

凝聚胺法与微柱凝聚法检测不规则抗体的对比分析

龙华泉,陈世豪,张伟坚(南方医科大学附属广东省江门市新会区人民医院检验科 529100)

【摘要】 目的 探讨凝聚胺法与微柱凝聚法在不规则抗体筛选中的价值对比。**方法** 对 2010~2011 年江门市新会区人民医院 6 720 例预约输血患者,用凝聚胺法与微柱凝聚法分别进行不规则抗体筛查,阳性结果再用谱细胞通过抗人球蛋白方法进行特异性检测。**结果** 用微柱凝聚法筛查出不规则抗体阳性 28 例,阳性率为 0.42%,而凝聚胺检测阳性 26 例,阳性率仅为 0.39%,两种方法比较差异无统计学意义($P>0.05$)。其中 Rh 系统占总不规则抗体比例为 57.1%,分别为抗-D 5 例,抗-E 7 例,抗-C 2 例,抗-Ec 2 例。**结论** 凝聚胺法与微柱凝聚法都适用于临床筛查不规则抗体,微柱凝聚法比凝聚胺法更有利于大规模自动化筛查,对于有条件的大医院更适合临床输血前的应用和相关疾病的诊断,而凝聚胺法在基层或者临床急诊上也可合理开展。

【关键词】 凝聚胺法; 微柱凝聚法; 不规则抗体

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.01.018 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)01-0039-02

The comparative analysis between microcolumn gel test and polybrene test in irregular antibody detection LONG Hua-quan, CHEN Shi-hao, ZHANG Wei-jian (Department of Clinical Laboratory, Xinhui Hospital Affiliated to Southern Medical University, Jiangmen, Guangdong 529100, China)

【Abstract】 Objective To explore the comparison of values of microcolumn gel test and polybrene test in irregular antibody detection. **Methods** From 2010 to 2011, 6 720 cases with blood transfusion were test by microcolumn gel and polybrene for detecting irregular antibody, and then positive results were tested about antibody's specificity by anti-human globulin test. **Results** 28 irregular antibody positive cases were detected by microcolumn gel test and positive rate was 0.42%. Only 26 cases were detected by polybrene test, and positive rate was 0.39%, there was no statistically significant difference between two methods ($P>0.05$). The positive rate of Rh blood group system antibody was 57.1% of irregular antibody, 5 cases of them were Rh(D), 7 cases were Rh(E), 2 cases were Rh(C), and 2 cases were Rh(Ec). **Conclusion** Microcolumn gel test and polybrene test can be suitable to use in the clinical screening for irregular antibodies. Microcolumn gel is more conducive than polybrene for large-scale automated screening, and is more conducive for clinical transfusion applications and disease diagnosis for large hospitals, and then polybrene test may be reasonable to carry out on the primary hospital or clinical emergency.

【Key words】 polybrene test; microcolumn gel test; irregular antibody

临床患者输血前进行交叉配血,红细胞 ABO 血型系统相合是最重要的,但由于患者多次输血或其他原因产生的 ABO 血型系统以外的不规则抗体,如漏检也会导致受血患者严重的输血反应^[1]。为此作者进行凝聚胺法与微柱凝聚法两种方法在不规则抗体检测方面的比较,为临床提供合适的筛检方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010~2011 年本院各科室 6 720 例预约输血患者,其中男 4 568 例,女 2 152 例,年龄 7 d 至 88 岁,平均年龄 44 岁。

1.2 仪器与试剂 TD-2Y 医学检验多功能离心机;微柱凝胶卡由中山市生科试剂仪器有限公司提供,Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ号筛选细胞、抗人球蛋白试剂和谱细胞均由上海血液生物医药有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 抽取 3 mL 静脉血,均用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,检测前进行离心,排除纤维蛋白干扰。

1.3.2 凝聚胺法 向已准备好(患者血浆+5%筛选细胞)试管各加 0.5%筛选细胞低离子介质悬液(LIM)0.7 mL,混合均匀后,再各加凝聚胺溶液 2 滴,并混合均匀;用专用离心机 3 400 r/min 离心 10 s,然后把上清液倒掉,不要沥干,让管底残留约 0.1 mL 液体;轻轻摇动试管,目测红细胞有无凝集,如无

凝集,则必须重作;最后加入假凝集清除液 2 滴,轻轻转动试管混合并同时观察结果。如果凝集散开,表示是由凝聚胺引起的非特异性聚集,抗体筛检结果为阴性;如凝集不散开,则为红细胞抗原抗体结合的特异性反应,抗体筛检结果为阳性,应进一步作抗体鉴定。

1.3.3 微柱凝聚法 撕开微柱凝胶卡的封膜,于反应腔中依标记分别加入相应的 LIM 100 μ L,各管再加入待检血浆 25 μ L;将检测卡 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min 取出,置离心机 1 800 r/min 离心 2 min 后取出,根据红细胞沉降于管腔的部位判断结果。

1.3.4 确证试验 两种方法筛查不规则抗体阳性再用特异性谱细胞在抗人球蛋白介质中进行确证。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 的 χ^2 检验进行统计学处理。

2 结果

2.1 两种方法检测结果 对 6 720 例预约输血的患者标本用凝聚胺法和微柱凝聚法筛查不规则抗体阳性率及既往情况见表 1。

2.2 不规则抗体特异性鉴定 利用抗人球蛋白法对 28 例不规则抗体的特异性进行鉴定,其中自身抗体 7 例(高效价冷凝素 5 例,温抗体 2 例),均为白血病患者;1 例肿瘤化疗患者推测为药物抗体;其余 20 例为血型同种特异性抗体,抗-D 5 例,

抗-E 7 例,抗-C 2 例,抗-Ec 2 例、抗-JK 1 例、抗-Mur 2 例以及 ABO 亚型中抗-A 1 例。具体分布见表 2。

表 1 6 720 份标本两种方法结果(n=6 720)

方法	阳性数	阳性率(%)	输血史	妊娠史
凝聚胺法	26	0.39	20	6
微柱凝聚法	28	0.42	20	6

表 2 不规则抗体特异性分布情况(n=28)

特异性系统	检出例数	比例(%)
自身抗体	7	25.0
Rh	16	57.1
ABO 亚型	1	3.6
MNS	2	7.1
Kidd	1	3.6
药物抗体	1	3.6
合计	28	100.0

3 讨 论

临床输血安全保障日益受到重视,随着试剂及技术的改进,过去因血型鉴定灵敏度方面的误差所引起的严重输血反应已鲜有报道。然而,人类红细胞有 29 个血型系统,不规则抗体是血清中抗-A、抗-B 以外的其他血型抗体,其引起的迟发型输血反应轻者引起寒战、发热,影响治疗效果,严重者危及患者生命,对孕妇而言,不规则抗体如常见的 Rh 系统中 IgG 的抗-D、抗-E/e 和抗-C 等会引起新生儿溶血病^[2],影响新生儿脏器的发育,并使其智力发育受到伤害,严重者则会危及新生儿的生命安全,所以为临床提供合适的筛查试剂非常重要。早期的盐水法因只能筛查出 IgM 抗体早已淘汰,目前应用于临床的方法主要是凝聚胺法、微柱凝聚法、抗人球蛋白法等。凝聚胺(polymatching)法首先利用低离子介质降低溶液的离子强度,减少红细胞周围的阳离子云,促进血清(浆)中的抗体与红细胞相应抗原结合,再加入带亚电荷的高价阳离子多聚物-凝聚胺溶液,中和红细胞表面的负电荷,缩短细胞间距,形成可逆的非特异性聚集,并使 IgG 型抗体直接凝集红细胞。加入中和液后,仅由凝聚胺引起的非特异性聚集,会因电荷中和而分散,而由抗体介导的特异性凝集则不会分散。凝聚胺是一种抗肝素药物,所以对于含肝素的血液标本要稍稍多加一些凝聚胺来中和肝素。有研究报道,凝聚胺法对 Kell 系统的抗体检出不理想,所以阴性结果要转入抗人球蛋白试验,以免漏检。K 的抗原频率约为 7%,由于 K 抗原具有较强的免疫原性,所以欧美国家都将 Kell 作为输血前血型检测的必检项目。中国人群中,Kell 血型一直被认为多态性较单一,基本都为 K,且 K 的频率约为 0.07%,因此输血前不进行 K 抗原的定型。微柱凝胶技术作为一项免疫学检测技术,它是凝胶过滤技术和抗原抗体反应的结合,已在欧美等发达国家作为常规性检测技术应用临床,由于凝胶颗粒具有分子筛作用,抗原抗体反应后的红细胞通过离心经过微柱,无 IgG 结合的红细胞穿过凝胶到达底部,而红细胞上若有 IgG 抗体结合则会被凝胶中的抗 IgG 拉住,红细胞被阻止在凝胶柱上层或中间。本文两种检测方法比较差异无统计学意义(P>0.05),对于凝聚胺法漏检的 2 例的

不规则抗体特异性鉴定为抗-E 和抗-Jka,微柱凝胶检测结果为阳性,经试验分析其抗体效价分别为 8 和 4。可见,微柱凝胶法灵敏度更高,效价较低的抗体也可检测到,这与张晨光等^[3]研究比对两种方法检测不规则抗体效价的差距相一致。凝聚胺因效价因素漏检国内也曾有文献报道^[4-6],另外,凝聚胺法也受人为操作因素影响,如加试剂量、离心机控制、振荡观察等等都会带来人为的误差而漏检。相对而言,微柱凝胶法的反应卡操作易掌握、结果稳定、受人为因素的影响小,已成为输血检查的推荐方法。

本试验检出不规则抗体的患者中,有输血史 22 例,妊娠史 6 例,男性患者 13 例,而女性患者 15 例,未见明显性别倾向,与有文献报道女性高于男性不同,这可能与研究的总样本类型分布有关。而总体筛查不规则抗体阳性率为 0.42%,与国内文献报道(0.37%)较一致,但与本省何子毅等^[7]报道不规则抗体阳性率(0.09%)有较大差距。不规则抗体大多为 Rh 血型系统,Rh 抗原强弱顺序为 D>E>c>C>e,本次筛查出抗-D 3 例,抗-E 5 例,抗-C 2 例,抗-Ec 2 例,提示 Rh 阳性患者输血也有机会引起溶血反应。根据我国汉族人群 Rh 抗原分布特点,E 抗原阳性比 D 抗原阳性低,产生 E 抗体的概率高于 D 抗体,本次筛查出抗-E 占最大比例,故 Rh 血型系统 D 抗原阳性 E 抗原阴性输血者不容忽视^[8]。

综上所述,不规则抗体的筛选对于临床输血安全非常重要,通过比较凝聚胺和微柱凝聚法两种方法都基本能一致地对输血前有效把关,对于软硬件条件较好的大医院,选用微柱凝聚法是最好的选择,而对于基层医院或者急诊需要,凝聚胺法以其简便快速准确、成本低等方面的优点也可推广使用。

参考文献

[1] 彦居,霍树辉. 输血前后不规则抗体筛查与输血安全[J]. 临床血液学杂志:输血与检验版,2011,24(3):357-358.

[2] Karagol BS, Zenciroglu A, Okumus N, et al. Hemolytic Disease of the Newborn Caused by Irregular Blood Subgroup(Kell, C, c, E, and e) Incompatibilities: Report of 106 Cases at a Tertiary-Care Centre[J]. Am J Perinatol, 2012,29(6):449-454.

[3] 张晨光,张婧婧,庞桂芝,等. 血型不规则抗体检测的方法学评价[J]. 检验医学,2010,25(12):929-930.

[4] 陈晨,夏爱军,穆士杰,等. 抗-Jka,抗 S 抗体致溶血性输血反应 1 例[J]. 第四军医大学学报,2009,30(2):99.

[5] 张娜,张林伟,韩美芳. 微柱凝胶与凝聚胺法检测不规则抗体的临床应用[J]. 中国医药指南,2012,10(6):38-39.

[6] 祁琳. 微柱凝胶法和凝聚胺法检测 IgG 抗体效价的比较[J]. 苏州大学学报:医学版,2011,31(1):161-162.

[7] 何子毅,刘赴平,李伟其,等. 受血者血型鉴定准确率及不规则抗体阳性率调查研究[J]. 实用医学杂志,2011,27(5):877-879.

[8] 黎村艳,郑淑娟. 微术凝胶法、盐水法和凝聚胺法在弱抗原抗体反应中的应用[J]. 海南医学,2012,21(12):116-117.