



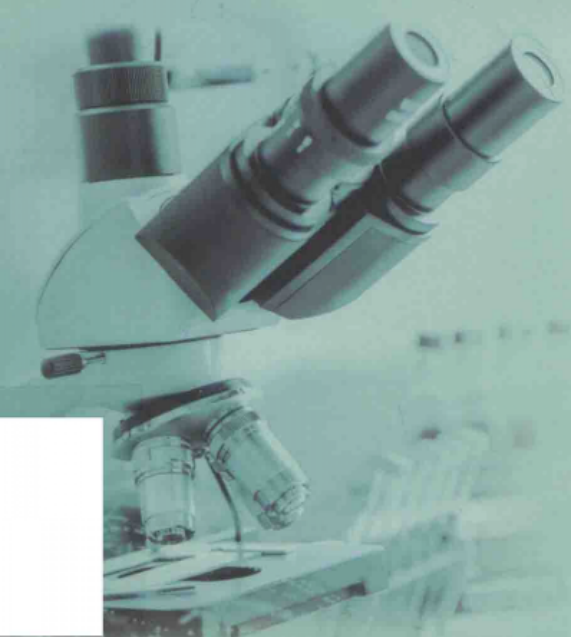
普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材

供医学检验技术等专业使用

# 临床血液学检验技术 实验指导

李玉云 欧阳丹明 ◆主编

LINCHUANG XUEYEXUE  
JIANYANJISHU SHIYAN ZHIDAO



华中科技大学出版社  
<http://www.hustp.com>

## 内 容 提 要

本书是普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材。

本书包括临床血液学检验常用技术、红细胞疾病检验技术、白细胞疾病检验技术、血栓与止血障碍性疾病检验技术等内容。

本书可供普通高等学校医学检验技术专业使用,也可供临床医学、预防医学、护理学等专业学生使用,还可供从事临床检验工作和医学研究的技术人员参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

临床血液学检验技术实验指导/李玉云,欧阳丹明主编. —武汉:华中科技大学出版社,2022.6

ISBN 978-7-5680-8300-3

I. ①临… II. ①李… ②欧… III. ①血液检查-医学院校-教学参考资料 IV. ①R446.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2022)第 095061 号

临床血液学检验技术实验指导

李玉云 欧阳丹明 主编

Linchuang Xueyexue Jianshan Jishu Shiyao Zhidao

策划编辑:余 雯

责任编辑:孙基寿

封面设计:原色设计

责任校对:李 琴

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉) 电话:(027)81321913

武汉市东湖新技术开发区华工科技园 邮编:430223

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:武汉市籍缘印刷厂

开 本:889mm×1194mm 1/16

印 张:13

字 数:386千字

版 次:2022年6月第1版第1次印刷

定 价:49.80元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换  
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务  
版权所有 侵权必究

# 普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材建设指导委员会

主任委员 徐克前 康熙雄

副主任委员 岳保红 龚道元 周芙玲 王小林 赵建宏 贾天军 李玉云

编委(按姓氏笔画排序)

王小林 北京大学医学部  
王俊利 右江民族医学院  
权志博 陕西中医药大学  
吕厚东 济宁医学院  
任伟宏 河南中医药大学  
伊正君 潍坊医学院  
闫海润 牡丹江医学院  
纪爱芳 长治医学院  
李玉云 蚌埠医学院  
李树平 湖南医药学院  
余蓉 成都中医药大学  
张式鸿 中山大学  
张红艳 河北工程大学  
陈大鹏 重庆医科大学  
林东红 福建医科大学  
欧阳丹明 湘南学院

岳保红 郑州大学  
周芙玲 武汉大学  
郑文芝 海南医学院  
赵建宏 河北医科大学  
胡志坚 九江学院  
袁忠海 吉林医药学院  
贾天军 河北北方学院  
徐霞 广州医科大学  
徐广贤 宁夏医科大学  
徐克前 中南大学湘雅医学院  
徐菲莉 新疆医科大学  
高荣升 佳木斯大学  
陶华林 西南医科大学  
黄泽智 邵阳学院  
龚道元 佛山科学技术学院  
康熙雄 首都医科大学

# 总序

ZONGXU

近年来,随着科学技术的进步、大量先进仪器和技术的采用,医学检验得到飞速的发展。各种新的检验技术不断涌现,对临床疾病的诊疗越来越重要,作用越来越突出,为人类疾病的诊断、治疗监测、预后判断提供大量新的实验室监测指标。据统计,临床实验室提供的医学检验信息占患者全部诊疗信息的60%以上,医学检验已成为医疗的重要组成部分,被称为临床医学中的“侦察兵”。

《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020年)》《国家中长期人才发展规划纲要(2010—2020年)》要求全面提高高等教育水平和人才培养质量,以更好地满足我国经济社会发展和创新型国家建设的需要。根据《教育部关于进一步深化本科教学改革全面提高教学质量的若干意见》,在教材建设过程中,教育部鼓励编写、出版适应不同类型高等学校教学需要的不同风格和特色的教材;积极推进高等学校与行业合作编写教材;鼓励编写和出版不同载体和不同形式的教材,包括纸质教材和数字化教材。2012年教育部制定的新本科专业目录中,将医学检验专业更名为医学检验技术专业,学制由五年改为四年。

为了更好地适应医学检验技术专业的教学发展和需求,体现最新的教学理念和特色,在认真、广泛调研的基础上,在医学检验技术专业教学指导委员会相关领导和专家的指导和支持下,华中科技大学出版社组织了全国40多所医药院校的200多位老师参加了本套教材的编写。本套教材由国家级重点学科的教学团队引领,副教授及以上职称的老师占80%,教龄在20年以上的老师占72%。教材编写过程中,全体参编人员进行了充分的研讨,各参编单位高度重视并大力支持教材的编写工作,各主编及参编人员付出了辛勤的劳动,确保了本套教材的编写质量。

本套教材着重突出以下特点:

(1) 教材定位准确,体现最新教学理念,反映最新教学成果。紧密联系最新的教学大纲和临床实践,注重基础理论和临床实践相结合,体现高素质复合型人才培养的要求。

(2) 适应新世纪医学教育模式的要求,注重学生的临床实践技能、初步科研能力和创新能力的培养。突出实用性和针对性,以临床应用为导向,同时反映相关学科的前沿知识和发展趋势。

(3) 以问题为导向,导入临床案例。通过案例与提问激发学生学习的热情,以学生为中心,有利于学生主动学习。

(4) 纸质与数字融合发展。全套教材采用全新编写模式,以扫描二维码形式帮助老师及学生在移动终端共享优质配套网络资源,通过使用华中科技大学出版社数字化教学资源平台将移动互联网、网络增值、慕课等新的教学理念和学习方式融入教材建设中,开发多媒体教材、数字化教材等新媒体教材形式。

本套教材得到了教育部高等学校医学技术类教学指导委员会和中国医师协会检验医师分会相关领导和专家,以及各院校的大力支持与高度关注,我们衷心希望这套教材能为高等医药院校医学检验技术专业教学及人才培养做出应有的贡献。我们也相信这套教材在使用过程中,通过教学实践的检验和实际问题的解决,能不断得到改进、完善和提高。

普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材  
建设指导委员会

# 前 言

QIANYAN

为了更好地适应新一轮医学教育改革背景下医学检验教育的发展,满足新形势下医学检验教学要求和临床实践的需要,充分发挥教材在人才培养中的作用,华中科技大学出版社在认真、广泛调研的基础上,组织编写了普通高等学校“十四五”规划医学检验技术专业特色教材。本书是该系列教材之一。

本书根据世界卫生组织(WHO)2016年发布的造血和淋巴组织最新分类方法,在细胞形态学技术、细胞化学染色技术、免疫学技术、分子生物学技术、遗传学技术基础上,系统而全面地介绍了造血系统疾病、红细胞系统疾病、白细胞系统疾病、血栓和止血疾病的检验方法,反映了临床血液学检验学科的发展。本书重在培养医学检验人才的基本技能、检验思维、科研潜质和良好的岗位胜任力。

本书由长期从事临床血液学检验教学、科研及临床服务的一线教师编写。本书不仅提供了丰富的涂片资料和技术方法图表,也为难以鉴别的细胞提供了鉴别要点,既方便教学,又符合实际工作需要。

本书不仅可供普通高等学校医学检验技术等专业使用,也可供临床医学、预防医学、护理学等专业学生使用,还可供从事临床检验工作和医学研究的技术人员参考。

编 者

# 目 录

MULU

|  |     |
|--|-----|
| 第一章 临床血液学检验常用技术                            | /1  |
| 第一节 骨髓标本的采集、骨髓涂片的制备和染色                     | /1  |
| 实验一 骨髓标本的采集:骨髓穿刺术                          | /1  |
| 实验二 骨髓涂片的制备                                | /2  |
| 实验三 骨髓涂片的染色                                | /3  |
| 第二节 正常骨髓细胞形态学                              | /4  |
| 实验一 红细胞系统形态观察                              | /4  |
| 实验二 粒细胞系统形态观察                              | /6  |
| 实验三 巨核细胞系统形态观察                             | /10 |
| 实验四 淋巴细胞系统形态观察                             | /12 |
| 实验五 单核细胞系统                                 | /13 |
| 实验六 浆细胞系统形态观察                              | /15 |
| 实验七 其他细胞形态观察                               | /16 |
| 第三节 骨髓涂片检验步骤                               | /18 |
| 实验一 骨髓涂片观察                                 | /18 |
| 实验二 骨髓细胞形态学检验报告单填写                         | /21 |
| 实验三 骨髓象检查结果分析与资料归档                         | /24 |
| 第四节 细胞化学染色                                 | /25 |
| 实验一 铁染色                                    | /25 |
| 实验二 过氧化物酶染色(四甲基联苯胺法)                       | /27 |
| 实验三 过氧化物酶染色(改良 Pereira 法)                  | /29 |
| 实验四 过碘酸-希夫反应                               | /30 |
| 实验五 中性粒细胞碱性磷酸酶染色(钙钴法)                      | /33 |
| 实验六 中性粒细胞碱性磷酸酶染色(卡氏偶氮偶联法)                  | /34 |
| 实验七 $\alpha$ -NAE 染色及氟化钠抑制试验               | /35 |
| 实验八 酸性磷酸酶染色(Gomori)硫化铅法                    | /37 |
| 实验九 酸性磷酸酶染色(偶氮偶联法)                         | /38 |
| 第五节 免疫标记技术                                 | /38 |
| 实验一 免疫细胞化学检验                               | /38 |
| 实验二 免疫荧光检验                                 | /42 |
| 实验三 流式细胞术检验                                | /43 |
| 第六节 染色体检验技术                                | /45 |
| 实验一 染色体标本制备                                | /45 |
| 实验二 染色体显带技术                                | /49 |
| 实验三 姊妹染色单体差别染色技术                           | /51 |
| 第七节 血液分子生物学检验                              | /53 |
| 实验一 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR) | /53 |

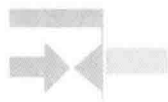
|            |  |            |
|------------|--|------------|
| 实验二        | 免疫印迹杂交   | /55        |
| 实验三        | 荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH) | /56        |
| 实验四        | 基因芯片技术   | /58        |
| <b>第二章</b> | <b>红细胞疾病检验技术</b>                                 | <b>/60</b> |
| <b>第一节</b> | <b>铁代谢异常性贫血检验</b>                                | <b>/60</b> |
| 实验一        | 缺铁性贫血细胞形态学检验                                     | /60        |
| 实验二        | 铁粒幼细胞贫血细胞形态学检验                                   | /61        |
| 实验三        | 血清铁检测  | /62        |
| 实验四        | 血清铁蛋白检测  | /63        |
| 实验五        | 血清总铁结合力及转铁蛋白饱和度检测                                | /64        |
| 实验六        | 血清转铁蛋白检测   | /65        |
| 实验七        | 血清转铁蛋白受体检测                                       | /66        |
| <b>第二节</b> | <b>巨幼细胞性贫血检验</b>                                 | <b>/67</b> |
| 实验一        | 细胞形态学检验  | /67        |
| 实验二        | 血清和红细胞叶酸测定                                       | /69        |
| 实验三        | 血清维生素 B <sub>12</sub> 测定                         | /70        |
| 实验四        | 血清维生素吸收试验  | /71        |
| <b>第三节</b> | <b>造血功能障碍性贫血检验</b>                               | <b>/72</b> |
| 实验一        | 再生障碍性贫血细胞形态学检验                                   | /72        |
| 实验二        | 纯红细胞再生障碍性贫血细胞形态学检验                               | /73        |
| <b>第四节</b> | <b>溶血性贫血检验</b>                                   | <b>/74</b> |
| 实验一        | 溶血性贫血细胞形态学检验                                     | /74        |
| 实验二        | 显示溶血的实验室检验(血浆游离血红蛋白测定)                           | /74        |
| 实验三        | 显示溶血的实验室检验(血清结合珠蛋白测定)                            | /76        |
| 实验四        | 血浆高铁血红素清蛋白测定                                     | /77        |
| 实验五        | 尿含铁血黄素测定   | /77        |
| <b>第五节</b> | <b>红细胞膜缺陷的检验</b>                                 | <b>/78</b> |
| 实验一        | 遗传性球形红细胞增多症的检验(红细胞渗透脆性试验)                        | /78        |
| 实验二        | 遗传性球形红细胞增多症的检验(红细胞孵育渗透脆性试验)                      | /80        |
| 实验三        | 遗传性球形红细胞增多症的检验(红细胞自身溶血试验及其纠正试验)                  | /82        |
| 实验四        | 遗传性球形红细胞增多症的检验(酸化甘油溶血试验)                         | /83        |
| 实验五        | 阵发性睡眠性血红蛋白尿症的检验(酸化血清溶血试验)                        | /84        |
| 实验六        | 阵发性睡眠性血红蛋白尿症的检验(蔗糖溶血试验)                          | /85        |
| 实验七        | 阵发性睡眠性血红蛋白尿症的检验(蛇毒因子试验)                          | /86        |
| 实验八        | 阵发性睡眠性血红蛋白尿症的检验(流式细胞术检测细胞表型 CD55、CD59)           | /87        |
| <b>第六节</b> | <b>红细胞酶缺陷的检验</b>                                 | <b>/89</b> |
| 实验一        | 高铁血红蛋白还原试验                                       | /89        |

|     |   |      |
|-----|---|------|
| 实验二 | 变性珠蛋白小体检测   | /90  |
| 实验三 | 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶定性试验   | /91  |
| 实验四 | 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性检测   | /92  |
| 实验五 | 丙酮酸激酶活性检测   | /93  |
| 实验六 | 谷胱甘肽还原酶检测   | /94  |
| 第七节 | 血红蛋白异常检验  | /96  |
| 实验一 | 醋酸纤维素膜血红蛋白电泳  | /96  |
| 实验二 | 毛细管电泳法  | /98  |
| 实验三 | 红细胞包涵体试验  | /99  |
| 实验四 | 异丙醇沉淀试验   | /100 |
| 实验五 | 抗碱血红蛋白测定  | /101 |
| 实验六 | 热变性试验   | /102 |
| 第八节 | 免疫性溶血性贫血检验  | /102 |
| 实验一 | 抗人球蛋白试验   | /102 |
| 实验二 | 冷热溶血试验  | /105 |
| 实验三 | 冷凝集素试验  | /105 |
| 第九节 | 其他红细胞疾病的检验  | /106 |
| 实验一 | 骨髓病性贫血的检验   | /106 |
| 实验二 | 红细胞增多症的检验   | /108 |
| 第三章 | 白细胞疾病检验技术   | /109 |
| 第一节 | 急性髓细胞白血病  | /109 |
| 实验一 | 急性髓细胞白血病伴有重现性遗传学异常(急性髓细胞白血病伴 $t(8;21)(q22;q22);RUNX-RUNX1T1$ )                  | /109 |
| 实验二 | 急性髓细胞白血病伴有重现性遗传学异常(急性早幼粒细胞白血病伴 $PML-RAR\alpha$ )                                | /110 |
| 实验三 | 急性髓细胞白血病伴有重现性遗传学异常(急性髓细胞白血病伴 $inv(16)$ 或 $t(16;16)(p13.1;q22);CBF\beta-MYH11$ ) | /112 |
| 实验四 | 急性髓细胞白血病非特指型(急性髓细胞白血病微分化型)  | /114 |
| 实验五 | 急性髓细胞白血病非特指型(急性髓细胞白血病无成熟迹象型)  | /114 |
| 实验六 | 急性髓细胞白血病非特指型(急性髓细胞白血病伴成熟迹象型)  | /115 |
| 实验七 | 急性髓细胞白血病非特指型(急性粒-单核细胞白血病)   | /116 |
| 实验八 | 急性髓细胞白血病非特指型(急性原始单核细胞和单核细胞白血病)  | /116 |
| 实验九 | 急性髓细胞白血病非特指型(纯红白血病)   | /118 |
| 实验十 | 急性髓细胞白血病非特指型(急性巨核细胞白血病)   | /120 |
| 第二节 | 骨髓增生异常综合征   | /121 |
| 实验一 | 骨髓增生异常综合征伴单系发育异常(MDS-SLD)   | /121 |
| 实验二 | 骨髓增生异常综合征伴多系发育异常(MDS-MLD)   | /123 |
| 实验三 | 骨髓增生异常综合征伴环形铁粒幼红细胞  |      |

|     |   |      |
|-----|---|------|
|     | (MDS-RS)                                  | /123 |
| 实验四 | 骨髓增生异常综合征伴原始细胞增多(MDS-EB)                  | /124 |
| 实验五 | 骨髓增生异常综合征伴孤立性 5q 缺失(MDS 5q-)              | /124 |
| 第三节 | 骨髓增殖性肿瘤                                   | /125 |
| 实验一 | 慢性髓细胞白血病(CML, BCR-ABL1 <sup>+</sup> )     | /125 |
| 实验二 | 慢性中性粒细胞白血病(CNL)                           | /127 |
| 实验三 | 真性红细胞增多症(PV)                              | /127 |
| 实验四 | 原发性血小板增多症(ET)                             | /128 |
| 实验五 | 原发性骨髓纤维化(PMF)                             | /129 |
| 第四节 | 骨髓增生异常-骨髓增殖性肿瘤                            | /130 |
| 实验一 | 不典型慢性粒细胞白血病(aCML, BCR-ABL1 <sup>-</sup> ) | /130 |
| 实验二 | 慢性粒-单核细胞白血病(CMML)                         | /130 |
| 实验三 | 幼年型粒-单核细胞白血病(JMML)                        | /132 |
| 实验四 | MDS/MPN 伴环形铁粒幼红细胞和血小板增多<br>(MDS/MPN-RS-T) | /132 |
| 第五节 | 淋巴细胞肿瘤                                    | /133 |
| 实验一 | 前驱型淋巴母细胞白血病/淋巴瘤(T/B-ALL/LBL)              | /133 |
| 实验二 | 霍奇金淋巴瘤(HL)                                | /134 |
| 实验三 | 慢性淋巴细胞白血病(CLL)/小淋巴细胞淋巴瘤<br>(SLL)          | /134 |
| 第六节 | 浆细胞肿瘤                                     | /135 |
| 实验一 | 多发性骨髓瘤                                    | /135 |
| 实验二 | 浆细胞白血病                                    | /136 |
| 实验三 | 淋巴浆细胞淋巴瘤/华氏巨球蛋白血症                         | /136 |
| 第七节 | 血液、造血组织继发性与反应性疾病                          | /138 |
| 实验一 | 粒细胞减少症和粒细胞缺乏症                             | /138 |
| 实验二 | 类白血病反应                                    | /138 |
| 实验三 | 嗜血细胞综合征                                   | /139 |
| 实验四 | 传染性单核细胞增多症                                | /140 |
| 实验五 | 脾功能亢进                                     | /141 |
| 第八节 | 脂质代谢障碍                                    | /142 |
| 实验一 | 戈谢病                                       | /142 |
| 实验二 | 尼曼-匹克病                                    | /142 |
| 第四章 | 血栓与止血障碍性疾病检验技术                            | /144 |
| 第一节 | 血管壁的检验                                    | /144 |
| 实验一 | 毛细血管脆性试验(束臂试验)                            | /144 |
| 实验二 | 出血时间测定                                    | /144 |
| 实验三 | 血浆血管性血友病因子检测                              | /145 |
| 第二节 | 血小板检验                                     | /147 |
| 实验一 | 血小板计数                                     | /147 |
| 实验二 | 血块收缩时间测定                                  | /148 |
| 实验三 | 血小板黏附试验                                   | /149 |
| 实验四 | 血小板聚集试验                                   | /150 |
| 实验五 | 血小板第 3 因子有效性检测                            | /152 |

|      |                     |      |
|------|---------------------|------|
| 实验六  | 血小板相关抗体检测           | /153 |
| 实验七  | 血小板相关补体 3 检测        | /154 |
| 实验八  | 血小板膜糖蛋白检测           | /155 |
| 实验九  | 血小板 P-选择素检测         | /157 |
| 第三节  | 凝血因子检验              | /158 |
| 实验一  | 凝血时间测定              | /158 |
| 实验二  | 血浆凝血酶原时间测定          | /160 |
| 实验三  | 活化部分凝血活酶时间测定        | /161 |
| 实验四  | 血浆纤维蛋白原含量检测         | /163 |
| 实验五  | 血浆因子Ⅷ、Ⅸ、Ⅺ促凝活性检测     | /164 |
| 实验六  | 血浆因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ促凝活性检测   | /165 |
| 第四节  | 生理性抗凝物质检测           | /166 |
| 实验一  | 血浆抗凝血酶活性测定          | /166 |
| 实验二  | 血浆抗凝血酶抗原测定          | /167 |
| 实验三  | 血浆蛋白 C 活性检测         | /168 |
| 实验四  | 血浆蛋白 C 抗原检测         | /169 |
| 实验五  | 血浆蛋白 S 抗原测定         | /170 |
| 实验六  | 组织因子途径抑制物抗原检测       | /171 |
| 实验七  | 血浆组织因子途径抑制物活性检测     | /172 |
| 实验八  | 可溶性纤维蛋白单体复合物检测      | /173 |
| 第五节  | 病理性抗凝物质检测           | /174 |
| 实验一  | 凝血酶时间测定             | /174 |
| 实验二  | 凝血酶时间纠正试验           | /175 |
| 实验三  | 复钙交叉试验              | /175 |
| 实验四  | 血浆肝素检测              | /176 |
| 第六节  | 纤溶活性检验              | /177 |
| 实验一  | 血浆纤溶酶原活性检测          | /177 |
| 实验二  | 血浆纤溶酶原抗原检测          | /178 |
| 实验三  | 血浆组织型纤溶酶原激活剂活性检测    | /179 |
| 实验四  | 血浆组织型纤溶酶原激活剂抗原检测    | /180 |
| 实验五  | 纤溶酶原激活抑制剂-1 活性测定    | /181 |
| 实验六  | 纤溶酶原激活抑制剂-1 抗原测定    | /182 |
| 实验七  | 血浆中优球蛋白溶解时间测定       | /184 |
| 实验八  | 血浆硫酸鱼精蛋白副凝固试验       | /185 |
| 实验九  | 血浆 D-二聚体测定(胶乳凝集法)   | /185 |
| 实验十  | 血浆 D-二聚体测定(ELISA 法) | /186 |
| 第七节  | 血栓弹力图               | /187 |
| 参考文献 |                     | /194 |

# 第一章 临床血液学检验常用技术



## 第一节 骨髓标本的采集、骨髓涂片的制备和染色

通过骨髓穿刺行负压吸取法,获得活体内的骨髓标本,经制片染色后,对骨髓液中的细胞进行形态学分析,是目前临床上明确血液病诊断、评价其疗效最常用的一种检验手段。

### 实验一 骨髓标本的采集:骨髓穿刺术

**【目的】** 了解骨髓标本的采集和制备方法,掌握骨髓取材情况的判断标准。

**【材料】**

1. 骨髓穿刺包(穿刺针、无菌纱布)。
2. 洞巾、无菌手套。
3. 治疗盘(75%酒精、2%碘伏、棉棒、消毒纱布、胶布、局麻药)。
4. 无菌注射器 2 个(5 mL, 10 mL 或 20 mL)。

**【方法】**

临床上成人最为理想的穿刺部位为髂骨上棘(包括髂后上棘、髂前上棘),其他穿刺部位还有胸骨、胫骨等。

**1. 体位选择** 穿刺部位不同,其体位也有所不同,常采用侧卧位、俯卧位或仰卧位。如使用髂后上棘,患者取侧卧位,上面一条腿向胸部弯曲,下面一条腿伸直,使腰骶部向后凸出,髂后上棘明显凸出于臀部之上;髂前上棘采用仰卧位。

**2. 定位** 髂后上棘的穿刺点为脊柱两侧臀部上方突出的骨性标记,相当于第 4、5 腰椎的水平旁 2~4 cm 处;髂前上棘穿刺点为髂前上棘后 2~3 cm 平整处的正中点;胸骨穿刺点为第 2、3 肋间隙所对应的胸骨中点。确定穿刺点后,做好标记。

**3. 常规消毒** 严格遵守无菌操作规程,用 2% 碘伏进行穿刺部位及周围皮肤消毒,消毒结束后戴无菌手套、铺消毒洞巾。

**4. 局部麻醉** 取 5 mL 无菌注射器 1 支,吸取 2% 利多卡因溶液 2 mL,在预先标记的穿刺点皮肤上打一个小皮丘。先垂直进针,边进针边注射麻醉药,逐层麻醉,直至骨膜,然后做局部“品”字形多点麻醉。拔针后,用无菌纱布局部轻轻按摩,促使麻醉药充分、快速地发挥作用。等待 2 min 左右,使骨膜得到充分的浸润和麻醉。

**5. 准备穿刺器材** 检查骨髓穿刺针是否通畅无堵塞,穿刺针与注射器是否连接完好,有没有漏气现象,穿刺针芯斜面与穿刺针外壳的斜面是否一致。将骨髓穿刺针固定器固定至适当长度(髂骨穿刺约 1.5 cm,肥胖者可根据情况调整,胸骨柄穿刺约 1.0 cm)。

**6. 行穿刺术** 左手拇指及食指分别固定穿刺点的皮肤,右手持骨髓穿刺针在预定的穿刺点沿垂直方向左右旋转进针(若为胸骨柄穿刺,穿刺针与骨面成 30°~40°角斜行刺入)。当针尖遇到骨膜后,阻力增加,再用力进针 0.5~1.0 cm,感受到阻力突然下降,此时有一落空感,即达骨髓腔。抽出针芯,衔接 10 mL 或 20 mL 无菌注射器,吸取骨髓液 0.1~0.2 mL(切不可用力过猛抽吸)。抽吸骨髓液时,患者有一瞬间的酸痛感,证明穿刺成功。

**7. 拔出穿刺针** 抽吸完毕后取下注射器,迅速将针芯插回,并将整个穿刺针拔出。局部敷以



NOTE

消毒纱布,并压迫伤口 1~2 min,用医用胶带固定。嘱咐患者 3 天内勿洗浴。

### 【注意事项】

(1) 骨髓穿刺前详细询问病史,临床医生或操作者向患者做好解释工作,消除其恐惧、紧张心理。

(2) 整个骨髓穿刺过程严格遵守无菌操作原则,防止骨髓感染。

(3) 骨髓穿刺部位选择应从几个方面考虑:①骨髓腔中红骨髓丰富;②穿刺部位表浅、易定位;③避开重要脏器。

(4) 穿刺时切忌将针芯反复穿进抽出,否则易使骨髓液凝固。

(5) 骨髓液抽取量一般不超过 0.3 mL,量多容易导致骨髓液稀释,影响对骨髓象的正确判断。

(6) 穿刺前应考虑到患者是否还需要同时做其他检查,如细胞免疫分型、染色体检查、细胞培养、细菌培养及骨髓活检等。如果还需要做其他检查,应先抽取少许骨髓液推制骨髓涂片,然后抽取其他检查所需要的骨髓液,以避免不必要的重复穿刺。

(7) 骨髓液中含有较多的纤维蛋白原,容易凝固,所以在做穿刺涂片时动作要快。

(8) 死亡病例如需做骨髓穿刺,须在 30 min 内完成标本采集。时间过长,细胞易溶解变形。

### 【骨髓取材情况的判断】

1. 肉眼观察骨髓液性状(如骨髓液的浓稠程度、颜色、油滴、髓粒等) 这是判断骨髓取材情况的第一手资料,甚至通过性状分析还可对疾病作出初步的判断。

#### 2. 骨髓取材成功的判断

(1) 抽吸骨髓液时,大部分患者感到有一瞬间的酸痛感。

(2) 抽出的骨髓液比外周血黏稠,其中含有较多的黄色小粒状物质(多为骨髓小粒)。

(3) 显微镜下可见到骨髓特有的细胞,如巨核细胞、浆细胞、吞噬细胞、肥大细胞、成骨细胞、破骨细胞、脂肪细胞、纤维细胞等。

(4) 骨髓中性杆状核粒细胞与中性分叶核粒细胞的比值大于外周血中性杆状核粒细胞与中性分叶核粒细胞的比值,有核细胞明显多于外周血。

#### 3. 骨髓取材不成功的判断

(1) 骨髓完全稀释:抽出的“骨髓液”实际是外周血,骨髓涂片与血涂片基本一致。

(2) 骨髓部分稀释:抽出的骨髓液中混进较多外周血。骨髓小粒无或少见,骨髓特有的细胞少,有核细胞少,中性分叶核粒细胞和成熟淋巴细胞比例增加。

4. 干抽 非技术错误或穿刺位置不当而抽不出骨髓液或只抽到少量血液。常见原因:①原发性或继发性骨髓纤维化症;②骨髓极度增生,如白血病、真性红细胞增多症等;③骨髓增生减弱,如再生障碍性贫血等;④骨髓浸润,如恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓转移癌等。当发生干抽时,在针头内可有少量骨髓组织,将其制作涂片,可供初步检查。一般可更换骨髓穿刺部位重新穿刺,部分病例必须做骨髓活检。

## 实验二 骨髓涂片的制备

涂片制备技术是将血液、骨髓液等样品制成单细胞层的涂片标本的方法,是细胞形态学检查最常用的技术。

【目的】 掌握涂片制备技术,能熟练制作规范的涂片标本。

【材料】 载玻片、推片等。

### 【方法】

(1) 用推片一角蘸取适量的骨髓液(含有骨髓小粒为好)置于载玻片一端,左手持载玻片,将推片置于骨髓液前沿,在载玻片上缓慢后推,与骨髓液接触时,骨髓液迅速沿玻片与推片的缝隙扩散,形成一均匀的骨髓液粗线。



(2) 推片与玻片成  $30^{\circ}\sim 45^{\circ}$  夹角, 自右向左匀速推进。骨髓液较浓时, 角度要小, 推的速度要慢; 反之, 角度应大, 推的速度应快些。骨髓有核细胞较多, 推薄一些时细胞结构更清晰, 更适于细胞观察及分类计数。推片使用后, 立即用洁净纱布擦净。

(3) 涂片制备好后, 应立即拿起在空气中来回挥动, 使之快速晾干, 以免细胞皱缩变形。

(4) 在涂片头部空隙部分贴上条形码或用防水笔注明患者姓名等信息。

#### 【注意事项】

(1) 载玻片要洁净, 手指禁止触及玻片表面, 推片边缘要平整、光滑。

(2) 推片与玻片之间的角度大小和推片速度由抽取的骨髓液浓度决定, 一般以  $30^{\circ}$  角为佳。如两者角度大, 推出来的血膜就厚, 反之则薄。血膜厚的涂片, 细胞缩小, 结构不清楚, 影响结果判断。

(3) 选择含骨髓小粒多的骨髓液做涂片效果更佳。如遇部分稀释的骨髓液, 可将盛有骨髓液的玻片倾斜, 使血液流出, 然后用剩余的含骨髓小粒的骨髓液进行涂片。

(4) 骨髓涂片要有头、体、尾之分, 前端应留出贴标签的空间。尾部对骨髓检查最为重要, 常常大的异常细胞被推至尾部。因此, 观察尾部有利于发现骨髓涂片中为数不多的异常细胞。

(5) 骨髓涂片两侧要留有空隙, 防止可能出现的大体积异常细胞流失, 造成漏诊。

(6) 骨髓液抽取后应立即推片, 一般不用抗凝剂, 必要时可用 EDTA- $K_2$  抗凝。

(7) 涂片制成后, 应在空气中快速摇动或风干, 防止细胞皱缩变形或因空气潮湿而溶血。

(8) 骨髓有核细胞多, 固定时间较血涂片长些。

【参考范围】 一张好的涂片应该厚薄适宜, 长短适中, 头体尾分明, 尾部呈弧形, 上下两边整齐, 最好留出  $1\sim 2$  mm 的空隙, 见图 1-1-1。

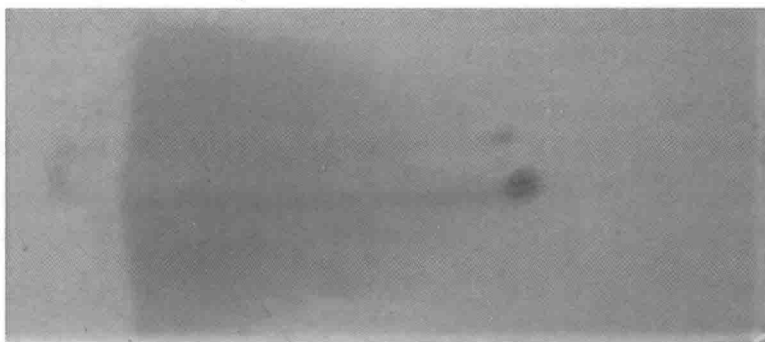


图 1-1-1 骨髓涂片(未染色)

## 实验三 骨髓涂片的染色

【目的】 掌握骨髓涂片的染色技术, 能使各类血细胞呈现出各自的特征, 便于细胞的识别和分类。

【原理】 目前最常用的是瑞特染色法, 其染液中含有亚甲蓝和伊红两种染料, 前者为碱性, 后者为酸性, 与细胞内的各种物质具有不同的亲和力, 从而使细胞显现出不同的颜色, 便于形态辨认。

【材料】 新鲜骨髓涂片、瑞特染液、pH 6.4~6.8 磷酸盐缓冲液等。

#### 【方法】

(1) 取已制备好的新鲜骨髓涂片 2 张(含有骨髓小粒者为佳)置于染色板上, 血膜面朝上放平, 两端以玻璃蜡笔划定染色范围。

(2) 在血膜上滴加瑞特染液, 直至覆盖整个划定区域。

(3) 静置  $30\sim 60$  s 后, 滴加磷酸盐缓冲液, 用量为瑞特染液的  $1\sim 1.5$  倍, 混匀, 染色时间  $15\sim 20$  min。为准确把握染色时间, 可先将标本带着染液置于显微镜低倍镜下观察, 当细胞核与细胞质色彩分明时, 表示着色满意。



NOTE

(4) 冲洗前不要倒去染液,以小水流冲掉染液,边冲洗边轻轻摇动玻片,使染料沉渣浮起冲走。冲洗后的标本竖直在片架上,待其自然干燥。

#### 【注意事项】

(1) 新鲜涂片应立即染色,未染的涂片保存一般不超过1周,否则影响染色质量。

(2) 适当控制染液与缓冲液的比例。染液稀释度大,染色时间长,细胞着色较均匀;反之,稀释度小,染色时间短,其细胞着色较深且不很鲜艳。

(3) 染色时间需根据标本类型、涂片厚薄、有核细胞多少而定。一般来说,贫血患者骨髓细胞极易着色,染液应少些,染色时间应短些,特别是再生障碍性贫血患者的标本,一般染10 min即可;而白血病患者的标本染液应多些,细胞着色慢,染色时间应长些,特别是慢性粒细胞白血病。

(4) 切勿先倾去染液再用流水冲,否则,涂片上的染料渣沉淀于血膜上,影响观察。冲洗后的标本待自然干燥,不可用火烤干。

(5) 若细胞着色淡,可待标本干燥后按上述步骤重染;若细胞着色太深,或有许多染料沉渣时,可待标本干燥后,立即在涂片上滴加染液数滴或直接滴加甲醇数滴,摇匀,流水冲洗,自然干燥即可。

【染色结果】 见表1-1-1。

表 1-1-1 染色结果观察与分析

| 染色结果 | 染色结果观察及原因分析  |
|------|--|
| 染色良好 | 骨髓涂片呈淡紫红色(有核细胞极度增生除外),镜下细胞着色均匀,色泽鲜明,胞质颗粒和核染色质结构清楚,背景无染料沉渣                          |
| 染色过深 | 镜下细胞着色偏深,且结构欠清楚,胞质颗粒和核染色质变粗,背景中常有染料沉渣,往往因染色时间过长、瑞特染液过多所致                           |
| 染色过浅 | 骨髓涂片呈淡红色、淡紫色或灰蓝色,镜下细胞着色浅,胞质颗粒和核染色质不够清楚。可能由染色时间过短、瑞特染液过少、片中有核细胞多、瑞特染液与缓冲液未混匀等原因所致   |
| 染色偏碱 | 骨髓涂片呈灰蓝色、蓝色,镜下成熟红细胞呈灰色、灰蓝色,有核细胞胞质偏蓝。可因缓冲液被蒸馏水或自来水代替、染色时固定时间过长、瑞特染液比例过高、骨髓涂片陈旧等原因所致 |
| 染色偏酸 | 骨髓涂片呈明显红色,镜下成熟红细胞呈鲜红色,有核细胞胞核过浅,多由于缓冲液比例过高或缓冲液敞开暴露过久所致                              |

(王 丽 欧阳丹明)

## 第二节 正常骨髓细胞形态学

健康成人骨髓中包含红细胞系统、粒细胞系统、巨核细胞系统、淋巴细胞系统、单核细胞系统、浆细胞系统的各阶段细胞,以及少量基质细胞,如组织细胞、吞噬细胞、肥大细胞、脂肪细胞、成骨细胞、破骨细胞等。每个系统不同阶段血细胞均有各自的形态学特点。本节主要介绍瑞特染色后光学显微镜下骨髓各系统、各阶段细胞的正常形态学特点。掌握各种细胞的形态学特点是临床血液病诊断的前提,同时对疾病的鉴别诊断、疗效观察和预后判断等都具有重要意义。

### 实验一 红细胞系统形态观察

【目的】 掌握红细胞系统的总体形态学特征、各阶段红细胞的形态学特点及划分依据,能够与形态相似的细胞相鉴别。



NOTE

【材料】 正常骨髓涂片、溶血性贫血骨髓涂片。

【形态观察】 红细胞系统(简称红系)包括原始红细胞、早幼红细胞、中幼红细胞、晚幼红细胞、红细胞,前四个阶段为有核红细胞。红细胞系统的总体形态学特征如下:①胞体较规则,圆形或椭圆形,原始红细胞及早幼红细胞可见瘤状突起;②胞核圆形,常居中,体积由大渐小,染色质由均匀颗粒状转为致密块状;③胞质颜色从深蓝色→蓝灰色→红灰色→淡红色,无颗粒。

下面介绍各阶段有核红细胞的形态学特点(表 1-2-1,图 1-2-1)。

表 1-2-1 各阶段有核红细胞的形态学特点

| 鉴别点  | 原始红细胞               | 早幼红细胞               | 中幼红细胞              | 晚幼红细胞              |
|------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| 胞体大小 | 15~25 $\mu\text{m}$ | 15~20 $\mu\text{m}$ | 8~15 $\mu\text{m}$ | 7~10 $\mu\text{m}$ |
| 胞体形态 | 圆形或椭圆形,常有瘤状突起       | 圆形或椭圆形,可有瘤状突起       | 圆形                 | 常为圆形               |
| 核形   | 圆形,常居中              | 圆形,常居中              | 圆形,常居中             | 圆形,居中或稍偏位          |
| 染色质  | 颗粒状                 | 粗颗粒状或密集小块           | 碎墨砚状,副染色质明显        | 固缩成块,副染色质可见或无      |
| 核仁   | 1~3个                | 模糊或无                | 无                  | 无                  |
| 胞质量  | 较多                  | 略增多                 | 多                  | 多                  |
| 胞质颜色 | 深蓝色不透明,有油画感,可有核周淡染区 | 蓝色或深蓝色、不透明,可有核周淡染区  | 嗜多色性呈灰蓝色、灰红色       | 浅红色、灰红色            |
| 胞质颗粒 | 无                   | 无                   | 无                  | 无                  |

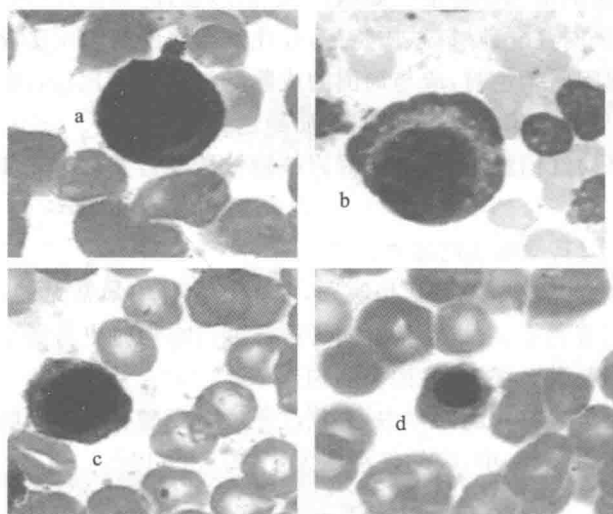


图 1-2-1 各阶段有核红细胞形态

注:a.原始红细胞;b.早幼红细胞;c.中幼红细胞;d.晚幼红细胞。

1. 原始红细胞(**pronormoblast**) 圆形或椭圆形,胞体直径 15~25  $\mu\text{m}$ ,常见瘤状或钝角状突起。胞核圆形,常居中,核染色质呈颗粒状,排列较紧密,有立体感。核仁 1~3 个,大小不一,略显蓝色,边界不清。胞质较多,深蓝色,不透明,如油画蓝色,核周可有淡染区。胞质中无颗粒,但丰富的核糖核酸自行聚集常使胞质呈蓝色假颗粒状。

2. 早幼红细胞(**early normoblast**) 圆形或椭圆形,胞体直径 15~20  $\mu\text{m}$ ,可有瘤状突起。胞核圆形,常居中,核染色质颗粒状、有聚集,或呈小块状,核仁模糊或消失。胞质相对较多,不透明,蓝色或深蓝色,无颗粒,可见核周淡染区。

3. 中幼红细胞(**polychromatic normoblast**) 多为圆形,胞体直径 8~15  $\mu\text{m}$ 。胞核圆形,常居中,核染色质凝聚呈块状,如打碎的墨砚状,副染色质明显且较透亮,无核仁。胞质较丰富,无颗粒,



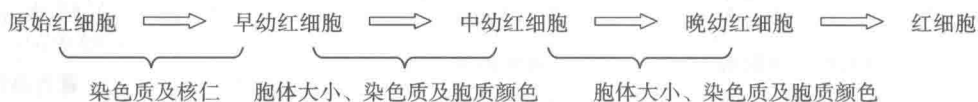
NOTE

由于胞质中有血红蛋白生成而逐渐呈灰蓝色、灰红色等不同程度的嗜多色性。

4. 晚幼红细胞(orthochromatic normoblast) 多为圆形,胞体直径 $7\sim 10\ \mu\text{m}$ 。胞核圆形,居中心或略偏位,核染色质常聚集呈大块状或固缩成深紫黑色团块,称为炭核,副染色质可见或消失,亦可见脱核状。胞质多,灰红色或粉红色,均匀,无颗粒。

5. 红细胞(erythrocyte) 双凹圆盘状,胞体直径为 $6\sim 9\ \mu\text{m}$ ,无核。胞质呈粉红色,中央部分可见淡染区,为红细胞直径的 $1/3\sim 1/2$ 。

有核红细胞的阶段划分须从胞体大小、染色质、核仁、胞质的颜色等方面综合考虑。各阶段有核红细胞的主要划分依据如下。



在红系明显增生的涂片中,有时可观察到幼红细胞造血岛,即多个有核红细胞中心围绕吞噬细胞或组织细胞。

### 【注意事项】

(1) 观察骨髓涂片时,先要确定骨髓涂片的正面朝上(正面反光性差,反面反光性好)。如反面朝上放置,低倍、高倍镜下可见细胞,而油镜下却不见,且易压碎涂片。

(2) 骨髓涂片的观察首先选择厚薄适宜(一般体尾交界处)、细胞分布均匀、成熟红细胞不重叠也不过分分离、细胞形态完整、染色好、结构易于观察处。血膜头部厚,有核红细胞胞体较小、胞质量少;尾部有核红细胞胞体较大、胞质量多。

(3) 由于细胞形态变化多样,故观察细胞时不能只根据细胞的一两个特点轻易做出否定或肯定性判断,应全面观察细胞的形态学特征。如胞体大小、形态,胞质量、颜色,胞核大小、形态、位置,核染色质、核仁有无等。同时注意兼顾核、质特征,并注意与周围细胞相比较。

(4) 观察有核红细胞胞质颜色时,应与周围的成熟红细胞进行比较,因为涂片染色的酸碱度会影响胞质颜色,偏酸时胞质颜色偏红色,偏碱时胞质颜色偏灰蓝色。

(5) 原始红细胞和早幼红细胞胞质中,有时因核糖核酸丰富并自行聚集,使有些胞质呈蓝色小块状,易被误认为颗粒。

(6) 注意有核红细胞与其他细胞的鉴别:

①原始红细胞应注意与其他原始细胞相鉴别,尤其是骨髓中最常见的原始红细胞与原始粒细胞的鉴别。在涂片过厚或着色不佳,以及某些病理情况如白血病时更易混淆。

②中幼红细胞应注意与淋巴细胞、浆细胞鉴别。

【参考范围】 在健康成人的骨髓涂片中,有核红细胞占骨髓有核细胞的 $15\%\sim 25\%$ ,原始红细胞小于 $1\%$ ,早幼红细胞小于 $5\%$ ,中、晚幼红细胞为主(约各占 $10\%$ )。

## 实验二 粒细胞系统形态观察

【目的】 掌握粒细胞系统的形态变化规律、粒细胞胞质中四种颗粒(非特异性颗粒、中性颗粒、嗜酸性颗粒、嗜碱性颗粒)的鉴别;掌握各阶段粒细胞的形态学特点及划分依据;能够与形态相似的细胞相鉴别。

【材料】 基本正常骨髓涂片、慢性粒细胞白血病血涂片或骨髓涂片、急性粒细胞白血病骨髓涂片。

【形态观察】 粒细胞系统(简称粒系)包括原始粒细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞、杆状核粒细胞和分叶核粒细胞。粒细胞系统的胞质中常有许多颗粒,从Ⅱ型原始粒细胞开始出现颗粒,称为非特异性颗粒(又称嗜天青颗粒、嗜苯胺蓝颗粒、A颗粒);从中幼粒细胞阶段开始出现特异性颗粒(又称S颗粒),有中性颗粒、嗜酸性颗粒、嗜碱性颗粒三种(颗粒的鉴别详见表1-2-2)。根



NOTE

据特异性颗粒的不同又将中幼粒细胞及其以下阶段的细胞分为中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。粒细胞系统的形态变化规律如下。①胞体：规则，呈圆形或椭圆形。②胞质颗粒：无颗粒→非特异性颗粒→特异性颗粒。③胞核：圆形→椭圆形→核一侧扁平→肾形→腊肠形→分叶状。④染色质：细致均匀细颗粒→粗颗粒→小块状。

表 1-2-2 粒细胞胞质中四种颗粒的鉴别

| 鉴别点 | 非特异性颗粒      | 中性颗粒         | 嗜酸性颗粒   | 嗜碱性颗粒       |
|-----|-------------|--------------|---------|-------------|
| 大小  | 较粗,大小不一     | 细小,大小较一致     | 粗大,大小一致 | 粗大,大小不一     |
| 形态  | 形态不一        | 细砂粒状         | 圆形小珠状   | 形态不一        |
| 颜色  | 紫红色         | 淡红色、淡紫红色或灰红色 | 橘红色或棕黄色 | 深紫红色或深紫黑色   |
| 数量  | 少量或中等量      | 多            | 多       | 不定,常不多      |
| 分布  | 分布不一,可覆盖于核上 | 均匀散在         | 均匀聚集    | 分布不一,常覆盖于核上 |

下面介绍各阶段粒细胞的形态学特点,详见表 1-2-3、图 1-2-2。

表 1-2-3 各阶段粒细胞的形态学特点(以中性粒细胞为例)

| 鉴别点  | 原始粒细胞         | 早幼粒细胞        | 中幼粒细胞              | 晚幼粒细胞           | 杆状核粒细胞        | 分叶核粒细胞         |
|------|---------------|--------------|--------------------|-----------------|---------------|----------------|
| 胞体大小 | 10~20 μm      | 12~25 μm     | 10~20 μm           | 10~16 μm        | 10~15 μm      | 10~14 μm       |
| 胞体形态 | 圆形或椭圆形        | 圆形或椭圆形       | 圆形                 | 圆形              | 圆形            | 圆形             |
| 核形   | 圆形或椭圆形        | 圆形或椭圆形,常偏向一侧 | 圆形或椭圆形,一侧扁平或略有凹陷   | 明显凹陷呈半月形、肾形或马蹄形 | 弯曲呈带形、S形、E形等  | 分2~5叶,叶之间有细丝相连 |
| 核仁   | 小而多,2~5个,清晰易见 | 清晰或模糊        | 常无                 | 无               | 无             | 无              |
| 染色质  | 细颗粒状,平坦如一层薄纱  | 较原始粒细胞粗,大小不一 | 聚集呈小索块状            | 小块状,出现副染色质      | 小块状,副染色质明显    | 粗糙块状,副染色质明显    |
| 胞质量  | 较少            | 较多或多         | 多                  | 多               | 多             | 多              |
| 胞质颜色 | 蓝色            | 蓝色           | 淡蓝色                | 淡蓝色或淡红色         | 淡红色           | 淡红色            |
| 胞质颗粒 | 无或有少许细小颗粒     | 数量不等的嗜天青颗粒   | 中等量中性颗粒,可见一定量 A 颗粒 | 充满中性颗粒, A 颗粒少或无 | 充满中性颗粒,无 A 颗粒 | 充满中性颗粒         |

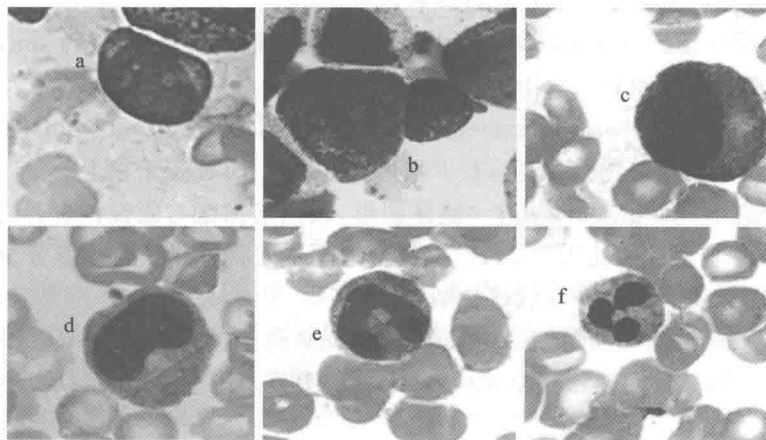


图 1-2-2 各阶段粒细胞形态

注: a. 原始粒细胞; b. 早幼粒细胞; c. 中性中幼粒细胞; d. 中性晚幼粒细胞; e. 中性杆状核粒细胞; f. 中性分叶核粒细胞。

