

文章编号:1007 - 4287(2006)09 - 1022 - 02

酸放散方法对弱 D 抗原的筛选研究

童 军¹,杨文冲²,刘 颖²,李永红³,王天才³,李 勇¹

(1. 长春生物制品研究所,吉林 长春 130062; 2. 长春博德生物技术有限责任公司; 3. 山西晋城血站)

摘要:目的 确定用盐水抗 D 检测为 D 阴性的红细胞标本中是否存在 Del 型红细胞标本。方法 将待检红细胞样本与人血清抗 D 抗体混合吸收。采用酸放散方法将致敏在红细胞上的抗 D 抗体放散下来,用微柱凝胶抗人球蛋白试剂卡及试管法检测放散液中是否存在抗体。结果 51 份由盐水抗 D 确定为 D 阴性的红细胞样本中有 3 人用传统试管法抗人球蛋白实验检测为弱凝集;经酸放散实验后,检测放散液,此 3 人放散液中均存在较强的抗 D 抗体,以此确定此 3 人红细胞抗原为 Del 型。结论 酸放散实验在临床输血中可做为确定红细胞上是否存在弱 D 抗原的敏感方法。

关键词:酸放散;弱 D 抗原;筛选

中图分类号:R457.1⁺3

文献标识码:A

The screen study on weak D antigen using acid elution method TONG Jun, YANG Wen chong, LIU Ying, et al. (Changchun institute of biological product, Changchun 130062, China)

Abstract:Objective To definite Del blood group from D negative red cell tested by monoclonal antiD. **Methods** Mixed the red cell to be tested with serum antiD,eluted D antibody from the sensitived cell by acid elution method ,tested the elution by anti human globulin microcolumn gel and tube method to definite the exsiting of D antigen. **Results** Within the 51 D negative samples , there are 3 samples express weak agglutination by traditional method. Eluted by acid their elution express strong agglutination with D positive red cell. So we definite the antigen is Del. **Conclusion** The acid elution method can be the more sensitive method to definite weak D antigen in clinic transfusion.

Key words: acid elution ;weak D antigen ;screen

(Chin J Lab Diagn, 2006, 10 :1022)

吸收放散实验是临床输血经常使用的用于辅助鉴定弱反应性抗体,从混合抗体中分离单个抗体或检测红细胞上弱抗原的实验方法。吸收就是当具有活性的抗体与相应抗原结合后,活性下降或消失,这种作用称为吸收。可用已知抗体(抗原)测未知抗原(抗体),以此来证明它们的存在。抗原抗体的结合是可逆的。当物理条件改变(加热、酸性环境、有机物等)时,抗体又可以从抗原抗体复合物上分离出来,分离出抗体的试验为放散实验^[1]。不能发生直接凝集的抗体能够吸附到抗原阳性的红细胞上,是否发生抗原抗体相互作用可通过检测放散液来确定。

Rh 系统中 D 抗原分为 5 种,其中 Del 表示一些非常弱的 D 型抗原,它只能通过吸收放散的方法检测出来^[2]。本文就是采用酸放散的方法对已由盐水抗 D 确定为 D 阴性的 51 份红细胞样本进行筛选,发现 3 例 D^{Del}型红细胞样本,现报告如下。

1 材料与方

1.1 材料

血型样本(山西晋城血站提供 51 人份血样);人

血抗 D(长春博德生物技术有限责任公司);盐水抗 D(德国 BIOTEST 公司);酸放散试剂盒(长春博德生物技术有限责任公司);微柱凝胶抗人球蛋白检测试剂卡(长春博迅生物技术有限责任公司)

1.2 方法

1.2.1 盐水抗 D 直接检测待测样本 取等量盐水抗 D 与 2%待检红细胞混合,立即 1 000 rpm 离心 1 min,取出,镜下判读结果。

1.2.2 微柱凝胶抗人球蛋白卡检测待检红细胞 将待检红细胞配成 0.5%浓度。取微柱凝胶抗人球蛋白卡,标记好,分别加入上述配好的待检红细胞 50 μl、人血抗 D 50 μl,37 °C 孵育 15 min。900 rpm 离心 2 min,1 500 rpm 离心 3 min。取出,判读结果。

1.2.3 吸收实验 将等体积的人血抗 D 与待检压积红细胞混合均匀,37 °C 放置 1 小时。离心去上清,用生理盐水洗涤此细胞 3 次,留取约 1 ml 的最后一次洗涤液与放散液做平行检测。

1.2.4 抗人球蛋白法检测吸收后的红细胞 a. 试管法 将上述吸收好的待检红细胞配成 2%盐水悬液,分别加入标记好的试管中,后加入抗人球蛋白试

剂,1 000 rpm 离心 1 min,取出镜下判读结果。b. 微柱凝胶抗人球蛋白卡检测 将上述吸收好的待检红细胞配成0.5%盐水悬液,分别加入标记好的微柱凝胶卡中,900 rpm 离心 2 min,1 500 rpm 离心 3 min,取出,判读结果。

1.2.5 酸放散实验 取放散液A与放散液B以4:1的比例混合。立即加入1体积的吸收细胞,室温震荡1-2 min。以2 500 rpm 离心 1 min,立即将上清转移至另一干净试管中,用中和液将其中和至中性(pH6.5-7.5),待测。

1.2.6 放散液检测方法

a. 微柱凝胶抗人球蛋白卡方法^[3]

取微柱凝胶抗人球蛋白卡,标记好,分别加入50 μl 放散液,最后一次洗涤致敏细胞的洗涤液,两孔中都加入50 μl 0.5%的O型D阳性红细胞。37℃ 孵育 15 min 后以900 rpm 离心 2 min,1 500 rpm 离心 3 min。取出,判读结果

判定标准:阴性结果,细胞全部沉积于凝胶管底部。

阳性结果,细胞分布于凝胶顶部或胶中。

b. 试管法检测

取干净试管加入等体积的放散液与3%O型D阳性红细胞,混匀。37℃ 孵育 30 min 至 1 h。取出,生理盐水洗涤此细胞 3 次,最后依次彻底倾去上清。向压积细胞中加入100 μl 的抗人球蛋白试剂,混匀。1 000 rpm,离心 1 min。取出,肉眼或镜下判读结果。

判定标准:阴性结果,肉眼或镜下不可见细胞凝集,为散在红细胞。

阳性结果,肉眼或镜下可见细胞凝集。

2 结果

2.1 用盐水抗D检测 51 份样本均为阴性。

2.2 用微柱凝胶抗人球蛋白卡检测待检红细胞样本:有3人的样本呈阳性反应,凝集强度分别为W+,1+^w,1+^w。

2.3 用传统试管法抗人球蛋白及抗人球蛋白卡检测吸收后的51份红细胞样本,有3人份呈阳性,结果见表1。

表1 51份样本检测结果

	试管法	微柱凝胶抗人球蛋白卡
3号	W+	2+
35号	W+	2+
41号	W+	3+

2.4 放散液的检测

2.4.1 试管法检测放散液 有相同的3份样本呈阳性反应,强度为2+^w,2+,2+。

2.4.2 微柱凝胶抗人球蛋白卡检测放散液 上述3份样本呈阳性反应,强度为3+,3+,3+。

2.5 最后一次洗涤液的检测

2.5.1 试管法检测 呈阴性。

2.5.2 微柱凝胶抗人球蛋白卡检测 呈阴性。

3 讨论

D抗原与输血的关系仅次于ABO血型系统中的抗原,与其它的红细胞抗原相比,D抗原具有很强的免疫性,RhD阴性人接受阳性血后,至少80%的人要产生抗D抗体,在临床输血中要注意对弱D抗原的处理。如果献血者为弱D表型,则应标明D阳性红细胞。如果受血者为弱D表型,则由于该弱D表型受血者可能被输用的D阳性血所免疫,所以,美国输血协会血库和输血机构标准要求受血者标本只做完全抗体抗D的直接凝集试验。对于只能经抗人球蛋白试验检测出的弱D表型的受血者。在一般情况下被作为D阴性受血者^[4]。本文用酸吸收放散方法检出的3人,在其临床输血中应按上述规定区别对待,这样才能保证输血安全。

参考文献:

- [1]邢培清,刘玉振,等.实用输血检验[M].郑州大学出版社,2001:263.
- [2]李勇,杨贵贞.人类红细胞血型学实用理论与实验技术[M].中国科学技术出版社,1999:83.
- [3]马曙轩,刘景汉,李锡金,等.微柱凝胶间抗球蛋白法筛选和鉴定不规则抗体[J].中国实验血液学杂志,2004,(9):15.
- [4]TECHICAL MANUAL 13TH DEITION AMERICAN ASSOCIATION OF BLDDE BANKS 296,303.

(收稿日期:2005-12-01)