

• 经验交流 •

微柱凝胶法配血试验 2 316 例结果分析

秦立红¹, 蒋利星^{2△}

(1. 广西省桂林市中西医结合医院输血科 541000; 2. 广西省桂林市中心血站 541001)

摘要:目的 探讨临床上微柱凝胶试验(MGT)配血不合的原因及解决办法。方法 利用长春博讯微柱凝胶法配血卡进行交叉配血,对 GT 配血不合的标本作凝聚胺试验(MPT)、抗体筛查和鉴定、直接抗人球蛋白试验(DAT),冷凝集素测定等血清学辅助检查,总结配血不合的常见情形。结果 2 316 例配血中主侧不合 41 例,次侧不合 16 例;患者同种抗体 13 例,6 例抗-E,5 例抗-M,1 例抗-Mur,1 例抗-P1;非特异性的假阳性反应 28 例,分别为纤维蛋白引起 15 例,冷抗体 8 例,其他蛋白类引起 5 例;次侧不合 16 例,DAT 均为阳性。结论 微柱凝胶配血方法较敏感,其操作标准化、重复性好,结果稳定可靠准确,值得在临床推广应用。但应排除假阳性结果,保证临床输血的及时性和安全性。

关键词:输血; 微柱凝胶试验; 交叉配血
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 04. 061 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2012)04-0500-03

输血前交叉配合试验是确定能否输血的重要依据。在血型鉴定的基础上,通过检测受、供者血液间有无不相配合的抗原、抗体成分,有效地预防溶血性输血反应的发生,以保证受血者的输血安全。准确的交叉配血是临床安全输血的重要保证。交叉配血的试验方法很多,有盐水介质法、酶法、凝聚胺试验(MPT)、抗人球蛋白试验(AGT)、微柱凝胶试验(MGT)。以往的盐水配血法只能检测出血清中的完全抗体,微柱凝胶技术可检测出血清中的不完全抗体,有标本用量少、灵敏度高、特异性强、操作简便、结果可长期保存等优点^[1]。由于其灵敏度高,因此在配血过程中常出现弱阳性的结果,若不能快速作出准确的判定,则会影响到临床输血的及时性和安全性。本院自 2009 年 11 月至 2011 年 5 月采用 GT 进行抗体筛选及交叉配血 2 316 例,阳性者送桂林中心血站鉴定并配血。

1 材料与方法

1.1 材料 交叉配血、抗体筛查、直接抗人球蛋白试验(DAT)均采用长春博迅生物技术责任有限公司提供的血型及配血卡(微柱凝胶)系统。抗筛谱细胞和谱细胞购自上海血液中心。MPT 试剂购自 Baso 公司。

1.2 检测对象 2009 年 11 月至 2011 年 5 月在本院需要输血的住院患者 2 316 例。

1.3 检测方法

1.3.1 交叉配血 取微柱凝胶抗体筛查或交叉配血卡,按使用说明标记并加入患者和献血员的标本,置 37℃ 孵育 15 min,取出置专用离心机离心 5 min,观察结果:红细胞沉于微柱底部为阴性,红细胞悬浮于微柱上端为阳性。

1.3.2 不规则抗体检测 取微柱凝胶抗体筛查卡,按使用说明标记并加入 1% 的 1~3 号细胞和被检血清各 50 μL 后,按上述方法操作及观察结果。

1.3.3 对检测阳性的标本用 1~10 号谱细胞,采用盐水法、菠萝酶法和抗球蛋白 3 种试验方法进行抗体特异性鉴定。为确定是否有冷抗体及 IgM 抗体的存在,盐水法分别置于 4、22、37℃ 进行实验,然后根据实验结果对照标准细胞谱确定抗体的特异性。

1.3.4 对检测出冷抗体的标本采用冷抗体吸收试验处理后再次进行不规则抗体检测^[2]。

2 结果

2.1 2 316 例配血中主侧阳性 41 例;患者同种抗体 13 例,占 0.56%,分别为 6 例抗-E,5 例抗-M,1 例抗-Mur,1 例抗-P1,见表 1。

2.2 主侧非特异性的假阳性反应 28 例,分别为纤维蛋白引起 15 例,占 0.64%;冷抗体 8 例,占 0.33%;其他蛋白类引起 5 例,占 0.21%,见表 2。

2.3 次侧不合 16 例,DAT 均为阳性,见表 3。

2.4 主、次侧中由冷抗体及纤维蛋白引起阳性的处理,见表 4。

表 1 不同系统同种抗体阳性结果分布

系统	抗体数量(n)	占总抗体比例(%)
Rh	6	46.1
MNSs	6	46.1
抗-P1	1	7.69

表 2 主侧非特异性的假阳性反应

原因	数量(n)	比例(%)
纤维蛋白引起	15	53.5
冷抗体	8	28.5
其他蛋白类	5	17.8

表 3 次侧阳性反应(DAT 阳性患者)

原因	数量(n)	比例(%)
肾脏疾病患者	5	31.2
肿瘤患者	7	43.7
血液病患者	2	12.5
呼吸内科患者	2	12.5

△ 通讯作者,E-mail:qlh200718@yahoo. com. cn。

表 4 主次侧微柱凝胶法影响因素及处理结果

影响因素	假阳性例数	处理前结果		处理后结果
血清(浆)中纤维蛋白含量过高	15	+	—	(血标本于 37 ℃ 30 min 离心)
冷抗体	8	+	—	(血标本于 4 ℃ 吸收冷凝集素)
疾病引起球蛋白变化	5	+	—	(用试管法做间接抗人球对照)
DAT 阳性患者	16	—	—	输注洗涤红细胞

3 讨 论

3.1 同种抗体引起的凝集 同种抗体引起配血不合 13 例;13 例微柱主侧出现凝集,凝聚胺试验均为阳性,抗体筛查试验结果均为阳性,其中,6 例抗-E,5 例抗-M,1 例抗-Mur,1 例抗-P1,分别为这些患者找到了对应抗原阴性且交叉配血相合的血液输用,无输血不良反应。抗体的形成几乎总是通过输血或妊娠,接触有这种抗原的红细胞后免疫产生的。根据人体免疫的初级应答及二级应答反应的原理,一个个体第一次接触外来抗原后,典型的应答方式是经过几天的潜伏期,出现特异性抗体,逐渐升高,约在 2 周左右达到高峰,保持不同的时期后逐渐下降,如不再给予抗原刺激,以后终于测不出抗体^[3]。初级应答几天或几年后再接受同样的抗原刺激,常诱发二级应答(记忆应答),再一次刺激将增强和加速免疫应答,血清中的抗体含量 2~3 d 就开始升高,大约 10 d 左右达到高峰。二级应答阶段的抗体以 IgG 为主。抗体的产生都有输血史或妊娠史。Rh 血型发现于 1939 年,是目前已知的人类红细胞血型系统中最为复杂的血型系统。MNSs 血型系统中有许多变异型及卫星抗原,而其中 Miltenberger 亚系统的抗原抗体反应在黄种人群中的比例较其他人群高,而中国人在临床上有意义的同种抗体频率约为 0.169%。Miltenberger 系统的抗原与抗体在临床输血中的特殊地位已被多个亚洲血液中心与医院所证实。有输血史和妊娠史的患者输血时,应注意不规则抗体的筛选和鉴定,最大限度避免发生输血反应,保证临床输血安全。

3.2 冷凝集素引起的凝集 按 Roelcke 给出的定义^[4],冷凝集是“各由自身抗体所产生的,具有反应性的,在冷环境下(0 ℃)和红细胞有最佳反应的抗体”。健康人的血清中均含有少量的冷抗体,但效价很低,不影响血型定型和交叉配血,但冷抗体效价较高者会引起血型定型及交叉配血困难。所有凝集在 4 ℃ 环境中凝集加强,在 22 ℃ 环境下凝集减弱,而在 37 ℃ 环境中部分凝集消失。对冷凝集素综合征患者进行血型鉴定和交叉配血试验时,从采血到所有试验过程,温度最好维持在 37 ℃,使自身的冷凝集消失,以免冷凝集素干扰试验。冷凝集素综合征患者应尽量避免输血,必须输血时,可输入同型的洗涤红细胞,同时,要保证患者在空调环境中,血液复温后输注,必要时采取输注部位局部范围加温,缓慢输注,在输血过程中应密切注意观察。

3.3 纤维蛋白含量过高影响判定结果 15 例,由于患者血液标本采集时没有及时混匀或采集不顺利导致抗凝效果不佳,内含不易察觉的纤维蛋白,离心后大部分红细胞沉积到微柱的底端,而在微柱的最上层呈现黏附少量红细胞的纤维蛋白,但凝集程度较弱。对这种现象采用 EDTA 真空采血管时要及时充分混匀。还有常遇到血站提供的“小辫子”血样,因抗凝剂不足或无抗凝剂,离心后结果为纤维蛋白完全网住了患者红细胞,需要处理后作重复试验。为了防止纤维蛋白的干扰给实验带

来不良影响,必要时用竹签绞去试管中可能存在的纤维蛋白后再离心。

3.4 自身凝集造成微柱次侧弱凝集 16 例,这些病例主侧大多为阴性,而次侧均呈现不同程度的弱凝集,凝集颗粒散布在微柱的上半部,而不是在微柱的顶端呈一线状沉淀。其凝聚胺试验均为阴性,不规则抗体筛查试验均为阴性,DAT 均为阳性。此 16 例有 5 例是肾脏疾病患者,7 例是肿瘤患者,2 例血液病患者,2 例呼吸内科患者;其中 15 例是由于各种原因多次输血的患者。其主要原因是红细胞表面发生了一些变化,在红细胞表面存在药物抗体吸附,血浆蛋白比值倒置引起的蛋白吸附,拟或是在长期疾病治疗状态下改变了正常的红细胞表面表达,使得在试验室配血过程中与试剂中含有抗 IgG、C3 溶液发生反应^[5],发生非特异性凝集反应,导致交叉配血次侧不合。次侧凝集主要发生在血液疾病和肿瘤、免疫性疾病、肾脏疾病、肝胆疾病、肺炎炎症反应等疾病中,这可能与原发病引起机体免疫功能改变,进而激发机体产生自身抗体有关^[6]。对 MGT 配血次侧呈现++++~+++++且 DAT 阳性者,建议尽量不输血,必要时仅输注洗涤红细胞。对 MGT 次侧呈+~++、DAT 阳性者可输注红细胞悬液。当 MGT 配血不合时,对既无输血史,又无血液疾患,但用药种类较多、时间较长的患者,应考虑为药物免疫性抗体致 DAT 阳性。药物致自身免疫性溶血性愈后良好,但应与其他自身免疫性溶血性贫血区别^[7]。

总之,应用微柱凝胶交叉配血试验,对于阳性结果要加以细心观察并熟练进行判定分析,严格按照实验操作规程重复试验。并控制试验条件,选择适宜的配血方法。根据试验结果分清楚是特异性凝集还是非特异性凝集(假阳性)。必要时,仍需与传统的试管法抗人球蛋白试验作对比^[8]。加强与临床沟通,了解患者的病情及治疗用药情况,针对具体原因进行具体分析、判断和处理,以保证临床输血的及时性和安全性。

参考文献

[1] 舒象武.应用微柱凝胶抗球蛋白技术进行交叉配血[J].中国现代医学杂志,2003,13(1):116-118.

[2] 李勇.实用血液免疫学血型理论和实验技术[M].北京:科学出版社,2006:658-663.

[3] 肖星甫.输血血液技术手册[M].北京:人民卫生出版社,1985:313-314.

[4] 杰夫·丹尼尔,朱自然.人类血型[M].北京:科学出版社出版,2007:581-588.

[5] 唐长久,王华,李瑞云,等.微柱凝胶配血次侧不和 17 例临床分析[J].中国输血杂志,2005,18(1):61.

[6] 蒯迪文,郭黠.81 例微柱凝胶法交叉配血试验次侧凝集的临床因素分析[J].国际检验医学杂志,2009,30(6):564-565.

[7] 蒋利星,药物致自身免疫性溶血性贫血 3 例分析[J].检验医学与临床,2010,9(18):1971-1972.

[8] 孟庆宝. 微柱凝胶技术在输血相关试验中的评价及应用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(9): 848-851.

(收稿日期: 2011-10-12)

• 经验交流 •

微量元素锌与轮状病毒感染性腹泻相关性探讨

高庆双, 刘树平, 高春燕, 王晓波, 杜潘艳
(河北省唐山市妇幼保健院检验科 063000)

摘要:目的 探讨微量元素锌与轮状病毒(RV)感染性腹泻的相关性。方法 用原子吸分光光度法测定 2 867 例 2 岁以下轮状病毒感染婴幼儿和健康对照组婴幼儿全血中锌的含量。结果 轮状病毒感染组血锌含量(53.10 ± 15.01) $\mu\text{mol/L}$, 健康对照组血锌含量(64.58 ± 15.72) $\mu\text{mol/L}$, 轮状病毒感染明显低于未感染者, 两组间差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 轮状病毒感染时, 幼儿血锌存在一定的失衡, 是导致 RV 感染全身扩散的诱发因素之一, 因此需要及时补充和调理微量元素锌, 对疾病的治疗和恢复有重要的意义。

关键词:腹泻; 轮状病毒感染; 锌; 婴幼儿
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.062 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2012)04-0502-02

轮状病毒(rotavirus, RV)是婴幼儿重症腹泻的主要病原体, 是造成小儿营养不良、生长发育障碍的主要原因之一, 腹泻期间常导致锌缺乏, 机体缺锌可削弱免疫机制, 降低抵抗力, 使机体易受细菌、病毒等微生物感染^[1]。本文旨在分析轮状病毒肠炎与锌的关系近年来, 现在在本院儿科门诊确诊轮状病毒感染腹泻的 2 867 例患儿进行分析并做以下报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 腹泻组: 2007 年 3 月至 2011 年 5 月在本院门诊就诊的 6 个月至 3 岁的轮状病毒肠炎患儿 2 867 例, 其确诊依据为 1998 年全国腹泻病防治学术研讨会组织委员会制定的《中国腹泻病诊断治疗方案》^[2], 就诊时发病 1~2 d, 大便性质为糊便、粘稠便、稀水便或蛋花汤样便, 镜检有脂肪球, 很少有白细胞及大便轮状病毒检测, 诊断为轮状病毒肠炎患儿; 健康组: 同期健康体检儿童 2 867 例, 近 1 个月内无上呼吸道感染、腹泻等疾病。腹泻组及对照组均按照年龄从 6 个月至 1 岁、1~2、2~3 岁分段记录。两组年龄差异无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 采取轮状病毒感染性腹泻患儿、健康体检儿童无名指血 40 μL , 放入装有 1 mL 全血稀释剂的聚乙烯塑料管中进行血锌检测。

1.2.2 血锌的测定方法 采用原子吸收分光光度法(北京博晖全血多元素分析仪, 型号 BH5100S/T 型原子吸收光谱仪)进行检测。测定吸光度, 得到锌(Zn)的含量。

1.2.3 异常值测定 锌含量小于正常参考值下限或大于正常参考值上限者为异常。正常参考值: 锌(北京博晖创新光电技术股份有限公司)0~1 岁为 $58.0 \sim 100 \mu\text{mol/L}$, 2~3 岁为 $66.0 \sim 120 \mu\text{mol/L}$ 。

2 结 果

轮状病毒感染性腹泻患儿血锌值与同龄健康儿童相比明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 证实 RV 肠炎存在血锌低下。对照组血锌含量(64.58 ± 15.72) $\mu\text{mol/L}$, 腹泻患儿血锌含量(53.10 ± 15.01) $\mu\text{mol/L}$, 2 867 例腹泻患儿中 1 781 例缺锌, 占 62.12%, 健康组 2 867 例缺锌 782 例, 占 27.27%, 腹泻组和对照组两组病例, 儿童年龄比较, 经统计处理, 差异无统计学意义, 见表 1。

表 1 对照组、腹泻组血锌含量($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)				
组别	测定例数	锌($\mu\text{mol/L}$)	缺锌例数	缺锌率(%)
健康组	2 887	64.58 ± 15.72	782	27.27
腹泻组	2 867	53.10 ± 15.01	1 781	62.12

3 讨 论

本资料显示, 婴幼儿轮状病毒感染时低锌, 婴幼儿 Rotavirus 感染组全血锌的含量明显低于婴幼儿对照组($P < 0.01$), 差异有统计学意义。轮状病毒是一种呼吸道病毒, 是秋冬季节引起婴幼儿腹泻的主要病原之一, 一般通过口—粪传播, 潜伏期 2~4 d。轮状病毒感染尤其以蛋花汤样稀便的阳性率最高, 达 79.2%^[3]。多见于 6~24 个月婴幼儿, 常并发脱水、酸中毒及电解质紊乱, 严重者可导致死亡。机体防御功能差是婴幼儿易发生轮状病毒感染的重要原因, 已有研究认为锌与婴幼儿免疫系统的发育关系密切^[4]。

锌是人体维持生理功能和正常代谢的必需微量元素, 对人体健康及生长发育有着重要的生物学作用。锌元素在体内参与多种酶及 DNA 的合成, 锌缺乏可引起食欲减退、免疫功能减低、成生长发育迟缓、影响智力发育^[5]。缺锌将导致各种酶类水平下降以及小肠黏膜增生和角化不全, 以致病毒侵犯, 组织损伤; 肠道中乳糜微粒的外膜由类脂蛋白质复合物所构成, 缺锌后, 外膜合成障碍, 而使脂肪吸收不良, 引起腹泻。因此, 有学者认为: 缺锌是腹泻的易感原因之一^[6]。同时, 腹泻时由于小肠绒毛受损引起双糖酶缺乏, 尤其乳糖酶受累, 尤其乳糖酶最易受累, 可使小肠形成一种渗透性腹泻, 妨碍或减少营养素的吸收, 引起锌缺乏^[7]。而腹泻时小肠对锌的吸收不良和丢失增多亦可导致血锌的下降, 从而形成恶性循环, 导致腹泻迁延不愈。另外, 锌与腹泻的相关性提示, 缺锌可导致儿童对腹泻易感性的增加。

锌与儿童生长和健康的关系早已受到关注。最近一系列研究相继证实, 锌缺乏与儿童腹泻之间存在高度相关性^[8]。轮状病毒肠炎患儿血锌降低可能与饮食摄入减少、小肠吸收不良和胃肠道丢失增多等因素有关。近年国内多项研究结果提示, 轮状病毒肠炎患儿的血锌水平明显低于健康对照组^[9-10]。本