

Taiwan, 1999, 40(5) :330.
[10] Toth T, Findlay I, Papp C, Toth Pal E, Marton T, Nagy B, Quirke P, Papp Z. Prenatal detection of trisomy 21 and 18 from amniotic fluid by

quantitative fluorescent polymerase chain reaction [J]. J Med Genet, 1998, 35(2) :126.

(收稿日期:2005 - 12 - 06)

文章编号:1007 - 4287(2006)05 - 0544 - 03

微柱凝胶免疫检测法 在新生儿溶血病临床诊断上的应用

刘冰¹, 赵震¹, 林宏杰², 马翠¹

(1. 吉林大学第一医院, 吉林 长春 130021; 2. 长春生物制品研究所)

摘要:目的 建立一种新的新生儿溶血病诊断方法——微柱凝胶免疫检测法。方法 采用微柱凝胶血型检测实验和抗人球蛋白实验与试管血型检测与试管抗人球蛋白实验同时平行对照检查: 新生儿 ABO、Rh 系统定型; 新生儿直抗实验; 游离 IgG 测定; 放散实验。结果 两法检测 326 例疑为新生儿溶血病标本(其中夫妇 ABO 血型系统不合 292 例, 夫妇 ABO 系统血型相合 34 例)。夫妇 ABO 血型系统不合的阳性率分别为 160 例(54.8%), 80 例(27.4%); 夫妇 ABO 系统血型相合的阳性率分别为 23 例(67.6%), 17 例(50%)。结论 该法具有操作简单, 方便, 标本用量少, 结果易判定, 敏感性高, 特异性强, 结果可靠, 可较长时间保存等优点, 与临床诊断符合率达 98%, 为新生儿溶血病提供实验室可靠诊断依据。

关键词:微柱凝胶免疫检测法; 新生儿溶血病; 血型鉴定; 抗人球蛋白试验

中图分类号: R722.18

文献标识码: A

Microcolumn Gel immunoassay applicate in laboratory diagnosis of hemolytic disease of newborn LIU Bing, ZHAO Zhen, LIN Hong-jie, et al. (The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract: **Objective** To set up a new method in diagnosis of hemolytic disease of newborn(HDN) with a novel microcolumn gel immunoassay. **Methods** Paralled tests were performed with microcolumn Gel immunoassay and traditional tube Newborn ABO Rh system typed; Direct antiglobin test; Free IgG determination; Elution test. **Results** These samples of 326 suspicious HDN cases were detected, respectively by two methods. These samples of 326 suspicious HDN cases, concluded the 292 couples with uncompatible ABO System and the 34 Couples with compatible ABO System. The couples with uncompatible ABO System the positive percentage was 54.8% (160 cases), and 27.4% (80 cases); The couples with compatible ABO system the positive percentage was 67.6% (23 cases) and 50% (17 cases). **Conclusion** The Microcolumn Gel Immunoassay has the advantage of simple, convenient, less sample needed and the results easy to judge. In addition, it has a good specificity, sensitivity and a long preservation time for results. As well as the satisfied clinical conformity as high as 98%. It can provide a reliable parameter for diagnosis of HDN.

Key words: microcolumn Gel immunassay; hemolytic disease of newborn(HDN); blood group typed; antiglobin test

(Chin J Lab Diagn, 2006, 10:544)

微柱凝胶免疫检测法(Microculum Gel Immunoassay)目前已用于红细胞血型抗原抗体的检测,其原理是利用凝胶颗粒的分子排阻作用,抗原抗体在一定条件下反应,在一定离心力作用下,将凝集与非凝集的红细胞通过离心而分开。完全凝集的红细胞全部集中在微柱凝胶表面上,而非完全凝集的红细胞在一定离心力作用下沉积柱底部,部分凝集的红细胞或凝集强度较弱的红细胞弥散在微柱凝胶中。形成不同强度凝集反应。

作者应用该法和传统的试管抗人球蛋白实验与

血型鉴定实验同时平行常规检测新生儿溶血病(HDN),结果如下:

1 材料和方法

1.1 长春博研生物技术有限责任公司的 IMCC-20A 专用免疫微柱离心机

1.2 长春博研生物技术有限责任公司的 37 专用免疫微柱孵育器

1.3 试剂

1.3.1 长春博迅生物技术有限责任公司(新生儿溶血病血型鉴定卡 I)

(Anti-A ,Anti-B ,Anti-AB ,Anti-D ,Anti- IgG)

1.3.2 长春博迅生物技术有限责任公司(游离及放散抗体检测卡)

(Anti- IgG)

1.3.3 标准A、B、O 红细胞——长春博德生物技术有限责任公司。

1.3.4 谱细胞——长春博德生物技术有限责任公司。

1.3.5 白蛋白试剂——长春生物制品研究所。

1.4 标本:吉林省医院妇产科 1~3 天疑为新生儿溶血病的新生儿血样。

吉林大学中日联谊医院妇产科 1~3 天疑为新生儿溶血病的新生儿血样。

1.5 方法 ABO 系统新生儿溶血病与非 ABO 系统新生儿溶血病的标本都要做四项试验。

1.5.1 ABO、RhD 血型检定。

1.5.2 直接抗人球蛋白试验。

1.5.3 游离 IgG 抗体测定。

1.5.4 放散试验。

1.5.4.1 ABO系统新生儿溶血病(HDN)。

(1)采集 3~5 ml 新生儿血样(RhD 为阳性)(抗凝和不抗凝),分离红细胞和血清。

(2)用生理盐水洗三遍红细胞,末次压积后吸净生理盐水。

(3)取新生儿溶血病卡一张,依次加入患儿 0.5%红细胞悬液 50 μl,专用离心机离心 5 分钟。

(4)取游离放散卡一张(前三个孔为检测游离抗体,后三个孔为检测放散抗体)

游离三个孔分别编 A、B、O。

放散三个孔分别编 AE、BE、OE。

前三个孔加患者血清 50 μl,后三个孔加患者放散液 50 μl(患儿放散液提取法:用生理盐水洗涤患儿红细胞三次,取同体积的压积血和 6%牛血清白蛋白混匀,置于 56 ℃,期间不断摇动,离心 900~1

000 g 2~3 分钟,取上清。即放散液。)

(5)按标记分别加入 50 μl 0.5%A、B、O 红细胞悬液。

(6)置专用孵育器 15 分钟,置专用离心机离心 5 分钟。

(7)观察并记录结果。

1.5.4.2 ABO系统以外新生儿溶血病(夫妇 ABO 血型系统相合)(HDN)(1)采集 3~5 ml 新生儿血样(抗凝和不抗凝),分离红细胞和血清。

(2)用生理盐水洗三遍红细胞,末次压积后吸净生理盐水。

(3)取新生儿溶血病卡一张,依次加入患儿 0.5%红细胞悬液 50 ul,专用离心机离心 5 分钟。

(4)取游离放散卡一张(前三个孔为检测游离抗体,后三个孔为检测放散抗体)

游离三个孔分别编 、 、

放散三个孔分别编 E、 E、 E

前三个孔加患者血清 50 ul,后三个孔加患者放散液 50 ul(患儿放散液提取法:用生理盐水洗涤患儿红细胞三次,取同体积的压积血和 6%牛血清白蛋白混匀,置于 56 ℃,期间不断摇动,离心 900~1 000g 2~3 分钟,取上清。即放散液。)

(5)按标记分别加入 50 ul 的谱细胞 、 、 。

(6)置专用孵育器 15 分钟,置专用离心机离心 5 分钟。

(7)观察并记录结果。

1.6 结果判定

直接抗人球蛋白试验以出现凝集为阳性,游离和放散试验均以检出可以和新生儿抗体反应为阳性。

2 结果

微柱凝胶法与试管法检测 292 例疑为新生儿溶血病的标本,结果见表 1 和 2。

表 1 ABO 系统新生儿溶血病(HDN)检测结果

母血型	子血型	例数	直抗(+)		游离(+)		放散(+)		阳性(例)		阳性率(%)	
			微柱	试管	微柱	试管	微柱	试管	微柱	试管	微柱	试管
O	A	123	70	35	72	37	74	39	74	39	60.1	31.7
O	B	134	68	33	84	38	86	41	86	41	64.2	30.6
A	AB	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A	B	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B	AB	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B	A	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合计		292	138	68	156	75	160	80	160	80	54.8	27.4

表2 ABO系统以外新生儿溶血病(HDN)检测结果

母血型	子血型	例数	直抗(+)		游离(+)		放散(+)		阳性(例)		阳性率(%)	
			微柱	试管	微柱	试管	微柱	试管	微柱	试管	微柱	试管
O	O	12	6	4	8	5	8	6	8	6	66.71	50
B	B	14	6	4	7	5	9	7	9	7	64.2	50
A	A	8	4	3	5	4	6	4	6	4	75	50
合计		34	16	11	20	14	23	17	23	17	67.6	50

3 讨论

引起胎儿、新生儿溶血性贫血疾病有很多原因,如红细胞葡萄糖-6磷酸脱氢酶缺陷,丙酮酸激酶缺乏,地中海贫血,遗传性球形红细胞增多症等,常常危及胎儿及新生儿生命。故临床需要及时诊断和早期治疗。本文在这里主要讨论的是母婴血型不合的胎儿和新生儿溶血病(HDN),它是由于胎儿和母亲血型不相容,胎儿红细胞进入母体循环,母体产生了相应抗体,IgG类抗体通过胎盘,作用于胎儿红细胞,使之产生了不同程度溶血,常常造成胎儿死亡。如果胎儿存活,出生后,新生儿体内来自母体的抗体继续造成新生儿红细胞溶血,严重的造成新生儿生理缺陷或死亡。几乎毫无例外,引起HDN的血型抗体都是IgG类抗体。这种抗体在37条件下强反应性的温抗体,最具临床意义。在我国,ABO血型HDN最为常见,但引起中等程度和严重的HDN最常见的原因是RH血型D抗原,其次是A和B抗原,特别是ABO系统抗原所致HDN中母亲为O型的为大多数。HDN的病理变化主要是由于红细胞溶解所引起的,包括溶血本身所引起的变化和胎儿对红细胞破坏后代偿样的变化两个方面。大量的红细胞破坏是红细胞数减少,引起贫血,组织和脏器因供养减少而发生缺氧,并可影响其功能,主要表现有水肿、黄疸、贫血和肝脾肿大,红细胞溶解产物可引起高铁血黄素沉积、胆汁淤积、胆红素增多。未结合胆红素是一种对中枢神经系统有毒害的物质,婴儿大脑发育未成熟,血脑屏障不健全,过多的未结合胆红素可影响脑组织,使脑神经细胞发生变形,这种情况称为核黄疸。核黄疸经常引起死胎,已受核黄疸影响的胎儿如果存活,其中多是痉挛性舞蹈病,耳聋和智力迟钝。所

以HDN需要早期诊断和早期治疗。决定何时或是否换血。在日前常规用于血型抗原和血清不完全抗体检测的试管法,虽然结果准确、可靠、但操作繁琐、反应时间长,而微柱凝胶免疫检测法具有操作简单、方便、标本用量少、结果易判定、敏感性高、特异性强、结果可较长时间保存等优点。即保持了传统的试管法的全部优点,又克服了其试验程序和对照复杂的缺点。在血型抗原检测方面,微柱凝胶免疫检测法将几个试验凝聚在一个卡上,极大方便了临床应用。具有极大临床意义的抗人球蛋白试验(Coomb's),之所以在被发现后半多个世纪内没能成为对大批量标本的检测项目,其最大障碍就是因为操作过程中需反复洗涤红细胞,对阴性结果又需致敏红细胞确认的对照过程等。而微柱凝胶免疫检测法不需洗涤红细胞、操作时间短、结果明确、清晰、易判定。本文采用微柱凝胶免疫检测法检测292例夫妇ABO系统不合的新生儿标本,HDN阳性为160例,阳性率为54.8%;而试管法检测阳性80例,阳性率为27.4%;本文采用微柱凝胶免疫检测法检测34例夫妇ABO系统不合的新生儿标本,HDN阳性为23例,阳性率为67.6%;而试管法检测阳性17例,阳性率为50%;两者经统计学处理,差异有显著的意义。作者简介:刘冰,吉林大学第一医院输血科副主任技师,从事输血科工作22年。

参考文献:

- [1]施顺秋,张英.微柱凝胶试验在新生儿溶血病检测中的应用[J].现代检验医学杂志,2003,18(3):35.
- [2]赵祥胜.一种新的新生儿溶血病实验诊断技术[J].微柱凝胶技术医学研究通讯,2000,29(8):48.
- [3]彭道波.微柱凝胶在临床输血中的应用[J].第一军医大学学报,2001,21(6):封3.

(收稿日期:2004-10-09)