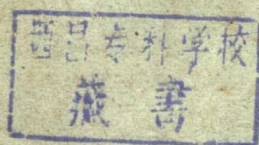


临床血清学检验图解

李在連 編繪



人民衛生出版社



临床血清学檢驗图解

李 在 連 編 繪

人 民 衛 生 出 版 社

一九五八年 • 北 京

內 容 提 要

血清学檢驗对于各种細菌、立克次氏体、病毒及寄生虫性疾病的診斷，常具有决定性意义，是临床医学的一个重要部門；但技术操作比較复杂，它的熟練程度和正确性影响效果很大。本書就各种基本的和常用的血清学檢驗操作，用連續图解的方式，一一加以叙述，并附簡要說明；內容分总論、凝集反应、沉淀反应、补体結合反应、梅毒血清学反应、各种診斷血清的制备及調理素吞噬試驗等。对于初学这些檢驗工作的人，是一本切合实用的入門書。

临床血清学檢驗图解

开本：787×1092/18 印張：9 5/9 插頁：8 字数：251千字

李 在 連 編 繪

人 民 衛 生 出 版 社 出 版

(北京書刊出版业營業許可証出字第〇四六号)

·北京崇文区校子胡同三十六号·

上海新華印刷廠印刷·新华書店发行

統一書号：14048·1389

1958年5月第1版—第1次印刷

定 价：(9) 1.70元

(上海版)印数：1—5,400

編者的話

1954 年底，人民卫生出版社委托笔者編繪血清学檢驗图解，旨在以图解方式表达临床常用血清学試驗的步驟及方法，供初学和从事这方面工作的同志参考之用。

本書編写的体裁以图解为主，每一試驗法在图解之前，并附簡短文字，扼要地說明反应的基本原理、結果解釋和注意事項。在采取的試驗方法中，除参照教科書、参考書及文献中所介紹者外，也介紹了我們實驗室常用的操作規程。

1955 年脫稿之后，迄今两載有余，在社会主义建設高潮中，医疗診斷技术已有极大发展，某些当时認為較新穎的試法，現已有若干評論指出其缺点，本应进行全面安排和增删，但限于稿型及条件，只能根据文献暫作簡要补充，引以为憾。此外，由于笔者学識淺薄、經驗匱乏，加以用图解方式闡述血清反应的檢驗方法尙属創举，必然存在不少缺点与錯誤，希望讀者及先进同道多提宝贵意見，以資改进。

在制定計劃时，蒙于复新、黃翠芬教授和教研組荆永誌副主任的指导，初稿完成后又蒙于复新教授、謝少文教授和齐长才技师的校閱和指正，笔者表示无限感激与敬意。

李 在 連

1958 年 1 月 7 日于山东医学院微生物学教研組

目 录

总論	1
緒言	1
血清学反应的应用	1
血清学試驗室的設備	2
血清学試驗室的布置	12
玻璃器皿的清洁法	12
血清試驗的基本操作技术	13
凝集反应	17
定义	17
类别和应用	17
試驗方法	17
一、紅血球性抗原的凝集反应	18
(一) 血型的檢查法	18
玻片法(18) 試管法(20) 血型标准血清的鉴定及效价滴定法(22)	
(二) 交互配血試驗	24
凹玻片法(24) 試管法(24)	
(三) Rh因子的鉴定	26
(四) 血清中抗Rh凝集素效价的测定	28
(五) 嗜异性凝集試驗	30
(六) 冷凝集試驗	32
(七) 結核病血球凝集試驗	34
(八) 在紅血球凝集試驗中应注意事項	36
二、細菌性抗原的凝集反应	37
甲、用已知抗原测定未知抗体	37
(一) 細菌性抗原(凝集原)的制备	37
(二) 肥达氏反应	40
肥达氏反应結果的观察与解釋(43)	
(三) 外斐二氏反应	44
(四) 布氏杆菌凝集試驗	46
(五) MG 鏈球菌凝集試驗	48
(六) 痢疾粪便凝集試驗	50
乙、用已知抗体测定未知抗原	52
(一) 細菌的菌株鉴定試驗	52
玻片法(52) 試管法(52)	
丙、凝集吸收試驗	54
凝集反应試驗的結果解釋及注意事項	56

沉淀反应	57
定义	57
沉淀反应的应用	57
試驗方法	57
一、絮狀沉淀反应	58
(一) 康氏試驗	58
牛心粉的制造(58) 康氏抗原的制备(60) 康氏抗原的滴定(一)(62) 康氏抗原的滴定(二)(64) 标准康氏試驗(66) 康氏試驗定量法(68) 脑脊液的标准康氏試驗(68)	
(二) 康氏試驗凹玻片法	70
(三) 克萊氏沉淀試驗	74
二、环狀沉淀反应	76
(一) 于氏环狀沉淀試驗	76
抗原的制备及滴定(76) 实际試驗法(78)	
三、其他沉淀反应	80
(一) 阿斯可里氏热沉淀試驗	80
(二) 細菌性痢疾的半抗原沉淀試驗——菌痢早期快速診斷	82
(三) 血迹沉淀試驗	84
沉淀反应与凝集反应区别要点	85
沉淀反应試驗的結果解釋及注意事項	85
补体結合反应	86
定义	86
原理	86
补体結合反应的应用	87
梅毒补体結合反应	89
一、梅毒血清补体結合反应的要素	89
(一) 血清	89
(二) 抗原	89
(三) 补体	90
(四) 溶血素	92
(五) 羊血球	92
二、华氏反应柯氏法	94
(一) 抗原的制备	94
(二) 溶血素的滴定	96
(三) 补体的滴定	98
(四) 抗原溶血力的滴定	100

(五) 抗原抗补体的滴定	102	其他补体結合試驗	149
(六) 抗原結合力的滴定	104	一、流行性乙型腦炎补体結合反应...	150
(七) 柯氏全量定性試驗	110	二、立克次氏体病补体結合反应...	152
(八) 柯氏全量定量試驗	112	三、淋病补体結合反应	154
(九) 柯氏半量定性試驗——謝氏 改良法	114	四、黑热病补体結合反应	156
(十) 柯氏半量定量試驗——謝氏 改良法	116	血清抗补体的糾正法	158
(十一) 腦脊髓液定量試驗	118	补体結合反应試驗的結果解釋及注意 事項	160
(十二) 結果解釋	120	梅毒血清学反应	161
三、华氏反应改良Citron氏法	122	总說	161
(一) 抗原的制备	122	梅毒血清学反应的类别和方法的選擇...	162
(二) 溶血素的滴定	124	結果的解釋	164
(三) 补体的滴定	126	注意事項	167
(四) 抗原溶血力的滴定	128	各种診斷血清的制造	169
(五) 抗原抗补体的滴定	130	各种診斷血清的制造法	169
(六) 抗原結合力的滴定	132	家兔靜脉注射法	171
(七) 血清定性試驗	138	家兔采血法	171
(八) 血清定量試驗	140	抗绵羊溶血素制造法	172
(九) 腦脊髓液定量試驗	142	調理素吞噬試驗	175
(十) 改良Citron氏法的結果解釋	144	参考文献	177
四、苏联法梅毒血清补体結合試驗	146		

总 論

緒 言

血清学检查,如同細菌培养检查一样,是輔助临床诊断的重要环节;在适当的条件和正确的技术操作下进行血清学检查所得到的正确的結果,是有很大的诊断价值的。論述血清学檢驗法的書籍很多,但初学者往往不易掌握。从实际工作及教学工作都証明,如果使用图解方式把各个实验步骤加以描述,收到的效果总是比較大些;本書就是本着这一目的編繪而成,并提到結果的解釋和注意事項等問題,以供初学者及临床工作者的参考。

血清学反应的应用

血清学反应主要是以抗原参与血清或其他体液的反应为基础的。由于抗体多半存在于血清中,故通称为血清学反应。血清学反应主要包括兩方面的檢驗:一为抗原的檢出,一为抗体的測定。抗原的檢出更具积极意义,因为它意味着在早期迅速地确定疾病的诊断。至于抗体的測定,由于抗体的产生有一定的条件与時間,多半不能达到早期诊断的效果,但对于疾病的发生、发展情况、慢性或隱性患者的诊断,則具有极高的评价。

如所周知,由于抗原性質的不同、試驗方法的不同、反应机轉的不同,抗原抗体的反应呈现各种不同的現象,如凝集、沉淀、补体結合等反应。因而,借已知的抗原可以測定未知的抗体,借已知的抗体可以诊断抗原。这个原則,成为血清学反应的主要原則。其应用分述如下:

(一) 凝集反应——在临床上与細菌学鉴定上經常应用的包括細菌性抗原的凝集反应及紅血球性抗原的凝集反应兩大类。如诊断伤寒、副伤寒的肥达氏反应,诊断斑疹伤寒用的外斐氏反应,鉴定菌型、鉴定血型等試驗。現在,致敏性的紅血球凝集反应及病毒性血球凝集和凝集抑制試驗已有了不少的研究与应用。

(二) 沉淀反应——利用多糖类、类脂質、組織浸出物、細菌产物或細菌本体溶解物作为抗原,如梅毒的诊断、細菌的鉴定、法医学的诊断等,尤以梅毒血清诊断中的沉淀反应应用最广泛。又如半抗原沉淀試驗,热沉淀試驗应用于痢疾、炭疽病、伤寒、斑疹伤寒的诊断。

(三) 补体結合反应——补体結合反应在血清学诊断中,应用得极广泛,無論細菌、螺旋体、立克次氏体、病毒,組織及其他浸出物、細菌代謝产物,甚至真菌和蠕虫等,都可作为补体結合反应的抗原。它也能应用于抗原的証实和抗体的測定。应当指出,凝集及沉淀試驗无法証实的微量抗原或抗体,都可由补体結合反应测知。只要有适当的設備和抗原,做补体結合試驗是没有什么困难的。通常可采用补体結合試驗作诊断的疾病有:梅毒、腦炎、斑疹伤寒、流行性感冒、黑热病、麻风、阿米巴病、血吸虫病及其他病毒所引起的疾病等。

(四) 調理素吞噬試驗——常应用于免疫学的研究上,而在临床免疫诊断上則較

少采用。临床最常用者有調理素細胞吞噬試驗以診斷波浪热，对預后的观察也有相当的意义。

(五) 其他——如毒素抗毒素的絮狀沉淀試驗、变态反应及其他皮肤試驗等，本篇不加以討論。

血清学試驗室的設備

1. 一般仪器:			
高压蒸气灭菌器	1	針头 27G $\frac{3}{4}$ IN(打)	1
干烤灭菌器	1	25G 1 IN(打)	1
电离心机(大型)	1	22G 1 IN(打)	1
电离心机(小型)	1	22G $1\frac{1}{4}$ IN(打)	1
手搖离心机	1	21G $1\frac{1}{4}$ IN(打)	1
电冰箱	1	煮針鍋	1
孵箱	1	动物解剖板	1
电水浴箱(大型)	1	溫度計(100°C)	1
电水浴箱(小型)	1	体温計(动物試驗用的肛表)	1
显微镜	1	剃刀	1
康氏試驗震蕩机	1	橡皮扎帶	1
絞肉机	1	酒精噴灯	1
磨粉器(亦可用药研子)	1	鉄絲筐(貯試管用)	10
普通天平及法碼	1	石棉鉄紗網	2
精細天平及法碼	1	三脚鉄架	2
动物磅秤	1	試管架(鉄絲制, 5×10 格)	2
定时鐘	1	試管架(6×12 孔, 孔徑 14 毫米)	10
吸管自动冲洗器	1	試管架(3×12 孔, 孔徑 14 毫米)	6
电風扇	1	試管架(2×10 孔, 孔徑 14 毫米)	4
大玻璃板	2	試管架(2×20 孔, 孔徑 8 毫米)	3
解剖器械(套)	1	小瓶木架(4×10 孔, 孔徑 3 厘米; 高 3 厘米; 貯血液标本瓶用)	2
注射器 結核菌素注射器	1	瓷研鉢及研錘(直徑 70 毫米)	1
注射器 2 毫升	1	酒精灯	1
注射器 10 毫升	1	取菌环	1
注射器 30 毫升	1		

2. 玻璃仪器:			
玻塞小口試液瓶(褐色, 250 毫升)	10	試管(中性, 硬質玻璃)100×12 毫米	2000
玻塞小口試液瓶(无色, 500 毫升)	5	試管(中性, 硬質玻璃)75×10 毫米	2000
玻塞小口試液瓶(无色, 100 毫升)	5	試管(中性, 硬質玻璃)(平底)55×15 毫米	10
玻塞小口試液瓶(无色, 1000 毫升)	4	試管(中性, 硬質玻璃)(于氏)75×7 毫米	200
离心沉淀管(刻度)15 毫升	10	青霉素小瓶(取血用)	若干
离心沉淀管(无刻度)15 毫升	5	吸管 10 毫升(每 0.1 毫升刻度)	10
离心沉淀管(刻度)50 毫升	2	吸管 5 毫升(0.05 刻度)	10
試管(中性, 硬質玻璃)150×15 毫米	100	吸管 1 毫升(0.01 刻度)	200

吸管 0.6毫升(0.15 刻度)	100	玻璃筒(吸管消毒用)45×150 厘米	1
吸管 0.25毫升(0.0125 刻度)	2	玻璃漏斗(直徑 50 毫米)	2
吸管 0.2毫升(0.01 刻度)	200	玻璃漏斗(直徑 90 毫米)	1
錐形燒瓶(三角瓶)100 毫升	10	玻璃漏斗(直徑 120 毫米)	2
錐形燒瓶(三角瓶)250 毫升	10	毛細吸管及橡皮頭	200
錐形燒瓶(三角瓶)500 毫升	5	玻片缸 180×120 厘米	1
錐形燒瓶(三角瓶)1000 毫升	5	刻度量筒 50 毫升	1
圓形燒瓶(平底)3000 毫升	1	刻度量筒 100 毫升	2
蒸溜水瓶 100000 毫升	1	刻度量筒 1000 毫升	1
有螺旋蓋廣口瓶(褐色)	5	帶玻塞的刻度量筒 100 毫升	1
燒杯 250 毫升	5	帶玻塞的刻度量筒 250 毫升	1
燒杯 500 毫升	5	凹玻片(單凹)	10
定量瓶 100 毫升	2	凹玻片(雙凹)	20
定量瓶 500 毫升	2	凹玻片(10 凹)	20
玻璃棒(直徑 7 毫米)	10	蒸发皿	1
玻璃棒 4×100 毫米	20		

3. 其他:			
电爐	1	濾紙(小)	若干
切肉刀	1	蠟筆(打)	1
洗手刷	2	紗布	若干
燒瓶刷(大小)	10	脫脂棉	若干
試管刷(大小)	36	普通棉花	若干
濾紙(大)	若干	蠟塊	若干
濾紙(中)	若干	記錄本	若干

4. 化学藥品			
乙醇 95%	若干	氯化鈉(化学純)	若干
无水乙醇 100%	若干	二鹽基磷酸鈉(Na_2HPO_4)	若干
无水醋酮	若干	一鹽基磷酸鉀(KH_2PO_4)	若干
乙醚(麻醉)	若干	甲醛	若干
中性純甘油	若干	純硫酸	若干
石炭酸(純)	若干	重鉻酸鉀	若干
硫柳汞	若干	氯化鋇	若干
胆脂素	若干	硫酸鎂	若干
无水硫酸銨	若干	碘酒	若干

血清学試驗室所用的大型仪器除水浴箱外, 其他如冰箱、离心机、孵箱、灭菌器等, 均可与細菌实验室合用。这些仪器的購置則应根据需要情况、业务情况、經濟情况等加以考虑。至于玻璃仪器, 应与細菌实验室分开使用, 不得混淆。

(一) 高压蒸汽灭菌器(图1) 为一般细菌学试验室所应有的重要灭菌器之一, 有直立式及卧式两种; 借着压力增高温度亦增高的原理, 能以迅速而彻底地杀灭细菌。其热源可用煤油炉、煤炭或大锅炉的蒸气, 而以后者为最方便。

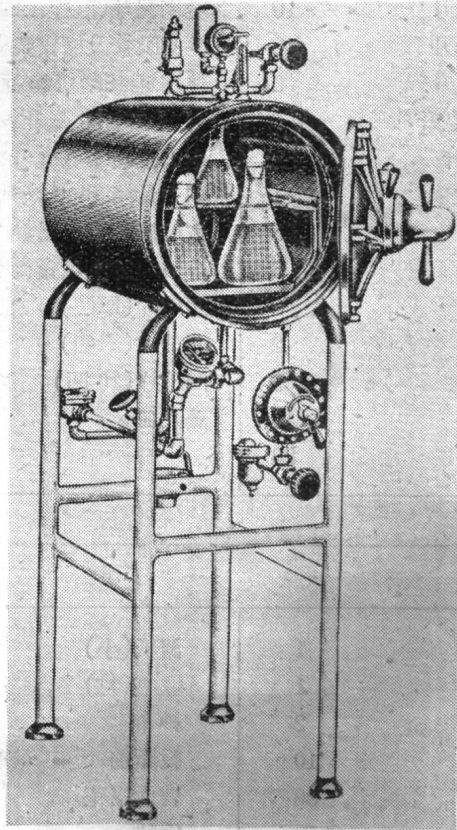


图1 高压蒸汽灭菌器

(二) 干烤灭菌器(图2) 利用干烤法以杀灭细菌。细菌及血清试验室所用的玻璃仪器, 如培养皿、试管、吸管、滴管等, 经洗涤后尚须经过干烤灭菌法灭菌。这样可使玻璃器物不致含有水份, 保持洁净和干燥。干烤灭菌器用火或电热器加热, 使温度上升。烤箱内温度达 160°C 左右, 维持 1~2 小时, 便可达到灭菌的目的。但当加热或冷却时, 都应缓缓进行, 以免温度骤然上升或突然下降, 而使玻璃器破裂; 同时, 如温度高于 180°C 时, 可使棉塞或包纸烧焦。血清试验用的玻璃仪器, 经 160°C 干烤半小时即可。

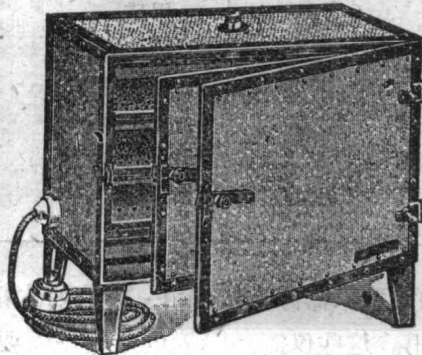
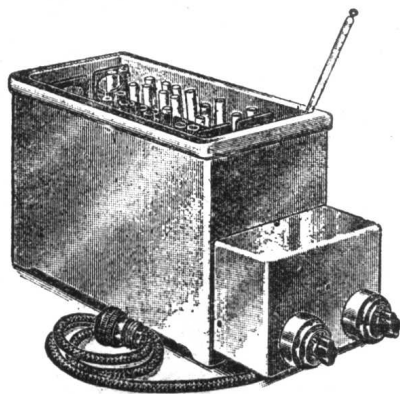


图2 干烤灭菌器

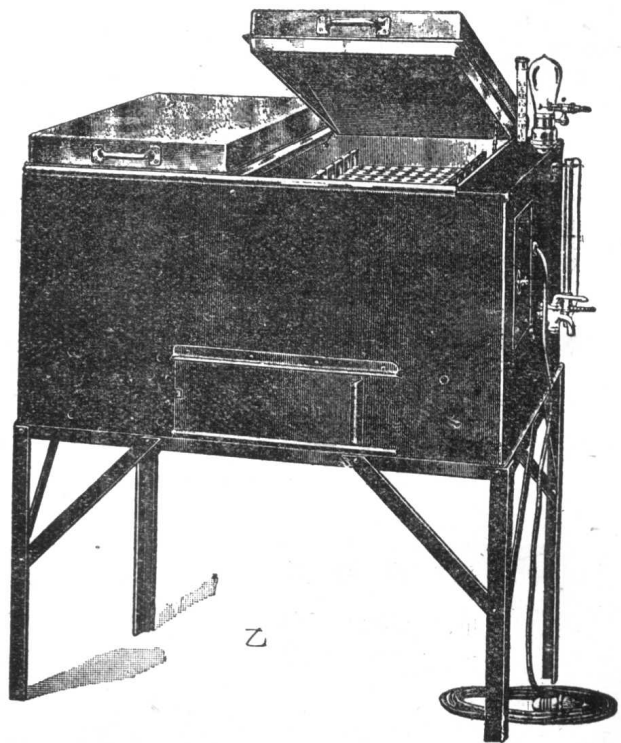
(三) 水浴箱(图3) 水浴箱是血清試驗室最常用的仪器之一。平常所用的水浴箱有 37°C 及 56°C 两种,由电力調节和維持温度。在試驗前,应先将水箱調节至所需要的温度,并調整使之不致发生波动。一般血清試驗多用 37°C 的温度,故需大型的水浴箱。小型水浴箱可調整为 56°C ,作为血清灭活用。



甲

图3 水 浴 箱

甲、小型电水浴箱 乙、大型电水浴箱



乙

(四) 电力孵箱(图4) 最常用于培养細菌的温度环境有 37°C 及 22°C 两种,可事先調节至所需温度。其热源有电力、煤油灯或煤气等。

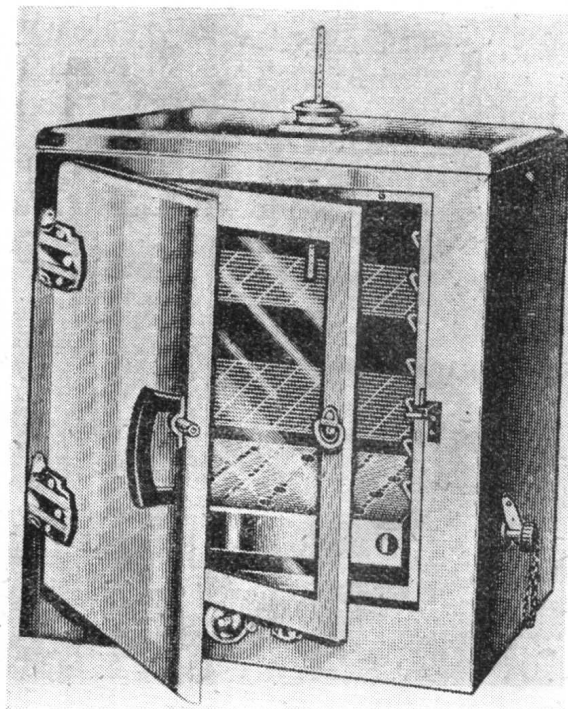


图4 电 力 孵 箱

(五) 离心机(图5) 离心机乃血清学試驗室内不可或缺的仪器，一般有手搖离心机及电力离心机两种，前者不甚适用于大实验室及业务繁忙的实验室。电力离心机有座式及悬吊式两类。有调节器可调整离心的速度，一般的速度每分钟可达4000轉。但离心血清时仅需每分钟1500~3000轉、10~15分鐘即可。

使用离心机时，先用天平將两侧的离心管及管内的液体称量并調整成相等；然后放置于离心管接头上，安置平稳后將离心器的盖子盖好；慢慢开动调节器使速度逐渐增高，不可突然升高或下降，以免玻管破碎或使离心机损坏。在使用相当时日，应检查离心器的結構，清擦灰尘，并滴加机器滑油，使得到适当的保护。

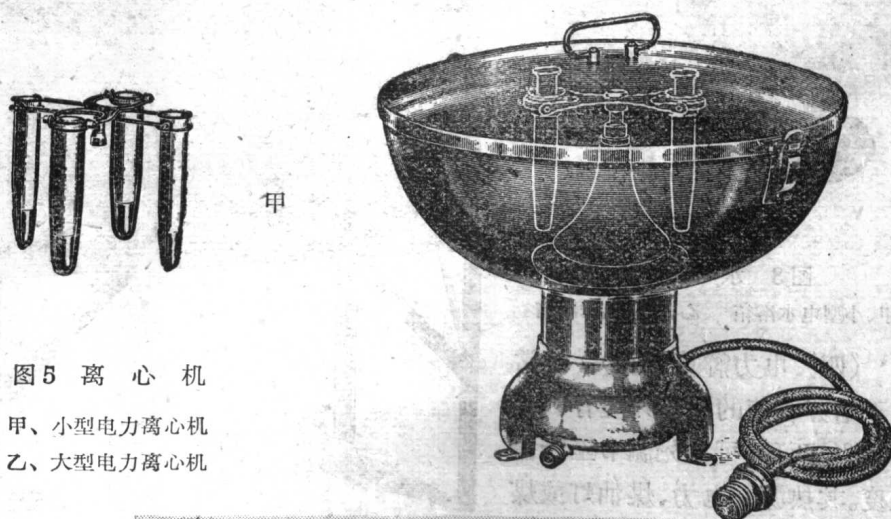
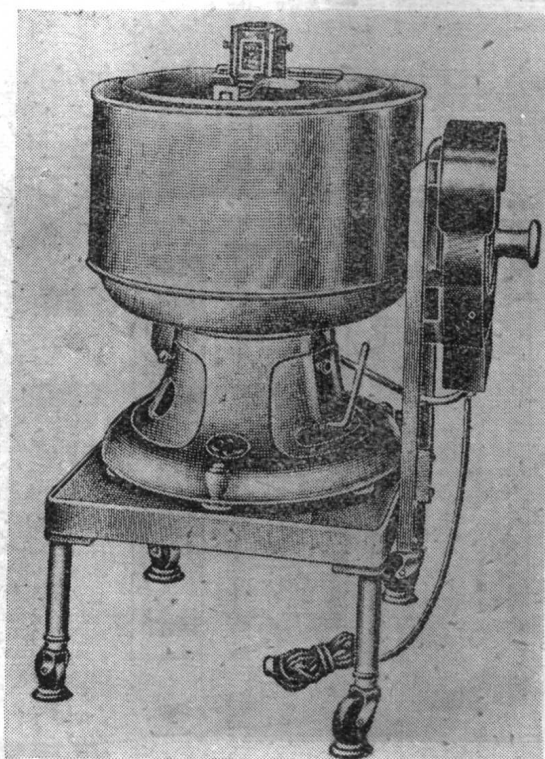


图5 离心机

甲、小型电力离心机

乙、大型电力离心机



乙

(六) 冰箱(图6) 电冰箱在血清学試驗室中极重要,用以冷藏血液、血清、培养基等物品。一般血清学試驗室中,購置較大型的家用冰箱已足应用。为了保存血液及供华氏反应使用,温度以 $4\sim 5^{\circ}\text{C}$ 为宜,温度过低可使血液冻结而溶血。冰箱应小心保护,时常檢查机器情况;在一定时期內,要截止电流,取出箱內物品,使之解冻,然后拭擦干净再行使用。

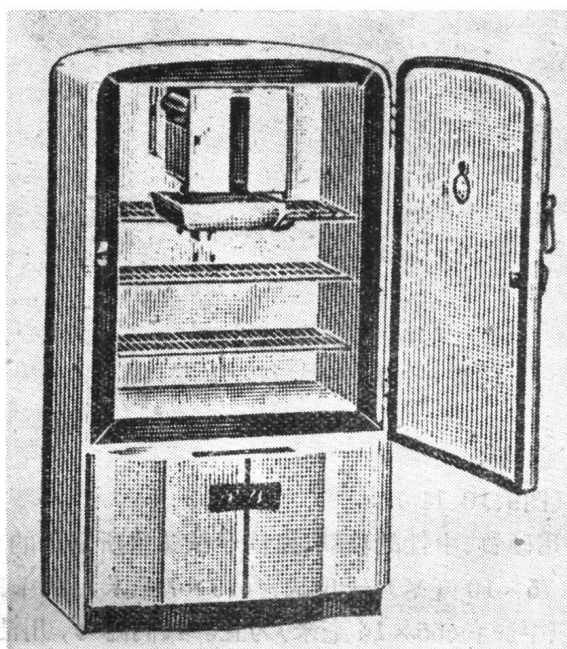


图6 电力冰箱

(七) 康氏試驗震蕩机(图7) 康氏試驗震蕩机是用电力为动力,將試管架裝置其上,迅速震蕩,使抗原与血清中的反应素充分結合,出現沉淀。震蕩器的搖动速度可以調节,一般每分鐘以 $270\sim 280$ 次者为适宜。

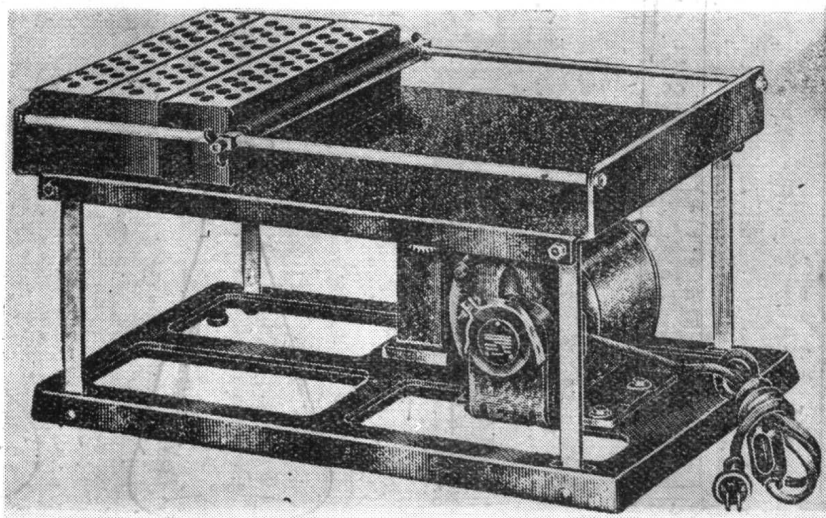


图7 康氏試驗震蕩机

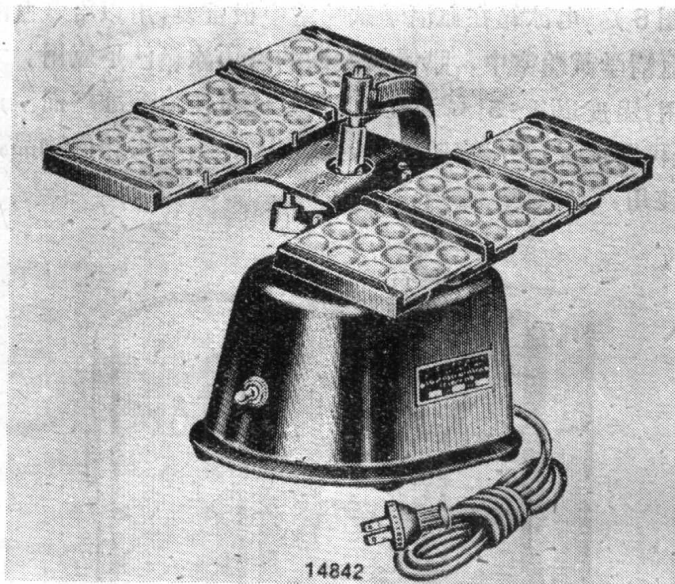
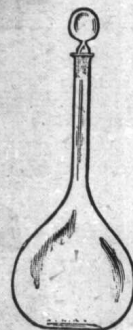
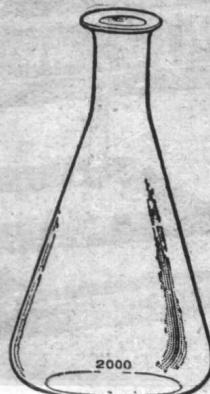
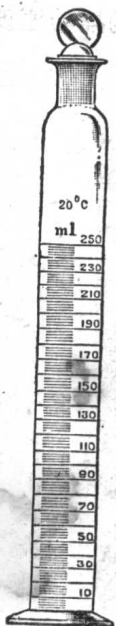


图8 克萊氏試驗凹玻片震蕩机

(八) 玻璃仪器(图9、10、11)：

1. 試管：最好用硬質、中性的玻璃，血清学試驗室所需用的有：华氏試管(100×12毫米)、康氏試管(75×10毫米)、于氏試管(75×7毫米)及中試管(150×15毫米)；康氏抗原稀釋管，以平底者(55×15毫米)为宜。我們認為，用洁淨的青霉素小瓶收集血液标本，上盖以橡皮塞，比用中試管更其合适。



各种刻度量筒

三角燒瓶

定量瓶

2. 吸管：有 10 毫升（每 0.1 毫升刻度）、5 毫升（0.05 刻度）、1 毫升（0.01 刻度）、0.6 毫升（0.15 毫升刻度，为康氏试验加血清用）、0.2 毫升（0.01 刻度）及康氏抗原吸管 0.25 毫升（0.0125 刻度）等。这些吸管的刻度必须准确，除抗原吸管外，刻度必须直至管尖。

3. 毛细滴管：可用玻璃管按适当长度距离，在煤气灯或酒精喷灯上烧红后拉成毛细滴管。毛细滴管在血清学试验室中用途甚广，一般均按需要情况自行制造。

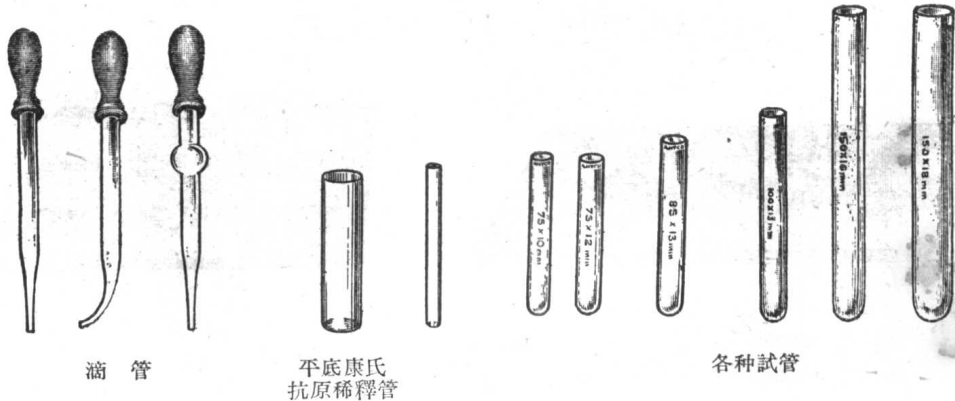
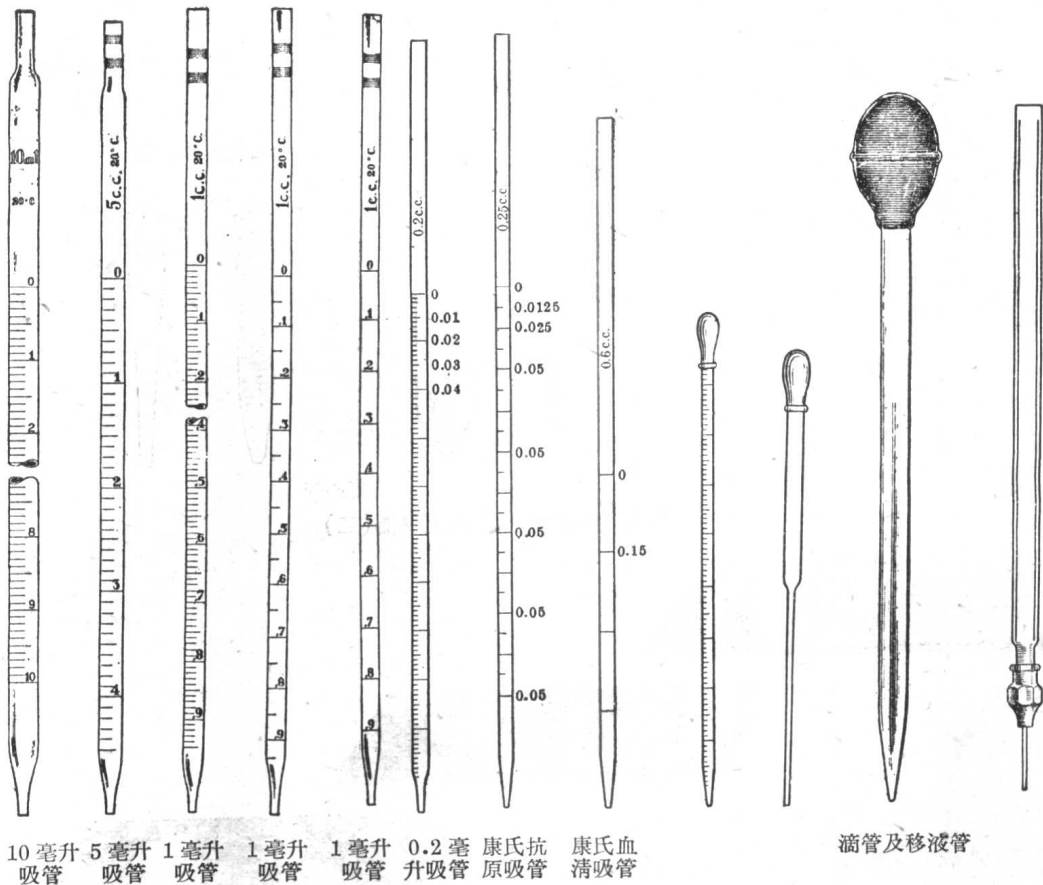


图9 血清学试验用各种玻璃仪器（一）

4. 凹玻片：有跟普通玻片同样大小的單凹及双凹玻片，可作血型及其他凝集試驗。此外，10 凹的凹玻片(80×37×9 毫米，每凹直徑为 13 毫米)在凝集試驗及沉淀試驗更为适用，可試驗較多量的标本及作定量法試驗。

5. 其他：如各种大小的三角瓶、燒杯、量筒、离心管、玻璃漏斗等設備，在血清学試驗室中都是必要的。

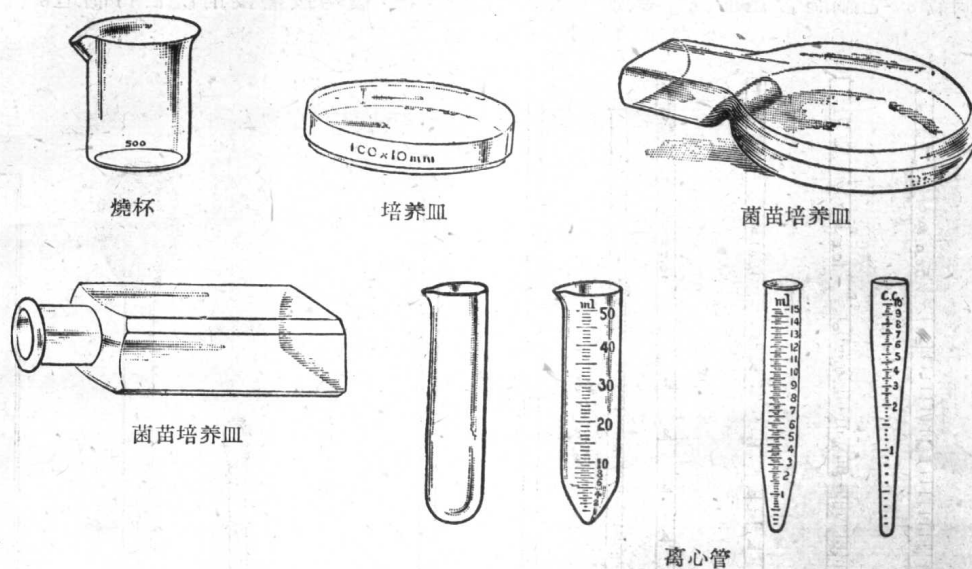


图 10 血清学試驗用各种玻璃仪器(二)

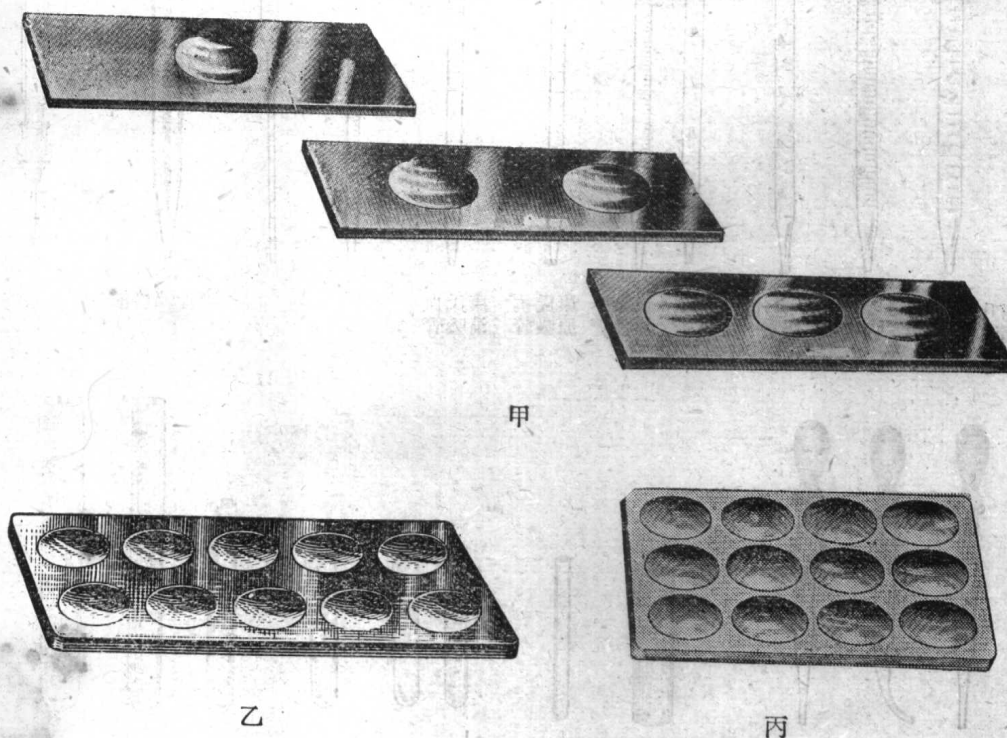
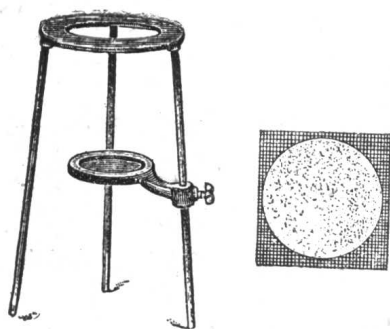
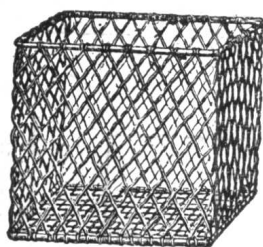


图 11 凹 玻 片

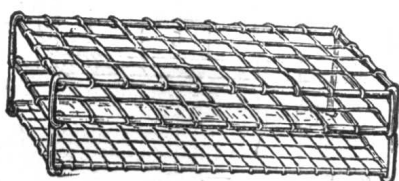
甲、單凹、双凹及三凹玻片 乙、十凹玻片 丙、十二凹玻片



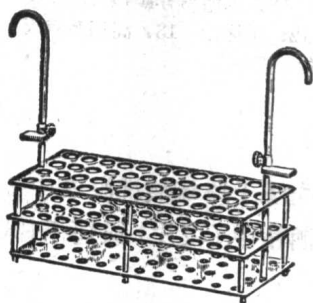
三脚架及石棉網



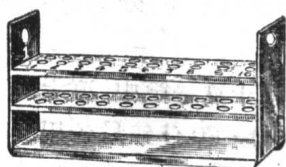
鐵絲筐



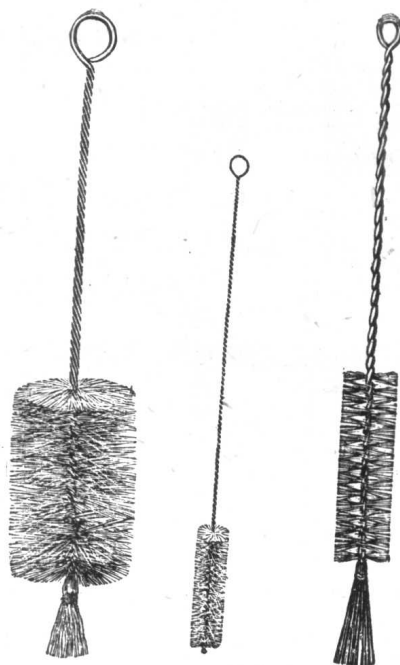
鐵絲架



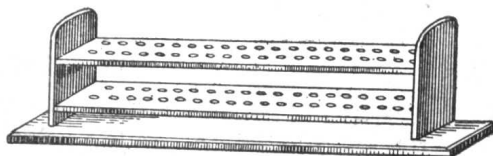
銅質試管架(4×12孔)
(用以加溫血清或血凝試驗)



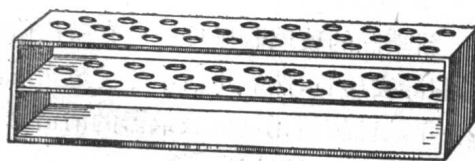
試管架(2×10孔)



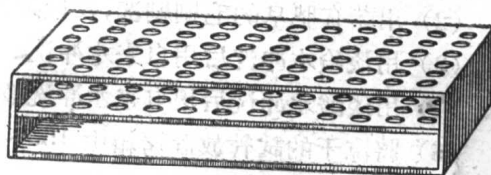
毛 刷



于氏試管木架(2×20孔)



康氏試管架(3×10孔)



華氏試驗試管架(6×12孔)

图 12 血清学試驗室內一般用具