• 论 著 •

微柱凝集技术交叉配血主侧相合、次侧不合的处理流程研究*

林 嘉, 何 屹, 饶绍琴[△]

(四川省人民医院输血科, 四川成都 610072)

摘要:目的 解决非自身免疫性溶血性贫血(非 AIHA)患者微柱凝集技术交叉配血主侧相合、次侧配血不合时的临床输血问题。方法 建立流程,通过复查患者和供血者标本信息、ABO 及 Rh 血型复查、直接抗人球蛋白试验(DAT)、对比 DAT 和次侧凝集强度、抗体筛查试验等措施,分析次侧配血不合原因并进行相应的实验室处理。结果 应用该流程处理 3 014 例非 AIHA 患者次侧配血不合问题,发现次侧配血不合主要原因为患者 DAT 阳性(占 98.6%),该类患者输注次侧配血不合的悬浮红细胞,其输血不良反应发生率(0.51%)和输血有效性(87.4%),与同期主、次侧配血均相合悬浮红细胞的不良反应发生率(0.48%)和有效性(85.4%)相比,差异无统计学意义($P < 0.05$);其他导致次侧配血不合的原因分别为标本或血型错误(占 0.8%)、供血者不规则抗体(占 0.6%),此类情况可换血重配,输注主、次侧均相合的悬浮红细胞。结论 该流程可快速、安全地解决非 AIHA 患者次侧配血不合的临床输血问题,适用于采用微柱凝集技术交叉配血的实验室。

关键词:微柱凝集技术; 交叉配血; 次侧配血不合; 流程

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.05.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)05-0581-03

Research on treatment process of major compatibility and minor incompatibility
in cross matching with microcolumn agglutination technique*

Lin Jia, He Yi, Rao Shaoqin[△]

(Department of Blood Transfusion, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: Objective To solve the clinical blood transfusion problem of the major cross-match compatibility and the minor cross-match incompatibility by using the microcolumn agglutination technique in the cross matching of the patients with non-auto-immune hemolytic anemia(non-AIHA). **Methods** The process was set up to analyze the reasons of the minor cross-match incompatibility by reviewing the sample information from the patient and the blood donor, re-detection of ABO and Rh blood group, direct anti-globulin test (DAT), comparison of the agglutination intensity between DAT and minor cross-match, and antibody screening tests, etc., and the corresponding laboratory treatment was carried out. **Results** The problem of minor cross-matching incompatibility in 3 014 cases of non-AIHA were treated by this process, the result showed that the main reason leading to minor cross-match incompatibility was the DAT positive(98.6%). Those patients were infused with the RBC suspension with minor cross-match incompatibility, comparing the occurrence rate(0.52%) of blood transfusion adverse reaction and the blood transfusion effectiveness(87.4%) had no statistical differences compared with the occurrence rate(0.48%) of blood transfusion adverse reaction and the blood transfusion effectiveness(85.4%) in the transfused RBC suspension with major and minor cross-matching compatibility, the differences had no statistical significance($P > 0.05$); other causes leading to the minor-cross-matching incompatibility were the sample or blood group errors(0.8%), irregular antibody from the donor(0.6%), in such situation, the blood could be exchanged and the blood cross-matching could be performed again, the RBC suspension with major and minor compatibility was transfused. **Conclusion**

This process can quickly and safely solve the clinical blood transfusion problem of minor cross-match incompatibility in the non-AIHA patients and is suitable for the laboratory adopting the microcolumn agglutination technique for conducting the cross-matching test.

Key words: microcolumn agglutination technique; cross matching; minor cross-match incompatible; procedure

微柱凝集技术作为一种改良抗球蛋白试验技术,与传统的试管法抗球蛋白技术及凝聚胺试验技术相比,具有操作简单、灵敏度高、结果易于观察的优点,目前已广泛应用于临床输血相容性检测^[1-2]。但是应用该项技术交叉配血,因其灵敏度高,配血不合率也远远高于试管法抗球蛋白技术和凝聚胺试验技术^[3-4]。本科通过对柱凝集技术交叉配血次侧不合情况进行研究,建立了非自身免疫性溶血性贫血(非 AIHA)患者交叉配血次侧不合的处理流程,已安全运行两年,总结、报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010~2013 年期间本院拟输血患者,临床诊

断排除自身免疫性溶血性贫血疾病,交叉配血主侧相合、次侧不合者。

1.2 仪器与试剂 血型检测卡、抗球蛋白试剂卡、Bliss 液由强生公司提供;抗体筛查细胞、反定型红细胞由上海血液生物医药公司提供;AutoVue 全自动血型及配血分析仪由强生公司提供。

1.3 方法

1.3.1 实验条件 在室内质控在控的情况下,由强生 AutoVue 全自动血型及配血分析仪完成交叉配血、血型鉴定、抗人球蛋白试验(DAT)、抗体筛查试验。

* 基金项目:四川省卫生计生厅资助项目(110132,09461)。 作者简介:林嘉,女,副主任技师,主要从事临床输血检验研究。 [△] 通讯作者, E-mail:raoshaoqin@126.com。

1.3.2 结果判断 由 AutoVue 全自动血型及配血分析仪自动判读试验结果和凝集强度,阳性结果的凝集强度判断标准为:4+:红细胞在玻璃珠微柱上面凝集,形成一个环形带;3+:发生凝集的大部分红细胞停留在玻璃珠微柱的上半部分;2+:发生凝集的红细胞分布于整个玻璃珠微柱内;1+:大部分凝集的红细胞停留在玻璃珠微柱的下半部分,微柱底部有一些红细胞;0.5+:大部分凝集的红细胞穿过玻璃珠微柱,在微柱的底部形成一个间断的(不平整)的红细胞聚集带,聚集带上方有少量凝集的红细胞。

1.3.3 研究方法 出现交叉配血主侧相合、次侧不合时,根据预先制定的流程图(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)操作,直至完成配血。统计输注交叉配血主侧相合、次侧不合悬浮红细胞和同期输注主、次侧均相合悬浮红细胞患者的输血不良反应发生率及红细胞输血有效率。方法如下:(1)输血不良反应观察:在输血过程中,临床护士密切观察患者有无输血不良反应,若有输血不良反应,填写《输血不良反应报告

单》交输血科。(2)输血后效果评价:以患者输血后 24 h 内血红蛋白(Hb)升高达到预期值为输血有效,未达到预期值输血效果不佳^[5]。对输血效果不佳者分析原因。

1.4 统计学处理 计数资料以百分率表示,应用 SPSS11.5 统计软件进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 次侧配血不合原因 2012~2013 年期间,本院共有 18 468 例非 AIHA 患者交叉配血,其中 3 014 例患者交叉配血主侧相合、次侧不合,占配血患者总数的 16.3%。按预定流程处理,发现标本或血型错误 24 例, DAT 阳性 2 981 例,患者 DAT 阴性 9 例;2 981 例 DAT 阳性患者中,2 973 例 DAT 阳性强度大于或等于次侧凝集强度,8 例 DAT 阳性强度小于次侧凝集强度者;17 例患者(DAT 阴性 9 例, DAT 阳性强度小于次侧凝集强度 8 例)做供血者抗体筛查试验,阳性 12 例,阴性 5 例。交叉配血次侧不合原因及处理结果见表 1。

表 1 次侧配血不合原因及处理结果

原因	患者例数及所占比例[n(%)]	处理方式	处理结果
标本或血型错误	24(0.8)	以正确标本或血型重新配血	主、次侧均相合
患者 DAT 阳性	2 973(98.6)	记录患者 DAT 阳性强度及次侧凝集强度,未重新配血	出具次侧配血不合,但可输悬浮红细胞的报告
供血者不规则抗体	17(0.6)	换血重配	主、次侧均相合

2.2 输血不良反应 DAT 阳性导致次侧配血不合的 2 973 例患者中,有 2 074 例患者共输注 4 344 例次悬浮红细胞,其中 22 例次(0.51%)发生输血不良反应,同期主、次侧配血均相合的悬浮红细胞输血不良反应发生率 0.48%(118/24 596),差异无统计学意义($P > 0.05$);均未出现溶血性输血反应。

2.3 输血效果 4 344 例次的次侧配血不合的悬浮红细胞输注中,2 539 例次因相关信息(输血前或输血后 Hb、体质量、身高等)不全,未做输血后效果评价;其余 1 805 例次悬浮红细胞输注中,1 577 例次(87.4%)输血有效,228 例次(12.6%)输血效果不佳,同期主、次侧配血均相合的悬浮红细胞输血有效率为 85.4%(894/1 047),差异无统计学意义($P > 0.05$);输血效果不佳原因主要是患者输血过程中或输血后存在进行性出血、DIC、严重感染等因素,未发现免疫性溶血相关证据。

3 讨 论

交叉配血的目的是检查受血者和献血者的血清中是否存在与对方红细胞血型抗原相对应的抗体,避免发生溶血性输血反应。在欧美等发达国家,由于供血者血液都经过了红细胞不规则抗体筛选试验,抗体筛选试验阳性且鉴定出红细胞不规则抗体的血液一般不进入库存,所以临床上已很少需要做次侧配血试验^[6]。但是,我国献血者血液均未做红细胞不规则抗体筛选,因此在输注全血和红细胞时必须做次侧交叉配血^[7]。

本研究结果显示,应用微柱凝集技术交叉配血,导致主侧相合、次侧不合的主要原因是患者红细胞 DAT 阳性,血型或标本错误、供者血清问题(如存在针对患者红细胞的同种抗体、自身抗体、冷凝集素等)导致的次侧不合仅为极少数,且后两种原因所致的次侧配血不合,可通过复查血型和换血重配的方式获取主、次配血相合的血液,而患者红细胞 DAT 阳性时,则无法获取次侧配血相合的血液。

以试管法抗球蛋白技术或凝胶胺试验技术交叉配血,发生患者 DAT 阳性致次侧配血不合的情况较少,临床上往往选择

洗涤红细胞,通过不输入供血者血浆的方式解决次侧配血不合的问题。微柱凝集技术应用于交叉配血,在提高交叉配血准确性的同时,由于对红细胞上结合的 IgG 或补体检出的灵敏度大幅提高^[8],使得患者 DAT 阳性所致的次侧配血不合率也大幅升高,因此有观点认为微柱凝集技术不适合 DAT 阳性受血者,因为无法确定是受血者本人 DAT 阳性引起的凝集,还是受血者红细胞与供血者血浆引起的反应凝集^[9]。本研究资料显示采用微柱凝集技术交叉配血,次侧配血不合患者占配血患者总数的 16.3%,其中 DAT 阳性占次侧配血不合原因的 98.6%。如果此类患者均输注洗涤红细胞,会给患者带来较大的不利影响:(1)制作洗涤红细胞需要一定的时间,使得急、危重患者不能及时输血;(2)洗涤红细胞的过程使得红细胞膜的脆性增加、活力受到影响,被污染的概率增大^[10]。因此采用微柱凝集技术交叉配血的实验室必须面对两个问题:(1)如何判断次侧配血不合是否由患者 DAT 阳性所致?(2)众多的 DAT 阳性所致的次侧配血不合患者如何快速、有效输血?

本研究通过对比患者 DAT 阳性强度和交叉配血次侧凝集强度,发现 2 981 例 DAT 阳性患者中,有 8 例次侧凝集强度高于患者 DAT 阳性强度,经换血重配后,次侧凝集强度均低于患者 DAT 阳性强度,提示首次配血次侧凝集系供者存在不规则抗体(包括低频抗体)所致;其余 2 973 例患者 DAT 阳性强度高于次侧凝集强度,显示患者红细胞与供血者血浆混合后,红细胞凝集并未加强,提示次侧凝集系患者 DAT 阳性所致,而非抗原抗体反应所致。

本研究中共有 4 344 例次侧配血不合的悬浮红细胞输注,输血不良反应发生率 0.51%,与本院同期主、次侧配血均相合的输血患者的输血不良反应发生率(0.53%)相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),且均未出现溶血性输血反应,提示经本流程分析判定患者 DAT 阳性所致的次侧配血不合,患者输注悬浮红细胞的输血风险并无增大,这也与王显(下转第 585 页)

明该类药物仍是目前治疗产 ESBLs 菌株的最有效药物。

ESBLs 为质粒介导的 β -内酰胺酶,可以水解青霉素类和头孢类抗菌药物的 β -内酰胺环,使其失去抗菌活性。一旦确定细菌产 ESBLs,即使实验室报告为敏感的第三代头孢菌素和单环酰胺类抗菌药物,在临床也不主张使用。

不同国家和地区报道的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 ESBLs 的基因型有所不同。TEM 型 ESBLs 是在 TEM-1 型基因序列的基础上由一至数十个氨基酸密码子突变而成,目前已命名到 TEM-119,SHV 是巯基变量的缩写,SHV 基因目前已命名至 SHV-45 型,CTX 型 ESBLs 主要对头孢噻吩有高度的水解活性,其他型还包括 OXA 型、BES 型等^[5]。欧洲的一些国家 TEM 和 SHV 型报道较多^[6],但也有报道认为以 CTX 型为主^[7],国内有报道显示 TEM、SHV 和 CTX 三种基因型都存在^[8]。张志坚等^[9]研究显示河南地区大肠埃希菌 ESBLs 基因主要为 TEM 型(检出率 80.4%),其次为 SHV 型(60.9%),CTX 型为 58.7%,低于罗飞等^[10]的报道。本研究只检测了 TEM、SHV 两种基因型在大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中的分布,结果显示大肠埃希菌中 TEM、SHV 的检出率分别为 72.9%和 54.0%,和张志坚等^[9]的报道接近。肺炎克雷伯菌中其检出率分别为 81.4%和 65.1%,与大肠埃希菌的检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中均有部分菌株同时具有 TEM、SHV 两种基因型,与罗飞等^[10]报道相似。

总之,加强对医院感染病原菌的监测,特别是对产 ESBLs 菌株耐药表型监测和基因型的研究,对于耐药机制的研究具有重要意义,同时有助于临床合理选择抗菌药物,减少耐药菌的产生。

参考文献

[1] Lee JC, Lee NY, Lee HC, et al. Clinical characteristics of urosepsis caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumonia* and their emergence in the community[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2012, 45(2): 127-133.

[2] Zaniani FR, Meshkat Z, Naderi NM, et al. The Prevalence of TEM

and SHV Genes among Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2012, 15(1): 654-660.

[3] Barnett AG, Page K, Campbell M, et al. The increased risks of death and extra lengths of hospital and ICU stay from hospital-acquired bloodstream infections: a case-control study [J]. *BMJ Open*, 2013, 31(10): 003587.

[4] Kaftandzieva A, Trajkovska-Dokic E, Panovski N. Prevalence and molecular characterization of Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Prilozi*, 2011, 32(2): 129-141.

[5] Kaur M, Aggarwal A. Occurrence of the CTX-M, SHV and the TEM Genes Among the Extended Spectrum β -Lactamase Producing Isolates of Enterobacteriaceae in a Tertiary Care Hospital of North India[J]. *J Clin Diagn Res*, 2013, 7(4): 642-645.

[6] Patrick DJ, Sturm ET, Bochum M, et al. Prevalence, molecular characterization, and phenotypic confirmation of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Klebsiella oxytoca* at the Radboud University Nijmegen Medical Centre in the Netherlands[J]. *Microb Drug Resist*, 2010, 16(1): 55-60.

[7] Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, et al. CTX-M changing the face of ESBLs in Europe[J]. *Antimicrob Chemother*, 2007, 59(2): 165-174.

[8] 王细宏, 罗飞, 陈靖. 池州地区大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产超广谱 β -内酰胺酶的基因型分布[J]. *安徽医学*, 2011, 32(9): 1313-1315.

[9] 张志坚, 张傅山, 张钦宪, 等. 大肠埃希菌产超广谱 β -内酰胺酶基因型与其耐药性[J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2010, 45(5): 738-740.

[10] 罗飞, 王细宏, 罗庆礼. 2010~2012 年安徽池州地区 TEM、SHV、CTX-M 型产超广谱 β -内酰胺酶分布特征[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(4): 395-397.

(收稿日期: 2014-09-15)

(上接第 582 页)

荣等^[11]、张慧莲等^[12]的研究结果相符合。

本研究对 1 805 例次侧配血不合的红细胞输血进行输血后效果评价,输血有效率为 87.4%,与同期主、次侧配血均相合的红细胞输血有效率(85.4%)相比,差异无统计学意义($P>0.05$);对输血效果不佳病例进行分析,均发现明确的导致输血效果不佳的原因,未见免疫性溶血相关证据,提示经本流程分析判定可输注次侧配血不合的悬浮红细胞的 DAT 阳性患者,其输血有效性并未降低。

综上所述,对于 DAT 阳性所致次侧配血不合的非 AIHA 患者,输注悬浮红细胞并不降低输血的安全性和有效性,应用本研究预定的处理流程可快速、安全地解决非 AIHA 患者次侧配血不合的临床输血问题,适用于采用微柱凝集技术交叉配血的实验室。

参考文献

[1] 王跃华, 毛伟, 王芳, 等. 微柱凝集技术在临床输血中的应用[J]. *中国实验诊断学*, 2007, 11(7): 930-931.

[2] 陈文静, 郑宇浩. 微柱凝集法在不规则抗体检测中的应用价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(22): 3050.

[3] 武建. 柱凝集技术的临床应用及其实验研究现状[J]. *中国输血杂*

志, 2003, 15(3): 369-370.

[4] 赵国华, 赵维齐, 柴庆波, 等. 柱凝集技术在交叉配血中的应用[J]. *中国输血杂志*, 2010, 23(12): 1057-1058.

[5] 刘景汉, 汪德清. 临床输血学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 442.

[6] 何子毅, 刘赴平, 车嘉琳. 电子交叉配血的现状和展望[J]. *临床输血与检验*, 2009, 11(4): 380-381.

[7] 陈小伍, 于新发, 田兆嵩. 输血治疗学[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 43.

[8] 李勇, 马学严. 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: 568-569.

[9] 兰炯采, 贡中桥, 陈静娴. 输血免疫血液学实验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 123.

[10] 王爱梅, 梁文华, 王群. 不同保存期全血制备洗涤红细胞的超微结构变化[J]. *临床输血与检验*, 2004, 6(3): 173.

[11] 王显荣, 储松炜, 许立, 等. 非 AIHA 直接抗球蛋白试验阳性患者输注洗涤红细胞的临床实验观察[J]. *临床医学*, 2006, 26(2): 27-28.

[12] 张慧莲, 杨婷, 于洋. 680 例交叉配血次侧凝集的结果分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(9): 1015.

(收稿日期: 2014-10-08)