

度比 B 厂家低。由于 ELISA 测定通常的批间 CV 约为 20%，有研究发现的抗-HCV 阴性，但 RIBA 单片段阳性和 HCV RNA 阳性的血液标本其 S/CO 值均在 0.8~0.9 之间，为了减少输血后 HCV 感染的发生，有必要将抗-HCV ELISA 测定的 cut off 值下移 20%，因为 S/CO 比值接近 cut off 值的血液有很大可能为 HCV 感染者^[7-8]，实际上所有感染的个体均经过了灰带区。C 厂家两批号抗-HCV 试剂(20071115、20080301)对 2 NCU/mL 参考品血清的 Cut off 值分别为：0.312 和 0.308 下移 20%，对于 1：4 稀释度(0.5 NCU/mL)的 OD 值 0.250 和 0.263，将会出现阳性结果。因此，建议血站在筛检献血者血液时，可将抗-HCV ELISA 的 cut off 值下移 20%，这对于灵敏度相对较差但批批检定合格的试剂来说，可一定程度减少 HCV 经输血的传播。

批批检定只是试剂进入市场的“过关评价”，是试剂质量的最低要求。免疫诊断试剂是一种生物制品，具有生物活性，影响质量的因素，如选用包被成分不同、生产工艺各异、试剂储藏和运输，有效期等较多，从试剂生产者到操作者，中间任何环节出现问题都会影响试剂质量。有研究表明，利用不同厂家试剂两两组合后灵敏度均能提高 98.6%，甚至达到 100%^[9]。2006 年颁布的《血站质量管理规范》明确规定血站必须对试剂进行评审、质量控制，利用血清考核盘对试剂灵敏度、特异性进行评估，从中选出最佳的初、复检试剂组合尽可能降低经输血感染 HBV、HCV 的概率。

• 检验试剂评价 •

三家单克隆抗 A(B)血型试剂的质量分析

杨 夏¹，王晓岚²

(1. 新疆乌鲁木齐兵团中心血站质管科 830002; 2. 新疆医科大学第一附属医院检验科, 乌鲁木齐 830002)

摘 要:目的 检测 3 家国产单克隆抗 A(B)试剂质量, 观察其对 ABO 血型检测的影响。方法 测定 3 家单克隆抗 A(B)试剂效价、亲和力、特异性、冷凝素、不规则抗体、溶血活性、试剂容量及细菌监测情况。结果 I 公司试剂各项检测结果都优于其他公司, 其产品效价最高, 亲和力好, II 公司和 III 公司效价相同, 均高于国家标准要求, II 公司亲和力未达标, III 公司亲和力处于标准的边缘。3 家公司试剂的特异性、冷凝素、不规则抗体、溶血活性、试剂容量和细菌监测检测情况均合格。结论 目前市场销售的单克隆抗 A(B)血型定型试剂总体质量尚可, 但存有差异。购买单克隆抗 A(B)试剂前应进行性能评估; 已使用的试剂宜及早补做亲和力测定; 使用期间应定期测定其效价和亲和力; 血型鉴定必须用 ABO 反定型试验复核。

关键词: ABO 血型系统; 质量控制; 单克隆试剂; 抗 A(B)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.21.049

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)21-2530-03

随着现代生物科技的发展, 多克隆抗 A(B)由于种种原因已少有使用, 单克隆抗 A(B)试剂替代多克隆抗 A(B)的角色成为 ABO 血型鉴定的常规试剂。献血者及患者血型鉴定的准确性与试剂的质量密切相关。国外文献及国内文献均有报道, 单抗 A(B)试剂由于质量问题可引起 ABO 血型鉴定假阳性和假阴性的误判^[1-4]。因此, 单克隆抗 A(B)的检测性能及质量必须加以关注, 为了解不同公司生产的试剂对 ABO 血型鉴定的影响, 笔者对 3 家公司生产的单克隆抗 A(B)试剂的效价、亲和力、特异性、冷凝集素、不规则抗体、溶血活性及其他质量指标进行了检测, 现总结报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 取 A₁、A₂、A₂B、B 型各 3 名献血者红细胞, 同型

参考文献

- [1] 季阳. 免疫诊断试剂的评价//王培华. 输血技术学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 99-100.
- [2] 中国生物制品标准委员会. 中国生物制品规程 2000 年版[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 572-574.
- [3] 李金明. 临床 ELISA 试剂盒的选用和质检[J]. 临床检验信息, 1998, 5(2): 58
- [4] 单桂秋, 李秋生, 肖韶英, 等. 检测乙型肝炎表面抗原的一步法试剂的钩状效应分析[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(2): 107-108.
- [5] 陶洪群, 叶剑彪. RIBA 与 ELISA 检测血清 HBsAg 的结果比较[J]. 江西医学检验, 2002, 20(6): 323.
- [6] 姚仁南, 陈复兴, 黄晓静, 等. 两种试剂检测抗-HCV 在丙型肝炎诊断中的意义[J]. 临床输血与检验, 2009, 11(1): 21.
- [7] 穆士杰, 张献清, 孙文利, 等. 三种抗-HCV 检测试剂盒对无偿献血者筛检价值评价[J]. 第四军医大学学报, 2004, 25(12): 1123.
- [8] 邓巍, 王露楠, 李金明. 丙型肝炎病毒抗体酶联免疫吸附试验阳性判断值在献血员血液筛检中的意义[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(10): 663.
- [9] 高艳, 陈志强, 麦永平, 等. 3 组国产 ELISA 抗-HCV 初复检试剂的检测效果评价[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 7(31): 743.

(收稿日期: 2010-10-09)

混合, O 型 10 名献血者红细胞, 用生理盐水洗涤 3 遍, 并以生理盐水配成 2% 和 10% 的红细胞悬液, 4℃ 中可保存 3 d。2% 和 10% 分别用于玻璃试管法和玻片法。试剂谱细胞、抗球蛋白、抗-A₁、受检标准血清 I、II、III 3 家公司生产的单克隆抗 A(B)血型定型试剂都在有效期内, 具有国家生产批准文号及“批批检定”合格。以 4℃ 为贮存条件。

1.2 方法及判定标准

1.2.1 效价测定 将试管排成 2 行(平行测定), 每行 10 支, 每管加 1 mL 生理盐水, 将待检血清以 2 倍系列稀释, 将稀释后抗 A、抗 B 试剂从 1:32 稀释度起, 各稀释度分别取 2 管每管 0.1 mL, 加入相应红细胞 0.1 mL, 置 18~22℃ 中 15 min, 150 g 离心 1 min, 肉眼观察, 效价滴度以产生“1+”凝集的待检

血清最高稀释度便是被滴定血清的效价。2 列试管终点相同作为待检血清凝集效价,如 2 列终点相差 1 管,则以凝集效价低的为终点;如 2 列终点相差超过 1 管,则需取双倍量待检血清复试。根据国家现行标准^[5],抗 A 效价分别为:A₁ 红细胞大于 128、A₂ 红细胞大于 32、A₂B 红细胞大于 16、抗 B 效价用 B 红细胞检测大于 128。

1.2.2 亲和力测定 分别取 50 μL 待检血清置玻片上,加等体积相应 10%浓度 A₁、A₂、A₂B、B 型红细胞悬液,立即混匀成 10 mm×15 mm 左右大小面积。滴入红细胞悬液后即刻计时,记录出现肉眼可见凝集时间及 3 min 时凝块大小。连续测定 2 遍以上,取其平均值。根据国家现行标准^[5],抗 A 与 A₁ 红细胞小于或等于 15 s、A₂ 红细胞小于或等于 30 s、A₂B 红细胞小于或等于 45 s、抗 B 效价与 B 红细胞小于或等于 15 s 内开始凝集、3 min 时凝块达 1 mm² 以上者,亲和力为合格。

1.2.3 特异性、冷凝素测定、不规则抗体 取 0.1 mL 待检血清抗 A、抗 B,分别与 0.1 mL 2%浓度的 A₁、A₂、A₂B、B、O 型 2%的红细胞悬液及试剂谱细胞混匀,分别置于 4℃、室温(18~22℃)、37℃条件下孵育 30 min,每次孵育后立即 3 000 r/min 离心 15 s,肉眼观察结果,同时做红细胞悬液对照,与同型红细胞及 10 个 O 型者的红细胞都不凝集,仅与对应抗原出现凝集者,为特异性合格,且抗 A 必须能与 A₁、A₂ 型红细胞反应;在所有温度条件下,与 ABO 相容的红细胞全部不凝集,呈阴性反应者,为冷凝素测定合格;上述待检血清与试剂谱细胞混匀后,还需进行传统抗球蛋白试验,全部不凝集,呈阴性反应

者,为不规则抗体检测合格。

1.2.4 溶血活性检测 取 0.1 mL 待检血清抗 A 和抗 B,分别与 0.1 mL 2%浓度对应抗原 A(B)型试剂红细胞混匀,置 37℃孵育 10 min,3 000 r/min 离心 15 s,肉眼观察结果。出现强凝集但未发生溶血者为合格。

1.2.5 细菌检测 无菌采集待检血清 5 mL 分别接种于硫乙醇酸盐流体培养基(40 mL,32~37℃培养)、改良马丁培养基(40 mL,22~27℃培养),7 d 后观察结果。无菌生长判定为阴性。

2 结 果

2.1 外观、容量及无菌检测 3 家公司试剂说明书内容完全相同,试剂有效期不同,见表 1,抗 A(B)试剂外观:抗 A 呈蓝色透明状液体,无摇不散的沉淀或异物;抗 B 为透明状黄色液体,无摇不散的沉淀或异物;每个厂家的试剂颜色深浅不一,鲜亮程度不同、Ⅱ公司试剂颜色较深,略微影响肉眼判读结果;Ⅲ公司试剂颜色鲜亮,肉眼判读视觉效果好;Ⅰ公司试剂色泽介于两者之间。所有试剂体积均为 10 mL,符合其标示。细菌培养结果均为阴性。

2.2 抗 A(B)效价、亲和力 本次试验结果,Ⅰ公司试剂各项检测结果都优于其他公司,其效价最高,Ⅱ公司和Ⅲ公司效价相同,均高于国家标准要求;Ⅰ公司试剂亲和力好,凝集时间短、凝块大;Ⅱ公司和Ⅲ公司试剂亲和力远低于Ⅰ公司,Ⅱ公司抗 A 亲和力差,抗 B 亲和力未达标,Ⅲ公司抗 B 的亲和力处于标准的边缘,亲和力不够。试验结果见表 1。

表 1 抗 A(B)血型定型试剂检测结果

血型定型实验	抗体特异性所用红细胞	Ⅰ公司(8 个月/18 个月)*	Ⅱ公司(4 个月/12 个月)*	Ⅲ公司(7 个月/24 个月)*
效价	抗 A(A ₁ 红细胞)	512	256	256
	抗 A(A ₂ 红细胞)	128	64	64
	抗 A(A ₂ B 红细胞)	64	32	32
	抗 B(B 红细胞)	512	256	256
亲和力[s(mm ²)]	抗 A(A ₁ 红细胞)	3(>2)	13(>1)	11(>1)
	抗 A(A ₂ 红细胞)	12(>1)	22(>1)	25(>1)
	抗 A(A ₂ B 红细胞)	19(>1)	32(>1)	33(>1)
	抗 B(B 红细胞)	5(>2)	16(>1)	14(>2)

s:凝集的时间;mm²:3 min 时凝块大小;* :检测时离出厂时的时间/有效期。

2.3 特异性、冷凝素测定、不规则抗体、溶血活性 3 家公司单克隆抗 A(B)血型定型试剂的特异性、冷凝素测定、不规则抗体、溶血活性,均合格。

3 讨 论

单克隆抗 A(B)血型试剂公司根据其所用瘤株的特点^[6],会采用 3 种不同模式的生产工艺:完全细胞培养上清型、全腹腔积液型和细胞培养上清对加腹腔积液型。血型单抗的培养液及腹腔积液稀释液的配比、添加剂的种类、数量各公司也有不同,因此,会造成不同生产公司的血型试剂在性能质量方面表现不一。Butch 等^[7]认为输血前单个标本 ABO/Rh 血型检测,应该用人源多克隆试剂血清。然而现实中,人源高效价血清来源少、成本高,含有理想高效价(1:256)抗 A(B)原料的血浆仅占普通人群万分之一左右,远远不能满足临床需要量^[8],

目前市场上供应的几乎都是单克隆试剂。

通过试验可以看出 3 家公司效价均达到 1:256,但Ⅱ公司和Ⅲ公司试剂亲和力存在一些问题,在做血型鉴定中Ⅱ公司和Ⅲ公司的试剂需要延长检测时间,否则会导致操作者误判。从外观来看,Ⅰ公司试剂色泽外观适中,Ⅱ公司试剂颜色过深,不利于肉眼或仪器观察结果(如微量板在酶标仪中判读),Ⅲ公司试剂颜色鲜亮,有助于肉眼判读。据此,笔者建议国家相关部门或试剂生产公司统一标准,在不影响检测性能的前提下,选择颜色鲜亮的生产配方。

杨福军等^[9]的研究结果表明,单克隆抗体与多克隆抗体血型试剂相比,单克隆抗 A、抗 B 血型试剂虽具有生产成本低、亲和力高等优点,但其稳定性欠佳。2~8℃条件下,单克隆抗体血型试剂保存 6 个月,凝集效价无变化;当保存至 12 个月时,

凝集效价有明显下降。随着时间延长,所有单克隆抗体血型试剂效价与亲和力均有下降。为保证血型试剂质量,建议试剂出长时的效价应提高为 1:256 或更高。

根据本研究结果,目前市场销售的单克隆抗 A(B)血型定型试剂总体质量尚可,但比较分析显示,质量存有差异。建议购买单克隆抗 A(B)试剂之前进行试剂检测性能的评估;对已在使用的试剂及早补做亲和力的性能检测,摸清所用试剂检测性能情况,对亲和力存有缺陷的试剂,使用中适当延长反应时间;其次,为确保使用期间血型检测试剂质量可靠性,使用者应定期测定其效价和亲和力;在有条件的情况下,除了用 A₁、A₂、A₂B、B 型红细胞外,还应取 ABO 亚型红细胞检测验证^[10],此也是本研究的不足之处和今后研究的努力方向。献血者及患者的血型检查,必须用 ABO 反定型试验复核,对于有疑问标本的血型鉴定和吸收放散试验,应该采用人源抗 A(B),确保临床输血安全。单克隆抗 A(B)试剂日常使用应于 4℃ 保存,运输尽可能选择快递方式,并加冰块以维持冷链。为避免由于单克隆试剂本身的缺陷而造成无法弥补的后果,国家应建立严格的监督机制,加强单克隆抗 A(B)试剂生产工艺的科学管理和出厂前的质量验证。

参考文献

[1] Beck ML, Kowalski MA, Kirkegaard J, et al. Unexpected activity with monoclonal anti-B eagents[J]. *Immunohematology*, 1992, 8 (1):22-26.

[2] Scott ML, Voak D. Detection of acquired B antigen by monoclonal anti-B blood grouping reagents[J]. *Transfusion*, 1997, 37(1):103-104.

[3] 孙爱农, 邓星河, 吴晓燕. 单克隆试剂导致 ABO 定型假阳性结果的观察[J]. *广东医学*, 2000, 21(12):1053.

[4] 杨毓明, 陈红卫, 邓曦, 等. 单克隆抗体试剂漏检 ABO 血型 2 例[J]. *中国输血杂志*, 2001, 14(2):104-105.

[5] 中国生物制品标准化委员会. 抗 A、抗 B 血型定型试剂(单克隆抗体)制造及检定规程//中国生物制品规程[M]. 北京:化学工业出版社, 2000:601-604.

[6] 杨福军, 张兰香, 徐蓉. 国产人 ABO 血型定型试剂稳定性观察[J]. *微生物学免疫学进展*, 2000, 28(3):55-57.

[7] Butch SH, Judd WJ, Steiner EA, et al. Electronic verification of donor-recipient compatibility: the computer crossmatch [J]. *Transfusion*, 1994, 34(2):105.

[8] 孙爱农, 冯志广, 李兆兰, 等. 单克隆抗-A(B)试剂质量鉴定与分析[J]. *中国误诊学杂志*, 2004, 4(1):34-36.

[9] 杨福军, 沈荣, 侯宇红, 等. 抗 A、抗 B 血型单克隆抗体试剂稳定剂的筛选研究[J]. *微生物学免疫学进展*, 2004, 32(1):29.

[10] 黄丽雅, 陈勇高, 周越勤, 等. 抗 A 和抗 B 血型定型试剂稳定性观察及对压型检测的影响[J]. *现代检验医学杂志*, 2007, 22(6):20-23.

(收稿日期:2011-07-23)

(上接第 2527 页)

比性提出明确要求,强调比对试验是实现检验结果可比性的重要途径。本研究按照 NCCLS EP9-A2 文件对本实验室的 IMS972 电解质分析仪和强生 Vitros-350 干式生化分析仪测定的 K⁺、Na⁺、Cl⁻ 结果进行比对,以了解他们之间测定结果是否具有-致性,并为实验室认可提供数据^[3-6]。

方法学比对试验是正确度性能评价几种方案中的一种,利用患者样本,比较方法可为用户目前使用的准确度得到确认的常规方法,其实验过程相对简单,重点在统计学处理,并且是在医学决定水平浓度处进行偏倚评估,具有实际意义,是目前最重要、最常用的正确度评价方案^[7-9]。

本研究检测结果的相关性分析 K⁺、Na⁺、Cl⁻ 3 个项目的 *r* 值分别为 0.995、0.976、0.993,提示数据分布范围较好,两方法间相关性良好;作直线回归统计时,其斜率和截距的估计较可靠,可以用他们去估计引用新方法后带来的系统误差,并在 X_c 处计算 B_c 与质量标准比较,判断其临床可接受性。本研究比对中的 3 个项目在各个医学决定水平处 B_c 的可信区间均小于 1/3CLIA'88 TEa 和生物学变异标准,表明 K⁺、Na⁺、Cl⁻ 用二台仪器测定的结果误差均在临床可接受范围内,具有较好的一致性,实验方法强生 Vitros-350 干式生化分析仪的正确度性能可以接受^[10]。强生 Vitros-350 干式生化分析仪测定血清电解质存在着较大的优点,它样品用量少,样本不需要前处理,没有上下水管道系统,没有排污口,真正实现了“零污染”,它操作简便、快速、准确,适合大型医院急诊化验应用。

参考文献

[1] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008:118-135.

[2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples, approved guideline[S]. Wayne, PA: NCCLS, 1995.

[3] 程明刚,曹建华,蔡朝民,等. 电解质测定结果在两生化分析仪间的偏倚[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(7):765-766.

[4] 陈黎明,吴建平,赵莹. 两个不同检测系统电解质测定结果的偏倚评估[J]. *实验与检验医学*, 2008, 26(5):528-530.

[5] 王惠萱,吴乐斌,唐建国,等. 不同试剂检测血清清蛋白结果的可比性及偏倚评估研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(7):759-760.

[6] 吴俊琪,徐瑞龙,杜忠明,等. VITROS-250 干式生化分析仪测定结果的比对校正[J]. *检验医学*, 2006, 21(3):285-287.

[7] 张艳. 两检测系统测定血清电解质的比对试验[J]. *淮海医药*, 2008, 26(2):153-154.

[8] 尹志农,王红敏,李琳谊,等. 检验项目比之初探[J]. *国际检验医学杂志*, 2007, 28(9):858-859.

[9] 王治国,李小鹏. 临床检验质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:179.

[10] 王拥军. 两种分析仪测定血清电解质的方法学对比与评估[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2008, 29(17):2063-2064.

(收稿日期:2011-07-14)