

临床医学检验学与技术（中级） 应试指导及历年考点串讲

总主编◎丁 震

主 编◎刘新光 孟庆勇 侯 敢

原军
医版

原人民军医出版社考试中心丁震主任策划编写
自2009年出版以来已连续畅销9年
2018年修订、更新了部分过时内容

增值服务

购买正版图书可凭下方的卡号
和密码登录www.dzyxedu.com
登录后可获得1套网络模拟试卷



北京航空航天大学出版社
BEIHANG UNIVERSITY PRESS





丁震医学教育
www.dzyxedu.com

系列考试丛书

2018

临床医学检验学与技术（中级） 应试指导及历年考点串讲

LINCHUANG YIXUE JIANYANXUE YU JISHU (ZHONGJI)
YINGSHI ZHIDAO JI LINIAN KAODIAN CHUANJIANG

总主编 丁 震

主 编 刘新光 孟庆勇 侯 敢

副主编 陈章权 阮 杰 林满华 陈军剑

编 者（以姓氏笔画为序）

马 丽	王志勇	王 欣	王翠霞	王 巍
吕世静	刘新光	阮 杰	李江滨	李育超
李瑞曦	杨志刚	杨维青	肖德乾	吴显劲
吴斌华	何庆丰	余路新	张 华	陈亚芹
陈军剑	陈章权	林满华	欧超伟	郑碧英
孟庆勇	侯 敢	袁汉尧	徐军发	黄日安
梁 一	梁爱玲	谢朝阳	蔡静怡	



北京航空航天大学出版社
BEIHANG UNIVERSITY PRESS

内 容 简 介

本书是全国卫生专业技术资格(中初级)临床医学检验学(中级)及临床医学检验技术(中级)考试的复习指导教材。全书按照大纲要求,在分析历年数千道考试题、认真总结考试命题规律的基础上精心编写而成。共分为6个部分,分别是临床检验基础、临床血液学检验、临床化学、临床免疫学和免疫学检验、微生物学和微生物检验及临床实验室质量管理。在每节之后,对历年考试的命题点作了详细串讲。编写精炼且紧扣历年命题重点是本书的突出特点,使考生能够更准确地把握考试的方向和细节,提高复习效率。与本书配套出版的还有临床医学检验技术(中级)的模拟试卷。

图书在版编目(CIP)数据

2018 临床医学检验学与技术(中级)应试指导及历年考点串讲 / 刘新光, 孟庆勇, 侯敢主编. —北京: 北京航空航天大学出版社, 2017.10

(丁震医学教育系列考试丛书)

ISBN 978-7-5124-2547-7

I. ①2… II. ①刘… ②孟… ③侯… III. ①临床医学-医学检验-资格考试-自学参考资料 IV. ①R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 248920 号

版权所有, 侵权必究。

2018 临床医学检验学与技术(中级)应试指导及历年考点串讲

丁 震 总主编

刘新光 孟庆勇 侯 敢 主 编

责任编辑: 张小利

*

北京航空航天大学出版社出版发行

北京市海淀区学院路 37 号(邮编 100191) <http://www.buaapress.com.cn>

发行部电话: (010) 82317024 传真: (010) 82328026

读者信箱: yxbook@buaacm.com.cn 邮购电话: (010) 82316936

三河市华骏印务包装有限公司印装 各地书店经销

*

开本: 787×1092 1/16 印张: 36.5 字数: 864 千字

2017 年 10 月第 1 版 2017 年 10 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5124-2547-7 定价: 88.00 元

前言

全国卫生专业技术资格（中初级）以考代评工作从 2001 年开始正式实施，参加并通过考试是单位评聘相应技术职称的必要依据。目前，除原初级护士并轨、独立为全国护士执业资格考试外，全国卫生专业技术资格（中初级）考试涵盖了医、护、药、技、中医等 118 个专业。考试涉及的知识范围广，有一定难度，考生对应考复习资料的需求较强烈。

2009 年由我提出策划方案，组织全国数百名作者参与编写的全国卫生专业技术资格考试及护士执业资格考试丛书在人民军医出版社出版，共 50 余本，涵盖护士、护师、护理中级、药学、检验、临床医学内外妇儿及其亚专业等上百个考试专业。由于应试指导教材精练、准确；模拟试卷贴近考试方向、命中率高，已连续畅销 9 年，深受全国考生认可。

在图书畅销的同时，我和编写本套丛书的作者团队却感到深深的无奈，因为我们发现，市场上有相当比例的同类考试书和一些培训机构的网上试题都在抄袭我们的创作成果，有些抄袭的试题顺序都没有变。而市场上盗印、冒用“军医版”图书的情况更加严重，由我策划编著的“护考急救包”、“单科一次过”等经典考试图书目前已有多个冒用版本在销售，使考生难辨李逵和李鬼。这些侵权、盗印、冒用出版物的质量粗劣，欺骗、误导考生，使原创作者和读者两方的利益都受到严重侵害！

因此，请考生一定认清，丁震是原人民军医出版社考试中心主任，原军医版的护士、护师、护理中级及药学、检验、临床等职称考试图书均为丁震策划编写。人民军医出版社已从 2017 年后停止出版护理类及医学职称考试图书，丁震与原班作者队伍继续修订和出版本套考试图书，只有丁震编著的护理类或担任总主编的职称考试图书为原军医版的合法延续，目前市场上其他众多的“军医版”、“护考急救包”及“单科一次过”等考试图书均属冒用、盗印或侵权行为，我和我的作者团队将保留追究其法律责任的权利！

为了使本套考试书已经形成的出版价值得到进一步延续和提升，更好地为全国考生服务，2018 年，由我编著的 24 本护理类考试图书和我担任总主编的 31 本卫生专业技术资格（中初级）考试图书全部授权北京航空航天大学出版社独家出版。

今年，我们对药学、临床医学检验、内科、外科、妇产科等专业的应试指导教材和模拟试卷作了较大幅度修订，删去了部分过时的考点、题型和试题，又增加了近几年考试的新题，多数试卷更换试题的比例达到 30% 以上。

31 本卫生专业技术资格（中初级）考试图书主要包括应试指导及历年考点串讲（9 本）、模拟试卷及解析（20 本）两个系列，另外还有考前冲刺必做 2 本。相同考试专业的应试指导教材和模拟试卷在编写时充分考虑到考点和试题内容的衔接，建议考生配套购买，提高复习效率。

由于编写和出版的时间紧、任务重，书中如仍有不足，请广大考生批评指正。

总主编 丁 震

2017 年 10 月于北京

目 录

第 1 章 临床检验基础	1
第 1 节 血液样本采集和血涂片制备	1
第 2 节 红细胞检查	6
第 3 节 白细胞检查	17
第 4 节 血液分析仪及其临床应用	23
第 5 节 血型和输血	28
第 6 节 尿液生成和标本采集及处理	35
第 7 节 尿理学检验	38
第 8 节 尿有形成分检查	42
第 9 节 尿液化学检查	50
第 10 节 尿液分析仪及其临床应用	62
第 11 节 粪便检验	68
第 12 节 脑脊液检验	73
第 13 节 浆膜腔积液检验	80
第 14 节 精液检查	86
第 15 节 前列腺液检查	90
第 16 节 阴道分泌物检查	91
第 17 节 羊水检查	93
第 18 节 痰液与支气管灌洗液检验	97
第 19 节 胃液和十二指肠引流液检验	100
第 20 节 脱落细胞检查	103
第 2 章 临床血液学检验	115
第 1 节 绪论	115
第 2 节 造血与血细胞分化发育	115
第 3 节 骨髓细胞学检查的临床意义	119
第 4 节 常用血细胞化学染色的临床应用	126

第 5 节	血细胞超微结构检查的临床应用	131
第 6 节	血细胞染色体检查的临床应用	134
第 7 节	贫血概述	136
第 8 节	溶血性贫血的实验诊断	139
第 9 节	红细胞膜缺陷性贫血及其实验诊断	143
第 10 节	红细胞酶缺陷性贫血及其实验诊断	146
第 11 节	血红蛋白异常所致的贫血及其实验诊断	148
第 12 节	自身免疫性溶血性贫血及其实验诊断	152
第 13 节	铁代谢障碍性贫血及其实验诊断	154
第 14 节	脱氧核苷酸合成障碍性贫血及其实验诊断	158
第 15 节	造血功能障碍性贫血及其实验诊断	160
第 16 节	白血病概述	163
第 17 节	急性淋巴细胞白血病及其实验诊断	167
第 18 节	急性髓细胞白血病	168
第 19 节	慢性白血病及其诊断	174
第 20 节	特殊类型白血病及其实验诊断	177
第 21 节	骨髓增生异常综合征及其实验诊断	180
第 22 节	恶性淋巴瘤及其实验诊断	182
第 23 节	浆细胞病及其实验诊断	184
第 24 节	骨髓增殖性肿瘤及其实验诊断	187
第 25 节	恶性组织细胞病及其实验诊断	191
第 26 节	其他白细胞疾病及其实验诊断	192
第 27 节	类脂质沉积病及其实验诊断	194
第 28 节	血栓与止血检验的基础理论	195
第 29 节	血栓与止血检验的基本方法	203
第 30 节	常见出血性疾病的实验诊断	220
第 31 节	常见血栓性疾病的实验诊断	227
第 32 节	抗凝与溶栓治疗的实验室监测	229
第 33 节	出凝血试验的自动化	231
第 3 章	临床化学	232
第 1 节	绪论	232
第 2 节	糖代谢紊乱及糖尿病的检查	233
第 3 节	脂代谢及高脂蛋白血症	244

第 4 节 血浆蛋白质检查	253
第 5 节 诊断酶学	258
第 6 节 体液平衡紊乱及其检查	264
第 7 节 钙、磷、镁代谢与微量元素	272
第 8 节 治疗药物监测	276
第 9 节 心肌损伤的生化标志物	281
第 10 节 肝胆疾病的实验室检查	284
第 11 节 肾功能及早期肾损伤的检查	290
第 12 节 胰腺疾病的检查	295
第 13 节 内分泌疾病的检查	298
第 14 节 临床化学常用分析技术	303
第 15 节 临床化学自动分析仪	308
第 4 章 临床免疫学和免疫学检验	310
第 1 节 免疫学概论	310
第 2 节 抗原抗体反应	324
第 3 节 免疫原及抗血清制备	327
第 4 节 单克隆抗体	329
第 5 节 凝集反应	332
第 6 节 沉淀反应	335
第 7 节 免疫电泳技术	337
第 8 节 放射免疫分析和免疫放射分析	339
第 9 节 荧光免疫技术	341
第 10 节 酶免疫技术	344
第 11 节 生物素 - 亲和素免疫放大技术	347
第 12 节 免疫组织化学技术	350
第 13 节 免疫细胞分离检测技术	353
第 14 节 吞噬细胞功能检测及应用	357
第 15 节 细胞因子测定及应用	358
第 16 节 细胞黏附分子测定及应用	360
第 17 节 免疫球蛋白检测及应用	361
第 18 节 循环免疫复合物检测及应用	364
第 19 节 补体检测及应用	365
第 20 节 自身抗体检测及应用	368

第 21 节	MHC 与 HLA 检测及应用	371
第 22 节	流式细胞仪分析技术及应用	374
第 23 节	免疫自动化仪器分析	376
第 24 节	免疫学检验的质量管理	380
第 25 节	超敏反应性疾病及其免疫检测	381
第 26 节	自身免疫性疾病及其免疫检测	386
第 27 节	免疫增殖性疾病及其免疫检测	390
第 28 节	免疫缺陷性疾病及其免疫检测	393
第 29 节	肿瘤免疫及其免疫检测	397
第 30 节	移植免疫及其免疫检测	400
第 5 章	微生物学和微生物学检验	404
第 1 节	绪论	404
第 2 节	细菌的形态与结构	406
第 3 节	细菌的生理	408
第 4 节	细菌的分布	411
第 5 节	外界因素对细菌的影响	412
第 6 节	细菌的遗传与变异	415
第 7 节	微生物的致病性与感染	418
第 8 节	细菌的分类与命名	424
第 9 节	微生物学检验概述	426
第 10 节	细菌形态学检查法	430
第 11 节	培养基	432
第 12 节	细菌的培养与分离技术	434
第 13 节	细菌的生物化学试验	437
第 14 节	血清学试验	442
第 15 节	动物实验	443
第 16 节	菌种保存与管理	444
第 17 节	微生物商品化、自动化检验	445
第 18 节	病原性球菌及检验	446
第 19 节	肠杆菌科及检验	449
第 20 节	弧菌科及检验	457
第 21 节	弯曲菌属和幽门螺杆菌及检验	460
第 22 节	厌氧性细菌及检验	461

第 23 节	需氧或兼性厌氧革兰阳性杆菌及检验	467
第 24 节	分枝杆菌属及检验	469
第 25 节	非发酵菌及检验	471
第 26 节	其他革兰阴性杆菌及检验	473
第 27 节	衣原体及检验	474
第 28 节	立克次体及检验	476
第 29 节	支原体及检验	478
第 30 节	病原性放线菌及检验	480
第 31 节	螺旋体及检验	482
第 32 节	病毒感染的实验诊断	485
第 33 节	真菌检验	498
第 34 节	临床标本微生物学检验概述	503
第 35 节	细菌对药物的敏感试验	507
第 36 节	医院感染	514
第 37 节	临床细菌检验的质量控制与实验室安全防护	516
第 6 章	临床实验室质量管理	520
第 1 节	临床实验室的定义、作用和功能	520
第 2 节	临床实验室管理特性	521
第 3 节	临床实验室管理过程	522
第 4 节	临床实验室管理的政府行为	523
第 5 节	临床实验室认可	524
第 6 节	临床实验室质量管理概论	526
第 7 节	临床实验室质量管理体系	530
第 8 节	质量管理文件编写	532
第 9 节	分析前质量保证	535
第 10 节	临床实验室检测系统、溯源及不确定度	538
第 11 节	临床检验方法评价	549
第 12 节	室内质量控制	558
第 13 节	室间质量评价	566
第 14 节	分析后质量保证	569

第1章 临床检验基础

第1节 血液样本采集和血涂片制备

一、血液生理概要

1. 血液的组成及应用 血液由血细胞（红细胞、白细胞、血小板）和血浆组成。血液离体自然凝固而分离出的淡黄色透明液体称为血清，适用于临床化学和临床免疫学检查。血液抗凝离心后除去细胞成分后的液体即为血浆，用于内分泌激素测定及生物化学成分检查。血浆中含有全部凝血因子，适合于血栓与止血功能检查。血清与血浆相比，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。

2. 血液的理化性质

(1) 血量：正常人血量约为 (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%。但女性妊娠期间血量可增加 23% ~ 25%。小儿血量与体重之比略高于成人，男性比女性血量稍多。

(2) 颜色：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。

(3) 酸碱度：正常血液 pH 为 7.35 ~ 7.45。

(4) 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（比重）为 1.025 ~ 1.030。血细胞比密约为 1.090。

(5) 血浆渗透压：正常人为 290 ~ 310mOsm/ (kg · H₂O)。

3. 血液的特性

(1) 细胞的悬浮稳定性：正常人血液中红细胞呈均匀混悬状态，红细胞的悬浮状态与红细胞膜表面的唾液酸根、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；血浆黏度为生理盐水的 1.6 倍。血液黏度与血细胞比容和血浆黏度有关，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。另外血管内壁和血流动力学亦可影响血液黏度。

(3) 凝固性：血液离开血管后，数分钟内便自行凝固，是凝血因子激活的结果。

4. 血液的生理功能

(1) 运输功能：血液可将氧气和各种营养成分运送到全身各个组织和器官，同时将各种代谢产物通过血液输送到肺、肾等器官排出体外。

(2) 调节功能：将各种激素、酶类运到相关组织器官，以调节全身各组织器官的活动。

(3) 维护机体内环境稳定：通过血液循环维持体内水电解质平衡、酸碱平衡、体温恒定。

(4) 防御功能: 血液中白细胞、抗体、补体、细胞因子具有强大的免疫功能, 血小板、凝血因子具有止血和凝血作用。

二、采血方法

1. 皮肤采血法

(1) 概述: 皮肤采血法又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全血, 含细胞间质和细胞内液。采血部位通常为耳垂或手指, 但手指采血比耳垂采血检测结果稳定, 主要由于耳垂循环较差, 受气温影响较大, 红细胞、血红蛋白的测定结果比手指血高, 一般情况下不宜使用。由于手指采血操作方便, 检查结果比较恒定, 世界卫生组织 (WHO) 推荐血常规检查采集左手无名指指腹内侧血液, 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。

(2) 操作方法和注意事项: 采血部位皮肤完整, 无烧伤、冻疮、发绀、水肿或炎症等。严格无菌操作, 做到一人一针一管, 避免交叉感染。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。采血时, 先按摩采血部位, 使局部组织自然充血。针刺深度 2 ~ 3mm。因第 1 滴血混有组织液, 应擦去。切勿用力挤压, 以免组织液混入, 影响结果的准确性。一次要进行多项检查时, 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、血型鉴定等。

2. 静脉采血法

(1) 普通静脉采血

1) 概述: 静脉采血部位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。小儿必要时可从颈外静脉采血, 但操作有危险性, 少用为宜。

2) 操作方法和注意事项: 采血前应向患者耐心解释, 以消除疑虑和恐惧心理。检查注射器是否安装牢固, 针头是否锐利、光滑、通气, 针筒是否漏气。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。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, 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° 斜行快速刺入皮肤, 然后以 5° 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, 注意不可用力深刺, 以免造成血肿, 同时立即去掉压脉带。但抽血针栓只能外抽, 不能内推, 以免静脉内注入空气形成气栓, 造成严重后果。最后取下注射器针头, 将血液沿试管壁缓缓注入抗凝管中, 防止溶血和泡沫产生。

(2) 真空采血法

1) 概述: 真空采血法又称为负压采血法。真空采血装置有套筒式、头皮静脉式两种。主要原理是将有胶塞头盖的采血管抽成不同的真空度, 连接针头和软导管或针筒组成全封闭的真空采血系统, 实现自动定量采血。此种封闭式采血无需容器之间的血样转移, 减少了标本溶血和污染机会, 能有效保护血液成分, 使检验结果更可靠。各种真空定量采血容器, 根据需要标有不同的色码, 适于不同检验项目。

2) 注意事项: 采血前检查盖塞, 切勿松动采血试管的盖塞, 防止采血量的不准确。

3. 动脉采血 方法同静脉法,但采用的血管为动脉,常用桡动脉、股动脉、肱动脉。采血时动脉血管可触及搏动,由于动脉血压力高能自动流入针筒,采血毕应注意压迫止血,防止血肿。

4. 方法学评价

(1) 皮肤采血:价廉、快速、操作简便,但易于溶血、凝血、混入组织液,采集标本量少,限制了重复试验和追加试验,结果重复性差。

(2) 静脉采血:标本代表性大,无组织液影响,适用于临床研究,可重复试验和追加其他试验。其中封闭式真空采血法的操作规范,样本能自动定量采集,运送和保存方便,能有效地防止院内血源性传染,而普通静脉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。静脉采血由于使用不同抗凝剂,可改变血液性质,影响部分有形成分的形态。

(3) 动脉采血:操作技术要求较高,危险性大,一般情况下不宜采用。

5. 质量控制

(1) 患者的生理状态和饮食的影响: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。

(2) 采血操作对检验结果的影响:采血时间、部位、体位、止血带结扎时间(小于1分钟)、输液、溶血等。

(3) 样本运输、保存和处理。

三、抗凝剂的选择

1. 基本概念 抗凝指用物理或化学方法除去血液中某些凝血因子或抑制其活性,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。

2. 常用的抗凝剂

(1) 乙二胺四乙酸(EDTA)盐:常用的有钠盐($\text{EDTA-Na}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$)或钾盐($\text{EDTA-K}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$),均能与血液中钙离子结合成螯合物,使 Ca^{2+} 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,血细胞计数的抗凝剂为EDTA- K_2 ,其用量为 $\text{EDTA-K}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.5 ~ 2.2mg/ml 血液。由于EDTA影响血小板聚集功能,不适于凝血检查、血小板功能试验。

(2) 草酸盐: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 Ca^{2+} 失去凝血作用。2mg草酸盐可抗凝1ml血液。但对V因子及PT测定有影响,不适于凝血检查。草酸钾/钠盐易使血细胞脱水皱缩,而铵盐又可使血细胞膨胀,可选用按比例配制的双草酸(Na^+/K^+ 和 NH_4^+)来克服以上缺点。标本中如加入高浓度的草酸盐抗凝剂,可引起溶血和血液pH改变,干扰 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 的测定。

(3) 肝素:可加强抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)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。肝素是血气分析和红细胞渗透脆性试验的理想抗凝剂。但不适于细胞形态学检查。抗凝每毫升血液肝素用量为 (15 ± 2.5) IU,多为肝素钠盐或钾盐。

(4) 枸橼酸盐: 常用有枸橼酸钠, 能与血液中钙离子结合形成螯合物, 阻止血液凝固。枸橼酸钠与血液的抗凝比例为 1 : 9 或 1 : 4。适用于凝血检查, 红细胞沉降率检查, 是输血保养液的主要抗凝成分。

(5) 促凝剂和分离胶: 促凝剂能激活凝血蛋白酶, 加速血液凝固, 缩短血清分离时间。分离胶能在血清和血细胞间形成分离胶隔层达到分离血细胞和血清的目的。

四、血涂片的制备

1. 载玻片要求 制备血涂片的载玻片应清洁、干燥、中性、无油渍。新的载玻片常带有游离碱质, 需用 1mol/L HCl 清洗。

2. 血涂片的制备

(1) 手工推片法: 包括临床广泛应用的薄血膜法和用于疟原虫和微丝蚴检查的厚血膜法。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, 两侧留有一定空隙。

(2) 棕黄层涂片法 (抗凝标本的有核细胞层涂片): 主要适用于白细胞减少患者的白细胞分类计数、红斑狼疮细胞检查等。

(3) 仪器自动涂片法: 主要用于自动化血液分析仪。

3. 质量控制 ①玻片中性、清洁。②制片头、体、尾分明, 细胞分布均匀, 边缘整齐, 两侧留空隙, 厚薄适宜。③染色良好, 血涂片应在 1 小时内完成染色。④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, 可获得满意结果; 血细胞比容降低, 血液较稀时, 应采用大血滴、大角度、快推。

4. 方法评价 手工推片法用血量少、操作简单, 是临床上应用最广泛的方法。抗凝标本离心后取细胞灰白层或棕黄层涂片法可提高有核细胞的阳性检出率。疟原虫、微丝蚴等检查可采用厚血膜涂片法, 但肝素等抗凝剂可影响细胞形态, 分类计数应注意。

五、细胞染色

1. 瑞氏染色

(1) 瑞氏染料组成: 将碱性染料亚甲蓝与酸性染料伊红溶于甲醇。

(2) 原理: 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, 细胞染色通过物理的吸附, 化学的亲和作用, 使细胞成分染成不同颜色。

(3) 影响因素: 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 (最适 pH 为 6.4 ~ 6.8) 而定。在偏酸性环境中 ($\text{pH} < \text{pI}$) 蛋白质带正电荷增多, 易与伊红结合, 细胞染色偏红; 在偏碱性环境中 ($\text{pH} > \text{pI}$) 蛋白质带负电荷增多, 易与亚甲蓝结合, 细胞染色偏蓝。总之细胞染色深浅与染液 pH、细胞数量、血膜厚度、染色时间、染液浓度密切相关。

2. 吉姆萨染色

(1) 染色组成: 吉姆萨染液由天青、伊红、甲醇和纯甘油组成。

(2) 染色原理: 与瑞氏染色基本相同。

(3) 注意事项: 血片需先用甲醇固定 3 ~ 5 分钟。吉姆萨染液染色前, 用磷酸盐缓冲液 (pH 6.4 ~ 6.8) 稀释吉姆萨染液 10 ~ 20 倍, 浸染 10 ~ 30 分钟。

3. 细胞染色的质量控制 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。染色过深纠正方法是用甲醇和瑞氏染液适当的脱色, 或者缩短染色时间、稀释染液、调节 pH; 染色过浅纠正方法是复染、延长染色时间、调节 pH。

4. 细胞染色的方法评价 瑞氏染色法是最常用、最经典的细胞染色方法, 尤其对于细胞质成分和中性颗粒染色效果好, 但对细胞核和寄生虫的着色能力略差, 不如吉姆萨染液。采用瑞氏 - 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。

历年考点串讲

血液样本采集和血涂片制备是重点复习。为历年常考内容, 近几年来考试频率较高。

其中, 血标本采集、抗凝剂选择、血涂片制备、细胞染色及质量控制是考试的重点, 应熟练掌握。

常考的细节有:

1. 血液的组成: 血液由血细胞和血浆组成, 血清与血浆相比, 血清缺少某些凝血因子。

2. 血液样本采集: 按采血部位分为皮肤采血法、静脉采血法、动脉采血法; 按采血方式又分为普通采血和真空采血。世界卫生组织 (WHO) 推荐成人血常规检查应采集左手无名指指腹内侧血液, 婴幼儿可采集大脚趾或足跟内外侧缘血液。血液标本采集严格无菌操作, 针刺深度 2 ~ 3mm。应弃去第 1 滴血, 切勿用力挤压, 血小板计数采血优先。成人静脉采血部位为肘部静脉。真空采血符合分析前质量控制要求, 临床上普及应用。

3. 抗凝剂应用: 血细胞计数的抗凝剂为 EDTA- K_2 , 但不适于凝血检查和血小板功能试验, EDTA- K_2 溶解度大于 EDTA- Na_2 。红细胞沉降率、凝血试验, 输血保养液的抗凝剂为枸橼酸钠, 肝素是血气分析和红细胞透渗脆性试验的理想抗凝剂。促凝剂适于急诊生化检验。

4. 合格的血涂片具备的特点: 制片头、体、尾分明, 细胞分布均匀, 边缘整齐, 两侧留空隙, 厚薄适宜。

5. 细胞染色: 瑞氏染料由碱性亚甲蓝、酸性伊红、甲醇组成。通过物理的吸附, 化学的亲合作用, 使细胞成分染成不同颜色。瑞氏染液中甲醇起固定和溶剂双重作

用。染色最适 pH 为 6.4 ~ 6.8。在偏酸性环境中 ($\text{pH} < \text{pI}$) 蛋白质带正电荷增多, 易与伊红结合, 染色偏红; 在碱性环境中 ($\text{PH} > \text{pI}$) 蛋白质带负电荷增多, 易与亚甲蓝结合, 染色偏蓝。

6. 方法评价: 瑞氏染色法是最常用、最经典的细胞染色方法, 尤其对于细胞质成分、中性颗粒染色效果好, 而吉姆萨染色法对细胞核和寄生虫的着色较好。

(马 丽)

第 2 节 红细胞检查

一、概述

1. 红细胞生理

(1) 红细胞的生成: ①红细胞是血液中数量最多的有形成分。②起源于骨髓造血干细胞。③从造血干细胞分化发育到网织红细胞在骨髓中进行, 约需 72 小时。④在骨髓或血液中, 网织红细胞到成熟红细胞约需 48 小时。⑤成熟红细胞平均寿命约 120 天。⑥衰老红细胞主要在脾破坏, 分解为铁、珠蛋白和胆红素。

(2) 红细胞的生理功能: ①通过血红蛋白实现其生理功能; ②具有交换和携带气体的功能。

2. 血红蛋白的分子结构和特点

(1) 结构: 血红蛋白 (Hb) 是由两对珠蛋白肽链和 4 个亚铁血红素构成的。①珠蛋白, 由 4 条肽链 (α 、 β 链) 组成。②亚铁血红素, 由原卟啉、铁组成。

(2) 特点: ①正常情况下, 99% Hb 为还原 Hb (HbA), 1% 为高铁 Hb (HbF)。②只有 Fe^{2+} 状态的 Hb 才能与氧结合, 称为氧合血红蛋白。③在人体生长各期, Hb 的种类与比例不同。出生后 3 个月, HbA 占 95% 以上, 而 HbF 降至 1% 以下。④血红蛋白的合成受红细胞生成素、雄激素的调节。⑤血红蛋白相对分子质量为 64 458。⑥血红蛋白降解产物为珠蛋白、血红素。珠蛋白被分解后, 再参与蛋白质、多肽合成或转变成含氮物质; 血红素中铁由单核 - 吞噬细胞系统处理, 与运铁蛋白结合进入铁代谢库。

二、红细胞计数

1. 检测原理

(1) 手工显微镜法: 用等渗稀释液将血液稀释一定倍数, 充入血细胞计数池, 在显微镜下计数一定体积内的红细胞数, 经换算求出每升血液中红细胞数量。

(2) 血液分析仪法: 用电阻抗和 (或) 光散射原理。

2. 方法学评价

(1) 手工显微镜法: 不需要特殊设备, 但操作复杂、费时。但可用于白细胞减少或血小板减少的情况, 受小红细胞干扰的血小板计数结果的校正。

(2) 血液分析仪法: 比手工法精确 (如电阻抗计数法的变异系数为 2%, 手工法则大

于11%)。当白细胞数量明显增高时,会干扰红细胞计数和体积测定而产生误差。

3. 质量控制

(1) 手工法误差原因:①样本,血液发生凝固。②操作,稀释、充池、计数不规范。③器材,微量吸管、计数板不标准。④固有误差(计数域误差)。

(2) 仪器法:仪器应严格按照规程操作,并定期进行室内和室间质控。

4. 参考值

(1) 参考值:成年男性 $(4 \sim 5.5) \times 10^{12}/L$;成年女性 $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/L$;新生儿 $(6.0 \sim 7.0) \times 10^{12}/L$ 。

(2) 医学决定水平:高于 $6.8 \times 10^{12}/L$,应采取治疗措施;低于参考值下限,为诊断贫血界限,应寻找病因;低于 $1.5 \times 10^{12}/L$,应考虑输血。

5. 临床意义

(1) 生理性变化:①年龄与性别的差异。②精神因素。③剧烈体力运动和劳动。④气压减低。⑤妊娠和老年人。

(2) 各种原因的贫血:①急性、慢性红细胞丢失过多。②红细胞寿命缩短。③造血原料不足。④骨髓造血功能减退。

(3) 红细胞增多:①原发性红细胞增多;②继发性红细胞增多;③相对性红细胞增多。

6. 操作方法 2ml 红细胞稀释液中加血 10 μ l,混匀后,充入计数板计数池,静置 3~5 分钟后,在高倍镜下,计数中央大方格内正中及四角的 5 个中方格内的红细胞数。

$$\text{红细胞}/L = \frac{N \times 25/5 \times 10 \times 10^6 \times 200}{1} = N \times 10^{10} = N/100 \times 10^{12}.$$

(N:5 个中方格内的红细胞数)

三、血红蛋白测定

1. 检测原理

(1) 氰化高铁血红蛋白(HiCN)测定法:HiCN 法是目前国际推荐测定血红蛋白的方法。血液中除硫化血红蛋白(SHb)外的各种 Hb 均可被高铁氰化钾氧化为高铁血红蛋白,再和 CN⁻ 结合生成稳定的棕红色复合物-氰化高铁血红蛋白,其在 540nm 处有一吸收峰,用分光光度计测定该处的吸光度,经换算即可得到每升血液中的血红蛋白浓度。

(2) 十二烷基硫酸钠血红蛋白(SDS)测定法:血液中除 SHb 外的各种 Hb 均可与低浓度 SDS 作用,生成 SDS-Hb 棕红色化合物,用分光光度计测定波峰 538nm 处吸光度,经换算可得到每升血液中的血红蛋白浓度。

2. 方法学评价

(1) 氰化高铁血红蛋白(HiCN)法:有操作简单、显色快、结果稳定可靠、读取吸光度后可直接定值等优点。其致命的弱点是氰化钾(KCN)试剂有剧毒。

(2) SDS 测定法:操作简单、呈色稳定、准确性和精确性符合要求、无公害,但不能直接用吸光度计算 Hb 浓度,而且 SDS 试剂本身质量差异较大会影响检测结果。

(3) 叠氮高铁血红蛋白(HiN3)法:优点与 HiCN 测定法相似,最大吸收峰在 542nm,试剂毒性仅为 HiCN 测定法的 1/7,但仍存在公害问题。