

不同效价抗-E 因剂量效应导致配血结果假阴性情况分析

何飞¹ 欧贵勇¹ 陶慧² 蔡大凤¹ 刘峰¹

[摘要] 目的:评估不同效价抗-E 与 Rh 表型为 CcDEe 及 ccDEE 红细胞,采用手工凝聚胺法及微柱凝胶卡式法交叉配血出现假阴性发生率情况。方法:收集 2021 年 7 月—2022 年 5 月意外抗体鉴定为单纯抗-E 的 23 例患者血样。使用微柱凝胶卡式法进行抗-E 效价测定并分成 ≤ 8 组和 ≥ 16 组;用手工凝聚胺法及微柱凝胶卡式法与 CcDEe 和 ccDEE 的红细胞制剂同步进行交叉配血试验。结果:①抗-E 效价 ≥ 16 组的患者血浆样本与 CcDEe 和 ccDEE 的红细胞分别采用 2 种配血方法均未出现假阴性结果;②抗-E 效价 ≤ 8 组的的患者血浆与 CcDEe 红细胞配血时:凝聚胺法出现 10 例假阴性,漏检率 90.91%(10/11),而微柱凝胶卡式法出现 5 例假阴性,漏检率 45.45%(5/11),两者差异有统计学意义($P=0.008$);而与 ccDEE 红细胞配血时:凝聚胺法出现 3 例假阴性,漏检率 27.27%(3/11),微柱凝胶卡式法未出现假阴性,两者差异有统计学意义($P=0.035$)。结论:患者检出低效价的具有剂量效应意外抗体时,最佳输血选择应为表型抗原阴性而非仅配血相合的红细胞制剂。

[关键词] 抗-E;剂量效应;交叉配血;凝聚胺法;微柱凝胶卡式法

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.04.005

[中图分类号] R457.1 [文献标志码] A

Analysis of false negative results of blood matching due to dose effect of anti-E with different titers

HE Fei¹ OU Guiyong¹ TAO Hui² CAI Dafeng¹ LIU Feng¹

(¹Department of Blood Transfusion, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, 530021, China; ²Guangxi Health Vocational and Technical College Nanning)

Corresponding author: LIU Feng, E-mail: liufeng-email@126.com

Abstract Objective: To evaluate the false negative incidences in cross-matching test between different titers of anti-E and CcDEe or ccDEE red cells by manual polybrene test and microcolumn gel test. **Methods:** Blood samples from 23 patients with unexpected antibody identified with pure anti-E were collected from July 2021 to May 2022 in our hospital. The titer of anti-E was determined by microcolumn gel test and the research subjects were divided into two groups by the titer ≤ 8 and ≥ 16 . The cross-matching tests between the corresponding titers of anti-E with CcDEe and ccDEE red cells were performed simultaneously by manual polybrene test and microcolumn gel test. **Results:** ① In the group of anti-E titer ≥ 16 , none of false negative results were found in corss-matching test with CcDEe or ccDEE red cells by the two different matching methods. ② In the group of anti-E titer ≤ 8 , 10 cases of false negative results were found and the incidence was 90.9%(10/11) when using CcDEe red cells by manual polybrene test, however, 5 cases of false negative results were found and the incidence was 45.45%(5/11) by microcolumn gel card method, which the difference of the two above incidence were statistically significant($P=0.008$). When cross-matching with ccDEE red cells, 3 cases of false negative results were found and the incidence was 27.27%(3/11) by manual polybrene test, and none of false negative cases were found by the microcolumn gel card method, which the difference of the two above incidence were statistically significant($P=0.035$). **Conclusion:** When unexpected antibody with low titer and dose effect were encountered, the best selection of red cell components for transfusion supports may be the corresponding negative antigen rather than only negative results of cross-matching test.

Key words anti-E; dose effect; cross matching; manual polybrene test; microcolumn gel test

意外抗体是指 ABO 血型系统以外的抗体,主

要由妊娠、输血等导致的非己抗原接触后,机体产生的一类针对红细胞表面抗原的特异性抗体。意外抗体的产生可导致新生儿溶血病、溶血性输血不良反应以及输注无效的发生,是临床发生输血不良

¹广西医科大学第一附属医院输血科(南宁,530021)

²广西卫生职业技术学院

通信作者:刘峰, E-mail: liufeng-email@126.com

事件主要风险之一^[1-2]。此次研究是收集不同效价的单纯抗-E 阳性患者血浆标本,与 Rh 血型为 ccDEE 和 CcDEe 红细胞,用凝聚胺方法及微柱凝胶卡式方法进行配血试验,研究不同效价抗-E 在既定条件下配血的假阴性发生率。此次研究主要基于可能存在的部分基层实验室因实验条件原因,在意外抗体阳性患者的配血中仍可能采用配合性输注策略,而开展的假阴性发生率调查。旨在对如何使用适当的配血策略,为临床意外抗体阳性输血患者提供安全有效的血制品提供借鉴。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集我院 2021 年 7 月—2022 年 5 月抗体鉴定诊断为单纯抗-E 阳性患者血样,有多重抗体的抗-E 阳性患者不在本次研究范围。共收集的患者血浆标本 23 例,放置于-80℃条件下冷冻保存备用。

1.2 试剂与设备

抗体诊断细胞为荷兰三昆试剂有限公司生产 16 组抗体鉴定细胞。试剂红细胞为本地血站提供的供血者(单人)Rh 血型为 ccDEE 与 CcDEe 红细胞。凝聚胺介质试剂为珠海贝索生物技术公司生产,微柱凝胶卡为奥森多临床诊断(中国)有限公司抗人球蛋白(IgG,C3b/C3d)检测卡。设备名称:强生血型分析工作站。

1.3 方法

1.3.1 抗体效价测定 将患者血清倍比稀释,用 Rh 血型为 ccDEE 红细胞作为指示红细胞,运用微柱凝胶卡式方法进行抗原抗体反应,参照试剂说明书手工加样完成试验后离心判读结果,以最后一孔“1+”为效价判定终点。

1.3.2 凝聚胺法 配血开展主侧配血试验。取洁净试管 2 支,分别加入患者血清 100 μL,在其中一支试管中加入 Rh 血型为 CcDEe、浓度为 3% 的红细胞 50 μL,另一试管中加入 Rh 血型为 ccDEE、浓度为 3% 的红细胞 50 μL,遵试剂说明书开展试验。结果判读:凝集散开,判读结果为阴性,配血结果相合;凝集不散开(≥0.5+),判读结果为阳性,配血结果不相合。

1.3.3 微柱凝胶卡式法 配血开展主侧配血试验,患者血浆将分别与 Rh 血型为 CcDEe 红细胞及 Rh 血型为 ccDEE 红细胞进行配血。分别向微柱凝胶孔内加入 Bliss 液 50 μL、患者血浆 40 μL 以及浓度为 3% 的已知 Rh 血型红细胞 10 μL,混匀后于 37℃ 孵育 15 min 离心判读结果,按说明书进行判读,配血结果≥“0.5+”即判读为阳性。

1.4 统计学处理

使用 SPSS 25.0 进行数据处理。此次研究收集患者 23 例,采取合并分组方式将抗-E 阳性患者分为效价≤8 组与效价≥16 组。不同分组间假阴

性发生率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗体效价结果

此次收集的抗-E 阳性患者标本中,效价为 1 有 3 例,效价为 2 有 1 例、效价为 4 有 5 例、效价为 8 有 2 例、效价为 16 有 1 例、效价为 32 有 5 例、效价为 64 有 2 例、效价为 128 有 4 例,见表 1。

2.2 凝聚胺法配血结果

抗-E 阳性患者血浆,使用凝聚胺法与 Rh 血型为 CcDEe 红细胞配血,10 例患者血浆与供者细胞反应未出现凝集,2 例凝集强度为 0.5+,11 例凝集反应强度为 1+~4+,与 Rh 血型为 ccDEE 的红细胞配血,3 例患者血浆与供者细胞反应未出现凝集,20 例凝集强度为 1+~4+,见表 1。

2.3 微柱凝胶卡式方法配血结果

抗-E 阳性患者血浆与 Rh 血型为 CcDEe 的红细胞配血,5 例未出现凝集,2 例凝集强度为 0.5+,16 例凝集强度为 2+~4+,与 Rh 血型为 ccDEE 红细胞配血均出现凝集反应,强度为 1+~4+,见表 1。

表 1 患者抗体效价与配血结果表

病例	抗 E 效价	与 RhCcDEe 配血		与 RhccDEE 配血	
		凝聚胺法	微柱凝胶卡法	凝聚胺法	微柱凝胶卡法
患者 1	1	0	0	0	1+
患者 2	1	0	0	0	2+
患者 3	1	0	0	0	1+
患者 4	2	0	0	1+	2+
患者 5	4	0	0.5+	2+	3+
患者 6	4	0	0.5+	2+	3+
患者 7	4	0	2+	2+	2+
患者 8	4	0	0	2+	3+
患者 9	4	2+	3+	2+	3+
患者 10	8	0	2+	2+	2+
患者 11	8	0	3+	2+	3+
患者 12	16	1+	2+	2+	3+
患者 13	32	1+	4+	3+	4+
患者 14	32	0.5+	3+	2+	3+
患者 15	32	0.5+	3+	2+	3+
患者 16	32	1+	3+	2+	3+
患者 17	32	1+	3+	2+	3+
患者 18	64	2+	3+	3+	3+
患者 19	64	2+	3+	2+	3+
患者 20	128	4+	4+	4+	4+
患者 21	128	3+	3+	3+	3+
患者 22	128	2+	4+	3+	4+
患者 23	128	2+	3+	3+	3+

2.4 抗-E效价 ≤ 8 组假阴性结果发生率

此次试验,抗-E效价 ≥ 16 组患者血浆,在2种方法配血的结果中都未出现假阴性情况,假阴性结果仅发生在抗-E效价 ≤ 8 患者组,因此仅在抗-E效价 ≤ 8 患者组间的假阴性发生率进行 χ^2 检验,见表2。

表2 抗-E效价 ≤ 8 组假阴性结果发生率比较 例

配血方法	阳性	假阴性	P
凝聚胺法(Rh血型CcDEE)	1	10	0.063
凝聚胺法(Rh血型ccDEE)	6	5	
凝聚胺法(Rh血型CcDEE)	1	10	0.008
微柱凝胶卡式法(Rh血型CcDEE)	8	3	
凝聚胺法(Rh血型ccDEE)	6	5	0.035
微柱凝胶卡式法(Rh血型ccDEE)	11	0	
微柱凝胶卡式法(Rh血型CcDEE)	8	3	0.214
微柱凝胶卡式法(Rh血型ccDEE)	11	0	

3 讨论

3.1 临床意外抗体发生情况

对意外抗体的研究是有效保障患者输血安全的重要手段,是输血医学热点研究方向之一^[3-4]。文献报道我国临床意外抗体的发生率在所有开展抗体筛查的患者中发生率约为0.20%^[5],同种抗体占比为93.04%,自身抗体与同种抗体同时发生为0.43%,自身抗体占比为1.73%,未确定特异性占比为4.78%^[6-7]。我国人口基数大,临床发生输血事件患者多,这也导致即便意外抗体发生率低但实际发生人数多^[8]。开展意外抗体阳性患者配血策略的研究,是保障此类人群输血安全的重要措施之一。

3.2 凝聚胺与微柱凝胶卡式法配血情况分析

凝聚胺与微柱凝胶卡式配血法是临床广泛使用的配血方法。此次研究在抗-E效价 ≤ 8 组与Rh血型ccDEE红细胞配血,凝聚胺法11例中5例出现假阴性,微柱凝胶卡式法未出现假阴性,2组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。与Rh血型为CcDEE的红细胞配血,凝聚胺法11例中仅1例出现阳性反应,微柱凝胶卡式法11例中3例出现假阴性,2组间差异有统计学意义($P = 0.008$)。通过试验结果观察到在抗-E效价 ≤ 8 患者配血中,微柱凝胶卡式法灵敏度高于凝聚胺配血法,与部分文献描述一致^[9]。

3.3 在不同配血方法下配血假阴性情况分析

文献报道“剂量效应”可影响抗体鉴定以及交叉配血试验结果^[10-11],此次研究是在此基础上进一步研究抗-E阳性患者与Rh血型为CcDEE红细胞及Rh血型为ccDEE红细胞在不同方法学配血中存在漏检的情况。本次试验共收集到抗-E效价 \leq

8患者血浆标本11例,用凝聚胺法与Rh血型为CcDEE红细胞配血,仅1例阳性反应,10例呈假阴性反应;与Rh血型为ccDEE的O型红细胞配血,5例呈假阴性反应,2例凝集强度0.5+,4例呈阳性反应,2组间差异无统计学意义($P = 0.063$)。微柱凝胶卡式法与Rh血型为CcDEE红细胞配血,4例呈假阴性反应,与Rh血型为ccDEE红细胞配血均呈阳性反应,2组间差异无统计学意义($P = 0.214$), P 值偏大分析原因为标本量较少导致。需临床重视低效价抗-E阳性患者使用凝聚胺法,无论与Rh血型为ccDEE及CcDEE红细胞配血,都可能出现假阴性结果。2种方法与Rh血型为CcDEE红细胞配血假阴性率均高于Rh血型为ccDEE红细胞配血,微柱凝胶卡式法与Rh血型为ccDEE红细胞配血无假阴性情况发生。

3.4 交叉配血

“精准输血”是输血医学一直努力的方向,给临床输血患者提供准确有效的血制品也一直是输血医学研究的热点。文献报道,临床红细胞输注无效与红细胞输注次数相关,在输血次数 ≥ 3 患者中,输注无效的发生率明显增高^[12]。因试验方法灵敏度等诸多因素影响,意外抗体的漏检情况不可避免^[13],此次研究证实了既定条件下,抗-E效价 ≤ 8 的阳性患者配血会出现假阴性,可导致输血患者发生输血不良反应,是临床患者输血面临的重要风险。为更好地保障患者输血安全,笔者推荐临床实验室在遇见意外抗体阳性患者时,应准确做好意外抗体的鉴定工作,不具备抗体鉴定条件的实验室应交由具备检测条件的血站检测机构进行鉴定。准确鉴定抗体后,采用抗原抗体规避原则,在配血前使用标准血清对供者红细胞进行抗原滴定,选取抗原阴性供者红细胞进行交叉配血试验配合输注,不可盲目配血相合即输血。如临床缺少对应抗体滴定,基因检测的方法进行供血者筛选是一个不错的选择^[14]。也有学者提出电子配血应用于意外抗体阳性患者,可快捷精准地为输血患者提供有效的血制品^[15-16]。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 田冬冬,赵鼎,李志浩,等.罕见抗LW抗体自身免疫性溶血性贫血合并新生儿溶血病患者的输血策略[J].中国实验血液学杂志,2021,29(6):1935-1939.
- [2] 马筱洁,王儒彬,李强,等.147例Rh血型系统意外抗体致新生儿溶血病回顾性分析[J].临床血液学杂志,2021,34(2):102-104.
- [3] 孙红,马春娅,朱正荣,等.92例不规则抗体筛查弱阳性检测结果分析[J].临床血液学杂志,2019,32(8):609-611.
- [4] 张敏,孙浩然,李坚,等. AUTOVUE INNOVA全自动血型分析仪意外抗体筛查性能评价[J].临床血液

- 学杂志,2022,35(6):402-403,409.
- [5] 郭伟洁,刘泽雅,张凡,等. 中国献血人群意外抗体阳性率的 Meta 分析[J]. 临床输血与检验,2021,23(2):202-212.
- [6] 林军,戚小艳,王源. 输血患者及献血者红细胞血型同种不规则抗体发生频率的回顾性分析[J]. 中国输血杂志,2016,29(10):1156-1158.
- [7] 宋奥微,马婷,杨江存. 31858 例住院患者不规则抗体筛查及抗体鉴定结果分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2019,35(2):169-173.
- [8] 李慧,徐焕铭,张毅,等. 输血前患者不规则抗体筛查及鉴定结果分析[J]. 中国实验血液学杂志,2015,23(3):861-865.
- [9] 郭长义,宋雪冬,宋任浩. 5 种不规则抗体筛查方法的检测阈值比较[J]. 临床血液学杂志,2014,27(12):1042-1044.
- [10] 何屹,文韬,袁红. 剂量效应对输血相容性检测影响研究[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(19):2381-2384.
- [11] 熊玉琪,邹昕,虞茜,等. 剂量效应在不规则抗体鉴定的应用分析——附 1 例报告[J]. 临床血液学杂志,2022,35(8):592-594.
- [12] 李志静. 红细胞输注无效的原因与安全输血[J]. 中国输血杂志,2017,30(4):381-383.
- [13] 李海云. 筛选细胞检测低效价不规则抗体漏检原因探讨[J]. 中国输血杂志,2018,31(11):1303-1305.
- [14] 王鹤,章旭. 红细胞血型基因分型技术在疑难配血中的应用[J]. 临床输血与检验,2018,20(2):189-190.
- [15] Arslan O. Electronic crossmatching[J]. Transfus Med Rev,2006,20(1):75-79.
- [16] 朱霞蔚,卢根杰,陈科达,等. 精准电子交叉配血技术临床应用价值探讨[J]. 中国卫生检验杂志,2019,29(12):1453-1455.
- (收稿日期:2022-09-23)
(本文编辑:阮方)

(上接第 244 页)

- [11] 杨帆,杨国军,杨哲. 北京地区 3 139 例首发脑出血患者流行特征及预后情况分析[J]. 华南预防医学,2022,48(1):46-49,54.
- [12] Wang X, Wang Z, Li B, et al. Prognosis evaluation of universal acute coronary syndrome: the interplay between SYNTAX score and ApoB/ApoA1 [J]. BMC Cardiovasc Disord,2020,20(1):293.
- [13] 王宏宇,付茜,苏福祥. 载脂蛋白 B/载脂蛋白 A1 比值与急性冠脉综合征患者冠状动脉多支病变及斑块易损性的相关性[J]. 中国医科大学学报,2022,51(7):577-582.
- [14] 张丽娟,胡莉华,靳志涛,等. 载脂蛋白 B 与载脂蛋白 A1 比值与急性冠状动脉综合征患者冠状动脉病变程度及预后的相关性[J]. 中国心血管病研究,2020,18(8):747-751.
- [15] 郭清保,杨彦龙,史正华,等. 血浆 D-二聚体、HBP 表达与高血压脑出血术后颅内感染及预后的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(10):1901-1903.
- [16] 钱程行,方欢,崔明,等. 老年高血压基底节区脑出血患者微创术后短期预后的危险因素分析[J]. 国际外科学杂志,2022,49(4):262-266.
- [17] Reynoso-Villalpando GL, Sevillano-Collantes C, Valle Y, et al. ApoB/ApoA1 ratio and non-HDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio are associated to metabolic syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus subjects and to ischemic cardiomyopathy in diabetic women [J]. Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed), 2019,66(8):502-511.
- [18] Alsamani R, Limin Z, Jianwei W, et al. Predictive value of the apolipoprotein B/A1 ratio in intracerebral hemorrhage outcomes [J]. J Clin Lab Anal, 2022, 36(7):e24562.
- [19] Feng H, Wang X, Wang W, et al. Association Between Non-high-density Lipoprotein Cholesterol and 3-Month Prognosis in Patients With Spontaneous Intracerebral Hemorrhage [J]. Front Neurol, 2020, 11:920.
- (收稿日期:2022-10-19)
(本文编辑:叶莎)