

全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材

供医学检验、卫生检验等专业使用

临床输血学检验 实验指导

主 编 罗昭逊



科学出版社

全国高等医药院校教材卫生部规划教材

第四版 供临床医学、口腔医学、预防医学专业用

临床输血学检验 实验指导

王 健 李瑞霞

人民卫生出版社

全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材
供医学检验、卫生检验等专业使用

临床输血学检验实验指导

主 编 罗昭逊
副主编 肖 芸 卢显福
编 委 (按姓氏汉语拼音排序)
董 韬(贵州省血液中心)
黄吉娥(贵阳医学院)
刘咏梅(贵阳医学院)
卢显福(贵州省血液中心)
罗昭逊(贵阳医学院)
肖 芸(贵阳医学院)
杨 芳(贵阳医学院)
叶湘漓(湖南师范大学医学院)
曾小菁(贵阳医学院附属医院)
张亚莉(贵阳医学院)
祝丽丽(贵阳医学院附属医院)
秘 书 廖 颖(贵阳医学院附属医院)

科 学 出 版 社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

本书是全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材之一,全书共8章,26个实验。第一章至第六章是临床输血学检验的验证性实验,重点介绍红细胞血型系统检测、红细胞血型血清学检测、交叉配血试验、白细胞抗原检测、血小板抗原检测及血液成分的制备。第七章为综合性实验,包括新生儿溶血病检测和疑难输血病例分析。第八章介绍输血检验的质量管理。本书以验证性实验为主,强调临床输血学检验的基础知识与基本操作技能,在此基础上增加了综合性实验和输血检验的质量管理内容,具有较强的临床实用性。

本书主要作为医学检验、卫生检验等专业本科生实验指导教材,同时可作为临床输血检验工作者以及临床医学工作者的工具书。

图书在版编目(CIP)数据

临床输血学检验实验指导 / 罗昭逊主编. —北京:科学出版社,2012.2

全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-033518-0

I. 临… II. 罗… III. 输血-血液检查-高等学校-教学参考资料 IV. R446.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 020347 号

责任编辑:李国红 王 颖 / 责任校对:郭瑞芝

责任印制:刘士平 / 封面设计:范璧合

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>

新科印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年2月第一版 开本:787×1092 1/16

2012年2月第一次印刷 印张:6 彩插:1

字数:126 000

定价:19.80元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材》 编写指导委员会

顾 问	郑铁生			
主 任	杨国珍			
副主任	李永念			
委 员	(按姓氏笔画排序)			
	王正荣	王良宏	王豫萍	李 兴
	肖 芸	谷俊莹	张亚莉	罗昭邈
	费 樱	莫 非	夏曙华	黄 海
	黄韵祝	蒋红梅	曾小菁	潘 卫
秘 书	潘 卫	谷俊莹		

序

医学检验是临床医学与实验医学的有机结合,是运用物理学、化学、分子生物学、免疫学、病原生物学、生物信息学、细胞学等技术,为疾病预防保健、疾病诊断、治疗及科研等提供客观依据的一门学科。医学检验专业的培养目标是培养既具有基础医学、临床医学和检验医学理论知识,又具有实验室基本技能和一定创新能力的高级医学检验人才。

按照《教育部关于“十二五”普通高等教育本科教材建设的若干意见》(教高[2011]5号)“充分发挥高等学校在教材建设中的主体作用……高等学校要根据学校特色,促进教材建设与人才培养相结合,与专业建设、课程建设、科研工作、教学方式方法改革和教学辅助资源建设相结合,形成良性互动,建设高质量教材”的精神,我们以贵阳医学院为主体,联合第三军医大学、湖北医药学院、北京大学医学部、湖南师范大学、宁夏医科大学、遵义医学院、昆明医学院、海南医学院、徐州医学院、贵阳中医学院、贵阳护理职业学院等高等医药院校和贵州省临床检验中心、贵州省人口计生科研所、贵州省人民医院、贵州省血液中心、贵阳市妇幼保健院儿童医院、广州军区总医院以及贵州省肿瘤医院的专家教授共同编写了这套《全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材》。这套教材包括了医学检验专业课程的七本实验教材,分别是《临床基础检验学实验指导》、《临床生物化学检验实验指导》、《临床微生物学检验实验指导》、《临床免疫学检验实验指导》、《临床血液学检验实验指导》、《分子诊断学实验指导》及《临床输血学检验实验指导》。本教材可供高等院校医学检验、卫生检验等专业学生实验使用,也可供从事临床检验工作和医学研究的技术人员参考使用。

本书的顺利出版,是各位编者辛勤劳动的结果,也得到各参编单位的大力支持,尤其得到教育部国家级教学团队、高等学校特色专业建设点、贵州省高等学校教学内容和课程体系改革重点项目、贵州省教育厅省级实验教学示范中心和贵州省卫生厅、贵阳医学院及贵阳医学院附属医院专项资金的资助,在此一并致谢。

敬请各位读者在使用中多提宝贵意见,以利修改再版。

《全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材》编写指导委员会

2012年元月

前言

临床输血学检验是医学检验专业重要分支学科之一,是医学检验专业本科生的必修课。《临床输血学检验实验指导》是全国高等院校医学检验专业实验教学规划教材之一,由长期从事医学检验教学工作和临床输血检验工作人员共同参加编写,力求兼顾本科生实验教学与临床输血检验工作者的工作实际需求。本教材编写遵循医学检验专业复合型人才培养目标,重视学生实验技能和科研能力的培养,强化其临床医学知识,教材编写中主要体现实用性和创新性:

1. 实用性 主要体现在三方面:一是本教材摒弃了既往教材中求全思想,紧紧围绕临床输血检验工作实际,选择目前大多数医学检验专业教学开设的或临床实际应用的实验,重点介绍了红细胞血型系统检测、红细胞血型血清学检测、交叉配血试验、白细胞抗原检测及血小板抗原检测,各实验从实验目的、实验原理、实验器材、实验步骤、实验结果、注意事项、实验评价和思考题等方面进行阐述,巩固了学生对基础理论知识的掌握,加强了学生对实验操作、影响因素、实验评价等方面的学习;二是注重学生临床实践能力培训,介绍了血液成分制备的相关内容,扩展了学生掌握基本输血检验技能外的输血相关知识;三是重视临床检验的质量管理控制,介绍了输血质量管理内容,不仅加强了学生质量管理意识,注重培养其良好的实验操作习惯,同时该部分内容对临床输血工作也具有指导意义。

2. 创新性 主要体现在两方面:一是教材编排上增加了综合性实验,该部分内容注重学生综合分析能力的培养,引导学生在实验教学中积极思考,弄清楚为什么做?做什么?怎么做?同时有利于启发学生运用所学知识解决临床实际问题;二是教材内容中增加了疑难输血病例分析,该部分内容不仅训练了学生的临床思维能力,也为临床输血检验工作者提供了良好的分析思路和借鉴。

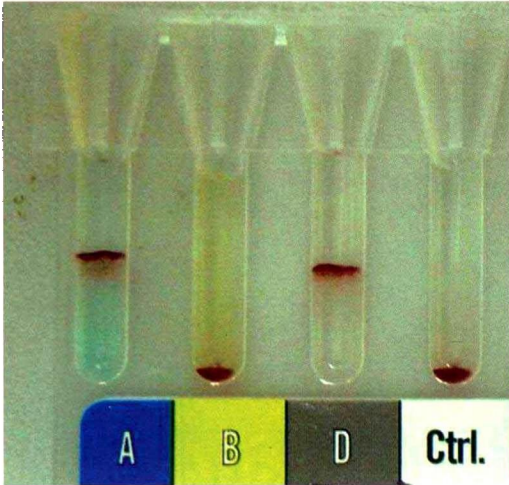
本书主要作为医学检验、卫生检验等专业本科生实验指导教材,同时可作为临床输血检验工作者以及临床医学工作者的工具书。

由于编者水平和经验有限,书中难免存在不妥之处,恳请各位专家和广大读者批评指正。

罗昭逊

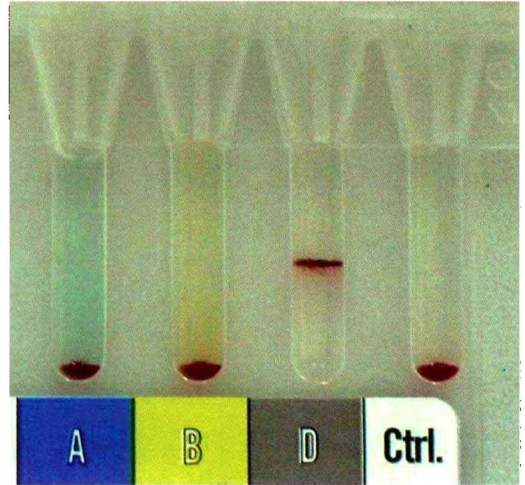
2012年1月

彩图



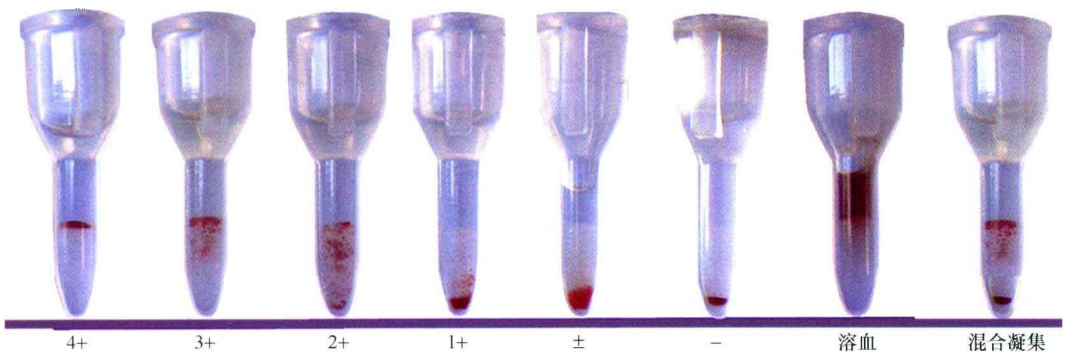
彩图1-1 微柱凝胶卡式法结果判断
(A型RhD阳性)

抗-A: 4+; 抗-B: -; 抗-D: 4+; 阴性对照: -



彩图1-2 微柱凝胶卡式法结果判断
(O型Rh阳性)

抗-A: -; 抗-B: -; 抗-D: 4+; 阴性对照: -



彩图2-1 微柱凝胶法实验结果判断

目 录

序

前言

第一章 红细胞血型系统检测	(1)
实验一 ABO 血型鉴定	(1)
实验二 ABO 亚型鉴定	(4)
实验三 RhD 血型鉴定	(6)
实验四 Rh 表型鉴定	(9)
第二章 红细胞血型血清学检测	(11)
实验五 意外抗体筛查	(11)
实验六 意外抗体鉴定	(14)
实验七 抗体效价测定	(16)
实验八 直接抗人球蛋白试验	(20)
实验九 热放散试验	(21)
实验十 乙醚放散试验	(23)
实验十一 血清游离抗体测定	(24)
第三章 交叉配血试验	(26)
实验十二 盐水介质交叉配血试验	(26)
实验十三 抗人球蛋白介质交叉配血试验	(27)
实验十四 低离子聚凝胺介质交叉配血试验	(29)
实验十五 微柱凝胶介质交叉配血试验	(31)
第四章 白细胞抗原检测	(33)
实验十六 白细胞抗原检测的基因分型方法	(33)
第五章 血小板抗原检测	(36)
实验十七 血小板抗原检测的基因分型方法	(36)
第六章 血液成分的制备	(39)
实验十八 悬浮红细胞的制备	(39)
实验十九 洗涤红细胞的制备	(40)
实验二十 冰冻解冻去甘油红细胞的制备	(43)
实验二十一 浓缩血小板的制备	(45)
实验二十二 单采血小板的制备	(47)
实验二十三 新鲜冰冻血浆的制备	(49)
实验二十四 冷沉淀凝血因子的制备	(50)

第七章 综合性实验	(52)
实验二十五 新生儿溶血病检测	(52)
实验二十六 疑难输血病例分析	(55)
第八章 输血检验的质量管理	(74)
参考文献	(82)
彩图	

第一章 红细胞血型系统检测

ABO 和 Rh 血型系统是人类最重要的两大红细胞血型系统。红细胞 ABO 血型鉴定包括正定型和反定型,其中正定型(红细胞定型)是指用已知血型特异性的试剂血清检查待检红细胞上抗原;反定型(血清定型)是用已知血型的试剂红细胞检查待检血清中的抗体。Rh 血型鉴定一般指 Rh 系统中 D 抗原的检测,是指用抗 D 试剂血清检查待检红细胞上是否带有 D 抗原。

实验一 ABO 血型鉴定

【实验目的】

掌握红细胞 ABO 血型系统正定型(forward typing)、反定型(reverse typing)的原理、操作方法及结果判断。

一、盐水介质法

【实验原理】

在室温条件下,用已知 ABO 血型的标准血清、标准红细胞分别与待检红细胞、待检血清盐水介质反应,通过观察红细胞是否出现凝集现象来鉴定待检红细胞膜上是否有与血型抗体相对应的抗原以及血清中是否有相对应的抗体,从而进行 ABO 血型鉴定。

【实验器材】

1. 试剂

单克隆或多克隆的抗-A、抗-B 定型试剂,A 型、B 型和 O 型试剂红细胞,生理盐水。

2. 器材

离心机、试管、滴管、试管架、标记笔。

【实验步骤】

(1) 待检红细胞用生理盐水洗涤 3 次,配成 2%~5% 红细胞悬液待用。

(2) 正定型:取试管 2 支,用标记笔标记后加入抗-A、抗-B 定型试剂各 2 滴,然后加入待检 2%~5% 红细胞悬液 1 滴。

(3) 反定型:取试管 3 支,用标记笔标记后加入待检血清各 2 滴,然后加入 2%~5% A、B 及 O 型试剂红细胞各 1 滴。

(4) 将上述试管混匀后,以 3000r/min 离心 15s 或 1000r/min 离心 1min 后,轻摇试管使细胞扣悬后观察有无凝集及溶血现象,并记录正、反定型结果。

【实验结果】

1. 阴性结果

红细胞呈均匀混悬状态。

2. 阳性结果

红细胞凝集或溶血。

3. ABO 血型正、反定型结果判定

结果判定见表 1-1。

表 1-1 红细胞 ABO 血型系统正、反定型结果判定表

正定型(红细胞定型)		反定型(血清定型)			结果判定
抗-A	抗-B	Ac	Bc	Oc	
—	—	+	+	—	O 型
+	—	—	+	—	A 型
—	+	+	—	—	B 型
+	+	—	—	—	AB 型

注：+为凝集反应；—为无凝集反应

【注意事项】

(1) 器材应洁净、干燥、中性，以防止和减少非特异性凝集。为避免交叉污染，建议使用一次性器材。

(2) 标准血清从冰箱取出后，应平衡至室温后再用，用后应尽快放回冰箱保存。

(3) 红细胞 ABO 血型鉴定应用定型血清和试剂红细胞应标准化。通常情况下，标准的单克隆或多克隆抗-A、抗-B 血型试剂效价不得低于 1:128，在对恶性血液病尤其是白血病与骨髓增生异常综合征待检鉴定时，标准的单克隆或多克隆抗-A、抗-B 血型试剂效价不得低于 1:256。

(4) 由于红细胞 ABO 血型抗体大多数属于 IgM 抗体，血型鉴定时一般在室温 20~24℃内进行试验，室温若低于 10℃，易出现冷凝集而造成假阳性结果，而 37℃可使反应减弱。

(5) 加试剂顺序：一般先加血清，再加红细胞悬液，以便核实是否漏加血清；加试剂量要准确，要求红细胞与血清充分混匀。

(6) 溶血或凝集都判断为阳性结果。

(7) 应严格控制离心时间与速度，以防假阳性或假阴性结果出现。

(8) 观察凝集结果时须在光亮的背景下进行，观察后立即记录结果，也可应用光学显微镜观察细小凝集等。

【实验评价】

盐水法进行 ABO 血型鉴定包括玻片法和试管法两种，其中玻片法操作简便、不需离心，适用于大规模血型普查，但运用该法时红细胞抗原和抗体发生凝集反应的强度较弱，容易被忽略而导致定型有误，故现在临床上较少使用。试管法定型反应快，所需时间短，同时，该法中通过离心作用增强凝集反应，可发现亚型和较弱的抗原-抗体反应，结果较准确可靠，临床上运用较为普遍。

二、微柱凝胶卡式法

【实验原理】

凝胶具有分子筛效应和亲合效应,在微柱凝胶介质中红细胞抗原与相应抗体结合,经低速离心,凝集的红细胞悬浮在凝胶上层,而未与抗体结合的红细胞则沉于凝胶底部(管底尖部)。

【实验器材】

1. 试剂

ABO 正、反定型血型鉴定卡(简称血型卡),A、B 及 O 型试剂红细胞,生理盐水。

2. 器材

离心机、卡式专用离心机、试管、微量移液器、滴管、试管架、标记笔。

【实验步骤】

(1) 待检红细胞用生理盐水洗涤 3 次,配成 0.8%~1% 悬浮红细胞,待用。

(2) 将 A、B 及 O 型试剂红细胞用生理盐水稀释成 0.8%~1% 红细胞悬液。

(3) 取血型卡一张,分别用标记笔标记-A、-B、Ac、Bc、Oc。在正定型抗-A、抗-B 反应柱中加入待检 0.8%~1% 红细胞悬液 50 μ l(1 滴);在反定型反应柱中加入待检血清各 50 μ l(1 滴),再加入 0.8%~1% 标准 A、B 及 O 型试剂红细胞各 50 μ l(1 滴)。

(4) 将血型卡置入卡式专用离心机中,3500r/min 离心 9min,肉眼观察结果。

【实验结果】

1. 阴性结果

红细胞沉于微柱凝胶的尖底部,表明无相应的红细胞抗原与抗体结合。

2. 阳性结果

红细胞抗原与相应抗体在微柱凝胶中形成特异性抗原-抗体复合物,浮在凝胶表面或中间,为阳性反应。

反应强度:特异性红细胞抗原-抗体复合物位于凝胶表面,为强阳性反应;复合物在凝胶中部为弱阳性反应;越靠近凝胶底部凝集颗粒愈小,反应越弱。

3. ABO 血型结果判定

结果判定见表 1-2,图 1-1,图 1-2,彩图 1-1,彩图 1-2。

表 1-2 ABO 血型结果判定表

血型	抗-A	抗-B
A	+	-
B	-	+
O	-	-
AB	+	+

【注意事项】

(1) 红细胞标本避免被细菌污染,否则会出现假阳性反应。尽可能应用当日采集的新鲜血做本试验。如不得不用过夜血或陈旧血,则必须首先用该标本做阴性对照试验,以确定该标本是否可以做本实验。

(2) 如在微柱凝胶管中出现溶血现象,强烈提示为红细胞抗原-抗体阳性反应,也不排除其他原因所致溶血。

(3) 所用器材必须干燥清洁、防止溶血,凝集和溶血的意义一样。为避免交叉污染,建议使用一次性器材。标准血清从冰箱取出后,应待其平衡至室温后再用,用后应尽快放回冰箱保存。

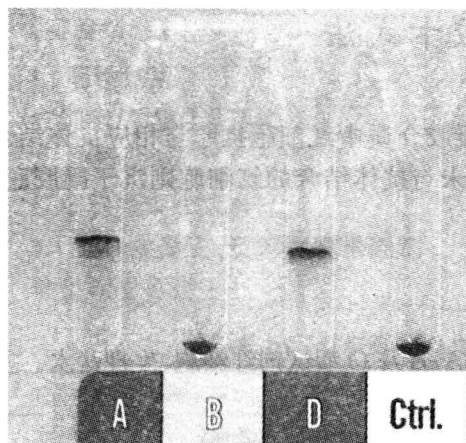


图 1-1 微柱凝胶卡式法结果判断
(A 型 RhD 阳性)

抗-A:4+;抗-B:-;抗-D:4+;阴性对照:-

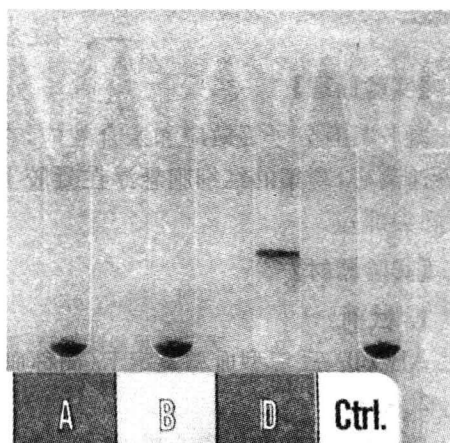


图 1-2 微柱凝胶卡式法结果判断
(O 型 Rh 阳性)

抗-A:-;抗-B:-;抗-D:4+;阴性对照:-

(4) IgM 抗-A 和抗-B 与相应红细胞的反应温度以 4℃ 最强,但为了防止冷凝集现象干扰,一般在室温 20~24℃ 内进行试验,而 37℃ 条件可使反应减弱。

(5) 幼儿红细胞抗原未发育完全、老年体弱者抗原性较弱,最好采用试管法鉴定血型。

(6) 先天性免疫球蛋白缺陷的患者,长期大量应用免疫抑制,血型抗体可减弱或消失;血清中存在自身免疫性抗体、冷凝集素效价增高、多发性骨髓瘤、免疫球蛋白异常均可造成反定型困难;新生儿体内可存在母亲输送的血型抗体,且自身血型抗体效价又低,因出生 6 个月以内的婴儿不宜做反定型。老年人血清中抗体水平大幅度下降或被检者血清中缺乏抗-A 及(或)抗-B 抗体,可引起假阴性或血型鉴定错误。

(7) 标准血清出厂时抗-A 效价 ≥ 128 ;抗-B 效价 ≥ 128 ;抗-D 效价 ≥ 64 。

【实验评价】

微柱凝胶卡式法较盐水介质法检测结果更准确、敏感,且操作简单,客观性好,通过计算机扫描可长期保存结果。

【思考题】

- (1) ABO 血型分类的原则是什么?
- (2) 为什么 ABO 血型鉴定应采用“正反定型”两种方法?

实验二 ABO 亚型鉴定

【实验目的】

掌握 ABO 亚型鉴定的实验原理、操作过程及结果分析。

【实验原理】

ABO 亚型的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 AB 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。

【实验器材】

1. 试剂

单克隆或多克隆的抗-A 试剂、抗-B 试剂,抗-A、B 试剂,抗-H 试剂,抗-A₁ 试剂,2%~5%的 A₁、A₂ 型、B 型和 O 型标准红细胞悬液。

2. 器材

离心机、显微镜、水浴箱、滴管、试管、标记笔。

【实验步骤】

(1) 分别加 2%~5%待检红细胞 1 滴与抗-A、抗-B、抗-A₁ 及抗-H 试剂 1 滴进行反应(包括常规试管法与吸收、放散实验),观察凝集反应程度。

(2) 分别加待检血清 1 滴,再加入 2%~5%的 A₁、A₂ 型、B 型和 O 型标准红细胞 1 滴(包括常规试管法与吸收、放散实验),观察凝集反应程度。

(3) 测分泌型个体唾液中的 A、B 和 H 物质的存在与缺失。

【实验结果】

根据表 1-3 综合分析做出判断。

表 1-3 ABO 亚型的血清学反应鉴定表

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、B	抗-H	抗-A ₁	A ₁	A ₂	B	O	
A ₁	4+	0	4+	1+	4+	0	0	4+		A&H
A _{int}	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	A&H
A ₂	4+	0	4+	3+	0	0	0	4+	0	A&H
A ₃	2+/mf	0	2+/mf	3+	0	+	0	4+	0	A&H
A _m	0/w+	0	0/w+	4+	0	0	0	4+	0	A&H
A _x	0/w+	0	+/+2	4+	0	+	0/+	4+	0	A&H
A _{el}	0	0	0	4+	0	2+	0	4+	0	H
B	0	4+	4+	2+		4+	3+	0	0	B&H
B ₃	0	2+/mf	2+/mf	4+		4+	3+	0	0	B&H
B _m	0	0/w+	0/w+	4+		4+	3+	0	0	B&H
B _x	0	0/w+	w+/2+	4+		4+	3+	w+	0	H
O	0	0	0	4+		4+	3+	4+	0	H
O _h	0	0	0	0		4+	3+	4+	4+	-

注:4+,凝集强度递增;w+,弱凝集;mf,混合外观凝集;0,无凝集

【注意事项】

(1) 检查时必须掌握反应时间,若 A₁ 和 A₂ 对照红细胞都凝集,表示抗-A₁ 血清有异常;若 A₁ 和 A₂ 对照红细胞都不凝集,可再延长观察时间,如始终不凝集,也证明抗-A₁ 血清有异常。新生儿红细胞 ABO 血型抗原较弱,不适宜做亚型鉴定。

(2) 用吸收和放散法鉴定其他弱 A 和弱 B 亚型结果判读时,应注意:若放散液与抗原阳性细胞反应,最后洗涤液与抗原阳性细胞不起反应;或者 O 型对照红细胞平行试验放散液与抗原阳性细胞不起反应,则放散液中存在抗-A 或抗-B,细胞上存在 A 或 B 抗

原。若放散液不与 A 或 B 细胞发生反应,可能表明细胞上没有抗原表达,不能吸收相关抗体,或是放散液制备失误造成。

【实验评价】

试管法操作简单,时间短,但是试剂红细胞保存时间短,临床病例较少,故临床很少开展。

【思考题】

ABO 亚型检测的临床意义是什么?

实验三 RhD 血型鉴定

一、RhD 血型鉴定方法

【实验目的】

掌握红细胞 RhD 血型系统鉴定的原理、操作方法及结果判断。

(一) 盐水介质法

【实验原理】

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

【实验器材】

1. 试剂

单克隆抗-D(IgM+IgG 型)混合血清试剂、IgG 型抗-D 血清试剂、RhD 阳性和阴性红细胞。

2. 器材

离心机、显微镜、水浴箱、滴管、试管。

【实验步骤】

(1) 待检红细胞用生理盐水洗涤,并制备成 2%~5%红细胞悬液。

(2) 将 RhD 阳性和阴性红细胞制备成 2%~5%红细胞悬液。

(3) 取 3 支试管,分别标记为待检样本管、阳性对照管和阴性对照管,各管加入 1 滴抗-D(IgM+IgG 型)混合试剂。

(4) 在对应标记管中分别加入 1 滴 2%~5%的待检者红细胞悬液、5%RhD 阳性红细胞悬液和 5%RhD 阴性红细胞悬液;混匀,3000r/min 离心 15s 或 1000r/min 离心 1min。

(5) 斜持试管,轻轻摇动或轻轻弹动使细胞扣脱落管底,肉眼或镜检观察红细胞有无凝集现象。

【实验结果】

1. 对照结果判断

阳性对照管出现凝聚,阴性对照管不凝集,说明被检管的结果可信。

2. 待检标本结果判断

若被检管出现凝集,为 Rh 阳性,反之则为 Rh 阴性。

【注意事项】

(1) Rh 血型系统的抗体多由获得性免疫刺激(输血或妊娠)产生,故一般不需做反定型试验。

(2) 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,并注意必须有严格的对照试验。

【方法评价】

试管法反应快,所需时间短,结果准确,临床应用普遍。

(二) 微柱凝胶卡式法**【实验原理】**

凝胶具有分子筛效应和亲合效应,在微柱凝胶介质中红细胞抗原与相应抗体结合,经低速离心,凝集的红细胞悬浮在凝胶上层,而未知抗体结合的红细胞则沉于凝胶底部(管底尖部)。

【实验器材】**1. 试剂**

正反定型血型鉴定卡(简称血型卡)、RhD 阳性试剂红细胞和 RhD 阴性试剂红细胞、生理盐水。

2. 器材

离心机、卡式专用离心机、试管、微量移液器、滴管、试管架、标记笔。

【实验步骤】

(1) 待检红细胞用生理盐水洗涤 1~2 次,配成 0.8%~1% 红细胞悬液,待用。

(2) 再将符合国家标准 RhD 阳性红细胞和 RhD 阴性红细胞稀释配成 0.8%~1%。

(3) 取血型卡一张,分别用标记笔标记 D⁺、D⁻ 管。在反应柱中分别加标准 0.8%~1% RhD 阳性红细胞、RhD 阴性红细胞试剂及待检 0.8%~1% 红细胞悬液 50 μ l(1 滴);再向反应柱中加标准抗-D 血清、待检血清各 50 μ l(1 滴)。

(4) 将血型卡置入卡式专用离心机中,3500r/min 离心 9min,肉眼观察结果。

【实验结果】

结果见图 1-1,图 1-2,彩图 1-1,彩图 1-2。

1. 阴性结果

红细胞沉于微柱凝胶的尖底部,表明无相应红细胞抗原与抗体结合。

2. 阳性结果

红细胞抗原与相应抗体在微柱凝胶中形成特异性抗原-抗体复合物,浮在凝胶表面或胶中。

反应强度:特异性红细胞抗原-抗体复合物位于胶表面,为强阳性反应;复合物在胶中为弱阳性反应;越靠近胶底部凝集颗粒愈小,反应越弱。

3. 待检标本结果判断

被检管出现凝集,为 Rh 阳性,反之则为 Rh 阴性。