

献血者红细胞不规则抗体检测在电子交叉配血技术中的应用分析

邹文涛^{1,2} 何子毅² 王庆² 陈庆恺² 邹娇丽² 陆家海¹

1. 广东广州中山大学 公共卫生学院, 510080; 2. 东莞市中心血站

电子交叉配血(Electronic or Computer crossmatch, EXM)是指在红细胞ABO/RhD定型鉴定和红细胞不规则抗体筛选的基础上, 直接由计算机系统为受血者选择ABO/RhD血型相容的血液, 而不再进行血清学交叉配血试验; 即利用信息技术辨认可受血者身份和供血者血液资料及检测输血前血液相容性。

红细胞不规则抗体指血液中抗-A和-B以外的其他血型抗体, 该类抗体可以致敏红细胞, 导致迟发性溶血性输血反应。电子交叉配血和虚拟血库是目前最新的研究技术, AABB对电子交叉配血要求中明确提出了受血者红细胞不规则抗体筛选阴性的要求, 但对献血者没有要求。欧美等发达国家, 对献血者一般都进行了红细胞不规则抗体筛选, 中国香港和台湾的采供血机构也把不规则抗体筛选作为常规筛查项目, 但是国内采供血机构尚未对献血者全部进行红细胞不规则抗体筛选, 也没有法规上的要求。因此, 国内开展电子交叉配血前是否要对献血者进行红细胞不规则抗体筛选就成了讨论的要点。

Plumbky等^[15]报道了美国军人献血者红细胞不规则抗体的阳性检测率为0.04%, 有临床意义的红细胞不规则抗体仅为0.02%。Tiwari等^[10]报道印度献血者红细胞不规则抗体的阳性频率为0.09%, 主要是MNSs系统中的抗-M。Pahuja等^[17]报道印度德黑兰在7648名献血者中共发现同种抗体4例, 阳性率仅为0.05%, 其中2例为抗-C, 1例为抗-Lea, 1例为自身抗体。在世界范围内, 献血者红细胞不规则抗体的频率大约为0.3%, 拉丁美洲及哥斯达黎加的报道为0.19%, 巴西为0.34%^[18]。为了研究在我国开展电子交叉配血是否需要献血者进行红细胞不规则抗体筛选, 研究组在中文文献库“中国知网”中检索了近年发表的有关对无偿献血者进行红细胞不规则抗体筛选的文献, 在10篇文献中共对4390318例无偿献血者不规则抗体筛查结果, 检测阳性545例, 总阳性率0.012%, 低于法国、印度新德里、美国、拉丁美洲及巴西的报道, 明显低于在世界范围内献血者红细胞不规则抗体的频率0.2%~0.8%。我们推测是国内人种血型系统较为纯正, 而西方等国家人种之间由于民族交融, 血型系统较为复杂, 产生不规则抗体的频率较高。本站于2013年9月—2014年3月对所有的无偿献血者血样进行红细胞不规则抗体筛选, 至今共完成59758次检测, 检出阳性128(0.21%)例, 其中冷自身抗体34例, 占总检出率的26.4%, 无临床意义的IgM型抗体52例, 占总检出率的53.4%, IgG型不规则抗体共34例, 占总检出率的26.4%, 其中抗-D5例, 抗-E7例, 抗-C1例, 未确定特异性的IgG型抗体21例。低于国内综合文献的报道, 本次采用的不规则抗体筛选试剂及检测系统具有较高的敏感性, 检测阳性率较高, 由于抗体鉴定采用国内试剂, 对抗体特异性的鉴定有限, 因此未确定抗体特异性的较多, 这些不能确定特异性的抗体多为IgG型, 凝集反应强度弱, 与鉴定细胞的反应强度不一致, 我们推测这些抗体多为药物性抗体, 这与国人滥用抗生素类及其他药物有关, 这类抗体可能会造成严重的溶血性输血反应。根据不规则抗体分型的情况来看, 国内文献共报道了572959例献血者共检出红细胞不规则抗体阳性193例, 其中IgM型不规则抗体182例, 占阳性检出率的94.3%, IgG型不规则抗体11例, 仅占阳性检出率的5.7%, IgM型不规则抗体阳性率远高于IgG型不规则抗体, IgM型不规则抗体是完全抗体, 一般与相应抗原结合会激活补体, 导致急性溶血性输血反应。陈忠等^[19]报道了121例溶血性输血反应中共检测出164种不规则抗体, 其中IgG型不规则抗体引起的占157(95.73%)例, IgM型占7(4.27%)例。因此, 不规则抗体导致溶血性输血反应危害的存在。

从抗体鉴定凝集反应强度来分, “4+” 4例, “3+” 11例, “2+” 32例, “1+74” 例, “士” 13例, 在阳性检出的血浆中, 65.12%的不规则抗体凝集反应强度弱于“1+”, 88.37%的不规则抗体凝集强度弱于“<2+”。由于献血者红细胞不规则抗体阳性频率极低, 且多为无临床意义的红细胞不规则抗体, 因此有学者认为对献血者不主张进行红细胞不规则抗体的常规检查^[18]。国内采供血机构对临床提供普通冰冻血浆和新鲜冰冻血浆, 而发生输入性红细胞不规则抗体引起急性溶血性输血反应尚未见报道; 发生急性溶血性输血反应一般只发生在ABO血型系统, 只有输错血、发错血或特殊亚型且有不规则抗体(如抗-A1)未被发现; 而IgG型不规则抗体一般引起迟发性溶血性输血反应, 易被临床忽视或被原发病掩盖, 一般很难发现。同时在本次研究中发现, 女性献血者不规则抗体的总阳性率低于男性, 抗-D在女性献血者中的检出率明显高于男性献血者, 可见男性献血者的血液更适用于电子交叉配血; 41—55岁献血者中不规则抗体的检出率较高, 提示18—40岁的献血者不规则抗体的检出率相对较低, 更适用于电子交叉配血; 同时提示, 采集男性且年龄≤40岁, 其不规则抗体阳性率最低, 为无偿献血招募, 安全血液提供了一定的帮助。

【转B2版】

World Blood Donor Day 2016: Blood connects us all

2016年世界献血者日: 血液连接你我

时间: 2016年6月14日
World Blood Donor Day—14 June 2016

全球主场: 荷兰阿姆斯特丹
Host for World Blood Donor Day events Amsterdam, Netherlands

The theme of this year's World Blood Donor Day is "Blood connects us all". It focuses on thanking blood donors and highlights the dimension of "sharing" and "connection" between blood donors and patients. In addition, we have adopted the slogan "Share life, give blood", to draw attention to the roles that voluntary donation systems play in encouraging people to care for one another and promote community cohesion.

今年活动的主题是“血液连接你我”, 着重感谢献血者并强调献血者与患者之间的“分享”与“相连”关系。此外, 我们采用的口号是“分享生命, 捐献热血”, 旨在提请关注自愿献血制度在鼓励人们相互关爱和促进社区团结方面的作用。

The campaign aims to highlight stories of people whose lives have been saved through blood donation, to motivate regular blood donors to continue giving blood, and motivate people in good health who have never given blood to begin doing so, particularly young people.

活动的目的是突出讲述那些自身生命受益于他人献血而得以挽救的人们故事, 借此来激发定期献血者继续献血的积极性, 同时鼓励那些健康良好但从未献过血的人们(尤其是年轻人)开始加入到这一行列。

※ 摘自世界卫生组织网站

英文: <http://www.who.int/campaigns/world-blood-donor-day/2016/event/en/>
中文: <http://www.who.int/campaigns/world-blood-donor-day/2016/event/zh/>



客服: 400 658 2515
www.ausbio.com
投稿邮箱: gaosha@ausbio.com



澳斯邦: 联邦 & 邦联: 世界 第十三届中国检验医学暨输血仪器试剂博览会【回顾】

由全国卫生产业企业管理协会医学检验产业分会(CACLPC/CAIVD)和博路德(上海)会展会务有限公司举办的“第十三届中国检验医学暨输血仪器试剂博览会”于2016年3月7-9日在西安曲江国际会展中心举行。

本次展会澳斯邦以“澳斯邦: 联邦 & 邦联: 世界”为主题, 展出了澳斯邦新世代的新概念——澳斯邦红色系列。产品的全新概念吸引了众多目光, 被参观者誉为“革命性的改变”。借此机会, 公司召开了第七届经销商答谢会, 感谢一直以来与我们携手共创辉煌的各位经销商代表。晚宴前, 公司CEO王兆强先生发表了演讲, 愿各经销商在联邦的旗帜下创造更好的业绩, 并为2015年度销售冠军颁发了奖杯。

澳斯邦: 第68届美国AACC博览会【展会预告】

会议时间: 2016年7月31日—8月4日 会议地点: 美国费城会展中心 澳斯邦展位: 4217

第68届美国临床化学年会暨临床实验室医疗设备博览会(AACC Annual Meeting and Clinical Lab Expo)将在2016年7月31日至8月4日在美国宾夕法尼亚州费城举行。

AACC是一个国际科学/临床实验室的专业人士, 医生, 科研人员, 临床化学和其他临床实验室人员, 以及涉及科学的其他人士成立的医疗组织, 成立于1948年, 现在协会成员有11000个, 总部设在华盛顿特区。

AACC - Clinical Lab Expo 成立于1949年, 是世界上临床检验领域内最高质量和最大规模的年度盛会, 在临床检验领域有着里程碑的意义和深远的影响力, 每年7月份在美国不同城市巡回举行。

澳斯邦全体同仁欢迎国内外的专家学者参观指导, 如有任何疑问, 欢迎联系我们 ausbio@ausbio.com

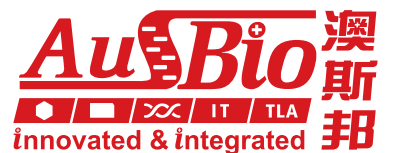


西安第十三届中国检验医学暨输血仪器试剂博览会



第68届美国AACC博览会【预告】

- 展会回顾 A1版
西安第十三届中国(国际)检验医学暨输血仪器试剂博览会
- 展会预告 A1版
第68届美国AACC博览会
- 新技术-新方法 B1版
重组抗体技术-实现抗体标准化
- 疑难解答 C1版
FAME校验原理
- 期刊文摘 D1版 B2版
献血者红细胞不规则抗体检测在电子交叉配血技术中的应用分析
- 输血行业史 D2版
2016年世界献血者日: 血液连接你我



重组抗体技术-实现抗体标准化

本文原文来自nature网站，部分编译参考生命奥秘。Nature：追寻抗体生产的标准化

抗体是生命科学领域最常用的工具之一。如今，科研者正不断遭遇抗体的困扰。最常见的是：购买的用于检测蛋白X的抗体优先与蛋白Y结合（甚至可能完全不与X结合）；可重复性差，用新抗体重复以前的实验，发现结果无法重复等。一个好科研项目常常因此而搁浅，非标准化抗体质量的不可靠性问题非常让人警醒。

此外，同一个抗体在几次平行实验里得出的结果不同，将会产生灾难性的结果，而导致这一结果却可能与抗体的生产过程有关。特异性不足、敏感度和批次差异性等导致了错误的科研发现和大量的科研精力浪费；抗体的不可靠性还造成了癌症、代谢、老化、免疫和细胞信号转导以及任何研究复杂的生物分子的领域的巨大损失；因抗体而造成的时间和资源方面的浪费非常巨大。据估计，仅在美国每年这方面的支出就达3.5亿美元。

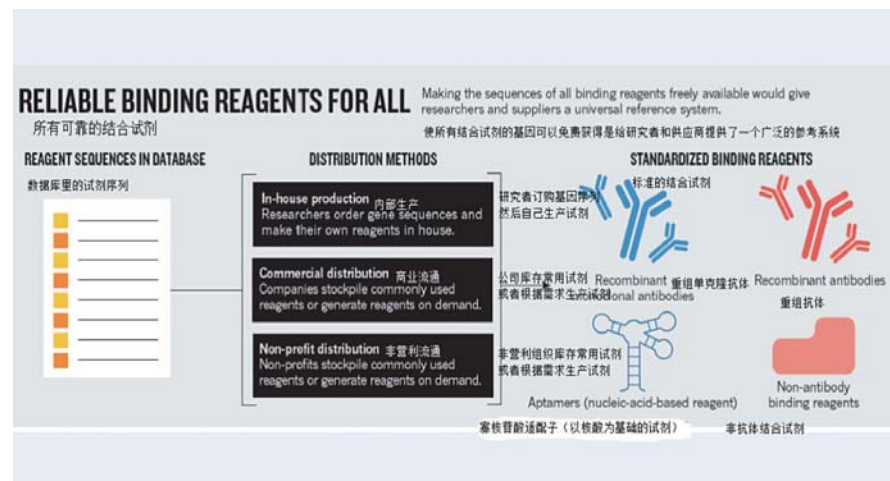
这两个问题已经引起了业内的关注并且抗体标准化的呼声越来越高。发表于国际学术期刊Nature上的一项研究报告中，来自新墨西哥州洛萨拉马斯国家实验室（Los Alamos National Laboratory）的研究者设计出了一种制造抗体的标准化方法，并提出了改善目前抗体状态的两个步骤。

改善试剂质量需两个步骤

重组抗体不同于传统的单克隆抗体，因为它们的制作不需要动物。相反，通过检测产生该抗体的基因序列（通过对动物的免疫细胞进行测序、或自己设定序列，检测产生的蛋白是否符合目标蛋白）；再将将该基因插入到合适的细胞株中，从而产生抗体。由于抗体是确定的，即使原始细胞株死亡或发生突变，也能通过基因插入，产生需要的细胞株。

如果所有的抗体都能通过其序列被界定并重组出来，全世界的研究人员便可以在相同条件下使用相同的结合试剂。重组抗体的永久生产线可以通过将含有DNA的质粒与细胞系结合而被设计出来。

在实践中，改善可结合蛋白的试剂质量需要两个步骤。首先，应获得这些试剂的序列以用于生产广泛使用的杂交瘤单克隆抗体。只有这样，这些抗体才能被重组出来。而多克隆抗体应该从研究中全部淘汰。其次，研究人员应采用可直接获得那些被轻易测序和表达的重组结合试剂的方法。它们包括从上百个变异体中选出最好结合试剂的X杂交法以及对几百万动物或人类B细胞接受免疫挑战后进行测序确认出抗体的方法。



依靠市场的力量

在我们看来，生产研究中常用的抗体重组版本在商业上是有利可图的，即使是序列信息可被公开获取。这些试剂在研究用抗体市场中的缺席，主要来自经济方面的考虑，而非技术上的挑战。很多生产商只是简单地被利润更丰厚的治疗市场所吸引。

目前，重组结合试剂的生产成本同单克隆抗体相仿，但随着技术进步，应该会下降，而需求会增加，生产流程也将变得更自动化。如果DNA序列可免费获取，研究人员原则上能自己生产重组试剂，但大多数将更偏好从供应商获取有质量控制的产品。

目前，很多序列已不受专利限制。这意味着仅靠市场驱动并不能改善可结合蛋白的试剂质量。出于对抗体质量的追求，科研工作这正逐渐认识到“单克隆抗体和多克隆抗体最终会被结构更明确的重组抗体完全取代”。



B2 期刊文摘

综上所述，由于输入性献血者红细胞不规则抗体阳性血浆导致溶血性输血反应的危害，为防止发生溶血性输血反应，因此，国内开展电子交叉技术时，从临床价值和经济效益的角度综合考虑，要对献血者进行红细胞不规则抗体筛选。

[15] Plumbley JA, Shelton JB Jr, Bowlus IN, et al. The incidence of unexpected antibodies in blood products collected at a military donor center. Mil Med, 1999, 164(10): 705-706.

[16] Tiwari AK, Pandey P, Sharma J, et al. Incidence of clinically significant antibodies in patients and healthy blood donors: a prospective cross-sectional study from a tertiary healthcare center in India. Transfus Apher Sci, 2014, 50(2): 230-234.

[17] Pahuja S, Kushawaha S, Sethi N, et al. Screening of blood donors for erythrocyte alloantibodies. Hematology, 2012, 17(5): 302-305.

[18] Carcia MA, Bautista L, Palomino F. Should blood donors be routinely screened for irregular antibodies? Immunohematology, 2012, 28(2): 60-66.

[19] 陈忠, 张莉尼. 溶血性输血反应与非ABO新生儿溶血病不规则抗体的综合分析. 临床检验杂志, 2001, 19(6): 377-378.

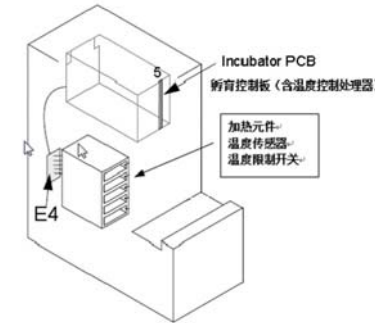
FAME如何实现精准孵育

FAME全自动酶免分析系统是瑞士HAMILTON公司精心设计的一款经典全自动酶免设备，其模块化、多任务并行的特点，为医院、血站、CDC等用户提供了最佳的系统解决方案，充分满足了其对ELISA实验灵敏度和特异性的高要求。

孵育是ELISA实验中影响测定成败最为关键的一个因素。ELISA属于固相免疫测定，孵育需要满足以下两个条件：一是为了使液相中的抗原或抗体与固相上的特异性抗体或抗原完全结合，必须在一定温度条件下反应一定的时间；二是为了保证抗原抗体的结合达到最大结合度，反应温度需要逐渐变化至平衡点。FAME孵育单元的设计，无论从孵育槽结构、孵育槽数量，还是实时温度、加热速度、孵育时间的控制上，都达到了近乎完美的程度。

一、FAME孵育单元控制原理

FAME配备一个常温孵育塔，最多五个控温孵育塔。每个孵育塔含五个孵育槽，其中常温孵育塔可在15-35℃工作，控温孵育塔最高可升温至70℃。每个孵育槽都有单独的高精度NTC温度传感器，在温度控制处理器、温度限制开关、空气开关的多重保护下，可实现对温度的精确控制。



二、FAME对孵育的精准控制

（一）提供适宜的加热模式，保证有效孵育温度

众所周知，当处于常温状态的微孔板放入孵育槽后，孵育槽内温度会下降，下降的幅度受到以下因素影响：

1. 微孔板自身的温度；
2. 所使用的微孔板类型；
3. 微孔板孔内液体的温度；
4. 微孔板孔内液体的体积；
5. 微孔板孔内液体的类型；
6. 微孔板含有液体孔的数量。

考虑到以上因素，FAME软件中提供了三种加热速度可供选择，如右图所示：



A. 快速加热模式

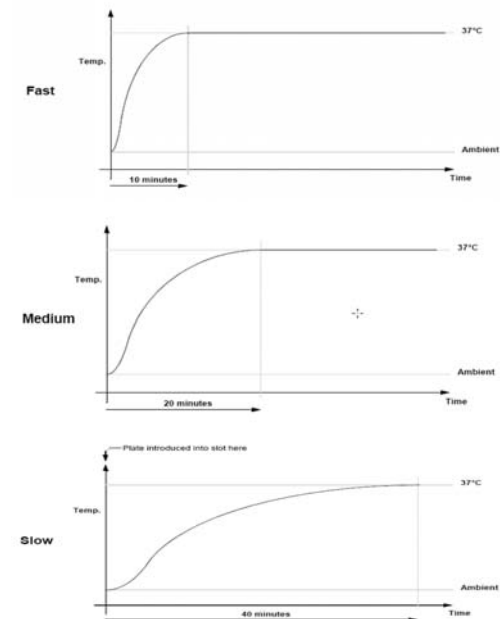
适合孵育时间不超过30分钟的实验，模拟水浴箱加热特性，保证有效孵育时间，如大部分国产试剂。

B. 中速加热模式

适合孵育时间在30-60分钟之间的实验，如大部分进口试剂。

C. 慢速加热模式

适合孵育时间大于1小时的实验，精确加热曲线控制，保证温度缓慢平稳上升，保证抗原抗体牢固结合，提高实验灵敏度。



澳斯邦售后服务中心 崔光波

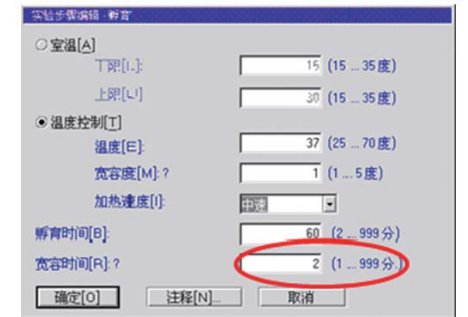
所以，当定义新的实验方法时，需要对选定加热模式的实验进行评估和验证。只有经过评估和验证的加热模式，才能保证在设定温度下的有效孵育。

（二）提供极佳的孵育环境，避免“边缘效应”

所谓“边缘效应”，即在使用微孔板的ELISA测定中，出现外周孔显色较中心孔深的现象。而FAME采用空间加热模式，孵育槽为热导率极高的铝制材料，保证高效传热，使整个空间均匀受热，真正实现了模拟水浴环境，有效避免了“边缘效应”。

另外，FAME孵育槽采用了密闭设计，有效减少了微孔板孵育过程中的液体蒸发，保证了抗原抗体的有效结合。

（三）提供孵育时间管理，保证有效孵育时间



在FAME软件中，提供了孵育宽容时间设置，若因仪器故障、人为干扰等因素，导致孵育时间超过宽容时间的限制，FAME将主动放弃本次实验操作，避免因孵育时间超限造成实验结果不可靠。

（四）提供标准校验程序，定期验证孵育有效性

FAME软件包含全自动校验程序，并定期提醒用户完成校验。其中，孵育有效性验证完全模拟ELISA试验中微孔板的孵育方式，温度校验板（如下图）悬空在密闭的孵育槽内，经过30分钟的孵育，完成一个孵育槽的有效性验证。



综上所述，FAME通过科学的设计，提供了安全有效的孵育条件，实现了ELISA实验的精准孵育，保证了检测结果的准确性和可靠性。