

微柱凝胶法配血次侧凝集在临床的应用

冯红梅¹, 杨小蓉¹, 吴妹娟², 余佩芝¹ (广东药学院附属第一医院: 1. 检验科; 2. 口腔科, 广州 510080)

【摘要】 目的 通过对微柱凝胶法配血次侧凝集患者的生化指标及病程分析, 探讨其在临床中的价值。**方法** 把 27 例微柱凝胶法配血仅是次侧凝集而血型鉴定无误、抗筛阴性的患者作为试验组, 35 例同类型疾病但配血主次侧均相合的患者作为患者对照组; 20 例健康者作为健康对照组, 回顾分析其血中尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、C-反应蛋白(CRP)、B-型脑尿钠肽(BNP)的含量, 并进行合并症和病死率的统计。**结果** 27 例次侧凝集的患者中有肺部感染者占了 77.8%。试验组 BUN、Cr、CRP、BNP 阳性率分别是 85.2%、55.6%、96.3%、88.9%, 与患者对照组及健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$); 试验组 BUN、Cr、CRP、BNP 含量平均水平分别是 (16.55 ± 8.02) mmol/L、 $(177.7 \pm 165.1) \mu\text{mol/L}$ 、 $(71.54 \pm 61.89) \text{mg/L}$ 、 $(864.15 \pm 1162.33) \text{pg/mL}$, 除 Cr 与患者对照组比较差异无统计学意义外, 其他指标与患者对照组及健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。试验组与患者对照组病死率分别是 66.7% 和 14.3%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 微柱凝胶法配血次侧凝集提示患者病程严重, 次侧凝集可以作为判断病程预后的一个指标。

【关键词】 微柱凝胶法; 次侧凝集; 尿素氮; 肌酐; C-反应蛋白; B-型脑尿钠肽

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.05.014 文章标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)05-0540-02

Clinical application of minor agglutination appeared in cross-matching by microtubes-gel test FENG Hong-mei¹, YANG Xiao-rong¹, WU Mei-juan², YU Pei-zhi¹ (1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Stomatology, First Affiliated Hospital, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

【Abstract】 Objective To find out the clinical value of the minor agglutination appeared in the cross-matching by the microtubes-gel test(MGT) through analyzing the biochemical indicators and the illness course in the patients with minor agglutination. **Methods** 27 patients with minor agglutination, correct blood grouping in the cross-matching and negative results by MGT in this hospital during 2011 were selected as the test group. Contemporaneous 35 patients with the same illness and the normal results in cross-matching by MGT were selected as the control group and 20 healthy individuals as the healthy control group. Blood urea nitrogen(BUN), creatinine(Cr), C reaction protein (CRP) and B brain natriuretic peptide(BNP) contents were retrospectively analyzed. Complications and the death rate were statistically analyzed. **Results** 27 case-times of minor agglutination showed pulmonary infection, accounting for 77.8%. The positive rates of BUN, Cr, CRP and BNP in the test group were 85.2%, 55.6%, 96.3% and 88.9% respectively. Compared with the patient control group and the healthy control group, the differences in these indexes showed statistical significance($P < 0.05$). The average levels of BUN, Cr, CRP and BNP in the test group were $(16.55 \pm 8.02) \text{mmol/L}$, $(177.7 \pm 165.1) \mu\text{mol/L}$, $(71.54 \pm 61.89) \text{mg/L}$ and $(864.15 \pm 1162.33) \text{pg/mL}$. Compared with the patient control group and the healthy control group, the differences except Cr showed statistical significance($P < 0.05$). The death rates in the test group and the patient control group were 66.7% and 14.3% respectively with statistical difference between them($P < 0.05$). **Conclusion** The minor agglutination appeared in the cross-matching by the microtubes-gel test prompts the severe illness course, which can be used as an index for judging the prognosis of the course.

【Key words】 microtubes-gel test; minor agglutination; urea nitrogen; creatinine; C reaction protein; B brain natriuretic peptide

微柱凝胶法配血是从国外引进的一项较先进的配血技术, 在国外已在输血前检查中常规使用^[1]。此法将经典的抗人球蛋白试验与先进的判读方法有机地结合成一体, 可检测出血清中的不完全抗体, 有标本用量少、灵敏度高、特异性强、操作简便、结果可长期保存等优点, 因而得以在实验室中广泛地推广。由于其灵敏度高, 有学者发现其灵敏度较凝聚胺法高 1~5 个效价, 比传统试管法要高出 2~7 个效价^[2]。因此在配血过程中也常出现其他配血方法少有的仅仅是次侧出现凝集的阳性结果。本文探索这类阳性结果与患者病程的关系, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般材料 试验组(次侧凝集患者): 为微柱凝胶法配血

仅是次侧凝集而血型鉴定无误, 抗筛阴性的患者 27 例, 男 14 例、女 13 例; 年龄 38~92 岁, 平均 73.5 岁, 剔除供血者因素。患者对照组(主次侧均相合患者): 为同类型疾病但配血主次侧均相合的患者 35 例, 男 16 例、女 19 例; 年龄 27~93 岁, 平均 65.4 岁。两组患者均为本院 2011 年 5 月至 2012 年 4 月住院患者。健康对照组: 20 例, 其中男 11 例、女 9 例; 年龄 26~56 岁, 平均 36.2 岁。27 例次侧凝集的患者中, 心脑血管疾病或脑梗死后遗症 9 例, 白血病或恶性肿瘤 8 例, 重症肺炎 6 例, 其他 4 例。

1.2 检测方法 配血方法: 微柱凝胶法; 仪器与试剂由珠海市保瑞达贸易有限公司提供。尿素氮(BUN): 采用脲酶 UV 法;

试剂由利德曼公司提供;参考值为 1.7~8.3 mmol/L。肌酐(Cr):采用肌氨酸氧化酶法;试剂由日本世诺临床诊断制品株式会社提供;参考值为 35~115 μ mol/L。C-反应蛋白(CRP):采用胶乳免疫比浊法;试剂由积水医疗株式会社提供;参考值为 0~3 mg/L。BUN、Cr、CRP 都是采用同一仪器:日立生化分析仪(HITACHI)。B-型脑尿钠肽(BNP):采用 L 微粒子酶联免疫检测法;试剂和仪器均由雅培贸易(上海)有限公司提供;参考值为 0~100 pg/mL。

1.3 统计学方法 数据采用 SPSS16.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析,率的比较采用方差检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 27 例次侧凝集的患者,大部分都有合并症。其中有肺部感染占了 77.8%。试验组和患者对照组病死率分别是 66.7%和 14.3%,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 以参考值为临界值,超过临界值的记作阳性。试验组阳

性例数:BUN 23 例、Cr 15 例、CRP 26 例、BNP 24 例。患者对照组阳性人数:BUN 13 例、Cr 8 例、CRP 26 例、BNP 15 例。健康对照组 BUN、Cr、BNP 阳性者为 0,只有 2 例 CRP 阳性。3 组 BUN、Cr、CRP、BNP 阳性率见表 1。

表 1 3 组 BUN、Cr、CRP、BNP 超出参考值的比例(%)

组别	n	BUN	Cr	CRP	BNP
试验组	27	85.2*#	55.6*#	96.3*#	88.9*#
患者对照组	35	37.1#	22.9#	74.3#	42.9#
健康对照组	20	0.0	0.0	10.0	0.0

注:与患者对照组比较,* $P<0.05$;与健康对照组比较,# $P<0.05$ 。

2.3 3 组 BUN、Cr、CRP、BNP 检测结果比较见表 2。试验组除 Cr 与患者对照组比较差异无统计学意义外,其他几项指标与患者对照组、健康对照组相比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 3 组 BUN、Cr、CRP、BNP 检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	CRP(mg/L)	BNP(pg/mL)
试验组	27	16.55 $\pm$ 8.02*#	177.7 $\pm$ 165.02#	71.54 $\pm$ 61.89*#	864.15 $\pm$ 1162.33*#
患者对照组	35	7.93 $\pm$ 5.59#	143.4 $\pm$ 170.26	31.66 $\pm$ 56.15#	328.82 $\pm$ 1078.12
健康对照组	20	4.37 $\pm$ 0.69	68.7 $\pm$ 13.45	1.21 $\pm$ 1.23	39.23 $\pm$ 66.18

注:与患者对照组比较,* $P<0.05$;与健康对照组比较,# $P<0.05$ 。

3 讨论

3.1 微柱凝胶配血法是一种敏感度较高的配血方法,该方法不单对不规则抗体的检出率高,在次侧配血结果中阳性率也比其他方法高。次侧配血是患者 RBC 加供者血清,本试验已剔除了供者和操作上的影响因素。虽然有学者认为其为假阳性,对配血本身意义不大,因为此种试验结果并不代表该患者输注此袋血会发生红细胞凝集破坏^[3]。但通过本试验证实其阳性与患者的病程有很大的关系,可以作为一个判断病程严重程度及预后不良的指标。27 例次侧凝集的患者中没有 BUN、Cr、CRP、BNP 4 个项目同时阴性的患者。其中有肺部感染的占了 77.8%,BUN、Cr、CRP、BNP 升高率分别是 85.2%、55.6%、96.3%、88.9%。这说明了该类患者有多种并发症,多脏器损伤。BUN、Cr 是肾功能的常规检测项目。血中 BUN 来源于肝脏,通过肾脏随尿排出体外。测定血清中 BUN 可推测肾脏排泄功能,肾衰竭、肾炎、肾盂肾炎等都会升高。Cr 是在肌肉、神经内通过磷酸肌酸直接生成或肌酸的脱水生成,并经肾脏而排出体外的一种体内代谢物质。肾脏功能损伤等可引起血中 Cr 上升。BUN、Cr 通常能较好地反映出肾脏的优劣状态,升高表明肾功能受到损害。在反映肾小球滤过功能上,BUN 的特异性与敏感性均不如 Cr。但在如严重脱水、心力衰竭等导致的血容量不足、肾血流量减少所致肾前性肾衰竭时,BUN 升高,Cr 升高不明显^[4]。本研究试验组和患者对照组 Cr 差异也无统计学意义。BNP 是心肌细胞分泌的一类激素,可用于心功能的评价,在心力衰竭(简称心衰)的诊断、筛查、预后及指导治疗方面已被广泛应用。许多危重症导致的心房扩张、心室壁压力增加等均可引起血浆 BNP 水平升高^[5]。近十几年来发现除心衰外的其他心脏危重症(如急性冠脉综合征、严重心律失常)及许多非心脏系统的危重症(呼吸系统疾病、脑血管疾病以及脓毒症等)患者的 BNP 水平也明显升高。其原因可能是危重

患者中广泛存在心功能异常和心肌损伤^[6]。CRP 是一种急性时相反应蛋白,升高反映体内炎症处于急性活动期。在损伤的 6~8 h 内迅速升高,12~24 h 达高峰,且几乎与炎症和组织损伤程度呈正比。当病理状态恢复时,CRP 浓度也下降^[6]。试验组 CRP 阳性率高达 96.3%,说明该组患者大部分都处于感染状态,如肺部感染就占了很大的比例。

3.2 从试验结果可知,次侧凝集这类患者病情严重,死亡率高。原因可能是这类患者年龄比较大,所患的心脑血管疾病、脑梗死后遗症、白血病、恶性肿瘤等都是慢性病。患者久卧病床,免疫力低下,内脏功能衰退,故易并发肺部感染,泌尿道系统感染和褥疮等。而严重的感染常伴随循环血量不足,内毒素可破坏微血管导致多器官处于低灌注状态,各器官低灌流可使原有功能减退的器官发生衰退,肾脏最易受损。如肾脏灌注不足持续存在,则可导致肾小管坏死,发展为器质性肾衰竭。引起 BUN、Cr 排出减少,致血 BUN、Cr 增高。肾衰竭又使脑水肿及颅内压增高进一步加重,使脑血管病患者病情加重。炎症介质分泌、肾小球滤过功能下降、下丘脑缺血、内毒素血症、低氧血症等又可能诱发心脏病的发生,使 BNP 升高。心功能不全是严重感染和感染性休克常见的并发症及死亡危险因素之一^[7]。肾脏和心脏两器官有着重要的相互协调作用,其中一个器官的功能障碍通常会导致另一个器官的功能下降^[8]。有研究显示,慢性肾脏病患者心血管病的发生率为健康人群的 20 倍,且病死率高,占到了终末期肾脏病患者死亡原因的 40%以上^[9]。严重急性心衰患者因心排量减少,肾脏血液灌注急剧减少反馈地又加速肾脏的恶化,造成肾前性急性肾功能不全甚至肾衰竭。肾功能不全是慢性心力衰竭(CHF)常见的并发症。在美国,约 25%的 CHF 患者出现肾功能不全^[10]。如此反复恶性循环,如不及早干预会导致病程越来越严重。

3.3 微柱凝胶法配血次侧不合的原因可能是(下转第 544 页)

接Ⅱ法。

3.4 在 156 株阳性菌中,抑菌环小于 7 mm 的有 88 株,占 56.4%(88/156),这部分菌株用直接法往往因抑菌环直径太小而影响结果观察,须借助间接法才能获得最终结果。这也是直接法阳性检出率偏低和部分结果不能判定的主要原因之一。在试验过程中发现间接Ⅰ法受 MH 琼脂存放时间的影响较大,存放时间越长水分丢失越多,会使切割线不易自然合拢而影响药物扩散,易出现假阳性。间接Ⅱ法则有效避免了这种因素的影响,提高了试验的准确性。在试验过程中就发现有 3 株间接Ⅰ法阳性而间接Ⅱ法阴性的标本,用新制备的 MH 琼脂进行复检,证实为假阳性。

3.5 在操作过程中,间接Ⅰ法要注意切线离 FOX 纸片不能太远,一般以 2.5~3.5 mm(平均 3 mm)为宜^[7],否则会引起抑菌环变形不明显,将阳性菌株判为可疑,可疑菌株则会漏检。这也是间接Ⅰ法阳性检出率较间接Ⅱ法略低,可疑菌株及结果不能判定菌株较间接Ⅱ法高的主要原因。间接Ⅱ法切线距 FOX 纸片 1~2 mm(平均 1.5 mm)为宜,保证有较长一段试验菌切线在抑菌环内,使阳性结果更易观察。由于间接Ⅱ法操作更方便、影响因素较少、结果易判断、检出率较高,所以是一种比较理想的筛选方法。

另外,国内外文献报道,即使抑菌环发生细微的变形,也要考虑质粒 AmpCs 的可能,这部分菌株可能是质粒 AmpCs 的低产量株^[8-9],应引起关注。

参考文献

- [1] 田磊,李莉,张蓓,等.阴沟肠杆菌产 AmpC 酶与 ESBLs 的研究[J].中华医院感染学杂志,2009,19(15):1941-1943.
- [2] 史利宁,张慧,邵海枫,等.泛耐型鲍曼不动杆菌耐药机制

的探讨[J].临床检验杂志,2008,26(5):327-330.

- [3] 张淑芳,吴多荣,张应爱,等.老年患者大肠埃希菌产质粒 AmpC 酶基因型特点及耐药性分析[J].中国老年学杂志,2010,30(16):2254-2257.
- [4] 李从荣,黄俊,吕霞,等.产质粒介导 AmpC 酶肺炎克雷伯菌流行基因型及传播机制的研究[J].现代检验医学杂志,2007,22(3):45-48.
- [5] 刘强,张蕾蕾,张红梅,等.鲍氏不动杆菌产 AmpC 酶的检测与耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2010,20(23):3776-3778.
- [6] Bou G, Oliver A, Ojeda M, et al. Molecular characterization of FOX-4, a new AmpC-type plasmid-mediated beta-lactamase from an Escherichia coli strain isolated in Spain[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(9):2549-2553.
- [7] 王赛芳,潘钦石,周铁丽,等.肺炎克雷伯菌超广谱 β -内酰胺酶和 AmpC 酶基因检测及耐药性分析[J].中国微生态杂志,2006,18(6):474-476.
- [8] 林珠峰,黄德稳.阴沟肠杆菌 AmpC 酶的检测及耐药性分析[J].海峡药学,2009,21(11):78-80.
- [9] Pfaller MA, Jones RN, MYSTIC Study Group(Europe). Antimicrobial susceptibility of inducible AmpC beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Programme, Europe 1997-2000[J]. Int J Antimicrob Agents, 2002, 19(5):383-388.

(收稿日期:2012-08-15 修回日期:2012-11-30)

(上接第 541 页)

严重的甚至是终末期的疾病改变了正常的红细胞表面的抗原;或分泌了某种物质吸附于红细胞表面;或多次反复输同种异体血,导致血浆中的蛋白质(包括 Ig、补体)等非特异性地吸附到红细胞表面,使患者的红细胞被致敏,而微柱凝胶试验法的柱中试剂内含有抗 IgG、C3 的溶液,它可以与人红细胞上的 IgG 及补体结合,在体外发生凝集。也有学者认为其主要原因是红细胞表面发生了一些变化,在红细胞表面存在药物抗体吸附,血浆蛋白比值倒置引起的蛋白吸附,或是在长期疾病治疗状态下改变了正常的红细胞表面表达,使得在试验室配血过程中与试剂中含有抗 IgG、C3 溶液发生反应^[11]。

总之,次侧凝集这类患者并发症多,病情严重,病死率高。次侧凝集可以作为一个危险的指标,提示患者病情预后不良。所以,当遇到配血次侧有凝集时,要结合临床综合分析,引起重视,对并发症及早干涉,以降低病死率。

参考文献

- [1] Labgston MM, Proctel JL, Cipolone KM, et al. Evaluation of the gel system for ABO grouping and D typing[J]. Transfusion, 1999, 39(3):300-305.
- [2] 兰炯采,负中桥,陈静娴,等.输血免疫血液学实验技术[M].北京:人民卫生出版社,2011:123.
- [3] 熊燕.微柱凝胶配血假阳性结果的分析与处理[J].现代检验医学杂志,2006,21(6):100-101.

- [4] 丛玉隆,尹一兵,陈瑜,等.检验医学高级教程[M].北京:人民军医出版社,2011:710.
- [5] Hama N, Itoh H, Shirakami G, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction[J]. Circulation, 1995, 92(6):1558-1564.
- [6] 汤蓓.C 反应蛋白在急性冠脉综合征预后评判中的价值[J].心脑血管病防治,2004,4(4):23-25.
- [7] 赵慧颖,安友仲,刘方.B 型利钠肽对严重感染及感染性休克患者预后的预测作用[J].中国危重病急救医学,2009,21(5):293-295.
- [8] 严瑾,陈朝轩,戴伟良.BNP 在慢性肾衰竭并发心血管疾病患者中的临床应用价值[J].国际医药卫生导报,2009,15(22):82-84.
- [9] 刘婧,孙倩美.脑钠肽与慢性肾脏病患者心血管疾病关系的研究进展[J].中国血液净化,2008,7(1):38-41.
- [10] Hillege HL, Nitsch D, Pfeffer MA, et al. Renal function as a predictor of outcome in a broad spectrum of patients with heart failure[J]. Circulation, 2006, 113(5):671-678.
- [11] 唐长玖,王华,李瑞云,等.微柱凝胶配血次侧不合 17 例临床分析[J].中国输血杂志,2005,18(1):61.

(收稿日期:2012-08-15 修回日期:2012-11-21)