本文引用:别立莉,陈赞,耿一心,等. 直接抗人球蛋白试验阳性患者的血清学特性和抗体鉴定[J]. 新乡医学院学报,2017,34(3):206-208. DOI:10.7683/xxyxyxb.2017.03.013.

【临床研究】

直接抗人球蛋白试验阳性患者的血清学特性和抗体鉴定

别立莉[1], 陈 赞[2], 耿一心[2], 耿明璐[2]
(1.河南省红十字血液中心成分室,河南 郑州 450012;2.河南省红十字血液中心血型研究室,河南 郑州 450012)

摘要: **目的** 分析直接抗人球蛋白试验(DAT)阳性患者的血型血清学特征,为临床输血安全提供保障。**方法** 对51例DAT阳性患者的DAT阳性强度、DAT分型及自身抗体和同种抗体的鉴定结果进行回顾性分析。**结果** 51例中,W+(弱凝集)者16例(31.4%),1+者15例(29.4%),2+者19例(37.3%),3+者1例(1.9%)。单IgG者15例(29.4%),单C3d者10例(19.6%),IgG+C3d者26例(51.0%)。不规则抗体筛查试验阳性42例,阴性9例。经16系谱细胞进行抗体鉴定,在盐水介质下检测抗体阳性22例,其中无特异性18例,有特异性4例;用间接抗人球蛋白试验检测抗体阳性31例,其中无特异性16例,有特异性15例。**结论** DAT阳性患者应进行DAT分型试验和同种抗体鉴定试验,根据试验结果选择适合的血液,以保障临床输血的及时性、安全性和有效性。

关键词: 直接抗人球蛋白试验;输血前检查;抗体鉴定;自身抗体;同种抗体
中图分类号: R446.62;R457 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)03-0206-03

Serological characterization and antibody identification of patients with positive direct antiglobulin test

BIE Li-li[1], CHEN Zan[2], GENG Yi-xin[2], GENG Ming-lu[2]
(1. *Laboratory of Blood Component, Henan Red Cross Blood Center, Zhengzhou* 450012, *Henan Province, China*; 2. *Reference Laboratory of Blood type, Henan Red Cross Blood Center, Zhengzhou* 450012, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To provide a guarantee for clinical transfusion safety by analyzing the serological characteristics of blood type of patients with positive direct antiglobulin test (DAT). **Methods** The results of DAT positive intensity, DAT typing, the identification of autoantibody and isoantibody in 51 patients with positive DAT were analyzed retrospectively. **Results** The DAT positive intensity of the 51 cases included W+(weak agglutination) in 16 cases(31.4%), 1+ in 15 cases(29.4%), 2+ in 19 cases(37.3%) and 3+ in 1 case. The DAT types of the 51 cases included IgG in 15 cases(29.4%), C3d in 10 cases(19.6%) and IgG+C3d in 26 cases(51.0%). Among the 51 cases, the irregular antibody screening test was positive in 42 cases, and it was negative in 9 cases. The 16 pedigree cell antibody identification results showed that the antibody was positive in 22 cases, including 18 cases without specificity and 4 cases with specificity in saline medium. The indirect anti globulin test was positive in 31 cases, including 16 cases without specificity and 15 cases with specificity. **Conclusions** DAT typing test and isoantibody identification in the patients with positive DAT are necessary. The matching blood can be chosen according to the test results, which can ensure the timeliness, safety and effectiveness of clinical blood transfusion.

Key words: direct antiglobulin test; pre-transfusion examination; antibody identification; autoantibody; alloantibody

直接抗人球蛋白试验(direct antiglobulin test, DAT)又称Coombs试验,通常应用于检测红细胞膜上包被的不完全抗体和补体,也应用于红细胞血型血清学试验[1]。DAT阳性造成输血前血型鉴定和交叉配血结果的不确定性,一直困扰着输血工作者。因此,建立有效的DAT检测和抗体鉴定方法十分必要。本研究旨在通过分析DAT阳性患者的血型血清学特征,以期为临床输血安全提供保障。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年1月至2015年12月郑州地区各级医院因DAT阳性引起输血前血型鉴定或交叉配血困难的血液样本51例,男22例,女29例;年龄90 d至93岁,中位年龄58岁;有输血史者28例(54.9%);女性中有妊娠史者17例(58.6%),既有输血史又有妊娠史者9例(30.0%)。

1.2 仪器与试剂 KA-2200小型台式血型血清学离心机(日本株式会社久保田制作所);抗-IgG+C3d、抗-IgG、抗-C3d、抗-M、抗-P(上海血液生物医药

DOI:10.7683/xxyxyxb.2017.03.013
收稿日期:2016-11-07
作者简介:别立莉(1973-),女,河南西峡人,学士,副主任技师,研究方向:医学检验、输血医学。

有限责任公司);抗-E、抗-e、抗-C、抗-c(美国 Immucor 公司);抗体鉴定 16 系谱细胞(荷兰 Sanquin 公司);60 g·L^{-1}白蛋白、IgG 致敏红细胞(长春博德生物技术有限责任公司)。

1.3　DAT　将乙二胺四乙酸抗凝的血液样本用生理盐水洗涤 3 次,配置成体积分数为 3% 的红细胞生理盐水悬液,取 2 支干净试管,分别标记为测定管和对照管,向 2 支试管中分别加入 1 滴红细胞悬液,再向测定管中加入抗人球蛋白(antihuman globulin, AHG)试剂 1 滴,向对照管中加入 60 g·L^{-1}白蛋白 1 滴,混匀,1 000 ×g 离心 15 s,观察凝集情况,评分并记录结果。若测定管中未观察到凝集,向含有抗人球蛋白试剂的试管中加入 IgG 致敏红细胞,1 000 ×g 离心 15 s,观察并记录结果,确认结果的有效性。

1.4　抗体鉴定　取 17 支干净试管,分别标记为 1 ~ 16 号和自身对照,每管中先各加入 2 滴受检者血清,1 ~ 16 号试管分别加入抗体鉴定谱细胞 1 滴,自身对照管加入受检者体积分数 3% 红细胞生理盐水悬液 1 滴,充分混匀,1 000 ×g 离心 15 s,观察凝集情况,评分并记录结果,根据谱细胞格局表判断抗体特异性;37 ℃孵育 30 min,1 000 ×g 离心 15 s,观察溶血和凝集情况,评分并记录结果;生理盐水洗涤红细胞 3 次,最后 1 次洗涤尽量移除上清,向红细胞中加入 AHG 试剂 1 滴,充分混匀,1 000 ×g 离心 15 s,观察溶血和凝集情况,评分并记录结果,加入 IgG 致敏红细胞确认阴性结果的有效性,根据谱细胞格局表判断抗体特异性。

2　结果

2.1　DAT 阳性凝集强度　结果见表 1。W +(弱凝集)者 16 例(31.4%),1 + 者 15 例(29.4%),2 + 者 19 例(37.3%),3 + 者 1 例(1.9%)。

表 1　51 例 DAT 阳性患者的 DAT 阳性凝集强度

Tab. 1　DAT positive agglutination intensity in 51 patients with positive DAT

既往史	n	DAT 阳性凝集强度			
		W +/例(%)	1 +/例(%)	2 +/例(%)	3 +/例(%)
有输血史	19	4(21.0)	8(42.1)	6(31.6)	1(5.3)
有妊娠史	8	2(25.0)	2(25.0)	4(50.0)	0(0.0)
有输血史和妊娠史	9	5(55.6)	1(11.1)	3(33.3)	0(0.0)
无输血史和妊娠史	15	5(33.3)	4(26.7)	6(40.0)	0(0.0)
合计	51	16(31.4)	15(29.4)	19(37.3)	1(1.9)

注:W + 为弱凝集。

2.2　DAT 分型　结果见表 2。单 IgG 者 15 例(29.4%),单 C3d 者 10 例(19.6%),IgG + C3d 者 26 例(51.0%)。

表 2　51 例 DAT 阳性患者 DAT 分型与抗体产生情况

Tab. 2　DAT typing and antibody identification in 51 patients with positive DAT

抗体产生情况	n	DAT 分型		
		IgG + C3d/例(%)	单 IgG/例(%)	单 C3d/例(%)
同种抗体	18	9(50.0)	6(33.3)	3(16.7)
全凝集	24	12(50.0)	5(20.8)	7(29.2)
全阴性	9	5(55.6)	4(44.4)	0(0.0)
合计	51	26(51.0)	15(29.4)	10(19.6)

2.3　抗体鉴定结果　51 例 DAT 阳性患者,不规则抗体筛查试验阳性 42 例,阴性 9 例。经 16 系谱细胞进行抗体鉴定,在盐水介质下检测抗体阳性 22 例,其中无特异性 18 例,有特异性 4 例(抗-M 2 例,抗-P 1 例,抗-E 1 例);用间接抗人球蛋白试验检测抗体阳性 31 例,其中无特异性 16 例,有特异性 15 例(抗-E 6 例,抗-Ec 7 例,抗-Ce 2 例)。其中 1 例在盐水介质下和间接抗人球蛋白介质均检测到抗-E。盐水介质和间接抗人球蛋白介质下共检出同种抗体者 18 例,24 例抗体类型不明确。18 例同种抗体特异性鉴定结果见表 3。

表 3　同种抗体特异性鉴定结果

Tab. 3　Identification results of isoantibody specificity

序号	样本编号	输血史	妊娠史	同种抗体特异性	
				盐水介质	间接抗人球蛋白介质
1	P9	有	无	阴性	抗-E
2	P10	有	无	阴性	抗-Ec
3	P11	有	有	阴性	抗-Ce
4	P16	无	有	阴性	抗-Ec
5	P18	有	无	抗-P	阴性
6	P21	有	无	全凝集	抗-Ec
7	P26	有	无	阴性	抗-Ec
8	P28	无	有	阴性	抗-E
9	P31	有	无	阴性	抗-Ec
10	P32	无	无	抗-M	阴性
11	P33	有	有	阴性	抗-Ce
12	P36	有	有	抗-E	抗-E
13	P39	有	有	全凝集	抗-E
14	P41	无	有	阴性	抗-E
15	P43	有	无	全凝集	抗-Ec
16	P44	有	无	全凝集	抗-Ec
17	P45	无	无	抗-M	阴性
18	P46	有	有	全凝集	抗-E

注:Rh 系统 15 例,MNS 系统 2 例,P 系统 1 例。

3　讨论

DAT 阳性表明被检者红细胞表面包被了不完全抗体或补体,其原因可能为[2]:(1)红细胞抗原上吸附有自身抗体;(2)受血者的血液中有同种抗体,与献血者红细胞上的抗原发生反应;(3)献血者的血浆、血浆衍生物以及红细胞制品有同种抗体,与受血者的抗原发生反应;(4)母亲血液中同种抗体通过胎盘,包被在胎儿红细胞膜上;(5)包被在红细胞膜上的一些药物抗体;(6)非特异性吸附蛋白,包括免疫球蛋白、高球蛋白血症、静脉输注了高剂量的

γ-球蛋白的联合物以及一些使红细胞膜变型的药物如头孢菌素类,这些蛋白吸附在红细胞表面;(7)补体激活了同种抗体、自身抗体和药物抗体,吸附在红细胞表面;(8)器官移植和骨髓移植所产生的抗体。本研究对 DAT 阳性凝集强度进行了分析,结果显示,凝集等级为 W + 至 2 + 者 50 例,仅有 1 例为 3 +,有输血史或妊娠史以及二者兼有者共 36 例(70.6%),无输血史、妊娠史者 15 例(29.4%)。NATHALANG 等[3]对 DAT 阳性、放散液发现有抗体的 21 例患者进行 DAT 凝集强度统计,发现凝集强度均在 W + 至 2 +;戴小波等[4]报道的 57 例 DAT 阳性的非自身免疫性溶血性贫血患者的 DAT 凝集强度也在 W + 至 2 +,与本研究结果基本一致。

本研究对 DAT 分型结果显示,单 C3d 者 10 例(19.6%),均有冷凝集;单 IgG 者 15 例(29.4%),间接抗人球蛋白试验均为阳性;IgG + C3d 者 26 例(51%)。周雪丽等[5]和于洋等[6]的研究结果中 DAT 分型与本研究结果差异较大,可能与研究对象和样本量不够大有关。本研究检出同种抗体的 18 例患者中 15 例(83.3%)为 IgG 和 IgG + C3d;C3d 只有 3 例,均为盐水介质下的冷抗体。通过 DAT 分型研究,发现型别与抗体产生和疾病的严重程度有关,IgG + C3 型对红细胞破坏最强,IgG 居中,单纯 C3 型危害最小。理论上讲,单纯 C3 型活化补体、破坏红细胞的能力比 IgG 抗体更强,更容易引发血管内溶血,但是,由于人体内 37 ℃条件下,冷自身抗体的活性并没有理论预期那么高,免疫分型有助于临床对病情的判断,并采取更合理的治疗方案。

本研究通过 16 系谱细胞对所有样本进行抗体鉴定,不规则抗体筛查阳性 42 例,其中 24 例抗体类型不明确,检出有特异性的同种抗体 18 例,包括 Rh 系统 15 例、MNS 系统 2 例、P 系统 1 例;其中 1 例抗-E 既有冷抗体又有温抗体,Rh 系统 15 例同种抗体的患者均有输血史或妊娠史。国内报到的 DAT 阳性患者同种抗体的特异性主要有 Rh 血型系统抗-D、抗-E、抗-Ec、抗-Ce、抗-e,MN 血型系统抗-M、抗-S,Kidd 血型系统抗-Fya、抗-Fyb[7-10]。NATHALANG 等[3]研究显示,21 例同种抗体特异性除了 Rh、MN、Kidd 血型系统抗体外,抗-Mia 就有 14 例,如此高的频率可能与人种之间的差异有关。

DAT 阳性患者血清学上还有一个重要的特征,即除自身抗体外同时存在同种抗体,这就使此类患者的输血风险进一步加大,自身抗体会遮蔽同种抗体,导致同种抗体漏检,从而输血时发生溶血反应。运用有效的检测方法进行抗体特异性鉴定,及时发现同种抗体对于此类患者尤为重要。只有自身抗体的患者,应选择 ABO 与 RhD 血型相同,交叉配血凝集强度最弱的献血者红细胞输注;自身抗体与同种抗体均含有、同种抗体特异性确定的患者,应选择不携带同种抗体对应抗原的献血者红细胞,且交叉配血凝集强度最弱的献血者红细胞输注;对于自身抗体与同种抗体均含有、同种抗体特异性不确定的患者,SHIREY 等[11]提出对此类患者作预防性抗原配型血液输注,需匹配的抗原包括 C、c、D、E、e、K、Jka、Jkb、Fya、Fyb、S 和 s,并对 20 例此类患者输注了 149 U 经预防性抗原配型的红细胞,未发生严重输血反应。向东等[8]认为,使用 DCcEe 抗原以及 M、S、Jka、Jkb 抗原匹配的红细胞输注即可基本避免同种抗体引起的严重输血反应。

综上所述,DAT 阳性患者输血前的各项实验室检查不容忽视。目前,DAT 和抗体鉴定试验未列入常规输血前实验室检查,对输血患者均进行这 2 项试验,可能并无必要;但是,对于有输血史、妊娠史以及输血前交叉配血试验阳性的患者,通过 DAT 分型和抗体鉴定试验,有助于工作人员选择适合的血液。

参考文献:

[1] LIUMBRUNO G M, TOGNACCINI A, BONINI R, *et al*. The role of the direct antiglobulin test in pre-transfusion investigations and the approach to selecting blood for transfusion in autoimmune haemolyticanaemia: results of a regional survey[J]. *Blood Transfus*, 2008, 6(3): 156-162.

[2] ROBACK J D, COMBS M R, GROSSMAN B J, *et al*. Technical Manual[M]. 16th ed. Bethesda MD: American Association of Blood Banks, 2008: 499-521.

[3] NATHALANG O, SRIWANITCHRAK P, TUBROD J, *et al*. Antibody elutions in Thai patients with a positive direct antiglobulin test[J]. *Blood Transfus*, 2011, 9(3): 306-310.

[4] 戴小波,任燕歌,曾朱君,等. 直接抗人球蛋白试验阳性非自身免疫性溶血性贫血受血者的临床特征和输血对策[J]. 中国输血杂志,2013,26(6):555-557.

[5] 周雪丽,阎石,李鹏,等. 微柱凝胶卡式法 Coombs 试验在自身免疫性溶血性贫血诊断中的应用[J]. 中华血液学杂志,2012,33(1):31-33.

[6] 于洋,孙晓琳,马春娅,等. 61 例自身免疫性溶血性贫血患者血型血清学特征及输血疗效评估[J]. 中国实验血液学杂志,2013,21(5):1275-1279.

[7] 张磊,张烨,郭楠,等. 自身免疫性溶血性贫血输血前检查的研究[J]. 北京医学,2013,35(8):717-720.

[8] 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.

[9] 袁文声,易峰,何锐洪,等. 自身免疫性溶血性贫血患者的类同种自身抗体检测及其输血对策探讨[J]. 实验与检验医学,2015,33(4):403-409.

[10] 骆宏,张润青,罗广平,等. 混合抗体型自身免疫性溶血性贫血的血型定型和抗体鉴定[J]. 中山大学学报(医学科学版),2013,34(3):434-437.

[11] SHIREY R S, BOYD J S, PARWANI A V, *et al*. Prophylactic antigen-matched donor blood for patients with warm autoantibodies: an algorithm for transfusion[J]. *Transfusion*, 2002, 42(11): 1435-1441.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)