

# 微柱凝胶卡检测抗体的灵敏度 与移液次序的相关性分析

金鑫<sup>1</sup> 沈健<sup>1</sup> 施欣慰<sup>1</sup> 王莉雅<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:比较和分析在使用微柱凝胶卡检测的方法中,检测抗体或交叉配血的灵敏度、试剂与血浆或红细胞移液次序的相关性。**方法:**采用戴安娜微柱凝胶卡与达亚美微柱凝胶卡,测定两类不规则抗体效价,用评分方式对凝集结果进行判断比较其灵敏度,并对交叉配血实例进行评价。**结果:**两类微柱凝胶配血卡检测抗体效价时,先加血浆或试剂的检测结果均比先加红细胞的好。而在个别报道中确实存在低频抗原由于移液顺序而未被检出。**结论:**规范微柱凝胶配血卡移液先后顺序,能更有效地解决输血反应所产生的问题。

**[关键词]** 微柱凝胶卡;移液次序;抗-D;抗-E;抗体效价

**[中图分类号]** R457.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2012)08-0491-04

## The correlations of pipette order and the sensitivity of antibodies testing with micro-column card and attach a case report

JIN Xin SHEN Jian SHI Xinwei WANG Li ya

(Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou, 310012, China)

Corresponding author: JZN Xin, E-mail: goodjinxin@163.com

**Abstract Objective:** To realize the correlations of the sensitivity of antibody testing, cross-match and different pipette order of reagents, plasma and red blood cell in the micro-column gel card. **Method:** Assay the titers of the two types of irregular antibody with Diana micro-column gel card and Dimed micro-column gel card, with the way to score for judging the sensitivity and attach a case report. **Result:** With the two types of micro-column gel card test serum antibody titer, the results of plasma or reagent first are better than the results of red blood cells first. **Conclusion:** Regulate the pipette order with micro-column gel card, it can do more effective to solve the problems that clinicians are paying more and more attention to as transfusion reactions.

**Key words** micro-column gel card; pipette order; anti-D; anti-E; antibody titers

输血是一种重要的临床支持治疗手段,输血安全随着血液检测技术的提高也有了进一步的要求。

提高微柱凝胶配血卡对一些不规则抗体的检测对于临床实际输血工作更为实际和实用。众所周知,使用微柱凝胶配血卡进行交叉配血时,血浆和红细胞的先后加入顺序,可能会影响细胞凝集效果,使得同一个实验灵敏度发生变化。为了选择一种正

<sup>1</sup> 浙江省立同德医院检验科(杭州,310012)  
通信作者:金鑫, E-mail: goodjinxin@163.com

- 学出版社,1998:215-216.
- [3] DOMINGO-CLAROS A, LARRIBA I, ROZMAN M, et al. Acute erythroid neoplastic proliferations. A biological study based on 62 patients[J]. Haematologica, 2002, 87: 148-153.
- [4] HASSERJIAN R P, ZUO Z, GARCIA C, et al. Acute erythroid leukemia: a reassessment using criteria refined in the 2008 WHO classification[J]. Blood, 2010, 115: 1985-1992.
- [5] BENE M C, CASTOLDI G, KNAPP W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European group for the immunological characterization of leukemias (EGIL)[J]. Leukemia, 1995, 9: 1783-1786.
- [6] SANTOS F P, FADERL S, GARCIA-MANERO G, et al. Adult acute erythroleukemia: an analysis of 91 patients treated at a single institution[J]. Leukemia, 2009, 23: 2275-2280.
- [7] KUCHENBAUER F, KERN W, SCHOCH C, et al. Detailed analysis of FLT3 expression levels in acute myeloid leukemia[J]. Haematologica, 2005, 90: 1617-1625.
- [8] KILLICK S, MATUTES E, POWLES R L, et al. Acute erythroid leukemia (M6): outcome of bone marrow transplantation[J]. Leuk Lymphoma, 1999, 35: 99-107.
- [9] FOUILLARD L, LABOPIN M, GORIN N C, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for de novo erythroleukemia: a study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)[J]. Blood, 2002, 100: 3135-3140.
- [10] SELBY D M, VALDEIR, SCHNITZER B, et al. Diagnostic criteria for acute erythor leukemia[J]. Blood, 2003, 101: 2895-2896.

确的实验程序,规范操作,我们采用两种凝胶配血卡,对两类不规则抗体滴度敏感性做了比较分析,报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和仪器

抗 A1、抗 B 血型定型试剂盒由北京金豪制药有限公司提供;抗 H 有上海输血研究所国家参比实验室制备;Rh(D) IgM 血型定型试剂盒由 Biotest 公司提供;Rh(D) IgM/IgG 血型定型试剂盒由 Bioscot 公司提供;A、B、O 细胞,抗体鉴定细胞谱试剂(三分类)(十分类)均由上海血液生物医药有限责任公司提供;新鲜抗-A、抗-B、抗 AB 人源血清由本室自制。DiaMed 微柱凝胶抗人球卡、离心机、孵育器、低离子液均为 DiaMed 公司提供;戴安娜微柱凝胶配血卡、离心机、孵育器均为北京伸佰利公司提供;抗-E 血清由本实验室收集单一抗-E 血清。

### 1.2 方法

**1.2.1 红细胞混悬液配制** 将试验用多人份 O 型 CcDEE 红细胞洗涤 3 次,用 Liss 液配成 1% 红细胞混悬液 A 备用,用生理盐水配成 1% 红细胞混悬液 B 备用。

**1.2.2 抗体稀释** 取试管 26 支,从 1~13 标记,第 1 管加抗 D 试剂 2 ml,从第 2 管开始每管加生理盐水 1 ml,开始倍比稀释,1:2、1:4、1:8...1:2 048,到第 12 管取出 1 ml 置第 13 管备用。从 21~33 标记,第 21 管加抗 E 血清 2 ml,从第 22 管开始每管加生理盐水 1 ml,开始倍比稀释,1:2、1:4、1:8...1:2 048,到第 32 管取出 1 ml 置第 33 管备用。

**1.2.3 戴安娜微柱凝胶配血卡** 操作步骤如下:①分为 4 组,每组取 8 孔/卡的配血卡 2 张,按试管编号进行标记,即效价 1~2 048;②第 1、3 组每孔加 1% 红细胞混悬液 A 50  $\mu$ l,再每孔分别加倍比稀释好的抗 D(抗 E)试剂 25  $\mu$ l;③第 2、4 组每孔加相应倍比稀释好的抗 D(抗 E)试剂 25  $\mu$ l,再加 1% 红细胞混悬液 A 50  $\mu$ l;④4 组卡同时 37℃ 孵育 15 min,取出用专用离心机,按操作说明离心,肉眼观察结果,凝集的红细胞浮在凝胶柱的上面,没有凝集的则沉到底部。

**1.2.4 瑞士 DiaMed 微柱凝胶配血卡** 操作步骤如下:①分为 4 组,每组取 6 孔/卡的配血卡 2 张,按试管编号进行标记,即效价 1~2 048;②第 5、7 组每孔加 1% 红细胞 Liss 混悬液 B 50  $\mu$ l,再在每孔分别加倍比稀释好的抗 D(抗 E)试剂 25  $\mu$ l;③第 6、8 组每孔加相应倍比稀释好的抗 D(抗 E)试剂 25  $\mu$ l,再加 1% 红细胞 Liss 混悬液 B 50  $\mu$ l;④4 排 8 张卡同时 37℃ 孵育 15 min,取出用专用离心

机,按操作说明离心 10 min,肉眼观察结果,凝集的红细胞浮在凝胶柱的上面,没有凝集的则沉到底部。

**1.2.5 积分计算方法** 参考文献[1]:红细胞凝集全部浮在上面为 4+,其次依次为 3+、2+、1+、±、-,分别计为 12、10、8、5、2、0 分。

**1.2.6 临床资料** 患者,女,有受血史,以胃部肿瘤伴肝转移转入我院治疗,该患者交叉配血的结果中,只有其中 1 袋血液主侧出现弱阳性,重复检测患者以及献血员的血型、抗筛、直抗以及改变移液顺序后交叉配血结果。标本送至浙江省血液中心,结果示:确有低频抗体存在,需要增加患者标本血量,进一步鉴定确认。

## 2 结果

### 2.1 戴安娜微柱凝胶配血卡

通过改变细胞和试剂先后移液顺序试验后,结果显示:先加试剂试验组明显优于先加红细胞试验组,见表 1。

### 2.2 瑞士 DiaMed 微柱凝胶配血卡

通过改变细胞和试剂先后移液顺序试验后,结果显示:先加试剂试验组明显优于先加红细胞试验组,见表 2。

### 2.3 临床个例交叉配血实验结果

选用 DiaMed 和 Diana 微柱凝胶配血卡进行 4 次交叉配血,并且将患者和献血员的抗体筛选、直接抗人球蛋白实验、抗体鉴定的结果进行比较分析,见表 3。

## 3 讨论

输血作为临床治疗手段之一,其重要性和安全性越来越被医患双方关注,而随着临床治疗中输血用量逐年攀升,因输血产生的不规则抗体率也逐年提高的趋势。如何提高在配血过程中抗原抗体反应的敏感性以及相应不规则抗体的检出率,成为输血工作者工作中时常审视和考虑的问题。抗原抗体反应是指抗原与相应抗体之间所发生的特异性结合反应,可发生于体内或体外。抗原抗体结合力影响到抗原抗体反应的敏感性,其由电荷引力、范德华引力、氢键结合力、疏水作用等 4 种分子间引力参与并促进<sup>[2-4]</sup>,因此抗原抗体反应的敏感性受诸多因素影响。在临床输血中,输血反应影响最显著的为 ABO 与 Rh 两大血型系统,ABO 血型抗原与 RhD 蛋白是最具有免疫原性的血型抗原之一<sup>[5]</sup>。而陈秉宇等<sup>[6]</sup>报道,实际上在临床输血过程中产生概率较高为抗 E,因此本文选择抗原性较强的抗 D 试剂和分布性较广的抗 E 血清,选用两家不同公司提供的凝胶配血卡,通过加抗原(红细胞)与抗体(试剂)的先后顺序进行比较分析。

表 1 戴安娜(Diana)微柱凝胶配血卡移液次序与敏感度结果

管号	效价	1组:抗-D	2组:抗-D	3组:抗-E	4组:抗-E
		先细胞后试剂	先细胞后试剂	先细胞后试剂	先细胞后试剂
1	原倍	4+	4+	4+	4+
2	1:2	4+	4+	4+	4+
3	1:4	4+	4+	3+	3+
4	1:8	4+	4+	2+	3+
5	1:16	4+	4+	1+	2+
6	1:32	4+	4+	1+	1+
7	1:64	3+	4+	-	±
8	1:128	3+	3+	-	-
9	1:256	2+	2+	-	-
10	1:512	±	±	-	-
11	1:1024	-	-	-	-
12	1:2048	-	-	-	-
积分合计		102	104	52	59

注:第 2 组在各个稀释管的抗 D 凝集度和积分总和中明显优于第 1 组;第 4 组在各个稀释管的抗 E 凝集度和积分总和中明显优于第 3 组。

表 2 达亚美(DiaMed)微柱凝胶配血卡移液次序与敏感度结果

管号	效价	5组:抗-D	6组:抗-D	7组:抗-E	8组:抗-E
		先细胞后试剂	先细胞后试剂	先细胞后试剂	先细胞后试剂
1	原倍	4+	4+	4+	4+
2	1:2	4+	4+	4+	4+
3	1:4	4+	4+	3+	4+
4	1:8	4+	4+	2+	3+
5	1:16	4+	4+	1+	2+
6	1:32	4+	4+	±	1+
7	1:64	3+	4+	-	±
8	1:128	3+	3+	-	-
9	1:256	1+	1+	-	-
10	1:512	±	±	-	-
11	1:1024	-	-	-	-
12	1:2048	-	-	-	-
积分合计		99	101	49	61

注:第 6 组在各个稀释管的抗 D 凝集度和积分总和中明显优于第 5 组;第 8 组在各个稀释管的抗 E 凝集度和积分总和中明显优于第 7 组。

表 3 临床个例交叉配血实验结果

项目	患者标本				献血员标本				DiaMed 卡主侧		Diana 卡主侧	
	血型	直抗	抗体筛选	抗体鉴定	血型	直抗	抗体筛选	抗体鉴定	先细胞后血浆	先血浆后细胞	先细胞后血浆	先血浆后细胞
结果	AB	-	-	-	AB	-	-	-	-	±	-	±

注:±表示弱阳性,-表示阴性。

结合本次实验数据和临床资料情况分析说明三点:①在用凝胶配血卡做细胞凝集试验时,对试剂原液倍比稀释,抗体效价从高浓度到最佳稀释度,第 2、4、6、8 组分别在凝胶观察清晰度和抗体凝集积分两个方面都明显优于第 1、3、5、7 组。一般认为血浆或试剂比红细胞先沉降到凝胶底部,因此要求先加细胞于凝胶之中,但是实际试验表明,先

加血浆或试剂的检测结果均比先加红细胞的好,原因可能如下:先加血浆或试剂后,微柱管凝胶颗粒狭窄的空间之中,颗粒之间气泡阻止了血浆或试剂的下行,而在加入红细胞后,因红细胞的比重较重,在沉降的过程中,更容易与血浆或试剂在温育过程中充分接触和混匀,进而便于抗原抗体更好地发生反应;反之,若先加红细胞后,红细胞容易顺管壁流

下与微柱的液面部分接触,而在加入血浆或试剂后,因其比重的关系在温育 15 min 内,红细胞在没有充分和血浆或试剂中抗体接触,已沉降到底部,从而导致其凝集强度与积分均低于先加血浆组。②对于抗-D 的 4 组实验数据比较,从整体的凝集积分和凝集强度的梯度分布两方面上,相差不大,说明对于抗原性较强的抗-D 的移液次序对于抗体检出影响不大;但是在比较抗-E 的 4 组实验数据时,在整体的凝集积分上还是在凝集强度的梯度分布上,有明显的差别,说明对于抗原性分布较广的抗-E 的移液次序对于抗体检出影响较大。③在这个临床个案之中,我们暂时无法明确鉴定患者存在何种不规则抗体或者献血员存在何种抗原,可以肯定的是此类抗原抗体反应弱阳性的结果是存在的,如果以先细胞后血浆的移液顺序交叉配血,将此袋血液输给该患者,其结果可能导致患者出现输血反应。因此,对于输血科交叉配血时,应以先血浆后细胞的移液顺序进行交叉配血,或者对于实验室用凝胶配血卡做抗体鉴定时,遇到可能为效价低或者分布不广泛的抗体时,建议抗原抗体先行在试管内充分混合后温育,同时一次性加入凝胶卡中进行离心,这样因移液次序改变而提升凝胶卡的敏感性

便能显现,使得抗原抗体反应最佳结合,提高抗体检出率,从而提高临床输血的安全性。

综上所述,有必要规范微柱凝胶配血卡移液先后顺序,才能更有效灵敏的检测出相关抗体,进而有效地解决目前临床越来越重视的输血反应而产生的问题。

#### 参考文献

- [1] 刘达庄. 免疫血液学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002:217-217.
- [2] 于华,张春秀. 抗原抗体之间的相互反应及其研究方法[J]. 化工时刊,2004,18(4):17-19.
- [3] 沈关心,周汝麟. 现代免疫学试验技术[M]. 2版. 武汉:湖北科学技术出版社,2002:95-98.
- [4] 丁琪,兰炯采. 红细胞输注所致免疫反应的研究进展[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版),2007,4(6):283-283.
- [5] URBANIA K S J. Alloimmunity to RhD in humans [J]. Transfus Clin Biol,2006,13:19-22.
- [6] 陈秉宇,李育,沈健,等. 献血员不完全抗体和直接抗人球蛋白阳性率的研究[J]. 检验医学,2007,22(4):502-504.

(收稿日期:2012-01-26)

## 《临床血液学杂志》文后参考文献著录新规则

### 除期刊、专著以外其他文献类型参考文献著录格式示例

- [1] 中国力学学会. 第 3 届全国实验流体力学学术会议论文集[C]. 天津:天津科技出版社,1990.
- [2] 韩吉人. 论职工教育的特点[G]//中国职工教育研究会. 职工教育研究论文集. 北京:人民教育出版社,1985:90-99.
- [3] 丁文祥. 数字革命与竞争国际化[N]. 中国青年报,200-11-20(15).
- [4] 张志祥. 间断动力系统的随机扰动及其在守恒律方程中的应用[D]. 北京:北京大学数学学院,1998.
- [5] World Health Organization. Factors regulating the immune response: report of WHO Scientific Group [R]. Geneva: WHO,1970.
- [6] 国家标准局信息分类编码研究所. GB/T2659-1986 世界各国和地区名称代码[S]//全国文献工作标准化技术委员会. 文献工作国家标准汇编:3. 北京:中国标准出版社,1988:59-92.
- [7] 刘加林. 多功能一次性压舌板:中国,92214985. 2[P]. 1993-04-14.
- [8] Scitor Corporation. Project scheduler[CP/DK]. Sunnyvale, Calif.: Scitor Corporation, c1983.
- [9] 肖钰. 出版业信息化迈入快车道[EB/OL]. (2001-12-19)[2002-04-15]. <http://www.creader.com/newa/20011219/200112190019.html>.