

• 论 著 •

56 ℃热放散试验与-20 ℃冷冻复融放散试验在新生儿 ABO 溶血病检测中的效果比较

杨桂林, 楚丽娟, 李春莉, 谭诗, 宋涛, 李秋红[△]

(重庆市妇幼保健院检验科, 重庆 400010)

摘要:目的 比较 56 ℃热放散试验与-20 ℃冷冻复融放散试验在新生儿 ABO 溶血病检测中的效果。方法 共收集 74 例新生儿静脉血 EDTA-K₂ 抗凝标本, 同时进行 56 ℃热放散试验与-20 ℃冷冻复融放散试验的卡式法, 比较两温度放散试验之间的差异。结果 56 ℃热放散试验阳性数为 66 例, 阴性数为 8 例, -20 ℃冷冻复融放散试验阳性数为 52 例, 阴性数为 22 例, 两试验间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 56 ℃热放散试验的阳性符合率明显高于-20 ℃冷冻复融放散试验。结论 新生儿 ABO 溶血病 56 ℃热放散试验与-20 ℃冷冻复融放散试验的检测效果有差别。

关键词:放散试验; 新生儿 ABO 溶血病; 卡式法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.16.033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)16-2367-02

The comparison of effect between Thermal elution test in 56 ℃ and Freezing thawing test in -20 ℃ for neonatal ABO haemolytic disease

Yang Guilin, Chu Lijuan, Li Chunli, Tan Shi, Song Tao, Li Qiuhong[△]

(Department of Clinical Laboratory, Chongqing Maternal and Child Health-Care Hospital, Chongqing 400010, China)

Abstract: Objective To compare the effect of two experiments-Thermal elution test in 56 ℃ and Freezing thawing test in -20 ℃ for ABO haemolytic disease in neonates. **Methods** 74 samples of neonatal blood with anticoagulant EDTA-K₂ were collected. Diana card method was used to compare the difference of the two experiments. **Results** 66 samples were positive and 8 were negative in 56 ℃. Meanwhile 52 were positive and 22 were negative in -20 ℃. There was significant difference between the two methods ($P < 0.05$). The positive coincidence rate in 56 ℃ was obviously higher than that in -20 ℃. **Conclusion** There is difference in detection effect between Thermal elution test in 56 ℃ and Freezing thawing test in -20 ℃ for neonatal ABO haemolytic disease.

Key words: elution test; neonatal ABO haemolytic disease; Diana card method

新生儿 ABO 溶血病 (ABO-HDN) 是由于胎儿和母亲血型不相容, 胎儿红细胞进入母体循环, 母亲产生相应 IgG 类抗体通过胎盘, 作用于胎儿红细胞产生了不同程度溶血, 严重者可并发核黄疸, 甚至死亡^[1], 多发生于 O 型孕妇所生的非 O 型婴儿^[2]。临床上对 ABO-HDN 的实验室诊断主要依靠 ABO-HDN 的血清学检查, ABO-HDN 的血清学检测方法主要有三项, 包括直接抗人球蛋白试验、游离试验和放散试验, 检测红细胞上致敏抗体的试验是直接抗人球蛋白试验、放散试验。研究结果证实三项试验中抗体放散试验的敏感性最高, 它也是判断 ABO-HDN 最有力的证据^[3]。笔者比较了两种不同温度放散试验的卡式法在 ABO-HDN 检测中的应用效果, 报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 收集 2014 年 5~8 月于本院检验科进行 ABO-HDN 检测的静脉血 EDTA-K₂ 抗凝标本共 74 例 (日龄为 0~7 d, 母亲为 O 型, 子为 A 型或 B 型), 其中临床诊断为 ABO-HDN 血型的共 66 例, 新生儿黄疸为 2 例, 肺炎 2 例, 其他 4 例。

1.2 仪器与试剂 数显电热恒水浴箱 (HH-KW-1000DB); 标本离心机 (型号 TD4B, 长沙平凡公司提供); 戴安娜抗人球蛋白卡 (批号 14069.01); 戴安娜 37 ℃ 孵育器 (型号 319-0001189); 戴安娜卡式专用离心机 (型号 320-000195); 0.9% 生

理盐水; 1% 自制 A、B、O 红细胞悬液。

1.3 放散细胞准备 将 EDTA-K₂ 抗凝标本 3 400 r/min 离心 5 min 后取出浓缩红细胞用生理盐水洗涤 3 次 (以上清液清亮为标准), 待同时进行两种温度的放散试验。56 ℃热放散试验按照《全国临床检验操作规程》进行操作, 即取洗涤后的浓缩红细胞 1 mL 于试管中, 加入等量生理盐水混合, 于 56 ℃恒温水育箱中放散 10 min, 再以 3 400 r/min 离心 3 min, 所得上清液即为放散液^[4]。-20 ℃冷冻复融放散试验 取洗涤后的浓缩红细胞 5~6 滴于试管中, 加入 2~4 滴生理盐水混合后, 红细胞与生理盐水的比例按照戴维等^[5]的报道进行, 并于-20 ℃冷冻 30 min 至 45 min, 再于戴安娜 37 ℃孵育器的孵育孔中复融 3~5 min 后, 3 400 r/min 离心 3 min, 所得上清液即为放散液。将上述两种放散液行卡式法间接抗人球蛋白试验, 取戴安娜抗人球蛋白卡在卡上相应位置标记 Acc、Bcc、Occ 后, 于 3 孔中分别加入 1% 自制 A、B、O 红细胞悬液各 50 μL, 各加入放散液 100 μL, 将此卡置戴安娜 37 ℃孵育器 15 min, 放入戴安娜卡式专用离心机离心 9 min 后判定结果。

1.4 统计学处理 使用 χ^2 检验计算器 V1.70, 比较两种检测方法的效果差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种温度的放散试验对 74 例标本的检测结果 56 ℃热

放散试验与 -20℃ 冷冻复融放散试验比较, $\chi^2 = 8.19, P < 0.05$, 两检测效果有统计学意义, 见表 1。

表 1 两种温度的放散试验检测结果

试验方法	阳性数(n)	阴性数(n)	试验阳性率(%)
56℃ 热放散试验	66	8	89.2
-20℃ 冷冻复融放散试验	52	22	70.3

2.2 两种温度的放散试验与临床诊断符合率的比较 56℃ 热放散试验与 -20℃ 冷冻复融放散试验比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 56℃ 热放散试验的临床诊断符合率高于 -20℃ 冷冻放散试验, 见表 2。

表 2 两种温度的放散试验与临床诊断符合率的比较(%)

试验方法	与临床诊断 阳性符合率	与临床诊断 阴性符合率
56℃ 热放散试验	100.0	100.0
-20℃ 冷冻复融放散试验	78.8	21.2

3 讨 论

ABO-HDN 血型的三项实验室检查中直接抗人球蛋白试验阳性率偏低, 是由于新生儿 A 或 B 抗原密度较低, 导致被结合的抗体很少。游离抗体试验与母体 IgG 进入胎儿体内的量有关, 如果进入的少, 吸附到红细胞上, 血浆中则无游离抗体^[6]。而 56℃ 热放散试验提取的是大量红细胞表面的已致敏抗体, 所用的红细胞比直接抗人球蛋白试验多几百倍, 将抗体释放于盐水溶液中, 再用已知的抗原检测盐水中相应的抗体^[7], 抗体释放试验是最敏感的指标, 对早期确诊 ABO-HDN 疑似病具有重要临床意义^[8]。患者溶血程度的分级也是通过红细胞抗体释放试验的结果进行的^[9]。戴维等^[5]报道用 -80℃ 超低温冰箱做冷冻复融放散试验, 效果比 56℃ 热放散试验好, 冷冻复融放散试验的原理主要是使红细胞破坏溶血, 从而使结合在红细胞膜上的抗体释放, 红细胞需完全溶血, 但

-80℃ 超低温冰箱不是每个常规实验室都配备, 常规实验室均配备有 -20℃ 低温冰箱, 因此本研究选择 -20℃ 作为比较对象。结果表明, 56℃ 热放散试验的阳性率最高, 此结论与罗洪清等^[10]对韶关地区 142 例新生儿 ABO 溶血病血清学检测结果分析相符, 且 56℃ 热放散试验的临床诊断符合率较 -20℃ 冷冻复融放散试验高, 但 -80℃ 超低温冷冻复融放散试验与 -20℃ 冷冻复融放散试验的结论有区别, 可能跟冷冻的温度有关。因此, 常规实验室的 -20℃ 低温冰箱不适宜做 -20℃ 冷冻复融放散试验, 也不能代替 56℃ 热放散试验。

参考文献

[1] 吴会红, 张志哲, 李日华, 等. 276 例新生儿黄疸患者血型血清学结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(13): 1725-1726.
 [2] 杨伯家, 邹志强, 鲍海娥, 等. O 型血孕妇 IgG 血型抗体效价与 ABO 新生儿溶血病的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(20): 2845-2847.
 [3] 高峰. 输血与输血技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 102.
 [4] 陈宏础. 全国临床检验操作规程[C]. 南京: 东南大学出版社, 1997: 100.
 [5] 戴维, 陈剑, 朱凯, 等. 3 种放散试验在新生儿 ABO 溶血病检测中的效果比较[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(2): 128-129.
 [6] 王杰伟. 310 例新生儿黄疸患儿血清学检测结果的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(9): 1186-1192.
 [7] 黎海澜. ABO 新生儿溶血病实验室检测方法及其临床应用[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(2): 200-202.
 [8] 康凯, 卢兴兵, 练正秋. 99 例新生儿 ABO 溶血病血清学实验结果分析[J]. 吉林医药学院学报, 2013, 34(4): 244-247.
 [9] 张辉, 李志武, 王秀明, 等. ABO 新生儿溶血病血清学检测相关影响因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(13): 2095-2096.
 [10] 罗洪清, 元霞, 郑静敏. 142 例新生儿 ABO 溶血病血清学检测结果分析[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(5): 428-429.

(收稿日期: 2015-02-08)

(上接第 2366 页)

而 D-二聚体对则对判断急性脑梗死患者的预后有一定预测作用, D-二聚体越高, 预后越好。

参考文献

[1] 陈峻, 赵岚, 程梅, 等. 急性脑梗死患者血清同型半胱氨酸及叶酸检测的临床意义[J]. 血栓与止血学, 2014, 20(5): 220-221.
 [2] 代凌. 急性脑梗死患者同型半胱氨酸及凝血纤溶相关指标的检测及意义[J]. 贵阳医学院学报, 2014, 39(5): 713-716.
 [3] 李艳志, 胡定波, 任利群, 等. 急性脑梗死患者同型半胱氨酸和超敏 C 反应蛋白监测的临床意义[J]. 江苏医药, 2010, 36(3): 278-280.
 [4] 刘杏瑜, 梁卫权, 肖志衡, 等. 急性脑梗死患者同型半胱氨酸、C 反应蛋白及血糖水平相关性研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2010, 13(11): 17-18.
 [5] 杨春祥, 王永军. 老年急性脑梗死患者同型半胱氨酸与预后的关

系[J]. 海南医学院学报, 2012, 18(2): 187-188.

[6] 丁彦博. 急性脑梗死患者同型半胱氨酸、C 反应蛋白及 D 二聚体的变化研究[J]. 中国当代医药, 2012, 19(7): 39-40.
 [7] 江秀龙, 张旭, 赵振华, 等. 急性脑梗死患者同型半胱氨酸与高敏 C 反应蛋白及凝血和纤溶系统的关系[J]. 神经病学与神经康复学杂志, 2012, 9(2): 71-73.
 [8] 郭柳彩. 银杏达莫对急性脑梗死患者同型半胱氨酸 Hcy 和 Hs-CRP 水平的影响[J]. 当代医学, 2011, 17(6): 151-152.
 [9] 李京华, 李江, 曹宁, 等. 急性脑梗死患者血同型半胱氨酸及胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 水平变化及意义[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2008, 15(4): 282-284.
 [10] 凌家艳. 急性脑梗死患者 GPIIb/IIIa 和 ADAM17 表达及其与中医证型的关系[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.

(收稿日期: 2015-05-08)