

• 论 著 •

自身抗体阳性伴直接抗人球蛋白试验阳性患者 血型血清学特征及输血疗效

杜春红,董守智,苑广洋,黄海涛,李红学,单永强

(天津医科大学总医院输血科,天津 300052)

摘 要:目的 探讨自身抗体和直接抗人蛋白试验(DAT)阳性患者的血型血清学特征及配血的处理方法,寻求安全、有效的输血对策。**方法** 结合吸收放散方法采用不同厂家、批号的抗筛细胞和谱细胞对待检血清和红细胞放散液进行自身抗体和同种抗体特异性的鉴别;选取合适的献血者进行主次侧交叉配血试验;分析自身抗体、同种抗体的特异性及其与 ABO 血型、疾病、贫血的关联和对输血及输血疗效的影响。**结果** 139 例研究对象均为自身抗体阳性伴 DAT 阳性且交叉配血试验主次侧均不合,其中 20 例只含有自身抗体,59 例伴 Rh 系统或 MNs 系统或 Kidd 系统抗体,47 例为自身抗体不能排除同种抗体,13 例伴有药物抗体或其他系统抗体;共进行 221 次输血治疗,未发生溶血性输血反应。自身抗体和 DAT 的凝集强度与贫血呈正相关($P<0.05$),与输血疗效呈负相关($P<0.05$);自身抗体的强度与自身红细胞被致敏的程度呈正相关($P<0.05$),且多为免疫性疾病,与 ABO 血型无明显相关性($P>0.05$)。**结论** 对于自身抗体伴 DAT 阳性的病例,其贫血的严重程度、输血次数、输血后疗效与自身抗体和 DAT 的凝集强度有关,交叉配血前必须采用合理的流程和方法判定是否伴有同种抗体,选取相应抗原阴性的献血者或该地区出现较高频率的同种抗体对应的抗原系统同型的献血者配血,可提高安全输血效率,最大限度地减少输血不良反应发生。

关键词:自身抗体; 同种抗体; 交叉配血; 抗体特异性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)08-1072-03

The serological characteristic and transfusion strategy in patients who got positive both in autoantibody test and direct Coombs test

Du Chunhong, Dong Shouzh, Yuan Guangyang, Huang Haitao, Li Hongxue, Shan Yongqiang

(TianJin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China)

Abstract: Objective To reduce the risk of blood transfusion, and discuss the serological characteristic and cross-match test of those patients who got positive both in autoantibody test and direct coombs test. **Methods** With absorption-elution testing, antibody screening cells and panel cells belong to different manufactures and batch numbers were applied to distinguish autoantibody from alloantibody within serum and reagent red cells for absorption test. Appropriate donors were selected to do cross matching test; the specificity of autoantibody and alloantibody and the relationship between ABO blood type, diseases, anemic and the efficacy of blood transfusion were analysed. **Results** Among the 139 study subjects, all of them were identified positive both in autoantibody and direct antibody test, including 20 cases just have autoantibody, 59 cases accompanied with Rh system or MNs system or Kidd system antibody, 47 with autoantibody except for alloantibody, 13 with drug resistant or other system antibody. Within the 221 cases of blood transfusion, none of them has hemolytic transfusion reaction. We found a positive correlation($P<0.05$) between the intensity of agglutination of autoantibody and direct antibody and anemia, while a negative correlation($P<0.05$) with the efficacy of transfusion. Similarly, there is a positive correlation($P<0.05$) between the intensity of autoantibody and the sensitization of autologous erythrocyte, most of which are immunologic diseases, while has no correlation with ABO blood type($P>0.05$). **Conclusion** To those cases which were identified positive both in autoantibody and direct antibody test, the degree of anaemia, the numbers of transfusion and the efficacy of transfusion were associated with the intensity of agglutination of autoantibody and direct antibody. In order to decrease the risk of blood transfusion and make it highly efficient, we should affirmed it if there is any autoantibody. In this process, an appropriate procedure and assay must be adopted. Besides, relative antigen-negative donors or high frequency local autoantibody need to be matched with corresponding the donors who have the same type of antigen.

Key words: autoantibody; alloantibody; cross-match test; antibody specificity

交叉配血是将献血者的红细胞和血清分别跟受血者的血清与红细胞混合,观察有无凝集,其在保证输血安全及减少免疫性溶血性疾病方面具有重要意义。一些自身免疫性疾病患者体内存在自身抗体,有输血史、妊娠史等的患者红细胞被致敏并产生同种抗体,这些因素均会导致主、次侧交叉配血不合,使临床输血治疗陷入困境。本研究针对这一疑难配血问题进行了探讨,根据抗体的不同特性采用不同的处理方式,以期找到有效的解决途径。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2008 年 10 月至 2013 年 12 月于本科室进行输血前血型不规则抗体筛查试验,结果为自身抗体阳性且直接抗人球蛋白试验(DAT)阳性的患者,共 139 例,其中男性 89 例,女性 50 例,男女比例为 0.562:1;年龄为 3~87 岁,中位年龄为 28 岁;既往有输血史、妊娠史的有 91 例,占总数的 65.5%。

1.2 试剂与仪器 ABO 单克隆抗血清、Rh 系统抗血清试剂、

抗人球蛋白试剂、抗体鉴定细胞由上海血液生物医药公司提供;不规则抗体筛选细胞由长春博德生物技术公司提供;抗体鉴定细胞由 Immucor Gamma 公司提供;polybrene 试剂(包括低离子介质缓冲液,凝聚胺溶液和重悬液)由珠海贝索生物技术有限公司提供;卡式配血仪为 DiaMed 公司产品;型号为 Incubator 37 S I、centrifuge 12 S II;配血卡也为 DiaMed 产品;型号为 LISS/Coombs Anti-IgG + C3d;离心机为 KUBOTA KA-2200 型;水箱箱为 JULABO-20B 型。

1.3 方法

1.3.1 抗体筛查 采用低离子抗人球蛋白卡法对受检血清进行不规则抗体和自身抗体筛查,选取阳性标本进行 DAT。

1.3.2 DAT 将 1.3.1 中筛查阳性的标本红细胞用生理盐水洗涤 3 次(以下简称为三洗)后,加入抗 IgG 和抗 C3d 抗球蛋白试剂进行 DAT,选取阳性标本作为研究对象,根据凝集强度分为两组:DAT 小于一个“+”作为热放散组;DAT 大于或等于一个“+”作为乙醚放散组。

1.3.3 抗体鉴定 用谱细胞(10 个)对待检血清进行不规则抗体鉴定,根据凝集强度分为以下几组:自身抗体凝集强度大于谱细胞的凝集强度,无明显反应格局,无法鉴定其特异性的为 I 组;自身抗体凝集强度小于谱细胞的凝集强度,有反应格局的为 II 组。放散试验:将热放散组和乙醚放散组的待检红细胞三洗后分别进行 56℃ 热放散、乙醚放散,收集放散液,用谱细胞进行抗体鉴定。吸收试验:将 I 组中的待检血清用自身红细胞在 4℃ 进行冷吸收,吸收后的血清用谱细胞鉴定其特异性。

1.3.4 抗体效价测定 根据抗体特异性,选择相应红细胞进行抗体效价的测定,观察 37℃、室温及 4℃ 条件下的结果。

1.3.5 交叉配血试验 根据待检血清的抗体特异性选取相应抗原阴性的献血者,采用盐水介质、凝聚胺介质和抗人球蛋白介质进行主、次侧交叉配血试验,观察结果。

1.3.6 抗体的特异性及分布 分别对待检血清进行自身抗体和不规则抗体特异性鉴定,根据特异性的不同将其分类、对比。

1.3.7 自身抗体强度与自身红细胞被致敏程度的关系 用不规则抗体筛查试验和谱细胞鉴定为自身抗体的标本进行 DAT,比较有自身抗体的患者其自身红细胞是否被致敏。

1.3.8 抗体特异性与贫血程度的关系 将血红蛋白(Hb)作为反映贫血程度的指标。自身抗体、同种抗体的特异性、效价通过自身抗体试验和 DAT 得出,分析其与贫血的关系。

1.3.9 抗体特异性与输血疗效的关系 根据自身抗体、同种抗体特异性、效价水平和配血试验的结果,判断是否可以进行临床输血治疗,并跟踪观察疗效。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计学处理,贫血程度与自身抗体的强度和自身红细胞被致敏的程度的关系采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗体的特异性及分布 在本实验室近 3 年检出的 139 例自身抗体伴 DAT 阳性标本中,59 例伴 Rh 系统或 MNs 系统或 Kidd 系统抗体,自身抗体伴同种抗体所占比例为 42.45%;47 例为自身抗体不能排除同种抗体,20 例为自身抗体,13 例伴有药物抗体或其他系统抗体。见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.2 交叉配血试验 139 例患者共进行 221 次输血治疗,未发生溶血性输血反应。其中交叉配血主、次侧均阳性的为 133

次,主侧阴性的为 88 次。对交叉配血主侧阳性输血病例本试验采用的方法有(1)自身抗体伴同种抗体:筛选特异性抗原阴性的献血者进行盐水介质、凝聚胺和经典抗人球 3 种方法的交叉配血实验,选取阳性反应强度最弱的供血者。(2)自身抗体不能排除同种抗体:筛选 Rh 与受血者同型的献血者血液进行盐水介质、凝聚胺和经典抗人球 3 种方法的交叉配血实验,选取阳性反应强度最弱的供血者。

2.3 自身抗体强度与自身红细胞被致敏程度的关系 139 例被检血清中,126 例检出含有自身抗体,强度为+~++++不等,其中 DAT 阳性标本 73 例,占自身抗体阳性 62.93%,其中不包括药物抗体导致的 DAT 阳性。

2.4 自身抗体和 DAT 强度与贫血的关系 通过单因素方差分析发现贫血程度与自身抗体的强度和自身红细胞被致敏的程度有一定的关系,自身抗体和直接抗球蛋白试验强度为++++~+++++的患者其 Hb 水平集中在 50 g 以下。抗体的特异性,即自身抗体和 DAT 强度与贫血程度(Hb 水平)与无关($P>0.05$),见表 1。

表 1 自身抗体和 DAT 强度与 Hb 水平的关系(平均值)

自身抗体和 DAT 强度	n	Hb(g/L)
+++~+++++	19	47.0
++~<+++	17	59.0
+~<++	30	60.3
<+	47	59.8

2.5 抗体强度和特异性与输血及输血后疗效的关系 自身抗体和 DAT 强度在++++以上的患者输血次数明显增加,他们每输入 2 单位红细胞后的疗效低于自身抗体和 DAT 强度在++以下的患者($P<0.05$)。见表 2。

表 2 自身抗体和 DAT 强度与输血及输血后疗效关系

自身抗体和 DAT 强度	显著例数 (n)	输血次数 (n)	首次输注血液种类	首次输注后疗效
+++~+++++	19	57	洗涤红细胞	无效
++~<+++	17	43	洗涤红细胞	有效
+~<++	30	79	洗涤红细胞	有效
<+	47	99	洗涤红细胞	有效

3 讨论

在体内,DAT 阳性的自身抗体大部分被吸附在自身红细胞上,其特异性需通过特殊细胞及吸收放散试验来鉴别。根据患者红细胞放散液中的自身抗体是否被相对抗原阴性的细胞吸收将其分为两类:不被抗体相对抗原阴性细胞吸收的为真实特异性自身抗体;被抗体相对抗原阴性细胞吸收的为类特异性自身抗体^[1]。

自身抗体阳性且 DAT 阳性患者的输血是临床治疗中面临的一大难题,也是输血界研究的热点和难点。这些患者的配血比较困难,因为有自身抗体存在,在做交叉配血时会掩盖同种抗体,所以对于自身抗体阳性的患者,区分出能检测出同种抗体的和不能排除同种抗体的患者,就显得非常关键,因为这样能最大限度地使配血相合,减少溶血性输血反应的发生概率。本试验 139 例研究对象中,126 例检测出含有自身抗体,是因为患者红细胞的放散液与谱细胞全部凝集的提示,下面笔

者又通过热放散和乙醚放散,收集放散液,用谱细胞鉴定,并将 4℃冷吸收后的血清也进行谱细胞鉴定,从而确定抗体的特异性。59 例是自身抗体伴 Rh 系统或 MNs 系统或 Kidd 系统抗体,对于这样的患者,筛选特异性抗原阴性的献血者进行盐水介质、凝聚胺和经典抗人球 3 种方法的交叉配血试验,选取阳性反应强度最弱的供血者。47 例为自身抗体不能排除同种抗体,虽然不能确认抗体的特异性,但据报道同种抗体主要分布在 Rh 系统中^[2-3],所以对于这样的患者,筛选 Rh 与受血者同型的献血者血液进行盐水介质、凝聚胺和经典抗人球 3 种方法的交叉配血试验,选取阳性反应强度最弱的供血者。20 例单纯自身抗体阳性的患者的配血方式与自身抗体阳性且不能排除同种抗体的患者相同。在进行交叉配血时,主侧应该使用 4℃冷吸收去除自身抗体的患者血清,而次侧应该使用放散后的患者红细胞,以最大限度地排除自身抗体对于交叉配血的干扰,从而得出最具有临床意义的配血结果,降低输血风险。

自身抗体阳性伴 DAT 阳性的疾病多见于自身免疫性疾病,如系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿关节炎、新生儿溶血病,血液病,如骨髓增生异常综合征,癌症,如淋巴瘤、病毒感染、药物诱导等等。这些患者往往伴有贫血症状而需要输血^[4-5]。从笔者的实验可以看出,自身抗体和 DAT 的凝集强度与贫血呈正相关,与输血疗效呈负相关。有文献报道,大部分 DAT 阳性的红细胞存活期会缩短^[6]。结合本研究,可以推断出,自身抗体和 DAT 凝集强度越强,红细胞的存活期越短,从而导致贫血程度越严重。对于这样的患者,输血的危险性较高,输血不当会加重病情,所以除了在交叉配血时要格外严格外,在选择何种血液制品时也需要斟酌。首先,要区分患者是溶血性贫血还是非溶血性贫血。溶血性贫血是由于机体产生了血型抗原特异性的红细胞抗体,形成的抗原抗体复合物,或者细菌代谢产物、β-内酰胺类抗生素等抗原物质黏附于红细胞上,刺激机体产生抗体,激活补体,并通过 ADCC 效应,导致红细胞破坏,从而发生溶血^[7]。溶血性贫血分为自身溶血性贫血和新生儿溶血病,自身溶血性贫血的患者应选择洗涤红细胞。洗涤红细胞经过生理盐水反复洗涤悬浮红细胞,除去了绝大部分白细胞、血小板、血浆及代谢产物,可避免因血浆蛋白、白细胞、血小板引起的输血反应^[8]。但有的患者输注洗涤红细胞后导致溶血反应,说明洗涤红细胞在个别自身溶血性贫血患者体内可以被自身抗体或(和)补体所致敏,使得输注的红细胞存活期缩短,输注无效,甚至产生溶血反应。因此,该类患者在治疗过程中必须严格掌握输血指征,应首选药物治疗并查找病因,去除诱因,尽量避免输血。而新生儿溶血病的血液选择则不同,对于 ABO 血型系统所引起的新生儿溶血病应选用 O 型红细胞,而 Rh 血型系统所引起的新生儿溶血病应选用与血清中抗体相对应的 Rh 抗原阴性的 O 型红细胞,血浆均应选择 AB 型血浆,也就是所谓的“重组血”。非溶血性贫血的患者 DAT 阳

性,可能是由于如炎症或免疫功能紊乱导致的非红细胞抗原特异性球蛋白吸附在红细胞上所致,这种结合不会激活补体,不会导致溶血^[9-10]。因此,非溶血性贫血的患者选择同型的悬浮少白红细胞,可减少白细胞引起的不良反应。另外,对于危重、急性、难治性的溶血性贫血患者,血浆置换可迅速清除自身抗体及补体免疫复合物等,经血浆置换治疗后,加用一定量两种球蛋白可更好控制溶血,诱导缓解。

总之,对于自身抗体阳性伴 DAT 阳性的患者需要严格的控制输血指征^[11-12]。输血的原则是能不输血尽量不输,必须输血时选择反应强度最弱的,慢速输注,注意观察,并且要积极治疗原发病,降低抗体强度,从而减少输血反应,降低输血风险。

参考文献

[1] 兰炯采. 加强对自身免疫性溶血性贫血输血前试验的研究[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(4): 295-296.

[2] Wheeler CA, Calhoun L, Blackall DP, et al. Warm reactive autoantibodies: clinical and serologic correlations[J]. Am J Clin Pathol, 2004, 122(5): 680-685.

[3] 向东, 刘曦, 王健莲, 等. 红细胞温自身抗体的血清学特点分析及配血对策[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(12): 924-926.

[4] 胡进林, 冒镇, 陈焯. 39 例 Coombs 试验阳性自身免疫性溶血性贫血临床分析[J]. 中国交通医学杂志, 2004, 18(3): 253-254.

[5] 周静, 徐才刚, 刘霆, 等. 72 例自身免疫性溶血性贫血患者抗体分型及临床意义[J]. 四川大学学报: 医学版, 2003, 34(4): 761-762.

[6] 杨桂斌, 徐杰, 黄传荣, 等. 73 例直接抗人球蛋白试验阳性结果分析[J]. 陕西医学检验, 1998, 13(2): 54.

[7] 魏晴, 涂同涛, 周金安, 等. 直接抗球蛋白试验在临床中的应用[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(7): 537.

[8] 汪传喜, 田兆嵩. AIHA 病人的输血前检查和成分输血[J]. 中国输血杂志, 2000, 13(1): 61-65.

[9] 王照峰, 张虎, 冯戟, 等. 直接抗人球蛋白阳性试验 41 例分析[J]. 中国误诊学杂志, 2012, 12(2): 316.

[10] 杨世明, 王文婷, 张勇萍, 等. 自身温抗体的特异性及其对交叉配血试验的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(2): 222-223.

[11] 梁金凤. 自身抗体的分析处理及输血策略[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(19): 2425-2427.

[12] 伍伟健. 同种免疫性抗体致血小板输注无效输血策略的国内外研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(3): 426-429.

(收稿日期: 2015-12-18)



(上接第 1071 页)

版社, 2006: 3-7.

术研讨会论文集. 北京: 中华医学会, 2004: 6.

[7] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2014: 148.

[8] 梁汉锦. 比较两种检测支原体(UU)的方法[J]. 中国医药指南, 2012, 10(20): 420-421.

[9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 临床实验室定量测定室内质量控制指南(GB/T 20468-2006)[M]. 北京: 中国标准出

(收稿日期: 2015-12-08)

