主编　王振芳　张志玲　李莉芬

最新
医院输血手册

ZUIXIN YIYUAN SHUXUE SHOUCE

人民軍醫出版社
PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

ZUIXIN
YIYUAN SHUXUE
SHOUCE

最新
医院输血手册

ISBN 978-7-5091-1231-1
9 787509 112311 >

策划编辑 张利峰
封面设计 龙 岩

销售分类 临床医学／输血科

定价：33.00 元

最新医院输血手册

ZUIXIN YIYUAN SHUXUE SHOUCE

主　编　王振芳　张志玲　李莉芬

副主编　曲巧格　武永霞　张军良

　　张浙岩　张　维　杨莉芹

编　委　（以姓氏笔画为序）

　　马春霞　王　群　王江昆　王杰华

　　田　茶　付斌彬　代伟伟　冯桂敏

　　朱海田　任丽真　苏香花　杜梅素

　　杜景霞　李　节　李永利　李晓鸿

　　杨华莹　谷　梁　张　健　赵书娥

　　赵朝晖　侯振平　姜海芬　袁英泽

　　梁朝霞　游庆朋

人民军医出版社

People's Military Medical Press

北　京

图书在版编目(CIP)数据

最新医院输血手册/王振芳，张志玲，李莉芬主编，北京：人民军医出版社，2007.9

ISBN 978-7-5091-1231-1

Ⅰ.最… Ⅱ.①王…②张…③李… Ⅲ.输血－手册 Ⅳ.R457.1-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 143037 号

策划编辑：张利峰　**文字编辑**：戴小玲　**责任审读**：余满松

出 版 人：齐学进

出版发行：人民军医出版社　**经销**：新华书店

通信地址：北京市 100036 信箱 188 分箱　**邮编**：100036

质量反馈电话：(010)51927270；(010)51927283

邮购电话：(010)51927252

策划编辑电话：(010)51927300－8700

网址：www.pmmp.com.cn

印刷：北京天宇星印刷厂　**装订**：京兰装订有限公司

开本：850mm×1168mm　1/32

印张：10.5　**字数**：263 千字

版、印次：2007 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

印数：0001～3000

定价：33.00 元

版权所有　侵权必究

购买本社图书，凡有缺、倒、脱页者，本社负责调换

内容提要

本书是为指导基层医院合理输血和用血而编写的一部实用手册。作者总结了多年临床输血工作经验，参考和汇集了国内外有关输血的新观念、新技术。全书共15章，全面介绍了与临床输血最为密切的血型系统基础理论、血型血清学技术、成分血的输用、输血相关疾病的检测与预防等。适于基层医院的临床医师和输血科人员阅读参考。

前　言

近年来，我国输血医学发展迅速，并已成为一门新兴的独立学科，全国各地基层医院输血科相继建立。但有关临床输血的知识还未普及，输血的观念有待进一步提高，尤其在基层医院更为突出，为适应迅猛发展的输血医学与基层输血科自身建设的需要，为普及新的输血知识，提高基层输血工作者自身素质，推进输血事业的发展，我们编写了这本《最新医院输血手册》。

本书汇集了近年来国内外输血专业的新知识和新技术，总结了国内输血工作的经验，并结合我国基层输血的实际情况，全面介绍了与临床输血最为密切的血型系统基础理论、血型血清学技术、成分血的输用、输血相关疾病的检测等。尤其对基层医院的临床医师和护士以及输血科人员更为适用，可作为一本专业参考书，具有较强的实用性和指导性。

由于编者水平有限，再加上时间仓促，又缺乏著书经验，虽几经修改，但内容重复和不足之处在所难免，敬请同行、专家以及读者批评指正。

王振芳

2007 年 4 月

目　录

第 1 章　ABO 血型系统 / 1

第一节　ABO 血型系统的抗原 / 2
第二节　ABO 血型系统的抗体 / 5
第三节　ABO 血型鉴定 / 8
第四节　ABO 亚型鉴定 / 12
第五节　对 ABO 血型不一致的解决办法 / 15
第六节　ABO 血型的遗传 / 19
第七节　ABO 血型物质 / 20

第 2 章　Rh 血型系统 / 25

第一节　Rh 血型的发现 / 25
第二节　Rh 血型的遗传 / 26
第三节　Rh 血型系统抗原及抗体 / 28
第四节　Rh 血型的变异型 / 30
第五节　Rh 血型的临床意义 / 31
第六节　Rh 血型的鉴定 / 32

第 3 章　红细胞的其他血型系统 / 36

第一节　MNSs 血型系统 / 36
第二节　P 血型系统 / 39
第三节　Lewis 血型系统 / 41

第四节　其他血型系统 / 42

第 4 章　HLA 系统 / 44

第一节　HLA 系统的发现 / 44
第二节　HLA 抗原 / 47
第三节　HLA 抗体 / 47
第四节　HLA 抗原抗体检测 / 48
第五节　HLA 的实际应用 / 57

第 5 章　血小板血型学 / 61

第一节　血小板抗原 / 61
第二节　血小板抗体 / 64
第三节　血小板血型抗原抗体检测方法 / 66

第 6 章　输血前检查 / 73

第一节　输血前检查的目的与范围 / 73
第二节　受血者的病史和标本等检查、核对及处理 / 74
第三节　ABO 和 Rh 定型 / 75
第四节　抗体筛查试验 / 78
第五节　交叉配血试验 / 81
第六节　血液的选择 / 82
第七节　标签与发血 / 84

第 7 章　交叉配血试验 / 85

第一节　盐水介质配血法 / 86
第二节　胶体介质配血试验 / 89
第三节　酶配血试验 / 93
第四节　抗人球蛋白配血试验 / 96
第五节　凝聚胺交叉配血试验 / 100

第六节　微柱凝胶卡交叉配血试验 / 107
第七节　大量输血的配血法 / 111

第 8 章　成分输血 / 115

第一节　成分输血的概况 / 115
第二节　全血输注 / 119
第三节　红细胞输注 / 122
第四节　白细胞输注 / 128
第五节　血小板输注 / 130
第六节　血浆输注 / 133
第七节　冷沉淀输注 / 136
第八节　恒温循环解冻箱 / 138

第 9 章　自身输血 / 140

第一节　贮存式自身输血 / 141
第二节　稀释式自身输血 / 145
第三节　回收式自身输血 / 148
第四节　自身输血相关事宜 / 151

第 10 章　新生儿溶血病 / 155

第一节　发病机制 / 155
第二节　临床特征 / 157
第三节　血清学检查 / 158
第四节　治疗 / 166
第五节　预防(摘自《临床输血》) / 172

第 11 章　临床输血常见的反应 / 175

第一节　输血不良反应的分类 / 175
第二节　发热反应 / 176

第三节　过敏反应 / 178
第四节　溶血性反应 / 181
第五节　细菌污染反应 / 190

第 12 章　输血传播的疾病 / 194

第一节　艾滋病 / 194
第二节　乙型肝炎 / 200
第三节　丙型肝炎 / 204
第四节　梅毒 / 207

第 13 章　输血相关疾病的检测 / 212

第一节　乙型肝炎血清学标记物的检测 / 212
第二节　丙型肝炎抗体(HCV)检测 / 223
第三节　梅毒螺旋体抗体(TP)检测 / 235
第四节　人类免疫缺陷病毒 HIV(1+2)抗体检测 / 245

第 14 章　输血科有关制度 / 260

第一节　输血科(血库)工作制度 / 260
第二节　输血核对制度 / 260
第三节　各类工作人员岗位职责 / 262
第四节　血库质量管理 / 265
第五节　血液领发制度 / 266
第六节　输血不良反应和意外监测反馈报告 / 267
第七节　自身储血工作管理制度 / 270
第八节　合血操作规程 / 272

第 15 章　输血技术与输血护理 / 274

第一节　输血技术 / 274
第二节　输血护理 / 287

第三节　成分血输注护理 / 290
第四节　输血病人的心理护理 / 297

附录 A　全血及成分血质量标准 / 299
附录 B　输血常用表格 / 306
附录 C　常用名词英汉对照/ 311
附录 D　血液保存液配方及保存中的主要生物化学变化 / 322

第 1 章　ABO 血型系统

血型是人类血液的主要特征之一，表达了产生抗原－抗体系统的遗传特性。狭义上指红细胞抗原的差异，广义上包括红细胞、白细胞、血小板、血浆等血液各成分的抗原的不同。1900 年 Landsteiner 根据红细胞表面上存在的特异性抗原，将人的红细胞分为 A、B、O 3 种类型。1902 年 Von Decastello 和 Sturli 发现了第 4 种血型，即 AB 型，也是 ABO 血型系统中最少的一种血型。ABO 血型(图 1-1)在临床输血上有极其重要的意义。至今人类已发现了 400 多种红

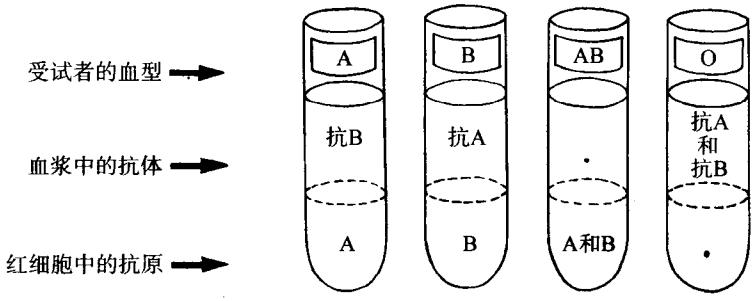


图 1-1　ABO 血型系统常见四种血型

注：A 抗原有两种，即强反应的 A_1 抗原和弱反应的 A_2 抗原。因此进一步可将 A 型和 AB 型分成以下亚型：A_1，A_1B，A_2 和 A_2B

细胞血型抗原，26 个血型系统及其因相互作用产生的抗原组。人类白细胞抗原(HLA)可以分为 A、B、C、D、DR、DP、DQ 等几个系列，已检出 124 种特异性。血小板本身具有的抗原可以分为 ZW、Ko、PI

等系统。免疫球蛋白 Gm、Km、Am、Em 标记共有二十几个因子，已检出血清型近 20 种。粗略计算可求出各种可能的红细胞血型表型数至少在 10 亿种以上；HLA 系统表型数至少在 4 亿种以上，两者合计达 4×10^{17} 种，已远远超过地球上的人口总数。因此可以说，除了单卵孪生子之外，在地球上找不到两个血型完全一样的个体。人类血型错综复杂，在生物学和医学等方面具有重大的意义。

第一节　ABO 血型系统的抗原

尽管 A、B、H 抗原决定簇在 5～6 周的胚胎红细胞上就可以检测出来，但直到出生时它的发育还不完全，新生儿红细胞与血清试剂的反应仍比成人的红细胞弱。到 2～4 岁时，红细胞抗原才发育完全，以后其抗原强度终身保持不变。A 及 B 型红细胞来源于称作 H 物质的前体物质。O 型红细胞没有 A 抗原也没有 B 抗原，但有大量的未起变化的 H 物质。A、B、H 抗原的糖结构见图 1-2。

一、A_1 和 A_2 亚型

A 型有数种亚型，用抗 A_1 血清可将其主要分为 A_1 和 A_2 两个亚型。比 A_2 还弱的 A 亚型不太常见。A_1 和 A_2 两种亚型的血清学区别是根据 A 型红细胞与经吸收后的人抗 A 血清或与双花扁豆种子提取液的反应确定的，两种试剂在标准的试验条件下能凝集 A_1 细胞而不能凝集 A_2 细胞。在具有 A 抗原的人当中大约 80%的红细胞可以被抗 A_1 血清凝集，称为 A_1 或 A_1B 型；其余 20%的红细胞不被抗 A_1 血清凝集，称为 A_2 或 A_2B 型。这些弱 A 亚型是由于 ABO 位点上的稀有基因的作用产生的，这些基因不到 A 型基因库的 1%。根据如下原则，划分弱 A 亚型：

1. 红细胞与抗 A 及抗 A_1 的凝集程度。
2. 红细胞与抗 A、抗 B 的凝集程度。
3. 红细胞上 H 物质活性的强弱。

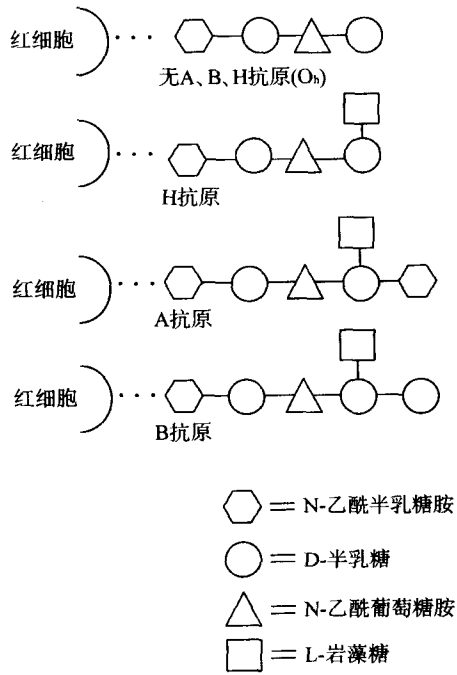


图 1-2 H、A、B 抗原的糖结构

4. 血清中是否存在抗 A_1。

5. 分泌型人的唾液中的 A 及 H 物质。

ABO 抗原亚型的血清学特征见表 1-1。

从表 1-1 中可以看出各种 A 表现型的血清学特征。

这些稀有的 A 亚型(也许只占 A 型的 0.1%或更少)中最常见的是 A_3 型,其红细胞特征为:与抗 A 血清反应出现混合视野型凝集。即在大量的游离细胞中存在细胞的小凝集。A_3 红细胞与双花扁豆提取液及抗 A_1 血清不产生凝集,但与抗 H 的反应比 A_1 细胞强。偶尔在 A_3 的血清中含有抗 A_1。ABH 分泌型的 A_3 个体的唾液中除了有 H 物质外还有 A 物质。

表 1-1　ABO 抗原血型的血清学特征

红细胞表现型	红细胞与下列抗血清的反应					血清与下列试剂红细胞的反应				分泌型唾液内含
	抗 A	抗 B	抗 A、B	抗 H	抗 A_1	A_1	A_2	B	O	
A_1	4+	0	4+	0	4+	0	0	4+	0	A 及 H
Aint	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	A 及 H
A_2	4+	0	4+	2+	0	1+	0	4+	0	A 及 H
A_3	$2+^{mf}$	0	$2+^{mf}$	3+	0	1+	0	4+	0	A 及 H
A_m	0/±	0	0/±	4+	0	0	0	4+	0	A 及 H
Ax	0/±	0	1+/2+	4+	0	2+	0/+	4+	0	A 及 H
B	0	4+	4+	0	0	4+	4+	0	0	H
B_3	0	$1+^{mf}$	$2+^{mf}$	4+	0	4+	4+	0	0	B 及 H
B_m	0	0	0/±	4+	0	4+	4+	0	0	B 及 H
Bx	0	0/±		4+	0	4+	4+	0	0	B 及 H

注：+→4+　表示凝集强度逐渐增加；±　弱凝集；mf　混合视野型；O　无凝集；+　在这些表现型中抗 A_1 发生的情况不同，Ax 型常有抗 A_1；A_3 型通常没有抗 A_1，但已经发现少数 A_2 型血清也具有抗 A_1

二、B亚型

目前已检出的B亚型较A亚型少，B亚型的命名一般与A亚型命名互相平行，比如血清学特点类似于A_3的B亚型称为B_3，类似A_m的称为B_m等。关于是否存在B_2亚型，尚无定论。总之，鉴别标准与A亚型相同(表1-1)。

三、"孟买型"或O_h表现型

红细胞上没有A、B、H抗原者是极其罕见的，但是某些个体的红细胞上就没有H物质，如O_h表现型，通常称它为"孟买型"，因为首先在孟买市发现，似乎在印度比在其他地方更为多见。在常规试验中，O_h型表现为O型，因为它的红细胞不被抗A或抗B所凝集，而它的血清却凝集A及B红细胞。O_h型的红细胞缺乏H物质，而这些人的血清中却有和抗A、抗B一样强的抗H，当他们的血清和所有O型人的红细胞反应都很强时，其表现型的性质很快就变得显而易见。孟买血型可以通过它的细胞与荆豆盐水提取液(抗H)不发生反应来确定，说明其细胞上不含有H物质。有关O_h型遗传学方面的详细讨论见《人类血型遗传学》。

第二节 ABO血型系统的抗体

ABO抗体有天然抗体和免疫抗体两种。天然抗体是指未经可察觉的抗原刺激而产生的抗体。一般O型的血清中多为IgG抗A和抗B抗体，而A型或B型的血清中大多为IgM抗体。

一、抗A和抗B抗体的发展

存在于红细胞膜上的A、B及H的活性糖链分子在其他生物中也有。许多细菌有同样糖链结构的产物，这些细菌同样具有人

的红细胞 A、B、H 抗原的抗原性。细菌广泛分布于自然环境之中，存在于灰尘、食物及其他物体上，形成了一种强有力的、持续不断的抗原刺激物。免疫系统正常的人受这种刺激产生了抗异己的 ABH 抗原的同种抗体。因此抗 A 就出现在 O 型和 B 型血清中；抗 B 出现在 O 型及 A 型的血清中；AB 型的人具有 A、B 两种抗原而无任何抗体。由于 H 物质的前体是大多数人体组织的组成部分，所以抗 H 的形成是罕见的。O_h 表现型通常含有抗 H，偶尔 A_1 或 A_1B 型的人几乎将全部 H 转变为 A_1，所以也可形成较弱的抗 H。

O 型及 B 型血清中的抗 A 可能是由两种不同的 A 抗体组成的：抗 A 及抗 A_1 抗体。抗 A 可以与 A_1 和 A_2 细胞反应，而抗 A_1 只能和 A_1 细胞反应。B 型血清用 A_2 细胞吸收后除去抗 A_1 活性，保留了抗 A 活性，A 型细胞与吸收后的抗 A 血清（抗 A_1）反应，可判为 A_1 型。

抗体出现的时间：抗体在人出生时尚未产生，由于这个原因，检查新生儿及 6 个月以内婴儿的血清是不可靠的。新生儿从母体被动获得 IgG 抗体，假如母亲有 IgG 抗 A 或抗 B 抗体，这些抗体也可以出现在婴儿的血清内。出生后几个月开始形成自己的抗体：抗 A 或抗 B 抗体到 5～6 岁时，具有较高的效价，以后一直维持到成年的晚期。老年人抗 A 和抗 B 抗体的水平一般低于年轻人。

二、抗体的行为

凝集反应是抗 A 或抗 B 抗体最常见的血清学效应，在适当的条件下也可表现为其他效应。溶血反应是一种重要的体内效应，在补体存在的情况下也可以发生试管内溶血。血型鉴定中的溶血是根据离心后上清液呈粉红色而确定的。如果 A、B 试剂红细胞悬浮在含有依地酸（EDTA）的溶液内，便不能发生补体参与的溶血。

ABH抗体有时只包被红细胞而不引起红细胞的凝集。当一种血清同时含有包被和凝集两种具有相同特异性的抗体时，除非凝集抗体被中和或灭活，否则凝集是惟一可以见到的试验结果。包被抗体常常是IgG，在新生儿溶血病中具有临床意义，这些抗体像所有的IgG抗体一样很容易通过胎盘。在B型和A型血清中可以找到少量的IgG抗A和抗B抗体，但临床意义不大。新生儿溶血病仅发生在O型母亲生的A型或B型婴儿中，很少发生在A_2母亲的B型婴儿中。

三、天然抗体与免疫抗体

抗体皆由B淋巴细胞分化发展而成的浆细胞所产生。凡由细胞内遗传基因决定、没有可察觉的免疫刺激而产生的抗体均称为天然抗体。例如ABO血型的抗体，它们在胎儿中已出现，终身存在体内。天然抗体主要是IgM，也有少数为IgG。天然抗体最适反应温度为4℃，而免疫性抗体为37℃，故又称为冷抗体。天然抗体不耐热，70℃30分钟即可破坏。能在生理盐水中与红细胞或颗粒性抗原结合并产生凝集反应。

免疫抗体与天然抗体相反，它们是在受到同种抗原或异种抗原刺激后才出现的。刺激物来自ABO血型不合的妊娠；输入血型不合的红细胞或含有血型物质的血浆；注射纯化血型物质及含有血型活性物质的病毒或细菌产物。通过免疫刺激，体内的抗A及抗B抗体的效价及亲和力均有增强，可产生很强的溶血反应，在37℃时活性增强。这些现象在O型个体表现更为明显。免疫抗体为IgG抗体。最适反应温度为37℃，属于温抗体，能耐70℃温度达70分钟而不被破坏。其分子小，能透过胎盘，具有临床意义。

天然抗体与免疫抗体的理化与生物学特征的区别见表1-2。

表 1-2　天然抗体与免疫抗体的特征比较

特性	天然抗体	免疫抗体
生理盐水中凝集反应	有	无
胶体溶液中的凝集反应	有	有
在免疫中发生的时期	早期	晚期
耐热性质	非耐热性	耐热性
物理化学性	疏水性	亲水性
胎盘透过性能	不能	能
电泳分析	IgM 免疫球蛋白	IgG 免疫球蛋白
分子量	100 000	16 000
分子长度	900nm	200nm

第三节　ABO 血型鉴定

红细胞血型鉴定试验中，因为血清中没有相应的抗体与同一个体红细胞膜上的抗原相对应，因此，必须用已知型特异性的抗体来检查红细胞抗原（正向定型、红细胞定型），以及用已知血型的红细胞检查血清中的抗体（反向定型、血清定型）。所用抗 A 和抗 B 试剂均应达国家规定，即效价分别不低于 64 和 128。供血者或受血者常规 ABO 血型检测，应包括正向定型和反向定型，并相互验证。

当怀疑有亚型或不规则抗体时，可增加一些试剂，如抗 AB、A_2 和 O 型试剂红细胞。O 型血中的抗 A、抗 B 抗体，在测定 A 或 B 亚型时十分有用。需要区分 A_1 与 A_2 时，可用抗 A_1 血清。在反向定型中，一般需用 A_1、B 和 O 型红细胞。O 型红细胞用于检查不规则抗体。当怀疑有抗 A_1 抗体时，要用 A_2 细胞。ABO 血型鉴定和分析见表 1-3。

表 1-3 红细胞 ABO 正向与反向定型

正向定型			反向定型			结果
抗 A	抗 B	抗 A、B	A 细胞	B 细胞	O 细胞	
−	−	−	+	+	−	O 型
+	−	+	−	+	−	A 型
−	+	+	+	−	−	B 型
+	+	+	−	−	−	AB 型

ABO 血型鉴定方法有玻片法、试管法、湿匣法、纸片法等多种方法。

一般实验室采用玻片法、试管法或湿匣法。玻片法的优点为操作简单，结果明了。试管法的优点为迅速而敏感，因离心后可促使红细胞抗原与抗体接触，据有关报道灵敏度比玻片法高 6 倍。湿匣法的优点为涂片在试管中可保湿而不干燥(有的亚型需 10～60 分钟才出现反应)。以上血型鉴定方法各有优缺点，各实验室可根据具体情况选用试验方法。

以上三法是比较可靠的方法，分述如下：

一、玻 片 法

1. 取洁净专用玻片 1 块，用蜡笔分别在玻片上标明抗 A、抗 B、抗 A+B、A_C、B_C、O_C等字样及受检查姓名或编号。

2. 按标记在抗 A、抗 B、抗 A+B 小格处加标准抗 A、抗 B、抗 A+B 血清各 1 滴，再加受检者 5%红细胞悬液各 1 滴。

3. 在标记有 A_C、B_C、O_C的格子内分别加 5%标准 A 型、B 型、O 型红细胞悬液各 1 滴，再加受检者血清各 1 滴。

4. 用竹签(或玻棒、小试管底部)分别搅和小格内的混合液，不时转动玻片，促使凝集反应发生，10 分钟后肉眼及显微镜观察结果。如无凝集现象，应等半小时后方可做最后确定。

5. 根据凝集情况报告血型(图 1-3)。

只用抗 A、抗 B 两种试剂鉴定血型。见图 1-3。

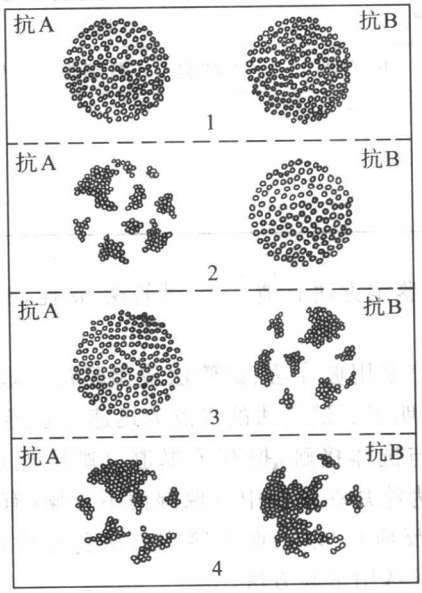


图 1-3　玻片法血型鉴定

注：1. O 型；2. A 型；3. B 型；4. AB 型

二、试　管　法

1. 取洁净小试管 6 支，分别标记抗 A、抗 B、抗 A+B、A_C、B_C、O_C等字样及受检者姓名或编号。

2. 在标记有抗 A、抗 B、抗 A+B 的试管中分别加入抗 A、抗 B、抗 A+B 标准血清各 1 滴，再加受检者 5%红细胞悬液各 1 滴。

3. 在标记有 A_C、B_C、O_C的试管中分别加 3%～5%标准 A 型、B 型、O 型红细胞悬液各 1 滴。再加入受检者血清各 1 滴。

4. 混匀，以 1 000r/min（每分钟 1 000 转），离心 1 分钟或 3 000r/min，离心 15 秒，观察结果。

5. 观察结果，用手轻轻转动试管。如已凝集，则形成一个或数个凝块，如未凝集，则红细胞均匀分散。观察过程见图1-4。

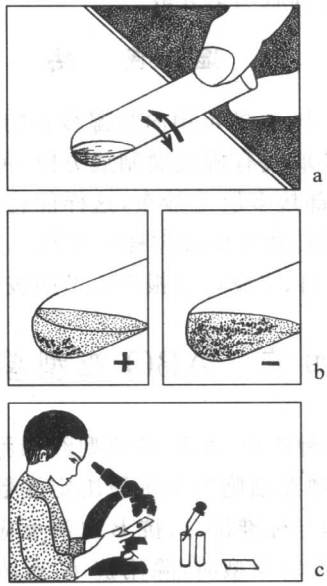


图1-4 试管法观察结果过程示意图

注：a. 轻轻转动试管；b. 观察有无凝集；c. 用显微镜观察结果

6. 根据试管凝集情况报告血型(表1-3)。

凝集强度按如下情况判断：

4+ 细胞凝集成一大块，轻摇不散，几乎没有游离的红细胞，上清液清澈透明；

3+ 红细胞凝集块轻摇时能分散出小凝块，上清液清澈透明；

2+ 红细胞凝集块轻摇时能分散出无数小凝块，周围有游离细胞；

1+ 肉眼可见大颗粒，周围有较多的游离细胞；

± 在显微镜下可见3～7个红细胞凝集在一起，周围游离细胞更多；

— 无凝集，红细胞均匀分散。

三、湿 匣 法

1. 湿匣可大可小，小的可用内衬湿纱布的培养皿，大的（根据工作量大小）可用玻璃或有机玻璃制成方匣，但匣盖要透明，便于观察结果。匣内底部垫多层湿纱布，这样能将载物玻片保存在潮湿空气中，防止载物玻片在保温过程中干燥。

2. 试验所用材料、步骤以及报告血型同玻片法。

第四节 ABO亚型鉴定

ABO血型有数种亚型，A和B亚型红细胞与A和B型红细胞主要区别不仅表现在细胞膜上抗原决定簇数量上，也表现在抗原性质上，这些细胞与标准抗A、抗B血清反应较弱，有时肉眼儿乎看不到凝集。在鉴定亚型时，除用抗A_1血清之外，还没有发现相应的特异性血清。因此，实际上是根据受检者红细胞抗原的强弱、血清中抗体的性质及唾液中分泌型物质的性质多少来确定亚型的。

一、亚型分类与命名

根据亚型特点可分如下几类：

1. A_1（B_1）型 红细胞抗原性较强，与抗A、抗A_1血清均发生凝集，可以遗传，红细胞吸收抗A（抗B）力强，而放散抗A（抗B）力微弱。

2. A_2型 红细胞抗原性比A_1型弱，与抗A血清发生凝集，与抗A_1血清不发生凝集，可以遗传。血清中含有正常的抗B抗体，约2%的血清中有抗A_1抗体。红细胞吸收抗A力小于A_1型，而

放散抗 A 力大于 A_1 型。

3. $A_3(B_3)$型　红细胞抗原性较 $A_2(B_1)$更弱，与抗 A(抗 B)血清不能完全凝集，与抗 A+B 血清的凝集强于抗 A(抗 B)的凝集，与抗 H 的凝集强于 $A_2(B_1)$型，并可以遗传。血清中含有正常的抗 B(抗 A)抗体，约 4%的血清中有抗 A_1(抗 B_1)。分泌型唾液中的 H 物质大于 A_1 和 $A_2(B_1)$型。红细胞吸收抗 A(抗 B)力小于 $A_1(B_1)$型，放散抗 A(抗 B)力大于 $A_2(B_1)$型。

4. $A_4(A_X、A_O、A_z、A_g、B_4)$型　红细胞抗原比 $A_3(B_3)$更弱，与抗 A(抗 B)凝集微弱，有较多的游离细胞，有的甚至不发生凝集，与免疫动物高效价抗 A(抗 B)发生凝集，与抗 A+B 发生凝集，并可以遗传。血清中含有正常的抗 B(抗 A)抗体，有的血清中有抗 A_1(抗 B_1)低温抗体，在 20℃以下与 $A_1(B_1)$细胞发生凝集较明显，偶见有抗 A_2抗体。分泌型唾液中的 A(B)物质量极少。红细胞吸收抗 A(抗 B)力小于 $A_2(B_1)$，放散抗 A(抗 B)力大于 $A_1(B_1)$。红细胞免疫动物能产生抗 A(抗 B)抗体。

5. $A_m(B_m)$型　红细胞与抗 A(抗 B)血清不凝集，与抗 A+B 血清不凝集或凝集微弱，与抗 H 凝集强于 $A_3(B_3)$，并可以遗传。血清中有正常的抗 B(抗 A)抗体。分泌型唾液中含有较多的 A(B)物质。红细胞吸收抗 A(抗 B)力很弱，但放散抗 A(抗 B)力很强。红细胞免疫动物能产生抗 A(抗 B)抗体。

二、A_1、A_2亚型鉴定

利用抗 A_1 血清与 A_1 型红细胞发生凝集，而不与 A_2 型红细胞凝集的特性，可区分为 A_1 型与 A_2 型。

(一)材料

1. 抗 A_1 标准血清。
2. 受检者 2%红细胞悬液。
3. 标准 A_1 和 A_2 型 2%红细胞悬液，作对照用。

(二)操作

1. 取玻片1张,两端标记A_1和A_2。

2. 两端均加抗A_1血清各1滴。

3. A_1端加2%A_1红细胞悬液1滴。

4. A_2端加2%A_2红细胞悬液1滴。

5. 另取1张玻片,加抗A_1血清1滴,再加2%受检者红细胞悬液1滴。

6. 用玻棒或牙签将上述滴加物混匀,室温下10分钟观察结果。

(三)结果判断

如A_1型对照红细胞凝集,A_2型对照红细胞不凝集,受检者红细胞凝集,判为A_1亚型,受检者红细胞不凝集,则为A_2亚型。

新生儿ABO抗原较弱,不宜做亚型鉴定。

三、A_3、A_4、A_m、A_X、A_3B、A_4B、B_3、B_m、B_x等亚型鉴定

对于这类亚型的鉴定,除了作常规ABO血型鉴定外,还要测定其唾液中血型物质和应用吸收放散试验等方法综合鉴定A、B亚型(表1-4)。

表1-4 各种ABO血型的特征

	人的红细胞对各种试验血清的反应					在人血清中对各种红细胞的反应			唾液中血型物质的存在		
	抗A	抗A_1	抗B	抗A+B	抗H	A_1	B	O	A	B	H
A_1	3+	2+	−	4+	−	−	4+	−	2+	−	2+
Aint	2+	+	−	3+	2+	−	3+	−	2+	−	2+
A_2	2+	−	−	3+	+	±	3+	−	2+	−	2+
A_3	±	−	−	2+	2+	±	2+	−	2+	−	2+
Abantu	+	−	−	2+	2+	+	3+	−	−	−	2+
Aend	+	−	−	+	3+	−	3+	−	−	−	2+

（续　表）

	人的红细胞对各种试验血清的反应					在人血清中对各种红细胞的反应			唾液中血型物质的存在		
	抗 A	抗 A_1	抗 B	抗 A+B	抗 H	A_1	B	O	A	B	H
A_x	−	−	−	±	3+	−	3+	−	*	−	2+
A_m	−	−	−	−	−	−	3+	2+	2+	−	2+
Ael	−	−	−	−	3+	−	3+	−	−	−	2+
O	−	−	−	−	3+	3+	3+	−	−	−	2+
B	−	−	3+	3+	−	3+	−	−	−	2+	2+
B_1	−	−	±	±	2+	3+	+	−	−	*	2+
B_2	−	−	±	±	2+	3+	−	−	−	2+	2+
B_3	−	−	±	±	2+	3+	−	−	−	−	2+
B_m	−	−	−	−	3+	2+	−	−	−	2+	2+
A_1B	3+	2+	3+	3+	−	−	−	(±)	2+	2+	2+
A_2B	3+	−	3+	3+	2+	±	−	2+	2+	2+	2+
Cis A_1B	2+	2+	+	3+	−	−	+	−	2+	*	2+
Cis A_2B	+	−	+	2+	2+	−	+	−	2+	*	2+
孟买	−	−	−	−	−	3+	3+	2+	−	−	−
O_h	−	−	−	−	−	3+	3+	2+	−	−	2+
A_h	−	−	−	−	−	−	3+	+	+	−	2+
B_h	−	−	−	−	−	3+	−	±	−	2+	2+

注：※　部分性溶解性抗原

第五节　对 ABO 血型不一致的解决办法

血型鉴定结果不一致的原因可分为两类：一类属于技术方面的原因，这是最主要的原因；而另一类属于责任方面的原因，也时有出现。

一、技术方面的原因

可以出现假阴性及假阳性结果（图 1-5）。

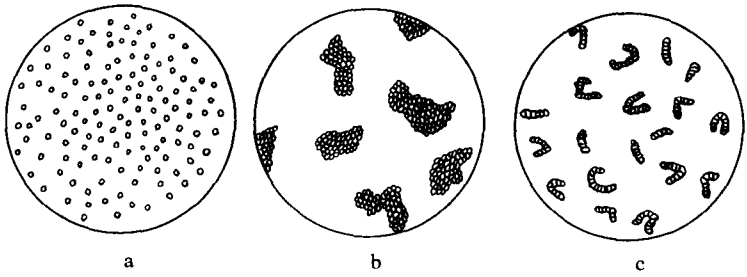


图 1-5　ABO 血型真假凝集示意图

注：a. 不凝集；b. 凝集；c. 钱串状假凝集

1. 假阴性结果　应发生凝集现象而未出现者。

①标准血清效价太弱，可能是标准血清运输及保存不当所致。解决方法：在运输、使用过程中，盛放试剂的容器内的温度要保持在 2～8℃，在保存期内要定期测定标准血清效价；不使用超过保存期的标准血清，坚持正向、反向定型。

②红细胞悬液过浓或过淡，使抗原抗体比例失调而反应不明显。解决方法：IgM 抗体选用 2%红细胞悬液，IgG 抗体使用 5%红细胞悬液。

③标准血清与红细胞悬液比例不当，使反应不明显。解决方法：采用 1∶1 的比例，严格按照各试剂说明书的要求做。

④被检红细胞敏感性过低，常见于新生儿、老年人或某些疾病致红细胞抗原减弱者，或放置太久。解决方法：所用标本不超过 3 天，做正向、反向定型。

⑤反应时间不足，未按规定时间判断结果，并报告，多见于玻片法。解决方法：应在 10～30 分钟后报告结果。

⑥温度不适，如温度过高血细胞受损可产生假阴性。解决方法：实验室温度要保持在 20℃左右。

⑦红细胞凝集较细小，观察不细心，误认为未凝集。解决方法：应坚持用显微镜观察。

⑧补体存在而溶血。解决办法：实验前后对照观察，发现溶血，灭活补体再做。

⑨IgG抗体遮断致未凝集。解决方法：应做释放试验后再做。

2. 假阳性反应

①红细胞钱串状凝集：红细胞相连成串，而非真正的凝集（图1-5c）。形成原因尚未明确。多见于血清浓缩，血纤维蛋白原或球蛋白增高，实验时间过长，温度过低或输入大量高分子物质。解决方法：使用合格血清，将受检者红细胞用0.9%氯化钠注射液（生理盐水）洗涤3次，再滴加1～3滴盐水，混匀，钱串状凝集即可散开。

②寒冷凝集：正常人血清中有时含有寒冷凝集素，且效价过强，未被充分吸收所致。解决办法：用37～45℃的生理盐水洗红细胞，并在37℃水浴箱内进行实验。多见于病毒性肺炎、溶血性贫血、阵发性血红蛋白尿症及肝硬化等病。

③T凝集：病人感染或细菌污染红细胞能与任何人的血清发生凝集，此种红细胞也称全凝集红细胞。解决办法：用AB型血清与病人红细胞做凝集试验，证实有凝集；用标准红细胞检测血清抗体，用病人的红细胞做吸收释放试验，或取唾液做吸收抑制试验。

④H凝集：因细菌污染血清而产生的H抗体，与红细胞的H抗原反应产生凝集。解决办法：试验所用血清避免细菌污染，定期检测血清的特异性。

⑤继发血液凝固：可发生于未经洗涤的红细胞悬液和新鲜血清。解决方法：将实验用的红细胞洗涤，应用符合要求的标准血清。

⑥玻片法所致：反应时间过长，检验者责任心不强，观察结果不及时，放置时间过久，血清浓缩，细胞聚集均可造成假阳性。解决办法：加强责任心，严格操作规程。

⑦其他：脐带华通胶、自身免疫抗体、药物性抗体（青霉素、磺胺类等）等均可出现假凝集现象，试验当中应引起重视。

总之，解决 ABO 正向、反向定型不一致，而开始做深入试验之前，重复所有试验，严格执行操作步骤，使用合格试剂，细心观察结果，正确地解释结果。这样可以发现问题。如重复结果与以前相同或新发现一些疑难问题。这时应按下列步骤做深入试验：

①从病人体内另取新鲜血液标本 1 份，这样可防止标本弄错或污染，造成不符合。

②正向、反向定型所用红细胞均用生理盐水洗涤 3 次，并做成 2～5℃红细胞悬液。用抗 A、抗 B、抗 AB、抗 A_1、抗 B_1 及抗 H 试剂做试验，可获得信息。

③用 A_1、A_2、B、O 细胞以及自身细胞检查血清抗体。还可用 O 型脐细胞做试验以发现抗 I 抗体。

④鉴定唾液和血清内的 A、B、H 物质。

⑤做吸收放散试验。

遇到具体问题须具体分析，并选择适当的试验方法。

二、责任方面的原因

1. 标本采错，张冠李戴。
2. 大批量鉴定时，标签贴错，编号编错。
3. 少量标本，仅凭记忆，不做标记。
4. 所有试剂前后滴加次序搞乱或漏加、重加。
5. 使用不合格试剂。
6. 未认真观察结果，填错报告。

以上几项无论哪一项做不到位，都可出现错误结果。输血前的血型鉴定，是事关安全输血的首要检查。为此，工作人员必须树立全心全意为病人服务的思想；以高度的责任心、严谨的工作态度，做好各项工作，严格执行各项操作规程；在任何情况下，都要细心谨慎，思想高度集中，要养成忙而不乱的工作习惯，以科学的工作作风完成每个实验步骤，为病人安全输血打下牢固的基础。

第六节 ABO血型的遗传

1924年Bernstein就提出三复位基因学说，这个学说比较清楚地解释了ABO血型的遗传形式。为人类遗传学的研究提供了良好的资料，并做出了巨大的贡献。这个学说假设A、B、O三种抗原的遗传分别受三个等位基因控制。这三个等位基因也叫做A、B及O基因。它们是等位基因，在遗传学上，血型抗原和遗传基因使用同样符号，A和B基因属于显性基因，O基因属于隐性基因，并按孟德尔的分离与自由组合遗传定律。每个个体的染色体均是一个来自父亲，另一个来自母亲，不是携带A、B基因，就是携带O基因。这样A、B、O的基因就可能有AA、AO、BB、BO、AB及OO六种遗传型(表1-5)。

表1-5 ABO血型遗传型

精子＼卵子	O	A	B
O	OO	AO	BO
A	AO	AA	AB
B	BO	AB	BB

遗传型是作为生物遗传基础的实际结构，也是决定生物个体特性的基因形式。而实际表现出来的性状称为表现型，如A型、B型。表现型相同的人遗传型不一定相同。例如，表现型为B型的人可有BB和BO两种遗传型。

父母的一方是O型时不产生AB型子女；父母的一方是AB型时不产生O型子女；父母系O型及AB型的配合时，父母的血型不出现于孩子中，其子代全部为A型或B型。人类绝大多数家族血型调查是符合上述规律的，但极其罕见的CisAB型除外。父

母间血型的配合和他们孩子可能或不可能出现的血型见表 1-6。

表 1-6　ABO 血型的遗传

父母血型	子代可能有的血型	子代不可能有的血型
O×O	O	A,B,AB
O×A	O,A	B,AB
O×B	O,B	A,AB
O×AB	A,B	O,AB
A×A	O,A	B,AB
A×B	A,B,O,AB	——
B×B	O,B	A,AB
B×AB	A,B,AB	O
AB×AB	A,B,AB	O

第七节　ABO 血型物质

一、ABH 物质

每个人特有的血型抗原物质也称血型物质，它主要存在于红细胞表面，属于水溶性抗原，也存在其他组织细胞。各种体液（如血清、唾液、胃液、卵巢囊肿液、精液、羊水、汗液、尿液、泪液、胆汁、乳汁等）均可测到。血型特异性物质最丰富、最易获得的来源是唾液，而广泛应用于人型特异性物质的鉴定，并由此推测其血型。但 20%的人其唾液和其他体液中，几乎没有 ABO 血型特异性物质。因此，将唾液中不含这种血型特异性物质的人称为非分泌型人，即不分泌 A、B、H 血型物质；而含有相应的 ABO 血型特异性物质的人叫做分泌型人。

经过研究认为多糖体部分决定血型特异性，而多肽类部分发挥血型抗原性。尽管如此，有些较大分子量的多糖体也稍有血型

抗原性。血型特异性物质一般有两种形式存在：一种是水溶性的，存在于大部分体液和组织中；另一种是醇溶性的，不溶解于水，存在于红细胞和几乎所有的其他组织中，但不在分泌液中出现。水溶性物质的出现，受分泌基因的控制，而醇溶性物质的出现，不受基因的控制。

A和B血型物质一般在胎儿37天时即可检测到。

ABO血型物质由多糖和多肽组成。主要的多糖有D-半乳糖(D-galactose，Gal)、L-岩藻糖(L-fucose，Fuc)和N-乙酰-D-半乳糖胺(N-acetyi-D-galactosamine，GalNac)，都是以N-乙酰衍生物形式存在。主要的多肽含有多种氨基酸，苏氨酸、丝氨酸及脯氨酸占氨基酸总量的一半，其中以苏氨酸含量最多。A特异性决定于N-乙酰-D-半乳糖胺，B特异性决定于D-半乳糖，而H特异性决定于L-岩藻糖。推测人体合成ABH物质过程，即在H基因作用下，把L-岩藻糖加在前身物糖蛋白上形成了H特异性；在A基因作用下，把N-乙酰-D-半乳糖胺加在H特异性上产生A特异性；在B基因作用下，把D-半乳糖加在H特异性上产生B特异性(图1-2)。

二、唾液中ABH物质的测定

受检者的唾液血型物质能特异性地与相应的抗体相结合，从而抑制抗体与红细胞上抗原产生凝集反应。因此，将受检者唾液与抗血清混合后，再加入相应红细胞，观察红细胞凝集与否，即可判断该唾液中是否含有相应血型物质。如不显凝集则被检者为分泌型人，反之为非分泌型人。因此，检测唾液中血型物质可作为判断血型的一个辅助证据。

(一)唾液的收集

1. 受检者先用清水漱口，然后嘱其将唾液装入一大口径试管或小烧杯内。收集量为5～10ml。多数人可在几分钟内留取够所需量。为了增加唾液分泌，被检者可嚼蜡、石蜡或橡皮。但不能嚼口香糖或任何含糖或蛋白的东西。对病人或婴幼儿，收集唾液困

难时，可用一洁净棉球或滤纸置于舌下数分钟，用镊子将其取出，把唾液挤入试管中，重复数次至足量。

2. 将唾液先离心去沉淀，把离心后的唾液再盛入试管或烧杯，再置入沸水中煮沸 10 分钟，以灭活唾液酶(使血型物质不被活化)，也破坏了存在于唾液中常见的抗 A 抗体及抗 B 抗体。

3. 煮沸后的唾液，3 000r/min 离心 10 分钟。

4. 移除澄清或微带乳白色的上清液于另一试管中备用，弃除不透明半固态物质。

5. 如当日用于试验可置于冷藏箱保存。如当日不用于试验，则须置－20℃保存备用。冻存唾液其活性可保留几年。

(二)抗血清修正液的制备

为避免抗血清效价太强不易被血型物质中和，或太弱易出现假阳性反应，每次试验前均应选择最适稀释度的抗血清，作为中和唾液血型物质。

1. 取小试管 8 支，排成一行并编号。

2. 从第 2～8 管各加生理盐水 0.1ml，从第 2 管开始做倍比稀释至第 8 管。此时，血清稀释度为 1∶1～1∶128。

3. 每管加入相应的 5%红细胞悬液 0.1ml。

4. 混匀，3 000r/min，离心 15 秒，出现 2＋的凝集管其效价为最适血清稀释度。

(三)其他材料

1. 2%A，B 和 O 型红细胞悬液；

2. 抗 H；

3. 已知分泌型和非分泌型唾液作为对照。

(四)操作

1. 排列试管 3 支(受检者若为 AB 型，则用 4 支)，分别标明抗 A、抗 B、抗 H。

2. 按表 1-7 加反应物进行试验。

表 1-7 从唾液中血型物质的测定判定受检者血型

反应物	抗 A 管	抗 B 管	抗 H 管
受检者唾液	1	1	1
抗 A 血清修正液	1		
抗 B 血清修正液		1	
抗 H 血清修正液			1
	混匀，中和 5 分钟		
5%A 型红细胞	2		
5%B 型红细胞		2	
5%O 型红细胞			2
	混匀，置室温 1 小时或 1 000r/min 离心 15 分钟，看结果		
非分泌型	4+	4+	4+
A 型分泌型	—	4+	4+
B 型分泌型	4+	—	3+
O 型分泌型	4+	4+	—
AB 型分泌型	—	—	3+

三、唾液血型物质效价滴定

1. 取小试管 10 支，依次编号并标明受检者姓名。第 2～10 管中各加生理盐水 2 滴。

2. 向第 1、2 管各加受检者唾液 2 滴，从第 2 管开始倍量稀释至第 9 管，第 10 管为空的对照。

3. 向管中各加入 2 滴具有与血型物质相应的抗血清，若为 A 型，则加抗 A；B 型加抗 B；AB 型加抗 A 和抗 B；O 型加抗 H。混匀后置室温中和 30 分钟。

4. 每管再加入与受检者同型的 5%红细胞悬液各 1 滴，混匀后置室温孵育 15 分钟，于 3 000r/min 离心 15 秒，观察并记录结果。

5. 结果判断，先看对照管，再看 1～9 管。以抑制红细胞凝集

的最后一管的稀释倍数为该唾液中的血型物质的效价。完全抑制和不完全抑制之间用显微镜观察较好。

（王振芳）

第2章　Rh血型系统

Rh血型系统是人类红细胞血型系统中最复杂的一个血型系统，它的临床意义仅次于ABO血型系统。Rh血型不合的输血，可引起溶血性输血反应，严重者还可危及生命；母婴Rh血型不合的妊娠，有可能产生新生儿溶血病，导致新生儿死亡。Rh阴性个体在欧美白种人群中所占的比例较高，为15%。在我国汉族人中为0.2%～0.5%。目前无论国内、国外，已经将Rh血型的检查作为血型常规检查。

第一节　Rh血型的发现

1940年，Landsteiner和Wiener首先发现了Rh血型。他们用印度恒河猕猴的红细胞对豚鼠和家兔进行免疫制成抗体，该抗体不仅可使印度恒河猕猴的红细胞凝集，而且可使85%的白人红细胞凝集。当时把与该抗体起反应的红细胞称为Rh阳性，不起反应的叫Rh阴性。在先前一年，Levine和Stotso发现一个奇异现象：有一位产妇生了一个死胎，由于分娩时大量出血，给她输注了血型相同的丈夫血液（都是O型），但输血后发生严重的输血反应；之后用她的血清同其他O型血液做凝集试验共104例，结果83例与她的血清发生凝集反应。1940年，Landsteiner和Wiener证实他们俩制成的Rh抗体与Levine等人发现的Rh抗体是相同的。这是人类发现的第1例Rh抗体，也是人类中首例由于妊娠产生的同种免疫作用的报道。1941年Levine分析了150例新生

儿溶血病患儿母亲血清中的抗体，发现有三种特异性，即抗 D、抗 C 和抗 D_C。同年，Landsteiner 和 Wiener 报道了使用动物的抗 Rh 和人的抗 Rh 血清的反应，发现吸收后的动物血清反应比较弱。

1959 年，上海生物制品研究所研究人员发现一位产妇，其第 1 胎婴儿健在，第 2、3 胎婴儿出生后，20 小时内出现黄疸并逐渐加深而死亡。其第 4 胎妊娠后，产前检查，产妇是 O 型 Rh 阳性，其血清中含有抗 E 抗体。第 4 胎出生后，经过换血治疗，婴儿未产生黄疸，2 年后随访，发育、智力均良好。

1960 年以后，我国制备了抗 D 血清，并进行较大规模的 Rh 血型调查，发现 Rh 阴性占 0.24%。又制备了抗 C、抗 c、抗 E、抗 e 等血清，对上海居民及我国少数民族又进行了详细血型调查。

综上所述，Landsteiner，Wiener 和 Lerine 等国外血型研究先驱者，对人类认识 Rh 血型的本质做出了巨大的贡献；国内上海生物制品研究所的血型专家们，自行研制了与国人相匹配的系列 Rh 血型抗血清试剂，在国内输血史上具有划时代的意义。

第二节　Rh 血型的遗传

Rh 血型系统的抗原至今已发现 40 个以上，但与临床输血有关的主要有 5 个抗原，即 D、C、E、c、e。

Rh 血型的遗传学说有 2 种：一种是 Fisher-Race 学说，另一种是 Wiener 学说，并且是两个对立的学说。前者认为 Rh 基因是 3 个基因连锁群，每个染色体上有 3 个基因位点，相互连锁，每个基因决定 3 个抗原，无所谓抗原因子；后者认为 Rh 基因在染色体上只有 1 个基因位点，1 对染色体上的 2 个基因可能是相同的，也可能是不同的，每个 Rh 抗原由几个抗原因子镶嵌而成，每个抗原因子都能刺激抗体的形成并与相应抗血清发生凝集反应。前者易懂，被大多数学者采用。

根据 Fisher 的标记法把 Rh 型 8 个遗传基因组合（表 2-1），即

3对等位基因可以组成8种不同的染色体，8种染色体的任意2种相互结合的遗传型应有36种(表2-2)。

表2-1 8种Rh染色体

基因组合	CDe	cDE	cDe	CDE	Cde	cdE	cde	CdE
一般简称	R_1	R_2	R_0	R_Z	r'	r''	r	r_y

表2-2 Rh血型的36种遗传型

遗传型	一般名称	同各种抗体血清的反应					
		抗C	抗D	抗E	抗c	抗d	抗e
CDe/CDe	R_1R_1	+	+	−	−		+
CDe/cDE	R_1R_2	+	+	+	+		+
CDe/cDE	R_1R_0	+	+	−	+		+
CDe/CDE	R_1R_Z	+	+	+	−		+
CDe/Cde	R_1r'	+	+	−	−		+
CDe/cdE	R_1r''	+	+	+	+		+
CDe/cde	R_1r	+	+	−	+		+
CDe/CdE	R_1r_y	+	+	+	−		+
cDE/cDE	R_2R_2	−	+	+	+	本抗体尚未检测到	−
cDE/cDe	R_2R_0	−	+	+	+		+
cDE/CDE	R_2R_Z	+	+	+	+		−
cDE/Cde	R_2r'	+	+	+	+		+
cDE/cdE	R_2r''	−	+	+	+		−
cDE/cde	R_2r	−	+	+	+		+
cDE/CdE	R_2r_y	+	+	+	+		−
cDe/cDe	R_0R_0	−	+	−	+		+
cDe/CDE	R_0R_Z	+	+	+	+		+
cDe/Cde	R_0r'	+	+	−	+		+
cDe/cdE	R_0r''	−	+	+	+		+
cDe/cde	R_0r	−	+	−	+		+
cDe/CdE	R_0r_y	+	+	+	+		+
CDE/CDE	R_ZR_Z	+	+	+	−		−
CDE/Cde	R_Zr'	+	+	+	−		+
CDE/cdE	R_Zr''	+	+	+	+		−

（续　表）

遗传型	一般名称	同各种抗体血清的反应					
		抗 C	抗 D	抗 E	抗 c	抗 d	抗 e
CDE/cde	$R_Z r$	+	+	+	+		+
CDE/CdE	$R_z r_y$	+	+	+	−		−
Cde/Cde	$r' r'$	+	−	−	−	本	+
Cde/cdE	$r' r''$	+	−	+	+	抗	+
Cde/cde	$r' r$	+	−	−	+	体	+
Cde/CdE	$r' r_y$	+	−	+	−	尚	+
cdE/cdE	$r'' r''$	−	−	+	+	未	−
cdE/cde	$r'' r$	−	−	+	+	检	+
cdE/CdE	$r'' r_y$	+	−	+	+	测	−
cde/cde	rr	−	−	−	+	到	+
cde/CdE	rr_y	+	−	+	+		+
CdE/CdE	$r_y r_y$	+	−	+	−		−

第三节　Rh 血型系统抗原及抗体

一、Rh 血型抗原

Rh 血型抗原的强度仅次于 ABO 血型的 A、B 抗原。Rh 血型阴性的人有 50%～75%通过输血治疗或妊娠可使红细胞上 D 抗原免疫而产生抗 D。Rh 血型抗原中，抗原的强度依次为 D>E>C>c>e，都显示剂量效应，即遗传方式上，同质结合子比异质结合子强。

虽然 Rh 血型系统 D 抗原最强，也并非所有含 D 抗原的红细胞都能和每个抗 D 血清发生凝集反应。有些 Rh 阳性细胞同一些抗 D 血清发生凝集，而同另一些抗 D 血清不发生凝集。但实际上有 D 抗原红细胞，肯定是 Rh 阳性红细胞。用间接抗人球蛋白试验证实这种弱表现的 D 抗原红细胞，其可能是 D^u 型。

Rh血型中还有一些复合抗原，如CE、ee、Ce等，这些复合抗原要与抗CE血清发生凝集，必须是C基因和E基因同在一条染色体上。抗CE血清与CDE、CdE抗原均显凝集，而与cDE、cDe、cdE、cde抗原均不显凝集。有的血清c、e在一条染色体上即发生凝集，而c、e不在一条染色体时就不发生凝集，这种现象称为位置效应。

二、Rh血型抗体

绝大多数Rh抗体是免疫抗体，可以通过输血治疗和妊娠后产生的。一般在初次免疫后2～6个月内出现。对Rh(D)初次免疫的人，经过再次免疫后，在3周内抗体浓度可达高峰。但也有约30%的Rh阴性的人，经Rh阳性抗原免疫后仍不产生抗D，这些免疫抗体属于IgG或IgM。IgM抗体一般出现在免疫初期，然后经过反复多次的免疫后，逐渐由IgM抗体变为IgG抗体。所以，IgG抗体最为常见且也最强。这些免疫抗体其最适反应温度为37℃，称温抗体。其特点是分子小，可以通过胎盘引起新生儿溶血病，或造成输血反应。

天然产生的抗Rh抗体很少，但也有报道，较常见是抗E抗体。这些抗体均具有完全抗体的性质，在室温生理盐水中呈凝集反应，且在4℃反应强于在37℃。

Rh阴性血型者，通过接受Rh阳性血液，一般约有50%者可经输血免疫产生抗D抗体。临床常见的几种Rh抗体如下：

1. 抗D抗体　抗D抗体最为常见的抗Rh抗体，有IgM和IgG两种抗体。Rh阴性者或D^u型可通过输血或妊娠而产生。

2. 抗C抗体　纯粹的抗C血清，需要由表现型ccDEe型或ccDEE的人血清制备。

3. 抗E抗体　有时可天然产生，在室温中反应较好，但常见的是免疫抗体，最适温度为37℃。

4. 抗c抗体　抗c抗体单独存在非常少见，多为cE、ce等复合体。抗c抗体常见于D阳性人的血清里，因为D阴性的人缺c

抗原，故产生抗 c 抗体的机会就很少。本抗体通常由表现型 CDe/CDe 的人血清制备。

5. 抗 e 抗体　单独存在也很少见到，是很稀有的抗体，因为缺乏 e 抗原的人占的百分比较小，所以绝大多数人不能产生抗 e 抗体。

第四节　Rh 血型的变异型

一、D^u 型

D^u 型是 Stratton 于 1946 年首次报道，是 Rh 中的一种亚型。D^u 型抗原特点是同有些抗 D 血清显凝集较弱，同其他抗 D 血清则甚至不显凝集，但在间接抗人球蛋白试验中显凝集。

D^u 型抗原是一种弱的抗原，其可分为 3 个等级，即高效级 D^u 型、低效级 D^u 型、极低效级 D^u 型。高效级 D^u 型能与盐水反应相抗 D 血清凝集，低效级 D^u 型可用抗人球蛋白试验检出，极低效级 D^u 型只能通过吸收放散试验才能检出。

D^u 型可由多种不同的遗传方式产生，有直接遗传和位置效应两种。

1. D^u 型血型鉴定

①取 3 个以上批号盐水抗 D 血清，分别滴入不同试管内 3 滴；

②将受检者 5% 的红细胞悬液 1 滴加入上述各管；

③37℃水浴 1 小时，用盐水洗涤 3 次后，完全移出上清液，并加 2 滴抗人球蛋白血清，重新悬浮红细胞；

④1 000r/min 离心 1 分钟；

⑤观察结果，轻摇试管，凝集则有 D^u 型抗原存在，即为 D^u 型。

2. D^u 型的临床意义　虽然 D^u 型比正常 D 阳性红细胞抗原弱，但输给 Rh 阴性的受血者后，仍然有免疫产生抗 D 的可能，故

当 D^u 型作为供血者时，应作为 Rh 阳性处理；若 D^u 型者作为受血者时，应接受 Rh 阴性血液。实际上，D^u 型红细胞如果输给没有抗 D 的受血者后，D^u 型红细胞可以被抗 D 加速破坏。D^u 型的婴儿发生新生儿溶血病，以及输入 D^u 型红细胞，与抗 D 血清反应产生严重溶血性输血反应，时有报道。

3. D^u 型对实验室工作的影响

①实际试验中，通常与大部分盐水反应相抗 D 血清不产生直接凝集反应，只有用间接抗人球蛋白试验，反应阳性者，才能定为 D^u 型；

②献血者为 D^u 型者，应归类 Rh 阳性；

③受血者为 D^u 型者，应归类为 Rh 阴性最为安全。

二、C、c、E 和 e 抗原变异型

1. C 和 c 抗原变异型　有 C^w 型、C^x 型、C^G 型等。

2. E 和 e 抗原变异型　有 E^w 型、E^u 型、E^T 型、e^s 型、hr^s 型、hr^B 型、e^i 型等。

以上 Rh 血型的变异型，在临床上很少见到，故不详述。

第五节　Rh 血型的临床意义

一、Rh 血型不合输血引起的溶血反应

绝大多数的 Rh 抗体都是由于接受 Rh 血型不合的血液或产妇 Rh 血型的妊娠等同种免疫作用而产生；天然产生的 Rh 抗体极为少见。如果某个体已产生 Rh 抗体，在输入 Rh 血液不合时，将发生溶血性输血反应，严重者可导致死亡。其中最常见的是抗 D 抗体。已报道的可以造成溶血性输血反应的抗体还有：抗 C 抗体、抗 c 抗体、抗 E 抗体、抗 e 抗体、抗 C^w 抗体、抗 Ce 抗体、抗 cE 抗体和抗 CE 抗体等。

二、Rh 新生儿溶血病

胎儿和母亲有相互独立的血液循环系统，母体血液与胎儿血液之间隔着胎盘屏障，只能间接地进行物质交换，因此当胎儿血液经脐动脉以及分支流入胎盘绒毛的毛细血管时，要通过胎盘屏障的隔离作用，使母体与胎儿血液中的有效成分如红细胞、白细胞等不能通过胎盘屏障而彼此混合。血细胞不能通过胎盘但胎盘屏障有小的渗漏时，胎儿血液可渗入母亲血液循环中，5%～10%的孕妇在妊娠 2 个月时，在血液中可以找到胎儿的红细胞；妊娠 7～9 个月时，有 10%～20%的胎儿血液进入母体循环，其数量在 0.1～30ml。胎儿和母亲血液之间相互渗透，如遇母婴血型不合妊娠时，母亲受到胎儿血液中不配合的血型抗原刺激后，可以产生相应的血型抗体，大约有 5%的 Rh 阴性产妇含有抗 D 抗体。如果是第 1 胎产生的抗 D 抗体，其效价较低，一般对胎儿无明显影响。如再次妊娠 Rh 阳性胎儿时，抗 D 抗体效价可迅速上升。其中 IgG 类的抗 D 抗体可以通过胎盘进入胎儿体内，与胎儿 Rh 阳性红细胞结合，并使红细胞破坏，发生新生儿溶血病。

Rh 新生儿溶血病与 ABO 新生儿溶血病相比，Rh 新生儿溶血病一般发生在第 2 胎，病情较重，新生儿出现黄疸时间较早，死亡率高。如果母亲血清中抗 Rh 抗体效价较高，可造成胎儿贫血、水肿，甚至胎死宫内。除抗 D 抗体外，抗 C 抗体、抗 c 抗体、抗 E 抗体、抗 e 抗体、抗 C^w抗体、抗 Ce 抗体均可致新生儿溶血病。有可能造成新生儿溶血病的抗体还有：抗 V 抗体、抗 VS 抗体、抗 cE 抗体、抗 CE 抗体等，但这些抗体较为少见。

第六节　Rh 血型的鉴定

Rh 是一个独立的血型系统，其抗原是由几个抗原因子组成的镶嵌体。由于抗原因子的组成不同而显示不同的表现型。应用抗

C、抗 c、抗 D、抗 E、抗 e 5 种血清检查，可能有 18 种表现型，结果见表 2-3。Rh 阳性与 Rh 阴性是指受检者红细胞与抗 D 血清发生凝集与否而定，发生凝集者即有 D 抗原，称为 Rh 阳性；反之则为 Rh 阴性。检查 Rh 血型的方法应根据所用抗血清的性质而定，如为 IgM 抗体可用盐水凝集试验；如为 IgG 抗体应选用木瓜酶法、间接抗人球蛋白试验、微柱凝胶卡技术等方法。基层输血科可选上述鉴定方法，一般只用一种抗 D 血清鉴定即可(表 2-4)。下面分别介绍盐水凝集法、木瓜酶法。

表 2-3　用 5 种抗 Rh 血清检查结果判断

与各抗血清的反应					受检者 Rh 表现型	Rh 阳性或阴性	
抗 C	抗 c	抗 D	抗 E	抗 e		临床上通称	血清学区分
+	+	+	+	+	CcDEe	Rh 阳性	Rh 阳性
+	−	+	−	+	CCDee	Rh 阳性	Rh 阳性
+	+	+	−	+	CcDee	Rh 阳性	Rh 阳性
+	−	+	+	−	CCDEE	Rh 阳性	Rh 阳性
−	+	+	+	−	ccDEE	Rh 阳性	Rh 阳性
−	+	+	−	+	ccDee	Rh 阳性	Rh 阳性
−	+	+	+	+	ccDEe	Rh 阳性	Rh 阳性
+	−	+	+	+	CCDEe	Rh 阳性	Rh 阳性
+	+	+	+	−	CcDEE	Rh 阳性	Rh 阳性
+	−	−	−	+	CCdee	Rh 阴性	Rh 阳性
−	+	−	+	−	ccdEE	Rh 阴性	Rh 阳性
+	+	−	+	+	CcdE	Rh 阴性	Rh 阳性
+	+	−	−	+	Ccdee	Rh 阴性	Rh 阳性
−	+	−	+	+	ccdEe	Rh 阴性	Rh 阳性
+	−	−	+	−	CCdEE	Rh 阴性	Rh 阳性
+	−	−	+	+	CCdEe	Rh 阴性	Rh 阳性
+	+	−	+	−	CcdEE	Rh 阴性	Rh 阳性
−	+	−	−	+	ccdee	Rh 阴性	Rh 阴性

表 2-4 Rh 血型鉴定

血型 \ 抗血清	抗 D 血清
Rh(+)	+
Rh(−)	−

一、盐水凝集法

(一)试管法

1. 取小试管 5 支,用记号笔标记,分别加入抗 C、抗 c、抗 D、抗 E、抗 e 血清各 1 滴。

2. 按照标记分别加入相应的 5%红细胞悬液 1 滴。

3. 混匀后置 37℃水浴 1 小时。

4. 离心沉淀 1 分钟(1 000r/min)或 3 500r/min 离心 15 秒。

5. 斜执试管,轻轻转动试管,肉眼观察有无凝集。凝集为阳性;不凝集为阴性。阴性结果可用显微镜观察结果(表 2-3)。

(二)玻片法

单用 IgM 抗 D 抗体试剂鉴定 Rh 血型见图 2-1。

二、木瓜酶法

1. 取小试管 5 支,用记号笔标记,分别加入抗 C、抗 c、抗 D、抗 E 血清各 1 滴,再各管分别加入 1%木瓜酶液 1 滴。

2. 按照标记分别加入相应 5%受检者红细胞悬液 1 滴。

3. 混匀后置 37℃水浴 1 小时。

4. 1 000r/min 离心 1 分钟或 3 500r/min 离心 15 秒,观察凝集结果。

5. 对照管 2 支,分别加抗 D 及抗 AB 型血清 1 滴,再加 5% RhD 阳性红细胞悬液及木瓜酶液各 1 滴,混匀后与受检者管同时置入 37℃水浴 1 小时。

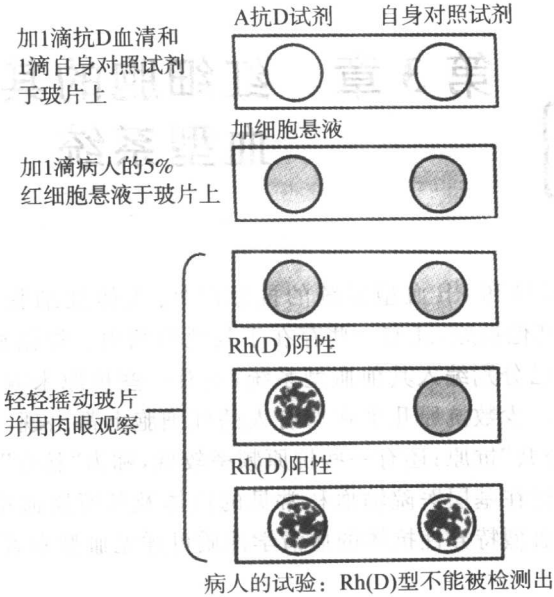


图 2-1　Rh(D)分型玻片法试验

6. 结果判断，如阳性对照管凝集，阴性对照不凝集时，被检管凝集即表示受检红细胞含有相应抗原；如被检管不凝集则表示受检红细胞不含有相应抗原(表 2-4)。

（王振芳　张志玲）

第3章　红细胞的其他血型系统

除ABO和Rh血型系统的抗原以外，人体红细胞还可检出300多种其他抗原，还有一些存在于其他组织内。根据相互关系，有些抗原已分别编入其他血型系统，尚有一些抗原未编入已知的血型系统。少数抗原几乎在所有人的红细胞上都出现，被称为高频率或“公共”抗原；还有一些抗原频率较低，称为“私有”抗原。本章主要简述在基层医院输血科常见的抗体及其所属血型系统，其他重要的血型特异性抗体的血清学性质可详见血型专著。

第一节　MNSs血型系统

1927年，Landsteiner和Levine用人的M、N型红细胞免疫家兔而制出抗M抗体和抗N抗体。根据这两种抗体，把人群分为三型：

1. 红细胞仅能被抗M凝集者为M型。
2. 红细胞仅能被抗N凝集者为N型。
3. 红细胞能被抗M及抗N凝集者为MN型。

以上三型目前在国内人群中发生率的报道还不太广泛。王振芳等报道了河北邢台地区汉族人MN血型三型占有率分别为：50.5%、22.59%及26.91%。

1947年由Race和Sanger进行详尽的研究，发现一种新抗体，命名为S抗体。在1951年Levine等发现了抗s抗体。由于这第2种抗体的发现，对MN与Ss之间的关系可作这样的解释，

即存在着一对与M及N有区别但又紧密联系的基因，合成为MNSs血型系统。

一、MNSs血型的遗传

MN血型的抗原由2个等位基因控制遗传而产生3种血型：M、N、MN型(表3-1)。

表3-1 MN血型

表现型	遗传型	抗M血清	抗N血清
M	MN	+	−
N	NN	−	+
MN	MN	+	+

Ss血型与MN血型紧密连锁而成MNSs血型系统。这4个基因可能有10种排列方式。因为s极为稀有，所以表中列出的各表现型是用M、N及S 3种抗血清所确定(表3-2)。

表3-2 由抗M、抗N、抗S确定MNSs表现型和基因型

抗M	抗N	抗S	表现型	基因型
+	−	+	MS	MSMS
+	−	−	Ms	MSMs MsMs
+	+	+	MNS	MSNS MSNs MsNS
+	+	−	MNs	MsNs
−	+	+	NS	NSNS NSNs
−	+	−	Ns	NsNs

二、MNSs 血型的鉴定

MN 血型也有亚型，称为 M_2 型 N_2 型。特别是 N_2 型对抗 N 血清的反应很弱，因此遇到 MN 型时误为 M 型，故在检验时需认真观察。

S 抗体和 s 抗体不像抗 M 和抗 N，通常需经红细胞刺激才能产生。所以这些抗体都有引起新生儿溶血病和溶血性输血反应的能力。在检测 S 抗体或 s 抗体时，需要用间接抗人球蛋白试验，有条件的实验室也可用微柱凝胶卡法。

天然产生的 M、N 抗体常是冷抗体，在检测血型及交叉配血时，室温 20℃左右可出现弱凝集，要注意仔细观察结果，这种冷抗体在 4℃凝集较强。总之，在临床输血、法医学、亲子鉴定中有重要意义。

1. MN 血型鉴定　MN 血型是一个独立的血型系统。用市售抗 M、抗 N 两种血清，可以鉴定 M、N、MN 三种血型，如表 3-1 所示。

(1)材料

①抗 M 和抗 N 标准血清；

②受检者 2%红细胞悬液；

③已知的 M 型和 N 型对照，配成 2%红细胞悬液各 1 份。

(2)操作

①取玻片 3 张，每块左侧标明 M，右侧标明 N，3 块玻片分别标明 M 对照、N 对照及受检者姓名；

②在每张玻片左侧各加抗 M 血清 1 滴，右侧玻片上加抗 N 血清 1 滴；

③然后再按标记分别加入已知 M 和 N 的对照及受检者 2%红细胞悬液各 1 滴，用玻棒或牙签搅和；

④转动玻片数次，放置室温中 15 分钟，观看结果；

⑤按表 3-1 判断受检者血型。

2. Ss 血型鉴定　抗 S 与抗 s 抗体是免疫抗体，在 37℃有活性，可引起新生儿溶血病和溶血性输血反应。S 抗原是和 MN 抗原连锁的，其等位基因是 S 和 s。用抗 S 血清可以鉴别表现型 S 和 s。

(1)材料

①抗 S 标准血清；

②受检者 2%红细胞悬液；

③已知的 S 和 s 型对照，配成 2%红细胞悬液各 1 份。

(2)操作

①取出小试管 3 支，分别标明 Ss 及受检者姓名，各加抗 S 血清 1 滴；

②按照标记分别加相应红细胞悬液 1 滴；

③混匀后放置 37℃水浴 1 小时；

④先看对照。S 型对照应呈凝集，s 型对照应不呈凝集；

⑤按表 3-3 判断受检者血型。

表 3-3　Ss 血型鉴定

血型 \ 抗血清	抗 S 血清
S	+
s	−

第二节　P 血型系统

一、P 血型

1927 年 Larndsteiner 和 Levine 在 M 和 N 型动物实验中同时发现了 P 血型。他们用人的红细胞免疫家兔后得到 1 份抗 P 抗体。该抗体能够凝集一部分人的红细胞，据他们报道，P(+)占

78%，P(－)占22%。因此区分出了P(＋)、P(－)2种血型。抗P抗体的最适反应温度是4℃，室温也偶然可以检测到。37℃几乎不发生凝集反应。

1951年Levine等发现了Jay血型的抗Tja抗体。此种抗体几乎能凝集所有人的红细胞。有抗Tja抗体的人均属P(－)，并且用P(－)的红细胞吸收抗Tja抗体，则可留下与抗P抗体特异性相同的抗体。从而初步认为P血型是Jay血型的一部分，抗Tja抗体是由抗P_1抗体，加抗P抗体组成，而起初人们认为抗P抗体实际上就是抗P_1抗体。P血型系统有3种抗原，即P_1，P_2，P，它们的表现型和遗传型见表3-4。

表3-4　P血型

表现型	遗传型		血清中的抗体
P_1	P_1P_1 P_1P_2 P_{1p}	(约75%)	无
P_2	P_2P_2 P_{1P}	(约25%)	有时有抗P_1抗体
$P^{[Tj(a-)]}$	PP(稀有)		抗P_1＋P(抗Tja)抗体

二、P血型鉴定

利用抗P_1试剂，可以区别P_1与P_2型。1份标本应当用3批不同批号的抗P_1血清鉴定，试验温度根据所用抗血清而定，最好选用一种能在低室温(15℃)反应良好的血清，如若室温太低(4℃)其他冷凝集可干扰试验结果。P血型鉴定用玻片法或试管法均可。

下面以玻片法为例。

(1)材料

①抗 P_1 标准血清；

②受检者 2%红细胞悬液；

③已知的 P_1 和 P_2 型对照，配成 2%红细胞悬液各 1 份。

(2)操作

①取玻片 2 张，1 张标明受检者姓名，1 张标明 P_1 及 P_2 对照，各加抗 P_1 标准血清 1 滴。用玻棒或牙签分别搅和；

②转动玻片数次，室温中放置 15 分钟；

③先看对照，P_1 对照应呈凝集，P_2 对照应不呈凝集；

④按表 3-5 判断受检者血型。

表 3-5 P 血型鉴定

抗 P_1	表现型	抗原	遗传型
+	P_1	P(+)	P_1P_1，P_1P_2
−	P_2	P(−)	P_2P_2

第三节 Lewis 血型系统

1946 年 Mourant 发现了 Le^a 抗体，该抗体能够凝集带有 Le^a 抗原的红细胞，与 ABO 血型分泌型有密切的关系。

1948 年 Andresen 发现与此相对称的抗 Le^b 抗体。同年 Grubb 证明有 Le(a+)红细胞的人都属于 ABH 的非分泌型。Le^a 和 Le^b 是 Lewis 血型系统中最常见的两个抗原，它们与其他红细胞表面抗原上的血型抗原有两点明显不同之处：①Lewis 抗原最初是以水溶性的抗原形式存在于人体血清、唾液等分泌液中，而后被红细胞表面吸附并表现出与 Lewis 血清的反应；②Lewis 物质的产生受控于一个独立的 Lewis 座位，该座位和 HAB 分泌座位的 Sese 之间不连续，但是 Lewis 物质和 HAB 物质起源于一个共同的前身物，因此在血清和唾液中 Lewis 物质的出现与否还受到

HAB分泌型的影响。在检查Lewis基因时，要从受检者红细胞和唾液两个方面进行检测。

Lewis血型检查法：用抗Lewis鉴定红细胞，最好用3批抗Lewis血清；将等量的血清与受检者2%红细胞悬液混合于试管中，放置室温2小时或3 500r/min，离心30秒；同时要用已知Le^a阳性和Le^a阴性红细胞做对照，结果见表3-6。

表3-6 Lewis血型系统的表现型

红细胞与下列抗血清反应		表现型	ABH物质的分泌
抗Le^a	抗Le^b		
+	−	Le(a+b−)	非分泌型
−	+	Le(a−b+)	分泌型
−	−	Le(a−b−)	通常分泌型

第四节 其他血型系统

一、Kell血型系统(表3-7)

表3-7 Kell血型系统的表现型

红细胞与下列抗血清反应						表现型
抗K	抗k	抗KP^a	抗KP^b	抗Js^a	抗Js^b	
+	−					K+k−
+	+					K+k+
−	+					K−k+
		+	−			KP(a+b−)
		+	+			KP(a+b+)
		−	+			KP(a−b+)
				+	−	Js(a+b−)
				+	+	Js(a+b+)
				−	+	Js(a−b+)
				−	−	Ko

二、Kidd 血型系统(表 3-8)

表 3-8　Kidd 血型系统的表现型

红细胞与下列抗血清反应		表现型
抗 JK^a	抗 JK^b	
+	−	JK(a+b−)
+	+	JK(a+b+)
−	+	JK(a−b+)
−	−	JK(a−b−)

三、Duffy 血型系统(表 3-9)

表 3-9　Duffy 血型系统的表现型

红细胞与下列血清反应		表现型
抗 Fy^a	抗 Fy^b	
+	−	Fy(a+b−)
+	+	Fy(a+b+)
−	+	Fy(a−b+)
−	−	Fy(a−b−)

四、Lutheran 血型系统(表 3-10)

表 3-10　Lutheran 血型的表现型

红细胞与下列抗血清反应		表现型
抗 Lu^a	抗 Lu^b	
+	−	Lu(a+b−)
+	+	Lu(a+b+)
−	+	Lu(a−b+)
−	−	Lu(a−b−)

(王振芳　杨莉芹　梁朝霞)

第4章 HLA系统

HLA系统是一个存在于有核细胞表面的多形性抗原系统，即白细胞、血小板及大多数组织细胞均包括在内。白细胞膜上的抗原可以分为三类：第一类是红细胞血型抗原，如A、B、H、Tja、Le^a、Le^b、I、i、u、JK^a、JK^b、K、k、Di^b等；第二类是白细胞本身特有的抗原，如中性粒细胞上的NA、NB、NC、ND、NE等系统的抗原；第三类是与其他组织细胞共有的，也是最强的同种抗原，即人类白细胞抗原(human leucocyte antigen，HLA)。随着研究的不断深入，近年来，HLA广泛地应用于基础医学、临床医学、预防医学、法医学、社会医学以及地理医学等方面。HLA与临床成分输血的疗效及防止输血反应有重要的意义。

第一节 HLA系统的发现

人类第一个白细胞抗原Mac，是1958年由Dausset首次发现的。Dausset在多次输血中，获取27份含有白细胞抗体的血清，他把这些血清与一组供体白细胞做凝集试验，发现其中有20份血清几乎与所有的白细胞都反应，其余7份血清只与大约60%的法国人白细胞反应，而不与提供血清的7例病人的白细胞反应。他把这7份血清中的抗体称为抗Mac抗体。在把Mac阳性的血液输给Mac阴性病人后，病人能够产生Mac抗体。家系调查表明Mac抗原的遗传和ABO血型一样，符合孟德尔遗传定律。从此以后，人们对白细胞抗原系统的认识向前迈进了一大步。

1958年Payne和Van Rood各自发现某些产妇血清中含有白细胞抗体，且该抗体的发生率随妊娠次数增多而提高，这个发现为今后研究白细胞血型奠定了基础。

1963年Van Rood经过5年的不断研究探索，使用统计学方法并借助电子计算机，建立了HLA抗血清集群分析方法，成功地检出了HLA-Bw_4和HLA-Bw_6抗原；打通了HLA分型的道路。

1964年Bain等发现了两个无关个体的白细胞在体外一起培养时，会发生增殖反应，淋巴细胞转化为淋巴母细胞，这个现象被称为混合白细胞反应(mixed lencocye reaction，MLR)，它可以作为两个个体组织相容性配合程度的量度，又被形象地称为“试管中的器官移植”。后来在MLR的基础上建立了混合淋巴细胞培养(MLC)分型，预处理淋巴细胞分型(PLT)和细胞介导的淋巴细胞毒(CML)等技术，它们也被用来检查HLA的基因产物。在此期间，白细胞分型的血清学方法也有了很大进展，在白细胞凝集试验基础上，又开始试验细胞毒试验技术。Waiford首先把兔血清作为细胞毒试验中的补体来源，Terasaki又把这一技术改良为微量法，从此建立了微量淋巴细胞毒试验。同年在Amos的倡导下，举行了第一届国际性的“组织相容性试验专题讨论会”，会上白细胞血型研究的学者们相互交流经验，交换血清，统一技术，统一命名。通过讨论会的形式，把各自若干的研究人员组成国际的大协作，大大加快了HLA的研究进展。随后Amos又协助美国国立卫生研究院建立了HLA血清库，HLA抗血清从此在国际间广泛交换。

1965年举行了第二届国际讨论会，会上不少专家认为人类中可能存在一个单独的组织相容性基因座位，并着手研究白细胞配型与皮肤、白细胞配型与肾移植的关系。

1967年第三届国际讨论会召开，会上学者们报道了六个白细胞抗体，发现它们可能受控于两个亚座位。同年，Allen等25位学者提议，决定把人类白细胞抗原的遗传座位称为HL-A，即组织相容性座位A(histocompatibility Locus-A)。

1968 年世界卫生组织(WHO)组织了一个命名委员会,会上采纳了 Allen 等的建议,正式将人类白细胞抗原的遗传座位使用统一符号——HL-A。

1970 年国际第四届讨论会上,证实了 HL-A 遗传区存在 A、B 两个座位,提出可能存在第三个座位的假设。HL-A 特异性已检出达 21 种。

1972 年举行的第五届国际讨论会上,把 HL-A 群体遗传学的研究作为重点课题。

1975 年第六届讨论大会确定了 HLA-C 和 HLA-D 座位,同时给 HL-A 以新的定义,并决定以符号 HLA 取代 HL-A。HLA 代表人类白细胞抗原复合物(human leucocyte antigen A complex)。

1977 年第七届讨论会上,DR 座位被证实。

1980 年第八届讨论会上,对 Dansset 发现人类第一个白细胞抗原的贡献;Bendcerraf 发现小鼠免疫反应基因的成就以及从事研究小鼠 H-2 系统的 Sneii 等三人,颁发了诺贝尔医学奖金。他们所做的突出贡献概括了对主要组织相容性系统研究所取得的主要成果。第八届讨论会上还确定了 HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-D 和 HLA-DR 5 个位点的 92 个抗原。

1984 年 Bodmer 等人,发现了 HLA-D 区的另外两个位点 DP 和 DQ。同年第九届讨论会上,确认了 HLA-DP 和 HLA-DQ 位点及 HLA 系统的 124 个抗原。

20 世纪 80 年代中后期,HLA 研究由血清学向分子生物学过渡。

1987 年第十届讨论会公布了 HLA 系统已有 148 个抗原,分子生物学研究受到了极大的重视。

1991 年及 1996 分别召开了第十一届、第十二届讨论大会,使以往的血清学全面转向 HLA-DNA 分型研究。

第二节 HLA抗原

HLA系统抗原的重要性，仅次于ABO血型抗原，在临床组织脏器的移植上表现突出，故也称移植抗原、组织抗原和白细胞抗原。HLA抗原主要存在于细胞膜上，不同细胞上的抗原分子多少不同。HLA-Ⅰ类和Ⅱ类抗原的表达可以由细胞因子如γ-干扰素等诱导。HLA-Ⅰ类抗原分布相当广泛，所有有核细胞均有，淋巴细胞上最多；HLA-Ⅱ类抗原分布的组织比Ⅰ类抗原少得多，密度最高者为树突状细胞；HLA-Ⅲ类抗原有两种特异性Chido和Rodgers，这实质上是C4的两种抗原成分。

HLA-Ⅰ类抗原由两条糖蛋白链构成，分为重链和轻链。重链分为HLA-A、HLA-B、HLA-C 3型，分子量45kD，有多态性。轻链为β_2微球蛋白，分子量12kD，无多态性。重链由HLA基因编码，轻链则不由HLA基因编码。重链和轻链以非共价键相连接。重链插入细胞膜，留在细胞膜外的部分折叠为三个功能区，每个功能区大约含90个氨基酸，靠近细胞膜的功能区为α_3，后面依次为α_2和α_1。从而形成HLA-Ⅰ类抗原的多态性。

HLA-Ⅱ类抗原由两条多肽链通过共价键连接而成，两条肽链的分子量分别为32～35kD(α链)和25～29kD(β链)。每条肽链上都带有糖基。β链由237个氨基酸残基组成，其中200个在细胞膜外，有两个二硫键。

第三节 HLA抗体

HLA抗原由复杂的球蛋白构成，表面极不规则。单一的HLA基因产物含有几个抗原决定簇(epitopes，表位)，可以刺激机体产生不同的同种抗体。

临床上HLA抗体多由输血、妊娠及器官移植等免疫产生。

妊娠产生 HLA 抗体的概率高于 5%。根据同种表位可以把同种抗体分为两组。

1. 仅与一种 HLA 基因产物反应的抗体。这些抗体只与特有的表位结合，这些表位是单一的 HLA 等位基因产物。

2. 能与不止一种 HLA 基因产物结合的抗体。这种抗体与结构类似的特有表位或几种 HLA 基因产物的共有表位结合，产生血清学交叉反应。共有表位常见，特别是 HLA-Ⅰ类抗原。HLA-Ⅰ类共有表位的最好例子是 Bw_4 和 Bw_6 特异性，每个人 HLA-B 抗原均具有其中一种表位。也就是说，每种 HLA-B 特异性都一定与 Bw_4 或 Bw_6 或抗体中的一种反应；也可以说每种 HLA-B 抗原一定属于 Bw_4 或 Bw_6 中的一种。不同的 HLA 位点之间可以发生交叉反应，但并不常见，如 A2 与 B17、A9 与 A32 和 Bw_4 与 Bw_6。HLA-DR 与 HLA-DQ 血清反应一般呈对应关系。

共有表位频率比较高，在器官移植时，当受者血清含一种或两种针对共有表位的抗体时，供者与受者 HLA 定型要绝对一致。

HLA 抗体的免疫球蛋白除极少见的 IgM 外，绝大多数为 IgG。

第四节　HLA 抗原抗体检测

一、HLA 抗原检查方法

HLA 抗原是淋巴细胞膜上的一种抗原，现已能检出 120 多种特异性抗原。根据它们受控的遗传座位不同，可以分为 A、B、C、D、DR、DQ、DP 等多个系列；根据检测方法不同，可以分为血清学检测出的抗原（简称 SD 抗原），淋巴细胞培养方法检测出的抗原（简称 LD 抗原）。

下面介绍检查 HLA 抗原的基本方法：

(一)微量淋巴细胞毒试验

该试验最为简便,HLA-A、HLA-B、HLA-C抗原常使用该方法,也称血清学方法。根据检测抗原的多少,一般采用受检者静脉血5～40ml。检查A、B、C抗原可以用从血液中分离出来的T淋巴细胞或T、B混合的淋巴细胞,而检查DR和DQ抗原必须用B淋巴细胞。因为通常制备的淋巴细胞,经进一步处理后成为富含B细胞的产物,Ⅱ类抗原不分布在T淋巴细胞表面,故必须去除T淋巴细胞以防干扰。细胞毒试验的基本原理是:淋巴细胞膜上的HLA抗原,与相应抗体相结合,在补体存在的情况下,破坏细胞膜,经过染色,使染料进入细胞而着色;如果抗原和抗体未结合,则细胞膜完整,染料无法进入。在显微镜下估计着色细胞的百分数,如死亡细胞(即着色细胞)比例高于20%,认为是阳性反应,即存在相应的抗原。

HLA分型血清主要是从产妇中筛选获得。由于胎儿母亲HLA不配合,可使母亲产生HLA抗体。一般情况下有5%～20%的产妇血清中有HLA抗体。在分娩后2～3周抗体效价达高峰,随后渐渐下降。但也有极少数产妇HLA抗体长期存在,甚至维持几十年。再则,通过输血、计划免疫及使用纯化的HLA抗原免疫动物,均可产生HLA抗体。

将已知特异性HLA抗血清置于微量分型板的孔内,将浓缩淋巴细胞悬液(1×10^6～2×10^6/ml)加入这些小孔内。如果淋巴细胞有与抗血清中抗体相应的抗原,此时抗体即可结合到细胞上。然后向分型板孔内加兔补体。如淋巴细胞膜上结合了足量的抗体,补体可被激活,使细胞膜受损,增加了细胞膜的渗透性。当加入伊红-Y或锥虫蓝时,染料可透过受损细胞膜,使细胞着色;而没有受损的细胞可排斥染料,在镜下呈无色折光。

1. 材料

①从新鲜肝素化血液(20U无钠肝素/ml)中,分离出T淋巴细胞或外周血淋巴细胞(PBL),调节细胞浓度;

②先向分型板加入已知特异性的 HLA 抗血清；

③适合于 HLA-A、HLA-B、HLA-C 分型用的新鲜或干燥冰冻兔血清；

④37%甲醛溶液，pH 值 7.2；

⑤5%伊红溶液；

⑥分型板盖；

⑦多联加样器；

⑧吸管；

⑨相差显微镜。

2. 方法

①将淋巴细胞悬液浓度调为 $1.0\times10^6\sim2.0\times10^6$/ml，混匀；

②用前将血清板从－70℃冰箱中取出，置室温 15 分钟；

③检查血清板，以防未加入抗血清；

④加样时，将加样器针头用去离子水洗 8～10 次，在加入不同细胞间，须重复冲洗加样器；

⑤用加样器向血清反应孔内加入 1μl 混匀的细胞，加样针头勿接触血清，以免被遗留血清污染；

⑥用振荡器快速混匀；

⑦在加补体前 30 分钟，将补体从－70℃冰箱中取出，室温下融化后，立即混匀并置于 4℃下保存；

⑧血清板室温(20～25℃)孵育 1 小时；

⑨每孔加补体 5μl；

⑩室温(20～25℃)孵育 1 小时；

⑪每孔加入 5μl 5%伊红溶液，静置 5 分钟，使染料充分进入死亡细胞内；

⑫加入 10μl 37%的甲醛溶液(pH 值 7.2)，并混匀；使细胞下沉 10 分钟；

⑬备用 50mm×75mm 显微镜载玻片倾斜并轻盖血清板上，以防有气泡。静置 30 分钟，使细胞能充分下沉。

3. 结果判断

①用一般相差显微镜观察各孔，目镜用16倍或12.5倍，物镜用10倍，小而亮、排斥染料的为活细胞，较大、颜色较深则为死亡细胞；

②参考阴性、阳性对照，计算死亡细胞相对阴性对照的增加百分率；

③结果判断标准见表4-1。

表4-1 微量淋巴细胞毒试验结果

分数	结果	死细胞(%)
1	阴性	0～10
2	可疑阴性	11～20
4	弱阳性	21～50
6	阳性	51～80
8	强阳性	81～100

4. 注意　每个HLA-A、HLA-B、HLA-C抗原定型要用三个以上抗血清，单特异性血清要用两个。

(二)混合淋巴细胞培养试验

20世纪60年代初，有人发现毫无关系的两个淋巴细胞在体外适宜环境中混合培养，可以相互刺激使细胞活化并向母细胞转化，出现分裂增殖现象。这一试验即混合淋巴细胞培养试验。该试验临床主要用于器官移植，即将供体与受体进行预期的配合。使遗传学上毫无关系的两个个体的细胞混合培养，辨认完全不同的“D”抗原在刺激DNA合成上的差异，借助对3H-胸腺嘧啶核苷的摄取进行定量。并与三个不相关对照比较，反应越低，移植存活率越高。

本试验是测定供体与受体之间组织配型抗原相容程度的主要试验方法之一。

二、HLA 抗体检测

当输入不同型的白细胞或通过胎儿免疫，均可刺激机体产生白细胞抗体。具有白细胞抗体的受血者于接受具有相应抗原的血液时，发生抗原抗体反应，致白细胞破坏而释放出类似致热原物质，使受血者出现发热、体温升高、寒战等反应，严重者威胁受血者生命。白细胞抗体还与组织抗体有着相同的特异性，故白细胞抗体免疫学在临床输血与器官移植等方面具有重大意义。

(一)白细胞凝集试验

1. 白细胞的分离

①静脉采血 10ml，注入 5%EDTA 试管中，再加 2.5ml 血浆凝胶，颠倒混匀后垂直置室温 20～30 分钟；

②取红细胞上的白膜层及其上血浆，放入另一试管，170r/min 离心 10 分钟，测定物中为红细胞和白细胞；

③吸出上述②上层液的 1/2，1 500r/min 离心 30 分钟，得到不含血小板的血浆；

④上述②的沉淀物重悬浮后置室温 20～30 分钟，吸取上层白细胞悬液，加入等体积 EDTA；

⑤取上述③制备的不含血小板的血浆 2ml，置入试管中，将上述④制备的白细胞悬液轻轻铺在血浆上，170r/min 离心 2.5 分钟，使白细胞沉到管底，而血小板仍然悬浮在血浆中，弃去上清液得到压积白细胞；

⑥取上述③制备的血浆 3ml，加入 1ml EDTA，用此血浆与上述⑤制备的白细胞配制成悬浮液，浓度为 5 000～6 000/μl。

2. 操作步骤

①受检血清于 56℃灭活 30 分钟；

②取小试管依次加入受检血清 0.02ml、白细胞悬液 0.02ml，混匀置室温反应 2 小时；

③用吸管轻轻将反应物吸在载玻片上，用显微镜观察凝集

情况；

④取不含白细胞凝集抗体的 AB 型血清作阴性对照，试验环境温度要保持在 22℃左右。

3. 结果分析

①阳性：白细胞凝集成块；

②4＋：白细胞凝集成大块，无离散白细胞；

③3＋：白细胞凝集块较大，离散白细胞占全部视野的 25％以下；

④2＋：白细胞凝集块中等大，离散白细胞占全部视野的 25％～50％；

⑤1＋：白细胞凝集块较小，离散白细胞占全部视野的 50％～75％；

⑥阴性：白细胞均匀游离散在。

4. 注意事项

①白细胞凝集试验重复性差，故操作时须特别注意，在温度、摇动、吸出抗原抗体复合物时，每次操作须一致；

②新鲜血清中有抑制因素，一定要灭活；

③白细胞悬液最好不超 6 小时，时间过长易出现假阳性，要注意阴性对照；

④白细胞悬液不易过浓或过淡，以 5 000～6 000/μl 为宜；

⑤白细胞悬液要防污染，注意无菌操作，以防发生假阳性。

(二)白细胞抗人球蛋白消耗试验

白细胞抗体也分 IgM 和 IgG 两种抗体，IgG 抗体在盐水中不反应。白细胞经过反复洗涤后，还会出现本身凝集。故做抗人球蛋白试验不易。要检测白细胞的 IgG 抗体，应选用白细胞抗人球蛋白消耗试验，其原理是白细胞上若有 IgG 抗体存在，与抗人球蛋白血清相遇时必起凝集反应，抗人球蛋白血清的抗球蛋白效价必有不同程度的消耗。若能确定有消耗，即可间接证明有不完全抗体存在。确定消耗的方法是以抗 Rh(D)IgG 抗体致敏的红细胞

为指示系统，观察抗人球蛋白血清效价于接触白细胞前后的变化，方法有直接和间接之分，前者专为检查白细胞自身抗体，后者检查同族抗体。

1. 直接白细胞抗人球蛋白试验

①采病人静脉血 20ml，注入 2ml 依地酸二钠(EDTA-2Na)生理盐水溶液试管中；

②采正常人静脉血 20ml，同上处理，作为对照；

③取标本管和对照管血液 20ml，每管各注入 2ml 2%EDTA-2Na 溶液混匀，再各加 1/4 体积的右旋糖酐混匀后，将试管斜置 45°，放入 37℃水浴 45 分钟，然后竖起 10 秒，吸取上清液放入另一试管，1 000r/min 离心 2 分钟，以去除红细胞，吸上面悬液置一试管中，以 2 000r/min 离心 10 分钟，取压积白细胞盐水洗 3 次，加盐水至 0.3ml，分别加抗人球蛋白血清 0.3ml，充分混合置 20℃15 分钟，取出后吸出上清液，标本标记为 P，对照是 C；

④指示系统的制备，取 IgG 抗 D 血清 0.6ml，加压积 Rh 阳性红细胞 0.3ml，混合后置 37℃水浴 1 小时，取出后用盐水充分洗涤 3 次，制成 5%红细胞悬液；

⑤测定抗人球蛋白血清的消耗，取小试管 30 支排三排，并予标记第 1 排为 P，第 2 排为 C，第 3 排为 N(即未接触白细胞的抗人球蛋白血清)，每管各加 0.2ml 生理盐水，于每排的第 1 管各按标记加入经过消耗的或未接触白细胞的各抗人球蛋白血清 0.2ml，吹吸混匀后吸出 0.2ml 至第 2 管，依此类推至第 10 管弃去 0.2ml，然后各加人抗 D 致敏的 Rh 阳性红细胞悬液 1 滴，混合后置 37℃水浴 1 小时，随后读取各排的效价；

⑥结果分析，第 1 排的效价假如低于第 2 排 1/4 倍(2 管)，即为试验结果阳性，第 3 排是对照即抗人球蛋白效价。

2. 间接白细胞抗人球蛋白消耗试验

①取被检者新鲜血清，37℃水浴预温。

②正常 AB 型血清同上处理。

③白细胞悬液，采用与被检者相同正常人血液 10ml，注入 1ml 2%EDTA-2Na 生理盐水试管内摇匀，加 1/4 体积的右旋糖酐后混匀，将试管斜置 45°，放 37℃水浴 45 分钟，然后竖起 10 秒钟，吸取上清液放入另一试管，静止 30 分钟，取下层液于另一试管中，用盐水洗涤 2 次后，加 1%EDTA-2Na 使成 1.2ml。

④致敏，取试管 4 支，分别标明：A、B、C、D 管。A 管加入受检者血清 0.6ml，再加白细胞悬液 0.4ml；B 管加正常 AB 型血清 0.6ml，再加白细胞悬液 0.4ml；C 管内加入盐水 0.6ml，再加白细胞悬液 0.4ml；D 管加 IgG 抗 D 血清 0.6ml，再加密集的 Rh 阳性红细胞 0.3ml，将 A、B、C、D 4 管放入 37℃水浴 1 小时。将 A～C 管用盐水洗涤 3 次，留沉淀备用。D 管用盐水也洗涤 3 次，然后制成 5%红细胞悬液。

⑤于 A～C 管加抗人球蛋白血清 0.3ml，充分混匀放 37℃15 分钟，吸出上清液备用。A 管标记为 P；B 管标记为 C_1；C 管标记为 C_2。

⑥测定抗人球蛋白血清的消耗，取试管 40 支排为 4 排，每排 10 支，并予标记第 1 排为 P，第 2 排及第 3 排分别为 C1 及 C2，第 4 排为 N(即未与白细胞接触的抗人球蛋白血清)。每管各加生理盐水 0.2ml，于每排的第 1 管各按标记加入上述④中的上清液，即被吸收过的抗人球蛋白血清 0.2ml，吸吹混合后吸出 0.2ml 至第 2 管，依此类推至第 10 管弃去 0.2ml。然后各加入经 Rh(D)致敏的 Rh 阳性红细胞悬液 1 滴，混合后放 37℃水浴 1 小时，随后读取各排的效价。

⑦结果分析，第 1 排的效价假如低于第 2、3 排 1/4 倍(2 管)以上，即为试验结果阳性。

3. 直接和间接抗人球蛋白消耗试验

①病人和正常人白细胞悬液的处理，取病人和正常人白细胞悬液管，各加 1/4 体积右旋糖酐，混合后，将试管斜置 45°，放 37℃水浴 45 分钟，然后竖起 10 秒钟，吸取上清液，放入另一试管2 000

r/min 离心 10 分钟，取沉淀用盐水洗涤 3 次，再加盐水使病人白细胞悬液成 0.3ml，正常人白细胞悬液成 1ml。

②致敏，取大试管 3 支。按表 4-2 加入各反应物（各数为毫升数）。放 37℃水浴 1 小时，第 1、2 管用盐水洗涤 3 次，加盐水成 0.2ml，第 3 管用盐水同样洗涤 3 次，制成 5%红细胞悬液。

表 4-2　直、间接抗人球蛋白消耗试验致敏反应物量

反应物	1（病人致敏的）	2（对照致敏的）	3（抗 D 致敏的）
病人血清(ml)	0.6	—	—
AB 型正常血清(ml)	—	0.6	—
IgG 抗 D 血清(ml)	—	—	0.6
正常白细胞悬液(ml)	0.4	0.4	—
O 型 Rh 阳性红细胞(ml)	—	—	0.3

③取小试管 4 支，按表 4-3 加入各反应物（各数为毫升数）充分混匀，置室温 20℃ 15 分钟，分别吸出上清液备用，标记如表 4-3 所示。

表 4-3　直、间接抗人球蛋白消耗试验消耗反应物量

反应物	1(P 直)	2(C 直)	3(P 间)	4(C 间)
病人白细胞悬液(ml)	0.2	—	—	—
正常白细胞悬液(ml)	—	0.2	—	—
病人血清致敏的白细胞(ml)	—	—	0.2	—
AB 型血清致敏的白细胞(ml)	—	—	—	0.2
抗人球蛋白血清(ml)	0.3	0.3	0.3	0.3

④测定消耗，取小试管 50 支排成 5 排。第 1 排为 P 直，第 2 排为 C 直，第 3 排为 P 间，第 4 排为 C 间，第 5 排为 N 间（即未接触过白细胞的抗人球蛋白血清），每管加盐水 0.2ml，于每排第 1

管各按标记加入上述③中的上清液，即被吸收过的抗人球蛋白血清0.2ml，吸吹混合后吸出0.2ml至第2管，依此类推至第10管弃去0.2ml，然后置37℃水浴1小时，再读各排的效价。

⑤结果分析，P直排与C直排比较，效价若低于1/4倍，即直接抗人球蛋白试验阳性；P间排与C间排比较，效价若低于1/4倍，即间接抗人球蛋白试验阳性。

第五节 HLA的实际应用

一、输 血

HLA与非溶血性输血反应有着密不可分的关系，临床输血中发热性非溶血性输血反应占55%～75%。当病人输注0.5U血时即可产生发热反应。这些反应多数是由HLA抗体破坏白细胞后释放出致热原所致。

HLA抗体引起的非溶血性输血反应临床表现为头晕、面红、恶心、寒战、体温达39℃以上，严重者可并发肺部综合征，表现为呼吸困难，双肺出现干、湿啰音，X线检查肺部有阴影，肺底浸润。有人观察到肺部症状多与献血者血清中含针对病人的HLA抗体(特别是Ⅰ类抗体)有关，也就是说，这些发热反应的原因很可能是受血者体内的HLA抗体破坏了献血者的白细胞而引起。

HLA抗体的产生，大多数是由反复输血引起，经产妇则可在妊娠时被胎儿免疫而首次输血便发生反应。为了避免HLA抗体引起非溶血性输血反应的发生，输血前可做交叉淋巴细胞毒试验，选择相合的血液输注，或输少白细胞的血液，输去白细胞血液或去白细胞成分血。

二、器 官 移 植

HLA能激活T淋巴细胞增殖或细胞溶解，产生移植排斥，导

致移植失败。临床上采取 HLA 配型能改善移植物的存活，在骨髓移植中，供、受体 HLA-A、HLA-B、HLA-DR 全相同者的存活率显然高于不同者。在尸肾移植中，HLA-DR 配型效果比 HLA-A、HLA-B 配型的更显著，但由于在 HLA 配型全相同的细胞间移植，所有的移植皮肤和约 10% 的移植肾被排斥，提示还有 HLA 配型以外的因素影响着排斥反应。

HLA 配型的作用可归纳为：①在尸肾移植中，供、受对共有 DR 抗原数越多，或已检出的 DR 错配抗原数越小，移植物存活率越高；②按 DR 挑选供、受对时，HLA-AB 配型对移植物存活影响不大，以往报道 AB 配型提高存活率，实际上是由于与 AB 抗原连锁的 DR 抗原的作用；③在移植前输血的病人中，DR 配型仍然能提高存活率。

肾移植前输血，可能诱导受者对免疫的反应产生非特异性的抑制作用，从而减轻对移植物的排斥反应，延长存活期。目前 HLA 配型在器官移植中的应用，已从单纯的配型发展到选择 HLA 型已知的血液做计划输血，以使病人对移植物产生免疫耐受，而又不降低病人的免疫防御能力。对于尸肾移植，一般选择与受者 HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DR 型大体相同，但至少有一个或一个以上抗原不同的随机献血者的血液。在亲属肾移植中，可选择 HLA 半相同的亲属做供者特异性输血；也可挑选与受者 HLA 型类似而与供者又不共有任何抗原的随机献血者。

骨髓移植与 HLA 配型最为密切。目前骨髓移植已广泛应用于再生障碍性贫血、骨髓发育不全、先天性免疫缺陷及多种白血病。成功的骨髓移植几乎都选择 HLA 全相同的家庭成员作为供者，在没有 HLA 配型全相同的同胞时，可用胎儿的肝、胸腺等移植。在这类移植中，供、受者间 HLA 配型几乎不相同。在移植成功并长期保持血液嵌合状态的病人，T 细胞主要来自供者，B 细胞主要来自受者。尽管这两类细胞 HLA 配型不同，但两者能很好合作产生针对胸腺依赖抗原的抗体。

心脏、肝脏或心肺联合移植，一般用于生命垂危的病人，可供选择的供者非常有限，实际上不可能要求 HLA 配型全相同。组织配型的最低要求是 ABO 血型配合和淋巴细胞毒交叉试验阴性。近年来使用环孢素可以提高移植成功率。角膜带有红细胞 A、B 血型抗原和 HLA 抗原，临床资料表明，供、受者 HLA 抗原相同数愈多，角膜移植的存活率也愈高。

其他器官的移植近年来也有少量报道，如胰腺移植、甲状旁腺移植、肾上腺移植、脑移植、垂体移植以及腹部多器官联合移植等等。这些器官的移植刚刚起步，它们与 HLA 配型的关系还有待今后进一步研究。

三、疾病诊断

20 世纪 60 年代有人报道 HLA-B5、HLA-B35、HLA-B15 和 HLA-B18 与霍奇金淋巴瘤有关，HLA-A2 与儿童急性淋巴细胞白血病有关。20 世纪 70 年代有人发现 HLA-B27 与强直性脊椎炎有关，大约 91%强直性脊椎炎病人带有 B27 抗原，而正常人带有 B27 的只有 6.6%，因此，检查 B27 抗原对诊断强直性脊椎炎有价值。如果某些人在检查 B27 前诊断为该病可能性为 50%，在检出 B27 时，此种可能性提高为 93%，未检出 B27 时，可能性降低为 9%，结合临床及其他检查指示，对临床诊断有更大价值。

四、疾病预报

补体组分 C_2 与 C_4 缺陷、21-羟化酶缺乏症和血红蛋白沉着症等疾病基因与 HLA 连锁。因此，可以用 HLA 作为标记，预报携带这些疾病基因的个体。例如，对生育过 21-羟化酶缺乏症患儿的母亲，再次妊娠时可检查胎儿 HLA 配型，如带有疾病基因的单倍型，可终止妊娠，这显然有优生意义。

五、亲子鉴定

HLA 系统是人类最复杂的一个遗传多态性血型系统。对亲子鉴定有重要意义原因：①HLA 系统有很高的多态性；②出生时抗原发育已很成熟；③没有一个单倍型在任何人群中发生率都高。只用 HLA 配型就能排除大约 93%被诬告的父亲，再加红细胞 ABO、MNSs、P、Rh、Lewis 等血型系统的抗原定型，排除率可达 95%；红细胞和血清蛋白定型后，排除率超过 99%。目前，国内外已将 HLA 配型作为鉴定亲子关系的重要法律证据。

六、个体识别

相同的 HLA 配型在随机人群中很难找到，故用它来作为个体识别的排除率很高。鉴于此，国内外法医都尝试用微量血迹鉴定 HLA 血型，目前国内对收集 90 天以内的血迹做 HLA 配型和 DNA 检验，其检测结果可靠稳定，为侦破案件提供了可靠的证据。

七、孪生子卵性诊断

双亲 HLA 配型相同的机会很少，HLA 配型全相同胞只有 25%，所以在孪生子卵性诊断中，HLA 系统一般总能提供信息，且发挥显而易见的作用。

（张志玲　张　维　马春霞）

第5章　血小板血型学

第一节　血小板抗原

血小板表面具有非常复杂的血型抗原。这些抗原由遗传决定，可分为两类：一类为血小板非特异抗原；另一类为血小板特异性抗原。非特异性的抗原如：ABH、Tja、Le^a、Le^b、M、N、P、I、i 等红细胞抗原，HLA 等白细胞抗原；特异性抗原由血小板特有的抗原决定簇组成，表现出血小板独特的遗传多态性，在其他细胞和组织上不被发现。

一、血小板非特异性相关抗原

1. *红细胞血型相关抗原*　1958 年 Gurner 等用混合凝集试验，发现血小板上有少量红细胞抗原。与受检者红细胞 ABO 血型抗原相一致。血小板上的 ABH、M、N、Le^a、Le^b 等抗原，可能是从血浆中吸附上去的，与 HLA 型的抗原出现于血小板上的情况相似。近年来，国内成分输血已广泛开展，临床进行血小板输注时，最好选用 ABO 血型相同的血小板；血小板 ABO 血型不同的输注，可能会使血小板寿命缩短，尤其要注意当输入浓缩血小板时，如血浆中含有高效价的抗 A、抗 B 抗体或有免疫性的抗 A、抗 B 时，可引起溶血性输血反应。

2. *HLA 型的抗原*　研究证明，血小板膜上也存在 HLA-A 和 HLA-B 位点的抗原，血小板表面是否存在 HLA-C 位点的抗原学

者说法不一。血小板上不能发现有 HLA-D/DR 位点的抗原，一般认为，血小板上的 HLA 抗原一部分是其天然形成的，另一部分是从血浆中吸附到血小板表面的。当临床遇到输注血小板无效时，不妨输注用酸溶液处理后的血小板，以除去血浆中的 HLA 抗原，提高血小板的治疗效果。

二、血小板特异性抗原

血小板特异性抗原是通过相应抗体的检出而发现的，具有独特的型特异性，并构成血小板膜结构中的一部分。1990 年国际血液学标准化委员会、国际输血协会(ICSH/ISBT)血小板血清学研讨会上，为了避免血小板特异性同种抗原的新旧血小板抗原名称混淆，专门讨论了血小板抗原系统国际命名方法，即系统前冠以 HPA，HPA 是人类血小板抗原的英文缩写。到目前，国际输血协会组织确认的血小板特异性抗原已有 5 个血型系统 10 个抗原，命名见表 5-1。

表 5-1　血小板特异性抗原

国际命名		以往抗原名		糖蛋白(GP)定位	抗原基因频率(%)	
系统	抗原	系统	抗原		白人	日本人
HPA-1	HPA-1a	ZW，PI^A	Zw^a，PI^{A1}	GPⅢa	97.9	99.9
	HPA-1b		Zw^b，PI^{A2}		26.5	3.7
HPA-2	HPA-2a	Ko，Sib	Ko^b	GPⅠb	99.3	n·t
	HPA-2b		Ko^a，Sib^a		14.6	25.4
HPA-3	HPA-3a	Bak，Lek	Bak^a，Lek^a	GPⅡb	87.7	78.9
	HPA-3b		Bak^b		64.1	n·t
HPA-4	HPA-4a	Pen，Yuk	Pen^a，Yuk^b	GPⅢa	99.9	99.9
	HPA-4b		Pen^b，Yuk^a		0.2	1.7
HPA-5	HPA-5a	Br，Hc，Zar	Br^b，Zar^b	GPⅠa	99.2	n·t
	HPA-5b		Br^a，Zav^a，Hc^a		20.6	n·t

注：n·t——未测

我国汉族人群血小板特异性同种抗原基因频率见表5-2。

表5-2 我国汉族人血小板特异性抗原基因频率

抗原	基因频率	
	上海	江苏
PI^{A1}	>0.972(1 200)	>0.999(1 977)
PI^{A2}	n·t	<0.001(1 977)
Ko^a	0.047(164)	0.101(151)
Ko^b	n·t	n·t
Bak^a	0.543(440)	0.531(1 268)
Bak^b	0.457(440)	0.643(1 268)
Yuk^a	0.009(440)	<0.001(1 760)
Yuk^b	0.991(440)	>0.999(1 760)
Br^a	n·t	0.084(141)
Br^b	n·t	0.907(141)

注:n·t——未测

1. HPA-1 血型系统　Van Loghem 等从多次输血的妇女血清中,先后发现了具有盐水凝集性的抗 HPA-1a(抗 Zw^a)和抗 HPA-1b(抗 Zw^b)血小板抗体。将 Zw 符号改为 PⅠ的定义是由 Shuiman 等提出,使之联想到血小板特异性抗原。HPA-1a 和 HPA-1b 是两个等位基因,在常染色体上是等位显性的。现已证明,Zw 与 PⅠa 血型系统是相同的,并证明 HPA-1 的抗原决定簇在血小板膜的糖蛋白 GPⅢa 的多肽键上。

2. HPA-2 血型系统　1962 年由 Van der Weerdt 等首次发现。HPA-2b(Ko^a)和 HPA-2a(Ko^b)是一对等位基因系统;前者是低频率等位基因,后者则是高频率等位基因。

3. HPA-3 血型系统　1980 年从 1 例新生儿血小板减少症的母亲血清中,发现了抗 HPA-3a(Bak^a)抗体,HPA-3b(Bak^b)是 HPA-3a(Bak^a)的等位基因,抗 Bak 是从 1 例输血后紫癜病人血

清中发现的。证明 Bak^a 与以前发现的 Lek^a 抗原是相同的。

4. HPA-4(Pen)血型系统　1985 年后 Friedman 从新生儿血小板减少症病人血清中，发现了抗 HPA-4(Pen 亦称 Yuk)血小板抗体，从而提出了新的血小板抗原 Pen。Shibata 等 1986 年介绍了一对新的等位血小板同种抗原 Yuk^a 和 Yuk^b，后来证实 Yuk^b 和 Pen 是相同的。

5. HPA-5 血型系统　1988 年由 Kiefei 等介绍，这是又一种新的血小板特异性抗原，该抗原与新生儿血小板减少症发病有关。

6. $DUZO^a$ 抗原　Moulinier 在 1957 年从 1 例血小板减少症婴儿的母亲血清中，发现了血小板特异性抗体，应用抗人球蛋白消耗试验，这种抗体能与 22% 的法国人的血小板反应，这种血小板特异性抗原被称为 $DUZO^a$ 抗原，但尚未发现这个抗原的同种异型。

7. PL^E 抗原　1964 年首次报道这个抗原，是从 1 例多次输血的病人血清中发现，目前尚未被国际正式命名。

第二节　血小板抗体

一、血小板自身抗体

血小板自身抗体可产生特发性血小板减少性紫癜(ITP)，在病人血液中可以检出血小板自身抗体，通过免疫作用，使血小板破坏增加而引起的常见出血性疾病。

血小板自身抗体在体内有两种存在形式：一种常常游离在血清中；另一种吸附在血小板表面上。由于自身抗体的存在，使血小板表现相关 IgG 增高。因此，病人 IgG 升高的水平与血小板减少程度有关。

绝大多数自身抗体是 IgG，大部分是 IgG1 或伴有 IgG3、IgG4 或 IgG2，极少数为 IgM 或 IgA，在血清中可以结合补体。血小板自身抗体不仅可与自身和同种血小板结合，而且也可与巨核细胞

结合，引起血小板破坏，影响血小板的生成。

最近发现了一种血小板放射性抗免疫球蛋白试验，检查血小板自身抗体较为敏感，且能定量测定抗体，可在急、慢性 ITP 病人以及全身性红斑狼疮病人中检测出低滴度的血小板自身抗体。

目前，临床治疗因自身抗体引起 ITP 的主要方法有应用皮质激素等免疫抑制药、脾切除术、大量血浆置换及大剂量静脉注射免疫球蛋白，减弱血小板自身抗体效价，减缓血小板的破坏。国内也有应用长春碱类药物偶联单采血小板，用于难治型 ITP 病人输注，获得了较为理想的疗效。

二、血小板同种抗体

输血、输血小板、妊娠等同种免疫，可产生血小板同种抗体。当再次输入血小板后，会产生血小板抗原和抗体的免疫反应，病人会出现畏寒、发热等症状，输入体内的血小板会迅速破坏，使病人的血小板计数不仅不升高，反而下降，导致血小板输注治疗无效。输血小板后产生的同种抗体主要针对血小板特异性抗原和 HLA 抗原，抗体产生率主要取决于输入的次数，次数越多，抗体产生率就越高。

当病人输注血小板后，产生严重同种免疫反应，可导致严重的输血后血小板减少症（或称输血后紫癜），这种综合征往往是在输全血或血小板后 1 周突然发生。大部分病人临床表现为突发性血小板减少和紫癜（主要表现为瘀点、瘀斑和黏膜出血），严重者有内脏和颅内出血等，可持续 2～6 周，个别病人因颅内出血而死亡。绝大多数病人是女性，有输血史或妊娠史。大部分病人血小板 HPA-1 抗原阴性，血清中检出抗 HPA-1 抗体。因此输血后紫癜主要是因 HPA 抗原和抗体的免疫反应使血小板受到严重破坏而产生的。

为了防止血小板同种抗体的产生以及提高血小板输注疗效，除了应常规做血小板抗体筛查及输血前血小板交叉配血试验外，

还应充分建立已知 HLA、血小板分型的血小板供者档案，一旦临床急需，马上按病人血小板血型预约同型供者。采取相同型的血小板后，再制成去除白细胞或去除白细胞活性的血液制剂，以达到安全有效的输血目的。

第三节　血小板血型抗原抗体检测方法

血小板血型抗原和抗体无论在临床医学方面，还是在临床输血实践中，都有其重要价值。血小板表面上有同族抗原。当一个人多次输入自己所缺少的血小板抗原，或妊娠时受胎儿血小板抗原的免疫刺激，就会产生抗血小板抗体，当再次输入该抗原的血小板时，血小板遭破坏而不能得到疗效。因此，在临床开展检测血小板抗原和抗体工作十分重要。目前检测血小板抗原、抗体以及交叉配血试验方法有多种。下面介绍几种具有操作简单、微量、不需要特殊器材和试剂等优点的方法。

一、血小板凝集试验

血小板凝集试验是检查血小板凝集素的。血小板凝集素是在盐水中能显凝集的抗体，目前已知有 3 种：①只于 37℃显凝集的免疫抗体，与之相应的抗原是血小板和白细胞共有的；②于 18℃及 37℃均显凝集的免疫抗体，与之相应的抗原只存在于血小板；③在 4℃和血小板凝集的冷抗体，这种抗体的临床意义不大。本节只介绍检查第 1 种抗体的方法。

(一)材料

1. 病人血清。采血之后，置 4℃12 小时，再以 2000r/min，离心 10 分钟分离血清，56℃灭活 30 分钟。每毫升血清加 0.1g 硫酸钡，振摇 5 分钟，再以 2000r/min，离心 10 分钟，取血清备用。

2. 血小板悬液制备。血小板天然易聚集，应采取各种措施使其能均匀分布。用涂有硅剂的注射器，采用与病人同 ABO 血型

的正常人血液，置于硅化试管内。每9份血液加1份5%EDTA-2Na盐水，以1 000r/min，离心6分钟，以硅化的吸管吸出上清液放在硅化试管内，以2 000r/min，离心10分钟，弃去上清液；用5%EDTA-2Na盐水洗1次，继之以3%和1%EDTA-2Na各洗1次，每次以2 000r/min，离心10分钟，最后加生理盐水，使成1×10^{12}/L，并加1/4体积AB型血清，置37℃加热5分钟，再置56℃16秒，最后置37℃备用。

3. AB型血清制备。须取自从未输过血的人，血清分离同病人血清。

4. 5% EDTA-2Na生理盐水溶液。

5. 硫酸钡粉。

(二)操作

1. 取凹玻片预先加温至37℃，再分别标记为病人、阳性对照、阴性对照。

2. 病人凹中置病人血清1滴，血小板悬液1滴。阳性对照凹中置已知的阳性血清1滴，血小板悬液1滴。阴性对照凹中置AB型血清1滴，血小板悬液1滴。

3. 将玻片置于转盘器上，上面予加罩防蒸发，于37℃孵育箱中，转荡30分钟，110r/min，幅度直径是4cm。最后用低倍显微镜观察结果。

(三)结果分析

阴性结果，血小板均匀分布；阳性结果则有不同程度的凝集。应注意阴性对照是否符合。

二、血小板抗人球蛋白消耗试验

原理同白细胞抗人球蛋白消耗试验，有直接与间接两种方法，皆在4℃环境中进行操作。

(一)直接法

1. 材料

①所用器皿用清洁液浸泡洗净；

②EDTA 生理盐水缓冲液，取磷酸氢二钠 15.05g、磷酸二氢钾 3.63g 及 EDTA33.00g，加生理盐水至 10L，搅和混匀；

③抗人球蛋白血清须高效价 1∶512；

④抗 Rh(D)不完全抗体；

⑤血小板悬液制备：a. 取受检者血液 20ml，放入内有 1/10 体积的 2%EDTA-2Na 溶液置于硅化试管中，摇匀，1 000r/min，离心 6 分钟；b. 吸取上层清液于另一试管中，2 000r/min，离心 10 分钟浓缩血小板；c. 弃去上清液，把余下之血小板用 EDTA 生理盐水缓冲液洗 3 次，每次 2 000r/min，离心 10 分钟，余下 0.8ml。血小板最适浓度计数(8～9)×10^{12}/L。

2. 操作

①取上述血小板悬液 0.4ml 加抗人球蛋白血清试剂 0.4ml，放置 37℃水浴 15 分钟。

②取出滴定抗人球蛋白消耗效价(以不完全抗 D 抗体血清所致敏的 O 型 Rh 阳性红细胞)，其方法如下述的间接法。

③正常人的血小板作对照，处理方法同上。

3. 结果分析　血小板抗人球蛋白消耗效价，低于抗人球蛋白效价 3 管者为阳性，对照管不被消耗。

(二)间接法

1. 材料

①2%EDTA-2Na 盐水溶液；

②EDTA 生理盐水缓冲溶液；

③抗人球蛋白血清；

④抗 Rh(D)不完全抗体。

2. 操作

(1)血小板悬液制备，取正常人血清 10～20ml，分离制备悬液操作同直接法。

(2)致敏，受检者血清分离后 56℃灭活 30 分钟，取 15mm×

125mm 试管 4 支分别编号为①、②、③、④，并在①管中放入受检者血清 0.4ml 加血小板悬液 0.2ml，在②管中加对照 AB 型血清 0.4ml 加血小板悬液 0.2ml，在③管中加对照盐水 0.4ml 加血小板悬液 0.2ml，在④管中加不完全抗 D 血清 1.2ml 加压积 Rh 阳性红细胞 0.6ml，分别混合后，放置 37℃水浴中 1 小时。

(3)取出后将①、②、③管用 EDTA 生理盐水缓冲溶液洗涤 5 次，将④管用盐水洗涤 3 次，用以滴定抗人球蛋白的效价，将压积红细胞加生理盐水配成 5%悬液备用。

(4)①、②、③管经洗涤之血小板悬液加等量抗人球蛋白血清，放置 37℃15 分钟，以 2 000r/min，离心 10 分钟取上清液备用。

(5)滴定度比较，取 10mm×60mm 试管 40 支，排成 4 排，分别标明，第 1 排抗人球蛋白，第 2 排受检者，第 3 排正常对照，第 4 排盐水对照，每管各加盐水 0.2ml。第 1 排作测定抗人球蛋白效价，吸取抗人球蛋白血清 0.2ml 于第 1 管，并连续稀释至第 10 管弃去 0.2ml；第 2 排第 1 管中加原来①管内的上清液 0.2ml，并连续稀释至第 10 管弃去 0.2ml；第 3 排第 1 管中加原来②管内的上清液 0.2ml，并连续稀释至第 10 管弃去 0.2ml；第 4 排第 1 管中加原来③管内的上清液 0.2ml，并连续稀释至第 10 管弃去 0.2ml，最后每管各加致敏红细胞悬液 1 滴，混合后放在 37℃水浴中 15 分钟，观察结果。

3. 结果分析　血小板抗人球蛋白消耗效价如低于抗人球蛋白效价 3 管时为阳性，对照无消耗。

三、简易致敏红细胞血小板血清学试验(SEPSA)

1. SEPSA 应用范围　可用于鉴定血小板抗原，检测血小板同种、自身和药物依赖性抗体及血小板表面相关抗体，也可用于血小板交叉配血试验，为受血者选择配合的血小板供体。该方法操作简单、微量，重复性、特异性和敏感性均较理想，固相化的血小板及抗 IgG 指示的细胞能长久保存备用，对批量检测方便。适合于广

泛开展血小板抗原、抗体、ITP 等自身或同种免疫性血小板减少性紫癜的诊断、治疗、发病机制的研究，以及开展配合性血小板输注。

2. SEPSA 方法学原理　SEPSA 试验在 U 形孔微量反应板上进行，将血小板抗原固定在 U 形孔壁上，与被检血清在低离子溶液中反应后洗净，以抗 IgG 指示细胞指示反应结果。如果血小板上结合了抗血小板抗体，则致敏在指示细胞上的抗 IgG 与血小板抗体结合，指示细胞向孔底移动被阻止，广泛覆盖在固定的血小板单层上，为阳性结果；血小板上无抗血小板抗体，则指示细胞向孔底移动不受阻，聚集在孔底中央，呈扣状，为阴性结果。

3. 方法

(1)直接测定法(血小板表面结合抗血小板抗体的测定)：受检者血小板固定于反应孔底，加入 25μl 抗 IgG 致敏红细胞，反应板置于湿盒内，室温静置 3 小时以上或次日观察结果。

(2)间接测定法(血清内抗血小板抗体测定)：弃去固相化血小板孔内的生理盐水，各孔加入受检血清(可稀释为 1∶1、1∶2、1∶4、1∶8、1∶16)25μl，并加入 LIM(低离子溶液)pH 值 6.7，25μl，置湿盒 37℃孵育 30 分钟，再用 pH 值 7.2，0.05%吐温-PBS 洗涤 5 次，各孔加入 pH 值 7.2，0.05%吐温-PBS 25μl 及抗 IgG 指示细胞 25μl，室温湿盒静置 3 小时以上或次日观察结果。

(3)交叉配血试验(选择配合的血小板供体)：将所需筛选的献血者血小板分别在反应板孔中固定后，把受检者血清 25μl 加入各孔中，并加入 LIM pH 值 6.7，25μl，置湿盒 37℃30 分钟孵育，然后用 pH 值 7.2，0.05%吐温-PBS 洗涤 5 次，各孔加入 25μl 抗 IgG (IgM)指示细胞。反应 1 小时后，2 000r/min 离心 10 分钟，观察结果。选择反应阴性的血小板为献血者，给受者输注。

(4)质量控制：每次试验均做阴性、阳性对照以进行质量控制，在间接法中，以正常人 AB 血清为阴性对照，已知阳性血清为阳性对照；在直接法中，以正常人血小板为阴性对照，已知阳性血小板为阳性对照，被检血小板必须重复测定 2 个孔。

四、聚合酶链反应

聚合酶链反应(PCR 技术)在血小板血型基因定型、分型中的应用。

1. *原理* PCR 是一种根据 DNA 复制原理而设计的体外 DNA 扩增方法,其全过程是:①DNA 模板的变性(解链);②与附加引物退火;③引物延伸(扩增步骤)。经过 30 次循环后,可使靶 DNA 量放大 100 万倍,用于检测微量的 DNA。

目前,常用的方法有 PCR-电泳法,测定血小板 HPA1～A4 血型系统抗原;PCR-ELISA 法,测定血小板 HPA1～A5 血型系统抗原;PCR-RFLP(限制性片段长度多态性)等方法。

2. PCR-*电泳法* 是最简单、常用的测定血小板抗原基因型的方法。

(1)DNA 分离:取 500μl 全血,加入红细胞溶解液处理 2 次,再加入蛋白溶液 55℃处理 20 分钟,用 500μl 异丙醇抽提沉淀,用 70%乙醇洗涤,干燥去除残留的乙醇,加入生理盐水 200μl 溶解,即为 DNA 标本。

(2)引物合成:预先合成用于血小板同种抗原测定的引物序列,其序列可见相关文献报道。

(3)扩增:分离得到的 DNA 标本 10μl 与 dNTP、TaqDNA 聚合酶、合成引物及 PCR 缓冲液混合,用蒸馏水调节到 40μl,反应循环的时间和温度如下:变性 94℃1 分钟,退火 69℃1 分钟,引物延伸 72℃1 分钟,30 个循环。

(4)产物鉴定:PCR 产物在 2%琼脂糖凝胶上电泳,100V 20 分钟。凝胶放在紫外光下观察 DNA 条带,记录结果,见表 5-3。

表 5-3　产物鉴定

抗原名	反应格局	遗传型
HPA-1	1a+1b−	a/a 型
HPA-2	2a+2b−	a/a 型
HPA-3	3a+3b+	a/b 型
HPA-4	4a−4b+	b/b 型

3. 优越性　不需要特异性抗体和血小板，可用尿沉淀物、口腔黏膜细胞和羊水细胞作为基因组 DNA 的来源，该技术在条件较好的医院可以开展。

（李莉芬　王　群　田　荼）

第6章　输血前检查

第一节　输血前检查的目的与范围

一、输血前检查的目的

医院输血科的主要任务是向临床各用血科室及时提供安全有效的血液及各种成分血液，为挽救濒临死亡病人，为诸多临床治疗的安全实施保驾护航。因此输血前一定要对受血者和供血者血液成分做输血前的血清学检查，使输入受血者体内的血细胞不凝集，不溶血，输入的血浆成分不破坏受血者自身红细胞，也就是保证使输入的血液或成分血与受血者血液在免疫血液学方面“相容”，才能达到安全输血治疗的目的。

二、输血前检查的范围

1. 受血者的病史和标本等的检查，核对及处理。
2. 供血者、受血者 ABO 正反定型，Rh 血型的鉴定。
3. 抗体筛选和鉴定。
4. 选择适当的 ABO 及 Rh 血型的血液。
5. 交叉配血试验。
6. 粘贴供血者条形码和发血。
7. 登记好配发血有关信息。

第二节　受血者的病史和标本等检查、核对及处理

一、病史资料和信息

临床输血前应尽可能掌握、核对受血者的有关资料，包括受血者的姓名、性别、年龄、种族、科室、床号、住院号、临床诊断、输血史、药物史、妊娠史、ABO 和 Rh 血型、血红蛋白、血小板、白细胞等。一旦出现交叉配血血型不合或血清异常现象时，这些资料对解决出现的问题和分析结果有一定的参考价值。

二、标本的要求

输血前的血液标本合格与否，直接关系到安全输血的成效。所以，标本一定要严格鉴定和详细标记，准确无误地来自受血者和供血者，标本采集前后和输血申请单上的内容核准，严格执行“三查七对”制度。标本必须有正确的标签，符合受血者血液的体内状态，能代表受血者当前的免疫状况，切不可一次取血后，反复多次供配血用，对反复输血的受血者，配血标本不超过 72 小时。尤其大量反复输血者更应注意抽取新鲜标本，避免因回忆性反应而产生抗体漏检。对溶血或稀释的血液标本，绝不采用。常规配血试验最好用血清，遇紧急情况下也可用血浆做试验。但使用血浆标本时，应注意排除纤维蛋白原和补体的干扰。血浆标本会将红细胞卷入纤维蛋白，而呈一透明的凝集块，这是一种假凝集现象。初学者一定要引起注意并加以区别。稀释的标本，即从静脉输液管内直接采取标本，可因标本抗体稀释而降低效价，出现假阴性结果或由于输液内的某些药物产生药物抗体，使结果出现假阳性，所以必须严格采血样本。

当实验室技术人员接到标本后，必须确认标本与输血申请书

上的资料一致。如果对病人的身份有疑问，其他资料填写不全，输血科工作人员有权拒绝接受该标本，必须重新采取新的标本，任何人不可修改错误的标签。

输血后所有的样本都必须密封或加盖，保存于2～8℃低温冰箱1周以上。供血者的样本可取做完交叉配血后的剩余管段或发血前取下血袋上的一段。输血前所有标本的保留，对一旦出现输血不良反应，可以随时重复输血前的检查，为解决输血不良反应提供依据。

第三节 ABO和Rh定型

输血之前，必须确定受血者的ABO和Rh血型。因为，ABO和Rh血型系统的血型与临床输血最重要。各类血型系统中，A和B抗原的抗原性最强，D抗原排列第3位。当病人接受了自己本身所缺少的抗原后，绝大多数均会产生特异性的同种抗体，如Rh阴性的受血者接受了Rh阳性血液，大约有2/3的受血者可以产生抗D抗体。因此，目前国内已将ABO和Rh血型鉴定作为输血前的常规检查。

一、ABO血型鉴定及常见问题

常规ABO血型定型应包括正向、反向定型。所谓正向定型是指用标准抗A和抗B血清来测定红细胞上有无相应的A抗原或(和) B抗原；所谓反向定型是指用标准A型细胞、B型细胞来测定血清中有无相应的抗A和(或)抗B。目前多采用红细胞凝集试验。

ABO血型鉴定中，出现正向、反向定型结果不一致的原因，有技术和管理方面的，也有红细胞和血清本身的问题，常见有以下几种：

1. 技术和管理方面

①标本或试剂错误，产生假阳性或假阴性结果；

②标准血清污染或失效，产生假阳性或假阴性结果；

③离心过速或不足，产生假阳性或假阴性结果；

④红细胞悬液过浓或过淡，产生假阳性或假阴性结果；

⑤试验时间过长或过短，产生假阳性或假阴性结果；

⑥试验温度过低或过高，产生假阳性或假阴性结果；

⑦细胞与血清比例失调，产生假阳性或假阴性结果；

⑧结果记录或判断错误，产生假阳性或假阴性结果；

⑨器材不洁，产生假阳性结果；

⑩漏加试剂，产生假阴性结果；

⑪阳性反应产生溶血现象未能识别，导致假阴性结果。

2. 受检者红细胞上抗原位点过少，如亚型；或抗原性减弱，见于白血病或恶性肿瘤，以及类 B 型或 CiSAB 型等。

3. 受检者血清中蛋白紊乱（高球蛋白血症），常引起红细胞呈缗钱状排列。

4. 受检者血清中缺乏应有的抗 A 和（或）抗 B 抗体，如丙种球蛋白缺乏症。

5. 血清异常，Wharton 胶或血清蛋白引起缗钱状形成，影响反向定型结果。

6. 红细胞致敏，受免疫球蛋白致敏的红细胞，在含高蛋白介质的试剂中，可发生凝集。

7. 各种原因引起的红细胞溶解，误判为不凝集。部分溶血时，可溶性血型物质中和了相应的抗体。

8. 近期输血，输入过其他 ABO 血型的血液，使血液标本成为不同型别的红细胞混合物，定型时显示“混合外观凝集”现象。

9. 嵌合体血型（开米粒，Chimerism），这种血型者体内有两群红细胞群体，定型时可以出现“混合外观凝集”现象。

10. 近期内进行大量的血浆置换治疗，使用了大量的非同型的血浆做置换治疗，标本血清中含有所输供体提供的抗 A 或抗 B

抗体，造成反向定型错误。

11. 由于细菌污染或遗传因素引起多凝集或全凝集，出现正反向定型不符。

12. 药物等因素，如右旋糖酐及静脉注射某些造影剂可引起红细胞聚集而类似凝集。

13. 年龄因素，在尚未产生自己抗体的婴儿，由母亲被动获得抗体的婴儿或抗体水平下降的老人，试验时可出现异常的结果。

14. 血清中有 ABO 血型以外的抗体，如自身抗 I，可引起干扰。

15. 获得性类 B 型，由于革兰阴性杆菌的作用，红细胞可获得“类 B 型”的活性。

16. 病人体内可能含有对防腐剂中的成分或对混悬介质的抗体，导致 ABO 定型差错。

二、Rh 定型和定型试验中应注意的问题

Rh 血型系统一般可通过输血或妊娠产生免疫抗体，绝大多数属于 IgG 抗体，当遇到相应的抗原时，可致溶血反应或新生儿溶血病，严重者可致病人残疾或死亡。所以，目前输血前已把 Rh 血型鉴定列为常规检验。临床主要以 D 抗原鉴定为主，检验时应严格按抗 D 血清试剂使用说明书进行操作，并加阴、阳性对照以及试剂的对照。一般 Rh 血型的 D^u 型不作为常规检验，因为给这种病人输 Rh 阴性血不会有害。一些条件较好的实验室，也可以开展 D^u 型试验，检测 D 抗原的弱表达，这对多次输血或缺乏 Rh 阴性血液时，显得尤为重要。D^u 型病人是 Rh 阳性，故可以接受 Rh 阳性血液，这样可以避免 Rh 阴性血液的浪费。

（一）Rh 血型鉴定时，常见错误或可能出现假阳性的原因

1. 免疫球蛋白致敏了受检者红细胞，标本血清中含有引起细胞凝集因子。

2. 试剂中含有其他特异性抗体，遇疑难抗原定型时，要用不

同批号的抗血清进行试验，综合分析试验结果。

3. 受检者细胞与试剂血清孵育时间过长，高蛋白试剂引起缗钱状形成。

4. 多凝集红细胞与任何人血清均会发生凝集现象。

5. 血标本抗凝不当，鉴定过程中出现凝块或细小纤维蛋白凝块，误认为阳性。

6. 用未经洗涤过的红细胞做试验时，自身凝集或异常蛋白质可引起假阳性。

7. 所用器材或试剂被污染，可出现假阳性结果。

(二)可能出现的假阴性反应原因分析

1. 误拿抗血清，未认真细心核对抗血清的标签。

2. 漏加抗血清，只加红细胞，注意加细胞之前要检查是否有抗血清。

3. 受检者红细胞悬液过浓，与试剂抗血清比例失调。

4. 试剂抗血清使用不当，未按说明书操作。

5. 相应抗原的变异型不与特定的抗血清反应，如抗 D 血清可能不与 D^u 型反应。

6. 观察结果时，用力摇动试管，观察细胞扣，弱的凝集被摇散。

7. 试剂抗血清保存时间过长，抗血清效价减弱或引起变质。

第四节　抗体筛查试验

一、目的和原则

对受血者的血清或血浆，应常规做抗体筛选试验，以发现有临床意义的不规则抗体。同时，对供血者的血清也要做抗体筛查试验，以确保供血者的不规则抗体不能进入受血者体内，使受血者输入体内的血液安全有效。不规则抗体是指抗 A、抗 B 以外的抗体。

抗体筛选的原则是让受检者的血清与特殊的试剂红细胞起反应，以发现如某种特异性抗体曾引起过新生儿溶血病，明显的溶血性输血反应或输入体内的红细胞寿命缩短等临床有意义的抗体。这种抗体在37℃反应最敏感。用于检查这种抗体的方法有盐水法、酶法、低离子强度介质法、抗人球蛋白法、微柱凝胶卡法等。总之，要根据抗体的血清学行为及情况选择检测方法。

二、抗筛试剂红细胞

抗体筛查所用试剂细胞是特定的O型红细胞。这些O型红细胞已商品化而易获得。通常是2或3个人份的O型红细胞成为1套试剂，每套含有单一供血者的红细胞或取自2个供血者的等量的红细胞混合。混合细胞只用于检查供血者血清标本。单一的红细胞常用于检查受血者的血清标本，因其敏感性较高，每套试剂筛选红细胞中必须有下列抗原：D，C，E，c，e，M，N，S，s，P_1，Le^a，Le^b，K，k，Fy^a，Fy^b，JK^a，JK^b。有条件的实验室还可备用Lu^a，C^w，KP^a，Js^a等抗原。商品化的试剂红细胞是悬液浮于保存液中，暂不用时，可冷冻保存。

工作量不大的实验室，可将购买的商品试剂红细胞，用V形小塑料瓶分成适合需要的量，再次分装，密封冷冻保存，用时取1小份即可，以减少浪费。加冷冻液试剂红细胞通常可以保存9周。过期的试剂红细胞因抗原强度下降而不应使用。

加有ACD或CPD保养液抗凝筛查红细胞，一般在4℃可保存21天。加入CPD-A-1的保养液的抗凝筛查红细胞，效果更佳，能保存35天。

三、抗体检测试验的鉴定技术

抗体筛选试验不一定能检出所有有临床意义的抗体，一些抗低频率抗原的抗体或有剂量效应的抗体，易被漏检。如临床意义的抗体表达出剂量效应的Rh和Kidd血型系统的抗体，试验时一

定要引起足够的重视，此时要选用抗原性更完全和特异性更强的筛选细胞做试验，或选用微柱凝胶技术做检查，因该技术敏感性比其他试验的敏感性更高，是目前抗筛选试验最理想的方法。

抗筛选试验应具备以下条件：

1. 自身细胞检查。对受检者的血清与自身红细胞反应的情况要认真观察，以便证实血清内是否有自身抗体，或自身抗体与同种抗体二者共存。

2. 用多种抗体检测技术，以及使用试验红细胞中的谱细胞(Panel cell)，检测受检者的血清以确定其抗体的特异性。

试剂谱细胞一般是由 8～16 个人的已知血型表现型的 O 型红细胞配套组成，具有各种不同的抗原成分，根据谱细胞的反应格局一般可以鉴定常见的抗体。不同的特异性抗体要选用相应的谱细胞进行试验。

为了保证抗体鉴定的正确性，要求每个抗原要有足够的阳性和阴性细胞。同时，必须灵活运用盐水试验法、抗人球蛋白法、酶法，再结合吸收、放散等血清学特殊试验，从而获得客观真实抗体的结果。

要对谱细胞反应结果有正确的解释，必须首先对一些特异性抗体的血清学特性进行了解，在分析反应结果，确定抗体特异性时可综合运用下列资料：

(1)观察受检血清与每个试剂谱细胞的反应结果。

(2)观察受检血清与其自身细胞的反应结果。

(3)观察受检血清与酶处理细胞的反应结果。

(4)观察反应格局，检查各个反应格局的结果，包括不同的温度、悬浮介质或酶作用的情况，一些抗体的特异性与反应相直接相关。

(5)是否有溶血现象。

(6)在阳性反应的细胞中，反应强度是否不同，是否出现剂量效应。

(7)对自身红细胞上的抗原详细检查，从所缺少的抗原情况，提示是否存在相应的抗体。

第五节 交叉配血试验

一、要求和内容

交叉配血试验的目的是检测出导致输入病人体内红细胞破坏的血型抗体。交叉配血试验一般包括：

1. 主侧配血 即受血者血清加供血者红细胞，它是检查对供血者红细胞起反应的抗体。

2. 次侧配血 即供血者血清加受血者红细胞，它是检查对受血者红细胞反应的抗体。

3. 自身配血 即受血者血清加受血者红细胞，它是检查自身抗体，也称自身对照。

(一)ABO 不相合

受血者血清抗体与供血者红细胞之间存在着 ABO 血型不相合。受血者接受了 ABO 不相合的血会造成严重的致命性输血反应(如 A 型受血者接受 B 型供血者的血)，如果受血者与供血者血型定型正确，这种反应是不会发生的。但是由于工作人员因技术或责任方面而错定血型也有报道。因此，交叉配血也可以说是重复血型的过程，只要工作人员加强责任心，选用灵敏性高，特异性强的配血方法，可以防止这种反应。

(二)Rh 或其他血型不相合

受血者血清中存在不规则抗体，该抗体可以直接对抗一种或几种非 ABO 血型系统的抗原。如 Rh、Kell、Duffy、Kidd、MNSs、Lewis、Lutheran、P 等血型系统的抗原。

由于供血者血清中存在对抗受血者红细胞的免疫抗体，所引起的不相合的配血是极少见的，免疫抗体在盐水介质配血法中不

能检测到。这时要用抗筛选试验对供血者不规则抗体进行确证。

二、注意事项

交叉配血试验中，可能出现的问题如下：

1. 缗钱状假凝集，常见于多发性骨髓病、巨球蛋白血症、霍奇金病，以及其他表现为血沉加快的疾病。

2. 在室温反应中，显示自身抗体。

3. 在抗人球蛋白试验中显示有自身抗体。

4. 交叉配血试验结果不相容，显示有未检出的同种抗体存在。

5. 交叉配血试验中，离心时间过长或过短，造成假阳性或假阴性。

6. 水浴温度不正确，造成错误结果。

7. 红细胞洗涤或悬浮不正确，使抗人球蛋白试验出现假阴性。

8. 血清中有溶血性抗体，相应红细胞被溶解而不凝集出现阴性现象。

9. 出现抗筛选试验阴性而交叉配血结果为阳性现象，提示可能有未检明的抗体存在。

10. 蒸馏水中某些离子可造成不正确的结果。

第六节　血液的选择

一、ABO 血型

受血者 ABO 血型与供血者应尽可能同型输注，特殊情况得不到时，也可输入少量可替代的 ABO 型血。如果输入的血液含有大量红细胞，供血者的红细胞必须与受血者血浆 ABO 配合。如果用含有血浆的制品，可能会破坏受血者的红细胞。

当今临床输血已进入成分输血的新时代。成分输血本着缺什么补什么的原则，临床可根据病人情况，有选择性输入某种成分血。成分血浓度高，纯度好，疗效佳，能最大限度地降低输血不良反应及疾病的传播。因此，临床输血应首选 ABO 血型相同，再进一步选所需的某一成分血。成分血的 ABO 血型要求及可替代的 ABO 血型见表 6-1。

表 6-1 ABO 同型血找不到时，成分血应急选择

品 种	要求血型
全血	必须与受血者相同
红细胞	必须与受血者血浆配合
白(粒)细胞浓缩液	必须与受血者血浆配合
新鲜冰冻血浆	应与受血者红细胞配合
血小板浓缩液	任何 ABO 型均可，最好与受血者红细胞配合
冷沉淀(单一人份)	任何 ABO 型均可

二、Rh 血型

《临床输血技术规范》明确指出，供血者、受血者应常规检查 Rh(D)血型。Rh 血型的输入在临床仅次于 ABO 血型。因此应正确选择，合理应用。Rh 阳性受血者应输用 Rh 阳性血液，紧急情况下也可先输少量 Rh 阴性血，待情况允许时再输阳性血，以节约有限阴性血。Rh 阴性者可输 Rh 阴性血，避免阴性者输用阳性血，以防 Rh 阴性者输入阳性血，产生免疫性抗 D 抗体，当遇情况十分紧急时，一时找不到 Rh 阴性血时，为应急救命，受血者无耐接受了 Rh 阳性血，可被 D 抗原免疫＞80%。如果 Rh 阴性受血者已被 D 抗原免疫过，当再次输入阳性血时则有生命危险，可以给接受了 D 阳性血的 D 阴性病人注射 Rh 免疫球蛋白。

三、其他血型

当受血者存在着有临床意义的不规则抗体时，应选用无抗原阴性进行交叉试验。条件不太好的实验室，可用经济简便的方法筛选供血者的血液。即用受血者的血清筛选供血者的红细胞，再用试剂抗血清证实配合的血液没有相应抗原。

第七节　标签与发血

每一单位血液或血液成分发出前，配发血报告单在有条件的实验室（均有计算机）打印。完整地显示受血者的姓名、住院号及ABO和Rh血型输血申请单。另外还必须包括：

1. 受血者的条形码。
2. 受血者ABO和Rh血型。
3. 交叉配血试验结果。
4. 检验者、核对者签名。
5. 标名紧急情况必须发血，还有尚未解决的问题，当前血清学检测情况。

在每一单位血发出之前，实验室技术人员必须做如下工作：

1. 在血袋上贴上标签，内容有：①病人姓名及住院号；②供血者的编号；③配血试验结果的解释；④检验者的身份证明。
2. 核对血液失效日期。
3. 以适当的形式表示：①发血人姓名；②发血日期及时间（时间表明分钟）；③取血人姓名。

最后由输血人员核对受血者和血容器，确认受血者和血袋，证明配血报告单与标签完全一致。

（曲巧格　张志玲　代伟伟）

第7章　交叉配血试验

交叉配合试验又称配血试验，是输血的关键，不能缺少，更不能马虎从事，必须严肃认真地对待。交叉配血试验主要检查受血者血清中有无破坏供血者红细胞的抗体。配血试验中，受血者血清加供血者红细胞的配合是主要检查内容，称为“主侧”或“直接配血”；供血者血清加受血者红细胞相配合称为“次侧”或“间接配血”。两者合称交叉配血。

交叉配血的主要作用有以下几点：

1. 进一步复查证实受血者与供血者的血型是否符合输血原则，核对血型是否与输血申请单、血型报告单上的血型一致。

2. 可以发现亚型或弱抗原，试验中可发现不规则的凝集现象，多见于婴儿及老弱和某些化疗病人，红细胞抗原位点少，且被血清所吸附呈假凝集现象或反应迟缓。

3. 发现不规则抗体，如抗 I、抗 i 及抗 A_1。

4. 发现稀有血型或新的血型。如 A_m 型、A_x 型、CisAB 型、MN 型、P 型、孟买型、D^u型等血型，可能还会发现目前尚未发现的新血型。

交叉配血操作规程应包括：

1. 查阅受血者以前检查记录，如与本次检查结果有所不同或完全不同，应及时分析原因。

2. 对受血者和供血者的血样应做 ABO 正向、反向定型、Rh(D)血型，必要时进一步检查其他血型及血型抗体筛查和鉴定。

3. 选择与受血者血型相同的供血者合格血液，再进行交叉配

血试验。

第一节　盐水介质配血法

盐水介质配血法是目前最常用的配血方法，试验中，红细胞上的抗原决定簇与相应抗体分子上的抗原结合部位结合，交叉联结形成肉眼可见的凝集块，该抗体为 IgM 抗体。但由于 ABO 血型系统，A、B 抗原位点多，当 IgG 抗 A、抗 B 的浓度足够大时，在盐水介质里也能发生凝集（图 7-1a）。所以在临床上首先可以发现最重要的 ABO 配血不合，也可以发现 ABO 血型系统以外的 IgG 抗体。

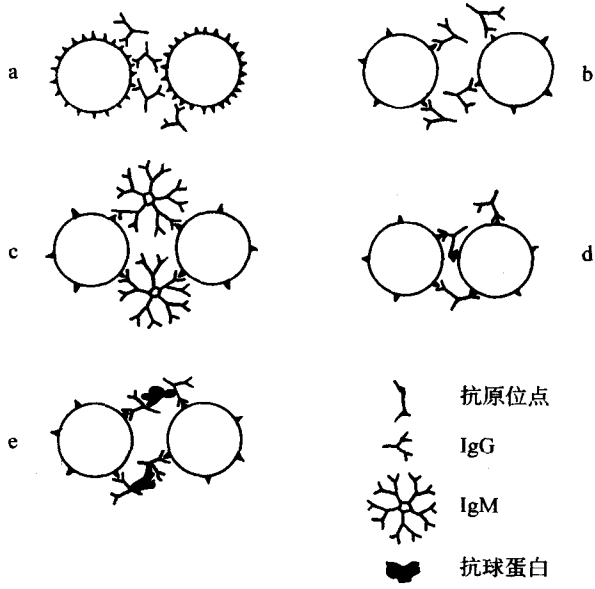


图 7-1　IgG 和 IgM 抗体凝集红细胞示意图

a. IgG 在盐水介质中凝集抗原位点多的红细胞；b. IgG 在盐水介质中一般不产生凝集；c. IgM 产生凝集；d. 红细胞间的距离缩短，IgG 产生凝集；e. 抗人球蛋白试验

(一)平板法

1. 材料　玻片、搪瓷板,陶瓷板、塑料板、商品纸板等多种材质的平板可供选用。现在多选用带凹的专用玻片或商品纸板,操作据方便。

2. 操作　以凹玻片为例,取受检者静脉血 2～3ml,分离血清,并配制成 5%红细胞悬液。取干净凹玻片 1 块,用记号笔在左上角写"供红受清",右上角写"供清受红"。玻片中间写供血者与受血者的姓名,用一次性塑料滴管吸取受血者血清 2 滴,加入左侧凹内;另取受血者红细胞悬液 1 滴加入右侧凹内。用一次性塑料滴管取供血者血清 2 滴,加入右侧凹内;另吸供血者红细胞悬液 1 滴,加入左侧凹内。分别用竹签搅和,用毕后即弃去,置室温 20℃左右,并不时转动玻片,以加速反应的发生。反应快的在混匀后数秒即可出现凝集,最迟应在 15 分钟内肉眼观察结果,亦可用低倍显微镜观察。室温过高时,应置湿盒内,以防干扰试验结果。

3. 报告方式　见表 7-1。

4. 交叉配血试验(××法)

①受血者×××(×)型血清+供血者×××(×)型红细胞无凝集、无溶血。

②供血者×××(×)型血清+受血者×××(×)型红细胞无凝集、无溶血。

5. 结果判断　同型配血,主侧、次侧均不凝集,表示无配血禁忌,可以输用;异型配血(指 O 型输给其他型;或 A、B 型输给 AB 型)时,主侧无凝集、无溶血,次侧凝集,但效价<1∶64,无溶血,可以输少量,如次侧不凝集时,应追查原因。

(二)试管法

1. 操作

(1)取试管 2 支,排列于试管架上,于左侧管标明主侧(或 Ps+Dc,其中 P 代表病人即受血者,D 代表供血者,S 代表血清,C 代

表红细胞)；右侧管标明次侧(或 Pc+Ds)。

表 7-1　配发血报告单格式

No:_____

住院号_____　姓名_____　性别_____　科室_____床位_____

ABO 血型_____型　Rh(D)_____　年龄_____　出库类别_____

序号	献血码	献血者	血液名称	血型	血量	失效期	辐照	滤白
1	0050506013550	张×	悬浮红细胞	O+	2U	2007.05.18 23:59		

复检 ABO 血型_____型　Rh(D)_____不规则抗体_____发血者_____

凝聚胺配血　主侧_____次侧_____复核者_____

备注_____

发血者:×××/2007.03.26 15:33　取血者:×××　2007 年 4 月 23 日 15 时 17 分

(2)于主侧管内加受血者血清 2 滴及供血者 5%红细胞盐水悬液 1 滴。

(3)于次侧管内加供血者血清 2 滴及受血者 5%红细胞盐水悬液 1 滴。

(4)摇匀，以 1 000r/min 离心 1～2 分钟。

(5)取出试管，先看上清液有无溶血现象，然后轻摇试管，肉眼观察结果，如不见凝集，再分别倾于玻片上，用低倍镜检查有无凝集现象。

2. 报告方式　同玻片法。

3. 结果判断　同玻片法。

4. 注意事项

(1)在配血时,如为新鲜受血者血清,其补体尚有活动性,与不相合的红细胞相遇,可发生溶血。观察结果时要特别注意,切不可将溶血当作不凝集。其实,溶血与凝集是同一意义,均为配血不合。

(2)若红细胞悬液浓度过高时,则易出现假凝集现象,可加2～3倍生理盐水,将红细胞冲散,若是真凝集,则用生理盐水冲不散红细胞。试验中抗原抗体量按规定比例加入,否则造成观察结果困难,甚至可能造成错误。

(3)冷凝集素检查方法,若血型无误,可将试管(玻片)放入37℃水浴5分钟,然后取出观察是否凝集,若不凝集,再放室温5分钟,若再未出现凝集,如此反复多次,仍未凝集,即可定为冷凝集现象。这种方法虽然能识别因冷凝集素造成的假凝集现象,但由于ABO抗体在30℃反应较弱,尤其是年老体弱者及幼儿受血者抗体更弱,易被忽略造成错误,因此观察结果时,不可用力摇动试管,以免弱的凝集被摇散,造成假阴性结果。

(4)用血浆作交叉配血时,血浆内纤维蛋白原会影响结果。

(5)特殊情况下如需将O型血液输给A型、B型或AB型人时,应滴定O型供血者血清内抗A、抗B抗体效价及检测血清内有无免疫抗A、抗B抗体,如抗A和抗B抗体效价高于1∶64,或有免疫抗A、抗B抗体,均不能输。

第二节 胶体介质配血试验

一、原　　理

胶体介质配血试验,是能检出免疫抗体的配血法,其优点是简便,其原理是免疫抗体(IgG抗体)在盐水介质里通常不发生反应(图7-1b),但在用胶体介质(colloid media)配制的红细胞悬液中,

与红细胞表面上抗原发生反应，出现凝集(图 7-1d)。红细胞表面存在大量的唾液酸，在中性环境下红细胞带负电荷；在盐水介质里因 IgG 抗体分子两个 Fab 端之间的距离小于 25nm，不能克服细胞表面电荷排斥力，不能使红细胞靠拢而发生凝集，但能使对应的红细胞致敏。当试验中加入了胶体介质后，增大了溶液的介电常数，缩小了红细胞双电子层的电动势，降低了静电斥力，红细胞互相靠拢，出现凝集反应。

二、常用胶体介质

常用胶体介质有 20%～30%的牛血清白蛋白(bovine serum aibumin，BSA)，人白蛋白、AB 型血清、阿拉伯胶、胎盘血清、受血者血清等，牛白蛋白效果最好，但价格较高，AB 型血清成本较低且取材最为方便，可作为首选。简述如下：

1. *健康人的 AB 型血清*　不是随机 AB 型人群的每一 AB 型人都可用做胶体介质的，首先抽取 AB 型人静脉血 3ml，分离血清，用 ELISA 法检测 ALT、HBsAg、抗-HCV、抗-HIV、抗-TP 等病毒或病毒抗体，上述检验均阴性后，还应具备下列条件的方可用做胶体介质：①AB 型血清中不含不规则抗体；②AB 型血清中 A 和 B 血型物质含量低；③AB 型血清中促凝效果明显。

(1)不规则抗体检查：取抗凝压积 5～10 份 O 型红细胞，分别洗涤 3 次，制成 2%红细胞悬液，分别与等量 AB 型血清混合，置室温 30 分钟，离心沉淀，观察有无凝集现象。均无凝集现象时，AB 型血清方可适用。

(2)血型物质含量比较方法：利用 A、B 物质中和抗 A、抗 B 作用强弱进行比较。取标准血清即抗 A、抗 B 血清与待检的 AB 型血清等量混合，在室温中放置 30 分钟。然后取此经过处理的标准血清即抗 A 及抗 B 血清滴定凝集效价。具体操作如下：

取小试管 40 支，排成 4 排，每排 10 支。第 1、2 排各管加受试 AB 型血清 0.2ml，第 3、4 排各管加生理盐水 0.2ml，向第 1、3 排

第1管各加抗A血清0.2ml，做连续倍比稀释，向第2、4排第1管各加抗B血清0.2ml，做连续倍比稀释，置室温30分钟。向第1、3排各管加2%A型红细胞悬液1滴，向第2、4排各管加2%B型红细胞悬液1滴。混匀后立即离心观察结果，第1、3排和第2、4排分别比较凝集效价，效价差别大，AB型血清的血型物质多，选择效价差别小的AB型血清为好。

(3)促凝作用强弱的选择：从上述2项筛选可用的AB型血清中，再选用促凝程度强的备用。操作如下：

取小试管10支，排成1排，第1管加受试AB型血清0.75ml，其余各管加0.5ml，再在第1管加抗D血清0.25ml，混匀，移出0.5ml到第2管，依此类推倍比稀释。各管再加2%阳性红细胞悬液1滴。混匀后置37℃1小时观察效价，比较各受试血清，效价高的保存备用。

上述各试验前受试血清及经筛选好的AB型血清，均需56℃灭活。筛选备用的AB血清可加防腐剂－20℃以下保存，可保存36个月。

2. 牛血清蛋白　一般可通过试剂厂家购得，常用牛白蛋白浓度22%及30%两种：22%浓度的白蛋白比AB型血清促凝效果好；30%的牛白蛋白对Rh血型系统少数弱抗体较敏感，但要注意假凝集现象。

三、胶体介质配血法

1. 胶体介质配血法

(1)操作：取小试管4支，分2排列于试管架上，每排左侧为主侧管加受血者血清2滴及用AB型血清配成的5%供血者红细胞悬液1滴，次侧管加供血者血清2滴及用AB型血清配成的5%受血者红细胞悬液1滴，第2排左侧管加受血者血清2滴，及用AB型血清配成的5%受血者红细胞悬液1滴，右侧管加供血者血清2滴及用AB型血清配成的5%供血者红细胞悬液1滴，这2管是对

照管，将 4 管摇匀混合，置 37℃水浴 1 小时，取出后，斜持试管轻轻摇动，以肉眼观察结果。

(2)结果判断：主侧管及次侧管若出现凝集，颗粒比对照管粗大，即为配血禁忌。

(3)报告方式

①受血者×××血清与供血者×××红细胞在胶体介质内有(无)凝集、溶血现象。

②供血者×××血清与受血者×××红细胞在胶体介质内有(无)凝集、溶血现象。

(4)注意事项

①交叉配合试验只需做盐水凝集试验和抗人球蛋白试验就能解决问题，但因抗人球蛋白试验不是普遍具备的条件，所以介绍胶体介质法配血，在必要时也可解决一些问题。

②于此试验用 AB 型血清比用本人的血清好，因为血清不是普遍能促进不完全抗体凝集的。若用血浆常有串钱状形成难以判断结果。

2. *白蛋白铺层法* 该方法是一种比较简单实用的方法。白蛋白有促凝的作用，对 Rh 系统的特异性抗体检测效果最为理想。

(1)白蛋白配血方法如下

①取小试管 2 支，标明主侧、次侧，主侧管加受血者血清 2 滴和供血者 5%红细胞悬液 1 滴；次侧管加供血者血清 2 滴和受血者红细胞悬液 1 滴。

②充分混合，放置 37℃水浴 15～30 分钟。

③用 3 500r/min 离心 15 秒钟。轻轻取出试管，不可摇动试管，以免红细胞扣被摇散。

④各管滴入 22%或 30%人血白蛋白 2 滴，沿试管边流下。白蛋白可在红细胞扣上形成一薄层，不要混合。

⑤放 37℃水浴 5～10 分钟。

⑥轻轻摇动试管，观察凝集反应。

⑦该方法有形成串钱状凝集的可能，所以要用显微镜检查加以证实。

(2)报告方式：见胶体介质配血法。

第三节 酶配血试验

一、原 理

红细胞表面有丰富的唾液酸，带有负电荷，为红细胞相互排斥创造了条件。蛋白水解酶可将红细胞表面的唾液酸的多肽键打断，使多肽链带负电荷的唾液遭到破坏，离开红细胞表面，减少红细胞表面的负电荷以及红细胞之间的排斥力。图 7-2 胶粒滑动面上的 Zeta 电势减小，红细胞间距离缩短，容易产生凝集反应，因此酶处理能增强 Rh 和 Kidd 血型系统的抗原抗体反应。但是，蛋白酶也能破坏 M、N、S、s、FY^a、FY^b等抗原结构，对这些红细胞抗原不宜用酶处理方法配血。

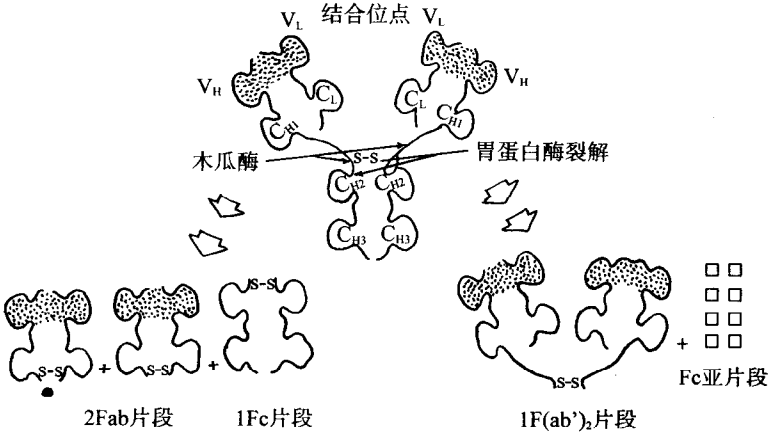


图 7-2 木瓜酶和胃蛋白酶裂解免疫球蛋白重链的不同位点

二、常用的酶

目前国内大多采用木瓜酶和菠萝酶，也有使用无花果酶、胰蛋白酶等。

1. 木瓜酶液的配制

(1)在乳钵中置0.5g木瓜酶干粉，再加pH值5.5的PBS数毫升，充分研磨。

(2)用190ml pH值5.5的PBS将木瓜酶悬液洗入250ml容量瓶中。

(3)再加0.6g溶于10ml蒸馏水的半胱氨酸(L-cysteine)溶液。

(4)37℃水浴60分钟。

(5)离心，收集上清液，除去不溶解的木瓜酶。

(6)将上清液分成所需量的小包装，密封存于－20℃备用。

据王振芳报道：将上述木瓜酶液1滴加入一次性小塑料管底部，用酒精灯热封试管口，－20℃观察36个月。结果－20℃36个月时木瓜酶仍有活性。在24个月时应用良好[参见《上海医学检验杂志》1996;11(2):1200]。

2. 菠萝酶液的配制

(1)取菠萝酶的干粉0.5g置入乳钵内，加10ml pH值5.5的PBS充分研磨。

(2)用pH值5.5 PBS溶液洗研磨的菠萝酶，配成终体积为100ml溶液。

(3)3 500r/min离心5分钟，收集上清液分装成小包装。

(4)贮存备用，室温可保存24小时；4℃可保存7天，－20℃可保存12个月以上。也可参考木瓜酶保存期。

3. 注意事项

(1)配制上述酶液时，工作人员要戴防护手套、口罩、眼镜方可工作。

(2)酶易引起过敏,还可致组织损伤,操作须小心。

(3)温度过高可加快酶的失活性,宜低温(2～8℃)保存。

(4)酶易潮解,须注意密封好。

4. *酶活力简易测试法* 取0.067mol/L,pH值6.2磷酸盐缓冲液与去脂牛奶等量混合,放37℃温箱加温,吸出上述混合液1滴于玻片上,加1%酶液1滴,混合,观察结果。在10～20秒有絮状物出现表示酶有活力,可供应用;若在20秒后出现絮状物,表示该批酶活力差。在试验时延长观察结果时间,若酶活力减低50%,则此酶不能应用。

三、木瓜酶介质配血试验

1. *材料*

(1)受血者、供血者血清及5%红细胞悬液。

(2)1%木瓜酶(或1%菠萝酶)液。

(3)5% O型Rh(D)阳性红细胞悬液。

2. *操作方法* 取试管2支,标明主侧、次侧,主侧管加受血者血清和供血者5%红细胞悬液各1滴;次侧管加供血者血清和受血者5%红细胞悬液各1滴。2管各加1%酶液1滴。置37℃水浴30分钟后,取出离心,观察结果。2管均无凝集,表示配血无禁忌。为防酶液变质或有自身抗体,每批配血应加阴性、阳性及自身对照。

①阳性对照管:IgG抗D血清1滴,加5%D阳性O型红细胞悬液1滴,酶液1滴;

②阴性对照管:AB型血清1滴,加5%D阳性O型红细胞悬液1滴,酶液1滴;

③自身对照管:受检者血清1滴,加5%自身红细胞悬液1滴,酶液1滴。

操作步骤见表7-2。

表 7-2　木瓜酶介质配血试验

反应物(滴)	主侧	次侧	阳性对照	阴性对照	自身对照
受血者血清	1	—	—	—	1
供血者血清	—	1	—	—	—
5%受血者 RBC	—	1	—	—	1
5%供血者 RBC	1	—	—	—	—
抗 D 血清	—	—	1	—	—
5%D 阳性 O 型 RBC	—	—	—	—	1
AB 型血清	—	—	—	1	—
1%木瓜酶液	1	1	1	1	1

3. 报告方式

①受血者×××血清与供血者×××红细胞在木瓜酶介质内有(无)凝集、溶血现象。

②供血者×××血清与受血者×××红细胞在木瓜酶介质内有(无)凝集、溶血现象。

第四节　抗人球蛋白配血试验

1945 年,Coombs、Mourant 和 Race 创建了抗人球蛋白试验,又称 Coombs 试验。抗人球蛋白试验又分为直接抗人球蛋白试验(DAT)和间接抗人球蛋白试验(IAT)两种。DAT 主要用于体内抗体检测;IAT 用于体外试验,是抗体筛查、血型鉴定及交叉配血经典方法。

目前,临床常将 IAT 试验作为输血前交叉配血主要试验,尤其遇到疑难配血时作为首选试验及确证试验。

一、抗人球蛋白配血法

(一)抗人球蛋白试验原理

红细胞表面被大量的 IgG 抗体分子及补体分子 C3、C4 的片

段所包绕，这些包绕物均为人球蛋白，不足引起凝集反应，这种红细胞称为致敏红细胞。而抗人球蛋白血清(anti-globulin)，可以与致敏红细胞作用发生凝集，即红细胞表面的人球蛋白与抗人球蛋白血清发生特异性反应而使红细胞凝集，抗人球蛋白分子起着搭桥作用，从而证明 IgG 抗体的存在。

(二)材料

1. 受血者和供血者血清及 5%红细胞悬液(红细胞需洗涤 3 次)。
2. 抗人球蛋白血清(最适稀释度)。
3. 抗 D 血清。
4. AB 型血清。
5. 5%Rh(D)阳性红细胞悬液。

(三)操作

1. 取小试管 3 支，分别标明主侧管(P_S+D_C)即受血者血清加供血者红细胞，次侧管(P_C+D_S)即受血者红细胞加供血者血清，自身对照管(P_S+P_C)，即受血者血清加受血者红细胞。

2. 主侧管内加受血者血清 4 滴和供血者 5%红细胞悬液 1 滴；次侧管加供血者血清 4 滴和受血者红细胞悬液 1 滴；自身对照管内分别加受血者自身血清 4 滴和自身红细胞悬液 1 滴。摇匀混合，置 37℃水浴 30～60 分钟，每隔 15 分钟振摇 1 次试管，促进反应。

3. 取出试管以生理盐水洗涤红细胞 3 次，末次弃尽盐水。

4. 各管内加最适稀释度抗人球蛋白血清 2 滴混匀。

5. 以 3 500r/min 离心 15 秒。肉眼观察。

6. 同时用抗 D 血清和 AB 型血清按上述与 Rh(D)阳性红细胞做阳性、阴性对照，见表 7-3。

(四)结果分析

先看阳性、阴性对照管是否符合，如对照无问题，再看 P_S+D_C 及 D_S+P_C 管有否凝集，无凝集就可输用。如 D_S+P_C 管显凝集，须看自身对照管。如自身对照管也显凝集，说明受血者红细胞上已有抗体吸收。假如 D_S+P_C 管凝集不强于对照管，可输用。P_S+

D_C管有凝集时不能输用。

表 7-3 抗人球蛋白交叉配血试验

反应物(滴)	主侧	次侧	阳性对照	阴性对照	自身对照
受血者血清	4	—	—	—	4
供血者血清	—	4	—	—	—
抗 D 血清	—	—	2	—	—
AB 型血清	—	—	—	2	—
5%受血者 RBC	—	1	—	—	1
5%供血者 RBC	1	—	—	—	—
5%D 阳性 RBC	—	—	1	1	—

(五)报告方式

1. P_S+D_C抗人球蛋白试验阳(阴)性。

2. P_C+D_S抗人球蛋白试验阳(阴)性。

(六)注意事项

1. 抗人球蛋白配血试验须用受血者血清而不能用血浆,因抗凝剂是抗补体的,对某些需要补体的抗体可能不能显示。

2. 假如遇到 1 例受血者,其血清具有一种抗体,既不是自身抗体,又对许多人的红细胞均显凝集,又急需输血时,可试用其兄弟、姐妹的血液做交配,可能会有配合的。

3. 自身免疫性溶血性贫血病人有时血清中有非特异性抗体。对每一个供血者的 P_S+D_C管均呈凝集,此时要参照自身对照,如 P_S+D_C管反应比较弱,受血者又急需输血,也可输给。如几个供血者中反应有强有弱,就选择反应弱的。最好先确定受血者的抗体有否型特异性,如受血者有抗 e 则选用 R_2R_2血液,除特异性抗体之外,还有非特异的,还需注意有无同族抗体。

4. 本试验 P_S+D_C及 D_S+P_C管致敏用血清量太多,这是因抗人球蛋白试验致敏时用的血清量愈大愈敏感。做配血试验时受血者可能有极弱的抗体,不易检出,在输给不合的血液后出现溶血。

为此将致敏用的血清多加一些，如受血者标本很少，也可按常规做法即血清2滴加供血者压积红细胞1滴。

二、PEG-IAT法

间接抗人球蛋白试验(IAT)是一种较理想配血试验，但因试验所需时间长，临床急需输血时使用极不方便。因此，我们实验室对IAT试验进行改良，在原试验基础上添加了聚乙二醇(PEG)试剂，即称PEG-IAT试验。PEG为一种无电荷的大分子物质，加入反应溶液中，可增加反应速度，有利于反应物之间相互碰撞，易形成免疫复合物，提高抗原抗体的敏感性。传统的IAT试验需37℃水浴60分钟，而改良后PEG-IAT试验，只需37℃水浴5分钟。王振芳等改良后的PEG-IAT配血试验，经多年临床观察，认为该方法时间短，且敏感性高、特异性强，可作为常规配血技术。PEG-IAT试验详见《上海医学检验杂志》1997;12(2):95。

(一)材料

1. 受、供者的血清及5%红细胞悬液(红细胞洗3次)。
2. 抗人球蛋白的血清。
3. 抗D血清。
4. AB型血清。
5. 5% Rh(D)阳性红细胞悬液。
6. 3% PEG溶液。

(二)操作

1. 取小试管3支，分别标明主侧管(Ps+Dc)，即受血者血清加供血者红细胞，次侧管(Pc+Ds)即受血者红细胞加供血者血清，自身对照管(Ps+Pc)，即受血者血清加受血者红细胞。

2. 主侧管内加受血者血清1滴和供血者5%红细胞悬液1滴；次侧管加供血者血清1滴和受血者红细胞悬液1滴；自身对照管内分别加受血者自身血清1滴和自身红细胞悬液1滴。

3. 主侧、次侧、自身对照3管分别加入3%PEG溶液2滴。

4. 混匀，置 37℃水浴 5 分钟。

5. 取出以上各管，以生理盐水洗涤 3 次，末次弃尽盐水。

6. 各管内加最适稀释度抗人球蛋白血清 1 滴，并混匀。

7. 以 3500r/min 离心 15 秒，肉眼观察。

8. 同时用抗 D 血清和 AB 型血清按上述与 Rh(D)阳性红细胞做阳性、阴性对照(表 7-4)。

表 7-4 PEG-IAT 交叉配血试验

反应物(滴)	主侧	次侧	阳性对照	阴性对照	自身对照
受血者血清	1	—	—	—	1
供血者血清	—	1	—	—	—
抗 D 血清	—	—	1	—	—
AB 型血清	—	—	—	1	—
5%受血者 RBC	—	1	—	—	1
5%供血者 RBC	1	—	—	—	—
5%D 阳性 RBC	—	—	1	1	—

(三)结果分析

同抗人球蛋白配血试验结果分析。

(四)报告方式

1. Ps+Dc　PEG-IAT 有(无)凝集、溶血。

2. Pc+Ds　PEG-IAT 有(无)凝集、溶血。

第五节　凝聚胺交叉配血试验

一、凝聚胺技术发展史

1980 年 Lalezari 和 Jiang 首先将凝聚胺(polybrene)技术应用于血库作业上。

近 30 年来，广大输血工作者在血型抗体的检测方面做了大量

的研究工作，特别是凝聚胺技术，美国、英国、法国等国家的学者，对其在红细胞抗原检测、红细胞抗体筛查、红细胞相容性试验等方面做了大量的工作。手工凝聚胺技术，已在欧美国家的血库实验室对输血前检查普遍使用。同时各国不少学者对其性能参数与其他方法进行了对比。

1983年，首先在美国被列为输血前抗体筛查和交叉配血试验的常规技术。Fisher在抗体筛选和交叉配血的244例病人中检出了Rh、Duffy、Kell等红细胞血型系统抗体264种。用凝聚胺技术在5 381份病人血清中，配合了6 353U血液。在交叉配血试验中快速检出免疫抗体并快速发出交叉配合血液的作用，能有效地防止急、慢性溶血性输血反应。

凝聚胺技术在交叉配血试验中，能检出免疫抗体，为证实该技术的可行性，各国学者纷纷做深入研究。

美国学者在输血前检查10 084份血液标本上，采用凝聚胺技术、白蛋白AGT和盐水AGT进行双盲试验。结果认为在保证ABO配合及灵敏度的抗体时，凝聚胺技术优于其他两种方法。

瑞士一家大医院用凝聚胺交叉配血17 161份标本中，配合了43 006U血液，输入20 841U，未发生任何反应。在对288份抗体检查中，18份在木瓜酶中反应，20份在凝聚胺试验有反应。证明了凝聚胺技术比木瓜酶试验更敏感，且试验所需时间更短。

前西德学者用凝聚胺技术与白蛋白AGT、IAT、木瓜酶3种标准技术对113份有抗体血清标本进行比较检测。凝聚胺技术检出8份有意义的抗体，而其他3种标准技术均未检出有意义的抗体。

中国台湾马偕医院用凝聚胺技术对73 851位病人做了抗体检测和交叉配血试验，发现了125位病人有临床意义的抗体。凝聚胺技术抗体检出率几乎为100%，IAT抗体检出率为75%。中国人K抗原频率低，抗K抗体检出率几乎为零，故认为凝聚胺技术是最适合华人进行交叉配血的方法。

1993年，凝聚胺试剂盒开始在国内应用。

1995年凝聚胺试剂通过临床检测中心评估，称该实验可用于完全抗体及不完全抗体的血型过筛检测及交叉配血试验，方法简便、灵敏度高、时间短、结果明显。同年，全国第四届临床输血学术大会在吉林召开，会后吉林血站对与会人员做了凝聚胺交叉配血试验的演试。

1996年由卫生部组织人员编写的《临床检测操作规程》(第2版102页)首次将凝聚胺技术写入该书中。

1999年广东省中山市生科试剂仪器有限公司生产的改良凝聚胺试剂盒，通过了卫生部临床检验中心评估。结论为：本试剂适合临床血型测定、交叉配血和抗体筛检等血型血清学试验，与传统凝聚胺方法比较操作更简便、快速。

我们有幸参加了全国第四届临床输血技术大会，会后不久将凝聚胺交叉配血技术引进河北金能矿业集团总医院，在河北省率先开展了凝聚胺交叉配血技术。我们用凝聚胺配血试验为16 922名病人标本，交叉配血39 859U，输入38 955U悬浮红细胞，输入全血347 600ml，均未发现输血反应，我们以题目为“凝聚胺交叉配血可以预防输血事故”的文章发表在《中国输血杂志》1999年第3期上。我们认为，为确保输血安全，在基层医院应开展IgG抗体的检测，尤其对Rh血型的检测是十分必要的。对有输血史、妊娠史的病人，应首选凝聚胺交叉配血试验。为此，我们建议暂且不具备特殊血型检测的基层医院，当病人配多份ABO同型血时，如有主侧凝集，怀疑病人血清中有ABO血型系统以外的特异型抗体，又急需输血时，可选用凝聚胺交叉配血试验相合的血液输注，待病人病情平稳后，再详细检测抗原抗体，寻求同型血输注。

二、凝聚胺配血试验的原理

1. 红细胞表面的唾液酸含量极其丰富，且带有大量的负电荷，可以避免红细胞发生自发性聚集，使红细胞保持最大的表面积，增加了氧的转移能力和气体扩散能力。当红细胞悬浮在电解质时，阳

离子被红细胞的负电荷所吸引，红细胞则被扩散的双层离子云所围绕，形成了 Zeta 电位，该电位决定红细胞之间的排斥作用。

2. 凝聚胺技术首先利用 LIM，降低了离子强度，减少了红细胞周围的阳离子云，加速带正电荷的 IgG 抗体与带负电荷的红细胞发生反应，帮助红细胞抗原与相应抗体紧密结合，再经过机械离心作用，大大加快了红细胞摄取抗体的速率。

3. 加入凝聚胺试剂（图 7-3），它是一种多价阳离子溴化己二甲胺（hexadimethrinebromide）多聚物，是肝素中和剂，也称抗肝素灵。溶解后产生很多正电荷，可以中和红细胞表面带有的负电荷，使红细胞的 Zeta 电位降低，缩短红细胞之间的距离，诱使红细胞产生可逆性的非特异性凝聚。

4. 加入悬浮液（resuspending），它具有中和凝聚胺的作用，使正常的红细胞假凝集迅速消除，而特异性的免疫凝集对悬浮液不敏感。故真凝集不会重新散开。

三、试剂组成（图 7-3）

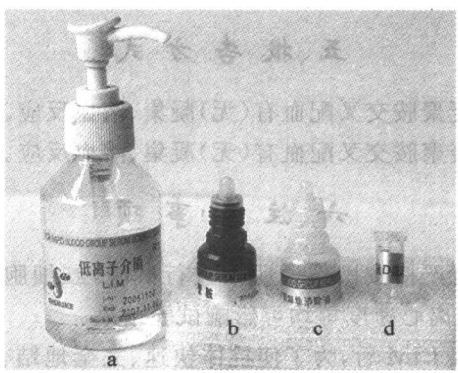


图 7-3　凝聚胺试剂组成

注：a. 低离子介质（low ionic medium）；b. 凝聚胺（polybrene）；c. 假凝集清除液（false agglutination erase solution）；d. IgG 抗 D 阳性对照血清（positive control）。

四、操　　作

1. 取试管 2 支，标明主次侧，主侧管加受血者血清 1 滴，加供血者 3%～5%红细胞悬液（洗涤不洗涤均可）1 滴，次侧管加供血者血清 1 滴，加受血者 3%～5%红细胞悬液（洗涤不洗涤均可）1 滴。

2. 各管加 ILM0.8ml，混匀，置室温 1 分钟。

3. 各管再加入凝聚胺液，混合后静置 15 秒。

4. 3 500r/min 离心 15 秒，倒掉上清液，不要沥干，使管底残留 0.1ml。

5. 轻轻摇动试管，肉眼可见明显的凝集块（如无凝集须重做）。

6. 最后再加入 1 滴假凝集清除液于管底，轻摇。

7. 观察结果，凝集 1 分钟内消失呈均匀混悬液，再将反应物涂于玻片上借助显微镜观察，红细胞无凝集为阴性，1 分钟内凝集不消除，为阳性。

五、报 告 方 式

1. 主侧凝聚胺交叉配血有（无）凝集、溶血反应。

2. 次侧凝聚胺交叉配血有（无）凝集、溶血反应。

六、注 意 事 项

1. 操作者严格按操作说明书进行试验，红细胞浓度、血清滴量、反应时间、离心速度等均可影响试验结果。

2. 在加入 LIM 后，为了使抗体快速、完全地结合到红细胞表面上，可在室温中静置 1 分钟，以增加试验的敏感性。

3. 可以用含 EDTA 血浆代替血清使用。

4. 老病人血清（血浆）含肝素，如透析病人血清，需多加 3～5 滴凝聚胺溶液以中和肝素。

5. 试剂使用前，请恢复室温后再操作。

6. 凝聚胺对 IgG 抗体最敏感，但抗 K 抗体要用凝聚胺抗人球蛋白法才能检得。

7. 为保证试验有效，三种试剂要按顺序加入，切勿颠倒，即在未加入 LIM 前不能先加凝聚胺。

8. 在冬季气温极低时，操作交叉配血试验，如某些病人血清中可能含有冷凝集素等可导致假阳性结果，若有怀疑，建议在最后滴入凝聚胺后将试管立即置入 37℃水浴 30 秒，轻轻转动试管混匀，观察结果。

9. 试剂质量检验，即取自身血清与自身红细胞用本试剂盒试验方法做自身阴性对照试验，取 IgG 抗 D 血清与 Rh(D)阳性红细胞用本试剂盒试验方法做阳性对照，对照试验结果相符，表明试剂有效。

10. 疑难结果以抗人球蛋白试验(AGT)做最终判断试验。

11. 贮存温度 2～25℃，但 IgG 抗 D 阳性血清宜在 2～8℃保存。

12. 在有效期内使用，有效期暂定为 1 年。

七、常见问题及处理

(一)在加假凝集清除液之前，未出现凝集

1. 使用超过 3 天的配血样本，样本被神经氨酸酶或蛋白水解酶污染，导致红细胞表面唾液酸丢失或受损。处理方法：当试验做完观察发现不凝集时，可在原试验基础上，重复试验步骤，此时应会出现凝集。

2. 标本内含有肝素类物质使凝聚胺被中和。处理方法：加凝聚胺时要加倍量。以后步骤按常规操作。

3. 唾液酸数量较少的罕见的 Tn 细胞，因细胞表面阴离子不足与凝聚胺的阳离子发生反应。处理方法：选用 PEG-IAT 或抗人球蛋白试验。

4. 比例失调，顺序颠倒而未出现凝集。处理方法：严格按说明书操作。

(二)阳性对照出现阴性结果

1. 误将 Rh(D)阴性红细胞加入阳性对照管内而出现阴性结果。处理方法：阳性对照加确定的 Rh(D)阳性的红细胞。

2. 阳性对照血清效价太弱。处理方法：用 1∶32 效价的 IgG 抗 D 血清 2 滴加 1 滴 5%Rh(D)阳性红细胞作为阳性对照反应管。

(三)假阴性

1. 假凝集清除液用量太多，出现依赖抗体的红细胞凝集分解现象，使其降低了试验的敏感性。处理方法：凝聚胺与假凝集清除液应比例相等。

2. 观察结果时，摇动试管用力过大，将弱凝集摇散。处理方法：轻轻摇动试管，用力适当。

3. 观察结果时间过长，使弱凝集解离。处理方法：离心完毕，在 3 分钟以内观察判断结果。

4. 遇见稀有 Kell 血型系统等抗原抗体反应，因凝聚胺试验对其不敏感。处理方法：在凝聚胺试验基础上，追加抗人球蛋白试验。

(四)假阳性

1. 凝聚胺过剩。处理方法：按说明书加量，即凝聚胺与假凝集清除液用量相同。

2. 加假凝集清除液后，摇动试管力过小。处理方法：试管轻轻摇动，用力应适当。

3. 冷凝集素过高。处理方法：将试管放入 37℃水浴加温冷凝集即可散开。

第六节 微柱凝胶卡交叉配血试验

一、概 况

该技术有以下特点：

1. 结果清楚明确，凝集在上层为阳性，沉积在下层为阴性，血型配血结果清晰明了，易判断。

2. 结果稳定，可保存、可拍照、可存入计算机、可复检。

3. 灵敏度高，特异性强。

4. 血清学操作标准化，重复性好，容易掌握，无需经验。

5. 自动化程度高，减少了操作污染。

6. 凝胶测试抗人球蛋白配血可检出 IgG 抗体，避免不规则抗体引起的输血反应，同时该试验不存在抗人球蛋白被中和问题，免去了费时费力洗涤红细胞的过程。

7. 标本用量少，有利于新生儿及静脉采血困难者的标本检测。

8. 一卡六管，减少标记，降低了错误发生率。

9. 产品齐全，用途广泛。

二、原 理

Diamed 采用的是微试管凝胶柱凝集技术，该技术基于生物学凝胶过滤技术和离心技术及免疫化学抗原抗体特异性反应，将凝胶及抗人球蛋白血清抗体或其他抗体装入微柱中离心，抗原抗体反应形成凝集块经离心不能通过凝胶间隙，而留在凝胶上层，呈阳性反应，未凝集的红细胞离心时可通过凝胶间隙，而沉积于凝胶管底部，呈阴性反应。

三、必备试剂

红细胞稀释液：调节红细胞悬液的浓度。

四、必备材料

见图 7-4。

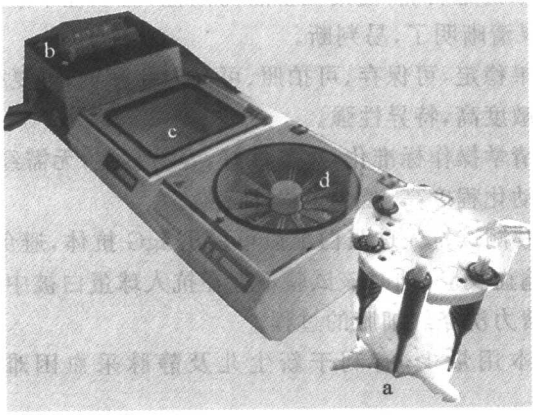


图 7-4　卡式配血专用器材

a. 加样枪、配套枪头；b. 试管（装悬液用）；c. 孵育器（37℃）；d. 离心机（离心速度和时间固定，1 次可离 12 张卡）。

五、样品材料

用常规静脉穿刺法抽取血样。血样最好用枸橼酸盐、EDTA 或肝素抗凝。为了得到可靠的结果，必须强调一定要使用新鲜收集的血液。

当需要用血清来进行仔细清洗血清。可于使用前，将血清以 1 500g 离心 10 分钟，以避免纤维蛋白残留物干扰。

六、血样的准备

(一)红细胞

用达亚美2号稀释液配制0.8%的红细胞悬液,操作步骤如下:

1. 在一个干净的试管中加入10ml达亚美2号稀释液。

2. 加入10μl压积红细胞,轻轻混匀。

使用前将达亚美2号稀释液在室温平衡,配制好的红细胞悬液可立即使用。

(二)间接Coombs实验使用的血清

如果样品在分离后没有立即用于检测,应将其贮存于2~8℃,最长保存时间48小时,如想保存更长时间,应置于-20℃。

七、操作步骤

1. 将受血者标本(EDTA抗凝)1 500g离心5分钟。

2. 用低离子介质溶液配成0.8%供血者、受血者红细胞悬液各0.5ml。

3. 取出配血卡,标记检测号,撕开封口膜。

4. 主侧管加50μl供血者红细胞悬液于微柱孔中,再加入0.8%受血者血清50μl;次侧管加50μl受血者红细胞于微柱孔中,再加入0.8%供血者血清50μl。

5. 37℃孵育15分钟。

6. 离心10分钟,肉眼观察结果

八、结果解释

(一)原则

1. 阳性　凝集的红细胞在凝胶表面形成一条红线,或凝集物分散在凝胶中。

2. 阴性　红细胞在微管底部形成密集的扣状物。

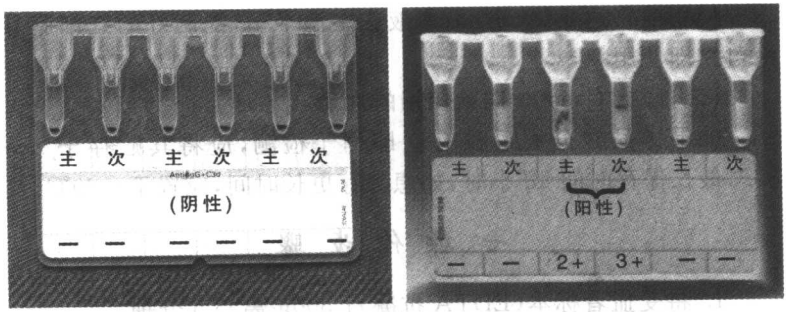
(二)交叉反应

1. 阴性反应　表明供血者与受血者的血液相容。

2. 阳性反应　表明由于存在抗体,供血者与受血者的血液不相容。

九、结果判断

见图 7-5。



a　　b

图 7-5　卡式配血结果

十、报告方式

1. 传统报告方式

(1)主侧:受血者血清加供血者红细胞有(无)凝集、溶血。

(2)次侧:供血者血清加受血者红细胞有(无)凝集、溶血。

2. 电脑报告方式　用鼠标点击配发血报告单内的“配血方法”框,弹出下拉菜单,从菜单中选“微柱凝胶卡法”便可自动打印出报告单。即:主侧有(无)凝集、溶血,次测有(无)凝集、溶血。

3. 电脑报告与传统报告不同点

(1)电脑报告比传统报告受、供血者有关输血信息更规范、更详细。

(2)电脑报告增加受、供血者血型复检、抗体筛选结果等内容。

(3)电脑报告可永久保存,随时查阅。

(4)电脑报告有利于统计总结。

(5)电脑报告有利于科研。

十一、注意事项

1. 交叉配血试验前,先取出低离子介质,放置15分钟左右至室温。

2. 将卡标记好,并离心3～4分钟。

3. 卡包装已破损,管中干涸或有气泡时不可使用。

4. 为保证反应结果的可靠必须用低离子介质做红细胞悬液。

5. 红细胞悬液浓度不可太浓或太淡,应以0.8%为宜。

6. 血样一定要离心,以防纤维蛋白吸附部分红细胞,出现假阳性。

7. 血清、红细胞悬液应加至卡反应室中。

8. 严格按照操作程序,细心观察可以发现弱抗原、抗体反应。

9. 某些疾病、药物等可导致交叉配血不合,应加以区别。

10. 异常血清蛋白及细菌可影响结果。

11. 试验卡在20℃左右保存。

12. 试验卡保存应注意防重物压、防高温。

第七节 大量输血的配血法

大量输血是指在24小时内输注相当于人全身血容量或更多血液的输血,或在3小时之内替换受血者循环血容量50%以上的输血。此时一定要多个供血者提供血液。如果供血者之间有不规则抗体,也能出现凝集反应,引起输血不良反应。因此,当受血者需大量输血时,除受血者与供血者之间做交叉配血试验外,还要做供血者之间的交叉配血试验。

一、平 板 法

1. 方法

(1)受血者及供血者红细胞用盐水洗涤 1 次，分别配成 3%～5%红细胞悬液。

(2)取洁净玻璃或白瓷砖 1 块，用蜡笔画若干小方格，每格边长 1.5cm，横排小格数示供血者数加 1；竖列小格数示供血者数。以 6 名供血者为例，按表 7-5 画成小方格，每格按表上编号，加血清 1 滴，再按表上编号各加 3%～5%红细胞悬液 1 滴，用玻棒将血清与红细胞悬液搅和混匀，手持玻璃板或瓷砖轻轻转动，置室温 30 分钟，观察结果。

表7-5 平板法大量交叉配血

血清 红细胞	受 献$_1$	献$_1$ 受	献$_2$ 受	献$_3$ 受	献$_4$ 受	献$_5$ 受	献$_6$ 受
血清 红细胞	受 献$_2$	献$_1$ 献$_2$	献$_2$ 献$_1$	献$_3$ 献$_1$	献$_4$ 献$_1$	献$_5$ 献$_1$	献$_6$ 献$_1$
血清 红细胞	受 献$_3$	献$_1$ 献$_3$	献$_2$ 献$_3$	献$_3$ 献$_2$	献$_4$ 献$_2$	献$_5$ 献$_2$	献$_6$ 献$_2$
血清 红细胞	受 献$_4$	献$_1$ 献$_4$	献$_2$ 献$_4$	献$_3$ 献$_4$	献$_4$ 献$_3$	献$_5$ 献$_3$	献$_6$ 献$_3$
血清 红细胞	受 献$_5$	献$_1$ 献$_5$	献$_2$ 献$_5$	献$_3$ 献$_5$	献$_4$ 献$_5$	献$_5$ 献$_4$	献$_6$ 献$_4$
血清 红细胞	受 献$_6$	献$_1$ 献$_6$	献$_2$ 献$_6$	献$_3$ 献$_6$	献$_4$ 献$_6$	献$_5$ 献$_6$	献$_6$ 献$_5$

次侧

主侧　　供血者之间交叉

2. 结果判断　主侧、次侧及供血者之间交叉配血均不聚集不溶血时，方可输血。如发现某一方格内有聚集或溶血，应详查原因，并严禁输入该供血者的血液。

二、试　管　法

1. 方法

(1)将受血者及供血者红细胞洗涤或不洗涤也可，分别配成3%～5%的红细胞悬液。

(2)取试管若干对，排成若干竖列，竖列数为供血者数加1。第1竖列数同供血者数；第2竖列以后每竖列数为供血者数减1。下面以6名供血者为例，按表7-6格式和标记排列。所有试管各加血清1滴，红细胞悬液1滴，3 500r/min离心15秒，观察结果。也可按凝聚胺配血法试验。

2. 结果判断　同平板法。

三、分组交叉法

多个供血者除与受血者分别交叉配血外，供血者之间交叉配血手续可简略一些，将供血者血清分组混合，再与各个供血者红细胞分别做交叉配血，根据受血者有无输血史、妊娠史，可选用IAT-PEG配血法，也可选改良凝聚胺交叉配血法。分组交叉法比平板法简单，时间短，但不如平板法敏感。

1. 方法

(1)将所有供血者编号，每组8～10人。例如共有供血者20人，则可分为：A组(供血者1～10)、B组(供血者11～20)。

(2)取大试管2支，分别标明A及B，A管内加A组各供血者的血清各0.5ml；B管内加B组供血者血清0.5ml。

(3)取小试管40支分为A及B 2组。A组标明A_1，A_2……A_{20}；B组各管也同样标明B_1，B_2……B_{20}；分别排成2排。A组各管各加A管混合血清1滴，B组各管各加B管混合血清1滴。

表7-6 试管法大量交叉配血

主侧	次侧	主侧	次侧	主侧	次侧	主侧	次侧	主侧	次侧	主侧	次侧	主侧	次侧
R_1	P_1	P_1	P_2	P_2	P_1	P_3	P_1	P_4	P_1	P_5	P_1	P_6	P_1
R_2	P_2	P_1	P_3	P_2	P_3	P_3	P_2	P_4	P_2	P_5	P_2	P_6	P_2
R_3	P_3	P_1	P_4	P_2	P_4	P_3	P_4	P_4	P_3	P_5	P_3	P_6	P_3
R_4	P_4	P_1	P_5	P_2	P_5	P_3	P_5	P_4	P_5	P_5	P_4	P_6	P_4
R_5	P_5	P_1	P_6	P_2	P_6	P_3	P_6	P_4	P_6	P_5	P_6	P_6	P_5
R_6	P_6												
受血者与供血者交叉		供血者之间交叉											

注：R代表受血者（R_1～R_6为便于与P_1～P_6对应组成主、次侧管，R_1～R_6为同一受血者）；P代表供血者，P_1～P_6表示供血者第1名至第6名

(4)将所有供血者红细胞分别配成3%～5%红细胞悬液。然后按各自的编号在A组和B组相应号数的试管中各加1滴红细胞悬液，即1号供血者的红细胞悬液加入A_1管及B_1管各1滴，余以此类推。

(5)A、B 2组加有混合血清及红细胞悬液的各管，按改良凝聚胺试剂说明书操作步骤完成。

2. 结果判断　主侧、次侧及供血者之间交叉配血均无凝集无溶血时，方可输用。如某一组某一管发生凝集或溶血，则说明此供血者的红细胞和该组的某一血清是不相合的。例如A_8管发生配血不合时，即8号供血者红细胞与1～10号供血者中某一人的血清不配合。即可用8号供血者红细胞1～10号供血者血清分别做交叉配血试验而发现。类似情况也照此分析。

（王振芳　李莉芬）

第8章 成分输血

以往输血习惯是不管病人需要什么血液成分统一输全血。这种不合理的输血很难达到输血的预期目的。比如临床上为了控制出血或控制感染而输用全血，但全血中所含凝血因子、血小板及白细胞数量是有限的，若输用大量的全血，必然会增加血容量，使心脏负荷加重，导致心力衰竭、肺水肿，甚至危及生命。由此可见，临床输用全血是不科学、不安全的。而当今的成分输血，是病人缺什么补什么；任何一种血液成分都有其作用，同时也有潜在的副作用。这就要求临床医师对每一次输血的临床适应证进行仔细评估、综合分析，选出病人最需要的某一成分血输用，以达到最佳输血效果。

第一节 成分输血的概况

成分输血（blood component therapy）就是把全血内的血细胞、血浆凝血因子等各血液成分，用物理或（和）化学的方法，分离制成较浓和较纯的各种制品，以供临床应用。

一、成分输血发展史

自1900年在奥地利维也纳大学工作的病理学家卡尔·兰德斯坦纳发现了人类第1个血型系统——红细胞ABO血型系统以来，输血方法就得到重视和发展，这以后相当长的时间主要是输全血。直到第2次世界大战期间，因为全血只能保存7～10天，而将

全血分离为血浆与红细胞两大部分，经输注血浆发现它有很好的抗休克作用，而将大量血液分离血浆为抢救伤员用，大量血细胞被丢弃，将剩余的血浆做成冻干制品，以便保存和运输。

1959 年，吉普森(Gibson)首先正式提出了成分输血。从而成分输血在世界各国广泛开展，而成为输血史上一大转折。

20 世纪 70 年代初期以后，世界上一些发达国家成分输血占全部用血量的比例逐年增长。全血输用则相应减少，从全血用于分离血细胞和血浆，制成各种不同血细胞及血浆蛋白成分的比例逐渐增多；输注红细胞、血小板、凝血因子浓缩制剂的输注量显著增多。而输用全血及血浆者大为减少。科学家们对成分输血的合理性、科学性和先进性给予了极高评价，认为在世界输血领域内，普遍开展的成分输血势在必行。

20 世纪 90 年代，一些发达国家成分输血占临床用血比例已达 85%～95%，如美国已达 98%，日本和法国达到 95%，加拿大 90%，英国 85%。血液成分的品种已达 30 种以上。

目前，世界各国的输血工作者和临床医师已将成分输血的比例多少作为衡量一个国家，一个地区，一个血站，一所医院医疗水平高低的标准之一。作为临床医师，能否视病人情况，合理科学地选择运用各种血液成分，亦是衡量其医术高低的重要标志。

我国输血事业的发展各地差异较大，与发达国家相比，仍有一定差距。20 世纪 70 年代末，北京、上海、天津等血站在国内率先开展成分输血工作。并且还生产出白蛋白、球蛋白、纤维蛋白和冷沉淀等制品。

1981 年，卫生部委托北京血液中心举办国内首届成分输血学习班，随后一些大城市纷纷也举办成分输血学习班，从而成分输血在全国各地相继开展。

1990 年底，国内几个大中城市的成分输血率只有 19.1%。

自 1998 年《中华人民共和国献血法》颁布和 2000 年《临床输血技术规范》发布以来，国内成分输血已在各地广泛开展，成分输

血占输血量70%～98%。

截至2006年底，河北邢台市成分输血占总用血量的98%～100%。

二、成分输血的意义

(一)成分输血的优点

1. *治疗效果好* 成分输血是对病人进行缺什么成分，补充什么成分。因为每一种血液成分制剂均要提纯，得到高浓度、强效价，便于保存、运输，有利于提高临床治疗疗效。例如：400ml全血加保存液50ml，总容量为450ml，但制备成2U浓缩血小板容量只有25～30ml，只相当于全血容量的1/15，却含有全血中60%以上的血小板。需要输注血小板的病人，一般一次常规用量为10U，10U总容量不足150ml，相当于2 000ml全血中的血小板数。如病人靠大量输全血来提高血小板数量，势必引起病人循环超负荷的危险，对宝贵的血源也是一种浪费。

2. *不良反应少* 血液成分非常复杂，到目前为止，除了单卵孪生子外，世界上没有两个人的血型完全相同。现已发现红细胞有26个血型系统，400多种抗原，白细胞的HLA已检出400多种抗原，血小板也有它的特异抗原，血浆蛋白也有各种特异抗原。由此看来，全血的血液成分十分复杂，引起各种输血后不良反应的机会就多。如果用血细胞分离机单采1个供血者的血液成分进行输血，将其他成分还输给供血者，就可避免不需要的成分所引起的反应，减少输血反应的发生率。尤其对老年人、儿童及心功能不全的病人可减少输血容量，降低循环的负荷。

3. *传播疾病少* 输血传播病毒性传染病，特别是HBV、HCV、HIV、TP已严重威胁输血安全。目前输血后肝炎有90%是丙型肝炎。丙型肝炎与乙型肝炎相比，丙型肝炎更容易慢性化，发生肝硬化和肝癌的比例高。因输血感染HIV、TP国内也有不少报道。由于病毒在血液的各种成分中不是均匀分布的，各种成

分的病毒危险性也不一样。一般来说白细胞最危险，血浆占第2位，红细胞和血小板较安全；对血浆蛋白制品而言，凝血因子最危险，因为在血浆蛋白分离过程中，原料血浆中80%以上的病毒浓缩到凝血因子中。全血成分复杂，因各种有效成分功能不同，不便对病毒灭活处理。而成分制剂对病毒灭活处理较方便，且较理想。因此，单一成分血传播疾病的概率较小，输单一成分血是安全可靠的。

4. 提高利用率　成分输血是将1U的全血或血浆制成不同成分，输给不同病人，一血多用，节约血源，节省开支。1份全血中的血细胞可分别制成红细胞、白细胞、血小板，血浆中的白蛋白、免疫球蛋白、凝血因子，进行分离、纯化制备成各种不同成分，分别输给几个需要不同成分的病人，既利于治疗，又充分利用了多种血液成分；节约了血源，又减轻了社会、个人的经济负担，也有利于供血者的健康。

5. 使用方便　各种血液成分在各自适宜的条件下，可较长时间保存，尤其是Rh阴性血浆，加入保护液在液氮中可保存数十年；第Ⅷ因子在－20℃下可保存2年；新鲜冰冻血浆－30℃可保存1年；普遍冰冻血浆－30℃可保存5年。临床急需时，可随用随取，为抢救病人提供足量的血源。

(二)全血输注的缺点

1. 全血并不“全”　离体的全血，贮存于有保养液的血袋内，存放于4℃冰箱中，各种成分也将随着保存时间的延长而发生变化。红细胞在ACD保养液中保存平均每天损坏率为1%；白细胞在ACD液中最多保存5天，尤其多核白细胞死亡最快；血小板在ACD血液中，24小时内就开始破坏，约有50%丧失功能，48小时显著减少，72小时无止血作用，5天全部破坏。血液在ACD液中保存7天，只剩下了红细胞、血浆蛋白和稳定的凝血因子，其余成分全部失效。

2. 新鲜全血更不安全　新鲜全血内含有大量有功能的淋巴

细胞，当病人严重缺乏淋巴细胞时，一旦输入新鲜有免疫力的活性淋巴细胞的全血，植入体内的淋巴细胞增殖并发生移植物抗宿主病；目前国内筛选梅毒使用的是检查抗体的方法，有感染梅毒而已完全治愈的供血者，因产生了梅毒抗体，当供血检查时误认为不合格；假如供血者已感染了梅毒抗体，处在窗口期，还尚未产生抗体，则可能被认为是合格血液，再则，梅毒螺旋体在4℃条件下，可存活3天，故3天内的全血有传染梅毒的危险。

3. *容易产生同种免疫* 全血中的红细胞、白细胞、血小板和血浆蛋白等多种复杂的血型抗原，一旦进入受血者体中，可使受血者体内产生多种不同的相应抗体，当再次输血时，即可产生同种免疫的输血反应。

4. *循环负荷增加* 大量输全血可使循环超负荷，还可致病人代谢负担加重。

第二节 全血输注

全血指包括血细胞及血浆中的各种成分。将血液采入含有抗凝剂或保存液的血袋内，不做任何加工，即为全血。血液经72小时自然下沉或离心后，可分为两部分，上层是透明的液体，呈金黄色或略呈黄绿色，称之为血浆，下层呈暗红色，不透明，除少量血浆外，绝大部分是红细胞。血浆与红细胞之间还可见到一薄层白色物质，主要是白细胞和血小板(图8-1)。

(一)全血的种类

1. *新鲜全血* 对新鲜全血的定义目前尚无统一标准，应根据输血目的来参考以下原则。

① 补充红细胞，保存期以内的全血均视为新鲜全血；

② 补充凝血因子，当日的全血可视为新鲜全血；

③ 补充血小板，12小时内的全血应视为新鲜全血；

④补充粒细胞，8小时内的全血应视为新鲜全血。

图 8-1　全血

决定输新鲜全血一定要权衡利弊，慎之又慎，因为当日库血一些病毒尚未灭活，故有潜在的危险性，当输血量大时多输成分血，少输或不输新鲜血。

2. 库存全血　将血液采入含有保存液的塑料血袋内，尽快放入 4℃冰箱内，即为库存全血。其主要质量标准为：输注后 24 小时循环内存活的红细胞数至少为原有数的 70%。据此而定的全血保存期，ACD 全血为 21 天，CPD 全血为 28 天，CPDA 全血为 35 天。目前国内大多采用 CPD 保存液保存血液。库存全血的有效成分主要是红细胞、血浆蛋白和部分稳定的凝血因子，其主要功能是携氧和维持渗透性。

(二)适应证

1. 大出血　如急性失血、产后大出血、大手术时丢失大量血液，出血量超过病人总血量的 40%，缺乏血红蛋白，血容量明显减少，此时可输全血。

2. 换血　特别是新生儿溶血病，经过换血后可去除胆红素、抗体及抗体致敏的红细胞，此时可用供血者的全血进行置换。

3. 全血细胞减少　各种原因引起的红细胞、白细胞、血小板

3种细胞成分同时缺乏即全血细胞减少症，如骨髓功能衰竭、脾功能亢进等。

4. 体外循环　外科做心肺分流手术体外循环时，体外机容量大，同时红细胞遭受机械性损伤时，在输晶体液和胶体液的同时，可适当输入全血。

上述情况也并非完全使用全血，可视情况选用悬浮红细胞、少浆血、浓缩红细胞，同时配合晶体液、胶体液输注。

(三)缺点

1. 全血中含有白细胞和血小板，可以使受血者产生抗体，当再次输血时可发生输血反应。

2. 全血中所含白细胞、血小板和凝血因子的量很少，且成分不浓不纯，不能取得预期疗效。

3. 对血容量正常的病人，尤其是老年人或儿童，输全血可引起超循环负荷，而发生心力衰竭。

4. 由于全血血浆存在，发生不良反应概率高。

5. 全血的血浆内含有较高浓度的枸橼酸钠、酸、钾、氨、增塑剂等，可引起输血不良反应。

6. 全血是制备血液各种成分的原料血，如使用过多，造成极大浪费。

7. 输新鲜全血最不安全。如梅毒螺旋体在4℃保存血液中3天才可灭活，疟原虫保存2周可部分灭活。

(四)禁忌证

1. 对血浆蛋白已致敏或对血浆内某种变应原敏感的病人。

2. 血容量正常而需要输血的贫血病人。

3. 年老体弱、婴幼儿、心功能不全和心力衰竭的贫血病人。

4. 预期需长期或反复输血的病人，如阵发性睡眠性血红蛋白尿、再生障碍性贫血(简称再障)和白血病贫血等。

5. 由于以前的输血或妊娠已产生白细胞或血小板抗体的贫血病人。

(五)剂量与用法

通常输全血的剂量是以血红蛋白增加来衡量的。输血总量及间隔时间应视病人贫血或失血情况而定。一般输注全血 400ml，大约可提高血红蛋白 10g/L 或血细胞比容 3%，最好输血前后测定病人血红蛋白或血细胞比容来调整输血剂量。

输血前必须常规做输血前检查，尤其要常规做 ABO 血型正反向定型，Rh(D)抗原检测；对受血者、供血者做抗体筛查，并选用能检出 ABO 以外不规则抗体的试验，进行交叉配血试验，结果无凝集、溶血时方可输血。

血液临输时，要再次核对受血者、供血者的有关信息，确认无误后，使用有滤器的输血器输注。输血完毕，负责医师应将输血情况记录在病历中，同时，一些有关信息还要反馈到输血科。

第三节　红细胞输注

临床上需要输血的病人，主要是补充红细胞，纠正贫血，恢复和维持携氧能力。红细胞输注占临床输血 80%以上。目前，红细胞制品的种类很多，如：浓缩红细胞、去白细胞的红细胞、少浆血、洗涤红细胞、年轻红细胞、冰冻红细胞等，下面分别叙述。

一、浓缩红细胞(RCC)

1. 制备方法　将采集的新鲜全血或保存不久的库血，经离心或静置自然下沉后，将上层血浆移走，剩下的红细胞和少量血浆称为浓缩红细胞。其红细胞具有与全血同样携氧能力，而容量只有全血的 50%～70%。

2. 优点

① 浓缩红细胞与全血一样具有携氧能力，且容量约为全血 60%，减少了输血后循环超负荷的危险；

② 分离出的血浆可供临床应用或进一步深加工成血浆蛋白

制品；

③ 已除去了大部分血浆，减少或避免由血浆引起的过敏、发热等反应；

④ 其中钾、钠、氨、乳酸和枸橼酸盐含量少，适用于有心、肝、肾疾病的病人输血；

⑤ 输血更合理，节约了大部分全血。

3. 适应证

① 适用于血容量正常的各种慢性贫血；

② 对药物疗法无效而又必须依赖输血的病人；

③ 外伤或手术引起急性失血需要输血的病人；

④ 心、肾、肝功能不全需要输血者；

⑤ 老年人、儿童需要输血者；

⑥ 妊娠后期并发贫血需要输血时，因存在代偿性高血容量，输本制品最佳。

4. 剂量及用法　输注的数量、次数及间隔时间主要依据病人的病情及贫血程度来确定。目前无偿献血一般一次献 400ml 全血较多，400ml 全血可制成 2U RCC。一次输入 2U RCC 可提高血红蛋白 10g/L 或血细胞比容 3%来粗略计算。例如：一位极度贫血的病人血红细胞为 40g/L，要提高到 80g/L，最好分 4 次输血，一次输 2U RCC。要用输血器输注。

5. 注意事项

① 输注前需将血袋轻轻反复颠倒数次，将其混匀；

② 吊挂血袋最好要同侧角吊挂，可避免因输注时间过长，血细胞沉淀而堵塞输血管；

③ 严禁向血袋内加任何药物，也不允许用葡萄糖液、葡萄糖盐水、林格液稀释，以免红细胞发生变性、凝集或溶血；

④ 婴幼儿、年老体弱及心肺功能不全者，要严格控制输血速度；

⑤ 一旦出现输血不良反应，立即终止输血，对症处理。

二、去白细胞的红细胞(LPRC)

反复输血、妊娠均可使体内产生白细胞抗体，这种抗体对病人自身白细胞不发生作用，而凝集大多数供血者的白细胞。一旦产生了这种抗体，当再次输血时，就会发生严重的发热反应。为解决上述问题，最简单的方法是去除全血中的白细胞，制成去白细胞的红细胞输给病人。

1. 制备方法

① 新型血细胞分离机去除法；

② 过滤法即使用白细胞滤器，利用吸附或阻挡白细胞，将白细胞去除，而制成去白细胞的红细胞；

③ 离心去白细胞法；

④ 细胞洗涤法；

⑤ 右旋糖酐沉降法；

⑥ 冰冻—融化法。

上述方法以过滤法最为简单易行，目前已在国内广泛开展。

2. 优点

① 避免了白细胞碎片的污染，滤除的白细胞可达 99.9% 以上；

② 减少了致热性细胞因子的作用；

③ 可提高血液的保存质量，且临床输用流畅；

④ 操作简单，时间短，一般过滤 400ml 全血仅需 10 分钟。

3. 适应证

① 由于反复输血或妊娠多次已产生了白细胞或血小板抗体的病人；

② 需要长期反复输血的病人，如再生障碍性贫血、白血病、恶性肿瘤病人等；

③ 准备做器官移植的病人，术前输注可有效减轻或避免免疫排斥反应；

④ 免疫缺乏或免疫抑制的贫血病人。

4. 剂量及用法　剂量及用法参照 RCC。

三、少　浆　血

全血经自然沉淀或离心，移除一部分血浆，制备成红细胞比积为 50%的少浆血，它具有与全血相似的作用，输注流畅，相对减少循环负荷，保存和使用同全血。

1. 适应证　本制品和全血相比，仅少一部分血浆（一袋 400ml 全血可分离出约 160ml 血浆）。其他所有有效成分同全血一样。适应证同全血，需同时补充运氧能力和血容量的情况下，为减少血容量，避免循环超负荷，可用少浆血替代全血。但少浆血也存在全血的缺陷，临床使用时要慎重，以免引起输血不良反应。

2. 剂量及用法　同全血。

四、洗涤红细胞(WRC)

1. 制备方法　全血经离心去除血浆和白膜层，再经 3～6 次生理盐水反复洗涤红细胞，移出 99%血浆蛋白和 80%以上的白细胞和血小板，最后加 50ml 生理盐水即制得较 LRPC 更为纯净的红细胞制剂。

2. WRC 性质　每单位洗涤红细胞的总量为 110～120ml，其中含红细胞 60～70ml，生理盐水 50ml，红细胞回收率大于 80%。经洗涤的红细胞，不仅去除了大部分白细胞、血小板、血浆，同时也去除了细胞碎屑、乳酸、钾、氨和微聚物等。降低了输血反应的发生率，但不能防止病毒传播。洗涤后的“O”型红细胞可酌情输给其他血型的病人。本制品一般在 4℃保存不超过 24 小时，故在临床应用中受到一定的限制。

3. 适应证

① 曾经因为输血或血浆发生过麻疹、血管疼痛性水肿及过敏性休克的病人；

② 曾经反复输血或妊娠已产生白细胞或血小板抗体出现过发热反应的病人；

③ 高钾血症，肝、肾功能障碍须输血的病人；

④ 自身免疫性溶血性贫血的病人，如先天性自身免疫性疾病和阵发性睡眠性血红蛋白尿需要输血者；

⑤WRC 缺乏同种抗 A、抗 B 抗体，因此洗涤“O”红细胞可输给任何 ABO 血型病人。

4. *剂量及用法* 因洗涤过程中损失和丧失部分红细胞，剂量可适当增加，临床一般病人输注 3U WBC 可提高血红蛋白 10g/L 或血细胞比容 3%。总之，要根据病人的病情决定用量，用输血器输注。

5. *注意事项* 制备 WRC 过程中，大多单位采用开放式洗涤法，破坏原血袋的密闭性系统，有操作污染的可能，故制成后最好在 24 小时内输完。

五、年轻红细胞(YE)

1. *制备方法* 由于红细胞成熟后，其细胞体积逐渐变小，密度增大。而年轻红细胞体积大而轻，因而借助浮力及密度可用某种型号的血液分离机，将年轻红细胞与年老红细胞加以分离收集。

2. *适应证* YE 由平均年龄为 30 天的红细胞和较多网织红细胞组成。由于 YE 存活期明显的比成熟红细胞为长。主要适用于需要依赖输血治疗的病人，如严重的再生障碍性贫血、珠蛋白生成障碍性贫血等。反复输血可使铁在体内积聚增多，也可在器官堆积引起含铁血黄素沉着症。输注 YE 可减少输血次数，延长输血间隔。一般可减少输血次数 10%～50%，减少输血量 10% 左右。

3. *剂量及用法* YE 输注是一种新的输血疗法，在国外开展较早，国内近年临床应用较少，其用量要视病人病情而定。国外在治疗重症珠蛋白生成障碍性贫血(地中海贫血)时，有的学者提出

用“高量”或“超高量”输注 YE 疗法。所谓“高量”疗法，即近期输 YE 量能使病人血红蛋白维持在 100g/L 以上。近期足量输注，可延缓病理改变的发生。输注 YE 时要用输血器同常规输血。每次输 4U 为宜。

4. 注意事项　YE 是一种新的血液制品，目前国内只有少数几个血站能够制备。需血细胞分离机制备，成本较高，国内尚未推广。

六、冰冻红细胞

1. 优点　冰冻红细胞可以长期保存，高浓度甘油冰冻的红细胞可以保存 3 年；低浓度甘油超速冰冻的红细胞可以保存 10 年以上。并且保持红细胞原有的三磷腺苷(ATP)和 2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)。

2. 适应证

① 稀有血型的人长期保存红细胞；

② 自身血长期贮存，以备今后使用；

③ 对输用少白细胞的红细胞仍有发热反应者；

④ 准备器官移植或骨髓移植者，可降低组织相容性抗原的同种免疫作用。

3. 剂量及用法　所用剂量及输注方法同 WRC。

4. 注意事项　冰冻红细胞临用前需经融化并洗去甘油，洗涤后的红细胞需在 24 小时内输注完毕。红细胞解冻后，严禁再冻存。

七、辐照红细胞

1. 制备方法　辐照红细胞可以防止输血后淋巴细胞植活，而发生胚样细胞转变及有丝分裂活性，它是一种通过电离辐照灭活淋巴细胞的方法。淋巴细胞对电离辐照较敏感，而血液其他成分则不敏感，红细胞对辐照损伤的抵抗力很强，故辐照对红细胞功能

无影响，对人体无危险。

2. 适应证

① 对需要输血且有免疫缺陷或免疫抑制的病人；

② 子宫内输血者；

③ 新生儿换血；

④ 早产儿或新生儿需输血者；

⑤ 发生输血相关性移植物抗宿主病(TA-GVHD)的病人。

第四节　白细胞输注

白(粒)细胞输注，对特定的病人是有利的，在体内可发挥其细胞吞噬作用和杀菌能力。但近年来白细胞输注不断减少，其原因主要有：一是升白细胞的药物品种不断增加，且临床使用方便，效果明显；二是当病人反复输注白细胞后，可产生抗 HLA 抗体，引起 HLA 同种免疫，易引发不良反应；三是浓缩白细胞输注后，可产生严重的肺部并发症，如循环超负荷，在有边缘性的心功能障碍的病人中可以引起呼吸窘迫；患有革兰阴性菌败血症的病人，内毒素可引发粒细胞脱颗粒、补体激活以及肺功能衰竭；病人体内如有白细胞凝集素可以引起输入白细胞凝集，发生去粒作用，可激活补体损坏肺毛细血管；存在细菌性肺炎的病人，可以引起输入白细胞在肺内快速局限化，造成肺实变。但临床上白血病和恶性肿瘤多采用化疗与放疗，病人骨髓严重受损，甚至丧失造血功能，白细胞计数显著下降，机体免疫力极低，出现一些并发症，此时予输注白细胞可提高白细胞及增强抗感染能力。

(一)制备方法

制备浓缩粒细胞有许多方法，目前最常见的有普通离心法和单采法。

1. 普通离心法　将血液采集于含有抗凝剂的血袋中，经离心使红细胞下沉，而血小板在血浆中，分离出上层血浆后，将白膜层

挤入另一血袋中即可制成。

2. 单采法　利用血细胞分离机采集所需要的粒细胞。如在采集前口服泼尼松龙、氢化可的松、地塞米松、泼尼松、木胆烷醇酮等皮质类激素药物，可以刺激总骨髓库中粒细胞释放，或使粒细胞从边缘池转移到循环池，从而提高供血者全血中粒细胞数量。

(二)适应证

目前，临床输注粒细胞的指征尚无明确规定，对其输注的效果也无一致结论，再加上粒细胞采集困难，现有的技术所获得的粒细胞中，往往还有大量淋巴细胞混入，易引起不良反应。因此，粒细胞输注适应证的选择要特别慎重。

1. 中性粒细胞绝对值低于 0.5×10^9/L，抗生素治疗无效的细菌性败血症。

2. 白细胞严重减少，且合并重度感染，抗生素治疗 48 小时无效的再生障碍性贫血者。

3. 大剂量放疗、化疗，造成白细胞显著下降，且各种药物过敏反应引起粒细胞严重缺乏，出现明显感染者。

(三)剂量及用法

粒细胞在体内寿命很短，正常人每天约有 10^{11} 中性粒细胞经代谢清除。因此，临床一旦确定输注粒细胞，必须足量才能起到治疗作用。一般多次有效的粒细胞输注量最少不低于 10^{10} 个粒细胞。一般每天输注 1 次，持续输注 4～6 天，使感染得到有效控制，骨髓功能恢复正常为止。如疗效明显，亦可减少输注次数；如有肺部并发症或输注无效应立即停止输注。粒细胞采集后应尽快输注，最好从采集到输完在 6 小时内完成，最长不得超过 24 小时。粒细胞制品中因混有红细胞，故必须 ABO 及 Rh 血型相同，输血前必须做交叉配血试验。输注前，有条件的话，可用 25～30Gy γ 射线照射 1 分钟，可以灭活混入的淋巴细胞。输注时必须用通过 170μm 过滤装置的输血器静脉滴注，1～2 小时内输注完。

(四)不良反应

1. 非溶血性输血发热反应、寒战、皮疹等,减慢输注速度到2ml/min,可减轻反应,严重反应时必须停止输注。

2. 病毒感染,特别是巨细胞病毒(CMV)感染和人类嗜T淋巴细胞病毒(HTLV)感染。

3. 肺部合并症,呼吸困难,甚至出现肺水肿,其发生率占19%～57%。

4. 移植物抗宿主病,尤其在免疫缺陷、联合化疗或骨髓移植时。

5. 同种免疫,由于粒细胞有较强的抗原性,输后可产生同种免疫。

第五节　血小板输注

目前,血小板制剂已在临床广泛应用。由各种原因所致严重血小板减少症,输注血小板治疗是最有效的治疗方法之一。近年来越来越强烈的化疗、放疗方案在肿瘤治疗上的应用,一定程度上也促使骨髓受到严重抑制,血小板生成减少,易发生出血倾向,该类病人依赖于长期的血小板输注,一些外科手术如心脑体外循环的应用以及免疫等因素,促使临床输注血小板量逐年增多。

(一)制备方法

制备方法有两种,即机采法和手工法。机采法的特点是从单个供血者可一次采集足量的血小板;手工法较机采法所获得血小板量少。手工法又有两种制备方法:一是先将全血经离心制成富含血小板血浆,再将富含血小板血浆袋再次离心,分出上层少血小板血浆至另一袋,原袋留下少量血浆即为浓缩血小板。二是从白膜层中制备浓缩血小板。

①用三联袋采制全血,以3 000r/min离心10分钟,应在22℃环境中操作,离心后分出上层血浆至1号转移袋中,留下25～

30ml 白膜上血浆，将剩余血浆连同约 60ml 的白膜层轻轻挤入 2 号转移袋。再将 1 号转移袋中血浆返回血袋。②将2 号转移袋以 1 000r/min 离心 10 分钟，使红细胞与白细胞下沉袋底部，将袋上层血浆挤入 1 号转移袋中，即为浓缩血小板。

(二)保存

血小板离体后可发生变性和破坏，在外周血循环中可存活8～10 天；4℃对保存血小板不利；置 22℃不断振荡，可保存 24 小时；用不含增塑剂的袋子贮存血小板，其因该袋子具有良好的透气性，便于气体交换，保存期为 5 天；新研制的一种 PVC 贮存袋，用它保存血小板置 22℃可长达 1 周。

(三)特殊品种

1. 浓缩血小板，用于心功能不全、儿童及对血浆蛋白过敏的病人。

2. 用 γ 射线照射过的浓缩血小板，用于 TA-GVHD，严重免疫损害的病人。

3. 少白细胞的浓缩血小板，用于有 HLA 抗体者。

4. 洗涤过的浓缩血小板，用于对血浆蛋白高度过敏者。

5. 冰冻血小板，用于急诊病人。

(四)适应证

1. 急性血小板减少，如体外循环、大量失血、严重感染。

2. 血小板功能障碍性疾病，如血小板无力症、巨大血小板综合征、血小板型血管性假血友病及药物、肝肾疾病等引起的血小板功能异常等。

3. 血小板生成障碍所致的血小板减少性疾病，如再障、骨髓衰竭、淋巴瘤、白血病等。

4. 预防性输注血小板，如大手术、严重创伤、宫内大出血等。

5. 骨髓移植或反复长期输血小板的病人。

6. 大面积挤压伤所致的 DIC。

(五)输注指征

1. 血小板计数低于 5 000/μl,24 小时无恢复可能者。

2. 在化疗、放疗期间有感染、脾功能亢进或 DIC 者,且血小板低于 20 000/μl。

3. 血小板严重减少伴出血倾向者。

4. 小手术病人术前血小板计数少于 20 000/μl,大手术术前血小板少于 50 000/μl,眼、脑、泌尿手术病人术前血小板少于 100 000/μl。

5. 术后渗血、咯血、呕血、鼻出血、大量阴道出血等,用一般止血方法无效者,应输注浓缩血小板。

6. 急性血小板减少病人有颅内出血倾向者。

(六)用量及用法

临床应从三方面衡量血小板输注的效果:①临床止血效果;②血循环中血小板计数增加情况;③血小板在病人血循环中的存活时间。200ml 全血制成的量为 1U 的浓缩血小板,约含 2.4×10^{10} 个血小板。一般情况下,当病人一次输入 10U 浓缩血小板可升高血小板计数约 36×10^{9}/L,间隔 2～3 天输注 1 次,直至出血停止。输注血小板量最客观的是要根据临床情况而定,因病人病情不同,个人体表面积不同而有差异。

输注血小板时,不能用小孔径滤器,因小孔径滤器会阻滞部分血小板而使输入体内血小板数量减少,应先用孔径为 170μm 的标准滤器输注。

(七)注意事项

1. 输前输中要轻摇血袋,使其混匀。

2. 取回的血小板要立即输用,并以病人能耐受的最快速度输入。

3. 因故未用时,严禁存入冰箱,应置 22℃室温并不断振荡。

4. 机采血小板在紧急情况下,可不同型输注。

5. 机采血小板不必做交叉配血试验。

6. 要求 ABO 血型相同输注。

7. Rh 阴性病人要输注 Rh 阴性血小板，尤其育龄妇女。

8. 无 Rh 致敏史的 Rh 阴性病人一旦输入 Rh 阳性血小板时，应使用抗 D 免疫球蛋白以阻止血小板制品中 Rh 阳性红细胞引起受血者 Rh 的致敏。

第六节 血浆输注

临床上输注血浆的主要目的是补充易变的凝血因子以稳定凝血因子。使用新鲜冰冻血浆最多，其在临床应用中，具有一系列综合治疗价值，可用于休克、免疫、止血和解毒等方面。供临床使用的血浆，必须是全血在分离有形成分过程中，同时获得血浆。需要说明的是，单采血浆就为血浆蛋白制品生产提供的原料血浆，绝对不能应用于临床。其理由有：①原料血浆未经灭活病毒处理，易造成交叉感染；②供血浆者一旦感染了 HCV、HIV 等病毒，其抗体在尚未形成时，供血浆者的病毒抗体已造成漏检；③一般供血浆者献浆较频繁，易造成血浆蛋白含量不足，临床治疗效果欠佳。

血浆制剂的品种有以下几种：①新鲜液体血浆；②新鲜冰冻血浆(FFP)；③普通液体血浆；④普通冰冻血浆(FP)。

(一)血浆的制备

1. *新鲜液体血浆* 全血采集后，于 6 小时内分离的血浆称为新鲜液体血浆，含有全部血浆蛋白质和凝血因子，并包括不稳定的Ⅴ因子和Ⅷ因子。一般选用重离心力低温(4℃)离心机，以 5 000r/min 离心 7 分钟取出血袋，将上层呈草黄色的液体移入另一空袋内即可。这种制剂适合于基层单位，原则上是立即输用，不得保存。

2. *新鲜冰冻血浆*(图 8-2) 新鲜全血采集后，6～8 小时内在 4℃离心后，将血浆分出，并迅速在－30℃以下冰冻成块即制成，其有效期为 1 年，超过有效期可改为普通冰冻血浆，继续贮存 4 年，使用时须加以融化。

(去掉外包装)

图 8-2　新鲜冰冻血浆

3. 普通液体血浆　全血在保存期中任何时间或过期 5 天内，经离心或自然沉淀，分出上层血浆即为普通液体血浆。该血浆保存不得超过 24 小时。这种制剂凝血因子含量较低，血浆中钾离子和血红蛋白含量均极高，易产生纤维蛋白凝块，且有细菌污染的可能，故临床使用极少。

4. 普通冰冻血浆　制备同普通液体血浆，立即于－20℃以下冰箱贮存。这种制剂来源有两条途径：①普通液体血浆；②FFP 保存到期后继续冰冻保存血浆，从采血日算起，保存期为 5 年，含有稳定的凝血因子。

(二)适应证

1. 单纯凝血因子缺乏的补充，如甲型血友病缺乏Ⅷ因子，乙型血友病缺乏Ⅸ因子，当病人病情较轻时可输 FFP，当病情较重，用量较大时，最好输Ⅷ因子或Ⅸ因子制剂，可防止循环超负荷的危险，也可选输用冷沉淀。

2. 肝病病人凝血功能障碍。肝病病人因凝血因子合成减少，可导致活动性出血，尤其急性肝衰竭病人发生出血，需要补充所有

凝血因子，这时应用 FFP 最合适。

3. 因大量输血后出血者，大量输血后可引起稀释性血小板减少，而产生出血，凝血因子明显低下，这时应首选输注浓缩血小板，其次选用 FFP，更为合理。

4. 口服抗凝剂过量引起出血者，华法林和双香豆素这些双香豆类抗凝剂使用过量，可致Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ因子减少，使肝脏合成维生素 K 素严重不足，而引发出血。此时应立即静脉注射维生素 K 治疗，6～12 小时无效，改为 FFP 治疗。

5. 弥散性血管内凝血(DIC)，DIC 是很多疾病的一种并发症，引发大量出血，最有效的止血方法是输全血或 FFP。

6. 抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)缺乏，先天性或获得性 ATⅢ缺乏，均可发生出血。

7. 免疫缺陷综合征，无论是原发性或继发性免疫缺陷病人，应首选免疫球蛋白制剂治疗，也可使用 FFP 治疗。

8. 大面积烧伤者，蛋白漏出较多，引起血液浓缩症，宜选用血浆或白蛋白制剂。

9. 治疗性血浆置换术，可选用 FFP、白蛋白、晶体液作为置换液。

(三)剂量及用法

血浆输注剂量要根据病人的病情而定，一般输注 FFP 剂量为 10～15ml/kg，维持剂量为 5ml/kg。因为大多数凝血因子只要达到正常水平 25%，即可止血。故应用 FFP 剂量不必太大，以免发生循环超负荷危险。FFP 输注速度 10ml/min。用前置 37℃水浴融化。

目前，制备的 FFP 制剂，均为单个供血者血液制得，输注前不必做交叉配血试验，但受血者与供血者必须 ABO 血型相同。Rh 阴性病人要输注 Rh 阴性血浆，特别 Rh 阴性育龄妇女绝对不能输注 Rh 阳性血浆。

(四)注意事项

1. 融化后的 FFP 应尽快输注,避免血浆蛋白变性和不稳定凝血因子失活。

2. FFP 制剂输前不可放在自来水管下用流水冲化,因水温太低,易使纤维蛋白析出,形成絮状物,影响输注质量。

3. FFP 制剂出库时,应轻拿轻放,绝不可碰撞,以免血袋破裂影响临床治疗。

4. 融化后的 FFP 制剂,应在 24 小时内输注完毕。因故未能及时输注,可暂存 4℃冰箱,绝不可再次冰冻。

5. FFP 制剂输注不要求 ABO 同型输注,但 ABO 血型要相容,即 O 型受血者,可输 A、B、O、AB 四型的血浆;A 型受血者可接受 A 型和 AB 型血浆;B 型受血者可接受 B 型和 AB 型血浆;AB 型受血者只能接受 AB 型血浆。

6. 输注前要检查 FFP 制剂的外观,发现颜色变红或浑浊,或有凝块,血袋渗漏、标签不清等情况,绝不可输注。

第七节　冷沉淀输注

由新鲜冰冻血浆(FFP)在控制温度(1～5℃)条件下不溶解的白色沉淀物称为冷沉淀。

以 400ml 全血分离约 200ml 血浆制备 1 袋冷沉淀为 2U,其容量为 20～30ml。其中含有因子Ⅷ和因子XIII 约 100U,纤维蛋白原 200～300mg,纤维结合蛋白 250～500mg,还有各种免疫球蛋白、抗 A、抗 B 等物质。

(一)制备方法

制备冷沉淀的原料为新鲜冰冻血浆,每 200ml FFP 为一个制备 U。

将原料血浆从－20℃冰箱取出,置于 4±2℃冷藏箱或冰水内过夜缓慢融化。待 FFP 基本融化,尚有少许冰块时取出,在 2±

2℃温度环境中，以5 000r/min离心10分钟，使冷沉淀下沉，快速分离上层少冷沉淀血浆，保留20～30ml血浆于冷沉淀袋内，即为冷沉淀制备。然后将制剂立即放入速冻箱内，－20℃保存期为1年，也可在37℃水浴中轻摇融化后立即输注。

(二)适应证

1. 主要用于儿童及成人甲型血友病病人。

2. 血管性假血友病。

3. 先天性或获得性纤维蛋白缺乏症。

4. 手术后伤口渗血。

5. 也可用于改善尿毒症病人的血小板功能。

6. 严重创伤，大面积烧伤，严重感染，白血病，以及肝功衰竭引起的血浆纤维结合蛋白低下者。

7. DIC等病人的治疗。

8. 凡纤维蛋白原低于0.8g/L时，可输注冷沉淀替代治疗。

(三)剂量及用法

1. 应用冷沉淀治疗血管性假血友病时，一般以每10千克体重2U计算，每天1次，3～4天。如手术病人发生迟发性出血时，应连续输注7～10天。血小板型血管性血友病输注冷沉淀无效，可输注浓缩血小板。

2. 甲型血友病病人应用剂量按每袋2U冷沉淀中含FⅧ 100U计算。一般轻度出血每千克体重可输10～15U；中重度出血时，每千克体重可输注50U。维持用药的天数视病情而定，短则3天，长则可达14天，剂量可减半。

3. FⅩⅢ因子缺乏症病人伴有出血时，以每10千克体重输2U，2～3周输1次，即可达到止血目的。

4. 纤维蛋白缺乏症病人，成人每次输注16U冷沉淀，使血中纤维蛋白原水平维持在0.5～1.0g/L为宜。

冷沉淀－30℃可保存1年，输注时，在37℃环境中以最短的时间融化，一般不超过10分钟，以病人能耐受的最快速度输注。

输注量多时，也可数袋汇总，并用生理盐水稍加稀释，经输血器输入体内。

(四)注意事项

1. 输注前不需要做交叉配血试验，也不必 ABO 同型输注。

2. 新生儿或早产儿输注时，最好同型或血型相容，因冷沉淀内含有低效价的抗 A 或抗 B 抗体，对成人影响不大，而对新生儿或早产儿可能不利。

3. 融化温度不宜超过 37℃，以免引起Ⅷ因子丧失活性。

4. 融化后要立即输注，不得存放，更不宜再次冷冻保存。

5. 因其黏度大，如静脉推注时，最好用少量枸橼酸钠溶液稀释，以免发生凝集块而堵塞针头。

第八节　恒温循环解冻箱

恒温循环解冻箱(图 8-3)能迅速、安全地解冻血浆，大大减少了纤维蛋白的析出，并能满足用户根据用量即时解冻的要求，一改过去解冻后待用的工作方法，确保冰冻血浆的解冻安全及使用质量，业内人士称该产品为血浆解冻的“金标准”。

目前，由于成分输血的广泛开展，冰冻血浆的用量已占整个血液成分输血比例 30%以上，但冰冻血浆解冻方式与质量问题，一直困扰着各大医院输血科。常规冰冻血浆的解冻采用水浴箱，辅之手工不断翻动进行解冻。由于温度不均匀，使冰冻血浆融化速度不一致，极易导致血浆解冻后纤维蛋白析出，影响血浆的解冻质量，血浆解冻报废率居高不下。以及因没有冰冻血浆解冻箱，临床输血浆前发现血袋破漏而退回输血科，而引起责任纠纷明显增多。使输血科蒙受了不小的经济损失。因此，解冻恒温箱的问世，巧妙地解决了上述问题。

(一)特点

1. 智能控制、静音转动，解冻一次完成，全过程自动化。

图 8-3　恒温循环解冻箱

2. 采用 DS18B20 温控传感系统，控温精度高。

3. 大容量水循环系统，迅速，充分解冻，无瞬间温差，无“热点”，不破坏血浆有效成分，对红细胞非常安全。

4. 解冻完成后，自动控干血袋，减少浸泡时间。

5. 具有上排水功能，工作室无须地漏。

6. 自动除垢防垢装置，可保证管道畅通。

7. 解冻时间短，一般为 15 分钟左右。

(二)适用品种

1. 新鲜冰冻血浆和普通冰冻血浆。

2. 冰冻血小板。

3. 冷沉淀。

4. 稀有血型和自身贮血的冰冻红细胞。

（王振芳　付斌彬　任丽真）

第9章 自身输血

自身输血(autologous transfusion)是指采集病人的血液或回收手术视野或创伤区的血液,以满足病人手术或紧急情况下需要的一种科学、实用、经济、安全、有效的输血方法。自1860年Brainard首例自身输血以来,至今已有120余年的历史。但是,最初的自身输血仅局限于满足血液循环,回收体腔内的失血。由于医学科学技术的不断发展,血液保存技术的不断提高,新的血液回收器械和新的输血器更新换代,为自身输血奠定了基础。目前已在国内广泛开展。

随着人们对输血传播疾病认识上的不断提高,对临床所用血液质量的要求也越来越高,已把安全输血摆在首位,在条件具备时,病人已由输他人血液向输自身血液转化。因此,自身输血已上升到一个重要的位置。

(一)自身输血有以下优点

1. 避免了病毒性肝炎、疟疾、巨细胞病毒感染、梅毒、艾滋病等疾病的传播。

2. 避免了红细胞、白细胞、血小板以及蛋白质抗原产生的同种免疫反应。

3. 避免发生输同种异体血的事故。

4. "蛙式"采血可以刺激骨髓造血细胞的生成,使手术后造血速度加快。

5. 省略了输血前的多项检验,如肝炎系列、交叉配血试验等。

6. 节约了同种血液,减轻了病人的经济负担。

7. 为稀有血型病人的临床输血，提供了安全可靠的血液。

8. 自身血液一旦多于需要时，可提供他人用血，扩大血液来源。

9. 减少癌症病人输注异体血液引起的免疫抑制，减少手术后肿瘤早期复发的可能性。

10. 避免异体血液对受血者免疫功能的抑制，减少手术期感染的发生率。

11. 稀释或自身输血可降低病人的血液黏稠度，改善微循环，可以取得对组织的最佳送氧效果。

(二)自身输血有以下几种方式

1. *贮存式自身输血* 多用于择期手术者，术前采集自己的血液预存起来，待手术时回输病人。其他任何人都可以预存自己的血液，建立“血液银行”。

2. *稀释式自身输血* 病人术前麻醉后，采集一定量自体血液短暂贮存，同时输注晶体及胶体液补充血容量。在血液稀释状态下实施手术，可以减少手术出血量，待手术后期或结束时回输自身血液。

3. *回收式自身输血* 用无菌技术将手术中或创伤后流失在术野或体腔内的血液回收，经血液回收机处理后，回输给病人。

第一节 贮存式自身输血

贮存式自身输血就是根据病人手术时间的长短、失血量的预测以及病人的身体条件，在手术前数天乃至数月前，采集自身血液贮存，以备手术时使用，也可在某些疾病缓解期采集自身血液成分，以备必要时使用。

(一)病人选择标准

1. 年龄无严格限制，以病人理解能力、合作情况以及是否具有适合静脉采血等情况而定。

2. 体重没有特殊要求。一般采血量为 8ml/kg。

3. 血红蛋白在 120g/L 以上，红细胞体积不低于 34%。

4. 一般健康状况良好，各项健康体检符合采血标准。

5. 预计手术失血量可达 1～2L 以上，择期手术者。

(二)适应证

1. 健康人预存自身血，以备今后急需时再输用者。

2. 心、胸、血管、整形外科、骨科等择期手术者。

3. 有严重输血反应不良史者。

4. 稀有血型者。

5. 对输血已产生白细胞、血小板抗体者或 IgA 缺乏者。

6. 多种红细胞抗体或对高频率抗原的同种抗体所致的对所有供血的不配合者。

7. 家庭成员血型相合，准备预存血液以备家人使用者。

8. 肿瘤或恶性血液病病人在化疗或放疗后的缓解期，预存自身血液成分，待再次化疗或放疗时回输者。

9. 骨髓移植的供体在供髓前预存自身血液，待抽取骨髓时回输者。

10. 边远地区供血困难或经济困难，但手术需输血者。

(三)禁忌证

1. 严重主动脉瓣狭窄、不稳定型心绞痛、严重高血压、失血性心力衰竭病人。

2. 近期有心肌或脑梗死者。

3. 有疾病发作史而未完全控制的病人，采血易诱发疾病发作。

4. 曾献血发生过迟发性昏厥者。

5. 有感染病灶或在使用抗生素者，将其血贮存回输，可导致菌血症。

6. 有发作性癫痫病史者。

7. 肝肾功能不良者。

8. 贫血、出血或血压偏低者。

9. 服用抑制代偿性心血管反应的药物，如β受体阻滞药等。

10. 有血红蛋白异常或红细胞酶缺乏，以及遗传缺陷造成红细胞异常的病人。

(四)采血前的准备

1. 预存自己血液者要填写申请单，并由本人或家属签名，加按手印。

2. 采血前8小时内不吃油腻食物，24小时不得饮用含有乙醇的饮料。

3. 采血前15分钟内，最好喝一杯热糖水，以利血液顺利采集。

4. 补充铁剂，从采血前1周始，口服硫酸亚铁0.3g，日服3次，最好饭后服用，可减轻胃肠反应。服用时间与采血次数有关，采血后几周至数月不等。红细胞生成的速度，与体内缺铁量有直接关系。一般每毫升红细胞约含1mg铁，每采1U血液(200ml)，体内贮存铁可减少200mg。

5. 术前采血量较大者，可使用重组人红细胞生成素，以促进红细胞系祖细胞增殖和分化，调节外周血红细胞数量，最大程度地刺激骨髓红细胞的生成，以获得足量术前采血量。

(五)采血方法

贮存或采血者每次采血前血红蛋白大于110g/L，血细胞比容大于34%，即可采血。采血量较大时，多采用"蛙跳"式采血4℃保存，采血日程安排见表9-1。

表9-1 "蛙跳"式采血日程表

采血时间	采血单位	回输单位	采血单位
第1天	第1单位		
第8天	第2单位	第1单位	第3单位
第15天	第4单位	第2单位	第5单位
第22天	第6单位	第3单位	第7单位
第29天	第8单位	第4单位	第9单位

摘自：肖星甫等译输血技术手册．第1版．北京：人民卫生出版社，1985，477

这种方法可以保证贮存血液处于新鲜状态，增加了自身的采集次数和贮存量。如手术是在计划采血开始后的第 32 天进行，可使用第 5、6、7、8、9 袋自身血液。其中 1 袋血液为 17 天，2 袋血液为 10 天，另 2 袋血液为 3 天，共计 2 000ml 血液，其保存血液亦比较新鲜。

（六）贮存方法

与全血贮存条件一样，通常贮存在 4±2℃冰箱保存。全血采集在 ACD 中仅能贮存 21 天；选用 CPDA 保存液，可贮存 35 天。

目前成分输血已广泛开展，预存血液不单是全血，还可根据受血者的情况，将全血分为浓缩红细胞、浓缩白细胞、浓缩血小板、FFP 等成分血来贮存。

（七）注意事项

1. 年龄超过 70 岁的老年病人要谨慎。

2. 体重低于 45kg 者，每次采血量应少于 400ml。

3. 采血次数一般每周 1 次，使用红细胞生成素和铁剂时，可以每 3 天采血 1 次。

4. 遇有特殊情况，血液有可能过期时，如符合供血条件的各项标准，经本人同意，可将贮存血转用他人。

5. 采血过程中可出现一些不良反应，如血管迷走神经反应，表现为面色苍白、出汗、头晕、恶心、缓脉、血压下降等，应尽早诊断，及时处理，以防恶化。

6. 应将自贮血存放专用冰箱内，以免与一般贮存血混淆。

7. 预存自身血液应使用特殊醒目标签，并有“自身贮血”字样，其他如姓名、性别、年龄、住院号、床号、采血时间、失效期等也应详细填写。

8. 发血时认真核对，并检查血液质量。

9. 输血前不必做交叉配血试验，但最好做 ABO 和 Rh 血型鉴定以及抗体检查，为病人在必要时使用同种异体血做准备。

10. 虽然自身输血不存在同种免疫性输血反应，但细菌污染

血液，导致菌血症的危险很难绝对排除，一旦怀疑污染或输血反应，应立即停止输血，保证静脉通畅，及时对症处理。

第二节 稀释式自身输血

稀释式自身输血是一种新的输血技术，也是自身输血的主要形式。使用血液稀释技术，是减少手术期间输注异体血液的重要途径。

大量的临床实践证明，当病人在血容量正常，氧含量充足和心脏功能正常时，接受一定量的液体，使血液中等度稀释而不会使氧含量发生明显变化。相应凝血因子的稀释也不会增加出血倾向。在手术台麻醉前后采集一定量的血液，待手术后期或结束时再将采集病人的血液自身回输。因回输的自身血贮存时间短暂，其血小板与凝血因子仍具有活力，可以减少术中出血量，且术中流失的是稀释血液，还可以减少红细胞的丢失。

因此，稀释式自身输血，由于血黏度降低，对血液流变可以产生有益的变化，改善组织微循环，避免输血产生疾病传播的危险，有效地防止同种免疫反应和一系列并发症。由此看来，稀释式自身输血安全可靠，在临床上应大力广泛开展。

(一)病人选择标准

1. 血红蛋白＞110g/L，血细胞比容＞35%，血小板＞100×10^9/L。

2. 凝血酶原时间正常。

3. 心功能Ⅲ级以下。

4. 肝、肾功能无明显损伤。

(二)适应证

1. 手术前估计术中失血600ml以上者。

2. 体外循环心脏手术。

3. 因血容量丧失、休克、血液浓缩和高血液黏度而损害微循

环的情况。

4. 术中失血未输入等量血液的补充。

5. 某些难治之症，如肝昏迷、一氧化碳中毒、误输大量不合血液等。

(三)禁忌证

1. 肝硬化导致白蛋白合成障碍的病人。

2. 凝血因子缺乏症致血液凝固障碍病人。

3. 缺氧性疾病，如严重贫血，严重肺疾病以及脓毒血症等病人。

4. 心肾功能不全，如心力衰竭、冠心病、严重高血压、糖尿病等。

(四)血液稀释的生理变化

当血液被稀释时，由于红细胞群减少，可影响血液的携氧能力，但如果适当的稀释血液，机体对红细胞群减少可以通过多种途径代偿，主要由于血液稀释，可以改变血液的流变性，对血流动力学产生有利的影响。

血液稀释后血液黏度有明显下降，血液黏度与红细胞容量及血浆蛋白的浓度紧密相关，血细胞比容是血液黏度是否增高的主要条件。血液中的血细胞与血浆蛋白相互作用，可以引起细胞聚集和重叠，导致血液黏度增高。稀释式自身输血时，采集出一定量血液，与此同时，又输入一定量液体，使体内的红细胞数量减少，液体容量增多，此时，体内的血液相对得到稀释，促使重叠的红细胞分散，聚集的红细胞解聚，使血液黏度降低，血液流速增加，血液阻力减低。故血液黏度下降时血流动力学可产生对机体很有利的变化。

在血容量正常情况下，血液稀释导致血细胞比容下降时，心排血量很快代偿性增加，此时心率仅有轻度改变，心排血量的增加是由静脉回流增加，每搏心排血量增加所致。当血细胞比容降至29%时，心排血量是血液稀释前的123%；当血细胞比容降低至

21%时，心排血量增加到稀释前的136%，临床上一般将血液稀释到血细胞比容25%～30%为宜。

血液稀释时，血液黏度降低，微循环血液分布更为合理，可使营养血流及肌肉血流增加，组织局部氧供应更为均匀。

(五)稀释液及稀释器具

1. *稀释液的选择* 一般选用的有：0.9%生理盐水、5%葡萄糖液、复方乳酸钠注射液(乳酸钠林格液)、乳酸林格葡萄液、乳酸林格山梨醇以及706代血浆、右旋糖酐、5%人血白蛋白、血浆、无基质血红蛋白溶液等。

临床上多选用代血浆做血液稀释液，以补充血容量。代血浆为晶体液和胶体液的复合制剂，具有扩充血浆容量的作用，还能供给电解质和碳酸氢根，具有晶体液和胶体液二者功效。

2. *稀释器具* 稀释器具可以选用常规器材，用ACD或CPD保存液，也可选用某些现代化的设备。如CS-3000血液分离机，IBM-2997或IBM-2991等多种血液分离机。

(六)操作方法

1. *采血* 血液稀释自身输血是在手术尚未开始，麻醉完毕时，按采血方法进行无菌操作，采集一定量的血液。采血量要根据病人的体重，血细胞比容以及术中出血量来确定，一般最大采血量不应超过全身总血容量的30%，采集的血液暂放室温备用，若手术时间在4小时以上时，可将采集的血液置4℃冰箱内保存。

2. *血液稀释* 一般血液稀释自身输血前，首先开通两条静脉通道，一条静脉通道采集血液，另一条静脉通道在采血的同时，输入等量的胶体液与晶体液，使血容量维持正常。在血液稀释的过程中，应经常测量血压，不断测定血细胞比容，一般病人血细胞比容不宜低于25%，此时最大采血量不宜超过2 000ml，确保采出量与输入量相等，使血容量维持在正常或稍高于正常，血红蛋白在80～100g/L。术中要充分供氧。

3. *回输* 当手术中后期时，病人失血量超过600ml时，再回

输自身血，回输时先输最后采集的稀释血。最先采集的血红细胞含量多，血小板与凝血因子数量也多，应留在手术将结束时回输，以恢复红细胞量，减少手术后出血。

(七)不良反应与预防措施

1. 不良反应

(1)血液携氧能力及氧含量减少，故年老、心力衰竭、冠心病、严重高血压等病人不宜施行血液稀释。

(2)严重贫血，严重肺疾病及肝功能异常等易出现不良反应，故不宜施行血液稀释。

(3)采集血液与输血不同步，可引起缺血导致心律失常。

(4)采集血液过快，可引起血压下降，甚至出现低血容量性休克。

(5)输液量过多可因心脏负荷过重而发生急性肺水肿。

2. 预防措施

(1)在自身输血前，使用适量利尿药以减少过多的血浆量。

(2)使用铁剂和促红细胞生成素，以利细胞的恢复。

(3)控制稀释度，使血细胞比容不低于25%。

(4)晶体液和胶体液的用量要适当高于采血量。

(5)加强监测血压、心电图、尿量、血细胞比容及血气分析等。

(6)保持供氧，维持良好的通气。

第三节　回收式自身输血

不论是大面积的创伤，还是体外循环均是造成手术期间血液丢失过多的主要原因。将术中丢失的血液经过处理或收集后直接输入病人体内，称回收式自身输血。自体输血可以使病人丢失的自身血液得到充分的应用，可减轻病人的经济负担，避免宝贵血液的浪费，并对异体血液的需求量大大减少。回收式自身输血是救治出血量多、用血量大的病人的有效措施。

回收式自身输血根据回收时间先后，可分为：①术中回收式自身输血；②术后回收式自身输血；③外伤时回收式自身输血。

回收血液的输血又因处理方式不同分为：非洗净回收式自身输血和洗净回收式自血输血。术中回收的血液必须加抗凝药，而术后及外伤时收集的血液可不加抗凝药。目前，术中回收式自身输血已在临床广泛开展。

(一)适应证

1. 心血管外科、胸腹外科、器官移植、整形外科、骨科、妇产科等手术失血较多者。

2. 内出血者，如脾破裂、肝破裂、大动脉瘤破裂等。

3. 血液供应不足时外伤、残伤以及突发性恶性事故等。

(二)禁忌证

1. 恶性肿瘤病人。

2. 急性感染创伤或开放性创伤超过 4 小时的积血不宜回收输血。

3. 血液接触粪便、羊水、脓性分泌物、胆汁等。

4. 血液混入消毒药、细胞毒药或微晶原止血药等。

(三)合并症

1. 由于血小板的减少和纤维蛋白的降低，血液回收(清洗血)超过 3 000ml 时会发生凝血障碍，应适当补充血小板或新鲜全血。

2. 大量吸入不洁空气，或回收受污染血后，有可能造成感染，故一般常规用广谱抗生素。

3. 大量洗涤时，蛋白丢失过多，可造成低蛋白，胶体渗透压降低，故应补充一定量的胶体或白蛋白。

(四)回收处理方式

根据回收处理方式不同，又可分为洗涤回收式及非洗涤回收式自身输血。

1. 术中洗净血液回收式自身输血

(1)可利用国产自体－2000 型血液回收机 Hamonetics Cell

Saver Ⅴ型，COBE2991，Cellprocessor 等自动洗涤离心机进行。本方式操作方便，全部自动化，可将 60%手术失血量收集起来，经过滤至离心杯中，将液体部分去除，收集到大部分血细胞，并用生理盐水洗涤，再转移至血袋内，即可给病人回输，全部过程按无菌原则操作，该方法回输血比较安全可靠。

(2)利用大容量冷却离心机回收术中失血。即将术中失血吸进加有 ACD 保养液的三联袋内，按要求离心，分离上层液体，通过多节洗涤器，将红细胞反复洗涤 3～4 次，最终用生理盐水配成 70%的红细胞悬液回输。

2. *手术中非洗净式回收自身输血* 即用一个滚压式唧筒，将流入端泵管按吸引管以吸取术中自身失血至贮血器，贮血器需预充复方乳酸钠注射液 200～400ml，加肝素 12mg，也可用 ACD 或 CPD 保存液代替肝素，血液在该容器中去沫，过滤再回输。

3. *术后非洗净式回收自身输血* 术后非洗净的自身输血，一般收集胸腔血液，经 170μm 网眼过滤器过滤后自身回输，目前也有失血回收仪，其主要缺点是回输给病人的是未洗涤的全血，可能会产生由于碎屑、冲洗液、激活的凝血因子、抗凝药或游离的血红蛋白等引起不良反应。

(五)自体－2000 型血液回收机

1. *特点*

(1)自体－2000 型血液回收机不但能回收 95%以上的红细胞，还能回收血小板或将正常人血液分离成红细胞、血小板、血浆。

(2)全自动电脑控制，除自动控制外，还可手动控制，二者可随意转换。

(3)根据临床实际情况，设有多种处理方式。

(4)3 分钟就可以处理 250ml 浓缩血细胞。

(5)操作过程能形象地显示在彩色界面上，一目了然。

(6)精密气泡检测传感器，噪声小，操作安全，简便。

(7)该机设有总结键，当完成血液回收时，只要按“总结键”，机

器能自动统计出回收血量、清洗血量、浓缩血细胞量、血浆量、血小板量等，可直接显示结果，无须操作者计算。

2. *应用方法* 血液收集采用负压吸引，把病人伤口创面的血吸入贮血器内。在吸血同时，通过连接在吸血管道上的抗凝剂注入管，将抗凝剂滴入吸血管道内，使其与回收血液混合，产生抗凝作用。一般常选用枸橼酸盐抗凝液 250ml 与生理盐水 250ml 等量混合并加入肝素 2×10^4U，抗凝剂滴入体积与吸入血体积之比为 1∶5。血液在贮血器内经多层过滤，然后进入血液回收罐内，经分离、清洗、净化处理，细胞碎片、游离血红蛋白及抗凝剂等被分流到一废液袋内，而浓缩的血细胞则保留在血袋内，在术中或术后直接回输给病人。

(六)不良反应

洗净回收式自身输血一般很少出现不良反应。非洗净回收式自身输血的回输血量超过 1 600ml 以上时，可能发生：①出血倾向；②血红蛋白血症；③肾功能不全；④血小板减少；⑤微栓塞；⑥手术创面的感染或手术室内的细菌引起的败血症。

第四节 自身输血相关事宜

一、采血的标准

1. *年龄* 自身输血年龄没有上限，一般来讲，年长者比年轻者发生不良反应少，下限年龄取决于儿童的合作和理解能力，以及有合适的静脉，并能耐受采血后的生理影响等为尺度。

2. *体重* 自身输血病人对体重没有特殊要求，但对预存式自身输血者采血量每次不超 400ml，50kg 以下者，应每少 1 千克减少采血量 8ml。

3. *血红蛋白* 每次采血时血红蛋白浓度应当≥110g/L，血细胞比容应当≥30%。

4. 采血间隔　采血间隔应由输血科医师同病人的主治医师视病情而确定。一般 2 次采血的间隔不少于 72 小时，最后 1 次采血应在手术前 72 小时进行。在病人病情允许的情况下，最好在离预定手术日期尽可能远的时候采血，以保证有足够的时间，使病人的血细胞比容恢复到采血前的水平。采血量较大时，可照表 9-1 进行。

二、采集血液的保存与回输

(一)自身血液的保存

1. 自身血液要与血站供给的血液分开贮存，设立专门贮存自身血液的冰箱，有条件时可建立自身输血血库。

2. 自身血血袋上标记详细，并用醒目的标签写明“自身输血”特殊标记。

3. 血液贮存冰箱要每周消毒 1 次，每月做 1 次冰箱内空气培养，贮血环境应当符合卫生学标准。

(二)血液的回输

1. 血液回输前，首先检查血液的外观是否符合要求，以及保存日期，严防过期失效血液输入病人体内。

2. 血液回输时，要严密观察病人，如一旦发生严重输血不良反应，应立即停止输血，查明原因，对症处理。

3. 未输完又不适合转让他人使用的血液，要以妥善的方式处理掉，并有医疗文字记录，详见表 9-2。

(三)自身输血者血液转让

1. 自身输血者必须符合献血者健康检查标准。

2. 自身采集的血液，必须经艾滋病、丙型肝炎、梅毒、乙型肝炎、ALT 以及 ABO 和 Rh(D)血型各项检测初、复两次合格的血液，方可将自身输血的血液转让他人输用。

表 9-2 自体输血者血液报废清单

自身输血因手术推迟，因输血反应，因未用完，保存失效，作废处理。
自身输血者住院号：
报废血　型　　报废血量　ml
报废时间：　年　月　日　时　分
输血科医师(签字)：
输血科主任(签字)：
自身输血者(签字)：
报废血处理者(签字)：　　年　月　日　时　分

注：本表使用时，可根据实际情况划去不符的报废原因

3. 病人自身输血如有不输用的血液，同意转让时，首先应有本人文字声明，如果自身输血者是未成年则应有其家属或监护人同意签字(表 9-3)。

4. 回收式自身输血的血液，未按献血者血液检验标准检测，故不宜做血液转让之用。

表 9-3 自身输血者的血液转让同意书

我自身输血的血液，万一在术中或术后不需回输时，同意让输血科以任何一种形式使用或处理。
授权人(签字)_____输血科主任(签字)_____
供血者(签字)_____委托人(签字)_____
供血者身份证号_____
供血者家庭住址_____
供血者工作单位_____
供血者联系电话_____

签字日期：　　年　月　日　时　分

(四)自身输血可能出现的意外

1. 术前采血、保存时

(1)手术前采血可能使病人血容量减少，出现贫血症状。

(2)手术前采血可能出现一些不良反应，如晕针、镍剂过敏反

应等。

(3)采血时,保养液与血液未充分混合,出现血液凝块,影响回输血量或血液报废。

(4)血液在保存中可能出现溶血或污染,导致血液报废。

(5)手术推迟或取消导致血液报废。

2. 术中或术后输血时

(1)回输时误输他人异型血液。

(2)术中回输的血液已染菌,引起菌血症。

(3)由于血液贮存或收集术野、腹腔等血液方法不妥,输后出现溶血性输血反应。

(4)血液内有微聚物,导致输血后肺或肾功能障碍。

(5)回输大量血液,引起枸橼酸钠中毒。

(王振芳　朱海田　苏香花)

第10章　新生儿溶血病

新生儿溶血病(HDN)是指母婴血型不合，使婴儿的网状内皮系统受到免疫性破坏，而引起的婴儿或新生儿的免疫性溶血性疾病。母婴ABO、Rh、MNSs、Duffy、Lutheran、Kell和Kidd血型系统等红细胞血型系统不合，均可引起新生儿溶血病，表现为流产、早产或死胎，可导致新生儿贫血。新生儿表现皮肤苍白、水肿、腹水，重者可致肺水肿、心衰、肝脾大。大量溶血可导致高胆红素血症，新生儿黄疸逐渐加深，如果侵犯大脑可引起抽搐、痉挛、瘫痪等，称为“胆红素脑病”，重者多数死亡。

目前，新生儿溶血病在国内发病较高。因此，预防和治疗显得尤为重要。孕妇应在妊娠期定期测定血清抗体效价，视血清抗体效价情况，进行药物治疗，对婴儿进行换血或光照治疗。

第一节　发病机制

HDN是由于母亲体内存在着与胎儿红细胞不配合的免疫抗体，引起同种被动免疫性疾病。免疫抗体出现的血型抗体均可引起HDN。红细胞26个血型系统400多个血型抗原中发生HDN者，以ABO血型系统最多，Rh血型系统次之，Kell、Duffy、Kidd等血型系统也有少量报道。

一、ABO新生儿溶血病

在ABO血型不相容所引起的新生儿溶血病中，不必具有由

外来红细胞引起的免疫史，在母亲的血液循环中就存在 IgG 的抗 A、抗 B 或抗 AB 抗体。ABO 溶血病可以发生在任何妊娠中，第 1 次妊娠也可能发生。

O 型血妇女比 A 型血或 B 型血妇女产生 IgG 抗 A 抗体和 IgG 抗 B 抗体的机会多数倍。在 ABO 溶血病中经常涉及的抗 AB 仅仅在 O 型血的血浆中出现，ABO 新生儿溶血病几乎都是，并非完全是限制在 O 型血母亲所生的 A 型血或 B 型血婴儿中。

二、Rh 新生儿溶血病

Rh 血型系统的 HDN 是由于母婴 Rh 血型不合所致的 Rh 免疫抗体作用于胎儿红细胞造成的高胆红素血症。该病只能由人类红细胞作为抗原刺激产生 Rh 免疫抗体，故极少发生在第 1 胎，除非以前有输血史或流产史。也有报道，Rh 血型系统 HDN 发生在第 1 胎，以外祖母学说解释，即孕妇为 Rh 阴性，孕妇自己在胎儿时期，母亲（外祖母）的 Rh 阳性红细胞经胎盘反向流入胎儿体内，而发生了初次反应；当孕妇第 1 胎妊娠，遇有 Rh 阳性胎儿时，进入母体的胎儿红细胞，刺激母亲已致敏的淋巴细胞，引起免疫回忆反应，产生足够的 IgG Rh 抗体，因此可导致第 1 胎发生溶血。

大部分 Rh 血型系统 HDN 发生在 Rh 阴性母亲；抗体种类有抗 D、抗 cD、抗 DE、抗 CD、抗 CDE 抗体；汉族人中大约 60% 与抗 D 抗体有关。Rh 血型系统 HDN 也可发生在 Rh 阳性的母亲，这是由于母亲、婴儿的 C、c、E、e 等抗原不合所产生免疫反应的结果，但发病率较低。汉族人 Rh 血型系统 HDN 中约 37% 与抗 B 抗体有关。多价抗体如抗 Rh17 抗体，其母亲为 Rh 缺失型-D-/-D-所产生，以抗体引起 Rh 血型系统 HDN 极为罕见。Rh 阳性的 D^u 型人，可以产生抗 D 抗体；母亲为 Rh 阴性，胎儿为 D^u 型，也可以发生 HDN。

三、对胎儿的抗体转移

胎儿只能合成很微弱的免疫球蛋白，透过胎盘转移的母亲的抗体对新生儿有免疫保护作用，直到他自己的免疫系统成熟时，输送的机制是选择性的，在这个过程中 IgG 抗体是惟一能穿过胎盘的母亲的免疫球蛋白。在妊娠的最后几个月中，转移加速进行。透过胎盘的机制尚不清楚，但它绝不是简单的被动扩散。因为在妊娠足月时(40 周)，脐带血的 IgG 抗体水平可以比母亲的高 20%～30%。尽管大部分母亲的 IgG 抗体对新生儿有潜在的或积极的益处，但 IgG 血型抗体是没有益处的，如果母亲具有这种 IgG 抗体而胎儿具有其相应的抗原，那么这一抗体在妊娠的大部分过程中和新生儿期间都有害。

第二节 临床特征

新生儿溶血病的症状随着疾病的严重程度而变化。

在轻症中，新生儿出生时可能是正常的，但在生后 24 小时内出现黄疸。在出生时苍白症状不明显，若检测脐带血，其红细胞计数和血红蛋白值可能低于正常。虽然毛细血管血中胆红素浓度高，黄疸显著，但红细胞计数和血红蛋白的值可能均正常，可检查出肝脾大。一般 ABO 血型系统 HDN 肝脾大较轻，Rh 血型系统 HDN(尤以水肿儿)肝脾大很明显，因为红细胞受免疫抗体的作用而发生溶血时，以骨髓外造血组织来代替，故引起不同程度的肝脾大。

在较重患儿，出生时可发生明显苍白，贫血也很显著。当全身和胎盘严重水肿时，婴儿可在几个小时内死亡，这种病也称胎儿水肿，Rh 血型系统 HDN 占 10%～20%，但是在胎儿水肿和苍白伴黄疸的新生儿之间有等级之分。产前通过超声波检测出腹水、水肿、胸腔积液与心包积液可能对胎儿水肿的诊断有帮助，结合新生

儿的心脏监护和超声检查可提供有用的信息，以决定是否进行处理。

在最严重的溶血性疾病，可造成不同妊娠期的子宫内胎儿死亡，常分娩出浸软的，有时是水肿的胎儿。水肿儿一般在妊娠28～34周就可能分娩出，少数可到足月娩出。

第三节　血清学检查

血型血清学检查对HDN的诊断有重要意义。通过血清学检查可了解母婴血型是否不合，母亲血清是否存在与患儿红细胞相对应的IgG抗体，患儿红细胞是否被来自母亲的IgG抗体所致敏。

一、母婴ABO HDN血型血清学检查

1. 母亲血清中IgG抗A(B)检查　ABO血型系统HDN由IgG抗A(B)引起，检测母亲血清中有无IgG抗A(B)抗体及其效价，即可预测ABO血型系统HDN发生的可能性。正常人血清中的抗A(B)，一般多为IgM和IgG抗体的混合物，当IgM抗A(B)抗体效价等于或大于IgG抗A(B)抗体时，则IgG抗A(B)抗体被其掩盖，因为它们具有相同的特异性，因为无法检出IgG抗A(B)抗体，必须除IgM抗A(B)抗体。应用2-巯基乙醇(2-Me)，可以打开IgM型抗体重链之间的二硫键，使之不能再与相对应的红细胞发生凝集。当母亲血清中IgG抗体效价≥64，其血型不合胎儿就可能发生ABO新生儿溶血病。应用达亚美微柱凝胶卡检测母亲血清IgG抗体效价，操作步骤如下：

(1)配制中和血清。取母亲血清、二巯基乙醇液各200μl，充分混匀。

(2)将上述中和血清置37℃水浴30分钟，以充分破坏血清中的IgM类抗体。

(3)取6支干净试管排于试管架上。

(4)第1管加50μl中和血清和达亚美2号稀释液350μl。

(5)第2～6管分别加入达亚美2号稀释液200μl。

(6)从第1管吸出200μl液体,加入第2管,混匀,再从第2管吸出200μl液体,加入第3管混匀,依次倍比稀释。

(7)取达亚美Liss/Coombs卡(一卡六管)1张,撕去铝箔,在达亚美Liss/Coombs卡的六管中,各加入父亲0.8%的红细胞悬液50μl。

(8)从第1～6管中,各取出25μl液体,分别加入达亚美,Liss/Coombs卡的六管中。

(9)将加好血样的达亚美Liss/Coombs卡置于达亚美孵育器内,孵育15分钟。

(10)将孵育好的Liss/Coombs卡置于达亚美离心机内,离心10分钟。

(11)判断结果,第1～6管的IgG抗体效价依次为:1∶6;1∶32;1∶64;1∶128;1∶256;1∶512。

2. 婴儿及父母的ABO血型鉴定　婴儿及父母的ABO血型的鉴定是检查新生儿溶血病的必要试验,为方便以后进一步检查的程序,父母或母子的ABO配合和不配合的判断见表10-1。

表10-1　父母或母子间ABO血型关系

母亲		父亲血型		婴儿血型	
血型	血清中抗体	配合	不配合	配合	不配合
O	抗A抗体、抗B抗体	O	A、B、AB	O	A、B
A	抗B抗体	A、O	B、AB	A、O	B、AB
B	抗A抗体	B、O	A、AB	B、O	A、AB
AB	无	A、B、O、AB		A、B、AB	

3. 患儿血样检查　诊断ABO新生儿溶血病最有力证据是证实患儿红细胞被来自母亲的IgG抗A(B)抗体所致敏。

(1)患儿红细胞直接抗人球蛋白试验:如果患儿红细胞已被 IgG 抗 A(B)抗体所致敏,则直接抗人球蛋白试验应得到阳性结果,但由于 ABO 新生儿的 A(B)抗原数量较少,所以被结合的抗体亦很少,呈弱阳性的混匀视野外观或阴性结果,如果选用敏感性强的微柱凝胶卡做直接抗人球蛋白试验,可以大大提高其阳性率,方法如下:

①取患儿血液,离心,取压积红细胞,用达亚美 2 号稀释液(1D-Diluent2)配成 0.8%的红细胞悬液;

②在 Liss/Coombs 卡上标明患儿的姓名或编号,撕开卡上的铝箔;

③加入 50μl 上述红细胞悬液;

④在达亚美离心机上离心 10 分钟;

⑤判断结果。

(2)患儿红细胞抗体放散试验:在收集血样前病人无须特殊准备。采用患儿血样,用 EDTA 抗凝,以防体外补体成分激活而引起直接抗人球蛋白试验(DAT)阳性。为了得到可靠结果,要使用新鲜血标本,步骤如下:

①用 0.9%生理盐水将患儿红细胞洗涤 1 遍,至少需 1.0ml 压积红细胞;

②用 Diacidel 洗涤溶液,清洗 1.0ml 压积红细胞 4 次;

③最后 1 次洗涤后,立即倾去洗涤液,保留部分上清液,以检测是否存在不规则抗体;

④在 1.0ml 已洗涤的红细胞中,加入 1.0ml Diacidel 放散液,混匀;

⑤立即以 900r/min 离心 1 分钟;

⑥将放散液移入一个干净试管中;

⑦在上述放散液中加入 5 滴 Diacidel 缓冲液,混匀,观察是否有蓝色出现,如有则表明达到中性 pH 值(6.5～7.5),如未出现蓝色,则边搅拌边加入更多的 Diacidel 缓冲液(每次加 1 滴);

⑧将放散液以 900r/min 离心 1 分钟,完全清除所有残

留细胞；

⑨现在放散液即可检测，按表 10-2 判断。

用上述放散液，按正常操作步骤来进行抗体筛查和鉴定，采用最后一次洗涤的上清液做平行试验，作为阴性对照。

表 10-2 患儿红细胞抗体放散试验的意义

指示红细胞			意 义
A	B	O	
+	−	−	放散出 IgG 抗 A 抗体
−	+	−	放散出 IgG 抗 B 抗体
+	+	−	放散出抗 C 抗体或同时放散出 IgG 抗 A 抗体和抗 B 抗体
−	−	−	未放散出抗体
O*	O	+	放散出 ABO 血型以外的抗体

注：※为＋或－；＋为凝集；－为未凝集

在放散试验中，会遇到一种交叉反应性抗体（抗 C 抗体），这就是 O 型人血清中，除抗 A 抗体、抗 B 抗体以外的第三种抗体，表示的符号有抗 C 抗体、抗 AB 抗体、抗（A＋B）抗体等。它针对的特异性是 A 和 B 抗原所共有的。因而它能凝集 A 型和 B 型红细胞。Wiener 等认为一个血型抗原可以有多种特异性（表 10-3），如一个 A_1 抗原有 A_1、A 和 C_3 特异性血型抗原，而不是在细胞上有 A_1、A、C_3 抗原。

表 10-3 特异性解释

血型	红细胞上		血清中抗体
	抗原	特异性	
A 型	A	A、C	抗 B 抗体
B 型	B	B、C	抗 A 抗体
O 型	−	−	抗 A 抗体、抗 B 抗体、抗 C 抗体
AB 型	A、B	A、B、C	−

(3)患儿血清中游离抗体测定:新生儿血清中的 IgG 抗 A(B)抗体来自母亲,因此,如果在新生儿血清中发现有与其红细胞不配合的 IgG 抗 A(B)抗体时,表明婴儿可能受害。方法如下:

①取患儿血液,经离心后,分离血清;

②取 Liss/Coombs 卡,标记患儿的姓名或编号,撕去铝箔;

③分别加入 50μl,0.8%A、B、O 标准红细胞,然后各孔均加入 25μl 上述血清;

④在达亚美孵育器上孵育 15 分钟,在达亚美离心机上离心 10 分钟;

⑤判断结果,按表 10-4 分析结果。

表 10-4 新生儿血清中游离抗体检查

指示红细胞			意 义
A	B	O	
+	−	−	游离的抗 A 抗体
−	+	−	游离的抗 B 抗体
+	+	−	游离的抗 A 抗体、抗 B 抗体、抗 C 抗体
O*	O	+	游离的抗 ABO 血型系统以外抗体
−	−	−	无游离抗体

注:※为+或−

(4)患儿血清胆红素测定:患儿血清胆红素的高低,是衡量新生儿溶血病严重度的一个重要指标,以便决定是否需要换血。以改良 J-G 法为常用,如采用胆红素单项自动测定仪则更为方便。

一般认为在正常情况下,足月新生儿脐血胆红素(MW584.7)24 小时 < 102μmol/L(< 6mg/dl);48 小时 < 128μmol/L(< 7.5mg/dl);3～7 天 < 205μmol/L(< 12mg/dl)。未成熟新生儿 24h < 136μmol/(< 8mg/dl);48 小时 < 205μmol/(< 12mg/dl);3～7 天 < 256μmol/(< 15mg/dl);超过这个范围作为病理性黄疸

考虑。

(5)注意事项

①患儿血清学检查时间的选择，用患儿脐血做上述3项试验，O型母亲分娩的A型或B型患儿有1/5为阳性，这样就把许多不发病的新生儿统计在内，如果把采血时间放到产后10天，所致敏的红细胞已大部分破坏，3项试验检出率降低，使真正的ABO HDN漏检，故采血宜在出生后3～7天。用3项试验检测ABO HDN阳性率为2.5%。

②采血器具应洁净干燥，最好用一次性真空抽血管，防止溶血。

③新生儿血样本最好用脐血。

④采血样本如果暂时不能做，要随即分离血清。

二、Rh HDN血型血清学检查

(一)产妇血清学检查

如果夫妇或母子的ABO血型不配合，测定项目同上述母婴ABO血型不合溶血病的血清学中母亲血样本的检查法；如果夫妇或母子的ABO血型配合，则将产妇血清直接与其丈夫或婴儿的红细胞及抗体筛选细胞，采用盐水法，木瓜酶法，PEG-IAT法、凝聚胺法；如与筛选细胞和丈夫或患儿的红细胞均阳性，就需进一步与配组的谱细胞确定抗体的特异性。这样，就更应注意所用的配组红细胞必须包含尽可能多的血型抗原，以便检出少见的抗体。如果为了证实产妇血清凝集部分配组红细胞的抗体是否针对其丈夫红细胞，用吸收产妇血清后的放散液，再与其丈夫红细胞做试验。如果该不完全抗体凝集其丈夫红细胞，则表示该抗体与新生儿溶血病有关，否则表示该抗体与新生儿溶血病无关。方法如下：按表10-5排管共4排，每排9管，分别按表中4个方法操作。

表 10-5　产妇血清学检查

方法	配组红细胞								
	CCDee MP1	ccDEE NP2	ccDee MNP2	Ccddee MNP2	ccddEe NP2	ccddee NP2	子红细胞	夫红细胞	自身红细胞
盐水法									
间接木瓜酶法									
PEG-IAT 法									
凝聚胺法									

注意事项：

1. 产妇和其丈夫或婴儿 ABO 血型配合者，须按上表内容检查，ABO 血型不合者，产妇血清不直接与其丈夫、婴儿红细胞做试验。

2. 为排除自身凝集，应做自身对照管（此管可在 ABO 定型试验时一起操作），如自身凝集，则需用受检者压积红细胞在 4℃将自身血清中抗体尽量吸收后，再做试验。

3. 在操作时可以先做盐水和木瓜酶法，如盐水法中不凝集，可做凝聚胺法或将红细胞洗涤 3 次后做 PEG-IAT 试验。

（1）盐水法

①配组、丈夫或婴儿及自身红细胞，洗 2 次后配制成 5%红细胞悬液；

②受检者血清 1 滴加对应红细胞悬液 1 滴，混匀，37℃水浴 1 小时后观察；

③如结果为阴性，说明产妇血清中无针对配组、婴儿及丈夫红细胞上抗原的相应 IgM 抗体，该管可接着 PEG-IAT 或凝聚胺试验。

（2）间接木瓜酶法

①产妇血清 1 滴加盐水 1 滴，再加 5%木瓜酶处理红细胞悬液 1 滴，37℃水浴 5 分钟，取出，1 000r/min 离心 1 分钟，肉眼观察结果；

②如产妇和丈夫或婴儿 ABO 血型配合者，可做直接木瓜酶法：产妇血清 1 滴加 1%木瓜酶 1 滴，再加丈夫或婴儿 5%红细胞悬液 1 滴，37℃水浴 1 小时后，肉眼观察结果。

(3)PEG-IAT 法：取产妇血清 1 滴，加入相应 5%红细胞悬液 1 滴，再加 3%PEG 溶液 2 滴，混合后置 37℃水浴中 5 分钟，然后用生理盐水洗涤 3 遍，加抗人球蛋白试剂 1 滴，混匀，3 500r/min，离心 15 秒，取出观察结果。

(4)凝聚胺法：取产妇血清 1 滴，加低离子介质溶液 0.6ml，室温孵育 1 分钟，完成致敏相；再加凝聚胺试剂 1 滴，中和红细胞上的负电荷，使红细胞靠拢，便于凝集；最后加假凝集清除剂 1 滴，仅保留真正的凝集。3 种试剂加完后，在 1 分钟内观察结果。

(5)Rh 抗体效价测定：当产妇血清中检出某种 Rh 抗体时，应选择适当的对象红细胞和适合的试验方法，进一步测定其效价。如需在不同时间内测定产妇抗体时，必须选用同一对象红细胞和相同的方法，以便比较。如 Rh 抗体效价≥64 时，其血型不合胎儿的死胎率增高，效价在≤16 时，其血型不合胎儿的溶血病一般较轻。

(二)婴儿血清学检查

如果 Rh 血型系统 HDN 的下述 3 项试验为阳性，即可证实婴儿的红细胞被来自母亲的 IgG 抗体致敏。

(1)直接抗人球蛋白试验：患儿红细胞的直接抗人球蛋白试验常呈阳性，即使是轻症的溶血病也是如此，如用完全抗体来检查患儿的 Rh 血型，结果可能是假阴性，因患儿红细胞上的抗原已被不完全抗体占据，不能再与完全抗体结合，此为“遮断现象”。

(2)抗体放散试验：对致敏抗体宜采用化学提取法，即乙醚法提取，提取的抗体可再用配组的谱细胞确定其特异性。如此项试验阳性，就可直接确诊为由免疫抗体所致的溶血病。

(3)游离抗体试验：如患儿血清与配组的谱细胞反应以检测不规则抗体的存在时，由于来自母体的 IgG 抗体大部分被患儿红细

胞所吸附，因此将高于血清中抗体的量常不多，甚至阴性，特别是当抗体效价不是很强时尤其如此。因此 Rh 血型系统 HDN 的血清学检查常采用直接抗人球蛋白试验和抗体放散试验，如果 2 项试验结果为阳性，即能确定其免疫抗体的类型。

三、患儿输血的血型选择及配血试验

1. ABO 血型系统 HDN 患儿输血不能输同型血，应选用 O 型浓缩红细胞加 AB 型血浆，或加 5%人血白蛋白溶液。

2. Rh 血型系统 HDN 患儿输血或换血的血型选择原则是 ABO 血型同患儿，Rh 血型同母亲；若 ABO 血型系统 HDN 兼 Rh 血型系统 HDN 时，应选用不与该 Rh 抗体反应的 O 型红细胞加 AB 型血浆或人血白蛋白液。

3. 配血试验，Rh 血型系统 HDN 患儿所具有的抗体都来自母亲，而且抗体含量总是低于母亲血清中的量，又大部分抗体被吸附在患儿红细胞上。因此，当母、婴的 ABO 血型配合时，采用母亲血清作主侧配血试验（盐水法、酶法、抗人球蛋白试验），当母、婴的 ABO 血型不配合，患儿血清游离抗体试验又为阴性时，应以患儿的红细胞放散液代替血清作主侧配血。当患儿红细胞的直接抗人球蛋白试验为阳性时，次侧配血试验阳性不作配血禁忌考虑，只要求主侧配合即可。

第四节　治　　疗

一、光 照 疗 法

胆红素能吸收光，以波长 450～460nm 的光作用最强，对未结合胆红素比对结合胆红素分解作用大 2～3 倍，可使未结合胆红素Ⅸa(Z)转化成异构体Ⅸ a(E)，该异构体为不能进入脑组织的无毒的水溶性双吡咯，易从尿内排出，使血清胆红素浓度降低，其疗效

仅次于换血疗法。

二、宫内输血

宫内输血有很高的胎儿死亡率。因此，只有在经过训练的有经验的医师仔细评估问题之后才能做。宫内输血只有到妊娠24～26周时才能开始做，之后通常每2周做1次输血直到分娩。

宫内输血是用一根针通过母亲的腹壁和子宫壁到胎儿的腹腔内进行的。预先向羊膜内注射不透X线的染剂，以显影胎儿的腹腔，然后把一根导管通过穿刺针进入胎儿腹腔内进行输血，将红细胞注入胎儿的腹腔内，红细胞再通过腹膜吸收而进入胎儿循环。胎儿的水肿和心力衰竭可以延缓红细胞的吸收。

宫内输血应该用少于5天的红细胞，血液的制备见表10-6。因为去甘油的冰冻红细胞仅含有少量的抗凝剂、血浆、血小板和白细胞，并且电解质含量正常，因此许多医师喜欢使用这一成分。浓缩到血比容大约是80%的红细胞可使胎儿容量过度负荷的机会减到最小。宫内输注的红细胞应该是O型的并与母亲血清是配合的。依据胎儿的体重和月份，输血量为75～175ml。可以提供一个标准体积的红细胞单位或去甘油的红细胞，或者把标准红细胞单位分开成较小容量。因为这种输血大约每2周做一次，并且必须是少于5天的红细胞或者是去甘油的红细胞，所以想对一个胎儿全部输用同一献血者的小等分血液是不可能的。虽有移植物抗宿主病的潜在危险，所以应该对宫内输用的血液进行照射，但这种危险稀少，所以大部分按这种方式输注的血液不做照射。

由于抗D抗体引起的HDN而做了宫内输血的胎儿，在出生时常常被定型为Rh阴性（或者是弱阳性的混合视野外观）并且直接抗球蛋白试验的结果是阴性的（或者是弱阳性的混合视野外观的）。其原因为出生时婴儿血循环中90%以上的红细胞是献血者的细胞。

表 10-6　为宫内输血而制备血液的步骤

1. 选择贮存不足 5 天的 1U O 型 Rh 阴性红细胞，或是 1U 去甘油的 O 型 Rh 阴性冰冻红细胞
2. 做母亲血清与献血者红细胞的配血试验，只能使用配合的红细胞
3. 如果产科医师要求，可移出多余的血浆或清洗液以调节血单位的血比容到 80%或更高，即移出 50ml 血浆到转移袋中
4. 如果不要一整袋时，可分装此单位，或按照产科医师的要求，分出需要的部分，彻底的混合这一血袋，然后将需要的量转移入一附属袋或转移袋中
5. 注意在血库记录上和血袋标签上注明红细胞的量、日期和分离的时间

三、母亲的血浆交换

用血细胞分离机做血浆交换可以移出母亲的一些抗 D 抗体。交换的容量一定要大，因为受刺激下抗 D 抗体不断生成，且 IgG 类大部分在血管外，需经扩散进入血流以代替血浆交换移出的抗体。在妊娠的中 3 个月，为了保存胎儿直到可以作宫内输血时；或在妊娠的末 3 个月，为了减少循环中的抗 D 抗体量，作为宫内输血的辅助手段，都可以做血浆交换。因为用换血浆来处理 HDN 的经验有限，并且它是否有治疗价值仍不清楚，所以认为这种方法是实验性的。

四、换　　血

通过换血疗法既可换出抗体和致敏的红细胞，减轻溶血，纠正贫血，防止心力衰竭，又可换出大量血清胆红素，防止胆红素脑病的发生，血液的选择同本章第三节三、患儿输血的血型选择及配血试验。

直到最近，用来换血的血液才用 CPD 抗凝药剂集。临床上加腺嘌呤的血液是令人满意的，并可以在换血中常规使用。与血液本身有关的换血的并发症包括低钙血症（枸橼酸钠的毒性）、酸中

毒、钾毒性和冷血所致的心律失常。输血后低血糖症可能由于CPD或CPDA-1血液中存在的葡萄糖引起了胰岛素的释放所造成。为了避免低钙血症、酸中毒和低血糖症，许多儿科医师都喜欢用肝素化血液。但肝素可以引起婴儿出血和(或)游离脂肪酸升高，继而产生更多的未结合胆红素。已有的资料并未指出CPD血或肝素化血的优越性，CPD血很容易得到，而获得肝素血通常要耽误时间，就可能影响对婴儿的处置，故临床上用CPD血或CPDA-1血比用肝素血更好一些。

只有当未结合胆红素的量超过了白蛋白结合能力时，才发生胆红素脑病。一些工作者主张在换血前输人血白蛋白或把人血白蛋白加到用于换血的红细胞中。但是除了结合胆红素外，为了这个目的使用25%人血白蛋白也能把相当数量的水分吸引到血管内，因此增加了充血性心力衰竭的危险。在此情况下，使用人血白蛋白的价值从来没有明确过，并且它的使用也不是普遍的。

为了达到换血所期望的结果所必需的血量，或者为使换血有效而应该给的血量可以用下面公式计算出来：

$$R(\%)=(1-S/V)^N$$

S=注射器的容量；N=注射器装满的次数；V=婴儿的血量；R(%)=余留的原血液百分比。

实际的换血结果取决于许多变量。通常使用的1U血液大约是500ml。一般情况下是用于1U或2U来换血。有人已经提出常规的换血量为200ml/kg(90ml/lb)。如果换血中婴儿处于痛苦中，换血量可减为132ml/kg (60ml/lb)。

严重HDN的患儿在换血前贫血，换血后血比积需要达到50%～55%，所以必须增加用于换血的血液的血比积(如果献血者的血比积是38%，全血可以低至33%)。因为全血的血比积一般是不知道的，需要移出的血浆量仅能估计而定。一个已知血比积的血液可以通过测定一段塑料管的血比积来得到，然后从这个血单位中移出计算量的血浆。通常移出150ml血浆是足够的，如果

婴儿是严重贫血，换血将用红细胞而不用全血。如果红细胞与血浆或白蛋白联合使用，这些制品可以按要求的比例在一个管道上的刻度量筒内进行混合。

换血通常是通过在脐静脉内插套管而进行，如果不可能的话，也可以用隐静脉。当只有一个静脉插套管时，换血可用注射器交替注射和抽出小量血液。脐静脉和脐动脉两者常常都可能插套管，于是换血就可以用一个连续输注——抽出泵来进行。

五、药物治疗（摘自《临床输血》）

新生儿溶血病的药物治疗主要目的是通过降低血清胆红素或减少游离的未结合胆红素，以预防胆红素脑病。

（一）西药治疗

1. 降低血清胆红素

（1）酶诱导药：新生儿肝脏葡萄糖醛酸转移酶发育不成熟，其活性仅为成人的1%～2%，故未结合胆红素不能有效地与葡萄糖醛酸结合，而引起新生儿高胆红素血症。酶诱导药能诱导肝细胞微粒体增加葡萄糖醛酸转移酶的生成，增加未结合胆红素与葡萄糖醛酸结合的能力，增加肝脏清除胆红素的功能，使血清胆红素下降。酶诱导药需用药2～3天才呈现疗效，故待已发生高胆红素血症时才用药疗效较差，早产儿的疗效较足月儿差，因而要及时用药才能达到预防或治疗的目的。常用的酶诱导药是苯巴比妥及尼可刹米，单独应用时苯巴比妥疗效优于尼可刹米，两者合用则可提高疗效，苯巴比妥除有酶诱导作用外，尚可增加肝细胞内γ球蛋白含量及增加肝细胞膜通透性而增加肝细胞摄取未结合红素的能力。剂量：苯巴比妥5mg/(kg·d)，分2～3次服；若孕妇在临产前2周开始服用，剂量为50～100mg/d。尼可刹米100mg/(kg·d)，分3次服。

（2）抑制溶血过程：母婴血型不合引起的新生儿溶血病，如在新生儿娩出后溶血继续发生，可用肾上腺皮质激素抑制溶血过程，

但该药对新生儿溶血病的疗效不如对自身免疫性溶血病。在重症患儿可以短期使用泼尼松 2.5mg/次，每日 2～3 次；氢化可的松，10～20mg/d。

2. *减少游离的未结合红胆素* 游离未结合胆红素升高可引起胆红素脑病，在白蛋白浓度相对较低或酸中毒时，均可造成游离的未结合胆红素上升，而且酸中毒时脑细胞膜的通透性增加，胆红素更易进入。因此输人血白蛋白或血浆及碳酸氢钠纠正酸中毒，均能预防胆红素脑病。

(1)补给人血白蛋白：可给人血白蛋白 1g/kg 加葡萄糖 10～20ml 静脉缓慢推注或滴注，在心功能不全的患儿使用要慎重，无人血白蛋白制剂时每次给血浆 25ml，静脉滴注，1～2 次/天；

(2)纠正酸中毒：碳酸氢钠剂量可根据血气分析结果计算，即碱剩余×kg(体重)×0.3＝所需碳酸氢钠毫克当量数。用葡萄糖供应热量，减轻酸中毒和低血糖。

3. 其他

(1)保暖：保持正常体温十分重要，若体温过低易发生酸中毒、低血糖等，这些因素均能促使胆红素脑病发生；

(2)供氧：有呼吸困难、青紫等症状即应供氧；

(3)洋地黄制剂：重型新生儿溶血病患儿并发心力衰竭时，应快速给洋地黄制剂，毛花苷 C 按 0.03mg/kg，第 1 剂先给 1/2 量，然后每 4h 给 1/4 量，或用地高辛按 0.03～0.05mg/kg，分 3 次给予；

(4)抗生素：有感染时可选用抗生素，但不宜使用磺胺类药、氯霉素或新生霉素。因这些药物可加重黄疸程度使游离的未结合胆红素增加，促使胆红素脑病发生。

(二)中药治疗

中药治疗新生儿高胆红素血症有一定疗效，如国际和平妇幼保健院应用茵陈冲剂治疗 ABO 溶血病患儿 15 例，3 天后胆红素平均下降 78.5μmol/L(45.9mg/L)，另 15 例 ABO 溶血病患儿作

为对照平均仅下降 9.6μmol/L(5.6mg/L)。中药治疗机制尚未完全阐明,可能是多方面的。茵陈及黄芩是治黄疸及清热泻火主药;生大黄有泻下作用,制大黄泻下作用弱、对湿热黄疸有效。黄芩中主要的成分为黄芩甲素,在机体内借助于葡萄糖醛酸苷酶作用,能分解出葡萄糖醛酸。甘草有解毒作用,其有效成分甘草甜素和葡萄糖醛酸具有保护肝脏的功能,防止肝糖原减少及促进毒物排出作用。中药作用慢,宜及早应用,常用处方有:

1. 茵陈冲剂　茵陈 15g,黄芩 9g,制大黄 3g,甘草 1.5g,每日 1 剂,分次在喂奶前服,连服 3～5 天偶有呕吐反应,大便颜色较褐。

2. 三黄汤　制大黄 3g,黄连 9g,黄芩 4.5g,每日 1 剂,分次在喂奶前服。

3. 茵栀黄注射剂　每天 10ml(内含茵陈 4g,黄芩 2.5g,山栀子 1.5g,大黄 2g)加 10%葡萄糖静脉滴注。

第五节　预防(摘自《临床输血》)

一、Rh 溶血病的预防

预防 Rh 溶血病最根本的原则是防止 Rh 阴性妇女发生 Rh 同族免疫。首先简略复习一下孕妇是如何产生致敏的,胎儿的 Rh 阳性红细胞在分娩过程中由于胎盘的损伤可以经过胎盘进入母体,但在整个宫内过程中,胎儿的红细胞有时也可能经胎盘进入母体,不过机会少、数量小。进入母体的 Rh 阳性红细胞逐渐聚集在脾脏中,被该处的吞噬细胞所吞噬,但需要相当长时间才能释放足够的 Rh 抗原,刺激免疫活性细胞产生抗体,刚开始产生的抗体是 IgM 抗体,不能通过胎盘,但不久即产生 IgG 抗体,可以通过胎盘至胎儿。第 1 次产生抗体的速度慢数量少,且经过一段时间后即停止增长,并逐渐减弱。在产生抗体的同时出现免疫记忆细胞,且

永久存在，整个过程至少需 8～9 周或 6 个月，此时称该妇女已致敏。一旦致敏，就不能再回复到未致敏状态，至该妇女第 2 次再妊娠 Rh 阳性胎儿时，抗原再次进入母体后，则引起强烈反应。此时，抗原产生抗体速度快、数量多，这种情况多发生在第 2 次妊娠分娩过程中或在第 2 次妊娠的后半期。因此母亲需 2 次接触抗原才会使胎儿发生溶血病。预防 Rh 阴性妇女发生致敏，必须在第 1 次分娩 Rh 阳性婴儿后立即执行，观察预防的效果则在第 2 次妊娠的后半期和分娩后，检查孕妇抗体的存在和效价，才能加以判断。如果第 1 次预防取得成功，孕妇未产生抗体，则在第 2 次分娩 Rh 抗体阳性婴儿后仍需再次预防。

怎样能使 Rh 阴性孕妇不致敏？早在 1900 年虽已证实被动免疫抗体可以抑制主动免疫的产生，但这个原理一直未在临床应用，1961 年 Ciarke 注意到胎儿和母亲 Rh 血型不合时，如果 ABO 血型也不合则母亲不易产生 Rh 致敏。当时他认为可能是由于 Rh 阳性红细胞被抗 A(B)IgG 抗体破坏所致。现在从^{51}钴标记法试验证明胎儿 ABO 血型不合的红细胞进入母体后，在血管内溶血，被破坏的红细胞移至肝脏，而肝脏只有少量免疫活性细胞，不致引起免疫反应。如果胎儿和母亲只有 Rh 血型不合，而 ABO 血型符合时，胎儿的红细胞和抗 Rh 球蛋白（抗 Rh-IgG 抗体）接触后，在母体内是被封禁在脾脏中，红细胞的抗原被抗体所阻断，在脾脏中被吞噬细胞所包围和清除，也可使母亲不致敏。根据这个理论应用抗 Rh(D)IgG 抗体预防 Rh(D)溶血病取得了满意结果。

二、ABO 溶血病预防

在我国 ABO 溶血病的发病率较 Rh 溶血病高，约 50%病例发生在第 1 胎。因此不能用预防 Rh 溶血病的方法预防 ABO 溶血病。北京协和医院医师对已致敏的孕妇用减少抗体产生的方法作为预防措施，采用活血化瘀中药，并取得疗效，其方剂是：益母草 500g，当归 250g，川芎 250g，白芍 300g，广木香 12g，共研细末，炼

蜜为丸，每丸重 9g，自妊娠第 4 个月（17 周）开始服用，每日 1～3 次，每次 1 丸，直到分娩。他们对 30 例孕妇进行了预防，对 15 例有可靠临床资料的病例作了详细分析，此 15 例过去均曾分娩过有黄疸或水肿的 ABO 溶血病的婴儿，发生率为 76.9%，病死率为 55%，服药后新生儿溶血病发生率降至 26.3%，无一例死亡，说明活血化瘀中药有效。

他们治疗的依据是：中医认为溶血破坏红细胞属于瘀血现象，可采用活血化瘀药及理气药。认为川芎有活血通经作用，当归补血活血，白芍养血敛阴，木香芳香健胃，行气止痛，北京协和医院基础组曾做动物实验，发现益母草可以抑制小白鼠产生免疫抗体。

本组病例不多，尚需更多病例证实其疗效。如何从根本上预防 ABO 溶血病尚需大家共同努力，积极研究。

（杨莉芹　杜梅素　杜景霞）

第 11 章　临床输血常见的反应

输血是临床治疗的重要手段之一，是抢救和防治疾病的重要措施。但输血也可以引起一些不良反应，甚至是非常严重的不良反应，给原有的疾病增加了十分不利因素。因此，当病人需要输血或某种成分血时，首先要权衡利弊，并对可能产生的有害作用，做好有效的预防措施。

第一节　输血不良反应的分类

输血不良反应是指受血者在输血过程中或输血后，用原来疾病不能解释的新的症状和体征。常见这些新的症状和体征有以下几类：

按发生的原因可分为免疫性反应和非免疫性反应。

1. 免疫性反应

(1)发热反应。

(2)过敏反应。

(3)溶血性反应。

(4)输血相关的急性肺损伤。

(5)移植物抗宿主病。

(6)血细胞或血浆蛋白同种异体免疫。

(7)输血后紫癜。

(8)迟发性溶血性反应，发生在输血后数天至 6 个月内。

2. 非免疫性输血反应

(1)获得性免疫缺陷综合征(艾滋病)。

(2)梅毒。

(3)病毒性肝炎。

(4)含铁血黄素沉着症和血色病。

(5)电解质紊乱。

(6)肺微血管栓塞。

(7)非免疫性溶血性反应。

(8)出血倾向。

(9)空气栓塞。

(10)循环超负荷。

(11)细菌污染反应。

第二节　发热反应

在输血或输血液成分中或输注后2小时内,受血者出现发热、寒战为主要临床表现的一种输血反应,称为发热反应。占所有输血反应的52%以上,其发生率为3%。

一、原　　因

1. 致热原　一般指引起发热反应的各种微量物质。例如:蛋白质药物中的杂质,不纯蒸馏水中的杂质,非蛋白质的有机或无机杂质,以及采血或输血器上的残留变性蛋白质及死菌等,进入机体后均可产生发热反应,该类物质被称为致热原。

如果在一所医院同一时间内,若发生多个病人出现输血或输液后发热反应,可表示为输血或输液器具在清洗,灭菌或消除热原的过程中存在问题,此时,要立即查明原因,采取措施。近年来,随着输血事业的发展,输血器材也在不断更新,尤其是一次性输血器具的上市,加上临床白细胞滤器的大量应用,这类发热反应越来越少。

2. 免疫性反应　最常见的为白细胞抗体所致。病人多次输血或妊娠后，体内产生白细胞抗体，当再次输入一定量的白细胞时，就会发生抗原抗体反应，激活补体导致白细胞溶解，释放致热质引起发热反应。另外，当病人有输血史，也可产生血小板凝集素及淋巴细胞毒抗体；血浆中的免疫球蛋白和结合珠蛋白等，因个体差异，亦能激发产生同种抗体，引起发热反应。

3. 其他输血反应的早期症状　许多输血反应的早期，都有发热症状，如急性溶血性反应和细菌污染性输血反应等，应加以鉴别。

二、症状与体征

多在输血2小时内，突然出现发热、畏寒、寒战、出汗、体温可达38～41℃，甚至有些病人可伴有恶心、呕吐、皮肤潮红、心悸和头痛。严重者也可出现出血现象、心力衰竭、呼吸衰竭、肾功能减退和休克等。在全麻状态下，发热反应一般不明显。

三、诊　　断

1. 病人曾经有多次输血或多次妊娠史，既往有输血发热反应病史，或病人或供血者血清中有HLA、粒细胞和血小板抗体。

2. 输血2小时内，体温超过38℃以上，并出现发热症状。

3. 病人血清内有IgG抗体者。

4. 要与细菌性污染反应和轻症溶血性输血反应相区别。

四、治　　疗

1. 立即停止输血，保持静脉通畅。

2. 注意给病人保暖、解热、镇静，一般症状较轻者，口服阿司匹林即可解除，伴有紧张或烦躁者，可口服地西泮（安定）、苯巴比妥等，肌注异丙嗪（非那根）25～50mg或地塞米松5～10mg等抗胺药物。

3. 高热严重者，可用头枕碎冰块等物理降温方法。

4. 严密观察发热反应变化，每 15～30 分钟测体温、血压 1 次，并详细记录。

5. 对怀疑细菌性致热原所致的发热反应，应先给予广谱抗生素治疗，同时立即将血样送实验室做细菌培养，然后再根据培养结果，选择敏感抗生素足量输注。

6. 症状严重者的剩余血袋血，以及输血前后的标本，立即送输血科查找原因。

五、预　　防

1. 采、输血器具以及制备血液成分过程中，做到无致热原。

2. 手术或病房输血时，应严格无菌操作原则。

3. 输血速度应先慢后快，一般情况下以 200ml/h 为宜。

4. 对反复输血并有发热反应者，最好用白细胞滤器输血，或输少白细胞的红细胞或洗涤红细胞。

5. 对已产生 HLA 抗体者的病人，可选用微量淋巴细胞素交叉配血试验，或用 HLA 配型来筛选供血者。

第三节　过敏反应

输血引起的过敏反应较为常见，其发生率为 3%，所占所有输血反应的 40%以上。过敏反应包括皮肤瘙痒、荨麻疹、血管神经性水肿、哮喘、腹泻，严重者可出现呼吸障碍、过敏性休克等。

一、原　　因

1. IgA 抗体及其异型　由于多次输血可使缺乏 IgA 抗体病人产生同种异型抗 IgA 抗体，当再次输入相应的 IgA 时，可发生 IgA 抗原抗体反应。据有关报道，有的病人第 1 次输血后，抗 IgA 抗体效价高达 1 750，第 2 次输血可迅速升高至 17 500。当病人

IgA 抗体较弱时，临床输血一般不发生过敏性输血反应，当 IgA 抗体效价过高时，可出现休克症状。引起这类反应的抗体属于免疫球蛋白 IgG 抗体，它与相应的免疫球蛋白抗原 IgA 结合后，可吸附并激活补体，产生血管性物质。

2. *过敏体质* 有过敏体质的人，平时对某些物质，如鸡蛋、牛奶、花粉、灰粉以及某些药物等，可引起过敏反应。当这类病人输入他人的全血、血浆白蛋白等，特别是含有变性蛋白的血可引发过敏。另外，有不少病人对镍剂过敏，由于输血器有镍钢针，当输血时也可引起过敏反应。

3. *被动获得性抗体* 指个别有过敏体质的供血者，将体内的抗体转移给受血者，当受血者接触到有关变应原时，即可发生过敏反应。例如供血者血清中有抗青霉素抗体，当输给正在使用青霉素治疗的病人时，即可引起青霉素的抗原抗体反应，发生过敏反应。

4. *免疫球蛋白的多聚体* 当病人使用免疫球蛋白制剂时，多聚体浓度不得超过 5%，如果多聚体含量增多，大量的多聚体便可激活补体，产生血管活性物质，引起过敏反应。再则，免疫球蛋白制剂中还可能存在炎性介质，释放纤维蛋白溶酶、血管舒缓素、激肽释放酶原激活物等，也可激活补体，引起过敏反应。

5. *新生儿的输血后综合征* 在多次换血或实行宫内输血和换血两者的新生儿中，有时发生短暂斑丘疹并伴有嗜伊红细胞增多和血小板减少的良性综合征，可能与供血者血浆内的某种成分起反应有关。

二、症状与体征

无论是在输血开始或输血中，还是在输血后，均可出现过敏性输血反应。

1. *轻度过敏反应* 最常见的表现是于输血后数分钟内，突然发生瘙痒、皮疹（也称“风团”）、血管神经性水肿和关节痛，血常规

显示嗜酸性粒细胞增多。

2. 重度过敏反应　可发生平滑肌痉挛、喉头黏膜水肿、喘息、呼吸困难、腹泻等症状，这种重度过敏反应的发生虽然不多见，但是一旦发生，有一定的危险性，要引起注意。

3. 再重度过敏反应　可出现过敏性休克，表现为输血中或输血后立即发生，先是喉头闷紧，胸部有重压感、眩晕、心悸，同时出现全身性荨麻疹，呼吸困难，喘息、心动过速，继而出现面色苍白、出冷汗、四肢厥冷、血压急剧下降、脉细弱，甚至触不到脉搏等休克症状。最严重的出现过敏性休克，可立即死亡。但是这种情况很少发生。

三、治　　疗

1. 轻度反应者可在严密观察下，减慢输血速度。口服或肌注抗组胺药物，如苯海拉明、异丙嗪、氯苯那敏（扑尔敏）、布克利嗪（安其敏）或皮质类激素药物。也可皮下注射 1∶1 000 肾上腺素 0.5ml。一般对症处理，症状很快可消失。

2. 重度反应者应立即停止输血，保持静脉通畅。支气管痉挛者，应立即皮下注射 1∶1 000 的肾上腺素 1ml，严重或持续者，可静脉滴注地塞米松 5mg。出现过敏性休克时，应先皮下注射肾上腺素，再肌内注射地塞米松等，应积极进行抗休克治疗，发生喉头水肿时，应立即气管插管或气管切开，以免窒息，同时静脉滴注地塞米松。

四、预　　防

1. 有过敏史必须输血者，可在输血前 30～60 分钟内，口服苯海拉明、盐酸异丙嗪等，也可用皮质类激素药物。但药物切不可加入血液内。

2. 选用无过敏反应史、未服用或注射任何药物的供血者。

3. 对经产妇或有输血史的供血者，应检查血液内有关抗体，

如 IgA 抗体、HLA 抗体以及血小板抗体，发现阳性者可除名。

4. 对有抗 IgA 或限定特异性抗 IgA 抗体的病人，应选用洗涤红细胞、冰冻红细胞。

5. 自体输血。

第四节 溶血性反应

溶血反应是指病人接受了不相容的红细胞，或对其自身红细胞有同种抗体的供者血史，使供血者红细胞或自身红细胞在体内发生异常破坏，引起的一系列病理反应。溶血反应的程度，与病人血清抗体的效价，输入供者红细胞的量，以及抗体的性质与红细胞抗原决定簇的数目等有关。

据有关资料报道，因输血导致的死亡率为 1/55 000～1/1 700 000。Linden 调查中指出，58%的输血错误来自于血库之外，其中 74%的病例是因为输血病人出现差错。1984 年国际输血协会报道欧美溶血性反应发生率为 1/1 400～1/1 600。

根据反应发生的时间，一般可分为急性溶血性输血反应和迟发性溶血性输血反应两种。

一、急性溶血反应

输血后 24 小时内发生的溶血性输血反应称为急性溶血性反应，多见于输血后立即发生。主要由于 ABO 血型不合，A_2 亚型；Rh 血型不合，抗 D 抗体、抗 E 抗体、抗 C 抗体以及抗 D^u 抗体等；Duffy 血型不合，存在 Fy^a、Fyb 血型抗体；Kell 血型不合，存在 Kp^a、Kp^b、Js^a、Js^b 等血型抗体。

1. 原因

(1)ABO 血型不合：出现血型不合输血的原因，主要是工作人员缺乏高度的责任心，未严格执行操作规程，而引起配血或输错血液；也有技术或其他方面造成血型鉴定错误。如：①抗体试剂与红

细胞比例太小；②红细胞悬液过浓或过淡；③离心速度、时间不够；④未发现溶血现象；⑤标准血清被细菌污染，造成假阳性；⑥使用器材不干净；⑦标本张冠李戴；⑧试剂过期而失效；⑨人为的书写错误；⑩操作者未能正确识别和解释试验结果；⑪婴儿及老年人血清抗体效价太低；⑫某些疾病影响，如多发性骨髓瘤、心肌梗死、感染、外伤等病人血清纤维蛋白增高；⑬治疗措施的影响，输入高效价的血浆，血清中出现以外抗体干扰定型，使用扩张血管药如右旋糖酐-40 等；⑭被检者红细胞的问题，如大肠埃希菌等可产生“类 B 型”抗原，白血病致抗原效价减弱或消失。

(2)O 型血：异型受血者红细胞溶血。因为 30%～40%的 O 型人具有免疫抗 A 及抗 B 抗体，免疫抗体可引起受血者 A、B 或 AB 型红细胞破坏溶解，发生溶血现象。一般情况下，输血要求同型相输，避免输异型血。

(3)输注不相容性血浆：当输入不相容性血浆量较大，或血浆中抗体效价较高时，均可引起受血者红细胞溶解破坏。

(4)献血者之间血型不合：主要见于大量输血或短期内相继输入不同供血者的血液。

(5)Rh 血型不合：Rh 血型抗体天然形成的 IgM 抗体占少数，绝大多数的抗体是由于输血或妊娠而获得的免疫 IgG 抗体。IgG 抗体可发生溶血性反应。

(6)其他稀有血型不合：如 Kell、Kidd、Duffy、Lewis、MNSs 等血型，可引起血管内或血管外溶血。

(7)试验方法不敏感：如盐水交叉配血法，IgG 抗体在该试验中不反应，不能发现 ABO 血型抗体以外的抗体。

(8)其他一些物理因素：血液贮存超过保存期、血液运输剧烈震荡、高温(40℃以上)或低温(0℃以下)或化学因素所致等均可造成红细胞破坏，如果一次大量输注这样的血液，可出现溶血性反应。

2. 发病机制　当异型细胞和血浆误输入病人体内时，红细胞

与其相应血型抗体结合，并激活补体，使大量红细胞在血管内凝集、破坏。首先是血浆游离的血红蛋白增高，血红蛋白可与血浆中的结合珠蛋白及其他蛋白结合，结合的血红蛋白由单核巨噬细胞系统清除并降解。造成血浆中结合珠蛋白减少或消失。当结合珠蛋白结合血红蛋白饱和时，白蛋白再与血红蛋白结合成高铁血红素白蛋白，致高铁血红素白蛋白增加，继而是血液结合素与血红蛋白结合而下降。当血浆中这些蛋白不能再与血红蛋白结合时，血红蛋白则在尿中出现，发生血尿。

急性溶血发生后，大量红细胞碎片和红细胞基质经机体单核巨噬细胞系统吞噬清除，使该系统出现阻滞和功能下降，使病人易于合并各种感染。

溶血过程中释放出来的红细胞基质只有凝血活酶样作用，可激活机体凝血系统，引起体内发生凝血连锁反应，导致 DIC，引起：①微血管系统内血栓形成；②纤维蛋白原、血小板、第Ⅴ和第Ⅷ因子消耗；③溶纤维蛋白系统活化；④纤维蛋白降解物产生；⑤无法控制的出血。总之，全身低血压、肾血管收缩和 DIC 的综合作用造成肾缺血，从而引起肾衰竭。

3. *症状与体征* 急性溶血反应发生迅速，当受血者抗体效价高时，即便输入 10ml 异型血液时，也可出现临床症状；输入异型血液超过 50ml 即可出现血红蛋白尿；输入超过 150～200ml 时，可发生急性肾功能衰竭，抢救不及时可造成死亡。典型症状为：发冷、寒战、发热、头痛、腰背疼痛、腹痛、胸前压迫感、呼吸困难、紫癜、血红蛋白尿、黄疸等。严重者可出现休克、DIC 和急性肾功能衰竭。

个别病人因免疫功能低下，血清抗体效价低于 1∶16，当误输少量血液而无上述典型症状。据谢周生报道，一位女性 B 型血病人，误输 300ml A 型血后，无任何症状。有时症状不明显易被忽视，要引起重视。

当病人处于全麻状态下，出现不能解释的手术区严重出血及

低血压，可能是溶血反应的惟一表现。

4. 诊断

(1)根据症状判断分析：在输血过程中或输血后病人出现面部发红、寒战、高热、腰背剧痛、导尿袋中尿液呈酱油色，或全麻状态下手术区大量凝血或出血不止，血压明显下降，均应考虑可能输入不相容的血液，引起急性溶血反应。

(2)实验室检查

①认真核对受血者与供血者交叉配血血标本，受血者与供血者血型标本是否相同；

②复查病人输血前后血液标本 ABO 血型和 Rh 血型；

③复查交叉配血试验，最好选用凝聚胺试验，抗人球蛋白试验，有条件可做微柱凝胶卡配血试验；

④马上抽取病人静脉血 5ml，离心观察血浆颜色，血管内溶血 >25ml 时血浆呈红色；

⑤测定血浆游离血红蛋白，溶血后游离血红蛋白立即升高，1～2 小时可达高峰，采血时注意防止溶血，并应与输血前用于配血试验的血清做对比观察；

⑥血浆结合珠蛋白测定，当发生血管内溶血后，血浆结合珠蛋白立即下降；

⑦检查输血后第 1 次尿液，做尿血红蛋白测定和尿常规，通常情况下，血中微量的血红蛋白被结合珠蛋白结合，由于分子量大，不能通过肾小球从尿中排出；当血浆中游离血红蛋白含量在 1.5g/h，超过了结合珠蛋白的结合能力，剩余的血红蛋白即可从肾小球滤出，出现血红蛋白尿，一般溶血发生后 4 小时测定，尿中血红蛋白含量达高峰，而后开始下降，12 小时后含量最少；

⑧血清胆红素测定，溶血反应后 5～7 小时，血清胆红素达高峰；

⑨直接抗人球蛋白试验，取病人输血后的标本，如果病人有效价不高的抗体，于输血后可能全部抗体与输入的红细胞抗原结合，

而检查不出游离的抗体，但在抗人球蛋白直接试验中能显示阳性结果；

⑩血涂片检查，可发现大量红细胞的碎片。

(3)鉴别诊断：须与细菌污染的输血反应和过敏性休克相区别。

(4)必要时可做 DIC 的筛选试验。

(5)检查或排除非免疫性溶血反应。

5. *治疗* 急性溶血性输血反应病死率很高，早期诊断和积极治疗是关键。个别病人输入 50ml 左右的不相容血液即可引起死亡。急性溶血性输血反应的治疗重点是：①抗休克；②防治 DIC；③防治急性肾功能衰竭；④换血方法。

(1)一般处理：立即停止输血，更换输血器，保留静脉输液通畅、吸氧、保暖。复查血型和交叉配血试验。

(2)抗休克处理

①静滴 5%葡萄糖盐水 500～1 000ml，给予 6%右旋糖酐-40，以改善微循环，防止微血栓形成和利尿作用。

②休克时，因血流缓慢，给氧方法最好选用高压氧疗法，以利尽快提高血红蛋白的携氧能力。

③静脉输注新鲜 AB 型或同型血浆，除增加血容量外，还可由血浆中的血型物质，结合 ABO 血型天然抗体，减轻溶血；另外新鲜血浆中含有游离半抗原和结合珠蛋白，可与游离血红蛋白结合，防止其沉积于肾小管。

④贫血严重者，应输洗涤 O 型红细胞或与病人相同的洗涤红细胞，也可输新鲜全血。有条件时，最好将洗涤红细胞或全血，经光量子处理后输用。库存血经光量子处理，使红细胞携氧量迅速提高，血液中的氧分压可提高 8～15 倍；可刺激细胞免疫功能，增加机体抗炎、抗病毒能力；使肾衰病人的血肌酐(Cr)上升速度明显减慢，提高超氧化物歧化酶(SOD)活性，使氧自由基清除能力得以恢复。

⑤扩张血管药物的应用，一般适用于休克初期，这时病人微循环出现血管痉挛，但血容量无明显下降，周围血管阻力增高或正常而无心排血量降低者。应用扩张血管药物前一定要补充血容量，以免导致血压骤降而加重病情。多选用α受体阻滞药，如酚苄明或地巴唑，前者一般以0.5～1mg/kg体重，1小时内滴完；后者以2～5mg/dl的溶液静滴，20～40滴/min。也可选用阿托品、盐酸山莨菪碱。

⑥血管活性药物的应用，常见药物如间羟胺10～20mg加入5%葡萄糖100ml中静滴；去甲肾上腺素1～4mg，溶于5%葡萄糖液200ml中静滴，5～20μg/min。新福林（去氧肾上腺素）10～20mg加入5%葡萄液250ml中静滴。

此外，如果在应用间羟胺的同时，使用多巴胺，可增加升压效果。因多巴胺既可增加心排血量，又可扩张肾血管，增加肾血流量。

(3)纠正心功能不全：毛花苷C静推，可增强心肌收缩力，减慢心率，利尿等。一般使用量每次0.4mg，以50%葡萄糖溶液稀释缓慢静推。

(4)抗过敏：可肌注地塞米松10～20mg或静滴氢化可的松300～600mg。

(5)防止肾功能衰竭：注意水和电解质平衡，记录尿量，碱化尿液，可用呋塞米（速尿）80～120mg静注或20%甘露醇100mg静滴。一般甘露醇4～6小时重复1次，呋塞米和5%葡萄糖可在间歇期注射，予改善肾血流量和利尿作用，必要时可进行血液透析或腹膜透析。

(6)防治DIC发生：除应用右旋糖酐外，可静滴双嘧达莫400～600mg。也可使用肝素，对成人病人，静脉滴注的初剂量为4 000U，再根据病情进行6～24小时持续静滴，1 500U/h。输新鲜血浆或凝血因子、纤维蛋白原、氨基己酸或维生素K等。

(7)换血疗法：即血液置换术，将病人体内不配合的红细胞及

其破坏后的有害物质以及抗原抗体复合物置换于体外。此疗法疗效显著，越早越好，根据病情决定换血量。在下列情况下可考虑实施换血疗法。

①经上述溶血反应处理后，红细胞在盐水中仍有凝集现象者；

②可能发生肾功能衰竭者；

③病人误输不相容的全血、浓缩红细胞或悬浮细胞超过1U者。

6. 预防

(1)输血前受血者和供血者一定要做ABO正反向定型，Rh定型。

(2)对受血者要做抗体筛查试验，尤其对有输血史、妊娠史更为重要。

(3)选择敏感的交叉配血方法。如抗人球蛋白试验，凝聚胺试验以及微柱凝胶卡试验等。

(4)认真遵守输血规章制度，严防在书写、登记、标签和核对等环节发生错误。

(5)防止同名同姓，相邻床位或住同一床位的前后2位病人之间混淆，造成抽错血标本。

(6)发血前认真核对病人血型与供血者血型，如有疑问，立即查清再发。

(7)交叉配血时，最好一人做，另一人核对，单独值班时，要做2次交叉配血试验。

(8)输血前，应由2名工作人员在床边核对，确保受血者与供血者血型相符，交叉配血试验报告单准确无误。

(9)需大量输血者，所需多名供血者之间的血液也要做交叉配血试验。

(10)尽量不将O型血输给A、B、AB型。

(11)血液从冰箱取出恢复至室温时，即可输用，一般不需加温输用，特殊情况需要加温处理时，温度不宜超过37℃。

(12)血液从冰箱取出,因故暂时未输时,血液不可存放在高温或0℃以下。

(13)全血或血液制品内,不允许加入任何药物,以防产生药物配伍禁忌引起溶血。

(14)医护人员应提高对溶血性输血反应的认识和诊断水平。

二、迟发性溶血反应

迟发性溶血反应主要发生在血管外,也可以有血管内溶血,出现血红蛋白尿。这是已致敏的抗原产生回忆应答反应的结果。由于受血者以往有反复输血或多次妊娠史,受血者已被不相容的血型抗原所致敏,并产生了相应抗体。这种抗体经过几年或几个月后,可以减弱,至检测不到。当病人再次输入不相合的血液后,对已致敏抗原产生免疫回忆反应,而导致溶血。

迟发性溶血反应多发生在输血后3周以内,输血后3～6个月发生迟发性溶血反应的也有一些报道,应引起临床医师的注意。

能引起迟发性溶血性反应的抗体种类繁多,如:ABO血型系统的抗A、抗B、抗C、抗A_1等抗体;Rh血型系统的抗D、抗E、抗C、抗c等抗体;MNSs血型系统和Kell血型系统的全部抗体;还有Fy、JK、u、PI、Le、Lu等抗体。国内报道因抗D、抗E、抗C、抗c、抗JK^a、抗JK^b等抗体引发迟发性溶血反应者最多。

1. 原因

(1)Rh血型不合输血,Rh血型抗体除少数天然产生外,大多数由输血或妊娠等免疫刺激产生。Rh血型抗体的产生与抗原的基因分布频率、抗原性强弱、受免疫刺激的次数,机体本身的免疫敏感性等多种因素有关。当再次输不配合血时,即发生血管外溶血为主的溶血反应。

(2)其他血型不合,如Lewis、MNSs、Kell、Duffy、Kidd等血型系统。这些稀有血型的不合输血引发迟发性溶血性反应较少见,因这类血型病人均要经反复输血,反复刺激机体。抗体效价达到

一定程度时，也可引起迟发性溶血反应。

(3)接受组织器官，骨髓移植时也可发生溶血反应，因血型不合的移植中，接受了大量淋巴细胞，在体内可产生抗体，破坏受血者红细胞，发生溶血。

(4)O型血若有免疫抗A和抗B抗体，输入病人体内，可发生血管外溶血。

(5)ABO不合的输血，当受血者免疫功能低，且抗体效价在1∶16以下，输入不相合的血液时，可以不发生溶血反应。但随着时间的推移，血清抗体效价攀升，达到一定水平时可发生溶血反应。

2. 症状与体征　凡输血1周内，出现原因不明的发热、贫血、黄疸、血浆胆红素升高、血红蛋白尿、畏冷、寒战、腰痛等症状时，可考虑为迟发性溶血反应。一般来势不如血管内溶血迅猛，但也有少数病例发生急性溶血性输血反应，导致DIC，出现少尿、无尿及肾功能衰竭，甚至死亡。因此，在输血时要警惕这种输血反应的发生。

3. 诊断

(1)在输血后出现不能用原发病解释的贫血或血红蛋白下降症状，且有输血史、妊娠史或器官移植的病人，应考虑为迟发性溶血反应。

(2)交叉配血试验可选用：酶法、抗人球蛋白试验、凝聚胺试验、凝胶卡试验。

(3)做抗体筛查试验，发现相应抗体。

(4)红细胞直接抗人球蛋白阳性。

(5)血清胆红素明显升高。

(6)血液涂片，球形红细胞明显增多。

4. 治疗　关键在于及时明确诊断。一旦明确诊断，症状重者，按急性溶血性输血反应处理，重度贫血者可进行输血治疗。最好输洗涤红细胞或经光量子处理的血液；症状轻者可予对症治疗。

5. 预防

(1)每次输血前,要严格操作输血前各项试验。

(2)做抗体筛查试验。

(3)交叉配血试验标本要新鲜,能反映当前的免疫状况。

(4)交叉配血试验必须采用凝聚胺法或抗人球蛋白法以及卡式配血法。

(5)采用自身输血。

(6)严格掌握输血适应证,可输可不输时,坚决不输,必须输血时,要尽量少输,以减少抗原刺激机会。

(7)对组织器官移植者,术前术后给予受血者足量免疫抑制药,防止淋巴细胞分泌抗体。

第五节　细菌污染反应

随着输血事业的迅猛发展,采供血及临床输血的器具不断更新,在现代化设备和技术条件下,一般情况下可以做到血液或血液制品不受细菌污染。但临床上并非完全杜绝细菌污染血液的发生,由于各种原因,细菌污染血液也有个例报道。污染血液或血液制品多见于大肠杆菌、副大肠杆菌、铜绿假单胞菌、变形杆菌、类白喉杆菌及其他革兰阴性杆菌。链球菌、葡萄球菌等革兰阳性菌在特殊情况下,也可以发生污染。一些嗜冷菌,如产生大肠杆菌、无色杆菌或假单胞菌属等,这些细菌在4℃环境下可生长繁殖。大肠埃希杆菌利用枸橼酸盐为惟一碳源,生长繁殖过程中不断消耗枸橼酸盐,使其浓度下降,发生血液凝固。临床上一旦输入这些已被污染的血液是很危险,可引起致命性败血症。

一、原　　因

1. 采血器具和输血器具消毒不彻底或血袋有破损。

2. 用开放式器具和方法采血和制备成分血。

3. 未严格遵守无菌操作规程。

4. 供血者手臂皮肤清洗不彻底。

5. 供血者有菌血症，如有感染灶或正在发热。

6. 血液贮存温度过高，长时间超过6℃。

7. 血液在贮存前或输血前在室温中放置太久。

二、症状与体征

细菌污染反应的症状的严重程度，取决于污染细菌的种类、细菌毒性、细菌数量以及病人的原发病和免疫功能等。轻者以发热为主；重者于输入10～20ml血液后，即可发生全身症状，如发冷、寒战、高热、烦躁不安、头痛、腹痛、恶心、呕吐、腹泻、呼吸困难、面部潮红、皮肤黏膜充血、紫癜、大汗、血压下降，也可立刻发生休克、DIC、肾衰竭，死亡率可达50%以上，要引起足够的重视。全麻状态下病人只有血压下降、手术区渗血不止等体征。

三、诊　　断

1. 输血开始不久，立即出现高热、皮肤黏膜充血、休克等，是细菌污染的特征。

2. 手术全麻病人，出现血压下降或手术视野渗血不止等表现。

3. 观察血液外观，血浆与血细胞界面不清，血浆中有絮状物、溶血环、大量气泡，红细胞变紫，有凝块和溶血(1/4左右的细菌污染血液不出现溶血现象)。

4. 血袋开封后，有迸发声和硫化氢样恶臭味。

5. 取血袋剩余血直接做涂片或离心后涂片染色检查。有时镜下可见布朗运动的细菌。即是污染的有力证据，镜检阴性结果也不能排除细菌污染的可能性，因为细菌数多达24×10^5/ml时方可在涂片上发现。

6. 将血袋剩余血、病人血液，分别在4℃、室温(22℃)、37℃做

厌氧菌和需氧菌细菌培养。

7. 必要时也可取病人骨髓穿刺或尿样做细菌培养。

8. 外周血白细胞总数和中性分叶核粒细胞明显增多。

9. 轻度反应者，应与发热反应相鉴别，无论轻重均须与急性溶血性输血反应鉴别。

四、治　　疗

治疗以抗感染、抗休克及预防急性肾功能衰竭和 DIC 为主。

1. 有血液污染迹象时，立即停止输血，以生理盐水保持输液通畅，以便输血输液进行抢救治疗。

2. 及时采取抗感染治疗，在病原菌尚未明确之前，先联合使用大剂量、强效、广谱抗生素；病原菌一旦明确，根据药敏试验结果，立即改用最敏感的抗生素。

3. 加强支持疗法，病人体质差，免疫功能低下时，可输新鲜血液，静注大剂量免疫球蛋白等。

4. 及时采取抗休克、防治 DIC 及急性肾功能衰竭的措施。

5. 如出现急性肾功能衰竭，应限制液体的过量输入，同时应考虑做血液透析治疗。

五、预　　防

1. 在采血、贮血、运输血、输血等各个环节，均应做到预防为主。

2. 严格对采血、输血器具的消毒灭菌。

3. 对供血者、受血者的皮肤进行严格消毒，进针部位及周围用碘酒消毒时间不得少于 30 秒，用消毒巾保护已清洁部位。

4. 采血器材和血液保存液，必须彻底灭菌、消毒，选用封闭式采血技术和一次性多联袋采血、输血器材和血液成分制备。

5. 全血及成分血在室温下放置时间最长不得超过 30 分钟，从冰箱取出应在 4 小时内输注完。

6. 血液从血液中心到医院运输过程中，应在2～10℃的控温箱内。

7. 血液发出前或输注前，应仔细观察有无溶血、气泡、凝块等异常现象，如怀疑有时，应禁止发出或输用，并及时做细菌培养。

8. 贮血冰箱不能断电，应有温度记录和自动报警装置及断电延时器，并要定期核对温度计。

9. 检查贮血袋是否完整及有无破裂现象。

10. 严禁采取各种手段将保存期外的血液及劣质品发给临床输用，临床禁止输用过期的血液及制品。

（王振芳　李　节　李永利）

第12章　输血传播的疾病

输血或血液制品都有传播疾病的危险，主要传播疾病有艾滋病、乙型肝炎、丙型肝炎、梅毒、疟疾、巨细胞病毒感染、EB病毒感染、丝虫病、弓形虫病、回归热、黑热病等。2002年卫生部颁布的《临床输血规范》明确地将乙型肝炎、丙型肝炎、梅毒、艾滋病的病原体检测列为输血前的常规检验。从而，为临床安全输血奠定了基础。

第一节　艾　滋　病

艾滋病是获得性免疫缺陷综合征的别名，英文名为 Acquired Immuno Deficiency Syndrome，缩写为 AIDS。病原体是人类免疫缺陷病毒（human immuno-deficiency virus，HIV）。是一种严重威胁人类生命的传染病和免疫缺陷性疾病。其传播速度极快，病情险恶，病死率特别高，一般从发病到死亡为数月至5年，被称为“现代瘟疫”和“超级癌症”。HIV主要感染 $CD4^+$ 细胞，使细胞的免疫功能和体液免疫功能减退或丧失，易合并条件致病菌感染。

一、病　原　学

1981年美国 Gott-Lieb 最先报道，在一群男性同性恋病人中，发生卡氏肺囊虫性肺炎（PCP）和卡波西肉瘤（KS）。这种肉瘤比一般肉瘤更具侵犯性，累及内脏器官并常常伴有机会性感染。$CD4^+$ 细胞显著减少或消失。

1983年，HIV首先由法国巴斯德研究所肿瘤病毒室主任Montagnier领导的实验室发现，他们从一名患有淋巴瘤病综合征的男性同性恋者淋巴结组织中发现了一种新的逆转录病毒，命名为淋巴结综合征相关病毒（iymphadenopathy associated Virus，LAV）。

1984年美国国立肿瘤研究所Gaiio博士从AIDS病人身上分离到多株逆转录病毒，命名为人类嗜T淋巴细胞病毒Ⅲ型（HTLV-Ⅲ型），后来经过证实LAV与HTLV-Ⅲ型为同一种病毒。

1986年国际病毒分类委员会将LAV和HTLA-Ⅲ型统一命名为人类免疫缺陷病毒Ⅰ型（human immuno-deficiency Virus，HIV-1）。同年，又从西非人群中分离出HIV-2逆转录病毒，该病毒主要流行于西非地区；HIV-1流行广泛，遍布世界各地。HIV-1与HIV-2两型病毒结构相似，但用核酸杂交法检查，HIV-1与HIV-2核苷酸序列相差超过30%，尤其是编码病毒被膜蛋白区段更为明显，故通常用测定HIV-1试剂盒，大约30%的HIV-2抗体阳性被漏检。

1. HIV的形态和结构　HIV是一种单链RNA逆转录病毒，圆球形，直径为100nm，基因组长度为9 182～9 213个核苷酸，最少也有8个基因，即gag、pol、env、sor、3′-orf、tat-3、art/trs和R基因。病毒外有双脂层膜，最具有抗原性的外壳糖蛋白gp41嵌入膜内；外膜蛋白gp120突出在膜表面。内核呈柱状，含RNA及镁离子依赖性逆转录酶。

2. HIV感染的机制　HIV侵入人体后，有选择性地侵犯T_4抗原的辅助性T淋巴细胞。由于T_4细胞在人体整个免疫反应中起重要作用，它通过淋巴因子调动和调整B细胞、浆细胞、自然杀伤细胞、T抑制淋巴细胞和巨噬细胞的功能。因此，T_4细胞的大量破坏，导致细胞免疫功能和体液免疫功能的全面崩溃。HIV也可直接感染巨噬细胞、B淋巴细胞、某些脑神经细胞、血管内皮细

胞及肠黏膜细胞。HIV 主要感染 T_4 细胞，因为 T_4 细胞膜上有 gp120 受体，HIV 与 T_4 细胞结合后，HIV 便可进入细胞内，将外壳糖蛋白残留在细胞膜上，而残留在细胞膜上的糖蛋白 gp120 可与其他未被感染的 T_4 细胞紧密结合，造成多数细胞融合，这就是 HIV 感染一个细胞能杀死 500 个以上细胞的原因。

3. HIV 的抵抗力　HIV 对外界抵抗力较弱，0.2%次氯酸钠液、0.5%甲酚(来苏儿)、0.3%过氧化氢(双氧水)、0.1%含氯石灰(漂白粉)及 50%～70%乙醇(酒精)等处理 5 分钟即可灭活；对加热较敏感，加热 60℃10 分钟，或 56℃30 分钟均能灭活；在 15～25℃室温下 HIV 稳定，经 4～7 天仅部分病毒灭活，且病毒仍能复制，不加稳定剂在－70℃冰冻即失去感染力，但在 35%山梨醇或 50%胎牛血清中－70℃可保存 3 个月以上，但对紫外线抵抗能力较强。

二、流 行 病 学

1. 流行情况　艾滋病自 1981 年由美国首次报道以来，世界各地发病率都在逐年增加，是仅次于输血后肝炎的全球性广泛传播性疾病。据 1995 年统计，全世界 HIV 感染者达 2 000 万人，AIDS 病人超过 300 万人。其中南、北美洲最多，约占总数的 55%；其次是非洲，约占 30%；欧洲约占 13%；大洋洲、亚洲合计约占 1%。

我国自 1985 年发现首例病人以来，至 1993 年 6 月已发现艾滋病病毒感染者 1 106 例，其中 917 例为居住在大陆的公民。多种迹象表明，HIV 感染在我国已进入快速传播期，易感人群也从高危人群转入普通人群。因此，加强艾滋病的检测、预防和治疗工作越来越显得重要。

2. 传播途径　人为本病的传染源，即 AIDS 病人与 HIV 携带者传染性最强。HIV 主要存在于血液和精液中，但在唾液、汗液、尿液、脑脊液、乳汁、泪液、宫颈及阴道分泌物、脑组织液、淋巴

液、骨髓、中枢神经系统和皮肤均已发现。其传播途径主要有以下几方面：

(1)性接触传播：为最常见的传播方式。男性同性恋者、妓女、嫖娼者、性乱者均属高危人群。在美国，HIV 感染者中 20%～30%为同性恋者。西方国家 70%的 HIV 感染者为男性同性恋者。在非洲和东南亚一些国家，80%以上 HIV 感染为异性性接触所致。

(2)输入血液及血液制品：亦为本病重要传播途径。目前，对 HIV 抗体的筛查，国内主要采用 ELISA(酶联免疫吸附)法，该方法简单快速，且适合大批量筛查。但该方法敏感度仅达 98%，致使抗体效价弱或刚被感染尚未产生抗体者，不能检出。尤其在某些高危人群中，血清变化被检测出来前，HIV-1 能持续存在达 36 个月。

(3)母婴传播：为本病的又一重要传播途径。HIV 抗体阳性的孕妇，其新生儿有 HIV 感染者占 30%～70%，其感染途径有 3 种：①通过胎盘的宫内感染；②分娩时的产道感染；③哺乳期通过吮乳感染。

(4)静脉毒瘾者：使用未经消毒的注射器，是静脉毒瘾者传播 AIDS 的重要途径。

(5)其他途径：移植病毒携带者的器官或人工授精亦可感染，偶有医护人员在接触病人时被输血针头刺伤或污染皮肤而感染。

三、症状与体征

1. HIV 感染隐性期　个别病人有慢性淋巴结病综合征或类传染性单核细胞增多症的症状。在感染后 2～6 周，出现类似感冒症状，有低热、出汗、乏力、头痛、咽痛、恶心、厌食、腹泻及关节肌肉痛等症状。多数病人可完全没有任何症状，$CD4^+$ 细胞正常。即所谓的隐性期，其潜伏期的长短，与受血者免疫功能、年龄、输血量及供血者血液中的 HIV 含量等因素有关。可持续 2～10 年。

2. AIDS 相关综合征期　病人有持续性淋巴结病，一定程度的 $CD4^+$ 细胞功能减弱，临床表现为过敏反应迟缓，黏膜损害（口腔白斑、白色念珠菌病）和皮肤病（皮肤单纯疱疹、带状疱疹、真菌感染）。发热、体重减轻、腹泻、疲乏、盗汗等症状，实验室检查除 HIV 抗体长期阳性外，有 $CD4^+$ 细胞数目减少，$CD4^+$ / $CD8^+$ 比例倒置。

3. AIDS 活动期　这一时期，AIDS 感染者临床症状最严重，突出表现为各种机会性感染或肿瘤。全身消耗症状十分明显。其中卡氏肺囊虫肺炎与卡波西肉瘤最常见，病人有发热，肺部、神经系统、胃肠道和皮肤黏膜均可受到病毒侵犯，出现相应的临床表现。实验室检查发现 HIV 抗体阳性，$CD4^+$ 细胞减少，$CD4^+$/$CD8^+$ 比例严重倒置，多数在 2 年内死亡。但近年发现有个别 HIV 感染者长期无症状，$CD4^+$ 细胞无明显下降，有待于进一步深入研究。

四、诊　　断

中华人民共和国卫生部公布的艾滋病临床诊断标准（1990 年）如下：

1. HIV 感染者　血清抗 HIV 抗体阳性，经确认试验（WB）复核确诊者。

2. AIDS 确诊病例

（1）艾滋病病毒抗体阳性，又具有下面任何 1 项者，可以确诊为艾滋病病人。

①近期内（3～6 个月）体重减轻 10%以上，持续发热（38℃以上）超过 1 个月者。

②近期内（3～6 个月）体重减轻 10%以上，持续腹泻（每日3～5 次）1 个月以上者。

③卡氏肺囊虫肺炎（PCP）。

④卡波西肉瘤。

⑤明显的真菌或其他条件致病菌感染。

(2)若抗体阳性、体重减轻、发热、腹泻症状接近第1项标准，且具有以下任何1项时，可为试验确诊艾滋病病人。

①$CD4^+$/$CD8^+$(辅助/抑制)淋巴细胞计数比值<1.0，$CD4^+$细胞计数减少。

②全身淋巴结肿大。

③明显的中枢神经系统占位性病变症状和体征，出现痴呆，辨别能力丧失，或运动神经功能障碍。

艾滋病与播散性肺结核关系密切，常与肝炎病毒、巨细胞病毒、疱疹病毒等感染重叠发生。

3. 实验室检查　HIV感染的实验室检查有两大类：一类是测定抗体；另一类是测定病毒。

(1)抗体检测：是诊断HIV感染的主要依据。目前检测抗体的方法主要有5种。①酶联免疫吸附法(ELISA)；②免疫荧光检测法(IFA)；③吸附免疫测定法(RIA)；④蛋白印迹检测法(WB)；⑤放射免疫沉淀法(RIR)。其中前3种方法常用于筛选试验，后2种方法常用于确认试验。

(2)测定病毒：测定HIV的方法有4种，为细胞培养分离病毒、测定病毒逆转录酶、测定病毒抗原、测定病毒核酸。此4种方法较为复杂，费用又高，目前只适用于实验室研究。

五、治　　疗

艾滋病至今尚无特殊治疗药物，齐多夫定(AZT)对艾滋病病人有减轻症状、延长寿命的作用。其作用机制是AZT在细胞内通过酶的作用与磷酸基结合，转变为只有活性的三磷酸盐，它可以抑制逆转录酶，从而阻断病毒DNA合成。但此药的毒性作用是抑制骨髓而引发贫血及神经毒性。用齐多夫定与扎西他滨(zalcitabine，hivid)联合应用，对维持重症艾滋病的T淋巴细胞功能及预防并发感染，临床效果甚佳。用阿地白介素、异丙肌苷、胸腺

肽、转移因子等可以提高机体的免疫功能。新发现一些中草药，如空心草、紫草、地丁、甘草等也有一定疗效，值得进一步开发研究。

六、预　　防

1. 深入广泛地开展宣传教育工作，使之家喻户晓，人人皆知，认识 AIDS 的传染方式及其严重危害性。

2. 大力推广公民无偿献血，保证临床用血全部来自无偿献血。

3. 临床所用血液及血液制品必须经过 HIV 抗体试验严格检测。

4. 严格掌握输血适应证，非必需时不得输用。

5. 取缔娼妓，禁止杂乱性交，严禁使用毒品。

6. 已感染 HIV 的育龄妇女，应避免妊娠，已受孕者应终止妊娠。

7. 拒绝艾滋病高危人群献血。

8. 采取入境检查措施，防止 AIDS 传入国内。

9. 禁止进口血液制品。

10. 提倡自身输血。

第二节　乙型肝炎

一、病　原　学

乙型肝炎病毒(HBV)系 DNA 病毒，是输血后常见的感染病毒之一。现已列为输血前常规检验项目。它具有双层衣壳，直径为 42nm，外壳的包膜与一般病毒相似，由双层脂质与蛋白质组成。HBV 抵抗力比 HAV 更强。对 60℃ 4 小时的高温消毒及一般消毒药不敏感；对低温、干燥、紫外线有一定的耐受性。但煮沸 20 分钟、高压、高温(121℃)15 分钟、3%含氯石灰(漂白粉)溶液、

环氧乙烷、5%次氯酸钠及0.5%过氧乙酸等均可灭活HBV。

HBV在外周血中有3种不同存在形式：

1. Dane颗粒　直径42nm的双壳球形颗粒，中心有27～30nm的致密核心，最外有8nm厚的外壳，即完整的HBV。英国学者Dane，于1970年首先描述了HBV。

2. 小球形颗粒　平均直径为22nm，是HBsAg在病人血液中最常见的存在形式。它是病毒在组装Dane颗粒过程中，游离到血液中过剩的外壳，即HBsAg。

3. 管型颗粒　直径为22nm，长度50～700nm，是一串聚合起来的小球形颗粒。

人类感染HBV后可产生3种不同抗体。即乙型肝炎表面抗体(抗HBs)、乙型抗原e抗体(抗HBe)、乙型肝炎核心抗体(抗HBc)。感染HBV后，除了血清中无游离的乙型肝炎核心抗原(HBcAg)外，一般在不同时期均可从血清中检测出其余5项血清学标志。

二、流行病学

1. 传染源　HBV的潜伏期为60～160天，无论潜伏期还是急性期病人的血清均有传染性。故传染源主要是病人或乙型肝炎表面抗原(HBsAg)携带者。HBsAg携带者一般可无任何症状，不易被察觉，比病人危害性更大。

2. 传播途径　HBV传播途径有多种，主要是输血、生活密切接触、母婴垂直传播、污染的注射器及针头。其他如：皮肤的微损伤、唾液、蚊子叮咬以及公用的剃刀、牙刷等也可能被污感染上HBV。

三、临床表现

HBV与HAV除有共同症状外，还有血清病样表现，如皮疹、关节酸痛及黄疸等，查体可发现肝大，有压痛，个别也可有脾大及

淋巴结肿大；一部分病人无明显症状，仅在普查时被发现，主要表现为血清丙氨酸转氨酶(ALT)即谷丙转氨酶(SGPT)升高或肝脾大。典型的 HBV 感染的血清标志物出现顺序大致为：HBsAg→HBeAg→抗 HBc→抗 HBe→抗 HBs。

四、实验室检查

HBV 主要是通过输血传播，临床确诊主要依靠实验室的检测报告。检查乙型肝炎抗原、抗体是目前诊断病人，筛选献血员及流行病学调查的重要手段。国内主要用 ELISA 法检测血清中 HBsAg、HBeAg、HBcAg 及其相应的抗体。早期感染者血清中的 HBsAg 含量低，有的输血后 HBV 的潜伏期为 14～180 天，这时一般方法不易检出，因此可能造成漏检。另外，市场上诊断试剂品种繁多，有的诊断试剂的敏感性不够，也可造成漏检。故选择灵敏度高的试剂对检测 HBV 尤为重要。有学者认为，抗 HBcIgG 是既往感染的重要标志，而众多学者认为抗 HBcIgM 的检测对 HBV 的诊断分期十分重要。因此，有条件应开展抗 HBcIgM 抗体的检测。因为抗 HBcIgM 是大多数 HBV 感染急性期首先产生的抗体，且可持续数月至 1 年。如果该抗体持续阳性，则与疾病的迁延性或慢性活动性以及病毒持续复制有关。

五、血清学检查的意义

用 ELISA 法全标记免疫层析等方法，检查 HBV 抗原与抗体，对 HBV 的诊断、预防、流行病学调查及献血员的筛选有非常重要的意义。HBV 特异血清标志物主要有 HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBcIgG 和抗 HBcIgM 各标志物阳性的临床意义见表 12-1。

表 12-1 HBV 血清学标志物的临床意义

感染模式	HBsAg	HBeAg	抗 HBc		抗 HBe	抗 HBs	临床意义
			IgM	IgG			
1	+	−	−	−	−	−	急性乙肝潜伏后期、携带者
2	+	+	−	−	−	−	急性乙肝早期或潜伏期
3	+	+	+	−	−	−	急性乙肝早期
4	+	±	+	+	−	−	急性乙肝后期
5	+	±	±	−	−	−	急性或慢性乙肝,有 HBV 复制
6	+	+	±	±	+	−	急性或慢性乙肝
7	+	−	±	+	+	−	急性期或无症状携带者,HBeAg 阴性慢性乙肝
8	+	−	−	−	+	−	慢性乙肝,无或低度 HBV 复制
9	−	−	−	+	−	+	乙肝恢复期,既往感染,隐匿性慢性乙肝
10	−	−	−	−	−	+	接种过乙肝疫苗

六、预　　防

1. 采用敏感性高的方法和试剂,对采血前后的血液,进行 ALT 和 HBsAg 检测,防止不合格的血液输入病人体内。

2. 对抗 HBs 阴性的供血者注射乙肝疫苗免疫。

3. 对长期反复接受输血者,进行乙肝疫苗全程免疫,即在 0、

1、6 个月各肌注 20μg，以防 HBV 的传染。

4. 对血液及血液制品进行灭活处理，未经灭活处理的一律不得临床使用。

5. 使用一次性注射器、采血器、输血器和输液器。

6. 严格掌握输血的适应证。

7. 提倡自身输血或成分输血。

8. 对 HBsAg 阳性血及其污染物进行妥善处理，彻底灭活病毒。

9. 必要时用 PCR 检测献血者 HBV-DNA。因 PCR 敏感性比 ELISA 约高 10%。

第三节　丙型肝炎

1989 年美国的 Chiron 公司，从受染的黑猩猩的血液标本中克隆了丙型肝炎病毒(HCV)，并研制出检测抗丙型肝炎病毒抗体的放射免疫试验(RIA)和 ELISA 试验的试剂。为丙型肝炎的研究开辟了全新的领域。

国内学者孙永德等应用抗 HCV 检测试剂，调查了 1985 年 9～10 月在河北省固安县单采血浆献血者中暴发的一次输血后肝炎所收集的标本，在 65 名献血中有 26 名发病，患病率为 40%。这些献血者的标本于 1989 年用美国 ChironC-100 酶联试剂检测，从 26 名发病者中检出 25 名抗 HCV 阳性者，这是我国对 HCV 病例的首次报道。

一、病　原　学

大量研究资料证明：HCV 是一种与 Fiavivirdae 病毒组中的黄病毒属和温病毒属关系密切的 RNA 病毒；HCV 出现在被感染的病人血浆中，浓度极低，用 RT-PCR 定性实验检测低限为 100～1 000RNA 拷贝，HCV 在肝细胞内复制，可引起平滑膜增生而形

成管状结构；HCV 可通过 80nm 滤膜，但不能通过 30nm 滤膜，因此推测其直径为 50～60nm；对有机溶剂敏感，提示 HCV 含有脂类的衣膜；其最低沉降系数为 140s，在蔗糖中密度为 1.09～1.11g/ml；对氯仿、甲醛溶液（福尔马林）、β-丙酰内酯、聚山梨醇 80（TWeen80）和紫外线均敏感。

HCV 的抵抗力不太强，加热 60℃10 分钟；或 100℃10 小时；或紫外线照射，即可失去传染性。

二、流行病学

1. 流行状况　丙型肝炎呈世界性分布，大量资料证明，大部分输血后肝炎与 HCV 有关，HCV 输入人体后发生肝炎的比例惊人，在西班牙为 90%，德国 79%，日本 78%，美国 79%。1991 年中国医学科学院输血研究所与北京血液中心、南京血液中心、阜外医院、无锡血站联合调查，北京与无锡地区献血者抗 HCV 流行率在 1%以下，北京地区也较低。但河北省部分地区，HCV 流行率高达 35.8%，甚至 65.8%，这可能与短时间内频繁献血，血液检测不严格及采血器具消毒不严格有关。国内正常人群中检 HCV 阳性率为 1.35%。

2. 传染源　主要是 HCV 感染者和 HCV 病人。

3. 传播途径　主要途径为临床输血及血液制品。还可以通过唾液、尿液、汗液、精液等传播。所以 HCV 可经多条途径传播。如手术、注射、肾透析及其他医源性交叉感染；性接触，尤其有多个性伴侣者；母婴垂直传播；日常密切接触；器官或骨髓移植等均可造成传播。

三、临床特点

输血后 HCV 感染潜伏期为 2～16 周，平均为 7.4 周。75%的感染者无临床症状，成为长期 HCV 携带者。急性 HCV 病人一般临床表现较轻，仅有乏力、纳差、腹泻、ALT 升高，抗 HCV 阳

性，HCV-RNA 阳性。一部分病人 1～3 个月症状消失，ALT 恢复正常，HCV-RNA 转阴，抗 HCV 效价减弱。50%～60%在 1 年内抗 HCV 抗体消失，可自行康复。

一般认为 HCV 感染后约 10 年可发展为慢性肝炎，发展为肝硬化平均需 20 年，发展为原发性肝癌平均需 30 年。个别也可不通过肝硬化而直接由慢性肝炎转化为原发性肝癌。

四、实验室检查

目前对 HCV 特异性检测方法有：ELISA 法、血凝法、放射免疫法、蛋白印迹法、PCR 法等。

1. ELISA 法　该方法最早由美国 Chiron 公司研究成功。1990 年国内生产出第 1 代抗 HCV 抗体诊断试剂，成为 HCV 主要的诊断试剂，现在已发展到第 3 代试剂，使检出率由 69%提高到 95%。该方法操作简便，灵敏度高，特异性强，且便于大规范检测。故现在国内以 ELISA 法作为 HCV 检测的首选方法。但由于 HCV 感染者早期抗体尚未产生，或抗体一过性、间歇性出现而不易检出。可使上述这些抗体漏检，出现假阴性结果。

2. 聚合酶链反应技术　聚合酶链反应，英文为 poiymerase chain redction，缩写为 PCR，于 1983 年创建。它对病毒核酸和基因疾病的检测，是目前最理想的方法。该方法在体外将研究的某个目的基因或某一 DNA 片段在数小时内迅速扩增几百万至几千万倍。PCR 检测 HCV-RNA 目前被认为是确定 HCV 感染最敏感的方法。因此，PCR 可用于 HCV 的早期诊断和供血者筛查，同时还可鉴别活动性 HCV 感染或既往感染。前者表现 HCV-RNA 和 HCV 抗体均为阳性，后者仅 HCV 抗体阳性，而 HCV-RNA 为阴性。此外，还可判断预后情况。但由于试剂及设备昂贵，操作技术复杂，目前该项技术在国内基层医疗单位尚未普及。

3. 蛋白印迹试验　该方法是 20 世纪 70 年代中后期出现并迅速发展起来的一组生物化学实验技术，现已广泛应用于 DNA、

RNA、蛋白质抗原抗体等生物分子的研究。它的原理是将凝胶电泳和固相免疫这2种方法通过免疫转印结合起来。目前已把抗HCV抗体蛋白印迹试验作为HCV抗体的确认试验。由于HCV各片段抗体出现和持续时间不等，通常C_{22}、C_{33}-c抗体出现最早，抗C其次，NS_1及NS_4抗体阳性率较低，也有单独出现某片段抗体者，如果将各段抗体的检测巧妙结合，可使检测的敏感性大大提高。

4. ALT检测　该法虽不是特异性试验，但对丙型肝炎的控制有十分重要的意义。

五、预　　防

1. 对供血者进行严格的抗HCV及ALT筛查工作，对个别有怀疑者，用PCR法或蛋白印迹法检测。

2. 使用一次性注射器、输血器、输液器及一次性血管介入导管。

3. 对血液或血液制品，进行严格病毒灭活处理。

4. 严格掌握输血的适应证。为避免HCV的传播，输血时应权衡利弊。

5. 工作人员在检测HCV时，要做好防护工作。

6. HCV一旦污染了工作台及工作环境，要进行彻底消毒处理。

7. 对HCV感染的性伴侣、皮肤伤口意外接触抗HCV抗体阳性血液者，应肌注免疫球蛋白，性伴侣应每2个月注射1次免疫球蛋白。

第四节　梅　　毒

梅毒是由苍白螺旋体引起的一种慢性传染病，通常称为性病。几乎可以侵犯全身所有器官和组织。并产生多种多样的症状与体

征，甚至危及生命。但有的病人却表现多年无症状，甚至终身处于潜伏状态。有的病人可以自愈，但易复发。临床上分为4期。主要通过性交感染，孕妇也可通过胎盘传给胎儿，血液也是一条重要的传播途径。

一、病 原 学

梅毒病原体系梅毒螺旋体，因其透明不易着色，故亦称苍白螺旋体。它的形状似螺旋状的纤维，体长6～20μm，宽0.15～0.25μm，螺旋体有8～20个，运动特征为弯曲移动，绕轴转动和前后伸缩运动。梅毒螺旋体属厌氧菌，在体外不易生存，煮沸、干燥和一般消毒药很容易将其灭活。加热39℃ 5小时，或40℃3小时，或60℃ 3～5分钟死亡，100℃立即死亡。4℃冷藏4天的血液仍有传染性，故主张血液在4℃冷藏5天后输注较为安全。但梅毒螺旋体在潮湿、寒冷环境有一定的耐受力。有报道在－78℃下仍可存活数年，且保持其形态、活力及毒性。所以，为输血安全，冰冻血浆及其他冰冻血液制品经病毒灭活处理后，方可输用。

二、流 行 病 学

1. *流行情况* 我国在20世纪50年代后期，梅毒几乎绝迹。进入80年代中后期，梅毒有所抬头。尤其近几年来，梅毒的发病率明显上升，并有逐年蔓延的趋势。2000年前后，青岛、贵阳、湛江、蒙城、张家界、曲靖等市，无偿献血人群中梅毒检出率为0.91%～1.2%。张万忠等报道2003～2004年，攀枝花市无偿献血者梅毒抗体阳性率为2.3%，高于国内其他地市。

2. *传播途径* 梅毒的传播主要是通过性交传播，其次是母婴垂直传播，或输入含有梅毒螺旋体的新鲜血液及新鲜血液制品。另外，对梅毒病人的检查或手术不慎污染等也可感染梅毒。

三、临床表现

梅毒分胎传梅毒和获得性梅毒2种。

1. 获得性梅毒

(1)一期梅毒:感染后3周左右出现症状,下疳大多发生在外生殖器,梅毒螺旋体侵入的部位出现一个小豆大的硬结,不久破溃成为硬下疳。传染性极强,经过4～6周,下疳自然痊愈,不留痕迹,血清反应开始呈现阳性。从而进入第二潜伏期。

(2)二期梅毒:感染后3～36个月,多种多样的梅毒疹遍布全身皮肤及黏膜。全身淋巴结肿大,有时也累及骨关节、眼及其他器官,并出现梅毒性脱发。病人几乎没有自觉症状,数日或数周可自愈,但易复发。

(3)三期梅毒:感染后3～5年进入第三期。此期损害不仅只限于皮肤黏膜,并可侵犯任何内脏器官和组织,出现梅毒性结节和梅毒性象皮肿。二者均可破溃,形成溃疡,表面出现脂肪脓苔。

(4)四期病毒:感染后10～15年,可引起心血管及中枢神经系统病变,导致动脉瘤、脊髓结核或全身麻痹等。此期病程长,破坏性大,可危及生命。

2. 胎传梅毒　胎传梅毒分为早期和晚期胎传梅毒。早期胎传梅毒在出生后3个月内发病,有传染性,不发生硬下疳,可有淋巴结肿大、梅毒性鼻炎、骨软骨炎、先天性耳聋等,也可有甲周炎、脱发等。晚期胎传梅毒表现大致与三期梅毒相似。

四、实验室检查

梅毒螺旋体虽然早已被发现,但目前实验室诊断主要靠血清试验和在损伤部分直接采取标本检查梅毒螺旋体。

1. 梅毒螺旋体检查　最适用于一期梅毒或二期梅毒。

(1)暗视野显微镜检查:用玻片在皮损处刮取组织渗出液或取淋巴结穿刺液,显微镜下可见梅毒螺旋体。

(2)免疫荧光染色:染色后,在荧光显微镜下可见绿色的梅毒螺旋体。

(3)活体组织检查:如用银染法或荧光抗体染色,可见梅毒螺旋体,呈黑褐色,有螺旋结构,位于真皮毛细血管周围。

2. 梅毒血清学试验　梅毒螺旋体侵入人体5～15天,病人体内即产生2种抗体:一种是IgM、IgG抗体,即特异性抗苍白螺旋体抗体;另一种称为非特异性抗体,是螺旋体破坏身体组织过程中所释放物质引起的抗体。目前常用的梅毒血清学试验有以下几种:

(1)不加热血清反应素试验(USR);

(2)快速血浆反应素试验(RPR);

(3)梅毒螺旋体血凝试验(TPHA);

(4)荧光螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS);

(5)明胶凝集试验(TPPA);

(6)蛋白印迹试验(WB);

(7)酶联免疫吸附试验(ELISA);

(8)聚合酶链反应(PCR);

(9)金标法。

目前检测梅毒抗体的ELISA法及金标法,已在国内基层医院广泛开展。因其灵敏度高,特异性强,操作简单,具有批量检测的优势。在遇特殊病例时,也可采用PCR技术检测,因PCR技术检测结果最理想。

五、诊　　断

1. 诊断依据　根据典型的临床症状、体征和病史。

2. 检查梅毒螺旋体　一期至二期梅毒为最佳取材时间。取皮肤破损处的渗出物,涂片染色检查,选用暗视野法、荧光抗体法及墨汁法直接寻找梅毒螺旋体。

3. 梅毒血清学检查　用金标法、ELISA法、PCR技术等。

六、治　　疗

梅毒诊断一旦确定，立即进行正规治疗，治疗剂量要足，以免再感染他人或复发进入晚期。治疗后要经过足够时间的追踪随访。对其性伴侣应同时检查治疗，治疗期间禁止性交。治疗目的是使二期以前的梅毒病人迅速失去传染性，并达到治愈。三期梅毒治疗效果欠佳，可遗留一些后遗症。

治疗药物以青霉素为主，用量及方法可根据病程分期不同而异。对青霉素过敏或无效者，可用红霉素、四环素或多西环素等，用红霉素的剂量为每日4次，每次0.5g，20天为1个疗程。

1. 对献血者献血前的血样及其所献血液严格检测梅毒抗体。

2. 避免输用新鲜血液及其制品，最好输4℃冷藏5天以后的血液。

3. 加强宣传教育，提高梅毒预防知识和自我保护意识，严禁性乱现象。

（张军良　李晓鸿　杨华莹）

第13章　输血相关疾病的检测

第一节　乙型肝炎血清学标记物的检测

一、乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)检测

(一)酶联免疫法(ELISA)

1. 标本要求　静脉采血2～3ml,常规分离血清后,2～8℃保存1周。

2. 原理　微孔板条上预包被纯化乙肝表面抗体(抗HBs),配以酶标记抗体(抗HBs-HRP)及TMB等其他试剂,采用夹心法原理检测人血清或血浆中的乙肝表面抗原(HBsAg)。

3. 试剂及配套品

(1)包被板条。

(2)阴性对照。

(3)阳性对照。

(4)酶标记物。

(5)底物液A。

(6)底物液B。

(7)终止液。

(8)浓缩洗涤液。

(9)封板膜。

(10)自封袋。

4. 操作步骤

(1)配制洗涤液:用蒸馏水或去离子水将浓缩洗涤液1∶25稀释至500ml备用。

(2)加样:设空白对照1孔,阴、阳性对照各2孔。分别加阴性、阳性对照各50μl(1滴)和50μl待测样本于相应孔内。

(3)加酶:除空白对照孔外,每孔加50μl(1滴)酶标记物,轻轻振荡混匀,用封板膜将板孔封好。

(4)温育:置37℃水浴30分钟。

(5)洗涤,手工:扣去孔内液体,洗涤液注满各孔,静置20秒,甩干,重复4次后拍干。洗板机:选择4次洗涤程序,洗板后拍干。

(6)显色:每孔加底物液A、B各50μl(1滴),轻轻振荡混匀后,置37℃避光显色15分钟。

(7)测定:每孔加终止液50μl(1滴),轻拍混匀,用酶标仪单波长450nm或双波长450nm/630nm测定各孔OD值(在30分钟内完成测定;用单波长测定时需将空白对照孔调零)。

5. 结果判断

(1)临界值(C. O.)=2.1×阴性对照OD均值(阴性对照OD值<0.05时,以0.05计算)。

(2)结果判断,样本OD值S/C. O.≥1者判为HBsAg阳性;反之,判为HBsAg阴性 。

6. 注意事项

(1)试剂及待测样本用前先放室温平衡30分钟左右,未用完的板条应及时封存于加有干燥剂的自封袋中。

(2)含血细胞的标本易出现假阳性,应尽量避免使用。

(3)滴加试剂前,应将滴瓶翻转数次混匀,滴加时瓶身应保持垂直并匀速加样。

(4)洗涤要充分,各孔均须加满,防止孔口内游离酶不能洗净,若浓缩洗涤液出现结晶,可于37℃放置至溶解。

(5)所有样本和废弃物都应按传染源处理。

(6)不同批号的试剂不可混用。

7. 贮存条件和有效期

(1)贮存条件:在 2～8℃保存。

(2)有效期:12 个月。

(二)全血金标法

1. 标本要求　常规采集末梢血(指血或耳血)。

2. 原理　乙型肝炎病毒表面抗原全血金标试纸条采用胶体金免疫技术,在玻璃纤维膜上预加入 Au-单抗-HBs 结合物,在硝酸纤维膜上分别包被多抗 HBs(检测线)和抗鼠 IgG 抗体(对照线)。当进行检测时,样本膜只允许血清通过,可阻止血细胞的渗透。若为阳性标本,血清中 HbsAg 可与 Au-单抗-HBs 结合形成复合物,由于层析作用,此复合物沿纸条向前移动,则与检测线上包被的抗体结合形成 Au-单抗-HBs-HBsAg-多抗-HBs 复合物而凝聚显色。

3. 操作步骤

(1)将装有金标试纸条的密封桶打开,取出所需试纸条后,立即关好密封桶;

(2)将取出后的试纸条放在水平工作台上平置,并做好标本标记;

(3)用灭菌一次性采血针刺被测人员手指末端,随后用毛细管吸取 40μl 新鲜全血标本(血清或血浆则 80μl)滴于试纸条箭头指示加样处;

(4)立即在加样处加 40～50μl(或 1 滴)稀释液(标本为血清或血浆则无须滴加稀释液);

(5)观察并记录实验结果。

4. 结果判断　见图 13-1。

若为强阳性标本,则在几分钟即可判断结果;若为弱阳性标本,则须 30 分钟内观察结果有效。

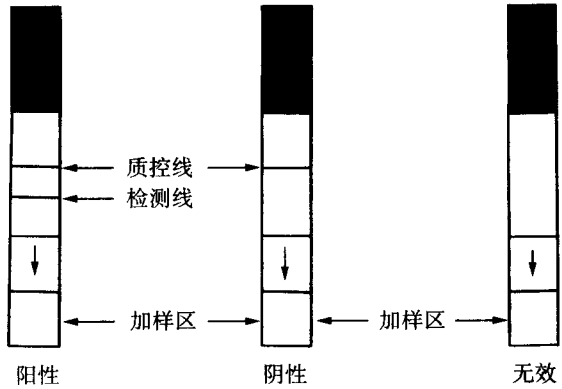


图 13-1 HBsAg 金标法结果判断示意图

(1)阳性结果:金标试纸条在检测线和对照线位置上各出现一条紫红线。

(2)阴性结果:金标试纸条只在对照线位置上出现一条紫红线。

(3)无效结果:金标试纸条未出现紫红线。

二、乙型肝炎病毒表面抗体(抗 HBs)检测

(一)酶联免疫法(ELISA)

1. 原理

在微孔板条上预包被纯化的乙肝表面抗原(HBsAg),配以酶标记抗原(HbsAg-HRP)及 TMB 等其他试剂,采用夹心法原理检测人血清或血浆中的乙肝表面抗体(抗 HBs)。

2. 试剂组成、操作步骤同本节酶联免疫法

3. 结果判断

(1)临界值(C. O.)= 2.1×阴性对照 OD 均值(阴性对照 OD 值小于 0.05 时,以 0.05 计算)。

(2)结果判断:样本 OD 值 S/C. O. ≥1 者判为抗 HBs 阳性;

反之，判为抗 HBs 阴性 。

(二)全血金标法

操作步骤、结果判断同 HBsAg 金标法。

三、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)检测

(一)酶联免疫法(ELISA)

1. 原理

在微孔板条上预包被纯化的乙肝 e 抗体(抗 HBe)，配以酶标记抗体(抗 HBe-HRP)及 TMB 等其他试剂，采用夹心法原理检测人血清或血浆中的乙肝 e 抗原(HBeAg)。

2. 试剂组成、操作步骤同本节酶联免疫法

3. 结果判断

(1)临界值(C. O.)= 2.1×阴性对照 OD 均值(阴性对照 OD 值小于 0.05 时，以 0.05 计算)。

(2)结果判断：样本 OD 值 S/C. O. ≥1 者判为 HBeAg 阳性；反之，判为 HBeAg 阴性 。

(二)全血金标法

操作步骤、结果判断同 HBsAg 金标法。

四、乙型肝炎病毒 e 抗体(抗 HBe)检测

(一)酶联免疫法(ELISA)

1. 原理

在微孔板条上预包被纯化的乙肝 e 抗体，配以中和抗原和酶标记抗体及 TMB 等其他试剂，采用中和抑制法原理检测人血清或血浆中的乙肝 e 抗体(抗 HBe)。

2. 结果判断

(1)对血清样本临界值(C. O.)= 0.3×阴性对照 OD 均值；对非血清样本临界值(C. O.)= 0.5×阴性对照 OD 均值(阴性对照 OD 值大于 1.5 时，以 1.5 计算)。

(2)结果判断:样本 OD 值 S/C. O. ≥1 者判为抗 HBe 阴性;反之,判为抗 HBe 阳性。

(二)全血金标法

操作步骤结果、判断同 HBsAg 金标法。

五、乙型肝炎病毒核心抗体(抗 HBc)检测

(一)酶联免疫法(ELISA)

1. 原理　在微孔板条上预包被纯化的乙肝核心抗原(HBcAg),配以酶标记抗体(抗 HBc-HRP)及 TMB 等其他试剂,采用竞争法原理检测人血清或血浆中的乙肝核心抗体(抗 HBc)。

2. 结果判定

(1)临界值(C. O.)= 0.3×阴性对照 OD 均值(阴性对照 OD 值大于 1.5 时,以 1.5 计算)。

(2)结果判定:样本 OD 值 S/C. O. ≥1 者判为抗 HBc 阴性;反之,判为抗 HBc 阳性。

(二)全血金标法

操作步骤、结果判断同 HBsAg 金标法。

六、乙肝病毒核酸(HBV DNA)的 PCR 测定

(一)标本要求

1. 采集　适用于血清或血浆样本。采集血清样本时,取被检者静脉血。用无菌注射针头抽取 2ml,收集于无菌离心管中,室温放置不超过 4 小时,1 600×g 离心 20 分钟,吸取血清(切勿吸入红细胞)转入另一无菌离心管中备用;采集血浆样本时,无菌注射针头采 2ml 静脉血于含有 EDTA 作为抗凝剂的无菌离心管中(不可用肝素抗凝),室温放置不应超过 4 小时,室温 1 600×g 离心 20 分钟,分离血浆转入无菌离心管中备用。

2. 存放　待测血清或血浆在 2～8℃保存不应超过 72 小时;－20℃保存不超过 3 个月,－70℃以下长期保存。应避免反复

冻融。

3. 运输　采用水壶加冰或泡沫箱加冰密封进行运输。

(二)仪器

1. STRATAGENE MX3000P/3005P。
2. BIO-RAD iCycler 荧光 PCR 检测仪。
3. Roche LighCycler 荧光 PCR 检测仪。
4. PE Gene Amp 5700/7700 荧光 PCR 检测仪。

(三)试剂盒组成

深圳匹基生物工程有限公司产品　96tests/盒

试剂盒组成成分 96tests/盒	40μl 体系	20μl 体系
样本处理试剂		
DNA 提取液 1	15ml×2 管	5ml×2 管
DNA 提取液 2	1.3ml×2 管	1.3ml×2 管
核酸扩增试剂		
PCR 反应液	1ml×4 管	1ml×2 管
Taq 酶(5U/μl)	40μl×1 管	20μl×1 管
UNG(1U/μl)	10μl×1 管	5μl×1 管
内标	200μl×1 管	200μl×1 管
对照品		
阴性对照(0 copies/ml,内标 Ct 值≤33)		200μl×1 管
		200μl×1 管
强阳性对照($1\times10^5\sim1\times10^7$ copies/ml		200μl×1 管
内标 Ct 值≤36)		200μl×1 管
临界阳性对照($1\times10^3\sim9\times10^4$ copies/ml		200μl×1 管
内标 Ct 值≤36)		200μl×1 管
阳性工作校准品		
阳性工作校准品 1:$(1\sim5)\times10^7$ copies/ml		15μl×1 管
		15μl×1 管
阳性工作校准品 2:$(1\sim5)\times10^5$ copies/ml		15μl×1 管

	15μl×1 管
阳性工作校准品 3:(1～5)×10^4 copies/ml	15μl×1 管
	15μl×1 管
阳性工作校准品 4:(1～5)×10^3 copies/ml	15μl×1 管
	15μl×1 管

(四)操作步骤

1. 样本处理(样本处理区) 取待测样本血清或血浆以及试剂盒中的对照品 100μl,分别加入到 0.5ml 离心管中;加入 100μl DNA 提取液 1,振荡混匀,13 000r/min 离心 10 分钟,吸弃上清(离心时注意固定离心管方向、尽可能吸弃上清液且不碰沉淀);再加入 25μl DNA 提取液 2,振荡 10 秒(沉淀无需打散、混匀),100℃干浴或沸水浴 10 分钟,13 000r/min 离心 10 分钟,保留上清。如果样本裂解产物当天不使用,则要保存在－20℃。

2. 核酸扩增

(1)试剂配制(PCR 前准备区):从试剂盒中取出各管试剂,稍后离心。设所需要的管数为 n[n=样本数+2 管阴性对照+1 管强阳性对照+1 管临界阳性对照+4 管阳性工作校准品(定性检测无需做阳性工作校准品)],每个测试(tests)反应体系配制见表 13-1。

表 13-1 每个测试反应体系配制表

反应体系	荧光 PCR 检测仪	PCR 反应液	Taq 酶	UNG	内标
40μl	PE Gene Amp 7700、BIO-RAD iCyclel 等	35.6μl	0.4μl	0.06ul	2μl
20μl	Roche LightCycycler、Rotor-Gene 等	16.8μl	0.2μl	0.03μl	1μl

计算好各试剂的使用量,加入一适当体积试管中,充分混合均匀,向设定的 n 个 PCR 反应管中分别加入 38μl(20μl 体系加入 18μl),转移至样本处理区。

(2)加样(样本处理区):如果样本裂解产物保存在－20℃,使用前置室温解冻,12 000r/min 离心 5 分钟。在所设定的 n 个反应

管中分别加入步骤1中处理过的样本、阴性对照、强阳性对照和临界阳性对照上清液以及阳性工作校准品(定性检测无需做阳性工作校准品)各2μl,盖紧PCR反应管管盖(使用Roche毛细管连同Roche专用金属套管放在离心机中,于4 000r/min离心5秒),转移至检测区,置于定量PCR仪上。

(3) PCR扩增(检测区)

① 循环条件设置

a. 使用PE Gene Amp 7700荧光PCR检测仪时循环程序设置为37℃:3分钟;94℃:1分钟;95℃:5秒;60℃:30秒,40个循环。反应体系为40μl。阳性工作校准品的拷贝数可在扩增之前设定也可在结果分析时设定。

b. 使用Bio-Rad iCycler荧光PCR检测仪时循环程序设置为37℃:3分钟;94℃:1分钟;95℃:5秒;60℃:30秒,42个循环。反应体系为40μl。应在扩增开始前样本设定时,将阳性工作校准品设为"STND"并输入拷贝数,待检样本和对照品设定为"UNKN"。

c. 使用Rioche LightCycler荧光PCR检测仪时循环程序设置为37℃:3分钟;92℃:1分钟;92℃:2秒;55℃:20秒;72℃:10秒,40个循环。应在扩增开始前样本设定时,将阳性工作校准品设为"STND"并输入拷贝数,待检样本和对照品设定为"UNKN"。

②仪器检测通道选择:使用PEGene Amp 7700和Bio-Rad iCycler荧光PCR检测时;外标选择Fam;内标选择Tet。荧光信号收集设在60℃。使用Roche LightCycler荧光PCR检测仪时:外标和内标分别选择F1和F2通道或F2和F3通道(具体见试剂盒说明书)。在55℃时荧光信号收集方式设为"SINGLE"。具体设置方法请参照仪器使用说明书。

(五)结果分析条件设定

1. 使用PE Gene Amp 7700荧光PCR检测仪进行结果分析时基线(base line)的确定;取3~10或3~15个循环的荧光信号。外标阈值(threshold)设定原则以基线刚好超过正常阴性对照品

扩增曲线的最高点，且拷贝数＝0 copies/ml；内标阈值设定原则以正常阴性对照品 Ct 值≤33 为准。

2. 使用 Bio-Rad iCycler 进行结果分析时，基线取为 2～10 或 2～15 个循环的荧光信号，阈值可根据仪器噪声情况调整。外标阈值(threshold)设定原则以基线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点，且拷贝数＝0 copies/ml 为准；内标阈值设定原则以正常阴性对照品 Ct 值≤33 为准。

3. 使用 Roche LightCycler 进行结果分析时，用荧光计数值 F1 或 F3 读取外标结果，基线设定原则以刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点，且 Ct 值不出现任何数值为准；用荧光计数值 F2 读取内标结果，基线设定原则以正常阴性对照品 Ct 值≤33 为准。

(六)检测质控标准

1. 定性

①阴性对照外标 Ct 值为 40(PE-7700)、0(iCycler)和无数值(LightCycler)；

②临界阳性对照外标 Ct 值大于强阳性的对照外标 Ct 值，并≤38；

③强阳性对照外标 Ct 值应≤30；

④以上各对照品的内标 Ct 值均应≤36，否则试验视为无效。

2. 定量

①阴性对照 HBV DNA 拷贝数应为 0 copies/ml；

②强阳性对照 HBV DNA 拷贝数应为 $1\times10^5\sim1\times10^7$ copies/ml；

③临界阳性对照 HBV DNA 拷贝数应为 $1\times10^3\sim9\times10^4$ copies/ml；

④以上各对照品的内标 Ct 值均应≤36，否则试验视为无效；

⑤将阳性工作校准品 1～4 的拷贝浓度输入，仪器将自动以阳性工作校准品拷贝浓度的对数值为横坐标，以其实际测得的外标

Ct 值为纵坐标给出标准曲线，标准曲线的拟合度应≤0.980，否则视为定量结果无效。

(七)结果判断

1. 定性结果判断

①检测样本外标 Ct 值<38 时，报告为阳性；

②检测样本外标 Ct 值为 40(PE-7700)、0(iCycler)和无数值(LightCycler)且内标 Ct 值≤36 时，报告为阴性；

③检测样本外标 Ct 值＝40(PE-7700)、0(iCycler)或无数值(LightCycler)且内标 Ct 值>36 者，应将该血清样本用正常人血清做 10 倍稀释后重新测定，测定后外标 Ct 值<38 者，报告为阳性；

④检测外标 Ct 值≥38 且小于 40 的样本建议复检(其中内标 Ct 值>36 的样本用正常人血清做 10 倍稀释后测定)，复检结果外标 Ct 值<40(icycler 上 Ct 值＝0 及 LightCycler 上 Ct 值＝无数值均不属此范围)者均报告为阳性。

2. 定量结果判断

①检测样本中 5×10^2 copies/ml ≤ HBV DNA ≤ 5×10^7 copies/ml，且内标 Ct 值≤36 时(icycler 上 Ct 值＝0 及 LightCycler 上 Ct 值＝无数值均不属此范围)，测定结果有效，可直接报告相应的拷贝数；

②检测样本中 HBV DNA>5×10^2 copies/ml，且内标 Ct 值≤36 时(icycler 上 Ct 值＝0 及 LightCycler 上 Ct 值＝无数值均属此范围)，既可直接报告为>5×10^7 copies/ml，也可用正常人血清按 10 倍梯度做相应稀释，使其拷贝数落在 1×10^5～5×10^7 copies/ml 范围再重新测定，测定结果应以稀释倍数进行校正；

③内标 Ct 值>36(icycler 上 Ct 值＝0 及 LightCycler 上 Ct 值＝无数值均不属此范围)的未知样本，用正常人血清稀释 10 倍后重新测定，直到内标值落在正常范围为止，测定结果以稀释倍数进行校正；

④检测样本 HBV DNA>5×10^2 copies/ml 时，拷贝数仅供参考，报告为<最低检出限。

⑤检测样本 HBV DNA = 0 copies/ml 时，报告为 0 copies/ml。

(八)结果分析注意事项

1. 在用 PE7700/Bio-Rad iCycler 进行分析的过程中，为避免强阳性样本的定量结果不准确，应首先将基线定为 3～10/2～10 个循环的荧光信号观察分析 Ct 值，如果没有 Ct 值<16 的样本，则将基线定为 3～15/2～15 个循环的荧光信号进行结果分析；如有 Ct 值<16 的样本，则应将该样本剔除此次结果分析，同时仍将基线改定为 3～15/2～15 个循环的荧光信号进行结果分析；Ct 值<16 的样本应单独进行分析。

2. 在循环结束后仍检测不到样本的扩增，在各种荧光 PCR 检测仪上 Ct 值(检测样本荧光强度达到阈值需要的循环次数)和定量结果拷贝数各有不同显示；PE-7700 上 Ct 值显示为 40.00，检测报告中拷贝数栏无任何数值；Bio-Rad iCycler 上 Ct 值显示为 0.00，检测报告中不显示该样本的任何信息；Roche LightCycler 上 Ct 值不显示任何数值，检测报告中只显示该样本编号，而不显示 Ct 值和拷贝数。

第二节 丙型肝炎抗体(HCV)检测

一、酶联免疫法(ELISA)

(一)标本采集与保存

血清标本按常规方法由静脉采集。血浆标本可采用常规用量的肝素或枸橼酸钠抗凝。5 天内测定的标本可放置 4℃保存。标本放置在－20℃至少可保存 3 个月。标本避免溶血或反复冻融。浑浊或有沉淀的标本应离心或过滤澄清后再检测。需要保存的血

清在采集、保存过程中应注意无菌操作。

(二)原理

采用基因工程重组表达的丙肝病毒特异性抗原(Core、E2、NS3、NS4、NS5)包被酶联板,辣根过氧化物酶(HRP)标记的鼠抗人 IgG(抗 γ 链)单克隆抗体为标记物,TMB 显色系统,间接 ELISA 方法检测人血清或血浆中的丙肝病毒 IgG 抗体。适用于辅助丙型肝炎和筛查丙型肝炎病毒感染者。具有灵敏度高、特异性强、操作简便、加样变色、反应快速、反应模式好、重复性好等优点。

(三)试剂及配套品

1. 标本稀释液　1 瓶(12ml)。
2. 阴性对照　1 瓶(1ml)。
3. 阳性对照　1 瓶(1ml)。
4. 浓缩洗液(20×)　1 瓶(50ml)。
5. 酶结合物　1 瓶(12ml)。
6. 底物液 A　1 瓶(6ml)。
7. 底物液 B　1 瓶(6ml)。
8. 终止液　1 瓶(6ml)。
9. 塑封袋　1 个。
10. 封板膜　3 贴。

(四)操作步骤

1. 平衡　将试剂盒从冷藏环境中取出,置室温平衡 30 分钟后使用。

2. 配液　将浓缩洗液用蒸馏水或去离子水 1∶20 倍稀释备用。

3. 设定　留 1 孔作空白对照,暂不加任何液体,另设阴性对照 3 孔、阳性对照 2 孔,不加标本稀释液,直接加 100μl 对照血清。

4. 加样　在其他反应孔中各加标本稀释液 100μl,按顺序各加入待检标本 10μl,加样时吹打混匀则变色效果更佳。

5. 温育　在反应板上加盖封板膜，振荡混匀，置37℃温箱或水浴锅中，反应20分钟。

6. 洗板　弃去反应液，每孔加入稀释后的洗液300μl，浸泡15秒，甩弃洗液。连续洗板5次，最后拍干。

7. 加酶　每孔加入100μl酶结合物(空白对照孔不加)。

8. 温育　在反应板上加盖封板膜，置37℃温箱或水浴锅中，反应20分钟。

9. 洗板　洗板5次，同操作步骤6。

10. 显色　每孔依次加入底物A、B液各50μl(包括空白对照孔)，加盖封板膜，振荡混匀，37℃避光显色10分钟。

11. 终止　每孔加入终止液各50μl(包括空白对照孔)，振荡混匀终止反应。

12. 测定　用空白对照孔调零，并尽快用酶标仪单波长450nm测定各孔OD值。也可用双波长450nm/(630～690)nm测定各孔OD值。

(五)结果判断

1. 临界值(cut-off值)计算　临界值＝0.10＋阴性对照OD平均值(阴性对照OD平均值≤0.05按0.05计算)。

2. 结果判定　①测定标本OD值≥临界值时为抗HCV-IgG抗体阳性；②测定标本OD值＜临界值时为抗HCV-IgG抗体阴性。

(六)注意事项

1. 检测标本尽量避免反复冻融、溶血或长菌，否则可能影响检测结果。

2. 不同批号、不同品种试剂不能混用；封板膜不能重复使用。

3. 各种试剂使用前要混匀，部分溶液(如洗液等)如有结晶析出，轻微加热或摇匀溶解后不影响使用。

4. 请严格按说明书操作，严格控制反应时间和反应温度，各种反应液均需用加液器加注，并经常校对其准确性。

5. 反应板开封后不能一次用完时，将剩余板条和干燥剂同时放入塑料袋内封好，置 2～8℃可短期保存。

6. 所有标本、废液、阳性对照等均按传染性污染物处理（对照血清已进行灭活处理），121℃高压蒸汽灭菌 30 分钟或用 5.0g/L 次氯酸钠等消毒药处理 30 分钟后废弃。

（七）贮存条件及有效期

1. 贮存条件：2～8℃存放；

2. 有效期：12 个月。

二、丙型肝炎病毒抗体（抗-HCV）检测试条

丙型肝炎是由丙型肝炎病毒感染人体而引起。丙型肝炎病毒侵入人体后，产生特异性的抗丙型肝炎病毒抗体，因此临床上将丙型肝炎抗体的检测，作为丙型肝炎的最重要的诊断依据。

（一）标本采集

采取静脉血于干净未加抗凝剂的容器内，静置使血液凝固，分离血清备用于检测。如不能及时检测可将血清置于冰箱内冷冻或冷藏。检测前应复温并混匀，避免反复冻融标本。

（二）原理

本测试条采用双抗原夹心法测定原理快速检测血清中的抗丙型肝炎病毒抗体。纯化的基因重组丙型肝炎病毒抗原可特异地识别抗丙型肝炎病毒抗体，本品具有敏感、快速、简便等特点，可肉眼观察检测结果。

（三）试剂及配套品

1. 潍坊康华生物技术有限公司产品。

2. 测试条。

（四）检测方法

1. 将测试条有箭头的一端插入血清标本容器中约 10 秒钟（测试条插入血清浓度不可超过标志线）。

2. 取出测试条平放，10 分钟后观察显示结果，30 分钟后显示

的结果无临床意义。

(五)结果判断

见图 13-2。

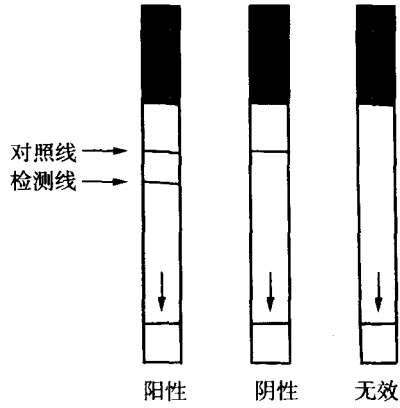


图 13-2 HCV 测试条结果示意图

①阳性:试条中段出现两条紫红色线(对照线和检测线),其结果为阳性;

②阴性:试条中段仅有一条紫红色线(对照线)出现,其结果为阴性;

③无效:试条中段无紫红色线出现,表明试验失败或测试条失效。

(六)贮存条件和有效期

1. 贮存条件:4～30℃,避光、热的干燥处存放。

2. 有效期:18 个月。

(七)注意事项

1. 本品仅限于体外诊断用。

2. 试条从冰箱取出后,先充分复温再打开包装使用。

3. 使用前不能浸湿试条或触摸反应膜。

4. 筒装试剂每次使用后应盖紧筒盖，以防试剂受潮。

5. 在有效期内使用。

6. 测试条不可重复使用。

三、丙肝病毒核酸(HCV RNA)的 PCR 测定

(一)标本要求

1. 样本采集　用无菌注射针头采 5ml 静脉血于不含有或含有 EDTA 作为抗凝剂的无菌离心管中，室温放置不应超过 4 小时，4 小时内室温 1 600×g 离心 20 分钟，分离血清或血浆移入无菌离心管中备用。

2. 存放　分离后的血清或血浆标本在 2～8℃条件下保存应不超过 72 小时；－70℃以下可长期保存，但应避免反复冻融(最多冻融 3 次)。

3. 运输　采用冰壶或泡沫箱加冰密封进行运输。

(二)仪器

1. STRATAGENE MX3000P/3005P。

2. Corbett Research Rotorgene 荧光 PCR 检测仪。

3. Bio-Rad iCycler 荧光 PCR 检测仪。

4. PE Gene Amp 7000/7700/7300 荧光 PCR 检测仪。

5. Roche LightCycler2.0 荧光 PCR 检测仪。

6. 其他多通道荧光 PCR 检测仪。

(三)试剂盒组成

深圳匹基生物工程有限公司产品

组成成分(48tests/盒)	体积
样本处理试剂	
裂解液	4ml×2 管
Carrier RNA	100μl×1 管
内标 RNA	250μl×1 管
核酸扩增试剂	

HCV RT-PCR 反应液(用于 RotorGene, Lightcycler2.0 等仪器) 500μl×1 管

或 HCV RT-PCR 反应液(用于 PE Gene Amp 7000/7700/7300, Bio-Rad iCycler 等仪器) 1.5ml×1 管

RT-PCR 酶(带盖 PCR 反应管装) 24 管

PCR Enhancer 20μl ×1 管

DEPC 水 1ml ×2 管

对照品

阴性对照 200μl ×1 管

强阳性对照(冻干粉) 1 管

定量校准品

定量校准品 1[(1.0～5.0)×10^7U/ml] 100μl×1 管

定量校准品 2[(1.0～5.0)×10^6U/ml] 100μl×1 管

定量校准品 3[(1.0～5.0)×10^5U/ml] 100μl×1 管

定量校准品 4[(1.0～5.0)×10^4U/ml] 100μl×1 管

(四)操作步骤

1. 样本处理(样本处理区)

(1) 试剂盒中强阳性对照为血清冻干粉,实验时先用 100μl DEPC 水复溶,混合均匀制成强阳性对照,取 10μl 强阳性对照加到剩余的 DEPC 水中,混合均匀制成临界阳性对照,然后按下述步骤与待测样本一起处理。

(2)取 n 个 0.5ml 的灭菌离心管,作好标记。

(3)在上述每一管中各加入 150μl 裂解液和 5μl 内标 RNA,然后分别加入待测样本和阴性对照、强阳性对照和制备的临界阳性对照各 50μl,用吸头反复吸打混匀(一份样本换用一个吸头),再加入 50μl 氯仿,混匀器上振荡混匀 5 秒或颠倒混匀 15 次(不宜过于强烈,以免产生乳化层)。

(4)离心(13 000r/min, 15 分钟)。

(5)取与步骤②中相同数量的 0.5ml 灭菌离心管,各加入

100μl 异丙醇和 2μl Carrier RNA，做好标记，吸取步骤④各管中的上层液相转移至相应的管中（注意不要吸出中间层，该层富含 DNA 和蛋白质），颠倒混匀。

(6)离心(13 000r/min，15 分钟，注意固定离心管方向)。轻轻倒去上清，倒置于吸水纸上，沾干液体，加入 300μl 75%乙醇，颠倒洗涤。

(7)离心(13 000r/min，15 分钟，注意固定离心管方向)，轻轻倒去上清，倒置于吸水纸上，沾干液体。

(8)离心(2 000r/min，5 秒，注意固定离心管方向)，将管底部少量液体用微量加样器吸干(一份样本换用一个吸头，注意吸头不要碰到有沉淀一面)，室温干燥 1～5 分钟(不宜过于干燥，以免 RNA 不溶)。

(9)于干燥后的沉淀中加入 20μl/15μl(根据使用 50μl/25μl 反应体系反应液)DEPC 水，轻轻混匀，溶解管壁上的 RNA，离心 5 秒，冰上保存备用(注意：此时的 RNA 最易受 Rnase 降解，请在 2 小时内进行逆转录)。

2. *扩增试剂准备*(PCR 前准备区)　从试剂盒中取出 HCV RT-PCR 反应液、PCR Enhancer，在室温下融化后，2 000r/min 离心 5 秒。设所需要的 PCR 反应管数为 n(n=样本数+1 管阴性对照+1 管强阳性对照+1 管临界阳性对照+4 管定量校准品)，每个测试反应体系配制见表 13-2。

表 13-2　每个反应体系配制

反应体系	荧光 PCR 检测仪	RT-PCR 反应液	PCR Enhancer
50μl	PE Gene Amp7000/7700/7300 Bio-Rad iCycler 等仪器	29.6μl	0.4μl
25μl	RotorGene Roche LightCycler2.0 等仪器	9.8μl	0.2μl

3. *加样*(样本处理区)　将样本处理步骤⑨中 20μl/15μl(根

据使用50μl或25μl反应体系反应液)RNA溶液及定量校准品分别加入到上述反应管中,盖紧反应管管盖,转移到检测区。将反应管排好放入荧光PCR检测仪内,记录样本摆放顺序。

4. RT-PCR反应(检测区)

(1)循环条件设置

①使用Corbett Research Rotorgene荧光PCR检测仪时循环程序设置为42℃:30分钟;95℃:3分钟;95℃:10秒;55℃:30秒;72℃:60秒,5个循环;95℃:10秒;60℃:60秒,42个循环。反应体系为25μl。定量校准品的浓度可在扩增之前设定也可在结果分析时设定。

②使用PE Gene Amp 7000\7700\7300荧光PCR检测仪时循环程序设置为42℃:30分钟;95℃:1分钟;95℃:10秒;55℃:20秒;72℃:30秒,5个循环。95℃:5秒;60℃:30秒,40个循环。反应体系为50μl。定量校准品的浓度在扩增之前设定也可在结果分析时设定。

③使用Bio-Rad iCycler荧光PCR检测仪时循环程序设置为42℃:30分钟;95℃:1分钟;95℃:10秒;55℃:20秒;72℃:30秒,5个循环。95℃:5秒;60℃:30秒,40个循环。反应体系为50μl。在扩增开始前样本设定时,将定量校准品设为"STND"并输入浓度值,待检样本和对照品设定为"UNKN"。

④使用ROCHE LightCycler2.0荧光PCR检测仪时循环程序设置为42℃:30分钟;92℃:1分钟;92℃:10秒;55℃:20秒;72℃:30秒,5个循环;92℃:5秒;60℃:30秒,40个循环。反应体系为25μl。在扩增开始前样本设定时,将定量校准品设为"STND",并输入浓度值,待检样本和对照品设定为"UNKN"。

(2)仪器检测通道选择

①使用Corbett Research Rotorgene荧光PCR检测仪时:荧光素设定为Fam和Joe;荧光信号收集设在60℃;②使用Gene Amp 7000/7700/7300、Bio-Rad iCycler荧光PCR检测仪时:荧光

素设定为 Fam 和 Vic/Hex；③使用 Roche Lightcycler 2.0 荧光 PCR 检测仪时：荧光信号收集设在 60℃。

（五）结果分析条件设定

1. 使用 Corbett Research Rotorgene 荧光 PCR 检测仪进行结果分析时，基线（baseline）可以在 0～10 个循环范围根据噪声情况进行调整，阈值可根据仪器噪声情况调整。外标阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点，且病毒滴度为0.0U/ml为准；内标阈值设定原则以正常阴性对照品内标 Ct 值≤30.0 为准。

2. 使用 PE Gene Amp7000/7700/7300 荧光 PCR 检测仪进行结果分析时基线的确定：取 3～10 或 3～15 个循环的荧光信号。阈值可根据仪器噪声情况调整。外标阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点，且病毒滴度为 0.01U/ml 为准；内标阈值设定原则以正常阴性对照品内标 Ct 值≤30.0 为准。

3. 使用 BIO-Rad iCycle 进行结果分析时，基线取为 2～10 或 2～15 个循环的荧光信号，阈值可根据仪器噪声情况在 15～40 调整。外标阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点，且病毒滴度为 0.01U/ml 为准；内标阈值设定原则以正常阴性对照品内标 Ct 值≤30.0 为准。

4. 在用 PE7000/7700/7300/BIO-Rad iCycler 进行分析的过程中，为避免漏检强阳性样本，应首先将基线定为 6～10/3～10/6～10/2～10 个循环的荧光信号观察分析 Ct 值，如果没有 Ct 值<16.0 的样本，则将基线改定为 6～1/3～15/6～10/2～15 个循环的荧光信号进行结果分析。

5. 使用 Roche LightCycler 2.0 进行结果分析时，分别用荧光计数值 F1、F2 读取内、外标结果，阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点，且病毒滴度为 0.01U/ml 为准，内标阈值设定原则以正常阴性对照品内标 Ct 值≤30.0 为

准，或可根据仪器噪声情况进行调整。

（六）质控标准

1. 将定量校准品1～4的浓度值输入，仪器将自动以定量校准品的浓度值为横坐标，以其实际测得的外标Ct值为纵坐标给出标准曲线，标准曲线的拟和度（R值）的绝对值应≥0.980，否则视为定量结果无效。

2. 阴性对照HCV RNA应为0.0U/ml；强阳性对照HCV RNA应为5.0×10^5～9.9×10^6U/ml；临界阳性对照HCV RNA为1.0×10^3～5.0×10^5U/ml，以上样本的内标Ct值均应≤30.0，否则此次实验视为无效，所有实验从样本处理开始重做。

（七）结果判断

1. 检测样本中HCV RNA≥1.0×10^3U/ml，且内标Ct值≤30.0时，报告相应的病毒滴度。

2. 检测样本中内标Ct值＞30.0（含Bio-Rad iCycler上Ct值＝0；LightCycler2.0、RotorGene上Ct值无数值等无扩增结果）的样本，显示该样本提取或扩增过程异常，该份样本应重新提取、测定，直到内标Ct值≤30.0为止；如待检样本的HCV RNA≥1.0×10^7U/ml，内标Ct值＞30.0时，可直接报告为HCV RNA≥1.0×10^7U/ml；如要获得更精确的值，也可将该样本用正常人血浆按10倍梯度稀释到本试剂盒定量检测线性范围内后重新测定。

3. 检测样本中HCV RNA≥1.0×10^7U/ml，且内标Ct值≤30.0时，可按实际测得值报告相应的病毒滴度，亦可将该样本用正常人血浆按10倍梯度稀释到本试剂盒定量检测线性范围内后重新测定。

4. 检测样本中HCV RNA＜10×10^3U/ml，且内标Ct值≤30.0时，表明病毒载量较低，该病毒滴度量仅供参考，应一律报告为小于1.0×10^3U/ml，并应对此份标本谨慎跟踪。

5. 检测样本中HCV RNA为0.0U/ml，且内标Ct值≤30.0时，报告为小于最低检出极限（若检测结果与临床症状或其他临床

检测指标明显不符，则该样本应当进行复检，必要时可将样本稀释后复检）。

（八）注意事项

1. 有关实验室管理规范请严格按照行业行政主管部门颁布的有关基因扩增检验实验室的管理规范执行。

2. 实验室应按试剂配制区、样本处理区、扩增检测区分隔使用。工作流程：各区物品均为专用，不得交叉使用，避免污染。操作过程应工作服、帽、鞋、手套等穿戴齐全，避免各种试剂或样品与皮肤接触。一旦发生液体的泄漏，应立即用大量的水进行冲洗，如果与皮肤伤口发生接触，应及时通知当地卫生防疫部门。

3. 本试剂盒不适用于肝素抗凝的血浆，因为肝素是公认的对PCR反应有抑制作用的物质。

4. 反应液分装时应尽量避免产生气泡，并注意防止泄漏，以免荧光物质污染仪器。

5. 实验中用过的吸头请直接打入盛有1%次氯酸的废物缸内，并与其他废弃物品一同在指定的地点以指定的方式进行焚烧或毁弃。

6. 实验结束后应立即清洁工作台，工作台及各种实验用品应定期用1%次氯酸钠、75%乙醇或紫外线灯进行消毒。

7. 所有的待检测样本均应视为传染性物质并严格按实验室生物安全要求进行操作和处理。

8. 试剂盒的阴性对照是采用合格试剂确认抗HCV，HIV-1/2，HBsAg均为阴性结果的人源血浆配制而成，强阳性对照为从临床检测中心购入的HCV-RNA阳性样本的冻干品，在使用过程中均应视为潜在的传染源并严格按实验室生物安全要求进行操作。

9. 由于HCV为RNA病毒，操作过程中应特别注意防止RNase对RNA的降解作用，所有使用器皿、加样器等均为专用，离心管、吸头、一次性耗材等在实验前应全部高压灭菌。

10. 建议不使用溶血、高胆红素样本。

11. RT-PCR 酶颗粒极易吸潮失活，必须在室温条件下置于干燥器内保存，使用时取出所需数量，其余立即放回干燥器内。

(九)贮存条件及有效期

1. 裂解液置 4℃保存。

2. RT-PCR 酶应为白色圆形颗粒，在室温条件下置于干燥器内保存，一旦潮解应弃用；其他试剂－20℃保存，不宜反复冻融，使用前在室温下完全融化，并充分振荡混匀后稍离心。

3. 所有试剂避光保存。

4. 所有试剂有效期为 1 年(请于有效期内使用)。

第三节 梅毒螺旋体抗体(TP)检测

一、酶联免疫法(ELISA)

(一)样本要求

血清标本按常规方法由静脉采集。血浆标本可采用常规用量的肝素或枸橼酸钠抗凝。5 天内测定的标本可放置 4℃保存。标本放置在－20℃至少可保存 3 个月。标本避免溶血或反复冻融。浑浊或有沉淀的标本应离心或过滤澄清后再检测。需保存的血清在采集、保存过程中应注意无菌操作。

(二)使用目的

通过检测人血清或血浆样本中是否含有抗梅毒螺旋体抗体，用于辅助诊断人是否感染了梅毒螺旋体。

(三)原理

用纯化基因工程梅毒螺旋体抗原 TP47(TmpA)和 TP17 包被的微孔板和辣根过氧化物酶标记基因工程梅毒螺旋体抗原及其他试剂配套组成，应用双抗原夹心法原理检测人血清或血浆中的梅毒螺旋体抗体。本试剂盒采用加样变色技术，具有高灵敏度、高

特异性及操作简便、快速的特点，适用于梅毒螺旋体感染的辅助诊断。其原理及过程如图 13-3 所示。

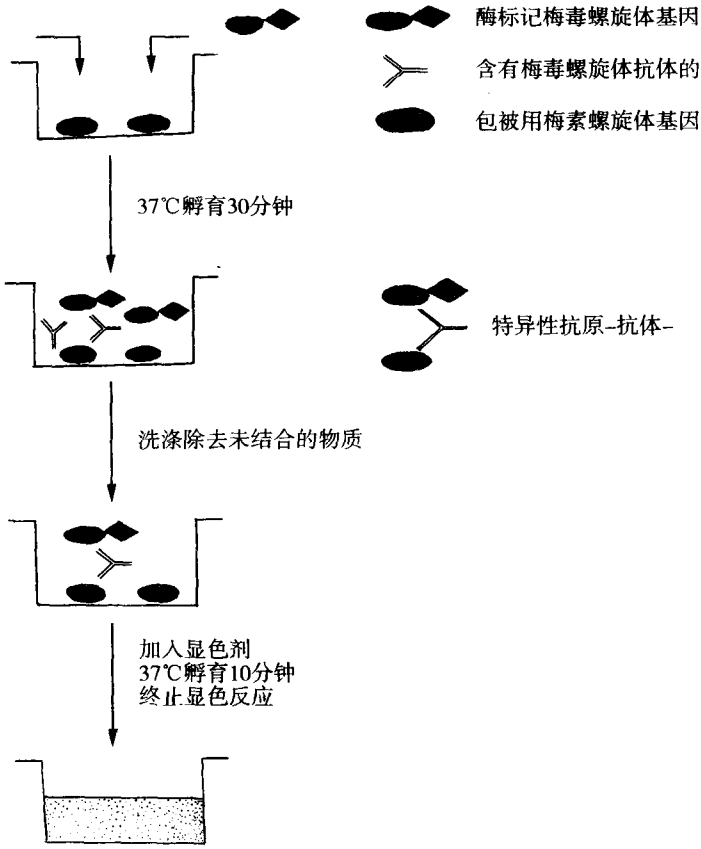


图 13-3　TP 原理及操作过程示意图

(四)主要组成成分

1. 标本稀释液　1 瓶(6ml)。
2. 阴性对照　1 瓶(1ml)。

3. 阳性对照 1瓶(1ml)。

4. 浓缩洗液(20×) 1瓶(50ml)。

5. 酶结合物 1瓶(12ml)。

6. 底物液A 1瓶(6ml)。

7. 底物液B 1瓶(6ml)。

8. 终止液 1瓶(6ml)。

9. 塑封袋 1个。

10. 封板膜 3贴。

(五)适用仪器

适用于8×12微孔板的酶标仪和洗板机。

(六)操作方法

1. 每孔加入待测标本50μl,设阴、阳对照各2孔,每孔加入阴性对照(或阳性对照)50μl,设空白对照1孔。

2. 每孔加酶结合物50μl(空白对照孔除外),充分混匀,封板,置37℃孵育30分钟。

3. 手工洗板,弃去孔内液体,洗涤液注满各孔,静置5秒,甩干,重复5次后拍干。

洗板机洗板,选择洗涤5次程序,洗板后拍干。

4. 每孔加显色剂A、B液各50μl,充分混匀,封板。置37℃孵育10分钟。

5. 每孔加终止液50μl,混匀。

6. 用酶标仪读色数,取波长450nm(建议使用双波长的酶标仪比色,参考波长为630nm),先用空白孔校零,然后读取每孔OD值。

(七)对试验结果的解释

1. 临界值(cut-off值)计算 临界值=0.10+阴性对照OD平均值(阴性对照OD平均值≤0.05按0.05计算)。

2. 结果判定

①测定标本OD值≥临界值时为梅毒螺旋体抗体阳性。

②测定标本 OD 值<临界值时为梅毒螺旋体抗体阴性。

(八)该试验方法的局限性

该试验方法仅适用于定性检测和辅助诊断,确认感染梅毒螺旋体需同时结合病人的临床体征或进一步结合其他方法来进行。

(九)产品性能指标

本试剂盒的测定结果中,阳性对照 OD 值不低于 1.0 且阴性对照 OD 值不高于 0.1 时的试验结果有效。否则应重新试验。

(十)注意事项

1. 检测标本尽量避免反复冻融、溶血或长菌,否则可能影响检测结果。

2. 不同批号、不同品种试剂不能混用;封板膜不能重复使用。

3. 各种试剂使用前要混匀,部分溶液(如洗液等)如有结晶析出,轻微加热或摇匀溶解后不影响使用。

4. 请严格按说明书操作,严格控制反应时间和反应温度,各种反应液均需用加液器加注,并经常校对其准确性。

5. 反应板开封后不能一次用完时,将剩余板条和干燥剂同时放入塑料袋内封好,置 2~8℃并于 1 周内用完。

6. 所有标本、废液、阳性对照等均按传染性污染物处理(对照血清已进行灭活处理),121℃高压蒸汽灭菌 30 分钟或用 5.0g/L 次氯酸等消毒药处理 30 分钟后废弃。

(十一)贮存条件及有效期

1. 试剂盒应置 2~8℃存放。

2. 有效期为 12 个月。

二、胶体金法

(一)标本要求

取静脉血 1~2ml 于干净容器中分离血清或血浆标本,如不及时测定可置 4℃冰箱贮存。超过 3 天应加入 0.1%硫柳汞防腐,测试前注意复温。不可使用冻干血清或血浆。

(二)原理

本品系采用纯化的基因重组梅毒螺旋体抗原,以胶体金作为标记物,于硝酸纤维素膜上进行反应,以双抗原夹心法原理快速定性检测人血清或血浆中的梅毒螺旋体特异性抗体。

(三)试剂组成试剂条 25 人份

蓝十字生物药业(北京)有限公司产品。

(四)使用方法

1. 待测样本、检测试纸或其他检测用材料等均在室温平衡后取出试纸。

2. 将测试纸有箭头的一端插入血清或血浆标本容器中,约 10 秒后取出平放,15 分钟内观察显示结果。

3. 测试纸插入标本深度不可超过 MAX 标志线(图 13-4)。

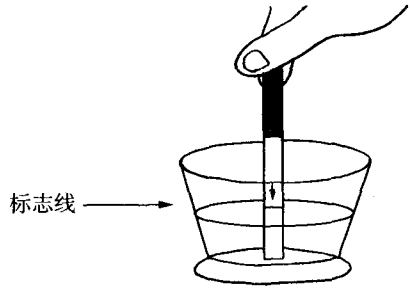


图 13-4 TP 金标法测试示意图

(五)结果判断

见图 13-5。

①阳性:在检测线位置及对照线位置各出现一条红色反应线。

②阴性:仅在对照线位置出现一条红色反应线。

③无效:测试纸无红色反应线出现,或仅在检测线位置出现一条红色反应线,表明实验失败或检测试纸失效,请用新测试纸重试。若问题仍然存在,请停止使用本批产品,并与当地经销商联系。

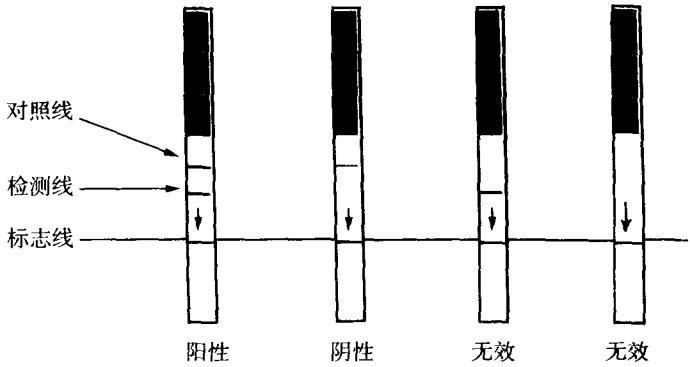


图 13-5　TP 金标法测试结果示意图

(六)注意事项

1. 测试纸从冰箱取出后,先充分复温再打开包装,开启后请尽快使用,简装产品注意取出试纸后及时扣严筒盖,谨防受潮。

2. 包装内有干燥剂,不得内服。

3. 本试纸在 20 分钟后显示的结果无临床意义。

4. 本品为一次性体外诊断试剂。

5. 切勿冰冻保存。

(七)贮存条件及有效期

1. 室温 4～30℃避光密封干燥处贮存,切勿冰冻。

2. 有效期 12 个月。

三、梅毒螺旋体核酸(TP DNA)的 PCR 测定

(一)标本要求

下疳渗出液:使用配套的核酸提取试剂提取 DNA。

(二)适用仪器

本试剂盒在样本处理时应使用符合生物安全规范的负压操作台,适用于 LightCycler、Rotor-Gene、SLAN 等基于 Taqman 技术

原理设计的自动荧光 PCR 仪及相应软件。

(三)原理

采用 Taqman 技术,用特异引物对梅毒螺旋体(Treponema Pallidun,TP)DNA 进行 PCR 扩增,双荧光标记探针与扩增产物进行杂交。与产物杂交的探针被 Taq 酶分解而产生荧光,荧光量与扩增产物量成正比,并与样本中起始模板数相关。本品对 TP 的检测灵敏度为 10^2 copies/ml。试剂盒中使用 dUTP 和 UNG 酶,能够有效消除污染的扩增产物对检测结果的干扰。

(四)试剂盒组成

上海复星医学科技发展有限公司产品。

1. TP PCR 缓冲液　600 μl。
2. Taq 酶　64μl。
3. 氯化镁液　100μl。
4. TP 荧光探针　100μl。
5. 阴性对照　100μl。
6. TP 阳性校准品 1 号 2.0×10^6 copies/ml　30μl。
7. TP 阳性校准品 2 号 2.0×10^5 copies/ml　30μl。
8. TP 阳性校准品 3 号 2.0×10^4 copies/ml　30μl。

(五)操作步骤

1. *试剂准备*　按样品数 n 取 TP PCR 缓冲液$(n+1)\times18\mu l$、氯化镁溶液$(n+1)\times3\mu l$、TP 荧光探针$(n+1)\times3\mu l$、Taq 酶$(n+1)\times2\mu l$ 混于一离心管中,漩涡振荡器上振荡混匀 10 秒,低速离心数秒,按每管 26μl 分装。

2. *加样*　将样品处理液(冻存样品使用前室温充分融化,振荡混匀数秒,13 000r/min 离心 2 分钟)和阳性校准品(使用前应先离心,再充分振荡混匀)1～3 号各 4μl 分别加入反应管中,混匀后置于自动荧光 PCR 仪上,立即进行 PCR 扩增反应(LightCycler 仪器:反应液配好后,分别取 20μl 移入专用毛细管中,低速离心数秒后置入 LightCycler,余详见注意事项 8)。

各仪器操作步骤见表 13-3，表 13-4，表 13-5。

表 13-3　LightCycler 仪操作步骤表

步骤	温度	时间	循环数
预反应	50℃	1 分钟	1
预变性	94℃	2 分钟	1
变性	94℃	5 秒	40
退火	60℃	30 秒	40

注：1. 升降温速率为 5℃/秒。
2. 在 60℃时采集荧光信号，采集方式设为“SINGLE”。

表 13-4　SLAN 仪操作步骤表

步骤	温度	时间	循环数
预反应	50℃	1 分钟	1
预变性	94℃	2 分钟	1
变性	94℃	5 秒	40
退火	60℃	30 秒	40

注：在 60℃时采集荧光信号，荧光检测通道选择“通道 1”。

表 13-5　Rotor-Gene 仪操作步骤表

步骤	温度	时间	循环数
预反应	50℃	1 分钟	1
预变性	94℃	2 分钟	1
变性	94℃	5 秒	40
退火	60℃	30 秒	40

注：1. 对应信号通道输出值(Gain)定为 5。
2. 在 60℃时“Acquiring to Cycleon CH1”。
3. 建议使用 AXGEN 进口离心管扩增。

(六)结果分析

1. LightCycler

①选择荧光检测模式 F1 通道，点击 Quantification 进行定量分析，选用 Fit Points、Proportional 方式；

②在 Noise Band 界面上设定阈值，阈值设定应高于阴性对照线和样本噪声线的最高点，且阴性对照 Ct 值无任何数值（一般在 0.10～0.15，参考值 0.12）；

③在 Analysis 界面调整基线使阳性校准品呈现线性，且 Error<0.1；或用"Minimize Error"自动调整。

2. SLAN　在"分析"菜单中选择"参数选择"，选择"自动阈值"或"手动阈值"，同时选"基线优化"参数后，在"分析"菜单中选择"数据分析"，系统自动对实验数据进行分析处理。

3. Rotor-Gene

①对"CH1"进行 Quantitation，Graph 选择为 Linear Scale；

②设置 Threshold 至基线在阴性对照曲线和各样本噪声线上方，并使阳性校准品呈现线性。或选择"Auto-Find Threshold"自动分析。

（七）结果判断

结果判断见表 13-6。

表 13-6　定性结果判断

Ct 值	结果
Ct 值无任何数值	阴性结果
38≤Ct 值<40	检测灰区，复检 2 次，Ct 值无，阴性结果 重新检测 2 次，复检 2 次，其中至少 1 次 Ct 值<40，阳性结果
Ct 值<38	阳性结果

（八）质量控制

试剂盒中提供阳性校准品 1～3 号（全自动定量 PCR 仪给出的 Ct 值相应结果分别为 Ct_1、Ct_2、Ct_3），阴性对照（$Ct_{阴性}$）。如试

剂质量完好并操作正确，校准品应表现为阳性结果，且 $Ct_1 < Ct_2 < Ct_3$，阴性对照应表现为阴性结果且 Ct 阴性无任何数值，否则实验无效，应检查仪器、试剂、扩增条件等方面的误差。每次检测均应设置阳性校准品和阴性对照。

(九)贮存条件及有效期

1. 试剂盒在－20℃保存。

2. 有效期为 8 个月。

(十)注意事项

1. 试剂盒组成中离心管使用前应充分融化、混匀并低速离心。

2. 整个检测过程应分三区进行，一区进行 PCR 反应体系的配制，二区进行标本处理、加样等，三区进行 PCR 扩增、荧光检测及结果分析，各区使用的仪器、设备和工作服应独立。

3. 在操作中，应使用不含荧光物质的一次性手套(经常替换)、一次性移液器头(带滤嘴自卸式)，不能用手直接触摸反应管和毛细管底部。

4. 在试剂准备和标本处理时应使用超净工作台(负压式)或防污染罩，以防止对环境的污染。

5. 操作台、移液器、离心机、PCR 扩增仪器设备应经常用 10%次氯酸钠或 70%乙醇擦拭消毒，每次实验前后用 10%次氯酸钠和 70%乙醇擦拭移液器、操作台。

6. 荧光探针应避光保存，加入反应液中后，应尽快配制好反应体系进行扩增。

7. 配制反应体系前，放置毛细管的专用套管应在 4℃预冷，配制反应体系过程中，请将毛细管放在专门套管中。

8. 为简化操作，LightCycler 仪器试剂准备和加样可采用下列简化方法：按样品数 n，取 TP PCR 缓冲液 $n \times 15\mu l$、氯化镁溶液 $n \times 2.5\mu l$、TP 荧光探针 $n \times 2.5\mu l$、Taq 酶 $n \times 2\mu l$ 混于一离心管中，漩涡振荡混匀 10 秒，低速离心数秒，按每管 $22\mu l$ 直接分装于

专用毛细管中，将样品处理上清液和校准品1～3号各3μl分别加入毛细管中，低速离心数秒，立即进行PCR扩增反应。

9. 不同批号的试剂请勿混用，在有效期内使用试剂盒。

10. 毛细管若发生折断，应小心取出，用70%乙醇擦拭消毒，并用专用小毛刷擦拭干净后方可进行扩增。

第四节 人类免疫缺陷病毒HIV(1+2)抗体检测

一、酶联免疫法(ELISA)

(一)标本要求

血清标本按常规方法由静脉采集。血浆标本可采用常规用量的肝素或枸橼酸钠抗凝，5天内测定的标本可放置4℃保存，标本放置在－20℃至少可保存3个月，标本避免溶血或反复冻融，浑浊或有沉淀的标本应离心或过滤澄清后再检测。需保存的血清在采集、保存过程中应注意无菌操作。

(二)原理

采用双抗原夹心ELISA方法检测血清或血浆中人类免疫缺陷病毒HIV(1+2)型抗体。在微孔条中预包被高纯度HIV(1+2)抗原，通过检品中抗HIV抗体桥连作用，与后面加入的HRP标记抗原结合，HRP对底物TMB作用显色。通过酶标仪检测吸光度(OD)值从而判断检品中是否存在抗HIV抗体。本试剂盒具有高灵敏度、高特异性及操作简便、快速的特点，适用于HIV感染者的初筛检查。

(三)试剂及配套产品

1. 预包被板　96孔。
2. 标本稀释液　1瓶(6ml)。
3. 酶结合物　1瓶(12ml)。

4. 阴性对照　1瓶(1ml)。

5. 阳性对照　1瓶(1ml)。

6. 浓缩洗液(20×)　1瓶(50ml)。

7. 底物液A　1瓶(6ml)。

8. 底物液B　1瓶(6ml)。

9. 终止液　1瓶(6ml)。

10. 塑封袋　1个。

11. 封板膜　3贴。

(四)操作步骤

1. 平衡　将试剂盒从冷藏环境中取出,置室温平衡30分钟后使用。

2. 配液　将浓缩洗液用蒸馏水或去离子水1∶20倍稀释备用。

3. 设定　留一孔作空白对照,暂不加任何液体,另设阴性对照3孔、阳性对照2孔,不加标本稀释液,直接加100μl对照血清。

4. 加样　在其他反应孔中各加标本稀释液50μl,按顺序各加入待检标本50μl,加样时吹打混匀则变色效果更佳。

5. 温育　在反应板上加盖封板膜,振荡混匀,置37℃温箱或水浴,反应40分钟。

6. 洗板　弃去反应液,每孔加入稀释后的洗液300μl,浸泡15秒,甩弃洗液,连续洗板5次,最后拍干。

7. 加酶　每孔加入100μl酶结合物(空白对照孔不加)。

8. 温育　在反应板上加盖封板膜,置37℃温箱或水浴,反应40分钟。

9. 洗板　洗板5次,同操作步骤6。

10. 显色　每孔依次加入底物A、B液各50μl(包括空白对照孔),加盖封板膜,振荡混匀,37℃避光显色15分钟。

11. 终止　每孔加入终止液各50μl(包括空白对照孔),振荡混匀终止反应。

12. 测定　用空白对照孔调零，并尽快用酶标仪单波长450nm测定各孔OD值，也可用双波长450nm/630nm测定各孔OD值。

(五)结果判断

1. 临界值(cut-off值)计算　临界值＝0.08＋阴性对照OD平均值(阴性对照OD平均值≤0.05，按0.05计算)。

2. 结果判断

①测定标本OD值≥临界值时为抗HIV抗体阳性。

②测定标本OD值＜临界值时为抗HIV抗体阴性。

③被筛阳性者应重新取样双孔复试。复试阳性者应按《全国艾滋病检测工作规范》要求送HIV确认实验室进行确证，以HIV确认实验结果为准。

(六)质量控制

阳性对照OD值≥1.5、阴性对照OD值≤0.1时的试验结果有效。否则应重新试验。

(七)注意事项

1. 本试剂使用单位必须是经当地卫生行政部门批准的HIV初筛实验室。

2. 全部检测过程必须符合《全国艾滋病检测工作规范》，严格防止交叉感染，操作时必须戴手套、穿工作衣，严格健全和执行消毒隔离制度，所有标本、废液、阳性对照等均按传染性污染物处理(对照血清已进行灭活处理)，121℃高压蒸汽灭菌30分钟或用5.0g/L次氯酸等消毒药处理30分钟后废弃。

3. 检测标本尽量避免反复冻融、溶血或长菌，否则可能影响检测结果。

4. 因有可能引起假阳性反应，本试剂盒不适用于静注丙种球蛋白制品的检测。建议不使用高血脂、高胆红素、高血红蛋白样本。

5. 不同批号、不同品种试剂不能混用，封板膜不能重复使用。

6. 各种试剂使用前要混匀，部分溶液（如洗液等）如有结晶析出，轻微加热或摇匀溶解后不影响使用。

7. 请严格按说明书操作，严格控制反应时间和反应温度，各种反应液均需用加液器加注，并经常校对其准确性。

8. 反应板开封后不能一次用完时，将剩余板条和干燥剂同时放入塑料袋内封好，置 2～8℃可短期保存。

（八）贮存条件及有效期

1. 试剂盒应置 2～8℃存放。

2. 有效期为 12 个月。

二、胶体金法

（一）标本要求

采集静脉血 1～2 ml 于干净容器中分离血清或血浆样本，如不及时测定可置 4℃冰箱贮存，超过 3 天应加入 0.1%硫柳汞防腐，不可使用冻干样本。

（二）原理

应用免疫层析式双抗原夹心法原理。

（三）试剂

1. 测试卡　单支/（袋·盒），25 支（人份）。

2. 说明书　1 份。

（四）使用方法

见图 13-6。

1. 被检样本和测试卡等在室温平衡。

2. 沿缺口撕开铝箔袋，取出测试卡。

3. 将 80μl 血清或血浆样本加入测试卡加样孔，平置于室温，20 分钟内观察显示结果。

（五）结果判定

见图 13-7。

①阴性：测试区上端仅有一条红色对照线，下端无检测线出现。

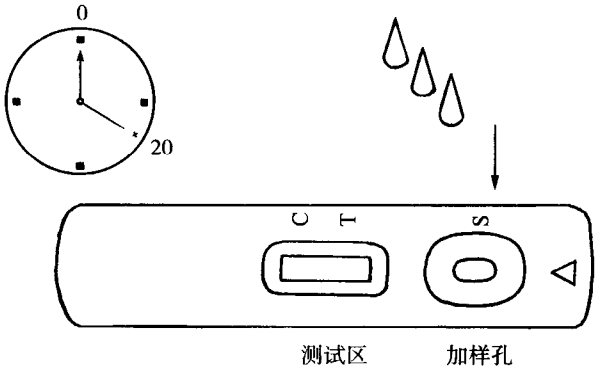


图 13-6 HIV 金标法使用方法

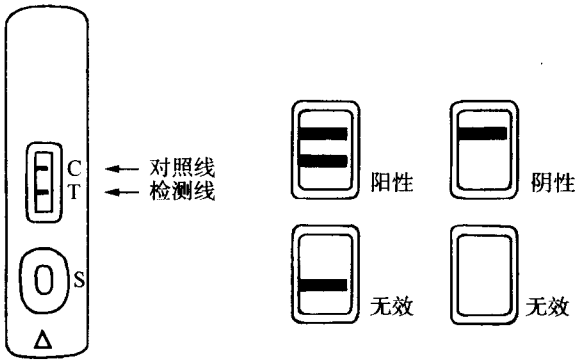


图 13-7 HIV 金标法结果判断

②阳性：在测试区上、下两端先后出现红色反应线，即对照线和检测线。

③无效：测试区上、下两端均无红色反应线出现或测试区下端仅有一条检测线出现，表明试验失败或测试卡失效。请用新测试卡重试，如果问题仍然存在，请停止使用本批产品，并与当地经销商联系。

(六)试验方法局限性

1. 与所有的诊断试剂一样,其检测结果必须考虑其他对于医师有用的临床信息,在所有的临床和试验研究进行评价后,只有医师才可以给出确切的临床诊断结论。

2. 本品仅用于人血清或血浆样本中的 HIV 抗体检查。

3. 试验结果仅用于献血员现场筛查,不能用于临床意义的判断。

4. 阳性结果应采取确认试验进一步确证,阴性结果不能排除 HIV-1、HIV-2 感染的可能性。

5. 本试验仅显示样本中是否存在 HIV 抗体,不能作为 HIV-1、HIV-2 感染的惟一诊断标准,不能区分 HIV-1 和 HIV-2 感染。

6. 测试卡颜色深浅的程度与样品中抗体的滴度没有明确的相关性。

7. 如果试验结果为阴性而临床症状存在,建议采用其他临床方法做进一步的检查。

(七)注意事项

1. 按照艾滋病实验室检查规范,注意生物安全操作。包括(但不仅限于此):

①戴安全手套;

②不可在处理这些物品时吸烟、进食、喝饮料、美容和处理隐形眼镜;

③用合适的消毒剂如 0.5%的次氯酸对溅出的样品或试剂进行消毒;

④按当地的有关法规条例来消毒和处理所有的样本、试剂和潜在的污染物。

2. 本品若从冰箱取出,应先充分复温再打开包装使用。切勿冰冻。

3. 打开包装后请尽快使用。

4. 使用前若发现铝箔袋包装破损,请勿使用。

5. 本品在30分钟后显示的结果无临床意义。

6. 铝箔袋内有干燥剂，不得内服。

7. 本品为一次性使用体外诊断试剂，应在有效期内使用。

三、人免疫缺陷病毒核酸(HIV-1 RNA)的PCR测定

(一)标本要求

本试剂盒仅适用于血浆样本。采集的全血用EDTA抗凝，肝素(Heparin)对PCR抑制，不能使用。

1. 样本采集　用无菌注射针头采2ml静脉血于含有抗凝剂的无菌离心管中，室温放置不应超过4小时，室温1 600×g离心20分钟，分离血浆移入无菌离心管中备用。

2. 存放　分离后的血浆标本在2～8℃条件下保存应不超过5天；放置于－70℃条件下可长期保存，但应避免反复冻融(最多冻融3次)。

3. 运输　血浆标本应在2～8℃或冷冻条件下进行运输。

(二)适用仪器

1. STRATAGENE MX3000P/3005P。

2. PE Gene Amp 7700荧光PCR检测仪。

3. Bio-Rad iCycler荧光PCR检测仪。

4. Roche LightCycle荧光PCR检测仪。

5. 其他单通道荧光PCR检测仪可以不使用内标实现对HIV-1 RNA的检测。

(三)试剂盒组成

深圳匹基生物工程有限公司产品。

组成成分	24人份/盒	24人份/盒
	25μl体系	50μl体系
样本处理试剂		

裂解液	4ml×1 管	4ml×1 管
Rnasin	50μl×1 管	50μl×1 管
DEPC 水	500μl×1 管	500μl×1 管

或者用 Roche 公司 High Pure Viral RNA Kit

核酸扩增试剂

RT-PCR 反应液	420μl×1 管	420μl×1 管
RT-PCR 酶(带盖 PCR 反应管装)	12 管	12 管
PCR 反应液	620μl×1 管	1.3ml×1 管
Taq 酶(5U/μl)	10μl×1 管	10μl×1 管
UNG(1U/μl)	5μl×1 管	5μl×1 管

对照品

阴性对照(0.0copies/ml)	200μl×1 管	200μl×1 管
强阳性对照(非感染性体外转录 RNA $1.0\times10^4\sim9.9\times10^5$ copies/ml)	50μl×1 管	50μl×1 管
临界阳性对照(非感染性体外转录 RNA $5.0\times10^2\sim1.0\times10^4$ copies/ml)	50μl×1 管	50μl×1 管
内标(非感染性体外转录 RNA)	50μl×1 管	50μl×1 管

校准品

校准品 1:$5.0\sim9.9)\times10^5$ copies/ml	100μl×1 管	100μl×1 管
校准品 2:$(5.0\sim9.9)\times10^4$ copies/ml	100μl×1 管	100μl×1 管
校准品 3:$(5.0\sim9.9)\times10^3$ copies/ml	100μl×1 管	100μl×1 管
校准品 4:$(5.0\sim9.9)\times10^2$ copies/ml	100μl×1 管	100μl×1 管

(四)操作步骤

1. 样本处理(样品处理区) 所有试剂、样本使用前置室温

解冻。

(1)使用裂解液的样本处理操作流程

①配制裂解液的工作液:首先计算所需裂解液的份数 n(n=样本数+1 管强阳性对照+1 管临界阳性对照+1 管阴性对照),按(n+1)×150μl 的量取出裂解液加入适当体积反应管中,在其中按(n+1)×20μl 的量加入内标,颠倒混匀 10～15 次,即成裂解的工作液。该工作液当天用完,否则应盖严管密封后丢弃。

②取 n 个 0.5ml 的灭菌离心管,做好标记。

③在上述每一个管中加入 150μl 裂解液的工作液,然后加入待测样本和阴性对照 50μl,2 个阳性对照品管中各先加入阳性对照 25μl,然后加入阴性对照 25μl(切不可将二者混合后加入),用吸头反复吸打混匀(一份样本换用一个吸头);再加入 50μl 氯仿,混匀器上振荡混匀 5 秒或颠倒混匀 15 次(不宜过于强烈,以免产生乳化层)。

④离心(13 000r/min,15 分钟)。

⑤取与步骤②中相同数量的 0.5ml 灭菌离心管,各加入 100μl 异丙醇和 2μl Rnasin 做好标记。吸取步骤④各管中的上层液相转移至相应的管中(注意不要吸出中间层,该层富含 DNA 和蛋白质),颠倒混匀。

⑥离心(13 000r/min,15 分钟,注意固定离心管方向)。轻轻吸出上清;加入 300μl 75%乙醇,颠倒洗涤。

⑦离心(13 000r/min,10 分钟,注意固定离心管方向)。轻轻吸出上清;倒置于吸水纸上,尽量沾干液体。

⑧离心(2 000r/min,5 秒,注意固定离心管方向),将管底部少量液体用微量加样器吸干(一份样本换用一个吸头,注意吸头不要碰到有沉淀一面),室温干燥 5 分钟(不宜过于干燥,以免 RNA 不溶)。

⑨于干燥后的沉淀中加入 8μl DEPC 水,轻轻混匀,溶解管壁上的 RNA,离心 5 秒。

(2)使用 QIAGEN 公司的样本处理试剂(MinElute Virus Kit)操作流程

①提取试剂准备:将 40ml 无水乙醇加入到 Washing buffer 中;将 20ml 无水乙醇加入到 Inhibitor removal buffer 中制成 Inhibitor removal buffer 工作液,用 400μl Elution buffer 溶解 Poly (A)carrier RNA 后,分别向 2 瓶 Binding buffer 中各加入 200μl 配制成 Binding buffer 工作液(此溶液在 15～25℃条件下可保存 3 个月)。

②取 n 个 1.5ml 体积灭菌离心管(n=样本数+1 管阴性对照+1 管阳性对照+1 管临界阳性对照),做好标记。

③按照$(n+1)\times 400\mu l$ 的量取出 Binding buffer 工作液加入适当体积反应管中,在其中按$(n+1)\times 2\mu l$ 的量加入内标,颠倒混匀 10～15 次,即成含内标工作液。该工作液当天用完,否则应盖严盖密封后丢弃。

④在上述各管中加入 400μl Binding buffer,然后分别加入待检样本、对照品各 200μl,振荡混匀,室温放置 10 分钟后转入套有集液管的提取柱,于 8 000×g 离心 15 秒。

⑤将装有滤出液的集液管丢弃,换上新管,向提取柱中各加入 500 Inhibitor removal buffer 工作液,于 8 000×g 离心 1 分钟。

⑥将装有滤出液的集管液丢弃,换上新管,向提取柱中各加入 450μl Washing buffer 工作液,于 8 000×g 离心 1 分钟。

⑦将装有滤出液的集管液丢弃,换上新管,再向提取柱中各加入 450μl Washing buffer 工作液,于 8 000×g 离心 1 分钟后再于 13 000r/min 离心 10 秒。

⑧将装有滤出液的集管液丢弃,换上 1.5ml 离心管,室温放置 3 分钟,向提取柱中加入 50μl Elution buffer,于 8 000×g 离心 1 分钟收集滤出液备用。

⑨上述提取的病毒核酸应在 2 小时内用于 PCR 扩增,或有－70℃下可以保存 1 个月。

2. RT-PCR 反应

(1)RT-PCR 反应液配制(PCR 前准备区):从试剂盒中取出 RT-PCR 酶和 RT-PCR 反应液,RT-PCR 反应液室温下融化并混匀后稍事离心。设所需要反应管数为 n(n=样本数+1 管强阳性对照+1 管临界阳性对照+1 管阴性对照),取出 $n/2$ 管[n 为单数时取($n+1$)/2 管]RT-PCR 酶(剩余的 RT-PCR 酶仍要放回干燥器内室温密封保存,防止潮解)放入一合适容量离心管中,加入 n 或($n+1$)×17μl RT-PCR 反应液,混合均匀后按 17μl/管分装入 n 个 0.2ml PCR 反应管中,转移至样本区。

(2)加样(样本处理区):取样本处理步骤(1)中⑨或(2)中⑧制备的样本 RNA 溶液 8μl 分别加入步骤 2 配制的 RT-PCR 反应液管,盖紧管盖,转移至检测区,置于 PCR 仪上。

(3)RT-PCR 扩增(检测区):此步骤不需收集荧光信号,用普通的 PCR 扩增仪即可,如 PE-9600 或其他相当的扩增仪。扩增条件设置为 42℃:30 分钟;94℃:5 分钟;95℃:5 秒;60℃:30 秒,8 个循环。扩增后的样品管室温下冷却。

3. PCR 扩增

(1)准备试剂(PCR 前准备区):从试剂盒中取出各管试剂,在室温下融化后稍事离心。

设所需要反应管数为 n,(n=1 样本数+1 管强阳性对照+1 管临界阳性对照+1 管阴性对照+4 管校准品),每个测试反应体系配制见表 13-7。

表 13-7 每个测试反应体系配制

反应体系	荧光 PCR 检测仪	PCR 反应液	Taq 酶	UNG
50μl	PE Gene Amp7700	45.6 μl	0.4μl	0.06μl
25μl	Bio-Rad iCycler 等 Roche LightCycler 等	22.8μl	0.2μl	0.03μl

计算好各试剂的使用量，加入一适当体积试管中，充分混合均匀，向设定的 n 个 PCR 反应管中分别加入 56μl(25μl 体系加入 23μl)，转移至检测区。

(2)加样(样本处理区)：在所设定的反应管中分别加入步骤 2 中(3)的 RT-PCR 反应产物 4μl(25μl 体系加入 2μl)，校准品各 4μl(25μl 体系加入 2μl)，盖紧 PCR 反应管管盖(使用 Roche 毛细管时，应将毛细管连同 Roche 专用金属管套放在离心机中，于 4 000r/min 离心 5 秒)，置于荧光 PCR 仪上，记录样本摆放顺序。

(3)PCR 扩增(检测区)

①循环条件设置

a. 使用 PE Gene Amp7700/7000/7300、MJ Opticon2、Rotor-Gene 等荧光 PCR 检测仪时循环程序设置为 37℃：3 分钟；94℃：1 分钟；95℃：5 秒；60℃：30 秒，40 个循环。反应体系为 50μl。校准品的拷贝数可在扩增之前设定，也可在结果分析时设定。

b. 使用 Bio-Rad iCycler 荧光 PCR 检测仪时循环程序设置为 37℃：3 分钟；94℃：1 分钟；95℃：5 秒；60℃：30 秒，42 个循环。反应体系为 50μl。在扩增开始前样本设定时，将校准品设为“STND”并输入拷贝数，待检样本和对照品设定为“UNKN”。

c. 使用 Roche LightCycler 荧光 PCR 检测仪时循环程序设置为 37℃：3 分钟；93℃：2 秒；55℃：20 秒；72℃：20 秒；40 个循环。在扩增开始前样本设定时，将校准品设为“STND”并输入拷贝数，待检样本和对照品设定为“UNKN”。

②仪器检测通道选择

a. 使用 PE Gene Amp 7700/Bio-Rad iCycler 荧光 PCR 检测仪时，外标选择 Fam；内标选择 Hex。荧光信号收集设在 60℃。

b. 使用 Roche LightCycler 荧光 PCR 检测仪时，外标选择 F1 通道；内标选择 F2 通道。在 55℃ 时荧光信号收集方式设为“SINGLE”。

具体设置方法请参照各仪器使用说明书。

(五)结果分析条件设定

1. 使用 PE Gene Amp 7700 荧光 PCR 检测仪进行结果分析时,基线取 3～10 或 3～15 个循环的荧光信号,阈值可根据仪器噪声情况调整。外标阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点,且拷贝数为 0.0copies/ml 为准;内标阈值设定原则以正常阴性对照品内标 Ct 值≤32.0 为准。

2. 使用 Bio-Rad iCycle 进行结果分析时,基线取为 2～10 或 2～15 个循环的荧光信号,阈值可根据仪器噪声情况调整。外标阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点,且拷贝数为 0.0copies/ml 为准;内标阈值设定原则以正常阴性对照品内标 Ct 值≤32.0 为准。

3. 使用 Roche LightCycle 进行结果分析时,用荧光计数值 F1 读取外标结果,外标阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点,且拷贝数为 0.0copies/ml 为准,通常在 0.001～0.1 调整,或可根据仪器噪声情况进行调整;用荧光计数值 F2 读取内标结果,阈值设定原则以正常阴性对照品内标 Ct 值≤32.0 为准。

(六)质控标准

1. 将校准品 1～4 的外标拷贝浓度输入,仪器将自动以校准品拷贝浓度的对数值为横坐标,以其实际测得的外标 Ct 值为纵坐标给出标准曲线,标准曲线的拟合度应≤0.980,否则视为定量结果无效。

2. 阴性对照 HIV RNA 应为 0.0copies/ml;强阳性对照 HIV RNA 应为 1.0×10^4～9.9×10^4copies/ml;临界阳性对照 HIV RNA 为 5.0×10^2～1.0×10^4copies/ml,以上样本的内标 Ct 值均应≤32.0,否则实验视为无效。所有实验从样本处理开始重作。

(七)结果判断

1. 检测样本中 HIV RNA≥5.0×10^2copies/ml,且内标 Ct 值≤32.0 时,报告相应的拷贝数。

2. 检测样本中内标 Ct 值>32.0 的样本，应用正常人血浆按 10 倍梯度稀释后重新测定，直到内标 Ct 值≤32.0 为止，测定结果应以稀释倍数进行校正。

3. 检测样本中 HIV RNA≥1.0×10^2copies/ml，且内标 Ct 值≤32.0 时：可按实际测得值报告相应的拷贝数，亦可将该样本用正常人血浆按稀释到本试剂盒定量检测线性范围内后重新测定。

4. 检测样本中 HIV RNA<5.0×10^2copies/ml，且内标 Ct 值≤32.0 时，表明病毒载量较低，该拷贝数仅供参考，应一律报告为小于 5.0×10^2copies/ml，并应对此份标本谨慎跟踪。

5. 检测样本中 HIV RNA 为 0.0copies/ml，且内标 Ct 值≤32.0 时，报告为小于最低检出极限。

(八)使用注意事项

1. 实验室管理严格按照卫生部 2002 年颁发的《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》和《临床基因扩增检验实验室工作规范》执行。

2. 实验操作分区进行，各区物品均为专用，不得交叉使用，避免污染，实验后即清洁工作台。

3. 分装有反应液的反应管应扣盖或装入密实袋内再转移至样本区进行上样。

4. 上样时应使样品完全落入反应液中，不应有样品黏附于管壁上，加样后应尽快盖紧管盖。

5. 扩增完毕立即取出反应管，密封在专用塑料袋内，丢弃于指定地点。

6. 核酸扩增试剂分装时应尽量避免产生气泡，检查各反应管是否盖紧，防止荧光物质污染仪器。

7. 试剂盒、人类免疫缺陷病毒Ⅰ型(HIV-1)RNA 核酸国家定量参考品及其他质控品应按含有传染性材料对待，用过的吸头请直接打入盛有 1%次氯酸的废物缸内，并与其他废弃物品一同

灭菌后丢弃，工作台及各物品定期用 1%次氯酸、75%乙醇或紫外灯进行消毒。

8. 不同批试剂组分不得混用。

9. RT-PCR 酶使用前请注意观察是否发生潮解，如颜色变为部分或全部透明、形状变小或变为不规则或完全蒸发，一旦潮解应弃用，其他试剂使用前应在室温下完全融化，并充分振荡混匀后稍事离心。

(九)贮存条件及有效期

1. 裂解液置 4℃保存；RT-PCR 酶在室温条件下置于干燥器内保存；其他试剂置 20℃保存，避免反复冻融。避光保存。

2. 试剂有效期为 12 个月。

（武永霞　张　健　谷　梁）

第14章　输血科有关制度

第一节　输血科(血库)工作制度

1. 输血科(血库)以卫生部2000年184号《临床输血技术规范》为宗旨。

2. 制定临床用血管理制度,严格控制输血指标,科学用血,大力推广成分输血,开展临床用血新技术的研究。

3. 保证临床输血安全,严格按照《中华人民共和国献血法》的规定,将符合国家规定标准的血液用于病人。

4. 输血科(血库)有责任向广大医护人员宣传《献血法》,普及献血知识。对于需要输血的病人,进行输血前健康教育,既要认识到临床输血对医疗的必要性,又要认清输血的危险性,杜绝不必要的输血。对适合自身输血、亲友互助献血的需要输血的病人,要对其进行自身输血和互助献血的指导,在保证医疗安全的前提下,减少对异体血的使用。

第二节　输血核对制度

1. 输血前检查　输血申请单上有确定病人身份的详细资料,包括病人的姓名、性别、年龄、床号及住院号,还有病人的诊断、输血史及妊娠史,有助于解决配血中可能出现的问题。血液可视为一种药物,不论从医学上还是法律上说,输血申请单应有医师的签

名。在输血检查前，输血科（血库）工作人员须认真阅读输血申请单上的内容。凡资料不全的输血申请单，特别是缺乏输血史、已婚妇女缺乏妊娠史和缺医师签名的申请单要退回临床科室补上，不得迁就。

2. 输血前检查程序

①确认受血者身份和受血者标本；

②查找受血者既往血标本的试验记录；

③对受血者做 ABO 血型和 Rh 血型定型；

④用受血者血清进行抗体筛选和鉴定；

⑤选择适当的 ABO 和 Rh 血型的血液；

⑥用受血者血标本与献血者血标本做交叉配血试验；

⑦在血袋上标明受血者姓名、床号等资料。

3. 采集病人血标本做输血前检查的注意事项

①采集血标本前要反复核对输血申请单上填写的病人与实际病人是否一致，准确无误后才能抽血；

②抽血后立即在试管上贴好标签，做好标记；

③所用血标本要能恰当地代表病人当前的免疫状况，须用 3 日内采集的血标本做配血试验；

④要防止血标本的稀释和溶血，溶血的标本一般不能使用。原因是溶血后的游离血红蛋白可以掩盖抗体引起的溶血；

⑤如果病人正在输液，允许从输液管中抽血，但要用生理盐水冲洗管道，并弃去最初抽取的 5ml 血液后再采集血标本；

⑥若病人已用肝素治疗，采出的标本不凝集，可向标本中加入适量鱼精蛋白对抗；

⑦右旋糖酐可干扰配血，应在输注前抽取血标本备用。

4. 避免输血前检查用的血标本搞错

①没有输血申请单不能采集血标本；

②采集血标本者必须核对输血申请单上提供的病人姓名、性别、床号、住院号与实际病人是否一致，如果二者不一致，则不能

抽血；

③采集血标本必须在离开病人床边之前在试管上标明病人的姓名、住院号及抽标本日期；

④血库技术人员必须确认盛血试管标签上的资料与输血申请单上的资料一致，如果对病人身份有疑问，必须重新抽取标本，不允许修改错误标签或错误申请单；

5. 病人与献血者的血标本在输血后的保留　每次输血后，病人和献血者的血标本都必须密封或将试管盖紧，在2～6℃至少保留7天，不能马上丢弃。若病人对输血产生不良反应时，则可用保留的病人的血标本和献血者血标本进行重复配血试验或其他试验。

6. 病人上次配血留下标本的应用　配血试验的标本必须是输血前3天之内的，此标本代表病人当前的免疫状态。近期输血或妊娠可以刺激机体产生未知的抗体；不同的疾病状态也可影响病人配血试验的结果，所有这些改变发生的时间是不能预测的，故一般不能用上次配血时留下的、已超过3天的标本做配血试验。在特殊情况下，如病人近期无输血（抽取配血试管后未输血）或妊娠，病人的血管条件差而采集血标本困难也可例外。

第三节　各类工作人员岗位职责

1. 临床医师用血时应负的责任

①临床医师必须严格掌握输血指征，做到不需要输血者坚决不输、能少输血者决不多输、若有输血指征要开展成分输血，尽可能不输全血，若病人符合自身输血条件，则应积极开展自身输血，不输或少输同种异体血。

②临床医师要熟悉采供血机构所提供的血液及其成分的规格、性质、适应证、剂量及用法。

③由于输血存在一定风险，输血治疗时，临床医师须向家属或

病人说明输血的目的及可能产生的输血不良反应和经血液传播的疾病，以征得家属或病人同意并签订输血同意书。病人在输血前应检查肝功能及检查是否患有乙型肝炎、丙型肝炎、梅毒、艾滋病，其结果要填写到《输血治疗同意书》上，原始检验单、输血同意书必须与病历同时存档。

④在输血过程中，临床医师必须严密观察病人的病情变化，如有异常反应，严重者立即停止输血，迅速查明原因并做出相应处理。所有输血不良反应及处理经过均应在病历中做详细记录。严重输血不良反应要及时向输血科（血库）及医务科报告。

⑤输血治疗后，临床医师要对输血的疗效做出评价，还应防止可能出现的迟发性溶血性输血反应。

2. 临床护士在输血过程中应负的责任

①在输血前应由2名医护人员对输血申请单、交叉配血试验报告单和血袋标签上的内容仔细核对，并检查血袋有无破损及渗漏，血袋内的血液有无溶血、浑浊及凝块等。

②临输血前，护士应到病人床边核对受血者床号、住院号，呼唤病人姓名以确认受血者。如果病人处于昏迷、意识模糊或语言障碍状态时，输血申请单不能认证病人时，需要在病人入院时将有病人姓名和住院号的标签系在病人的手腕上，保留至出院为止。

③核对及检查无误后，遵照医嘱，在严格无菌操作下将血液成分用标准输血器输给病人。

④输血时要遵循先慢后快的原则，输血开始前15分钟要慢（每分钟约2ml）并严密观察病人的病情变化，若无不良反应，再根据需要调整速度。一旦出现异常情况应立即减慢输血速度，及时向医师报告。

⑤输血结束后，认真检查静脉穿刺部位有无血肿或渗血现象，并做出相应处理。若有输血不良反应，应记录反应情况，并将原袋剩余血妥善保管，直至查明原因。护士还应将输血有关化验单存入病历，尤其是交叉配血报告单及输血同意书应放入病历中永久

保存。

3. 临床在用血时应防止医源性血液传播性疾病的交叉感染

在医源性感染中有多种经血液传播的疾病，除乙型肝炎、丙型肝炎、巨细胞病毒、梅毒、疟疾外，最受人们关注的是艾滋病。医院可以成为这些疾病发生的场所。这就要求各级医院认真贯彻执行卫生部颁布的《消毒管理办法》和《医院感染管理规范》。从用血管理角度考虑，应强调下列几点：

①医院在输血时必须使用一次性注射器、输液器和输血器，这些器材必须使用具有国家或省级医药管理部门和卫生行政部门颁发的生产许可证、卫生许可证的生产单位生产的产品，每批产品必须有检验合格证以及该批产品的出厂日期、消毒日期和有效期；

②输血用的一次性注射器、输液器和输血器用后必须投入消毒液中浸泡消毒、毁形后才能交给当地卫生行政部门指定的回收单位或袋装焚烧处理；

③受血液污染的敷料、纱布、棉球、棉签、纸片等必须收集焚烧；

④凡接触血液的物品，在消毒处理前必须置于密闭容器内（针头要装入耐刺容器内），不得随地乱扔，污染环境。

4. 参与输血的医务人员如何保护自身免患医源性经血液传播的疾病　输血是一种可能接触血液的操作。参与输血的医护人员在操作中稍有疏忽，被带血的针头刺伤皮肤或血液溅入眼结膜，就有患医源性经血液传播疾病的可能性。这就要求参与输血的医护人员应增强预防经血液传播疾病的意识，除严格执行消毒和无菌操作规定外，还要在操作中集中精神，受到血液污染时，应立即用碘酊消毒伤口，并用力挤压伤口使其出血。若血液溅入眼结膜，则应立即用大量清水冲洗局部并接受医学观察。凡患有皮肤破损、感染等情况，应主动向领导说明，暂停输血工作。

第四节 血库质量管理

1. 加强职业道德教育，提高对输血工作重要性的认识 配血、发血的工作过程看似简单，实际上有非常严谨的工作程序，任何微小的疏漏或技术水平等对新血型或血型亚型的认识不足以及临床采血、送血标本过程中的失误等都会直接影响输血安全，导致严重后果。“血事无小事”，由于输血工作的重要性，因此要求输血科的工作人员必须具有高度的责任心、非凡的敬业精神、良好的个人素质、严谨的工作态度和丰富的工作经验。

树立牢固的忠诚于党的卫生事业和爱院敬业精神，树立全心全意为人民服务的思想，在科内开展职业道德教育，教育职工树立讲理想、爱本行、精业务、比奉献的精神，纠正行业不正之风，禁止收受“红包、礼品”，提出各项便民措施，制定德、勤、能、绩的考核标准，并订立奖惩制度，对于工作中表现突出者予以奖励，工作中出现差错或事故者予以批评，讨论并酌情扣除部分奖金。

2. 健全规章制度，确保输血安全 输血是一种治疗措施，但也存在着一定的危险性，除传播疾病外任何微小环节的疏漏都可能出现输血反应，甚至危及生命。为了确保输血安全，必须建立健全各项规章制度和操作规程。

(1)建立行政管理制度：包括岗位责任制度，职工考勤制度，奖惩制度，专业技术人员培训考核制度，人事考核制度，血液储存、发放管理制度，试剂管理制度，质量控制管理制度，仪器设备使用管理制度，检验标本及报告单签收登记制度，交接班制度，档案管理制度，计算机使用管理制度等。

(2)建立值班工作制度：包括标本保管制度、急诊标本处理制度、配血制度、发血制度、查对制度等。

(3)临床输血操作规范：

①填写输血申请单和履行告知程序：各临床需要血时，应认真

填写输血申请单，连同病人血液标本一起递交输血科（血库）做血型鉴定、交叉配血等试验。除急诊外，应至少提早 1 天向输血科（血库）递交输血申请单，3 天内采集的血样有效。

②受血者的病史和血样的检查核对：受血者的病史包括临床诊断、药物史、妊娠史、输血史，特别是以往的输血不良反应记录等。

③ABO 和 Rh 血型的定型：常规的 ABO 定型包括正向定型和反向定型，Rh 定型主要是鉴定 D 抗原。

④输血前检测：交叉配血试验以及不规则抗体的检测。

⑤标签和发血：再次核对输血申请单、配血单、血制品的标签及有效期，确认无误后签字，连同配血单一同发出。

3. *加强库存血液的检查，规范血液领发制度* 工作人员应经常观察冷藏箱、冰箱等的运转情况，如听到报警铃或发现有异常情况必须及时处理。所有的库存血液均应定期检查，并在发出前对每一袋血都应进行检查，并记录检查情况，包括日期、血袋编号、献血员姓名等。凡有下列情况之一，该血液或血液成分不能输注。

①颜色或其他外观有异常；

②红细胞呈现紫红色，或在红细胞层之上观察到溶血带；

③血液出现凝块；

④血浆呈现暗灰色、紫红色、棕色或红色（绿色血浆可能是使用口服避孕药所致，是无害的）；

⑤在管口封闭处有血液或血浆。

第五节　血液领发制度

1. 病房与血库工作人员一定要遵守领发血液的有关制度，防止发生差错。

2. 病房人员应做好输血病人的输血准备，由本科室工作人员凭输血申请单到输血科取血，非该病房医务人员不得代领。

3. 领血时双方必须共同查对输血申请单、交叉配血试验报告单和血袋外观及血袋标签，在核对无误后并由双方共同办好登记手续，才可以将血液领走。

4. 领血的核对内容

①病人姓名、性别、年龄、床号、病案号、血袋号、血型、血量、采血日期、血液种类及交叉配血试验结果。

②血液保存的状况：血袋是否严密，血袋有无裂纹、破损，血袋标签字迹是否清晰，有无脱色或破损，血液外观是否正常。

③如核对异常者一律不得发出：标签字迹破损，字迹不清；封口破损或包封不严，或血袋破损，有裂纹、漏血等；未摇动的血液的血浆与红细胞界面不清，或界面上血浆出现溶血；血浆呈现异常乳糜状或暗灰色；血细胞表面出现灰白色菌落状物；红细胞呈现紫色或高锰酸钾色；血液中有大量凝块或红细胞呈现稀泥状等。

5. 血液制品离开血库后，一经发出立即使用，不得退回。

6. 血液报废。有细菌或真菌生长，发现中度以上溶血或有大量凝块，血袋破损或封口不严密，超过保存期，标签遗失或破损难辨、模糊不清者经主管领导确认、批准，即可做出报废处理。

第六节　输血不良反应和意外监测反馈报告

输血后发现以下情况应及时向输血科报告：

1. 异丙嗪和地塞米松作为输血给药的应用　对输血前常规给予异丙嗪和地塞米松预防非溶血性发热输血反应尚存在争议，其预防效果至今尚未得到证实。据多数临床研究表明，输血前给药组与对照组相比，二者无明显差异。因此，建议临床医师不必将异丙嗪和地塞米松作为常规输血前给药。

非溶血性发热输血反应一旦发生，应立即停止输血并及时给予异丙嗪和地塞米松，可使临床症状迅速得到缓解。即异丙嗪和地塞米松有一定的治疗作用而无预防作用。地塞米松加入血液中

滴注可使血红蛋白变性，需要经另一静脉注射。

2. 在输血过程中或输血后，病人出现皮肤瘙痒或荨麻疹应做如下处理　在输血中或输血后病人出现皮肤瘙痒伴潮红或出现荨麻疹是过敏反应，多为对血浆蛋白过敏所致。处理方法是：停止输血，口服或肌注抗组胺药物，必要时静注地塞米松。再次输血时应选用洗涤红细胞，避免输注血浆及其成分。

3. 引起非溶血性发热反应常见原因

①致热原：一般指引起发热反应的各种微量物质，随着输血器具的不断更新及灭菌条件的改善，现已非常少见；

②免疫反应：由白细胞抗体和血小板抗体所致，尤其是白细胞抗体引起者最为多见，这种反应主要见于多次接受输血和有妊娠史病人；

③其他：细菌污染血液和献血者血浆内存在高效价的白细胞抗体，这两种情况均较少见。

4. 临床预防非溶血性发热输血反应的措施

①采用有生产单位名称和批准文号及在有效期内使用的一次性注射器和输血器；

②输血应严格无菌操作；

③反复发生输血发热反应的病人，再次输血时要选用去除白细胞的红细胞。

5. 病人发生急性溶血性输血反应的症状　在输血过程中或输血后病人出现寒战、高热、腰部疼痛、面色发红、尿呈酱油色或葡萄酒色；或在全身麻醉状态下，手术过度渗血或出血不止，病人发生原因不明的血压下降均应考虑急性溶血性输血反应的可能。

6. 同型输血偶尔也会发生溶血性输血反应　由于红细胞血型系统复杂，血型抗原很多，临床上通常所称的“同型血”，实际上是指 ABO 血型系统和 Rh 血型系统相同，其他红细胞血型系统未必相同者。如果交叉配血不仔细，或者只用盐水介质配血，则有可能检查不出 ABO 血型系统之外的不规则抗体，而此抗体与相应

抗原发生免疫反应，导致溶血性输血反应的发生。

7. *病人发生迟发性输血反应的临床症状* 在输血24小时后，多发生在输血后3～7天，出现无法解释的发热及血红蛋白下降应高度重视。如有黄疸、血红蛋白尿、血浆游离胆红素升高。血涂片发现大量球形红细胞。直接抗人球蛋白试验阳性便可确诊。发生溶血的原因是由ABO血型系统之外的不规则抗体引起的，其溶血程度与抗体效价和输入的红细胞量成正比。

8. *输血引起移植物抗宿主病的预防* 输血相关的移植物抗宿主病(TA-GNHD)是输血最严重的并发症之一。它的发病机制是：

①血液或血液制品含有免疫活性淋巴细胞；

②受血者免疫系统有不同程度的缺陷或显著抑制，从而不能把输入的免疫活性淋巴细胞清除；

③受血者的组织中存在能被植活的献血者免疫性细胞识别的不同组织相容性抗原。

当受血者组织中组织相容性抗原与输入，并与植活的淋巴细胞不相容时，这种免疫活性淋巴细胞就把受血者组织作为异物识别，并产生排斥免疫反应，导致受血者多脏器损害，其临床表现同其他器官移植(如骨髓移植)引起的GVHD相同。该病目前尚无法治疗，死亡率高，应重视预防。预防方法是对有免疫缺陷者，用γ射线照射需要输入的血液或成分，杀灭淋巴细胞。照射后的血液无放射性，对病人和医务人员无害。有人不用γ射线照射，而用最新一代的白细胞过滤器过滤血液或成分，也能起到预防GVHD的作用。

9. *输注经过严格监测的血液或成分，仍有可能发生输血后肝炎或艾滋病* 血站所供血液或成分尽管已按照国家规定做过各项病原体和血清学检测，但由于下列原因仍有可能发生输血后肝炎或艾滋病。

①献血者已感染肝炎或艾滋病病毒，而体内血清学尚未出现

任何改变的“窗口期”献血；

②献血者为低水平的肝炎、艾滋病病毒携带者或抗体效价低于可检测阈值者；

③用于检测的血清试剂灵敏度不高；

④由于技术人员责任心不强，技术操作不当，而导致血清学检测结果“假阴性”。

10. 医师发现受血者可能发生输血引起的肝炎或艾滋病应如下对待

①追踪调查受血者在入院前或输血前是否做过肝功能、乙型肝炎、丙型肝炎、梅毒、艾滋病血清学检查，有无完整的化验报告单；

②根据受血者流行病学资料、临床表现及实验室检查结果进行全面分析，进一步确定此肝炎或艾滋病是否真正与输血有关；

③如初步确诊为输血引起的肝炎或艾滋病病毒抗体阳性，则向医务科报告，按《中华人民共和国传染防治法》及其《实施办法》规定处理；虽然病毒性肝炎和艾滋病均属乙类传染病，但艾滋病在许多方面是按甲类传染病管理的，当发现艾滋病病人、HIV 感染者和疑似的艾滋病病人时，城镇于 6 小时内，农村于 12 小时内，以最快的通讯方式向发现地所属的省、直辖市、自治区卫生防疫部门报告，并同时报出传染病报告卡；

④医务科应及时与采供血机构的业务科室联系，必要时向卫生行政部门报告，以便查找献血者的检查资料并追踪献血者；

⑤经卫生行政部门调查，如未发现采供血机构违反国家的有关规定，则由医务科或卫生行政部门向病人家属做必要的解释，属责任事故按《医疗事故处理办法》的有关规定处理。

第七节　自身储血工作管理制度

1. 全血、血液成分入库前要认真核对验收。核对验收内容包

括：运输条件、物理外观，血袋封闭及包装是否合格，标签填写是否清楚齐全（供血机构名称及其许可证号。供血者姓名或条形码编号和血型、血液品种、容量、采血日期。血液成分的制备日期及时间，有效期及时间。血袋编号/条形码，贮存条件）等。

2. 输血科（血库）要认真做好血液出入库、核对、领发的登记，有关资料需保存10年。

3. 按A、B、O、AB血型将全血、血液成分分别贮存于血库专用冰箱不同层内或不同专用冰箱内，并有明显的标识。

4. 保存温度和保存期（表14-1）。

表14-1 血液制品保存温度及保存期

品种	保存温度（℃）	保存期
浓缩红细胞（CRC）	4±2	ACD保养液21天 CPD保养液28天 CPD-A保养液35天
少白细胞红细胞（LPRC）	4±2	与受血者ABO血型相同
红细胞悬液（CRCs）	4±2	（同CRC）
洗涤红细胞（WRC）	4±2	24小时内输注
冰冻红细胞（FTRC）	4±2	解冻后24小时
手工分离浓缩血小板（PC-1）	22±2	24小时（普通袋）或5天（专用袋制备）
机器单采浓缩血小板（PC-2）	22±2	（同PC-1）
机器单采浓缩白细胞悬液（GRANs）	22±2	24小时内输注
新鲜液体血浆（FLP）	4±2	24小时内输注
新鲜冰冻血浆（FFP）	−20	1年
普通冰冻血浆（FP）	−20	4年
冷沉淀（Cryo）	−20	1年
全血	4±2	（同CRC）
其他制剂按相应规定执行		

当贮血冰箱的温度自动控制记录和报警装置发出报警信号时，要立即检查原因，及时解决并记录。

5. 贮血冰箱内严禁存放其他物品；每周消毒 1 次；冰箱内空气培养每月 1 次，无真菌生长或培养皿(90mm)细菌生长菌落＜8CFU/10 分钟或＜200CFU/m^3为合格。

第八节　合血操作规程

一、交叉配血试验

1. 主(次)侧管加入受(供)血者血清 1 滴(50μl)，加供(受)血者 3%～4%红细胞盐水悬液 1 滴。

2. 各管加低离子介质 3 滴，静置 1 分钟，加凝聚胺 1 滴，混匀，以 3 500r/min 离心 15 秒，扣摇，肉眼可见明显的凝集状(如无凝集须重做)，再加 1 滴假凝集清除液于管底，轻摇，凝集 1 分钟内消失呈现均匀混悬液，再将反应物倒于玻片上借助显微镜观察，镜下无凝集红细胞为阴性，1 分钟内凝集不能被消除，为阳性。

3. 结论　阳性表示受(供)血者血清中含供(受)血者红细胞血型抗原相应的抗体，或供受血者不相容；阴性表示供受血者相容。

二、注意事项

1. 操作者须严格按操作说明书进行试验，红细胞浓度、血清滴度、反应时间、离心速度等均可影响试验结果。

2. 若为弱凝集结果，本试剂盒按下述试验操作方法，还可进一步提高试验灵敏度。试验操作方法如下：重新取检测血清 2 滴，3%～4%红细胞盐水悬液 1 滴，加低离子介质 0.8ml，混匀，静置 1 分钟，各管加凝聚胺 1 滴，混匀，3 500r/min 离心 15 秒，倒出上清液(残留约 0.1ml)扣摇，肉眼可见明显的凝集状(如无凝集须重

做)，加假凝集清除液1滴于管底，轻摇，凝集1分钟内消失呈现均匀混悬液，为阴性，凝集1分钟内不能被消除，即为阳性。

3. 检测标本应为非抗凝血，如标本中含抗凝成分的含量过高明显干扰凝集反应时，可适当调加凝聚胺的滴量，以中和抗凝成分的干扰。

4. 试验温度以20～37℃为宜，水浴1分钟，在此温度下观察凝集消失，说明存在冷凝集素。

（张　维　袁英泽　赵书城）

第15章　输血技术与输血护理

输血技术和输血护理在临床工作中，占有重要地位。输血技术与输血护理技术高低与否，在某些方面直接关系到能否达到安全有效输血的目的。因此，对一名护理工作者来说，要有足够的认识，高度的责任心，并具备高超的输血护理技术。

第一节　输血技术

一、塑料输血器材

(一)一次性输血塑器

如输液器输血袋以及输血过滤器，应符合下列条件，方可应用于临床。

1. 无菌、无致热原、无过敏反应。
2. 不引起溶血反应。
3. 材料来源广泛。
4. 价格低廉。
5. 制造方便。
6. 贮存血液保养液不发生化学反应。
7. 材质柔软。
8. 透明性好，可直接观察到内容物。
9. 能耐高温高压消毒。
10. 耐寒性能好，如血袋应在－80℃静放仍能保持完好无损。

(二)血袋

血袋依用途不同,可分为单袋、二联袋、三联袋、四联袋以及双二联袋等。

1. 单袋　主要用于采集、贮存和输注血液。由袋体、采血管、采血针和护针帽、隔膜管及标签等部分组成密封系统(图 15-1)。

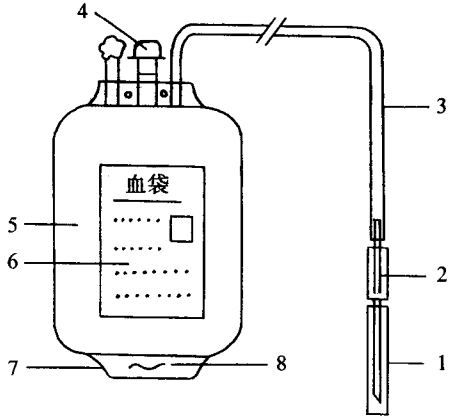


图 15-1　塑料单血袋示意图

注:1. 采血针护套;2. 采血针;3. 采血管;4. 隔膜管和护帽(套);5. 袋体;6. 血袋标签;7. 袋尾;8. 悬挂孔

使用前注意下列几点:

①血袋成品袋内装有抗凝剂,要经严格的无菌处理;

②袋外应有清楚并与血液颜色有较大区别的标签;

③袋内腔周边应圆滑无死角,便于血液与抗凝剂混合均匀;

④压封线应牢固,不得使袋内液体渗漏,采血针和护套及采血管之间的连接要紧密牢固,严防渗漏;

⑤采血管内直径应不小于 3mm,外径约为 4mm,一般总长度为 60～80cm,采血管外表面应有若干段同码字组,以便采血热封成段供血型及交叉配血所用;

⑥采血袋上端的隔膜管，通常为注塑成型，纵剖面呈 H 形，中部隔膜不得有裂纹，当将输血器插针刺破隔膜，血液即可输注；

⑦血袋的标签为不干胶的粘贴剂的纸质标签，可供采血书写供血者姓名、血型、日期、采血者、采血量以及供血者条码号、产品条码号、血型条码号等。

2. 多联袋　由母袋和子袋组成。母袋（主袋）连接一个子袋或几个子袋成为一个完整的密封管袋系统，供血液及其成分的采集、分离、转移、贮存和输用。依据母袋连接子袋的数目多少，可以分为二联袋、三联袋、四联袋以及双二联袋。这些子袋可分别收存母袋分离的血浆、血小板、白膜洗涤红细胞等血液制品。二联袋和三联袋通常结构如图 15-2、图 15-3。

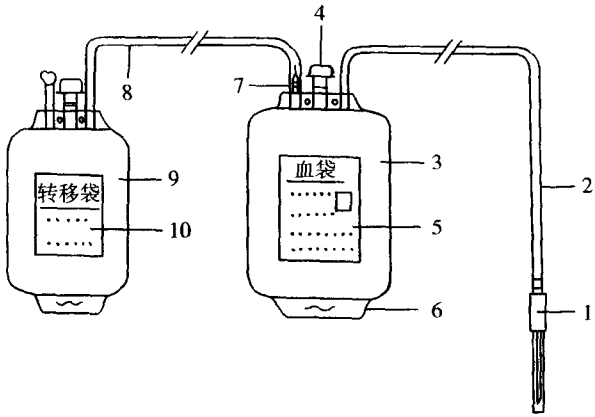


图 15-2　二联血袋示意图

注：1. 采血针；2. 采血管；3. 主袋袋体；4. 隔膜管；5. 血袋标签；6. 袋尾；7. 折断即通管；8. 转移管；9. 转移袋；10. 转移袋标签

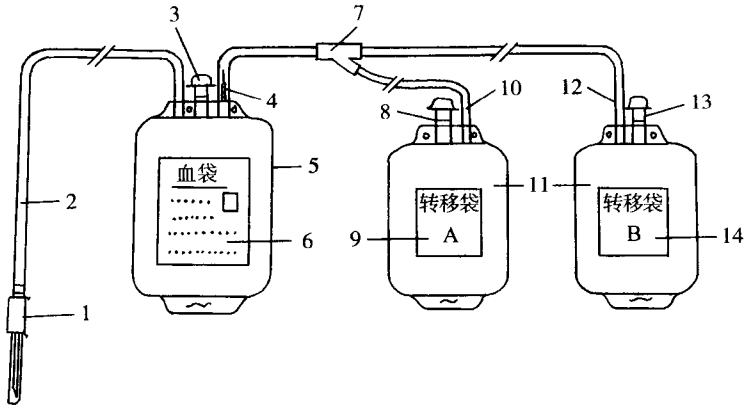


图 15-3 三联血袋示意图

注:1. 采血针;2. 采血管;3、8、13. 隔膜管;4. 折断即通管;5. 主血袋;6、9、14. 标签;7. 三通管;10、12. 转移管;11. 转移袋

(三)输血器

输血器通常有 2 种,即一种为单头塑料输血器,另一种为双头塑料输血器。其结构见图 15-4 及图 15-5。

输血器使用应注意以下几点:

1. 零部件应齐全,各连接处应牢固,导管应无死折或扭结及无压扁变形。

2. 用手挤压输血器小包装袋时,应无漏气现象。

3. 漏斗上下导管夹紧后,用手挤压漏斗应立即复原,否则,可出现漏血现象。

4. 输血器排气过滤后,如血液不能进入输血器管内,可能是输血器内腔有阻塞,要更换输血器。

5. 输血器充血速度不宜过快,如有微气泡时,可用手指弹击管道,使气泡流出或浮上漏斗。

6. 双头输血器的接袋针与接输液瓶针有区别,使用时应注意。

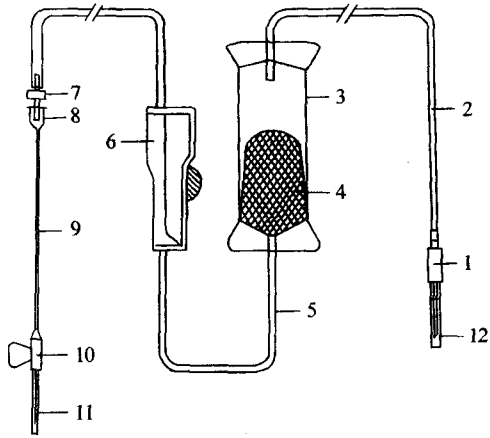


图 15-4　单头塑料输血器

注:1. 引血针;2. 上导管;3. 滤滴斗;4. 滤网;5. 下导管;6. 轮控速夹;7. 接针管;8. 塑料针座;9. 塑料小管;10. 静脉输血针;11、12. 护针管

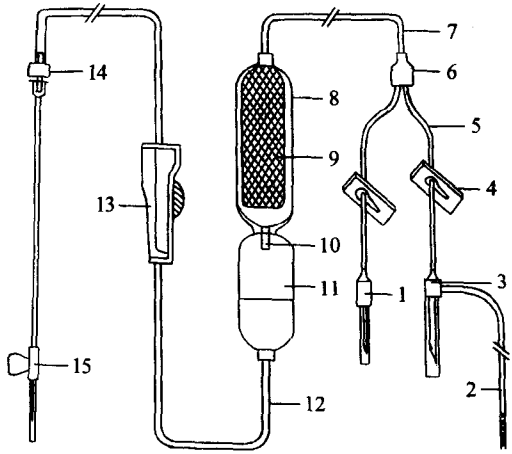


图 15-5　双头塑料输血器

注:1. 引血针;2. 通气管;3. 塑料插瓶针;4. 夹片;5. PVC 管;6. 三通管;7. PVC 管;8. 滤斗;9. 滤网;10. 滴管;11. 滴斗;12. PVC 管;13. 滚轮控速夹;14. 接头;15. 静脉输血针

(四)白细胞滤器

20世纪90年代初,中国医学科学院输血研究所研制出柱滤器;双威牌和赛尔金牌均为扁平状滤器,于1995年前后由南京两个厂家研制。随后国内康福牌、高力特牌等白细胞过滤器相继上市。2006年,淄博中保康医疗器具有限公司研制出了国家级新产品,即一次性使用病毒灭活装置配套用输血过滤器,见图15-6、图15-7。

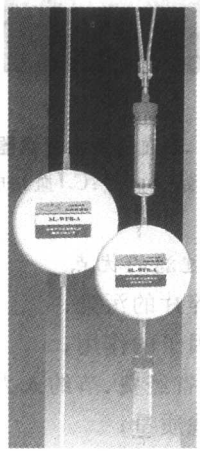


图15-6 白细胞滤器

1. 作用

①减少因白细胞引起的输血反应;

②减少输血后移植物抗宿主病(GVHD)等;

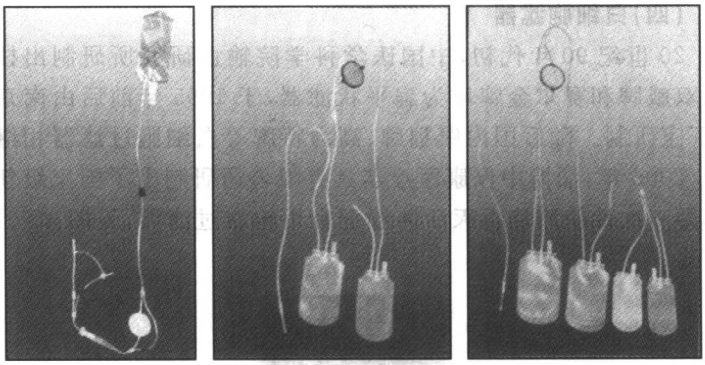
③减少成人呼吸窘迫综合征(ARDS);

④减弱亲细胞病毒感染;

⑤减少人类T淋巴细胞病毒-1(HTLV-1)感染;

⑥减少巨细胞病毒(CMV)等感染;

⑦减少人免疫缺陷病毒-1(HIV-1)感染。



A　　B　　C

图 15-7　输血白细胞过滤器示意图

注：A. 血库型；B. 血站全血型；C. 血站成分型

2. 血液制品贮存前过滤的优点

①可以减少白细胞碎片的污染；

②减低致热性细胞因子的作用；

③可以批量过滤，节省经费、节约人力；

④可以保证血液过滤质量；

⑤操作时间短，200ml 全血约 10 分钟即可完成。

二、输 血 方 法

临床输血常用的方法有直接输血法、间接输血法及换血法三种。

(一)直接输血法

使用于边远地区无血库的基层医院的抢救用血及用血量少于 50ml 的婴幼儿的输血。

输血材料：

1. 50～100ml 一次性塑料注射器 1 支。

2. 3.8%枸橼酸钠注射溶液。

3. 无菌消毒盘1个。

4. 枸橼酸钠溶液与血液的比例为1∶10。

(二)间接输血法

间接输血法即传说的重力输血法,已有近百年的历史,是目前临床输血的主要方法,即将供血者的血液采集于有抗凝药的血袋内,并将其分离加工为成分血,低温贮存待用,一旦临床急需输血时,用静脉输液法将血液输入病人体内。

(三)换血法

换血法是先从病人体内抽出一定量的全血或血液的某种成分,然后再将某一成分血或全血及置换液输入病人体内,主要用于疾病的治疗以及新生儿的换血治疗。

三、输血温度

一般临床常规验血,库存(4～6℃)血液不需加温,因血液由交叉配血到临床输血需20～60分钟,这段时间一般可使库存的冷血回复至室温(15～25℃),其临床输血是安全的,但遇下列特殊情况之一者需加温输注。

1. 受血者体内冷凝集素较高者。

2. 婴幼儿换血治疗时。

3. 输血量在2 000ml以上者。

4. 加压快速输血时。

四、输血量与输血速度

输血量和速度应视病人病情、年龄、心功能、肺功能、肾功能以及贫血程度等而定。对于急性失血并伴有休克者,应大量快速加压输血;对于一般性贫血病人,一次输血以1～2U为宜;对于心肾功能不全或心肾衰竭者,以每次输注1U新鲜血为宜,输血速度应严加控制,按1ml/(kg·min)计算。输血速度通常以5～10ml/min,1U血需30～60分钟输毕。

五、输血途径

(一)静脉内输血

静脉内输血是临床输血首选途径,常用的输血静脉有周围静脉、腔静脉、颈外静脉及锁骨下静脉。但如果使用不当,也会造成失败。

1. 静脉的选择

①成人应先选暴露最明显,便于穿刺的肘窝前的肘正中静脉、贵要静脉或头静脉,其次有内踝前上方的大隐静脉;

②1 岁以下婴儿多用头皮静脉,对肥胖的病人输血,一般选择大隐静脉,新生儿应选用脐静脉输血;

③儿童,较常用的是手背静脉和大隐静脉。

静脉输血除考虑年龄外,还要根据病人的手术部位及创伤部位来选择。如头颈部、上肢的手术者选用下肢静脉输血,以防血液在进入心脏前从手术或创伤部位流失;而下肢、盆腔和腹部的手术,应选用上肢或颈部静脉输血。

2. 静脉穿刺

①穿刺部位消毒应先用 2.5%碘酊消毒,碘酊干后再用 75%乙醇脱碘,消毒面积不小于 8cm×8cm;

②穿刺要点,扎好止血带,消毒穿刺部位,左手绷紧皮肤,右手持针,针头斜面向上,将针头快速刺入静脉,针尖进入静脉后沿静脉方向向前进 1cm 左右,回血后用胶带固定住针头;

③穿刺针一般以 10°~20°进针,如脂肪较厚,静脉较深者,其进针角度要大于 20°,针头刺入静脉后须放平,以防刺穿静脉;

④遇不易穿刺的静脉,可用左手拇指绷紧皮肤,用消毒后的示指压住可触及的静脉,右手持针进行穿刺,动作要熟练,避免穿刺部位感染;

⑤对穿刺失败的静脉应尽量避免反复穿刺,因为疼痛刺激可引起迷走神经兴奋,引起血管痉挛等现象。

3. 静脉留置导管术　对于较长时间需要反复输血者，可将小塑料管代替金属针留置在静脉内，以备下次输血。

4. 静脉切开输血　静脉切开输血最常用的是大隐静脉。用于病情紧急而静脉输血困难的病人，但不得超过48小时。

5. 静脉输血穿刺失败的原因有以下几点：

①静脉细小，针头无法进入；

②静脉较深不易找到；

③静脉栓塞，如静脉炎等；

④静脉塌陷难以找到，如休克、脱水等原因；

⑤静脉瓣堵塞针头；

⑥针头刺穿血管壁而渗血或形成血肿；

⑦针头斜面被静脉壁堵塞；

⑧针头滑出静脉，因针头未固定或病人不配合。

6. 穿刺失败后的处理

①输血护士上岗前应经过严格培训，具备专业知识和熟练的操作技能；

②输血针头的内径不小于1mm，针头的斜面不宜太长，但一定要锋利；

③输血时选择较明显易穿刺的静脉；

④对危重病人急需输血但静脉又充盈欠佳时，可实行静脉切开输血。

(二)动脉内输血

动脉输血可以将血液直接输入冠状动脉内，使心肌和中枢神经系统的缺血得到改善，见效快，且能维持已恢复的血容量和血压。

1. 动脉的选择　任何动脉均可用于输血，通常多选用腕部的桡动脉，因其部位操作最为方便。可能时，最好将血液输入相应的大动脉内。

2. 输血方式

(1)动脉穿刺:可选用浅而大的动脉,容易穿刺的动脉,或手术视野内已暴露的动脉;

(2)动脉切开:必要时可将动脉切开输血,其不足之处是必须在输血完毕后将动脉结扎,但结扎也可引起远端肢体供血不足或坏死,应引起注意。

3. 动脉输血的适应证

①因失血病人心搏刚停止或处于濒死状态时;

②急性大量失血且静脉输血无效的病人;

③窒息或出现麻醉意外者。

4. 动脉输血的要求

①动脉输血器具:目前市售的有过滤、加压、测压和测温等为一体的专门动脉输血器。

基层医院如无专门设备,可用几支一次性 100ml 塑料注射器交替抽血注射入动脉内。

②动脉输血的压力:动脉输血的压力必须大于动脉收缩压。输血速度取决于输血压力与动脉压两者之间的差距,差距愈大则输注速度愈快。通常动脉输血的压力可从 6.7～13.3kPa(50～100mmHg)开始,以后根据情况增加,但一般控制在 26.7kPa(200mmHg)为宜。

③血液加温:用于动脉输血的血液应进行加温处理。输注温度过低的血液可以引起动脉痉挛,并可使体温下降,严重时可出现输血反应。

血液加温的器具可选用 37℃水浴箱、微波炉、溶浆机等。

④氧含量:动脉输血的血液的含氧量最好和动脉血的一样。有条件时可使用光量子库血,即将库存血液经紫外线照射与充氧同步进行处理的库存血液,该种血液的输注,对抢救危重病人提高病人的氧分压,控制感染极为有利。

5. 动脉输血效果　动脉内输血的疗效,对输血的速度和输血量有直接的关系。在输入血量合适时,输注速度愈快,病人恢复也

愈快，一般输入1～4U血液后，病人临床症状可明显改善，血压恢复后即应改为静脉输血途径。

6. 动脉输血注意事项

①无动脉输血指征时，不应轻易使用动脉输血；

②心肾功能不全者不宜采用动脉输血；

③动脉输血的同时，要做好止血工作，也可适量输用冷沉淀及血小板等；

④动脉输血的同时，要采取系列的复苏措施。

7. 动脉输血的合并症

①动脉痉挛；

②动脉栓塞；

③肢体的营养性改变。

(三)宫内胎儿输血

宫内输血有很高的胎儿死亡危险，因此，临床医师须对患儿的病情经过综合分析之后才能做。宫内输血只有妊娠到24～26周时才能做。

1. 宫内输血的指征：

①胎儿血红蛋白<100g/L，或血细胞比容<30%；

②遗传性出血性疾病；

③胎儿水肿；

④同种免疫性血小板减少症或同种免疫性溶血病。

2. 宫内输血方法

(1)经胎儿腹腔内输血

①用一根针通过母亲的腹壁和子宫壁到胎儿的腹腔内进行的。预先向羊膜内注射不透X线的染剂，以显影婴儿的腹腔。然后把一根导管通过针进入婴儿腹腔内进行输血。将红细胞注入胎儿的腹腔内，红细胞再通过腹膜吸收而进入胎儿循环。

②输血量一般按妊娠时间长短来定。有学者主张在妊娠20～22周输血20ml，23～24周输血30ml，25～26周输血35ml，27～

30 周输血 50ml，31～33 周输血 70ml。

③输血速度与输血间隔。输血速度一般为 5～15ml/min。输血后，胎儿血细胞比容以每天大约 1%的速度下降，所以每 2～3 周需要补充 1 次，直到胎儿可在宫外存活。

④输血并发症及注意事项：宫内输血可引起并发感染、早产、胎膜早破及胎盘早剥等危险；胎儿腹腔内输血易造成实质性脏器损伤，可在 48 小时死亡；有腹水者宜在输血前去除腹水，以避免因腹内压过高导致腹股沟疝、脐疝。

(2)经胎儿脐血管输血

该方法主要适用于严重 Rh 血型不合导致的胎儿水肿，腹腔内输血疗效欠佳者，以及严重免疫性血小板或血小板减少症患儿的血小板输注。在 B 超或超声波扫描导向下进行可直接穿刺脐带血管或经母体腹壁穿刺脐静脉。

①输血量为妊娠 20 周 10ml，26～27 周 25 ml，30～31 周 48ml；

②输血速度为 2ml/min，输血时间同腹腔内输血。

3. 血液成分的选择　输注的血液应与母血进行交叉配血试验，采用配合的 O 型 Rh 阴性的去白的浓缩红细胞，巨细胞病毒抗体阴性，有条件者可辐照红细胞，以免产生宿主对移植物的排斥反应。

(四)其他输血途径

1. 心脏内输血。

2. 脊髓内输血。

3. 腹腔内输血。

以上输血途径，均因操作困难，在临床上很少使用。

第二节 输血护理

一、输血护理人员的基本要求

一名合格的护士，应该了解和掌握ABO、MN、Rh等血型系统的有关知识，对临床输血的适应证、禁忌证以及并发症有充分的认识；应了解输血传播疾病、输血免疫反应和成分输血等一般知识；各专科护士还应熟悉专科常用血液成分的性质、特点、适应证、禁忌证、输血方法和各种输血反应意外以及抢救措施。

二、输血护理常规

(一)输血前的护理常规

1. 护理人员除具备上述输血相关知识外，还必须有过硬的输血技术，树立无菌操作观念，并严格执行输血的各项操作规程。

2. 严格执行查对制度

①“三查”：查血液的有效期，血袋的封口有无破损、渗漏，标签是否清晰；查血液质量(表15-1)；查盛放血液的血袋的有效期，是否污染、漏气、是否完整无损。

②“八对”：对病人的姓名、床号、病历号、血袋条码号、血量、血液成分品种、血型以及输血申请单。

表15-1 正常、异常库血区别

	红细胞	血浆	界面	血块或异物	气味
正常库血	暗红色	淡黄色、半透明	血浆与细胞分明	无	正常
异常库血	暗紫色	变红或浑浊或有泡沫	血浆与细胞层不清	有血块或异物	有臭味

3. 配血前的准备

(1)“三查、八对”,准备抽配血样标本的消毒器材。

(2)配血操作要求:

①病人姓名、科室、床号、血型等要与输血申请单及标本试管一致,方可采集血标本;

②采集病人配血标本要求2名护士执行,采集完毕后签名送输血科,以备血型及交叉配血用,如同一科室多名病人需输血时,应排好顺序,逐个采集配血标本;

③配血标本严禁从输液的静脉中采集,避免药物等干扰配血结果;

④配血标本要新鲜,能代表病人当前的免疫状况,严禁使用超过72小时的血标本;

⑤血型鉴定报告要及时送病房,贴在病历规定处,并将结果告诉病人或家属,以便输血时相互查对。

4. 输血准备与要求

(1)输血时,临床工作人员要凭领血卡或病历到输血科取血。

(2)核对血袋包装上的以下内容:

①血站的名称及其许可证号;

②供血者的姓名(或条形码)、血型;

③血液的品种;

④采血日期及时间;

⑤有效期及时间;

⑥血袋编号或条形码;

⑦贮存条件;

⑧血液包装应符合国家规定的卫生标准和要求。

(3)输血前要在病人床关“三查、八对”,无误后方可输注。

(4)取血过程中,血袋要轻拿轻放,不宜震荡,以免破坏血细胞。

(5)同一时间多人输血时,不可一并取回,最好一次只取一份

血液，以免错输注他人血液。

(6)核对血型时，如病人神志不清或婴幼儿不能配合时，要取得亲属或家长的配合。

(7)对不能配合输血的病人，如癫痫、婴幼儿等必要时亦可在输血前30分钟根据医嘱注射安眠药。

(二)输血中的护理

1. *输血方法* 详见第一节输血技术。

2. *输血护理要求*

①做好输血有关记录；

②输血速度，参见相关章节；

③严禁将其他药物加入血液中，以免发生血液质量问题；

④输血前后及输前一袋与后一袋的中间，均需要用生理盐水冲洗输血器；

⑤取回的血液应尽快输注，不得自行保存血液；

⑥输血持续6小时以上时，应更换输血器，因输血时间过长，血液中的内容物易沉淀在过滤器中，影响滴速压，有发生细菌污染的可能，易引发输血反应；

⑦同时输用多种成分血时，应先输血小板、冷沉淀、白细胞等，再输新鲜血，最后输库存血；

⑧输血过程中应先慢后快，并要严密观察受血者有无输血不良反应，如出现异常情况，要立即减慢输血速度或停止输血，用生理盐水维持静脉通路，同时立即通知值班医师和输血科值班人员，及时检查、治疗和抢救；

⑨输血异常反应发生后，要将原血袋妥善保管，并报告相关部门，查明原因。

(三)输血后的护理

1. 输血完毕后，用无菌棉球或敷料胶布固定，或用创可贴压迫针眼止血。

2. 输血后嘱咐病人24小时内不得洗涤针眼处。

3. 一次性输血器用后应登记并做专门处理。

4. 输血后空血袋应送输血科，4～6℃保存 24 小时后销毁。

5. 输血后将输血反应卡填好，及时送回输血科保存。

6. 输血有关资料要保存期 10 年以上。

第三节　成分血输注护理

成分输血具有疗效好、副作用小、节约血液资源以及便于保存和运输等优点，故临床应用广泛。临床护士应了解成分血的有关知识，掌握成分血的技术操作及输注护理。

成分血的输注操作与护理要求与静脉输注血的要求大体相同。但视其成分内容，输血护理要求与注意事项也有差异。

一、红细胞制品的输注及护理

(一)浓缩红细胞的输注护理

1. 浓缩红细胞的特点　浓缩红细胞黏度高，血细胞比容为 0.7～0.8。1U 浓缩红细胞含血浆 30ml，抗凝剂 8～10ml，其 1U 为 110～120ml。

2. 输注护理

①严格执行医嘱，按护理常规进行“三查、八对”；

②核对受血者与供血者血型；

③选择较粗大的静脉血管进行穿刺；

④成人选用 9 号针头，针头进入静脉后要保持一定深度，并固定牢固，确保输注畅通；

⑤使用带有滤网的输血器，孔网标准为 170μm，过滤面积＞30cm²。如过滤面积过小，容易被小凝块或微聚物堵塞；

⑥输注时应选用双头输血器，一头连接血袋，一头接生理盐水瓶(袋)，以备随时冲洗输血器和稀释浓缩红细胞；

⑦输血开始后先关闭盐水通道，放开血袋调节夹。先以 15

滴/分钟滴速输注，15 分钟后无输血反应时，可适当加快输注速度；

⑧常温下，1U 浓缩红细胞应在 4 小时内输注完毕；

⑨如遇输注不畅时，可放开生理盐水夹，向浓缩红细胞血袋内加入一定量的生理盐水，降低浓缩红细胞浓度，使其输注流畅；

⑩输注过程如发生堵塞时，要及时更换输血器，决不可强行挤压过滤网和输血管，以免凝块进入血管，造成血管栓塞；

⑪婴幼儿输注时，应先常规将浓缩红细胞进行稀释后，再输注，因其所用针头较小；

⑫输血完毕后，开放盐水通道，冲洗输血器内的残留血液，减少浪费。然后取下空血袋送交输血科保存 24 小时后，方可处理。

(二)红细胞悬液的输注与护理

1. *红细胞悬液的特点* 由 200ml 或 400ml 全血经离心后除去血浆，加入适量红细胞添加剂制成。4℃在 CPDA 保存液中可保存 35 天。

2. *输注护理*

①静脉穿刺要求及输血方法同浓缩红细胞；

②输注不畅时，可能因红细胞沉积于血袋下端所致，此时可将血袋从输血袋架钩上取下，平放于护理人员手掌上，上下于 30°夹角，以每分钟 60 次频率摇摆血袋(图 15-8)，使红细胞与添加剂充分混匀后再继续输注；

③一般 1U 红细胞悬液约需 2 小时输完，遇有特殊情况输注时间最长不应超过 4 小时。

(三)洗涤红细胞的输注与护理

1. *洗涤红细胞的特点* 由全血经离心去除血浆和白细胞，用无菌生理盐水洗涤 3～4 次，最后加入适量生理盐水悬浮。白细胞去除率＞80%，血浆去除率＞90%，红细胞回收率＞70%。

2. *输注护理*

①输注方法同浓缩红细胞；

图 15-8　30°摇摆血袋示意图

②制成后的洗涤红细胞必须尽快输注，最长时间不得超过 24 小时。因洗涤红细胞制剂内无保养液，故不宜保存。

(四)年轻红细胞的输注与护理

1. *年轻红细胞的特点*　年轻红细胞是根据红细胞的年龄不同，其红细胞的体积、密度、比重等，经离心分离制成，输入体内后红细胞存活时间长，携氧能力强，对长期依赖性输血的病人可以延长输血间隔时间。

2. *输注护理*

①输注方法同浓缩红细胞；

②输注不畅时，可以开通双头输血器上端生理盐水通道，加入适量的生理盐水，悬浮年轻红细胞后再输注。

(五)冰冻红细胞的输注与护理

1. *冰冻红细胞的特点*　是将 6 天内库存全血经离心后，去除血浆、血小板、白细胞，将剩余的浓缩红细胞加甘油制成。在不同超低温下可保存 3～10 年。输用前需进行去甘油处理，最后加生理盐水悬浮后输用。

2. *输注护理*

①输注方法同浓缩红细胞；

②经去甘油处理后的红细胞和洗涤红细胞基本相同，故不宜保存，必须在 24 小时内输完；

③该成分血的输注主要适用于稀有血型的输血，因其血源奇缺，输注操作时格外小心，不可浪费血液。

二、浓缩血小板输注与护理

1. 浓缩血小板的特点

(1)多由400ml新鲜全血经离心制成2U浓缩血小板。血小板含量为≥4.0×10^{10}/袋，规格为40～50ml。

(2)机采血小板是用细胞分离机单采技术，从单个供血者循环血液中采集，血袋内含血小板≥2.5×10^{11}，其容量为150～250ml，22℃放置在血小板振荡仪上可保存5天。

2. 输注护理

①手工制备的血小板输用时，需核对ABO、Rh血型；

②手工制备的血小板输用时，要采集受血者的血样，送输血科做交叉配血试验；

③机采血小板输用时，最好同型相输，但不必采集受血者血样本做配血试验；

④同一受血者输用多袋血小板时，可无菌操作将多袋汇集于一袋内，有条件可在超净台内操作；

⑤取、输血小板时，动作要轻，不可剧烈振荡，避免发生不可逆转的聚集；

⑥输用时要选用标准输血器输注，严禁用微孔滤器输注，防止血小板被滤器清除而损失；

⑦制备好的血小板要立即输用；

⑧输注速度要快，以病人能耐受为准，一般每分钟80～100滴；

⑨输注全过程要由护理人员床前严密观察，掌握输注速度，以免发生意外；

⑩血小板在传递及输注过程中要注意保温，尤其在冬季更应注意；

⑪血小板价格较高，输完后可用生理盐水冲洗血袋及输血器。

三、白细胞输注与护理

1. 白细胞的特点　一般多采用细胞分离机单采技术，由单个供血者循环血液中采集。每袋即机采一人份内含白细胞≥1×10^{10}。

2. 输注护理

①认真核对医嘱；

②核对 ABO、Rh 血型；

③采集受血者血样本，输注前做交叉配血试验，因其含较多红细胞、血小板及淋巴细胞；

④使用带滤网的标准输血器；

⑤静脉穿刺方法同全血输注；

⑥制备后应立即输注，因白细胞在室温的有效期为 24 小时；

⑦控制输注速度，因限制输注速度是降低输注反应的主要措施之一，对有 HLA 同种免疫输血反应的病人，输注速度要尽量减慢，并应严密观察输注过程中有无不良反应。如一旦发生不良反应，应立即停止输用，及时予对症处理。

四、血浆输注与护理

1. 血浆的特点

①新鲜冰冻血浆是采血后 6 小时内将血浆分离，并迅速在－30℃以下冰冻保存，容量约 100ml/U，保存期为 12 个月；

②普通血浆由全血保存期间或过期 5 天内以及 FFP 制成的，－20℃以下可保存 5 年；

③新鲜液体血浆由新鲜全血经离心后制成。

2. 输注护理

①护理人员要了解各种血浆特点以及适应证；

②严格核对并执行医嘱；

③认真核对受血者与供血者的血型，最好同型输血，特殊情况下也可 ABO 血型相容输注；

④不需采集受血者血标本，不用做交叉配血试验，因其不含红细胞及血小板等抗原；

⑤Rh 阴性病人要输 Rh 阴性血浆；

⑥冰冻血浆输用时，需融化，有条件可首选冰冻血浆解冻箱，也可使用微波炉以及 37℃水浴箱解冻；

⑦冰冻血浆不可在自来水管或室温下自然融化，因其温度低，可使血浆纤维蛋白析出，形成沉淀物，影响输注质量；

⑧融化后的血浆量半透明或淡黄色，如发现颜色有异常或有异物时不可输用；

⑨融化后的血浆应立即输注，不可再冻；如在 4℃环境下暂时存放，也应 24 小时内输用，未输完的剩余血浆不可再用；

⑩运输及解冻之前的血浆，要轻取轻放，不可碰撞，以免血浆破裂；

⑪新鲜冰冻血浆禁止存放 4℃环境中；

⑫输注速度一般为 5～15ml/min 或遵医嘱；

⑬在单位时间内需大量输注时，应根据情况，安排好输注量及输注顺序。

五、冷沉淀的输注与护理

1. *冷沉淀的特点* 冷沉淀由采血 6 小时内分离并在－50℃速冻的血浆，或新鲜冰冻血浆在控制温度 1～5℃条件下融化后，经离心去除血浆后收集的冷不溶部分，容量为 20～25ml/U，－30℃以下保存 1 年。

2. *输注护理*

①输注前核对医嘱，按医嘱要求的剂量输注；

②ABO 同型输注，不必做交叉配血试验；

③输用时用解冻箱快速融化，立即输注；

④融化后的冷沉淀应在 2 小时内输完，因故不能输注时，不可再次冰冻保存；

⑤融化后为澄清或略带乳白色溶液，允许有微量细小蛋白的颗粒存在，如有大量大块不溶物应报告输血科，停止输用；

⑥滴注速度要快，以病人能耐受为限，以便取得最大疗效，一般应在 30 分钟输完；

⑦冷沉淀每单位量少，需大量输注时，输血护士不得离开病床，应及时更换血袋；

⑧随时观察止血效果及不良反应。

六、其他血浆蛋白输注与护理

1. 白蛋白的输注

①严格核对并执行医嘱，准确掌握用量；

②该制品为高张溶液(20%～25%)，不得与红细胞制剂混合输用，以免破坏红细胞；

③不得与可能引起蛋白沉淀的药物一起输用，如氨基酸等药物；

④滴注速度一般为 5%人血白蛋白以 2～4ml/min，25%人血白蛋白 1ml/min；儿童为成人滴注速度的 1/2～1/4；

⑤白蛋白输注偶尔也有少量反应，护士在滴注中也要注意观察，以便及时对症处理。

2. 免疫球蛋白的输注

①严格核对并执行医嘱；

②一般用于肌内注射；

③必要时也可静脉滴注，但不可与其他液体混合输用；

④滴注速度，前 30 分钟为 0.01～0.02ml/(kg·min)，如无不良反应，可将滴注速度调至 0.02～0.04ml/(kg·min)；

⑤如发生急性过敏症状时，可根据医嘱或用常规量注射肾上腺素。

第四节 输血病人的心理护理

随着医学模式的转变及人民健康需要的增长，人们对身心健康日益关注，心理护理显得尤为重要. 由于接受输血治疗的病人也是有血有肉的人，因此，当病人接受输血时，可能有不同的心理状态，提出各种各样的问题和要求，此时，护理人员除应有较高的专业技术和丰富的临床经验外，还要对病人提出的各种问题进行耐心解释，并仔细观察病人心理状况的变化，及时予以心理护理，使输血治疗达到预期目的。

一、营造良好的输血环境

1. 舒适安静的输血房间，是保证安全输血的外环境。因此，输血房间应装饰优美，窗明几净，整洁舒适，通风良好，温度适宜。

2. 护理人员衣着整洁、仪表端庄、举止沉着、化妆得体、知识丰富、精神饱满、面带自然而真诚的微笑，使病人消除陌生感，增加了对护理人员的信任感和自我安全感。

3. 输血护士应具有良好的专业素质，由于病人对输血治疗了解不足，导致不同程度的紧张、恐惧或不信任。针对病人各种心理状况，护士应做好解释工作，消除病人的思想顾虑，解除病人的紧张感。

4. 对进行输血治疗的危重病人，更要体贴入微，护理到位。如病人有排泄物，要及时清理干净，使病人身体清洁、舒适，避免不良因素对病人产生刺激，以利病人配合治疗。

二、做好宣传工作，了解病人状态

1. 输血护理人员，输血前要向病人及其家属做好宣传教育工作，讲解输血治疗的必要性、输血治疗的目的、成分输血的益处、血型的有关知识、输血应注意的事项、可能出现的输血反应，以及应对处理输血不良反应的各种措施。总之，使病人及其家属对输血

治疗的概况有所了解，使病人树立接受输血治疗的信心。

2. 了解和掌握病人的有关信息，如病人的年龄、临床诊断、疾病的性质，有无其他脏器疾病、意识状态、是否有输血史、有无输血反应史、过敏史以及是否有 ABO 血型以外抗体等，以便综合分析、全面考虑、做出正确判断。具体情况具体护理，为安全输血铺平道路。

三、输血全过程的心理护理

1. 在进行输血治疗前，护理人员要与病人进行充分的思想交流和心理沟通，消除其对输血不安全的疑虑，使其对血液的质量、输血的器材以及输血的操作放心，对输血治疗充满信心，精神放松地应对输血治疗。

2. 在输血过程中，如病人出现精神紧张，护理人员应多与其接触，主动与其交谈，勤巡视、多观察，必要时要在床头陪伴，满足病人的心理需要，以解除不必要的顾虑，使病人在心理上得到安抚和鼓励。

3. 对长期多次输血的病人，每次输血操作都要一丝不苟，力争做到穿刺时一针见血，固定牢固，一次完成，主动巡回观察，用严谨的工作作风影响病人，使病人从无言的心理护理中获得安全感。

4. 对年龄大、文化水平低的病人，采取个别讲解，对不易掌握的知识，可采用卡片等形式，使其能理解、接受并记住与输血有关的事宜。

5. 一旦出现输血反应时，在积极处理治疗的同时，加强对病人的心理护理，稳定病人的情绪，向病人家属做好解释工作，当症状缓解后，应及时告诉病人，鼓励病人继续树立输血治疗的信心。

6. 输血后，病人一般都有短期效应，心情好转、病情缓解。医护人员应抓住这一时机，向病人讲述进一步治疗的方案，以及还需要病人继续配合治疗的有关事宜，为其战胜疾病奠定基础。

（张浙岩　王杰华　冯桂敏）

附录 A　全血及成分血质量标准

品种及项目	质量标准
全血	
标签	执行国家有关规定
外观	无凝块、溶血、黄疸、气泡及重度乳糜，储血容器无破损，采血袋上保留至少 20cm 长分段热合注满全血的采血管
容量	ACD-B 方保养液：200ml 全血　250ml±10% 400ml 全血　500ml±10% CPD、CPDA-1 方保养液：200ml 全血　228ml±10% 400ml 全血　456ml±10%
血细胞比容	ACD-B 方保养液：　≥0.3 CPD、CPDA-1 方保养液：≥0.35
pH 值	ACD-B 方：6.6～7.0；CPDA 方：6.7～7.2；CPDA-1 方：6.8～7.4
K^+ 浓度	ACD-B 方：　≤21mmol/L CPDA 方：　≤27mmol/L CPDA-1 方：　≤27.3mmol/L
Na^+ 浓度	ACD-B 方：≥146mmol/L；CPD 方：≥152mmol/L； CPDA-1 方：≥104mmol/L
血浆血红蛋白	ACD-B 方保养液：　≤0.29g/L CPD 方保养液：　≤0.26g/L CPDA-1 方保养液：≤0.72g/L
血型	ABO 血型应正反定型符合，稀有血型应符合血型标签标示
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
浓缩红细胞	
标签	执行国家有关规定

（续　表）

品种及项目	质量标准
外观	同全血
容量	200ml 全血：120ml±10%；400ml 全血：240ml±10%
血细胞比容	0.65～0.80
pH	6.7～7.2
血型	正反定型相符合，稀有血型应符合血型标签标示
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
悬浮红细胞	
标签	执行国家有关规定
外观	无凝块、溶血、气泡，上清呈无色透明，储血容器无破损，采血袋上保留至少 20cm 长分段热合注满全血的采血管
容量	标示量±10%
血细胞比容	0.50～0.65
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
浓缩少白细胞红细胞	
标签	执行国家有关规定
外观	无凝块、溶血、黄疸、气泡、重度乳糜，储血容器无破损，采血袋上保留至少 20cm 长分段热合注满全血的采血管
容量	200ml 全血：100ml±10%；400ml 全血：200ml±10%
血细胞比容	0.60～0.75
残余白细胞	1. 用于预防 CMV 感染或 HLA 同种免疫 200ml 全血：$\leqslant 2.5\times10^6$ 400ml 全血：$\leqslant 5\times10^6$ 2. 用于预防非溶血性发热输血反应： 200ml 全血：$\leqslant 2.5\times10^8$ 400ml 全血：$\leqslant 5\times10^8$

（续 表）

品种及项目	质量标准
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
悬浮少白细胞红细胞	
标签	执行国家有关规定
外观	同悬浮红细胞
容量	同悬浮红细胞
血细胞比容	同悬浮红细胞
残余白细胞	同浓缩少白细胞红细胞
血型	同浓缩少白细胞红细胞
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
洗涤红细胞	
标签	执行国家有关规定
外观	同悬浮红细胞
容量	200ml 全血：125ml±10% 400ml 全血：250ml±10%
红细胞回收率	≥70%
白细胞清除率	≥80%
血浆蛋血清除率	≥98%
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长

（续　表）

品种及项目	质量标准
冰冻解冻去甘油红细胞	
标签	执行国家有关规定
外观	同全血
容量	200ml 全血：200ml±10% 400ml 全血：400ml±10%
红细胞回收率	≥80%
残余白细胞	≤1%
残余血小板	≤1%
甘油含量	≤10g/L
游离血红蛋白含量	≤1g/L
体外溶血试验	≤50%
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
浓缩血小板	
标签	执行国家有关规定
外观	呈淡黄色雾状，无纤维蛋白析出，无黄疸、气泡、重度乳糜，容器无破损，保留至少 15cm 长度注满血小板的转移管
容量	保存 24 小时者 25～30ml 保存 5 天者 25～35ml/200ml 全血，50～70ml/400ml 全血
pH	6.0～7.4
血小板含量	400ml 全血：≥4.0×10^{10}；200ml 全血：≥2.0×10^{10}；
红细胞混入量	400ml 全血：≤2.0×10^{9}；200ml 全血：≤1.0×10^{9}；
残余白细胞	同浓缩少白细胞红细胞
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性

（续 表）

品种及项目	质量标准
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
新鲜冰冻血浆	
标签	执行国家有关规定
外观	30～37℃融化的新鲜冰冻血浆为淡黄色澄清液体，无纤维蛋白析出，无黄疸、气泡、重度乳糜，容器无破损，保留至少长度 10cm 注满新鲜冰冻血浆的转移管
容量	200ml 全血：100ml±10% 400ml 全血：200ml±10%
血浆蛋白含量	≥50g/L
Ⅷ因子含量	≥0.7U/ml
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
冷沉淀凝血因子	
标签	执行国家有关规定
外观	30～37℃融化的冷沉淀为淡黄色澄清液体，无纤维蛋白析出，无黄疸、气泡、重度乳糜，容器无破损，保留至少长度 10cm 注满冷沉淀的转移管
容量	25ml±5ml/袋
纤维蛋白原含量	200ml 新鲜冰冻血浆制备：≥150mg 100ml 新鲜冰冻血浆制备：≥75mg
Ⅷ因子含量	200ml 新鲜冰冻血浆制备：≥80U 100ml 新鲜冰冻血浆制备：≥40U
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长

（续　表）

品种及项目	质量标准
单采血小板	
标签	执行国家有关规定
外观	同浓缩血小板
容量	保存 24 小时的容积为 125～200ml 保存 5 天时的容积为 250～300ml
pH	6.2～7.4
血小板含量	$\geqslant 2.5\times10^{11}$/袋
白细胞混入量	$\leqslant 5.0\times10^{8}$/袋
红细胞混入量	$\leqslant 8.0\times10^{9}$/袋
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
单采少白细胞血小板	
标签	执行国家有关规定
外观	同浓缩血小板
容量	同浓缩血小板
pH	6.2～7.4
血小板含量	$\geqslant 2.5\times10^{11}$/袋
白细胞混入量	同浓缩少白细胞红细胞
红细胞混入量	$\leqslant 8.0\times10^{9}$/袋
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
单采新鲜冰冻血浆	
标签	执行国家有关规定
容量	标示量±10%
蛋白含量	≥50g/L

（续 表）

品种及项目	质量标准
Ⅷ因子含量	≥0.7U/ml
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长
单采粒细胞	
标签	执行国家有关规定
外观	无凝块、溶血、黄疸、气泡及重度乳糜出现，血浆颜色呈淡黄色，储血容器无破损，保留采血袋上至少 20cm 长注满粒细胞的采血管
容量	150～500ml
中性粒细胞含量	≥1.0×10^{10}/袋
红细胞混入量	血细胞比容≤0.15/袋
血型	同全血
HBsAg	阴性
HCV-Ab	阴性
HIV- Ab	阴性
梅毒螺旋体血清学试验	阴性
ALT	正常
无菌试验	无细菌生长

（游庆朋）

附录B　输血常用表格

表B-1　××××医院输血治疗同意书

姓名：_____ 性别：(男/女)　　年龄：_____病案号：_____科别：_____

输血目的：_____输血史：有/无　　孕_____产_____

输血成分：_____临床诊断：

输血前检查：GPT 压计___ U/L；HBsAg ___；Anti-HBs ___；HbeAg ___；

Anti-Hbe _____；Anti-HBc _____；Anti-HCV _____；Anti-HIV1/2 _____；

梅毒_____；

输血治疗包括输全血、成分血，是临床治疗的重要措施之一，是临床抢救急危重病人生命行之有效的手段。

但输血存在一定风险，可能发生输血反应及感染经血传播疾病。

虽然我院使用的血液，均已按卫生部有关规定进行检测，但由于当前科技水平的限制，输血仍有某些不能预测或不能防止的输血反应和输血传染病。输血时可能发生的主要情况如下：

1. 过敏反应，2. 发热反应，3. 感染肝炎(乙型、丙型等)，4. 感染艾滋病、梅毒，5. 感染疟疾，6. 巨细胞病毒或 EB 病毒感染，7. 输血引起的其他疾病。

在你及家属或监护人了解上述可能发生的情况后，如同意输血治疗，请在下面签字。

受血者(家属/监护人)签字：_____，_____年_____月_____日

医　　师　　签　　字：_____，_____年_____月_____日

备注：

表 B-2 ××××医院临床输血申请单

NO:0000000

预定输血日期:_____年_____月_____日_____

受血者姓名:_____ 性别:(男/女)

年龄:_____ 病案号:_____科别:_____病区:_____床号:_____

临床诊断:_____

输血目的:_____

继往输血史:(有/无): 孕_____产_____

受血者属地:(本市/外埠)

预定输血成分:_____

预定输血量:_____

受血者:

血型:_____血红蛋白:_____

HCT:_____血 小 板:_____

GPT:_____ U/L _____ HBsAg:_____

Anti-HCV:_____ Anti-HIV1/2:_____

梅毒:_____

申请医师签字:_____

主治医师审核签字:_____

申请日期: 上/下午 时

备注:请医师逐项认真准确填写,请于输血日前送输血科/血库。

受血者姓名:_____受血者姓名:_____

病 案 号:_____ 病 案 号:_____病区_____ 床号_____

血型: NO:0000000 血型: NO:0000000

表 B-3 ××××医院输血记录单

病案号	姓名	性别	年龄
血　型	科别	病区	床号

输血性质：　常规　紧急　大量　特殊

供血者姓名：　血型：

供血者血袋号：　血量：

复检血型结果：

交叉配血试验结果：

不规则抗体筛选结果：

其他检查结果：

复检者：_____配血者：_____发血者：_____取血者：_____

发血时间：　年　月　日　上/下午　时

表 B-4 ××××医院患者输血不良反应回报单

NO. 0000000

病人姓名_____性别_____年龄_____科室_____病案号_____

血型_____诊断_____

供血者_____血型_____ 储血号_____输血量_____ ml

输用何种血液：1. 红细胞悬液 单位；2. 浓缩血小板袋；3. 冷沉淀袋；

4. 全血 ml；5. 血浆 ml；6. 其他：

不良反应： 无 有 （发热，过敏，溶血，细菌，血红蛋白尿及其他）

输 血 史： 无 有 次数 其他

孕产：

注：本回报单务必请临床医师认真填写，及时送回输血科/血库。

发血日期 年 月 日

填报人

表 B-5 _____医院输血科发血登记本

日期	血型	全血量	血浆量	姓名	住院号	病室床号 领血证号	供血者	血瓶号	血型	发血人	领血人

表 B-6 血型与交叉配合登记本

日期	病人姓名	检验分号(输)	住院号	病房床号	病人血型	标本号	输血量 供血员姓名	血袋号	供血员血型	病人、供血员与血清血球	病人、供血员与血清血球	交配结果	检验员签字	备注

（姜海芬）

附录C 常用名词英汉对照

A

ABO blood group system	ABO血型系统
Aggregation index, AI	红细胞聚集指数
Agglutination	凝集反应
Agglutinogen	凝聚原
Antigen-antibody reaction	抗原抗体反应
Antigenicity	抗原性
Autoantibody	自身抗体
Autoantigen	自身抗原
Adverse reaction	不良反应
Anaphglactic reaction	过敏试验
Antiglobulin test	抗人球蛋白试验
Arterial transfusion	动脉输血
Autologous transfusion	自身输血
Agglutinin	凝集素
AIB	白蛋白溶液
AHG	抗血友病球蛋白
ACD	枸橼酸、枸橼酸钠、葡萄糖
ACD-A	ACD腺嘌呤
ALT	丙氨酸氨基转移酶
ARC	艾滋病相关综合征期
ALL	急性淋巴细胞白血病

AIHA	自身免疫性溶血性贫血
AG	阴离子间隙
A-HBc	乙型肝炎病毒核心抗体
A-HBs	乙型肝炎病毒表面抗体
AIDS	获得性免疫缺陷综合征(简称艾滋病)
AMM	氨(血氨、氨氮)
Anti-HBc-IgG	乙型肝炎病毒核心抗体-IgG
Anti-HBc-IgM	乙型肝炎病毒核心抗体-IgM
Anti-Hbe	乙型肝炎病毒 e 抗体
Anti-HCV	丙型肝炎病毒抗体
ATP	三磷腺苷

B

Blood	血液
Blood barn	血库
Blood serum	血清
BMT	骨髓移植
BSA	体表面积
Blood plasma	血浆
Blood coagulation	凝血
Blood groups	血型
Blood pressure	血压
Blood transfusion	输血
Blood grouping	血型鉴定
Bone manow transfusion	骨髓输血
BIL	胆红素

C

CRCS	红细胞悬液
Component blood transfusion	成分输血
Concentrated erythrocytes	浓缩红细胞
Cross matching test	交叉配血
Cnetrifugtrion technology	离心技术
Carrier	载体
Control	对照
Cross matching	交叉配血
CIC	免疫复合物
CPD	枸橼酸、枸橼酸钠、磷酸二氢钠葡萄糖
CPD-A	CPD 腺嘌呤
CMV	巨细胞病毒
CML	慢性粒细胞性白血病
CLL	慢性淋巴细胞白血病
Ca	血清钙
CAT	冷凝集试验
CBC	全血细胞计数
CBIL	结合型胆红素
Gryo	冷沉淀
Ccr	肌酐清除率
CML	细胞介导的淋巴细胞毒

D

DAT	直接抗人球蛋白试验

Donor	供者
Dacteria	细菌
DIC	弥散性血管内凝血
DMSO	二甲亚砜

E

Erythrocytes transfusion	红细胞输注
EDTA-2Na	依地酸二钠
EDTA-2K	依地酸二钾
ES	红细胞悬液
ELISA	酶联免疫吸附试验
EPO	促红细胞生成素

F

Frozen erythrocytes(FTRC)	冰冻红细胞
False negative	假阴性
False positive	假阳性
Fragility test	红细胞脆性试验
Fresh whole blood	新鲜全血
FP	新鲜液体血浆
FFP	新鲜冰冻血浆
FN	纤维结合蛋白
FNTR	非溶血性输血反应
FBP	纤维蛋白原降解产物
Fe	铁
Fg	纤维蛋白原
FHb	游离血红蛋白

FTA-ABS	荧光螺旋体抗体吸收试验

G

GCC	浓缩粒细胞
GVHD	移植物抗宿主病
GLO	球蛋白
GLU	葡萄糖
GPT	谷丙转氨酶
GRANS	机器单采浓缩白细胞悬液

H

Hemolytic disease of the newborn, HDN	新生儿免疫溶血性疾病
Hemotyse	溶血
Human leucocyte antigen, HLA	人类白细胞抗原
Hemolytic reaction	溶血性反应
HAV	甲型肝炎病毒
HL-A	组织相容性抗原
HRP	辣根过氧化物酶
HBV	乙型肝炎病毒
HCV	丙型肝炎病毒
HBIG	抗乙肝免疫球蛋白
HSC	造血干细胞
HES	羟乙基淀粉
HCG	移植排斥
HAcAb	甲型肝炎病毒抗体
Hb	血红蛋白

HBcAb	乙型肝炎病毒核心抗体
HBcAg	乙型肝炎病毒核心抗原
HBeAg	乙型肝炎病毒 e 抗原
HBsAb	乙型肝炎病毒表面抗体
HBsAg	乙型肝炎病毒表面抗原
HBV-DNA-P	乙型肝炎病毒 DNA 多聚酶
HBVSM	乙型肝炎病毒血清标志物组合
HCVAb	丙型肝炎病毒抗体
HCV-RNA	丙型肝炎病毒核糖核酸
HIV	人免疫缺陷病
HPG	结合珠蛋白
HVSM	肝炎病毒血清学标志物
HTLV	人类嗜 T 淋巴细胞病毒

I

IAT	间接抗人球蛋白试验
IVIG	静脉注射免疫球蛋白
IFN	干扰素
IL	白细胞介素
IBIL	间接胆红素
IFA	免疫荧光检测法

J

Jaundic	黄疸

K

K	钾
KS	卡波西肉瘤

L

L-Grsfeine	半胱氨酸
LIM	低离子介质
LPRC	少白细胞的红细胞
LCT	淋巴细胞毒性试验
LEU(leucocyte)	白细胞
L-FCL	L-岩藻糖
LAV	淋巴结综合征相关病毒

M

MLC	混合淋巴细胞培养
MLR	混合白细胞反应
Massive transfusion	大量输血
MDS	骨髓增生异常综合征
MM	多发性骨髓瘤
MPS	单核巨噬细胞系统
MF	骨髓纤维化
MPT	凝聚胺配血

N

Negative	阴性

P

PC-1	手工分离浓缩血小板
PC-2	机器采浓缩血小板
platelet transfusion	血小板输注
polybrene test	凝聚胺试验
precipitantion	沉淀反应
Papain test	木瓜酶试验
Packed cells volume	血细胞比容(红细胞压积)
Positive	阳性
Pyrogenic reaction	发热反应
PLT	血小板
PTH	输血后肝炎
PRCA	纯红细胞再障
PBSC	外周血干细胞
PBSCT	外周血干细胞移植
PF4	血小板第Ⅳ因子
PC	浓缩血小板
PRP	富含血小板细胞
RCR	聚合酶链反应技术
PCP	卡氏肺囊虫性肺炎
PEG	聚乙二醇
PBL	外周淋巴细胞

R

Routine(Rt)	常规
Red blood cell count,RBC	红细胞计数
Rh blood group system	Rh 血型系统
Red blood cells	红细胞
Result	结果
Reaction	反应
Recipient	受血者
RCC	浓缩红细胞
RF	置换液
RIBA	蛋白印迹试验
RPR	快速血浆反应素试验
RIA	放射免疫试验
PNH	阵发性睡眠性血红蛋白尿
RPGN	急性进行性肾小球肾炎
RET	网织红细胞(计数)
RF	类风湿因子
RIR	放射免疫沉淀法

S

Slideagglutingation test	玻片凝集试验
Specificity	特异性
Specific gravity	比重
SEPSA	简易致敏红细胞血小板血清试验
SOD	超氧化物歧化酶

SLE	系统性红斑狼疮
SAA	重症再障
STS	梅毒血清学实验

T

TPPA	明胶凝集试验
TA-GVHD	输血相关性移植性抗宿主病
Transfusionnal infectionus disease	输血传播性疾病
Transfusion reaction	输血反应
Transplantation antigen	移植抗原
Tube agglutination test	试管试验
TF	转移因子
TBCE	治疗性血液成分置换术
TOXAb	弓形虫抗体
TPE	治疗性血浆置换术
TCA	治疗性血细胞单采术
TTP	血栓性血小板减少性紫癜
TP	梅毒螺旋体
TPHA	梅毒螺旋体血凝试验

U

UBI	紫外线照射与充氧自身血回输
Uun	尿尿素氮

V

Venous transfusion	静脉输血
VSR	不加热血清反应试验
VOD	肝静脉梗阻
VWD	血管性假血友病

W

White blood cell count, WBC	白细胞计数
Washed red cells	洗涤红细胞
White blood cells	白细胞
Whole boold	全血
WRC	洗涤红细胞
W. B	确认试验

Y

YE	年轻红细胞

（王江昆　侯振平）

附录 D　血液保存液配方及保存中的主要生物化学变化

表 D-1　各种血液保存液配方

保存液	无水葡萄糖 g/L	枸橼酸钠 $2H_2O$ g/L	枸橼酸 H_2O g/L	磷酸二氢钠 H_2O g/L	腺嘌呤 mg/L	溶液 pH	血 V/L	保存天数
ACD-A	24.5	22.0	8.0			5.03	150	21
ACD-B	14.7	13.2	4.4			5.03	250	21
CPD	25.5	26.3	3.27	2.22		5.63	140	28
CPDA-1	25.5	26.3	3.27	2.22	173.0	5.63	140	35

表 D-2　红细胞保存液的配方

项　目	SAG-M	AS-A (Adsol)	PAGGS	AS-2	AS-3 (nutrical)
枸橼酸钠·$2H_2O$(g/L)	—	—	—	5.88	0.588
枸橼酸·H_2O(g/L)	—	—	—	0.42	0.42
磷酸钠·H_2O(g/L)	—	—	2.25	2.85	2.76
葡萄糖·H_2O(g/L)	9	22	9.4	3.96	11
腺嘌呤(mg/L)	170	270	250	170	300
鸟嘌呤(mg/L)	—	—	410	—	—
甘露醇(g/L)	5.25	7.5	—	—	—
氯化钠(g/L)	8.77	9	4.21	7.18	4.1
山梨醇(g/L)	—	—	10	—	—
渗透压(mOsm/kg)	370	440	280	358	300
保存日期(天)	42	42	42	35	42

表 D-3 全血在 4℃保存期中的主要生物化学变化

项目	保存液	保存日期(天)				
		0	7	14	21	35
血浆 pH(37℃)	ACD	7.00	6.79	6.73	6.17	
	CPD	7.20	7.00	6.89	6.84	
红细胞存活率(%)	ACD	100	98	85	70	
	CPD	100	98	85	80	
	CPDA-1					79
三磷腺苷(开始值的%)	ACD					
	CPD	100	96	83	86	75 *
	CPDA-1					57
2,3-二磷酸甘油酸(开始值的%)	ACD(μg/gHb)	15.0	9.0	3.5	1.51	
	CPD	100	99	80	44	
	CPDA-1					5.0
血浆钾离子(mEq/L)	ACD	10.0	20.0	29.0	35.0	
	CPD	3.9	11.9	17.2	21.0	
	CPDA-1					27.3
血浆血红蛋白(g/L)	ACD	10.0	22.0	35.0	53.0	
	CPD	1.7	7.8	12.5	19.1	
	CPDA-1					46.0

* 28 天

(游庆朋)