

• 检验技术与方法 •

新生儿血型检测的结果分析^{*}蔡旭清¹, 孙爱农², 孙雯婷³(1. 广东省中山火炬开发区医院, 广东中山 528437; 2. 中山市中心血站, 广东中山 528403;
3. 中山市石岐区安监分局, 广东中山 528400)

摘要:目的 了解新生儿 ABO 正反定型符合率, 研究提高新生儿血型测定准确性的方法。方法 用传统试管法检测当地新生儿 ABO 血型, 以微柱凝胶卡和改良试管法、增强剂法及常规试管法、纸片法、微板法、聚凝胺法等 7 种方法检测抗-A、抗-B、抗-D 抗体的效价, 并进行新生儿血型检测比较。结果 新生儿 ABO 正反定型符合率为 83% (913/1 100); 检测 15 份抗-A、抗-B、抗-D 抗体的效价, 敏感性最高是改良试管法和增强剂法, 最差的是纸片法, 新生儿标本检测结果类似。结论 ABO 正反定型应增加血浆(血清)量并延长孵育时间或选用增强剂, 从而提高新生儿血型检测的准确性。

关键词:新生儿; 脐带血; ABO 血型; Rh(D) 血型; 正反定型**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.043**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)11-1474-02Analysis of neonatal blood testing^{*}Cai Xuqing¹, Sun Ainong², Sun Wenting³

(1. Zhongshan Torch Development Zone Hospital, Zhongshan, Guangdong 528437, China; 2. Blood Center of Zhongshan City, Zhongshan, Guangdong 528403; 3. Administration of Work Safety of Shiqi District, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

Abstract: Objective To understand the neonatal ABO type positive and reverse typing consistent rate and to improve the accuracy of the methods of neonatal blood. **Methods** The traditional tube method was used to detect the local neonatal ABO blood. The method of micro gel cards, improved tube method, enhancer and traditional tube method, paper, micro-plate, polybrene method to detect anti A, anti B, anti D titer, and neonatal blood detection comparator. **Results** Neonatal ABO positive and negative stereo types compliance rate was 83% (913/1 100); Detecting 15 copies of anti A, B, D titer, the highest sensitivity was improved intensifier tube method and the worst is the method of paper. The method of neonatal specimens was with the similar results. **Conclusion** ABO positive and negative stereo types should be increased by plasma (serum) levels and extending the incubation time, or using the "enhancer" of this study, thereby improving the accuracy of the newborn blood testing.

Key words:newborns; umbilical cord blood; ABO blood type; Rh (D) blood type; positive and reverse typing

人类 ABO 和 Rh 血型的正确检测, 是保证输血安全的首要和必要条件。输血或换血技术是新生儿抢救与治疗的重要措施, 临幊上新生儿患者输血后产生溶血性输血不良反应的发生率相对较高, 提示新生儿血型的正确鉴定的重要性。血型血清学试验方法有多种, 常见有盐水试管法、纸片法、微板法以及近些年正在推广的新技术——微柱凝胶卡法, 国内曾有文献对新生儿 ABO 血型检测结果做过简单分析^[1]。本课题组研制出一种国内尚未报道的抗原抗体反应增强剂, 可提高新生儿血型检测试验的敏感性和准确性, 现将相关研究报道如下。

1 资料与方法**1.1** 一般资料 2013 年 1~12 月来源于中山火炬开发区医院及其他医院的新生儿脐带血或静脉 EDTA-K₂ 抗凝血标本。**1.2** 试剂 抗-A、抗-B 及抗-D 抗体(均为单克隆抗体)由北京金豪制药股份有限公司和上海血液生物医药有限责任公司生产, ABO 正定型、Rh(D) 血型检测及中性和抗球蛋白凝胶卡(戴安娜)来自西班牙 Grifols 公司; ABO 试剂红细胞来自上海血液生物医药有限责任公司和长春博德生物技术有限责任公司; 聚凝胺试剂盒由珠海贝索生物技术有限公司提供, 试剂均有国家批准文号并在有效期内。抗原抗体反应增强剂, 由本课题组自主研制, 它是一种新的改良聚凝胺介质, 其主要成分是聚凝胺和鱼精蛋白、氯化钠, 专用于新生儿标本血型检测, 旨在提高试验敏感性^[2]。

1.3 主要器材 标本和试剂加样, 使用瑞士 Hamilton 公司 STAR 全自动加样仪及芬兰 Labsystems 公司 Finnpipette 牌加样器; 离心机, 试管法为日本久保田 KA-2200 型, 微量板采用德国贺氏(Rotina 35), 凝胶卡使用戴安娜专用离心机; 微量板混匀使用德国 Heidolph 振荡仪(Titramax 101); 96 孔 U 型底微量塑料板由深圳市金灿华实业有限公司生产, 微孔最大容量为 350 μ L, 12 mm \times 75 mm 普通玻璃试管为国产, 血型卡纸由长春博德生物技术有限责任公司生产。

1.4 方法**1.4.1** 试管和纸片法、聚凝胺、凝胶卡操作 ABO 正定型和 Rh 定型参照试剂说明书进行, ABO 反定型为 50 μ L 试剂红细胞与新生儿 50 μ L 血浆等量混匀, 离心, 肉眼或低倍镜观察结果。改良试管法: 将传统试管法血清(血浆)用量 4 倍, 同时红细胞与血清(血浆)孵育时间延长到 6~10 min。**1.4.2** 微量板法 30 μ L 试剂(标本)红细胞与 30 μ L 血浆(试剂)混合, 振荡仪上混匀后 1 000 r/min 离心 1 min, 观察结果。**1.4.3** 增强剂法 在常规试管法上改进, 红细胞与血清及增强剂等量混匀, 其他操作同上。**1.4.4** 各种方法所需的红细胞浓度 纸片法为 10.0%, 凝胶卡用 0.8%~1.0%, 试管和微量板等其他方法用 4.0%。**1.5 抗体效价测定** 将 ABO 和 Rh 抗体用生理盐水倍比稀^{*} 基金项目: 中山市医学科研基金资助项目(2013A020159)。 作者简介: 蔡旭清, 女, 主管检验技师, 主要从事医学检验工作。

释,与对应抗原为阳性的试剂红细胞反应,测其效价,以最高稀释度且凝集为 1+ 及以上者为效价终点。同时用该试剂红细胞与 AB 型献血者血清反应,作为阴性对照试验。

1.6 红细胞凝集强度计分标准 采用 Warsh 方法:4+(8 分)、3+(6 分)、2+(4 分)、1+(2 分)、W+(1 分)、0(0 分)。

1.7 统计学处理 利用 SPSS17.0 统计软件进行分析,采取 *t* 检验进行组间比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 中山地区新生儿 ABO 正反定型结果比较 采用传统试管法,对 1 100 例新生儿血液标本进行 ABO 血型检测,结果有 913 例正反定型一致,正反定型符合率 83%。

2.2 凝胶卡、改良法等与传统方法的敏感性比较 随机选择一批献血者血浆和市售 IgM 抗-D 抗体,合计 15 份作为待检标本,其中,抗-A、抗-B 抗体各 6 份,抗-D 抗体 3 份,分别用凝胶卡和改良试管、增强剂及常规试管、纸片、微板、聚凝胺,检测这些标本中抗-A、抗-B、抗-D 抗体的效价并进行统计,结果显示敏感性(凝集强度积分)最高的是增强剂法和改良试管法(均为 37),凝胶卡法略低(33),其次是聚凝胺法(30)、试管法(29)、微板法(28),最差的是纸片法(23),阴性对照试验均符合;改良试管法与增强剂和凝胶卡法比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),与聚凝胺法、试管法、微板法、纸片法比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 新生儿红细胞抗原检测比较 随机选择 100 份新生儿标本,采用凝胶卡和改良试管法、增强剂法及常规试管法、纸片法、微板法、聚凝胺法,平行检测其红细胞 ABO、Rh(D) 上的血型抗原,若以改良试管法作为标准,则 ABO 血型正确率由高到低分别是增强剂 100%(100/100)、凝胶卡 94%(94/100)、试管 86%(86/100)、微板 85%(85/100)、纸片 38%(38/100),聚凝胺正定型出现较多假阳性反应而失去统计意义,Rh(D) 血型所有方法正确率均为 100%(100/100)。

2.4 新生儿血浆抗体检测比较 仍选择上述 100 份新生儿标本,采用凝胶卡和改良试管法、增强剂法及常规试管法、纸片法、微板法、聚凝胺法,平行检测其血浆中 ABO 抗体(ABO 反定型),结果,若以改良试管法作为标准,ABO 血型正确率分别是增强剂 100%(100/100)、凝胶卡 92%(92/100)、试管 82%(82/100)、微板 81%(81/100)、聚凝胺 81%(81/100)、纸片 37%(37/100)。

2.5 新生儿出生半个月内 ABO 血型检测结果 选择 40 例新生儿,分别于出生后第 1~16 天,每隔 3 d 采集微量血液标本,共采集 6 次,用凝胶卡进行正反定型(标本和试剂均取半量),结果,新生儿 ABO 血型正反定型符合率分别为 47.5%、52.5%、57.5%、62.5%、65.0%、72.5%;新生儿标本中 ABO 抗体效价分别为 42.5%、50.0%、52.5%、57.5%、60.0%、75.0%,与 ABO 正反定型符合率呈正相关。

2.6 脐带血检测 取 220 份脐带血,同时采集对应新生儿血标本,分别以凝胶卡和改良试管法及常规试管法进行 ABO、Rh(D) 血型检测,结果表明,无论是红细胞上 ABO、Rh(D) 抗原检测,还是血浆中 ABO 抗体检测,三种方法的脐带血和新生儿血标本检测结果均一致。用抗球蛋白凝胶卡进行直接抗球蛋白试验(DAT),结果上述 220 份脐带血和对应新生儿血标本结果均一致,凡诊断为新生儿溶血病的患儿,其标本 DAT 结果均为阳性。

3 讨 论

新生儿血型检测的准确性一直是实验室工作难点和重点,所以有研究人员利用分子生物学技术聚合酶链反应(PCR)进

行红细胞抗原(正定型)DNA 基因分型^[1],极大地提高了试验敏感性。鉴于血型 PCR 技术成本高操作麻烦,尚未普及,所以本文研究仍以血型血清学试验为主。当新生儿血液中含有来自通过胎盘的母亲 IgG 抗-A(B),其 ABO 反定型也会受到干扰——假阳性反应。但有学者认为导致新生儿血型鉴定正反定型一致的抗体主要为 IgG 类^[3],似乎与常规理论相反,原因待研究。

此次研究显示,ABO 正反定型符合率,中山地区新生儿为 83%,与天津刘兰婷等^[1]报道的 56.92% 和北京吴涛等^[4]报道的 46.91% 差距较大,但与南宁钟月华^[5]报道的 70.9%~73.3% 和深圳雷厉等^[6]报道的 84.2% 接近,这些数据差异较大可能与试验方法和新生儿出生日期不同有关。本研究表明,近一半新生儿出生时血液中已含有 ABO 抗体,其 ABO 血型正反定型符合率和新生儿标本中 ABO 抗体随着出生日期增加呈逐渐递增趋势,这与赵媛等^[7]的研究结果类似。研究中还发现,新生儿出生时 Rh(D) 抗原已成熟,任何常规方法均可检出,但由于一些标本 ABO 抗原或抗体弱在常规试管法和纸片法中有漏检。李萌等^[8]的研究表明,婴幼儿 6 个月以后仍有部分弱抗体不易检出。吴涛等^[9]发现,ABO 抗原抗体的产生与胎龄有关。这次血型抗体效价检测表明敏感性最高的是增强剂法和改良试管法,正定型抗-A、抗-B 抗体商品试剂中含有添加剂(维持稳定提高活性)干扰聚凝胺试验,所以这种传统聚凝胺法不可用于 ABO 正定型。本文脐带血的应用研究显示,脐带血可替代外周血用于新生儿 ABO、Rh(D) 血型检测和 DAT,这与黎海澜等^[10]的研究结果一致。由于脐带血容易采集,且避免了对新生儿的伤害,避免了不必要的医患矛盾,值得推广。

综上所述,提高新生儿 ABO 血型检测准确性的关键是提高试验敏感性,纸片法敏感性太低完全不能用于新生儿血型检测。

参 考 文 献

- [1] 刘兰婷,梁晓岚,韩俊领,等.新生儿脐血 ABO 血型鉴定结果质量控制方法探讨[J].中国实验血液学杂志,2010,18(3):790~792.
- [2] 孙爱农,吴晓燕,曹铁源,等.荧光一种新型试剂红细胞保养液的制备和应用[J].中国输血杂志,2002,15(6):394~396.
- [3] 周金安,何磊,皮兰敢.新生儿血型检测及抗体性质分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(20):2691~2692.
- [4] 吴涛,张长虹,周俊,等.全自动血型及配血系统在新生儿输血安全中的应用[J].临床血液学杂志:输血与检验,2012,25(3):337~340.
- [5] 钟月华.1 133 例新生儿 ABO 血型鉴定正反定型的结果分析[J].广西中医学院学报,2009,12(4):27~28.
- [6] 雷厉,孟庆宝.应用微柱凝胶法鉴定婴儿 ABO 及 RH(D) 血型的分析[J].中国热带医学,2006,6(2):227.
- [7] 赵媛,李代红,刘伟.出生 1 周内新生儿 ABO 血型 IgM 抗体分析[J].广东医学,2011,32(15):2012~2013.
- [8] 李萌,冯丽,王晓卫,等.新生儿血型抗体产生情况分析及微柱凝胶法与盐水试管法的结合应用[J].南京医科大学学报:自然科学版,2012,32(8):1174~1176.
- [9] 吴涛,张长虹,周俊,等.1 012 名新生儿 ABO 及 Rh 血型鉴定结果分析[J].中国输血杂志,2010,23(7):500~501.
- [10] 黎海澜,焦伟,莫柱宁,等.脐带血替代外周血用于新生儿血型和直接抗球蛋白试验的效果观察[J].重庆医学,2011,40(20):2025~2026.