

患者的年龄较阴性患者大,分析原因发现一些老年人行药物滥用筛查会出现阳性结果,在详细询问病史后,确认这些老年人在筛查近期均服用某些药物,比如安眠药、保健药、感冒药、止咳药、消炎药、止痛药等,这些药物成分中含有或可在人体内转化为吗啡、甲基安非他明、氯胺酮^[8]。患有慢性疾病的老年人,长期反复服用此类药物,会产生药物依赖性,也属于药物滥用^[9]。(4)本研究药物滥用筛查阳性率与患者民族、文化程度、婚姻情况、籍贯等因素无关。

由于药物滥用人所滥用并耐受的 药物,不仅有神经兴奋剂,还有麻醉科常用的多类药物,如阿片类、氯胺酮等常用麻醉药品,对手术麻醉用药可能出现耐受、协同、叠加等效应,手术麻醉用药及管理非常特殊。因此,术前进行药物滥用情况的筛查很有必要,可以充分了解患者的情况,为药物滥用阳性患者的后续治疗方案提供临床依据。

参考文献

[1] KIM D H,SO W Y. The relationships between recreational drug abuse and school records among korean adolescents[J]. J Child Adolesc Subst Abuse,2017,26(1):86-90.
[2] DOMANIN M,ROMAGNONI G. Regarding " High-risk cardiac surgery in patients with intravenous drug abuse

and/or active hepatitis C or human immunodeficiency virus infection;an ethical discussion of six cases"[J]. Thorax chirurgie,2017,65(1):2-3.
[3] 莫兴鉴,屈健. 广西边境地区毒品贩运活动发展趋势及对策研究[J]. 广西警官高等专科学校学报,2015,28(3):67-73.
[4] 杨进业,陆华湘,吴兴华,等. 南宁市新型毒品吸毒人群性行为特征及相关危险因素[J]. 中国艾滋病性病,2014,20(11):827-830.
[5] TOMLINSON M F,BROWN M,HOAKEN P N. Recreational drug use and human aggressive behavior;a comprehensive review since 2003 [J]. Aggress Violent Behav,2016,27(1):9-29.
[6] 孙艳坤,时杰. 精神障碍及药物滥用的疾病负担及死亡风险[J]. 中国药物依赖性杂志,2015,25(3):240.
[7] 赵金仙,张丽华,蔡英,等. 443 例社区新型毒品滥用人群 HIV、HCV、性感染现况及影响因素分析[J]. 现代预防医学,2016,43(8):1502-1507.
[8] 段爱军,耿立,吴香云,等. 867 例男性青年征兵体检实验室筛查结果分析[J]. 检验医学与临床,2014,11(Z2):90-91.
[9] 焦琳. 老年患者用药安全性及对策[J]. 中国卫生标准管理,2016,7(3):120-121.

(收稿日期:2017-11-03 修回日期:2018-01-12)

• 临床探讨 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 09. 027

873 例血型血清学检测药物诱导免疫溶血性贫血的结果分析*

刘不尽,邹晓萍,张 涛,毛 伟,陈 政[△]
(重庆市血液中心输血研究所,重庆 400015)

摘 要:目的 探讨药物诱导免疫溶血性贫血(DIIHA)的机制及血型血清学检测的方法。方法 通过直接抗人球蛋白试验检测红细胞致敏情况,通过间接抗人球蛋白试验分别以药物包被法及免疫复合物法检测血浆中及红细胞放散液中药物抗体。**结果** 873 例患者中,直抗阳性患者 156 例,其中血浆与红细胞放散液以药物包被法检测出头孢菌素抗体 3 例,免疫复合物法检出头孢菌素抗体 4 例。**结论** 通过患者红细胞直接抗人球蛋白试验、血浆中及红细胞放散液中药物抗体检测,能够大大提高对 DIIHA 的诊断能力。

关键词:药物诱导免疫溶血性贫血; 抗人球蛋白试验; 药物免疫性抗体
中图法分类号:R457. 143 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2018)09-1300-04

药物诱导免疫溶血性贫血(DIIHA)临床发病急、进展快,临床表现不易与其他类型溶血性贫血鉴别,一旦延误诊治可致患者器官衰竭甚至死亡。但是,DIIHA 若及时诊断,经停药和治疗后可治愈,器官功能衰竭可逆。因此,早期发现并及时停药是 DIIHA 的首要治疗手段,可避免不良预后。DIIHA 无特异性的临床表现,对该病的诊断成为一大难题。如何提高

对 DIIHA 的诊断能力,建立一条科学合理的 DIIHA 血清学检查思路,帮助临床及时诊断和正确治疗是一个亟待解决的问题。

1 材料与方法

1.1 材料 选取 2015 年 1 月至 2017 年 4 月本中心送检血样 873 份,其中抗人球蛋白试验的患者血样 74 份,交叉配血的患者血样 799 份。样本均为 EDTA-

* 基金项目:重庆市渝中区科技计划项目(20140126)。
[△] 通信作者,E-mail:97351908@qq. com。

K₂ 抗凝。

1.2 仪器与试剂 抗人球蛋白试剂抗 IgG(上海血液生物,批号:20155101);抗 C3d(上海血液生物,批号:20155201);抗 IgG, C3d(上海血液生物,批号:20155102);微柱凝胶卡(美国 Biovue 公司,批号:IGC635A,IGC664A);红细胞处理试剂盒(江阴力博医药生物技术有限公司,批号:201604005);头孢曲松(石药集团中诺药业有限公司,批号:015151042);头孢呋辛(深圳致君制药有限公司,批号:K151107);哌拉西林他唑巴坦(珠海联邦制药股份有限公司,批号:60415002);阿奇霉素(齐鲁制药有限公司,批号:502008CK);青霉素(石药集团中诺药业有限公司,批号:141108);离心机(KA-2200,日本 KUBOTA 公司);37℃水浴箱(S.HH.W21.600,上海医用恒温设备厂);恒温孵育箱及卡式离心机(Ortho,美国 Biovue 公司)。

1.3 方法 分别采用试管抗人球蛋白法检测红细胞致敏情况,微柱凝胶间接抗人球蛋白法检测血浆及放散液中药物抗体。试验均按《全国临床检验操作规程》及相关试剂说明书进行操作。

1.3.1 直接抗人球蛋白试验 采用试管抗人球蛋白法:取患者红细胞以 0.9%生理盐水洗涤 3 次,配制成 3%红细胞悬液。试管中加抗人球蛋白试剂 50 μL,再加入患者红细胞悬液 50 μL,离心观察结果。

1.3.2 药物包被法检测血浆中药物抗体 将药物配制成 40 mg/mL 浓度溶液,与正常混合 O 型红细胞 37℃孵育 1 h 后洗涤 3 次制成药物包被红细胞,配置成 3%红细胞悬液。5 孔分别加入青霉素包被红细胞悬液、头孢曲松包被红细胞悬液、头孢呋辛包被红细胞悬液、哌拉西林他唑巴坦包被红细胞悬液、阿奇霉素包被红细胞悬液各 50 μL,第 6 孔加入未包被药物的 O 型红细胞作为阴性对照。每孔加入 50 μL 患者血浆,37℃孵育 15 min,离心观察结果。

1.3.3 免疫复合物法检测血浆中药物抗体 药物配制成 1 mg/mL 浓度溶液。微柱凝胶卡 5 孔分别加入青霉素溶液、头孢曲松溶液、头孢呋辛溶液、哌拉西林他唑巴坦溶液、阿奇霉素溶液各 50 μL,第 6 孔加入 50 μL PBS 作为阴性对照。加入 1 滴 3%正常混合 O 型红细胞悬液。每孔加入 50 μL 患者血浆,50 μL 3%正常混合 O 型红细胞悬液,37℃孵育 15 min,离心观察结果。

1.3.4 放散液中药物抗体检测 血浆中检出特异性药物抗体的患者红细胞以红细胞处理试剂盒制备放散液,操作方法按照操作说明进行,放散液按“1.3.2”及“1.3.3”血浆中药物抗体检测的方法分别以药物包被法和免疫复合物法检测抗体。

2 结果

2.1 直接抗人球蛋白试验结果 总共 873 例患者中,直抗阳性患者 156 例。799 例交叉配血患者标本中,128 例直抗阳性。其中抗 IgG 阳性 85 例,抗 C3 阳性 8 例,抗 IgG+抗 C3 阳性 35 例。74 例抗人球蛋白试验患者标本中,直抗阳性 28 例,其中抗 IgG 阳性 15 例,抗 C3 阳性 5 例,抗 IgG+抗 C3 阳性 8 例。

2.2 血浆中药物抗体检测结果

2.2.1 药物包被法 156 例直抗阳性患者标本中,117 例与药物包被红细胞无凝集。29 例与未包被药物的 O 型红细胞及药物包被 O 型红细胞均发生凝集,进一步检测发现其中 12 例患者血浆中存在同种抗体,17 例患者血浆中存在自身抗体。7 例与所有药物包被红细胞均发生凝集,与未包被药物的 O 型红细胞不发生凝集,为非特异性药物抗体。检出特异性头孢菌素抗体 3 例,凝集反应,见表 1。

2.2.2 免疫复合物法 156 例直抗阳性患者标本中,123 例患者血浆在加入药物溶液的情况下与混合 O 型红细胞行间接抗人球蛋白试验无凝集。29 例在未加入药物溶液的情况下及加入药物情况下与所有混合 O 型红细胞均发生凝集。4 例在加入头孢曲松溶液的情况下与混合 O 型红细胞发生凝集,患者 1、2、3 在加入头孢呋辛溶液的情况下与混合 O 型红细胞发生凝集。凝集反应,见表 2。

2.3 放散液中药物抗体检测 检出特异性头孢菌素抗体的 4 例患者,患者 1、2、3 红细胞放散液与头孢呋辛包被的红细胞发生凝集,与其他药物包被红细胞及未包被药物的 O 型红细胞无凝集,凝集反应见表 3;放散液以免疫复合物法检测,4 例在加入头孢曲松溶液的情况下与混合 O 型红细胞发生凝集,患者 1、2、3 在加入头孢呋辛溶液的情况下与混合 O 型红细胞发生凝集。凝集反应见表 4。

2.4 患者一般情况及用药情况调查结果 患者一般情况及用药情况,见表 5。

表 1 患者血浆与药物包被红细胞反应结果

红细胞类型	青霉素 包被红细胞	头孢曲松 包被红细胞	头孢呋辛 包被红细胞	哌拉西林他唑巴坦 包被红细胞	阿奇霉素 包被红细胞	未包被 药物红细胞
患者 1 头孢菌素抗体	—	—	1+	—	—	—
患者 2 头孢菌素抗体	—	—	1+	—	—	—
患者 3 头孢菌素抗体	—	—	1+	—	—	—
同种抗体/自身抗体	1+	1+	1+	1+	1+	1+
非特异性药物抗体	1+	1+	1+	1+	1+	—

表 2 患者血浆在加入药物后与红细胞反应结果						
药物类型	青霉素	头孢曲松	头孢呋辛	哌拉西林他唑巴坦	阿奇霉素	PBS
患者 1 头孢菌素抗体	—	1+	1+	—	—	—
患者 2 头孢菌素抗体	—	1+ ^w	1+	—	—	—
患者 3 头孢菌素抗体	—	1+	1+	—	—	—
患者 4 头孢曲松抗体	—	1+	—	—	—	—
同种抗体/自身抗体	1+	1+	1+	1+	1+	1+

表 3 患者红细胞放散液与药物包被红细胞反应结果						
红细胞类型	青霉素 包被红细胞	头孢曲松 包被红细胞	头孢呋辛 包被红细胞	哌拉西林他唑巴坦 包被红细胞	阿奇霉素 包被红细胞	未包被 药物红细胞
患者 1 放散液	—	—	1+	—	—	—
患者 2 放散液	—	—	1+	—	—	—
患者 3 放散液	—	—	2+ ^w	—	—	—

表 4 患者血浆在加入药物后与红细胞反应结果						
药物类型	青霉素	头孢曲松	头孢呋辛	哌拉西林他唑巴坦	阿奇霉素	PBS
患者 1 放散液	—	1+	1+	—	—	—
患者 2 放散液	—	1+	1+	—	—	—
患者 3 放散液	—	2+	2+ ^w	—	—	—
患者 4 放散液	—	1+	—	—	—	—

表 5 患者临床情况调查						
编号	性别	年龄(年)	诊断	用药史		
患者 1	男	51	慢性粒单核细胞白血病	既往使用头孢菌素		
患者 2	女	74	回肠肿瘤	既往使用头孢菌素		
患者 3	男	44	骨髓增生异常综合征,肺部感染	入院后使用头孢呋辛		
患者 4	女	68	贫血待查	不详		

3 讨 论

DIIHA 的临床表现多样,多数患者出现发热、疼痛、贫血、黄疸、血尿,严重者出现呼吸困难、急性肾衰竭等。实验室检查有红细胞计数下降,血红蛋白降低,直接抗人球蛋白试验阳性等表现。由于 DIIHA 没有特征性的临床表现,常常被临床医生误诊,引起不良预后。因此对该病的诊断成为一大难题,常常需要临床医师结合专业实验室的血清学结果进行识别。

该疾病可根据抗体检测时是否依赖药物分为药物依赖性和非药物依赖性 DIIHA^[1]。药物依赖性抗体是造成 DIIHA 的最常见机制,最常见药物为抗菌药物^[2-3]。药物依赖性 DIIHA 间接抗人球蛋白试验阴性,在加入药物或用药物包被红细胞后进行间接抗人球蛋白试验结果转为阳性。非药物依赖性抗体所致 DIIHA,间接抗人球蛋白试验阳性,且抗体无特异性与所有试剂细胞反应。而更多的分类方式是根据 DIIHA 的免疫机制不同^[4],分为以下 4 种类型:(1)自身抗体型,药物改变了红细胞膜上的蛋白结构,使自

身免疫系统产生抗自身红细胞的抗体。该种抗体在无药物存在时也可以和红细胞发生反应,为非药物依赖性 DIIHA,这种抗体与自身免疫性溶血性贫血所产生的抗体不易区别,血清(或红细胞放散液)与所有试剂红细胞均有反应。因反应不需要药物参与,在停药后,溶血反应不会立刻停止而是逐渐减弱^[5]。(2)半抗原型,药物作为半抗原进入机体,与体内蛋白结合成为全抗原诱导机体产生 IgG 类抗体,抗体与吸附药物的红细胞作用造成红细胞溶解而溶血。该抗体只有在药物参与的情况下与红细胞反应,为药物依赖性抗体。此类型溶血呈剂量依赖性,往往只有接受大剂量药物的患者才出现溶血。(3)免疫复合物型,药物在初次进入机体时,刺激机体产生抗体,药物再次进入机体时,与药物抗体结合形成免疫复合物附着于红细胞上,激活补体发生血管内溶血。(4)非免疫性蛋白吸附型,药物与红细胞膜结合后改变膜结构,以非免疫的方式吸附清蛋白、IgA、IgG、IgM、α 及 β 球蛋白于红细胞上,引起 DAT 阳性。因为其机制并非由于

抗体产生,较少出现溶血性贫血。

本实验中,直抗阳性患者以抗 IgG 型居多,其次为抗 IgG、C3 型。检出药物抗体的 4 例中,抗 IgG 阳性 2 例,抗 IgG、C3 阳性 2 例,药物抗体可通过 Fc 段被巨噬细胞识别而介导红细胞在网状内皮细胞系统被破坏发生血管外溶血,也可通过激活补体系统导致血管内溶血。

本实验中,以药物包被法检测与药物包被红细胞无凝集,以免疫复合物法检测在加入药物溶液的情况下与混合 O 型红细胞无凝集的患者可判断血浆中不存在药物抗体。但这些阴性病例中也可能存在假阴性结果。有专家指出,因部分药物依赖性抗体只在药物代谢产物存在时与红细胞发生反应,而在药物本身存在时并不与红细胞发生反应,常导致误诊和假阴性结果^[6]。检测出自身抗体的患者中,也可能存在自身抗体型的药物抗体。由于药物改变了红细胞膜上的蛋白结构,使自身免疫系统产生抗自身红细胞的抗体。但这种抗体与自身免疫性溶血性贫血所产生的抗体不易区别。

在检测血浆中药物抗体时,7 例样本与所有药物包被红细胞均发生非特异性凝集,与未包被药物的 O 型红细胞不发生凝集,这可能是由非免疫性蛋白吸附造成的。GARRATTY 等^[7]指出药物改变了红细胞膜的结构,使红细胞膜吸附蛋白质,造成 DAT 阳性。SALAMA 等^[8]指出药物造成的非免疫性蛋白吸附是由于药物可以结合在红细胞膜上,并且药物上具有蛋白结合位点,以吸附血浆中的蛋白造成 DAT 阳性。

本实验中检出特异性头孢抗体的 4 例患者通过临床调查,有 2 例既往使用过头孢菌素,有 1 例治疗过程中使用过头孢菌素,1 例用药史不详。3 例有明确头孢菌素用药史的患者产生了头孢菌素抗体,但 3 例患者均无长期大量使用头孢菌素的病史,所以药物抗体的产生不仅与药物量有关,更与机体的免疫功能相关。ARNDT 等^[9]指出第二代和第三代头孢菌素是目前最常见的造成 DIIHA 的原因。4 例与头孢菌素发生特异性反应的患者中,3 例药物包被法检测与头孢呋辛包被红细胞发生反应,以免疫复合物法检测与头孢呋辛、头孢曲松存在下的红细胞均有反应。另外 1 例仅以免疫复合物法检测与在头孢曲松存在下的红细胞均有反应。出现药物包被法与免疫复合物法结果不一致的情况,可能是因为头孢曲松钠在体外无法吸附红细胞导致无法以药物包被法检测头孢曲松钠抗体^[10]。免疫复合物法检测时 3 例患者出现头孢呋辛、头孢曲松存在下的红细胞均有反应,是由于头孢菌素抗体存在交叉反应。头孢菌素与青霉素、半合成青霉素有共同的 β -内酰胺核心结构,有的药物抗体是针对这个共有的核心结构,而有的药物抗体则是针对侧链^[11]。头孢曲松与头孢呋辛不仅有相同的 β -

内酰胺核心结构,还有一部分侧链的结构完全相同。患者的药物抗体与头孢曲松、头孢呋辛均有反应但与青霉素、哌拉西林他唑巴坦无反应,可能与该药物抗体针对了头孢曲松、头孢呋辛共有的侧链结构而非 β -内酰胺核心结构有关。由于不同的头孢菌素抗体之间存在交叉反应,常常建议出现过头孢菌素抗体引起免疫溶血性贫血的患者不再使用任何头孢菌素。本研究中未检测到头孢菌素抗体与青霉素、半合成青霉素发生交叉反应,但有专家指出应用头孢菌素发生过 DIIHA 的患者在应用其他头孢菌或青霉素时应慎重。

综上所述,通过患者红细胞直接抗人球蛋白试验、血浆中及红细胞放散液中药物抗体检测,可以大大提高对 DIIHA 的诊断能力,鉴别溶血原因,并为临床合理安全用药提供依据。

参考文献

- [1] LEGER R M, ARNDT P A, GARRATTY G. How we investigate drug-induced immune hemolytic anemia[J]. Immunohematology, 2014, 30(2): 85-94.
- [2] 刘代红. 药物诱发的免疫性溶血性贫血[J]. 中国实用内科杂志, 2012, 32(5): 338-339.
- [3] GARRATTY G. Immune hemolytic anemia caused by drugs[J]. Expert Opin Drug Saf, 2012, 11(4): 635-642.
- [4] GARRATTY G. Review: drug-induced immune hemolytic anemia-the last decade[J]. Immunohematology, 2004, 20(3): 138-146.
- [5] 刘达庄. 免疫血液学[M]. 上海: 上海科技出版社, 2002.
- [6] BEATE M, THILO B, SALIH Y, et al. Variability of findings in drug-Induced immune haemolytic anaemia: experience over 20 years in a single centre[J]. Transfus Med Hemother, 2015, 42(5): 333-339.
- [7] GARRATTY G, LEGER R. Red cell membrane proteins (CD55 and CD58) are modified following treatment of RBCs with cephalosporins[J]. Blood, 1995, 86: 68a.
- [8] SALAMA A, MAYER B. Diagnostic pitfalls of drug-induced immune hemolytic anemia[J]. Immunohematology, 2014, 30(2): 80-84.
- [9] ARNDT PA, LEGER RM, GARRATTY G. Serology of antibodies to second- and third-generation cephalosporins associated with immune hemolytic anemia and/or positive direct antiglobulin tests[J]. Transfusion, 1999, 39: 1239-1246.
- [10] ARNDT PA, LEGER RM, GARRATTY G. Serologic characteristics of ceftriaxone antibodies in 25 patients with drug-induced immune hemolytic anemia[J]. Transfusion, 2012, 52(3): 602-612.
- [11] 杨启修, 朱自严. 药物包被的红细胞检测血液中抗抗生素抗体[J]. 现代免疫学, 2010, 30(3): 243-246.