

• 论 著 •

3 种交叉配血方法在新生儿输血安全中的应用

粟明丽

(广西桂林医学院附属医院输血科, 广西桂林 541001)

摘要:目的 探讨盐水介质法、凝聚胺法、微柱凝胶法 3 种交叉配血法在新生儿输血安全中的应用价值。方法 同时用盐水法、凝聚胺法、微柱凝胶法对 174 例需要输血的新生儿进行同型交叉配血, 常规检测不规则抗体, 直接抗人球蛋白试验, 不规则抗体阳性者进一步做抗体特异性鉴定。结果 盐水法有 14 例(8.05%)配血不合; 凝聚胺法有 1 例(0.57%)配血不合; 微柱凝胶法有 62 例(35.63%)配血不合, 其中 31 例为直抗阳性引起的次侧不合, 1 例为抗-D 抗体导致的 3 种方法均不合。凝聚胺法和微柱凝胶法差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 微柱凝胶法用于新生儿交叉配血标本用量少, 操作简便, 易于标准化, 结果清晰易判, 敏感度高于凝聚胺法, 对保障新生儿安全输血具有重要意义。

关键词:新生儿输血; 交叉配血; 微柱凝胶法; 凝聚胺法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.05.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)05-0665-02

Application of 3 kinds of method of blood crossmatching in neonatal blood transfusion security

Su Mingli

(Department of Blood Transfusion, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the application values of 3 kinds of crossmatching method saline medium method, polybrene test and microcolumn gel test in the neonatal blood transfusion security. **Methods** 174 newborns needing blood transfusion were simultaneously performed the isotype crossmatching by the saline method, polybrene test and microcolumn gel test. The irregular antibody and the direct antiglobulin test were routinely conducted, the samples with positive irregular antibody were further performed the antibody specificity identification. **Results** 14 cases (8.05%) of crossmatching incompatibility were found by the saline method, 1 case (0.57%) by the polybrene test and 62 cases (35.63%) by the microcolumn gel test; among which, 31 cases were secondary side crossmatching incompatibility caused by positive direct antiglobulin test, 1 was the incompatibility of 3 methods caused by anti-D antibodies. The difference between the polybrene test and the microcolumn gel test was of statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The blood crossmatching by the microcolumn gel test in blood transfusion of newborns requires quite few amount of blood sample, is simple to operate and easy to be standardized. With results clearly and easily measured and sensitivity higher than that of polybrene test, its result is clear and easy to be judged, its sensitivity is higher than that of the polybrene test, which has the important significance for ensuring the neonatal blood transfusion safety.

Key words: transfusion of newborns; blood crossmatching; microcolumn gel test; polybrene test

交叉配血主要是检查受血者血清中有无破坏供者红细胞的抗体, 使受、供者血液间没有可测的不相配合的抗原、抗体成分^[1]。新生儿交叉配血比较特殊, 因其尚未产生 ABO 血型规则抗体或抗体效价很低, 易受母体 IgG 类抗体的影响。由于免疫性抗体的存在, 常常导致交叉配血不合。选择一种敏感度高, 安全性好的配血方法对保障安全输血至关重要。现将用 3 种配血方法对本院 174 例新生儿交叉配血结果进行总结分析, 结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选自本院 2013 年 1~12 月住院申请输血的新生儿 174 例, 年龄 35 min 至 2 月, 男 112 例, 女 62 例, A 型 37 例, B 型 68 例, O 型 58 例, AB 型 11 例, 血红蛋白均在 110 g/L 以下, 高胆红素血症 43 例, 其中 13 例确诊为 ABO 溶血病。

1.2 仪器与试剂 Diana 微柱凝胶抗球蛋白卡、低离子介质溶液、专用孵育器、离心机为西班牙黛安娜公司产品; KA-2200 离心机购自日本九保田公司; BaSO 凝聚胺试剂、BaSO2002-2 血库专用离心机购自珠海贝索公司。A₁、B、O 型反定型试剂红细胞, 抗-A、抗-B 标准血清、谱细胞、抗体筛选细胞、抗-D 购自上海血液生物医药有限责任公司; 试剂均批检合格并在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 不规则抗体的筛查 患者 EDTA-K₂ 抗凝血标本 4 mL, 3 000 r/min 离心 5 min 后, 采用盐水介质(室温、4 ℃、37 ℃)和微柱凝胶抗球蛋白法同时检测不规则抗体参考文献[2], 将筛查结果为阳性者, 进行抗体特异性鉴定, 根据实验结果对照标准细胞谱确定抗体的特异性。

1.3.2 盐水法和凝聚胺法 患儿血浆 4~6 滴, 红细胞配成 3%~5% 的浓度, 严格按《全国临床检验操作规程》^[3] 及试剂盒说明书操作。

1.3.3 微柱凝胶法 用定量加样器向微柱凝胶抗球蛋白卡主侧孔加入 50 μ L 0.8%~1% 的献血者红细胞及 25 μ L 患儿血浆, 次侧孔内加入 50 μ L 0.8%~1% 的患儿红细胞及 25 μ L 献血者血浆, 直接抗人球蛋白试验: 加 50 μ L 0.8%~1% 的患儿红细胞于微柱凝胶卡, 置 37 ℃ 专用孵育器内孵育 15 min 后用戴安娜专用离心机 1 100 r/min 离心 9 min, 观察并记录结果。离心后红细胞沉积在微柱底层者为阴性, 滞留在凝胶上方或中间者为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

174 例新生儿微柱凝胶法不规则抗体筛查阳性 1 例, 其母亲为 Rh 阴性有抗 D 抗体, 其余均为阴性。直接抗人球蛋白试

验 31 例阳性。与同型献血者交叉配血结果为盐水法有 14 例 (8.05%) 配血不合, 凝聚胺法有 1 例 (0.57%) 配血不合, 微柱凝胶法有 62 例 (35.63%) 配血不合, 其中 31 例为直抗阳性引起的次侧不合, 有 13 例主侧不合为明确诊断为 ABO 溶血引起的, 1 例为不规则抗-D 抗体导致的 3 种方法均不合。其余为胆红素增高 (排除 G-6-PD 酶缺乏) 或母婴血型不合引起的主侧不合, 凝聚胺法和微柱凝胶法两种交叉配血方法结果比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 61, P < 0.05$)。

3 讨论

输血在临床上抢救危重伤患者中起了无可替代的作用, 为了保证安全、快速、有效输血, 输血前的交叉配血至关重要。目前临床上常用的交叉配血方法有盐水法、凝聚胺法和微柱凝胶法等。盐水法用于检测 IgM 类血型抗体, 6 个月以内的新生儿抗体水平较弱, 实验过程中必须加大血浆的用量, 观察结果时不宜用力振摇, 以免将弱凝集摇散, 也不要误认为是冷凝集。离心的时间须 3 000 r/min 离心 1 min 以上, 促进抗原抗体充分反应, 避免出现假阴性而漏检。ABO 溶血病患者血浆中大多存在游离抗体, 这类抗体在盐水介质中能够凝集相对应的红细胞^[4]。盐水法配血中发现有异常凝集时, 应结合胆红素增高看是否是母婴血型不合所致的 ABO 溶血, 有条件的实验室应做 ABO 溶血三项试验来确认 ABO 溶血。盐水法有 13 例配血不合为新生儿 ABO 溶血所致, 1 例为有 Rh 抗 D 抗体所致。

凝聚胺法的原理是: 凝聚胺是一种高价阳离子季铵盐多聚物, 溶解后可产生很多正电荷, 可中和红细胞膜表面的负电荷, 使红细胞之间距离减少, 引起正常红细胞可逆性的非特异凝集。如果是抗体致敏的红细胞则被凝聚胺凝集。加入枸橼酸钠重悬液, 枸橼酸根负电荷与凝聚胺上的正电荷中和, 重悬后凝集消失, 特异性抗原抗体结合的凝集则不消失, 即受血者与供血者血液不匹配。凝聚胺法使用方便、快捷, 价格低廉、不需要特殊仪器设备, 广泛应用于临床, 出现假阳性结果少, 试验易受冷凝集、人为因素等影响, 不能检出所有的不规则抗体, 对 Rh 系统配血敏感, 对检测 Kell 系统抗体敏感度不够^[5], 适用于急诊配血, 对弱的抗原抗体检测不太敏感。31 例直抗阳性标本用本法配血均为阴性, 与章文等^[6]报道的一致。

微柱凝胶法是血型血清学方法的一项新的免疫学检测技术, 通过微柱凝胶的微孔过滤作用和抗原抗体特异性反应作用, 经低速离心后, 利用微柱凝胶层析分子排阻原则将发生凝集反应的红细胞阻滞于凝胶上层, 呈阳性, 而游离的单个红细胞, 则穿过微孔到达凝胶底部, 呈阴性反应, 它克服了传统的抗人球蛋白法需要反复洗涤的缺点。因其操作简便、灵敏度、准确度高、标本用量少、结果保存时间长、易于标准化, 而逐渐成为临床上真正的金标准^[7], 微柱凝胶法对较弱抗原的婴儿红细胞抗原的检测具有较大的优越性^[8], 在国外已成为常规的红细胞血型血清学检测技术。直抗阳性的标本微柱凝胶配血次侧均会凝集, 本实验 31 例直抗阳性病例次侧均凝集。免疫性 ABO 溶血、输血史, 或大量使用青霉素、头孢菌素类药物均可导致直抗阳性^[9]。新生儿 ABO 溶血直抗不一定阳性, 交叉配血相合也不排除有 ABO 溶血的可能, 主要是因为新生儿体内产生的抗体量少^[10-11]。刘峰等^[12]报道的 ABO 溶血患儿与同型血相配, 有 21% 的可能性出现交叉配血不合漏检。新生儿与同型献血者交叉配血出现凝集较弱, 一般小于 2+, 有些在凝胶柱中上部零散分布着只有几个细胞凝集成的颗粒, 大部分红细胞沉降于底部, 凝胶柱内背景清晰, 如不仔细观察极易漏检。马曙轩等^[13]报道的新生儿与 ABO 异型献血者交叉配血主侧表现为阴性者占 50%~60%, 所以在同型配血观察结果时更应该仔细。凝聚胺法和微柱凝胶法均用于检测免疫

性 IgG 类抗体, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 61, P < 0.05$)。微柱凝胶法灵敏度高于凝聚胺法, 适合于新生儿输血前检验^[12]及其他常规交叉配血和不规则抗体筛选。若有不规则抗体阳性的新生儿需用 3 种交叉配血方法联合应用, 弥补各种方法的不足, 避免抗体漏检, 确保临床输血安全、及时、有效。

针对上述配血情况, 笔者认为新生儿输血不能盲目依赖同型输血原则, 也不能以交叉配血结果阴性作为新生儿安全输血的最后一道试验, 需结合胆红素增高 (排除 G-6-PD 酶缺乏) 情况, 母婴血型不合的, 交叉配血主侧凝集的应给予 O 型洗涤红细胞输注。ABO 溶血病的某些轻型病例, 早期症状不重, 只表现轻度黄疸, 但到 2~6 周以后发生晚期贫血, 8~12 周后“生理性贫血”时期贫血表现得特别严重, 这是因为抗体持续存在, 发生慢性溶血所致。血型抗体可使红细胞寿命缩短, 红细胞破坏增加, 新生儿骨髓造血功能生理性低下, 不能有效地代偿, 终致发生晚期贫血, 曾经遇到过这种病例, 输了配血相合的同型红细胞导致直抗阳性, 再换同型洗涤红细胞输注, 多次输注无效, 血红蛋白升了又降, 改输 O 型洗涤红细胞血红蛋白得以提升。这必须引起新生儿科医师和输血科高度重视, 不要以为早产儿有轻度黄疸是正常的。ABO 溶血患儿换血需用 AB 型血浆和 O 型洗涤红细胞。单纯 Rh 系统新生儿溶血输血时用 Rh 阴性, ABO 血型与婴儿同型或 O 型洗涤红细胞; Rh 溶血合并 ABO 溶血时, 采用 Rh 阴性的 O 型洗涤红细胞和 AB 型血浆较安全。本实验中有 1 例 A 型 Rh 阳性新生儿, 有不规则抗-D 抗体, 母亲为 Rh 阴性, 给予 O 型 Rh 阴性洗涤红细胞输注, 无输血不良反应发生。对于直抗阳性, 胆红素正常的新生儿输同型洗涤红细胞, 其余无这些特殊情况的给予输同型红细胞悬液。总之新生儿输血要输血科工作人员和临床医师密切配合慎重选择血液制品, 保证输血安全有效。

参考文献

- [1] 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: 117.
- [2] 夏琳, 杨江存, 谢伟. 临床输血诊疗技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 84-87.
- [3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 南京: 东南大学出版社, 2006: 262-263.
- [4] 周金安, 刘慧芳. 新生儿血型鉴定的常见问题和处理[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(19): 2285-2287.
- [5] 张俊玲, 尚锦青, 杨波, 等. 3 种配血方法对含 Rh 抗体血样本配血效果研究[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(1): 12-14.
- [6] 章文, 李德发, 陈月生, 等. 3 种交叉配血方法在儿童输血安全中的应用评价[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(3): 242-243.
- [7] 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: 562-568.
- [8] 陈才生, 王雷平, 翁彬, 等. 新生儿脐血 ABO 血型正反定型及交叉配血实验结果分析[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(1): 61-63.
- [9] 方代华, 李娟, 祁伯祥, 等. 儿童患者配血不合原因分析及对策[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(2): 145-146.
- [10] 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, 2012, 25(6): 337-340.
- [11] 张长虹, 周俊. 新生儿输血进展与输血安全[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(7): 491-494.
- [12] 刘峰, 李归宁, 王寒旭, 等. 微柱凝胶技术在 ABO 新生儿溶血患儿输血前检验中的应用研究[J]. 临床血液学杂志, 2013, 26(2): 76-79.
- [13] 马曙轩, 刘景汉, 邵华, 等. 新生儿与 ABO 异型献血者交叉配血 1 000 例结果分析[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(2): 111-112.