

## 血清总补体溶血活性（CH50）测定方法

## 一、原理

利用绵羊细胞与相应抗体（溶血素）结合成的复合物，可激活血清中的补体，导致红细胞溶解，当红细胞和溶血素量一定时，在规定反应的时间内，溶血程度与补体量及活性呈正相关。在接近 50%溶血（CH50）时，二者之间近似直线关系，故以 50%溶血作为最敏感的判断终点。以引起 50%溶血所需的最小补体量为一个 CH50U，可计算出待测血清中总的补体溶血活性，以 CH50U/ml 表示。

本实验主要反映补体经典活化途径的溶血功能，其结果与补体 C1～C9 各组成分的量及活性均有关。

## 二、试剂及配制

## 1、缓冲生理盐水：

- （1）贮存液：Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 2.85g  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.27g  
NaCl 17.00g  
蒸馏水定容至 100ml  
4℃保存备用

（2）应用液：5ml 贮存液加 95ml 蒸馏水，再加 10%硫酸镁 0.1ml，当日配制，12 小时内使用。

2、2%绵羊红细胞：无菌采取绵羊血液，于等量 Alsever 液中可保存 3 周。用前以缓冲液洗 3 次，并配成 2%细胞悬液。必要时可用吸光光度法或细胞计数法使悬液细胞浓度标准化。

3、溶血素：将绵羊红细胞溶血素（效价 1:4000），用应用液做 1:2000 倍稀释（即 1ml 溶血素加 1999ml 应用液）。

4、待测血清：新鲜血液室温放置 30min，再 4℃放置 60min，使血块收缩，4℃离心（3000r/min）10min，取上清，-20℃保存。

## 三、操作步骤

## 试管法（改良 Mayer 法）

1、致敏羊红细胞：2%绵羊红细胞加等量稀释后的溶血素（1:2000），混匀，置 37℃水浴 30min。

2、稀释血清：待测血清 0.2ml，加应用液 3.8ml，稀释度为 1:20。

3、配制溶血标准管：全溶血管:2%绵羊红细胞 2ml 加 8ml 蒸馏水，混匀。

50%溶血管:取全溶血管液 2ml 加缓冲液 2ml。

4、按表所示，依次加各成分于试管中，混匀，置 37℃水浴 30min，第 10 管为非溶血对照：补体 CH50 测定试管法

补体 CH50 测定试管法

成 分	试 管 号									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1:20 待测血清（ml）	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	—
应用液（ml）	1.40	1.35	1.30	1.25	1.20	1.15	1.10	1.05	1.00	1.50
致敏红细胞（ml）	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

5、结果测定：取出试管，2000r/min 离心 10min，对照管应不溶血。肉眼比色，选与 50%溶血标准管相近二管，再用分光光度计测（波长 542nm、0.5cm 比色杯）OD 值，

确定与标准管最接近者为终点管，然后按下公式计算 CH50 值：

血清补体 CH50（U/ml）=（1/血清用量）×稀释度。

如第 5 管为终点管，测待测血清中 CH50 为 66.7U/ml。血清补体 CH50 正常值为 50-100U/ml。