2 种试剂红细胞用于血型反定型检测的效果比较

赵磊[1]　储倩[2]　许婷婷[1]　张红[1]　凃历波[1]　王先广[1]

［摘要］ **目的**：比较商品试剂红细胞和自制试剂红细胞在血型反定型检测中的效果。**方法**：应用商品试剂红细胞和自制试剂红细胞在梯形微板中进行反定型检测，比较两种试剂红细胞的一次性判读结果的准确率、亚型和不规则抗体的检出率、手工改动现象、灵敏度及抗干扰能力。**结果**：商品试剂红细胞同自制试剂红细胞相比，前者的一次性判读准确率较高，手工改动现象较少，灵敏度较稳定，在溶血中抗干扰能力较强，而后者的不规则抗体的检出率较高，脂血的抗干扰能力两者接近。**结论**：商品试剂红细胞用于血型反定型检测的效果略优于自制试剂红细胞，不同的实验室应结合实际情况进行选择。

［关键词］ 试剂红细胞；血型反定型；梯形微板法

［中图分类号］ R555　［文献标志码］ A　［文章编号］ 1004-2806(2012)12-0764-03

Comparative analysis of effects of different reagent red cells in reverse ABO grouping

ZHAO Lei[1]　*CHU Qian*[2]　*XU Tingting*[1]　*ZHANG Hong*[1]　*TU Libo*[1]　*WANG Xianguang*[1]

([1]Department of Laboratory, Wuhan Blood Center, Wuhan, 430030, China; [2]College of Laboratory Diagnostic Medicine, Dalian Medical University)

Corresponding author: ZHAO Lei, E-mail: myrelay@126.com

Abstract　**Objective**: To compare the effects of home-made reagent red cells and commercial reagent red cells in reverse ABO grouping. **Method**: We perform parallel reverse ABO grouping tests on samples from blood donors with home-made reagent red cells and commercial reagent red cells chosen from market. The accuracy test, detection rate of subtype and irregular antibody, manual change phenomenon, sensitivity test, lipaemia interference test and haemolysis interference test were carried out. The performances between two different reagent red cells were compared. **Result**: Compared to home-made reagent red cells, commercial reagent red cells had higher accuracy, steadier sensitivity, lesser manual change and stronger anti-interference ability in haemolysis environment. Home-made reagent red cells had higher detection rate of subtype and irregular antibody. The correct interpretation rates of them were identical in lipaemia interference test. **Conclusion**: Conclusively, commercial reagent red cells might be superior to home-made reagent red cells under many circumstances, and home-made reagent red cells might have the advantages of flexibility and lower cost. Laboratories could choose appropriate reagent red cells according to actual situation and fully utilize them.

Key words　reagent red cell; reverse ABO grouping; trapezoidal microplate method

《献血者健康检查要求》中规定采供血机构必须对献血者血液进行血型鉴定，其中 ABO 血型应采取正反定型相结合的方法进行检测。目前采供血机构均采用商品化的抗血清进行血型正定型的检测，其技术已非常成熟和规范化，而较多采供血机构实验室使用自行配制的试剂红细胞用于血型反定型实验，难以达到标准化，目前市场上有多种商品试剂红细胞，适于标准化，稳定性好。本文选取一种商品试剂红细胞与自制试剂红细胞，评价两者在血型反定型实验中的效果差异，现报告如下。

1　材料与方法

1.1　样本

本中心 2011 年 6 月采集的 5 904 例无偿献血者枸橼酸钠抗凝全血标本。

1.2　仪器与试剂

RSP200 全自动加样仪（Tecan 公司）；血型判读仪（深圳市爱康电子有限公司）；Coulter LH750 血细胞分析仪（贝克曼库尔特公司）；Poseidon 血型判读软件（深圳市爱康电子有限公司）；1.3%～1.4%自制试剂红细胞（本中心检验科自行配制，使用期 3 d）；商品试剂红细胞（上海血液生物医药有限公司，批号：20115313）；单克隆抗-A，抗-B 血清（长春博德生物技术有限公司，批号：20101114-1）。

1.3　实验方法

1.3.1　实验步骤　采用 Tecan RSP 200 全自动加样仪进行分样，每份样本血浆于梯形微板上加注 3 孔，12 μl/孔，每孔加注试剂红细胞 38 μl（A、B、O 红细胞各 1 孔），置微板振荡仪中混匀（<30 s），室温（18～25℃）静置（60±5）min，血型判读仪读板，

[1]武汉血液中心检验科（武汉，430030）
[2]大连医科大学检验医学院
通信作者：赵磊，E-mail：myrelay@126.com

仪器自动分析反应图像并判读血型结果。

1.3.2 准确率比较　对本中心采集的无偿献血者抗凝全血标本，进行平行实验，比较自制试剂红细胞和商品试剂红细胞采用反定型梯形微板法一次判读结果的准确率：首先互相比对血型，并参照实验当天正定型实验的结果；当 2 种试剂红细胞得出的血型结论不一致，或与正定型结果不符时，由中心输血研究室做确证。如果判读结果为“?”则结合肉眼判读，如无法判别结果则采用试管法进一步确定血型，对于仍有疑问的标本送本中心输血研究室确证。

1.3.3 检出率比较（包括亚型和不规则抗体）　与 1.3.1 类似，同一工作日先后进行平行实验，若出现 O 细胞阳性，电脑判读结果为“?”，或出现 A 细胞，B 细胞弱凝集现象时，则采用 2 种试剂红细胞同时做试管法进行验证，最后由中心输血研究室确证。

1.3.4 手工改动现象比较（非亚型和不规则抗体）　与 1.3.1 类似，同一工作日先后进行平行实验，若出现 A 细胞和（或）B 细胞侧结果为“?”，则用 2 种试剂红细胞同时做试管法进行验证，最后由中心输血研究室确证，排除亚型和不规则抗体的情况。

1.3.5 灵敏度比较　研究期间每次配制试剂红细胞均进行一次比较。将市售的单克隆抗-A、抗-B 血清采用 0.9%的生理盐水进行倍比稀释：1∶1，1∶2，1∶4，1∶8…1∶4 096，1∶8 192。分别采用 2 种试剂红细胞进行反定型检测，判读结果并进行比较。

1.3.6 溶血干扰实验　吸取前一工作日的阴性、无凝块的 O 型红细胞 40 人份（每份各 2 ml），混匀，置于－20℃的冰箱中反复冻融使其完全溶血。然后分别用 40 份 AB 型血浆和 40 份 O 型血浆与完全溶血的红细胞还有 0.9%的生理盐水配制成不同血红蛋白浓度的 40 份标本（混合 AB 型血浆和 O 型血浆，每份血浆的浓度相同）。用血细胞分析仪测得这 40 份标本的血红蛋白值从 240 g/L 到 3 g/L 之间不等。同一工作日用 2 种试剂红细胞平行实验，判读结果并进行比较。

1.3.7 脂血干扰实验　取重度脂肪血浆（其他检测项目结果正常）作脂血干扰实验，将此血浆与 0.9%的生理盐水稀释成不同浓度的标本。利用酶标仪测出几份标本的 A 值作为其浊度的参考值，A 值从 0.637 到 0.260 不等。采用两种试剂红细胞平行实验，判读结果并进行比较。

1.4 数据处理

所有数据均采用 SPSS 11.5 软件中的 χ^2 检验进行统计学处理。

2 结果

自制试剂红细胞准确率为 99.97%（5 902/5 904），商品试剂红细胞准确率为 100%（5 904/5 904）。自制试剂红细胞出错的 2 例：1 例是 B 型，错判为 AB 型；另 1 例是 A 型，错判为 AB 型。

自制试剂红细胞不规则抗体检出率为 0.10%（6/5 904），商品试剂红细胞不规则抗体检出率为 0.07%（4/5 904）。2 种试剂亚型的检出率均为 0。

商品试剂红细胞未检出的 2 例分别采用微板法和试管法重复进行检测，均未检出弱凝集。经本中心输血研究室确证，为不规则抗体阳性（抗-Le^b），该抗体属于冷抗体，最适反应温度为 5～20℃[1]。

自制试剂红细胞手工改动率 0.08%（5/5 904），商品试剂红细胞手工改动率 0.02%（1/5 904）。排除亚型和不规则抗体的情况，出现这种现象是由于标本血清中抗体的强度比较弱，用试剂红细胞检测时出现的并不是强阳性，采用试管法结果低于 3＋。

灵敏度的比较见表 1。

溶血干扰实验结果见表 2。

脂血干扰实验中所有 20 个样本，2 种试剂红细胞都能准确的一次性判读出正确结果，而不受脂血的影响。

表 1　灵敏度比较

红细胞	A 细胞侧为“?”稀释倍数	B 细胞侧为“?”稀释倍数	A 细胞侧错判稀释倍数	B 细胞侧错判稀释倍数
自制试剂红细胞	1∶512/无*	1∶512	1∶1 024/1∶512	1∶1 024
商品试剂红细胞	1∶512	1∶512	1∶1 024	1∶1 024

注：* 自制试剂红细胞有 2 次实验未出现“?”，而是在稀释倍数为 1∶512 出现错误结果。

表 2　溶血干扰情况比较

红细胞	凝集端出现错判血红蛋白浓度	非凝集端出现错判血红蛋白浓度
自制试剂红细胞	无*	≥6 g/L
商品试剂红细胞	无*	≥11 g/L

注：* 溶血现象对于凝集端无影响，能一次性准确地判断结果。

3 讨论

血型反定型检测是一项非常重要的血型鉴定工作，在临床输血中承担着举足轻重的地位，是采供血机构的重要工作之一。其原理与操作比较简单，但是影响因素多。自动化设备的普及已经使其结果得到了保证。但是目前国内很多采供血机构和医疗单位仍自行配制试剂红细胞。配制过程中存在规范化、生物安全污染和职业暴露等一系列问题，同时自制的试剂红细胞未经过严格地筛选，存在效价不稳定，易溶血和保存期短等问题[2]。现在也有一些医疗单位在探讨自己配制一些具有良好免疫特异性和凝集效能，并且可保存时间长的红细胞，有文献报道有的可以达到 30 d[3]，有的甚至能达到 68 d[4]（一般的厂家生产的试剂红细胞保质期为 2～3 个月）。商品试剂红细胞在配制过程中对红细胞的选择都进行了严格的质控，除各项传染指标为阴性外，直接抗人球实验也要求必须为阴性，此外，在配制时清除白细胞层，使抗原强度（A 细胞上的 A1 抗原，B 细胞上的 B 抗原，O 细胞上的 H 抗原）更加稳定，即使是在 37℃ 环境放置 24 h，也不会出现变质现象。目前有使用红细胞的 ABO 抗原包裹的磁性粒子来代替天然红细胞进行血型反定型检测，效果较好[5]。

正确的血型是保证输血有效安全的基础，ABO 血型不合，会发生即发溶血反应，主要是血管内溶血。由于 ABO 血型系统的抗体属于 IgM，这种抗体会激活补体系统，造成严重的输血不良反应，诱发休克，甚至导致死亡[6-7]。

不规则抗体一般是指 ABO 血型系统以外的的抗体，根据其化学本质的不同主要可以分为 IgG 和 IgM，而一般的 IgM 能通过盐水介质凝集实验检出；根据最适反应温度又可以分为冷抗体和温抗体。本次试剂红细胞漏检的抗-Le^b 抗体就是 IgM 类的一种冷抗体。虽然不规则抗体在正常人群中的检出率只有 0.3%～2.0%，但却是引起迟发性免疫反应的重要因素[8]。

从实验所得的结果来看，2 种试剂红细胞在准确率、检出率和手工改动率上面有一定差距，但统计学意义上均无显著性差异（准确率 $P>0.05$，亚型和不规则抗体检出率 $P>0.05$，手工改动率 $P>0.05$）。比较两者的灵敏度，主要是间接地比较两者的抗原强度，商品试剂红细胞在几次实验中测得的稀释倍数均比较稳定，且 A 细胞侧和 B 细胞侧的稀释倍数均保持一致；而自制试剂红细胞因为有效期短，不同批次的实验过程中 A 细胞侧出现了一定的波动。相对而言，商品试剂红细胞的强度比自制试剂红细胞稍强且稳定性好；对于溶血和脂血的干扰方面来讲，商品试剂红细胞在溶血的环境下抗干扰能力略强于自制试剂红细胞，而脂血方面则两者均未受到影响。

两种试剂红细胞相比较，商品试剂红细胞略优于自制试剂红细胞，但是还是存在一定缺陷，我们可以结合两者的优点综合使用。商品试剂红细胞优点在于其稳定和标准化，但是国内的商品试剂红细胞的质量还存在着一定的提升空间。商品试剂红细胞的保存有效期远长于自制试剂红细胞，并且减轻了工作人员的工作强度和职业暴露的风险，同时也避免了配制红细胞过程中的人为误差。从经济效益来讲，自制试剂红细胞几乎是零成本的，而商品试剂红细胞则相对成本较高。采供血机构和医疗单位应根据实验室的实际情况选择适当的试剂红细胞。

参考文献

[1] 安万新，于卫建．输血技术学[M]．北京：科学技术文献出版社，2010：29－29.

[2] 毛秀军，孙绍秋，李玉梅．ABO 反定型试剂红细胞在 Xantus 全自动血型仪检测中的应用探讨[J]．现代检验医学杂志，2010，25(5)：152－153.

[3] 余晋林，伍伟健，ABO 反定型试剂红细胞配制方法的探讨[J]．中国输血杂志，2006，19(4)：293－295.

[4] 陈伯伦，赵和平，孙丽山，等．试剂红细胞的研究与应用[J]．实用医技杂志，2006，13(21)：3899－3900.

[5] 周文玲，郝一文，王玉婷．利用磁性粒子进行 ABO 血型反定型的研究[J]．山西医药杂志，2007，36(11)：1056－1057.

[6] BECK M L，KOWALSKI M A，KIRKEGAARD J，et al. Unexpected activity with monoclonal anti-B reagents[J]. Immunohematology，1992，8：22－26.

[7] SCOTT M L，VOAK D. Detection of acquired B antigen by monoclonal anti-B blood grouping reagents [J]. Transfusion，1997，37：103－104.

[8] 邹文涛，何子毅，李俊杰，等．输血前不规则抗体筛查结果分析[J]．国际检验医学杂志，2008，29(11)：1000－1002.

（收稿日期：2012-05-21）