

输血检验与成分血监测

赫国令 李永杰 主编

7.1

中国科学技术出版社

97
R457.1
18
2

输血检验与成分血监测

赫国令 李永志 主 编

刘明臻 梁福友 主 审

YAPB123



3 0147 0305 6

中国科学技术出版社

· 北京 ·



C

384968

图书在版编目 (CIP) 数据

输血检验与成分血监测 / 赫国令等主编. — 北京: 中国科学技术出版社, 1996.4

ISBN 7-5046-2219-2

I. 输 … II. 赫 … III. ① 输血—检验 ② 输血, 成分—监测
IV. R457.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (96) 第 06634 号

中国科学技术出版社出版

北京海淀区白石桥路 32 号 邮政编码: 100081

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

大连铁道学院印刷厂印刷

开本: 787×1092 毫米 1/32 印张: 5.5 字数: 100 千字

1996 年 4 月第 1 版 1996 年 4 月第 1 次印刷

印数: 1-3000 册 定价: 8.00 元

前 言

我国于 70 年代相继在全国各省（市）、自治区建立了血液中心和各级血站，将输血发展成为医学领域中的独立学科。目前全国各级血站系统在不断地充实、完善和健全本系统的业务技术及管理，将成为现代医学领域中为临床治疗、抢救和输血科学研究的一门科学性的重要机构，特别是近年来成分输血的临床治疗效果及科学性已被临床医学工作者公认和需要。

血站系统所担负的最重要责任，就是如何保证血液质量、临床治疗中用血的安全及献血者的健康。必须通过现代的检验技术和必要的监测方法来减少和杜绝输血后的不良反应及传染性疾病的发生。

在编写《输血检验与成分血监测》一书中尽量选择了各级血站有能力、有条件做的检验方法和必要的检验项目，并根据中华人民共和国卫生部 18 号令“关于淘汰的检验方法”不被编入。所编写的方法中尽量应用仪器法，以提高检验结果的灵敏度和准确性。

在编写过程中承蒙大连市中心医院院长刘业俭

教授、大连市血液中心刘玉明主任、大连市中心医院检验科程淑燕副主任技师的大力支持和协助，在此一并表示感谢。限于作者水平，书中不妥之处在所难免，敬请同道批评指正。

编 者

1995 年 12 月

目 录

第一章 献血前检验项目与方法	(1)
第一节 全血血红蛋白检验	(1)
第二节 肝脏功能检验	(5)
一、总胆红素检测	(5)
二、血清麝香草酚浊度试验	(9)
三、血清丙氨酸氨基转移酶测定	(13)
第三节 病毒性疾病免疫学检测	(17)
一、甲型病毒性肝炎 IgM 抗体检测 (ELISA 法)	(17)
二、乙型病毒性肝炎 HBsAg 检测 (ELISA 法)	(19)
三、乙型病毒性肝炎抗-HBc 高滴度 检测 (ELISA 法)	(21)
四、丙型病毒性肝炎 IgG 抗体检测	(24)
第四节 血型学检测	(28)
一、ABO 血型鉴定	(28)
二、Rh 血型的鉴定	(32)
第五节 血清学检测	(37)
一、梅毒不加热血清反应素试验 (USR) ...	(37)

二、梅毒快速血清或血浆反应素试验 (RPR).....	(38)
三、艾滋病病毒 1/2 型 (HIV-1/2) ELISA 检测法	(40)
第二章 献血后成分血检验与监测	(43)
第一节 新鲜全血的监测方法	(43)
一、血容量检查	(43)
二、外观及标签检查	(44)
第二节 保存期全血监测	(44)
一、血容量检查	(44)
二、无菌试验	(45)
三、血比积检测	(46)
四、pH 值测定	(48)
五、钾、钠离子测定	(48)
六、血红蛋白测定	(48)
七、血浆游离血红蛋白测定	(49)
八、HBsAg、抗-HBc (高滴度)、HCV-IgG、HIV、梅毒复检	(50)
九、ABO 血型的复检	(50)
第三节 浓缩红细胞 (RCC) 监测	(51)
第四节 少白细胞的红细胞 (LPRC) 监测 ..	(51)
第五节 洗涤红细胞 (WRC) 的监测	(54)
一、白细胞去除率与红细胞回收率监测 ..	(54)

二、蛋白清除率的监测	(55)
第六节 解冻红细胞 (FRBC) 的监测	(57)
一、红细胞回收率的测定	(57)
二、悬浮红细胞上清液甘油含量、甘油残 存量测定 (过碘酸钠法)	(58)
三、悬浮红细胞体外溶血试验	(59)
四、无菌试验	(59)
第七节 浓缩血小板 (PC) 监测	(59)
第八节 新鲜冰冻血浆 (FFP) 监测	(60)
第九节 冷沉淀 (AHF) 监测	(61)
第三章 血液检验方法与监测方法的选择	(65)
第一节 一般血液学检验方法的选择	(65)
第二节 成分血钾、钠离子检验方法的选择	(66)
第三节 蛋白质监测方法的选择	(71)
第四节 红细胞比积监测方法的选择	(72)
第五节 病毒性肝炎、艾滋病病毒监测方法 的选择	(74)
第四章 医学检验的质量控制	(77)
第一节 概述	(77)
第二节 临床检验质控的内容和方法	(82)
第三节 临床检验质控常用评价方法和质控图	(95)

第五章 检验工作中吸收光度测定法的质量保证	
.....	(113)
第一节 吸收光度测定法的基本原理	(113)
第二节 仪器的基本结构	(118)
第三节 仪器校验方法	(124)
第六章 普通常用仪器设备的质量控制	(131)
第一节 高压蒸汽消毒锅（柜）的质控	(131)
第二节 紫外线消毒灯的质控	(140)
第七章 玻璃仪器的质量控制	(143)
第一节 玻璃仪器的性能、分类及用途	(143)
第二节 玻璃仪器的洗涤、干燥及保管	(150)
第三节 玻璃仪器的校正	(153)
参考文献	(163)

第一章 献血前检验项目与方法

第一节 全血血红蛋白检测

血红蛋白 (Hb) 测定是一般血液学测定项目之一, 也是血液学常规检测项目, 应用广泛。血红蛋白是红细胞的主要成分, 具有与分子可逆性结合的功能, 是人体内氧的运输和交换的主要载体, 许多疾病的病理、生理变化都涉及 Hb 质和量的改变。因此血液中心和各级血站系统对血液 Hb 单项测定更为重视, 它直接关系到血液质量和献血者健康状况的标准。1966 年国际血液标准化委员会 (ICSH) 已推荐氰化高铁法 (HiCN) 测定 Hb 为国标 Hb 测定的标准法。1988 年我国在桂林召开会议讨论和推荐国际标准氰化高铁法。从此 HiCN 测定 Hb 逐渐在全国各省、市、自治区等大城市医院、研究机构等首先得到了推广应用, 确为临床诊断、治疗等提供了 Hb 可靠的数据和质量保证。

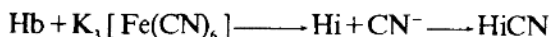
随着医学科学的发展, 目前我国对于血液学的测定技术基本上是仪器化 (半自动和全自动化)。为达到国际标准化, 逐步地走向系列化的检测手段。

中华人民共和国卫生部第 18 号令“分批淘汰硫酸锌浊度试验等 35 种临床检验项目”中，硫酸铜比重法和沙利氏 (Sablí's) 法被淘汰，并要求于 1992 年 7 月 1 日至 1993 年 1 月 1 日将以往的旧方法改为相应的国际标准化法。因为用以上两种方法测定 Hb，虽然操作简便，适合于体检工作，但不能代表人体内 Hb 的真值，是一种粗糙、误差较大的方法，不会完全控制血液质量。

国际推荐的氰化高铁法测定 Hb 的主要优点为：

- ① 操作简单，其稀释液为单一试剂；
- ② 除含硫血红蛋白外 (SHb)，其余衍生物均可很快转化为 HiCN；
- ③ HiCN 在 540 nm 处吸收峰较宽，可用一般分光光度计或滤光板比色计测定；
- ④ 显色快而稳定；
- ⑤ 可以通过比色直接定值，得出结果。

1. HiCN 法测定 Hb 的原理 血红蛋白被高铁氰化钾氧化成高铁血红蛋白，再与氰结合成稳定的棕色氰化高铁血红蛋白，在规定的波长和液层厚度的条件下具有一定的消光系数。因此，根据其消光度即可求出 Hb 浓度。其化学反应式为：



2. 试剂 (文—齐氏液) 氰化钾 (KCN) 50 mg；
高铁氰化钾 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 200mg；磷酸二氢钾

(KH_2PO_4) 140mg; Triton X100 (或其他非离子表面活性剂, 如乳化GOP、Tween-80等) 1.0 ml。蒸馏水加至 1000 ml。贮存于棕色瓶中, 放冰箱保存, 一般用数月。

3. 操作方法 取全血 (手指血或静脉血) $20\ \mu\text{l}$, 加入 5 ml HiCN 试剂中, 充分混匀, 静置室温 3 ~ 5 分钟, 用分光光度计 (带宽应小于 8 nm), 波长 540 nm 处, 光径 (比色杯内径) 1.0 cm, 以 HiCN 试剂或蒸馏水为空白, 测定吸光度 (A)。

4. 计算

$$\begin{aligned}\text{Hbg/L} &= \text{测定管吸光度} \times \frac{64458}{44000} \times 251 \\ &= \text{测定管吸光度} \times 367.7.\end{aligned}$$

式中: 64458 是国际公认的血红蛋白平均分子量; 44000 是 1965 年国际血液学标准化委员会 (ICCSH) 公布的血红蛋白摩尔吸光度; 251 是稀释倍数。

由于仪器的差异、性能不一, 仍采用 NiCN 参考标准液绘制标准曲线的方法为宜。以 Hb 参考值为横坐标, 以吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线较为方便。

5. HiCN 法测定 Hb 质控和注意事项 仪器的选择是质量保证的重要因素, 选择理想的仪器也不可能长年累月地保证检验质量, 检验工作者在使用过

程中应定期对仪器进行校正。仪器有多种多样，有滤光板式光度计、滤光板式 Hb 计、单色光源 Hb 计及血液分析仪等也是滤光板式。凡是使用滤光板的仪器，吸光后透过的光线呈很宽的带，故不像分光光度计有较狭窄的吸收峰，其吸光度低于分光光度计，线性不易维持，必须经常进行校正。

(1) 线性：用 50、100、150、200 g/L 的 HiCN 进行线性校正，或以一定浓度（如 160 g/L）自己准确稀释成 1/4、2/4、3/4、4/4 及原液进行线性测定，在 200g/L 范围内，应保持线性。

(2) 重复性：同一份标准液或标本重复测定 10 次，保持一定的数值。

(3) 防止污染：血液分析仪多数为流注式，标本连续测定可引起相互污染，故必须应用清洗液冲洗干净后再进行测定。

(4) 室内质控：室内质控是保证检测结果正确性、减少误差和查找误差原因的主要方法。其做法应采取定值溶血液质控法，但此质控物必须经国家血液学参考实验室定值的溶血液，对于血站系统一般厂家生产或实验室定值亦可。每次工作前可随同标本一起测定，其测定结果在质控物定值范围内均可。每次将测定结果记录下来，如果测定结果偏离质控物定值范围，应查找原因。

第二节 肝脏功能检验

肝脏功能检测项目，不仅是各级医院实验室必做项目和常规检测项目，血站系统对献血者的肝功能检测也是必测项目。但就目前血站系统对肝功能的检测项目和检测方法上，不足以保证血液质量及防止输血后传染性疾病的发生。例如单从方法上讲，目前大多数血站系统仍然应用酮体粉法，虽然此法操作简便、快速，但准确度差，易造成献血者阳性标本的漏检。上海市某医院实验室应用速率法与酮体粉法做了 40 名 ALT 增高病人的对比试验，其中应用酮体粉法漏检率为 15%，有 6 名应用酮体粉法检测 ALT 增高的病人为正常。另外，酮体粉法也是我国早已淘汰的测定法。卫生部第 18 号令分批淘汰 35 种方法中的一项就是指用酮体粉法测定转氨酶。

一、总胆红素检测（改良 J-G 法）

1. 原理 血清与醋酸钠—咖啡因—苯甲酸钠试剂混和后，加入偶氮苯磺酸，生成紫色的偶氮胆红素。醋酸钠缓冲液保持偶氮反应的 pH 值，咖啡因苯甲酸钠加速胆红素与偶氮苯磺酸的偶联反应。最后加入碱性酒石酸溶液，使紫色偶氮胆红素转变成蓝色偶氮胆红素。在 600 nm 波长，比色测定偶氮胆红

素的生成量。

2. 试剂

(1) 咖啡因试剂：无水醋酸钠 82 g，苯甲酸钠 75 g，EDTANa₂ 1.0 g，溶于约 500 ml 的蒸馏水中。再加入咖啡因 50 g，搅拌至完全溶解，然后加蒸馏水稀释至 1000 ml，过滤后置棕色瓶中，室温保存可稳定 6 个月。

(2) 碱性酒石酸钠溶液：氢氧化钠 75 g，酒石酸钠（含 2H₂O）263 g，加蒸馏水溶解并稀释至 1000 ml，混匀置塑料瓶中，室温保存 6 个月。

(3) 5 g/L 亚硝酸钠溶液：亚硝酸钠 0.5 g，加蒸馏水溶解并稀释至 1000 ml。若发现溶液呈淡黄色时，应弃去重新配制。

(4) 5 g/L 对氨基苯磺酸溶液：对氨基苯磺酸 5 g，加入约 800 ml 蒸馏水中，加浓盐酸 15 ml，待完全溶解后，加蒸馏水至 1000 ml。

(5) 重氮试剂：临用前，试剂 (3) 0.5 ml，加试剂 (4) 20 ml 混和。

(6) 342 μmol/L 胆红素标准液：收集不溶血、无黄疸、清晰血清作为混和血清稀释剂。混和血清稀释剂应符合下列要求：混和血清 1.0 ml，加生理盐水 24 ml，混匀，分光光度计，比色杯光径 10 mm，用生理盐水调零，在波长 414 nm 处的吸光度应小于

0.100, 在 460 nm 处吸光度应小于 0.040。

3. 操作 称取符合标准的纯胆红质 (MW584.68) 20.0mg, 加二甲亚砜 4ml 溶解。在 50ml 容量瓶中, 加入混合血清稀释剂约 40ml, 缓缓加入上述胆红素二甲亚砜溶液 2.0ml, 边加边混匀, 尽量避免产生泡沫, 然后补加混合血清稀释至刻度, 混匀。该标准液应避光置冰箱, 可保存数天。但若用此标准液绘制标准曲线时, 最好新鲜配制后立即绘制标准曲线, 不能隔夜。

(1) 胆红素标准曲线的绘制: 取 5 支玻璃试管 (16×100mm) 按表 1-1 将 342 $\mu\text{mol/L}$ 胆红素标准液稀释成 5 种浓度。

表1-1 胆红素标准液稀释成5种浓度

加入 (ml)	1	2	3	4	5
342 $\mu\text{mol/L}$ 胆红素					
标准液	0.4	1.0	2.0	3.0	4.0
混合血清稀释剂	3.6	3.0	2.0	1.0	0.0

将稀释完后的 5 种浓度充分混匀, 立即按表 12 绘制胆红素标准曲线。取 18 支玻璃试管 (16×100mm), 用玻璃油笔分别编号, 每个编号重复 3 支管。

表 1-2 胆红素标准曲线的绘制

加入 (ml)	对照管	1	2	3	4	5
加入稀释后的胆红素标准液	0.0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
混合血清稀释剂	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
咖啡因试剂	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
5g/L 对氨基苯磺酸溶液	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
碱性酒石酸钠溶液	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2

将各管充分混匀，置室温 10 分钟。用分光光度计，波长 600 nm，以对照管调零点，读取各管吸光度值分别求其均数，于相应胆红素浓度作图，绘制标准曲线，以吸光度为纵坐标，以胆红素浓度为横坐标。若在操作过程中无误，其绘制的胆红素标准曲线相当于胆红素浓度，见表 1-3。

表 1-3 相当于胆红素浓度 ($\mu\text{mol/L}$)

管 号	1	2	3	4	5
相当于胆红素浓度	34.2	85.5	171	256.5	342

按表 1-2 胆红素标准曲线的绘制将各管加入试剂，当加完 5g/L 对氨基苯磺酸溶液时，应各管充分混匀后置室温 10 分钟，再加碱性酒石酸钠溶