

EDTA 抗凝标本保存条件和时间 对微柱凝胶法检测血型的影响

徐 朴 周 愆 何紫琪 余 华

摘要 目的 探讨不同保存条件下保存时间对微柱凝胶法检测血型的影响。方法 随机选取体检健康人群 128 例 EDTA - K2 抗凝标本室温保存,另 128 例 EDTA - K2 抗凝标本 4℃ 保存,观察开始溶血和完全溶血时间,对未溶血标本、部分溶血和完全溶血标本分别用微柱凝胶法进行血型鉴定。结果 EDTA 抗凝标本在室温和 4℃ 条件下保存 1 周均无溶血发生;第 14 天时,常温保存标本约有 1/3 开始溶血,4℃ 保存标本只有少量发生溶血;常温保存标本第 35 天时均完全溶血,而 4℃ 保存标本第 77 天时均完全溶血。标本未溶血时,正反定型结果均清晰可见;标本发生部分溶血时,正定型结果无影响,反定型结果有影响;标本完全溶血时,正反定型结果均有严重影响。结论 在室温和 4℃ 条件下,EDTA 抗凝标本的最佳保存时间为 1 周,此时用微柱凝胶法检测血型不受影响;常温标本保存 35 天内、4℃ 标本保存 77 天内,对反定型有影响,此时用微柱凝胶法检测血型须谨慎;常温标本保存超过 35 天、4℃ 标本保存超过 77 天则不宜用微柱凝胶法检测血型。

关键词 EDTA 抗凝标本 保存条件 保存时间 微柱凝胶法 血型检测

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.09.035

Influence of Different Preservation Condition and Period on Blood Grouping by Micro Column Gel Method about EDTA Anticoagulant Specimen. Xu Pu, Zhou Su, He Ziqi, et al. Department of Blood Transfusion, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China

Abstract Objective To investigate the effect of different preservation period under different storage temperatures on blood grouping by micro column gel. **Methods** Stochastic healthy 128 EDTA - K2 anticoagulation specimens were preserved at room temperature, while the other 128 EDTA - K2 anticoagulation specimens were stored at 4℃. The time of initial hemolysis and complete hemolysis was observed and blood group was identified on each specimen for non - hemolysed, partial hemolysed and completely hemolysed, respectively, using micro column gel method. **Results** No hemolysis occurred for both specimens stored at room temperature and 4℃ within one week. On the 14th day, one third specimens of room temperature preservation started to hemolyse, however only a small amount of 4℃ preserved specimens hemolysed. It took 35 days for all specimens stored at room temperature to completely hemolyse and 77 days for those stored at 4℃. Forward and reverse grouping results were clearly visible on non - hemolysed specimens. No impact observed on forward grouping results but there was impact on reverse grouping, in partial hemolysed specimens. Complete hemolysis affect both forward and reverse blood typing results seriously. **Conclusion** At room temperature and 4℃, the best preservation period for EDTA anticoagulant specimen is one week, and the detection of blood type by micro column gel method is not affected. For specimens preserved at room temperature within 35 days and 4℃ within 77 days, the results show impact on reverse grouping. The determination of blood group using micro column gel method on these preservation conditions should be cautious. Specimens of room temperature preservation over 35 days and specimens preserved at 4℃ more than 77 days are unfavorable for blood grouping with micro column gel method.

Key words EDTA anticoagulant specimen; Storage condition; Storage period; Micro column gel method; Blood grouping

EDTA 抗凝标本是血型检测常用的标本,而微柱凝胶法是目前检测血型的常用方法^[1-5]。临床输血相关法规规定输血标本检测后于 2 ~ 6℃ 至少保存 7 天,主要是为了追查不良事件,如果能保存更长时间则更有利于追查不良事件,但 EDTA 抗凝标本究竟保存多长时间仍然能有效地检测出血型,目前尚无报

道。本研究对血型标本保存时间和结果的准确性方面进行了探讨,现将结果报道如下。

材料与方法

1. 标本来源:随机收集笔者医院 2017 年 9 月体检健康人群 EDTA - K2 抗凝标本 256 例,分为常温组和 4℃ 组。常温组 128 例,其中男性 76 例,女性 52 例,患者年龄 18 ~ 56 岁,中位年龄 35 岁;4℃ 组 128 例,其中男性 67 例,女性 61 例,患者年龄 19 ~ 53 岁,中位年龄 32 岁;为避免血型之间的差异,每组 A 型、

作者单位:430060 武汉大学人民医院输血科

通讯作者:徐朴,副主任技师,电子信箱:rubicon2011@163.com

B型、AB型、O型标本各选取64例。经统计学分析,各组间年龄、性别构成、ABO血型比例比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2. 试剂与仪器: ABO、RhD血型定型检测卡由长春博迅生物技术有限责任公司提供,人ABO血型反定型用红细胞试剂盒由上海血液生物医药有限责任公司提供。卡式离心机为BYL型血型血清学多用途离心机。

3. 保存条件与观察指标: 常温组于室温下保存,4℃于2~6℃冰箱保存,观察标本开始发生溶血(部分溶血)和完全溶血的时间。

4. 微柱凝胶法检测血型: 对发生溶血不同阶段的标本用微柱凝胶法检测血型,按试剂说明书要求进行操作,在BYL型血型血清学多用途离心机上离心后观察结果。

5. 统计学方法: 使用SPSS 20.0软件学软件对数据进行统计分析,各组间差异采用t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同保存条件下标本溶血状态比较: 标本分类保存后开始记录,第1周均未发现溶血。从第2周开始,无论哪种条件保存,均有部分标本开始溶血。常温保存至35天时所有标本均完全溶血,4℃保存至77天时所有标本均完全溶血。4℃与常温条件比较差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表1。

表1 不同保存条件下标本溶血状态比较 (n)

时间	常温			4℃		
	不溶血	部分溶血	完全溶血	不溶血	部分溶血	完全溶血
7天	128	0	0	128	0	0
14天	0	43	0	120	8	0
21天	0	71	57	0	128	0
28天	0	16	112	0	128	0
35天	0	0	128	0	124	4
42天	0	0	128	0	100	28
49天	0	0	128	0	85	43
56天	0	0	128	0	24	104
63天	0	0	128	0	9	119
70天	0	0	128	0	7	121
77天	0	0	128	0	0	128
84天	0	0	128	0	0	128
91天	0	0	128	0	0	128
98天	0	0	128	0	0	128

与常温比较, $t = 3.033, P = 0.011$

2. 不同溶血状态对微柱凝胶法检测血型的影响:

用微柱凝胶法检测血型,当标本不溶血时正反定型结果均清晰可见,详见图1;部分溶血时,正定型无影响而反定型稍有影响,但不影响血型鉴定,详见图2;当标本完全溶血后,反定型无法判断结果,而正定型结果已模糊不清,血型不能准确鉴定,详见图3。

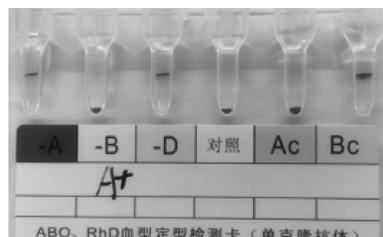


图1 未溶血时微柱凝胶法检测结果

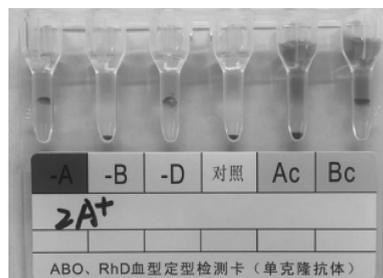


图2 部分溶血时微柱凝胶法检测结果



图3 完全溶血时微柱凝胶法检测结果

讨 论

安全有效的临床输血是现代医疗中的一项重要措施,而准确的血型鉴定是临床输血安全的重要保障^[6-8]。为保障临床输血安全及输血后不良事件追踪与调查,无论是临床输血科(血库)还是血站,均会对检测的血型标本留存以方便后期核查,一般认为保存时间越长则越有利于不良事件的追踪与调查,但这些标本究竟可以保存多长时间而不影响血型鉴定,目前尚无相关报道。EDTA抗凝标本由于无稀释、无凝块、可用于自动化检测等诸多优点,因而是输血前检测常用的标本^[9-12]。标本保存常用的条件是常温 and 4℃。微柱凝胶法具有简单、规范、灵敏度高、易于操作等优点而成为目前检测血型常用的方法^[13-16]。本

研究就常用的 EDTA 抗凝标本在常温和 4℃ 条件下保存后用微柱凝胶法检测血型,探讨保存条件和保存时间对微柱凝胶法检测血型的影响。

随着保存时间的延长,标本开始溶血并且逐渐加重。溶血状态通常有不溶血、不完全溶血和完全溶血 3 种。不溶血标本血清(浆)层呈淡黄色清晰透明,红细胞和血清(浆)层分界清晰,不完全溶血标本血清(浆)层呈红色半透明状态,红细胞和血清(浆)层分界模糊,完全溶血标本呈暗红色混浊状态,红细胞和血清(浆)不能分层。

本研究发现,在常温或 4℃ 保存条件下,第 7 天均未发现溶血;第 14 天时,常温保存标本约有 1/3 开始溶血,4℃ 保存标本只有少量发生溶血,随保存时间延长,溶血程度逐渐加重;常温保存标本第 35 天时均完全溶血,而 4℃ 保存标本第 77 天时均完全溶血。标本未同时发生溶血与不同个体红细胞膜稳定性、脆性以及采血技巧等有关。上述结果表明,无论是常温还是 4℃ 保存,EDTA - K2 抗凝标本在 1 周内均无明显变化,但随着保存时间延长,4℃ 保存条件明显优于常温保存 ($P < 0.05$)。

通过观察不同溶血状态对微柱凝胶法血型检测结果的影响发现,标本未溶血时,正反定型结果均清晰可见,对血型鉴定无影响;当标本发生部分溶血时,正定型无明显影响,而反定型虽然液体颜色偏红,但不影响凝集强度的观察,对血型鉴定影响不大;当标本发生完全溶血后,反定型结果受到严重干扰,已无法判断,正定型结果亦较难判断,此时已不能再用微柱凝胶法进行鉴定。上述结果表明,常温标本保存至第 35 天、4℃ 标本保存至第 77 天时,已无法用微柱凝胶法检测血型。本研究结果与许桂平等^[17]研究发现溶血标本对血型检测有影响的结果一致。而屠海涛等^[18]研究发现,标本溶血对反定型无影响,完全溶血对正定型有影响。该研究对正定型的影响和完全溶血标本无法进行血型检测的结论与本研究一致,但反定型的结论与本研究不一致,其原因是该研究采取冰冻和机械溶血的方法,而本研究模拟日常工作对标本的保存方式进行保存,随保存时间延长,溶血更为彻底;同时该研究采用的实验方法为试管法,与本研究采用的微柱凝胶法也不一致。

综上所述,本研究中无论是常温还是 4℃ 保存,EDTA 抗凝标本的最佳保存时间为 1 周,此时用微柱凝胶法检测血型无影响。常温保存 35 天内、4℃ 保存 77 天内,对反定型有影响,此时用微柱凝胶法检测血

型须谨慎。常温标本保存超过 35 天、4℃ 标本保存超过 77 天时,标本发生完全溶血,此时不宜用微柱凝胶法检测血型。上述研究可为输血不良事件调查中关于标本保存条件、期限以及检测方法提供实验室参考数据,实验室可根据自身需要选择标本保存条件、期限和检测方法。

参考文献

- 1 Kaur D, Bains L, Kandwal M, *et al.* Erythrocyte alloimmunization and autoimmunization among blood donors and recipients visiting a tertiary care hospital [J]. *J Clin Diagn Res*, 2017, 11 (3): EC12 - EC15
- 2 舒群峰,龚晓波,程庆东,等. 产前血型血清学检出罕见抗 - Tja 抗体 1 例 [J]. *临床血液学杂志*, 2018, 31 (2): 159 - 160
- 3 Chen J, Liu F. Analysis of ABO chimera from peripheral red cells and reticulocytes by flow cytometry and micro gel column technique in patients post - ABO - incompatible HSCT [J]. *Clin Transplant*, 2018, 32 (2): 1 - 9
- 4 李伟敬,夏瑞雪,崔艳. 微柱凝胶法在血型鉴定中的应用 [J]. *临床医药文献杂志*, 2017, 4 (14): 2745
- 5 陈兰兰,张德华,张嘉洪,等. 探讨微柱凝胶法反定型弱凝集的处置措施 [J]. *临床输血与检验*, 2018, 20 (1): 92 - 94
- 6 刘金荣. 血型实验室的输血检验质量和输血安全控制探究及对凝血因子的影响 [J]. *中外医学研究*, 2018, 16 (8): 177 - 179
- 7 李影,张冬霞,于红,等. 临床输血前血型鉴定及抗体筛查对输血安全重要性分析 [J]. *中国卫生标准管理*, 2017, 8 (16): 139 - 141
- 8 毕玉超. 血型实验室的输血检验质量控制与输血安全探讨 [J]. *基层医学论坛*, 2018, 22 (32): 4572 - 4574
- 9 贾波,靳十周,吉素清,等. 负压采血试管在血型鉴定方面的选择和应用 [J]. *中国输血杂志*, 2013, 26 (6): 536 - 537
- 10 黎海江,冯学冠,符晓玲,等. EDTA 抗凝对凝聚胶交叉配血结果的影响分析 [J]. *西南国防医药*, 2018, 28 (9): 887 - 888
- 11 樊鹏威,江敏. HAMILTON 全自动血型仪在血型鉴定中的应用价值分析 [J]. *基层医学论坛*, 2018, 22 (16): 2255 - 2256
- 12 丁琴丽,赖蜜,邱芳. AutoVueInnova 全自动血型仪在输血相容性检测中的应用分析 [J]. *赣南医学院学报*, 2017, 37 (2): 235 - 236
- 13 钟胜英. 手工微柱凝胶免疫检验法在 ABO、RhD 血型抗原鉴定中的应用效果 [J]. *实用中西医结合临床*, 2017, 17 (5): 4 - 5
- 14 李海云,凌励,丁彦杰. 红细胞血型不规则抗体不同检测方法检测效果比较 [J]. *中国输血杂志*, 2015, 28 (9): 1133 - 1135
- 15 郭惠莲,黄东平,郑燕霞. 微柱凝胶免疫检测技术在临床血型鉴定与输血中的应用价值 [J]. *临床医学工程*, 2016, 23 (9): 1225 - 1226
- 16 潘艳伟. 微柱凝胶免疫检测技术鉴定临床血型及保证输血安全的意义 [J]. *河南医学研究*, 2018, 27 (14): 2565 - 2566
- 17 许桂平,康琼华,李晶晶,等. 120 例 ABO 血型正反定型不符影响因素分析及对策浅析 [J]. *中国输血杂志*, 2018, 31 (1): 61 - 63
- 18 屠海涛,邹昕. 溶血对血型检测影响的分析 [J]. *医学检验与临床*, 2015, 26 (1): 22 - 23

(收稿日期:2018 - 11 - 15)

(修回日期:2018 - 12 - 10)