

用臨床血清學檢驗法

顧 德 鴻 編 著

華東醫務生活社出版

實用臨床血清學檢驗法

顧德鴻編著

華東醫藥生活社出版

實用臨床血清學檢驗法

32開

81頁

定價 ¥ 8,000

編著者	顧德鴻
出版者	華東醫藥出版社 總社上海淮海中路1670弄12號 分社濟南經二路337號
總經售	新華書店華東總分店 上海福州路390號
印刷者	中國科學公司 上海延安中路537號

(上海版)

1953年1月第一版

1—5,000

序

從事於醫學化驗的工作人員，都感覺到國內尚缺乏血清學檢查的專門書籍。解放二年來，我擔任了化驗班血清學課程三班，自己編寫了一部血清學的講義，當時受到了學生和同事們的歡迎和鼓勵，就決定了這本書的寫作動機。

這本書注重於技術的操作法，也注重於理論，使讀過這本書後，能曉得怎樣去試驗，怎樣去觀察結果；同時也知道為什麼這樣做，結果如何去解釋，使理論與實際完全結合，俾能提高從事於檢驗工作者的工作效能，來更好地為人民服務。

內容方面，還介紹了一般實驗室中不常作的試驗：如康氏試驗中，尚有補充試驗、定量試驗、微量試驗和確定試驗；這些都是在康氏標準試驗有困難時，解決問題的補充試驗，故已作康氏試驗的實驗室中，更可擴充其試驗範圍，解決以前不能解決的問題。

此外，本書文字不夠簡明，說明不夠詳細，圖表也不充足，是最大缺點，尚祈讀者先進多多批評，以便改進。最後要提的，本書在排印過程中，承本校王守慈同志予以技術上的協助，特此誌謝。

中國人民解放軍第五軍醫大學，南京 顏德鴻

1952年11月

目 錄

第一章 血型試驗與血液交叉配合試驗.....	1
第一節 檢查血型之目的.....	1
第二節 血液分型之由來.....	1
第三節 血液分型之原理.....	1
第四節 選擇輸血人之原則.....	3
第五節 輸入凝集原之相對凝集素，亦不致發生凝集現象之 解釋.....	3
第六節 檢查血型前之準備.....	4
1. 標準血清[A]及[B]型之製備.....	4
2. 標準血清凝集效價之測定.....	6
3. 紅血球懸液之製備.....	8
第七節 血型試驗法.....	8
1. 玻片法.....	8
2. 試管法.....	9
第八節 血型試驗時常發生之錯誤及其避免法.....	11
1. 假陰性反應.....	11
2. 假陽性反應.....	12
第九節 血型之亞型.....	15
1. [A]型及[AB]型之亞型.....	15
2. 檢查[A]型及[AB]型亞型之方法.....	16
3. M及N凝集原.....	17
4. Rh凝集原.....	17
5. Hr凝集原.....	21
第十節 輸血.....	21

1. 選擇適當輸血者	21
2. 輸血者之血型選擇	22
3. 交叉配合試驗	22
〔附〕 複習題	25
第二章 細菌性凝集反應	27
第一節 凝集反應之用途	27
第二節 凝集反應之原理	27
第三節 影響凝集反應之因素	28
第四節 凝集反應在診斷疾病中之價值	29
第五節 凝集反應各種抗原製備之方法	30
1. 製備各種抗原懸液之方法	30
2. 最常用凝集試驗抗原製備之詳細步驟	31
3. 稀釋抗原至一定標準濃度之方法	35
第六節 各種凝集試驗之方法	36
1. 肉眼遲緩凝集試驗	36
2. 魏達氏及外斐氏反應之實際操作法	37
3. 凝集反應之假定試驗或[點]試驗	39
4. 顯微鏡視凝集試驗	40
5. 加速玻片凝集試驗	41
第七節 凝集反應觀察結果之方法	41
第八節 凝集反應之診斷價值及解釋	42
1. 傷寒	42
2. 副傷寒	43
3. 布魯氏菌病或稱波浪熱	44
4. 斑疹傷寒組	45
〔附〕 複習題	46
第三章 標準原氏試驗	48
第一節 梅毒的一般介紹	48
1. 梅毒螺旋體之形態	48
2. 培養	48

3. 螺旋體的抵抗力	48
4. 傳染方式	48
5. 動物試驗	48
6. 病人症狀	48
7. 免疫	49
8. 實驗診斷	49
第二節 康氏試驗器械之準備	49
第三節 清潔血清學用之玻璃器械	50
第四節 保存康氏抗原之方法	51
第五節 病人血清之準備	52
第六節 生理食鹽水	52
第七節 標準康氏試驗之步驟	52
1. 血清之標準康氏試驗法	52
2. 標準康氏試驗之結果	58
3. 補充試驗之方法	63
4. 脊髓液之標準康氏試驗	68
第八節 特殊康氏試驗	69
1. 血清之假定試驗	69
2. 脊髓液之假定試驗	71
3. 血清之定量試驗	72
4. 脊髓液之定量試驗	76
5. 康氏微量試驗	77
6. 確定試驗	80
第九節 標準康氏抗原之製備	84
1. 材料	84
2. 製造之步驟	85
第十節 標準康氏抗原之鑑定	86
1. 測定效價	86
2. 測定康氏抗原之敏感性及特異性	88
3. 矯正康氏抗原之方法	89

第十一節	敏感抗原之製備及標準化	93
------	-------------	----

第十二節	康氏試驗所遇見之各種現象及解釋	93
------	-----------------	----

1. 由於抗原之因素	94
------------	----

2. 由於血清之因素	95
------------	----

3. 由於鹽水之因素	95
------------	----

4. 由於準備抗原懸液之因素	95
----------------	----

5. 由於振搖之速度及時間之影響	96
------------------	----

6. 加鹽水量之解釋	96
------------	----

〔附〕 複習題	97
---------	----

第四章 華氏反應	99
----------	----

第一節 補體結合試驗之原理	99
---------------	----

1. 補體之性質	99
----------	----

2. 補體結合試驗	100
-----------	-----

第二節 柯氏補體結合試驗	101
--------------	-----

1. 玻璃儀器之準備	101
------------	-----

2. 清潔玻璃器械之方法	102
--------------	-----

3. 試藥之準備	102
----------	-----

4. 試驗前之滴定	105
-----------	-----

5. 華氏試驗方法之選擇	114
--------------	-----

6. 應用鴿蛋白作脅體液試驗	115
----------------	-----

第三節 血清之全量定性試驗	116
---------------	-----

1. 柯氏法	116
--------	-----

2. 血清量減半之全量定性試驗	117
-----------------	-----

第四節 血清之半量定性試驗	117
---------------	-----

1. 柯氏法	117
--------	-----

2. 血清量減半之半量定性試驗	118
-----------------	-----

第五節 血清之全量定量試驗	118
---------------	-----

1. 柯氏法	118
--------	-----

2. 血清量減半之全量定量試驗	119
-----------------	-----

第六節 血清之半量定量試驗	121
---------------	-----

1. 柯氏法	121
2. 血清量減半之半量定量試驗	122
第七節 脊髓液之全量定性試驗	124
第八節 脊髓液之半量定性試驗	125
第九節 脊髓液之全量定量試驗	125
第十節 脊髓液之半量定量試驗	126
第十一節 華氏反應微量(1/5量)試驗法	127
1. 血清之微量定性試驗	129
2. 血清之微量定量試驗	130
3. 脊髓液之微量定性試驗	131
4. 脊髓液之微量定量試驗	131
第十二節 觀察結果之方法	132
第十三節 反應結果及報告	133
第十四節 華氏反應困難的分析	136
1. 由於補體的因素	136
2. 由於前帶反應之因素	136
3. 由於溶血素之因素	136
4. 由於羊血球之因素	137
5. 由於抗原之因素	137
6. 由於血清或脊髓液之抗補體性	137
第十五節 抗補體血清試驗之方法	137
1. 血清之全量定性試驗	138
2. 血清之全量定量試驗	139
第十六節 抗補體脊髓液試驗之方法	140
第十七節 梅毒血清反應之解釋	146
1. 血清學反應之可靠性	140
2. 定性及定量血清試驗之價值	141
3. 多種血清學試驗之價值	142
4. 一病人標本有時需要作多次試驗	142
5. 血清學反應報告法	143

6. 由於實驗技術上的錯誤而發生假陽性反應	143
7. 正常人所發生之假陽性反應	143
8. 其他疾病或其他情形而引起假陽性反應	144
9. 假陽性反應檢查法	144
10. 各期梅毒及各種梅毒陽性百分率	145
11. 血清學反應結果為陰性之認識	145
12. 病人經治療後之血清學檢查法	146
13. 血清學反應又重複發生陽性	146
14. 脊髓液檢查	146
〔附〕 複習題	146

第五章 其他血清學試驗148

第一節 寒冷凝集反應148

1. 器材及材料148

2. 試驗方法149

第二節 調理素細胞吞噬試驗149

1. 原理149

2. 試驗方法149

3. 結果之解釋150

第三節 潘耳、勃內耳氏反應151

1. 原理151

2. 試驗方法151

3. 結果之解釋151

第一章 血型試驗與血液交叉 配合試驗

第一節 檢查血型之目的

輸血在現代醫學上佔重要的地位，在病人失血過多而有休克症狀，以及出血性疾病、急性中毒或有嚴重之傳染病時，往往病者生命危在旦夕，可用輸血法挽救病人的生命。

古代雖已開始實行輸血，但結果均歸失敗，常於輸血後引起不良反應如虛脫、痙攣、血色素尿、發熱及黃疸等；其嚴重者常危及病者的生命，困難重重，因當時尚不知人類血球有被他人血清發生凝集之現象。

自蘭德斯脫納氏發見血型後，始知輸血前須檢查血型，若血型合適，輸血時則不致發生意外。

第二節 血液分型之由來

1901年蘭氏最先發見人類血液有三型：相當於國際命名為O、A、B之三型。

1902年第氏與斯氏二人又發見一新的較少血型，即AB型，合前三型共計四型。現在通用的血型的統一名稱，即O、A、B及AB四種血型。

第三節 血液分型之原理

人的血液內紅血球所含同類凝集原不同，因此可將血型分為[O]、[A]、[B]及[AB]四種血型。例如紅血球上含有A凝集原，稱為[A]型；

含有 B 凝集原者，稱為[B]型；含有 A 及 B 兩種凝集原者，稱為[AB]型；而[O]型人之紅血球則不含任何凝集原。

人類血清中，因紅血球含有不同凝集原之影響，亦含有不同之同類凝集素。若為[O]型人，其血清中含有[α]及[β]二種凝集素；[A]型人含有[β]凝集素；[B]型人含有[α]凝集素；而[AB]型人血清無凝集素存在。

[α]凝集素能被 A 凝集原所吸收；而[β]凝集素能被 B 凝集原所吸收。

有一學說認為任何人血清中均含有[α]及[β]兩種凝集素，但[A]型人有 A 凝集原之故，能吸收 α 凝集素，因此[A]型人血清祇表出有[β]凝集素現象；[B]型血清中相反，祇表出有[α]凝集素現象，[O]型人因無凝集原存在，[α]及[β]凝集素均在血清中表現；而[AB]型人兩種凝集素皆被吸收，血清乃不呈任何一種凝集素現象。

四種血型人血液中含有凝集原與凝集素之關係，列於下表：

表1 不同血型含有凝集原與凝集素

血 型	紅血球上凝集原	血清中凝集素
O	無	$\alpha + \beta$
A	A	β
B	B	α
AB	A + B	無

[O]型血輸給任何血型人（A、B、AB 與 O 型人），均不致使血球發生凝集，[O]型人血球上無凝集原存在，雖遇被輸者血清中任何凝集素，不致發生凝集，因此稱[O]型人為普遍給血者。

[A]型人血輸給[A]型人，不致發生凝集，因[A]型人血清內並不含有[α]凝集素，祇含有 β 凝集素，故不致凝集 A 凝集原。若[A]型人血輸給[B]型人，能發生凝集現象，乃由於 B 型人血清內含有 α 凝集素，能與[A]型人血球上 A 凝集原發生凝集，故不能輸血。

同理，[B]型人血可輸給[B]型人，但不能輸給[A]型人。

[AB]型血不能輸給任何血型的人，因其血球上含有 A 及 B 兩種凝集原，只能輸給其同型的人。惟其血清中不含任何一種凝集素，因此可接受任何血型的血球，適與[O]型人相反，故稱為普遍受血者。

表2 各型血球和血清交叉配合之結果

血 型 ↓	→ 血清 血球	O	A	B	AB
O	無	-	-	-	-
A	A	+	-	+	-
B	B	+	+	-	-
AB	A+B	+	+	+	-

第四節 選擇輸血人之原則

於實際輸血時，並不主張以普遍給血者輸血。至於普遍受血者亦不主張以任何血型之血液輸給之。主要以同型人相互輸血為原則，若一時找不到同型人之血液，亦可按照圖1之情形，進行輸血：

例如[O]型人血可輸給[A]、[B]及[AB]型；而[A]及[B]型人血液，亦可輸給[AB]型；但切不可照上圖及箭頭之方向給以輸血。

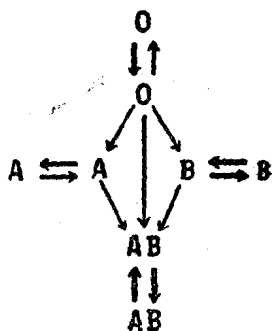


圖1 輸血之原則

第五節 輸入凝集原之相對凝集素，亦不致發生凝集現象之解釋

若用不同型血液輸血時，常發生下列疑問，例如[O]型人血輸給

[A]型人，雖[O]型人血球不含凝集原，但它的血清內含有[α]及[β]二種凝集素，當其輸血時，隨血球同時輸入，按理[α]凝集素能凝集[A]型的血球，但事實上並不發生凝集，歸納其理由如下：

(一)稀釋之因素 普通一次輸血，最多不超過300—500毫升，而被輸者血液量至少超過其輸入量十餘倍以上，因此輸入少量凝集素，立被稀釋，不致引起凝集反應。

(二)其他組織細胞含有相同之凝集原能吸收一部分凝集素 例如[A]型人之A凝集原，除固定在紅血球上外，而在身體其他組織細胞亦含有之，故輸入之相對凝集素亦可被其他組織細胞吸收一部份。

(三)血漿中存在紅血球毀滅後之凝集原，能中和一部份凝集素 帶有凝集原之紅血球，經一定壽命時間後自行毀滅，但其凝集原仍存在於血漿中，因此可中和一部份輸入之相對凝集素。

第六節 檢查血型前之準備

1. 標準血清[A]及[B]型之製備

[A]型血清乃[A]型人血清，含有[β]凝集素，故又稱為抗B血清；而B型血清，含有[α]凝集素，故又稱為抗A血清。

有此二種標準血清，即可用以區別四種不同之血型，乃將被檢查者之紅血球懸液，各放入於[A]型及[B]型標準血清中混合之，觀察其在二者中凝集與否，即可判定其所屬之血型。

表3 由標準血清之結果決定血型

[A]型血清 (β =抗B血清)	[B]型血清 (α =抗A血清)	決定之血型
-	-	O
+	-	B
-	+	A
+	+	AB

由此可知試驗血型，需要 A 及 B 二種標準血清，標準血清本身之好壞，對檢查結果影響很大，故製備過程中務須達到下列標準之條件：

製備此種標準血清之方法有下列二種：

(一) 由人製備 直接由 [A] 型或 [B] 型人抽取血液，分離其血清製成，乃天然製成之凝集素。

由正常人血清製備標準血清之方法：

取已知 [A] 型或 [B] 型人血液，於一般消毒情況下採取，放於消毒試管中，待其凝固後，用木籤將血塊與試管壁剝離，然後放於冰箱內一晚，使血球上自家凝集原將自家凝集素吸收，隔日分離其血清。

要獲得凝集價高之血清，須選擇健康壯年人抽取血液。至於用幼年及老年者，其凝集素效價常低，不適於採用。至於其降低之情形，因幼年者，尚未使凝集素發育良好，至壯年時期，凝集效價達到最高，以後隨年齡增長，凝集價反而降低，故老年人之血清，亦不合於標準(圖 2)。至於病者之血清，有時可引起假性凝集反應，亦易發生紊亂。

當分離血清時，若血塊與血清尚未充分分離，可先放入沉澱管內沉澱之，使血塊完全沉於管底，上層全為血清，然後用一枝乾淨毛細吸管，上帶有橡皮乳頭，將澄清之血清完全轉移至另一消毒試管內。

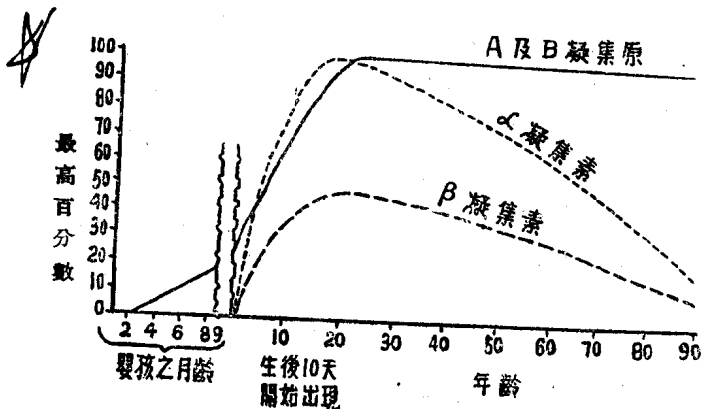


圖 2 人之凝集原與凝集素發生之時期

(二)由動物製備 乃用[A]型或[B]型凝集原(紅血球)注射於動物體,使動物產生凝集素,然後分離其血清獲得。

分離後之血清,須放入56°C水箱內,加溫30分鐘,使補體破壞。若補體存在,可使凝集之血球發生溶解,反阻礙正確之結果,同時加溫又可降低球蛋白(凝集原是球蛋白所組成)之穩定性及膠質保護性,使凝集反應更為明顯。

標準血清製成後須加防腐劑或染料防制細菌之生長:

(一)加一份5%石炭酸鹽水(0.9%鹽水)於九份標準血清中。

(二)加一份1%硫柳汞水溶液(Merthiolate)於50份血清中。

(三)每毫升[A]型血清加0.015毫升之1%阿克法拉芬(Acriflavine)水溶液,使其成黃色;而每毫升[B]型血清中加0.01毫升之1%煌綠(brilliant green)水溶液,使成綠色。主要目的,此種染料亦可用於防腐,同時二種血清,各顯不同之顏色,因此易於區別此二種不同標準血清,以減少工作上所發生之錯誤。

2. 標準血清凝集效價之滴定

(一)標準目標 [A]型血清(β =抗B血清)稀釋至1:20或1:40以上,能凝集血球者為合格。

[B]型血清(α =抗A血清)稀釋至1:40或1:80以上能凝集血球者為合格。

至於B型血清凝集效價之滴定,須較A型血清較高之原因,乃因[A]型之亞型[A₂],凝集原之敏感性較差,不易與低價[B]型血清發生凝集,因此[B]型血清須具有高凝集價,才能與[A₂]型發生凝集。

(二)需用器材

(1)乾淨試管10支(長8厘米,內徑7毫米),置於一試管架上。

(2)未知效價之加熱血清([A]型或[B]型)一瓶。滴定時約用1毫升已足。

(3)已知血型紅血球懸液(如滴定[A]型血清,用[B]型血球;滴定[B]型血清,用[A]型血球。)約3毫升已足。至於製備紅血球懸液之方

法，乃由已知[A]型或[B]型人之耳垂或手指，用刺血針刺破，將血滴入五滴於一含有1毫升鹽水之試管中，即成10%之濃度。

(4) 預備吸管二支——1毫升之吸管，有0.1毫升之刻度，刻度到尖端。2毫升之吸管，有0.1毫升之刻度，刻度到尖端。

(5) 毛細吸管一支，連橡皮乳頭。

(6) 鹽水(0.85% 或 0.9%)一瓶。

(三) 試驗方法

(1) 將試管架上10支乾淨試管，自左至右，註明1,2,3……10號碼。

(2) 用2毫升之吸管，吸取鹽水2毫升，依左至右，加入上列試管內，每管0.5毫升。

(3) 用1毫升之吸管，吸取要滴定之未知效價之標準血清([A]型或[B]型)0.5毫升，加入於第一管內，然後吸上吹下三次，使其充分混勻後，吸出0.5毫升，加於第二管內，如此依次稀釋至第十管。如此則血清稀釋度成爲 $1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512$ 及 $1/1024$ 。

(4) 用毛細吸管吸取紅血球懸液(如欲滴定[A]型血清，可用[B]型血球，若爲[B]型血清，則用A型血球)，加於第一管至第九管內，各加一滴於其內，第十管原加鹽水0.5毫升及第九管吸過來的血清鹽水混合液0.5毫升，共計1毫升，暫不加血球，待結果出來後，若凝集現象在第九管亦發生，則於第十管後再加試管，由第十管起再行稀釋後加血球試之。

(5) 略加振搖後，放於室溫或 37°C 溫箱中半小時或一小時，然後觀察。

(6) 自第一管起逐管觀察，有否凝集現象。若凝集不明顯，可用沉澱器以每分鐘1000轉之速度旋轉一分鐘後觀察，若試管內觀察不清，可用白金耳取一滴放於玻片上，用低倍鏡觀察之。

(7) 以稀釋最高之一管，發生凝集者，其血清稀釋度之倒數，爲其凝集價，例如 $1/256$ 稀釋度一管爲稀釋最高一管發生凝集，故其效價爲256。