

· 论 著 ·

不规则抗体筛查在预防溶血性输血反应中的作用

赵 莉

(江苏省徐州市第一人民医院输血科 221002)

摘要:目的 探讨输血前不规则抗体筛查在临床安全输血中的意义。方法 对 652 例有输血和(或)妊娠史的输血患者血浆应用间接 Coomb's 微柱凝胶法进行不规则抗体筛查,统计不规则抗体阳性率、鉴定抗体特异性及检测其抗体效价。结果 652 例患者血浆中共筛检出 14 例不规则抗体阳性,阳性率 2.14%。其中,同种抗体 9 例,自身抗体 3 例,高效价冷抗体 2 例。9 例同种抗体中 Rh 系统 7 例(77.8%),抗 D 2 例,抗 E 3 例,抗 E+C 1 例,抗 c 1 例,其他血型系统 2 例(22.2%),抗 M 1 例,抗 Le^a 1 例。结论 输血前不规则抗体筛查可有效预防溶血性输血反应的发生。

关键词:输血; 不规则抗体; 微柱凝胶技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)20-2339-02

The role of irregular antibodies screening in preventing hemolytic transfusion reaction

Zhao Li

(Department of Blood Transfusion, First people's hospital in Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

Abstract: Objective To discuss the meaning of irregular antibodies screening in clinical transfusion. **Methods** By microcolumn agglutination technology, the irregular antibodies screening of 652 transfusion or pregnancies patients in our hospital were tested. Both the positive rates and the tiles of irregular antibodies were calculated, and the specifications were analyzed. **Results** Of 652 cases, 14 samples were found irregular antibodies positive including isoantibody 9 cases, anto-antibodies 3 cases and cold agglutination had 2 cases, and the positive rate was 2.14%. The rate of Rh antibody 7 cases(anti-D antibody 2 cases, anti-E antibody 3 cases, anti-E+C antibody 1 case, anti-c antibody 1 case) was 77.8% and that of other blood group system 2 cases(anti-M antibody 1 cases and anti-Le^a antibody 1 cases) was 22.2% in isoantibody 9 cases. **Conclusion** Irregular antibodies screening can prevent hemolytic transfusion reaction before clinical transfusion.

Key words: blood transfusion; irregular Antibodies; column agglutination technology

溶血性输血反应(hemolytic transfusion reaction, HTR)是影响临床输血疗效和患者病程、以至死亡的最严重事件。患者体内各类抗体的存在是引起 HTR 的前提条件。目前,以 IgM 为主的血型规则抗体引发的速发型溶血性输血反应(AHTR)错误输血已很罕见,而由以 IgG 为主,因输血、妊娠等因素产生的不规则抗体引发的迟发型溶血性输血反应(GHTR)却时有发生^[1-2]。该抗体也是引起血型鉴定困难和疑难配血的主要因素^[3]。本院引进 Coomb's 微柱凝胶技术,对受血者常规开展标准化的不规则抗体筛查已多年,现将本科对 652 例有输血/妊娠史的患者在输血前所筛查和鉴定的不规则抗体结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2010 年 1~12 月入住本院有输血、妊娠史的 652 例输血患者血浆作不规则抗体筛查,检出阳性结果 14 例,其中男 6 例,女 8 例;年龄 1 天至 76 岁。消化科 3 例,血液科 6 例,心脏外科 1 例,肾内科 1 例,妇科 2 例,儿科 1 例。

1.2 方法

1.2.1 主要仪器试剂 Diana 半自动配血系统;抗-IgGC3d

Coomb's 卡;37℃ 孵育器;卡式专用离心机(西班牙斑珀斯公司)。抗体筛选细胞 I、II、III 号,包括 Rh、Kidd、MNSs、Duffy、Diego、Kell、Lewis、P 等 8 个血型系统的 19 个抗原互补;抗体鉴定谱细胞 1~10 号(上海血液生物医药有限责任公司)。

1.2.2 实验方法 用 I、II、III 号抗体筛选细胞与患者血浆在微柱凝胶 Coomb's 卡作不规则抗体筛查,对抗筛结果阳性者依据筛查细胞反应格局表初步判断抗体种类,然后参照《临床输血学》方法^[4],应用阴性排除法及剂量效应、位置效应等分析谱细胞反应格局,判断抗体特异性,并检测抗体对应红细胞血型抗原是否为阴性,以证实抗体的准确性。统计不规则抗体阳性率、鉴定抗体特异性及检测其抗体效价。并送市血液中心进一步确认,同时获得相应抗原阴性红细胞悬液。

2 结果

652 例患者血浆中共筛检出 14 例不规则抗体阳性,阳性率 2.15%。其中,同种抗体 9 例,自身抗体 3 例,高效价冷抗体 2 例。14 例不规则抗体阳性患者资料及特异性分布见表 1。9 例同种抗体中 Rh 系统 7 例(77.8%),其他血型系统 2 例(22.2%)。9 例同种血型抗体各系统分布见表 2。

表 1 14 例不规则抗体阳性患者资料及特异性分布

| 病例 | 性别 | 年龄 | 输血/妊娠史 | 输血原因 | 抗体特异性 | 抗体效价 |
|----|----|------|--------|------------|-------|------|
| 1 | 男 | 1d | 换血 | 新生儿溶血症 HDN | 抗 D | 16 |
| 2 | 男 | 52 岁 | 有/— | 肝硬化 | 抗 c | 8 |

续表 1 14 例不规则抗体阳性患者资料及特异性分布

| 病例 | 性别 | 年龄 | 输血/妊娠史 | 输血原因 | 抗体特异性 | 抗体效价 |
|----|----|------|--------|------------|-------------------|---------|
| 3 | 男 | 76 岁 | 有/— | 淋巴瘤 | 抗 E | 16 |
| 4 | 男 | 57 岁 | 有/— | 肝硬化 | 抗 E | 16 |
| 5 | 女 | 51 岁 | 有/有 | 再生障碍性贫血 | 抗 M | 4 |
| 6 | 女 | 45 岁 | 有/有 | 心脏瓣膜病 | 抗 E | 16 |
| 7 | 女 | 42 岁 | 有/有 | 骨髓增生异常综合征 | 抗 E+C | 32 |
| 8 | 女 | 42 岁 | 有/有 | 宫颈癌 | 抗 D | 32 |
| 9 | 女 | 29 岁 | 有/有 | 子宫肌瘤 | 抗 Le ^a | 4 |
| 10 | 女 | 37 岁 | 有/有 | 自身免疫性溶血性贫血 | 自身抗体 | / |
| 11 | 女 | 43 岁 | 有/有 | 自身免疫性溶血性贫血 | 自身抗体 | / |
| 12 | 男 | 59 岁 | 有/— | 尿毒症 | 冷抗体 | 37 °C 2 |
| 13 | 男 | 66 岁 | 有/— | 贲门肿瘤 | 冷抗体 | 37 °C 2 |
| 14 | 女 | 26 岁 | 有/无 | 骨髓增生异常综合征 | 自身抗体 | / |

—:未检测;/:未检出。

表 2 9 例特异性血型抗体各系统分布

| 血型系统 | 阳性数 | 阳性率(%) | 系统比率(%) |
|-----------------|-----|--------|---------|
| Rh 系统 | | | |
| 抗 D | 2 | 22.2 | |
| 抗 E | 3 | 33.4 | 77.8 |
| 抗 E+C | 1 | 11.1 | |
| MNS 系统 | | | |
| 抗 c | 1 | 11.1 | |
| 抗 M | 1 | 11.1 | 11.1 |
| Lewis 系统 | | | |
| Le ^a | 1 | 11.1 | 11.1 |
| 合计 | 9 | 100.0 | 100.0 |

3 讨 论

虽然不规则抗体在一般人群中检出率为 0.3%~2.0%^[5],但在多次输血和妊娠的人群中,这种意外抗体检出率明显增高^[6],本实验结果为 2.14%。不规则抗体多为 IgG 型,仅与红细胞膜上相应的抗原结合,而不能有效地激活补体,致敏的红细胞最终被吞噬细胞所破坏,因此,GHTR 往往输血几天后才出现溶血或输血无效。不容忽视的是,随着时间的推移体内抗体水平会不断衰减,以致抗体筛检和交叉配血都无法检出,但当患者再次输入相应血型抗原后,机体可迅速发生再次免疫应答导致 AHTR 发生^[7]。本科引进简便、快速、敏感性高、结果易判断的 Coomb's 微柱凝胶技术,采用标准化(包含多系统抗原、纯合子效应、最佳保存介质)筛选红细胞,检测有临床意义的同种抗体,对预输血患者特别是有输血/妊娠史的高危人群进行不规则抗体筛查,其目的是预先了解患者血型抗体产生情况,为不规则抗体阳性患者提供相配合血液,以免延误抢救和治疗。

各抗体频率多少主要取决于抗原的免疫性及其在人群中的分布频率,中国人种 Rh(D)抗原阴性仅 0.2%~0.4%,而表型 CCDee 占 43.0%^[8],相对于 E 抗原不合的免疫概率比 D 抗原

高,近十年来,由于卫生部要求临床输血必须 ABORh(D)血型同型,而对于 Rh(C,c,E,e)并未要求同型,使得抗 E、抗 c 成为目前输血和(或)妊娠后最常见抗体^[9-10]。本研究结果显示,不规则抗体特异性主要集中在 Rh 系统的抗体,其中抗 E 3 例,抗 E+C 1 例,抗 c 1 例,提示 Rh(D)同型输血也会发生 HTR 且概率不低^[11]。为此建议常规开展 Rh(D,C,c,E,e)5 种抗原的检测,并在输血后 3~6 个月为受血者进行抗体跟踪检测,及早发现因再次免疫而出现的阳性抗体。本次实验,因为在输血前筛检出患者不规则阳性抗体,为确定其特异性和获得相应抗原阴性血液赢得了宝贵的时间,9 例患者[1 例 Rh(D)母婴血型不合新生儿溶血病(HDN)患儿换血]都输注了相应抗原阴性的血液制品,取得了良好的临床输血疗效。

自身抗体或血浆中含高效价冷凝集素可使抗筛出现假阴性结果,自身抗体多出现在自身免疫性溶血性贫血患者,因其红细胞被自身抗体致敏而使直接抗人球蛋白试验阳性,同时也掩盖其同种抗体被检出,成为困扰这类患者输血的难题。因此,排除同种抗体的存在,正确鉴定 ABO Rh 血型是关键,本实验 3 例自身抗体阳性患者直接抗人球蛋白试验均为阳性,联合使用多种检测技术如:红细胞抗体放散、血浆自身吸收等,尽可能为患者提供“最相容”的血液,以延长输入红细胞的寿命^[12]。3 例患者均输注了同型洗涤红细胞。2 例患者血浆检出高效价冷凝集素,血液通过 37 °C 加温保温给患者输注,避免了患者因输冷库血诱发的应激不良反应。

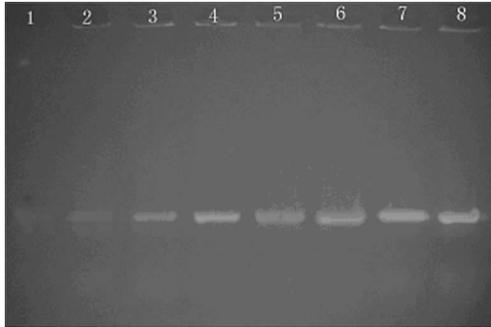
目前,中国输血前免疫血液学检查技术还不能达到血型完全配合性输血,这是导致同种免疫性输血反应严重的主要原因^[13]。因此,输血前进行常规化、标准化的不规则抗体筛查是发现有临床意义不规则抗体的重要手段,也为患者提供相配合的血液提供理论依据和必要的时间。另外,临床和输血实验室双方人员要密切沟通与协作,充分权衡输血利弊,切不可机械追求“同型输注”和“零风险”而忽视患者的生命。

参考文献

[1] Kang MG, Lin YA, Lee KM. A hemolytic transfusion reaction due to antiku antibody in a patient with knull phenotype the first case in Korea[J]. J Lab Med, 2009, 29(3): 238-242. (下转第 2343 页)

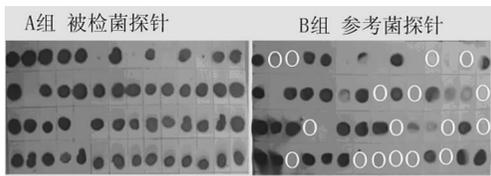
77.5%。

2.4 斑点杂交分析结果 随机挑选的 56 个白色菌落经碱裂解法制备质粒,每个质粒变性后印迹到两张硝酸纤维膜同一位置上。分别与经地高辛标记的 *Rsa* I 酶酶切后的被检菌和参考菌 DNA 探针杂交。结果发现 17 个仅能与被检菌即多重耐药株 DNA 探针杂交,而不能与参考菌即敏感株 DNA 探针杂交,见图 4。



以消减的第 2 轮 PCR 产物(1~4)和未消减的对照(1~4)为模板,用 23S 上下游引物扩增;1,5:18 次循环产物;2,6:23 次循环产物;3,7:28 次循环产物;4,8:33 次循环产物。

图 3 消减效率检测结果



白色圆圈:被检菌即多重耐药菌特有的克隆。

图 4 斑点杂交差异分析结果

2.5 序列分析及初步结果 将上述 17 个阳性克隆菌落送博迈德公司测序部测定其序列,将测得的序列在基因库中进行 BLAST 比对,查找同源序列。其中 2 株未发现其同源或是相匹配的基因,说明可能发现了 2 个和多重耐药相关的新的肺炎链球菌 DNA 片段。

3 讨论

近年来,肺炎链球菌对抗生素的耐药研究主要集中在介导

青霉素耐药的 *pbp* 基因和介导红霉素耐药 *Erm* 基因上。但肺炎链球菌耐药菌株中与多重耐药相关的基因尚不明确。因此,在全基因水平上筛选肺炎链球菌多重耐药相关基因进行研究,有助于探讨肺炎链球菌多重耐药的分子机制;新发现的可能与耐药相关的基因为后续的研究提供实验依据。

抑制消减杂交技术是一种基因差示筛选方法,它将消减杂交与 PCR 结合,可凭表型直接分离基因,目前已成为分离未知新基因的主要方法。此方法通过两次杂交、两次 PCR 后经 TA 克隆建立消减文库可以同时分离上百个差异基因,程序相对简单,不需要特殊的昂贵仪器,操作简便易行^[7]。目前,抑制消减杂交技术主要应用在肿瘤基因差异基因表达谱的筛选。经 Akopyants 等^[5]对抑制消减杂交技术进行改良,用于细菌基因组比较分析,为病原体中未知基因的筛选、细菌致病性和种属进化研究提供了重要的技术手段。

参考文献

[1] 胡福泉. 微生物基因组学[M]. 北京:人民军医出版社,2002:177-185.
 [2] 杨永弘,陆权,邓力,等. 四地儿童肺炎链球菌、流感嗜血杆菌抗生素敏感性监测(2000~2001 年)[J]. 中华儿科杂志,2002,4(8):461-466.
 [3] 张春,陆晓彤. 儿童专科医院临床病原菌分布与抗菌药物耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志,2006,16(4):434-437.
 [4] 李家泰,李耘,王进. 中国医院和社区获得性感染革兰阳性球菌耐药性监测研究[J]. 中华医学杂志,2003,83(3):36-52.
 [5] Akopyants NS, Fradkov A, Diatchenko L. PCR-based subtractive hybridization and differences in gene content among strains of helicobacter pylori[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(10):13108-13113.
 [6] Winstanley C. Spot the difference applications of subtractive hybridization to the study of bacterial pathogens[J]. J Med Microbiol, 2002, 51(6):459-467.
 [7] 胡昌华. 抑制差减杂交技术研究进展[J]. 国外医学生理病理科学与临床分册, 2001, 21(1):4-6.

(收稿日期:2011-08-09)

(上接第 2340 页)

[2] 洪小珍,许先国,朱发明,等. 血清学和分子生物学鉴定 Lewis 血型抗体引起的输血反应[J]. 中国实验血液学杂志,2008,16(5):1192-1195.
 [3] 张晨光,王辉. 不规则抗体致同种免疫溶血性疾病与临床研究进展[J]. 中国实验血液学杂志,2010,18(3):825-828.
 [4] 张钦辉. 临床输血学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000:64.
 [5] 王桂英. 输血前开展抗体筛选试验的重要性[J]. 北京医学,2009,31(12):754.
 [6] 池泉,郭永健,田兆嵩. 红细胞血型抗体与输血安全[J]. 中国输血杂志,2008,21(8):649-654.
 [7] Engelfriet CP, Reesink HW. Prevention and diagnosis of delayed haemolytic transfusion reactions[J]. Vox Sang, 2006, 91(4):353-368.

[8] 杨天楹. 临床输血学[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1993:68.
 [9] 王葆昶. 不规则抗体产生原因浅析[J]. 北京医学,2008,30(12):743.
 [10] 林进甲,朱碎永,张瑛,等. 输血前受血者血清抗体筛检及临床价值[J]. 临床检验杂志,2003,21(1):24-26.
 [11] 黎海澜,焦伟,伍焕秀,等. 溶血性输血反应 7 例临床分析[J]. 华夏医学,2007,20(3):534-535.
 [12] 谭轩,曾方,吴建伟,等. 抗体筛选试验在临床输血中的应用[J]. 中国实用医药,2010,5(19):76-77.
 [13] 刘达庄,朱俊,朱自严,等. 免疫性输血反应的调查及预防[J]. 中国输血杂志,2002,15(3):159-161.

(收稿日期:2011-08-09)