

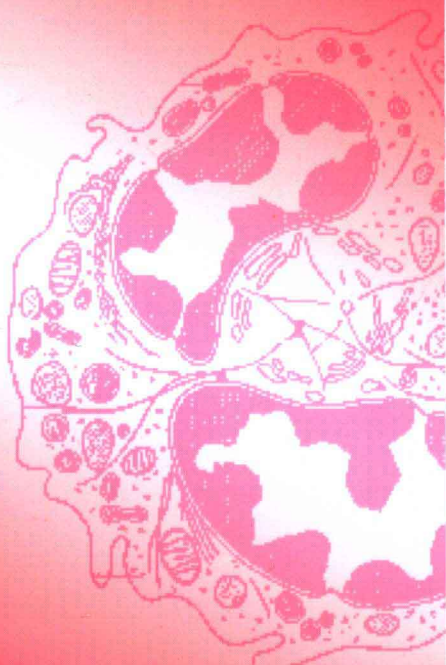


全国高等医药院校医学检验专业规划教材

临床输血检验 实验指导

LINCHUANG
SHUXUE JIANYAN
SHIYAN ZHIDAO

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专业规划教材

临床输血检验 实验指导

LINCHUANG
SHUOXUE JIANYAN
SHIYAN ZHIDAO

第2版 第1次印刷

● 人民卫生出版社

全国高等医药院校医学检验专业规划教材

临床输血检验实验指导

主 编 胡丽华

副主编 李志强 张循善

编 者 胡丽华 华中科技大学同济医学院附属协和医院

李志强 上海交通大学附属第六人民医院

张循善 安徽医科大学第一附属医院

钱宝华 第二军医大学附属长海医院

夏 琳 武汉大学中南医院

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专业规划教材之一,是《临床输血检验》的配套教材。全书分4章,共37个实验,全面介绍了临床输血实验室的基础知识与操作技术,包括红细胞抗原抗体检测、人类白细胞抗原抗体检测、血小板抗原抗体检测、血液成分的制备等技术,从实验原理、实验步骤、实验结果、方法评价等方面作了阐述。本书强调理论与实践结合,实验与临床结合。

本书可供高等院校医学检验专业本科、专科师生实验使用,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。

图书在版编目(CIP)数据

临床输血检验实验指导/胡丽华主编. —北京:中国医药科技出版社,2010.1

全国高等医药院校医学检验专业规划教材

ISBN 978 - 7 - 5067 - 4539 - 0

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(2009)第239430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 787×1092mm¹/₁₆

印张 4³/₄

字数 85千字

版次 2010年2月第1版

印次 2010年2月第1次印刷

印刷 北京地泰德印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 4539 - 0

定价 10.00元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

前言

临床输血检验是高等医药院校教材体系中一门重要课程，是医学检验专业本科生的必修课。《临床输血检验实验指导》是全国高等医药院校医学检验专业规划教材《临床输血检验》的配套实验指导教材。本教材以培养临床输血医学专业实用型人才为宗旨，遵循医学检验专业培养目标，注重学生临床实践技能的掌握，强调综合素质的提高和创造能力的培养。

本教材的编写目的是要求学生在学习输血医学专业理论的过程中，通过实验课的动手操作，不仅得到规范的输血操作技术训练，还有助于提高学生将理论知识应用于临床实践及评价检测方法诊断价值的综合能力。本教材全面介绍了临床输血实验室的基础知识与操作技术，包括红细胞抗原抗体检测、人类白细胞抗原抗体检测、血小板抗原抗体检测、血液成分的制备等技术，从实验原理、实验步骤、实验结果、方法评价等方面作了阐述。本书在编写过程中强调了理论与实践结合，实验与临床结合，注重培养学生的实践能力和思维能力；突出了实践性、实用性、启发性和先进性，以便学生能更快更好地掌握临床输血的各项操作技能，毕业后能很快胜任输血科、各级血站的临床工作与科研工作。

本教材不仅是医学检验专业学生教学用书，供本科生实习时使用，还可作为医院输血科、各级血站工作人员的作业指导书。

由于编写时间短促，加之编者水平所限，书中难免存在不足和疏漏之处，敬请各位专家和广大读者批评指正。

胡丽华

2009年12月

目 录

第一章 红细胞抗原抗体检测	(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 表型分型	(4)
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)
实验八 意外抗体筛选	(10)
实验九 意外抗体鉴定	(12)
实验十 抗体效价测定	(14)
实验十一 盐水介质交叉配血试验	(18)
实验十二 酶介质交叉配血试验	(20)
实验十三 抗人球蛋白介质交叉配血试验	(21)
实验十四 低离子聚凝胺介质交叉配血试验	(23)
实验十五 微柱凝胶介质交叉配血试验	(25)
实验十六 冷吸收试验	(26)
实验十七 热吸收试验	(28)
实验十八 热放散实验	(30)
实验十九 冷冻放散试验	(31)
实验二十 乙醚放散试验	(33)
实验二十一 直接抗球蛋白试验	(34)
实验二十二 新生儿血清游离抗体测定	(35)
实验二十三 新生儿红细胞抗体释放试验	(36)
 第二章 人类白细胞抗原抗体检测	 (38)
实验二十四 血清学分型方法	(38)
实验二十五 细胞学分型方法	(40)
实验二十六 人类白细胞抗原分子生物学检测 (以 PCR-SSP 检测 HLA-B27 为例)	(42)
实验二十七 群体反应性抗体测定	(44)

第三章 血小板抗原抗体检测	(46)
实验二十八 简易致敏红细胞血小板血清学试验	(46)
实验二十九 血小板特异性抗原 1-16 检测 (以 PCR-SSP 法为例)	(48)
实验三十 血小板相容性交叉匹配试验 (微柱凝胶法)	(50)
第四章 血液成分的制备	(52)
实验三十一 悬浮红细胞的制备	(52)
实验三十二 洗涤红细胞的制备	(53)
实验三十三 冰冻解冻去甘油红细胞的制备	(54)
实验三十四 手工分离浓缩血小板的制备	(56)
实验三十五 单采血小板的制备	(58)
实验三十六 新鲜冰冻血浆的制备	(59)
实验三十七 冷沉淀的制备	(60)
附录 临床输血实验室的要求、基本技术和方法	(62)
附录一 实验室生物安全	(62)
附录二 红细胞悬液的配制	(65)
附录三 酶处理红细胞的制备	(66)
附录四 各种常用试剂的配制	(67)

第一章 红细胞抗原 抗体检测

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。

【实验仪器与试剂】

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; 单克隆或多克隆的抗 - B; 抗 - A, B (可选)。2% ~ 5% 的 A₁ 型、B 型和 O 型红细胞生理盐水悬液。

【实验步骤】

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, 抗 - A, B (可选), 用滴管分别加入抗 - A、抗 - B 和抗 - A, 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 3000rpm (900 到 1000 × g) 离心 15s。

(3) 轻摇试管使细胞扣 (cell buttons) 悬起观察有无凝集及溶血现象并记录正定型结果。

2. 反定型 (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, 用滴管分别加入受检者血清 2 滴于试管, 再分别加入 2% ~ 5% A₁、B 及 O 型试剂红细胞悬液 1 滴, 混匀。

(2) 以 3000rpm (900 到 1000 × g) 离心 15s。

(3) 轻摇试管使细胞扣重悬后观察有无凝集及溶血现象并记录反定型结果。

【实验结果】

ABO 血型判定应综合正反定型结果, 判断方法见表 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 ₁ C	B _C	O _C	
0	0	0	+	+	0	O
+	0	+	0	+	0	A
0	+	+	+	0	0	B
+	+	+	0	0	0	AB
0	0	0	+	+	+	Bombay*

注：+，凝集；0，不凝集；*，H 抗原缺失型（意外抗体为抗-H）。

【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. 在记录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 grouping 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，初步的处理程序主要有以下一些。

（1）相同的血液样本重复 ABO 血型鉴定一次，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为血清或血浆，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交叉污染时，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】

ABO 血型鉴定出现正反定型不一致的主要原因有哪些？

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。

【实验仪器与试剂】

1. 仪器 滴管、洁净小试管、离心机等。

2. 试剂 单克隆抗-D（IgM + IgG 类）混合血清试剂、2% ~ 5% D 阳性和阴性红细胞生理盐水悬液等。

【实验步骤】

1. 在三支分别标记为受检样本、阳性和阴性对照的洁净小试管中各加入 1 滴抗 - D (IgM + IgG 类) 混合试剂。
2. 各支试管中分别加入 1 滴 2% ~ 5% 的受检红细胞盐水悬液、D 阳性对照红细胞和 D 阴性对照红细胞盐水悬液。
3. 混匀, 3200 ~ 3400rpm 离心 15 ~ 30s (或遵照试剂厂家的要求)。
4. 轻摇试管使红细胞扣重悬, 肉眼观察有无凝集现象。

【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 试剂再加入受检红细胞悬液, 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?

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。

【实验仪器与试剂】

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 - A, B、抗 - H、抗 - A₁ 等。2% ~ 5% 的 A₁ 型、A₂ 型、B 型和 O 型红细胞生理盐水悬液。

【实验步骤】

通常可采用血型血清学试验, 按以下的血清学反应结果的格局进行鉴别。

1. 红细胞与抗 - 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。
2. 红细胞上 H 物质活性的强弱程度。

- 3. 血清中是否存在抗 - A₁。
- 4. 分泌型个体的唾液中的 A、B 和 H 物质。

【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	++	0/4	++++	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 +	0/4+	++++		++++	++++	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别方法。

【思考题】

- 1. ABO 基因分型方法通常由哪些以及各自的优缺点？
- 2. 常见的 ABO 亚型血清学特征？

实验四 Rh 表型分型

【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。

【实验仪器与试剂】

- 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。

【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 1 滴 2% ~ 5% 待测红细胞盐水悬液，混匀。
- 3. 1000rpm 离心 1min 或 3000rpm (900 × g ~ 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 表型分型表

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	+	+	+	+	ryr	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哪些？
- 2. 弱 D 的鉴定方法有哪些？

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。

【实验仪器与试剂】

- 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 抗 - M、抗 - N、抗 - S 和抗 - s 血清，生理盐水等。

【实验步骤】

取四支做好标记的小试管，加入相应的抗 - M、抗 - N、抗 - S 和抗 - s 血
清 1 滴；再加入受检者 2% ~ 5% 红细胞悬液 1 滴，混匀，3000rpm (900 × g ~
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 MN 血型，因为木瓜酶或菠萝酶会破坏大部分糖蛋白 A 和 B (GPA 和 GPB) 上的抗原，造成漏检。
- 2. IgM 类抗 - M 和抗 - N 偶尔可见有天然抗体，引起交叉配血实验不合；IgG 类抗 - M 可引起早产、新生儿溶血病及输血反应。
- 3. 我国汉族人群中 M 表型频率在 45% ~ 50% 之间。

【思考题】

MNSs 血型鉴定时能否采用酶介质技术？

(胡丽华)

实验六 P 血型鉴定

P 抗原于 1927 年首先由 Landsteiner 和 Levine 发现。P 抗原的结构取决于它与红细胞膜上糖脂类结合的寡糖结构。对 P 血型系统抗原的遗传学和生物化学研究表明, 这些抗原至少受 P_1 、 P_2 、 P^k 和 p 等几个位点控制, 分为 P_1 、 P_2 、 P_1^k 、 P_2^k 和 p 五种表型。临床实验中常常只用抗 P_1 抗血清将红细胞上 P 抗原分为 P_1 型和 P_2 型两种。我国汉族人群 P_1 型约占 39.67%, P_2 型约占 60.33%。

【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能够出现凝集反应, 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。有 P_1 抗原为 P_1 型, 无 P_1 抗原为 P_2 型。

【实验仪器与试剂】

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 5% 红细胞生理盐水悬液; 0.9% 生理盐水。

【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, 各加抗 - P_1 分型血清 1 滴。
2. 按标记各加受检者 5% 红细胞生理盐水悬液、 P_1 和 P_2 红细胞生理盐水悬液 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】

如果 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 (罕见型例外)。

【方法评价与注意事项】

1. P 血型鉴定应严格掌握反应时间, 否则会出现假阳性。
2. 抗 - P_1 属冷凝集素 IgM, 4℃ 为最适反应温度, 可放入 4℃ 冰箱中反应。
3. 贮存的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, 要求较新鲜的血样本。

【思考题】

为什么说 P 血型定型试验的反应温度不宜过高?

实验七 唾液中 HAB 血型物质测定

红细胞的 HAB 抗原有其独特的生物和化学特性, 与其他抗原血型不同,

不但存在于红细胞表面,还存在于血清、唾液、胃液、精液以及卵巢液、腹水等体液中。约 80% 的人体液中可检出 HAB 抗原物质,称为分泌型;约 20% 的人体液中不存在 HAB 抗原物质,称为非分泌型。本实验以唾液为例检测人体 HAB 血型物质。

【实验原理】

根据凝集抑制实验的原理,人唾液中 HAB 血型物质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。

【实验仪器与试剂】

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; 0.9% 生理盐水; 已知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。

【实验步骤】

1. 用生理盐水将抗 - A、抗 - B 和抗 - H 血清作倍比稀释,分别测定抗 - A、抗 - B 和抗 - H 血清的效价,确定各种抗血清与相应红细胞反应达到 2 + ~ 3 + 的最高稀释度,按以上确定的稀释度作为最适稀释度。

2. 将唾液以 2500rpm 离心 5min,去除沉淀和细胞,取上清液放入沸水浴中煮沸 10min,再以 2500rpm 离心 3min,留取上清液检测。

3. 在试管架上分别排列标明有抗 - A、抗 - B、抗 - H 的 3 排试管各 10 支,倍比稀释处理后的唾液至第 10 管,稀释度分别为 1:1、1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256、1:512。

4. 按表 1-5 加反应物进行试验。

表 1-5 唾液中血型物质测定步骤

	抗 A 管	抗 B 管	抗 H 管
受检者唾液 (50μl)	1	1	1
最适稀释度抗 - A 血清 (50μl)	1		
最适稀释度抗 - B 血清 (50μl)		1	
最适稀释度抗 - H 血清 (50μl)			1
混匀,置室温中和 10min			
2% 的 A 型 RBC 生理盐水悬液 (50μl)	2		
2% 的 B 型 RBC 生理盐水悬液 (50μl)		2	
2% 的 O 型 RBC 生理盐水悬液 (50μl)			2
混匀,室温静置 1h 或 1000rpm 离心 1min,观察结果			

5. 同时用盐水代替唾液做盐水对照管,其他步骤与测定管相同,所得结果各管凝集强度不应低于测定管。

6. 阳性及阴性对照管分别取试管 2 支, 各加分泌型和非分泌型唾液 1 滴, 再加抗 - H 最适稀释度液 1 滴, 以 2% O 型红细胞作指示, 同时进行试验, 阳性对照不凝集, 阴性对照凝集。

【实验结果】

1. 记录唾液测定管、盐水对照管、阳性对照管和阴性对照管的凝集强度。阴性对照管的凝集强度一般应为 (3 + ~ 4 +); 阳性对照管凝集强度应为 (-); 盐水对照管凝集强度应大于相应的唾液测定管。

2. 在抗 - A、抗 - B、抗 - H 试管中, 任何一管红细胞不凝集, 均表示检出唾液中存在相应的血型物质, 见表 1 - 6。

表 1 - 6 唾液中血型物质测定结果

	抗 A 管	抗 B 管	抗 H 管	盐水对照	阳性对照	阴性对照
非分泌型	4 +	4 +	4 +	4 +	-	3 + / 4 +
A 型分泌型	-	4 +	1 ~ 4 +	4 +	-	3 + / 4 +
B 型分泌型	4 +	-	1 ~ 3 +	4 +	-	3 + / 4 +
O 型分泌型	4 +	4 +	-	4 +	-	3 + / 4 +
AB 型分泌型	-	-	1 ~ 3 +	4 +	-	3 + / 4 +

【方法评价与注意事项】

1. 唾液在加热前应先离心并除去沉淀, 否则细胞可能释放 H 物质, 导致非分泌型出现假阳性。

2. 唾液收集后, 可将唾液冰冻保存数天后融化离心, 去除细胞碎屑, 得到清晰的不含黏液的液体唾液。

3. 如果试验要在几小时内完成, 可将标本放入 4℃ 冷藏; 若试验不能一天完成, 则将标本保存在 -20℃, 标本活力可保存数年。

4. 为了防止弱分泌型漏检, 可同时做盐水对照试验, 比较二者凝集强度。

5. 抗血清应标准化校正后使用, 否则易出现假阳性或假阴性结果。

6. 确定唾液中为分泌型血型物质后, 如果第一管高浓度的血型物质能够完全中和加入的标化抗血清, 使加入的相应红细胞呈阴性, 那么稀释后的效价管可导致红细胞出现凝集, 由此可以知道最高稀释倍数的倒数即为唾液中血型物质的效价。

7. 若盐水对照管的抗体未与指示细胞凝集, 则唾液试验结果无效。这经常是由于试剂的稀释倍数太大引起的, 需重新找出抗血清的最适稀释度。

【思考题】

1. 为什么测定唾液中 HAB 血型物质实验需要做盐水对照实验, 并且盐水对照管的凝集强度要大于相应的唾液测定管?

2. 被检测者的唾液为什么要放入沸水中煮沸 10min 处理?

实验八 意外抗体筛选

意外抗体亦称不规则抗体，是指不符合 ABO 血型系统 Landsteiner 法则的血型抗体，也就是除抗 - A、抗 - B 以外的血型抗体。而 ABO 血型系统中的亚型，变异型的抗 - A₁ 或某种抗 - B，也称为意外抗体。在输血实践中，人们发现许多意外抗体对输血产生巨大影响，为了保证临床输血安全，输血前对患者及献血者进行意外抗体筛选，发现临床上有意义的抗体，避免一些可能的情况而造成患者输血治疗的延误或输血不良反应出现。

【实验原理】

让待检者的血清与已知血型的试剂红细胞即筛选红细胞（Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ号）起反应，以发现在 37℃ 中有反应活性的抗体。这种抗体可引起新生儿溶血病、溶血性输血反应或使输入的红细胞存活期缩短等。

【实验仪器与试剂】

1. 仪器 小试管、吸管、37℃ 水浴箱、台式离心机、滤纸、加样器、微柱凝胶离心机及微柱凝胶孵育器等。

2. 试剂

（1）筛选红细胞。由 2 或 3 人份的 O 型红细胞组成为一套试剂，每套试剂筛选红细胞中至少有以下常见的抗原：D、C、E、c、e、M、N、S、s、P、Le^a、Le^b、K、k、Fy^a、Fy^b、Jk^a、Jk^b。其他抗原如 Kp^b、Js^b、Lu^b、H、I 因频率较高也应提供。为了尽可能检出意外抗体，每次用 1 套试剂（Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ）同时进行抗体筛选，见表 1-7。

（2）多特异性抗球蛋白血清（IgG、C3d）。

（3）致敏红细胞（质控细胞）。

（4）0.9% 生理盐水。

（5）Coombs 微柱凝胶卡。

表 1-7 意外抗体筛选反应格局表

序号	血型系	Rh					Kell		Duffy		Kill		Lewis		P	MNSs					Luth	
	Rh基因	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	
I	R ¹ R ¹	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	
II	R ² R ²	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	0	+	
III	R ¹ r ¹	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	
试验结果（盐水法、间接抗球蛋白法、微柱凝胶法）																						
I	R ¹ R ¹																					
II	R ² R ²																					
III	R ¹ r ¹																					

注：+、阳性（可用 + ~ +++ 表示凝集强度）；0，阴性。