

· 论 著 ·

全球 42 个血小板免疫学实验室血小板同种抗体检测质量测评^{*}

申卫东 周燕 钟周琳 唐秋民 莫秋红 李恒聪 何保仁 黎海燕 廖燕 李丽兰 吴国光
(南宁输血医学研究所, 广西南宁 530003)

摘要:目的 主持国际输血学会第 14 届国际血小板免疫学研讨会和合作研究项目, 对参加合作研究项目的全球 42 个血小板免疫学实验室的血小板抗体检测技术和质量状况进行测评。方法 南宁输血医学研究所组织并向参加合作研究的各实验室提供 9 份含抗血小板特异性抗体的质控标本, 各实验室以本室的技术或市场化的技术作检测, 按所提供的记录表格对各质控标本的反应结果作报告。结果 23 个国家的 36 个实验室参加了本合作项目, 35 个实验室反馈了各自实验室的研究结果, 9 个质控标本抗体特异性鉴定的一致率为 20%—97.14%, 抗体特异性分别为抗-HPA-1a、抗-HPA-1b、抗-HPA-3a、抗-HPA-3a、抗-HPA-3b、抗-HPA-5b、抗-HPA-5a、抗-GPIIb/IIIa 及抗-HPA-5b+15b, 一致率最低为抗-HPA-3b, 最高为抗-HPA-5b 和抗-HPA-5a。各实验室采用的技术共计有 10 余种, 血小板抗原单克隆抗体特异性免疫固定检测技术 (MAIPA) 是采用最多的技术。结论 本合作项目成功地对 35 个国际血小板免疫诊断实验室的血小板特异性抗体的检测技术和质量进行了测评和分析报告。

关键词: ISBT; 血小板免疫学; 同种抗体; 血小板; 检测; 质量; 测评

中图分类号: R457.1⁺1 R331.1⁺43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2009)09-0719-03

Proficiency evaluation of platelet alloantibody analysis in 42 platelet immunology laboratories around the world: the 14th ISBT Platelet Immunology Workshop and Cooperative Research Project SHEN Weidong, ZHOU Yan, ZHONG ZhouLin, WU GuoGuang Nanning Institute of Transfusion Medicine, Nanning 530003, China

Abstract: Objective To organize the 14th ISBT Platelet Immunology Workshop and Cooperative Research Project, and proficiency evaluation on the techniques and quality level of platelet alloantibody analysis will be taken effect for the 42 platelet immunology laboratories around the world. **Methods** Organized and confirmed by Nanning Institute of Transfusion Medicine, 9 quality control samples contained the Human Platelet Antigen (HPA) specificity antibody have been supplied to all the participated laboratories in this project. The participants could use the In-House technology or/and market kits to test these quality control samples. The forms and sheets have been provided for recording of results. **Results** There were 36 laboratories from 23 countries participated in this Cooperative Research Project, and 35 laboratories have reported their results. The appraised consistent rate of the 9 quality control samples ranges from 20% to 97.14%, the HPA antibody specificities have been showed as anti-HPA-1a, anti-HPA-1b, anti-HPA-3a, anti-HPA-3a, anti-HPA-3b, anti-HPA-5b, anti-HPA-5a, anti-GPIIb/IIIa and anti-HPA-5b+15b, respectively. Among the appraised consistent rate, the anti-HPA-3b were the lowest and the anti-HPA-5b and anti-HPA-5a was the highest. Over 10 technologies of platelet alloantibody analysis were used by the laboratories. **Conclusion** This international cooperative research project has successfully made the proficiency evaluation and report on the techniques and quality level of platelet alloantibody analysis for the 35 international platelet immunology laboratories.

Key Words: ISBT; Platelet Immunology Workshop; Platelet alloantibody; Proficiency evaluation test

血小板的研究和临床应用是输血医学和血液学的重要内容之一, 对输血和血液治疗有着重大影响。为进一步促进世界各国血小板免疫学的研究及其在临床医学上的应用, 国际输血学会 (ISBT) 和 ISBT 血小板工作组, 每 2 年举行一届血小板免疫学研讨会和合作研究项目。2007 年, 南宁输血医学研究所

(以下简称南宁研究所) 和吴国光教授应 ISBT 和 ISBT 血小板工作组的邀请和委托, 组织和主持 ISBT 第 14 届国际血小板免疫学研讨会和合作研究项目^[1], 该合作研究项目以“帮助各国实验室提高和分享血小板免疫实验诊断的最新知识和技术”为目标, 开展血小板免疫学的国际合作研究, 并对各国实验室的技术能力和质量水平进行测评, 推荐适合于全球推广应用的血小板抗原、抗体反应的检测技术及技术标准。该合作研究共有 5 个项目, 全球 23 个

* 项目基金: 国际输血学会第 14 届国际血小板免疫学研讨会和合作研究项目; 通信作者: 吴国光, 研究员; 联系电话: 0771-3217522, 传真: 0771-3219687, E-mail: guangwu@szonline.net

国家的 42个血小板免疫学实验室参加。现将共有 36个实验室参加的血小板特异性抗体检测质量测评项目(合作项目之一),报道如下。

1 材料与方 法

1.1 质控标本 本所 2007年来自全球各血小板免疫学实验室的抗血小板特异性抗体标本中,经分析和鉴定后选定 9份标本作为血小板同种抗体检测质量测评项目的质控标本,提供给参加本项目的实

验室,分别标记为: 1a-1(抗-HPA-1a及抗-HLA)、1a-2(抗-HPA-1b及抗-HLA)、1a-3(抗-HPA-3a及抗-HLA)、1a-4(抗-HPA-3a及抗-HLA)、1a-5(抗-HPA-3b)、1a-6(抗-HPA-5b)、1a-7(抗-HPA-5a及抗-HLA)、1a-8(抗-GPIIb/IIIa)、1a-9(抗-HPA-5b+15b及抗-HLA)。同时提供统一的相关试验数据记录表格,以便各试验室提供统一标化的试验数据。

1.2 参加测评项目的实验室 见表 1。

表 1 参加测评项目的实验室

参加 14届合作研究项目的实验室	所属国家	是否参加本 质控项目	参加 14届合作研究项目的实验室	所属国家	是否参加本 质控项目
澳大利亚红十字血液中心血小板免疫学 参比实验室	澳大利亚	是	吉隆坡国立血液中心血液免疫学联合会	马来西亚	是
澳大利亚红十字血液中心	澳大利亚	是	蒙古国立中心医院临床免疫实验室	蒙古	是
维也纳医科大学血型血清学与输血医学部	奥地利	是	Sanquin公司血小板/白细胞血清学部	荷兰	是
圣保罗医院血库	巴西	是	北挪威大学医院输血医学部	挪威	是
加拿大血液中心血小板免疫学实验室	加拿大	是	波兰血液学与输血医学研究所	波兰	是
魁北克血液中心参与干细胞实验室	加拿大	是	斯洛文尼亚输血中心免疫血液部	斯洛文尼亚	是
哥本哈根大学附属医院临床免疫部	丹麦	是	巴塞罗纳血液中心免疫血液部	西班牙	是
芬兰红十字输血中心血小板实验室	芬兰	是	瑞士血液技术联合会	瑞士	是
法国国家输血医学研究所血小板免疫学 实验室	法国	是	泰国红十字血液中心白细胞与血小板 实验室	泰国	是
法国血液署血小板免疫学实验室	法国	是	英国国家血液中心组织配型与免疫遗传室	英国	是
法国血液署(里昂)血小板免疫学实验室	法国	是	苏格兰国家输血中心 H & I 实验室	英国	是
南特生物研究所免疫学实验室	法国	是	威斯康星血液中心血小板与粒细胞实验室	美国	是
罗斯托克大学输血医学部	德国	是	西雅图血液中心血小板免疫学实验室	美国	是
德绍红十字输血中心输血医学研究所	德国	是	美国国立卫生研究院	美国	否
海德堡大学输血医学和免疫学研究所	德国	是	深圳市血液中心	中国	否
吉森大学临床免疫学与输血医学实验室	德国	是	华中科技大学协和医院输血科	中国	否
RAMBAM 医学中心血小板免疫学实验室	以色列	是	青岛市中心血站	中国	是
以色列国立血液中心	以色列	是	上海市血液中心	中国	否
东京血液中心	日本	是	广州血液中心	中国	否
东京大学	日本	是	浙江省血液中心	中国	否
首尔国立大学医院医学实验室	韩国	是	南宁输血医学研究所	中国	是

1.3 检测要求 各实验室可采用本室技术或市场化技术的一种或多种进行检测,但需在所提供的相应记录表格上填写所采用的检测方法,及各方法所检测出的抗体特异性。

2 结果

2.1 反馈情况 参加血小板抗体检测质量测评项目的 36个实验室中,有 35个实验室反馈了试验结果。9份质控标本的血小板抗体特异性鉴定的一致性分布情况见表 2。

2.2 各实验室所采用的血小板抗体检测方法统计 应用全血小板作鉴定的技术,即血小板免疫荧光技术(PIFT)、固相红细胞粘附试验(SPAA)、HLA 抗体剥离技术(Strip)、抗原捕获固相化血小板技术(Cap P)、混合被动血凝试验(MPHA)及其它方法的

实验室分别有 14、3、5、1、3和 2家。实验室采用血小板膜糖蛋白鉴定技术:血小板抗原单克隆抗体特异性免疫固定检测技术(MA IPA) 27家、改良抗原捕获酶联试验(MACE) 4家,以及市场化技术的美国 GTI公司的 PAK12、PAKPLUS试剂盒 22家,以及其它的 11家方法,其中,使用最广泛的是 MA IPA 技术。

3 讨论

血小板表面有丰富且复杂的血型抗原,因有特异性的免疫原性,以及免疫特异性的种族多态性和地区差异,能通过输血、妊娠及骨髓移植等免疫刺激产生相应的抗体^[2,3],正确鉴定出患者所含血小板抗体是诊治血小板疾病的重要步骤之一。血小板抗体的检测,比其他血液成分抗体检测困难得多,国际

上探讨和应用的检测技术很多,但由于各种方法的特异性、灵敏度各不相同,试剂供应上又有很大的困难,并且各国实验室间的技术水平参差不齐,因此检测结果难以在国际范围内得到共同认可和通用,这些问题阻碍了血小板免疫学的进一步发展,影响了血小板免疫性疾病的诊断、治疗和输血治疗的效果。通过国际学术合作,在国际范围内提高、统一和标准化血小板免疫学诊断技术,是解决问题的最佳途径。

表 2 血小板同种抗体质控标本鉴定结果一致率表

所含抗体	参加检测的 实验室数 (n)	鉴定结果一致的 实验室数 (n)	鉴定 一致率 (%)
1a-1 抗 -HPA-1a, 抗 -HLA	34	32	94.12
1a-2 抗 -HPA-1b, 抗 -HLA	34	29	85.29
1a-3 抗 -HPA-3a, 抗 -HLA	34	31	91.18
1a-4 抗 -HPA-3a, 抗 -HLA	34	32	94.12
1a-5 抗 -HPA-3b	35	7	20
1a-6 抗 -HPA-5b	35	34	97.14
1a-7 抗 -HPA-5a, 抗 -HLA	35	34	97.14
1a-8 抗 -GPⅣ	35	14	40
1a-9 抗 -HPA-5b + 15b, 抗 -HLA	35	7	20
	35	11	31.43

ISBT第 14届国际血小板免疫学研讨会和合作研究项目,按血小板抗体和抗原的基因检测分成多个国际合作研究内容,本次测评是合作项目的主要内容之一,目的是对各国实验室检测血小板特异性抗体的技术能力和质量实施测评,通过合作研究了解国际血小板免疫学诊断技术的现状和涉及的问题,提供合适的解决方案。

23个国家的 36个实验室参加了本合作项目,35个实验室反馈了质检结果。大部分实验室能鉴定出抗 -HPA-1、抗 -HPA-5等常见的抗体,鉴定一致率均达 90%以上。然而,某些抗体如抗 -HPA-3b、抗 -GPⅣ等只有少数实验室能正确鉴定。其中 1a-5标本中所含的抗 -HPA-3b,只有 7个实验室(20%)能正确鉴定,这或许与使用不合适的检测方法、试剂及试验操作熟练程度等因素有关;特别是抗 -GPⅣ,部分实验室可能对该抗体的特性不很了解,或是使用的检测方法无法检测到该抗体,即便使用了能检测该抗体的方法,也可能因无法获得 GPⅣ阴性血小板进行验证,从而导致抗 -GPⅣ的漏检,因此 1a-8标本鉴定一致率较低[40%(13/35)]。在 1a-9标

本中,仅 11个实验室能检测到抗 -HPA-15b,值得注意的是,实验室在检测抗 -HPA-15时,若使用冰冻保存的谱血小板,可导致无法检测到抗 -HPA-15,这是因为经过低温保存的谱血小板上的 HPA-15抗原缺失所致^[4],这可能是造成抗 -HPA-15b鉴定一致率较低的原因之一。提示进行血小板抗体鉴定时,需要注意高质量、抗原特异性齐全的血小板谱细胞,否则将影响检验结果,漏检具有临床意义的抗体。

本合作研究项目提供的 9份质控标本中,有 6份同时含有抗 -HLA,各实验室均检测到抗体的存在,并且部分实验室也能鉴定出抗 -HLA特异性。

参加本合作项目的各实验室所采用的检测血小板抗体方法如上,其中应用全血小板作鉴定技术的以 PIFT为主,有 14个实验室使用,而应用血小板膜糖蛋白进行鉴定的技术中以 MA IPA为主。从整体分析,MA IPA 技术使用最为广泛:共有 27个(77.14%)实验室使用 MA IPA 技术。另有 22个实验室用市场化检测试剂盒,但常作为其他方法的辅助。以上数据基本体现了当前国际上血小板抗体检查技术的发展和应用的趋势。

通过本合作项目的测评结果,可发现对所提供的某些疑难质控标本,相当多参加合作研究的实验室未能正确鉴定所含抗体,这与各实验室所使用技术多样化,试验的技术参数没有得到国际统一,以及与各项技术的灵敏度和特异性的差异、掌握该技术的熟练程度及经验、是否拥有关键试剂等因素有关。本国际合作项目的研究工作,成功地对国际上 23个国家的 35个有国际影响的血小板免疫诊断实验室的血小板同种特异性抗体的检测质量进行了测评^[1]。

参 考 文 献

- [1] Kaplan C. Platelet Immunology Working Party (PWP), 14th International Platelet Workshop organized by Pr Guo-Guang WU, Nan-Ning, China. *Transfusion Today*, 2008(76): 19
- [2] Boehlen F, Bulla O, Michel M, et al. HPA-genotyping and anti-platelet antibodies in female blood donors. *Hematol J*, 2003, 4(6): 441—444
- [3] Kiefel V, Konig C, Kroll H, et al. Platelet alloantibodies in transfused patients. *Transfusion*, 2001, 41(6): 766
- [4] Ouwehand WH, Stafford P, Gheveart C, et al. Platelet immunology, present and future. *ISBT Sci Ser*, 2006, 1: 96—102

(2008-12-01收稿, 2009-08-26修回)

本文编辑:夏玲 蔡辉