

全自动血型分析仪与微板法应用于献血者不规则抗体筛查的比较分析^{*}

李琳琳,李美霖[△],车进,张微,李天君,张文学,郭崇建,宋艳(北京市通州区中心血站 101100)

【摘要】 目的 比较分析 Beckman Coulter PK7300 全自动血型分析仪与微板法应用于献血者不规则抗体筛查的效果。**方法** 应用全自动血型分析仪法和 STAR 加样微板手工比色法检测献血者 O 细胞(Oc),Oc 凝集者送血型室进一步鉴定。**结果** 在 12 337 份献血者标本中,全自动血型分析仪法与 STAR 加样微板手工比色法对 Oc 检出率分别为 0.19% 和 0.15%。微板法检出的 1 例冷自身抗体,全自动血型分析仪法结果为阴性。全自动血型分析仪法检出的 1 例抗-E、1 例抗-Leb、2 例抗-P1、1 例冷自身抗体,微板法均未检出凝集。**结论** 全自动血型分析仪用于不规则抗体筛查的灵敏度优于微板法,更易发现盐水介质凝集试验阳性的抗体,在保证临床用血安全方面较微板法具有更广阔的应用空间。

【关键词】 全自动血型分析仪; STAR 加样微板手工比色; 不规则抗体筛查; Oc 凝集
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.05.007 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)05-0593-02

Comparative analysis of automatic blood group analyzer and micro plate method for screening irregular antibodies in blood donors^{*} LI Lin-lin, LI Mei-lin[△], CHE Jin, ZHANG Wei, LI Tian-jun, ZHANG Wen-xue, GUO Chong-jian, SONG Yan (Beijing Tongzhou District Central Blood Station, Beijing 101100, China)

【Abstract】 Objective To comparatively analyze the effects of the Coulter PK7300 Beckman automatic blood group analyzer and the micro plate method for screening irregular antibodies in blood donors. **Methods** O cells in blood donors were detected by using the Beckman Coulter PK7300 automatic blood analyzer and the STAR sample adding microboard colorimetry, then which with Oc agglutination was further identified by the blood type laboratory. **Results** Among the 12 337 donors' samples, the detection rates of Oc by the automatic blood analyzer method and STAR sample adding microboard colorimetry were 0.19% and 0.15% respectively. 1 case of cold autoantibodies was detected by the micro plate method, but which was negative by the automatic blood analyzer method. 1 cases of anti-E, 1 case of anti-Leb, 2 case of anti-P1 and 1 case of cold autoantibodies were detected out by the automatic blood analyzer method, whereas no agglutination was detected by the micro plate method. **Conclusion** The automatic blood analyzer is better than the micro plate method in the irregular antibody screening, and easier to find the positive antibody in salt water agglutination test, which has a wider application space in the safety of clinical blood use.

【Key words】 automatic blood analyzer; STAR sample adding microboard colorimetry; irregular antibody screening; O cell agglutination

健康人群中大约 0.3%~2.0% 的人存在不规则抗体,血型抗体是引起溶血性输血反应的主要因素^[1-2]。为保证临床用血安全,对献血者开展不规则抗体筛查是十分必要的^[3-4]。通过检测可以测定是否存在针对红细胞抗原的相关抗体^[5]。本血站于 2014 年 3 月起采用 PK7300 全自动血型分析仪对 12 337 例献血者样本进行不规则抗体筛查,同时用 STAR 加样微板手工比色法进行平行实验。O 细胞(Oc)凝集的样本送血型室进行抗体鉴定。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2014 年 3~10 月本站采集的无偿献血者全血标本 12 337 人份(5 毫升/份,肝素钠抗凝),3 000 r/min,离心 12 min 后检测。

1.2 仪器与试剂 血样本离心机(德国 Hettich, ROTIXA50S),全自动血型分析仪(Beckman Coulter PK7300),16 μ m 阶梯微孔板(贝克曼库尔特, P3 板),全自动加样器(瑞士 HAMILTON, STAR),U 型板(烟台摩尔, 96 孔板),医用低速离心机(河北省安新县白洋离心机厂, 52A 型),振荡孵育器(奥地利, Anthos),酶标仪(奥地利, Zenyth340),人 ABO 血型反定型用红细胞试剂盒(上海血液生物医药有限责任公司, 批号 20145307、20145310、20145311),血型鉴定及不规则抗体筛查质控品(北京金豪制药股份有限公司, 批号 20140402、20150513)。

1.3 方法

1.3.1 全自动血型分析仪法 根据微孔板红细胞凝集法原理,全血标本(5 毫升/份)和质控品 QC1、QC2(10 毫升/份),以 3 000 r/min 离心 12 min,采用 12 $\times$ 10 孔阶梯型微孔板,样本经血型仪自动条码阅读,加样,样本分配,试剂分配,置仪器本身孵育器内温度(30 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C 孵育 60 min,通过 CCD 图像分析技术和电脑数据处理,分析判定、传输打印结果。血型检测时,每块板布局依次为 REF(盐水对照, 阴性)、抗-D、抗-A、抗-B、Ac、Bc、Oc,每块板检测 10 个样本。判断是否发生凝集的三个参数有 SPC:凝集(SPC<10),可疑(SPC=10),不凝集(SPC>

^{*} 基金项目:首都卫生发展科研专项资助项目(首发 2014-4-7086)。
作者简介:李琳琳,女,本科,主管检验师,主要从事血型血清学及免疫学研究工作。 [△] 通讯作者, E-mail:limeilin08@163.com。

10);P/C:凝集(P/C<30),可疑(P/C 为 15~30),不凝集(P/C>15);LIA:凝集(LIA<300),可疑(LIA 为 100~300),不凝集(LIA>100)。血型仪经过 CCD 系统图像数字化处理后,经上述三种参数综合判断是否发生凝集,得出结果。以 SPC 为优先,当另外两个参数值为可疑时,由 SPC 值判断结果。若 SPC 值可疑时,该样本送交血型室进行鉴定。

1.3.2 STAR 加样微板手工比色法 简称微板法。根据微孔板红细胞凝集法原理,用 96 孔 U 型微孔板,经 STAR 加样仪处理样本和试剂。加样本血浆 50 μL,Oc 试剂 50 μL,经平板离心机 1 700 r/min 离心 3 min 后,置于孵育振荡器:时间 4 min;Accel:1;振荡:1 200 r/min,完成后静置 2 min,使用酶标仪比色,进行结果判读。cut off 值为:OD 值 0.6。质控品 QC1、QC2 加样方法同样本。

2 结 果

2.1 全自动血型分析仪法与微板法 Oc 凝集对比试验结果 12 337 例献血者样本,经全自动血型仪法检出 Oc 凝集 24 例,

表 2 全自动血型分析仪法与微板法 Oc 凝集发现的不规则抗体血型室鉴定结果 (n,n=12 337)

方法	总数	抗-M	抗-E	抗-Leb	抗-P1	抗-I	冷自身抗体	假凝集	未检出不规则抗体
全自动法	24	5	3	3	2	1	3	3	4
微板法	17	5	2	2	0	1	2	2	3

3 讨 论

目前国内血站的血型及不规则抗体检测大多采用的是加样器加样 U 型微孔板手工比色法,试验的各个环节均需人工来完成,较易受外力与人为因素的影响^[6]。使用微板法对献血者进行不规则抗体初筛,虽然可以进行大批量样本检测,但其反应介质为盐水,实验在室温即可进行,使一些弱的凝集或稀有抗体并不能被检测到。为了使献血者血型和不规则抗体的鉴定结果更加准确可靠,本研究将全自动法与微板法进行了平行实验。

本研究结果显示,在 12 337 份献血者标本中,全自动血型分析仪法与 STAR 加样微板手工比色法对 Oc 检出率分别为 0.19%(24 例)和 0.15%(17 例)。微板法检出的 1 例冷自身抗体,全自动血型分析仪法结果为阴性。全自动血型分析仪法检出的 1 例抗-E、1 例抗-Leb、2 例抗-P1、1 例冷自身抗体,微板法均未检出凝集。其中 2 例抗-P1 均为 IgM 性质的 37℃有反应性抗-P1 抗体。37℃有反应性抗-P1 抗体对 Oc 在常温下无反应,而全自动法加样后孵育(30±1)℃,60 min。因此,微板法会漏检此抗体,可能引起临床受血者发生迟发性溶血性输血反应。在冷自身抗体检出方面,两种方法各漏检 1 例。冷凝集素是一种自身抗体,健康者血清中的冷凝集素效价在 4℃时一般不超过 1:16,<4℃时才有活性,产生凝集现象,当温度达到 22℃或 37℃时一般不会出现凝集现象^[7]。本研究全自动法未检出的 1 例冷自身抗体效价为 1:4,冷凝集素的凝集能力随着温度的升高而降低,因此造成漏检。抗-M 抗体为天然抗体,检出率最高(20.8%),与其他文献报道一致^[8]。由此可见,全自动血型分析仪用于不规则抗体筛查的灵敏度优于微板法,更易发现盐水介质凝集试验阳性的抗体,从而保障血液更安全。

全自动血型分析仪的试剂使用量仅为 25 μL,试剂成本方面明显优于微板法。全自动血型检测仪对每一份标本的血型鉴定,均设有一个质控监测,可监测假凝集的发生,提高了实验的特异性,且兼具重复性好,试验过程自动化,规范化和标准化,鉴定结果可靠,全程自动记录备份、CCD 拍照存档、原始数

STAR 加样微板手工比色法检出 Oc 凝集 17 例。见表 1。

表 1 全自动血型分析仪法与微板法 Oc 凝集对比试验结果 (n=12 337)

方法	QC1	QC2	Oc 凝集 [n(%)]	不规则抗 (n)	IgM 抗体 (n)	IgG 抗体 (n)
全自动法	—	2+	24/12 337(0.19)	24	14	3
微板法	—	1+	17/12 337(0.15)	17	10	2

2.2 全自动血型分析仪法与微板法 Oc 凝集发现的不规则抗体血型室鉴定结果 微板法检出的 1 例冷自身抗体,全自动血型分析仪法结果为阴性。全自动血型分析仪法检出的 1 例抗-E、1 例抗-Leb、2 例抗-P1、1 例冷自身抗体,微板法均未检出凝集。其中 2 例抗-P1 均为 IgM 性质的 37℃有反应性抗-P1 抗体。见表 2。

据长期保存,便于结果查询等优点,每小时 300 人份的检测速度更适用于血站大批量标本的处理^[9-10]。由此可见,全自动血型仪更容易实现相关检测,在完善献血者筛查项目,保证临床用血安全方面较微板法具有更广阔的开发应用空间。

参考文献

[1] 杨秀华,杨惠宽,黄建云,等.不规则抗体筛查分布及其临床意义[J].中国输血杂志,2014,27(9):899-902.
[2] 吕学琴,尹向丽.健康献血者不规则抗体筛查在临床输血中的意义[J].检验医学与临床,2013,8(15):1948-1949.
[3] 李雪英,闫晓鹏,王林,等.两种方法检测患者不规则抗体的效果分析[J].实用医学杂志,2011,27(16):3049.
[4] 崔秀娟.临床不规则抗体筛查在输血前的应用[J].中国医药指南,2012,10(25):145-146.
[5] 侯治兵,张艳,陈海涛.抗体筛查在献血者血液检测中的应用及结果分析[J].实用医学杂志,2010,26(8):1442.
[6] 周国平,周喆,向东,等.全自动血型分析仪应用于献血者血型筛查[J].中国输血杂志,2011,24(5):395-398.
[7] 王平,杨克坚,罗月明.献血者 ABO 血型反定型 O 细胞凝集原因分析[J].热带医学杂志,2009,9(5):559-560.
[8] 李敏芳,曹奎杰,胡丽华.意外抗体对 ABO 血型鉴定的干扰[J].临床血液学杂志:输血与检验,2013,26(6):848-849.
[9] 马幼丽,陆贤吉.全自动血型分析仪在血型鉴定、不规则抗体筛选中的应用[J].中国卫生检验杂志,2014,24(4):534-535.
[10] 郑小凡,祝宏,吴亚玲,等.应用 Olympus PK 7200 血型仪筛查献血者意外抗体[J].中国输血杂志,2009,22(1):48-49.