

· 短篇论著 ·

3 种全自动血型分析系统在血型鉴定及不规则抗体筛查试验中的应用比较

陈伟¹, 李菲¹, 邱进¹, 文军^{1△}, 黄睿², 王昌敏²

(新疆维吾尔自治区人民医院:1. 输血科;2. 临床检验中心, 新疆乌鲁木齐 830001)

摘要:目的 探讨强生、达亚美、伽利略 3 种全自动血型分析系统在鉴定血型 and 筛查不规则抗体中的应用价值。方法 选取该院就诊患者 328 例, 应用 3 种全自动血型分析系统鉴定血型 and 筛查不规则抗体, 分析比较检测结果。结果 3 种全自动血型分析系统鉴定 A2 血型、A3 血型、骨髓移植血型不相合转变期血型中比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 3 种全自动血型分析系统筛查抗-M、抗-K、抗-P1、抗-Dia、抗-D 抗体中比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 3 种全自动血型分析系统检测直接抗人球蛋白试验中比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 3 种全自动血型分析系统由于性能参数、血型鉴定试剂、不规则抗体筛查试剂的不同, 应选择其优势方面结合应用, 提高检测结果的准确性, 保障临床用血安全。

关键词:全自动血型分析系统; 血型鉴定; 不规则抗体筛查; 用血安全

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.026

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2019)06-0738-04

文献标识码:B

准确的血型鉴定和不规则抗体筛查是保障临床用血安全的前提^[1-2]。传统的血型鉴定多为手工操作如玻片法、纸板法、试管法等, 不规则抗体筛查也多采用试管法, 在工作量较少的情况下, 基本可以满足临床用血工作, 但由于实验全过程中不可避免的人为误差, 难以保证血型鉴定结果 100% 正确率和可靠的不规则抗体筛查结果^[3]。如果血型鉴定错误和不规则抗体漏检, 可能会导致患者在输注血液制品过程中产生严重的输血不良反应或溶血现象危及患者生命^[4]。2015 年新疆地区为了更好的发展输血医学和规范输血科基本建设标准, 重新修订了《新疆维吾尔自治区医疗机构输血科(血库)建设基本标准(2015 版)》, 内容对包括设置原则、人员配备、仪器设备、开展业务项目等做了诸多规定, 其中要求输血科必须配置全自动血型仪器, 保障血型鉴定准确性和不规则抗体筛查结果可靠性, 保证用血安全。

随着现代科技的发展和输血医学专业需求提高, 全自动血型分析仪器应运而生, 检测方法主要包括卡式法和微孔板法, 卡式法主要包括: 强生(ORTHO AUTOVUE Innova)微柱玻璃珠卡、达亚美(Techno TwinStation)微柱凝胶卡、戴安娜(WADianaGrifols)微柱凝胶卡等; 微板法包括: 伽利略(Galileo NEO)微孔板法与捕获技术、柯利斯(DIAGAST)微孔板法与红细胞磁化技术等, 其过程是从标本识别、试剂的加样、样本的孵育、离心、结果读取、保存和传输全过程自动化和标准化分析, 减少人为操作带来的差错及判断标准不同导致的结果迥异, 提高了工作质量和工作效率^[5-6]。本院 2012—2014 年分别引进强生(ORTHO AUTOVUE Innova)全自动血型分析仪器、达

亚美(Techno TwinStation)全自动血型分析仪器、伽利略(Galileo NEO)全自动血型分析仪器, 本文通过对这 3 种全自动血型分析系统各自特点的研究, 总结其临床应用的经验体会。

1 材料与方 法

1.1 样本来源 样本采自 2012—2017 年本院就诊患者 328 例, 男 141 例, 女 187 例, 年龄 3 d 至 89 岁, 使用 3 种全自动血型分析系统, 检测血型并筛查不规则抗体。

1.2 样本采集 应用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝剂, 采集就诊患者静脉血 3 mL, 尽快检测, 如样本不能及时检测可置 2~8 °C 冰箱保存 7 d。

1.3 设备与试剂 强生全自动血型分析仪器(ORTHO AUTOVUE Innova)简称强生、达亚美(Techno TwinStation)全自动血型分析仪器简称达亚美、伽利略(Galileo NEO)全自动血型分析仪器简称伽利略。强生 ABO/Rh 正反定型血型定型试剂卡(强生微柱玻璃珠)、抗人球蛋白(IgG, C3b/C3d)检测卡(强生微柱玻璃珠)、人 ABO 血型反定型用 3% 红细胞试剂盒(强生)、强生人不规则抗体检测用 3% 红细胞试剂盒(强生)、低离子强度盐溶液(强生); 达亚美 ABO 血型正/反定型和 RhD 血型检测卡(达亚美微柱凝胶)、低离子抗人球蛋白卡(达亚美微柱凝胶)、达亚美 2 号稀释液、清洗液 A(10 倍浓缩液; 达亚美)、清洗液 B(10 倍浓缩液; 达亚美); 伽利略微孔板、抗 A 抗 B 血型定型试剂(伽利略)、抗 D(IgM+IgG)血型定型试剂(伽利略)、人 ABO 血型反定型用红细胞试剂盒包括 A1、A2、B、O 红细胞(伽利略)、质控对照试剂(伽利略)、红细胞抗体筛选试剂盒(微孔板捕获法; 伽利略)、低

△ 通信作者, E-mail: 418216181@qq.com。

离子强度溶液(伽利略)、指示红细胞、捕获法-R 质控血清(阳性和阴性;伽利略);人 ABO 血型反定型用红细胞试剂(A1、B、O 红细胞;上海血液生物医药有限责任公司)、抗体筛选红细胞试剂(I、II、III 号 O 型红细胞;上海血液生物医药有限责任公司)。血型鉴定和不规则抗体筛查质控品(北京金豪制药股份有限公司)。

1.4 方法 强生全自动血型分析仪器,其采用微柱玻璃珠抗原抗体凝集法;达亚美全自动血型分析仪器,其采用微柱凝胶抗原抗体凝集法;伽利略全自动血型分析仪器,其采用微板抗原抗体凝集法。首先使用一种全自动血型分析仪器进行检测,如果鉴定血型不符合正常格局,筛查不规则抗体呈现非阴性结果,然后应用其他 2 种全自动血型分析仪器进行检测,对比其结果,最后确认试验通过试管抗原抗体凝集法结合显微镜观察和分子生物学方法。通过 3 种全自动血型分析仪器专业工程师培训,科室人员熟练掌握操作技能和注意事项,严格执行强生全自动血型仪器操作手册、达亚美全自动血型仪器操作手册、伽利略(NEO)全自动血型仪器操作手册。由于每种全自动血型仪器都有配套试剂并以每人份计算成本,所以使用不同试剂。放置伽利略原装配抗 A 抗 B 血型定型试剂(伽利略)、抗 D(IgM+IgG)血型定型试剂(伽利略)、人 ABO 血型反定型用红细胞试剂、NOVA-CLONE 质控对照试剂、微孔板到仪器内;放置强生抗人球蛋白卡、ABO/Rh 正反定型血型定型试剂卡、低离子强度盐溶液、人 ABO 血型反定型用 3% 红细胞试剂盒、人不规则抗体检测用 3% 红细胞试剂盒到仪器内;放置达亚美 ABO 血型正/反定型和 RhD 血型检测卡、低离子抗人球蛋白卡、2 号稀释液、A 清洗液、B 清洗液、人 ABO 血型反定型用红细胞试剂(上海)、抗体筛选红细胞试剂(上海)到仪器内。取 EDTA-K₂ 抗凝剂全血,经过离心后,放置血标本置仪器试管架中,启动检测血型及不规则抗体筛查试验任务,等待结果并审核上传。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行 χ^2 检验,计算比较 3 种全自动血型仪器试验差异, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种全自动血型分析系统性能参数比较 3 种全自动血型分析系统性能参数具体差异见表 1。

2.2 3 种全自动血型分析系统鉴定血型试剂比较 强生、达亚美、伽利略 3 种全自动血型分析系统鉴定血型所使用的试剂卡分别为微柱玻璃珠卡(预置抗 A 抗 B 血清)、微柱凝胶卡(预置抗 A 抗 B 血清)、微孔板(配套抗 A、抗 B、抗 D 血清);质控过程为血型卡 Ctrl 柱(强生和达亚美)和质控血清(阳性和阴性对照,伽利略)及血型鉴定和不规则抗体筛查质控品(北京金豪),反定红细胞依次为 RhD 阴性 A_{1C}、B_C、O_C(强生)、RhD 阳性 A_{1C}、B_C、O_C(上海)、RhD 阴性 A_{1C}、A_{2C}、B_C、O_C(伽利略)。

2.3 3 种全自动血型分析系统筛查不规则抗体试剂比较 强生、达亚美、伽利略 3 种全自动血型分析系统所使用不规则抗体筛查试剂卡分别为微柱玻璃珠卡(预置抗人球蛋白试剂),微柱凝胶卡(预置低离子抗人球蛋白试剂),包被红细胞抗原的微孔板(捕获法);质控过程:强生及达亚美全自动血型分析系统使用血型鉴定和不规则抗体筛查质控品(北京金豪),伽利略全自动血型分析系统则使用捕获法-R 质控血清(阳性和阴性;伽利略);3 种分析系统所使用不规则抗体筛查细胞表面所包被抗原具有较大差异,强生使用原厂配备细胞,所包被抗原为:D、C、c、E、e、Jka、Jkb、M、N、S、s、Fya、Lea、Leb、P1、f、K、k、Kpb、Jsb、Fyb、Xga、Lub、Dia、HLA I;达亚美使用由上海血液生物医药公司提供的非规则抗体筛查细胞,所包被抗原为:D、C、c、E、e、Jka、Jkb、M、N、S、s、Fya、Lea、Leb、P1;伽利略使用原厂配备细胞,所包被抗原为:D、C、c、E、e、Jka、Jkb、M、N、S、s、Fya、Lea、Leb、P1、K、k、Kpb、Jsb、Fyb、Xga、Lub、Dia、Dib。

表 1 3 种全自动血型分析系统性能参数比较

名称	强生	达亚美	伽利略
操作界面	中文	中文(英文译中文)	英文
检测方法	微柱玻璃珠卡	微柱凝胶卡	微孔板和 Capture 法
加样臂(个)	1	2	5
离心机(台)	1	2	1
单次检测量(个)	36(常规)+2(急诊)	36	176
检测初始速度(个/min)			
血型+抗筛	36/90	24/40	38/45
血型	36/45	36/45	90/60
操作环境			
温度(℃)	2~25	18~25	1~30
湿度(%)	20~95	20~80	20~80

2.4 3 种全自动血型分析系统在鉴定血型 and 筛查不规则抗体中的应用比较 鉴定 A2 血型、A3 血型、骨

髓移植血型不相合转变期血型中比较,差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.230、0.388、0.248, P > 0.05$);筛查抗-

M、抗-K、抗-P1、抗-Dia、抗-D 抗体中比较, 差异均无统计学意义 ($\chi^2 = 1.225, 0.00, 0.280, 0.00, 0.001, P > 0.05$); 3 种全自动血型分析系统检测直接抗人球蛋白试验中比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.463, P > 0.05$)。见表 2。

表 2 3 种全自动血型分析系统在鉴定血型和筛查不规则抗体中的应用比较 (n)

名称	样本量	强生	达亚美	伽利略
红细胞直抗 (DAT1+)	20	18	15	13
A2 血型	15	13	12	10
A3 血型	11	10	10	7
抗-M	19	16	17	10
抗-K	2	2	0	2
抗-P1	3	2	2	1
抗 Dia	3	3	0	3
抗-D	247	245	245	246
造血干细胞移植 (血型不相合转 变期) 血型	8	6	5	4
合计	328	315	306	296

3 讨 论

全自动血型分析仪器的引进, 使输血科工作人员从繁杂的常规手工操作中脱离, 可将大量时间和精力放在疑难病例分析和输血医学相关知识学习中。手工操作易于出错的方面主要有: 患者信息核对、患者检测项目、样本处理、试管标注、试剂加样、样本加样、结果判读、结果记录、结果录入信息系统等环节^[7]。如将全自动血型分析仪器与临床用血闭环信息管理系统有机结合^[8], 可实现血型鉴定和不规则抗体筛查试验的自动化、标准化、信息化及数据溯源, 可用于大批量标本的常规检测, 节省了大量的人力, 消除了人为因素对检测结果的影响^[9-10], 可有效解决手工操作带来的不利因素, 但是在疑难标本处理和分析时还必须使用手工血清学方法进一步解决。

3 种全自动血型分析系统性能参数比较中发现, 在操作界面适用性和实用性方面强生更加易于操作, 达亚美操作界面略微逊色, 伽利略英文操作界面对初次接触的操作者 (英语语言障碍者) 而言比较复杂; 检测速度 (血型 + 不规则抗体筛查) 由快到慢排序依次是伽利略、强生、达亚美, 其检测速度的快慢决定因素有加样臂、离心机、孵育室、标本装载量、配套试剂和卡 (微板) 量、操作系统等, 初始检测第一个样本 (血型 + 不规则抗体筛查) 时所需时间大约 20 min, 但大批量检测由于可连续加载标本和操作系统优化, 所以速度会大大增加; 3 种全自动血型仪器对操作环境温度湿度要求比较严格, 室温高于 30 °C 3 种仪器均报警停止运转, 必须给予高度重视, 控制温度; 在湿度方面, 北方的冬天室内比较干燥, 湿度在 20% ~ 40%, 由于湿度比较低极易造成盐水的结晶, 可能堵塞管路。

3 种全自动血型分析系统鉴定血型试剂比较中可见, 每种仪器使用的载体不同, 强生应用微柱玻璃珠卡 (预置抗 A 抗 B 血清), 储存和运输温度 2 ~ 25 °C,

温度范围比较宽泛易于执行。微柱玻璃珠卡为六孔, 其中一孔是空白柱 (Ctrl), 可初步判断红细胞是否被致敏, 但试验过程中需并行做血型质控品 (北京)。配套反定红细胞为 RhD 阴性的试剂, 其优势在于血清或血浆中存在抗-D 抗体时, 不影响正反定格局, 最为明显是在做血型鉴定和不规则抗体筛查质控品时, 符合标准正反定格局。达亚美应用微柱凝胶卡 (预置抗 A 抗 B 血清), 储存和运输温度 18 ~ 25 °C, 温度范围比较窄需严格控制温度保证试剂卡质量。微柱凝胶卡和质控品做法均与强生一致, 但不同的是达亚美使用的反定红细胞 (上海) 是 RhD 阳性的红细胞试剂, 在血清或血浆中存在抗-D 抗体时, 鉴定血型可能存在正反定型不符的现象。伽利略 (NEO) 应用微孔板 (配套抗 A、抗 B、抗 D 血清), 微孔板储存和运输温度没有限制, 其具有配套质控品 (阳性和阴性; 伽利略) 和反定红细胞 (RhD 阴性)。

3 种全自动血型分析系统不规则抗体筛查试剂比较中呈现, 每种仪器使用的载体不同, 强生应用微柱玻璃珠卡 (预置抗人球蛋白试剂) 和达亚美应用微柱凝胶卡 (预置低离子抗人球蛋白试剂), 储存和运输温度与血型卡一致, 不规则抗体筛查试验过程需并行加做质控品 (北京金豪); 强生 I、II、III 号红细胞试剂, 存在独有红细胞抗原包括 f、K、k、Kpb、Jsb、Fyb、Xga、Lub、Dia、HLA I (强生) 等, 达亚美 I、II、III 号红细胞 (上海) 具有共同抗原。伽利略应用包被红细胞抗原的微孔板 (捕获法), 其储存和运输温度 1 ~ 30 °C, 具有配套质控品 (阳性和阴性; 伽利略); 微孔板包被红细胞抗原试剂, 其独有的抗原包括 K、k、Kpb、Jsb、Fyb、Xga、Lub、Dia、Dib (伽利略) 等。3 种全自动血型分析系统不规则抗体筛查试剂红细胞除具有共同抗原外, 其强生和伽利略具有的抗原如 K + 抗原在新疆维吾尔族频率是 1.80% ~ 3.16%^[11-12], Dia 抗原几乎是蒙古人种独有的, 而那些罕见的例子中, 往往难以排除蒙古血统祖先的存在^[13]。Fyb 抗原在强生不规则抗体筛查红细胞抗原格局谱中具有阴性和阳性特异性, 在伽利略不规则抗体筛查红细胞抗原格局谱中全部是阳性, 在上海不规则抗体筛查红细胞抗原格局谱是全阴性, 这种 Fyb 抗原全阴和全阳不易与其他抗原区别。在检测抗-K (2 例) 和抗-Dia (3 例) 时使用强生 (进口抗筛试剂) 和伽利略 (进口抗筛试剂) 仪器可检出不规则抗体, 而达亚美 (国产抗筛试剂) 未检出不规则抗体 (0 例), 所以国产试剂和进口试剂联合应用, 检测不规则抗体筛查试验可提高抗体检出率。

3 种全自动血型分析系统在各试验中的应用比较结果表明, 强生、达亚美和伽利略的性能在案例中比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 3 种全自动血型分析仪是经长期临床试验验证非常成熟的仪器, 具有稳定的性能和可靠的试验结果, 但是具有各自特点。强生和达亚美采用微柱玻璃珠卡和微柱凝胶卡的模式, 具有细胞筛的功能, 对于混合凝集的样本和弱凝集标本具有一定优势, 但微柱细胞筛对于异常蛋白造成凝

集会给试验造成一定困扰。伽利略采用微孔板(捕获法),检测速度较快,检测不规则抗体凝集强度较强,但对于 IgM 型抗体检出率不高,可能与国外仪器设计理念有关,只检出有意义的抗体,其抗体类型多为(IgG 型);对于血型鉴定凝集强度较弱的样本,相较于其他两种仪器缺少微柱细胞筛的介质可能凝集强度会弱一些。3 种全自动血型分析系统在检测不规则抗体时,检出率由多个因素决定,主要是抗原种类和性质(试剂)、抗体种类和性质及抗体含量(样本)、仪器的特性等因素。

3 种全自动血型分析系统给研究者的工作带来诸多便利和高效的同时,必须了解每种仪器的特点,趋利避害。更好的服务临床、服务患者,确保临床输血安全,保障医疗质量和医疗安全,最终赢在患者身上^[8]。

参考文献

[1] PRICE T, NUNES E. Standards for blood banks and transfusion services[M]. 25th ed. Bethesda, MD: AABB, 2008:451-452.
 [2] 甘玮玮,张添新,原敏,等. Erytra 全自动血型分析仪的应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(22):3112-3113.
 [3] 陈显,刘洲君,朱绍汶,等. 全自动血型仪在血型检测中的应用[J]. 临床输血与检验杂志,2014,16(3):250-252.
 [4] 宋建,彭涛,李翠莹,等. 全自动血型及配血分析系统的应用[J]. 中国输血杂志,2011,24(1):60-61.
 [5] 于洋,冯倩,林子林,等. 全自动微柱凝胶技术在 ABO、

RhD 血型鉴定中的应用研究[J]. 北京医学,2008,30(3):165-167.
 [6] NEASHAM D, SIFI A, NIELSEN K R, et al. Occupation and risk of lymphoma: a multicentre prospective cohort study (EPIC)[J]. Occup Environ Med, 2011, 68(1): 77-81.
 [7] 梅方超,黄飞,吴丽娜,等. HSI 全自动微柱凝胶免疫检测分析仪在血型鉴定中的应用评价[J]. 临床血液学杂志, 2015,28(4):320-321.
 [8] 陈伟,文军,田洪燕,等. 基于六级电子病历构建安全的临床用血闭环信息管理系统[J]. 新疆医学,2017,47(6):677-680.
 [9] 胡松林,刘行超,陶丽娜,等. 全自动血型分析系统在血型检测中的应用[J]. 医疗卫生装备,2016,37(6):136-138.
 [10] SCHOENFELD H, PRETZEL K, VON HEYMAN C, et al. Validation of a hospital-laboratory workstation for immunohematologic methods [J]. Transfusion, 2010, 50(1):26-31.
 [11] 林国跃,杜小璐,单金晶,等. 中国新疆维吾尔族人群 MNS, Duffy 和 Kell 等稀有血型的基因分子遗传分析[J]. 中国组织工程研究,2016,20(1):123-127.
 [12] WEI C, JUN W, FEI L, et al. Frequencies of RhCE and Kell phenotypes in Xinjiang using across-minorities transfusion simulation model[J]. Asia J Blood Types, 2017, 1(3):39-42.
 [13] DANIELS G. Human blood groups[M]. 3nd ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2013:336-353.

(收稿日期:2018-06-20 修回日期:2018-09-28)

• 短篇论著 •

CTLA-4⁺ 细胞在急性加重慢性阻塞性肺疾病患者外周血中的表达

常 芬

(武汉市普仁医院呼吸内科,湖北武汉 430081)

摘要:目的 探讨细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)⁺ 细胞增多在急性加重慢性阻塞性肺疾病(AECOPD)患者肺部细菌性感染中的作用。**方法** 采集 2013 年 1 月至 2017 年 1 月于该院收治的 40 例 AECOPD 且无肺部细菌性感染的患者及 40 例平稳期慢性阻塞性肺疾病(sCOPD)患者的外周血液样本,并采用免疫组织化学及流式细胞术测量细胞内及细胞表面 CTLA-4⁺ 的细胞比例。然后对两组患者外周血单核细胞进行培养,并采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测得培养物中 γ 干扰素(IFN- γ)及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的水平。**结果** AECOPD 患者调节性 T 细胞(Tregs)及 CD4⁺ 细胞中胞内 CTLA-4⁺ 细胞的比例与 sCOPD 患者 Tregs 及 CD4⁺ 细胞中胞内 CTLA-4⁺ 细胞的比例大致相同,差异无统计学意义($P > 0.05$);而 AECOPD 患者 Tregs 及 CD4⁺ 细胞中表面 CTLA-4⁺ 细胞的比例与 sCOPD 患者 Tregs 及 CD4⁺ 细胞中表面 CTLA-4⁺ 细胞的比例,差异有统计学意义($P < 0.05$),AECOPD 组显著高于 sCOPD 组。**结论** CTLA-4 阻断剂的加入可以恢复 1 型辅助性 T 细胞的免疫功能,降低 AECOPD 患者肺部细菌性感染的风险。

关键词:细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4; 慢性阻塞性肺疾病; 肺部细菌性感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.027

中图法分类号:R563;R446.6

文章编号:1673-4130(2019)06-0741-05

文献标识码:B

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种以持续性气流受限为特征的呼吸系统疾病^[1]。作为一种不完全可

逆的气流受限而进行性发展的慢性病,吸烟、遗传及个体易感等多种因素通常被认为与 COPD 的发生、发