·论　　著·

新型血小板毛细管交叉配型法探讨

罗乾元△
（四川省巴中市中心医院检验科　636000）

摘　要：目的　建立一种简便、易行的新型血小板交叉配型法。**方法**　将受者血浆和供者血小板在试管中混匀并加入适量助色剂，吸入毛细管中孵育 10 min。以微柱凝胶检测试验（MGT）作为对照试验方法。**结果**　血小板配血不符时，因血小板凝集导致混合液不易从毛细管中挤出，且挤出时在生理盐水中呈蓝色条带状；血小板配型相符时，混合液能较为容易地从毛细管中挤出，且挤出后在生理盐水中迅速散开，无蓝色条带形成。检测结果与 MGT 一致。**结论**　所建立血小板毛细管交叉配型法具有一定的优点，值得进一步深入研究。

关键词：血小板；　血型鉴定和交叉配型；　毛细管
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2011.12.010　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2011)12-1293-02

Introduction of a new platelet cross-matching method using capillary tube

Luo Qianyuan△
(*Department of Laboratory, Central Hospital of Bazhong City, Sichuan* 636000, *China*)

Abstract: Objective　To establish a convenient, new platelet cross-matching method using capillary tube. **Methods**　Plasma from recipient, platelet from donor and sufficient assistant fixative were mixed together in a test tube. Then the mixture was sucked into a capillary tube and incubated for 10 min. Microcolumn gel test (MGT) was performed as control method. **Results**　If platelet cros-smatching was incompatible, it was not easy to extrude the mixture form capillary tube and a clear blue band could be observed because of the agglutination of platelet. Otherwise, if plated cross-matching was compatible, is was easy to extrude the mixture from capillary tube, the extruded mixture dispersed rapidly and no blue band could be observed. The coincidence of the detected results of the two methods was 100%. **Conclusion**　The newly constructed method has certain clinical value and is worth for further investigation.

Key words: blood platelets;　blood grouping and crossmatching;　capillaries

血小板输注在临床中的应用日趋普遍，血小板交叉配型检测有利于实现合理、科学输注血小板。由于血小板的血型抗原系统十分复杂，且多次或大量输注血小板极易产生抗血小板同种抗体，再次输入含相应抗原的血小板时易出现免疫反应，导致血小板输注不良反应和输注无效[1-4]。血小板交叉配型在避免出现这一现象方面具有极其重要的作用。笔者在临床工作中发现了一种可用于血小板交叉配型、简单、易行的毛细管交叉配型法，有利于在未能开展血小板血型及其抗体检验的中小医院推广应用，现将研究结果报道如下。

1　材料与方法

1.1　主要仪器与材料　20 μL 毛细吸管及相应带孔橡皮头（保定玉山玻璃厂），37 ℃配血专用孵育仪（长春博达），微柱凝胶配血卡（长春博迅）。血小板制品由巴中市中心血站惠赠。

1.2　方法　取试管 1 支加无菌生理盐水 2 mL；另取试管 1 支，加入受检者血清（或血浆）与血小板制品 100 μL、0.5%新亚甲蓝生理盐水溶液 10 μL，混匀；将毛细吸管插入带孔橡胶皮头中，定量吸取混合液 20 μL，37 ℃微柱配血卡专用孵育仪孵育 10 min；将毛细管内混和液用挤入无菌生理盐水试管，轻摇并进行观察。同时以微柱凝胶试验（microcolumn gel test，MGT）作为对照方法。

2　结　　果

血小板混和液容易从毛细管中被挤出，蓝色混合液迅速溶于无菌生理盐水为阴性结果，可以输注。如挤出压力很大且混合物在无菌生理盐水明显呈蓝色条状，轻摇蓝色条带不消失或消失缓慢，蓝色向四周慢慢扩散为阳性，为不可输注。检测结果与 MGT 检测结果一致。

3　讨　　论

血小板毛细管交叉配型法利用血小板在抗原抗体反应诱导下产生凝集的原理，在体外模拟体内免疫反应，符合现代免疫学原理要求。如果受者体内存在抗供者血小板抗体，则会发生抗原抗体免疫反应，从而出现凝集现象。以无色透明盐水试管中的新亚甲蓝作为背景颜色，凝集现象极易观察。同时，由于毛细管内径小，血浆和毛细管内壁的表面张力大，血小板相互凝集则进一步增加液体黏度，使得在将混合液从毛细管中挤出时产生较易感受的阻力，比仅以颜色改变判断结果更为准确。由于此项技术利用了物理学中的液体表面张力，而毛细管直径过大会对液体表面张力产生影响，同时也会增加反应体系的自重，导致挤压过程中手指对阻力改变的敏感性，影响结果判断，故采用 20 μL 毛细管为宜。此技术与传统的血小板配型方法，如简易致敏红细胞血小板血清学技术（simplified sensitized erythrocyte platelet serology assay，SEPSA）和 MGT，均采用了相同的免疫学原理，不同的是后两者采用红细胞作为指示剂，且操作繁琐、成本高，难以推广应用[5-6]。血小板毛细管交叉配型法操作简单、成本低廉、设备要求低、结果易判断，但与 SEPSA 和 MGT 一样，不能完全避免因前带或后带现象导致的假阴性结果，且受血液制品体积内血小板浓度的影响较大，如果血液制品的血小板数量达不到国家规定标准[7]，在相同反应条件下，血小板凝集状态不佳，也易出（下转第 1296 页）

△　通讯作者，E-mail：sctjyylqy@sohu.com。

题：(1)这些 BSP 产物比普通 PCR 产物更难以测序，一个 BSP 产物常需多次测序才能获得成功；(2)测序结果经常在 CpG 位点部位出现套峰现象。这些表现可能与肿瘤基因组 DNA 的 BSP 产物处于杂合状态有关。

本研究仅针对 HepG2 细胞 MAGE-A3 编码基因 5′端 CpG 岛进行了探讨，采用 BSP 确定了目的片段的异常甲基化位点。针对这些异常甲基化位点，笔者拟设计一系列可用于肝癌早期诊断的探针。当然，这项技术真正应用到临床还有许多方面需要探索，还需要进一步筛查并确定 MAGE-A3 编码基因 5′端 CpG 岛的甲基化图谱，针对其中具有普遍意义的异常甲基化位点建立一套特异的检测方法，并需以大量的临床样本进行验证。

参考文献

[1] Baylin SB, Esteller M, Rountree MR, et al. Aberrant patterns of DNA methylaiton, chromatin formation and gene expression in cancer[J]. Hum Mol Genet, 2001, 10(7): 687-692.

[2] Esteller M. Epigenetics in cancer[J]. N Engl J Med, 2008, 358(11): 1148-1159.

[3] Palii SS, Robertson KD. Epigenetic control of tumor suppression[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2007, 17(4): 295-316.

[4] Antonia R, Sepulveda, Jones D, et al. CpG Methylation analysis-current status of clinical assays and potential applications in molecular diagnostics: a report of the association for molecular pathology[J]. J Mol Diagn, 2009, 11(4): 266-278.

[5] 蔡胜利，赵海涛，冷希圣，等. 黑色素瘤抗原-3 基因在肝细胞癌中的研究[J]. 中华外科杂志，2000，38(9)：693-696.

[6] Chan MW, Chu ES, To KF, et al. Quantitative detection of methylated SOCS-1, a tumor suppressor gene, by a modified protocol of quantitative real time methylation-specific PCR using SYBR Green Ⅰ and its use in early gastric cancer detection[J]. Biotechnol Lett, 2004, 26(16): 1289-1293.

[7] 董林，沈佐君. DNA 甲基化与肿瘤的侵袭和转移[J]. 国际检验医学杂志，2009，30(2)：132-134.

[8] 赵玉凤，李摇锋，曹玉文，等. 乳腺癌相关基因启动子甲基化的研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志，2010，26(3)：350-352.

[9] 马全，武正炎，查小明，等. Mage-A3 抗原肽负载 DC 过继免疫治疗乳腺癌的实验研究[J]. 实用临床医药杂志，2006，10(2)：2-4.

[10] Atanackovic D, Altorki NK, Stockert E, et al. Vaccine-induced CD4+ T cell responses to MAGE-3 protein in lung cancer patients[J]. J Immunol, 2004, 172(5): 3289-3296.

[11] 桑梅香，单保恩，耿翠芝，等. 肿瘤抗原 MAGE-A4 在乳腺癌组织和细胞系中的表达及其作用[J]. 肿瘤防治研究，2010，37(4)：407-410.

[12] 陈红松，覃柳亮，丛旭，等. 肿瘤特异性肿瘤睾丸抗原在肝癌组织中的表达[J]. 中华肝脏病杂志，2003，11(3)：145-148.

[13] Ueki T, Walter KM, Skinner H, et al. Aberrant CpG island methylation in cancer cell lines arises in the primary cancers from which they were derived[J]. Oncogene, 2002, 21(13): 2114-2117.

[14] Paz MF, Fraga MF, Avila S, et al. A systematic profile of DNA methylation in human cancer cell lines[J]. Cancer Res, 2003, 63(5): 1114-1121.

[15] Qiu G, Fang J, He Y. 5′CpG island methylation analysis identifies the MAGE-A1 and MAGE-A3 genes as potential markers of HCC[J]. Clin Biochem, 2006, 39(3): 259-266.

(收稿日期：2011-01-10)

(上接第 1293 页)

现假阴性结果。本研究采用玻璃制品作为反应容器，理论上有可能固相激活内源性凝血途径，进而依次激活外源性凝血途径、共同凝血途径、凝血酶和血小板，并最终因纤维蛋白形成而产生混合液凝固的现象，导致假阳性结果[8-10]。但该凝固过程中，多种凝血因子的激活都依赖于钙离子，在缺乏钙离子时，个别凝血因子即使被激活也不能导致混合液的凝固[10]。本研究以 3.8%枸橼酸盐抗凝血浆作为反应成分之一，此时血液中的钙离子已与枸橼酸盐形成螯合物，可明显降低血浆中的钙离子浓度[11-12]，使得凝血因子无法被激活，可避免因内源性或外源性凝血途径被激活所导致的混合液凝固，进而避免了由此所导致的假阳性结果。因此，血小板毛细管交叉配型法中出现的混合液流体阻力增大的现象与凝血途径被激活无关，仅与抗体和血小板间的免疫反应有关。采用血清标本进行血小板毛细管交叉配型时，因血清中不含纤维蛋白原，因此，可排除因凝血因子或血小板被激活而形成纤维蛋白对检测结果的影响。如果血制品标本不合格，理论上也有可能因标本自凝而出现假阳性结果，因此确保血制品质量十分重要。受标本量的限制，笔者未能以对血小板毛细管交叉配型法进行大量重复性研究，因此虽然本次试验中血小板毛细管交叉配型法与 MGT 的检测结果完全相符，但尚可能存在未能发现的问题。本项研究仅能为广大同行提供新的研究思路和试验探讨，望广大同行能够针对该方法的应用进行相关试验研究、结果统计和分析，以期为临床提供更为科学、有效的配型方提供参考意见。

参考文献

[1] Metcalfe P, Watkins NA, Ouwehand WH, et al. Nomenclature of human platelet antigens[J]. Vox Sang, 2003, 85(3): 240-245.

[2] 蒋灵霓. 成分输血的组成、储存及临床应用[J]. 国际检验医学杂志，2010，31(8)：846-848.

[3] 高加良，周琼秀，丁显平. 血小板配型在临床血小板输注无效中的应用[J]. 国际检验医学杂志，2006，27(12)：1152，F3.

[4] 赵惠彦. 血小板配型的现状及研究进展[J]. 现代保健：医学创新研究，2008，5(6)：26.

[5] 李勇，张利身. 血小板配型：微柱凝胶免疫检测[J]. 中国免疫学杂志，2000，16(4)：227.

[6] 李执如，廉维，宿兰. 血小板抗原多态性和配型输注[J]. 现代临床医学，2007，33(2)：143-145.

[7] 陈志新，陈建森. SYSMEX XE-2100 血液分析仪激光散射法计数血小板的可靠性评价[J]. 国际检验医学杂志，2010，31(5)：518-519.

[8] 鞠萍，张茂海. 不同检测系统测定纤维蛋白原结果的可比性分析[J]. 国际检验医学杂志，2010，31(2)：195，198.

[9] 孙振华，孔红，肖琪. 浅谈凝血四项检测的质量控制[J]. 医学信息，2011，24(2)：469-470.

[10] 张鑫，沈志滨. 凝血酶激活的纤溶抑制物的临床应用进展[J]. 重庆医学，2010，39(23)：3276-3278.

[11] 韩德智，张建荣，石小霞，等. 影响离子钙检测因素的研究[J]. 中国误诊学杂志，2001，1(5)：666-667.

[12] 曾平，刘虹，刘运双. 真空采血管内添加物对常见生化项目测定结果的影响[J]. 四川医学，2010，31(7)：993-995.

(收稿日期：2010-11-26)