

2018



全国卫生专业技术资格考试  
推荐辅导用书

# 临床医学检验技术(师) 应试指导与历年考点串讲

要考过，找“科学”！



科学出版社

# 全国卫生专业技术资格考试 推荐辅导用书

特点1

## 推荐用书

面向全国考生推荐的辅导教材，依据最新大纲编写，考试通过率高。

特点2

## 通过率高

分析历年考试题，串讲历年考点，把握命题方向，近年来考试通过率高出全国平均通过率。

## 相关新产品

2018 临床医学检验技术（士）应试指导与历年考点串讲

2018 临床医学检验技术（师）应试指导与历年考点串讲

2018 临床医学检验学与检验技术（中级）应试指导与历年考点串讲

2018 临床医学检验技术（士）模拟试卷及解析（试卷袋）

2018 临床医学检验技术（师）模拟试卷及解析（试卷袋）

2018 临床医学检验技术（中级）模拟试卷及解析（试卷袋）

销售分类 医学考试用书

科学出版社 医学学术出版中心  
电话：010-63733982（投稿）64019242（购书）  
E-mail: med-prof@mail.sciencep.com



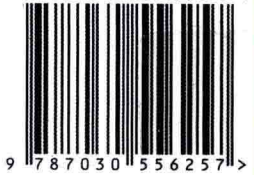
赛医学医药卫生订阅号



本书在线资源获取

www.sciencep.com

ISBN 978-7-03-055625-7



定价：108.00 元

全国卫生专业技术资格考试推荐辅导用书

# 临床医学检验技术（师） 应试指导与历年考点串讲

主 编 傅占江

副主编 隋慧雪 黄 凯

编 委 （以姓氏笔画为序）

王宏宇 王缚鲲 牛霄英 冉向阳

代晓朋 杨子健 张海普 黄 凯

盖丽娜 隋慧雪 傅占江



科 学 出 版 社

北 京

## 内 容 简 介

《临床医学检验技术(师)应试指导与历年考点串讲》是全国中初级卫生专业技术资格统一考试推荐辅导用书之一。全书按照最新考试大纲的要求,在分析了历年考题和考点的基础上,认真总结考试的命题规律后精心编写而成。在编写结构上分为精讲和历年考点串讲两部分。精讲部分按照考试大纲的要求展开,对常考或可能考的知识点给予全面、详细的讲解。为了突出重点,对需要重点记忆的内容和关键词分别以波浪线和黑体字标示。历年考点串讲部分列出了考试单元的高频考点,简明扼要,提示考生一定要熟记。

本书紧扣考试大纲,内容全面,重点突出,准确把握考试的命题方向,有的放矢,是参加临床医学检验技术专业初级(师)资格考试的考生复习必备的重要辅导书。

与本书配套出版的还有《临床医学检验技术(师)模拟试卷及解析》。

### 图书在版编目(CIP)数据

临床医学检验技术(师)应试指导与历年考点串讲 / 傅占江主编. —北京:科学出版社, 2018.1

全国卫生专业技术资格考试推荐辅导用书

ISBN 978-7-03-055625-7

I. ①临… II. ①傅… III. ①临床医学—医学检验—资格考试—自学参考资料 IV. R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 288577 号

责任编辑:李玉梅 肖芳 / 责任校对:郭瑞芝

责任印制:赵博 / 封面设计:吴朝洪

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>

三河市书文印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2018 年 1 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018 年 1 月第一次印刷 印张: 34 1/4

字数: 952 000

定价: 108.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

# 出版说明

全国卫生专业技术资格考试（中初级）是国家卫生计生委人才交流服务中心组织的国家级专业技术资格考试。通过考试取得专业技术资格，表明其已具备担任卫生系列专业相应技术职务的水平和能力，各用人单位以此为依据，从获得资格证书的人员中择优聘任。目前，该考试实行全国统一组织、统一考试时间、统一考试大纲、统一考试命题、统一合格标准的考试制度，覆盖医、药、护、技4个系列的100多个专业，每年参加考试的人数逾百万。其考试通过率各专业略有不同，一般为50%左右。实际的考试中一般会有5%左右的超大纲考题，具有一定难度。

为了帮助广大考生做好考前复习，我社组织了权威专家，对考试的命题规律和考试特点进行了精心分析研究，严格按照考试大纲的要求，出版了“全国卫生专业技术资格考试推荐辅导用书”，主要为两大系列：“应试指导与历年考点串讲”系列和“模拟试卷及解析”系列。针对护理学、药学等考生人数较多的专业，还出版了“单科考试辅导”“同步练习及解析”“考前冲刺必做”等图书，以满足全国广大考生不同的复习需要。

“全国卫生专业技术资格考试推荐辅导用书”紧扣考试大纲，内容的安排既考虑知识点的全面性，又结合考试实际，突出重点、难点，在编写形式上力求便于考生理解和记忆，使考生在有限时间内扎实掌握大纲所要求的知识，顺利通过考试。

“应试指导与历年考点串讲”系列的突出特点是分析了历年数千道考试题的思路，串讲历年考点，把握考试命题方向，有针对性地对考点知识进行详细阐述。

“模拟试卷及解析”系列是参考真实考试的思路，将一般知识、重点知识、难点知识进行有针对性、按比例地编写组卷。每个专业一般有3~5套试卷，1200~2000道试题。这个系列的突出特点是试题质量高，贴近真实考试的出题思路及出题方向。

科学出版社医学考试中心团队由原人民军医出版社医学考试中心的骨干核心力量组成。经过十余年的努力，我们在全国护士执业资格考试、全国卫生专业技术资格考试、国家医师资格考试、国家执业药师资格考试等医学考试用书的策划、出版及培训方面积累了宝贵的理论和实践经验，取得了较好的成绩，得到了考生的一致好评。我们将秉承“军医版”图书一贯的优良传统和优良作风，并将科学出版社“高层次、高水平、高质量”和“严肃、严密、严格”的“三高三严”的要求贯彻到图书的编写、出版过程，继续为考生提供更好、更标准的服务。

本套考试用书对知识点的把握非常准，试题与真实考试的符合率非常高，许多考生参加考试之后对本套考试用书的质量给予了高度认可。考生通过考试之后对我们出版工作的由衷感谢、支持，是鼓励我们不断努力把考试产品做得更好的不竭动力。

本版书依据最新考试大纲重新编写，各学科的专家对所有指导和试卷进行了仔细审读，对以往版本中存在的个别错误进行了修正。但由于编写及出版时间紧、任务重，书中的不足之处，请读者批评指正。

# 目 录

<b>第1部分 临床检验基础</b> .....	1
第1单元 血液样本采集和血涂片制备.....	1
第2单元 红细胞检查.....	5
第3单元 白细胞检查.....	17
第4单元 血液分析仪及其临床应用.....	25
第5单元 血型和输血.....	32
第6单元 尿液生成和标本采集及处理.....	39
第7单元 尿理学检验.....	42
第8单元 尿有形成分检查.....	47
第9单元 尿液化学检查.....	55
第10单元 尿液分析仪及其临床应用.....	67
第11单元 粪便检验.....	73
第12单元 脑脊液检验.....	78
第13单元 浆膜腔积液检验.....	85
第14单元 精液检查.....	91
第15单元 前列腺液检查.....	95
第16单元 阴道分泌物检查.....	97
第17单元 羊水检查.....	99
第18单元 痰液与支气管灌洗液检验.....	101
第19单元 胃液和十二指肠引流液检验.....	103
第20单元 脱落细胞检查.....	106
<b>第2部分 临床血液学检验</b> .....	118
第1单元 绪论.....	118
第2单元 造血与血细胞分化发育.....	119
第3单元 骨髓细胞学检查.....	122
第4单元 血细胞化学染色的临床应用.....	128
第5单元 血细胞超微结构检查的临床应用.....	135
第6单元 血细胞染色体检查的临床应用.....	137
第7单元 贫血概述.....	140
第8单元 溶血性贫血的实验诊断.....	143
第9单元 红细胞膜缺陷性贫血及其实验诊断.....	146
第10单元 红细胞酶缺陷性贫血及其实验诊断.....	149
第11单元 血红蛋白异常所致的贫血及其实验诊断.....	151
第12单元 自身免疫性溶血性贫血及其实验诊断.....	155
第13单元 铁代谢障碍性贫血及其实验诊断.....	157
第14单元 脱氧核苷酸合成障碍性贫血及其实验诊断.....	160

第 15 单元	造血功能障碍性贫血及其实验诊断	161
第 16 单元	白血病概述	164
第 17 单元	急性淋巴细胞白血病及其实验诊断	167
第 18 单元	急性髓细胞白血病及其实验诊断	169
第 19 单元	慢性白血病及其实验诊断	174
第 20 单元	特殊类型白血病及其实验诊断	176
第 21 单元	骨髓增生异常综合征及其实验诊断	180
第 22 单元	恶性淋巴瘤及其实验诊断	181
第 23 单元	浆细胞病及其实验诊断	183
第 24 单元	骨髓增生性疾病及其实验诊断	185
第 25 单元	恶性组织细胞病及其实验诊断	188
第 26 单元	其他白细胞疾病及其实验诊断	189
第 27 单元	类脂质沉积病及其实验诊断	191
第 28 单元	血栓与止血的基本理论	192
第 29 单元	血栓与止血检验基本方法	200
第 30 单元	常见出血性疾病的实验诊断	214
第 31 单元	常见血栓性疾病的实验诊断	220
第 32 单元	抗凝与溶栓治疗的实验室监测	222
第 33 单元	出凝血试验的自动化	224
<b>第 3 部分</b>	<b>临床化学</b>	<b>226</b>
第 1 单元	绪论	226
第 2 单元	糖代谢紊乱及糖尿病的检查	227
第 3 单元	脂代谢及高脂蛋白血症	238
第 4 单元	血浆蛋白质检查	245
第 5 单元	诊断酶学	250
第 6 单元	体液平衡紊乱及其检查	255
第 7 单元	钙、磷、镁代谢与微量元素	262
第 8 单元	治疗药物监测	266
第 9 单元	心肌损伤的生化标志物	271
第 10 单元	肝胆疾病的实验室检查	275
第 11 单元	肾功能及早期肾损伤的检查	281
第 12 单元	胰腺疾病的检查	286
第 13 单元	内分泌疾病的检查	289
第 14 单元	临床化学常用分析技术	294
第 15 单元	临床化学自动分析仪	298
<b>第 4 部分</b>	<b>临床免疫学和免疫学检验</b>	<b>300</b>
第 1 单元	免疫学概论	300
第 2 单元	抗原抗体反应	314

第3单元	免疫原和抗血清的制备	318
第4单元	单克隆抗体与基因工程抗体的制备	324
第5单元	凝集反应	329
第6单元	沉淀反应	331
第7单元	放射免疫技术	335
第8单元	荧光免疫技术	337
第9单元	酶免疫技术	341
第10单元	化学发光免疫分析技术	347
第11单元	生物素-亲和素免疫放大技术	350
第12单元	固相膜免疫测定	353
第13单元	免疫组织化学技术	356
第14单元	免疫细胞的分离及其功能检测	360
第15单元	细胞因子与细胞黏附分子检测及应用	365
第16单元	免疫球蛋白检测及应用	366
第17单元	补体检测及应用	369
第18单元	流式细胞仪分析技术及应用	372
第19单元	免疫自动化仪器分析	375
第20单元	免疫学检验的质量保证	380
第21单元	感染性疾病与感染免疫检测	386
第22单元	超敏反应性疾病及其免疫检测	395
第23单元	自身免疫性疾病及其免疫检测	399
第24单元	免疫增殖性疾病及其免疫检测	404
第25单元	免疫缺陷病及其免疫检测	407
第26单元	肿瘤免疫及其免疫检测	410
第27单元	移植免疫及其免疫检测	414
<b>第5部分 微生物学和微生物学检验</b>		<b>421</b>
第1单元	绪论	421
第2单元	细菌的形态结构与功能	423
第3单元	细菌的生理与遗传变异	425
第4单元	细菌感染的病原学诊断	429
第5单元	抗菌药物敏感试验	439
第6单元	细菌的分类与命名	443
第7单元	革兰阳性球菌	445
第8单元	革兰阴性球菌	448
第9单元	肠杆菌科	449
第10单元	不发酵革兰阴性杆菌	456
第11单元	其他革兰阴性杆菌	458
第12单元	弧菌科	460
第13单元	弯曲菌与螺杆菌	463

第 14 单元	需氧革兰阳性杆菌	464
第 15 单元	棒状杆菌属	466
第 16 单元	分枝杆菌属	467
第 17 单元	放线菌属与诺卡菌属	469
第 18 单元	厌氧菌	470
第 19 单元	螺旋体	475
第 20 单元	支原体	477
第 21 单元	衣原体	479
第 22 单元	立克次体	481
第 23 单元	真菌学总论	484
第 24 单元	浅部感染真菌	486
第 25 单元	深部感染真菌	487
第 26 单元	病毒学总论	490
第 27 单元	呼吸道病毒	492
第 28 单元	肠道病毒	495
第 29 单元	肝炎病毒	496
第 30 单元	疱疹病毒	499
第 31 单元	黄病毒	501
第 32 单元	反转录病毒	502
第 33 单元	其他病毒、朊粒	503
第 34 单元	微生物实验室生物安全	505
第 35 单元	消毒灭菌和医院感染	507
第 36 单元	细菌耐药性监测	510
第 37 单元	微生物自动化检测	512
第 38 单元	微生物学检验的质量保证	513
第 39 单元	临床微生物学检验标本的采集	514
<b>第 6 部分 寄生虫学检验</b>		<b>519</b>
第 1 单元	总论	519
第 2 单元	医学蠕虫	520
第 3 单元	医学原虫	528
第 4 单元	医学节肢动物	533
第 5 单元	寄生虫检验技术	537

# 第1部分 临床检验基础

## 第1单元 血液样本采集和血涂片制备

### 一、血液的生理概要

#### (一) 血液组成

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。血液抗凝离心后除去细胞成分即为血浆。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）、凝血因子 II（凝血酶原）、凝血因子 V、凝血因子 VIII 等。

全血适用于临床血液学检查，如血细胞计数、分类和形态学检查等。血浆适用于血浆生理性和病理性化学成分的测定，特别是内分泌激素测定；血浆除钙离子外，含有其他全部凝血因子，亦适用于血栓和止血的检查。血清适用于临床化学和临床免疫学检查。

#### (二) 血液理化性质

1. **血量** 正常成人 4~5L，占体重 6%~8%。其中血浆占 55%，血细胞占 45%。男性比女性血量略多，女性妊娠期间血量可增加 23%~25%。
2. **颜色** 动脉血呈鲜红色；静脉血呈暗红色。
3. **酸碱度** pH 7.35~7.45。
4. **比重（比重）** 血液比重男性 1.055~1.063，女性 1.051~1.060；血浆比重 1.025~1.030；血细胞比重 1.090。
5. **血浆渗透压**：正常人为 290~310mmol/L [290~310mOsm/ (kg·H<sub>2</sub>O)]。

#### (三) 血液特性

1. **红细胞悬浮稳定性** 正常人红细胞呈均匀混悬状态，与红细胞膜表面的唾液酸根所带负电荷、血浆成分、血浆黏度和血流动力学等有关。
2. **黏滞性** 健康成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。与血浆中纤维蛋白原、球蛋白等大分子的蛋白浓度有关，它们的浓度越高，血浆黏度越高。
3. **凝固性** 血液离开血管后，因凝血因子激活，数分钟内会自行凝固。

#### (四) 血液生理功能

血液的生理功能包括运输、协调、维护机体内环境稳定和防御功能。

1. **运输功能** 血液可运送氧气和各种营养成分到全身各个脏器和组织，同时将各种代谢产物通过血液输送到肺、肾等排出体外。
2. **协调功能** 将各种激素、酶类运到相关组织器官，以协调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** 血液中的白细胞、抗体、补体、细胞因子具有强大免疫功能，血小板、凝血因子具有止血和凝血作用。

### 二、血液标本的采集

#### (一) 静脉采血法

1. **普通静脉采血** 成人静脉采血以肘部静脉、手背静脉、内踝静脉或股静脉为多。小儿可

从颈外静脉采血,但操作有危险性,少用为宜。

2. 真空采血法 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、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,能有效保护血液有形成分,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(表 1-1)。一次采血、多管血液分配顺序:

表 1-1 常用真空采血容器

容器盖颜色	添加剂	注意事项	用途
红色	无	凝块形成需 30~60min	化学、血清学、血库
紫色	EDTA	须颠倒混匀 8 次	全血细胞计数
淡蓝色	枸橼酸盐	须颠倒混匀 3~4 次,血液与抗凝剂比例为 9:1	凝血检查(PT、APTT、凝血因子测定)
绿色	肝素钠、肝素锂、肝素铵	根据实验需要,选择不同类型的肝素;须颠倒混匀 8 次	化学
灰色	氟化钠	须颠倒混匀 8 次	葡萄糖、糖耐量
黄色	多聚茴香脑磺酸钠	须颠倒混匀 8 次	血培养
金黄色	分离胶/凝块激活剂	须颠倒混匀 8 次	化学
淡绿色	分离胶/肝素锂	须颠倒混匀 8 次	化学
黑色	枸橼酸钠	血液与抗凝剂比例为 4:1;须颠倒混匀 8 次	红细胞沉降率
橘红色	促凝剂	须颠倒混匀 8 次;静置 5min,离心	快速生化实验

(1) 使用玻璃采血管,多管采集血液标本顺序:血培养管、无抗凝剂血清管、枸橼酸钠抗凝管、其他抗凝管。

(2) 使用塑料采血管顺序:血培养(黄管)、枸橼酸钠抗凝管(蓝色)、加或未加抗凝剂或分离胶的血清管、加或未加分离胶的肝素管(绿色)、EDTA 抗凝管(紫色)、加葡萄糖分解抑制剂管(灰色)。

## (二) 皮肤采血法

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,但含细胞间质和细胞内液。采血部位通常为耳垂或手指,手指采血操作方便,检查结果比较恒定,世界卫生组织(WHO)推荐血液常规检查采集左手无名指指端内侧血液,婴幼儿可采集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。

## (三) 方法学评价

1. 皮肤采血 简便、快速、经济,但易于溶血、凝血、混入组织液,影响检查结果。

2. 静脉采血 ①普通静脉采血价格较低。缺点是操作环节多、难以规范,易造成血液污染。②封闭式的真空采血法操作规范,有利于样本收集运送和保存,能有效地防止院内感染,但价格较贵。

## (四) 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。一日之间,白细胞数、嗜酸性粒细胞数、血小板等均有一定波动。

2. 采血操作对检验结果的影响 采血部位、体位、输液等对血液成分有一定影响。止血带结扎时间应小于 3min,否则血液会混入组织液,或缺氧引起血液成分变化。

3. 溶血 血细胞内外成分差异很大(表 1-2),故溶血使红细胞计数、血细胞比容、血浆或血清化学成分(如钾、镁、转氨酶、胆红素)等多项指标发生变化。

表 1-2 溶血引起部分物质血清浓度的变化

相关成分	红细胞内浓度与血清比率	1%溶血后血清浓度变化(%)
乳酸脱氢酶	160:1	+272.5
AST	40:1	+220.0
ALT	6.7:1	+55
葡萄糖	0.82:1	-5.0
磷酸盐	0.78:1	+9.1
钾	23:1	+24.4
钠	0.11:1	-1.0
钙	0.10:1	+2.9

4. 样本运输、保存和处理的影响 样本运输和保存不当,会影响实验结果。血浆在 4℃ 保存 24h,某些凝血因子活性降低 95%。低温(4℃)保存血液可使血小板计数结果偏低。

### 三、血液标本抗凝剂选择

#### (一) 基本概念

抗凝是用物理或化学方法除去或抑制血液中某些凝血因子的活性,阻止血液凝固。

#### (二) 常用抗凝剂

1. 乙二胺四乙酸(EDTA)盐 EDTA与血液中 $\text{Ca}^{2+}$ 形成螯合物,使 $\text{Ca}^{2+}$ 失去凝血作用。其用量为EDTA- $\text{K}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1.5~2.2mg/ml血液,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- $\text{K}_2$ 。但不适于凝血检查和血小板功能试验。

2. 肝素 阻止凝血酶的形成和血小板聚集,是红细胞渗透脆性试验的理想抗凝药。肝素抗凝作用强,不影响血细胞体积,不易溶血;但会引起白细胞聚集,罗氏染色产生蓝色背景,不适用于全血细胞计数、细胞形态学检查。肝素多为肝素钠盐或钾盐,用量为(15±2.5)U/ml。

3. 草酸盐 草酸根离子与样本中 $\text{Ca}^{2+}$ 形成草酸钙沉淀,使 $\text{Ca}^{2+}$ 失去凝血作用。草酸盐与血液比例为1:9。主要用于凝血检查。

4. 双草酸盐 适用于血细胞比容、网织红细胞计数等检查,不适于血小板计数和白细胞分类计数。用量同草酸盐。

5. 枸橼酸盐 与血中 $\text{Ca}^{2+}$ 结合形成螯合物,阻止血液凝固。枸橼酸盐抗凝药的抗凝作用不如上述抗凝药。枸橼酸钠与血液的比例为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。

6. 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

#### (一) 玻片清洁

新载玻片常带有游离碱质,须用1mol/L HCl浸泡24h,清水冲洗。载玻片应清洁、干燥、中性、无油腻。

#### (二) 血涂片制备

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低患者的白细胞分类计数、红斑狼疮细胞检查等。

3. 厚血膜涂片法 于载玻片中央滴血 1 滴,用推片角将血由内至外旋转涂成厚薄均匀、直径约 1.5cm 的圆形血膜。待干后,加蒸馏水使红细胞溶解,再干后染色镜检。

4. 仪器自动涂片法 主要用于自动化血液分析仪。

### (三) 质量控制

1. 器材 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 染色良好,应在 1h 内完成。

4. 其他 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;血细胞比容减低、血液较稀时,应采用大血滴、大角度、快推。

### (四) 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阳性检出率。但某些抗凝剂可影响细胞形态,分类计数应注意。疟原虫、微丝蚴等检查可采用厚血膜涂片法。

## 五、细胞染色

### (一) 瑞特染色

1. 瑞特染液组成 将碱性亚甲蓝与酸性伊红溶于甲醇中。甲醇的作用,一是溶解亚甲蓝和伊红,二是固定细胞形态。

2. 原理 既有物理的吸附作用,又有化学的亲和作用,由于各种细胞成分化学性质不同,与染料的亲和力也不一样,会被染成不同颜色。

3. 影响因素 细胞成分属蛋白质,因蛋白质是两性电解质,所带电荷随溶液 pH(最适 pH 为 6.4~6.8)而定。在偏酸性环境中蛋白质所带正电荷增多,易与带负电的酸性染料伊红结合,红细胞和嗜酸性粒细胞染色偏红,细胞核呈淡蓝色或不染色;在偏碱性环境中蛋白质所带负电荷增多,易与亚甲蓝结合,细胞染色偏蓝,细胞核染呈灰蓝色,嗜酸性颗粒呈暗褐色或棕黑色,中性颗粒偏粗呈紫黑色。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。

### (二) 吉姆萨染色

1. 染液组成 吉姆萨染液由天青、伊红、甲醇、纯甘油组成。

2. 染色原理 与瑞特染色基本相同。

3. 注意事项 血片需先用甲醇固定 3~5min;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 10~30min。

### (三) 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。细胞染色过深纠正方法是用甲醇和瑞特染液适当地脱色,或者缩短染色时间、稀释染液、调节 pH。细胞染色过浅纠正方法是复染、延长染色时间、调节 pH。

### (四) 细胞染色的方法评价

瑞特染色法是血涂片最常用的染色法,尤其对细胞质成分、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。吉姆萨染液对细胞核、寄生虫(如疟原虫等)着色较好,但对细胞质成分的着色能力略差。采用瑞特-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。

瑞特染液的质量规格用吸光度比值(rA)来评价。rA 测定方法:取瑞特染液 15~25 $\mu$ l,加甲醇 10ml,混匀;以甲醇为空白管,分别在波长 650nm(亚甲蓝吸收波长)、525nm(伊红吸收波长)测定吸光度; $rA=A_{\lambda 650}/A_{\lambda 525}$ 。新鲜配制的染液,rA 接近于 2;随亚甲蓝逐渐氧化为天青 B

(吸收波长为 650nm, 吸光度约为亚甲蓝的 50%), rA 降低, 降到  $1.3 \pm 0.1$  时, 染液即可使用。新鲜配制的染液偏碱, 须于  $37^{\circ}\text{C}$  下储存一段时间, 待亚甲蓝逐渐变为天青 B。储存越久, 染液的染色效果越好。染液加甘油以防甲醇挥发, 加塞密闭容器以防甲醇氧化成甲酸。所用甲醇须为 AR 级, 若含丙酮过多, 会使染液偏酸, 白细胞着色不良。

## 历年考点串讲

血液样本采集和血涂片制备, 为历年常考内容, 可重点复习, 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。

历年高频考点包括以下内容:

1. 血液酸碱度: pH  $7.35 \sim 7.45$ 。(2016)
2. 静脉采血操作过程。(2016)
3. EDTA 抗凝管——紫色头盖, 乙二胺四乙酸适用于一般血液学检验, 不适用于凝血试验及血小板功能检查, 亦不适用于钙离子、钾离子、钠离子、铁离子、碱性磷酸酶、肌酸激酶和亮氨酸氨基肽酶的测定及 PCR 试验。(2016、2017)
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, 血涂片血膜应占玻片长度的  $2/3$  左右。新载玻片常带有游离碱质, 必须用约  $1\text{mol/L}$  HCl 清洗后才能使用。(2016)
5. 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, 可得满意结果; 血细胞比容减低、血液较稀时, 应采用大血滴、大角度、快推。(2016)
6. 皮肤采血法注意事项。(2015)
7. 枸橼酸钠凝血试验管——浅蓝头盖, 枸橼酸钠主要通过和血样中钙离子螯合而起抗凝作用。适用于凝血试验, 国家临床实验室标准化委员会 (national committee for clinical laboratory standards, NCCLS) 推荐的抗凝剂浓度是 3.2% 或 3.8% (相当于  $0.109\text{mol/L}$  或  $0.129\text{mol/L}$ ), 抗凝剂与血液的比例为 1:9。(2015)

## 第2单元 红细胞检查

### 一、概述

#### (一) 红细胞生理

1. 红细胞生成 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, 在红细胞生成素作用下, 经红系祖细胞阶段, 分化为原红细胞, 经数次有丝分裂发育为早幼、中幼和晚幼红细胞; ③晚幼红细胞通过脱核成为网织红细胞, 该过程在骨髓中进行, 约需 72h; ④在骨髓或血液中, 网织红细胞到成熟红细胞约需 48h; ⑤成熟红细胞平均寿命约 120d; ⑥衰老红细胞主要在脾脏破坏。

2. 红细胞生理功能 通过血红蛋白实现交换和携带气体的功能。

#### (二) 血红蛋白分子结构和特点

1. 结构 血红蛋白 (hemoglobin, 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: 4 条肽链 ( $\alpha$ 、 $\beta$  链); ②亚铁血红素: 原卟啉、铁。

2. 特点 ①正常情况下, 99% 血红蛋白为还原血红蛋白 (HbA), 1% 为高铁血红蛋白 (HbF)。②只有  $\text{Fe}^{2+}$  状态的血红蛋白才能与氧结合, 称为氧合血红蛋白。③在不同生长时期,

血红蛋白的种类与比例不同。出生后3个月, HbA占95%以上, 而HbF<1%。④血红蛋白合成受红细胞生成素、雄激素调节。⑤血红蛋白相对分子质量为64458。⑥血红蛋白降解产物为: 珠蛋白、血红素。

## 二、红细胞计数

### (一) 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。

### (二) 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。可用于白细胞减少、血小板减少或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(电阻抗法变异系数为2%, 手工法变异系数>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。

### (三) 质量控制

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

2. 仪器法 仪器应严格按规程操作, 并定期进行室内质控和室间质评。

### (四) 参考值

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

2. 诊治指标  $>6.8\times 10^{12}/L$ , 需要治疗; 低于参考值下限, 可诊断为贫血;  $<1.5\times 10^{12}/L$ , 应考虑输血。

### (五) 临床意义

#### 1. 生理性变化

(1) 年龄与性别的差异: 新生儿, 由于出生前处于生理性缺氧状态, 故红细胞明显增高, 较成人约高35%, 出生后2周逐渐下降, 2个月婴儿约减少30%。男性6~7岁时最低, 随年龄增长而逐渐升高, 25~30岁达高峰, 30岁后随年龄增长而逐渐下降, 至60岁尚未停止。女性也随年龄增长而逐渐升高, 13~15岁达高峰, 随后受月经、内分泌等因素影响而逐渐下降, 21~35岁维持最低水平, 以后随年龄增长而逐渐上升, 与男性水平相当。红细胞计数男女在15~40岁差别明显, 主要是男性雄激素水平较高, 其中睾酮有促进红细胞造血的作用。

(2) 精神因素: 感情冲动、兴奋、恐惧、冷水刺激可使肾上腺素分泌增多, 导致红细胞暂时增多。

(3) 剧烈体力运动和劳动: 运动因需氧量增加, 使红细胞生成素生成增加、骨髓加速释放红细胞, 导致红细胞增多。

(4) 气压减低: 高山地区因大气稀薄、氧分压低, 在缺氧刺激下, 红细胞代偿性增生。高海拔地区人群红细胞计数约增加14%。

(5) 妊娠和老年人: 妊娠中、后期, 为适应胎盘循环需要, 通过神经、体液调节, 孕妇血浆容量明显增加使血液稀释, 导致红细胞减少, 妊娠约减少16%。老年人因造血功能明显减退, 导致红细胞减少。

2. 红细胞和血红蛋白量减少 各种原因引起的贫血, 通过红细胞计数、血红蛋白测定或红细胞比容测定可诊断贫血程度。贫血原因分析应结合病史和体格检查加以区分。

(1) 急性、慢性红细胞丢失过多: 各种原因出血, 如消化性溃疡、痔疮、十二指肠钩虫病等。

(2) 红细胞寿命缩短: 各种原因溶血, 如溶血性贫血、蚕豆病、遗传性球形红细胞增多症等。

(3) 造血原料不足: 如慢性失血患者, 铁重新利用减少、铁供应或吸收不足, 导致血红蛋白合成量减少; 先天性或后天性红细胞酶缺陷患者, 铁不能被利用, 堆积在胞外, 使细胞发育和功能障碍、寿命缩短, 如铁粒幼细胞贫血(红细胞体积小、中心淡染区扩大、血清铁和储存铁增加、幼稚细胞核周有铁颗粒); 某些药物, 如异烟肼、硫唑嘌呤等; 继发于某些疾病, 如类风湿、白血病、甲亢、慢性肾功能不全、铅中毒等。

(4) 骨髓造血功能减退: 某些药物, 如抗肿瘤药物、磺胺类药物、保泰松、有机砷、白消安等可抑制骨髓造血功能; 物理因素, 如 X 线、 $^{60}\text{Co}$  钴、镭照射灯可抑制骨髓造血功能; 继发于其他疾病, 如慢性肾衰竭(如尿素、肌酐、酚、吡啶等物质滞留使骨髓造血功能受损); 原发性再生障碍性贫血。

### 3. 红细胞增多

(1) 原发性红细胞增多: 如真性红细胞增多症、良性家族性红细胞增多症等。

(2) 继发性红细胞增多: 心血管病(各种先天性心血管疾病, 如房室间隔缺损、法洛四联症)、肺部疾病(肺气肿、肺源性心脏病、肺纤维化、硅沉着病和各种引起肺气体交换面积减少)、异常血红蛋白病、肾上腺皮质功能亢进(库欣病)、某些药物(肾上腺素、糖皮质激素、雄激素)等引起红细胞继发性增高。

(3) 相对性红细胞增多: 如呕吐、严重腹泻、多汗、多尿、大面积烧伤、晚期消化道肿瘤而长期不能进食引起的血液浓缩、血液中有形成分相对增多, 多为暂时性增多。

### (六) 操作方法

在 2ml 红细胞稀释液中加入血 10 $\mu\text{l}$ , 混匀后, 充入计数板计数池, 室温静置 3~5min, 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。

红细胞/L =  $N \times 25/5 \times 10 \times 10^6 \times 200 = N \times 10^{10} = N/100 \times 10^{12}$  (N: 5 个中方格内的红细胞数)

红细胞稀释液: Hayem 液由 NaCl (调节渗透压)、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (提高比重防止细胞粘连)、 $\text{HgCl}_2$  (防腐) 和蒸馏水组成。枸橼酸钠稀释液由枸橼酸钠(抗凝和维持渗透压)、甲醛(防腐和固定红细胞)、氯化钠(调节渗透压)和蒸馏水组成。普通生理盐水或加 1% 甲醛生理盐水。(高频考点)

## 三、血红蛋白测定

### (一) 检测原理

1. 氰化高铁血红蛋白(HiCN)测定法 血液中除硫化血红蛋白(SHb)外的各种血红蛋白均可被高铁氰化钾氧化为高铁血红蛋白, 后者与  $\text{CN}^-$  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, 经换算即得血液中血红蛋白浓度。HiCN 法是目前国际推荐测定血红蛋白的参考方法。

2. 十二烷基硫酸钠血红蛋白(SDS-Hb)测定法 血液中除 SHb 外的各种血红蛋白均可与低浓度 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, 经换算得血液中血红蛋白浓度。

### (二) 方法学评价

1. 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。其致命的缺点是氰化钾(KCN)试剂有剧毒。

2. SDS-Hb 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血红蛋白浓度, 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( $\text{NiN}_3$ )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。

4. 碱羟血红蛋白(AHD 575)测定法 试剂简单、呈色稳定、无公害, 吸收峰在 575nm, 可用氯化血红素作为标准品。但仪器多采用 540nm 左右滤光板, 限制了此法使用。

5. 溴代十六烷基三甲胺(CTAB)血红蛋白测定法 试剂溶血性强又不破坏白细胞,适用于仪器上自动检测血红蛋白和白细胞。缺点是准确度和精密度不佳。

6. 血细胞分析仪 操作简单、快速,同时可获得多项红细胞参数。仪器须经 HiCN 标准液校正后才能使用。仪器法测定精度(CV)约为1%。

上述6类Hb测定方法的比较见表1-3。

表 1-3 血红蛋白测定方法比较

测定方法	优点	缺点
氰化高铁血红蛋白(HiCN)测定法	参考方法,操作简单,反应速度快,可检测除SHb之外的所有Hb,产物稳定,便于质控	KCN 有剧毒,可使高白细胞症的标本浑浊,对HbCO的反应慢,不能测定SHb
十二烷基硫酸钠血红蛋白(SDS-Hb)测定法	次选方法,操作简单、呈色稳定、试剂无毒、结果准确、重复性好	SDS质量差异大、消光系数未定,SDS溶血活力大,易破坏白细胞,不适用于同时进行白细胞计数的血液分析仪
碱羟血红蛋白(AHD575)测定法	试剂简易,无毒,呈色稳定,准确性与精密度较高	575nm波长比色、不便于自动检测、HbF不能转化
叠氮高铁血红蛋白(HiN3)测定法	准确性高、精密度较高	试剂仍有毒性(为HiCN的1/7)、HbCO转化慢(20min)
溴代十六烷基三甲胺(CTAB)测定法	溶血性强且不破坏白细胞,适于血液分析仪检测	精密度、准确度略低
血细胞分析仪	操作简单、快速,同时可获得多项红细胞参数	仪器须经HiCN标准液校正后才能使用。仪器法测定精度(CV)约为1%

### (三) 质量控制

1. 样本 异常血浆蛋白质、高脂血症、白细胞数超过  $30 \times 10^9/L$ 、脂滴等可产生浊度,干扰Hb测定。

2. 采血部位 部位不同,结果不同,静脉血比毛细血管血低10%~15%。

3. 结果分析 测定值假性增高的原因是稀释倍数不准、红细胞溶解不当、血浆中脂质或蛋白质质量增加。

4. HiCN 参考液 是制备标准曲线、计算K值、校准仪器和其他测定方法的重要物质。

我国HiCN部级参考品质量标准为:

(1) 图形扫描波峰(540±1)nm,波谷504~502nm。

(2)  $A_{\lambda 540}/A_{\lambda 504}=1.590 \sim 1.630$ 。

(3)  $A_{\lambda 750} \leq 0.002$ 。

(4) 无菌试验:普通培养和厌氧培养阴性。

(5) 精密度:随机抽样10支测定,  $CV \leq 0.5\%$ 。

(6) 准确度:以WHO HiCN参考品为标准进行测定,测定值与标示值之差  $\leq \pm 0.5\%$ 。

(7) 稳定性:3年内不变质,测定值不变。

(8) 分装于棕色安瓿内,每支不少于10ml。

(9) 标签应写明产品名称、批号、含量、有效期、生产日期、储存方法等。

5. 质控物

(1) ACD抗凝全血:4℃可保存3~5周,用于RBC、Hb和WBC质控。

(2) 进口全血质控物:用于多参数血细胞分析仪RBC、Hb和WBC质控。

(3) 醛化半固定红细胞:4℃可保存50~60d,用于RBC、Hb质控。

(4) 溶血液:用于Hb质控。