

血型自动化检测在血站血型定型中的应用

孙友岭, 周 涛, 万胜全, 张 慧(安徽省淮南市中心血站检验科 232007)

【摘要】 目的 探讨分析全自动血型检测系统在血站血型检测中应用的可行性。**方法** 使用 Microlab Star 8CH 全自动加样系统加样, AK03A 全自动数字血型分析仪判读, 组成血型全自动化检测系统检测 1 487 份无偿献血者的 ABO 和 Rh 血型, 从血型判读的符合率、混合血清样本倍比稀释后反定型检测灵敏度、溶血及脂血干扰试验 4 个方面进行分析。**结果** 全自动血型检测系统血型判读符合率达 99.7%; 混合血清小于或等于 1:64 的稀释度反定型检测准确度达 100.0%, 脂血和溶血标本对检测结果无影响。**结论** 全自动血型检测技术具有较高的准确度, 实现了血型检测标准化、自动化, 适用于血站血型的批量检测。

【关键词】 ABO 血型; 自动化检测; 血浆

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.12.011 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)12-1432-02

Application of blood-group automation detecting in blood typing in blood stations SUN You-ling, ZHOU Tao, WAN Sheng-quan, ZHANG Hui (Huainan Municipal Central Blood Station, Huainan, Anhui 232007, China)

【Abstract】 Objective To discuss the application feasibility of automatic blood group detecting system in blood group check in the blood stations. **Methods** The Microlab Star 8CH full automation sampling system for adding sample and the fully automatic AK03A figure blood group analyser for interpretation were combined into the blood group full automation detecting system. This system was used to detect ABO and Rh blood group in 1 487 free blood donors. The analysis was performed in 4 aspects of the coincidence rate in blood group interpretation, the sensitivity of reverse typing detection after doubling dilution of mixed serum samples, hemolysis and lipidemia interference. **Results** The coincidence rate interpreted by the blood group full automation detecting system reached 99.7%. The sensitivity of reverse typing detection of mixed serum dilution $\leq 1:64$ reached 100%. The lipidemia and hemolysis specimens had no influence to the test results. **Conclusion** The full automation blood group testing technique has higher accuracy and capacity, and realizes the standardization and automation of blood group test, which is suitable for the blood group batch detection in the blood stations.

【Key words】 ABO blood group; automation detecting; plasma

血型检测是无偿献血筛检的重要检测项目。长期以来, 血站的血型检测均采用的是手工操作的试管法。但随着检测技术的迅猛发展, 该法已不能满足实验室快速、准确、标准化、自动化的要求, 其检测的各个环节逐步被相应的自动化设备所替代^[1-2]。随着全自动数字血型分析仪(下称血型仪)的应用, 通过和 Microlab Star 8CH 全自动加样系统进行组合, 最终解决了血液检测过程的全自动化的问题。2007 年底, 本血站将全自动加样系统和全自动数字血型分析仪用于血型检测, 运行效果很好, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2007 年 12 月 25 日至 2008 年 11 月 30 日本血站采集的无偿献血者的全血标本 1 487 份, 采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝。

1.2 试剂 2%或 5%标准红细胞悬液为自配, 抗 A 抗 B 血型定型试剂为河北医科大学生物公司产品, 抗 D 标准血清为上海血液生物公司产品。

1.3 检测仪器 AK03A 全自动数字血型分析仪、梯度 V 型板及其他配套实验材料(深圳爱康公司产品); Microlab Star 8CH 加样系统(瑞士 Hamiltom 公司产品); 血型离心机(长春博德公司产品)。

1.4 血型检测

1.4.1 血型仪反应体系内 只需微量标本及检测试剂。主要实验参数为, 正定型: 标本红细胞(50 倍稀释 25 μ L) + 正定型标

准血清(1:15 倍稀释 25 μ L); 反定型: 标本血清(原液 12 μ L) + 反定型试剂(2%试剂红细胞 38 μ L); Rh(D)定型: 标本红细胞(50 倍稀释 25 μ L) + 抗 D 标准血清(1:15 倍稀释 25 μ L)。标本及试剂均用 Microlab Star 8CH 加样系统(系统上已编写加样程序)加注, 梯度 V 型板加样后振荡混匀, 放置 50 min, 自动成像判读。

1.4.2 结果判读 利用孔壁呈微小均匀阶梯状的特殊 V 型微孔板进行检测。凝集(+) : 红细胞彼此粘连均匀分布在有梯度的 V 型孔壁上; 未凝集(-) : 红细胞沿阶梯滚落于孔底中央, 形成实心圆点。利用电荷耦合元件(CCD)高清晰度数码成像判读分析。

1.4.3 试管法血型检测^[3] 正定型: 抗 A 或抗 B 血清 50 μ L + 5%标本 RBC 50 μ L。反定型: 标本血清 50 μ L + 5%的 A 细胞或 B 细胞 50 μ L。Rh(D)血型: 抗 D 血清 50 μ L + 5%标本 RBC 50 μ L, 1 000 r/min 离心 1 min, 有凝集为阳性, 无凝集为阴性。

1.5 符合率试验 检测 1 487 份血型的全血标本采用 EDTA-K₂ 抗凝, 计算符合率。

1.6 灵敏度检测 随机抽取适量 A 型、B 型、O 型标本血清各 15 份, 充分混匀后将其倍比稀释为 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64, 进行反定型试验, 重复 4 次。

1.7 脂血干扰试验 检测中轻度脂血 28 份, 中度脂血 20 份, 重度脂血 14 份。

1.8 溶血干扰试验 检测轻度溶血标本 33 份,中度溶血标本 27 份,重度溶血标本 6 份。

2 结 果

2.1 对比试验 全自动血型检测法(血型仪判读)和试管法同时做 1 487 份标本对比试验,两种检测方法的结果符合率为 99.7%和 100.0%,差异不显著,结果见表 1。

表 1 全自动血型仪检测和试管法对比试验结果(n=1 497)

方法	ABO 血型				Rh(D)血型		符合率 (%)
	A	B	O	AB	Rh(+)	Rh(-)	
血型仪	429 ^a	420	512	126	1 481	6	99.7
试管法	429	420	512	126	1 481	6	100.0

注:(+)表示阳性,(-)表示阴性。^a 其中 4 例 A 型因正反定型判读不符合后再次检测确认。

2.2 灵敏度检测结果 混合血清小于或等于 1:64 的稀释度反定型检测准确度 100%。混合血浆倍比稀释后的检测结果见表 2。

表 2 混合血浆倍比稀释后的反定型检测结果

反应体系	混合血浆稀释倍数							
	1:11	2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	
A 型混合血浆+B 标准红细胞	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
B 型混合血浆+A 标准红细胞	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
O 型混合血浆+A 标准红细胞	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
O 型混合血浆+B 标准红细胞	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

注:(+)表示阳性。

2.3 脂血干扰试验 Microlab Star 全自动加样系统加样、AK03A 全自动数字血型分析仪判读血型与试管法检测结果一致。

2.4 溶血干扰试验 Microlab Star 全自动加样系统加样、AK03A 全自动数字血型分析仪判读血型与试管法检测结果一致。

3 讨 论

目前,随着血液检测的自动化程度的提高,为避免人工加样及判断结果的错误,本研究用 Microlab Star 8CH 全自动加样系统加样、AK03A 全自动数字血型分析仪判读,组成血型自动化检测系统进行血型定型,并与经典血型检测方法比较。血型分析仪判读正确率达 99.7%,其中 4 例 A 型因正反定型判读不符,后再次检测确认,主要由于红细胞过浓、标本未完全抗凝、加样不准确等引起;表 2 中混合血清小于或等于 1:64 的稀释度反定型检测,该仪器准确度达 100.0%,显示该全自动血型检测灵敏度明显高。该方法通过全自动加样系统加样,再以全自动数字血型分析仪混匀、静置和判读 4 个步骤,混匀之后在反应过程中不再振荡,使抗原抗体的结合、凝集与非凝集反应的区分在静置过程中一步完成,避免了振荡过程中对弱凝集状态的破坏,提高了对弱凝集标本的检出率,进而提高实验

的灵敏度和准确性。

另外,全自动数字血型分析仪器配套采用的梯度 V 型板其内壁梯度细小(仅达 1 个红细胞的直径)、均匀,既能够有效防止未凝集的红细胞聚集,又能促使凝集的红细胞均匀附着在梯度表面,利于最终的成像判读^[4]。

有报道采用微板法进行的反定型判读受标本的溶血和脂血程度影响较大^[5],误判和无法判读率比较高,需要手工试管法进行确认,大大增加了工作量,延误报告时间。采用全自动血型检测系统对 62 例脂血标本和 66 例溶血标本进行检测,正确率 100.0%。原因在于反应体系总体积很小,反定型所需的试剂红细胞是 38 μL,血浆量仅有 12 μL,二者混合,血浆被稀释的效果非常明显,从而大大降低了溶血、脂血对判读的影响。此外,该仪器检测使用的试剂量少,降低了实验成本;实现了从标本条码阅读、加样、加试剂、振荡、孵育到成像判读的全自动可监控化,减少了人为因素对实验的影响,解放了劳动力。并可与血站管理系统及血站实验室管理系统连接进行数据传输,使检测结果便于用电子和文字文档保存,且便于追溯,克服了传统玻片法和试管法检测结果无法追溯的缺陷。

同时,在实验中发现标本的抗凝效果与梯度 V 型板洁净度对检测结果有较大影响,并且未完全抗凝的标本(正定型加入凝块,反定型血浆量不足)是无法判读的最主要原因,其次梯度 V 型板冲洗的不完全,板孔内有残留的红细胞或纤维蛋白会造成阴性结果误判为阳性结果。建议使用一次性加样针,减少标本间的相互干扰。梯度 V 型板冲洗要完全,定期对梯度 V 型板用清洗液浸泡,去除残留的红细胞或纤维蛋白,保持微板洁净,防止底部划痕,以避免对成像判读的影响^[6]。

总之,该全自动血型检测系统与血站目前使用其他血型检测方法相比,实现了标准化、自动化、规范化,降低了实验者工作强度和实验成本,适合血站大批量标本的血型鉴定及检测结果的快速追溯。

参考文献

[1] 葛红卫,王鸿捷,韩卫. ABO 血型自动化检测方法的建立[J]. 中国输血杂志,1998,11(2):63-65.
[2] 曾劲峰,张红,马兰,等. 全自动样本处理仪在血型检测中的应用[J]. 中国输血杂志,2005,18(2):132-133.
[3] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 南京:东南大学出版社,2006:246-251.
[4] 王福成,施之雍,蔡隽,等. 梯形微板技术在 ABO 血型检测中的应用[J]. 中国输血杂志,2007,20(1):53-55.
[5] 唐郁,贾红志,刘亭亭. ABO 正定型及 RH(D)血型最佳加样模式的建立[J]. 临床输血与检验,2009,11(1):57-58.
[6] 周筱媛,向东,徐忠. ABO 血型自动化检测[J]. 中国输血杂志,2010,3(23):205-206.

(收稿日期:2011-12-29)