

微柱凝胶卡式血型检定法的临床应用

张 军

【摘要】目的 探讨微柱凝胶血型鉴定法在临床输血中的应用价值。方法 对微柱凝胶卡式血型鉴定法与盐水法、凝聚胺法在检测 A 抗原、B 抗原、D 抗原中的凝集强度进行对比分析。结果 微柱凝胶卡式血型鉴定法(凝集强度 4+)比凝聚胺法高 20%,比盐水法高 30%,且无(2+、1+)凝集现象发生。结论 微柱凝胶卡式血型鉴定法操作简便,结果判定清晰准确,具有很大的临床应用价值。

【关键词】微柱凝胶;凝聚胺;生理盐水;凝集强度

【中图分类号】 R895.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1672-1764(2006)01-0095-02

The clinical application of the microcolumn gel cassette assay in determination of blood type ZHANG Jun. Department of Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, China

【Abstract】 Objective To evaluate the applied value of the microcolumn gel cassette assay in the clinical blood transfusion. **Methods** Antigen A, B and D were detected by using the microcolumn gel cassette assay, brine method and polybrene method respectively and the intensity of agglutination in these methods were compared and assayed. **Results** The intensity of agglutination by using the microcolumn gel cassette assay (4+) was 20% higher than that of brine method and 30% higher than that of polybrene method. Moreover, the intensity of agglutination of 2+ and 1+ didn't occur in the microcolumn gel cassette assay. **Conclusions** The microcolumn gel cassette assay has important value in the clinical application because of its simple operation, clear and accurate judgment of the result.

【Key words】 The microcolumn gel; Polybrene; Physiology brine; The intensity of agglutination

血型鉴定是输血科的常规工作之一,是安全输血的重要前提和保障。长期以来人们一直沿用盐水血型鉴定法,近年来又改为凝聚胺血型鉴定法,但都因目测观察较困难,特别是遇到弱凝集现象和 O 型血,更需在显微镜下观察来确保鉴定结果的准确性,操作起来比较麻烦。我科于 2004 年引进微柱凝胶卡式血型检测技术,该法是目前国际卫生组织推荐的最先进的微柱凝胶免疫检测技术(Microcolumn Gel Immunoassay,简称 MGI 法)。通过对比试验分析认为该法操作简便,结果判定准确方便,易于掌握,值得临床推广应用,现报告如下。

1 材料与方

1.1 试剂与仪器 抗 A、B、D 微柱凝胶血型鉴定卡(长春博讯生物技术有限公司,批号:20040203);1%A、B、O 试剂红细胞(上海血液中心,批号:20040415),凝聚胺试剂(安徽信灵检验医学科技有限公司,批号:20040120);ABO 标准血清(南京军研所,批号:20040112);B YL03-I 型血型血清学多用离心机(长春博研科学仪器有限公司);80-II 型离心机(上海医疗器械厂)。

1.2 检测方法 取小试管(12×100 mm)120 支,标注 A、B、D (各 40 支)分别加入 1%A、B、O 试剂红细胞 1 滴、标准血清 2 滴,盐水法血型鉴定参照《全国临床检验操作规程》^[1]、凝聚胺法血型鉴定参照试剂盒使用说明书。

1.3 MGI 法血型鉴定 取 A、B、D 血型鉴定卡 10 个(内含相应抗体,每卡可做 2 人份),在抗-A、抗-B、抗-D 孔中分别加入 1%的 A 型红细胞、B 型红细胞和 O 型红细胞各 1 滴(约 50 ul)后,放入特制离心机内梯度离心 5 min(先 900 r/min, 2 min,再 1500 r/min, 3 min),取出肉眼判读结果。

1.4 统计分析 根据凝集强度记录结果并进行统计分析。

2 结果

三种不同血型鉴定方法比较见表 1;微柱凝胶卡的凝集结果判定如图 1、2;盐水法、凝聚胺法的凝集结果判定见参考文献

作者单位:233004 安徽省蚌埠医学院附属医院输血科

献^[1]。从表 1 中可以看出,凝集强度 4+ 时,微柱凝胶法比凝聚胺法高 20%,比盐水法高 30%;凝集强度为 2+、1+ 的微柱凝胶法为 0 例,而凝聚胺法为 5 例(占 8.3%),盐水法为 10 例(占 16.7%),说明微柱凝胶卡式血型鉴定法比其他两种方法均灵敏。

表 1 三种不同血型鉴定方法比较

血型	N	微柱凝胶卡法				凝聚胺试管法				盐水试管法			
		4+	3+	2+	1+	4+	3+	2+	1+	4+	3+	2+	1+
A 型	20	18	2	0	0	14	4	2	0	10	6	3	1
B 型	20	19	1	0	0	15	4	1	0	14	4	2	0
D 阳性	20	16	4	0	0	12	6	2	0	11	5	3	1
比率(%)	-	88.3	11.7	0	0	68.3	23.3	8.3	0	58.3	25.0	13.3	3.3

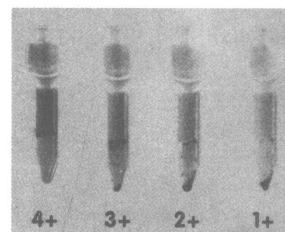


图 1 微柱凝胶卡法凝集强度结果判定

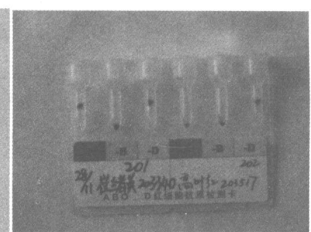


图 2 微柱凝胶卡氏血型鉴定结果判定

3 讨论

MGI 法是利用凝胶微柱层析分子排阻原则^[2],将被检红细胞加入微柱上端反应腔内,与预先加入的具有特殊抗体的凝胶介质进行抗原抗体反应,经特制离心机梯度离心,通过递加离心强度将红细胞向下挤压,达到微柱凝胶时,由于凝胶之间的间隙仅有 7~8 μm,只允许单个红细胞通过,而红细胞与特异性抗体发生抗原抗体反应性凝集时,凝块的体积大于 7~8 μm,都会被拦在凝胶的上面,而清晰可见,易于结果判读。

样本的留取和红细胞悬液的制备是保证微柱凝胶血型鉴

流式细胞术检测 HLA-B27 抗原在 AS 诊断中的应用

马 华 王 伟 郭术俊 方红荣

【摘要】目的 利用流式细胞术(FCM)检测不同患者 T 淋巴细胞表面 HLA-B27 抗原,与传统的血清法(微量淋巴细胞毒试验)比较,评价 FCM 检测 HLA-B27 在强直性脊柱炎(AS)诊断中的应用价值。方法 采用荧光标记的 HLA-B27 单抗与 T 淋巴细胞表面的 HLA-B27 抗原结合,利用 FCM 专门分析软件测定 HLA-B27-FITC 平均荧光强度(FMI),从而间接定量 HLA-B27 表达情况,并采用血清法对 118 例 AS 患者标本进行 HLA-B27 检测。结果 AS 患者 HLA-B27 阳性率为 88.9%(105/118),男女比例为 5.25:1,同其他各组比较均有较显著的差异($P < 0.01$);两种方法比较无明显差异($P > 0.1$)。结论 利用 FCM 对疑为 AS 的患者进行 HLA-B27 抗原检测有助于 AS 的诊断,方法简便,稳定性好,重复性高,是目前较为理想的方法。

【关键词】流式细胞仪;HLA-B27 抗原;强直性脊柱炎

【中图分类号】 R446.621 R593.23 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1672-1764(2006)01-0096-02

Application of Antigen HLA - B27 Expression Detection with Flow Cytometer in the Diagnosis of Ankylosing Spondylitis

MA Hua, WANG Wei, GUO Shujun, et al. Department of Immunology, Bengbu Mmedical College, Anhui 233003, China

【Abstract】 Objective To investigate the application of thymus lymphocyte antigen HLA - B27 expression detection with flow cytometer (FCM) in the diagnosis of ankylosing spondylitis (AS) by comparing with traditional microcytotoxicity assay method. **Methods** The fluorescence labeling monoclonal antibody of HLA - B27 was used to conjugate with thymus lymphocyte antigen HLA - B27. The expression of antigen HLA - B27 was quantitatively measured indirectly by determining the fluorescence mean intensity (FMI) of HLA - B27 - FITC measured with professional analysis software of FCM. While the samples of 118 cases with AS were measured with traditional microcytotoxicity assay method. **Results** The positive incidence of antigen HLA - B27 was 88.9% (105/118) in AS patients, and male vs female was 5.25:1. There was significantly difference between the cases with AS and the cases with pains of the lower back and legs or individuals accepting physical examination ($P < 0.01$), but the difference between the two methods was not significant ($0.1 < P < 0.25$). **Conclusions** The detection of antigen HLA - B27 expression with FCM is helpful to the confirmed diagnosis of AS. FCM is an easy, stable, accurate detection method with higher repeatability.

【Key words】 Flow cytometer; HLA - B27; Ankylosing spondylitis

HLA-B27 是 MHC 类分子 HLA-B 位点上一个重要的等位基因,正常人 HLA-B27 阳性率为 3%~12%,表达于有核细胞尤其是淋巴细胞的表面,其生理功能是携带和递呈细菌多肽,它与细菌多肽形成的复合物使 CD8⁺ T 淋巴细胞激活,从而导致脊柱关节病的形成,特别是它与强直性脊柱炎(Ankylosing Spondylitis, AS)密切相关。有研究报道,AS 患者中 HLA-B27

阳性率达 70%~100%。临床上 HLA-B27 的检测方法多种,本文利用流式细胞术进行其检测,并与血清法(微量淋巴细胞毒试验)进行比较,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 548 例血标本均来自我院附属医院骨科与免疫风湿科门诊或住院部患者,其中男 416 例,女 132 例;年龄 13~56 岁。其中临床诊断为 AS 的 118 例,腰腿背痛患者 205 例,其他患者 167 例,健康体检者 58 例。

1.2 仪器与试剂 FACSCalibur 流式细胞仪为美国 B-D 公司

作者单位:233003 安徽省蚌埠医学院免疫学教研室(马华 王伟 郭术俊);安徽省宿县县人民医院检验科(方红荣)

定法正确的重要条件,由于纤维蛋白的作用,刚留取的血样用 MGI 法做血型鉴定时,纤维蛋白可包裹着红细胞、血小板等,而使结果呈现假阳性,这就要求接到刚采的血样时一定要放置一段时间或最好要求临床科室使用抗凝管留取血样(凝聚胺法使用抗凝血时有一定的影响^[3])。

微柱凝胶血型鉴定卡在使用过程中,能记录患者姓名、住院号、检查日期等信息(如图 2),便于结果判读,可长期保存,以防取样和血型鉴定有疑问时的查对工作,便于举证以明晰职责。

输血最重要的是安全,如何把好这一关是我们输血者的主要任务。微柱凝胶卡式血型鉴定法,灵敏度高,用血量少,省时快速,易于标准化,自动化,反应稳定,易于结果观察^[4]。由于其是一项新的检测技术,要接受和正确使用它尚需一定的过

程,特别是价格相对较高,在应用的过程中有极个别的拖尾现象,给初学者结果判断带来一定的难度。相信随着科学技术的不断进步和完善,人们认识的不断提高,该项技术会越来越广泛应用于临床并造福患者。

参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,主编.全国临床检验操作规程[M].第 2 版.南京:东南大学出版社,1997.89-89
- [2] 邢培清,刘玉振,主编.实用输血检验[M].郑州大学出版社,2001.255-255
- [3] 陈忠,王雪明.手工凝聚胺的临床应用[J].临床检验杂志,1997,15(1):61-62
- [4] 李勇,朱建春.微柱凝胶 Coombs 试验对人 Rh(D)血型检测的实验研究[J].中国输血杂志,1998,11(1):24-25

(收稿日期:2004-12-22)