



全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材

临床输血学检验 实验指导

（第2版）

主编 胡丽华



中国医药科技出版社

· 全国高等医药院校医学检验技术(医学检验)专业规划教材 ·

临床输血学检验实验指导

(第2版)

主 编 胡丽华

编 者 (以姓氏笔画为序)

李志强 (上海交通大学附属第六人民医院)

张 伶 (重庆医科大学)

张循善 (安徽医科大学第一附属医院)

胡丽华 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)

赵树铭 (第三军医大学西南医院)

董伟群 (昆明医学院第一附属医院)

曾小菁 (贵阳医学院第一附属医院)

秘 书 刘 峰 (华中科技大学同济医学院附属协和医院)

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书是全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材之一，全书共5章，主要介绍了当前临床输血学检验相关常见实验的基本知识与操作技术，包括红细胞抗原抗体检测、人类白细胞抗原检测、血小板血型检测、血液成分的制备及临床输血实验室的要求、基本技术和方法等，从实验原理、仪器、试剂与标本、实验步骤、实验结果、方法学评价与注意事项等方面作了较为详尽的阐述。

本书供高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业及相关专业本科、专科和成人教育（专升本）各层次学生用作教材，也可作为临床检验人员日常工作、继续教育和职称考试的参考书。

图书在版编目（CIP）数据

临床输血学检验实验指导/胡丽华主编. —2版. —北京：中国医药科技出版社，2015.8

全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材

ISBN 978 - 7 - 5067 - 7598 - 4

I. ①临… II. ①胡… III. ①输血 - 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（2015）第 179337 号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 发行：010 - 62227427 邮购：010 - 62236938

网址 www.cmstp.com

规格 889 × 1194mm¹/₁₆

印张 4¹/₂

字数 107 千字

初版 2010 年 2 月第 1 版

版次 2015 年 8 月第 2 版

印次 2015 年 8 月第 1 次印刷

印刷 三河百盛印装有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 7598 - 4

定价 12.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材

建设委员会

主任委员 丛玉隆（中国人民解放军总医院）

副主任委员 （以汉语拼音为序）

樊绮诗（上海交通大学医学院）

胡丽华（华中科技大学同济医学院）

刘新光（广东医学院）

吕建新（温州医学院）

王 前（南方医科大学）

吴忠道（中山大学中山医学院）

姚 智（天津医科大学）

尹一兵（重庆医科大学）

委 员 （以汉语拼音为序）

陈育民（河北工程大学医学院）

洪秀华（上海交通大学医学院）

胡建达（福建医科大学）

胡翊群（上海交通大学医学院）

李咏梅（北华大学医学部）

刘 辉（大连医科大学）

刘成玉（青岛大学医学院）

吕世静（广东医学院）

王 辉（新乡医学院）

徐克前（中南大学湘雅医学院）

姚群峰（湖北中医药大学）

张进顺（河北北方学院）

吴俊英（蚌埠医学院）

郑铁生（江苏大学医学院）

秘 书 长 匡罗均（中国医药科技出版社）

办 公 室 罗万杰（中国医药科技出版社）

尚亭华（中国医药科技出版社）

出版说明

全国高等医药院校医学检验专业规划教材,于20世纪90年代开始启动建设。是在教育部、原国家食品药品监督管理局的领导和指导下,在广泛调研和充分论证基础上,由中国医药科技出版社组织牵头江苏大学、温州医科大学、中山大学、华中科技大学同济医学院、中南大学湘雅医学院、广东医学院、上海交通大学医学院、青岛大学医学院、广西医科大学、南方医科大学、301医院等全国20多所医药院校和部分医疗单位的领导和专家成立教材建设委员会共同规划下,编写出版的一套供全国医学检验专业教学使用的本科规划教材。

本套教材坚持“紧扣医学检验专业本科教育培养目标,以临床实际需求为指导,强调培养目标与用人需求相结合”的原则,10余年来历经二轮编写修订,逐渐形成了一套行业特色鲜明、课程门类齐全、学科系统优化、内容衔接合理的高质量精品教材,深受广大师生欢迎,为医学检验专业本科教育做出了积极贡献。

本套教材的第三轮修订,是在我国高等教育教学改革的新形势和医学检验专业更名为医学检验技术、学制由5年缩短至4年、学位授予由医学学士变为理学学士的新背景下,为更好地适应新要求,服务于各院校教学改革和新时期培养医学检验专门人才需求,在2010年出版的第二轮规划教材的基础上,由中国医药科技出版社于2014年组织全国40余所本科院校300余名教学经验丰富的专家教师不辞辛劳、精心编撰而成。

本轮教材含理论课程教材10门、实验课教材8门,供全国高等医药院校医学检验技术(医学检验)专业教学使用。具有以下特点:

1. 适应学制的转变 第三轮教材修订符合四年制医学检验技术专业教学的学制要求,为目前的教学提供更好的支撑。

2. 坚持“培养目标”与“用人需求”相结合 紧扣医学检验技术专业本科教育培养目标,以医学检验技术专业教育纲要为基础,以国家医学检验技术专业资格准入为指导,将先进的理论与行业实践结合起来,实现教育培养和临床实际需求相结合,做到教师好“教”、学生好“学”、学了好“用”,使学生能够成为临床工作需要的人才。

3. 充实完善内容,打造教材精品 专家们在上一轮教材基础上进一步优化、精炼和充实内容。坚持“三基、五性、三特定”,注重整套教材的系统科学性、学科的衔接性。进

一步精简教材字数，突出重点，强调理论与实际需求相结合，进一步提高教材质量。

编写出版本套高质量的全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材，得到了相关专家的精心指导，以及全国各有关院校领导和编者的大力支持，在此一并表示衷心感谢。希望本套教材的出版，能受到全国本科医学检验技术（医学检验）专业广大师生的欢迎，对促进我国医学检验技术（医学检验）专业教育教学改革和人才培养做出积极贡献。希望广大师生在教学中积极使用本套教材，并提出宝贵意见，以便修订完善，共同打造精品教材。

全国高等医药院校医学检验技术（医学检验）专业规划教材建设委员会

中国医药科技出版社

2015 年 7 月

前言

《临床输血学检验实验指导》是《临床输血学检验》的配套实验教材，本书可供全国高等医药院校医学检验技术专业的实验教学使用，也可以作为医院输血科、血库、各级血站检验工作人员参考用书。

本教材以培养临床输血医学专业技术人才为宗旨，以贯穿理论、联系实际为编写原则，参考了国内外最新的技术规范和标准，着重介绍了当前临床输血学检验相关常见实验的基本知识与操作技术，包括红细胞抗原抗体检测、人类白细胞抗原检测、血小板血型检测、血液成分的制备及临床输血实验室的要求、基本技术和方法等，在实验原理、仪器、试剂与标本、实验步骤、实验结果、方法学评价及注意事项等方面作了较为详尽的阐述，以便学生能又快又好地掌握临床输血学检验各项实验的基础知识与操作技能。

本书在编写过程中得到了许多输血界前辈及同仁们的关心和帮助，在此表示由衷的感谢。鉴于当今输血医学发展迅速和知识的不断更新，加之本人水平有限，教材中难免存在不足之处或错误，敬请各位专家、读者，尤其是使用本教材的教师、学生提出批评和指正。

编者

2015年5月

全国高等医药院校医学检验技术(医学检验)专业规划教材

第三轮修订教材目录

序号	书名	主编	单位
1	临床生物化学检验(第3版)	郑铁生	江苏大学医学院
		鄢盛恺	北京大学中日友好临床医学院
	临床生物化学检验实验指导(第3版)	涂建成	武汉大学中南医院
2		李艳	吉林医药学院
	临床检验基础(第3版)	刘成玉	青岛大学医学院
		林发全	广西医科大学
	临床检验基础实验指导(第2版)	姜忠信	青岛大学医学院
3		王元松	青岛大学医学院
	临床微生物学检验(第3版)	洪秀华	上海交通大学医学院
		刘文恩	中南大学湘雅医学院
	临床微生物学检验实验指导(第2版)	彭奕冰	上海交通大学医学院
4	临床免疫学检验(第3版)	吕世静	广东医学院
		李会强	天津医科大学
	临床免疫学检验实验指导(第3版)	曾常茜	大连大学医学院
5	临床血液学检验(第3版)	胡翊群	上海交通大学医学院
		童向民	浙江省人民医院
	临床血液学检验实验指导(第2版)	丁磊	上海交通大学医学院
		王小中	南昌大学医学院
6	临床寄生虫学检验(第3版)	吴忠道	中山大学中山医学院
		汪世平	中南大学湘雅医学院
	临床寄生虫学检验实验指导(第2版)	夏超明	苏州大学基础医学与生物科学学院
7	临床输血学检验(第3版)	胡丽华	华中科技大学同济医学院附属协和医院
	临床输血学检验实验指导(第2版)	胡丽华	华中科技大学同济医学院附属协和医院
8	分子诊断学(第3版)	李伟	温州医科大学
		黄彬	中山大学中山医学院
	分子诊断学实验指导(第2版)	金晶	温州医科大学
		陈茶	广州中医药大学第二附属医院
9	临床实验室管理(第3版)	王前	南方医科大学
		邓新立	中国人民解放军总医院
10	临床检验仪器(第2版)	邹雄	山东大学齐鲁医院
		李莉	上海交通大学附属第一人民医院



目录

第一章 红细胞抗原抗体检测	(1)
第一节 红细胞血型鉴定试验	(1)
实验一 ABO 血型鉴定	(1)
实验二 RhD 血型鉴定	(2)
实验三 ABO 亚型鉴定	(3)
实验四 Rh 表型鉴定	(5)
实验五 MNSs 血型鉴定	(6)
实验六 P 血型鉴定	(7)
实验七 唾液中 HAB 血型物质测定	(7)
第二节 意外抗体筛选及鉴定	(9)
实验一 意外抗体筛选试验	(9)
实验二 意外抗体鉴定试验	(10)
第三节 交叉配血	(12)
实验一 盐水介质交叉配血试验	(12)
实验二 酶介质交叉配血试验	(13)
实验三 抗人球蛋白介质交叉配血试验	(15)
实验四 低离子聚凝胺介质交叉配血试验	(16)
实验五 微柱凝胶介质交叉配血试验	(17)
第四节 吸收放散试验	(18)
实验一 冷抗体吸收试验	(18)
实验二 温抗体吸收试验	(20)
实验三 热放散实验	(22)
实验四 冷冻放散试验	(23)
实验五 乙醚放散试验	(24)
第五节 新生儿溶血病检测	(25)
实验一 抗体效价测定	(25)
实验二 ABO 血型不合新生儿溶血病检测	(26)
实验三 Rh 血型不合新生儿溶血病检测	(29)
第二章 人类白细胞抗原检测	(33)
实验一 HLA 血清学分型方法 (微量淋巴细胞毒试验)	(33)
实验二 HLA 分子生物学分型方法 (PCR-SSP 法)	(35)
实验三 群体反应性抗体 (PRA) 检测	(37)
第三章 血小板血型检测	(39)



实验一	血小板抗体检测（固相凝集法）	(39)
实验二	HPA 基因分型实验（PCR - SSP 法）	(41)
实验三	血小板相容性试验（微柱凝胶技术）	(42)
第四章 血液成分的制备		(44)
实验一	悬浮红细胞的制备	(44)
实验二	洗涤红细胞的制备	(45)
实验三	冰冻解冻去甘油红细胞的制备	(46)
实验四	浓缩血小板的制备	(49)
实验五	单采血小板的制备	(51)
实验六	新鲜冰冻血浆的制备	(53)
实验七	冷沉淀凝血因子的制备	(54)
第五章 临床输血实验室的要求、基本技术和方法		(56)
第一节	实验室生物安全	(56)
一、	生物安全的概念和基本原理	(56)
二、	实验室准入条件	(56)
三、	实验室生物安全个人防护	(56)
四、	实验室生物安全的操作要求	(57)
五、	生物安全实验室工作区	(57)
六、	实验室废弃物的处理	(57)
第二节	红细胞悬液的配制	(58)
第三节	酶处理红细胞的制备	(59)
第四节	各种常用试剂的配制	(60)



第一章 红细胞抗原抗体检测

第一节 红细胞血型鉴定试验

实验一 ABO 血型鉴定

【实验原理】

用已知血型特异性的抗体试剂鉴定红细胞的抗原 [正定型 (forward typing)、红细胞定型 (red cell grouping)], 同时用已知血型的试剂红细胞鉴定血清中的抗体 [反定型 (reverse typing)、血清定型 (serum grouping)], 根据正反定型结果判定血型。

【仪器、试剂与标本】

1. 仪器 滴管、洁净小试管、蜡笔、标记笔、离心机、显微镜等。
2. 试剂 单克隆或多克隆的抗 A; 单克隆或多克隆的抗 B; 抗 A, B (可选); 2% ~ 5% 的 A₁ 型、B 型和 O 型试剂红细胞。
3. 标本 2 ~ 4ml 待检血液标本 (抗凝或不抗凝, 红细胞与血清已分离好)。

【实验步骤】

(一) 玻片法

- (1) 取 1 张洁净玻片, 用蜡笔画 3 个圆圈, 标记为抗 A、抗 B、抗 A, B。
- (2) 在相应的圆圈内上分别加 1 滴抗 A、抗 B 及抗 A, B 试剂。
- (3) 再用滴管分别加入 1 滴稀释成 10% 浓度的待检血液红细胞悬液, 轻摇并充分混匀。
- (4) 观察有无凝集, 2min 后仍无凝集则判为阴性。

(二) 试管法

1. 正定型 (红细胞定型)

(1) 取洁净小试管 (内径 10mm × 75mm) 2 支, 分别标明抗 A、抗 B, 用滴管分别加入抗 A、抗 B 定型试剂各 1 滴于试管, 再分别加入受检者的 2% ~ 5% 红细胞盐水悬液 1 滴, 轻摇混合。

(2) 以 3000r/min (900 到 1000 × g) 离心 15s。

(3) 轻摇试管使细胞扣 (cell buttons) 重悬, 观察有无凝集及溶血现象, 记录结果。

2. 反向定型 (血清定型)

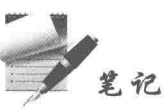
(1) 取洁净小试管 (内径 10mm × 75mm) 3 支, 分别标明 A₁、B 和 O 型细胞, 用滴管分别加入受检者血清 2 滴于试管, 再相应加入 1 滴 2% ~ 5% A₁、B 及 O 型试剂红细胞悬液, 混匀。

(2) 以 3000r/min (900 到 1000 × g) 离心 15s。

(3) 轻摇试管使细胞扣重悬, 观察有无凝集及溶血现象, 记录结果。

(三) 微柱凝胶血型卡法

(1) 取出并标记好微柱凝胶血型卡, 撕去铝箔, 垂直放置在加样卡槽内。



- (2) 在中性凝胶 A₁ 及 B 管中分别移入 50μl 0.8% ~ 1% A₁、B 试剂红细胞，再分别移入 50μl 待检者血浆/清。
- (3) 在 A - B - D - Ctl 四管中分别移入 50μl 配制成 0.8% ~ 1% 的待检者红细胞悬液。
- (4) 在室温 (18℃ ~ 25℃) 下孵育 10min。
- (5) 专用微柱凝胶卡离心机上离心 10min，观察并判读结果。

【实验结果】

ABO 血型判定应综合正反定型结果 (玻片法依据正定型判定)，判断标准见表 1 - 1。

表 1 - 1 ABO 血型正反定型结果判读表

正定型 (细胞定型)			反定型 (血清定型)			判读结果
抗 A	抗 B	抗 A, B	A _{1c}	B _c	O _c	
0	0	0	+	+	0	O
+	0	+	0	+	0	A
0	+	+	+	0	0	B
+	+	+	0	0	0	AB

注：+，凝集；0，不凝集。

【方法评价与注意事项】

1. 观察结果时若试管中出现溶血现象 (须排除外源性溶血的干扰)，表明存在抗原抗体反应并激活了补体，应视为阳性结果。
2. 在报告血型结果之前必须要解释任何 ABO 血型鉴定出现正、反定型不一致 (ABO discrepancies) 情况。ABO 血型鉴定正、反定型不一致情况既有技术问题，也有标本红细胞或血清本身的问题，初步的处理程序为主要有：
- (1) 相同的血液样本重复 ABO 血型鉴定一次，必要时可加做抗 A, B 的正定型检测，排除检测技术操作上可能的干扰。如果初始的鉴定试验中红细胞悬液含血清或血浆，重复试验中红细胞应改为生理盐水多次洗涤后红细胞，以消除因为血浆蛋白或自身抗体引起的干扰。
- (2) 重新采集一管血液样本鉴定。当 ABO 血型不一致出现在当前试验结果与历史检测记录不一致或怀疑标本存在污染时，需要重新采集标本进行鉴定。
- (3) 查阅患者病史评估可能出现改变或干扰 ABO 血型鉴定的患者疾病状态，包括：①医学诊断；②历史血型结果；③输血史；④移植史。
- (4) 评价自身对照和意外抗体筛选等血清学试验来评估因自身抗体或同种抗体引起的潜在干扰。

【思考题】

1. ABO 血型鉴定出现正反定型不一致的主要原因有哪些？
2. 孟买型与常见 O 血型有什么异同点？血型鉴定时应注意怎样进行区分？

(胡丽华)

实验二 RhD 血型鉴定

【实验原理】

用单克隆抗 D 混合血清 (IgM + IgG 类) 试剂通过凝集反应对红细胞上 RhD 抗原进行鉴定。

【仪器、试剂与标本】

1. 仪器 滴管、洁净小试管、离心机、显微镜、37℃ 水浴箱，标记笔等。
2. 试剂 单克隆抗 D (IgM + IgG 类) 混合血清试剂、5% D 阳性和阴性红细胞悬液、生理



盐水等。

3. 标本 1ml ~ 2ml 待检压积红细胞标本（抗凝或不抗凝，全血标本时须将红细胞与血浆分离好）。

【实验步骤】

（一）玻片法

1. 取 1 张洁净玻片，用蜡笔画 3 个圆圈，分别标记为待测、阴性及阳性对照。
2. 在相应圆圈内分别加 1 滴单克隆混合（IgM + IgG）抗 - D 试剂。
3. 滴加 20% ~ 50% 浓度的待检红细胞悬液、RhD 阳性和阴性对照红细胞各 2 滴至相应玻片上，轻摇并充分混匀。
4. 观察有无凝集，记录结果，2min 后仍无凝集则判为阴性。

（二）试管法

1. 取 3 支洁净小试管，分别标记为待测、阴性及阳性对照。
2. 在相应试管中分别滴加 1 滴单克隆混合（IgM + IgG）抗 - D 试剂。
3. 再滴加 2% ~ 5% 浓度的待检红细胞悬液、5% RhD 阳性和阴性对照红细胞各 1 滴至相应试管中，充分混匀。
4. 以（900 ~ 1000）×g 离心 15s。
5. 轻摇试管使细胞扣（cell buttons）悬起，观察有无凝集现象，记录结果。

（三）微柱凝胶血型卡法

1. 取出并标记微柱凝胶血型卡，撕去铝箔，垂直放置在加样卡槽内。
2. 在中性凝胶 D 管中分别移入 50μl 待检者 0.8% ~ 1% 红细胞悬液。
3. 专用微柱凝胶卡离心机上离心 10min，判读结果。

【实验结果】

阴性对照管无凝集，阳性对照管有凝集；若被检标本管出现凝集则为 Rh 阳性，反之为阴性。

【方法评价与注意事项】

1. 操作中一般先加入抗 D 试剂再加入检测红细胞悬液，这样可以通过视觉判断以免出现漏加抗 D 试剂导致的假阴性结果。
2. Rh 血型系统的抗体多由免疫刺激（输血或妊娠）产生，故一般不需做反定型实验。Rh 定型主要鉴定 D 抗原，定型时应按抗 D 血清试剂的使用说明进行，并注意必须要有严格的对照试验，包括抗原的阴、阳性对照以及试剂对照试验。
3. 某些弱 D 抗原需通过抗球蛋白实验、吸收放散试验或基因分型等技术才能检出。

【思考题】

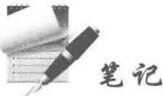
导致 Rh 血型鉴定可能出现假性的常见原因有哪些？

（胡丽华）

实验三 ABO 亚型鉴定

【实验原理】

ABO 亚型表型分型是通过红细胞上携带 A 或 B 抗原数量多少和分泌型中 ABH 血型物质的不同来区分。红细胞上携带 A 或 B 抗原数量差异可以通过与抗 A、抗 A₁、抗 B 及抗 A, B 的凝集反应程度以及进行吸收和放散试验的结果来分析，分泌型中 ABH 血型物质常通过唾液样本



进行凝集抑制试验来鉴定。

【仪器、试剂与标本】

- 1. 仪器 滴管、洁净小试管、记号笔、离心机、显微镜等。
- 2. 试剂 单克隆或多克隆的抗 A、抗 B、抗 A₁B、抗 -H、抗 A₁ 等。2% ~5% 的 A₁ 型、A₂ 型、B 型和 O 型红细胞悬液等。
- 3. 标本 EDTA 抗凝或不抗凝全血标本。

【实验步骤】

- 1. 取 5 支干净试管，做好标记，分别加入抗 A、抗 A₁、抗 A₁B、抗 H 和抗 B 试剂各 1 滴；再分别加入 1 滴制备好的 2% ~5% 受检者的红细胞悬液。
- 2. 另取 4 支干净试管，做好标记，分别加入受检者血浆或血清 2 滴，依次分别加入 A₁、A₂、B 和 O 试剂红细胞各 1 滴。
- 3. 轻轻混匀，根据试剂厂商的使用说明书进行离心。通常条件是室温，(900 ~1000) ×g 离心 15 ~30s。
- 4. 轻轻摇动试管，观察凝集强度并记录结果。
- 5. 有条件时可加测分泌型个体唾液中的 A、B 和 H 物质。
- 6. 必要时需要用待检红细胞与抗 A、抗 A₁、抗 B 及抗 A₁B 试剂进行吸收和放散试验。

【实验结果】

亚型分型按照表 1-2 进行判定。

表 1-2 ABO 亚型的血清学鉴定表

红细胞表现型	红细胞与已知抗血清反应					血清与试剂红细胞反应				唾液分泌型
	抗 A	抗 B	抗 A ₁ B	抗 H	抗 A ₁	A ₁	A ₂	B	O	
A ₁	++++	0	++++	+	++++	0	0	++++	0	A&H
Aint	++++	0	++++	+++	++	0	0	++++	0	A&H
A ₂	++++	0	++++	++	0	+	0	++++	0	A&H
A ₃	++mf	0	++mf	+++	0	+	0	++++	0	A&H
Am	0/w+	0	0/w+	++++	0	0	0	++++	0	A&H
Ax	0/w+	0	+ / ++	++++	0	++	0 / +	++++	0	H
Ael	0	0	0	++++	0	++	0	++++	0	H
B	0	++++	++++	+		++++	++++	0	0	B&H
B ₃	0	+mf	++mf	++++		++++	++++	0	0	B&H
Bm	0	0	0/w+	++++		++++	++++	0	0	B&H
Bx	0	0/w+	0 / ++	++++		++++	++++	0	0	H
O	0	0	0	++++		++++	++++	++++	0	H
Oh	0	0	0	0		++++	++++	++++	++++	0

注：+ ~++++，凝集强度递增；w+，弱凝集；mf，混合外观凝集；0，无凝集。

【方法评价与注意事项】

- 1. 随着单克隆 ABO 定型试剂取代人源鉴定血清，将可能难以按这些血清学反应的特征对一些 ABO 亚型的抗原进行鉴别定型。
- 2. 当血清学分型方法出现困难时可以采用家系研究或基因分型方法作为重要的鉴定方法。
- 3. 新生儿红细胞 ABO 血型抗原较弱，新生儿和近期输血者均不宜进行亚型鉴定。



【思考题】

- 1. ABO 血型血清学及基因分型方法通常有哪些以及各自的优缺点？
- 2. 常见的 A 和 B 亚型血清学特征及其鉴别要点？

(胡丽华)

实验四 Rh 表型鉴定

【实验原理】

用抗 D、E、C、c、e (IgM + IgG 类) 混合型血清分型试剂检测待测红细胞上的相应抗原。

【仪器、试剂与标本】

- 1. 仪器 滴管、洁净小试管、记号笔、离心机、显微镜等。
- 2. 试剂 抗 D、抗 E、抗 C、抗 c 和抗 e (IgM + IgG 类) 混合型血清分型试剂，生理盐水等。
- 3. 标本 2% ~ 5% 的抗凝或不抗凝待检红细胞生理盐水悬液。

【实验步骤】

- 1. 取 5 支小试管，做好标记，分别加入抗 D、抗 E、抗 C、抗 c 和抗 e 血清分型试剂 1 滴。
- 2. 再相应加入 2 滴 2% ~ 5% 待测红细胞悬液，混匀。
- 3. 1000r/min 离心 1min 或 3000r/min (900 到 1000 × g) 离心 15s，观察管内凝集情况并记录反应结果。

【实验结果】

依据下表 1 - 3 反应格局鉴定 Rh 表型。

表 1 - 3 Rh 表型鉴定表

抗血清					表型	
抗 D	抗 C	抗 E	抗 c	抗 e	Rh - Hr	F - R
+	+	0	+	+	R1r	CcDee
+	+	0	0	+	R1R1	CCDee
+	+	+	+	+	R1R2	CcDEe
+	0	0	+	+	R0R0/ R0r	ccDee
+	0	+	+	+	R2r	ccDEe
+	0	+	+	0	R2R2	ccDEE
+	+	+	0	+	R1Rz	CCDEe
+	+	+	+	0	R2Rz	CcDEE
+	+	+	0	0	RzRz	CCDEE
0	0	0	+	+	rr	ccdee
0	+	0	+	+	r'r	Ccdee
0	0	+	+	+	r ~ r	ccdEe
0	+	+	+	+	r _y r	CcdEe

注：+，凝集；0，无凝集。

【方法评价与注意事项】

- 1. 临床上一般只要检查是否为 Rh 阳性或阴性，故只需用抗 D 血清进行鉴别；如果为阴性反应，应进一步排除弱 D，然后再作 Rh 表型分型。



2. 鉴定结果只与抗 D 血清凝集，不和抗 E、抗 C、抗 c 和抗 e 凝集，则受检者为 Rh 缺失型，以“-D-”表示。

【思考题】

- 1. Rh 血型亚型主要种类有？
- 2. 弱 D 的鉴定方法？

(胡丽华)

实验五 MNSs 血型鉴定

【实验原理】

用 IgM 类特异性抗 M、抗 N 抗 S 和抗 s 血清试剂来鉴定红细胞上有无相应的 MN 抗原和 Ss 抗原。

【仪器、试剂与标本】

- 1. 仪器 滴管、洁净小试管、记号笔、离心机、显微镜等。
- 2. 试剂 单克隆 IgM 类抗 M、抗 N、抗 S 和抗 s 血清，生理盐水等。
- 3. 标本 2% ~5% 待检红细胞生理盐水悬液。

【实验步骤】

取 4 支做好标记的小试管，加入相应的抗 M、抗 N、抗 S 及抗 s 血清各 1 滴；再加入受检者 2% ~5% 红细胞悬液 1 滴，混匀，3000r/min (900 ~1000 × g) 离心 15s，观察管内凝集情况并记录结果。

【实验结果】

MNSs 血型判定详见下表 1-4。

表 1-4 MNSs 血型鉴定表

红细胞与相应抗血清反应				表型
抗 M	抗 N	抗 S	抗 s	
+	0			M
+	+			MN
0	+			N
		+	0	S
		0	+	s
		+	+	Ss

注：+，凝集；0，无凝集

【方法评价与注意事项】

- 1. 不能用酶法鉴定 MNS 血型，因为木瓜酶或菠萝蛋白酶会破坏大部分糖蛋白 A（GPA）和糖蛋白 B（GPB）上的抗原，造成漏检。
- 2. IgM 类抗 M 和抗 N 偶尔可见天然抗体，可引起血型正反定不一致及交叉配血实验不合；IgG 类抗 M 可引起新生儿溶血病和输血反应。
- 3. 我国汉族人群中 M 表型频率在 45% ~50% 之间。

【思考题】

- 1. MNSs 血型鉴定时能否采用酶介质技术？
- 2. 存在多种意外抗体时，怎么排除 MNSs 血型系统意外抗体的干扰？

(胡丽华)



实验六 P 血型鉴定

【实验原理】

根据 IgM 类特异性血型抗体与红细胞膜上特异性抗原结合出现凝集反应的原理,用已知 IgM 类特异性标准抗 P_1 血清来测定红细胞上有无相应的 P_1 抗原。存在 P_1 抗原为 P_1 型,无 P_1 抗原为 P_2 型。

【仪器、试剂与标本】

1. 仪器 白瓷板或载玻片、小试管、记号笔、玻璃棒。
2. 试剂 抗 P_1 分型血清;已知 P_1 和 P_2 型 2% ~ 5% 红细胞生理盐水悬液;生理盐水。
3. 标本 2% ~ 5% 待检红细胞生理盐水悬液。

【实验步骤】

1. 取划有方格的白瓷板 1 块或小试管 3 支,标明受检者、 P_1 和 P_2 对照,分别加入抗 P_1 分型血清 1 滴。
2. 按标记加受检者 2% ~ 5% 红细胞生理盐水悬液、 P_1 和 P_2 红细胞生理盐水悬液各 1 滴,用玻璃棒分别混合均匀。
3. 转动白瓷板数次或振摇小试管,放置室温中 15min,肉眼观察结果,再用显微镜确证。

【实验结果】

P_1 对照凝集, P_2 对照不凝集,试验结果可靠。此时受检者红细胞凝集者为 P_1 型,不凝集者为 P_2 型。

【方法评价与注意事项】

1. P 血型鉴定应严格掌握反应时间,否则易出现假阳性。
2. 抗 - P_1 属冷凝集素 IgM, 4℃ 为最适反应温度。
3. 贮存红细胞的反应能力减弱,这给红细胞定型造成困难,所以作 P 血型定型时,要求选用新鲜的血液样本。

【思考题】

为什么说 P 血型定型试验的反应温度不宜过高?

(胡丽华)

实验七 唾液中 HAB 血型物质测定

【实验原理】

根据凝集抑制实验的原理,人唾液中 HAB 血型物质为可溶性的半抗原,能特异性地与相应抗体结合,从而抑制抗体再与相应红细胞上抗原发生凝集反应,由此可以判断受检唾液中是否有血型物质存在及其类型,有助于 ABO 亚型的分类及某些特殊情况下血型的鉴定。

【仪器、试剂与标本】

1. 仪器 试管架、滴管、小试管、吸管、记号笔、加样器、电炉、烧杯、离心机、4℃ 冰箱等。
2. 试剂 多克隆或单克隆抗 A、抗 B、抗 H (有抑制活性) 血清试剂;2% 的 A、B 和 O 型红细胞生理盐水悬液;生理盐水;已知 H 分泌型和非分泌型唾液用于阳性或阴性对照。
3. 标本 被检者漱口后留取自然流出的唾液 5 ~ 10ml。