

冷凝集素致多发性骨髓瘤患者输血相容性检测困难

赵晓明,袁茜茜[△]

同济大学附属东方医院南院检验科,上海 200120

关键词:冷凝集素; 多发性骨髓瘤; 抗-I 抗体; ABO 血型; 输血

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.01.004

文章编号:1673-4130(2025)01-0014-04

中图法分类号:R733.3;R446.6

文献标志码:A



点评专家 曹永彤



第一作者 赵晓明

冷凝集素是存在人体内的少量自身抗体,通常效价较低,在室温或体温条件是不凝集的,只有在 4℃ 条件下可见凝集,不会影响血型鉴定及交叉配血结果,通常无临床意义,但如果在室温下即出现凝集,则在临床输血工作中有重要的意义^[1]。冷凝集素主要为免疫球蛋白(Ig)M 类抗体,在温度较低时能作用于自身红细胞抗原,发生可逆性的红细胞凝集。临床上很多疾病,如自身免疫性溶血性贫血、系统性红斑狼疮、支原体肺炎、肝硬化等,这些患者皮肤温度较低时,凝集的红细胞会阻塞微循环而引起发绀,常伴有轻微的溶血^[2-3]。多发性骨髓瘤患者因血清中出现异常的免疫球蛋白,也会干扰输血相容性试验的结果^[4]。

本文报道了 1 例因冷凝集和蛋白凝集的存在而导致血型鉴定困难和交叉配血不合的多发性骨髓瘤患者,探讨输血相容性检测困难的原因及解决办法,以期为此类患者的临床输血提供参考。

1 案例经过

1.1 临床资料 患者,男性,60 岁,肋骨骨痛近 1 年,近 2 周食欲减退、乏力、心悸。神清,气稍粗,贫血貌,皮肤、巩膜无黄染,胸部按压痛,肝脾无明显肿大,头颈部、心脏、腹部未见明显异常,双下肢无水肿。无药

物史,无输血史,临床诊断为多发性骨髓瘤,自述血型为 A 型。因贫血伴缺氧症状需输注红细胞制剂,医院输血科在检测中发现,该患者 ABO 血型定型困难、直接抗人球蛋白试验阳性、抗体筛选阳性、交叉配血不合,故将血样送至上海市血液中心参比室做进一步的血清学检测,并申请特配洗涤红细胞 2 单位。

1.2 诊断方法 患者入院时检查结果显示,血红蛋白 68 g/L,管壁细沙样颗粒挂壁;ABO 血型正反不符,交叉配血困难;免疫固定电泳示 IgG 阳性,IgG 轻链 κ 型阳性;PET-CT 检查见胸椎等部位溶骨性改变;骨髓细胞学检查发现异常浆细胞增多。初步诊断为多发性骨髓瘤(IgG κ 轻链型),冷凝集素病,中度贫血。

1.3 输血相容性检测试剂 抗-A、抗-B、抗-D(IgM)、抗-c、抗-C、抗-e、抗-E、抗球蛋白试剂、抗-IgG 试剂、抗-C3d 试剂、凝聚胺试剂、筛选细胞、谱细胞,2-巯基乙醇(2-Me)样本释放剂(上海血液生物医药有限公司);进口谱细胞(美国 Sanquin,批号:8000257738);IgG 致敏细胞(自制);抗-IgG 单抗卡(美国 Ortho;批号:IGC055F)。

1.4 试验方法 (1)血型鉴定,用试管法鉴定 ABO 正反定型、Rh 血型。(2)直接抗人球蛋白试验,用试管法检测。(3)不规则抗体筛选,用盐水试管法、37℃ 孵育、凝聚胺法检测。(4)抗体鉴定,用盐水试管法、37℃ 孵育、4℃ 孵育、柱凝集法、2-Me 破坏法鉴定,分别用 A 型成人和新生儿血验证冷抗体抗-I 的存在。(5)交叉配血,用 37℃ 盐水法、柱凝集法配血。

1.5 试验结果

1.5.1 血型鉴定 观察患者血液标本,红细胞呈明显的凝集状,故将患者的红细胞悬液用温盐水洗涤 3 次后进行 ABO 血型鉴定试验,亦出现正定型和反定

点评专家简介:曹永彤,主任医师、教授、医学博士、博士生导师,中日友好医院检验科、输血科主任;主要从事心血管临床诊疗、检验、输血治疗等工作及研究;承担多项国家自然科学基金项目、国家“863”计划重大专项及北京市首都特色专项课题;兼任中国中西医结合学会检验医学专业委员会候任主任委员、中华医学会检验医学分会委员、北京医学会检验医学分会候任主任委员。

作者简介:赵晓明,女,副主任技师,主要从事输血医学研究。 [△] **通信作者,**E-mail:yuanxixi2006@126.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20241108.1732.004.html>(2024-11-21)

型结果不相符的现象,反定型结果和自身对照试验结果全部呈现 4+ 的强凝集;37 ℃ 水浴后,再次判读血型结果,为 A 型,见表 1。Rh 血型分型结果为 CCDee。

1.5.2 直接抗球蛋白试验 单抗 IgG 为阴性,多抗、单抗 C3 为强阳性,提示抗体为 IgM 性质。

表 1 ABO 血型鉴定结果						
反应条件	抗-A	抗-B	A 细胞	B 细胞	O 细胞	自身对照
IS	4+	—	4+	4+	4+	4+
37 ℃ 1 min	4+	—	—	1+	—	—

注:IS 表示盐水立即离心;4+ 表示强凝集,— 表示无凝集。

1.5.3 不规则抗体筛选 盐水立即离心与凝聚胺法均有凝集,置 37 ℃ 水浴后凝集现象消失,见表 2。

1.5.4 抗体鉴定 用 A 型健康献血者的红细胞悬液

和 A 型新生儿的红细胞悬液分别与患者的血清反应,前者呈弱凝集(1+),后者为阴性;置于 4 ℃ 冰箱 5 min 后,前者呈强凝集(4+),后者呈弱凝集(1+)。由此证实了冷抗体抗-I 的存在。与 Sanquin 谱细胞反应,盐水试管法在 3 种不同温度下的反应情况如下,表现出明显的冷抗体特性;用 2-Me 破坏后,在盐水与抗人球蛋白介质下均呈现阴性反应,见表 3。

表 2 不规则抗体筛选结果				
反应条件	S1	S2	S3	自身对照
IS	4+	4+	4+	4+
37 ℃ 1 min	—	—	—	—
凝聚胺法	2+	2+	2+	/

注:IS 表示盐水立即离心;4+ 表示强凝集,2+ 表示较强凝集,— 表示无凝集,/ 表示未检测。

表 3 患者血浆与 Sanquin 谱细胞反应情况

序号	R-Hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis	
	C	D	E	c	e	Cw	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b
1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	/	+	+	0	+	0	0	+
2	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	/	+	0	+	+	0	0	+
3	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	/	+	0	+	+	+	0	0
4	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0
5	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	/	+	+	0	+	0	+	0
6	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	/	+	+	+	+	0	0	0
7	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+
8	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+
9	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	/	+	0	+	0	+	+	0
10	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+
11	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	/	+	+	0	0	+	0	+

序号	P	MNS				Luther		Xg	反应条件				
	P1	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg	盐水	37 ℃	4 ℃	盐水(2-Me)	IAT(2-Me)
1	+	+	0	+	0	0	+	0	±	—	3+	—	—
2	+	0	+	0	+	0	+	+	±	—	3+	—	—
3	+	0	+	+	0	0	+	+	±	—	3+	—	—
4	+	0	+	0	+	0	+	+	3+	—	4+	—	—
5	+	+	0	+	+	0	+	+	±	—	3+	—	—
6	+	+	0	+	+	0	+	+	±	—	3+	—	—
7	0	+	0	+	+	0	+	+	±	—	3+	—	—
8	+	+	0	0	+	+	+	+	±	—	3+	—	—
9	+	+	+	+	+	0	+	0	±	—	3+	—	—
10	0	+	0	+	0	+	+	+	±	—	3+	—	—
11	+	0	+	0	+	+	+	0	±	—	3+	—	—

注:此套谱细胞有 16 种细胞,仅选择 1~11 号细胞;IAT 为间接抗人球蛋白试验;+ 表示该谱细胞中含有相应抗原,0 表示不含有相应抗原,/ 表示未检测,— 表示阴性,± 表示弱阳性;3+、4+ 表示阳性且程度依次加强。

1.5.5 交叉配血试验 Ec 抗原在汉族人群频率高易刺激产生同种抗体,因此,为避免产生不规则抗体,选择 Ec 抗原阴性的红细胞与患者血浆进行主侧交叉配血,所有细胞均进行 3 次洗涤,在盐水 37 ℃ 及抗人球蛋白介质中,均无凝集无溶血,进一步证明红细胞上只有补体,无特异性的不规则抗体存在。

1.6 治疗及临床转归 硼替佐米、地塞米松联合化疗,泰勒宁止痛,输血治疗纠正贫血,自我护理方面注意保暖。化疗后免疫固定电泳转为阴性,输血后血红蛋白升高,缺氧症状得到改善,患者症状好转出院。

2 案例分析与讨论

ABO 血型血清学检测的原理是抗原抗体反应,在免疫刺激、某些疾病或药物因素的影响下,血型抗原或抗体会减弱或增强,造成血型鉴定困难^[5-7]。冷凝集素是主要的影响因素之一,可凝集所有的试剂红细胞和自身红细胞^[8]。健康成人的血清中会含有少量低效价的冷凝集素,由于在室温下不反应,所以不会干扰血型鉴定结果。若体内含有较强的高效价冷凝集素,便可以干扰血型鉴定、抗体筛选等血清学试验结果^[9]。高效价冷凝集素不仅会导致 ABO 血型鉴定正定型和反定型结果不相符,还会引起交叉配血不合。需要注意的是,冷凝集素引起的交叉配血不合和同种抗体导致的交叉配血不合有着本质的区别,前者保温输注即可,而后者为输血禁忌。

正常情况下,红细胞表面唾液酸带负电荷形成 Zate 电位,导致红细胞表面同性电荷相互排斥,从而保持较好的稳定性。患者体内呈高球蛋白血症状态时,患者可出现蛋白紊乱、球蛋白增加,清蛋白/球蛋白倒置,使红细胞表面 Zate 电位改变,导致红细胞呈缗钱状假凝集^[10-11]。多发性骨髓瘤患者由于骨髓内大量浆细胞增值导致血清中出现异常的免疫球蛋白,导致血清蛋白比例改变,从而影响红细胞内表面电位导致红细胞发生缗钱状凝集,造成血型鉴定或交叉配血不合等输血相容性检测困难。

当遇到疑难血型或配血不合情况时,应从多角度去思考与分析,如改变试验温度、盐水替代或稀释、2-Me 破坏、抗人球蛋白试验、与脐血做比较等,选择有价值的鉴别试验去排除、鉴定;通常可以通过 37 ℃ 温浴及结果判读、自身吸收或用二硫苏糖醇等巯基试剂处理血清的方法来消除对试验结果的影响,减少对检测的干扰性因素,保障输血治疗安全、顺利地进行^[12-14]。通常情况下,多发性骨髓瘤出现的蛋白凝集往往是缗钱状凝集,显微镜下观察红细胞呈明显的串状排列,并非真的凝集。采取盐水替代或者盐水稀释法可以区分真凝集还是缗钱状凝集,通常滴加一滴生

理盐水后,显微镜下观察缗钱状凝集会消失。有研究表明,若考虑为冷凝集素引起的正反定型不符或交叉配血困难,如温盐水洗涤效果不佳,可以将血清置于 4 ℃ 用自身或 O 型红细胞吸收冷凝集素后再行检测,即可排除冷凝集素对检验结果的影响^[15]。近年来,抗 CD38 等单抗药物治疗多发性骨髓瘤患者的增多,给输血相容性检测带来新的挑战,应对其进行充分评估。经单抗药物治疗的 MM 患者,常常引起交叉配血不合,自身抗体和同种抗体会被掩盖和忽略,对于这类患者,国内外推荐用二硫苏糖醇(DTT)处理细胞,用凝聚胺法进行抗体鉴定和交叉配血^[7,13-14]。

通过对不同温度下试验结果的分析,37 ℃ 红细胞凝集消失,4 ℃ 红细胞凝集增强,以及与 A 型成人红细胞和 A 型新生儿红细胞反应比较,结果证实患者体内抗-I 自身抗体的存在。2-Me 是巯基化合物,可使 IgM 型抗体的亚单位二硫键断裂,导致冷凝集素 IgM 大分子降解而失去聚合能力^[16]。在使用 Sanquin 谱细胞做抗体鉴定时,反应格局中出现Ⅲ号谱细胞反应强于其他细胞的现象,但无特异性,而且用 2-Me 处理后的血浆做抗体鉴定,盐水和抗人球蛋白介质下均无凝集,说明无 IgG 型的抗体存在。为进一步避免产生不规则抗体,选择 Ec 抗原阴性的红细胞与患者血浆进行主侧交叉配血试验,所有细胞均进行 3 次洗涤,在 37 ℃ 盐水及抗人球蛋白介质中反应,均无凝集无溶血,进一步证明患者红细胞上的抗体是 IgM 性质,无 IgG 性质的不规则抗体存在。因此,通过对患者的血液标本进行处理后,才能得到正确的血型鉴定及交叉配血试验结果;在排除了 IgG 性质的不规则抗体后,考虑为冷凝集反应。

若将 4 ℃ 冷藏的库存红细胞成分血输入患者体内,红细胞会与高效价的冷凝集素结合而引起溶血等输血不良反应,因此在输血前宜对患者治疗的环境温度进行升温,同时注意患者自身的保温,以有效减少输血不良反应的发生^[17]。为防止患者体内高效价的冷抗体被激活而发生血液凝集或溶血,本研究为患者准备了同型的洗涤红细胞,并进行交叉配血试验,主侧配血相合后输注,输注时对所输血液进行复温,并注意患者保暖、慢速静脉滴注、密切观察患者情况。本例患者输注后患者无输血不良反应发生,上述操作既有效缓解了患者的病情,又保证了输血的安全。

【案例点评】

病理性高效价的冷凝集素会对血型鉴定、交叉配血、抗体筛查等输血相容性检测造成干扰,处理不当则会影响血制品的发放时间,延误临床治疗。如何有效识别及排除其干扰是输血实验室应重视的问题。

该案例中,研究者运用非常巧妙及有效的方法甄别出冷凝集素,并设计了一系列详细的血型血清学试验,明确患者血型并且排除干扰成功配血,使用相合血液后患者有了非常好的临床转归。这是实验室与临床密切配合,有效实施输血治疗的案例。

该案例有以下 2 个亮点。首先,研究者以血型为切入点,研究正反定不符的原因。利用温盐水洗涤及 37℃ 孵育 2 种方法排除冷凝集素干扰,最终发现 37℃ 孵育效果最佳可以成功鉴定出血型。此外,研究者还利用直接抗人球试验、不规则抗体筛查试验、抗体鉴定等多种手段,排除了同种抗体,鉴定出血浆内存在冷抗体抗-I。整个试验过程细节处理到位,如对照设置合理、利用 2-Me 处理冷抗体、新生儿及成人献血员的红细胞鉴定冷抗体抗-I 等。其次,文章从冷凝集素出现的可能原因到如何利用多种技术手段排除鉴定冷凝集,再到根据实验结果指导临床用血-患者保暖及血液复温等,详实地剖析了冷凝集素产生原因、处理方法及输血治疗如何将其影响降至最小。从理论层面将试验结果进行进一步分析,指导日常输血相容性检测工作。

总之,冷凝集素是输血实验室会经常遇到的棘手问题,该案例利用多种技术手段成功地展示了如何规避其对相容性检测的干扰。本案例所用技术方法及思路值得同行参考学习,借鉴到日常疑难血型、抗体鉴定及交叉配血工作中去,以便更加高效地与临床配合,使输血治疗更加及时、安全及有效。

(点评专家:曹永彤 中日友好医院)

参考文献

[1] 张学翔,魏华. 冷凝集素病的研究现状[J]. 医学理论与实践,2022,35(4):578-580.

[2] 王丽芳,石连杰,宁武,等. 干燥综合征合并冷凝集素病 1 例[J]. 北京大学学报(医学版),2023,55(6):1130-1134.

[3] KHAKWANI M,GARNDER H,RUDZKI Z,et al. A rare presentation of a rare disease:cold haemagglutination disease as the first manifestation of IgM myeloma[J]. Br J Haematol,2022,197(6):649.

[4] 王亚茹,马艳萍. 以冷凝集素综合征为首发表现的多发性

骨髓瘤患者的早期诊断[J]. 中国实验血液学杂志,2021,29(3):787-790.

[5] 虞茜,许飞,邹昕,等. 高效价冷凝集素和蛋白样凝集对输血相容性检测的影响及对策[J]. 检验医学与临床,2021,18(3):378-381.

[6] 宋文倩,邵林楠,夏悦昕,等. 大量输注多种抗体红细胞但无不良反应的输血分析[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(3):342-345.

[7] 邹昕,范小杰,虞茜,等. 抗 CD38 单抗治疗多发性骨髓瘤的抗体鉴定策略[J]. 临床检验杂志,2023,41(1):56-59.

[8] 叶祖兴,林金美. 高效价冷凝集素对输血相容性的准确性与安全性研究[J]. 中国卫生标准管理,2023,14(15):141-144.

[9] GELBENEGGER G,BERENTSEN S,JILMA B. Monoclonal antibodies for treatment of cold agglutinin disease[J]. Expert Opin Biol Ther,2023,23(5):395-406.

[10] GAUR M,SEHGAL T,BHARTI G,et al. Cold agglutinin disease in childhood:a case series with review of literature[J]. Recent Prog Med,2023,114(11):680-686.

[11] VRTIS M C. Multiple myeloma[J]. Home Healthc Now,2024,42(3):140-149.

[12] 吕相勤. 高效价冷凝集素及伴同种不规则抗体在输血相容性检测中的应用[J]. 医药论坛杂志,2021,42(6):122-125.

[13] 宋婕,陈李影慧,刘爱萍,等. 低浓度二硫苏糖醇去除 CD38 单抗干扰输血相容性检测的评估[J]. 中国实验血液学杂志,2022,30(4):1198-1202.

[14] 刘鸿雁,蒋姝婷,朱伟彦,等. CD47 单克隆抗体对输血相容性检测的干扰及配血策略[J]. 河南医学研究,2022,31(18):3294-3298.

[15] 李亮,王波,曹承华. 高效价冷凝集素对红细胞凝集及交叉配血的影响[J]. 湖北民族大学学报(医学版),2021,38(2):49-52.

[16] BERENTSEN S,RÖTH A,RANDEN U,et al. Cold agglutinin disease:current challenges and future prospects[J]. J Blood Med,2019,10:93-103.

[17] 王淑华,孙传芬,李晓虹. 冷凝集素综合征保温护理研究进展[J]. 全科护理,2023,21(4):490-493.

(收稿日期:2024-06-12 修回日期:2024-09-22)

(本文编辑:宣艳艳 张耀元)