

低离子强度盐溶液在交叉配血试验和不规则抗体检测中的应用

朱立新 许瑞军

作者单位: 831100 新疆昌吉, 新疆医科大学第一附属医院昌吉分院输血科(朱立新)

831800 新疆奇台, 新疆维吾尔自治区奇台县疾病预防控制中心(许瑞军)

通讯作者: 朱立新, Email: 13579600586@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2018.01.012

【摘要】 目的 研究一种低离子强度盐溶液的配方,并探讨其在微柱凝集法交叉配血试验和不规则抗体检测试验中的应用及影响因素。**方法** 利用生理盐水、低离子强度盐溶液,分别对 2015 年 10 月—2016 年 12 月在新疆医科大学第一附属医院昌吉分院住院与门诊申请输血和手术备血的 3 125 例受血者和 3 125 例供血者用长春博迅生物技术有限责任公司提供的抗人球蛋白检测卡进行凝集配血试验,并与瑞士达亚美 2 号稀释液(ID-Diluent 2)对相同的受血者和供血者在达亚美提供的微柱凝集卡进行凝集配血试验对比;同样利用生理盐水、低离子强度盐溶液分别对 6 250 例不规则抗体筛选标本用长春博迅生物技术有限责任公司提供的抗人球蛋白检测卡进行不规则抗体筛查,并与瑞士达亚美 2 号稀释液对相同的样本在达亚美提供的微柱凝集卡进行不规则抗体筛查结果对比。**结果** 用低离子强度盐溶液配制的红细胞悬液进行交叉配血,其中阳性 58 例(1.9%),阴性 3 067 例(98.1%),与达亚美的检测结果完全相同;用生理盐水配制的红细胞悬液进行交叉配血,其中阳性 33 例(1.1%),阴性 3 092 例(98.9%)。用低离子强度盐溶液配制的红细胞悬液进行不规则抗体筛查,其中阳性 62 例(0.992%),阴性 6 188 例(99.008%),与达亚美的检测结果完全相同;用生理盐水配制的红细胞悬液进行不规则抗体筛查,其中阳性 42 例(0.672%),阴性 6 208 例(99.328%)。低离子强度盐溶液介质的红细胞悬液与生理盐水介质的红细胞悬液交叉配血及抗筛检测的反应强度比较,差异均有统计学意义[交叉配血:反应强度 1+ 占 6.9%(4/58)比 42.4%(14/33),反应强度 2+ 占 24.1%(14/58)比 33.3%(11/33),反应强度 3+ 占 41.4%(24/58)比 9.1%(3/33),反应强度 4+ 占 27.6%(16/58)比 15.2%(5/33);不规则抗体筛查:反应强度 1+ 占 9.7%(6/62)比 38.1%(16/42),反应强度 2+ 占 22.6%(14/62)比 33.3%(14/42),反应强度 3+ 占 41.9%(26/62)比 9.5%(4/42),反应强度 4+ 占 25.8%(16/62)比 19.0%(8/42),均 $P < 0.05$]。**结论** 低离子强度盐溶液用于微柱凝集法交叉配血试验的敏感性高、特异性强、结果稳定,适用于临床输血前交叉配血试验及抗筛试验的血清学检测。

【关键词】 低离子强度盐溶液; 凝集反应; 血型鉴定; 交叉配血; 不规则抗体检测

Application and discussion of low ionic strength salt solution in cross matching blood test and irregular antibody detection

Zhu Lixin, Xu Ruijun. Department of Blood Transfusion, Changji branch of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Changji 831100, China (Zhu LX); Qitai County Center for Disease Control and Prevention Laboratory, Qitai 831800, Xinjiang, China (Xu RJ)

Corresponding author: Zhu Lixin, Email: 13579600586@163.com

【Abstract】 Objective To study a formulation of low ionic strength salt solution and discuss its application and influencing factors in micro column agglutination cross matching blood test and irregular antibody screening test. **Methods** From October 2015 to December 2016, 3 125 blood recipients planning for blood transfusion and for surgical blood preparation and 3 125 blood donors in Changji Branch of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, including inpatients and outpatients, received agglutination cross matching blood tests in which normal saline and low ionic strength saline solution were used respectively to prepare the red blood cell (RBC) suspensions, and the anti-human globulin test card provided by Changchun Boxun Biotechnology Co. Ltd. was applied to carry out the tests; by the similar way, the Swiss DiaMed diluent 2 (ID-Diluent 2) was used to make RBC suspensions for above recipients and donors to perform agglutination matching blood tests using the micro column

gel card provided by DiaMed. The blood matching results of above two ways of performing the tests were compared. Similarly, normal saline and low ionic strength saline solution were applied respectively for irregular antibody screening samples from 6 250 cases to make RBC suspensions and anti-human globulin test card provided by Changchun Boxun Biotechnology Co. Ltd. was used to carry out the irregular antibody screening tests, and the test results were compared with those obtained from the irregular antibody screening tests performed on the same cases using Swiss DiaMed diluent 2 and the micro column gel card provided by DiaMed. **Results** There were 58 positive (1.9%) and 3 067 negative (98.1%) test results in the cross matching blood tests using low ionic strength salt solution to prepare RBC suspension, and the results were completely identical to those of DiaMed test results; thirty-three positive (1.1%) and 3 092 negative (98.9%) cases were the results of cross matching blood tests using normal saline to perform RBC suspension. In the results of irregular antibody screening tests utilizing low ionic strength salt solution to prepare RBC suspension, there were 62 positive (0.992%) and 6 188 negative (99.008%) cases, and the results were completely identical to those obtained from DiaMed method. There were 42 positive (0.672%) and 6 208 negative (99.328%) cases, when normal saline was used to prepare RBC suspension to perform irregular antibody screening tests. The comparisons of reaction intensity results between using low ionic strength salt solution and normal saline to make RBC suspensions in either cross matching blood test or irregular antibody screening test showed significant differences statistically [Cross blood matching: The reaction intensity 1+ accounted for 6.9% (4/58) vs. 42.4% (14/33); the reaction intensity 2+, 24.1% (14/58) vs. 33.3% (11/33); the reaction intensity 3+, 41.4% (24/58) vs. 9.1% (3/33); the reaction intensity 4+, 27.6% (16/58) vs. 15.2% (5/33). Irregular antibody screening: The reaction intensity 1+ accounted for 9.7% (6/62) vs. 38.1% (16/42); the reaction intensity 2+, 22.6% (14/62) vs. 33.3% (14/42); the reaction intensity 3+, 41.9% (26/62) vs. 9.5% (4/42); the reaction intensity 4+, 25.8% (16/62) vs. 19.1% (8/42); all $P < 0.05$]. **Conclusion** Low ionic strength salt solution used in micro column agglutination cross matching blood test has the characteristics of high sensitivity, strong specificity and stable results. It is clinically suitable for the serological detection of pre-transfusion cross matching blood test and antibody screening test.

【Key words】 Low ionic strength salt solution; Agglutination reaction; Blood type identification; Cross blood matching; Irregular antibody detection

不规则抗体是引起临床输血反应的主要原因之一^[1-2]。为确保临床输血安全,要求对既往有输血、妊娠、血液病史^[3-4]的所有受血者和供血者等都常规检测不完全抗体以及受血者和供血者交叉配血是否相容^[5]。1984 年 Yves lapierre 博士发明了微柱凝胶技术,1988 年瑞士达亚美公司将专利产品推向市场。这一技术是基于游离红细胞和聚集红细胞能否通过具有分子筛作用的凝胶颗粒构成的胶体介质的原理,从而使不同状态的红细胞得以分离,是一种在微柱管中用凝胶介质进行的凝集反应。微柱凝胶广谱抗人球蛋白试剂检测卡是微柱凝胶技术和抗人球蛋白试验方法相结合的新型产品,近年来在国内外得到广泛应用。在日常工作中,对于交叉配血的红细胞悬液或不规则抗体筛选谱的红细胞悬液,是用生理盐水还是低离子强度盐溶液配制的问题,似乎并未引起多数业务人员的足够重视,而其对微柱凝集法试验结果的影响,也未有太多报道。对此,本研究收集本院 3 125 例受血者交叉配血及不规则抗体筛选标本和 3 125 例供血者的血液标本,分别用生理盐水、低离子强度盐溶液配制的红细胞悬液进行微柱凝集法交叉配血和抗筛试验,探讨两种红细

胞配制方法在微柱凝集法交叉配血试验和不规则抗体检测中的影响。

1 材料与方法

1.1 检测对象 收集 2015 年 10 月—2016 年 12 月本院 3 125 例门诊与住院申请输血和手术备血患者(受血者)的交叉配血标本和红细胞不规则抗体检测标本,以及 3 125 例供血者的血液标本,其中受血者血样于输血前 3 d 内采集。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 微柱凝集卡(IgG+C3d 检测卡)和 2 号稀释液(ID-Diluent 2)为瑞士达亚美公司产品;低离子强度盐溶液和抗人球蛋白检测卡为长春博迅生物技术公司产品;生理盐水为四川科伦药业股份有限公司产品。仪器为瑞士达亚美公司微柱凝胶卡专用孵育器及离心机、长春博研医用离心机。

1.2.2 低离子强度盐溶液的配制 将 NaCl、甘氨酸、葡萄糖和磷酸盐按设定的比例混合,加入防腐剂后,调整 pH 至 6.6~6.8。

1.2.3 交叉配血试验 用 EDTA-K2 抗凝管采集患者血液 2.0~3.0 mL,以 3 000 r/min(离心半径为 12 cm),离心 5 min 后分离血浆。取受血者与供血

者红细胞,分别用生理盐水、低离子强度盐溶液配成 0.8% 的红细胞悬液。抗人球蛋白检测卡主侧管加入受血者血浆 50 μ L 和供血者 0.8% 的红细胞悬液 50 μ L,次侧管中加入供血者血浆 50 μ L 和受血者 0.8% 的红细胞悬液 50 μ L,置 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,用长春博研医用离心机离心 5 min,观察结果。用达亚美 2 号稀释液配制的 0.8% 红细胞悬液,达亚美微柱凝胶卡主侧管加入受血者血浆 25 μ L 和供血者的 0.8% 红细胞悬液 50 μ L,次侧管中加入供血者的血浆 25 μ L 和受血者的 0.8% 红细胞悬液 50 μ L,置 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,达亚美专用离心机离心 10 min,观察并记录交叉配血结果。

1.2.4 不规则抗体筛检 用无添加剂的普通管采集受血者血液 3.0~4.0 mL,以 3000 r/min(离心半径为 12 cm),离心 5 min 后分离血清,将筛选谱红细胞分别用生理盐水、低离子强度盐溶液配成 0.8% 的红细胞悬液。分别在标记好的抗人球蛋白检测卡微管中加入筛选谱红细胞各 1 滴(或 50 μ L),后立即加入被检者血清 1 滴(或 50 μ L),置 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,用长春博研医用离心机离心 5 min,观察结果。用达亚美 2 号稀释液将谱红细胞配制成 0.8% 的红细胞悬液,分别在标记好的达亚美微柱凝胶卡微管中加入筛选谱红细胞各 1 滴(或 50 μ L),之后立即加入被检者血清 25 μ L,置 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,用达亚美专用离心机离心 10 min,观察并记录抗筛结果。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析,计数资料以率或百分比表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种介质红细胞悬液交叉配血和抗体筛检结果阳性率比较 6250 份交叉配血标本用低离子强度盐溶液配制红细胞悬液,微柱凝集法交叉配血,检测出现 58 例阳性反应;用生理盐水配制的红细胞悬液检测出现 33 例阳性反应。6250 份红细胞不规则抗体检测标本(含 3125 份供血者血样)用低离子强度盐溶液配制红细胞悬液,微柱凝集法进行抗体筛检,检测出现 62 例阳性反应;用生理盐水配制的红细胞悬液检测出现 42 例阳性反应。两种介质红细胞悬液交叉配血、抗体筛检结果阳性率比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 1 和表 2。

2.2 两种介质红细胞悬液交叉配血和抗体筛检反应强度比较 在微柱凝胶卡的反应凝集强度用生理盐水配制的红细胞悬液较低离子强度盐溶液配制的

红细胞悬液敏感性明显降低,尤其在(3+)~(4+)的凝集反应强度下,低离子强度盐溶液法较生理盐水法检测敏感性明显升高,提高了反应强度,增加了检测的准确性。两种介质红细胞悬液交叉配血、抗筛检测反应强度比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 3 和表 4。

表 1 生理盐水和低离子强度盐溶液两种介质红细胞悬液交叉配血试验结果比较

介质	阳性(例)		阴性(例)
	主侧阳性	次侧阳性	主次测均为阴性
达亚美(对照)	7	51	3 067
生理盐水	3	30	3 092
低离子强度盐溶液	7	51	3 067
χ^2 值	7.146		-
P 值	< 0.05		-

注:-表示无此项

表 2 生理盐水和低离子强度盐溶液两种介质红细胞悬液不规则抗体筛查结果比较

介质	阳性(例)			阴性(例)
	I 管阳性	II 管阳性	III 管阳性	3 管均为阴性
达亚美(对照)	19	21	22	6 188
生理盐水	14	16	12	6 208
低离子强度盐溶液	19	21	22	6 188
χ^2 值	3.846			-
P 值	< 0.05			-

注:-表示无此项

表 3 生理盐水和低离子强度盐溶液两种介质红细胞悬液交叉配血试验反应强度比较

介质	例数 (例)	反应强度[例(%)]			
		1+	2+	3+	4+
生理盐水	33	14(42.4)	11(33.3)	3(9.1)	5(15.2)
低离子强度盐溶液	58	4(6.9) ^a	14(24.1) ^a	24(41.4) ^a	16(27.6) ^a

注:与生理盐水组比较,^a $P<0.05$

表 4 生理盐水和低离子强度盐溶液两种介质红细胞悬液不规则抗体筛查反应强度比较

介质	例数 (例)	反应强度[例(%)]			
		1+	2+	3+	4+
生理盐水	42	16(38.1)	14(33.3)	4(9.5)	8(19.0)
低离子强度盐溶液	62	6(9.7) ^a	14(22.6) ^a	26(41.9) ^a	16(25.8) ^a

注:与生理盐水组比较,^a $P<0.05$

3 讨论

低离子强度盐溶液主要由葡萄糖,NaCl,甘氨酸及防腐剂等组成。由于低离子强度盐溶液可降低介质的离子强度,且降低红细胞的 Zeta 电位可增加抗原抗体结合^[6-7],从而使原来在盐水介质中不能凝集红细胞的抗体发生凝集。交叉配血试验和不规则抗体筛检试验的阳性检测率在低离子强度盐溶液介质中均显著增加,检测结果的准确性明显提高。

本研究的检测结果说明,用低离子强度盐溶液稀释红细胞时,其检测灵敏度明显高于用生理盐水。我们认为,低离子强度盐溶液用于微柱凝集法交叉配血试验和不规则抗体筛检有很多优点:①使用低离子强度盐溶液稀释红细胞,可使抗原抗体的结合能力增强,大大减少了孵育时间,使输血相关试验的检测效率增加^[8];②增加了不规则抗体的检出率,尤其是弱抗体或低浓度抗体的检出率,提高了输血安全性;③提高了微柱凝集法交叉配血和抗筛检测试验的敏感性,且结果稳定^[2,9-10]。值得注意的是,低离子强度盐溶液并不适合用作红细胞储存溶液,红细胞在低离子强度盐溶液的储存时间超过 12 h 后,会耗损部分抗原。在配制红细胞悬液时还需注意红细胞的稀释浓度,以便获得最佳离子强度,而改变红细胞浓度可能会影响间接抗人球蛋白试验的特异性或敏感性^[11]。采取适当的方法保存低离子强度盐溶液,也是确保交叉配血试验结果可靠性的重要手段^[12]。总之,在实际临床输血过程中,影响因素很多且无法避免^[13-15]。首先应严格按照说明书进行试验操作,以确保试验的准确性;同时应运用微柱凝集法、凝聚胺法和生理盐水法等多种方法联合配血,有助于最大限度地减少输血事故的发生,保证临床输血安全。

参考文献

- 1 王淑英,周武,汪德清.中国汉族人群通用血浆制备方法研究[J].实用检验医师杂志,2011,3(1):9-12.
- 2 李慧,徐焕铭,张毅,等.输血前患者不规则抗体筛查及鉴定结果分析[J].中国实验血液学杂志,2015,23(3):861-865.
- 3 叶有玩,何春辉,廖长征,等.联合输注冰冻单采血小板与新鲜冰冻血浆治疗急性大出血的比较[J].中华危重病急救医学,2006,18(9):563-564.
- 4 刘玲,郭凤梅,邱海波.《2004 严重感染和感染性休克治疗指南》系列讲座(5)严重感染的重组活化蛋白 C 应用成分输血和深静脉血栓预防[J].中华危重病急救医学,2004,16(11):643-645.
- 5 王立人,段方.手术备血常规 RH 抗原检测及自身输注[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(2):120.
- 6 American Association of Blood Banks. The technical manual of the American Association of Blood Banks [M]. USA: American Association of Blood Banks, 1977.
- 7 Moore HC, Mollison PL. Use of a low-ionic-strength medium in manual tests for antibody detection [J]. Transfusion, 1976, 16(4): 291-296.
- 8 周守容,邓安彦,吴春磊,等.低离子强度溶液在输血相关检验中的应用研究[J].国际检验医学杂志,2013,34(22):3063-3064.
- 9 秦立红,蒋利星.微柱凝胶法配血试验 2 316 例结果分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(4):500-502.
- 10 李慧,徐焕铭,张毅,等.输血前患者不规则抗体筛查及鉴定结果分析[J].中国实验血液学杂志,2015,23(3):861-865.
- 11 苏秀琼,陈奕霞,蓝建崇,等.不规则抗体筛查对提高临床输血安全的价值研究[J].检验医学与临床,2014,11(4):448-449,452.
- 12 周鹏,朱倩雯.低离子溶液不同保存方法对微柱凝胶配血试验的影响[J].国际检验医学杂志,2014,35(7):912-913,914.
- 13 张时民.一例严重冷凝集样本的血常规检验解决方案[J].实用检验医师杂志,2011,3(2):122-124.
- 14 张勇萍,安宁,杨世明,等.血型不规则抗体的筛查和抗体特异性分析[J].细胞与分子免疫学杂志,2014,30(9):980-982.
- 15 罗红敏.严重创伤患者成分输血比例对患者预后的影响:一项多中心随机对照试验[J].中华危重病急救医学,2016,28(3):261.

(收稿日期:2017-12-04)

(本文编辑:张耘菲)

消 息

2018 上海国际临床检验设备及用品展览会

CEEP 2018 上海国际临床检验设备及用品展览会是国内具有专业特色和实力的,集中展示生产、研发和经营单位产品的商业性展览会。同时也是行业内人士加强友谊、销售和询求产品的重要平台,在业内产生了广泛影响。随着引进标准化和国际化的管理,展会的规模逐年扩大,逐步引起了同行业的关注和参展。会议由中华医学交流学会、上海聚亿展览服务有限公司共同筹办,定于 2018 年 7 月 11 日—13 日在上海世博展览馆隆重举行。

主办单位: 中华医学交流学会,中国医疗卫生行业协会,上海聚亿展览服务有限公司

支持单位: 中华医学会检验分会,中国医师协会检验分会,中国医师协会输血分会,中国输血协会临床输血专业委员会

承办单位: 上海聚亿展览服务有限公司

日程安排: 报到布展:2018 年 7 月 9 日—10 日

开幕式:2018 年 7 月 11 日(9:00~9:30)

展览:2018 年 7 月 11 日—13 日

撤展:2018 年 7 月 13 日下午