二十章)。

本实验指导承王淑娟教授主审,在编写过程中给予我们具体指导并提出许多修改意见,此外我们也参考了一些兄弟学校的实验指导、实验报告,实验指导中的插图由北京卫生学校曹乃洛同志绘制,在此表示衷心的感谢。

由于编者水平有限,疏漏之处,敬希各校教师与学生在对本实验指导的过程中提出批评和建议。

编 者

1998年4月

实验室规则

一、每次实验前必须预习实验指导,明确实验目的、原理、操作步骤及注意事项等,并结合实验内容,复习有关理论知识,以便顺利完成实验。

二、进入实验室必须穿好实验服,与实验无关的物品请勿携带入内,做到不迟到、不早退。

三、入室后对号入座,实验过程中要严格按照操作规程,以严肃认真的态度进行操作,观察结果应实事求是。有问题举手示意,不得大声喧哗和随意走动。

四、爱护实验室的一切仪器设备,使用时按操作须知进行操作,如有损坏,要及时报告教师,并在损坏物品登记簿上登记,按规定赔偿。

五、实验完毕,将一切所用的物品整理就绪,并按教师所指定的地点放好,值日生要认真做到仪器、桌面、地面、水槽、黑板、污物桶六净,并要关好水、电、煤气开关及门窗。

六、实验报告必须按时完成,填写报告要实事求是,文字要简练、通顺,书写要清楚、整洁,不得互相抄袭。实验报告由课代表送交教师批阅。

目 录

实验一 毛细血管采血	(1)
实验二 静脉采血	(3)
实验三 白细胞计数(显微镜法)	(4)
实验四 血涂片的制备及瑞特—吉姆萨复合染色	(6)
实验五 白细胞分类计数	(9)
实验六 异常白细胞检验	(12)
实验七 嗜酸性粒细胞直接计数	(14)
实验八 红斑狼疮细胞检验	(16)
实验九 红细胞计数(显微镜法)	(18)
实验十 血红蛋白测定(HiCN 分光光度法)	(20)
实验十一 红细胞比积测定(温氏管法和微量法)	(21)
实验十二 红细胞平均值的计算	(23)
实验十三 红细胞直径测量	(24)
实验十四 网织红细胞计数	(26)
实验十五 嗜碱性点彩红细胞计数	(28)
实验十六 异常红细胞检验	(29)
实验十七 血细胞分析仪的应用	(31)
实验十八 红细胞渗透脆性试验	(35)
实验十九 酸溶血试验	(37)
实验二十 蔗糖溶血试验	(39)
实验二十一 高铁血红蛋白还原试验*	(40)
实验二十二 抗碱血红蛋白测定——碱变性试验*	(42)
实验二十三 异丙醇沉淀试验*	(44)
实验二十四 血小板计数(显微镜法)	(46)
实验二十五 血块收缩试验(定量法)	(48)
实验二十六 出血时间、全血凝固时间和血浆复钙时间测定	(49)
实验二十七 活化部分凝血活酶时间测定	(51)
实验二十八 简易凝血活酶生成试验	(52)
实验二十九 血浆凝血酶原时间测定	(53)
实验三十 血浆硫酸鱼精蛋白副凝固试验	(55)
实验三十一 FDP 胶乳凝集试验和 D—二聚体胶乳凝集试验	(56)
实验三十二 抗凝血酶Ⅲ活性(AT—Ⅲ:A)测定*	(58)
实验三十三 红细胞沉降率测定	(60)

实验三十四	血液粘度测定 *	(61)
实验三十五	标准血清和 A、B、O 试剂红细胞悬液的制备	(64)
实验三十六	ABO 血型鉴定	(67)
实验三十七	Rh 血型鉴定	(69)
实验三十八	交叉配血试验	(70)
实验三十九	尿液一般性状检验	(74)
实验四十	尿液显微镜检验	(79)
实验四十一	尿液化学检验	(83)
实验四十二	尿沉渣计数	(93)
实验四十三	尿液自动分析仪的应用	(96)
实验四十四	妊娠试验——绒毛膜促性腺激素检验	(99)
实验四十五	粪便检验	(103)
实验四十六	胃液检验	(110)
实验四十七	十二指肠引流液及胆汁检验	(112)
实验四十八	脑脊液检验	(114)
实验四十九	浆膜腔积液检验	(119)
实验五十	精液和前列腺液检验	(122)
实验五十一	阴道分泌物检验	(125)
实验五十二	痰液检验	(127)
实验五十三	脱落细胞标本制备与染色	(128)
实验五十四	脱落细胞形态观察	(131)
实验五十五	染色体检验 *	(134)
实验五十六	正常骨髓细胞形态观察	(136)
实验五十七	骨髓细胞检验	(141)
实验五十八	过氧化物酶染色	(145)
实验五十九	中性粒细胞碱性磷酸酶染色	(147)
实验六十	铁粒染色 *	(150)
实验六十一	过碘酸-雪夫反应 *	(152)
实验六十二	贫血的血象和骨髓象检验	(154)
实验六十三	急性白血病的血象和骨髓象检验	(157)
实验六十四	慢性白血病的血象和骨髓象检验	(160)
实验六十五	多发性骨髓瘤和恶性组织细胞病的血象和骨髓象检验	(162)
实验六十六	特发性血小板减少性紫癜的血象和骨髓象检验	(164)
实验六十七	中性粒细胞性类白血病反应的血象和骨髓象检验	(166)
附录一	临床检验学实验考核内容和标准	(168)
一、	白细胞计数	(168)
二、	血涂片制备、染色及外周血白细胞形态指认	(169)
三、	血红蛋白测定(HiCN 分光光度法)	(170)
四、	血浆凝血酶原时间测定	(171)

五、交叉配血试验(盐水介质配血法)	(172)
六、尿液检验基本操作技能	(173)
七、胃酸分泌量测定	(174)
八、骨髓、脱落细胞检验基本技能	(175)
附录二 实验室意外事故的处理	(179)
一、触电	(179)
二、创伤	(179)
三、烧伤或烫伤	(179)
四、化学药物的伤害	(179)
五、实验室发生火灾的处理	(180)
附录三 临床检验学各章学时分配表	(181)

实验一 毛细血管采血

Collection of Capillary Blood

〔实验目的与要求〕

1. 正确选择采血部位并有无菌观念做好皮肤消毒。
2. 学会微量吸管的使用方法。
3. 掌握毛细血管采血方法。
4. 观看《毛细血管采血》录像或教师做演示。

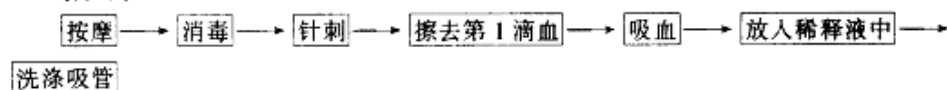
〔器材、试剂〕

1. 消毒三棱针,每人每次采血更换1次,以避免交叉感染,或用市售一次性采血针。
2. 消毒干棉球。
3. 0.75L/L 乙醇棉球。
4. 微量吸管。
5. 小试管、等渗盐水。

〔采血部位〕

成人以左手环指的侧腹部为宜,半岁以上幼儿以手指为好,半岁以下婴幼儿通常自拇趾或足跟两侧采血。

〔操作〕



1. 轻轻按摩采血部位,使其自然充血,用0.75L/L 乙醇棉球消毒局部皮肤,待干。
2. 用左手的拇指和食指捏紧和固定刺血部位,右手持针迅速穿刺深度约2mm~3mm,以血液自动流出或稍加挤压即能流出为宜。
3. 用消毒干棉球擦去第1滴血,按需要采取血量,放入稀释液管的底部。
4. 采血完毕,用干棉球压住伤口,止血片刻。

〔注意事项〕

1. 除特殊情况外,不要在耳垂采血。若在耳垂采血要避开冻疮、炎症、水肿等部位,以免影响结果。
2. 用乙醇消毒后一定要干后再采血,否则血液不易集中且易凝固,若不干可用消毒干棉球擦干后再穿刺采血。
3. 进行多项检查时,采集标本的顺序为血小板计数、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数等。出血时间需另刺1针,进行观察。凝血时间需另行测定。
4. 若穿刺部位出现出血不止时,可用无菌干棉球压迫止血,必要时应在报告单上注明情况。

〔结果与报告〕

你今天采血是否顺利? 存在什么问题? 谈谈体会。

〔复习题〕

1. 为什么毛细血管采血推荐指血而尽量不用耳垂部位采血？
2. 消毒剂 0.75L/L 乙醇与 2g/L 过氧乙酸及 25g/L 碘酊的作用有何不同？

实验二 静脉采血

Collection of Venous Blood

〔实验目的与要求〕

1. 掌握静脉采血的方法。
2. 观看《静脉采血法》录像或教师演示。

〔器材、试剂〕

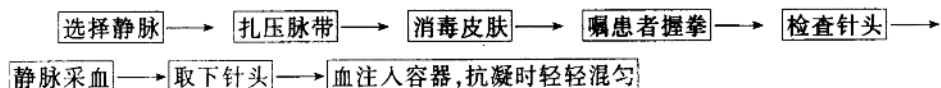
1. 预先高压灭菌的 2ml 或 5ml 注射器及 6 号~7 号针头或市售一次性消毒注射器、压脉带、垫枕、消毒棉签等。
2. 25g/L 碘酊。
3. 0.75L/L 乙醇。

〔采血部位〕

一般用肘前静脉。

〔操作〕

根据血液是否需抗凝而分别准备实验用盛血器材,如需抗凝则应在试管内(或其他容器)放置一定比例的抗凝剂,无需抗凝时则将血液直接注入容器内,操作步骤如下:



具体采血方法见教材第 3 页。

〔注意事项〕

1. 静脉采血必须严格遵守无菌操作,抽血前检查针头是否接牢并看针尖是否锋利无钩。针头的斜面朝上并充分显示针筒上的刻度。
2. 穿刺进针一定要注意角度适当,不要过深,以免穿破血管造成皮下血肿。若形成血肿,则嘱患者 24h 后用热毛巾湿敷消肿。
3. 抽血时,只能外抽,不能内推,以防止气栓形成。
4. 严防标本溶血。若采血针和盛血器皿不清洁、不干燥;压脉带束扎时间过长;血液注入试管时产生大量泡沫;用力振荡等均可造成溶血,必须加以避免。

〔结果与报告〕

你今天静脉采血是否成功? 若失败了请分析主要原因是什么?

〔复习题〕

1. 血浆标本与血清标本如何制备? 两者有何不同?
2. 常用抗凝剂有哪几种? 分别说明其抗凝原理和抗凝作用。

实验三 白细胞计数(显微镜法)

White Blood Cell Counting (Microscopic Method)

〔实验目的与要求〕

1. 观察指认计数板的格式构造。
2. 熟练进行毛细血管采血。
3. 掌握白细胞计数的方法。
4. 正确书写报告单。

〔实验原理〕

见教材第9页。

〔器材、试剂〕

1. 毛细血管采血用具(同实验一)。
2. 显微镜、计数板及其配套的盖玻片、小试管、充液用玻璃棒或毛细滴管。
3. 白细胞稀释液。

〔操作〕

于操作前看《白细胞计数》录像或教师演示。

加稀释液 → 采血 → 混匀 → 充液 → 静置 → 计数

操作具体方法见教材11页。

〔注意事项〕

1. 稀释液要过滤,小试管、计数板均须清洁,以免杂质、微粒等被误认为细胞。
2. 大小方格内压线细胞应按数上不数下、数左不数右的原则进行计数。
3. 计数池内细胞分布要均匀,每大格的细胞数差异超过均值 $\pm 10\%$,则应重新充液计数。
4. 计数时,两次重复计数误差不得超过10%。

〔计算与结果〕

1. 记录低倍镜下白细胞计数结果:

	左上大格	左下大格	右上大格	右下大格	总计
第一次计数					
第二次计数					

2. 计算

计算公式: $\frac{\text{四个大格内白细胞总数}}{4} \times 10 \times 20 \times 10^6 = \text{白细胞数/L}$

四个大格内白细胞总数 $\times 50 \times 10^6 = \text{白细胞数/L}$

计算过程:

3. 报告结果

4. 参考值

〔复习题〕

1. 白细胞稀释液的组成成分及其作用。
2. 当白细胞数过低或过高者以及外周血出现大量有核红细胞时,应如何处理以使结果更为准确?

实验四 血涂片的制备及瑞特-吉姆萨复合染色

Preparation of Blood Smear and Wright-Giemsa Staining

〔实验目的与要求〕

1. 掌握血片的制备和瑞特-吉姆萨复合染色方法。
2. 知道瑞特-吉姆萨复合染色液的配制方法。
3. 解释瑞特-吉姆萨复合染色的原理。

〔操作〕

一、血片的制备

采血 → 滴血于载玻片一端 → 推制血膜 → 自然干燥 → 作标记

1. 采血后推制厚薄适宜的血膜片,血膜应呈舌状,头、体、尾分明。
2. 推好血膜在空气中摆动,以促使干燥。天气寒冷或潮湿时,应于 37℃ 温箱中保温促干,以免细胞皱缩变形。
3. 血膜干燥后,用铅笔在血膜头部写明患者姓名或编号。

二、染液的配制

(一)瑞特-吉姆萨复合染色液的配制

I 液:取瑞特染粉 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 1 周即可使用。

II 液:pH6.4~6.8 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 pH,加水至 1000ml。

此染液使胞质中颗粒及细胞核着色均较好。染液中也加入少量甘油(3ml)防止甲醇挥发,使细胞染色更清晰,染色效果更满意。

(二)快速染色液的配制

I 液:磷酸二氢钾 6.64g

磷酸氢二钠 2.56g

水溶性伊红 Y 4g(或伊红 B 2.5g)

蒸馏水 1000ml

石炭酸 40ml

煮沸,待冷备用。

II 液:亚甲蓝 4g

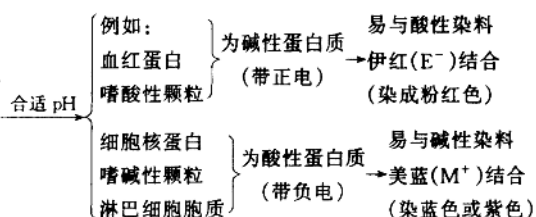
蒸馏水 1000ml

高锰酸钾 2.4g

煮沸,待冷备用。

〔染色原理〕

各种细胞及其成分化学性质不同,故对各种染料的亲和力也不一样



〔染色方法〕

两端划线 → 固定 → 染色 → 水冲洗 → 干燥 → 镜检

(一)瑞特—吉姆萨复合染色方法

1. 平置玻片于染色架上,滴加染液 3 滴 ~5 滴,使其迅速盖满血膜。
2. 约 1min 后,滴加缓冲液 5 滴~10 滴,轻轻摇动玻片或用洗耳球对准血片吹气,与染液充分混和。
3. 5min~10min 后用水冲去染液,待干。

(二)快速染色法

1. 把干燥血片浸入快速染色液的 I 液中 30s,水冲。
2. 再浸入 II 液中 30s,水洗待干。

〔染色结果〕

染色结果		正 常	偏 碱	偏 酸
血涂片外观		粉红色	灰蓝色	红色
油 镜 下	红细胞	粉红色	灰蓝色	红色
	白细胞核	呈紫红色	着色深	浅蓝色或不着色
	白细胞胞质	胞质颗粒显示各种细胞特有色彩	颗粒深暗,嗜酸性颗粒呈黑紫色	颗粒不着色,嗜酸性颗粒偏红

〔注意事项〕

1. 血膜必须充分干燥,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。
2. 染色时间与染液浓度、室温高低、有核细胞的多少有关,故应酌情确定其染色时间。
3. 染液不可过少,以防蒸发干涸染料沉着于血片上,难以冲洗干净。
4. 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。

〔结果与报告〕

你所制备的血片是否符合要求? 染色结果是否满意? 还有哪些不足之处? 今后如何提高制片染色的技术?

〔复习题〕

1. 一张良好血涂片的标准是什么？
2. 如何评价瑞特-吉姆萨复合染色结果？
3. 解释瑞特染色、瑞特-吉姆萨复合染色的原理。
4. 叙述瑞特-吉姆萨复合染色的方法及注意事项。

实验五 白细胞分类计数

Differential Counting of White Blood Cell

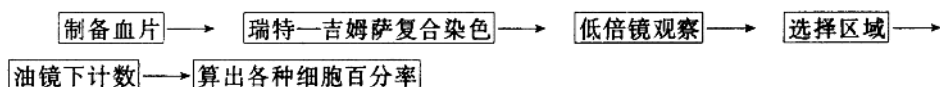
〔实验目的与要求〕

1. 识别外周血五种白细胞的形态特征。
2. 掌握血片制备及瑞特-吉姆萨复合染色技术。
3. 掌握白细胞分类计数的方法。
4. 观看《白细胞分类计数》录像或教师演示操作。

〔实验原理〕

把血液制成细胞分布均匀的厚薄适宜的涂片,应以透过血膜能看清字迹为宜。用复合染料染色,根据各类白细胞形态特征予以分类计数,得出各类细胞的百分率,以观察其数量、质量和形态的变化,对疾病有辅助诊断意义。

〔操作〕



1. 制备血涂片染色同实验四。
2. 先用低倍镜观察血片染色情况、白细胞的多少和细胞分布情况。
3. 选择涂片的体尾交界处染色良好的区域,在油镜下计数 100 个白细胞,按其形态特征进行分类计数,求出各类细胞所占比值(百分率)。

〔注意事项〕

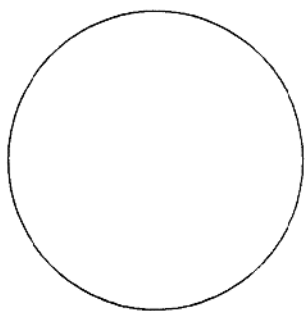
1. 分类计数时必须按要求移动血片,以避免重复计数。
2. 对患者白细胞分类时,其计数的细胞数量视白细胞总数多少而定。白细胞总数超过 $20 \times 10^9/L$ 时,应分类计数 200 个细胞,白细胞明显减少的血片,可检查多张血片。

〔结果与报告〕

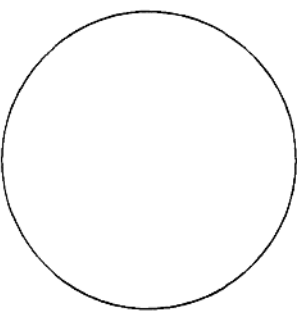
1. 记录实验结果

细胞名称 \ 数 量	计 数 (划“正”或“ ”的方式)	百分率 (%)	参考值 (%)
中性杆状核粒细胞			
中性分叶核粒细胞			
嗜酸性粒细胞			
嗜碱性粒细胞			
淋巴细胞			
单核细胞			

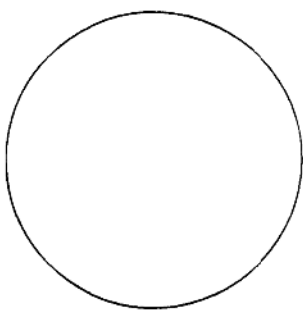
2. 绘图:绘出五种白细胞油镜下典型形态并注明主要特征。



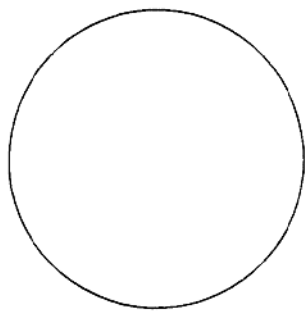
中性杆状核粒细胞



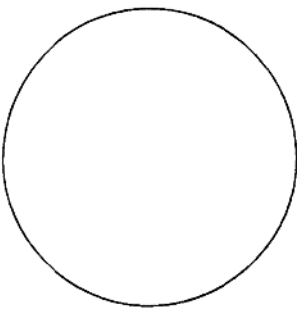
中性分叶核粒细胞



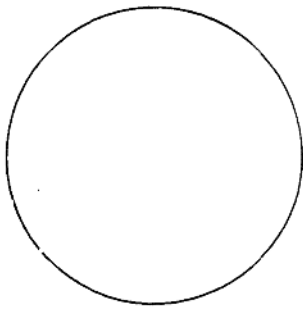
嗜酸性粒细胞



嗜碱性粒细胞



淋巴细胞



单核细胞

3. 写出以下鉴别要点

(1)大淋巴细胞与单核细胞的鉴别要点:

(2)中性及嗜酸性、嗜碱性粒细胞的鉴别要点:

4. 填写检验报告单

住院号 _____ 门诊号 _____	
病人 _____ 病室床号 _____	
姓名 _____ 科别 _____	
性别 _____ 年龄 _____	
临床诊断 _____	
检查物 _____	
检查目的 _____	
送检日期 _____	
送检医师 _____	报告日期 _____ 报告者 _____

〔复习题〕

1. 为什么要选择白细胞分类计数区域? 如何选择?
2. 阐述五种白细胞增多的主要临床意义, 说出每种白细胞分类的参考值。