



ABO及Rh（D）血型鉴定

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

第1、2页



【实验内容】

一、**ABO**血型鉴定

二、**Rh (D)** 血型鉴定

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室



【目的和要求】

□ 掌握

ABO、Rh(D)血型鉴定的原理、方法、结果判断。

□ 熟悉

1. ABO、Rh (D) 血型鉴定意义
2. 影响抗原抗体反应的因素
3. 结果不一致的常见原因分析

【原理】

凝集反应：颗粒性的抗原与相应抗体在液体介质中发生的肉眼可见的聚集。

如红细胞作为抗原颗粒，称为**血凝反应**

IgM抗体凝集红细胞示意图

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室



【方法】

一、根据试验程序、检测内容分为：

- 1、正定型：**用已知血型特异性抗体试剂鉴定RBC的抗原。(forward typing, 正定型/细胞定型)
- 2、反定型：**用已知血型的标准RBC鉴定血清(浆)中的抗体。(reverse typing, 反定型/血清定型)

【方法】

二、根据试验器材不同又可分为：

- 玻片法
(正定型)
- 试管法
(正、反定型)
- 凝胶卡式检测法
(正定型)

本次实验



【器材与试剂】

一、器材

显微镜

离心机

滴管

记号笔

试管

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室



【器材与试剂】

二、试剂

1、正定型试验所需试剂：

- 抗A、抗B标准血清
- 抗D血清（IgM）

2、反定型试验所需试剂：

A、B、O型RBC悬液(5%)

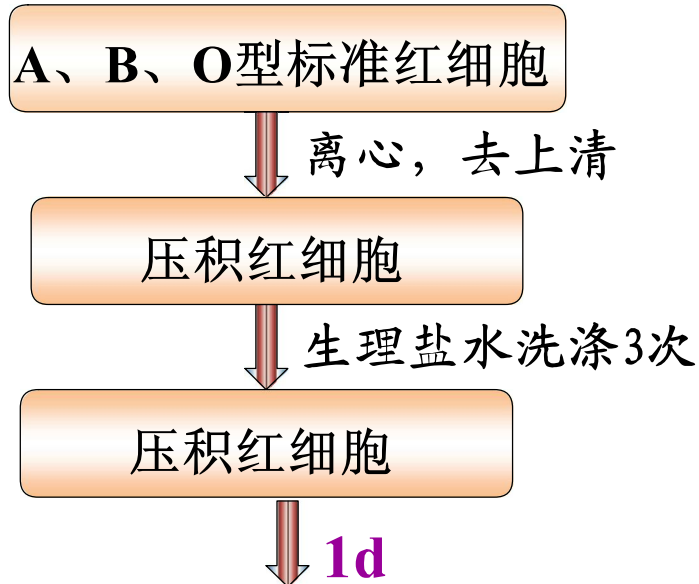
3、RhD阴性和阳性对照RBC：

4、其他试剂：
生理盐水

【操作】

一、试剂及待测标本准备

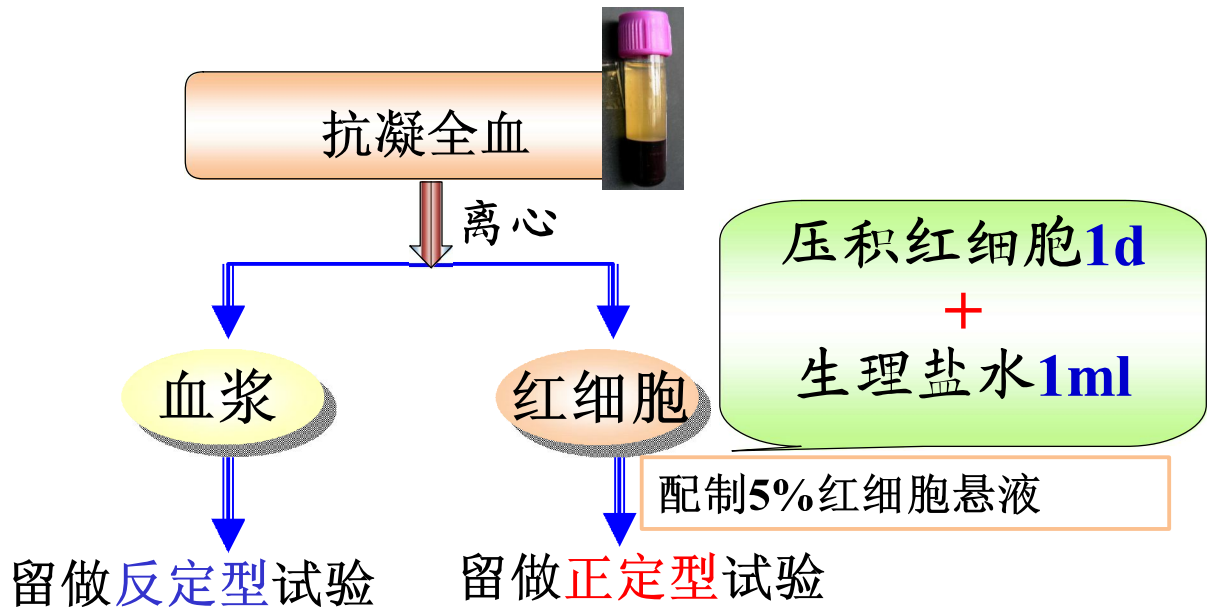
(一) 反定型所需**5%ABO型标准红细胞悬液**的配制



加入含**1ml**生理盐水的小试管内，混匀

【操作】

(二) 待测标本准备:



【操作】

二、试管标记

ABO血型鉴定

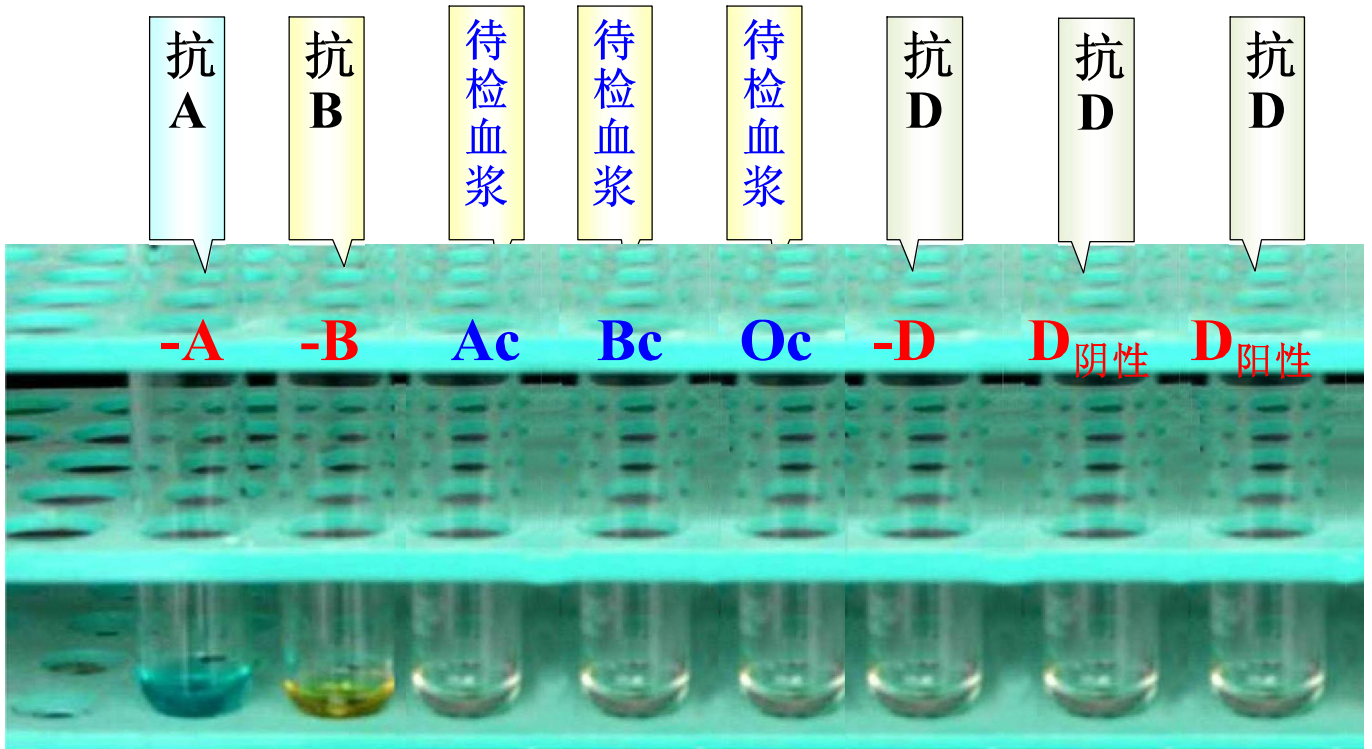
-A	-B	Ac	Bc	Oc	-D	D _{阴性}	D _{阳性}

Rh血型鉴定

贵阳医学院医学检验系临床血液学

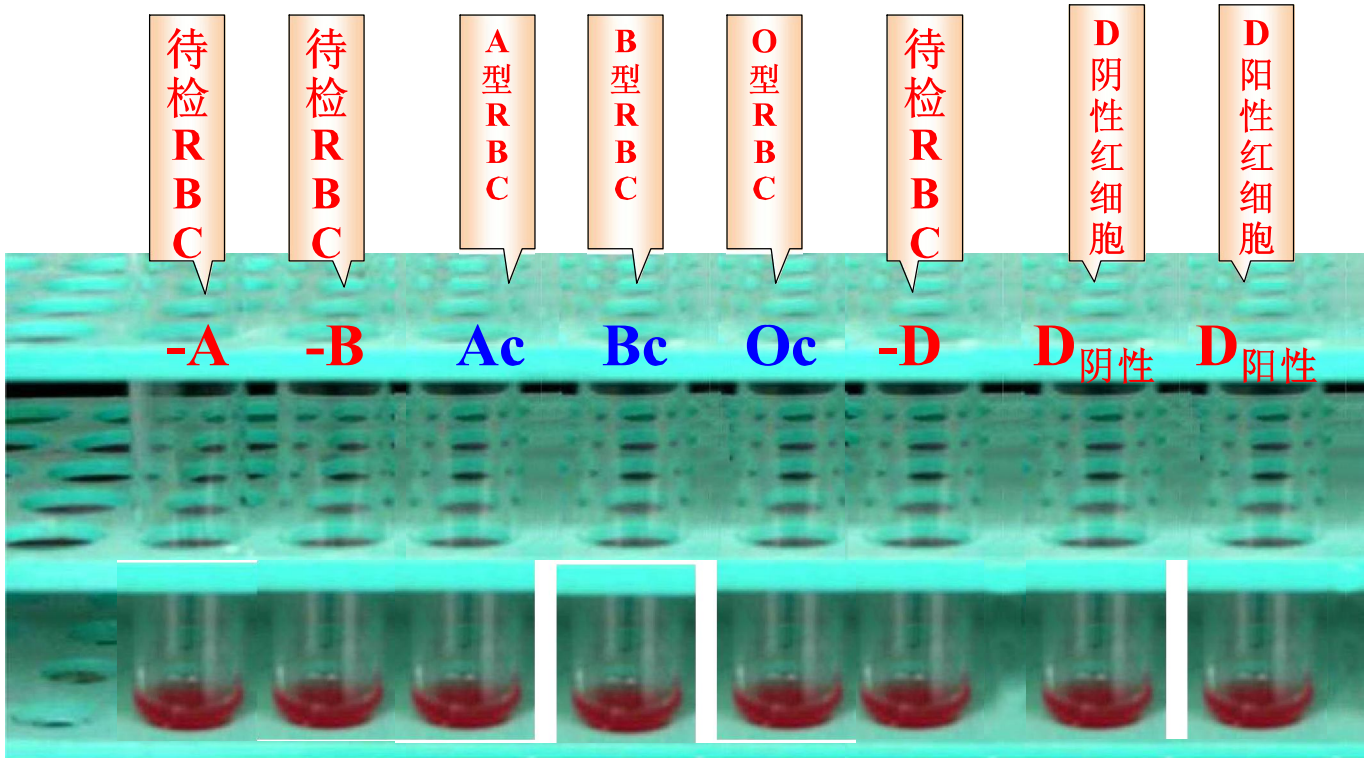
【操作】

三、加样(血清/标准抗体2d、红细胞1d)



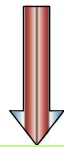
【操作】

三、加样(血清/标准抗体2d、红细胞1d)



试验管	-A	-B	Ac	Bc	Oc	-D	D _{阴性}	D _{阳性}
标准血清	2d	2d	—	—	—	2d	2d	2d
待检血浆	—	—	2d	2d	2d	—	—	—
标准RBC	—	—	1d	1d	1d	—	—	—
待检红细胞 (5%)	1d	1d	—	—	—	1d	—	—
D阴性红细胞	—	—	—	—	—	—	1d	—
D阳性红细胞	—	—	—	—	—	—	—	1d

混匀




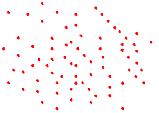


离心: 1000rpm × 1min

轻摇离心后的试验管，判读结果

【结果判断及报告方式】

一、凝集强弱程度判断

+++++	一个结实的大凝块，背景清楚。	
+++	数个结实的凝块，背景清楚。	
++	中等大小的凝块加小凝块，背景清楚。	
+	小凝块，背景较浑浊。	
—	不凝集	

【结果判断及报告方式】

二、结果判定标准

-A	-B	Ac	Bc	Oc	-D	判定结果	
+	-	-	+	-	-	A	RhD ⁻
-	+	+	-	-	-	B	RhD ⁻
-	-	+	+	-	-	O	RhD ⁻
+	+	-	-	-	-	AB	RhD ⁻
-	-	+	+	+		Bombay*	

注：+代表凝集；-代表不凝集 *：H抗原缺失（意外抗体为抗-H）

【结果判断及报告方式】

三、报告方式

■ 结 论： _____型 RhD_____



0型 RhD阳性

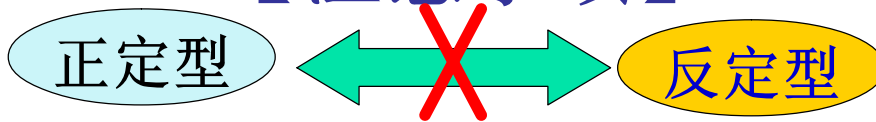
【注意事项】



- (1) 摇动试管动作要轻。
- (2) 器材干净清洁、防止溶血，试管、滴管，防止交叉污染。
- (3) 标准血清的质量、性能要符合要求，防止污染。
- (4) 于室温 20°C - 24°C 下进行， 37°C 反应减弱。
- (5) 明确凝集和溶血的意义是一样的。
- (6) 先加血清，后加RBC悬液。
- (7) 如遇正反定型不一致，除外技术原因，必须加做自身血清、RBC对照，自身RBC、生理盐水悬液对照，重做正反定型，抗体吸收，放散试验等试验来调查分析。



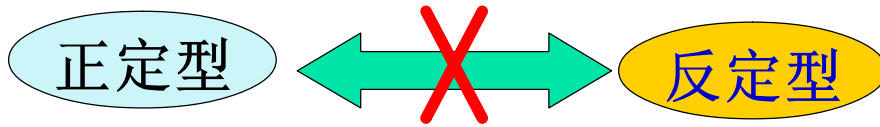
【注意事项】



如遇**正反定型不一致**，初步的处理程序：

- (1) 相同的血液样本**重复ABO血型鉴定一次**，**排除技术上可能的干扰**；（RBC以生理盐水洗涤，以消除因血浆蛋白或自身抗体引起的干扰）
- (2) **重新采集一管血液样本鉴定**（ABO血型不一致出现在当前实验结果与历史检测记录不一致或怀疑标本交叉污染时）

【注意事项】



如遇**正反定型不一致**，初步的处理程序：

- (3) 查阅**患者病史**评估可能出现改变或干扰ABO血型鉴定的**患者疾病状态**，包括：医学诊断、历史血型、输血史、移植史；
- (4) 评价**自身对照**和**意外抗体筛选**等血清学试验来评估因**自身抗体**或**同种抗体**引起的潜在干扰；

【思考题】

ABO正反定型结果不一致的 常见原因？



贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室



认真操作！

贵阳医学院医学检验系临床血液学教研室

ABO标准血清质量要求

1、ABO标准血清效价：

➤ 高效价的IgM抗A、抗B血清效价：**>1:128**

2、亲和力：**<15秒**（3min时，凝块达1mm²以上）

冷凝集素效价：**<1:4**

3、必须具有检测A₂、A₂B血型的能力

4、必须通过HIV、HCV、HBV等检查或经病毒灭活。



附：【思考题】

ABO正反定型结果不一致的常见原因？

- (一) 操作方面
- (二) 血清或血浆方面
- (三) **RBC**方面



(一) 操作方面

- 1、 标本或试剂搞错：
- 2、 器材不洁
- 3、 试剂不标准、失效或污染
- 4、 过度离心或离心不足
- 5、 阳性反应产生溶血现象未能识别
- 6、 结果记录或判断错误
- 7、 红细胞与血清（试剂）的比例不适当



(二) 血清或血浆方面

1、假阳性反应

① 华通胶影响：

② 近期内进行大量的血浆置换治疗：

大量使用非同型血浆，血清中含有所输供体提供的抗A或抗B抗体。

③ 异常的血浆蛋白：

异常的白蛋白、球蛋白比例和高浓度的纤维蛋白原等导致缙钱状红细胞非特异性凝集。

④ 不规则抗体的存在：

与试剂红细胞上的其他血型抗原系统的抗原起反应。



2、假阴性反应：多为ABO抗体未产生或被抑制

① 疾病因素：

免疫抑制疾病或经免疫抑制治疗、低丙种球蛋白血症患者血清中ABO抗体减少或消失。

② 年龄因素：

老年人血型抗体水平会下降；
新生儿尚未产生自体的抗体。



(三) RBC方面

1、假阳性反应

① 红细胞致敏：

② 近期输血：

血型不一致输血，呈“混合外观凝集”

③ 嵌合体血型：

④ 红细胞多凝集现象：

⑤ 细菌性凝集：

获得性B抗原、T凝集现象

⑥ 药物等因素：

药物、右旋糖酐及静脉注射某些造影剂



2、假阴性反应

- ① 异常基因型：
弱A或弱B亚型
- ② 疾病导致红细胞抗原减弱：
白血病、难治性贫血，可发生ABO血型抗原受抑；
- ③ 血型特异性物质过高：
一些癌症患者（如卵巢囊肿、胃癌、胰腺癌等）