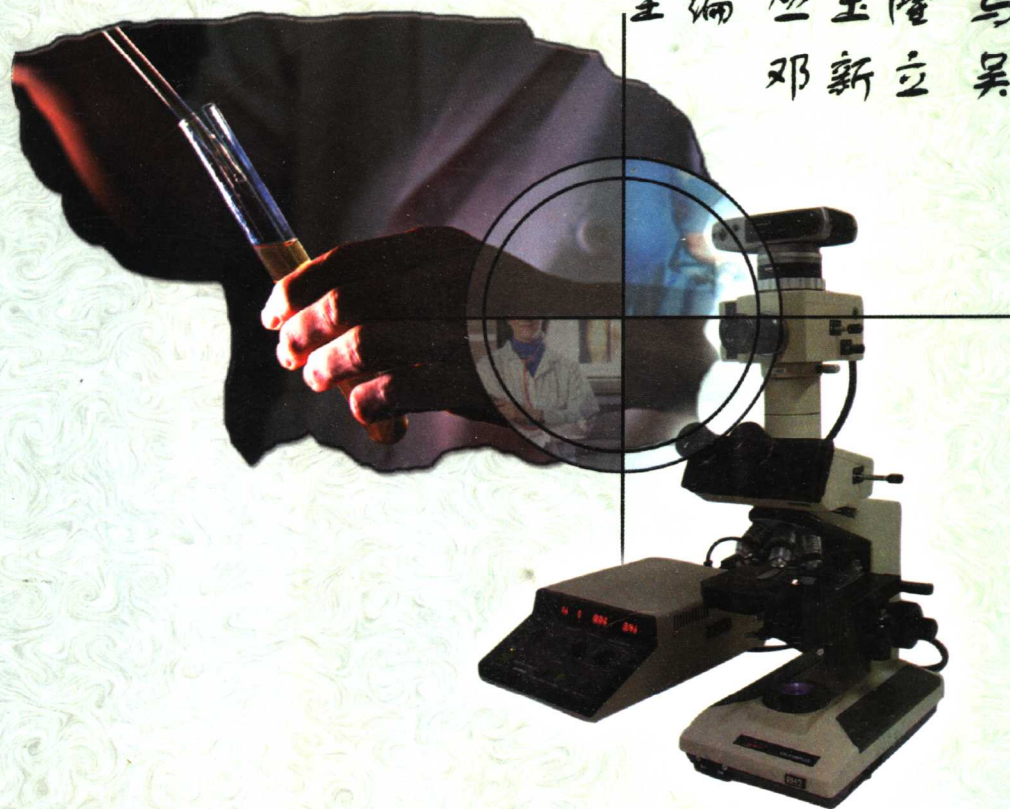


临床检验质量管理体系

LIN CHUANG JIAN YAN ZHI LIANG GUAN LI TI XI

免疫学检验 技术与临床

主编 丛玉隆 马骏龙
邓新立 吴 煦



天津科学技术出版社

临床检验质量管理体系
免疫学检验技术与临床

主编 丛玉隆 马骏龙 邓新立 吴 煦



天津科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

免疫学检验技术与临床/丛玉隆等主编. —天津:天津科学技术出版社, 2002. 4

(临床检验质量管理体系)

ISBN 7-5308-3190-9

I. 免… II. 丛… III. 免疫学—医学检验—规程—中国 IV. R446.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 079460 号

责任编辑:袁向远

张 跃

版式设计:雒桂芬

周令丽

责任印制:白彦生

天津科学技术出版社出版

出版人:王树泽

天津市张自忠路 189 号 邮编 300020 电话 (022)27306314

天津新华印刷一厂印刷

新华书店天津发行所发行

*

开本 787×1092 1/16 印张 12.25 字数 201 000

2002 年 4 月第 1 版

2002 年 4 月第 1 次印刷

定价:70.00 元

前 言

随着基础医学和临床医学的飞速发展,先进的高新技术与设备在国内的普及应用,检验医学作为古老而又新兴的综合性的边缘学科在疾病的诊疗过程中发挥着越来越重要的作用。当前医院检验科的作用与发展主要体现在医学实验室不断与临床相结合,促进循证检验医学的开展和实行全面实验室质量管理,为临床提供准确、及时的诊断指标两个方面。

为了促进学科的发展与建设,不断提高科室人员的学术素质和技术水平。自1995年开始,解放军总医院临床检验科从标准化、规范化、网络化及法制化等方面逐步建立全面质量管理体系,收到了明显的效果。

《临床检验质量管理体系》是在总结了著者多年来科室管理体会的基础上,参考了国际有关实验室认可标准及校准和检验实验室能力的通用要求等文件编写而完成的,共6个分册;第一分册《质量管理体系与应用》介绍了全面质量管理体系的概念及建立方法,全面质量管理体系实验室管理、实验室认可的基本知识及科主任的工作方法并附有该科的《全面质量管理手册》供参考。其余5部分册分别为《血细胞分析技术与临床》、《体液及寄生虫学检验技术与临床》、《免疫学检验技术与临床》、《骨髓细胞形态学检验技术与临床》、《贫血、血栓及遗传学检验技术与临床》按照质量管理体系中有关作业指导书的要求介绍了“临床检验专业”各学科检验方法的原理、操作步骤、质量控制、标准化及规范化程序并加入了作者们多年来方法学的科研成果与实践经验,供同道们参考。相信本书的出版对国内检验科学科建设有所裨益。

由于编著者的水平有限,尽管我们在编写中是认真、努力的,但书中难免有不足之处,请老前辈、专家和同道们指正。由于本系列书籍包括了不同专业,为了保持各分册的特点和风格,对个别重工业复内容未作删除,以保持各篇的独立性,请读者谅解。在本系列第一册中有关我科的“全面质量管理手册”部分主要介绍我科在学科建设和科室管理的做法和体会。决非作为实验室认可的文件,更不是一个标

准化实验室的模板，仅供同道们在实际工作中参考。

愿与全国检验界老前辈、同道一起，推进我国检验医学的发展，共同探索，共同努力，欢迎大家提出宝贵意见。

丛玉隆

2002.1

于中国人民解放军总医院临床检验科

目 录

第一章 免疫学检验概述	(1)
第一节 免疫学发展简史	(1)
第二节 免疫学和免疫学检验	(2)
一、免疫系统的基本功能	(2)
二、免疫学临床应用	(3)
三、免疫学检验的发展	(4)
第三节 免疫学技术在临床检验中的应用	(4)
第二章 免疫比浊分析技术	(7)
第一节 免疫比浊测定概述	(7)
一、免疫测定法的发展史	(7)
二、免疫测定法的特点	(8)
第二节 免疫测定的理论基础	(9)
一、浊度分析的科学基础及其特性	(9)
二、免疫浊度测定	(12)
第三节 特种蛋白免疫分析法	(14)
一、免疫透射浊度测定	(14)
二、激光散射浊度测定	(15)
三、免疫测定中应注意的问题	(16)
第四节 ARRAY分析系统	(17)
一、仪器组成	(17)
二、测定方法	(18)
三、分析范围	(20)
四、操作方法	(20)

第五节 BN 蛋白分析系统	(26)
一、仪器组成	(26)
二、测定原理	(27)
三、分析范围	(28)
四、操作方法	(28)
第六节 特种蛋白参数的临床意义	(30)
一、白蛋白测定	(31)
二、免疫球蛋白及轻链	(33)
三、补体	(35)
四、C-反应蛋白	(37)
五、类风湿因子	(38)
六、 β_2 -微球蛋白	(39)
七、转铁蛋白	(40)
八、 α_1 -微球蛋白	(41)
九、 α_1 -抗胰蛋白酶	(41)
十、循环免疫复合物	(42)
十一、血清淀粉样物质-A	(44)
十二、 γ -痕迹蛋白	(44)
第三章 自动化酶免疫分析技术	(46)
第一节 酶免疫分析技术的概述	(46)
一、非相酶免疫法	(46)
二、均相酶免疫分析	(49)
第二节 酶免疫分析技术常用的示踪酶及其底物	(49)
第三节 ELISA 技术与自动化	(50)
一、AMP 型全自动酶免分析仪	(51)
二、Triturus 型全自动酶免分析仪	(52)
三、CODA 型全自动开放式酶免系统	(52)
四、FAME 型酶免分析处理系统	(53)
第四节 自动化 ELISA 技术的临床应用	(53)
第五节 自动化 ELISA 技术的质量控制	(53)

一、分析前	(54)
二、分析中	(55)
三、分析后	(55)
四、常见问题及处理	(55)
第四章 发光免疫分析技术	(57)
第一节 发光免疫分析的种类	(57)
一、根据标记物的不同	(57)
二、根据发光反应检测方式的不同	(58)
第二节 化学发光标记物	(58)
一、直接参与发光反应的标记物	(58)
二、不参与发光反应的标记物	(59)
三、酶标记物	(60)
第三节 发光免疫分析原理	(60)
一、化学发光免疫分析	(60)
二、化学发光酶免疫分析	(61)
三、生物发光免疫分析	(61)
四、微粒子化学发光免疫分析	(61)
五、电化学发光免疫分析	(62)
第四节 发光免疫分析的仪器	(63)
一、ACS: 180SE 全自动化学发光免疫分析系统	(63)
二、ACCESS 全自动微粒子化学发光免疫分析系统	(65)
三、Elecsys 全自动电化学发光免疫分析仪	(67)
第五章 自动化电泳技术	(71)
第一节 电泳技术发展概述	(71)
第二节 自动化电泳技术	(72)
一、电泳技术的理论及实践基础	(72)
二、电泳技术的相关条件	(72)
三、电泳技术的分类	(74)
第三节 Sebia 自动化电泳仪	(75)

第四节 血清蛋白电泳	(76)
一、测定原理	(76)
二、试剂准备	(77)
三、电泳方法	(78)
四、结果扫描	(79)
第五节 血清蛋白电泳的临床应用	(79)
一、正常人血清蛋白电泳图谱	(79)
二、病人血清蛋白电泳图谱	(80)
第六章 免疫电泳	(86)
第一节 免疫电泳	(86)
一、免疫电泳原理	(86)
二、免疫电泳试剂	(87)
三、免疫电泳操作方法	(88)
第二节 免疫固定电泳	(88)
一、免疫固定电泳原理	(88)
二、美国 Beckman 免疫固定电泳试剂与操作	(89)
三、法国 Sebia 免疫固定电泳试剂与操作	(90)
第三节 免疫电泳的临床意义	(93)
第七章 尿蛋白电泳技术	(99)
第一节 尿蛋白 SDS-PAGE	(99)
一、测定原理	(99)
二、试剂	(100)
三、凝胶制备	(100)
四、操作方法	(101)
五、临床应用	(101)
第二节 自动化尿蛋白电泳技术	(102)
一、测定原理	(102)
二、试剂	(103)
三、样本的采集和保存	(103)

四、操作程序	(103)
五、临床应用	(105)
第八章 细胞免疫功能分析	(109)
第一节 T淋巴细胞 Ag-NORs 检测	(109)
一、Ag-NORs 测定的基本原理	(109)
二、T淋巴细胞 Ag-NORs 与免疫细胞功能、某些疾病的关系	(110)
三、T淋巴细胞 Ag-NORs 测定的特点	(111)
四、测定方法	(111)
五、注意事项	(113)
六、临床意义	(114)
第二节 淋巴细胞转化试验	(117)
一、实验原理	(117)
二、试剂	(118)
三、操作方法	(118)
四、注意事项	(118)
五、临床意义	(119)
第三节 硝基蓝四氮唑染色	(119)
一、实验原理	(119)
二、试剂	(119)
三、操作方法	(119)
四、临床意义	(120)
第四节 墨汁吞噬试验	(120)
一、实验原理	(120)
二、试剂	(120)
三、操作方法	(120)
四、结果计算	(121)
五、注意事项	(121)
六、临床意义	(121)

第九章 流式细胞仪原理	(122)
第一节 流式细胞仪的概念	(122)
第二节 流式细胞仪的工作原理	(123)
第三节 流式细胞仪的仪器结构	(125)
一、流动室与液流驱动系统	(125)
二、激光光源与光束成形系统	(125)
三、光学系统	(126)
四、信号检测与存贮、显示、分析系统	(127)
第四节 流式细胞仪的分选功能	(128)
第五节 流式细胞仪 FACSCalibur 的简明操作步骤	(129)
一、开机程序	(129)
二、运行 FACSComp 软件、检查仪器状况	(130)
三、检测样本	(130)
四、FACSCalibur 关机程序	(131)
第六节 流式细胞仪检测的质量保证	(131)
一、参考标准品	(131)
二、阴性对照	(132)
三、正常样本对照	(132)
四、实验方法的选择	(132)
五、自动软件的质量保证检查	(132)
六、质控品	(132)
第七节 流式细胞仪的临床应用	(133)
一、淋巴细胞亚群分析	(134)
二、CD4 绝对计数	(137)
三、HLA-B ₂₇	(139)
四、T 淋巴细胞体外活化检测	(141)
五、白血病和淋巴瘤的免疫分型	(143)
六、造血干祖细胞检测	(145)
七、血小板活化	(147)
八、网织红细胞计数	(148)

九、网织血小板计数	(151)
十、DNA 检测与细胞周期	(152)

第十章 血型及血型免疫学检验 (156)

第一节 ABO 血型 (156)

一、ABO 血型系统	(156)
------------	-------

二、ABO 血型鉴定	(160)
------------	-------

第二节 Rh(D) 血型的检查 (162)

一、概述	(162)
------	-------

二、Rh 血型鉴定	(164)
-----------	-------

三、Rh 血型系统的临床意义	(166)
----------------	-------

第三节 新生儿溶血病血型血清学检查 (166)

一、母婴 ABO 血型不合溶血病的血清学检查	(167)
------------------------	-------

二、母婴 Rh 血型不合溶血病的血清学检查	(169)
-----------------------	-------

三、患儿输血血型选择及配血试验	(170)
-----------------	-------

第四节 交叉配血 (171)

一、受血者血液采集	(171)
-----------	-------

二、交叉配血技术	(172)
----------	-------

三、交叉配血方法	(172)
----------	-------

四、交叉配血试验中不配合问题	(174)
----------------	-------

第五节 血型鉴定及质量保证 (174)

一、血型鉴定与配血试验的几项要求	(175)
------------------	-------

二、假阴性和假阳性反应的预防与克服方法	(177)
---------------------	-------

三、血型鉴定和配血试验的质量评定	(179)
------------------	-------

第一章 免疫学检验概述

免疫学是从19世纪抗细菌感染的研究中逐渐形成的,它长期属于微生物学的一个分支。近年来免疫学发展迅速,远远超过抗感染的范围,已成为一门独立的学科,在医学和生物学中发挥很大的作用。

医学免疫学(medical immunology)是研究免疫系统的组成、结构与功能、各类免疫应答发生发展规律以及免疫学在疾病防治诊断中的应用的一门基础学科。

第一节 免疫学发展简史

免疫学起源于中国,这已是世人公认的历史事实。公元10世纪后,中国人创用了人痘苗预防天花。17世纪才逐渐传入俄国、日本、土耳其、英国等国家和地区。18世纪末英国医师E·Jenner发明了用牛痘苗预防天花,为人类战胜天花做出了划时代贡献,也为免疫学发展奠定了基础。

免疫机制的探讨开始于19世纪末。俄国动物学家Metchnikoff和德国化学家Ehrlich分别提出细胞免疫和体液免疫的原始学说,两派长期争论。直到20世纪初,Wright在血清中发现了调理素,观察到吞噬细胞的作用在体液因素参与下可大为增强。从而证明两种免疫因素是相辅相成的,统一了两种学说间的矛盾,使人们对免疫机制有较全面的认识。

20世纪初期(1900~1930)人们认识了过敏反应,发现了血清病、Arthus反应、皮肤反应、内毒素Shwartzman反应以及调理作用和诊断梅毒的补体结合反应。疫苗研究有了新的发展,如卡介苗(BCG)预防结核、白喉类毒素预防白喉等。上述现象和规律的认识不仅促进了免疫学理论和技术的发展,而且也揭示了免疫病理现象,给后来免疫性疾病研究打下了基础。20世纪中叶(1935~1957),免疫学技术迅速发展,如

抗体纯化、鉴定及测定技术、凝胶内沉淀技术和抗原抗体免疫电泳等血清学技术,均提高了敏感性、特异性和稳定性,给免疫学发展提供了技术基础。1938年 Tiselis AW和Kabat FM用电泳法发现了抗体是 γ 球蛋白,浆细胞产生抗体。HLA系统鉴定、法氏囊免疫功能确定、免疫耐受现象的发现以及迟发型超敏反应细胞成功转移等成绩促进了免疫学理论出现了飞跃,从自然选择学说过渡到F. Burnet细胞系(克隆)选择学说,使免疫学进入了快速发展新时期。此后(1959~1974),出现了放射标记免疫技术、酶标记免疫技术、生物素-亲和素标记免疫技术、荧光标记免疫技术、金(银)标记免疫技术、化学发光免疫技术和免疫转印技术以及细胞和细胞因子测定技术等。这些技术的广泛应用使免疫学理论有了新的进展如抗体分子、胸腺结构和免疫功能、免疫应答基因、MHC连锁、T、B淋巴细胞亚群及淋巴因子等得到确认。因此对于免疫应答及其调节,出现了Jerne免疫网络学说。克隆选择学说和免疫网络学说的问世以及标记免疫技术的发展,标志着现代免疫学的完善。

20世纪80年代至今主要是分子免疫学发展时期,如主要组织相容复合体(MHC)限制性、MHC基因及其表达、免疫球蛋白基因和抗体多样性遗传基础、T细胞基因、T、B细胞抗原受体结构和基因控制、独特型抗体疫苗等。

第二节 免疫学和免疫学检验

一、免疫系统的基本功能

免疫系统的基本功能是对“非己”的抗原物质进行免疫应答(immune response)。在一般情况下,免疫应答的结果对机体有利,起到生理性保护作用。在免疫缺陷或功能失调时则造成对机体不利的病理损伤。免疫防御、免疫稳定和免疫监视是免疫系统的三大功能。

1. 免疫防御 免疫防御是指机体能对抗病原微生物的侵害及中和其毒性产物(内、外毒素)的作用。在正常情况下,防御功能发挥得当,机体可免于感染和发病。当机体对病原微生物等异物的刺激过高,则会引起对机体有害的变态反应;如反应过低或缺陷,表示机体免疫功能不足或缺陷,则会出现免疫缺陷病。

2. 免疫稳定 免疫稳定又称自身稳定,指一系列维持体内环境平衡稳定的免疫调节功能。在正常情况下,它可清除衰老的损伤的组织细胞。这些调控一旦失调,免

疫稳定就被破坏,一些疾病随之发生,如自身免疫病。

3. 免疫监视 免疫监视是指监视体内突变细胞的产生,并及时予以清除的功能。机体受物理、化学及生物因素作用后,体内有一些细胞可产生突变。即使在正常情况下,体内也可经常出现少许突变的异常细胞。这类突变细胞如果不及时杀灭或排斥,就有可能不断恶性增殖而形成肿瘤。

二、免疫学临床应用

免疫学与临床医学密切相关,主要包括以下方面:

1. 感染免疫 免疫学的发展是从感染免疫开始的。各种感染性病原体,如细菌、病毒、寄生虫等都是激发机体免疫应答的抗原物质。在各种不同条件下,病原体和机体免疫系统的相互作用,取决于病原体致病能力和机体免疫能力的抗衡,产生临床上各种疾病的不同转归。

随着对病原体抗原性的了解,建立了一系列免疫预防方法,包括预防接种的主动免疫和抗血清注射的被动免疫。随之又建立起一系列用血清学方法检验的免疫诊断技术,成为传染性疾病,特别是病毒性疾病诊断的重要手段。感染免疫是微生物学中的一个重要部分。

2. 移植免疫 在临床上企图将正常的器官,组织移植到病人体内,以取代其失去功能的相应器官和组织。但异体的器官,组织必然遭到排斥。排斥的主要原因是不同机体中带有不同的移植抗原,即HLA,机体对异体移植抗原的免疫应答,产生不利于机体的第IV型变态反应而使移植物被排斥。人体HLA分型的研究,用于移植供受体双方的配型,改善了移植排斥反应。同时从抑制机体的免疫应答着手,使用免疫抑制药物例如环孢菌素、硫唑嘌呤等,使临床上器官和组织移植的成功率大大提高。在国际上,肾、肝、心、胰岛等移植已逐渐成为常规的治疗手段。

3. 肿瘤免疫 肿瘤的病因及其发病机制至今未明。关于肿瘤抗原,细胞突变,机体对突变细胞的防御,以及肿瘤抗原的检测和机体免疫功能的改善等诊断和治疗问题,都与免疫有密切关系。

肿瘤细胞是由于外界因素,如化学,物理以及生物(如病毒)因子诱发,或由于遗传突变,使正常细胞突变而来。肿瘤细胞表面存在肿瘤特异抗原,同时肿瘤细胞又可分泌只有在胚胎时期才出现的与肿瘤相关的肿瘤相关胚胎抗原,如甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)等。肿瘤特异抗原可激发机体免疫应答,破坏肿瘤细胞。机体免疫系统对肿瘤的控制主要依靠其免疫监视功能,随时识别并清除抗原性发生改

变的细胞,防止肿瘤发生。

4. 免疫性疾病 主要包括各种自身免疫性疾病,以及各种类型的变态反应性疾病,它涉及机体各系统的免疫反应性疾病。另外,免疫系统本身的异常,如某个免疫细胞的异常增殖引起的白血病、淋巴瘤、以及某种体液因子异常增加如单株丙球蛋白血症、多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症、重链病等。同时,也可以由于某种免疫细胞缺陷而引起细胞或体液免疫的缺陷病,如艾滋病就是由于病毒感染引起T细胞缺乏而出现的获得性免疫缺陷综合征。

三、免疫学检验的发展

随着免疫学技术的发展,免疫学与临床检验的关系越来越密切。免疫学检验是从检测病原微生物的抗原及其抗体开始的这种检测称为血清学诊断。1896年Widal首先用凝集反应诊断伤寒。其后各种血清学反应如絮状沉淀反应、补体反应等,也根据各自的特点在传染性的诊断中得到应用。1900年Land-steiner发现ABO血型以后,血型的检测成为临床检验的一个重要项目。近年来免疫学检验有两大发展,其一是对传染病以外的各种免疫性疾病的检验;其二是对病原体以外的各种化合物的测定。

免疫学检验又称检验免疫学(laboratory immunology),是研究免疫学技术及其在医学领域中的一门应用学科,它基于抗原抗体反应,检测方法有高度特异性和敏感性,在临床上常作为某些疾病辅助诊断手段,也是很多基础学科的重要研究手段。任何化合物,只要能得到其相应的抗体,就可用免疫学技术进行检测。因此,免疫学测定实际上已成为一种微量化学分析方法,其应用范围已遍及于临床检验的各个领域。这一跨越学科的飞跃应归功于免疫学技术的发展。新的分离技术的应用使制备高纯度的抗原和抗体成为可能。结合物理和化学新技术而建立起来的各种高敏感度和高分辨力的免疫学技术不断出现。免疫电泳、激光浊度免疫测定、颗粒载体间接凝集反应,各种酶免疫测定以及化学发光免疫分析技术等,是各种新的免疫学检验的基本方法。

第三节 免疫学技术在临床检验中的应用

临床检验一般分为临床基础检验、生物化学检验、微生物学检验、血液学检验、免疫学检验。免疫学技术除用于免疫性疾病的检验外,或多或少地渗透入几乎所有

的临床检验领域,甚至包括病理学检验。由此可见,熟悉免疫学技术对检验工作是十分重要的。下面概述几个主要方面的应用:

1. 传染性疾病的检测

1) **特异性抗体的检测** 经微生物和寄生虫感染后,患者血清中出现与病原体相应的特异性抗体。IgM 抗体出现在急性期; IgG 抗体随后出现,可持续很长时间。这类抗体的检测对明确疾病诊断和提供流行病学资料具有很大价值。特别是对那些病原学检查还有困难的病原体,如病毒、立克次氏体等,抗体的检测有时成为主要的诊断方法。

2) **抗原的检测** 用人工免疫动物制备的诊断血清,包括各种因子血清,可从病人体液或排泄物中检测病原体及其有关抗原,以提供诊断的依据。

2. 血液学及免疫细胞的检测 用特异性抗体,特别是单克隆抗体检测血液细胞,包括正常的和病理性的,已成为血液学检验中的重要方法。另外,如抗血小板抗体以及各种凝血因子的免疫学测定也得到了广泛的应用。

随着对免疫细胞表面抗原及受体的了解,用杂交瘤技术制备针对各种免疫细胞的特异性单克隆抗体,以便进行免疫细胞的分类检测。用荧光抗体技术结合激光技术,发展了流式细胞仪,可分别鉴定并计数各类淋巴细胞,包括各种 T 细胞亚群。

3. 血型的鉴定 红细胞各种血型的鉴别,白细胞的 HLA 分型,均依赖于免疫学技术。

4. 肿瘤标记物的检测 各种肿瘤相关抗原如甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、人促绒毛膜性腺激素(HCG)、前列腺特异抗原(PSA)、糖链抗原 19-9(CA19-9)、癌抗原 125(CA 125)、癌抗原 153(CA 153)、糖链抗原 72-4(CA72-4)等免疫学测定,对肿瘤的诊断、疗效观察及肿瘤复发的监控均有重要意义。

5. 内分泌学的检测 各种激素的测定原属于生物化学检验,现大部分被免疫学测定所取代。用标记的免疫学技术可以测定各种类型的激素,例如 HCG、LH、FSH、T₃、T₄ 和各种甾体激素等。

6. 自身抗体的检测 自身抗体如抗核抗体、抗甲状腺抗体等已发现 20 余种,这些抗体的检测对于各种自身免疫性疾病的诊断大有帮助。

7. 免疫因子、蛋白质和酶的检测 各种类型的免疫球蛋白如 IgG、IgM、IgA、IgE 等,以及各补体组分如 C₃、C₄ 等,已是临床检验中经常检测的项目。其它如淋巴因子也可用免疫学技术进行检测。

在体液中含量甚微的蛋白质如铁蛋白、载脂蛋白以及各种酶类,特别是同功酶