

全自动凝聚胺微板法和微柱凝胶法 检测红细胞抗体的对比*

许婷婷¹ 何鸣镛¹ 张丽洁¹ 江梦天¹ 任明¹ 沈钢¹

[摘要] 目的:比较全自动凝聚胺微板法和微柱凝胶法检测红细胞抗体的优劣,为实验室选择试验方法提供依据。方法:用 2 种方法对 64 例阳性抗体和 64 例阴性标本进行平行检测。结果:凝聚胺微板法检测出 62 例,2 例抗-Le^a 漏检;微柱凝胶法检测出 49 例,13 例 IgM 抗体及 2 例抗-E 抗体漏检。结论:全自动凝聚胺微板法对抗体的检出率高。

[关键词] 凝聚胺微板法;微柱凝胶法;不规则抗体

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2015.03.012

[中图分类号] R446.11 **[文献标志码]** A

Comparison of automatic polybrene microplate method and gel microcolumn method in detection of red blood cell antibodies

XU Tingting HE Mingdi ZHANG Lijie JIANG Mengtian REN Ming SHEN Gang
(Wuhan Blood Center, Wuhan, 430030, China)

Corresponding author: XU Tingting, E-mail: 44229732@qq.com

Abstract Objective: To compare the automatic polybrene microplate method and gel microcolumn method in detection of red blood cell antibodies. **Method:** We parallelly detected 64 positive samples and 64 negative samples with two methods. **Result:** Sixty-two positive samples were found and 2 samples of anti-Le^a failed to be found by Polybrene microplate method. Forty-nine positive samples were found, 13 samples of IgM antibody and 2 samples of anti-E failed to be found by gel microcolumn method. **Conclusion:** Automatic Polybrene microplate method has higher detection rate of antibodies.

Key words polybrene microplate method; gel microcolumn method; irregular antibodies

不规则抗体是指抗-A 和抗-B 及抗-AB 以外的血型抗体,一般有 IgM 和 IgG 性质之分,不规则抗体的存在为输血安全带来了不可预知的风险。不规则抗体是引起溶血性输血反应、血型鉴定困难以及疑难配血等问题的主要原因之一。准确、高效的不规则抗体筛查对输血安全意义重大,我们将自己研究的凝聚胺微板法运用于麦迪斯全自动血型仪上,并对 64 例阳性抗体和 64 例阴性标本进行验证,同时与微柱凝胶法进行比较,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

阴性标本 64 例,武汉地区医院送检的阳性标本和武汉血液中心献血者中发现的阳性标本共 64 例。阳性样本中 48 例为 1 年以上冻存标本,抗体特异性未定,16 例为 1 周之内的冻存标本(6 例抗-E、3 例抗-cE、3 例温自身抗体、2 例抗-Le^a、1 例抗-D、1 例抗-Ce)。

1.2 试剂和仪器

抗人球蛋白微柱凝胶卡由伯乐医学生命产品

(上海)有限公司提供;凝聚胺试剂盒由珠海贝索有限公司提供;筛选细胞(3 个细胞一组)、谱细胞(10 个细胞一组)均由上海生物制品有限公司提供;全自动血型仪及 Uv 微孔板由深圳市爱康生物科技有限公司提供;恒温孵育器和卡式离心机由达亚美中国有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 16 例 1 周之内的冻存标本的抗体鉴定 取 10 只硬试管,每管加 2 滴患者血清、1 滴谱细胞,立即离心记录结果,根据反应结果对照谱细胞格局表判断抗体特异性;然后混匀放入 37℃ 水浴箱孵育 45 min,细胞 3 洗后加 2 滴抗人球蛋白试剂,离心记录结果,根据反应结果对照谱细胞格局表判断抗体特异性。

1.3.2 全自动凝聚胺微板法 利用麦迪斯全自动血型仪程序设置完成以下动作:吸取试管内的血浆 50 μ l 和筛选细胞 25 μ l 分配到微孔中,将微板置于孵育塔 22℃ 孵育 5 min,每个微孔中加 100 μ l 低离子溶液和 50 μ l 凝聚胺溶液,然后将微板置于离心机 500 $\times$ g 离心 2 min,然后吸取上清后加入 50 μ l 重悬液后 1200 $\times$ g 震荡 20 s,最后由血型判读仪读取结果,肉眼复核。

* 基金项目:武汉市卫计委临床医学科研项目(No: WX13D08)

¹ 武汉血液中心(武汉,430030)

通信作者:许婷婷, E-mail: 44229732@qq.com

1.3.3 微柱凝胶法 加 25 μl 血清和 0.8% 筛选细胞 50 μl , 37℃ 孵育 15 min, 然后离心观察结果。

1.4 统计学处理

采用 χ^2 检验进行统计学比较。

2 结果

阴性标本采用 2 种方法检测全部为阴性; 阳性标本采用凝聚胺微板法 30 min 完成实验, 共检出 62 例阳性, 2 例 1 周之内标本中的抗-Le^a 漏检; 微柱凝胶法检出 49 例, 其中 13 例 1 年以上 IgM 冻存标本漏检, 2 例 1 周之内标本中的抗-E 漏检。阳性标本采用 2 种方法检出率比较, 差异有统计学意义 (96.88% : 76.56%, $\chi^2=9.768$, $P<0.05$)。

3 讨论

目前常用的 ABO 以外抗体检测方法主要有凝聚胺试管法、抗人球蛋白法和微柱凝胶法。孙爱农等^[1]研究显示, 这些方法对患者进行抗体筛查的检出率差异无统计学意义。

本研究同时用 2 种不同方法对不规则抗体阳性标本进行检测, 其中凝聚胺微板法对这批标本的检出率为 96.88%, 微柱凝胶法检出率为 76.56%。统计学显示凝聚胺微板法和微柱凝胶法对这批标本的检测差异有统计学意义 ($P<0.05$)。其中凝聚胺微板法漏检的 2 例标本均为抗-Le^a 抗体, 试管法复检中也未检出, 说明抗-Le^a 抗体可能对凝聚胺法不敏感^[2]。此外, 微柱凝胶法漏检 IgM 抗体与 37℃ 孵育有关, 由于这些抗体在 37℃ 无反应性所以这种漏检不会影响输血反应, 然而对抗-E 的漏检说明凝聚胺微板法对抗-E 检测更灵敏, 这也与 Fisher

(1983 年) 的研究一致。陆紫敏等^[3] 证明抗-E 在患者不规则抗体中占很大比例, 所以对抗 E 敏感的方法显得尤为重要。

凝聚胺微板法这次在全自动血型仪上完成, 说明麦迪斯血型仪能够完成不规则抗体检测的自动化方案。本研究中 30 min 完成了 64 例标本的检测工作, 较 Lopis 等(1993 年) 报道的微柱凝胶卡的全自动方案更为快速。在最后实际的仪器判读结果过程中, 有 2 例阳性结果被仪器判为可疑, 后肉眼复核为阳性, 因此笔者认为仪器的判读程序在完全的自动化过程中可能是个难点。

目前国内大多数开展对献血者不规则抗体筛查的血站仅用盐水法对 IgM 抗体进行检测, 而我们研究的全自动凝聚胺微板法不仅在技术上能同时检测 IgM 和 IgG 抗体, 同时在工作模式上能完全与血站的其他检测项目兼容, 且经济高效, 值得推广。

参考文献

- [1] 孙爱农, 许惠根, 吴晓燕, 等. 三种红细胞不规则抗体筛选试验方法的比较[J]. 检验医学, 2007, 22(1): 1-74.
- [2] 毛娟, 吴大洲, 王满妮, 等. 凝聚胺漏检抗-Le^a 致溶血性输血反应 1 例[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(2): 178-179.
- [3] 陆紫敏, 祖亚钧, 梁萍, 等. RhE 抗原分布与临床输血关系的研究[J]. 临床血液学杂志, 2012, 25(8): 479-481.

(收稿日期: 2014-07-24)