

前 言

牛肺疫是由丝状支原体丝状亚种(PG1)引起的一种牛属动物的传染病。健康牛和病牛接触由呼吸道吸入病牛的“飞沫”,是本病的主要传染方式和感染途径。暴发流行时多呈急性病演,呼吸系统症状非常明显,体温在41℃以上稽留。但在病的常在地区多见亚急性和慢性病程,以地方流行性为特点。急性期病变为浆液渗出性纤维素性胸膜肺炎,肺间质多孔多汁,肺小叶出现各期肝变、多色,呈大理石样肺,肺胸膜和肋胸膜粘连,以及胸腔渗出液大量滞留为特征。转为慢性后逐渐形成肺包膜或坏死块。慢性病牛长期带菌,成为隐蔽的传染源。

在新发的地区对此病的检验应采取流行病学、临床学、血清学、病理学和病原学综合诊断方法为宜。世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]于1986年和1992年推荐采用稍加改进的Campbell和Turner的补体结合试验作为牛肺疫血清学诊断的方法,但常出现非特异性反应。新中国成立后一直采用补体结合试验检验牛肺疫,并于1979年将该法列入农业部颁布的《动物检疫操作规程》中,但这种方法常出现1%~2%非特异性反应。近年来我国研制成功了特异性高的微量凝集反应检验方法,它不但降低了非特异性反应率,而且操作简便,容易判定,应用效果良好。病原学诊断主要取病牛肺脏,胸腔渗出液和肺门淋巴结接种马丁培养基,即可分离出牛肺疫病原体,此法对急性期病例的检出率可达100%。

本标准的附录A、附录B、附录C、附录D、附录E都是标准的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中国农业科学院哈尔滨兽医研究所。

本标准主要起草人:白文彬。

牛传染性胸膜肺炎(牛肺疫)诊断技术

Diagnostic techniques for contagious bovine pleuropneumonia

1 范围

本标准规定了牛传染性胸膜肺炎的病原学检查、补体结合试验、微量凝集试验诊断技术要求。

本标准适用于牛传染性胸膜肺炎的检验。病原学检查适用于急性、亚急性及慢性病牛分离病原体，补体结合试验和微量凝集试验适用于牛肺疫抗体的检测。

2 病原学检查

2.1 材料准备

培养基:10%马血清马丁肉汤,10%马血清马丁琼脂[见附录 A(标准的附录)]。

2.2 病料采集

2.2.1 用灭菌器械(剪刀、镊子、吸管、青霉素瓶等)无菌采集肺脏、胸腔渗出液、肺门淋巴结,并将肺病料剪成 3 cm~5 cm 方块。胸部淋巴结,以整个淋巴结为好,胸腔渗出液用吸管吸入青霉素瓶内。

2.2.2 受检病料的保存:肺和淋巴结保存在用茶色广口瓶盛装的灭菌的 40%~50%甘油生理盐水中,胸腔渗出液不加任何保存液。病料均放入冰箱内保存,并应尽快送往实验室检验。

2.3 培养方法

在无菌条件下剪肺病料或淋巴结小块,用铂金耳钩入 10%马血清马丁肉汤内;胸腔渗出液用灭菌吸管吸取 0.1 mL~0.3 mL 接种于马丁肉汤中即可。同时取剪碎病料小块或直接取胸腔渗出液,用铂金耳在 10%马血清马丁琼脂培养皿上划线接种,培养皿用胶布封口,置 37℃~38℃ 培养,每天观察一次,5 d~7 d 后判定。

2.4 结果判定

2.4.1 培养特征

2.4.1.1 培养性状和菌落形态:牛肺疫病原微生物在 10%马血清马丁肉汤内生长初期呈轻微混浊或呈白色点状、丝状生长,以后逐渐均匀混浊,半透明稍带乳光,不产生菌膜或沉淀,也无颗粒悬浮。在 10%马血清马丁琼脂培养皿上生长迟缓,为极小的水滴状圆形略带灰色的微细菌落,中央有乳头状突起。菌落直径约 0.2 mm~0.5 mm,小的不易看见,需用放大镜或低倍显微镜观察。

2.4.1.2 染色镜检取马丁肉汤培养物涂片放温箱中干燥,后在酒精灯上轻微火焰固定,再用 3%~5% 铬酸蒸馏水溶液固定 1 min~2 min,水洗,浸入用蒸馏水稀释的 1:30 的姬姆萨氏染液中染色,染片时染色缸放入普通冰箱内过夜,染色后取出用蒸馏水轻洗,自然干燥后用 800~1 000 倍显微镜观察。菌形为多形态,以球点形最常见,大小在 125 nm~250 nm。

2.4.2 生化特性

2.4.2.1 糖发酵试验

2.4.2.1.1 取蛋白胨水(pH7.8~8.0)100 mL,氯化钠 0.5 g 所需各种糖类 0.5 g~1.0 g。溶解各成分,加入 1.6%溴甲酚紫酒精溶液指示剂 0.1 mL 混匀,分装三分管内装 2 mL,管内装有倒置的小玻璃

管(杜汉氏发酵管)。经 106.4 kPa 20 min 灭菌。

2.4.2.1.2 在进行糖发酵试验时,首先将各种糖培养基小管加无菌的马血清 0.2 mL,再加受检的菌液 0.1 mL,置 37℃~38℃下培养 5 d~7 d。

2.4.2.1.3 结果判定:牛肺疫菌可轻度分解葡萄糖、麦芽糖、糊精、淀粉产酸使培养基变黄,而不产气;不能分解果糖、蔗糖、草糖、单奶糖和杨苷。

2.4.2.2 硫化氢(H₂S)试验

2.4.2.2.1 乙酸铅纸条的制备:取滤纸剪成 6.5 cm×0.6 cm 大小的纸条,置平皿中,经 112 kPa 20 min 灭菌,烘干,再将滤纸条浸泡在灭菌的饱和乙酸铅溶液(10 g 乙酸铅溶于 50 mL 沸蒸馏水中,即为饱和乙酸铅溶液),浸透后取出,置无菌平皿内,37℃烘干,保存于灭菌的试管中。

2.4.2.2.2 试验方法:受试菌接种于 10% 马血清马丁肉汤或琼脂斜面上,取一片乙酸铅滤纸条,夹在试管的棉塞下悬挂,置 37℃培养 5 d~7 d,滤纸条变黑或棕褐色者为阳性反应。

2.4.2.3 硝酸盐还原试验

2.4.2.3.1 培养基的准备:取营养肉汤或马丁肉汤 100 mL,硝酸钾(KNO₃)0.1 g,调 pH 至 7.8~8.0,分装试验管,112 kPa 20 min 灭菌。

2.4.2.3.2 试剂的准备:

试剂 1,甲液:对氨基苯磺酸 0.5 g,5 mol/L 乙酸 100 mL;乙液:α-萘胺 0.5 g,5 mol/L 乙酸 100 mL。

试剂 2,二苯胺试剂:二苯胺 0.5 g 溶于 100 mL 浓硫酸中,用 20 mL 蒸馏水稀释。

2.4.2.3.3 试验方法。首先向硝酸盐培养液中加入 10% 无菌马血清,然后将试验菌接种于硝酸盐培养基中,同时设不接种的对照管,于 37℃培养 5 d~7 d。于 5 d 和 7 d 时取培养液少许放入干净的小试管中,再各滴一滴试剂甲液和乙液,对照管同样加试剂。若试管菌液呈现红色,橙色者为阳性反应;如无红色出现,则可加一二滴二苯胺试剂,若呈现蓝色反应,则表示培养基中有硝酸盐存在;如不呈蓝色反应,表示硝酸盐和形成的亚硝酸盐已被还原成其他物质,则仍按硝酸盐还原试验阳性反应。

2.4.2.4 靛基质试验

2.4.2.4.1 培养基准备:蛋白胨 1 g,氯化钠 0.5 g,色氨酸 0.1 g,蒸馏水 100 mL。溶解各成分,调 pH 至 7.8~8.0 分装试管,经 106.4 kPa 20 min 灭菌。

2.4.2.4.2 试剂:对二甲基氨基苯甲醛 5 g,95%乙醇 75 mL,浓盐酸 25 mL。对二甲基氨基苯甲醛溶于乙醇中,再缓缓加入浓盐酸即成。

2.4.2.4.3 试验方法:先向培养基中加入 10% 无菌马血清,再将试验菌接种于培养基中,37℃培养 5 d~7 d 后,滴加试剂数滴于培养物液面,轻轻摇动,红色为阳性反应。黄色为阴性反应。

2.4.2.5 甲基红(MR)试验

2.4.2.5.1 培养基:蛋白胨 0.7 g,葡萄糖 0.5 g,磷酸氢二钾 0.5 g,蒸馏水 100 mL。各成分溶解后,调 pH 7.8~8.0,分装试管。经 106.4 kPa 20 min 灭菌备用。

2.4.2.5.2 试剂:甲基红 0.02 g,95%酒精 60 mL,蒸馏水 40 mL。先将甲基红研磨溶解于酒精中,再加蒸馏水即成。

2.4.2.5.3 试验方法:按 10% 量向培养基中加无菌马血清,再接种试验菌,37℃培养 5 d~7 d。于第五天时取少许培养液于另一支试管中,并加几滴试剂,如培养液呈现红色为 MR 试验阳性;黄色者为阴性,继续培养至第 7 天,再进行试验。

2.4.2.6 维培二氏(VP)试验

2.4.2.6.1 培养基与 MR 试验相同。

2.4.2.6.2 试剂与方法:可用下列三种试剂进行 VP 试验:

a) Barritt's 试剂法。甲液:6%α-萘酚酒精溶液。乙液:40%氢氧化钾溶液。取 MR 试验的同一培养物约 2 mL,加甲液 1 mL,乙液 0.4 mL,充分混合,在 5 min 内呈粉红色反应为阳性。

b) O'Meara's 试剂法: 氢氧化钾(或氢氧化钠)40 g, 肌酐(creatine)0.3 g, 蒸馏水 100 mL。取上述同一培养物约 2 mL 加等量试剂相混合, 充分振荡试管, 在 5 min 内呈粉红色者为阳性反应。

c) 硫酸铜试剂法, 硫酸铜 1 g, 浓氨水 40 mL, 10% 氢氧化钾 960 mL。硫酸铜溶于 40 mL 浓氨水中, 加 10% 氢氧化钾 960 mL 即成。试验时加等量的试剂于培养物中混合, 在 5 min 内呈粉红色反应为阳性。上述三种方法为阴性, 继续培养, 再行观察。

3 补体结合试验

3.1 材料准备

3.1.1 稀释液: 系用常规方法配制 0.85% 生理盐水。

3.1.2 2.5% 绵羊红细胞悬液: 无菌采集绵羊血, 脱纤维经两层纱布过滤后, 用生理盐水洗涤 3 次, 每次 2 000 r/min 离心, 10 min, 最后用生理盐水将红细胞泥配成 2.5% 悬液。

3.1.3 抗原、标准阳性血清、阴性血清、溶血素, 按说明书使用。抗原效价滴定方法见附录 B(标准的附录)。溶血素效价滴定见附录 C(标准的附录)。

3.1.4 补体: 效价滴定方法见附录 D(标准的附录)。

3.1.5 标准溶血管的制备: 见附录 E(标准的附录)。

3.2 操作方法

3.2.1 被检血清、标准阴、阳性血清均用灭菌生理盐水作 1:5 稀释于 60℃ 水浴锅中灭活 30 min。

3.2.2 每份被检血清用两支康氏管或三分管(10 mm×100 mm), 每管加入 1:5 稀释的灭活血清 0.25 mL。

3.2.3 其中一管加工作量抗原 0.25 mL, 另一管加生理盐水 0.25 mL。

3.2.4 每管加入工作量补体 0.25 mL。

3.2.5 摇匀, 放 37℃~38℃ 水浴 20 min。

3.2.6 每管加入二单位溶血素 0.25 mL。

3.2.7 每管加入 2.5% 红细胞悬液 0.25 mL。

3.2.8 摇匀, 37℃~38℃ 水浴 20 min。

3.2.9 设标准阳性血清、阴性血清、补体对照(包括抗原、盐水)以及红细胞对照。

主试验操作程序、各要素加入量见表 1。

表 1 主试验操作程序

mL

管号	样品		对 照						红细胞对照
	1	2	3	4	5	6	7	8	
	被检血清		阳性血清		阴性血清		补体对照		
血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25			
工作量抗原	0.25		0.25		0.25		0.25		
工作量补体	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
生理盐水		0.25		0.25		0.25	0.25	0.25	0.5
振荡后 37℃~38℃ 水浴 20 min									
二单位溶血素	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
2.5% 红细胞	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
振荡后 37℃~38℃ 水浴 15 min									
结果 (比色判定)	-	-	++++	-	-	-	-	-	-

注: 对照 3~8 管及红细胞管每次试验只作一组。

3.3 判定标准

3.3.1 初判和终判

3.3.1.1 初判: 试验完毕后取出立即进行第一次判定。

对照管中阳性血清加抗原应完全抑制溶血“++++”, 其他对照管完全溶血, 证明试验操作中无误。

被检血清对照管发生不完全溶血或完全抑制溶血时, 此份血清应复试。若本试验管完全溶血则判为阴性。如不完全溶血或完全抑制溶血时放室温冷暗处静置 12 h 进行第二次判定。

3.3.1.2 终判: 将被检血清管与溶血度标准比色管比较上清液色调和红细胞沉积量, 以决定溶血程度而作最终判定。

3.3.2 溶血程度的判定标准

血清 1 : 5 稀释溶血程度的 0~50% 溶血判为阳性;

血清 1 : 5 稀释溶血程度的 60%~80% 溶血判为可疑;

血清 1 : 5 稀释溶血程度的 90%~100% 溶血判为阴性;

可疑者重检, 若仍为可疑可判为阳性。

4 微量凝集试验

4.1 材料准备

4.1.1 稀释液, 系用常规方法配制的 0.85% 生理盐水。

4.1.2 抗原、标准阳性血清、阴性血清按说明书使用。

4.1.3 DY-I 型 25 μ L 加样器, 酶标反应板或微量滴定板(微量板)。

4.2 操作方法

4.2.1 被检血清、标准阳性血清、阴性血清用灭菌生理盐水作 1 : 4 或 1 : 5 稀释, 经 56 $^{\circ}$ C~58 $^{\circ}$ C 灭能 30 min。

4.2.2 抗原用灭菌生理盐水稀释成工作量(1 : 8)。

4.2.3 用微量加样器吸取被检血清 25 μ L, 加入微量板的一个孔中。

4.2.4 加工作量抗原 25 μ L 于同一孔内, 即每头份被检血清用一个孔。

4.2.5 每板设阴、阳性血清和生理盐水对照。

4.2.6 轻轻摇动反应板混匀, 放室温暗处或 4 $^{\circ}$ C~8 $^{\circ}$ C 冰箱内 5 h~20 h 左右。

4.3 判定

4.3.1 判定标准

4.3.1.1 凝集程度: “++++”为 100% 凝集; “+++”为 75% 凝集; “++”为 50% 凝集; “+”为 25% 凝集; “—”为不凝集。

4.3.1.2 判定方法: 判定前轻轻振动反应板, 静置 3 min~5 min 即行判定。

判定时用 8 W 日光灯照明, 手持反应板, 借助侧光在黑色背景上判定或用凝集反应箱观察。

受检血清出现阳性反应的需重复试验一次, 如两次结果不一致时, 应再复试一次, 以两次以上试验结果一致时为准。

4.3.2 在阴、阳性血清和生理盐水对照正确的情况下, 被检血清出现“++”以上凝集的判为阳性; “+”和“—”为阴性反应。

附录 A
(标准的附录)
培养基

A1 10%马血清马丁肉汤(pH7.8~8.0)将制备的马丁肉汤分装于灭菌试管内,每管 4.5 mL,添加无菌马血清 0.5 mL。

A2 10%马血清马丁琼脂:马丁肉汤中加入琼脂,使含量达 1.3%~1.5%,经 121 kPa 高压灭菌 30 min 即成马丁琼脂。在灭菌的 6 cm~8 cm 直径培养皿内加无菌马血清 1 mL,再添加煮沸融化降温至 55℃~60℃的马丁琼脂 9 mL,轻轻摇动混合均匀,静置凝固后即成马丁琼脂培养基。

附录 B
(标准的附录)
抗原效价测定

按兽医生物药品厂判定的效价,在每批初次使用时重新测定,以后可每三个月测定一次。

牛肺疫标准阳性血清按表 B1 稀释,阴性血清作 1:5 稀释后,置 56℃~58℃灭活 30 min。

表 B1 阳性血清稀释

管号	1	2	3	4	5
稀释倍数	5	10	20	40	60
血清量/mL	1	2	2	2	2
生理盐水/mL	4	2	2	2	1

抗原先根据原测定的效价稀释为工作抗原,再按表 B2 稀释。

表 B2 抗原稀释

管号	1	2	3	4	5
稀释	100%	80%	60%	40%	20%
工作抗原/mL	5	4	3	2	1
稀释液/mL	0	1	2	3	4

然后按表 B3 程序加入试验成分进行抗原效价的测定。

表 B3 抗原效价测定

mL

成分	抗原稀释						抗原对照 100%
	100%	80%	60%	40%	20%	10%	
1:5 阳性血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
1:10 阳性血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
1:20 阳性血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
1:40 阳性血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
1:60 阳性血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
1:5 阴性血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
工作量补体	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
生理盐水							0.25
振荡后 37℃~38℃水浴 20 min							
二单位溶血素	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
2.5%红细胞	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

表 B3 (完)

mL

成分	抗原稀释						抗原对照 100%	
	100%	80%	60%	40%	20%	10%		
振荡后 37℃~38℃水浴 20 min								
结果	1:5 阳性血清	++++	++++	+++	++	-	-	-
	1:10 阳性血清	++++	++++	++	+	-	-	-
	1:20 阳性血清	+++	+++	++	-	-	-	-
	1:40 阳性血清	+++	++	+	-	-	-	-
	1:60 阳性血清	++	+	+	-	-	-	-
	1:5 阴性血清	-	-	-	-	-	-	-

抗原效价判定:如表 B3 所示,抗原效价系指抗原 80% 稀释液在标准阳性血清 1:10 的稀释液中,能产生完全抑制溶血现象(++++),并在 1:40 的稀释液中产生 50% 以上抑制溶血现象(++)者,此效价抗原即为工作量抗原。

在阴性血清和不加血清的抗原对照管中均应完全溶血,如抗原对照管发现有抑制溶血现象时,则认为该批抗原有抗补体作用,不能使用。

如试验结果发现抗原效价不足时,可继续试验其他浓度较高的抗原稀释液,如原判定效价为 1:13 稀释,经测定效价不足,可以提高浓度为 1:12、1:11、1:10……,再按上述方法测定。

附录 C

(标准的附录)

溶血素效价的测定

取 0.2 mL 溶血素(含等量甘油)加 9.8 mL 生理盐水混合成 100 倍基础液,其稀释方法见表 C1。

表 C1 溶血素稀释法

mL

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
稀释度	1:500	1:1000	1:1500	1:2000	1:2500	1:3000	1:3500	1:4000	1:4500	1:5000
1:100 溶血素	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
生理盐水	0.4	0.9	1.4	1.9	2.4	2.9	3.4	3.7	4.4	4.9
总量	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0

按照表 C2 顺序加入各种试验成分,在 37℃~38℃水浴 15 min。能使 0.25 mL 的红细胞液完全溶血的溶血素最小量(最大稀释度)称为一单位。

如表 C2 举例栏中第 6 管完全溶血,而对照管都没有溶血现象,则该批溶血素的效价即为 1:3000,使用两单位溶血素则为 1:1500。

表 C2 溶血素效价测定

mL

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
溶血素稀释度	1:500	1:1000	1:1500	1:2000	1:2500	1:3000	1:3500	1:4000	1:4500	1:5000	1:100	-	-
溶血素用量	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-
1:20 补体	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-	0.25	-
2.5% 红细胞	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
生理盐水	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.75	0.75	1.0
振荡后 37℃~38℃水浴 15 min													
结果判定	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
注:“+”抑制溶血,“±”部分溶血,“-”全部溶血。													

附录 D
(标准的附录)
补体效价测定

补体用生理盐水作 10 倍稀释。

阴性血清、阳性血清,作 1:5 稀释,56℃~58℃灭活 30 min。

测定时放四列试管,两列阴性血清(一列加抗原、一列不加抗原,以生理盐水补足其量)、两列阳性血清(一列加抗原、一列不加抗原,以生理盐水补足其量),以阳性血清加抗原为例,按表 D1 操作。

表 D1 补体效价测定 mL

成分	管号												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
10×补体	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.10	0.11	0.12	0.13	0.25			
生理盐水	0.20	0.19	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.13	0.12	0.75	0.75	1.00	
抗原(工作量)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25				
5×阳性血清	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25				
5×阴性血清													
振荡均匀后置 37℃~38℃水浴中 20 min													
二个单位溶血素	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	—	0.25	—	
2.5%红细胞悬液	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
振荡均匀后置 37℃~38℃水浴中 20 min													
结果	阳性血清加抗原	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
	阳性血清未加抗原	+	±	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—
	阴性血清加抗原	+	±	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—
	阴性血清未加抗原	+	±	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—

在两单位溶血素存在的情况下,可使阳性血清加抗原的试管中完全不溶血,而在阳性血清未加抗原的试管及阴性血清无论有无抗原的试管中发生完全溶血,所需最小补体量,就是补体工作量。如表 D1 中的第 6 管,10 倍稀释的补体 0.10 mL 即为工作量,按式(D1)计算原补体,在使用时应稀释的倍数:

$$\text{原补体应稀释倍数} = \frac{\text{补体稀释倍数}}{\text{测得效价}} \times \text{使用时每管加入量} \dots\dots\dots(D1)$$

上列公式计算: $\frac{10}{0.10} \times 0.25 = 25$

即此批补体应作 25 倍稀释每管加 0.25 mL 即为工作量补体或一个补体单位,因补体性质极不稳定,在操作过程中效价会降低。故使用时稀释的浓度比原效价高 10%左右,因此本批补体应作 1:22 倍稀释,每管加 0.25 mL。

附 录 E
(标准的附录)
标准溶血管的制备

为了正确判定溶血程度,可以利用试验中完全溶血的溶液混合,作为溶血溶液。按表 E1 配制。

表 E1 溶血度标准比色管配制法及比较判定结果标准

mL

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
溶血溶液		0.125	0.25	0.375	0.5	0.625	0.75	0.875	1.0	1.125	1.25
2.5%红细胞	0.25	0.225	0.20	0.175	0.15	0.125	0.10	0.075	0.05	0.025	
生理盐水	1.0	0.90	0.80	0.70	0.60	0.50	0.40	0.30	0.20	0.10	
溶血/%	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
判定符号	++++	++++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-
判定标准	阳性						疑似		阴性		