

# 溶血试验二



1. 血红蛋白液制作
2. 抗碱血红蛋白测定

# 教学目的与要求



## 目的:

1. 掌握试验的原理、方法、结果判断和临床意义。
2. 熟练操作。

## 要求:

按教学目的完成试验，观察结果并写出实验报告。



# 血红蛋白液制作

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

# [操作]



抗凝血

↓ 750 × g 离心10min, 弃去血浆

红细胞

↓ 生理盐水洗涤3次 (500 × g, 5min)

↓ 1000 × g 离心10min

压积红细胞

↓ 等量的蒸馏水充分振摇

↓ 0.5倍体积的四氯化碳, 用力震摇5-6min

↓ 1000 × g 离心20min

吸取上清液, 得溶血液



# 抗碱血红蛋白检测

青阳医学院医学检验系临床血液学教研室

## [原理]



胎儿血红蛋白（HbF）及某些异常血红蛋白具有比HbA更强的抗碱作用，抗碱血红蛋白检测是将待检的溶血液与一定量的碱性溶液混合，HbF抗碱变性作用强，其不变性存在于上清液中，而HbA变性沉淀，取上清液于540nm处测定吸光度，检测出抗碱血红蛋白的浓度。

## [试剂]



1. **0.083mol/L KOH或NaOH溶液**
2. **酸性半饱和硫酸铵溶液：硫酸铵饱和溶液加等体积的蒸馏水，再加入1mol/L的盐酸液（2%的浓度）**

# [操作]



0.083mol/L 1.6mlKOH或NaOH溶液

↓ 25℃ ± 1℃ 水浴中放置10min

加入0.1ml10%血红蛋白液

↓ 立即计时(碱化1min), 并迅速摇动

加入3.4ml酸性半饱和硫酸铵溶液

↓ 迅速颠倒混匀6次, 过滤

滤液

↓ 蒸馏水调零在540nm

检测吸光度 (A)



## [操作]



取20ml蒸馏水加入10%血红蛋白液0.1ml作为对照管，相同条件下测定吸光度(B)。

按下式计算：

$$\text{抗碱血红蛋白 (\%)} = \frac{\text{测定管吸光度 (A)}}{\text{对照管吸光度 (B)} \times 4} \times 100$$

## [注意事项]



1. 每份标本应重复测定，以提高准确发生，每次应作正常对照。
2. 碱液浓度和碱化时间应准确。过滤后1小时内完成比色。
3. 血红蛋白液应新鲜，当天测定。
4. 滤液必须清澈透明，以免影响比色结果。

## [参考值]



正常2岁以上的人小于2%，新生儿可达40%以上。

## [临床意义]



1. **HbF绝对增多**： $\beta$ 珠蛋白合成障碍性HbF增加，重型者30%-90%，中间型常5%-30%，轻型小于5%。遗传性胎儿血红蛋白持续性综合征HbF高达100%。
2. **HbF相对增多**：骨髓纤维化、白血病、浆细胞瘤等恶性疾病及再生障碍性贫血、PNH、卟啉病等均可出现相对HbF增多。
3. **HbF生理性增多**：孕妇和新生儿期HbF增加。