

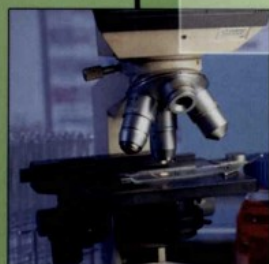


卫生部“十一五”规划教材

全国高等医药教材建设研究会规划教材

全国高等学校配套教材★供医学检验专业用

临床输血与检验 实验指导



主 编 / 胡丽华



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

全国高等学校配套教材

供医学检验专业用

临床输血与检验 实验指导

主 编 胡丽华

编 者 (以姓氏笔画为序)

闫 石 中国医学科学院血液学研究所

李志强 上海交通大学

张循善 安徽医科大学

周柏发 首都医科大学

胡丽华 华中科技大学同济医学院

钱宝华 第二军医大学

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

· 临床输血与检验实验指导/胡丽华主编. —北京:
人民卫生出版社, 2007. 7

ISBN 978-7-117-08815-2

I. 临… II. 胡… III. ①输血-医学院校-教材②血液
检查-医学院校-教材 IV. R457.1 R446.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 086623 号

临床输血与检验实验指导

主 编: 胡丽华

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京蓝迪彩色印务有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 4.25

字 数: 98 千字

版 次: 2007 年 7 月第 1 版 2007 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-08815-2/R·8816

定 价: 8.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

前 言

《临床输血与检验实验指导》以培养实用型人才为目标，编写突出“全面、创新、实用”的特点，理论联系实际（尤其偏重于实用），重点介绍了临床输血学的基本技术，包括必须掌握的红细胞血型系统分型技术、血清学技术、人类白细胞抗原检测技术、血小板血型检测技术、常用血液成分制备与分离技术等方面的常规实验，本书从实验原理、操作步骤、结果判断、方法评价及注意事项等作了详细阐述，以便于学生能很快掌握临床输血学的各项基本实验技能。

本书不仅是全国高等学校医学检验专业的配套教材，也是检验医师培训基地的重要教材，同时也可作为医院输血科、各级血站工作人员的专业指导书。

胡丽华

2007年4月

目 录

第一章 红细胞血型系统	1
实验一 ABO 血型鉴定	1
实验二 ABO 亚型鉴定	3
实验三 RhD 血型鉴定	4
实验四 Rh 表型分型	5
实验五 MNS 血型鉴定	6
实验六 P 血型鉴定	7
第二章 红细胞血型血清学技术	9
实验一 红细胞悬液的配制	9
实验二 酶处理红细胞的制备	10
实验三 不规则抗体筛选与鉴定试验	11
实验四 直接抗球蛋白试验	13
实验五 血型抗体效价测定	14
实验六 吸收放散试验	18
实验七 凝集抑制试验 (HAB 血型物质测定)	23
实验八 新生儿溶血病检测	25
第三章 交叉配血试验	32
实验一 盐水介质交叉配血试验	32
实验二 酶介质交叉配血试验	34
实验三 抗球蛋白介质交叉配血试验	35
实验四 低离子聚凝胺介质交叉配血试验	37
实验五 微柱凝胶介质交叉配血试验	38
第四章 人类白细胞抗原检测技术	40
实验一 HLA 血清学技术	40
实验二 HLA 的分子生物学检测 (PCR-SSP 法)	43
实验三 HLA 抗体检测	46

目 录

第五章 血小板血型检测技术	51
实验一 简易致敏红细胞血小板血清学试验	51
实验二 血小板抗原检测基因分型技术 (PCR-SSP 法)	52
实验三 微柱凝胶血小板相容性试验	53
第六章 血液成分的制备和分离技术	56
实验一 悬浮红细胞和新鲜血浆的分离制备	56
实验二 浓缩血小板的制备 (二次离心法)	57
实验三 洗涤红细胞的制备	58
实验四 冷沉淀的制备	58
实验五 单采血小板的制备	59

1

第一章

红细胞血型系统

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 (forward typing, 正定型、细胞定型), 同时用已知血型的试剂红细胞鉴定血清中的抗体 (reverse typing, 反定型、血清定型)。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 抗凝或不抗凝待检血液 (血清与红细胞已分离或分层好);
2. 试剂 单克隆或多克隆的抗-A 试剂、单克隆或多克隆的抗 B 试剂、抗 A, B (供选择)、2%~5% 的 A 型、B 型和 O 型试剂红细胞悬液;
3. 器材 滴管、试管、标记笔、离心机、显微镜等。

【操作步骤】

1. 正定型 (细胞定型, cell grouping)

(1) 取试管 2 支, 分别标明抗 A, 抗 B, 抗 A、B (供选择), 用滴管分别加抗 A、抗 B 和抗 A, B (供选择) 定型试剂各 2 滴于试管中, 再分别加入待检者的 2%~5% 红细胞盐水悬液 1 滴, 轻摇混合;

(2) 以 $(900\sim1000) \times g$ 离心 15s;

(3) 将试管轻轻摇动, 使细胞扣悬起, 观察有无凝集或溶血现象。

2. 反定型 (血清定型, serology grouping)

(1) 取试管 3 支, 分别标明 A、B 和 O 型细胞管, 用滴管分别加待检者血清 2 滴于试管中, 再分别加入 2%~5% A、B 及 O 型试剂红细胞悬液 1 滴;

第一章 红细胞血型系统

- (2) 以 $(900 \sim 1000) \times g$ 离心 15s;
- (3) 将试管轻轻摇动, 使细胞扣悬起, 观察有无凝集或溶血现象。

【结果判断】

结果判断见表 1-1。

表 1-1 ABO 血型正、反定型结果判定表

正定型 (细胞定型)			反定型 (血清定型)			判定结果
抗 A	抗 B	抗 A, B	A _c	B _c	O _c	
0	0	0	+	+	0	O
+	0	+	0	+	0	A
0	+	+	+	0	0	B
+	+	+	0	0	0	AB

注: + 为有凝集反应; 0 为无凝集反应。

【注意事项】

1. 观察结果时若试管中出现溶血现象, 表明存在抗原抗体反应并激活了补体, 应视为阳性结果。

2. ABO 血型试验产生问题, 一般见于正、反定型不一致, 这可能存在操作问题, 也可能是待检红细胞或血清自身的问题, 主要有:

(1) 操作技术上的错误: 这是 ABO 定型中产生异常结果的主要原因, 比如: 离心过度或不足; 细胞与血清反应比例不适当; 阳性反应产生溶血现象而未能识别, 导致假阴性结果等等;

(2) 红细胞致敏状态;

(3) 嵌合体血型 (开米粒, chimerism) 定型时可以出现“混合外观凝集”现象;

(4) 某些白血病患者和难治性贫血等疾病因素导致抗原减弱;

(5) 红细胞因遗传或获得性的表面异常, 出现多凝集现象;

(6) 获得性 B 现象;

(7) 血型物质过多可干扰 (中和) 抗 A 和抗 B 定型试剂;

(8) 异常的血浆蛋白; 待检者血浆中白蛋白、球蛋白比例异常; 高浓度的纤维蛋白原等问题, 能导致缗钱状形成, 造成假凝集现象;

(9) 待检血清中有不规则抗体存在, 与试剂 A、B 细胞上的抗原起反应;

(10) 右旋糖酐及静脉注射某些造影剂等药物因素引起红细胞聚集而类似凝集;

(11) 尚未产生抗体的婴儿、由母亲被动获得抗体的婴儿、抗体水平下降的老人, 试验时可能出现异常的结果;

(12) 单克隆定型试剂与人多克隆定型血清在判读和分析弱抗原、特别是 ABO 亚型抗原时, 可能会有差异。

【思考题】

简述导致 ABO 血型鉴定出现正反定型不一致的常见原因。

实验二 ABO 亚型鉴定

【实验原理】

血型血清学试验通常按其相应的血清学反应结果的格局进行鉴别。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 抗凝或不抗凝待检血液（血清与红细胞已分离或分层好），已热煮沸离心处理好的唾液标本；

2. 试剂 单克隆或多克隆的抗 A 试剂；单克隆或多克隆的抗 B 试剂；抗 A, B；抗 H 试剂；抗 A1 试剂；2%~5% 的 A1、A2 型、B 型和 O 型标准红细胞盐水悬液；

3. 器材 滴管、试管、标记笔、离心机、显微镜、水浴箱等。

【操作步骤】

1. 待检红细胞与抗 A、抗 A1、抗 B、抗 H 及抗 A, B 试剂进行反应（包括常规试管法与吸收、放散试验），观察凝集反应程度；

2. 待检血清与 2%~5% 的 A1、A2 型、B 型和 O 型标准红细胞反应（包括常规试管法与吸收、放散试验），观察凝集反应程度；

3. 检测分泌型个体唾液中的 A、B 和 H 物质的存在与缺失。

【结果判断】

根据表 1-2 综合分析作出判断。

表 1-2 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 A1	A1	A2	B	O	
A1	4+	0	4+	1+	4+	0	0	4+	0	A&H
Aint	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	A&H
A2	4+	0	4+	3+	0	0	0	4+	0	A&H
A3	2+/mf	0	2+/mf	3+	0	+	0	4+	0	A&H
Am	0/w+	0	0/w+	4+	0	0	0	4+	0	A&H
Ax	0/w+	0	+ / 2+	4+	0	+	0/+	4+	0	A&H
Ael	0	0	0	4+	0	2+	0	4+	0	H
B	0	4+	4+	2+		4+	3+	0	0	B&H
B3	0	2+/mf	2+/mf	4+		4+	3+	0	0	B&H
Bm	0	0/w+	0/w+	4+		4+	3+	0	0	B&H
Bx	0	0/w+	w+ / 2+	4+		4+	3+	w+	0	H
O	0	0	0	4+		4+	4+	4+	0	H
Oh	0	0	0	0		4+	4+	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. 随着单克隆 ABO 定型试剂取代人源定型血清，可能难以按这些血清学反应特征对一些 ABO 亚型的抗原进行鉴别定型；
2. 当常规血清学鉴定出现困难时，可以采用分子生物学方法如 PCR—RFLP、PCR—SSP 等鉴定。

【思考题】

总结当前应用于 ABO 血型系统鉴定的分子生物学技术。

实验三 RhD 血型鉴定

【实验原理】

1. 单克隆混合试剂检测法：用 RhD 定型混合试剂，即单克隆抗体 IgM+IgG 型对红细胞上 RhD 抗原进行鉴定。
2. 酶介质检测法：酶介质可破坏红细胞表面的唾液酸，从而降低红细胞表面负电荷，减少红细胞间的静电排斥力，使细胞间的距离缩小，有利于 IgG 类特异性血型抗体与红细胞上的 RhD 抗原反应，形成肉眼可见的凝集。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 2%~5%抗凝或不抗凝待检红细胞生理盐水悬液；
2. 试剂 单克隆抗 D (IgM+IgG 型) 混合血清试剂、IgG 型抗 D 血清试剂、1%木瓜酶（或菠萝酶）溶液、5%RhD 阳性和阴性红细胞生理盐水悬液等；
3. 器材 滴管、试管、离心机、显微镜、37℃水浴箱等。

【操作步骤】

1. 单克隆混合试剂 (IgM+IgG 型) 试管法：
 - (1) 用 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；
 - (2) 各管分别加入 1 滴 2%~5%的待检者红细胞悬液、5%RhD 阳性的红细胞悬液和 5%RhD 阴性的红细胞悬液；
 - (3) 混匀，(900~1000) ×g 离心 15~30s（或按照试剂厂家的要求进行）。
 - (4) 轻轻振摇试管，肉眼或镜检观察红细胞有无凝集现象。
2. 直接酶介质法 (IgG 型)：
 - (1) 取 3 支试管，标记为待检样本管、阳性对照管和阴性对照管；
 - (2) 加样方法见表 1-3；

表 1-3 直接酶介质法 (IgG 型) 加样方法

	5%待检者 红细胞悬液	5%RhD 阳性 红细胞悬液	5%RhD 阴性 红细胞悬液	IgG 型抗 D 血清	1%木瓜酶液
待检样本管	1 滴			1 滴	2 滴
阳性对照管		1 滴		1 滴	2 滴
阴性对照管			1 滴	1 滴	2 滴

(3) 混匀, 37℃水浴 30min, 1000×g 离心 15s;

(4) 轻轻摇动试管, 观察红细胞凝集情况。

【结果判断】

阴性对照管无凝集, 阳性对照管有凝集, 若待检样本管出现凝集则为 RhD 阳性, 反之为阴性。

【方法评价与注意事项】

1. Rh 血型系统的抗体多由后天免疫刺激 (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, 包括抗原的阴、阳性对照以及试剂对照试验;

3. 导致 Rh 血型鉴定出现假阳性的可能原因:

(1) 待检细胞已被致敏, 或标本血清中含有其他引起红细胞凝集的因素;

(2) 待检细胞与抗血清孵育的时间过长, 或定型试剂的蛋白含量过高, 会引起缗钱状形成;

(3) 标本抗凝不当, 待检过程中出现凝血或出现小的纤维蛋白凝块;

(4) 定型血清中含有事先未被检测的其它特异性抗体;

(5) 多凝集细胞的存在;

(6) 检测用的器材或抗血清被污染;

4. 导致 Rh 血型鉴定可能出现假阴性的原因:

(1) 待检细胞悬液浓度过高, 与定型血清比例失调;

(2) 漏加或错加定型血清;

(3) 定型血清的使用方法错误, 没有按说明书进行;

(4) 离心后重悬细胞扣时, 摇动用力过度, 微弱的凝集被摇散;

(5) 定型血清保存不当导致失效;

(6) 某些弱 D 抗原需通过抗球蛋白实验、吸收放散实验或基因分型等技术才能检出。

【思考题】

1. 试述 Rh 抗体产生的临床意义。

2. 简述 D^u 型的常规血清学鉴定方法及其临床意义。

实验四 Rh 表型分型

【实验原理】

用抗 D、E、C、c、e (IgG+IgM) 混合型血清定型试剂鉴定待测红细胞上的相应抗原。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 2%~5% 抗凝或不抗凝待检红细胞生理盐水悬液;

2. 试剂 抗 D、抗 E、抗 C、抗 c 和抗 e (IgG+IgM) 混合型血清定型试剂, 生理盐水等;

3. 器材 滴管、试管、标记笔、离心机、显微镜等。

【操作步骤】

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 血清定型试剂 1 滴；

2. 再分别加入 2 滴 2%~5% 待测红细胞盐水悬液；

3. 混匀，(900~1000) ×g 离心 15s，观察管内凝集情况。

【结果判断】

5 种抗血清与红细胞所确定的 Rh 表型结果判断见表 1-4。

表 1-4 Rh 表型结果判断

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	+	+	R ₀ R ₀ /R ₀ r	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

【注意事项】

1. 如果临床上只要检查是否为 Rh 阳性或阴性，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 (D^u 型)，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，则待检者为 Rh 缺失型，以 “—D—” 表示。

实验五 MNS 血型鉴定

【实验原理】

用标准 IgM 类特异性抗 M、抗 N、抗 S 和抗 s 血清来鉴定红细胞上有无相应的 M 抗原和/或 N 抗原、S 抗原和/或 s 抗原。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 2%~5%抗凝或不抗凝待检红细胞生理盐水悬液；
2. 试剂 单克隆抗 M、抗 N、抗 S、抗 s 血清试剂，生理盐水等；
3. 器材 滴管、试管、标记笔、离心机、显微镜等。

【操作步骤】

1. 取四支小试管，分别标记为抗 M、抗 N、抗 S 和抗 s，然后加入相应的抗 M、抗 N、抗 S 和抗 s 试剂血清 1 滴；
2. 再加入待检者 2%~5%的红细胞悬液 1 滴；
3. 混匀，(900~1000) ×g 离心 15s，观察管内凝集情况。

【结果判断】

结果判断见表 1-5。

表 1-5 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	
+	—			M
+	+			MN
—	+			N
		+	—	S
		+	+	Ss
		—	+	s

【注意事项】

不能用酶法鉴定 MN 血型，因为木瓜酶或菠萝酶会破坏大部分糖蛋白 A 和 B 上的抗原，造成假阴性结果。

【临床意义】

1. IgM 类抗 M 和抗 N 偶尔可见有天然抗体，导致交叉配血实验不合；
2. IgG 类抗 N 可引起早产、新生儿溶血及输血反应；
3. 我国汉族人群中 M 型在 45%~50%之间。

实验六 P 血型鉴定

【实验原理】

用标准 IgM 类特异性抗 P1 血清来鉴定红细胞的 P 血型。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 2%~5%抗凝或不抗凝待检红细胞生理盐水悬液；
2. 试剂 抗 P1 分型血清、已知 P1 和 P2 2%~5%红细胞生理盐水悬液、生理盐水等；
3. 器材 滴管、试管、标记笔、离心机、显微镜等。

【操作步骤】

第一章 红细胞血型系统

1. 取 3 支试管，分别标记为待检者、P1、P2 对照，各加入抗 P1 分型血清 1 滴；
2. 再按标记分别加入待检者 2%~5% 红细胞悬液、P1、P2 红细胞生理盐水悬液各 1 滴；
3. 混匀， $(900\sim 1000) \times g$ 离心 15s，观察管内凝集情况。

【结果判断】

P1 对照凝集，P2 对照不凝集；此时待检者红细胞凝集为 P1 型，不凝集者则 P2 型。

【注意事项】

抗 P1 常常属于冷凝集素 IgM，4℃ 为最适反应温度。

【临床意义】

1. 人血清中的抗 P1 一般属冷抗体，通常在 30℃ 以上的条件中不出现凝集现象，故偶尔可引起输血反应；
2. 我国汉族人群中 P1 型占 39.67%，P2 型占 60.33%。

(胡丽华)

2

红细胞血型血清学技术

实验一 红细胞悬液的配制

【实验原理】

用一定量的稀释液（常用生理盐水）来稀释压积红细胞，达到一定浓度。因为在抗原与抗体特异性结合中须遵循一定的量比关系，只有二者比例适当才会出现最佳反应结果。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 抗凝全血 2ml;
2. 试剂 生理盐水;
3. 器材 试管 (10mm×60mm 或 12mm×100mm)、试管架、滴管、台式离心机。

【操作步骤】

1. 抗凝全血 2ml，放入离心机中， $(900\sim1000)\times g$ 离心 5min，吸去上层血浆；
2. 加入生理盐水 5ml，混匀，洗涤，放入离心机内， $(900\sim1000)\times g$ 离心 3min，取出试管，弃去上清液，重复操作 3 次，末次离心时间增加至 5min，制备成压积红细胞；

3. 不同浓度红细胞悬液配制

(1) 5%红细胞悬液配制 取试管 1 支，加入压积红细胞 1 滴，加入生理盐水 16 滴，制备成 5%红细胞悬液。

(2) 2%红细胞悬液配制 取 5%红细胞悬液 2 滴，加入生理盐水 3 滴，制备成 2%红细胞悬液。

(3) 1%红细胞悬液配制 取 5%红细胞悬液 2 滴, 加入生理盐水 8 滴, 制备成 1%红细胞悬液。

实验二 酶处理红细胞的制备

【实验原理】

红细胞表面富含唾液酸, 使其带有负电荷, 导致红细胞间相互排斥。蛋白水解酶能分解唾液酸, 减少红细胞表面的负电荷, 使红细胞间距离缩短, 有利于 IgG 抗体与具有相应抗原的红细胞结合, 从而产生凝集反应。常用的酶有菠萝酶、木瓜酶等。

【标本、试剂与器材】

1. 标本 压积红细胞;
2. 试剂 木瓜酶粉剂、半胱氨酸、pH7.3 磷酸盐缓冲液 (PBS)、蒸馏水、阳性对照血清 (人源性 IgG 抗 D 血清)、阴性对照血清;
3. 器材 试管 (10mm×60mm 或 12mm×100mm)、试管架、滴管、三角烧杯、玻璃棒、台式离心机、恒温水浴箱。

【操作步骤】

1. 取 1g 木瓜酶干粉加入有适量 PBS (pH7.3) 的烧杯中, 用玻璃棒充分搅拌, 加 6% 的半胱氨酸溶液 (10 ml 蒸馏水 + 0.6g 半胱氨酸) 10ml, 37℃ 水浴箱孵育 1h, 再加 PBS 至 100ml, 移至若干试管中, 3000×g 离心 5min。上清液即为 1% 半胱氨酸活化的木瓜酶溶液, 分装后 -20℃ 保存;
2. 取 1 份压积红细胞, 加 1 份 1% 木瓜酶溶液, 37℃ 水浴箱孵育 10min;
3. 用大量生理盐水洗涤 3 次, 然后用生理盐水配成 2%~5% 的红细胞悬液;
4. 取 2 支试管, 分别标记为“阳性”和“阴性”。“阳性”管中加入人源性 IgG 抗-D 血清 2 滴, “阴性”管中加入不含抗-D 抗体的血清 2 滴;
5. 2 支试管中分别加入 2%~5% 酶处理过的红细胞悬液各 1 滴, 混匀, 37℃ 孵育 15min;
6. 1000×g 离心 15s, 观察结果。

【结果判断】

阳性对照红细胞凝集 $\geq 2+$, 阴性对照无凝集。

【注意事项】

1. 酶试验技术可以增强一些血型系统 (Rh 和 Kidd 血型系统) 的抗原抗体反应活性; 也能消除一些血型抗原 (如 MN、Duffy 血型系统等) 的抗原抗体反应活性, 故而不能用于 MN、Duffy 血型系统等抗原抗体鉴定分析;
2. 阳性对照血清最好选取人源性 IgG 抗 D 血清, 这种抗体应当能够凝集经酶处理后的 RhD 阳性红细胞, 而不与未处理红细胞发生直接凝集反应。

【思考题】

酶处理红细胞不能用于哪些血型系统抗体的鉴定?

(周柏发)

实验三 不规则抗体筛选与鉴定试验

【实验原理】

输血后由于外源性抗原的同种免疫作用,使机体对外源性抗原产生同种免疫抗体,当再次输入相应抗原时就会产生抗原抗体反应。

应用特定的筛选细胞(1、2、3号),与待检者血清在三种介质(盐水、酶、抗球蛋白)中反应,根据反应结果判断机体所产生的同种抗体类别。对筛选试验阳性的待检者应检查其抗体特异性。根据谱红细胞(1~11号共11个鉴定细胞)与待检者血清在三种介质(盐水、酶、抗球蛋白)中反应的结果加以判定。

一、不规则抗体筛选试验

【标本、试剂与器材】

1. 标本 待检者不抗凝全血;
2. 试剂 符合国家标准的1、2、3号筛选谱红细胞、生理盐水、1%菠萝酶、多特异性抗球蛋白试剂;
3. 器材 台式离心机、37℃水浴箱、血液细胞洗涤离心机。

【操作步骤】

1. 取试管12支分成3排,每排4支做好标记,每支试管加待检者血清1滴;
2. 待检者红细胞用生理盐水洗涤1~2次,配成2%~5%红细胞悬液备用;
3. 第1排4支试管分别加待检者血清各1滴,第1~3支试管依次加1、2、3号筛选谱红细胞1滴;第4支试管加待检者2%~5%红细胞悬液1滴;1000×g离心15s,轻轻摇动试管,肉眼观察有无凝集结果,记录盐水介质反应情况;
4. 第2排4支试管分别加待检者血清各1滴,第1~3支试管依次加1、2、3号筛选谱红细胞1滴;第4支试管加待检者2%~5%红细胞悬液1滴;4支试管分别加入1%菠萝酶各1滴;
5. 第3排4支试管分别加待检者血清各1滴,第1~3支试管依次加1、2、3号筛选谱红细胞1滴;第4支试管加待检者2%~5%红细胞悬液1滴;
6. 将第2、3排8支试管置于37℃水浴箱中孵育30min;
7. 从水浴箱中取出试管,第2排4支试管1000×g离心15s,轻轻摇动试管,肉眼观察有无凝集结果,记录酶介质反应情况;
8. 第3排4支试管用生理盐水洗涤三次,加多特异性抗球蛋白试剂各1滴,1000×g离心15s,轻轻摇动试管,肉眼观察有无凝集结果,记录抗球蛋白介质反应情况。

【结果判断】

待检者自身血清加自身红细胞管无凝集;1、2、3号筛选谱红细胞管出现±~4+凝集者为抗体筛选阳性结果。

【方法评价与注意事项】

1. 待检者自身血清加自身红细胞管应无凝集;若出现凝集则提示存在自身免疫性抗体;