

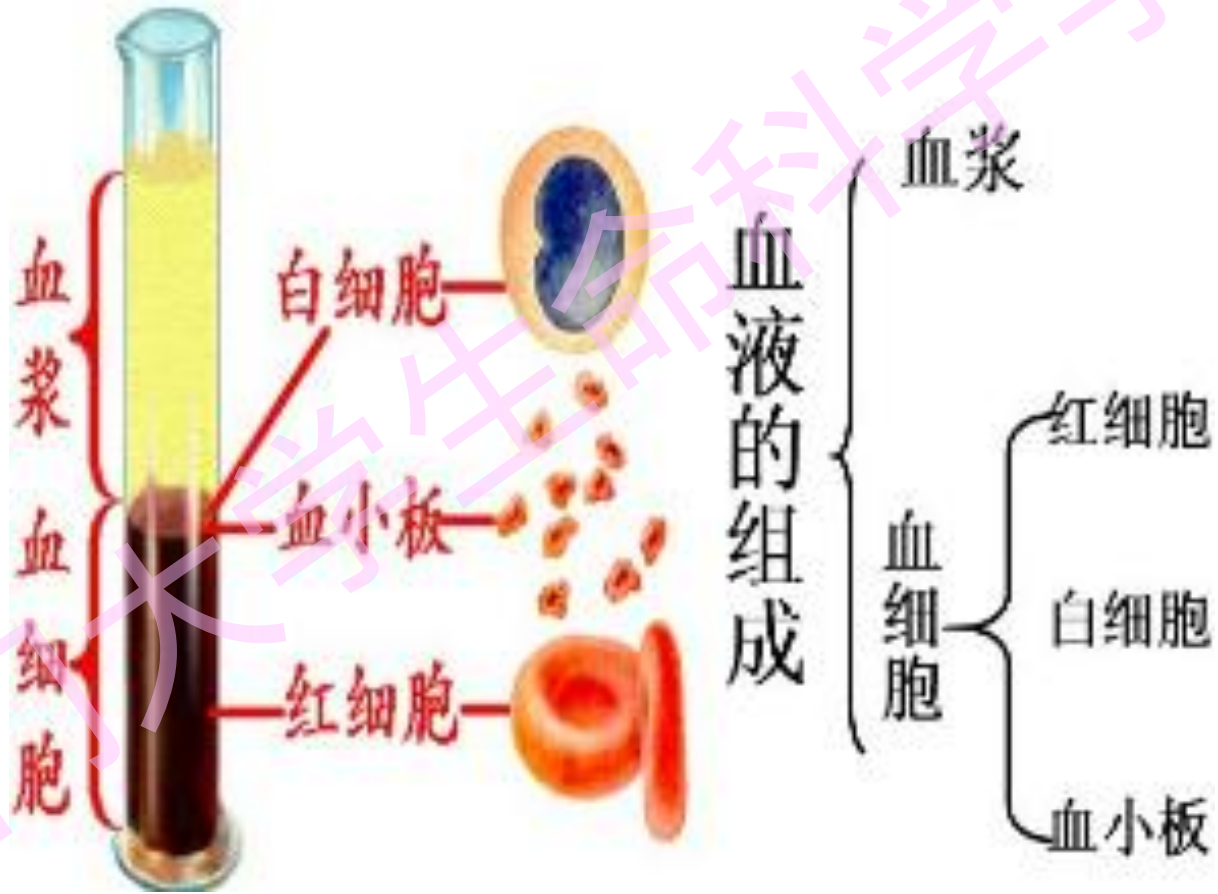
# 实验二

## 人类ABO血型检测及 人血涂片的制备和观察

# 实验目的

1. 了解人类血型的遗传特性及其遗传方式；掌握人体血型（ABO型）的检验方法。同时了解自己的血型。
2. 观察红细胞凝集现象，掌握ABO血型鉴定的原理。
3. 掌握血涂片的制备方法；认识红细胞及各种白细胞的典型形态；

# 血液的组成



# 实验原理

血型是指红细胞的血型，是根据红细胞膜外表面存在的特异性抗原（镶嵌于红细胞膜上的糖蛋白和糖脂）来确定的，这种抗原或凝集原是由遗传决定的。抗体或凝集素存在于血清中，它与红细胞的不同抗原起反应，产生凝集，最后溶解，由于这种现象，临床上在输血前必须注意鉴定血型，以确保安全输血。通常输血反应中大多数注意ABO血型系统。

# 输血试验的历史

最早的输血试验是英国人罗维尔在1665年进行的。他把一条失血过多濒于死亡的狗的静脉与另一条健康狗的静脉用鹅毛管连接起来。失血的狗逐渐从濒死状态恢复过来。

1667年，法国国王的御医丹尼斯首先进行了动物血液输人人体的试验。他将400毫升羊血注入一个失血多病的青年人的静脉，这个青年人竟奇迹般地活了下来。此后他又进行了多次输血试验，也安然无恙。但他在1668年的一次试验中，却以失败而告终。他给一名患者输动物血，第一次输血后病人病情有所好转；第二次输血后，病人出现发热、腹痛、大汗、血尿等症状，第三次输血后病人死亡。死者妻子告丹尼斯犯有杀人罪，为此，法国议会特别制定法律：不许再进行输血。

**1825**年，英国的布伦德尔医生从一个人直接输血给另一个人首次成功，但是这一成功具有很大的偶然性。据医书记载：**19**世纪末叶有**346**人接受过输血治疗，另有**129**人被试图输入动物的血液。当时人们还没有认识到血型的不同，因输血发生的事故时有发生，因此，输血是要冒极大风险的。



**1868**年生于奥地利首都维也纳。维也纳大学医学院毕业后，继续留校，学习化学。**1900**年发现A、B、O3种血型。**1919**年在荷兰巴库的一所医院工作。**1922**年赴美，受聘于洛克菲勒研究所。**1930**年获诺贝尔生理学医学奖。**1943**年逝世。

兰德斯坦纳 (K.Landsteiner)

## 兰德斯坦纳的贡献

1900年，兰德斯坦纳在维也纳病理研究所工作时，发现一个人的血清有时会与另一个人的红细胞发生凝集。随后，兰德斯坦纳进一步发现人的血液按红细胞与血清中的不同抗原和抗体，可分为不同类型，他以A、B、O三个字母来代表他发现的三种不同类型的血液。不同血型的血液混合在一起，就会发生凝血、溶血现象。



# 人类血型系统的确立

1902年，兰德斯坦纳的两名学生把实验范围扩大到155人，又发现了较为稀少的AB型血。

1927年，国际上正式采纳了兰德斯坦纳原定的字母命名，确定血型有A、B、O、AB四种类型。至此，现代血型系统正式确立。

兰德斯坦纳在认识人类血型方面的杰出研究成果，不仅为安全输血和治疗新生儿溶血症提供了科学的理论基础，而且对免疫学、遗传学、法医学的发展都带来了深远影响。

## 红细胞血型

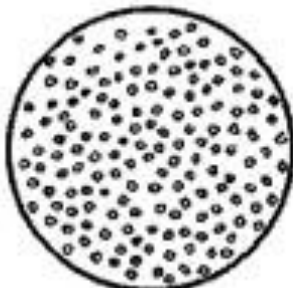
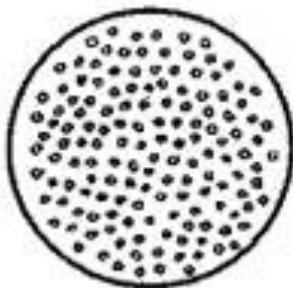
**血型 (blood group)**：人类血液由遗传控制的个体性状之一，是血液的遗传标记 (genetic marker)

**红细胞血型**：指红细胞表面抗原由遗传所决定的个体差异；

**广义的血型概念**：指包括血液、体液、分泌液、排泄物及组织细胞上，由遗传所控制的个体性状

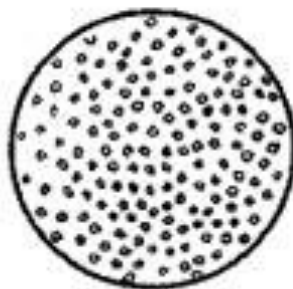
# 血型鉴定

O型



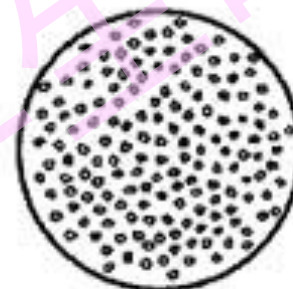
红细胞上不含有A、B抗原，  
而血清中含有抗A和  
抗B抗体称为O型。

A型



红细胞上含有A抗原，  
而血清中含有抗B抗体的称为A型

B型



红细胞上含有B抗原，而血清中  
含有抗A抗体的称为B型

AB型



红细胞上含有A和B抗原，  
而血清中无抗A、抗B抗体  
的称为AB型

## 父母的血型与子女的血型关系

父母血型	子女可能有的血型	子女不可能有的血型
<b>O+O</b>	<b>O</b>	<b>A、B、AB</b>
<b>A+O</b>	<b>A、O</b>	<b>B、AB</b>
<b>A+A</b>	<b>A、O</b>	<b>B、AB</b>
<b>B+O</b>	<b>B、O</b>	<b>A、AB</b>
<b>B+B</b>	<b>B、O</b>	<b>A、AB</b>
<b>A+B</b>	<b>A、B、AB、O</b>	<b>---</b>
<b>AB+O</b>	<b>A、B</b>	<b>O、AB</b>
<b>AB+B</b>	<b>A、B、AB</b>	<b>O</b>
<b>AB+A</b>	<b>A、B、AB</b>	<b>O</b>
<b>AB+AB</b>	<b>A、B、AB</b>	<b>O</b>

- 人类血型有数十亿种之多。人类除同卵双生子女外，再也找不到两个血型完全相同的人。

# Rh血型

- Rh是恒河猴（Rhesus Macacus）外文名称的头两个字母。兰德斯坦纳等科学家在1940年做动物实验时，发现恒河猴和多数人体内的红细胞上存在Rh血型的抗原物质，故而命名的。
- 凡是人体血液红细胞上有Rh抗原（又称D抗原）的，称为Rh阳性。这样就使已发现的红细胞A、B、O及AB四种主要血型的人，又都分别一分为二地被划分为Rh阳性和阴性两种。

随着对Rh血型的不断研究，认为Rh血型系统可能是红细胞血型中最为复杂的一个血型系。Rh血型的发现，对更加科学地指导输血工作和进一步提高新生儿溶血病的实验诊断和维护母婴健康，都有非常重要的作用。根据有关资料介绍，Rh阳性血型在我国汉族及大多数民族人中约占99.7%，个别少数民族约为90%。在国外的一些民族中，Rh阳性血型的人约为85%，其中在欧美白种人钟，Rh阴性血型人约占15%。

# 实验材料及试剂

- 显微镜、载玻片、刺血针、消毒牙签、A型和B型标准血清、生理盐水、酒精棉球。
- 受检者血液
- 75%乙醇、瑞氏染液、磷酸盐缓冲液





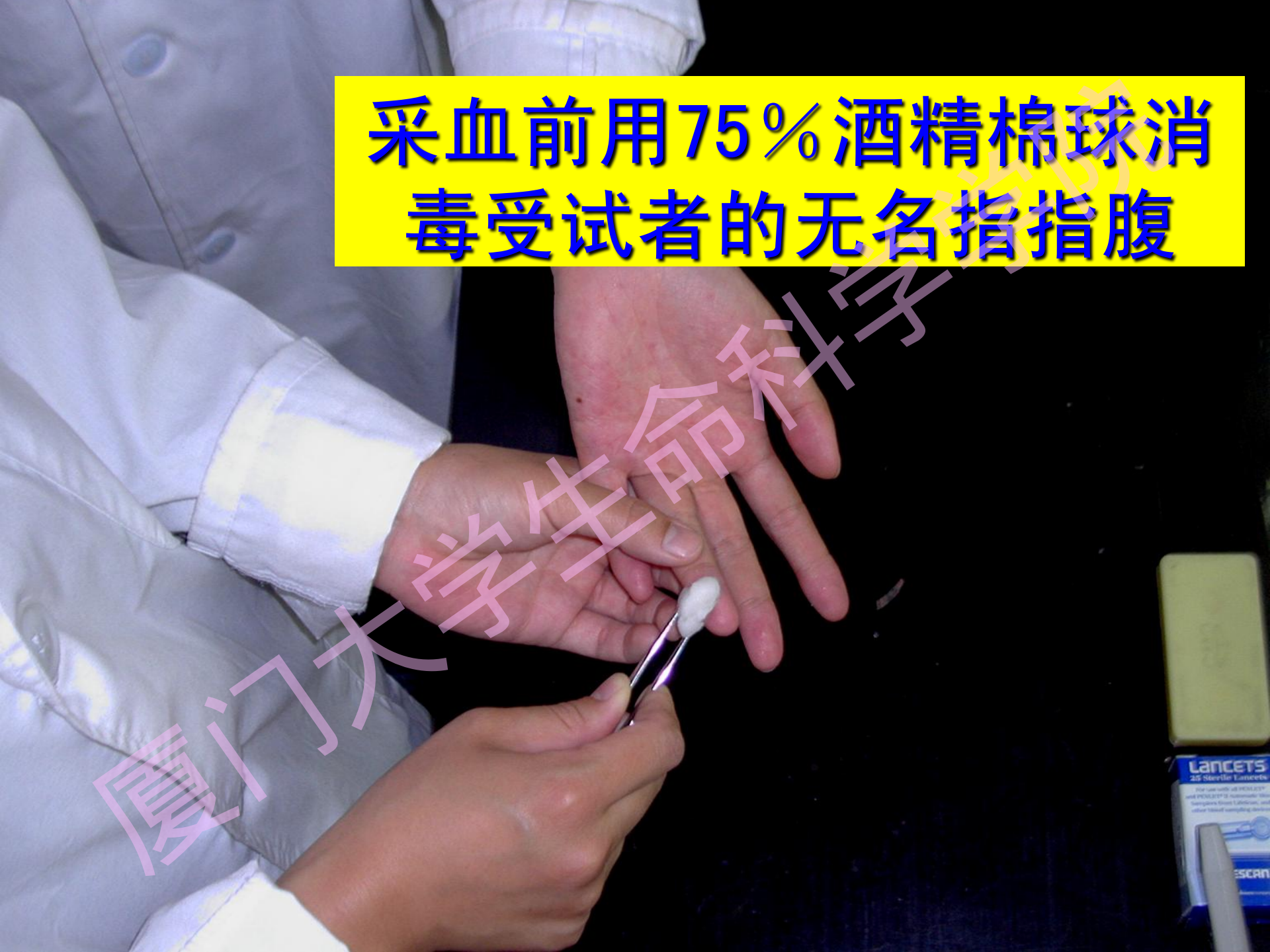
# 【方法与步骤】

1. 取一块清洁玻片，用铅笔划上记号，**左上角写A字，右上角写B字。**
2. 用小滴管吸抗A血型定型试剂（蓝色）一滴加入左侧，用另一小滴管吸抗B血型定型试剂（黄色）一滴加入右侧。
3. 穿刺手指取血，玻片的每侧各放入一小滴血，用牙签搅拌，使每侧抗血清和血液混和。每边用一支牙签，切勿混用。





采血前用75%酒精棉球消毒受试者的无名指指腹





# 采血





抗A



抗B

- 血液与试剂混合后，静置5-15分钟后观察结果

# 观察有无凝集，并按下表判定结果

血型	抗A试剂	抗B试剂
A	+	-
B	-	+
O	-	-
AB	+	+

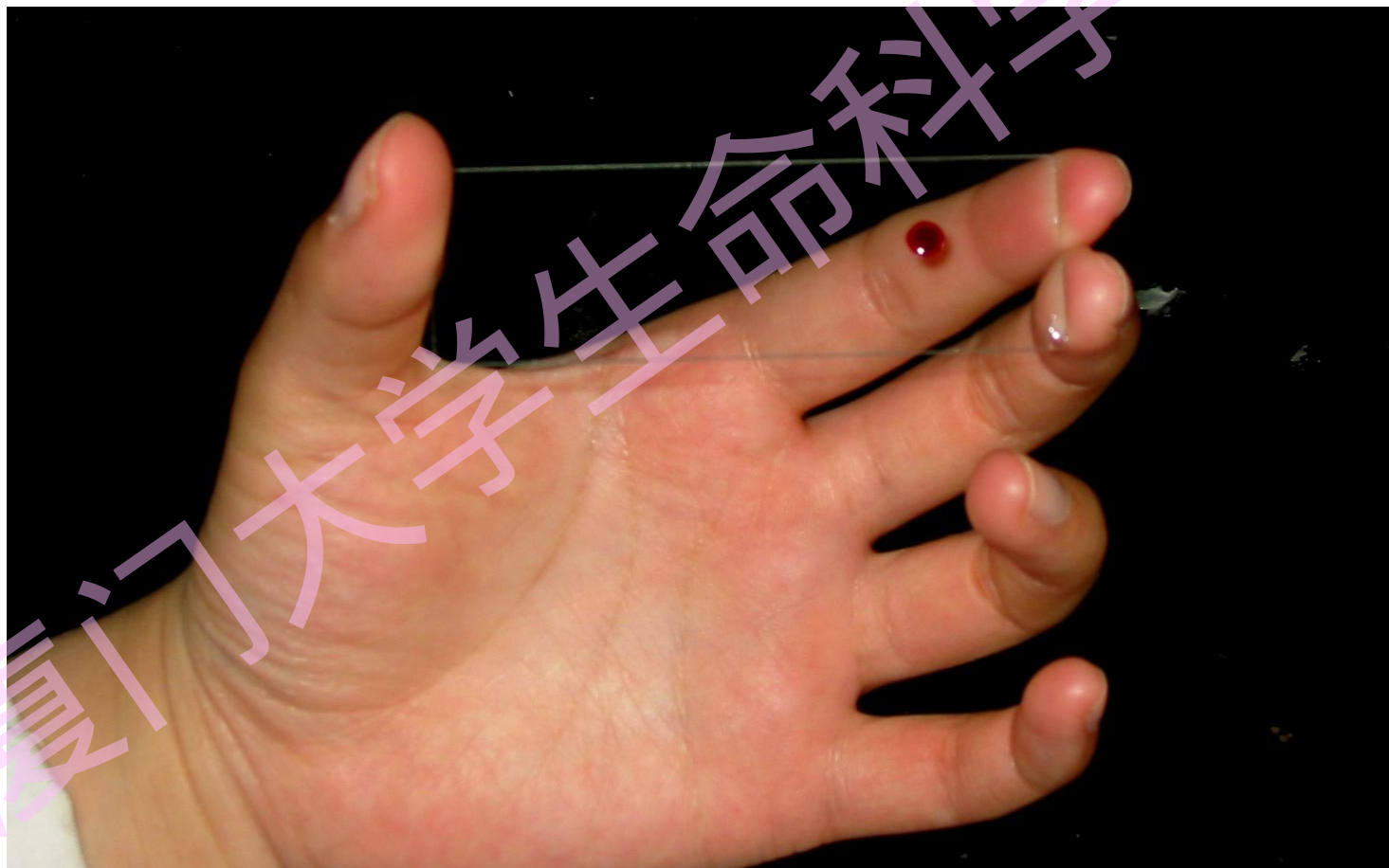
呈现均匀的淡红色时，表明不凝集，用“-”号表示。  
在试剂里凝结成絮团状，形成鲜明的对比，表明凝集，用“+”号表示。



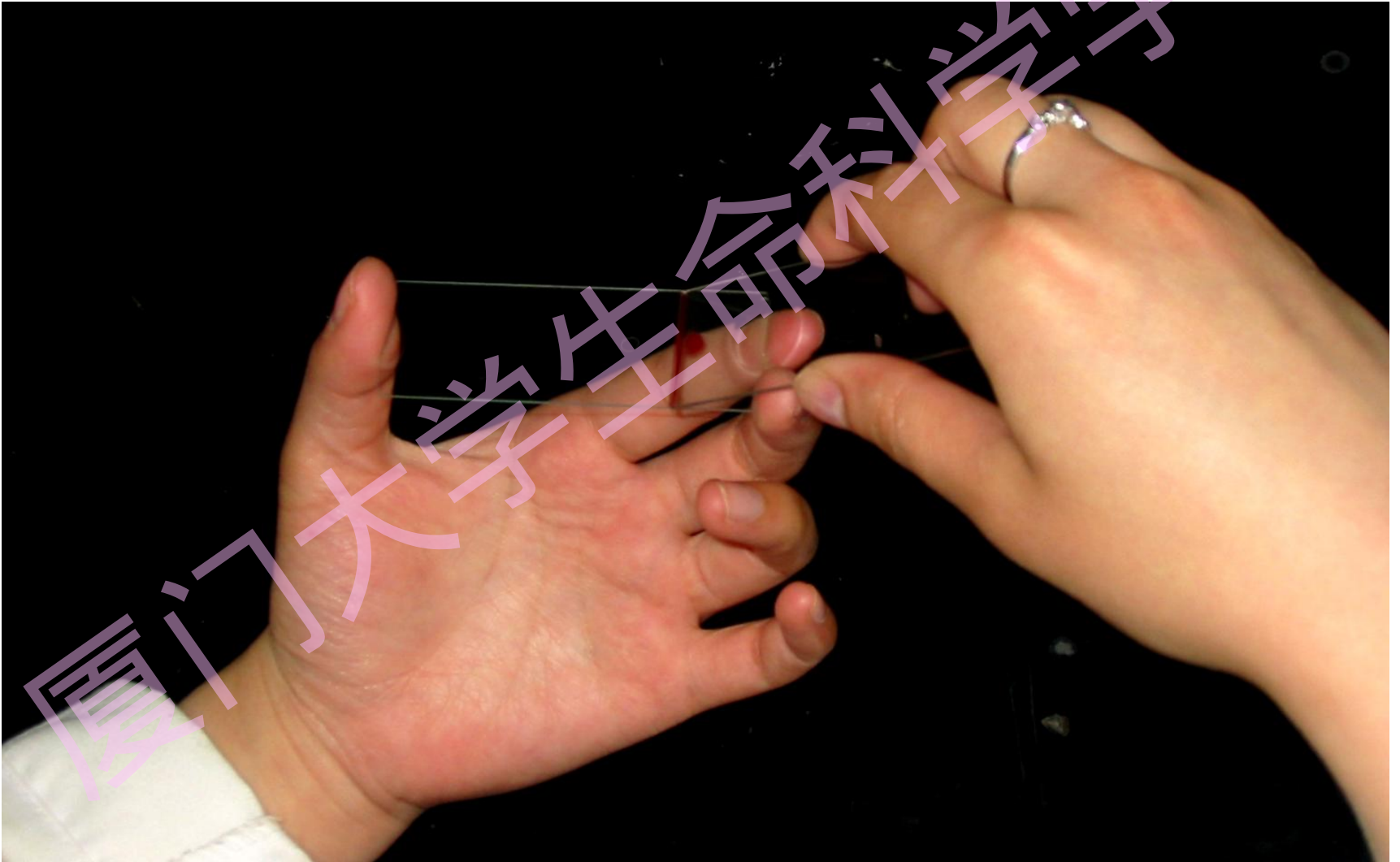


**第一、第二滴血滴加于ABO血型检测试剂液滴中，用牙签将血液和试剂混合**  
**第三滴血滴加于一干净的载玻片一端**

**推片：挤出第三滴血置于载玻片的右侧**

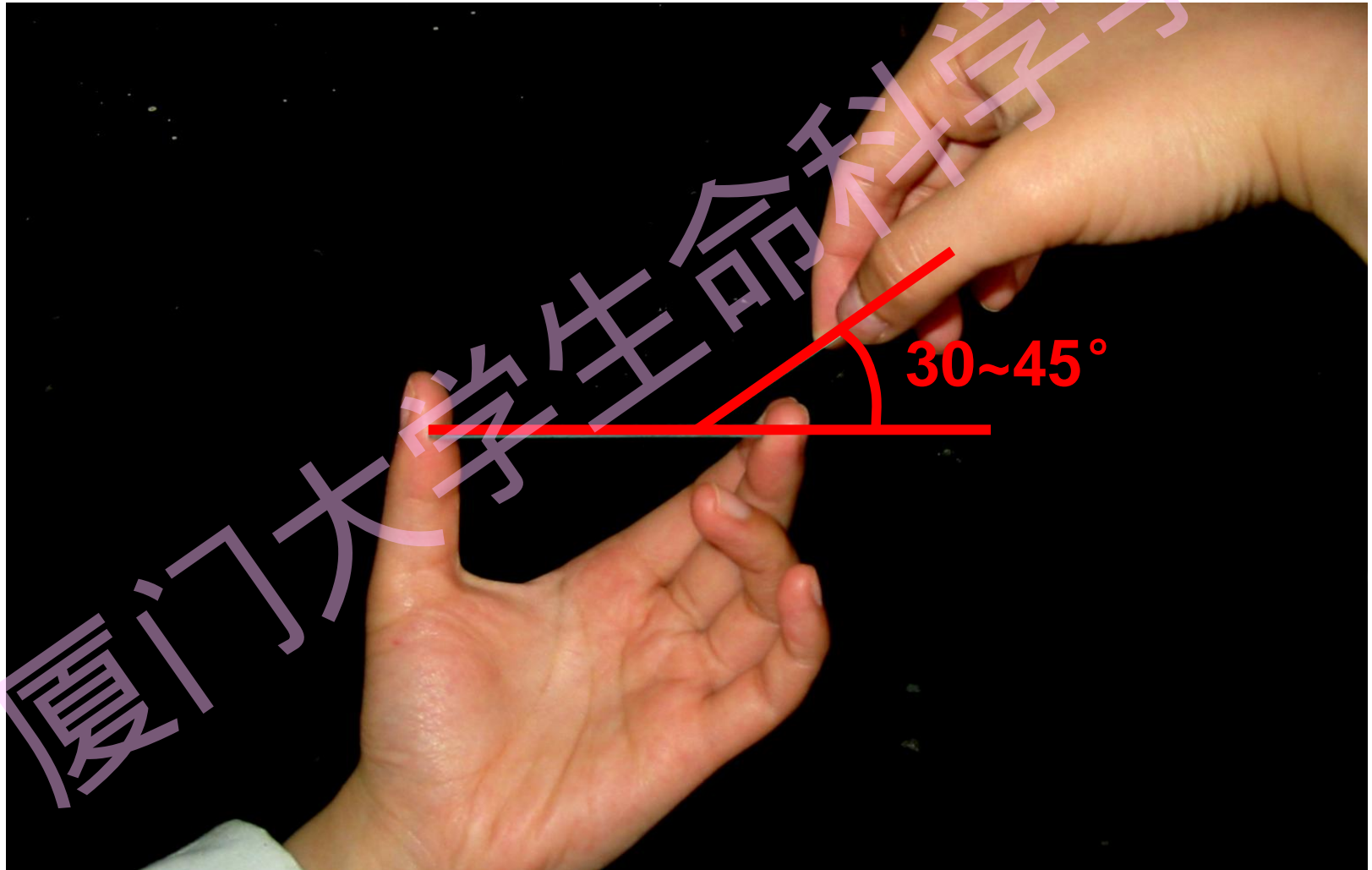


再取另一张边缘光滑的载玻片，斜置于血滴的前缘，先向后稍移动轻轻触及血滴，使血液沿玻片端展开成线状。





两玻片的角度以 $30-45^\circ$ 为宜，轻轻将推片向前快速而均匀地推进，形成头尾明显的舌形血膜。静置使其干燥。

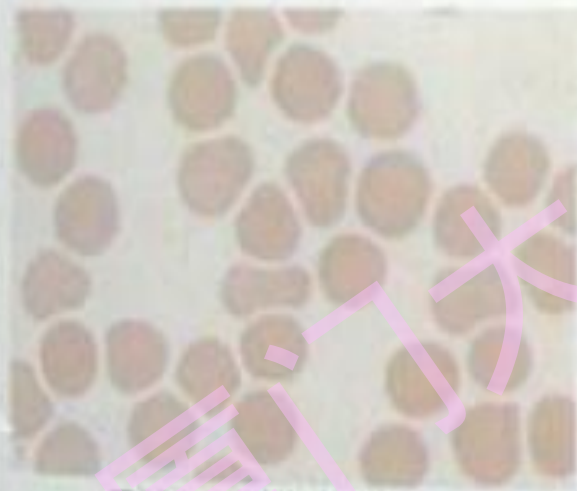




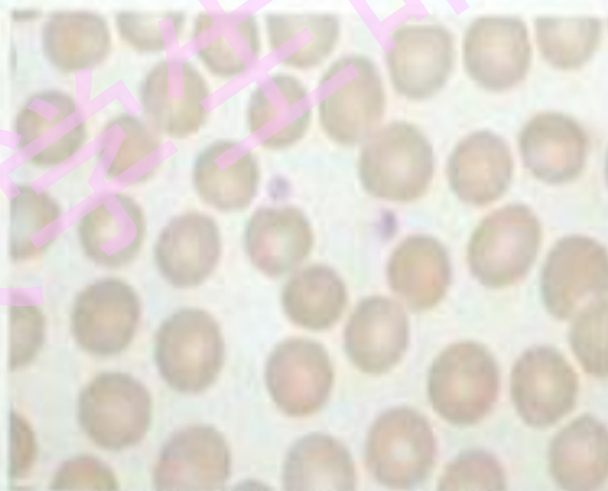
不适宜

适宜

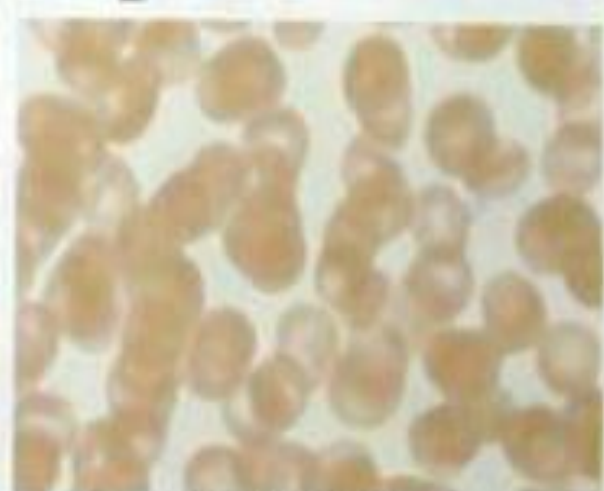
不适宜



虽然红细胞很分散，  
但是立体构造看不清



红细胞分散均匀，立体构造  
也看得清（中央明亮）



红细胞互相重叠

# 染色

- 待涂片在空气中完全干燥后，滴加3-4滴瑞氏染液盖满血膜为止，染色1-2 mins。然后滴加等量蒸馏水，使其与染液均匀混合
- 静置10~15 min
- 用蒸馏水冲去染液，吸水纸吸干，室温下干燥后显微镜观察。



# 瑞氏染液

是由酸性染料伊红和碱性染料美蓝组成的复合染料，溶于甲醇。后解离为带正电的美蓝和带负电的伊红离子。

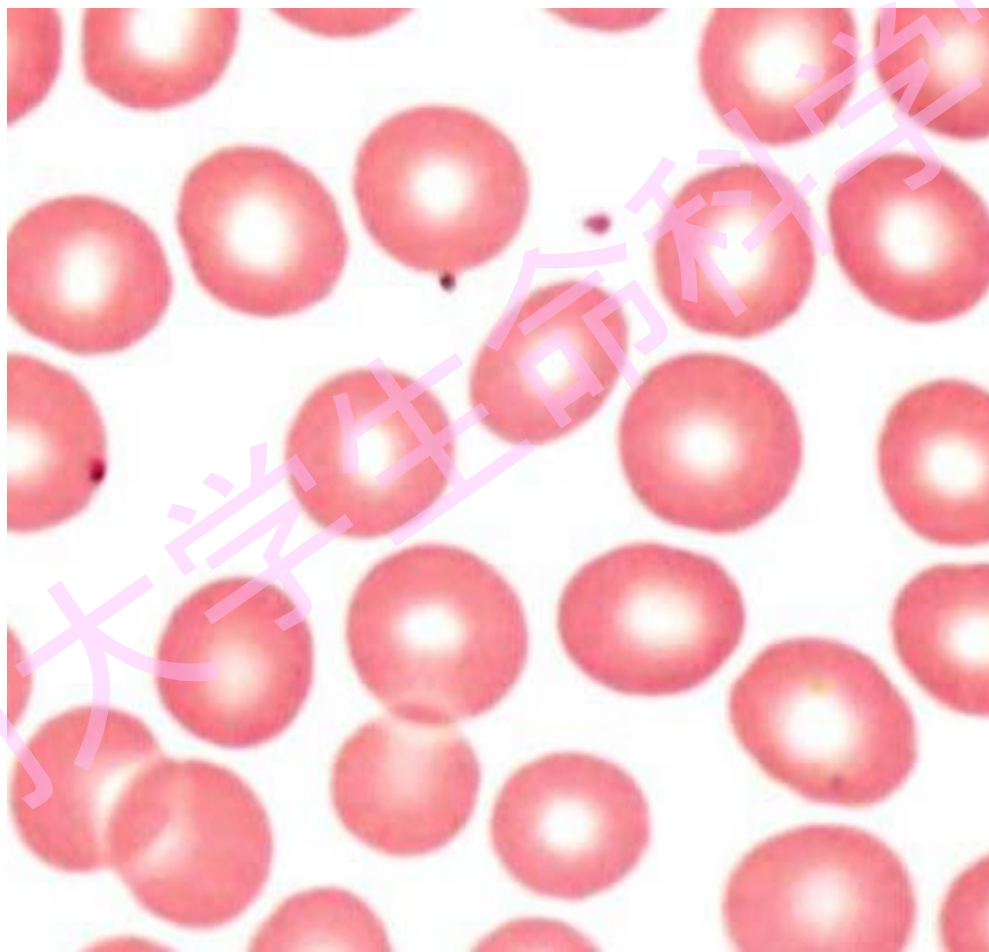
甲醇使瑞氏染料中美蓝（M）与伊红（E）在溶液中解离，可使细胞成分选择性吸附其中的有色物质而着色。

美蓝与伊红化合物能使核染成紫红色，但不能使胞浆染为蓝色，多余美蓝就可以使胞浆染成蓝色，染色主要是化学作用，是离子彼此结合的反应。

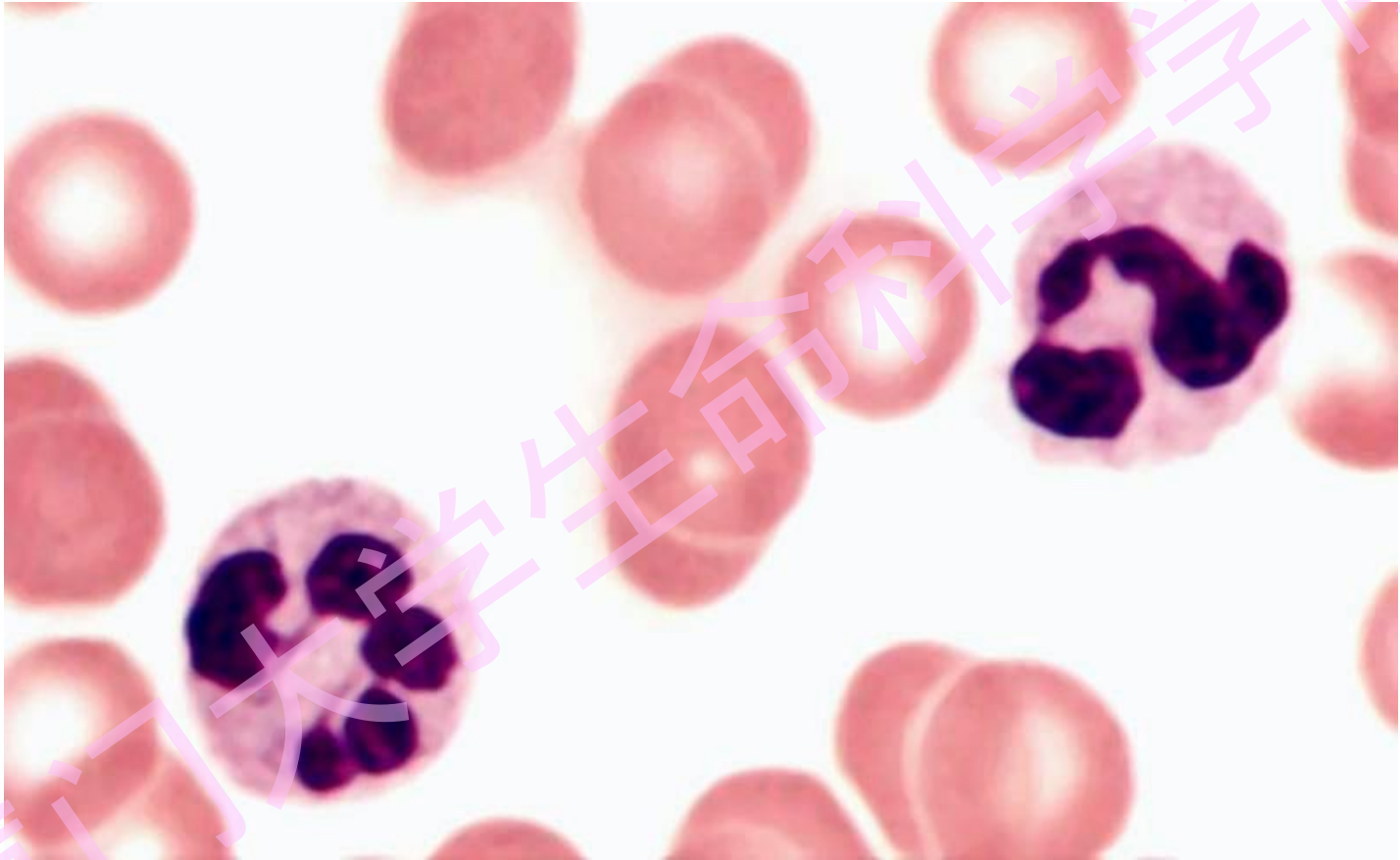
甲醇具有强大的脱水力，可将细胞固定在一定形态及增加细胞结构的表面积，提高细胞对染料吸收作用。



# 血涂片镜检结果-红细胞

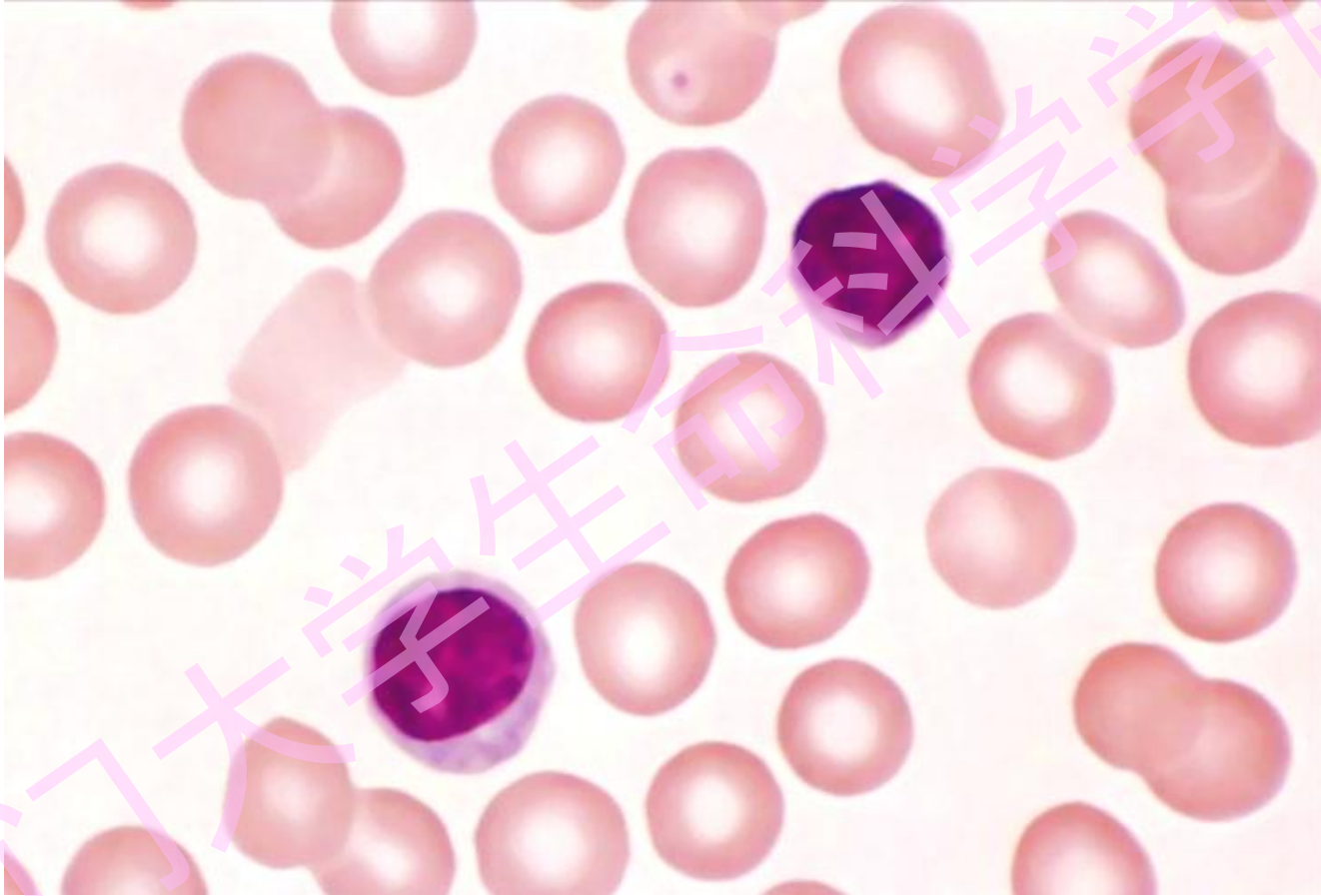


# 中性粒细胞



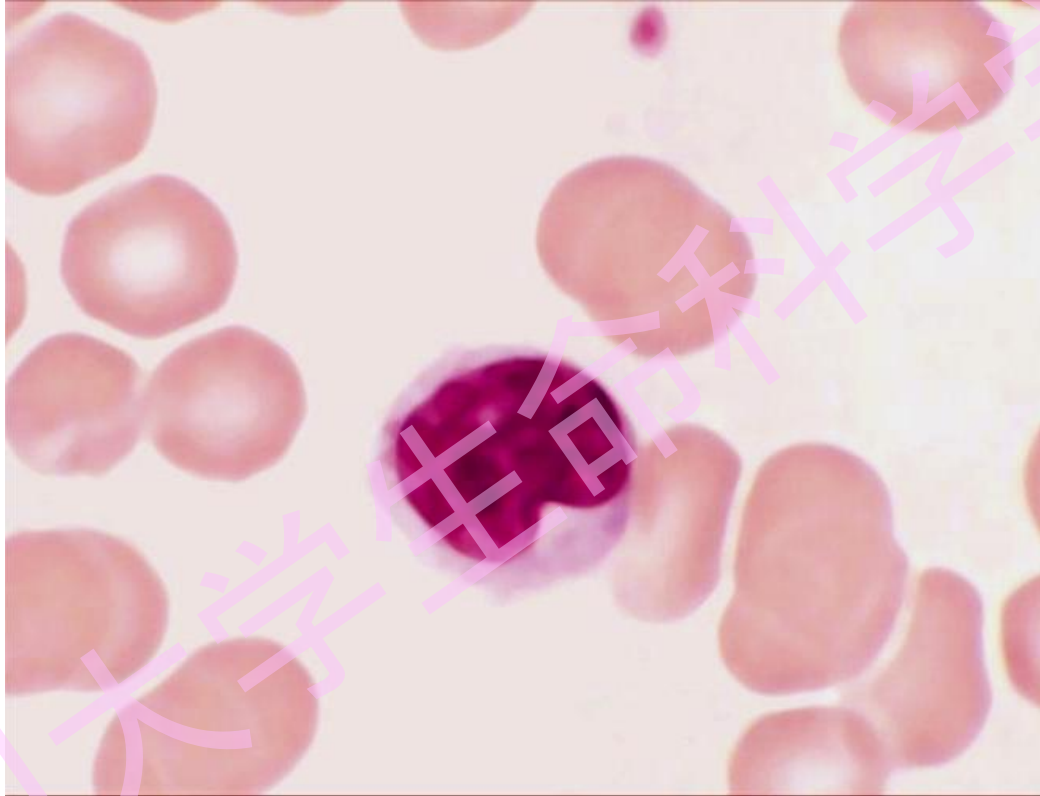
细胞核形态多样，呈腊肠、分叶、杆状等  
胞质呈粉红色，含淡紫色或淡红色颗粒

# 淋巴细胞



小、中、大淋巴细胞  
细胞核圆形，着色深，占细胞大部分  
胞质少，嗜碱性，被染成蔚蓝色

# 单核细胞



白细胞中体积最大的细胞

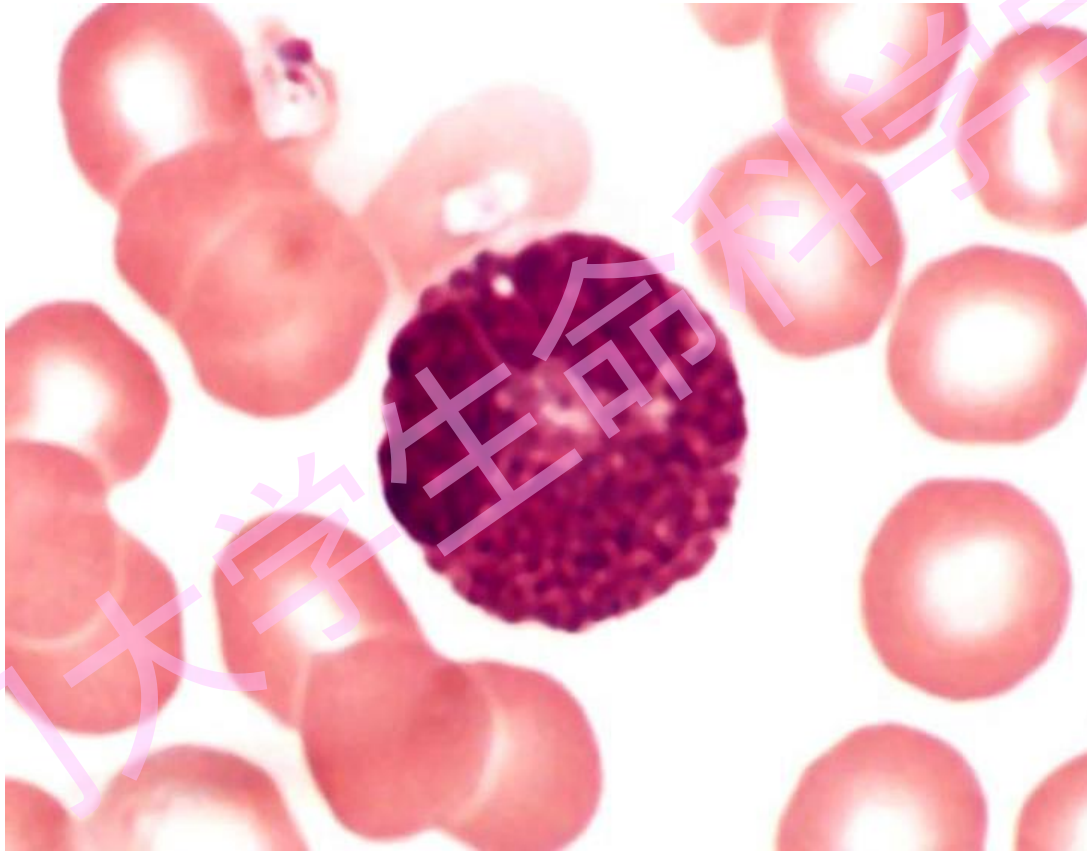
细胞呈圆形或椭圆形

细胞核形态多样，呈卵圆形、肾形、马蹄形或不规则形，核常偏位

胞质较多，弱嗜碱性。

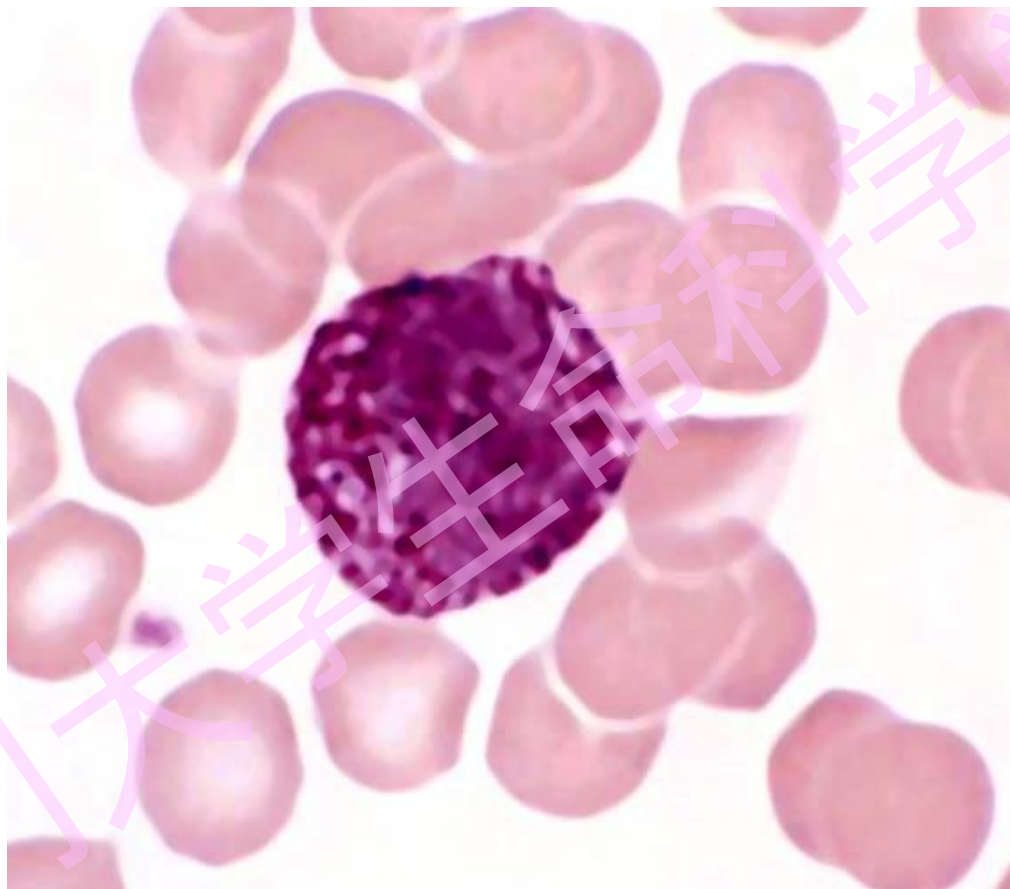


# 嗜酸性粒细胞









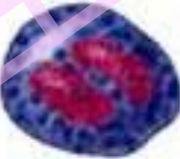
细胞核常为两叶  
胞质内充满粗大、均匀、略带折光性的嗜酸性颗粒（橘红色）

# 嗜碱性粒细胞



细胞核分叶或呈S形、不规则形，着色较浅  
胞质含有染成蓝紫色的嗜碱性颗粒，大小不等，分布不均。

# 血细胞

红细胞	白细胞				血小板	
	粒细胞			单核细胞	淋巴细胞	
	中性细胞	嗜酸性粒细胞	嗜碱性粒细胞			
						

# 实验结果

- 实验报告
- 记录结果。
  - 血型检测结果
  - 描述用你制备的血涂片在显微镜下观察到的各种血细胞并绘图