

全国高等医药教材建设研究会规划教材·全国高等医药院校配套教材



供医学检验专业用

临床检验基础 实验指导

第2版

WBC		WBC	
LY%	50.0	LY%	50.0
MO%	13.5	MO%	13.5
GR%	36.6 L	GR%	36.6 L
LY#	H	LY#	H
MO#	H	MO#	H
GR#	H	GR#	H
RBC	4.45	WBC	
HGB	14.2	LY%	50.0
HCT	42.6	MO%	13.5
MCV	95.8	GR%	36.6 L
MCH	31.9	LY#	H
MCHC	33.3	MO#	H
RDW	12.9	GR#	H

主编 刘成玉

 人民卫生出版社

临床检验基础
实验指导

临床检验基础 实验指导

第 1 版



主编 张晓明

人民卫生出版社

全国高等医药院校配套教材

供医学检验专业用

临床检验基础实验指导

第2版

主编 刘成玉

编者（以姓氏笔画为序）

丁 磊（上海第二医科大学）

王 彩（北华大学医学院）

刘成玉（青岛大学医学院）

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床检验基础实验指导/刘成玉主编. —2版. —北京:
人民卫生出版社, 2003

ISBN 7-117-05248-1

I. 临… II. 刘… III. 临床医学-医学检验
IV. R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 092927 号

临床检验基础实验指导
第 2 版

主 编: 刘成玉

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

邮购电话: 010-67605754

印 刷: 北京智力达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 11

字 数: 250 千字

版 次: 1999 年 10 月第 1 版 2006 年 6 月第 2 版第 10 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05248-1/R·5249

定 价: 15.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

前 言

《临床检验基础》是全国医药院校医学检验专业的必修课和主干课程之一,为适应第三版《临床检验基础》实验教学的需要,在卫生部教材办公室的组织和领导下,在参考第一版实验指导的基础上,我们编写了卫生部规划实验教材《临床检验基础实验指导》(第二版)。

《临床检验基础实验指导》编写的目的旨在使学生通过实验课的学习,巩固所学的理论知识和提高临床检验技能。其主要内容包括血液检验的一般检验技术、血液的一般检验、血栓和止血一般检验、血型鉴定与交叉配血、尿液检验、脑脊液检验、浆膜腔积液检验、粪便检验、生殖系统分泌物检验、羊水检验和脱落细胞检验等 11 章,每章又包含几个常用的实验,按实验的目的、原理、器材、试剂、标本、操作、注意事项、方法学评价和参考值进行编写,突出了检验项目的注意事项、方法学评价和质量控制,以提高学生的实际操作的正确性和选择合理实验方法的能力。

《临床检验基础实验指导》作为医学检验专业《临床检验基础》规划教材的配套教材,既可供高等医药院校和全国医学专科学校医学检验专业师生使用,也可供临床检验医师、进修人员和实习生在临床检验实际工作中的参考。

《临床检验基础实验指导》是卫生部教材办公室组织编写的医学检验专业 7 种实验教材之一,在编写过程中得到了卫生部教材办公室、人民卫生出版社和各编写单位的大力支持,得到了熊立凡教授、李树仁教授和罗春丽副教授的悉心指导,在此一并致谢。同时还要感谢第一版实验指导的主编朱立华教授及各位编委,他们的学术造诣、严谨的治学态度和辛勤敬业的工作是第二版实验指导所依托的坚实基础,谨在此向他们表示深切的敬意和感谢。

由于编者的水平有限,纰误疏漏在所难免,热情欢迎同行专家、广大师生和其他读者提出宝贵意见,并致谢意。

刘成玉

2002 年 10 月

目 录

第一章 血液检验的一般检验技术	1
实验一 血液标本的采集	1
一、毛细血管采血法	1
二、静脉采血法	2
实验二 微量吸管的鉴定	4
一、水银称重法	4
二、氰化高铁血红蛋白比色法	6
实验三 微量吸管的使用	7
实验四 改良牛鲍计数板的使用	7
实验五 血涂片的制备与染色	10
第二章 血液一般检验	14
实验一 红细胞计数	14
实验二 血红蛋白测定	15
一、氰化高铁血红蛋白测定法	15
二、十二烷基硫酸钠血红蛋白测定法	17
实验三 血细胞比容测定	18
一、温氏法	18
二、微量法	19
实验四 红细胞形态检查	20
实验五 红细胞平均直径测量	20
实验六 网织红细胞计数	22
一、试管法	22
二、玻片法	23
实验七 嗜碱性点彩红细胞计数	24
实验八 红细胞沉降率测定	25
一、魏氏法	25
二、动态测定法	26
三、Zeta 红细胞沉降率测定法	26
实验九 白细胞计数	27
实验十 白细胞分类计数	29
实验十一 白细胞形态检查	32

实验十二 嗜酸性粒细胞直接计数	32
实验十三 血液分析仪的使用及其结果分析	34
实验十四 血液分析仪的校准	39
实验十五 血液分析仪性能评价	43
第三章 血栓与止血一般检验	51
实验一 毛细血管脆性试验	51
实验二 出血时间测定	51
一、出血时间测定器法	51
二、IVY法	52
实验三 阿司匹林耐量试验	53
实验四 血小板计数	54
实验五 血块收缩试验	55
一、定性法	55
二、全血定量法	56
三、血浆定量法	56
实验六 凝血时间测定	57
一、普通试管法	57
二、硅管法	58
三、活化凝血时间法	59
实验七 血浆凝血酶原时间测定	59
一、试管法	59
二、血凝仪法	61
实验八 活化部分凝血活酶时间测定	62
一、试管法	62
二、血凝仪法	63
实验九 凝血酶时间测定	64
一、试管法	64
二、血凝仪法	65
实验十 血浆纤维蛋白原含量测定	66
一、凝血酶法	66
二、热沉淀比浊法	67
三、亚硫酸钠比浊法	68
第四章 血型鉴定与交叉配血	70
实验一 ABO血型鉴定	70
一、正定型法	70
二、反定型法	73
实验二 交叉配血	74

一、盐水介质配血法	74
二、聚凝胺介质配血法	75
实验三 Rh 血型鉴定(酶介质法)	77
实验四 抗球蛋白试验	78
一、直接抗球蛋白试验	78
二、间接抗球蛋白试验	80
实验五 红细胞抗体吸收试验	81
实验六 红细胞抗体放散试验	82
一、热放散试验	82
二、枸橼酸冷放散试验	83
实验七 血型抗体效价测定	84
第五章 尿液检验	86
实验一 尿液理学检查	86
一、尿液外观检查	86
二、尿量测定	87
三、尿液酸碱度测定	87
四、尿液比密测定	88
五、尿渗量测定(冰点降低法)	91
实验二 尿蛋白定性检查	92
一、磺基水杨酸法	92
二、加热乙酸法	94
三、干化学试带法	95
实验三 尿蛋白定量检查	96
一、双缩脲法	96
二、丽春红 S 法	97
三、考马斯亮蓝法	98
实验四 本周蛋白定性检查	100
一、凝溶法(热沉淀法)	100
二、对-甲苯磺酸法	101
实验五 尿葡萄糖定性检查	101
一、班氏法	101
二、干化学试带法	103
实验六 尿酮体定性检查	104
一、改良 Rothera 法	104
二、干化学试带法	105
实验七 尿胆红素定性检查	106
一、Harrison 法	106
二、干化学试带法	107

实验八 尿胆原定性检查	108
一、改良 Ehrlich 法	108
二、干化学试带法	109
实验九 尿沉渣检查	110
一、非染色法尿沉渣显微镜检查	110
二、染色法尿沉渣显微镜检查	111
三、尿沉渣定量分析法	113
实验十 1h 尿有形成分排泄率检查	113
实验十一 尿液干化学分析仪的应用	114
实验十二 尿血红蛋白检查	120
一、氨基比林法	120
二、邻甲苯胺法	121
三、干化学试带法	122
实验十三 尿肌红蛋白检查	123
实验十四 尿纤维蛋白(原)降解产物检查	123
一、胶乳凝集法	123
二、酶联免疫吸附法	124
三、反向血凝法	125
实验十五 乳糜尿定性检查	126
实验十六 尿含铁血黄素定性检查	127
实验十七 尿苯丙酮酸定性检查	127
实验十八 尿胱氨酸定性检查	128
实验十九 尿酪氨酸定性检查	129
实验二十 尿卟啉及卟胆原定性检查	129
一、尿卟啉定性检查	129
二、尿卟胆原定性检查	130
实验二十一 尿绒毛膜促性腺激素检查	131
一、金标抗体检测法	131
二、双抗体夹心酶联免疫吸附法	132
三、胶乳凝集抑制试验	132
第六章 脑脊液检验	134
实验一 脑脊液理学检查	134
实验二 脑脊液显微镜检查	134
实验三 脑脊液蛋白质定性检查	137
第七章 浆膜腔积液检验	139
实验一 浆膜腔积液理学检查	139
实验二 浆膜腔积液显微镜检查	139

实验三 浆膜腔积液粘蛋白定性试验	140
第八章 粪便检验	142
实验一 粪便理学检查	142
实验二 粪便显微镜检查	142
实验三 粪便隐血试验	143
一、邻联甲苯胺法	143
二、单克隆抗体胶体金法	144
第九章 生殖系统分泌物检验	146
实验一 精液理学检查	146
实验二 精子活动率和活动力检查	146
实验三 精子计数	147
实验四 精子形态检查	148
实验五 精液果糖测定	149
实验六 精液乳酸脱氢酶-X测定	150
实验七 精子低渗肿胀试验	151
实验八 抗精子抗体测定	152
一、精子凝集试验(试管-玻片法)	152
二、精子制动试验	152
实验九 计算机辅助的精液分析	154
实验十 前列腺液检查	155
一、前列腺液理学检查	155
二、前列腺液显微镜检查	156
实验十一 阴道分泌物检查	157
一、阴道分泌物理学检查	157
二、阴道分泌物显微镜检查	157
第十章 羊水检验	159
实验一 羊水泡沫试验	159
实验二 羊水胆红素测定	160
第十一章 脱落细胞检验	162
实验一 脱落细胞检验的基本染色方法	162
一、巴氏染色法	162
二、苏木素-伊红染色法	164
实验二 阴道脱落细胞检查	165
实验三 浆膜腔积液脱落细胞检查	166
实验四 尿液脱落细胞检查	167
实验五 痰液脱落细胞检查	167

第一章 血液检验的一般检验技术

实验一 血液标本的采集

一、毛细血管采血法

【目的】 掌握毛细血管采血法(collection of capillary blood),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血液自然流出,用微量吸管吸取一定量的血液。

【器材】 一次性消毒采血针、20 μ l 吸管(应校正后使用)或一次性微量吸管、试管、2ml 移液管、75%(V/V)乙醇棉球、无菌干棉球。

【试剂】 洗涤液 3 管(蒸馏水、95%乙醇、乙醚)、生理盐水。

【标本】 外周血。

【操作】

1. 准备 取试管 1 支,加入 2ml 生理盐水。取微量吸管和乳胶吸头相连,检查连接处是否漏气,或取一次性微量吸管备用。

2. 按摩 轻轻按摩左手中指或无名指指尖内侧,使局部组织自然充血。

3. 消毒 用 75%乙醇棉球擦拭采血部位皮肤,待干。

4. 针刺 用左手拇指和示指固定采血部位使其皮肤和皮下组织绷紧,右手持一次性消毒采血针自指尖腹内侧迅速刺入,深度 2~3mm,立即出针。

5. 拭血 待血液自然流出后,用无菌干棉球擦去第 1 滴血。

6. 吸血 血液自然流出时,用一次性微量吸管吸血至 10 μ l 刻度,然后用无菌干棉球压住伤口止血。如血流不畅,可以用左手自采血部位远端向指尖稍施压使血液流出。

7. 稀释 用无菌干棉球擦净微量吸管外部后,将吸管伸入装有生理盐水的试管底部,慢慢排出吸管内的血液,并用上清液冲洗管内余血 2~3 次,最后将试管内的液体混匀。

【注意事项】

1. 所选择采血部位的皮肤应完整,无烧伤、冻疮、发绀、水肿或炎症等。除特殊情况外,不要在耳垂采血。半岁以下婴幼儿由于手指小,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。

2. 本试验具有创伤性,必须严格按无菌技术操作,防止采血部位感染;做到一人一针一管,避免交叉感染,最好用一次性采血管。

3. 皮肤消毒后,应待乙醇挥发后采血,否则流出的血液扩散而不成滴。

4. 进出针速度要迅速,且伤口要有足够的深度。

5. 因第 1 滴血混有组织液,应擦去。如血流不畅切勿用力挤压,以免造成组织液混

入,影响结果的准确性。

6. 在进行多项检查时,采集血液标本的顺序是血小板计数、红细胞计数、血红蛋白测定、白细胞计数与分类。如采血用于自动血液分析仪,最好以优质无菌纸巾擦血,以免棉纤维混入,造成仪器堵孔。

【方法学评价】 血液标本的正确采集是获得准确、可靠实验结果的关键。在标本采集前,应仔细考虑实验的需要,决定所需要的血量,以免标本量不足或造成浪费。

毛细血管采血法操作简便,用血量少,适用于各种微量检查法或进行大规模普查。可满足对红细胞、白细胞、血小板及血红蛋白等的定量检查,但不能重复应用。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。取血部位多采用指尖或足跟等。除特殊情况外,不要在耳垂采血,以往选择耳垂采血,虽然痛感较轻,适于反复采血,但因耳垂末梢血循环较差,血细胞容易停滞,常造成红细胞、白细胞、血红蛋白和血细胞比容等结果比静脉血高,且严寒、炎热等情况可造成结果波动较大。手指采血虽痛感较重,但能获得较充足的血量,该法检测结果比较恒定,与静脉血之间差异较小,是目前血细胞检验普遍采用的采血方法。由于无法规定采血刺入的深度,加之每人皮肤厚度不同,刺破皮肤采血常需诱导,必然有组织液混入而影响检查的准确性。如要获得更具代表性的血细胞检查结果,首选静脉采血法。

【质量控制】 在采集标本前,应使患者尽量保持平静,减少运动,住院患者应尽量在早晨卧床时采血。以不要挤压皮肤而使血液自然流出为好。尽量避免药物及饮食对检验结果的影响。使用末梢血做血细胞检查时采集标本后应及时测定,最好在 2h 内完成,不宜在冰箱内存放。

毛细血管采血时应使用经过校正或由临床检验中心核准的一次性血红蛋白吸管(误差 $\leq 1\%$)。血液充入管内的速度不宜过快,避免出现气泡,血液弯月面达到刻度线处即可。

二、静脉采血法

【目的】 掌握静脉采血(collection of venous blood)的方法和无菌操作技术。

【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(或止血带)、垫枕、试管、消毒棉签。

【试剂】 30g/L 碘酊、75%(V/V)乙醇、抗凝剂(109mmol/L 枸橼酸钠)。

【标本】 静脉血。

【操作】

1. 准备抗凝管 取试管 1 支,加入适量抗凝剂(109mmol/L 枸橼酸钠 0.4ml)。

2. 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,备用。

3. 选择静脉 患者取坐位,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拭去碘迹,待干。

5. 扎压脉带 在采血部位上端扎压脉带或止血带(注意勿污染消毒部位),并嘱患者反复握拳几次后紧握拳头,使静脉充盈显露,便于穿刺。

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,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° 角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。

7. 抽血 以左手固定注射器,缓缓抽动注射器内芯至所需血量后,用消毒干棉球压住针孔,请患者松拳,迅速拔出注射器。嘱患者继续按压针孔数分钟,以防出血。

8. 放血与混匀 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。轻轻混匀抗凝血,切忌振荡试管,盖紧试管塞备用。

【注意事项】

1. 采血前应向患者耐心解释,以消除不必要的疑虑和恐惧心理。如遇个别患者进针时或采血后发生眩晕,应立即拔出针头让其平卧休息片刻,即可恢复。必要时可给患者嗅吸芳香酊、针刺(或拇指压掐)人中和合谷等穴位。若因低血糖诱发眩晕,可立即静注葡萄糖或嘱患者口服糖水即可。如有其他情况,应立即找医生共同处理。

2. 根据用水量可选用2ml、5ml、10ml等不同刻度的一次性注射器。

3. 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。

4. 如果肥胖患者的静脉暴露不明显,可以左手示指经碘酊、乙醇消毒后,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。

5. 抽血时针栓只能向外抽,不能向静脉内推,以免注入空气形成气栓,造成严重后果。

6. 血液加入抗凝试管中应与抗凝剂充分混匀以达到抗凝目的;无需抗凝时则将血液直接注入试管中。

7. 血液标本采集后应立即送检,实验室接到标本后应尽快地进行检查处理。

【方法学评价】 静脉采血法适用于用水量较多($>2\text{ml}$)的检验项目。由于静脉血液标本代表性大,且各项成分相对恒定,可反映患者整体状态,是临床最常用的检验标本,广泛用于各项生物化学、血液、免疫、微生物等项目的检查。

目前,静脉采血法普遍采用一次性注射器。且现已有一部分医院使用一次性真空采血法,但在操作过程应注意:①防止血液污染。②采血量准确。③能多管取血,有利于自动化分析,有待推广。

【质量控制】

1. 避免标本溶血 溶血后的标本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,因此必须注意防止血液标本溶血。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;抽血速度太快;血液注入容器时未取下针头或用力推出时产生大量气泡;抗凝血用力振荡;离心时速度过快等。

2. 抗凝剂 不同检查项目可根据试验需要选择不同的抗凝剂及与血液的稀释比例,

如血细胞计数及 MCV、PCV 等参数测定时应选择适当的抗凝剂,不要用肝素抗凝剂,因为肝素抗凝会影响 RBC 和 PLT 的计数结果。

3. 止血带的使用 采静脉血时止血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,最好不超过半分钟,否则会影响某些实验结果,如造成血红蛋白和血细胞比容增高。

4. 标本保存 用于生物化学检查的血液标本若不能及时检查,应将血清或血浆与细胞分离,进行适当的处理。抗凝静脉血可稳定 8~12h,如不能及时测定,应将其置于较稳定的环境中,如 4℃ 冰箱,减少和降低条件的变化。测定前,将其从冰箱内取出,恢复至室温状态,混匀后再测定。

实验二 微量吸管的鉴定

一、水银称重法

【目的】 掌握微量吸管的水银称重鉴定方法。

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

【器材】

1. 1ml 玻璃注射器、贯通的橡胶管、温度计、小毛刷。
2. 待校正的微量吸管。
3. 分析天平及称量瓶。

【试剂】 硫酸重铬酸钾洗液、蒸馏水、无水乙醇、乙醚、凡士林、水银(AR 或 GR)。

【操作】

1. 清洗吸管 先以重铬酸钾洗液浸泡待测的微量吸管,以自来水彻底冲洗,再依次以蒸馏水、无水乙醇、乙醚各冲洗 3 次以上,待干。

2. 连接注射器与微量吸管 将 1ml 注射器内壁均匀涂抹一薄层凡士林,推入针芯,然后用贯通的橡胶管将注射器与微量吸管紧密连接起来。

3. 称重 在分析天平上准确称量称量瓶,并记录重量 W_1 。

4. 测温 待水银平衡至室温后,插入温度计测量水银温度。

5. 吸取水银 将注射器固定于支撑架上,吸管尖端插入水银中,缓慢抽动注射器针芯,将水银吸至刻度处(水银凸面对齐刻度),注意管内不可有气泡使水银分段。用小毛刷将吸管外面的水银刷净。

6. 称重水银 将吸管尖移至表面皿上,呈 45°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。

7. 求均值 重复 3、4 步骤的操作 2 遍,将 3 次结果相加后除以 3,得到被鉴定吸管中水银重量的均值。

8. 计算

$$\text{被鉴定吸管实际容量}(\mu\text{l}) = \frac{\text{水银重量}(g) \times 1000}{\text{校正时温度下水银比密}(g/ml)}$$

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

$$\text{微量吸管的校正误差}(\%) = \frac{\text{实测体积} - \text{标示体积}}{\text{标示体积}} \times 100\%$$

例, 鉴定某 20 μl 一次性微量吸管, 吸至刻度处水银平均重量为 0.2750g, 水银测温为 20 $^{\circ}\text{C}$, 查表 1-1 得出水银比密为 13.5457(g/ml)。

$$\text{被鉴定吸管实际容量}(\mu\text{l}) = \frac{0.2750}{13.5457} = 20.30(\mu\text{l})$$

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

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

根据要求, 20 μl 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。

表 1-1 不同温度下的水银(Hg)比密(g/ml)

温度	0 $^{\circ}\text{C}$	10 $^{\circ}\text{C}$	20 $^{\circ}\text{C}$	30 $^{\circ}\text{C}$
0	13.5951	13.5704	13.5457	13.5212
1	13.5926	13.5679	13.5433	13.5187
2	13.5901	13.5654	13.5408	13.5163
3	13.5876	13.5630	13.5384	13.5138
4	13.5852	13.5605	13.5359	13.5114
5	13.5827	13.5580	13.5335	13.5090
6	13.5802	13.5556	13.5310	13.5065
7	13.5778	13.5531	13.5286	13.5041
8	13.5753	13.5507	13.5261	13.5016
9	13.5728	13.5482	13.5237	13.4992

【注意事项】

1. 用于校正用的水银必须洁净, 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 $^{\circ}\text{C}$ 左右的干燥箱内烘干, 于室温下冷却。称量水银前应预先将其转移至具塞小瓶中, 置天平室内 30min 以上, 使水银平衡至室温, 精确测量其温度。测量过程中不可用手直接接触称量瓶及水银容器, 以防使水银温度与室温产生差异。

2. 水银是剧毒品, 并具有挥发性, 能溶解多种金属, 务必谨慎操作。操作过程中为严防其他金属污染应及时加盖, 并需防止水银污染台面及衣物。

3. 所用分析天平必须经计量部门检定, 称量准确到小数点后 4 位。

【方法学评价】 血红蛋白吸管是血细胞计数中影响检验结果的主要因素之一。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, 故在分析天平上称重时的精确度较差。此外, 还有

采用各种溶液比色法进行校准,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。

【质量控制】 如果采用一次性微量吸管进行血细胞检查,由于标本量大,不可能对每一根微量吸管逐根鉴定,其质量检查应采取抽样方式,即从每一批购进的微量吸管中,采用随机原则至少抽样 50 支,采用上法对样品进行鉴定。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 90%以上是合格品,其余不合格者的误差均在 $\pm 1\% \sim \pm 2\%$,且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。

二、氰化高铁血红蛋白比色法

【目的】 掌握氰化高铁血红蛋白比色法鉴定微量吸管的方法。

【原理】 用同一抗凝血在同一条件下对标准和待测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,其吸光度也不同。氰化高铁血红蛋白吸光度和微量吸管体积成正比,将待鉴定的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】 标准微量吸管、试管、分光光度计。

【试剂】 氰化高铁血红蛋白(HiCN)转化液。

【标本】 抗凝血。

【操作】

1. 加转化液 标准微量吸管和待测微量吸管各做 3 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测微量吸管吸血到 20 μ 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 求出校准微量吸管和待测微量吸管所测 3 个吸光度的平均值 $A_{\text{校准}}$ 和 $A_{\text{待测}}$ 。计算待鉴定微量吸管平均吸光度的相对误差。

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

5. 判断结果 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,按氰化高铁血红蛋白测定法要求鉴定后得出的数据。

2. 采用健康人抗凝血,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. 微量吸管必须经过水银称重法校正后才能使用。

【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。不同之处是将操作步骤 1 改为蒸馏水 4ml,操作步骤 2 改为吸取 4%(W/V)铁氰化钾溶液 20 μ 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。

由于在鉴定过程中存在标本混匀、加液和比色等环节,故该法的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。

实验三 微量吸管的使用

【目的】 掌握微量吸管的使用方法。

【原理】 挤压乳胶吸头使刻度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 移液管。

【试剂】 洗涤液 3 管(蒸馏水、95%乙醇、乙醚)、生理盐水。

【标本】 抗凝血。

【操作】

1. 准备吸管 将带孔乳胶吸头套在微量吸管上,注意两者连接处应严密不漏气。

2. 加稀释液 取试管 1 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负压。将管尖插入抗凝血,三指慢慢松开,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,将血液吸入乳胶吸头。

4. 拭净余血 用干棉球沿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】 吸管和乳胶吸头连接处应严密不漏气,挤压吸头力度应适宜。吸血时动作宜慢,防止血液吸入乳胶吸头;避免产生气泡。吸血后拭净管外余血以保证血量准确。

【方法学评价】 使用微量吸管是手工法血液一般检查的第一步,因为这是手工操作,有很多因素会影响检验结果的准确性和精度,如吸管的质量、操作者的技术熟练程度和责任心等。应用全自动化血液分析仪时多需要采集静脉血,以克服手工操作的不足。

实验四 改良牛鲍计数板的使用

【目的】 掌握牛鲍计数板(Neubauer hemocytometer)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划分刻度的血细胞计数板中,在显微镜下对所选择区域中的细胞进行计数,再乘以稀释倍数,即可换算成单位体积内的细胞数。

【器材】 牛鲍计数板(血细胞计数板)及盖玻片、显微镜、绸布、微量吸管、试管、吸管或小玻棒。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 2 个同样的计数池。计数池两侧各有一条支持柱,较计数池平面高出 0.10mm。将特制的专用盖玻片覆盖其上,形成高 0.10mm 的计数池。计数池内划有长、宽各 3.0mm 的方格,平均分为 9 个大格,每个大格面积为 1.0mm²,容积为 0.1mm³(μ 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 5 个中方格是红细胞和血小板计