

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610036854.0

[51] Int. Cl.

G01N 33/80 (2006.01)

G01N 33/536 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

[43] 公开日 2007年1月31日

[11] 公开号 CN 1904618A

[22] 申请日 2006.7.31

[21] 申请号 200610036854.0

[71] 申请人 潘干华

地址 528200 广东省佛山市南海区桂城长堤路2号

[72] 发明人 潘干华

[74] 专利代理机构 佛山市南海智维专利代理有限公司

代理人 梁国杰

权利要求书3页 说明书10页

[54] 发明名称

在血细胞分析仪上进行红细胞血型抗原检测的方法

[57] 摘要

本发明涉及一种医学上红细胞血型抗原的检测方法，特别是涉及一种在血细胞分析仪上进行的红细胞血型抗原检测的方法，主要应用于红细胞血型鉴定。该方法具体是在血细胞分析仪上依次通过预稀释、反应、测定步骤，分别检测由待测红细胞和已知血型抗体构成的反应体系，和由未加入血型抗体的待测红细胞混悬液构成的对照体系的红细胞参数；然后通过计算得出两个体系红细胞参数的变化情况，与介定范围进行比较分析，可判断出反应体系中是否发生了凝集反应，从而间接检测出待测红细胞上是否存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。与现用方法比较，本发明方法具有准确性高，自动化程度高等优点。

1、在血细胞分析仪上进行红细胞血型抗原检测的方法，其特征在于：在血细胞分析仪上依次通过预稀释、反应、测定步骤，分别检测由待测红细胞和已知血型抗体构成的反应体系，和由未加入血型抗体的待测红细胞混悬液构成的对照体系的红细胞参数；然后通过计算得出两个体系红细胞参数的变化情况，与介定范围进行比较分析，可判断出反应体系中是否发生了凝集反应，从而间接检测出待测红细胞上是否存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。

2、根据权力要求1所述的方法，其特征在于：所述的血细胞分析仪是指能够进行血细胞计数或体积分析的仪器或装置。

3、根据权力要求1所述的方法，其特征在于：所述的变化情况是由于在反应体系中，红细胞与相应血型抗体发生凝集反应，可使游离红细胞数量减少，而由两个或两个以上红细胞结合而成的红细胞凝集颗粒增多；在进行细胞粒子计数时，红细胞凝集颗粒可视为一种比单个游离红细胞体积大的大红细胞；因此，发生凝集反应后细胞群的体积和体积分布情况与未发生凝集反应时比较，会发生改变；通过血细胞分析仪测定出的两个体系红细胞参数进行计算，计算得出两者的差值、比值或差值与对照体系参数值的比值作为变化情况参数值。

4、根据权力要求1或3所述的方法，其特征在于：所述的比较分析是通过血细胞分析仪测定计算出的两个体系红细胞参数的变化情况参数值与介定范围进行比较，如果变化情况参数值超出介定范围为分析结果阳性，反之为阴性；可选定一个或一个以上红细胞参数进行比较分析，若选定参数的变化情况参数值分析结果阳性，可判定为

红细胞存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原，若选定参数的变化情况参数值分析结果阴性，可判定为红细胞不存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。

5、根据权力要求1所述的方法，其特征在于：所述的介定范围是指在无凝集反应发生时，血细胞分析仪测定反应体系和对照体系的某一红细胞参数变化情况的允许误差范围；为提高准确度，介定范围可选定为该允许误差范围的1-50倍。

6、根据权力要求1所述的方法，其特征在于：反应体系是指由血样与稀释液和血型抗体试剂按照一定的比例混合而成的混悬液；对照体系是指由血样与稀释液按照一定比例稀释而成的混悬液。

7、根据权力要求6所述的方法，其特征在于：血型抗体试剂是指含有能够与红细胞血型抗原发生特异性凝集反应的抗体或凝集素的试剂溶液，试剂基质的渗透压、酸碱度、离子强度、导电率要与反应体系使用的稀释液相同。

8、根据权力要求1所述的方法，其特征在于：预稀释是指在计数前用稀释液将血样稀释成一定红细胞浓度的混悬液，在加入血型抗体反应时，既有利于红细胞凝集反应的发生，也可以防止因红细胞浓度太高而形成可以导致测定小孔堵孔的大红细胞凝集快；预稀释的比例可以为1:1-1:50000。

9、根据权力要求1所述的方法，其特征在于：反应是指在经预稀释的红细胞混悬液中加入血型抗体试剂，使待测红细胞与血型抗体接触，经过一定的时间进行凝集反应；血型抗体试剂也可以在预稀释时与稀释液同时加入；加入血型抗体试剂后，血样与血型抗体试剂和稀释液的比例可以为1:1-1:50000。

10、根据权力要求1所述的方法，其特征在于：用于结果分析的红细胞参数分别有：

1) 红细胞总数：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞数量参数，表示每升血样中的红细胞数，不同的分析仪所界定红细胞计数的甄别阈值体积范围不同，通常界定在36-360fL范围的粒子计数为红细胞，在血型抗原分析时，因为红细胞凝集颗粒的形成，反应体系中的粒子体积比原血样中的细胞粒子体积大，因此仪器红细胞计数的甄别阈值体积范围可扩大至1-1000fL范围；

2) 红细胞平均体积：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞平均体积参数；

3) 红细胞比积：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞比积参数；

4) 某一体积段范围的红细胞数量：在仪器界定的红细胞计数甄别阈值体积范围内，某一体积段范围红细胞的数目参数；

5) 某一体积段范围的红细胞比例：在仪器界定的红细胞计数甄别阈值体积范围内，某一体积段范围红细胞的数目占红细胞总数的比例；

6) 两个体积段范围的红细胞数比值：在仪器界定的红细胞计数甄别阈值体积范围内，两个体积段范围红细胞数目的比值；

7) 红细胞体积分布宽度：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞体积分布宽度参数；

8) 其它参数：以上述红细胞参数为基础计算的其它分析参数。

在血细胞分析仪上进行红细胞血型抗原检测的方法

技术领域:

本发明涉及一种医学上红细胞血型抗原的检测方法,特别是涉及一种在血细胞分析仪上进行的红细胞血型抗原检测的方法,主要应用于红细胞血型鉴定。

背景技术:

一、什么是血型,什么是红细胞血型,什么是红细胞血型抗原,什么是红细胞血型鉴定,什么是红细胞血型抗原检测。

血型是人类血液特征之一,是来自父母双方以抗原抗体为表现形式的有规律的遗传性状。最初血型是指存在于红细胞上不同的特异性抗原而言;后来发现除红细胞外,白细胞、血小板、血清蛋白等均具有其特有的血型。红细胞血型是指由存在于红细胞上不同的特异性抗原特征而决定的血型系统。红细胞血型抗原是指存在于红细胞表面的特异性血型抗原物质。

根据红细胞表面的抗原种类不同,目前已发现 27 个红细胞血型系统,但对临床意义最大的是 ABO 和 Rh 两个血型系统。目前临床上所应用的红细胞血型鉴定主要是指红细胞 ABO 和 Rh 两个血型系统的检测鉴定。ABO 血型系统的抗原有 H、A、B 三种抗原,根据红细胞表面所具有的抗原不同而分为 A、B、O、AB 四种血型表现型,红细胞上无 A 和 B 血型抗原者为 O 型;红细胞上有 A 抗原,而无 B 抗原者为 A 型;红细胞上有 B 抗原,而无 A 抗原者为 B 型;红细胞上有 A 和 B 血

型抗原者为 AB 型；H 抗原则均存在于 O 型、A 型、B 型和 AB 型红细胞上。Rh 血型系统的抗原有 D、C、E、c、e 五种抗原，临床上常以 D 抗原存在与否来表示 Rh 血型的阳性和阴性。

血型鉴定是指应用生物学检测技术，检测红细胞表面的血型抗原种类情况以判定红细胞血型的方法。红细胞血型抗原检测是红细胞血型鉴定的主要方法。临床应用最为广泛的是 ABO 和 Rh 两个血型系统的检测鉴定，即通过生物学检测方法检测红细胞上是否存在有 H、A、B 抗原来判定红细胞的 ABO 血型；检测红细胞上是否存在有 D 抗原来判定红细胞的 Rh 血型。

二、 现用血型抗原检测方法介绍

现用红细胞血型抗原的检测方法主要是红细胞盐水凝集法。在免疫检验学中，红细胞特异性凝集反应是指红细胞表面的抗原与相应抗体在电解质介质中结合，使原来混匀状态的反应体系中，产生由两个或两个以上红细胞结合成的凝集块，而出现肉眼可见的凝集反应。血型抗原检测是根据待测红细胞与已知血型抗体是否发生特异性凝集反应，来判断红细胞表面是否存在有与已知血型抗体对应的血型抗原。现用的血型抗体一般有两种，分别是人源的标准血清和应用单克隆技术制备的标准血清。

具体检测法有玻片法和试管法：

所需试剂和材料：

- 1、 标准血清（如抗 A、抗 B、抗 H、抗 D 等）。
- 2、 受检者 5%红细胞盐水混悬液。

（一）玻片法

- 1、 取洁净玻片一块，分别滴加标准血清和受检者 5%红细胞

盐水悬液各 1 滴。

2、转动玻片，以使红细胞和标准血清充分混匀，室温放置 10-15 分钟，转动玻片观察结果。

3、结果判定：若出现红细胞凝集反应，可判定为红细胞存在有与加入已知标准血清对应的血型抗原；若无出现红细胞凝集反应，可判定为红细胞不存在有与加入已知标准血清对应的血型抗原。

（二）试管法

1、取一支干净小试管，分别滴加标准血清和受检者 5%红细胞盐水悬液各 1 滴。

2、混匀后在室温放置 5 分钟。

3、以 1000 转/分的条件离心 1-2 分钟，轻弹试管，观察红细胞有无凝集。

4、结果判断：若出现红细胞凝集反应，可判定为红细胞存在有与加入已知标准血清对应的血型抗原；若无出现红细胞凝集反应，可判定为红细胞不存在有与加入已知标准血清对应的血型抗原。

三、现用血型抗原检测法的不足

红细胞盐水凝集法已广泛用于临床检验，是最常规的血型鉴定技术。但仅适用于手工操作，且具有操作繁琐、容易误判、容易受冷凝集、假凝集因素影响而使结果难以判断等缺点。

发明内容：

本发明的目的在于克服现有技术的上述缺点，提供一种在血细胞分析仪上进行血型抗原检测的方法。根据本发明的方法，可以在血细胞分析仪上进行血型抗原检测，也可以设计制作出能同时进行血细胞分析和血型抗原检测的血细胞分析仪器或能进行血型抗原检测的分

析装置。

为实现上述目的本发明的解决方案为：在血细胞分析仪上依次通过预稀释、反应、测定步骤，分别检测由待测红细胞和已知血型抗体构成的反应体系，和由未加入血型抗体的待测红细胞混悬液构成的对照体系的红细胞参数；然后通过计算得出两个体系红细胞参数的变化情况，与介定范围进行比较分析，可判断出反应体系中是否发生了凝集反应，从而间接检测出待测红细胞上是否存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。

所述的血细胞分析仪是指能够进行血细胞计数或体积分析的仪器或装置。

所述的变化情况是由于在反应体系中，红细胞与相应血型抗体发生凝集反应，可使游离红细胞数量减少，而由两个或两个以上红细胞结合而成的红细胞凝集颗粒增多；在进行细胞粒子计数时，红细胞凝集颗粒可视为一种比单个游离红细胞体积大的大红细胞；因此，发生凝集反应后细胞群的体积和体积分布情况与未发生凝集反应时比较，会发生改变；通过血细胞分析仪测定出的两个体系红细胞参数进行计算，计算得出两者的差值、比值或差值与对照体系参数值的比值作为变化情况参数值。如：

$$\text{某红细胞参数变化率} = \left| \frac{\text{反应体系红细胞参数} - \text{对照体系红细胞参数}}{\text{对照体系红细胞参数}} \right| \times 100\%$$

所述的比较分析是通过血细胞分析仪测定计算出的两个体系红细胞参数的变化情况参数值与介定范围进行比较，如果变化情况参数值超出介定范围为分析结果阳性，反之为阴性；可选定一个或一个以上红细胞参数进行比较分析，若选定参数的变化情况参数值分析结果阳性，可判定为红细胞存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原，若

选定参数的变化情况参数值分析结果阴性，可判定为红细胞不存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。

所述的介定范围是指在无凝集反应发生时，血细胞分析仪测定反应体系和对照体系的某一红细胞参数变化情况的允许误差范围；为提高准确度，介定范围可选定为该允许误差范围的1-50倍。

反应体系是指由血样与稀释液和血型抗体试剂按照一定的比例混合而成的混悬液；对照体系是指由血样与稀释液按照一定比例稀释而成的混悬液。

血型抗体试剂是指含有能够与红细胞血型抗原发生特异性凝集反应的抗体或凝集素的试剂溶液，试剂基质的渗透压、酸碱度、离子强度、导电率要与反应体系使用的稀释液相同。

预稀释是指在计数前用稀释液将血样稀释成一定红细胞浓度的混悬液，在加入血型抗体反应时，既有利于红细胞凝集反应的发生，也可以防止因红细胞浓度太高而形成可以导致测定小孔堵孔的大红细胞凝集快；预稀释的比例可以为1:1-1:50000。

反应是指在经预稀释的红细胞混悬液中加入血型抗体试剂，使待测红细胞与血型抗体接触，经过一定的时间进行凝集反应；血型抗体试剂也可以在预稀释时与稀释液同时加入；加入血型抗体试剂后，血样与血型抗体试剂和稀释液的比例可以为1:1-1:50000。

用于结果分析的红细胞参数分别有：

1) 红细胞总数：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞数量参数，表示每升血样中的红细胞数。不同的分析仪所界定红细胞计数的甄别阈值体积范围不同，通常界定在36-360fL范围的粒子计数为红细胞，在血型抗原分析时，因为红细胞凝集颗粒的形成，反应体系中

的粒子体积比原血样中的细胞粒子体积大，因此仪器红细胞计数的甄别阈值体积范围可扩大至 1-1000fL 范围。

2) 红细胞平均体积：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞平均体积参数。

3) 红细胞比积：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞比积参数。

4) 某一体积段范围的红细胞数量：在仪器界定的红细胞计数甄别阈值体积范围内，某一体积段范围红细胞的数目参数。

5) 某一体积段范围的红细胞比例：在仪器界定的红细胞计数甄别阈值体积范围内，某一体积段范围红细胞的数目占红细胞总数的比例。

6) 两个体积段范围的红细胞数比值：在仪器界定的红细胞计数甄别阈值体积范围内，两个体积段范围红细胞数目的比值。

7) 红细胞体积分布宽度：是指血细胞分析仪所测定得出的红细胞体积分布宽度参数。

8) 其它参数：以上述红细胞参数为基础计算的其它分析参数。

本发明达到的效果和优点

根据本发明的方法，可以在血细胞分析以上进行血型抗原检测，并可通过与对照体系的分析比较，在一定程度上可克服红细胞的自身冷凝集、假凝集等非特性凝集因素对测定准确性的影响，从而提高临床检验工作的准确性和工作效率。也可以根据本方法原理设计制作出能同时进行血细胞分析和血型抗原检测的血细胞分析仪器或能进行血型抗原检测的分析装置。与现用方法比较，本发明方法具有准确性高，自动化程度高等优点。

具体实施方式:

本发明方法的实施例一

本发明在深圳迈瑞公司产 BC-2200 半自动血细胞分析仪上进行血型抗原检测的方法:因凝集反应可使游离红细胞减少,红细胞总数减少,因此以红细胞总数为比较分析参数。先对仪器的红细胞总数介定范围进行确定,然后在仪器上分别对反应样本和对照样本的红细胞总数进行检测,通过计算得出红细胞总数变化率,与介定范围比较,从而判断出红细胞是否存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。具体检测方法是:

(一) 试剂和血样准备

- 1、 稀释液: 为血细胞分析仪专用稀释液。
- 2、 血型抗体试剂: 为长春博德生物技术有限责任公司生产的抗 A 血型定型试剂, 含单克隆抗 A 抗体。
- 3、 血样: EDTA 二钾抗凝的静脉血 2 毫升。

(二) 红细胞总数介定范围的确定

- 1、 使用仪器生产商提供的红细胞总数的变异系数的 1-4 倍作为介定范围。
- 2、 在本实验室建立介定范围的方法: 在血细胞分析以上, 按照仪器的操作规程, 对血样连续重复测定 20 次, 得出每次测定的红细胞总数, 应用统计学分析方法, 计算出红细胞总数的变异系数。为排除随机误差对判断结果准确度的影响, 以 1-4 倍的变异系数值作为红细胞总数的参数介定范围。

(三) 样本检测

- 1、 预稀释

取两个样本杯，分别标注为反应杯和对照杯，用稀释器各加稀释液 9.98ml，用微量吸血管分别在反应杯和对照杯中加入血样 0.02ml，轻轻摇匀，此即预稀释比例为 1:500 的反应样本和对照样本。

2、 反应

在反应杯中加入抗 A 血型定型试剂 0.1ml，混轻轻摇动匀，静置 20 秒；在对照杯中加入稀释液 0.1ml，轻轻摇匀。

3、 测定

另取两个样本杯，分别标注为反应测定杯和对照测定杯，用稀释器各加稀释液 9.98ml，用定量吸血管在反应杯中吸 0.1ml 混悬液到反应测定杯中，轻轻摇匀；用定量吸血管在对照杯中吸 0.1ml 混悬液到对照测定杯中，轻轻摇匀。分别将反应测定杯和对照测定杯放到仪器的红细胞检测探头上进行测定，得出反应样本和对照样本的红细胞总数。

(四) 结果分析

根据测定得出的反应样本和对照样本红细胞总数，计算红细胞总数变化率：

$$\text{变化率} = \left| \frac{(\text{反应体系红细胞总数} - \text{对照体系红细胞总数})}{\text{对照体系红细胞总数}} \right| \times 100\%$$

如果变化率大于介定范围为结果阳性，反之为阴性。若结果阳性，可判定为红细胞存在有 A 抗原，若结果阴性，可判定为红细胞不存在有 A 抗原。

本发明方法的实施例二

本发明在深圳迈瑞公司产 BC-2800 全自动血细胞分析仪上进行血型抗原检测的方法：因凝集反应产生的红细胞凝集颗粒，一般体积在 150-250fL 左右，因此以 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数

的百分比为比较分析参数。先对仪器的 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数百分比的介定范围进行确定,然后在仪器上对反应样本和对照样本的 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数的百分比进行检测,通过计算得出两个样本的 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数百分比的变化率,与介定范围比较,从而判断出红细胞是否存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。具体检测方法是:

(一) 试剂和血样准备同实施例一。

(二) 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数的百分比介定范围的确定

在本实验室建立介定范围的方法:在血细胞分析以上,按照仪器的操作规程,对血样连续重复测定 20 次,得出每次测定的红细胞总数。进入仪器的手工校正程序,改变红细胞计数体积阈值界标为 150-250fL,得出每次测定的 150-250fL 体积段的红细胞数。计算出每次的 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数的百分比,应用统计学分析方法,计算出变异系数。为排除随机误差对判断结果准确度的影响,以 1-4 倍的变异系数值作为 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数百分比的参数介定范围。

(一) 对照样本检测

在血细胞分析以上,按照仪器全自动检测模式的操作规程,对血样进行测定,得出红细胞总数。进入仪器的手工校正程序,改变红细胞计数体积阈值界标为 150-250fL,得出 150-250fL 体积段的红细胞数。计算出 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数的百分比。

(二) 测定样本检测

1. 预稀释

应用仪器的预稀释功能，取一个样本杯，按动仪器的预稀释加注稀释液键，在样本杯中加注稀释液 1.6ml，用微量吸血管加入血样 0.02ml，轻轻摇匀，此即预稀释比例为 1:80 的反应样本。

2. 反应

在反应杯中加入抗 A 血型定型试剂 0.05ml，轻轻摇匀，静置 20 秒。

3. 测定

进入仪器的预稀释样本测定程序，将样本杯放到进样针上，按动预稀释样本计数键，仪器自动对样本进行测定，得出红细胞总数。进入仪器的手工校正程序，改变红细胞计数体积阈值界标为 150-250fL，得出 150-250fL 体积段的红细胞数。计算出 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数的百分比。

(三) 结果分析

根据测定得出的 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数的百分比，计算出 150-250fL 体积段红细胞数占总红细胞数的百分比的变化率：

$$\text{变化率} = \left| \frac{(\text{反应体系的百分比} - \text{对照体系的百分比})}{\text{对照体系的百分比}} \right| \times 100\%$$

如果变化率大于介定范围为结果阳性，反之为阴性。若结果阳性，可判定为红细胞存在有 A 抗原，若结果阴性，可判定为红细胞不存在有 A 抗原。

专利名称(译)	在血细胞分析仪上进行红细胞血型抗原检测的方法		
公开(公告)号	CN1904618A	公开(公告)日	2007-01-31
申请号	CN200610036854.0	申请日	2006-07-31
[标]发明人	潘干华		
发明人	潘干华		
IPC分类号	G01N33/80 G01N33/536 G01N33/49		
代理人(译)	梁国杰		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种医学上红细胞血型抗原的检测方法，特别是涉及一种在血细胞分析仪上进行的红细胞血型抗原检测的方法，主要应用于红细胞血型鉴定。该方法具体是在血细胞分析仪上依次通过预稀释、反应、测定步骤，分别检测由待测红细胞和已知血型抗体构成的反应体系，和由未加入血型抗体的待测红细胞混悬液构成的对照体系的红细胞参数；然后通过计算得出两个体系红细胞参数的变化情况，与介定范围进行比较分析，可判断出反应体系中是否发生了凝集反应，从而间接检测出待测红细胞上是否存在有与已知血型抗体相对应的血型抗原。与现用方法比较，本发明方法具有准确性高，自动化程度高等优点。

