

全国高等院校医学实验教学规划教材

临床免疫学检验实验

徐军发 主编



科学出版社

www.sciencep.com

全国高等医药院校本、专科教材规划教材

临床免疫学检验实验

徐军虎 主编



人民卫生出版社

全国高等院校医学实验教学规划教材

临床免疫学检验实验

主 编 徐军发

副主编 徐 霞 张文玲 陈章权

编 者 (按姓氏汉语拼音排序)

陈章权 广东医学院

蒋红梅 贵阳医学院

唐晓华 广州医学院

王晓娟 佛山科学技术学院

吴显劲 广东医学院

徐 霞 广州医学院

张 冉 湖南师范大学医学院

赵祖国 广东医学院

高尚民 湖北中医学院

刘杰麟 贵阳医学院

王 慧 广州医学院

吴斌华 广东医学院

徐军发 广东医学院

阎祖炜 中南大学湘雅医学院

张文玲 中南大学湘雅医学院

秘 书 吴斌华

科 学 出 版 社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

本教材由国内7所高等院校参与编写,主要供医学检验专业使用。本教材在强调医学检验专业基本实验技术和操作的基础上重视综合性实验和创新性实验的开展。全书共分基本实验技术、经典验证性实验、综合性实验和创新性实验四篇。基本实验技术主要介绍临床免疫学检验工作中常用到的样本采集和免疫细胞分离技术以及常用实验动物。经典验证性实验主要由经典的免疫学实验组成。综合性实验中主要包括抗体的制备、ELISA方法的建立、机体免疫功能的评价、临床免疫学检验以及自动化仪器和试剂盒简介等内容。创新性实验介绍了临床免疫学检验创新实验设计的一般过程并列举了部分创新实验选题。本教材通过基本实验技术和经典验证性实验的教学可以达到验证理论和培养学生的基本免疫学实验技能的目的。综合性实验的教学一方面可以训练学生组织和驾驭大型综合实验的能力,另一方面可以使学生提前了解临床实验室使用的仪器和开展的实验项目,为临床实习和从事临床免疫学检验工作打下基础。创新性实验设计可为医学检验学生进一步开展科研工作奠定基础。

本教材也可用作临床医学、医学影像、医学麻醉、法医学、预防医学以及药学等专业实验教学的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

临床免疫学检验实验 / 徐军发主编. —北京:科学出版社,2010.8

(全国高等院校医学实验教学规划教材)

ISBN 978-7-03-028632-1

I. 临… II. 徐… III. 临床医学-免疫学-实验-医学院校-教材 IV. R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 158645 号

策划编辑:周万灏 李国红 / 责任编辑:许贵强 李国红 / 责任校对:张小霞

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010年8月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2010年8月第一次印刷 印张:10 1/2

印数:1—4 000 字数:243 000

定价:19.80元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《全国高等院校医学实验教学规划教材》 编写指导委员会

主任 丁元林
副主任 施建明
委员 刘 仿 唐湘涓 吴 斌 李果明 黄培春
 苏汝好 唐焕文 贾振斌 庄海旗
总策划 刘 仿
秘 书 徐美奕 林华胜 余海波

总 序

随着 21 世纪经济与社会的发展,科学技术既向纵深发展、不断分化,又互相渗透、不断融合;同时,新兴学科与边缘学科的兴起、新技术的应用、信息量的剧增,对医学的发展产生了重大而深远的影响,这些必将促进医学教育的全面改革。实验教学作为高等教育的重要组成部分,是学生实践能力和创新能力培养的重要途径,其重要性已受到越来越广泛的关注。

目前,传统实验教学模式仍占主导地位,存在不少弊端和不足:以学科为基础构建的课程体系,忽略了生命科学的整体性、系统性;学科体系繁多,相互孤立,学科间联系不够;实验室分散,功能单一,设备重复购置,资源浪费,效率低下,调配困难;实验教学内容陈旧,手段落后,方式老化,实验内容以验证理论为主,缺少现代医学实验内容;医学生学习的积极性、主动性不强。这些明显滞后于现代医学的发展,影响教学质量,不利于大学生创新意识和实践能力的培养,难以培养出高素质、创新型的医学人才。如何改革传统的实验教学模式,培养具有创新精神、知识面广、动手能力强的新型医学人才,已成为当务之急。教育部、卫生部《关于加强医学教育工作,提高医学教育质量的若干意见》(教高[2009]4号)明确提出“高等学校要积极创新医学实践教学体系,加强实践能力培养平台的建设。积极推进实验内容和实验模式的改革,提高学生分析问题和解决问题的能力”,进一步明确了医学实验教学的重要性和改革的必要性。根据教育部精神,要对传统医学实验教学模式进行改革,最大限度地整合有限资源,优化重组教学实验室,依托相关学科优势,与学科建设相结合,构建开放共享的实验教学中心,力求突出和贯彻执行教育部提出的“三基”、“五性”和注重实用性的要求,以培养学生的探索精神、科学思维、实践能力和创新能力。构建新型的医学实验教学体系,要求我们从根本上改变实验教学依附于理论教学的理念,理论教学与实验教学要统筹协调,既有机结合又相对独立,建立起以能力培养为主线,分层次、多模块、相互衔接的实验教学体系。

以教学内容和课程体系改革为核心、培养高素质、创新型人才为目标,科学整合实验教学内容,打破既往学科框架,按新构建的科学体系,编写适合创新性实验教学体系的配套实验教材已显非常迫切。在科学出版社的大力支持下,《全国高等院校医学实验教学规划教材》编委会以广东医学院为主体,协同重庆医科大学、中山大学等全国 33 所高等医药院校相关专业的 167 名专家、教授共同编写了这套实验教学系列教材。全系列教材共 26 本,分别是《医学物理学实验》、《医用基础化学实验》、《医用有机化学实验》、《系统解剖学实验》、《医学机能学实验教程》、《病原生物学与医学免疫学实验》、《生物化学与分子生物学实

验指导》、《病理学实习指南》、《计算机应用基础上机与学习指导》、《预防医学实习指导》、《卫生统计学实习指导》、《流行病学实习指导》、《临床营养学实习指导》、《营养与食品卫生学实习指导》、《毒理学基础实习指导》、《环境卫生与职业卫生学实习指导》、《健康评估实验指导》、《护理学基础实验指导》、《内科护理学实验指导》、《外科护理学实验指导》、《妇产科护理学实验指导》、《儿科护理学实验指导》、《药理学实验教程》、《药学实验指导》、《临床免疫学检验实验》、《核医学实验教程》。

本系列实验教学规划教材是按照教育部国家级实验教学示范中心的要求组织策划,根据专业培养要求,结合专家们多年实验教学经验,并在调研当前高校医药实验室建设的实际情况基础上编写而成,充分体现了各学科优势和专业特色,突出创新性。同时借鉴国外同类实验教材的编写模式,力求做到体系创新、理念创新。全套教材贯彻了先进的教育理念和教学指导思想,把握了各学科的总体框架和发展趋势,坚持了理论与实验结合、基础与临床结合、经典与现代结合、教学与科研结合,注重对学生探索精神、科学思维、实践能力的培养,我们深信这套教材必将成为精品。

本系列实验规划教材编写对象以本科、专科临床医学专业为主,兼顾预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、中药学、检验、护理、法医、心理、生物医学工程、卫生管理、医学信息等专业需求,涵盖全部医学生的医学实验教学。各层次学生可按照本专业培养特点和要求,通过对不同板块的必选实验项目和自选实验项目相结合修选实验课程学分。

由于医学实验教学模式尚存在地区和校际间的差异,加上我们的认识深度和编写水平有限,本系列教材在编写过程中难免存在偏颇之处,敬请广大医学教育专家谅解,欢迎同行们提出宝贵意见。

《全国高等院校医学实验教学规划教材》编写指导委员会

2010年6月

目 录

第一篇 基本实验技术

第一章 常用实验动物简介	(1)
实验一 小鼠、豚鼠、家兔的抓取、固定和处死	(1)
实验二 实验动物的免疫接种法	(4)
第二章 免疫学检验的标本采集	(6)
实验三 人静脉采血	(6)
实验四 动物血液标本的采集	(9)
第三章 免疫细胞的分离技术	(13)
实验五 外周血单个核细胞的分离	(13)
实验六 尼龙棉柱法分离人外周血 T 细胞	(14)
实验七 小鼠腹腔巨噬细胞的制备	(16)
实验八 人外周血中性粒细胞的分离	(16)

第二篇 经典验证性实验

第四章 免疫沉淀实验	(19)
实验九 双向免疫扩散试验	(19)
实验十 单向免疫扩散试验	(21)
实验十一 对流免疫电泳试验	(23)
实验十二 免疫电泳试验	(24)
实验十三 免疫浊度测定	(26)
第五章 免疫凝集实验	(28)
实验十四 直接凝集试验	(28)
实验十五 间接凝集试验	(30)
实验十六 间接凝集抑制试验	(31)
第六章 免疫标记技术	(33)
实验十七 酶联免疫吸附试验	(33)
实验十八 酶免疫组织化学技术	(40)
实验十九 免疫荧光抗体技术	(42)
实验二十 时间分辨荧光免疫分析	(46)
实验二十一 化学发光免疫分析技术	(48)
实验二十二 斑点金免疫渗滤试验	(49)
实验二十三 胶体金免疫层析试验	(51)
第七章 细胞免疫功能检测技术	(53)
实验二十四 淋巴细胞增殖试验	(53)

实验二十五 T 细胞亚型分析	(58)
第八章 天然免疫功能测定	(64)
实验二十六 中性粒细胞趋化功能测定	(64)
实验二十七 中性粒细胞吞噬杀菌功能测定	(67)
实验二十八 单核/巨噬细胞功能测定	(72)
实验二十九 NK 细胞功能检测	(75)
实验三十 溶菌酶测定	(78)
实验三十一 C-反应蛋白检测	(82)
第九章 超敏反应的检测	(85)
实验三十二 豚鼠过敏反应	(85)
实验三十三 皮肤速发型超敏反应检测	(86)
实验三十四 血清总 IgE 的检测	(87)
实验三十五 特异性 IgE 的测定	(88)

第三篇 综合性实验

第十章 多克隆抗体的制备	(90)
实验三十六 免疫血清的制备、纯化及鉴定	(90)
第十一章 单克隆抗体的制备	(97)
实验三十七 单克隆抗体的制备	(97)
第十二章 ELISA 检测方法的建立	(102)
实验三十八 酶联免疫吸附试验检测 IL-2 方法的建立	(102)
第十三章 机体免疫功能的评价	(104)
实验三十九 机体免疫功能的综合评价	(104)
第十四章 临床免疫学检验	(106)
实验四十 感染性疾病的免疫学检验	(106)
实验四十一 自身免疫性疾病的免疫学检验	(109)
实验四十二 肿瘤标志物的检测	(112)
第十五章 免疫自动化分析系统和试剂盒简介	(115)
实验四十三 免疫自动化分析系统简介	(115)
实验四十四 常见免疫检验试剂盒简介	(133)

第四篇 创新性实验

第十六章 实验选题、设计、实施与总结	(135)
第十七章 创新性实验选题参考	(140)
参考文献	(146)
附录	(147)

第一篇 基本实验技术

第一章 常用实验动物简介

医学教学和科研工作中,不论是从事基础医学、临床医学,还是预防医学,都需要用实验动物(laboratory animal)来进行各种实验。实验动物是指经人工饲养,对其携带的微生物、寄生虫实行控制,遗传背景明确或者来源清楚的用于教学、科学研究、生产、鉴定及其他科学实验的动物。要保证科学实验结果的可靠性、精确性和可重复性,实验动物必须满足科学实验的4条基本要求:对实验处理表现出极高的敏感性;对实验处理的个体反应表现出极强的均一性;模型性状具有遗传上的稳定性;动物来源具有易获得性。

动物实验(animal experiment)方法已成为医学科学研究和教学工作中必不可少的重要手段。动物实验中,为了不损害动物健康,不影响观察,防止被动物咬伤,保证实验顺利进行,正确抓取、固定动物非常必要,抓取、固定动物的方法依实验内容和动物种类而定。抓取、固定动物前,必须对各种动物的一般习性有所了解,抓取固定时既要小心仔细,又要大胆敏捷,以达到正确抓取、固定动物的目的。

实验一 小鼠、豚鼠、家兔的抓取、固定和处死

【实验目的】

掌握常用实验动物的抓取、固定和处死方法,了解动物实验的重要意义。

【实验材料】

- (1) 小鼠、豚鼠、家兔。
- (2) 固定架、注射器、一次性无菌橡胶手套、帆布手套。

【实验方法】

• 小鼠的抓取固定和处死

1. 小鼠的抓取、固定方法 小鼠抓取时先用左手抓取鼠尾向后拉,在其向前爬行时,用右手拇指和食指抓住小鼠的两耳和颈部皮肤,其余三指抓住背部皮肤,将鼠体置于右手心中,左手抓取鼠尾向后拉并以右手无名指按住鼠尾(图 1-1)。这种固定方式可进行灌胃、皮下、肌内和腹腔注射等操作。如进行尾静脉注射时,可用小鼠尾静脉注射架固定,先根据动物大小选择好合适的固定架,并打开鼠筒盖,手提鼠尾巴,让动物头对准鼠筒口并送入筒内,调节鼠筒长短合适后,露出尾巴,固定筒盖即可进行尾静脉注射或尾静脉采血等操作(图 1-2)。



图 1-1 小鼠的抓取固定

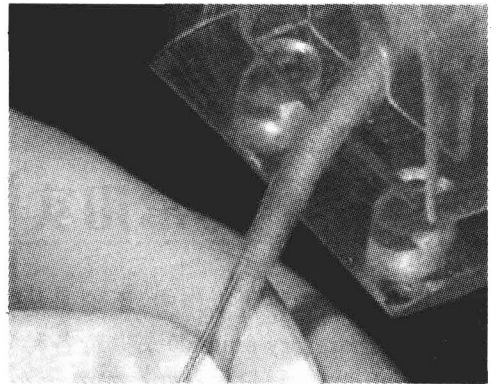


图 1-2 小鼠固定架固定及尾静脉注射

2. 小鼠的处死方法

(1) 颈椎脱臼(断颈)处死法:小鼠常用的处死方法是颈椎脱臼(断颈)处死法。此法是将实验动物的颈椎脱臼,断离脊髓致死,为小鼠最常用的处死方法。操作时实验人员用右手抓住鼠尾放在实验台面上,用左手拇指、食指用力向下按压鼠头及颈部,右手抓住鼠尾根部用力拉向后上方,造成颈椎脱臼,脊髓与脑干断离,小鼠立即死亡。

(2) 断头处死法:实验人员用左手按住实验动物的背部,拇指夹住实验动物右腋窝,食指和中指夹住左前肢,右手用剪刀在鼠颈部垂直将鼠头剪断,使实验动物因脑脊髓断离且大量出血死亡。

(3) 击打头盖骨处死法:操作时抓住实验动物尾部并提起,用木槌等硬物猛烈打击实验动物头部,使大脑中枢遭到破坏,实验动物痉挛并死亡。

(4) 急性大失血法:可采用鼠眼眶动脉和静脉急性大量失血方法使鼠立即死亡。



图 1-3 豚鼠的抓取固定

(5) 化学致死法:吸入一氧化碳,小鼠在一氧化碳浓度为 0.2%~0.5% 环境中即可致死。皮下注射士的宁,吸入乙醚、氯仿,均可致死。士的宁注射量,小鼠为 0.76~2.0mg/kg 体重。

• 豚鼠的抓取固定和处死

1. 豚鼠的抓取固定方法 豚鼠较为胆小易惊,不宜强烈刺激,所以在抓取时,必须稳、准和迅速。一般抓取方法是:先用手掌迅速扣住鼠背,抓住其肩胛上方,以拇指和食指环握颈部,另一只手托住臀部(图 1-3)。

2. 豚鼠的处死方法

(1) 击打头盖骨处死法:同上小鼠。

(2) 过量麻醉处死法:过量麻醉处死法是指快速过量注射非挥发性麻醉药(投药量为深麻醉时的 30 倍),或让动物吸入过量的乙醚,使实验动物中枢神经系统受到过度抑制,导致死亡。

(3) 化学药物致死法:皮下注射士的宁,豚鼠致死剂量为 3.0~4.4mg/kg 体重。经口或注射 DDT[2, 2-bis(4-chlorophenyl)-1, 1, 1-trichloroethane]即 2, 2-双(4-氯苯基)-1,

1,1-三氯乙烷,豚鼠半数致死量(median lethal dose, LD_{50})为经口服 0.4g/kg 体重,皮下注射 0.9g/kg 体重。

• 家兔的抓取固定和处死

1. 家兔的抓取固定方法 一般以右手抓住兔颈部的毛皮提起,然后左手托其臀部或腹部(图 1-4),让其体重重量的大部分集中在左手,这样就避免了抓取过程中动物受到损伤。不能抓双耳或抓提腹部。固定一般分为盒式、台式和马蹄形三种。盒式固定(图 1-5),适用于兔耳采血、耳血管注射等情况;若做血压测量、呼吸等实验和手术时,则需将兔固定在兔台上,四肢用粗棉绳活结绑住,拉直四肢,将绳绑在兔台四周的固定木块上,头以固定夹固定或用一根粗棉绳挑过兔门齿绑在兔台铁柱上;马蹄形固定多用于腰背部,尤其是颅脑部位的实验,固定时先剪去两侧眼眶下部的毛皮,暴露颧骨突起,调节固定器两端钉形金属棒。使其正好嵌在突起下方的凹处,然后在适当的高度固定金属棒。用马蹄形固定器可使兔取用背卧位和腹卧位,是研究中常采用的固定方法。



图 1-4 家兔的抓取固定



图 1-5 家兔的盒式固定

2. 家兔的处死方法

(1) 空气栓塞法:是指向实验动物静脉内注入一定量的空气,形成肺动脉或冠状动脉空气栓塞,或导致心腔内充满气泡,从而影响回心血液量和心输出量,引起循环障碍,导致休克、死亡。一般兔静脉内注入 20~40ml 空气即可致死。

(2) 心脏采血处死法:用注射器从家兔的心脏放血,导致急性大出血、休克、死亡(图 1-6)。此法适用于各种实验动物。

(3) 破坏延髓法:家兔也可用木槌用力槌击其后脑部,损坏延髓,造成死亡。

(4) 化学药物致死法:

1) 静脉内注入氯化钾溶液致死:静脉内注入一定量的氯化钾溶液,使动物心肌失去收缩能力,心脏急性扩张,致心脏弛缓性停跳而死亡。每只成年兔由兔耳缘静脉注入 10%氯化钾溶液 5~10ml 即可致死。



图 1-6 家兔心脏采血的固定

2) 皮下注射土的宁致死:兔 0.25~0.5mg/kg 体重。

3) 经口或注射 DDT 致死: LD_{50} 为兔经口 0.3g/kg 体重,皮下 0.25g/kg 体重。

【注意事项】

- (1) 实验时带上橡胶手套或帆布手套,防止动物抓伤。
- (2) 掌握正确的抓取固定动物方法,以免伤害动物。

【思考题】

- (1) 小鼠、豚鼠、家兔的正确抓取、固定方法有哪些?
- (2) 小鼠、豚鼠、家兔常用的处死方法有哪些?

实验二 实验动物的免疫接种法

选择免疫动物后,根据抗原的性质选择适宜的剂量、免疫途径及掌握好免疫间隔的时间,对免疫试验成功与否起重要作用。动物的免疫途径通常有静脉、腹腔、肌肉、皮内、皮下、淋巴结和足掌等。

【实验目的】

掌握实验动物常用的免疫接种方法。

【实验材料】

- (1) 细菌培养物(肉汤培养物或细菌悬液)、血液、蛋白质、多肽等。
- (2) 家兔、豚鼠、小白鼠、大白鼠及绵羊等。
- (3) 注射器、络合碘、棉签等。

【实验方法】

1. 皮内接种 注射部位多选择脚掌、腋窝淋巴结周围、腹壁中线、背部两侧、耳后和颌下等处。去毛消毒后将皮肤绷紧,以左手拇指和食指将局部皮肤提起,右手将 1ml 注射器接上最小针头,针头尖端斜面向上,平刺于皮肤内,然后将左手放松,缓缓注入接种物,此时在注射局部皮肤应出现小圆丘形隆起,否则表示不在皮内。一般采用多点注射,注射量一般在 0.1~2.0ml。

2. 皮下接种 在动物背侧或腹侧皮下结缔组织疏松部分剪毛消毒,术者右手持注射器,以左手拇指、食指和中指捏起皮肤使成一个三角形皱褶,或用镊子夹起皮肤、于其底部进针,感到针头可随意拨动即表示插入皮下。当推入注射物时感到流利畅通也表示在皮下,拨出注射针头时用消毒棉球按针孔并稍加按压。

3. 腹腔接种 在家兔耻骨上缘约二指宽腹中线处,去毛消毒,抓住前后肢,使其头部向下,肠向横膈处垂下。接种者右手持注射器,左手绷紧注射处皮肤,然后刺入腹腔。回抽针芯,无液体或气体抽出时,则将接种物注入。

4. 耳缘静脉接种 以两耳外缘静脉为宜。若作多次注射,应先从耳尖开始,以免因注射造成血栓,下次不能再使用该条血管。注射时,先将家兔固定,轻弹兔耳,并以酒精棉球涂擦,此时耳静脉怒张。接种者以左手拇指和中指夹住家兔耳部,以食指垫于耳外缘静脉下,右手持注射器刺入血管,缓缓注入接种物,可见血管颜色变白,还可见到接种物沿血管向近心端流动。如发现局部有片状隆起,接种物不易推入时,提示针头未刺入血管,应重新注射。注射完毕,针头拔出时,应先以酒精棉球按住刺入处,再拔出针头,继续压迫刺入处,并将兔耳竖起,以免溢血。

【注意事项】

(1) 选择合适的动物进行免疫极为重要。要求抗原和动物种系差异较远,动物健康适龄,最好雄性。

(2) 一般情况下采用多途径、多点注射,可选择足掌、胸窝淋巴结周围、颈背部、颌下、耳后等处皮内或皮下。其中皮内注射易引起细胞免疫反应,对提高效价极为有利。但天冷时皮内注射很困难,因佐剂乳化抗原黏度较大;用不加佐剂的抗原静脉注射,多次免疫后,抗体效价高,维持时间长。

(3) 制定免疫计划以注射次数少、免疫时间短、获得的抗体效价高为依据。

【思考题】

- (1) 动物常用的免疫接种方法有哪些?
- (2) 什么叫抗原表位?
- (3) 颗粒性抗原与可溶性抗原在制备免疫血清时的免疫方案有何区别?
- (4) 制备免疫血清时,免疫原的选择有何要求?
- (5) 什么是佐剂? 其种类有哪些? 作用机制是什么?

(张文玲)

第二章

免疫学检验的标本采集

在检验工作中,标本的采集是直接关系到检验结果能否真实客观地反映病人当前病情的一个重要环节。正确的采血部位、娴熟的采血技术是诊断疾病、分析问题的前提。本章主要介绍人静脉采血的方法以及常见实验动物血液的采集,了解并掌握这些技术方法,可为医学生临床实践和科研工作打下坚实的基础。

实验三 人静脉采血

【实验目的】

掌握人静脉采血的方法和无菌操作技术,为病人正确采集、留取静脉血标本。

【实验原理】

使用注射器或真空采血器刺入浅静脉后,用负压吸取所需的血量。

【实验材料】

(1) 消毒棉签、2~3mm 口径的橡皮软管、垫枕。

(2) 针头及一次性消毒注射器:根据采血量可选用不同型号注射器,配备相应的针头。

1) 针头:30~40mm 长,18 号、19 号、20 号带斜面。若采集 5 岁以下儿童的血液标本,则使用 23 号或 25 号针。针头应储存于无菌小管中。

2) 一次性消毒注射器:2ml、5ml、10ml、20ml 注射器(图 2-1)。

(3) 一次性真空采血装置(图 2-2)。

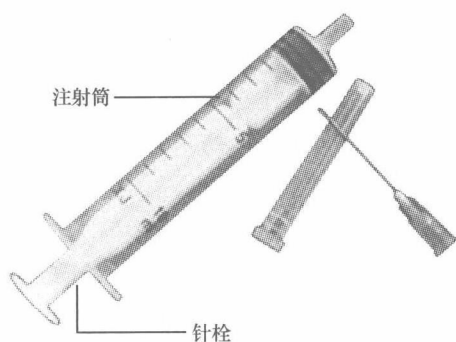


图 2-1 一次性注射器

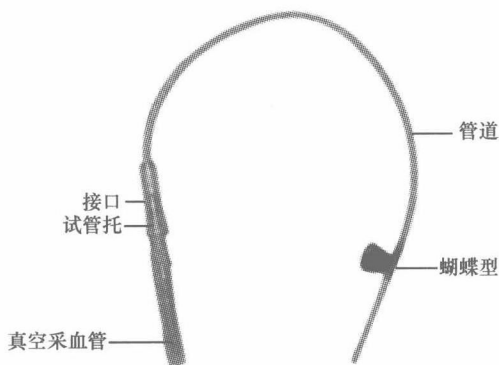


图 2-2 一次性真空采血装置

(4) 试管:含或不含抗凝剂、有采血量标记的刻度试管。

(5) 试剂:30g/L 碘酊、75%(V/V)乙醇、抗凝剂(109 mmol/L 柠檬酸钠)。

【实验方法】

(1) 准备材料:仔细阅读受检者申请单,准备每个试验所需的试管,并按一定顺序排

列。如病人仅做凝血试验一项,最初 1ml 血液必须丢弃。如做血细胞沉降率测定,需取试管 1 支,加入适量抗凝剂(109 mmol/L 柠檬酸钠 0.4 ml)。某些特殊检查,为避免血小板激活,要使用塑料注射器和硅化处理后的试管或塑料试管。

(2) 标记试管:在试管上贴标签,注明病人姓名、项目名称、采集日期、门诊或住院号。

(3) 消毒双手:采血前,操作人员应用肥皂(或消毒液)和水洗手。

(4) 选择静脉:静脉采血多采用位于体表的浅静脉,通常采用肘部静脉、手背静脉等。小儿可采颈外静脉血液,成人采血位置多用肘前静脉,因其粗大、容易辨认(图 2-3)。采血前,要求受检者端坐在实验台前,将前臂放在实验台上,掌心向上,并在肘下放一枕垫。卧床受检者要求前臂伸展,暴露穿刺部位。

(5) 检查注射器:打开一次性注射器包装,左手持针头下座,右手持针筒,将针头和针筒紧密连接,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,最后排尽注射器中的空气并保持针头无菌状态。

(6) 消毒:用 30g/L 碘酊棉签自所选静脉穿刺处顺时针方向,从内向外消毒皮肤,待碘酊挥发后,再用 75% 酒精棉签以同样方式拭去碘迹。

(7) 扎压脉带:在采血部位上端 5~10cm 处,将压脉带绕手臂一圈打一活结,压脉带末端向上。嘱病人握拳,使静脉隆起。如静脉不明显时,可嘱病人握紧和放松拳头几次,使其充盈后采血,对于较肥胖病人,可用左手食指消毒后在肘前轻压,再抬起如触到有波动感,即为肘前静脉(图 2-4)。

(8) 穿刺:取下针头无菌帽,以左手拇指固定静脉穿刺部位下端,右手持注射器,食指固定针头下座,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° 角斜行快速刺入皮肤,然后成 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,但不可用力深刺,以免造成血肿,同时立即去掉压脉带。

(9) 抽血:用左手缓缓向后拉注射器针栓,到达采血量刻度后停止。若使用一次性真空采血装置,当针头进入血管后会见少量回血,将真空采血管插入试管托内采血针中,因试管内负压作用,血液自动流入试管,到达采血量刻度后拔出试管即可(图 2-4)。

(10) 止血:嘱受检者松拳,用消毒棉签压住进针部位,迅速向后拔出针头。继续以适当压力按住消毒棉签 3 分钟至止血为止。

(11) 放血:从注射器上取下针头。将血液沿试管壁缓缓注入,到达标记处。含抗凝剂试管需迅速轻轻颠倒混匀几次。

(12) 采血完毕,应再次核对病人姓名和编号。用过的器材应放在固定的回收箱内,不能随意丢弃,污染环境。

【注意事项】

(1) 采血前准备:采血前应尽量消除病人恐惧心理,保持平静。如遇个别病人进针时或采血后发生眩晕,应立即拔出针头让其平卧休息,必要时可给病人嗅吸芳香酊,针刺(或拇指压掐)人中、合谷等穴位。若因低血糖诱发眩晕,可立即静脉注射葡萄糖或嘱病人服糖水

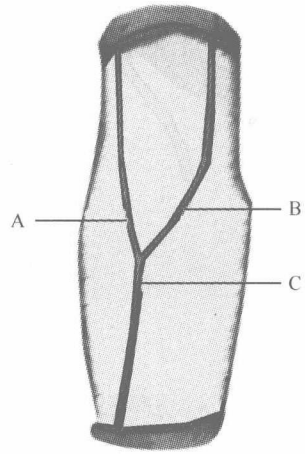


图 2-3 肘前静脉
A 为推荐部位, B、C 为替代部位

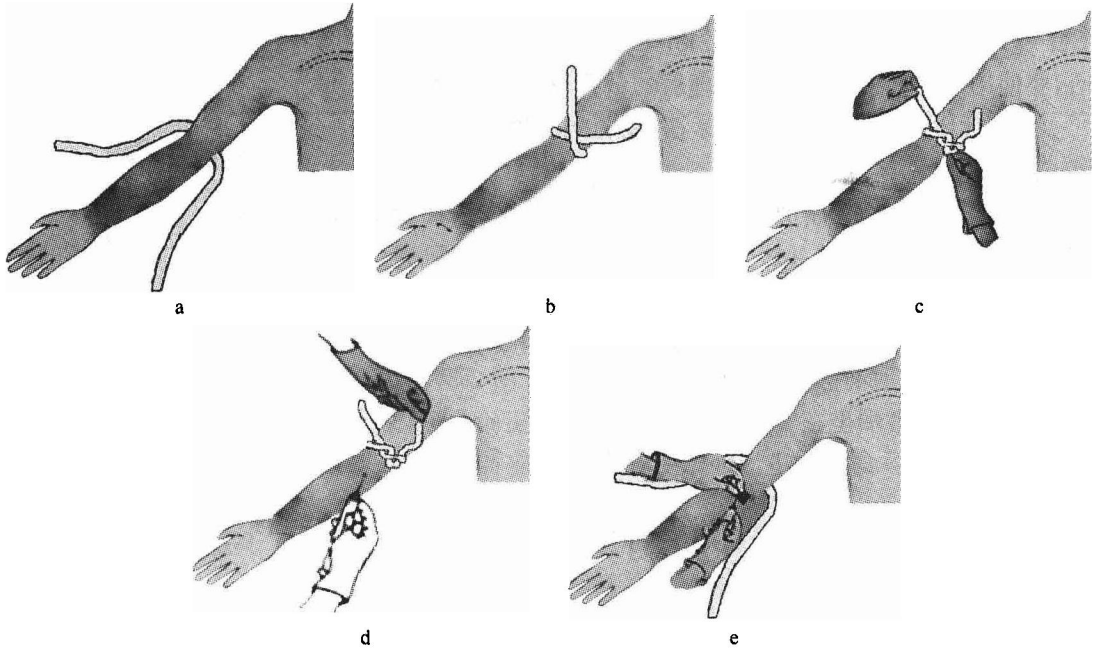


图 2-4 扎压脉带、抽血和止血过程

即可。如有其他情况,应及时找医师共同处理。

(2) 准备试管:根据检测项目选择不同的抗凝剂及血液的稀释比例,如血细胞计数及 MCV、MPV 等参数测定时不要用肝素抗凝剂,因为肝素抗凝会影响检查。

(3) 选择静脉:当肘部静脉不明显时,可采用手背静脉、手腕静脉及踝部静脉,如还是无法将血采出时可选用股静脉。如果静脉暴露不明显,可以左手食指碘酊、酒精消毒后,在采血部位触摸,发现静脉走向后凭手感的方向与深度试探性穿刺。

(4) 检查注射器:静脉采血前要仔细检查针头是否安装牢固,针筒内是否有空气和水分。所用针头应锐利、光滑、通气,针筒不漏气。

(5) 扎压脉带:压脉带压迫时间不能过长、绑扎不能过紧,以避免淤血和血液浓缩,最好不超过 1 分钟,否则会影响实验结果,如造成血红蛋白和血细胞比容增高。

(6) 穿刺皮肤:不能从静脉侧面进针。进针时会感觉皮肤有一定阻力,而静脉壁阻力较小,更富弹性。

(7) 抽血、放血:抽血时针栓只能外抽,不能内推,以免形成空气栓塞,造成严重后果。血液加入抗凝试管中应轻轻颠倒混匀,无需抗凝时则将血液直接注入试管中。要防止血液标本溶血,因为溶血后不仅红细胞和血细胞比容减低,还会使血清(浆)化学成分发生变化。造成溶血的原因有:注射器和容器不干燥、不清洁;压脉带捆扎时间太久,淤血时间长;穿刺过程中损伤组织过多;抽血速度过快;血液注入容器时未取下针头或用力推出使产生大量气泡;抗凝血混匀时振荡过度;离心时速度过快等。

(8) 止血:不能弯曲手臂,以免形成血肿。

(9) 放血:颠倒混匀时,需防止溶血和泡沫产生。切忌振荡试管。

(10) 标本的检测与保存:血液采集后应立即送检。标本不能及时检测或需保留以复查时,一般应放 4℃ 冰箱保存。