

微柱凝胶卡式法检测红细胞不规则抗体的效果

安勤发, 胡志红, 崔慧芹
河北省大名县人民医院, 河北 大名 056900

摘要: **目的** 评价微柱凝胶卡式法(microtubes gel test, MGT)检测红细胞不规则抗体的效果。**方法** 分别采用 MGT 和传统试管抗人球蛋白法(test tube Coombs test, TT-Coombs' T)对 2011 年 9 月~2012 年 12 月在河北省大名县人民医院输血治疗的 1 147 例患者的血清样本进行不规则抗体筛查,并以 TT-Coombs' T 作为“金标准”,对 MGT 进行敏感性、特异性评价;采用 MGT 对不规则抗体检测为阳性的样本进行进一步的抗体鉴定。**结果** MGT 及 TT-Coombs' T 测定 1 147 份样本不规则抗体的结果均为阳性的为 10 份,阴性为 1 137 份,阳性率为 0.87%,MGT 的敏感性和特异性均为 100%;经 MGT 进一步鉴定,10 份不规则抗体中 Rh 系统抗体 9 份(抗-E 5 份,抗-c 2 份,抗-D 1 份,抗-C 1 份),MNS 系统抗体 1 份(抗-M)。**结论** 微柱凝胶卡式法检测红细胞不规则抗体敏感性和特异性好,其操作较传统试管法简便、快捷,且操作和结果的判读易于标准化,影响因素少,更适用于临床输血前不规则抗体筛查试验。

关键词: 微柱凝胶卡式法;试管抗人球蛋白法;不规则抗体筛查

中图分类号: R457.1+3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5503(2013)06-0880-03

Determination of irregular antibody of erythrocytes by microtubes gel test

AN Qin-fa, HU Zhi-hong, CUI Hui-qin

Daming People's Hospital, Daming 056900, Hebei Province, China

Corresponding author: AN Qin-fa, E-mail: dmxaqf@126.com

Abstract: **Objective** To evaluate the efficacy of microtubes gel test (MGT) in determination of irregular antibody of erythrocytes. **Methods** Serum specimens were collected from 1 147 patients receiving blood transfusion in Daming People's Hospital, Hebei Province, China from September 2011 to December 2012, and screened for irregular antibody by MGT and test tube Coombs test (TT-Coombs' T) respectively, based on which MGT was evaluated for sensitivity and specificity severing the determination result by TT-Coombs' T as a gold standard. The antibodies in positive specimens were further identified by MGT. **Results** Of the 1 147 specimens, 10 were judged as positive for irregular antibody by both MGT and TT-Coombs' T, while 1 137 were negative, indicating a positive rate of 0.87%. Both the sensitivity and specificity of MGT were 100%. Further identification proved that, of the 10 positive specimens, 9 were positive for Rh antibodies, including 5 for anti-E, 2 for anti-c, 1 for anti-D and 1 for anti-C, while 1 was positive for MNS antibody (anti-M). **Conclusion** MGT showed high sensitivity and specificity, of which the procedure was simple and rapid as compared with TT-Coombs' T, and the judgment of result was easy to be standardized. The method was more suitable for screening of irregular antibody before blood transfusion in clinic.

Key words: Microtubes gel test (MGT); Test tube Coombs test (TT-Coombs' T); Screening for irregular antibody

红细胞不规则抗体筛查是血液相容性检测的重要项目之一。如受血者抗体阳性而输注了含有相应抗原的红细胞,或母亲抗体阳性妊娠含相应抗原的胎儿时,可引起溶血性输血反应^[1]或胎儿和新生儿溶血病^[2],在临床上造成严重后果。

1945 年, Coombs 等建立了抗人球蛋白试验,用于检测血清中的不完全抗体,随后, Coombs 试验成为临床输血检测的重要技术之一。但由于该方法操

通讯作者:安勤发, E-mail: dmxaqf@126.com

作繁琐,使其应用受到了限制,只能用于部分特殊样本的确诊试验,而不能用于临床样本的常规检测^[3]。1990 年, Lapierre 等^[4]报道了检测红细胞抗原抗体反应的一种新方法—微柱凝胶免疫试验,该方法将抗原抗体反应与凝胶分子筛技术相结合,其本质是血凝试验,红细胞抗原抗体在微柱腔内的凝胶介质中发生肉眼可见的免疫凝集反应,操作简便,影响因素少,结果可保存,目前,在大多数发达国家已作为输血相容性检测的一种常规方法^[5],在国内临床输

血工作中应用也越来越广泛。

本实验采用传统试管抗人球蛋白法(test tube Coombs test, TT-Coombs'T)和微柱凝胶卡式法(microtubes gel test, MGT)平行进行不规则抗体筛查,并以 TT-Coombs'T 作为“金标准”,对 MGT 进行评价,以期找到更适用于临床输血前抗体筛查试验的替代方法,从而进一步提高临床输血的安全性。

1 材料与方法

1.1 样本 2011 年 9 月~2012 年 12 月在本院输血治疗的患者共 1 147 例,采集患者静脉血,加入无抗凝剂试管中,37℃放置 2 h 后,1 000 × g 离心 10 min 分离血清备用。

1.2 细胞 红细胞血型抗体鉴定细胞购自上海血液生物医药有限责任公司(批号为:20115703、2011-5705、20125701、20125703、20125705)。

1.3 主要试剂及仪器 抗人球蛋白检测卡(不规则抗体筛检)为长春博迅生物技术有限责任公司产品(批号为:20110101、20110201、20120107、20120208);不规则抗体检测试剂(人红细胞)为长春博德生物技术有限责任公司产品(批号为:20110807、20110910、20111217、20120102、20120307、20120411、20120617、20120818、20120921、20121025、20121126);抗-IgG 为上海血液生物医药有限责任公司产品(批号为:2010-1210),上述试剂均在有效期内使用;FYQ 型免疫微柱孵育器和 TD-3A 型血型血清学离心机为长春博研医学生物仪器公司产品。

1.4 不规则抗体筛查

1.4.1 TT-Coombs'T 取 3 支试管,分别标记为 1、2、3 号,每支分别加入对应的 4%不规则抗体检测试剂(人红细胞)50 μl 和 100 μl 待检血清,混匀,37℃孵育 1 h;用生理盐水洗涤 3 次,加入 100 μl 抗人球蛋白试剂,混匀,81 × g 离心 1 min,轻摇观察结果。阴性结果需进行确证试验。

1.4.2 MGT 采用抗人球蛋白检测卡(不规则抗体筛检)进行不规则抗体筛查,按试剂说明书进行操作和结果判读。以 TT-Coombs'T 结果作为标准,按下式计算 MGT 的敏感性和特异性。

MGT 敏感性(%) = 真阳性例数 / (真阳性例数 + 假阴性例数) × 100%;

MGT 特异性(%) = 真阴性例数 / (真阴性例数 + 假阳性例数) × 100%

1.5 不规则抗体鉴定 采用 MGT 对检测结果为阳性的样本进行进一步的抗体鉴定:将阳性样本的血

清分别与 10 人份 O 型红细胞组成的谱红细胞及自身红细胞(均为 0.8%)反应,与谱红细胞中 1 至数人份凝集,而与自身红细胞不凝集者为抗体阳性,并根据与谱红细胞的反应格局判定抗体的特异性;与自身红细胞凝集者,应用巯基试剂(2-ME)排除自身冷凝集素。

2 结果

2.1 两种方法不规则抗体筛查结果 两种方法测定 1 147 份样本不规则抗体的结果均为阳性的为 10 份,阴性为 1 137 份,阳性率为 0.87%。MGT 的敏感性和特异性均为 100%。

2.2 MGT 不规则抗体鉴定结果 经 MGT 进一步鉴定,10 份不规则抗体中 Rh 系统抗体 9 份(抗-E 5 份,抗-c 2 份,抗-D 1 份,抗-C 1 份),MNS 系统抗体 1 份(抗-M)。

3 讨论

Novaretti 等^[6]研究表明,MGT 检测不规则抗体比传统 TT-Coombs'T 更敏感;Lapierre 等^[4]检测了 400 份已知抗体标本,MGT 检出 359 份,远远高于 TT-Coombs'T;国内也有研究表明,MGT 对不规则抗体或 IgG 型抗体的检出能力强,敏感性高^[7,8]。本实验采用 TT-Coombs'T 及 MGT 平行检测 1 147 份血清标本的不规则抗体,结果均检出阳性标本 10 份,阳性率为 0.87%,与国内相关报道基本一致^[9]。以 TT-Coombs'T 不规则抗体筛查结果为标准,MGT 的敏感性和特异性均为 100%。检出的 10 份不规则抗体样本中,Rh 系统最多,为 9 份,MNS 系统为 1 份,与文献^[10]报道的 5 050 例患者中检出 70 例抗体特异性分布(前两位分别为 Rh 和 MNS 系统)基本一致。

保证临床输血安全十分重要,由于时间对于急诊患者十分重要,输血相容性检测不仅应选择灵敏度高、特异性好的方法,而且更应选择操作时间短、结果易观察的方法。本实验结果表明,MGT 与传统 TT-Coombs'T 比较,具有操作简便、结果易于观察、保存时间长、影响因素少等特点,且敏感性和特异性良好,更适用于临床输血前不规则抗体筛查试验。

参考文献

- [1] Cerdas-Quesada C. Specificity of 136 patient's antibodies to human red blood cells in Dr. Max Peralta J Hospital Blood Bank 2004-February 2009 [J]. Transfus Apher Sci, 2010, 42 (2): 105-108.

- [2] Koelwijn JM, Vrijkotte TG, Van Der Schoot CE, *et al.* Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: a population study in the Netherlands [J]. *Transfusion*, 2008, 48 (5): 941-952.
- [3] 李勇, 杨贵贞. 人类红细胞血型学实用理论与实验技术 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1999: 31-32.
- [4] Lapierre Y, Rigal D, Adam J, *et al.* The gel test: a new way to detected cell antigen-antibody reactions [J]. *Transfusion*, 1990, 30 (2): 109-113.
- [5] Alwar V, Devi AM, Sitalakshmi S, *et al.* Evaluation of the use of gel card system for assessment of direct coombs test: weighing the pros and cons [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2012, 28 (1): 15-18.
- [6] Novaretti MC, Jens E, Pagliarini T, *et al.* Comparison of conventional tube test technique and gel microcolumn assay for direct antiglobulin test: a large study [J]. *J Clin Lab Anal*, 2004, 18 (5): 255-258.
- [7] 张晨光, 张婧婧, 庞桂芝, 等. 血型不规则抗体检测的方法学评价 [J]. *检验医学*, 2010, 25 (12): 929-933.
- [8] 何子毅, 刘赴平, 刘仁强, 等. 三种常用交叉配血方法检出 IgG 型抗体能力的比较 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2009, 22 (3): 294-296.
- [9] 柯秋高, 彭秀春, 杨毓明, 等. 2638 名患者红细胞血型不规则抗体调查 [J]. *中国输血杂志*, 2009, 22 (6): 463-465.
- [10] 于天华, 遇红梅, 梁海英, 等. 5050 名患者 Rh 分型及不规则抗体鉴定结果分析 [J]. *中国输血杂志*, 2012, 25 (8): 756-758.

(收稿日期: 2013-03-20)

· 消 息 ·

第六次全国免疫诊断暨疫苗学术研讨会征文通知

为促进我国免疫诊断与疫苗技术的发展, 加强有关学科的经验交流和沟通, 中华医学会微生物学与免疫学分会和中国医药生物技术协会生物诊断技术分会决定于 2013 年 8 月, 在吉林省吉林市召开第六次全国免疫诊断暨疫苗学术研讨会。

大会届时将邀请国内外专家作专题报告, 欢迎从事相关科研、教学、医疗、疾控、检验检疫及诊断试剂和仪器研发和生产等方面的专家、学者踊跃投稿, 参加研讨。应征论文将择优推荐给《中华微生物学和免疫学杂志》、《中国生物制品学杂志》、《中国医药生物技术杂志》等国内期刊。

大会主题: 技术进步与大众健康

一、征文内容

1. 疾病诊断中新检测物或标志物的研究与应用;
2. 体液和细胞免疫的新技术、新方法;
3. 核酸诊断技术的发展与应用;
4. 蛋白芯片和基因芯片的研究动态;
5. 免疫检测技术临床评价以及实验室的质量控制与质量保障;

6. 重大疾病疫苗的研究动态与应用;
7. 疫苗的实验室评价与临床评价及临床应用与不良反应监测;
8. 生物诊断分析的自动化与标准化;
9. 生物诊断与疫苗中的生物信息学;
10. 生物检测技术在食品安全评价中的应用;
11. 转化医学研究。

二、征文要求

1. 近期研究性论文、综述、工作报告、经验交流等, 文责自负;
2. 格式: 题目: 三号宋体, 正文: 小四号宋体, 作者及地址: 五号楷体;
3. 采用 A4 纸, 以 word 格式打印;
4. 为方便联系, 来稿请注明作者联系电话。

三、投稿时间及方式

2013 年 6 月 25 日前, 将电子版邮件发至 lixiuhua2005@163.com。

联系电话: 010-67095488