

卫生部规划教材

高等医药院校 配套教材  
全国医学专科学校

(供医学检验专业用)

# 临床基础检验学 实验指导

朱立华 主编

人民卫生出版社

99  
R446  
49  
2

XAP 7/4/30

高等医药院校  
全国医学专科学校 配套教材

(供医学检验专业用)

# 临床基础检验学 实验指导

朱立华 主编

编者 (以姓氏笔画为序)

王建中 (北京医科大学)

朱玉珍 (北京医科大学)

朱立华 (北京医科大学)

罗春丽 (重庆医科大学)

袁家颖 (北京医科大学)

熊立凡 (上海第二医科大学)



人民卫生出版社



3 0068 5469 3

**图书在版编目 (CIP) 数据**

临床基础检验学实验指导/朱立华主编. - 北京: 人民  
卫生出版社, 1999

ISBN 7-117-03262-6

I. 临… II. 朱… III. 临床医学-医学检验-实验-医学  
院校-教材 IV. R446.1-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 07189 号

**临床基础检验学实验指导**

朱立华 主编

人民卫生出版社出版发行

(100078 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼)

北京市卫顺印刷厂印刷

新华书店经销

787×1092 16 开本 9.75 印张 219 千字  
1999 年 10 月第 1 版 1999 年 10 月第 1 版第 1 次印刷  
印数: 00 001—4 000

ISBN 7-117-03262-6/R·3263 定价: 11.00 元

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究。

## 编写说明

为适应新版教材《临床基础检验学》对实验教学的要求，卫生部教材办公室组织编写了这本《临床基础检验学实验指导》作为配套教材。

编写本教材的主导思想是充分围绕理论教科书的教学内容，配合其教学进度选择相关的实验，通过培养学生的动手能力，达到加深对理论知识的理解和拓展知识面的目的。

在实验内容的选择方面注意深度和广度的结合，重视将近年来国际、国内有关学术组织推荐，且为临床广泛应用的标准方法作为实验内容。在删除陈旧的试验同时，兼顾在我国目前社会经济条件下仍具有实用价值、不需特殊设备、所得结果较为可靠的实验方法。各学校可根据自己的教学计划与条件选择实验。

为帮助学生掌握本学科的基本功，以便在今后的实验中应用自如，我们在第一章重点介绍了临床基础检验中的一般性操作技术；在以后的实验内容中包括目的、原理、器材、试剂、标本来源、操作步骤、报告方式、注意事项、方法学评价、参考值和临床意义。考虑到当前对临床基础检验的仪器进行质量评价、对日常工作进行质量控制和考核极为重要，故实验指导编入这部分内容，以供有条件的学校选用或学生在今后临床实践中应用。

对于学生实验报告的要求本书未做统一的规定。原则上建议，一个规范的实验报告应包括实验目的、原理、器材（包括规格与型号）、试剂（包括如何配制或试剂盒批号）、标本来源、操作步骤、计算、结果报告、参考值、临床意义和问题讨论；有些受温度或湿度影响的实验还应注明当时的温度与湿度，最后有报告者的签名与日期。各学校可参考上述建议设计实验报告，供学生使用。

本书供高等医药院校、全国医学专科学校检验专业学生使用。由从事临床基础检验教学，并有实际工作经验的教师编写。在编写过程中得到王淑娟教授、寇丽筠教授的悉心指导，刘荣珍、魏有强为本书绘图，在此一并致谢。

感谢日本第一化学药品株式会社在本书编写和出版过程中给予的大力支持。

由于编者水平有限，难免存在缺点和错误，望使用本书的教师和学生给予批评和建议，以便再版时修正。

编 者

1998年10月

# 目 录

<b>第一章 一般性操作技术</b> .....	(1)
实验一 光学显微镜的应用和维护 .....	(1)
实验二 血液标本的采集 .....	(2)
方法一 毛细血管采血法 .....	(2)
方法二 静脉采血法 .....	(3)
实验三 微量吸管的鉴定 .....	(5)
方法一 水银称重法 .....	(5)
方法二 氰化高铁血红蛋白比色法 .....	(6)
实验四 微量吸管的使用 .....	(7)
实验五 改良牛鲍计数板的鉴定与使用 .....	(8)
实验六 血涂片的制备与瑞特-吉姆萨染色 .....	(12)
<b>第二章 血液检查</b> .....	(15)
实验一 红细胞计数 .....	(15)
实验二 血红蛋白测定 .....	(16)
方法一 氰化高铁血红蛋白测定法 .....	(16)
方法二 十二烷基硫酸钠血红蛋白测定法 .....	(18)
实验三 红细胞比积测定 .....	(19)
方法一 温氏 (Wintrobe) 法 .....	(19)
方法二 微量法 .....	(20)
实验四 红细胞平均值计算 .....	(21)
实验五 红细胞形态学检查 .....	(22)
实验六 红细胞平均直径测量 .....	(23)
实验七 网织红细胞计数 .....	(25)
实验八 嗜碱性点彩红细胞计数 .....	(26)
实验九 红细胞沉降率测定 .....	(27)
方法一 魏氏 (Westergren) 法 .....	(27)
方法二 动态测定法 .....	(28)
实验十 白细胞计数 .....	(29)
实验十一 白细胞分类计数和形态学检查 .....	(30)
实验十二 嗜酸性粒细胞直接计数 .....	(32)
实验十三 血细胞分析仪的使用及结果分析 .....	(33)
实验十四 血细胞分析仪的校准 .....	(37)
实验十五 血细胞分析仪的性能评价 .....	(40)
实验十六 出血时间测定 .....	(46)

方法一 出血时间测定器法 (TBT 法)	(46)
方法二 Duke 法	(47)
实验十七 凝血时间测定	(48)
实验十八 血小板计数	(49)
实验十九 血浆凝血酶原时间测定	(50)
方法一 凝血仪法	(50)
方法二 试管法	(50)
方法三 表面皿法	(51)
实验二十 活化部分凝血活酶时间测定	(52)
方法一 凝血仪法	(52)
方法二 试管法	(53)
方法三 表面皿法	(53)
实验二十一 ABO 系统血型鉴定	(54)
方法一 正定型法	(54)
方法二 反定型法	(57)
实验二十二 交叉配血	(58)
方法一 盐水介质配血法	(58)
方法二 聚凝胺介质配血法	(59)
实验二十三 Rh 血型鉴定 (酶介质法)	(60)
实验二十四 抗球蛋白试验	(62)
方法一 直接 Coombs' 试验 (DAT)	(62)
方法二 间接 Coombs' 试验 (IAT)	(64)
实验二十五 红细胞抗体吸收试验	(65)
实验二十六 红细胞抗体放散试验	(67)
方法一 热放散法	(67)
方法二 枸橼酸冷放散试验	(68)
实验二十七 血型抗体效价测定	(70)
<b>第三章 尿液检查</b>	(71)
实验一 尿液一般性状检查	(71)
实验二 尿蛋白定性试验	(74)
方法一 磺基水杨酸法	(74)
方法二 加热乙酸法	(75)
方法三 干化学试带法	(75)
实验三 尿蛋白定量测定	(76)
方法一 双缩脲法	(76)
方法二 丽春红 S 法	(77)
方法三 考马斯亮蓝法	(78)
实验四 本周蛋白尿定性试验	(80)
方法一 凝溶法	(80)

方法二 对-甲苯磺酸法	( 81 )
实验五 尿葡萄糖定性试验	( 82 )
方法一 班氏法 (Benedict 法)	( 82 )
方法二 干化学试带法	( 83 )
实验六 尿葡萄糖定量测定	( 84 )
实验七 尿液酮体定性检查	( 85 )
方法一 Rothera 法	( 85 )
方法二 化学试带法	( 86 )
实验八 尿液胆红素定性试验	( 87 )
方法一 Harrison 法	( 87 )
方法二 化学试带法	( 87 )
实验九 尿胆原定性试验	( 88 )
方法一 改良 Ehrlich 法	( 88 )
方法二 干化学试带法	( 89 )
实验十 尿沉渣检查	( 89 )
方法一 非染色法尿沉渣镜检	( 89 )
方法二 染色法尿沉渣镜检	( 93 )
实验十一 1 小时尿有形成分排泄率试验	( 96 )
实验十二 尿液干化学分析仪的应用	( 97 )
实验十三 尿人绒毛膜促性腺激素检查	( 104 )
方法一 单克隆抗体胶体金法	( 104 )
方法二 双抗体夹心酶联免疫吸附试验	( 105 )
实验十四 乳糜尿定性试验	( 106 )
实验十五 尿含铁血黄素定性试验	( 107 )
实验十六 苯丙酮尿定性试验	( 108 )
实验十七 胱氨酸尿筛查试验	( 109 )
<b>第四章 排泄物与分泌物检查</b>	( 110 )
实验一 粪便外观和显微镜检查	( 110 )
(一) 粪便外观检查	( 110 )
(二) 显微镜检查	( 110 )
实验二 粪便隐血试验	( 112 )
方法一 邻联甲苯胺法	( 112 )
方法二 单克隆抗体胶体金法	( 113 )
实验三 精液常规检验	( 114 )
(一) 一般性状检查	( 114 )
(二) 精子活力检查	( 114 )
(三) 精子数量检查	( 114 )
(四) 精子及其他细胞形态检查	( 115 )
实验四 前列腺液常规检查	( 116 )

实验五 阴道分泌物检查.....	(117)
<b>第五章 体腔液检查.....</b>	<b>(120)</b>
实验一 脑脊液外观和显微镜检查.....	(120)
(一) 一般性状检查 .....	(120)
(二) 显微镜检查 .....	(120)
实验二 潘迪试验 (脑脊液蛋白质定性试验) .....	(122)
实验三 脑脊液蛋白质定量测定.....	(123)
实验四 脑脊液葡萄糖定量测定.....	(125)
实验五 脑脊液氯化物定量测定.....	(126)
实验六 浆膜腔积液外观和显微镜检查.....	(127)
(一) 一般性状检查 .....	(127)
(二) 显微镜检查 .....	(128)
实验七 李乏他试验 (浆膜腔积液粘蛋白定性试验) .....	(128)
实验八 浆膜腔积液蛋白质定量测定 (双缩脲法) .....	(129)
实验九 胃液检查.....	(130)
(一) 一般性状检查 .....	(131)
(二) 显微镜检查 .....	(131)
(三) 胃酸分泌量测定 (五肽胃泌素试验) .....	(132)
实验十 十二指肠引流液检查.....	(135)
(一) 一般性状检查 .....	(135)
(二) 显微镜检查 .....	(135)
实验十一 羊水泡沫试验.....	(137)
实验十二 羊水胆红素测定.....	(138)
<b>第六章 脱落细胞学检查.....</b>	<b>(140)</b>
实验一 脱落细胞基本染色方法.....	(140)
(一) 巴氏染色法 .....	(140)
(二) 苏木素-伊红染色法 .....	(141)
实验二 阴道脱落细胞检查.....	(142)
实验三 浆膜腔积液的脱落细胞检查.....	(144)
实验四 尿液脱落细胞检查.....	(146)



# 第一章 一般性操作技术

## 实验一 光学显微镜的应用和维护 (using and maintenance of microscope)

### 目的

进一步熟悉光学显微镜的原理，掌握如何使用与保养。

### 原理

当被观察物体置于物镜前的焦点稍远处时，物体反射的光线经物镜放大后成一倒立实像位于目镜前焦点附近，再经目镜放大呈倒立虚像位于观察者的明视距离（约250mm）处。

### 器材

光学显微镜、载物片（瑞-吉氏染色血涂片）、擦镜纸。

### 试剂

1. 香柏油。
2. 清洁液 乙醇:乙醚 = 3:7。

### 操作步骤

1. 准备 将光学显微镜放置在采光好的实验台上，避免振动。向上转动粗调螺旋至一定高度后，将载物片放于载物台上。

2. 调焦与低倍镜观察 将10×低倍物镜对准镜筒，转动粗调螺旋使物镜下降到快接触标本处后，选择平面反光镜的角度，调整聚光器的上下高度和光栅大小，使目视亮度适宜，再用细调螺旋上下调节焦点，使物像清晰。

低倍镜常用于全片浏览，观察标本的总体分布，对骨髓增生程度判定和对尿中管型、粪便中寄生虫等的检验。

3. 高倍镜观察 转换40×高倍物镜对准镜筒，一般不需重新调焦，仅调节细螺旋即可看到清晰物像。

高倍镜常用于血细胞计数、体腔液、排泄物和分泌物的观察。

4. 油镜观察 于瑞特-吉姆萨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。使油镜头（100×）对准镜筒，转动粗调螺旋使之降至与玻片轻轻接触，然后升高聚光镜使其与载物台平齐，将光栅放至最大，选择凹面反光镜调节角度，使射入光线最强。再转动粗调螺旋使物镜上升，待见到标本中物像后，调节细调螺旋使物像清晰，对标本进行顺序观察。

油镜最常用于血液、骨髓或脱落细胞标本的形态学观察和分类。

5. 收镜 显微镜使用完毕，取下载物片，用擦镜纸将油镜头揩干净（必要时可滴一滴清洁液于擦镜纸上）。用绸布擦拭镜身，将物镜转成“八”字形（勿使物镜与目镜相对），镜筒、聚光器下降至最低处，反光镜放水平位，以右手握镜臂，左手托镜座，轻轻放入显微镜箱内。

### 注意事项

1. 要培养良好的操作习惯，工作台与凳子高度要合适，坐姿端正，胸背挺直，两目睁开。单筒镜用左眼观察，双筒镜注意调好瞳距。
2. 使用螺旋时要注意，当对焦时以转动粗调螺旋为主，尽量少用细调螺旋，以延长机械系统的寿命。在转换高倍镜，特别是油镜观察时，切记粗调螺旋只能将镜头上移而不能下移，以免压碎载物片，碰坏镜头。
3. 香柏油折射率为 1.51525，与透镜折射率相近，能提高分辨率，注意用时不宜过多。用后要及时擦去，否则可引起显微镜损坏。如香柏油挥发变浓，可用二甲苯稀释。
4. 光学系统清洁，一般情况下可用洗耳球吹气、小毛刷刷除仪器表面的灰尘。当光学系统有污染时，可用擦镜纸蘸清洁液擦拭，如被尿、便等污染时可用棉签蘸 1% 氨水擦拭污染区。
5. 显微镜存放的环境条件应防震、防潮、防尘、防日晒、防温差过大。

## 实验二 血液标本的采集 (collection of blood)

### 方法一 毛细血管采血法

#### 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。

#### 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。

#### 器材

一次性消毒采血针、一次性微量吸管、试管、2ml 吸管、75% (V/V) 乙醇棉球、无菌干棉球。

#### 试剂

红细胞稀释液：见第二章实验一。

#### 标本来源

外周血。

#### 操作步骤 (以红细胞计数取血为例)

1. 准备 取试管一支，加入 2ml 红细胞稀释液。
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 75% 乙醇棉球擦拭采血部位，待干；否则血流出后会四处扩散而不成滴。
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 2~3mm，立即拔出采血针。
5. 擦去第一滴血 待血液自然流出后，用无菌干棉球擦去混有组织液的第一滴血。

6. 吸血 血液自然流出时,用一次性微量吸管吸血至 $10\mu\text{l}$ 刻度,然后用无菌干棉球压住伤口止血。如血流不畅,可以左手自采血部位远端向指尖稍施压力至血液流出为宜。切勿用力挤压,造成组织液混入,影响结果准确性。

7. 释放血液 以无菌干棉球擦净一次性微量吸管外部后,将吸管插入内有生理盐水的试管底部,慢慢排出吸管内的血液,并用上清冲洗管内的余血2~3次,将试管内的液体混匀。

### 注意事项

1. 所选择的采血部位应皮肤完整,不能有烧伤、冻疮、发绀、水肿或炎症。
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. 本试验因是有创性检查,故要严格按无菌技术操作。防止采血部位感染;做到一人一针,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(不擦第一滴血)、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数与分类;出血时间 Duke 法测定时,应另刺一针,且不能拭去第一滴血。
5. 如取血用于自动化血细胞分析仪,最好以无菌纸巾片擦血,以免棉球纤维混入,堵塞仪器。

### 方法学评价

毛细血管采血法操作方便,用血量少( $<0.1\text{ml}$ ),可满足对红细胞、白细胞、血小板及血红蛋白等的定量检查,但不能重复计数。由于毛细血管血可被组织液稀释,如操作不当可造成血细胞计数偏低。

以往曾采用耳垂取血,虽痛感较轻,适于反复采血,但因耳垂末梢血循环较差,血细胞易停滞,常造成红细胞、白细胞、血红蛋白和红细胞比积等的结果均比静脉血高,且严寒、暴热等情况下可造成计数值波动较大。手指采血虽痛感较强,但能获得较充沛的血量;该法结果比较恒定,与静脉血之间差异较小,是目前我国多数医院血细胞检验所采用的方法。如要获得更具代表性的血细胞检查结果,应首选静脉采血法。

## 方法二 静脉采血法

### 目的

掌握静脉采血法,熟悉无菌操作技术。

### 原理

注射器刺入浅静脉后,用负压吸取所需的血量。

### 器材

一次性消毒注射器、压脉带、垫枕、试管、消毒棉签。

### 试剂

1.  $30\text{g/L}$  碘酊。
2.  $75\%$  (V/V) 乙醇。
3.  $109\text{mmol/L}$  枸橼酸钠(见第二章实验九)。

操作步骤(以红细胞沉降率取血为例)

1. 准备抗凝管 取试管一支，加 109mmol/L 枸橼酸钠 0.4ml。
2. 检查注射器 打开一次性注射器包装，取下针头无菌帽，左手持针头下座；右手持针筒，将针头与针筒紧密连接，并使针头斜面对准针筒刻度；抽拉针栓检查有无阻塞和漏气。最后排尽注射器内的空气，套上针头无菌帽，备用。
3. 选择静脉 受检者取坐位，前臂水平伸直置于桌面枕垫上。暴露穿刺部位，选择容易固定，明显可见的肘前静脉。
4. 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% 乙醇棉球以同样方式脱碘，待干。
5. 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。
6. 穿刺 取下针头无菌帽，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，示指固定针头下座，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，然后成 5°角向前穿破静脉壁进入静脉腔。见回血后，将针头顺势深入少许，以免采血时针头滑出；但不可用力深刺，以免穿破静脉造成血肿。
7. 抽血 以右手固定注射器；左手松压脉带后，再缓缓抽动注射器内芯至所需血量（本实验为 1.6ml），请受检者松拳，用消毒干棉球压住穿刺孔，拔出针头。嘱受检者曲臂，继续按压针孔数分钟。
8. 放血与混匀 取下注射器针头，将血液沿管壁缓缓注入抗凝管中，防止溶血和泡沫产生。轻轻混匀抗凝血，盖紧试管塞备用。

#### 注意事项

1. 采血部位通常选择肘前静脉。当此处静脉不明显时，可采用手背、手腕、腘窝和外踝部静脉，幼儿可采用颈外静脉。
2. 肥胖型患者，如静脉暴露不明显，可以左手示指经碘酒、酒精消毒后，在受检者采血部位触摸，发现静脉走向后凭手感的方向与深度行试探性穿刺。
3. 抽血时切忌将注射器回推，以免注射器中气泡进入血管形成气栓，造成严重后果。
4. 采血过程中压脉带捆扎时间不应超过半分钟，否则可影响血液成分活性和含量的改变。故提倡消毒后扎压脉带或见回血后松压脉带。穿刺不顺利，损伤组织过多，抽血或放血速度过快，放血时未拔针头，抗凝血用力震荡混匀，注射器和容器不干燥等都可造成标本溶血。
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。
6. 不同检查项目可根据试验需要选择不同抗凝剂及与血液稀释比；无需抗凝时则将血液直接注入试管内。

#### 方法学评价

静脉采血法适用于用血量较多（>0.2ml）的检验项目。由于静脉血标本代表性大，且各项成分相对恒定，可反映病人整体状态，是临床最常用的检体标本，广泛用于各项生化、血液、免疫、微生物学检查。

目前静脉采血法广泛采用一次性注射器，现已有一部分医院使用一次性真空定量采血法。该法的整个操作过程可做到防止血液污染，采血量准确和多管取血，有利于自动化分析。

### 实验三 微量吸管的鉴定 (standardizing Sahli pipette)

#### 目的

掌握微量吸管的鉴定方法。

#### 方法一 水银称重法

#### 原理

通过水银在一定温度下体积与重量的恒定关系，来检查微量吸管标示的容积是否符合要求。

#### 器材

分析天平、微量吸管、温度计、表面皿、小毛刷。

#### 试剂

清洁的水银。

#### 操作步骤

1. 表面皿称重 将表面皿置分析天平上准确称重，并记录重量  $W_1$ 。
2. 水银测温 待汞温与室温平衡后，将温度计插入水银中记录温度。
3. 吸取水银 将待鉴定的微量吸管套上合适的橡皮帽，吸取水银达刻度处。注意管内不可有气泡使水银分段。用小毛刷将吸管外面粘附的水银刷净。
4. 水银称重 将吸管尖移至表面皿上，呈  $45^\circ$ 角放出吸管内水银，重新称重并记录  $W_2$ 。 $W_2 - W_1$  即为水银的重量。
5. 重复称重求均值 重复步骤 3、4 的操作两遍，将三次结果相加后求被鉴定吸管中水银重量的均值。
6. 吸管体积计算

$$\text{被鉴定吸管实际容量 (ml)} = \frac{\text{被鉴定吸管水银重量均值 (g)}}{\text{该温度下的水银比密 (g/ml)}}$$

$$\text{吸管的校正系数} = \frac{\text{被鉴定吸管标示容量}}{\text{被鉴定吸管实际容量}}$$

【例 1】 鉴定某  $20\mu\text{l}$  一次性微量吸管，吸至刻度处的水银平均重量为  $0.2750\text{g}$ 。水银测温为  $20^\circ\text{C}$ ，查表 1-1，水银比密为  $13.5462 (\text{g/ml})$ ，计算：

$$\text{被鉴定吸管实际容量 (ml)} = \frac{0.2750}{13.5462} = 0.02030 (\text{ml}) = 20.30 (\mu\text{l})$$

$$\text{吸管的校正系数} = \frac{20}{20.30} = 0.985$$

#### 7. 鉴定

$$\text{微量吸管的相对误差 (\%)} = \frac{\text{实测体积} - \text{标示体积}}{\text{标示体积}} \times 100\%$$

【例 2】 标示  $20\mu\text{l}$  的微量吸管实测体积为  $20.30\mu\text{l}$ ，求吸管的误差。

表 1-1 15~30℃ 水银比密

温度 (℃)	比密 (g/ml)	温度 (℃)	比密 (g/ml)
15	13.5585	23	13.5389
16	13.5561	24	13.5364
17	13.5536	25	13.5340
18	13.5512	26	13.5315
19	13.5487	27	13.5291
20	13.5462	28	13.5266
21	13.5438	29	13.5242
22	13.5413	30	13.5217

$$\text{微量吸管的相对误差 (\%)} = \frac{20.30 - 20}{20} \times 100\% = 1.5\%$$

根据卫生部临床检验中心要求, 20 $\mu$ l 微量吸管的允许误差为  $\pm 1\%$ , 在此范围内可以不予校正。若误差  $> \pm 1\%$ , 最好废弃不用, 否则应将每次测定结果乘以校正系数。

#### 注意事项

1. 用于校正用的水银必须洁净。如是新启封的 AR 级水银或经减压蒸馏的水银, 可直接应用。否则应做如下处理: 将水银用 2% 硝酸洗涤 3~4 次, 再用蒸馏水洗涤数次, 然后置 80℃ 左右的干燥箱内烘干, 于室温下冷却。

2. 所用分析天平必须经计量部门检定, 称量准确到小数点后四位。

3. 由于我国目前广泛采用一次性微量吸管进行血细胞检查, 不可能对每一根微量吸管一一鉴定, 其质量的检查应采取抽检的方式, 即从每一批购进的微量吸管中采用随机的原则至少抽样 50 支, 采用上法对所抽样品进行鉴定。凡微量吸管误差  $\leq$  允许误差 ( $\pm 1\%$ ) 者为合格, 否则为不合格。所抽样品中至少有 90% 以上是合格品, 其余不合格者的误差均在  $\pm 1\% \sim 2\%$ , 且所抽样品  $CV \leq 1\%$  时, 可认为这批微量吸管合格, 能用于临床。如不能满足要求, 可通过加倍抽样的方式复检, 加倍抽样后满足要求, 亦可使用; 如仍不能满足以上条件, 则不能使用。

#### 方法学评价

微量吸管属回洗式容量仪器, 采用经典的水银校正法最为准确, 但准备和操作比较麻烦。在对此类仪器鉴定时, 还有人采用纯水校正法, 纯水校正法与水银校正法操作相同, 且十分方便, 但由于水的比密不到水银的 1/13, 故在分析天平上称量时精确度要差很多。此外, 还有采用各种溶液比色法进行校准的, 由于校准过程中增加了加液、比色等环节, 可使误差大大增加。

### 方法二 氰化高铁血红蛋白比色法

#### 原理

用同一抗凝血在同一条件下对标准和待检微量吸管所吸血液进行氰化高铁血红蛋白测定。由于微量吸管的容量不同, 吸血量不同而致生成的氰化高铁血红蛋白量不同, 吸光度产生差异。氰化高铁血红蛋白吸光度和微量吸管体积成正比, 将待鉴定微量吸管和

标准微量吸管测得的吸光度进行比较，计算出相对误差，判断其容量是否合格。

### 器材

分光光度计、标准微量吸管（经水银称重法校准）、试管。

### 试剂

氰化高铁血红蛋白（HiCN）转化液（见第二章实验二）。

### 标本来源

肝素抗凝血。

### 操作步骤

1. 加转化液 标准微量吸管和待检微量吸管各做三个平行管，每管加 HiCN 转化液 5ml。

2. 加抗凝血 充分混匀抗凝血，分别用标准微量吸管和待检微量吸管吸血到 20 $\mu$ l 处，加入氰化高铁血红蛋白转化液中，反复冲洗吸管 3 次，混匀并计时。

3. 转化与测定 上述反应管放置 5min 后，以波长为 540nm，光径为 1cm，转化液做空白调零，读取各管吸光度。

#### 4. 计算

(1) 求出校准微量吸管和待检微量吸管所测三个吸光度的平均值  $A_{\text{校准}}$  和  $A_{\text{待检}}$ 。

(2) 用下式计算待鉴定微量吸管的平均吸光度相对误差。

$$\text{相对误差}(\%) = \frac{A_{\text{待检}} - A_{\text{校准}}}{A_{\text{校准}}} \times 100\%$$

5. 鉴定 相对误差  $\leq \pm 2\%$  为合格。

### 注意事项

1. 相对误差  $\leq \pm 2\%$  是用水银称重法鉴定合格的微量吸管按氰化高铁测定法要求鉴定后得出的数据。

2. 健康人抗凝血的血红蛋白量应在 120~150g/L 之间，贫血患者的血液因影响因素较多，故不宜采用。

3. 可用血红蛋白液代替抗凝血进行鉴定。

4. 标准微量吸管必须经过水银称重法校正。

### 方法学评价

与此类似的鉴定方法还有铁氰化钾溶液比色法。不同之处是在操作步骤 1 改为加蒸馏水 4ml，操作步骤 2 改为吸取 4% (W/V) 铁氰化钾溶液 20 $\mu$ l，操作步骤 3 改为溶液混匀后即刻以波长为 420nm，光径为 1cm，蒸馏水做空白调零，读取各管吸光度。

此类方法由于在鉴定过程中存在标本混匀、加液和比色等环节，故误差较水银称重法大；但由于所用试剂为临床常用试剂，操作简单，仍为一些实验室采用。

## 实验四 微量吸管的使用 (practice of using Sahli pipette)

### 目的

掌握微量吸管的吸液操作技术。

### 原理

挤压乳胶吸头使微量吸管产生负压而吸取液体。

### 器材

微量吸管、带孔乳胶吸头、试管、干棉球、2ml 吸管。

### 试剂

生理盐水、95% (V/V) 乙醇、乙醚、蒸馏水。

### 标本来源

抗凝血。

### 操作步骤

1. 准备吸管 将带孔乳胶吸头套在微量吸管上，注意二者连接处应严密不漏气。
2. 加稀释液 取试管一支，加生理盐水 2ml。
3. 持管吸血 右手拇指和中指夹住吸管与吸头交接处，示指盖住吸头小孔。三指轻微用力，排出适量的气体使管内形成一小小的负压。将管尖插入抗凝血，三指慢慢松劲，吸取抗凝血到所需刻度后抬起示指。注意管尖始终不要离开液面，以免吸入气泡；也不要用力过度，将血液吸入皮头。
4. 拭净余血 用干棉球顺吸管口方向拭净余血。
5. 释放血液 将吸管插入含生理盐水的试管底部，慢慢排出吸管内的血液，再用上清液冲洗管内余血 2~3 次。
6. 洗涤吸管 依次用蒸馏水洗净，95% (V/V) 乙醇脱水，乙醚干燥。如为一次性微量吸管，可省略该步骤。

### 注意事项

操作步骤 3 需反复练习才能体会到适当的力度。

### 方法学评价

该方法是常规血细胞分析的第一步，因是手工操作，有很多因素影响检验结果的准确性和精确度，如一次性吸管的质量、操作者的技术熟练程度和责任心等。应用全自动化的血细胞分析仪时这一步将完全被机器取代，也势必克服手工操作的不足。

## 实验五 改良牛鲍计数板的鉴定与使用

(evaluation and using Neubauer hemocytometer)

### 目的

掌握血细胞计数板的使用方法。

### 原理

一定倍数稀释的血液或体液，混匀后滴入具有固定体积和精密分划刻度的血细胞计数板中，在显微镜下对所选择方格中的细胞进行计数，再乘以稀释倍数，即可换算成单位体积内的细胞数。

### 器材

改良牛鲍 (Neubauer) 计数板、光学显微镜、绸布、微量吸管、吸管、试管、小玻璃棒。

改良牛鲍计数板为优质厚玻璃制成。每块计数板由“H”型凹槽分为两个同样的计数池。计数池两侧各有一条支持堤，比计数池平面高出 0.10mm。将特制的专用盖玻片



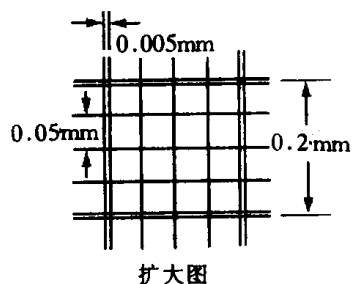
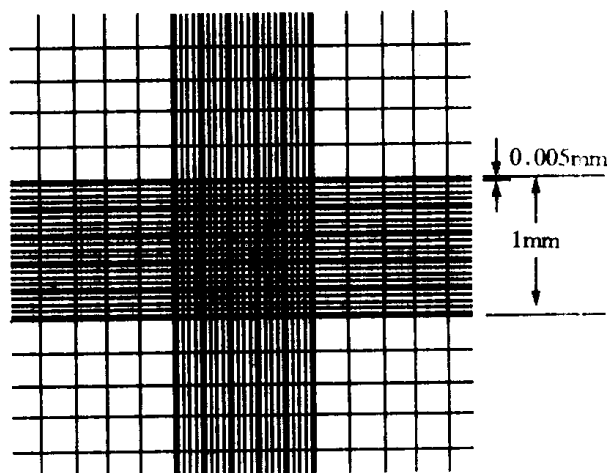
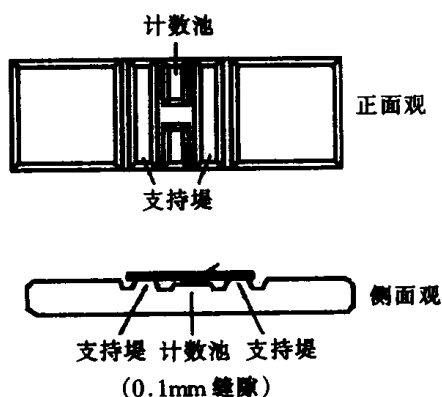


图 1-1 改良牛鲍计数板

覆盖其上，形成高 0.100mm 的计数池（图 1-1）。计数池长、宽各 3.00mm，平均分为 9 个大格，每个大格面积为  $1.0\text{mm}^2$ ，容积为  $0.1\text{mm}^3$  ( $\mu\text{l}$ )。在这 9 个大格中，中央大方格用双线分成 25 个中方格，其中位于正中及四角的这五个中方格是红细胞和血小板计数区。每个中方格又用单线分为 16 个小方格，便于计数。位于四角的四个大方格是白细胞计数区，它们分别用单线划分为 16 个中方格，便于计数（图 1-2）。

### 试剂

1. 红细胞稀释液（见第二章实验一）。
2. 白细胞稀释液（见第二章实验十）。

### 标本来源

抗凝血。

### 操作步骤

1. 改良牛鲍计数板的校正

(1) 计数池刻度：用校准的目镜测微计测定计数池大方格每边长度。其允许误差应在  $\pm 1\%$  ( $\pm 10\mu\text{m}$ ) 以内。

(2) 盖玻片平整性：取规格为  $24.0\text{mm} \times 20.0\text{mm} \times 0.6\text{mm}$ 、正面平滑、侧面呈直

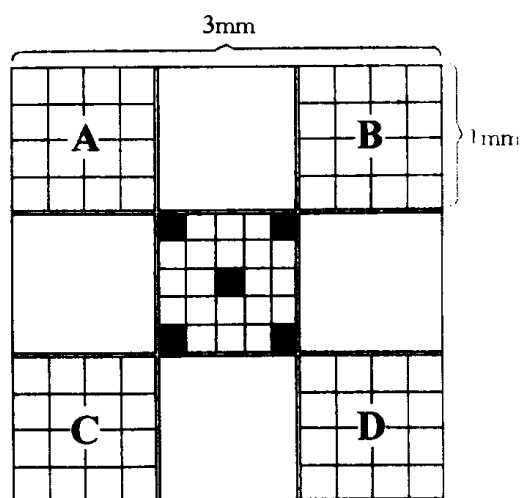


图 1-2 血细胞计数区