

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.09.028

红细胞磁化技术用于献血者不规则抗体筛查的试验研究

曹 斌, 周国平, 郑 岚[△]
(上海市血液中心检验部 200051)

摘要:目的 探讨红细胞磁化技术(EMT)用于献血者不规则抗体筛查的可行性。方法 采用基于 EMT 的柯利斯全自动血型系统结合间接抗人球蛋白试验对上海地区 4 995 例献血者标本进行不规则抗体筛查,并与微孔板木瓜酶法作对比试验。结果 柯利斯系统初筛反应性 22 例(4.4%),微孔板木瓜酶法初筛反应性 53 例(10.6%),经参比实验室确认阳性为 10 例。结论 基于 EMT 的柯利斯全自动血型系统作不规则抗体筛查,具有操作方便、灵敏度高、结果准确、完全溯源等特点。

关键词:红细胞磁化技术; 不规则抗体; 献血者

中图法分类号:R331

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)09-1254-03

Red blood cell magnetization is used for irregular antibody screening of blood donors

CAO Bin, ZHOU Guoping, ZHENG Lan[△]

(Department of Clinical Laboratory, Shanghai Blood Centre, Shanghai 200051, China)

Abstract: **Objective** Investigate the feasibility of using erythrocyte magnetization technology for irregular antibody screening of blood donors. **Methods** A total of 4 995 samples from blood donors in Shanghai was screened for irregular antibodies by COLIS automatic blood group system combined with indirect anti-human globulin test based on RBC magnetization technology, and the test was compared with papain microplate method. **Results** Among the 4 995 blood donors, 22 cases (4.4%) were initially screening reactive for COLIS system, while 53 cases (10.6%) were initially screening reactivity by microplate papain method. **Conclusion** The COLIS automatic blood group system based on red blood cell magnetization technology was characterized by easy operation, high sensitivity, accurate results and complete traceability.

Key words: erythrocyte magnetization; irregular antibodies; blood donors

不规则抗体是指抗-A、抗-B 或抗-AB 以外的血型抗体,通常可分为 IgM 和 IgG 两类,其是引起免疫溶血性输血反应、新生儿免疫溶血性疾病、血型鉴定及交叉配血困难的主要原因^[1]。不规则抗体筛查在美国、英国等发达国家早已列入献血者血液常规检测试验^[2]。但目前我国只有部分地区血站使用盐水介质进行了不规则抗体(主要是 IgM 类)的筛查尝试^[3],并大多采用以微板离心和自然沉降为主的方法^[4]。为了进一步探索本币集中化检测的不规则抗体筛查项目,近期本中心对基于红细胞磁化技术(EMT)原理的柯利斯全自动血型系统的不规则抗体筛查应用情况作了初步分析,并与本中心自主研发的微孔板木瓜酶法进行比对,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 收集 2018 年 5—7 月上海地区无偿献血者标本 4 995 例,进行不规则抗体筛查。

1.2 仪器与试剂 柯利斯 3(QWALYS3)全自动血型分析仪(法国 DIAGAST),帝肯(EVO-2)免疫分析加

样系统(瑞士 TECAN)。抗体筛选红细胞试剂盒(批号:20187012,20187014)、木瓜酶(批号:20180116)及抗人球蛋白试剂(批号:20165002)均由上海血液生物医药有限责任公司提供;菠萝蛋白酶,96 孔 U 型板,抗人球蛋白不规则抗体筛查试剂盒(DIAGAST 批号:945000);不规则抗体筛查红细胞试剂盒(DIAGAST 批号:726000,733000);谱细胞(REAGENS,批号 731813);抗人球蛋白卡(DiaMed 批号:50531.21.07)。

1.3 方法

1.3.1 EMT 筛查不规则抗体 使用柯利斯全自动血型系统,用与原装试剂匹配的专用程序,仪器通过装载已包被有抗人球蛋白的 96 孔 Screen Lys 微板,加入 50 μ L 隔离液、稀释液、15 μ L 已磁化的筛选细胞,15 μ L 标本血浆,按照设定的程序,完成加样后 37 $^{\circ}$ C 密闭孵育,磁化震荡、拍照、判读完成对标本的不规则抗体筛查判定。

1.3.2 微孔板木瓜酶法对同批标本进行不规则抗体筛查 使用 TECAN 加样仪将(3%~4%)筛选细胞

试剂 O1、O2、O3(每孔 15 μ L)、最适木瓜酶溶液(每孔 30 μ L)、标本血清或血浆(每孔 30 μ L)加入 96 孔微孔板中。将完成分配的微孔板(37 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后,用平板震荡仪以(750 $\pm$ 50)r/min 振荡 1 min,室温静置 $\geq$ 30 min。将微孔板用平板离心机以转速(30 $\pm$ 3)g 离心 1 min,用平板震荡仪以(750 $\pm$ 50)r/min 振荡 1 min。将微孔板装载于比色仪进板架上进行比色。方法详见文献[5]。

1.3.3 使用谱细胞进行不规则抗体鉴定 柯利斯全自动血型系统不规则抗体检测结果与微孔板木瓜酶法检测结果作比对分析,对筛查出的反应性标本均送检参比实验室进行抗体确认,对确证不规则抗体阳性的标本用谱细胞作进一步鉴定。

1.3.4 质量控制 EMT 与微孔板木瓜酶法中均使用已知的不规则抗体弱阳性和阴性血浆,在每一架(最多为 94 例标本)上进行不规则抗体质控试验,以控制实验的有效性。

2 结 果

2.1 EMT 与微孔板木瓜酶法不规则抗体筛查结果 4 995 例献血者标本柯利斯全自动血型系统共筛查出不规则抗体反应性 22 例,筛查反应性率 4.4%,无反应性 4 973 例;微孔板木瓜酶法共筛查出不规则抗体反应性 53 例,筛查反应性率 10.6%,无反应性 4 942 例。

2.2 EMT 与微孔板木瓜酶法检测性能比较 4 995 例献血者标本用两种方法共筛查出不规则抗体反应性标本 71 例,经参比实验室确认不规则抗体筛查阳性为 10 例,阴性 61 例。其中,EMT 不规则抗体参比实验室确认不规则抗体筛查阳性为 9 例,确认不规则抗体筛查阴性为 13 例;微孔板木瓜酶法不规则抗体参比实验室确认不规则抗体筛查阳性为 5 例,确认不规则抗体筛查阴性为 48 例。由表 1 可见,EMT 不规则抗体筛查技术方法灵敏度为 90.00%,特异度为 78.69%。由表 2 可见,微孔板木瓜酶法不规则抗体筛查技术方法灵敏度为 50.00%,特异度为 21.31%。

表 1 EMT 不规则抗体筛查确认结果(n)

EMT	参比实验室确认		总计
	阳性	阴性	
阳性	9	13	22
阴性	1	48	49
总计	10	61	71

2.3 10 例不规则抗体筛查阳性标本使用谱细胞进行抗体鉴定 将 10 例参比实验室确认不规则抗体筛查阳性标本使用抗人球蛋白法用谱细胞进行抗体鉴定,发现不规则抗体分布以 Rh 系统和 Mn 系统为多。共检出抗 D 抗体 1 例,抗 E 抗体 1 例,抗 M 抗体 3 例,

抗 Lex 抗体 1 例,抗 Lea 抗体 1 例,抗体未能确定特异性 3 例,见表 3。

表 2 微孔板木瓜酶法不规则抗体筛查确认结果(n)

微孔板木瓜酶法	参比实验室确认		总计
	阳性	阴性	
阳性	5	48	53
阴性	5	13	18
总计	10	61	71

表 3 10 例献血者不规则抗体构成情况(n)

抗体名称	n	EMT	微孔板木瓜酶法
抗 D	1	1	1
抗 E	1	1	1
抗 M	3	3	0
抗 Lex	1	1	1
抗 Lea	1	1	0
未能确定特异性	3	2	2
合计	10	9	5

3 讨 论

本文采用 EMT 和微孔板木瓜酶法同时对 4 995 例献血者标本进行不规则抗体筛查,两者方法的初筛反应性率分别为 4.4%、10.6%,经参比实验室确认不规则抗体阳性中 EMT 为 1.8%(9/4 995),略高于上海地区报道的 1.51%的反应性率,与国外文献报道的“全球献血者人群中不规则抗体反应性率 1.9%~8.0%的范围”接近,这可能与本文直接采用较灵敏的间接抗人球蛋白方法有关^[5-6]。

柯利斯全自动血型系统采用国际先进技术——EMT,此项技术基于红细胞的磁化,在磁场的吸引下,实现红细胞的快速沉降,替代血清学离心机,可有效避免离心过程对实验结果造成的影响,使得实验结果更加可靠。该仪器进行不规则抗体筛查,采用固相包被抗人球蛋白结合 EMT 的间接抗人球蛋白试验方法,将待检血浆与即用型不规则抗体筛查红细胞孵育,红细胞表面抗原可被血浆中的不规则抗体致敏,在磁场存在下,磁化红细胞迁移到微孔板底部,与抗人球蛋白发生反应,形成均匀分布的红细胞层。本中心日常使用的微孔板木瓜酶法,因微孔板木瓜酶法会破坏一些红细胞抗原,如 M、N、S、Fya 和 Fyb 抗原,因此,微孔板木瓜酶法检测不规则抗体,对 M、N、S、Fya 和 Fyb 抗原不敏感^[7-9]。另外,微孔板木瓜酶法检测不规则抗体特异度(21.31%)较差,假反应性率较高,微孔板木瓜酶法初筛反应性标本需用间接抗人球蛋白试验方法作进一步的确认,而柯利斯全自动血型系统进行不规则抗体筛查,则直接采用了间接抗人

球蛋白试验结合 EMT,具备更好的灵敏度(90.00%)和特异度(78.69%),与微孔板木瓜酶法相比,检测性能更好,且已采用了不规则抗体确证试验方法——间接抗人球蛋白试验,筛查出的不规则抗体反应性即为阳性,无需再进行进一步确认。同时,柯利斯全自动血型系统筛查出不规则抗体反应性标本,经谱细胞鉴定抗 M 3 例,避免了酶法筛查不规则抗体对 Mn 抗原不敏感而造成的漏检^[9]。鉴别抗 D 和抗 E 各 1 例,有效筛查出临床有意义的 不规则抗体。文献报道,Rh 血型抗体是引起免疫性溶血性输血反应和新生儿溶血病最常见的不规则抗体^[10-12]。不规则抗体是导致输血超敏反应的主要因素,在输血前加强对不规则抗体的检验,对于保障输血安全、避免不良事件的产生意义重大^[13]。

综上所述,基于 EMT 的柯利斯血型系统作不规则抗体筛查,具有操作方便、灵敏度高、结果准确、完全溯源等特点,适合于血站进行大规模筛查不规则抗体。

参考文献

[1] 刘培贤,刘志鹏,贾彩虹,等. 不规则抗体对血型反定型鉴定的影响[J]. 世界中西医结合杂志,2016,11(9):1293-1296.

[2] 张雄民,向东,孟妍,等. 上海地区部分献血者中不规则抗体的调查[J]. 中国医药导刊,2009,11(4):647-648.

[3] 陈倩,张志亮,唐秋萍. 海南地区无偿献血者不规则抗体

筛查结果分析[J]. 中国输血杂志,2015,28(4):416-418.

[4] 傅立强,朱守兵,刘祎. 红细胞磁化技术在血型检测、不规则抗体筛查中的应用[J]. 中国卫生检验杂志,2017,27(12):1737-1739.

[5] 蔡茵,曹斌,周喆,等. 上海地区无偿献血者血液中不规则抗体的调查[J]. 中国输血杂志,2017,30(7):791-793.

[6] GARCÍA M A, BAUTISTA L, PALOMINO F. Should blood donors be routinely screened for irregular antibodies? [J]. Immunohematology,2012,28(2):60-67.

[7] 王志红. 4 种方法检测红细胞血型 IgG 类抗体敏感性比较[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版),2012,25(4):511-512.

[8] 马曜轩,白丽霞,刘景汉,等. 4 种检测 IgG 红细胞抗体方法的比较[J]. 第三军医大学学报,2005,27(7):660-662.

[9] 孙爱农,许惠根,吴晓燕,等. 三种红细胞不规则抗体筛选试验方法的比较[J]. 检验医学,2007,22(1):71-74.

[10] 纪勇平,赵龙友,周斌. 不规则抗体对输血的影响[J]. 中国预防医学杂志,2015,16(8):620-623.

[11] 孔文兵,赖福才,彭道波,等. 红细胞血型不规则抗体与安全输血[J]. 中国输血杂志,2014,27(9):929-930.

[12] 秦建江,杜平,何智. Rh 血型免疫性抗体致溶血性输血反应的探讨[J]. 新疆医学,2012,42(7):63-65.

[13] 赵莉. 输血前进行不规则抗体检验的临床意义和实际应用价值[J/CD]. 世界最新医学信息文摘(电子版),2016,16(47):158.

(收稿日期:2018-09-29 修回日期:2019-01-13)

(上接第 1253 页)

院研究结果也较一致^[6],这与本院长期经验使用 β-内酰胺类和喹诺酮类抗菌药物有关。β-内酰胺酶不仅可水解破坏 β 内酰胺类抗生素活性,而且对氨基糖苷类、喹诺酮类抗生素具有交叉耐药的作用^[7]。

综上所述,临床应避免盲目使用 β-内酰胺类和喹诺酮类抗菌药物,以减少临床抗菌药物耐药性的发生,同时也应提高自己实验室的检测能力,为本地区精神疾病感染患者提供更好的服务,最终达到配合临床合理用药的目的。

参考文献

[1] CAO Y, LI X, XU Y, et al. Prevalence and molecular characteristics of mcr-1 colistin resistance in Escherichia coli isolates of clinical infection from a Chinese University Hospital[J]. Infect Drug Resist,2018,26(11):1597-1603.

[2] MARTENS E,DEMAIN A L. The antibiotic resistance

crisis, with a focus on the United States[J]. J Antibiotics,2017,70(5):520-526.

[3] 徐红云,刘春林,陈第,等. 2010-2016 年耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌临床分布及其耐药特征[J]. 中国感染控制杂志,2018,17(8):688-692.

[4] 汪璐,曲远青. 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的临床分布及耐药监测[J]. 中国实验诊断学,2017,21(11):1893-1896.

[5] 张文利,刘军,张坚,等. 维吾尔族与汉族新生儿感染产超广谱 β-内酰胺酶与头孢菌素酶病原菌的耐药性及基因型分析[J]. 中华预防医学杂志,2011,45(3):217-224.

[6] 李海英,王金波,王华,等. 近 3 年分离大肠埃希菌耐药性的分析[J]. 中国抗生素杂志,2018,43(5):620-623.

[7] SINGH S K, MISHRA M, SAHOO M, et al. Antibiotic resistance determinants and clonal relationships among multidrug-resistant isolates of Klebsiella pneumoniae[J]. Microb Pathog,2017(110):31-36.

(收稿日期:2018-12-12 修回日期:2019-02-28)