

实验诊断部分

# 诊断学

## 实习指导

主审 王庸晋  
主编 魏 武



人民卫生出版社

■ 实验诊断部分

# · 诊断学

## 实习指导

主 审 王庸晋

主 编 魏 武

副主编 宋志斌 李宏倬 段满乐

编 委 (按姓氏笔画排序)

马文明	王立兵	王庸晋	田 芳	向水芳
闫 慧	刘广明	杜肖刚	李宏倬	宋志斌
宋俊杰	张开红	赵元平	郜国叶	段满乐
侯治国	柴丽莹	郭旭霞	郭金英	翟 玲
燕学强	魏 武			

长沙市卫生学校图书馆



CW0176582

人民卫生出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

诊断学实习指导. 实验诊断部分/魏武主编.

—北京: 人民卫生出版社, 2010. 6

ISBN 978 - 7 - 117 - 12883 - 4

I. ①诊… II. ①魏… III. ①诊断学 - 医学院校 - 教材②实验室诊断 - 医学院校 - 教材 IV. ①R44

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 077079 号

门户网: <a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	出版物查询、网上书店
卫人网: <a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

诊断学实习指导  
实验诊断部分

主 编: 魏 武

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010 - 59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

010 - 59787586 010 - 59787592

印 刷: 三河市富华印刷包装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 8

字 数: 194 千字

版 次: 2010 年 6 月第 1 版 2010 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 12883 - 4/R · 12884

定 价: 20.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

## · 前 言

实验诊断学是现代临床医学的一个重要组成部分,据权威机构对目前住院患者资料的统计,实验诊断数据已经占到全部数据的70%以上,这些数据已经成为临床诊断、治疗、抢救以及健康评价的重要依据。但是,在目前的医学高等教材中还没有一套专用的配套实验指导,我们以《诊断学》教材中的实验诊断内容为基础,结合现代临床医学的需要和现代检验医学的发展组织编写了《诊断学实习指导(实验诊断部分)》,重点介绍了临床检验常见检验项目的实验原理、方法及临床意义。在检验方法方面主要介绍手工操作技术,其主要目的是让学生加深对检测原理的理解以及让学生掌握最基本的实验技能,为提高学生对现代检验设备和技术的理解积累基本知识。

由于我们的水平有限,加之时间短促,不足之处恳请广大读者批评指正。

编 者

2010年3月

# 目 录

<b>第一部分 血液学一般检验</b> .....	1
实验一 血红蛋白测定 .....	1
实验二 红细胞计数 .....	4
实验三 白细胞计数 .....	8
实验四 白细胞分类计数 .....	10
实验五 出血时间测定 .....	14
实验六 血小板计数 .....	16
实验七 红细胞沉降率测定 .....	18
实验八 血细胞比容测定 .....	20
实验九 血浆凝血酶原时间测定 .....	22
实验十 骨髓细胞一般检验技术 .....	24
<b>第二部分 体液一般检验</b> .....	29
实验十一 尿液一般检验 .....	29
实验十二 尿绒毛膜促性腺激素检验 .....	41
实验十三 粪便一般检验 .....	43
实验十四 脑脊液一般检验 .....	47
实验十五 浆膜腔积液一般检验 .....	51
实验十六 精液一般检验 .....	56
实验十七 前列腺液一般检验 .....	62
<b>第三部分 临床生物化学一般检验技术</b> .....	65
实验十八 血清总蛋白检验 .....	65
实验十九 血清白蛋白检验 .....	67
实验二十 血清胆红素检验 .....	70
实验二十一 血清胆汁酸检验 .....	75
实验二十二 血清丙氨酸氨基转移酶检验 .....	77
实验二十三 血清天门冬氨酸氨基转移酶检验 .....	82
实验二十四 血清碱性磷酸酶检验 .....	86
实验二十五 血清 L- $\gamma$ -谷氨酰基转移酶检验 .....	89
实验二十六 血清尿素检验 .....	93
实验二十七 血清肌酐检验 .....	96
实验二十八 内生肌酐清除率测定 .....	98
实验二十九 血清尿酸检验 .....	101
实验三十 血清葡萄糖检验 .....	103
实验三十一 口服葡萄糖耐量试验 .....	106
实验三十二 血清淀粉酶检验 .....	109
实验三十三 血清总胆固醇检验 .....	111
实验三十四 血清甘油三酯检验 .....	117
实验三十五 参观现代化临床实验室 .....	122



# 第一部分 血液学一般检验

## 实验一

### 血红蛋白测定

#### 【目的】

掌握氰化高铁血红蛋白(HiCN)测定方法。

#### 【原理】

血红蛋白(除硫化血红蛋白外)中的亚铁离子( $\text{Fe}^{2+}$ )被高铁氰化钾氧化成高铁离子( $\text{Fe}^{3+}$ ),血红蛋白转化成高铁血红蛋白,高铁血红蛋白与氰离子( $\text{CN}^-$ )结合,生成稳定的氰化高铁血红蛋白(hemoglobin cyanide, HiCN),氰化高铁血红蛋白在波长540nm处有最大吸收峰,根据标本的吸光度可换算出血红蛋白浓度,或者直接用校准好的血红蛋白测定仪进行测定,读出血红蛋白浓度。

#### 【试剂】

##### 1. HiCN 转化液 成分包括:

氰化钾(KCN)	0.05g
高铁氰化钾[ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ]	0.2g
无水磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.14g
Triton X-100(或其他非离子型表面活性剂)	0.5~1.0ml
蒸馏水	加至1000ml
纠正pH至	7.0~7.4

##### 2. HiCN 标准液商品试剂。

##### 3. 血红蛋白质控液。

#### 【器材】

一次性消毒采血针、微量吸管、试管、5ml 移液管、吸耳球、75%乙醇棉球、无菌干棉球、血红蛋白测定仪。

#### 【操作方法】

##### 1. 毛细血管采血

(1) 轻轻按摩采血部位(耳垂或左手无名指指端内侧),使局部组织自然充血。用消毒液消毒工作人员双手,待干。

(2) 用无菌小镊子夹取75%乙醇棉球擦拭采血部位皮肤,待干。

(3) 用左手的拇指、食指和中指固定采血部位,绷紧皮肤和皮下组织,右手持采血针迅速刺入皮肤 2~3mm。注意要有深度且要立即出针。

(4) 待血液自然流出后,用无菌干棉球擦去自然流出的第一滴血液。以后自然流出的血液即可进行采集。如血流不畅,可以自采血部位远端向近端稍施压使血液流出(切不可用力挤压)。

(5) 用微量吸管的一端接触血滴,使血液通过虹吸作用进入吸管流至所需刻度(最多不超过刻度的 2mm)。注意管尖始终不要离开血液。

(6) 用干棉球擦去管外余血,管内血液如果超出所需刻度,可用干棉球轻沾吸管前端使多余的血样被吸至干棉球上。

(7) 将吸管垂直插入相应的稀释液底部,轻轻吹出管中的血液,尽量避免产生气泡,并且不能冲浑稀释液,然后抬高吸管,轻吸上清液漱洗吸管 3 次,注意不能冲浑稀释液。然后紧握橡皮帽慢慢沿着管壁退出,将其内悬液排尽。

(8) 立即混匀血细胞悬液。

(9) 弃去干棉球和微量吸管。

(10) 采血完毕,用小镊子再夹取一个无菌干棉球压住伤口止血片刻。

## 2. 血红蛋白测定

(1) 分别吸取 HiCN 转化液 5ml,按表 1-1 加入到各试管中,然后取末梢血 20 $\mu$ l,加入到测定管中,取 20 $\mu$ l 血红蛋白质控液加入到质控管中,充分混匀(至少 3 次)后置于试管架上静置 5 分钟,使血红蛋白完全转化。

表 1-1 血红蛋白测定操作步骤

	空白管	标准管	测定管	质控管
HiCN 转化液	5ml	—	5ml	5ml
HiCN 标准液	—	5ml	—	—
血液	—	—	20 $\mu$ l	—
质控液	—	—	—	20 $\mu$ l

(2) 打开血红蛋白测定仪开关,仪器预热。

(3) 调零:按动测试键,使仪器吸入空白液。调节调零旋钮使读数显示为“000”。

(4) 校正:按动测试键,吸取 HiCN 标准液,调节校正旋钮使读数显示值与定值标准液浓度相同。

(5) 测试:再次按动测试键,分别吸取质控管和测定管,待仪器所显示的值稳定后记录该数据。

(6) 测试完毕用蒸馏水反复冲洗管道 2~3 次,使仪器处于待用状态。

(7) 报告:根据质控图确定测定结果能否报告。

### 【注意事项】

1. HiCN 转化液不能贮存在塑料瓶中,否则会使 CN<sup>-</sup>丢失,测定结果偏低。HiCN 转化液应贮存在棕色有塞玻璃瓶中,4℃ 冰箱保存一般可用数月,但不能在 0℃ 以下保存。

2. HiCN 转化液是剧毒药品,在配制和保存过程中必须谨慎,防止污染。

3. 测定后的废液必须进行处理,否则会造成环境污染。处理办法为:在  $\text{HiCN}$  废液中加等量自来水混合,在每升稀释废液中加次氯酸钠 35ml,混匀,敞开存放 15 小时,再排入下水道。

4. 为了保证结果的准确性,每批次检测时必须同时进行血红蛋白质控品的测定,质控结果在允许范围方可发出报告,如质控结果超出允许范围,应检查原因并重新进行检测。

**【生物参考区间】**

成年男性:120 ~ 160g/L

成年女性:110 ~ 150g/L

新生儿:170 ~ 200g/L

**【临床意义】**

1. 生理性变化

(1) 增加:新生儿、高原地区居住者、登山运动员、剧烈运动和体力劳动等。

(2) 减少:见于生长发育期造血物质相对不足的 6 个月 ~ 2 岁婴幼儿、造血功能减退的老年人。

2. 病理性变化

(1) 增加:脱水、真性红细胞增多症、代偿性红细胞增多症,如慢性心肺疾病、发绀型先天性心脏病、异常血红蛋白病等。

(2) 减少:各种贫血、白血病、手术后、产后等。



## 实验二

# 红细胞计数

### 【目的】

1. 掌握改良 Neubauer 血细胞计数板的结构及使用方法。
2. 掌握显微镜法红细胞计数的原理及方法。

### 【原理】

用等渗稀释液将血液按一定倍数稀释,充入计数池后在显微镜下计数一定体积内红细胞数,换算求出每升血液中红细胞的数目。

### 【试剂】

红细胞稀释液(Hayem液)成分包括:

氯化钠	1.0g
结晶硫酸钠( $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )	5.0g
(或无水硫酸钠 2.5g)	
升汞( $\text{HgCl}_2$ )	0.5g
蒸馏水	加至 200ml

其中氯化钠的作用是调节渗透压,硫酸钠可防止细胞粘连,升汞(氯化汞)为防腐剂。溶解后加 20g/L 伊红水溶液 1 滴,过滤后备用。

### 【器材】

1. 显微镜。
2. 皮肤采血用具(同实验一)。
3. 计数板 由一厚玻璃板制成,中央分为上下两个相同的计数池,每个计数池的面积是  $9\text{mm}^2$ ,盖上盖玻片后,因有空间,形成刻度域内的标准体积。计数室网格有许多种,现国内通用改良牛鲍(Nebauer)型,其计数池的结构见图 1-1 ~ 图 1-3。

池中分 9 个大方格,每个大方格的边长为  $1\text{mm}$ ,面积为  $1\text{mm}^2$ ,四个角的四个大方格用单线分为 16 个中方格,供计数白细胞用。中央的一个大方格,用双线划分为 25 个中方格,每个中方格又用单线划分成 16 个小方格,共 400 个小方格,供计数红细胞和血小板用,加盖玻片后,盖片与计数池底距离为  $0.1\text{mm}$ ,充液后每个大方格容积为  $0.1\text{mm}^3(0.1\mu\text{l})$ 。

### 【操作方法】

1. 取中号试管 1 支,加红细胞稀释液 1.99ml。
2. 用清洁干燥微量吸管准确吸取末梢血或抗凝血  $10\mu\text{l}$ 。

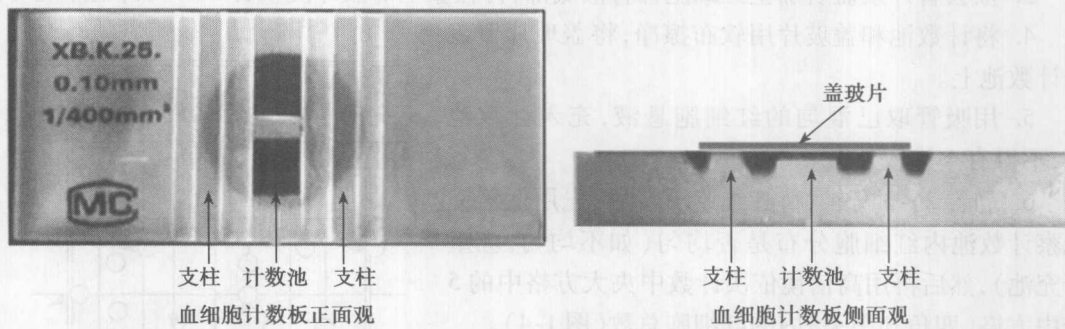


图 1-1 改良牛鲍血细胞计数板

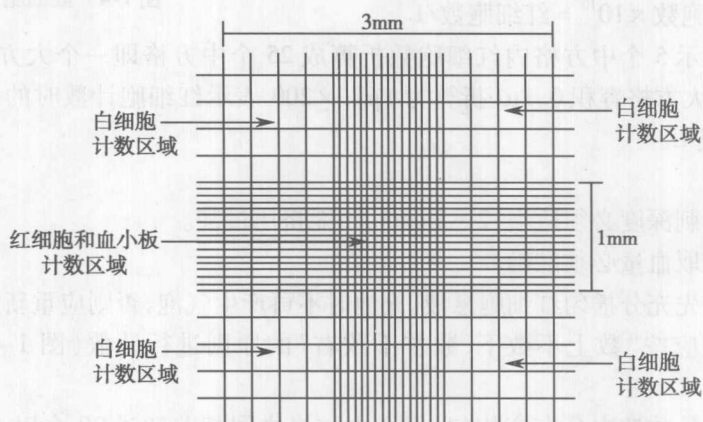


图 1-2 显微镜下改良牛鲍计数池结构示意图(1)

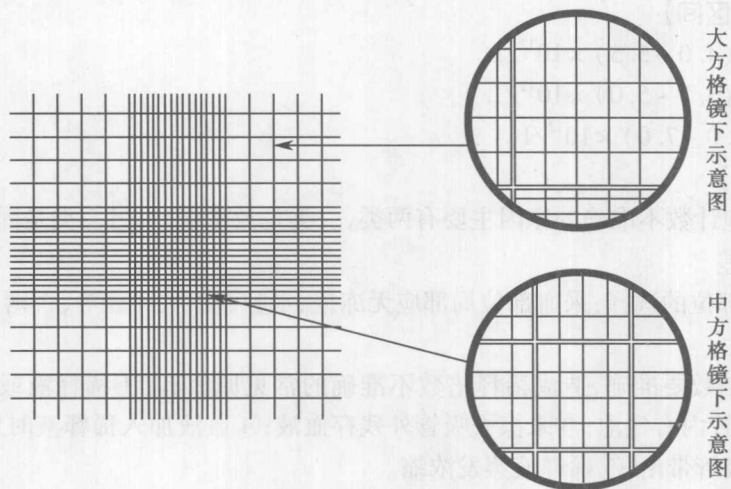


图 1-3 显微镜下改良牛鲍计数池结构示意图(2)

3. 擦去管外余血后加至红细胞稀释液底部,再轻吸上清液冲洗吸管 2~3 次,立即混匀。
4. 将计数池和盖玻片用软布擦净,将盖玻片覆盖于计数池上。

5. 用吸管取已混匀的红细胞悬液,充入计数池中,不得有空泡或外溢。

6. 静置 2~3 分钟,待红细胞下沉后,先用低倍镜观察计数池内红细胞分布是否均匀(如不均匀,应重新充池),然后再用高倍镜依次计数中央大方格中的 5 个中方格(四角和中央)内的红细胞总数(图 1-4)。

#### 【计算】

5 个中方格内红细胞总数  $\times 5 \times 10 \times 200 \times 10^6 = 5$  个中方格内红细胞数  $\times 10^{10} =$  红细胞数/L

式中:  $\times 5$  表示 5 个中方格内红细胞数折算成 25 个中方格即一个大方格中红细胞数;  $\times 10$  表示将一个大方格容积  $0.1\mu\text{l}$  折算为  $1\mu\text{l}$ ;  $\times 200$  表示红细胞计数时的稀释倍数;  $\times 10^6$  表示由  $\mu\text{l}$  换算成 L。

#### 【注意事项】

1. 采血时针刺深度必须适当(2~3mm),不能挤压过甚。
2. 稀释液和取血量必须准确。
3. 充池前应充分摇匀红细胞悬液,充池时不可产生气泡,否则应重新充池。
4. 压线细胞应按“数上不数下,数左不数右”的原则进行计数(图 1-4),以免多数或漏数。
5. 红细胞在计数池中分布应均匀,每个中方格之间相差超过 20 个以上时要重新充池计数。
6. 稀释液要过滤,试管、计数板均须清洁,以免杂质微粒等被误认为细胞。

#### 【生物参考区间】

成人男性:  $(4.0 \sim 5.5) \times 10^{12}/\text{L}$

成人女性:  $(3.5 \sim 5.0) \times 10^{12}/\text{L}$

新生儿:  $(6.0 \sim 7.0) \times 10^{12}/\text{L}$

#### 【质量控制】

造成红细胞计数不准确的原因主要有两类,一类是技术误差,另一类是固有误差。

##### 1. 技术误差

(1) 取血部位的选择:采血部位局部应无冻疮、水肿、发绀、炎症等,否则可影响结果,使标本失去代表性。

(2) 稀释倍数要准确,造成稀释倍数不准确的常见原因有:①稀释液或血液吸取不准确;②吸血时吸管内有气泡;③未擦去吸管外残存血液;④血液加入稀释液时用力过猛,冲浑悬液或血液被吸管带出;⑤稀释液蒸发浓缩。

(3) 操作时动作太慢或者吸管内残余乙醇等,都可以使血液凝固。含冷凝集素的血样很易发生冷凝集,应将血细胞悬液温至  $45 \sim 50^\circ\text{C}$ ,趁热离心沉淀,除去大部分上清液后再用  $30^\circ\text{C}$  的温盐水恢复至 2ml,混匀后抓紧时间计数。

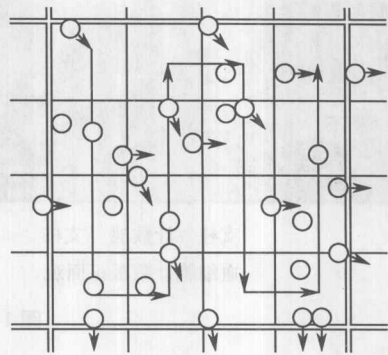


图 1-4 红细胞计数方式

(4) 混合悬液时用力过猛会产生大量气泡,致气泡与溶液中细胞分布不均,造成计数不准。

(5) 充液时应一次充满计数池,如有充液不足、外溢、断续充液、产生气泡等现象都会影响计数结果。

(6) 计数池内细胞分布不均,当每个大方格内细胞数有明显差异时,应重新充液。

(7) 误认:如将污染的酵母菌等误认为红细胞。

(8) 应使用经校正的微量吸管和计数板计数。

(9) 当白细胞计数很高时( $>100 \times 10^9/L$ ),报告结果应从红细胞计数中减去白细胞数报告。

2. 固有误差 主要指计数域误差,是由于每次充池后血细胞在计数室内分布不可能完全均匀一致所造成的误差,根据统计学研究,计数任何区域的细胞数  $n$ ,有 95% 的机会落在  $n \pm 2s$  的范围内。

细胞计数标准差:  $s = \sqrt{n}$

细胞计数的变异系数:  $CV = \frac{s}{n} \times 100\% = \frac{\sqrt{n}}{n} \times 100\% = \frac{1}{\sqrt{n}} \times 100\%$

95% 的可信限 = 计数值  $\pm 2s$

$n$ : 表示计数区域内所有细胞的总和。

### 【临床意义】

通常情况下,单位容积血液中红细胞数量与血红蛋白量大致呈平行的对应关系( $1 \times 10^{12}/L : 30g/L$ )。但在病理情况下,此比例关系会打破,因此两者同时测定对疾病的诊断更有意义。

#### 1. 红细胞增多

(1) 相对性增多:指因血浆容量减少,造成红细胞数量相对增加。见于严重呕吐、腹泻、大量出汗、大面积烧伤、慢性肾上腺皮质功能减退等疾病。

(2) 绝对性增多:临床上称为红细胞增多症,是一种由多种原因引起红细胞增多的综合征。按发病原因可分为继发性 and 原发性两类,后者即真性红细胞增多症。继发性红细胞增多症是一种非造血系统疾病,发病的主要原因是血液中红细胞生成素增多。

1) 红细胞生成素代偿性增加:因血氧饱和度减低,组织缺氧所引起。见于胎儿及新生儿,高原地区居民,严重的慢性心肺疾患,如阻塞性肺气肿、肺源性心脏病、发绀型先天性心脏病,以及携氧能力低的异常血红蛋白病等。

2) 红细胞生成素非代偿性增加:这类疾病的患者组织无缺氧,红细胞生成素增加与某些肿瘤或肾脏疾患有关,如肾癌、肝细胞癌、子宫肌瘤、卵巢癌、肾胚胎瘤、肾盂积水、多囊肾等。

#### 2. 红细胞减少

(1) 生理性减少:生长发育期儿童,因身体生长发育迅速,红细胞生成相对不足。妊娠中、后期的孕妇血浆容量增加,使血液稀释,表现出不同程度的贫血;老年人因骨髓造血功能减低,导致红细胞减少。

(2) 病理性减少:各种原因导致的贫血。按照病因和发病机制进行分类,可将贫血分为红细胞生成减少性贫血、红细胞破坏过多性贫血和失血性贫血三大类。



## 实验三

# 白细胞计数

### 【目的】

掌握显微镜法白细胞计数的原理及方法。

### 【原理】

血液经白细胞稀释液稀释,成熟红细胞全部溶解,白细胞却保留完整的形态,混匀后充入计数池,在显微镜下计数一定体积中的白细胞数,换算出每升血液中白细胞数量。

### 【试剂】

白细胞稀释液 成分包括:

冰醋酸	2ml
蒸馏水	98ml
10g/L 亚甲蓝溶液	3 滴

混匀过滤后备用。白细胞稀释液为低渗溶液,可溶解红细胞,冰醋酸可加速其溶解,并能固定核蛋白,使白细胞核形态清晰,便于辨认。

### 【器材】

同红细胞显微镜计数法。

### 【操作方法】

1. 取小试管 1 支,加白细胞稀释液 0.38ml。
2. 用微量吸管准确吸取末梢血或抗凝血 20 $\mu$ l,擦去管外余血,将吸管插入小试管中稀释液底部,轻轻将血放出,并吸取上清液清洗吸管 3 次,混匀。
3. 待红细胞完全破坏,液体变为棕褐色后,再次混匀后充池,静置 2~3 分钟待白细胞下沉。
4. 用低倍镜计数四角 4 个大方格内的白细胞数。对于压线的白细胞按“数上不数下、数左不数右”的原则计数。

### 【计算】

$$\begin{aligned}\text{白细胞数/升} &= \frac{\text{四个大方格内白细胞总数}}{4} \times 10 \times 20 \times 10^6 \\ &= \text{四个大方格内白细胞数} \times 50 \times 10^6\end{aligned}$$

式中:  $\div 4$ : 得出每个大格内白细胞数;  $\times 10$ : 由 0.1 $\mu$ l 换算为 1 $\mu$ l;  $\times 20$ : 乘以稀释倍数, 得出 1 $\mu$ l 血液中白细胞数;  $\times 10^6$ : 由 1 $\mu$ l 换算为 1L。



**【注意事项】**

1. 采血时不能挤压过甚,针刺深度必须适当。
2. 稀释液和取血量必须准确。
3. 充池前应先充分摇匀血样后再充池,充池时不可产生气泡,否则应重新充池。
4. 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。
5. 一些贫血患者有核红细胞增多,会当做白细胞计数,应校正除去。

校正公式:

$$\text{标准值} = \frac{100A}{100 + B}$$

$A$  为校准前白细胞值,  $B$  为白细胞分类计数时 100 个白细胞所能见到的有核红细胞数,当  $B \geq 10$  时,白细胞计数结果必须校正。

6. 白细胞太低者 ( $< 2 \times 10^9/L$ ), 可计数 9 个大方格内白细胞数或 8 个大方格内的白细胞数,然后在上面的计算公式中除以 9 (或除以 8)。或者重新取血  $40\mu\text{l}$  计数,将所得结果除以 2。白细胞数太高者,可增加稀释倍数重新计数,计算方法则视实际稀释倍数而定。

7. 计数时,二次重复计数误差不得超过 10%。

**【生物参考区间】**

成人:  $(4 \sim 10) \times 10^9/L$

新生儿:  $(15 \sim 20) \times 10^9/L$

6 个月 ~ 2 岁:  $(4 \sim 12) \times 10^9/L$

**【临床意义】**

## 1. 增加

(1) 生理性增加: 新生儿、妊娠晚期、分娩期、月经期、剧烈运动后、饭后、冷水浴后、极度恐惧、疼痛及重度吸烟者等可增高。

(2) 病理性增加: 急慢性感染 (细菌、某些病毒、真菌、螺旋体、立克次体、寄生虫等感染)、组织损伤 (严重外伤、大手术、大面积烧伤、急性心肌梗死等)、急性失血、恶性肿瘤、急性中毒等。

2. 减少 病毒感染、革兰氏阴性杆菌 (伤寒) 感染、再生障碍性贫血、极度严重感染、脾功能亢进、X 线照射、自身免疫疾病等。

## 实验四

# 白细胞分类计数

### 【目的】

掌握显微镜外周血白细胞分类计数的方法及各种白细胞的正常形态。

### 【原理】

瑞氏染色法使细胞着色既有物理吸附作用,又有化学亲和作用。各种细胞及细胞的各种成分由于其化学性质不同,对各种染料的亲和力也不一样,因此,在血片上可以见到不同的着色,根据各类白细胞形态特征进行分类计数,得出各类白细胞相对比值,同时观察白细胞的形态变化。

### 【试剂】

#### 1. 瑞氏染液 成分包括:

瑞氏染料(粉)	1.0g
甲醇(AR级以上)	600.0ml

将全部染料放入研钵内,先加少量甲醇慢慢地研磨(至少半小时),以使染料充分溶解,再加一些甲醇混匀,然后将溶解的部分倒入洁净的棕色瓶内。研钵内剩余的未溶解的染料,再加入少许甲醇细研,如此多次研磨,直至染料全部溶解,甲醇用完为止。配好后室温下密闭保存。

#### 2. 磷酸盐缓冲液(pH6.4~6.8) 成分包括:

磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.3g
磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	0.2g
蒸馏水	加至 1000.0ml

配好后用磷酸盐溶液校正 pH,如无缓冲液可用新鲜蒸馏水代替。

### 【器材】

1. 皮肤采血用具(同实验一)。
2. 载玻片及推片。
3. 显微镜。

### 【操作方法】

1. 血液涂片的制备 取末梢血 1 滴,置于载玻片的一端,取另一边缘光滑的推片,放在血滴前面慢慢后移,接触血滴后稍停,血液即沿推片边缘散开,将推片与载玻片保持  $30^\circ \sim 45^\circ$  角,向前平稳推动推片,载玻片上便留下一层薄血膜(图 1-5)。血涂片制成后,立即在空

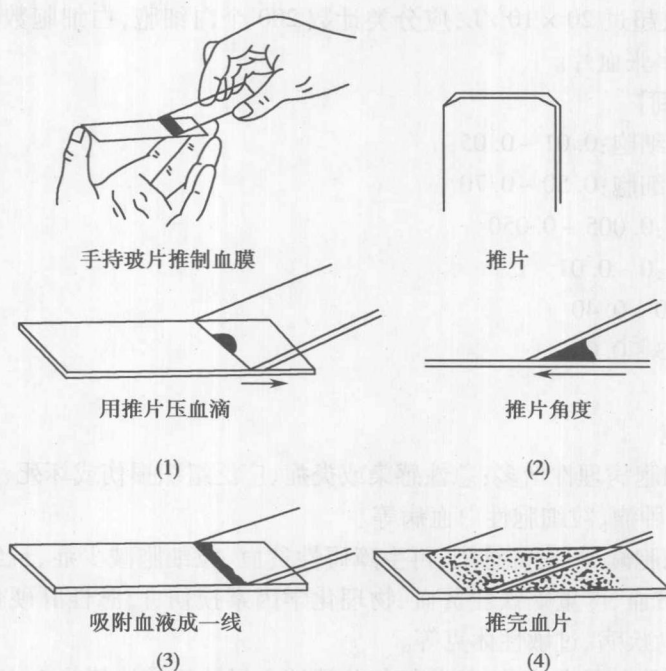


图 1-5 血涂片的制备

气中挥动,使其迅速干燥,以免血细胞变形。

2. 用蜡笔在血膜两头画线(切记保留血膜尾部,因为异常大细胞和微丝蚴等多存在于血片的边缘和尾部),以防染液溢出,然后将血片平放在染色架上。

3. 用瑞氏染液 3~5 滴覆盖整个血膜,固定细胞 0.5~1 分钟。

4. 滴加等量或稍多的缓冲液,用吸耳球吹气使其与染液充分混匀,染色 5~10 分钟。

5. 慢慢摇动玻片,然后用流动水从玻片的一侧冲去染液,待血片自然干燥后(或用滤纸吸干),即可镜检。

6. 先用低倍镜观察全片的染色质量和细胞分布情况,注意血片的边缘和尾部是否有巨大异常细胞和微丝蚴等,然后选择血涂片体尾交界处染色良好的区域,用油镜自血膜的体尾交界处向头部方做迂回检查,线路呈“弓”字形,但不要检查血膜的边缘(大细胞偏多,没有代表性),将所见白细胞分别记录,共计数 100 个或者 200 个白细胞,最后求出各种细胞所占的百分比值。

**【注意事项】**

1. 所制血膜要厚薄均匀适度,头体尾明显,边缘整齐,头尾及两侧有一定的空隙,血膜头部有明确的患者标志。

2. 一些体积较大的特殊细胞常在血膜的尾部出现,因此蜡笔画线时应注意保存血膜尾部细胞,血膜必须充分干燥,否则在染色过程中容易脱落。

3. 许多因素可影响血涂片的厚度。血滴大、血黏度高、推片角度大、推片速度快则血涂片厚;反之,则血涂片薄。针对不同患者应有的放矢,对血细胞比容高、血黏度高的患者应采用小血滴、小角度、慢推;而贫血患者则应采用大血滴、大角度、快推。

4. 分类计数时应同时注意白细胞、红细胞、血小板的形态,以及是否有血液寄生虫。

5. 白细胞总数超过  $20 \times 10^9/L$ , 应分类计数 200 个白细胞, 白细胞数明显减少 ( $< 3 \times 10^9/L$ ) 时, 可检查多张血片。

### 【生物参考区间】

中性杆状核粒细胞: 0.01 ~ 0.05

中性分叶核粒细胞: 0.50 ~ 0.70

嗜酸性粒细胞: 0.005 ~ 0.050

嗜碱性粒细胞: 0 ~ 0.01

淋巴细胞: 0.20 ~ 0.40

单核细胞: 0.03 ~ 0.08

### 【临床意义】

#### 1. 中性粒细胞

(1) 中性粒细胞病理性增多: 急性感染或炎症、广泛组织损伤或坏死、急性溶血、急性失血、急性中毒、恶性肿瘤、粒细胞性白血病等。

(2) 中性粒细胞减少: 病毒感染、再生障碍性贫血、粒细胞减少症、粒细胞缺乏症、部分急性白血病、恶性贫血、严重缺铁性贫血、物理化学因素损伤、门脉性肝硬化、系统性红斑狼疮、某些自身免疫性疾病、过敏性休克等。

(3) 中性粒细胞的核象变化: 杆状核与分叶核之间的正常比值为 1:13, 如比值增大, 或者出现杆状核以前更幼稚阶段的粒细胞称核左移; 如分叶核粒细胞分叶过多, 分叶在 5 叶以上的细胞超过 3% 时称为核右移。白细胞数结合核左移程度对病情的严重程度和机体的反应能力估计具有一定的价值。如白细胞总数和中性粒细胞百分数都增高, 轻度核左移, 表示感染程度较轻, 机体抵抗力较强; 如白细胞总数和中性粒细胞百分数均增高, 中度核左移或有中毒性改变, 表示严重感染。核右移主要见于巨幼细胞贫血和应用抗代谢药物治疗后; 在感染的恢复期, 也可出现一过性核右移现象, 如在疾病进展期出现中性粒细胞核右移变化, 则提示预后不良。

#### 2. 嗜酸性粒细胞

(1) 嗜酸性粒细胞生理性变化: 在劳动、寒冷、饥饿、精神刺激等情况下, 交感神经系统兴奋, 血中嗜酸性粒细胞减少。

(2) 嗜酸性粒细胞增多: ①寄生虫病: 是临床上最常见的引起嗜酸性粒细胞增多的病因; 如血吸虫、丝虫、包囊虫、钩虫等感染时, 血中嗜酸性粒细胞增高; ②变态反应性疾病: 如支气管哮喘、荨麻疹、食物过敏、过敏性肺炎、血管神经性水肿等疾病时, 嗜酸性粒细胞轻度或中度增高; ③某些皮肤病: 如湿疹、剥脱性皮炎、天疱疮、银屑病等疾病时, 嗜酸性粒细胞可轻度或中度增高; ④血液病: 如慢性粒细胞性白血病、多发性骨髓瘤、恶性淋巴瘤、真性红细胞增多症等疾病时, 嗜酸性粒细胞可明显增多; ⑤其他: 风湿性疾病、脑腺垂体功能减退症、肾上腺皮质功能减退、某些恶性肿瘤、某些传染病的恢复期等嗜酸性粒细胞增多。

(3) 嗜酸性粒细胞减少: 见于长期应用肾上腺皮质激素、某些急性传染病(如伤寒)的急性期等。

#### 3. 嗜碱性粒细胞

(1) 嗜碱性粒细胞增多见于: ①骨髓增生性疾病: 嗜碱性粒细胞增高可作为骨髓增生性疾病的一个早期征象; 如慢性粒细胞白血病嗜碱性粒细胞增多可达 10% 或更多, 真性红细胞