

· 经验交流 ·

经典试管法在 ABO 血型鉴定中的作用

Application of classic test tube method in ABO blood group identification

李凤侠¹

[关键词] 试管法;微柱凝胶法;ABO 血型

Key words test tube method; microcolumn gel technique; ABO blood group

doi: 10.13201/j.issn.1004-2806-b.2020.06.014

[中图分类号] R457.1 [文献标志码] B

ABO 血型系统是保障输血安全最重要的血型系统,准确的血型鉴定对于输血工作起着至关重要的作用。《临床输血技术规范》中明确指出在对患者进行 ABO 血型鉴定时必须进行正反定型,尽管目前大部分医院都采用了灵敏度较高的微柱凝胶法进行常规的 ABO 血型鉴定,但是对于工作中遇到的微柱凝胶法 ABO 血型正反不一致的,尤其是用微柱凝胶法出现反定型弱时,笔者认为经典试管法能解决这些问题,常规的血型血清学方法不应被摒弃,经典试管法标准操作培训对于新入职输血科工作的工作人员不容忽视。现将近年来 ABO 血型鉴定时正反定型不一致的标本总结报告如下。

1 材料与方

1.1 标本来源

2016-01—2018-11 我院备血及输血患者共 7 253 例,使用手工微柱凝胶法对其进行 ABO 血型鉴定,共有 62 例正反定型不一致(人为操作技术因素引起的不包括在内),其中男 27 例,女 35 例;年龄 5~91 岁;术前备血患者 17 例,接受输血治疗患者 45 例。

1.2 试剂与仪器

微柱凝胶血型鉴定卡(长春博讯),单克隆抗 A、抗 B 试剂,抗 D 试剂(上海血液生物医药有限公司),反定型 ABO 标准红细胞(本实验室自制)。FYQ 型免疫微柱孵育器(长春博研),TD-A 血型血清学离心机(长春博研),离心机 KA-2200 型(日本久保田),水浴箱(DK-600S 型上海),光学显微镜(olympus)。

1.3 检测方法

微柱凝胶法严格按照试剂盒操作说明操作,试管法正反定型操作严格按照《全国临床检验操作规程》,凝集强度也按照操作规程的图谱及表格判定^[1]。

微柱凝胶法正反定型凝集强度 $\leq 4+$ 判定为正定

型抗原减弱,反定型凝集强度 $\leq 2+$ 判定为反定型抗体减弱,正反定型均出现凝集判定为全凝集,在微柱凝胶孔中出现部分细胞在上方部分细胞在底部的判定为双群。微柱凝胶法正反定型凝集强度 $\leq 4+$ 标本用试管法复核;微柱凝胶法反定型 $\leq 2+$ 的标本,采用试管法的标准加样法、血清加倍法以及血清加倍后放置 4℃ 冰箱 10 min 3 种方式判定凝集强度。对于血清加倍放置 4℃ 冰箱的标本设置 O 型红细胞和自身红细胞对照,以排除其他冷凝集素干扰,出现全凝集及双群的标本联合运用吸收放散试验和不规则抗体筛查等方法。

1.4 统计学处理

统计微柱凝胶法正反定型不一致标本具体表现形式的种类及所占比例。对于反定型弱的标本应用 2 种方法进行凝集强度比较。

2 结果

微柱凝胶法 62 例标本正反定型不一致的具体表现形式见表 1。对这 49 例反定型抗体减弱的标本应用经典试管法的不同反应形式进行操作,其中 48 例患者血型结果正反一致,见表 2。

表 1 微柱凝胶法 62 例正反定型不一致结果概况

结果表现形式	例数	构成比/%
正定型抗原减弱	5	8.1
反定型抗体减弱	49	79.0
正反定型全凝集	6	9.7
正反定型中出现双群	2	3.2
合计	62	100.0

3 讨论

ABO 血型系统是最早发现的血型系统,在临床输血、器官移植、法医学鉴定等方面发挥着重要作用^[2-3]。ABO 血型鉴定时必须进行正反定型,其意义在于反定型能够复检正定型血型结果的准确性,纠正漏检、误报,2 种定型结果可以互相验证,使血型鉴定结果更为准确^[4]。用试管法进行 ABO

¹ 新沂市人民医院输血科(江苏新沂,221400)

血型鉴定时,如果没有血液系统疾病,一般正定型在试管反应中会出现 4+凝集强度,反定型试管反应中一般会出现 $\geq 2+$ 凝集强度。没有达到相应的凝集强度,出现缺失或多余的抗原或抗体反应,这时候就提示 ABO 正反定型不符,需要进一步分析和处理。

表 2 49 例反定型抗体减弱经典试管法不同反应方式与微柱凝胶法凝集强度比较

例数	微柱凝胶法		经典试管法	
	凝集强度	标准加样法凝集强度	血清加倍凝集强度	血清加倍置 4℃ 冰箱 10 min 凝集强度
23	2+	2+	3+	4+
9	2+	2+	2+s	3+
8	1+	1+	2+	3+
6	1+	1+	2+w	2+
2	±	±	1+	2+
1	-	-	-	-

62 例标本正反定型不一致,其中正定型抗原减弱者有 5 例,这 5 例患者均是恶性血液病患者,用试管法进行复查时凝集强度与微柱凝集法大体一致,说明微柱凝胶法与试管法在正定型时敏感性相差不大。这些患者具体产生的原因可能与疾病急性发作,以及某些药物的影响,导致抗原合成受阻,造成 ABO 定型时的抗原减弱。正定型抗原减弱的患者比例偏低,笔者分析可能与我院血液病患者住院比例低有关,对于恶性血液病患者在血型鉴定时应仔细核查正反定型。正反定型全凝集患者中有 2 例患者存在高效价冷凝集素,用温盐水洗涤红细胞后试管法正定型,反定型加样后在 37℃ 水浴箱孵育后观察正反相符。4 例患者是自身免疫性溶血,体内有自身抗体,凝集自身细胞的同时也凝集其他同型细胞,采用 45℃ 放散后的红细胞进行正定型,自身细胞吸收后的血清进行反定型血型正反一致。正反定型中出现双群的 1 例是骨髓移植患者,由于患者正处于血型转换期,外周循环中有供者、受者红细胞同时存在,正定型中出现双群。另 1 例是产妇备血,正定型结果很好,反定型出现双群,由于此患者不规则抗体筛选阳性,反定型标准红细胞是由 3~4 人份的同型献血员红细胞洗涤后制备的,说明患者体内的不规则抗体与标准红细胞中的部分细胞凝集,部分细胞不凝集,所以在反定型时出现双群。本实验室不能进行抗体鉴定,此例患者的标本送市血液中心鉴定结果,存在高效价的抗 M。

从表 2 可以看出对于微柱凝胶法反定型凝集强度弱的患者通过试管法的不同加样方式凝集强

度均有所提高,其中 48 例患者能得到正反一致的结果,仅 1 例患者运用试管法没有检出抗体,由于我实验室条件有限不能进一步鉴定,怀疑患者抗体缺失,患者用血时依据《特殊情况紧急抢救输血推荐方案》以交叉配血结果发放^[5],患者输注后无反应,输血效果评价有效。对 49 例反定型抗体减弱的患者也进行了原因分析,其中年龄因素有 19 例,标本稀释 10 例,标准红细胞抗原减弱 6 例,患者抗体减弱 13 例,移植患者 1 例。

由此看出患者真正抗体减弱者并不多,遇到反定型弱的标本可以多方面查找原因。首先看患者的年龄,其次与临床医生沟通了解病史,肝脏疾病、结核病等影响机体代谢的疾病,导致血浆白蛋白/球蛋白的比例(A/G)倒置,干扰 ABO 反定型;多发性骨髓瘤患者血浆中的 M 蛋白也干扰 ABO 反定型。对于标本采集不规范导致的标本稀释,条件允许的必须重新采集标本,并进行标本采集规范化培训。

这 62 例正反定型不一致患者中输血患者 45 例,备血患者 17 例,由此看出手术患者术前常规备血的重要性,能给输血科工作人员有充足的时间对患者进行血型鉴定以及不规则抗体筛查,为术中需要输血的患者及时提供合格的血液制品。

ABO 血型抗体大多是天然抗体,最适合的反应温度是 4℃,经典试管法的优点是能够提供 ABO 血型反应的最佳反应条件,并且可以根据需要调整血清加样量,对于弱凝集的标本可以通过显微镜观察,如果怀疑有冷凝集素的标本可以放置 37℃ 水浴箱排除。试管法操作很简单,离心过后观察细胞凝集状态时,试管底部松动红细胞的方式是关键,必须将试管持一定角度轻轻摇动试管直到松动所有的细胞,然后反复轻轻倾斜试管,直到看到均匀的细胞悬液或者凝集物为止。反复倾斜试管是用试管中的上清液缓慢冲击底部的“细胞扣”,通过观察“细胞扣”脱落状态来判断凝集强度,这个操作过程需要长期的经验积累,对于弱凝集的可以观察到“细胞扣”边缘有“缺口”,这类标本可以通过显微镜观察进一步验证。因此对于输血科新入职的工作人员应进行标准化培训是非常有必要的,能为以后的工作提供很大的帮助。

目前大部分医院采用微柱凝胶法进行常规的 ABO 血型鉴定,有条件的医院已采用全自动血型鉴定系统,由于我院仅对输血及备血患者进行血型鉴定,标本量不多,仍采用手工加样法。该方法具有很多优点,具有灵敏度高,操作简单,重复性好,结果可以拍照保存等,给我们的工作带来诸多方便,但是在出现 ABO 正反定型不一致时,尤其是反定型结果弱时,重复操作该方法意义不大,可以采

高趋势,考虑有可能为原发病引起的微血栓形成致溶血现象。⑤患者体内是否存在低效价的同种抗体。结合该患者临床表现、血常规、免疫固定电泳及骨髓病理等检查,诊断浆细胞白血病明确,因患者存在重度贫血,且输注红细胞治疗后出现溶血现象,贫血纠正不佳,故给予 PD 方案化疗控制疾病,调整异常免疫^[9],暂缓输注红细胞,适当给予补充造血原料,动态检测血常规,待重度贫血有所改善后再次给予化疗控制疾病。最终,患者经 1 个疗程的化疗并更换抗菌药物后,疾病得到控制,直至出院,患者未再输注红细胞,且 Coombs 试验及自身抗体检测均为阴性,血红蛋白回升至 65 g/L。

分析认为,对于临床患者发生溶血性输血反应后,首先应第一时间进行相关免疫血清学检测。在排除非人为因素导致的溶血反应后,应考虑导致患者发生溶血性反应的其他因素如患者的疾病史、用药史、输血史等,输血有可能仅仅是诱因,同时对于贫血纠正不佳的患者,应及时调整治疗方案,可暂缓输血,积极治疗原发病。本病例引起溶血的原因较为复杂,提示我们对于药物抗体导致的溶血性输血反应逐渐被重视,建立相应的检测方法非常必要,同时有必要增强临床对于药物性溶血反应的关注度,完善药物不良反应信息通报机制^[10-11]。多方面的进行沟通验证,最终为患者提供最合理的治疗方案。

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,2002:214—218.

[2] 兰炯采, 贡中桥, 陈静娴. 输血免疫血液学实验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:131—141.
 [3] 胡丽华. 临床输血学检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:205—206.
 [4] Arndt PA. Drug-induced immune hemolytic anemia: the last 30 years of changes[J]. Immunohematology, 2014,30:44—54.
 [5] 刘景汉, 兰炯采. 临床输血学[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:236.
 [6] 杨海波, 李萌, 孙文杰. 头孢类药物致免疫性溶血的临床分析[J]. 南京医科大学学报,2017,37(12):1705—1706.
 [7] 樊王冬, 陈丹镛, 周家青, 等. 头孢唑肟致溶血性贫血的文献分析[J]. 中国药房,2016,27(25):3595—3597.
 [8] Beate M, Thilo B, Salih Y, et al. Variability of findings in drug-induced immune haemolytic anaemia: experience over 20 years in a single centre[J]. Transfus Med Hemoth, 2015,42:333—339.
 [9] 丁倩倩, 陈勤奋. 原发性浆细胞白血病的诊断和治疗[J]. 肿瘤,2012,32(3):218—220.
 [10] 朱雪, 刘蕾. 头孢类抗生素致敏红细胞的检测[J]. 临床血液学杂志,2016,(3):453—455.
 [11] Shrimali JD, Patel HV, Gumber MR, et al. Ceftriaxone induced immune hemolytic anemia with disseminated intravascular coagulation[J]. Indian J Crit Care Med, 2013,17:394—395.

(收稿日期:2019-07-27)

(上接第 429 页)

用经典试管法进行查找原因,不能过分的依赖微柱凝胶法,经典的血清学方法在我们输血科应常规开展,尤其是对于刚入职输血科的工作人员应进行标准化培训,不能让经典的血清学方法滞后。遇到 ABO 正反定型不一致时,可以参考 ABO 疑难血型三步分析法,从多方面查找原因,同时熟练掌握 2 种检测方法的优缺点,在实际工作中灵活运用,相互补充验证,以确保输血的安全性和有效性。

参考文献

[1] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 中华人民共和国卫生部医政司,2016:118—121.

[2] Mitra R, Mishra N, Rath GP. Blood groups systems [J]. Indian J Anaesth,2014,58:524—528.
 [3] Edinur HA, Manaf SM, Che Mat NF. Genetic barriers in transplantation medicine[J]. World J Transplant, 2016,24:532—541.
 [4] 胡丽华. 临床输血学检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:36—37.
 [5] 中国医师协会输血医师分会, 中国医学会临床输血学分会. 特殊情况紧急抢救输血推荐方案[J]. 中国输血杂志,2014,27(1):1—3.

(收稿日期:2019-05-26)