DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.044
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)09-1095-02

-20 ℃冰冻保存血清Rh抗体效价变化的观察

段慧玲,滕本秀,郑月明 (第三军医大学附属新桥医院输血科,重庆 400037)

提 要:目的 探讨血清抗体在体外-20 ℃冰冻保存抗体活性变化的情况及检测弱抗体的最佳方法。方法 将2份已知阳性血清在保存前分成小等分,按设计的时间(1~10年)每年对抗体效价进行测定,应用CAT法、Polybrene法、TCT法三种技术对40份-20 ℃冰冻保存1~18年的已知阳性血清进行了间接抗人球试验,对其中5份阳性血清进行了灵敏度测试。结果 抗体血清体外在-20 ℃保存2年左右时效价无明显改变,以后每年效价约降低1个滴度,8年以上效价显著减弱,甚至已检测不出。3种方法对不规则抗体检测的灵敏度为:CAT法> Polybrene法> TCT法。阳性检出率为:CAT法85.0%、Polybrene法67.5%、TCT法52.5%,CAT法显著大于TCT法。结论 -20 ℃的温度适合保存近年内使用效价较高的血清抗体,对效价较低的和一些稀有血清抗体的长期保存,应采用更低温度更适合。CAT法对不规则抗体的检测更灵敏、更可靠,是一种值得在输血领域推广应用的方法。

关键词:冰冻保存;抗体活性;血清
中图法分类号:R392.7;R446.61 文献标识码:A

Changes of Rh antibody titer in frozen(-20 ℃)preserved serum

DUAN Hui-ling, TENG Ben-xiu, ZHENG Yue-ming (Department of Blood Transfusion, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of freezing storage at -20 ℃ on the activity of antibodies in serum in order to screen the best way to discover weak antibodies. **Methods** Two positive serum samples were divided into small packs and stored at -20 ℃. Their titers were measured each year in a total 10 years' period after storage. Indirect anti-human globulin test by CAT, polybrene and TCT methods was separately carried out in 40 positive serum samples that had been stored at -20 ℃ for 1-18 years. Sensitivity test was performed in 5 samples among the positive samples. **Results** The activity of antibodies had no obvious change within 2 years' storage at -20 ℃. Then the activity decreased about 1 titer each year. Almost no activity was found in the samples after 8 years' storage. The sensitivities to irregular antibody of different measuring methods were sequentially as CAT> Polybrene> TCT. The positive rate was 85.0% by CAT, 67.5% by polybrene and 52.5% by TCT. **Conclusion** The serum antibodies with higher titers can be stored at -20 ℃ and had better to be used within a few of years. Lower temperature is needed for storing the rare antibodies or those with lower titers. CAT method, as a sensitive and reliable way to find irregular antibodies, is recommended for extensive application in the field of blood transfusion.

Key words: antibody activities; frozen preservation; serum

为了观察血清抗体在体外冰冻保存时间与血清外观、效价变化的情况。对-20 ℃保存的2份阳性血清逐年进行了抗体效价测定,并用微柱凝聚技术间接抗人球法(Column agglutination technology, CAT),手工低离子凝聚胺法(Polybrene)和试管间接抗人球法(TCT)3种技术对-20 ℃冰冻保存1~18年的40份已知阳性血清标本进行了间接抗人球试验。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

①BioVue测试系统(美国强生);Bliss试剂,Bio Vue卡(抗-IgG, C_3d);②凝聚胺试剂盒(台湾Baso公司);③抗人球蛋白血清(长春博德公司);④ 40份阳性血清标本来源于TCT法鉴定的病人血清(-20 ℃,1~18年),其中2份保存前分成小等分。⑤ 筛选细胞为新鲜混合含D、C、E、c、e抗原的"O"型红细胞。

作者简介:段慧玲(1964-),女,云南省昆明市人,主管技师,主要从事临床输血方面的研究,发表论文8篇。电话:(023)68755794
收稿日期:2002-03-17;修回日期:2002-05-20

1.2 方法

1.2.1 对分成小等分-20 ℃保存的2份阳性血清标本,严格按设计的时间(1~10年)每年测定抗体效价,观察记录血清外观的变化。每次均由同一人按同一条件和采用TCT法进行,有关判定标准均按文献执行。

1.2.2 CAT法 按测试系统操作要求进行,在微柱反应腔内加入Bliss试剂50 μl,4%红细胞悬液10 μl和待检血清40 μl,分别于37 ℃孵育10 min,离心5 min后观察结果。

1.2.3 Polybrene法 严格按试剂盒说明书进行操作。

1.2.4 TCT法 参照全国临床检验操作规程进行[1]。

1.2.5 灵敏度测定 用抗体血清与相应红细胞反应出现1+凝集反应时的抗体稀释度表示。以上各试验均由同一工作人员进行操作和结果判定。

2 结果

2.1 2份阳性血清在-20 ℃保存不同时间的抗体效价测定

结果显示,保存2年时效价无明显改变,以后每年效价大约降低1个滴度,8年时抗体效价显著减弱,甚至已检测不出。见表1。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 －20 ℃保存血清抗体不同时间的效价测定

Tab 1 Antibody titers in serum preserved for different period at －20 ℃

Number of samples	Preservation time(year)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
28	256	256	128	64	32	16	8	0	0	0
19	512	256	128	64	32	32	16	4	1	1

2.2 3 种方法灵敏度测试

对 5 份阳性血清(－20 ℃, 1～5 年)进行灵敏度测试。结果显示, 3 种测试方法的灵敏度为: CAT 法> Polybrene 法> TCT 法, 见表 2。

表 2 3 种方法检测 5 份阳性血清灵敏度比较

Tab 2 Comparison for the sensitivity with different test methods for positive samples

Method	Preservation time (Year)(Numer of samples)				
	1(27)	2(25)	3(7)	4(15)	5(5)
TCT	32	32	16	128	128
Polybrene	64	128	32	512	256
CAT	256	1024	512	1024	1024

2.3 3 种方法对 40 份冰冻保存 1～18 年的阳性标本阳性检出率分别为

CAT 法 85.0%(检出阳性标本 34 份)、Polybrene 法 67.5%(检出阳性标本 27 份)、TCT 法 52.5%(检出阳性标本 21 份), CAT 法显著大于 TCT 法, (χ^2, $P<0.01$) 40 份标本外观均清亮无污染。

3 讨论

本实验结果表明, 血清抗体在低温(－18 ℃～－20 ℃)中保存, 两年内效价相对稳定, 以后每年效价约降低 1 个滴度, 保存 8 年以上的血清抗体效价显著减弱, 甚至已检测不出, 故效价较低的血清抗体不宜保存过久, 对效价较低的和一些稀有血清抗体的长期保存, 应采用更低温度更适宜。－20 ℃保存的所有抗体血清外观均清亮正常, 由于低温冰冻时细菌不易繁殖, 即便收留标本时污染少量细菌也影响不大。但由于反复融化和冰冻会破坏蛋白质[2], 使效价和亲和力降低, 所以, 最好在冰冻前将血清抗体分成小等分进行保存。

CAT、Polybrene、TCT 3 种方法对不规则抗体检测技术的应用情况, 目前, 国内应用较为广泛的是 Polybrene 法, CAT 法在国内正逐步被推广应用[3～5]。TCT 法尽管在我国早已开展, 而且是不规则抗体检测的确定试验, 但由于方法复杂、检查中存在明显的人为误差、费力、费时等问题将被 CAT 法取代。CAT 法是在微柱中进行, 柱内预先装有玻璃微珠和所需介质, 红细胞和相应抗体反应后离心, 凝集的红细胞被阻滞于玻璃微珠上层, 游离的红细胞沉于柱底, 用肉眼即可判读, 且结果稳定[6], 更重要的是它省略了 TCT 法复杂的洗涤步骤, 而且它的工作程序和结果判定易于标准化、自动化, 可减少实验误差, 因而 TCT 法将被 CAT 法取而代之。本实验结果表明, 3 种方法的灵敏度测试结果为: CAT 法> Polybrene 法> TCT 法, CAT 法比 Polybrene 法高出 2～4 个滴度, 比 TCT 法高出 3～5 个滴度。CAT 法的阳性检出率显著大于 TCT 法。3 种方法相比 CAT 法灵敏度更高, 结果更准确, 为了提高不规则抗体的检出率, 尽可能的采用 CAT 法和 Polybrene 法进行检测, 对一些弱抗体的检测, CAT 法的敏感性更高、更可靠。鉴于此 CAT 法是一种值得推广应用的方法。

参考文献:

[1] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第 2 版, 南京: 东南大学出版社, 1997. 98－108.

[2] Widman F K 著, 肖星甫等译. 输血技术手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985, 489－491.

[3] Vengelen-Tyler V. American Association of Blood Banks[M]. AABB technical manual 12th Ed, Bethesda. New York: Karger, 1996. 606－611.

[4] 李 沙, 郑山根. 红细胞抗体检测方法的比较[J]. 中国输血杂志, 2000, 13(3): 183－184.

[5] Nathalang O, Chuansumirit A, Prayoonwiwat W, *et al*. Comparison between the conventional tube technique and the gel technique in direct antiglobulin tests[J]. Vox Sang, 1997, 72(3): 169－171.

[6] Reis K J, Chachowski R, Cupido A, *et al*. Column anti-human globulin test[J]. Transfusion, 1993, 33(8): 639－643.

(编辑 冯崇英)

(上接 1094 页)

颈部形态不规则不易固定, 颅骨质地较硬, 常常导致"跑锯", 使锯切失败。应用生物塑化技术制作头颈部薄层切片尽管有许多优点[3,4], 但不足之处在于制作周期较长、成本较高, 不可能进行大批量制作, 而且由于切割仪空间的限制, 标本大小一般不超过 80 mm× 80 mm× 60 mm, 因此需要选择需要制作的标本的范围, 观察时缺乏整体观。我们应用 G4030 型钢材锯切机可以制作出高质量的头颈部冰冻薄层断层标本, 锯面光滑平整, 结构清楚大大增加了断层解剖信息; 操作时安全性高, 锯切速度快, 省时省力。冰冻薄层断层标本可以作为基本图像元进行计算机图像三维重建, 同时结合头颈部生物塑化薄片进行观察, 对头颈部尤其是颅底结构的断层解剖研究具有很大的实用价值, 并为人体断层影像解剖学教学与科研的提供了重要保证。

关键词: 标本制作; 断层; 尸体
中图法分类号: R322.34 文献标识码: B

参考文献:

[1] 秦登友, 王震寰, 赵 莉, 等. 人体断层解剖标本制作法[J]. 解剖科学进展, 1997, 3(2): 189－190.

[2] 王 顺, 姜树学. 人体断面标本制作[J]. 解剖学报, 1995, 18(3): 557.

[3] 邱明国, 张绍祥, 刘正津, 等. 颞下颌关节塑化薄层断面解剖学研究[J]. 口腔医学纵横, 2001, 17(4): 311－312.

[4] 邱明国, 张绍祥, 谭立文, 等. 颞骨计算机三维重建[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(10): 1 200－1 202.

(编辑 王 红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net