

• 临床研究 •

全自动血型及配血系统在新生儿输血安全中的应用

吴涛¹ 张长虹¹ 周俊¹ 杨连贵¹ 范丽霞¹ 杜海燕¹ 安恒奇¹

【摘要】 目的:通过研究全自动血型及配血系统在新生儿输血前检查中的应用,探讨其对新生儿输血安全的作用。方法:应用全自动血型/配血系统对不同胎龄新生儿进行 ABO、Rh 血型鉴定、不规则抗体筛选、交叉配血,分析其结果。结果:1 012 例不同胎龄患儿 ABO 血型正反定型一致率为 46.91%,1 960 例申请输血的患儿共检出不规则抗体 13 例(0.66%),2 332 例交叉配血中,主侧不合占 3.09%,次侧不合占 30.40%。结论:全自动血型及配血系统可用于新生儿输血前检查,保证新生儿输血安全。

【关键词】 新生儿;血型;不规则抗体;交叉配血;全自动血型及配血系统

【中图分类号】 R272.1 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1004-2806(2012)06-0337-04

Application of automatic blood type and blood crossmatching system in newborn blood transfusion safety

WU Tao ZHANG Changhong ZHOU Jun YANG Liangui
FAN Lixia DU Haiyan AN Yuanqi

(Department of Blood Transfusion, General Hospital, Beijing Military Region, Beijing, 100700, China)

Corresponding author: WU Tao, E-mail: wut7175@sina.com

Abstract Objective: To study the application of the automatic blood type and blood crossmatching system before neonatal transfusion, and explore the role in neonatal blood transfusion safety. **Method:** ABO, Rh blood group identification, irregular antibody screening and blood crossmatching for different gestational age neonates of Children's Hospital were performed by automatic blood type and blood crossmatching system, and the results were analyzed. **Result:** The same positive and negative rate of 1 012 cases of children with ABO blood group in different gestational age was 46.91%. 13 cases (0.66%) were found irregular antibody positive in 1 960 cases of children who applied for transfusion. In 2 332 cases blood crossmatching, 3.09% were not matched for the primary side, and 30.40% for the second side. **Conclusion:** Automatic blood type and blood crossmatching system could be apply for the examination of neonatal transfusion in order to ensure neonatal blood transfusion safety.

Key words newborn; blood type; irregular antibodies; blood crossmatching; automatic blood type and blood crossmatching system

血型,尤其是 ABO 及 Rh 血型的正确鉴定是保证输血安全的首要条件,否则会危及患者的生命安全。新生儿由于自身血型抗原、抗体的产生特点,对血型的正确鉴定提出了更高的要求。

抗-A、抗-B 和抗-A、-B 以外的红细胞抗体称为不规则抗体或意外抗体。在正常人群中 0.3%~2.0% 的人有这种抗体^[1]。新生儿可由于 ABO 血型系统以外的血型不合妊娠刺激母体内产生,通过胎盘进入胎儿体内。不规则抗体是引起输血不良反应、新生儿溶血病、血型鉴定困难以及疑难配血等的主要原因之一。对受血者进行不规则抗体筛选可避免因为找不到相合的血液给患者输血而延误治疗。

1986 年 Lapierr 发明了微柱凝胶技术^[2]并用

于鉴定血型,由于该方法具有易于自动化、标准化、反应结果可靠和特异性强等特点,目前该方法用于输血前检测,在一些大型医院及血站已作为一种常规检测项目。微柱凝胶法因为抗原抗体量是恒定的,操作标准化,易于掌握,所以对 ABO 亚型、尤其是新生儿弱抗原、弱抗体的检出及交叉配血,敏感度高于传统的试管法,适合于大批量标本的常规检测。全自动血型/配血系统采用微柱凝胶技术,加样、混匀、孵育、离心、判读步骤均自动完成,通过扫描仪自动记录每孔的反应图像,可更好地分析血型及配血结果。我中心自 2009 年 5 月开始采用全自动血型/配血系统对儿童医院新生儿患者进行输血前检查,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 标本

2009-05—12 我院儿童医院新生儿出生后血液标本。

¹ 北京军区总医院输血科(北京,100700)

通信作者:吴涛, E-mail: wut7175@sina.com

1.2 仪器与试剂

WADiana 全自动血型/配血系统、微柱凝胶血型卡(抗-A、-B、-D、-C、-E、clt 管、A 型标准红细胞、B 型标准红细胞)、微柱凝胶抗人球卡、A、B 标准反定型红细胞及 I、II、III 号抗筛细胞、低离子液由 Diana 提供。

1.3 检测方法

微柱凝胶法,操作按仪器使用说明执行,从标本稀释、加样、离心至结果判读均由仪器自动完成。按不同实验项目将患儿红细胞及血浆加入对应管中,孵育 15 min(血型鉴定不需孵育),3 000 r/min 离心 10 min,仪器自动判读结果。

1.4 统计学方法

计数资料用例数、百分数描述,率、构成比的比较用 χ^2 检验分析,不符合 χ^2 分布的用 Fisher 精确概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有统计用 SPSS13.0 统计软件完成。

2 结果

不同胎龄新生儿 ABO 血型正反定型一致性结果见表 1。

早产与围足月、足月的不规则抗体检出数差异有统计学意义(均 $P < 0.05$);围足月与足月的差异无统计学意义($P > 0.05$);不规则抗体检出数,早产、围足月、足月及总的男性与女性比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),详见表 2。

次侧配血不合,早产与围足月比较 $\chi^2 = 14.920$, $P < 0.01$,足月与围足月比较 $\chi^2 = 13.875$, $P < 0.01$;直抗阳性数,早产与围足月比较 $\chi^2 = 32.320$, $P < 0.01$,见表 3、4。

3 讨论

全自动血型/配血系统可通过软件进行结果判读,判读结果有统一的标准,减低了人为因素造成的影响,电脑保存并打印原始记录,包括影像资料,核对结果更加直观,便于查询和追溯,对安全供血

和医疗纠纷举证有积极的意义。同时,由于运用电脑管理,方便与多种 LIS 及 HIS 系统对接,容易实现网络化。

胎儿在 5 周时,细胞上能检测到 ABO 抗原,但新生儿出生时 ABO 抗原还没有发育完全,直到 18 个月后才充分发育^[3]。由于新生儿红细胞上针对糖苷转移酶的底物少,造成 ABO 血型抗原较成人弱,只有约成人的 1/4^[4]。文献报道,对于部分抗原性减弱的新生儿,应用微柱凝胶法仍能够成功地检测出其 ABO 血型和 RhD 血型^[5]。全自动血型及配血系统采用的微柱凝胶法可以取代试管法用于新生儿的 ABO 和 RhD 血型鉴定。

一般认为,新生儿 IgM ABO 抗体出生 3~6 个月才合成。新生儿出生时,一般没有抗-A、-B,人会不断地被这些外来抗原免疫,逐渐产生了抗-A、-B和抗-A、B。A 型或 B 型的血清中大多为 IgM 抗体,能与 A 和 B 抗原发生凝集反应。正定型错误较少,而反定型错误较多,避免反定型错误是正确鉴定新生儿 ABO 血型的关键。也有文献报道有些新生儿出生时已合成 IgM ABO 抗体^[6]。邱云霞等^[7]报道新生儿血清相关 ABO 血型抗体检出率为 48.9%。我们的分析结果表明,不同胎龄 ABO 血型正反定一致率为 46.91%。

本研究认为,血清中 IgM ABO 抗体是出生时就合成或逐渐合成或含量逐渐增多的,只是合成的量少时,常规法会漏检。采用更为敏感的方法正确鉴定正定型更为重要。因此,在新生儿常规血型检查时,应同时进行正反定型。为了减少因新生儿抗原较弱所致的误定型,不能一概认为抗体“未合成”而忽略了反定型。常规法会漏检少量血型抗体,微柱凝胶技术能使红细胞抗原与极微弱的相应的血型抗体发生阳性反应,且凝集在微柱凝胶孔内的红色凝集颗粒清晰、明确,极易被观察到,可作为反定型检测微弱血型抗体的有效方法。

表 1 不同胎龄 ABO 血型正反定型一致性鉴定结果

%(例/例)

组别	A	B	O	AB	合计
早产	27.5(47/171)	36.5(88/241)	50.5(97/192)	98.5(67/68)	45.49(299/672)
围足月	33.0(30/91)	57.4(74/129)	48.8(40/82)	96.6(28/29)	51.96(172/331)
足月	0	66.7(2/3)	20.0(1/5)	55.6(5/9)	44.44(8/17)
合计	29.28(77/262)	43.97(164/373)	49.46(138/279)	94.34(100/106)	46.91(479/1020)

表 2 不规则抗体检出情况分析

组别	例数	检出/例(%)	男性/例	男性检出/例(%)	女性/例	女性检出/例(%)
早产	1 277	2(0.16)	770	1(0.13)	507	1(0.20)
围足月	323	5(1.54)	214	2(0.93)	109	3(2.75)
足月	360	6(1.67)	222	4(1.80)	138	2(1.45)
合计	1 960	13(0.66)	1 206	7(0.58)	754	6(0.80)

表 3 新生儿交叉配血结果					n(%)
组别	例数	主侧不合	次侧不合	直抗阳性	
早产	1 422	37(2.60)	453(31.85)	425(29.89)	
围足月	402	14(3.48)	88(21.89)	63(15.67)	
足月	508	21(4.13)	168(33.07)	74(14.57)	
合计	2 332	72(3.09)	709(30.40)	562(24.10)	

表 4 交叉配血不合抗体分布				
血型	n	占总抗体数量的比例/%	占本系统数量的比例/%	
ABO	A 42	58.3	67.7	
	B 20	27.8	32.3	
Rh	D 0	0	0	
	E 4	5.6	36.4	
	e 1	1.4	9.1	
	C 1	1.4	9.1	
	c 4	5.6	36.4	
其他	M 1	1.4	9.1	

有无必要对新生儿 ABO 血型进行反定型鉴定,实际可操作性、判断标准仍有待探讨。对正反定不一致的患儿,更应严格抗筛及交叉配血操作,由于新生儿血清中 IgM ABO 尚未完全合成,给临床鉴定 ABO 血型带来一定的困难,我们认为要严格认真按照操作规程进行,用高效价标准血清鉴定血型,遇到 ABO 正反定型不一致者,有条件的单位可采用低离子溶液法等更为敏感的方法鉴定血型。由于新生儿 ABO 血型检测以正定型为主,与成人相比,抗原、抗体表达弱,存在漏检的风险。可采用更为敏感的方法,如加大血清量法和(或)低离子强度溶液法^[8]、抗球蛋白法,可提高新生儿 ABO 血型检定的准确性。

全自动血型及配血系统检测血型的微柱凝胶法是利用红细胞抗原和相应的抗体(IgM)结合并离心,凝集的红细胞悬浮在凝胶表面或凝胶中层,判为阳性反应,而未与抗体结合的红细胞则通过凝胶沉于凝胶底部,判为阴性反应^[9]。国内有人报道,微柱凝集法对 ABO 血型检测与聚凝胺法相比准确性无显著性差异^[10]。国内也有人^[11]将全自动血型系统和试管法同时做对比试验,2 种检测方法的结果符合率为 100%,无明显差别。国外有报道,微柱凝集法检测 ABO 血型不如盐水试管法准确^[12]。

国内学者^[13]采用 PCR-SSP 法来鉴定新生儿血型。微柱凝胶法与 PCR-SSP 法相比,有较高的符合率,达 84.4%。微柱凝胶法虽不能对所有样本做出正确定型,但该方法简单,所需时间短,不致延误患者病情,基本可满足临床需求。对于微柱凝胶法不能正确定型及患感染性疾病的个体,可采用 PCR-SSP 法对其进行鉴定。PCR-SSP 法对 ABO 血型进行鉴定时,所需时间较长。部分新生儿 ABO 血型正

反定型不一致,如需要输血,在抗筛阳性或在交叉配血不合,对血型鉴定存有疑问时,可进一步鉴定。唾液血型物质检测有一定参考价值,但是多数情况下取婴儿唾液困难,可采用吸收放散试验进一步核实或 PCR 技术检测 ABO 血型基因,以正确判定 ABO 血型。

在一般人群中,意外抗体的检出率为 0.3%~2.0%^[1],但在多次妊娠或输血的人群中,意外抗体的检出率则明显增高,女性一般高于男性^[14],本实验结果不规则抗体阳性检出率为 0.66%,略高于国内 0.4%的报道^[15],在不同胎龄的新生儿,男性与女性相比,差异无统计学意义。新生儿可刺激母体产生不规则抗体,多为免疫性不完全抗体 IgG,可通过胎盘被动从其母体获得 IgG 类抗体,妊娠妇女施行不规则抗体筛检并鉴定抗体特性,可预测新生儿溶血病。

Rh 血型系统是红细胞血型系统中最复杂的系统,Rh 血型系统中最重要抗原强弱顺序为 DECce,绝大多数 Rh 抗体是免疫性抗体,经妊娠或输血免疫而产生^[16]。本研究显示,新生儿抗 E 抗体在本系统产生的比例为 36.4%。国内血型调查组报告显示,E 抗原在人群中的阳性率为 47.83%^[17],E 抗原阳性率远比 D 抗原阳性率低,产生抗 E 抗体的几率高于抗 D 抗体,故 Rh 血型系统 D 抗原阳性 E 抗原阴性的新生儿输血不容忽视。

根据本研究的结果,我们认为,对新生儿有必要进行不规则抗体筛选。对于抗体筛选阳性的新生儿,如有条件,应进一步进行抗体鉴定,确定抗体的特异性。如患者需要输血,应选择缺乏抗体对应抗原的供者血液,即使在无条件进行抗体鉴定,暂不能确定抗体性质的情况下,利用患者的血清盲配,选择相合的血液输注,也能保证输血安全,取得满意疗效。

对需输血的新生儿运用微柱凝胶技术提前进行不规则抗体筛选,阳性血清再用间接抗球蛋白试验予以确证。在作抗体鉴定时,可能会遇到这样的结果:有些抗体与所有鉴定试剂细胞均有反应,也有些抗体的反应格局不显示特异性,甚至有的表现出反应强度的多变性。这些不常见抗体的鉴定非常困难,往往也很难找到抗原阴性的血液进行输注。患者存在抗高频抗原抗体(抗-HIA)是出现这类试验现象的常见原因。《英国输血服务指南》采用了 Daniels 等^[18]对血型抗体的临床意义回顾性研究报道中的建议,对于存在可能没有临床意义或虽然有潜在临床意义的抗体但难以获得抗原阴性血液的患者,选择血清学最低不相容血液(指在 37℃ IAT 试验中与受血者血清反应最弱的红细胞)^[19]。

本研究结果,早产、围足月、足月主侧凝集分别占 2.60%、3.48%、4.13%,主要是由于 ABO IgG 抗

体和不规则血型抗体所致,不同胎龄无统计学意义,次侧凝集分别占 31.85%、21.89%、33.07%,主要是由 IgG 类血型抗体致敏新生儿红细胞引起,早产、足月高于围足月。

即使对不规则抗体筛查阴性新生儿患者,也应采用聚凝胺法或微柱凝胶法等能检测出不规则抗体的方法进行交叉配血实验,因为抗体筛查细胞不可能包含所有抗原,筛查出所有的抗体,对一些低频率抗原相应抗体不能检出。不规则抗体筛检阴性并不等于完全没有不规则抗体。同时,有一些罕见但能引起输血反应的不规则抗体如用盐水交叉配血,就不容易被发现,易于造成输血反应。因此不规则抗体筛检阴性并不等于完全没有不规则抗体;对 ABO 血型的误判,也不能通过抗体筛检纠正查出。因此即使不规则抗体筛检阴性还必须用能快速检测出不完全抗体的方法交叉配血,以确保输血万无一失。

全自动血型及配血系统用于新生儿血型鉴定及交叉配血,既保持了传统的抗球蛋白技术的全部优点,又克服了其试验程序和对照复杂的缺点。微柱凝胶配血卡通常使用抗球蛋白介质,但比传统手工抗球蛋白法配血操作简便,可减少人为误差,其结果更准确、灵敏^[20]。缺点是孵育、离心时间长,不适合急诊标本。另外,微柱凝胶卡成本偏高,故在国内推广受到限制。遇到交叉配血结果不符时,应结合临床和血清学特点,自行设计实验分析,并可结合传统的试管法,作出正确的交叉配血^[21]。

我们认为有条件的大型医院,如三甲医院等,在正确检定受血者与供血者血型的前提下,可将全自动血型及配血系统的微柱凝胶法作为新生儿常规配血方法,聚凝胺法可作为急诊配血方法。一般的二甲以下等级的医院,用凝聚胺法常规配血,而对于凝聚胺法配血不相合的疑难者,可用微柱凝胶卡配血替代复杂的间接抗球蛋白法^[22]。2 种配血法既可相互补充印证,避免盲目配血,又可防止溶血性输血反应,对新生儿输血安全具有重要意义。

参考文献

- [1] 池泉,郭永建,田兆嵩.红细胞血型抗体与输血安全[J].中国输血杂志,2008,21(8):649-654.
- [2] LAPIERRE Y, RIGAL D, ADAM J, et al. The gel test: a new way to detect red cell Antigen antibody reactions[J]. Transfusion, 1990, 30: 109-113.
- [3] 吴国光.红细胞血型[M]//王培华.输血技术学.北京:人民卫生出版社,2002:149-151.
- [4] KETTLET D S, JOHNSON M M. ABO grouping: experience with the gel test (abstract)[J]. Transfusion, 1997, 37: 29S-29S.
- [5] 章文,徐刚,吴跃平,陈月生,等.微柱凝胶技术在婴幼儿输血中的应用[J].国际检验医学杂志,2006,27(4): 50-51.
- [6] 徐秀玉,杨寿旺,陈忠.脐血血清中 IgG、IgM 抗 A(B)凝集素的初步观察[J].中国输血杂志,1990,3(3):178-178.
- [7] 邱云霞,卢松丽.96 例新生儿血清 IgMABO 抗体的临床观察[J].临沂医学报,1995,17(1):64-65.
- [8] 杨崇礼,兰炯采,胡利亚.婴儿 ABO 血型定型的研究[J].中华儿科杂志,1995,33(4):221-224.
- [9] TILLS D, BUSHROD J, WARD D J, et al. Typing of normal and variant red cells With ABO, RH, and Kell typing reagents using a gel typing system[J]. Immunohematology, 1991, 7: 94-97.
- [10] 王显荣,许立,李育,等.盐水法接合柱凝集法在 ABO 疑难血型检测中的应用[J].中国输血杂志,2006,19(1):34-36.
- [11] 赖科,杨丽媛,秦建芳.全自动血型仪在血型检测中的应用[J].临床血液学杂志,2009,22(4):207-208.
- [12] ROBACK J D, BARCLAY S, HILLYER C D. An automatable format for accurate immunohematology testing by flow cytometry[J]. Transfusion, 2003, 43: 918-918.
- [13] 张印则,兰炯采,李伟.婴儿 ABO 血型的鉴定及应用临床输血[J].中国实验血液学杂志,2003,11(3): 301-304.
- [14] AMEEN R, ALSHEMMARI S, ALHUMOOD S, et al. RBC alloimmunization and autoimmunization among transfusion-dependent Arab thalassemia patients [J]. Transfusion, 2003, 43: 1604-1610.
- [15] 马曙轩,刘景汉,李锡金,等.微柱凝胶间接抗球蛋白法筛选和鉴定不规则抗体[J].中国实验血液学杂志, 2003, 11(2): 194-196.
- [16] KOLLAMPARAMBIL T G, JANI B R, ALDOURI M, et al. Anti-C(w) alloimmunization presenting as hydrops fetalis[J]. Acta Paediatr, 2005, 94: 499-501.
- [17] 血型调查组.我国十六个民族的血型调查报告ⅢRh 血型调查结果[J].中华血液学杂志,1981,2(4):209-209.
- [18] DANIELS G, POOLE J, DE SILVA M, et al. The clinical significance of blood group antibodies. TransfusMed, 2002, 12: 287-295.
- [19] NATIONAL BLOOD SERVICE. Guidance for the selection of blood for patients with common and rare red cell antibodies[J]. Blood Matters, 2003, 13: 3-4.
- [20] 武峰,刘亚玲.微柱凝胶技术在血型免疫学相关检测中的应用进展[J].临床血液学杂志,2008,21(2):101-104.
- [21] 谭庆,崔徐江.聚凝胺法交叉配血不合的输血处理[J].中国输血杂志,2008,21(8):660-661.
- [22] 王玉闽,高阳,朱开平,等.凝聚胺加微柱凝胶卡氏法应用于交叉配血及 Rh 血型鉴定[J].中国输血杂志, 2006, 19(1): 38-38.

(收稿日期:2011-11-29)