

基层医院对不规则体筛检方法的效果评价

The effects of the primary hospital screening method
for the evaluation of irregularities谢军花¹

【摘要】 目的:探讨基层医院对用血、备血患者血型不规则抗体筛查的意义及最适开展方法。**方法:**采用凝聚胺法、抗人球蛋白法、微柱凝胶免疫法进行不规则抗体筛查,并以血清倍比稀释度来检测 3 种方法的灵敏度和特异性的差异。因盐水法会造成 IgG 型抗体漏检,故不在本次实验推荐范围。**结果:**3 种方法均能全部检测出 IgG 型抗体,阳性符合率达 100%,但从血清稀释度体现出灵敏度稍有差异。**结论:**3 种方法自身特点、推广范围与适用情况均有不同点。基层医院在条件允许情况下建议开展微柱凝胶法;若条件受限,则推荐凝聚胺法;而作为经典方法的抗人球蛋白法因相对费时且操作繁琐,不适做为日常筛选方法,宜作为不确定病例的确诊试验。

【关键词】 抗体效价;不规则筛查;输血安全

Key words antibody titer; irregular screening; blood transfusion safety

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2016.02.026

【中图分类号】 R457.1 **【文献标志码】** A

人类血型抗体有 2 种类型,即 IgG 和 IgM,现阶段认知的 ABO 血型系统分型包括抗 A 与抗 B。不规则抗体是指抗-A、抗-B 以外的血型抗体。不规则抗体是引起输血迟发性免疫不良反应、新生儿溶血病、疑难配型等问题的重要相关原因。其主要经多次、大量输血或妊娠等免疫刺激而产生。常分为自身抗体和同种抗体,同种抗体一般具有特异性,自身抗体是非特异性的^[1]。抗体阳性的患者一旦输入具有相应抗原的红细胞,抗原、抗体就会发生免疫性结合,在补体的参与下,导致输入的红细胞被溶解,进而导致急性溶血性输血反应或者迟发性溶血性输血反应。工作人员在输血工作中要尽条件所能来阻断这种输血不良反应发生的可能性。根据我国《临床输血技术规范》的要求对输血史或妊娠史的患者进行不规则抗体筛选。针对检查结果实施输血,从而最大限度的避免输血不良反应的发生,对患者安全以及后续治疗起到很大的帮助,以确保临床合理用血的安全。本次研究采用微柱凝胶法、凝聚胺法和抗人球蛋白法进行不规则抗体检测,现分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2014-10—2015-10 我院患者 2 317 例,其中男 1 239 例,女 1 078 例;年龄 1~87 岁;包括 673 例孕产妇,手术需用血者 722 例,住院治疗 922 例。

1.2 检查仪器

1.2.1 离心机 长春博迅提供卡式专用离心机,孵育箱(37℃)以及微柱凝胶抗人球蛋白检测卡,上海血液生物医药有限公司提供不规则抗体检测鉴定谱细胞,包括人工细胞 I、II、III,共 16 种抗原,分别为 D、C、E、c、e、M、N、S、s、P1、Lea、Leb、Jkb、Jka、Fya、Fyb。不规则抗体抗-D、E、C、c、e、S、s、K、

Fya、Fyb、Jka、Jkb、M、N、P1、Lea 来自加拿大 Dominion 公司。

1.2.2 凝聚胺试剂盒 由珠海贝索生物技术有限公司(台资)提供,取小试管 3 支,分别加入被检者血浆 100 μl,再分别加入 I、II、III 号筛选红细胞各 50 μl,混匀按厂家提供说明书操作,最后加入悬浮液观察凝集与溶血情况。

1.2.3 抗人球蛋白 抗体筛查细胞由上海血液生物医药有限责任公司提供,小试管 3 支,分别加入被检者血浆 100 μl,再分别加入 I、II、III 号筛选红细胞各 50 μl,混匀后置 37℃ 水浴 30 min,用生理盐水洗涤 3 次,注意每次洗涤均应扣干,1 000×g 离心 15 s,立即观察凝集与溶血情况。

1.2.4 抗人球蛋白微柱卡 由长春博迅生物技术有限公司提供,由 3 个细胞组组成,包括 Rh、Kidd、MNSs、Duffy、Kell、Lewis、P 等 8 个血型系统的 16 个抗原互补;1~3 号微柱中分别加入 I、II、III 号筛选红细胞各 50 μl,再加入离心完全的患者血清各 50 μl,放入专用配置的 37℃ 孵育箱孵育 15 μl,再放入专用离心机离心,观察结果,阴性者红细胞沉于管底,阳性者因凝集不能通过微柱孔径而浮于柱的顶端。

2 结果

2.1 试验结果

不规则抗体在正常人群中检出率仅为 0.3%~2.0%^[1],相关文献资料显示不规则抗体在普通人群中的阳性率比较低,在输血史患者中比率稍高于正常人群。本次研究患者共 2 317 例,试验阳性 11 例,阳性率为 0.475%。11 例阳性患者均有输血史或妊娠史,据调查 4 例男性有 3 次以上输血史,输血量在 1 600 ml 以上。7 例女性,有 2 例有输血史,4 例有 2 次以上妊娠史,1 例既有输血史也是初次妊娠史,以上数据证实不规则抗体的产生与多次

¹龙泉市人民医院血库(浙江龙泉,323700)

输血与妊娠史有关^[1]。

2.2 抗体效价测定

使用商品的筛选细胞分别采用微柱凝胶法、凝聚胺法、抗人球蛋白法,对本次抗筛阳性血清倍比稀释后进行效价检测,比较 3 种试验方法对不同血

型系统抗体的敏感性并测其效价,直至稀释到≥1 十的最高血清稀释度为效价判定终点。同时用该试剂筛选细胞与正常献血者血清反应,作为阴性对照试验,结果见表 1。3 种方法所用血清量和试验时间比较结果见表 2。

表 1 3 种试验方法测定不同血型系统抗体效价比较

方 法	RH-hr					Kidd		MNSs				Duffy		Lewis		P
	D	E	C	e	c	JK ^a	JK	M	N	S	s	Fy ^a	Fy ^b	Le ^b	Le ^a	P ¹
1	256	128	256	64	64	4	4	256	256	256	128	64	64	256	128	1
2	512	256	256	256	256	1	1	256	256	256	256	16	32	8	8	16
3	128	128	128	64	64	4	4	128	128	128	128	64	64	128	128	4

注:方法 1 为微柱凝胶免疫法,方法 2 为凝聚胺法,方法 3 抗人球蛋白法。

表 2 3 种方法所用血清量和试验时间的比较

方法	抗体用量/ μ l	抗原用量/ μ l	试验时间/min
1	50	100	25~30
2	100	100	5~6
3	100	100	35~50

注:方法 1 为微柱凝胶免疫法,方法 2 为凝聚胺法,方法 3 抗人球蛋白法。

3 讨论

患者产生血型不规则抗体是引起迟发性溶血性输血反应的主要原因,这种情况会造成输血事故,现阶段的文献资料也证实引起溶血反应的最主要原因是红细胞不规则抗体的产生,据报道此原因占输血死亡总数的 55% 以上^[2]。所以输血之前常规进行抗体筛选工作十分必要。不规则抗体产生的部分原因是妊娠免疫产生,以及多次或大量输血产生,甚至是药物对免疫系统的刺激产生^[2-3]。本试验显示,凝聚胺法相对灵敏度高、价廉、快速,且操作简单方便^[3]。对有些血型系统尤其是 RH 系统灵敏度甚至高于其他 2 种方法,但对于 Lewis 血型系统和 Kell 系统凝聚胺法灵敏度明显低于其他 2 种方法。虽对 Kell 系统抗体不够敏感,但国人 K 抗原几乎为零。况且 Rh 血型系统抗原性较强,产生免疫性抗体的频率较高,本次实验证实凝聚胺对此血型系统的敏感性还高于其他 2 种方法。缺点是凝聚胺结果稍显不好判断,要有丰富的实际操作经验,操作中注意不能剧烈晃动,否则会使弱凝集消失,误判为阴性。对于出现弱阳性的标本或不确定标本还需要做抗人球蛋白法为最终判断。抗人球蛋白试验虽是世界公认检测不规则抗体的经典方法,但孵育时间太长,需 3 次洗涤红细胞,过程太繁琐,因此不适用于医院中日常标本大批量筛查,只能将该方法用在少数疑难标本的确定中。

本次试验中微柱凝胶法干扰因素少,操作法简单、方便、敏感性高,结果判断直观又能较长时间保存,标本用量少,且能同时检测多份标本,因此临床中应用更多,适宜推广。且微柱凝胶法灵敏度略优于抗人球蛋白法。缺点是该方法需配备专用的离心机及孵育器,相对于其他 2 种方法成本较高。值得一提的是此方法对血标本要离心特别完全,否则极少的纤维丝也会阻碍单个红细胞通过微柱孔,造成不清晰结果。

虽然基层实验室条件相对落后,但血库工作严谨性是等同与上层医院的,由于每种方法都有其各自的优点和不足,不同的实验室应综合权衡利弊,从基层医院的实际情况综合分析,选择适合自己实验室的方法,以保证方法可开展性,服务与临床输血的安全。我院常规用血、备血患者的抗筛检测均采用微柱凝胶免疫法,而急诊时用血比较急,需分秒利用,则采用凝聚胺,以达到比较快速的筛选不规则抗体。综本次试验,推荐基层实验室采用微柱凝胶法。若实验室条件受限,则推荐开展凝聚胺法进行常规筛检,遇到阳性标本再用微柱凝胶法或抗人球法复检确认。输血安全直接关系到患者后续治疗甚至患者生命安全,建议对于连续输血患者,3 d 筛检 1 次,以防止开始效价很低不易检出,但经过输血刺激,回忆性抗体效价迅速升高而引起溶血反应。

参考文献

[1] 李勇. 实用血液免疫学血型理论与实验技术[M]. 北京:科学技术出版社,2006:595—595.
[2] 董永,李延年,孙波,等. 微柱凝集法筛选不规则抗体的临床应用[J]. 中国输血杂志,2003,16(5):327—327.
[3] 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):71—74.

(收稿日期:2015-12-24)