

微柱凝胶法检测不规则抗体的临床应用研究

李长浩(首都医科大学附属北京同仁医院输血科,北京 100730)

【摘要】 目的 探讨微柱凝胶法检测不规则抗体的临床应用价值和意义。方法 选取该院 2010 年 1 月至 2013 年 1 月申请输血的住院患者 29 873 例,采用微柱凝胶法对受血者进行不规则抗体筛查以及抗人球蛋白试验,并对筛查阳性标本进行抗体特异性鉴定。结果 不规则抗体筛查结果显示,在有输血史或妊娠史的患者血清中抗体阳性率为 90.2%(92/9 123),无输血史或妊娠史的患者为 9.8%(10/20 750),两者相比差异有统计学意义($P < 0.05$);DAT 检测结果显示:有输血史或妊娠史患者的 DAT 阳性率与无输血史或妊娠史的患者相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。交叉配血结果显示,大多数患者出现交叉配血主要是主侧聚集。主侧聚集的 DAT 阳性率与次侧聚集相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。抗体特异型鉴定结果显示:Rh-hr 血型系统出现抗体阳性率为 20.59%。102 例患者共检测出 45 例特异型抗体,占 44.11%。有无输血史或妊娠史患者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 微柱凝胶法应用到抗体筛查时灵敏度高,结果准确,且省时省力,弥补了传统方法的不足,具有重要的临床应用价值和意义。

【关键词】 微柱凝胶法; 不规则抗体; 检测

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.21.041 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)21-3040-03

抗体筛查的意义在于能够发现不规则的抗体,保证患者输血过程中因血型交叉配合问题而出现输血反应。不规则抗体主要是抗 A、抗 B 以外的血型抗体,多为抗人免疫球蛋白(Ig)G 抗体,这些抗体可以引起交叉配血困难或者迟发性溶血性输血反应,轻者会出现寒战、发热,少尿或者无尿等,严重者会出现死亡^[1]。输血前抗体的筛查减少了患者因输血引起的溶血性反应,保证了临床输血安全。微柱凝胶法技术是近年来用于不规则抗体的临床筛查的普遍方法。作者回顾分析本院 2010 年 1 月至 2013 年 1 月 29 873 例采用微柱凝胶法进行输血前不规则抗体筛查的患者临床资料,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2010 年 1 月至 2013 年 1 月 29 873 例申请输血患者。其中男 14 875 例,女 14 998 例,年龄 1~86 岁;有输血史或妊娠史的患者 9 123 例,无输血史或妊娠史的患者 20 750 例。所有受血者采集的血样标本乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血 3~5 mL,供血者标本由血袋连接血瓶中留取。

1.2 仪器与试剂 采用的仪器是 ID-Centrifuge2SII、ID-Incubator37SI 微柱凝胶工作测试系统、恒温孵育器与专用离心机购于强生公司,微柱凝胶检测卡(抗 A、抗 B、抗 D、A 型红细胞、B 型细胞、Cit 管)、抗体筛选细胞由达亚美(Di-amed)公司提供,抗人球蛋白试剂、人 ABO 血型、Rh 血型反定型细胞试剂由上海血液生物医药有限公司提供,聚凝胺试剂由台资珠海贝索生物技术有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 不规则抗体的筛查与鉴定^[2] 取出微柱凝胶抗人球蛋白检测卡,标记 I、II、III。向孔中加入抗体筛查细胞悬液 50 μ L 以及患者血浆 25 μ L,置于 37 $^{\circ}$ C 孵育器中孵育 15 min 后,1 500 r/min 离心 5 min,观察结果。结果判定:以 100% 的红细胞全部沉于微柱凝胶管底部为阴性;在微柱管上部出现红细胞者为阳性。对检测出现阳性的患者血浆需进一步对其抗体特异性进行鉴定。

1.3.2 直接抗人球蛋白试验(DAT)^[3] 将微柱凝胶法检测

出的抗体阳性患者的红细胞用生理盐水洗涤 3 次,吸干试管边缘的水分,加入抗人球蛋白血浆 2 滴,以 3 000 r/min 离心 30 s 后,出现凝集的为阳性,未出现凝集的为阴性。同时设置阴性与阳性对照组,其中阴性对照组为 2 滴人抗 D 血清加 2 滴 RhD 阴性压积红细胞或 2 滴 AB 型血清加 2 滴 RhD 阳性压积红细胞;阳性对照组为 2 滴人抗 D 血清加 2 滴 RhD 阳性压积红细胞,混匀后 37 $^{\circ}$ C 孵育 0.5 h,用生理盐水洗涤 3 次,吸干试管边缘的水分,加入抗人球蛋白血清 2 滴,以 3 000 r/min 离心 30 s 后观察结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料以率表示,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 不规则抗体筛查结果 29 873 例患者中出现不规则抗体阳性的患者有 102 例(0.34%),其中男性患者中出现的抗体阳性率为 54.9%(63/14 875),女性患者为 45.1%(46/14 998),两者差异无统计学意义($P > 0.05$);在有输血史或妊娠史的患者血清中抗体阳性率为 90.2%(92/9 123),无输血史或妊娠史的患者为 9.8%(10/20 750),两者相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 DAT 检测结果 102 例不规则抗体阳性患者发现 DAT 阳性率降低。其中男性患者 DAT 阳性率与女性患者相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);有输血史或妊娠史患者的 DAT 阳性率与无输血史或妊娠史的患者相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。交叉配血结果显示,大多数患者出现交叉配血主要是主侧聚集。主侧聚集的 DAT 阳性率与次侧聚集相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 抗体特异型鉴定 102 例患者待微柱凝胶法检测出阳性抗体后,继续进行特异型抗体的鉴定,结果显示 Rh-hr 血型系统中出现不规则抗体主要是抗-C、抗-D、抗-E、抗-c、抗-e 等,该系统出现抗体阳性率为 20.59%。首次发现住院患者有抗-JK^a 以及抗-Fy^a。102 例患者共检测出 45 例特异型抗体,占 44.11%。其他患者可能是由于环境、自身免疫等情况出现微

柱凝胶法检测阳性。有无输血史或妊娠史患者比较,差异有统计学意义($\chi^2=9.71, P<0.05$)。见表 2。

表 1 DAT 检测结果[n(%)]

项目	n	DAT 阳性	交叉配血结果	
			主侧聚集	次侧聚集
男	56	54(52.9)	49(48.0) Δ	6(5.9)
女	46	33(32.4)	28(27.5) Δ	5(4.9)
有输血史或妊娠史	92	84(82.4)*	77(75.5) $\Delta\Delta$	7(6.9)
无输血史或妊娠史	10	4(3.9)	4(3.9) Δ	0(0.0)

注:与无输血史或妊娠史患者比较,* $P<0.01$;与次侧聚集比较, $\Delta P<0.05, \Delta\Delta P<0.01$ 。

表 2 抗体特异型鉴定结果(n 或 %)

血型系统	抗体	n	男 女		无输血史或妊娠史	有输血史或妊娠史	所占比例 (%)
			男	女			
Rh-hr	抗-C	1	0	1	1	0	0.98
	抗-D	3	2	1	0	3	2.94
	抗-E	14	10	4	2	12	13.73
	抗-c	2	0	2	1	1	1.96
	抗-e	1	1	0	0	1	0.98
Kidd	抗-JK ^a	1	1	0	0	1	0.98
Duffy	抗-Fy ^a	1	0	1	1	0	0.98
Lewis	抗-Le ^a	2	1	1	1	1	1.96
	抗-Le ^b	1	0	1	0	1	0.98
MNSs	抗-M	16	7	9	5	11	15.69
	抗-s	3	1	2	2	1	2.94
合计		45	23	22	13	32	44.11

3 讨 论

血型抗体可引起配血困难以及免疫性溶血性输血反应^[4]。如熊猫血(Rh 血型系统),由于该种血型与正常的 ABO 血型系统不一样,而且这种血型系统的患者世界出现的比例较少,当患者因外界因素及自身原因大出血需要输血时,会发生配血困难;Kidd 血型系统出现的情况一直鲜为报道,而近几年发现该血型系统出现的概率大大增加。上述特异性抗体 Kidd 血型系统在本院是首例。Rh 血型系统在所有受试者中大约占 0.007 0%(21/29 873),这与当下流行病学的报道几乎一致。需要提出的是,该种血型患者在日常的生活和工作中需要注意安全,尽量避免不必要的输血活动。虽然通过大样本的调查受血者的血清不规则抗体的检测,发现不规则抗体阳性率不算特别高(占 0.34%)但是一旦出现输血反应,极易危及受血者的生命。因此,输血前的抗体筛查是非常有必要的。对于患者进行不规则抗体的筛查有助于患者血液的选择,更是为了患者的生命安全着想。临床上选择含有不针对某种抗体的相应抗原的血液,从而防止因为输注含有某种抗体相应抗原的血液而引起溶血性输血反应,保证输血安全。

在检测的不规则抗体阳性以 Rh 血型系统出现较多。目前 RhD 的抗原检测已被大多数医院作为常规检查项目,有文献^[5]指出 RhD 配合性输血已经得到广泛的认可,可以将危险

系数降低到最小。RhE、C、c、e 阴性患者在未出现同型血输入时,会产生抗-E、抗-C、抗-c、抗-e,其发生的概率较大。同样这些抗体在患者血清中会造成迟发性输血反应^[6]。例如,首次输血不会出现溶血现象,再次输血会出现严重的溶血现象。溶血会导致死胎、新生儿黄疸等现象。本试验中检查到 Rh 血型系统在整个检查样本中占有一定比例,是值得注意的临床问题。此外,政府部门也应组织建立起 Rh 血型系统献血队伍,即具有 Rh 血型系统的人员献血,这不仅仅是救人,更是自救。在试验中发现 RhE 的检测数量相对于 RhD 检测数量要多,但目前没有将 RhE 作为临床普遍的治疗诊断标准,原因主要是该类血型抗原还未找到合适的外界抗体亦或者试验条件限制等原因。

临床上在输血时遵循同型输血的原则,而“同型血”的意思就是 ABO 血型系统和 Rh 血型系统相同,其他红细胞血型系统未必相同。传统的采用交叉配血或者盐水介质配血,往往检查不出 ABO 血型系统以外的抗体,也就是临床上所说的不规则抗体^[7]。不规则抗体即不符合 ABO 血型系 Landsteiner 法则的血型抗体,也就是抗 A、抗 B 以外的血型抗体^[8]。有的交叉配血往往检查出来的是 IgM 抗体,不能检测出 IgG 相关蛋白。ABO 血型系统有些亚型,变异型抗 A 或某种抗 B 等抗体,临床上也称之为不规则抗体,其中多为 IgG 抗体^[9],也有 IgM 抗体。这些抗体的产生主要是经输血或妊娠等免疫刺激得到,其在盐水介质中不能凝集而只能致敏相应抗原的红细胞,这些抗体必须通过特殊介质(如酶、抗人球蛋白等)才能使致敏红细胞出现凝集反应^[10]。微柱凝胶法技术对于检测不规则抗体的灵敏度较高,方法也较为准确,相对交叉配血试验其准确度高很多。

根据相关文献报道,不规则抗体在健康人群中出现的可能性为 0.2%~2.5%。目前,对于不规则抗体的检测大多是在一些大的城市医疗体系才较为完备,在一些乡镇医院中往往不具备这样的设备和条件,很容易引起溶血性输血反应。患者如果不及时抢救,将会危及生命^[11]。因此,笔者建议输血前需要进行不规则抗体的检测,为临床输血提供安全保证。在本研究中发现,有过输血史或者妊娠史的患者出现不规则抗体阳性的概率要大。往往输血后患者免疫系统产生对不同于自身免疫系统相关物质的排斥作用,再下一次输血或者手术原因输血导致溶血现象。另外还发现男性患者多于女性,这与当初的预料结果有些偏差。因为妊娠史和输血史更易发生在女性患者身上。经分析本院大多数患者并不是来自于妇产科,因此样本量上的差异也可能是导致结果出现差异的原因。

本试验是 DAT 检测红细胞表面是否表达致敏相关的 Ig 或者补体的一种方法,常常作为自身免疫性溶血性贫血的诊断指标^[12]。但是由于引起患者红细胞表面 DAT 阳性的影响因素较多,如自身免疫系统疾病、癌症、药物因素等都会对 DAT 的检测结果造成一定的影响^[13]。本研究采用两种方法结合的方式,目的是为能更好地检测出不规则抗体阳性情况,以便更好服务医疗体系以及更好地保证患者的安全。通过 DAT 检测结果显示,102 例不规则抗体阳性患者发现 DAT 阳性率降低。微柱凝胶法技术是近几年来逐渐兴起的一种血型血清学技术,该技术的基本原理是利用微柱凝胶的微孔过滤作用及免疫化学抗原抗体特异反应,通过离心技术将发生了凝集反应的红细胞阻滞于凝胶之内,而未凝集的单个红细胞则穿过微孔透

动至柱底,从而区分有无凝集。该技术在国内外已经得到普遍的发展并用于临床检测不规则抗体。与传统的凝聚胺法相比存在以下优点^[14-15]:(1)微柱凝胶法以经典的抗球蛋白试验为基础,灵敏度和准确度相对较高;(2)微柱凝胶法检测结果稳定性好,重复性好,技术容易掌握,尤其是不同人员的操作结果一致,避免了人为因素干扰;(3)微柱凝胶法标本用量少,对烧伤患者以及其他标本量少的患者非常有利,其结果可以保存甚至还可以拍照存档以便核对。

综上所述,微柱凝胶法技术对于检测不规则抗体的临床检测灵敏度高,准确性好,且操作简便易行,值得临床推广应用。

参考文献

[1] 鲁君艳,姜志刚,谭正芳,等.输血前不规则抗体筛查与直接抗人球蛋白试验的意义[J].国际检验医学杂志,2013,34(2):234-235.

[2] 周婷.不规则抗体筛检在输血中的临床意义[J].中国实用医药,2011,6(12):46-47.

[3] 李金,何燕,李秀红.红细胞血型不规则抗体筛检在临床输血中的意义[J].宁夏医科大学学报,2011,33(11):1077-1078.

[4] 吴会红,张志哲,李日华,等.15312例备血患者不规则抗体筛查结果分析[J].检验医学与临床,2013,10(5):583-584.

[5] 范金波,李海平,刘久波.8967例手术前备血及受血者不规则抗体检测结果分析[J].临床输血与检验,2011,13(2):155-157.

[6] 马淑红,鲁岚.微柱凝胶法在不规则抗体中的应用[J].贵阳中医学院学报,2012,34(6):93-94.

[7] 李杰.孕妇及受血者输血前用免疫微柱凝胶法进行不规则抗体筛查的结果分析[J].检验医学与临床,2012,9(19):2469.

[8] 杨莹.2650例受血者不规则抗体筛选结果分析[J].实验与检验医学,2013,31(1):93.

[9] 曹荣祯,刘风华,于洪敏.微柱凝胶法检测不规则抗体的临床应用[J].临床输血与检验,2010,12(2):149-151.

[10] 王瑛,乔艳红,关波.微柱凝胶检测不规则抗体临床研究[J].中国现代药物应用,2011,5(3):38-39.

[11] Jeong WS. Unexpected red cell antibody detection by conditional combination of LISS/Coombs and NaCl/Enzyme gel tests at a tertiary care hospital in Korea: A 5-year study[J]. Blood Res,2013,48(3):217-221.

[12] Yu Y, Ma CY, Feng Q, et al. Establishment and performance assessment of preparation technology of internal quality control products for blood transfusion compatibility testing[J]. Exp Ther Med,2013,5(5):1466-1470.

[13] Wenqiang Lai, Dianping Tang, Xiaohua Que, et al. Enzyme-catalyzed silver deposition on irregular-shaped gold nanoparticles for electrochemical immunoassay of alpha-fetoprotein[J]. Anal Chim Acta,2012,755:62-68.

[14] 林国连,韩日成,詹奕荣,等.不规则抗体筛检在临床输血中的意义[J].河北医学,2011,17(11):1482-1485.

[15] 戴芳,李建武.微柱凝胶法在不规则抗体筛检中的应用[J].中国医药科学,2011,1(10):39-40.

(收稿日期:2014-03-12 修回日期:2014-06-12)

(上接第 3039 页)

[4] 乐杰.妇产科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:52-56.

[5] 张克坚,杨振华.应用 ROC 曲线图评价检验项目的临床准确性[J].江西医学检验,1999,17(2):66-68.

[6] 全松,陈东红.妊娠期高血压疾病与肾功能障碍[J].实用医学杂志,2006,22(23):2704-2705.

[7] 鲍永梅.妊娠高血压综合征患者超敏 C-反应蛋白水平变化的意义[J].临床合理用药杂志,2011,4(31):43-44.

[8] 彭海鹰,胡春玲.妊娠相关血浆蛋白 A 与妊娠高血压综合征关系的研究[J].成都医学院学报,2012,7(3):408-409.

[9] 侯涛,丘媚妮,唐乔飞,等.妊娠高血压综合征的相关因素分析[J].中国医药,2010,5(7):663-664.

[10] 钟声,周姣慧.妊娠高血压综合征实验检测指标研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2010(11):245-247.

[11] 陈哲.血清胱抑素 C 与妊娠高血压综合征患者妊娠不良结局的关系[J].湖北医药学院学报,2011,30(2):199-200.

[12] 李学华.尿转铁蛋白、 β_2 -微球蛋白和尿微量白蛋白在糖尿病肾病检测中的意义[J].局解手术学杂志,2011,20(1):53-54.

[13] 于正清,李礼,胡娟玉,等.糖化血红蛋白和尿转铁蛋白联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的临床价值[J].检验医学与临床,2013,10(11):1409-1410.

[14] 程广杰,周皓.妊娠高血压综合征相关危险因素临床分析[J].中国医药导报,2011,8(24):137-138.

[15] 刘辉,王伟明,左群.妊娠期高血压发病影响因素病例对照研究[J].中国公共卫生,2012,28(3):270-272.

[16] 胡蝶飞.MP 妊高征监测系统预测妊娠期高血压疾病的探讨[J].中国民族民间医药,2010,19(9):95-96.

[17] 徐广英,曾素清.重度妊娠高血压综合征的护理对策[J].护理实践与研究,2010,7(18):57-59.

[18] 陈简庆,黄永健,甄妙平.妊娠高血压综合征对远期高血压发生的影响[J].岭南心血管病杂志,2013,19(1):80-81,118.

[19] 宋平.妊娠期高血压的临床特点分析及对孕妇与围生儿的影响[J].中国医药指南,2013(11):455-456.

[20] 黄丽媛,芦文丽,孙忠.我国妊娠高血压综合征相关危险因素 Meta 分析[J].中国预防医学杂志,2012(3):225-227.

(收稿日期:2014-01-21 修回日期:2014-05-12)