

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.10.046

抗-E 合并抗-Dia 致疑难配血试验分析*

杨红梅¹, 许 飞¹, 郑皆炜², 向 东², 虞 茜¹, 曹锁春^{1△}

1. 江苏省常州市中心血站, 江苏常州 213004; 2. 上海市血液中心, 上海 200050

关键词: 交叉配血; 抗体筛查; 抗-E; 抗-Dia
中图分类号: R457.1 文献标志码: C 文章编号: 1672-9455(2020)10-1464-04

不规则抗体是指除抗-A、抗-B 红细胞以外的血型抗体。不规则抗体是导致溶血性输血反应、新生儿溶血病、疑难配血及血型鉴定困难的主要原因^[1-2]。对献血员和患者进行抗体筛选, 可避免因为找不到相合的血液给患者而延误治疗, 因此抗体筛查试验在临床配血中非常重要。引起临床疑难交叉配血最常见的抗体是 Rh 血型系统的相关不规则抗体, 该系统不规则抗体可单独存在, 也可以联合其他抗体的形式存在。本实验室在工作中发现 1 例抗-E 合并抗-Dia 引起的交叉配血不合, 现将试验分析过程报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者韩某, 女, 30 岁, 因“月经量多 10 余年, 彩超发现子宫内膜增厚等”经门诊收入院, 既往有妊娠史、流产史, 抗体筛查阳性, 特需配悬浮红细胞 4 个单位而送常州市中心血站输血研究室进行相关检测。

1.2 试剂与仪器 抗-A/B 单克隆抗体(上海血液生物, 批号: 20180818); 抗-D(IgM)单克隆抗体(北京金豪, 批号: 2018110104); ABO 血型反定型红细胞(北京金豪, 批号: 20190601013); 进口谱细胞(匈牙利, 批号: 731911); 进口谱细胞(Sanquin, 批号: 8000257144); 国产谱细胞(上海血液生物, 批号: 20190530); 抗人球蛋白试剂(上海血液生物, 批号: 20185001); 抗-IgG(上海血液生物, 批号: 20185102); 抗-C3d(上海血液生物, 批号: 20185202); 抗-Dia(CE 公司, 批号: MDiaM024); 抗-C(上海血液生物, 批号: 20183003); 抗-c(上海血液生物,

批号: 20183102); 抗-E(上海血液生物, 批号: 20193201); 抗-e(上海血液生物, 批号: 20183301); 抗体筛选细胞(上海血液生物, 批号: 20197026)。聚凝胺试剂由台湾贝索企业有限公司提供。久保田 KA-2200 血清学专用离心机; 37℃ 恒温水浴箱; 卢湘仪 TD4 低速自动平衡离心机; 博讯抗人球蛋白卡。

1.3 试管法鉴定 ABO 正反定型、Coombs 试验、抗体鉴定、交叉配血及微柱法进行抗体特异性鉴定及交叉配血。所有试验均严格按照文献[3]的方法和试剂操作说明书进行操作。

2 结 果

2.1 血型鉴定(试管法) ABO 正反定型结果见表 1, 血型为 A 型。

表 1 患者 ABO 正反定型结果						
反应条件	抗-A	抗-B	Ac	Bc	Oc	自身细胞
IS	4+	0	0	4+	0	0
多次离心	4+	0	0	4+	0	0

注: 4+ 表示凝集强度; 0 表示阴性。

2.2 抗体筛选(试管法) 医院送检单显示抗体筛选试验阳性, 提示有不规则抗体存在。笔者进一步做不规则抗体筛查发现筛选 I、Ⅲ 细胞在盐水介质中无凝集, 在聚凝胺和抗人球蛋白介质中均凝集, 结果见表 2, 其中在聚凝胺介质下的凝集强度达到 2+, 提示该抗体对聚凝胺介质敏感。

表 2 患者血清与抗筛细胞反应格局与结果(批号: 20197026)

序号	Rh-hr					Kidd		MNSs				Duffy		Lewis		P	试验结果		
	D	C	E	c	e	JK ^a	JK ^b	M	N	S	s	Fy ^a	Fy ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	IS	Poly	IAT
1	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	2+	1+
2	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	0
3	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	2+	1+
自身对照																	0	0	0

注: + 表示极小的细胞凝集混合众多游离红细胞; 0 表示阴性; 1+、2+ 表示凝集强度。

* 基金项目: 江苏省输血协会英科新创科研基金(JS2018037); 江苏省常州市卫生和计划生育委员会指导性课题(WZ201729)。

△ 通信作者, E-mail: 149166683@qq.com。

2.3 鉴定抗体其特异性(试管法——抗人球蛋白和聚凝胺介质) 从筛选试验格局中初步推断血清中存在 Rh 系统血型抗体,进一步鉴定抗体特异性。国产谱细胞和进口谱细胞在盐水介质均出现凝集。进口谱细胞在聚凝胺介质 2、4、9 号出现凝集,在抗人球蛋白介质中 2、4、7、9 号出现凝集。国产谱细胞在聚凝胺介质 2、4、5、6 号出现凝集,在抗人球蛋白介质中 2、3、4、5、6 号出

现凝集。对照进口谱细胞格局表和国产谱细胞初步判断为抗-E 合并抗-Dia 不能排除抗-C^w;试验结果见表 3、4。进一步做 Rh 系统和 Diego 系统抗原表型分型试验,结果见表 5。该患者 Rh 分型为 CCee,Diego 系统分型为 Di(a-),与血清中相应抗体基本吻合,仍需采用吸收放散试验来进一步排除是否存在抗-C^w。

表 3 患者血清与进口谱细胞反应格局及结果(REAGENS,批号:731911)

序号	Rh-Hr	D	C	E	c	e	C ^W	K	k	M	N	S	s	P ₁	Le ^a	Le ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Di ^a	Lu ^a	Lu ^b	IS	Ploy	IAT
1	R ₁ R ₁ K+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0
2	R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	2+ ^s	1+ ^s
3	r' ₁ r' ₁ * *	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	0	0
4	r''r	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	2+	1+
5	rrK+	0	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	0	0
6	R ₀ r	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+	0	0	0
7	R ₁ R ₁ ^w	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	*	+	+	0	+	0	2+
8	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0
9	R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+	0	2+	1+
10	R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	*	0	+	0	0	+	0	0
11	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	0	0
																							自身对照	0	0	0

注: +表示极小的细胞凝集混合众多游离红细胞;0 表示阴性;1+、2+表示凝集强度;^s 表示稍强;^w 表示稍弱。

表 4 患者血清与国产谱细胞反应格局及结果(批号:20190530)

序号	Rh-hr					Kidd		MNSS					Duffy		Diego		Kell		Lewis		Yt		P	试验结果			
	D	C	E	c	e	JK ^a	JK ^b	M	N	S	s	Mur	Fy ^a	Fy ^b	Dx ^a	Dx ^b	K	k	Le ^a	Le ^b	Yt ^a	Yt ^b	P ₁	IS	Ploy	IAT	
1	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0		+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0
2	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	/	0	+	0	+	/	/	0	0	1+ ^s	1+	
3	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	/	0	+	0	+	/	/	+	0	0	1+ ^w	
4	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	/	0	+	+	+	/	/	0	0	1+	1+ ^w	
5	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	1+	1+ ^w	
6	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	/	0	+	0	+	/	/	+	0	1+ ^s	1+	
7	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	/	0	+	0	+	/	/	+	^w	0	0	0
8	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	/	0	+	0	+	/	/	+	^w	0	0	0
9	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0
10	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	/	0	+	0	+	/	/	+	0	0	0
自身对照																							0	0	0		

注: +表示极小的细胞凝集混合众多游离红细胞;0 表示阴性;/表示未检测;1+表示凝集强度;^s 表示稍强;^w 表示稍弱。

表 5 患者 Rh 抗原分型和 Diego 抗原分型结果

反应条件	抗-C	抗-c	抗-E	抗-e	抗-D(IgM)	抗-Dia(卡)
IS	3+	0	0	3+	4+	0
阳性对照(S3)	2+	2+	1+			

注: 1+、2+、3+、4+表示凝集强度;0 表示阴性。阳性对照 S3 细胞为筛选细胞中的Ⅲ号细胞;Diego 系统阳性对照细胞为国产谱细胞 3 号细胞。

2.4 吸收放散试验 该患者 Rh 基因分型为 CCDee, Diego 系统分型为 Di(a-)。不同血型系统抗体在谱细胞试验中可能会有干扰而影响反应格局,为了进一步确定抗体特异性,于是对患者标本进行吸收放散试

验,挑选 E 抗原阳性、Dia 抗原阴性的细胞混合液(进口谱细胞 2 号和 4 号)与患者血清采用热吸收酸放散方法(37 ℃ 30 min),将放散液与吸收后的血清进一步进行谱细胞试验,见表 6,试验结果表明患者血清中

确实存在抗-E 和抗-Dia。为排除抗-C^w, 选择了 San-quin 谱细胞中的 1、2、6 号细胞检测, 发现 1、2 号谱细胞均为阴性, 6 号阳性; 说明血清中未检出抗-C^w, 试验结果见表 7。

2.5 抗-Dia 和抗-E 效价测定 采用试管法对血清倍比稀释(准备 2 排试管), 第 1 管血清 50 μ L, 第 2 管为血清 50 μ L 与 50 μ L 生理盐水混合液, 将第 2 管中的 50 μ L 混合液移置第 3 管, 以此类推。第 1 排试管效

价测定所用细胞为进口谱细胞 7 号与国产谱细胞 3 号细胞混合液; 第 2 排效价测定所用细胞为进口谱细胞 2 号与国产谱细胞 4 号细胞混合液。向相应的试管中加入混合细胞量 50 μ L, 整个体系为 100 μ L, 分别做室温、37 $^{\circ}$ C 抗人球蛋白介质下抗-E 和抗-Dia 的抗体效价。结果在抗人球蛋白介质中抗-E、抗-Dia 效价分别为 2、4; 试验结果见表 8。本实验室以出现土的最高稀释倍数为最终效价。

表 6 吸收放散谱细胞试验结果(进口谱 2 号和 4 号)

进口谱细胞	试验结果	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
放散液	IS(盐水)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	IAT(卡)	0	1+	0	1+	0	0	0	0	1+ ^w	0	0
吸收后血清	IS(盐水)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	IAT(卡)	0	0	0	0	0	0	2+	0	0	0	0

注: 0 表示阴性; 1+、2+ 表示凝集强度; w 表示稍弱。

表 7 患者血清与部分谱细胞反应结果

序号	Rh-Hr										Kell		Duffy				Kidd		Lewis		P	MNS				Luther		X _g	试验结果				
	C	D	E	c	e	C ^w	f	V	K	k	K _p ^a	K _p ^b	J _s ^a	J _s ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	X _g ^a	IS	Poly	IAT		
1	+	+	0	0	+	+	/	/	+	+	0	+	/	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0		+	0	0	+	0	0	0	0
2	+	+	0	0	+	0	/	/	+	+	0	+	/	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0
6	0	0	+	+	0	0	/	/	0	+	0	+	/	+	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	1+	1+	1+

注: + 表示极小的细胞凝集混合众多游离红细胞; 0 表示阴性; / 表示未检测; 1+ 表示凝集强度。

表 8 抗-E 和抗-Dia 效价测定

反应条件	1	2	4	8	16	32
IS(室温, 体系细胞为 J7+G3)	0	0	0	0	0	0
IAT(体系细胞为 J7+G3)	2+ ^w	1+ ^w	±	±/0	0	0
IS(室温, 体系细胞为 G4+J2)	0	0	0	0	0	0
IAT(体系细胞为 G4+J2)	1+ ^w	±	±/0	0	0	0

注: J7+G3 为匈牙利谱 7 号+国产谱细胞 3 号红细胞混合液; G4+J2 为国产谱细胞 4 号与匈牙利谱 2 号红细胞混合液; 0 表示阴性; ±表示弱阳性; 1+、2+ 表示凝集强度; w 表示稍弱。

2.6 交叉配血试验 根据疑难配血申请单筛选 2 袋献血者条码为 9001819233675/9001819233675、A 型、RhD 阳性、其他血型为“CCee 且 Di(a-)”的血样做主次侧交叉配血试验, 在盐水、聚凝胺、抗人球蛋白 3 种介质中均无凝集、无溶血, 可输注上述悬浮红细胞 4 个单位。跟踪该患者, 血红蛋白上升了 25 g/L 左右, 输血效果良好。

3 讨 论

临床上交叉配血不合的原因众多, 在进行血液筛查的每个环节都可能导致配血不合。在输血前的血液检测中, 不规则抗体筛选阳性是导致不合的常见现象。Rh 血型系统在输血工作中的重要性仅次于 ABO 血型系统。当抗体性质为 IgG 类, 优先考虑 Rh 血型系统抗体, 这是因为 Rh 血型系统抗原性强度仅次于 ABO 血型系统。抗-E 是 RhD 阳性者最易产生的抗体, 往往抗-c 会伴随着抗-E 同时出现。该患者

Rh 抗原分型为 CCDec, 缺乏 E 和 c 抗原, 妊娠、流产等过程受免疫刺激导致产生了免疫性抗-E 和抗-c, 当再次输血时就可能会出现交叉配血不合^[4-6]。Diego 血型系统包含 21 个抗原, 其中 Dia 和 Dib、Wra 和 Wrb 两对等位基因是最具有临床意义的抗原^[7]。在 Diego 血型系统中, Dia 抗原是相对低频抗原, Dib 抗原是相对高频抗原。有文献报道中国汉族 Dia 抗原频率约为 10% 且大多数人表型为 Di(a-b+)。Diego 血型抗体都是免疫产生, 属于 IgG 性质, 只能借助抗人球蛋白介质试验才能检出, 酶法和补体均不能增强反应; 一般抗-Dia 引起的输血反应多为迟发型和温和型。本案例在试验过程中发现, 抗-Dia 在聚凝胺介质中未见凝集, 抗人球蛋白介质中出现 2+ 凝集强度; 而抗-E 在聚凝胺介质中格局清晰。当血清中出现 Diego 血型抗体时, 往往会伴随 1 种或 2 种以上的抗体, 此时混合抗体使得红细胞破坏程度增加, 导致出现溶

血性输血反应临床症状。因此应根据抗体性质采用灵敏度和特异度相适宜的检测方法,对于两种及以上的混合抗体要结合吸收放散试验等方法鉴定清楚以确保结果准确、快速,最大限度避免输血反应,保障临床输血安全。不规则抗体阳性的患者一旦输注含有相应抗原的红细胞,抗原抗体在补体的参与下发生免疫反应,导致输注的红细胞溶解破坏,严重时甚至危及生命。因此输血前应尽可能了解患者输血史、妊娠史、用药史,及时发现有临床意义的抗体,以选择其抗原阴性的血液,保证输血安全有效^[8-10]。

(志谢:在此感谢上海市血液中心血型参比实验室老师们的远程指导!)

参考文献

[1] WU K H, CHU S L, CHANG J G, et al. Haemolytic disease of the newborn due to maternal irregular antibodies in the Chinese population in Taiwan[J]. Transfuse Med, 2003, 1(5): 311-314.

[2] 秦华, 程菲, 朱梅, 等. 拟输血患者不规则抗体筛查结果分析[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(6): 560-564.

[3] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版.

北京: 人民卫生出版社, 2015: 118-137.

[4] 李海云, 凌励. 自身免疫性溶血性贫血患者自身抗体合并抗-Mur、抗-E 分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2016, 29(4): 636-637.

[5] 杜海林. 抗-E 并合抗-Fya 抗体致疑难配血的试验和分析[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(10): 813-815.

[6] 江梦天, 任明, 何鸣镛, 等. 抗-Dia 抗体引起的新生儿溶血病 1 例[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2016, 29(4): 687-688.

[7] 张金菊, 李勇, 蒙青林. 人类红细胞血型 Diego(DI, 010) 研究进展[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(6): 670-673.

[8] 李楚, 张勇萍, 安宁, 等. Diego 血型系统不规则抗体血清学检测及其临床意义分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(12): 1122-1124.

[9] 许进明, 陈春如, 余悦, 等. 低频(IgM+IgG)抗-Mur 联合 IgG 抗-E 致疑难配血[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2019, 32(2): 92-95.

[10] 张艳, 方雪晶, 符瑶. 孕妇产前抗体筛查检出 IgM、IgG 抗-E 1 例[J]. 中国输血杂志, 2017, 14(7): 1045-1055.

(收稿日期: 2019-10-20 修回日期: 2020-02-26)

• 案例分析 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 10. 047

IgG 型抗-E 伴抗-Wr^a 1 例报道

段红洁, 赵国生, 张宏健, 黄海涛, 杜春红[△]
天津医科大学总医院输血科, 天津 300000

关键词: 抗-E; 抗-Wr^a; 抗体鉴定; 交叉配血
中图分类号: R457. 1 **文献标志码:** C

文章编号: 1672-9455(2020)10-1467-03

输血前不规则抗体筛查十分必要, 尤其是针对有输血史、妊娠史以及长期反复输血的患者, 本室遇到 1 例反复输血的患者, 抗体筛查阳性, 抗体鉴定为较少的抗-E 和抗-Wr^a, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者男, 81 岁, 汉族, 于 2018 年 11 月 14 日来本院急诊就诊, 诊断为消化道出血, 黑便, 血红蛋白(Hb) 70 g/L, 临床医生申请 2 U 的悬浮红细胞, 不规则抗体筛查阴性, 输注配血相合的悬浮红细胞 2 U, 11 月 16 日不规则抗体筛查阴性, 再次输入配血相合的悬浮红细胞 2 U, 症状缓解后出院。2019 年 5 月 18 日患者再次出现黑便, 来本院急诊输血, 不规则抗体筛查阳性, 抗体鉴定发现患者血清中存在 IgG 抗-E 合并 IgG 抗-Wr^a, 抗-E 和抗-Wr^a 的效价均为 4。

1.2 试剂与仪器 抗-C、抗-E、抗-c、抗-e 及抗-D 均由上海血液生物医药有限责任公司提供; 抗-A、抗-B、抗-IgG, C3d 及筛选细胞(批号: 20190413)均由长春

博德生物技术有限责任公司提供; 抗-Wr^a 及谱细胞(批号: 8000256154)由荷兰 Sanquin 公司提供; ABO/Rh 正反定型血型定型试剂卡、抗人球蛋白检测卡及 AUTOVUE 全自动血型分析仪由美国 Ortho-Clinical Diagnostics 公司提供; ID-Incubator37S I 孵育器、ID-Centrifuge12S II 离心机由美国 BioRad 公司提供。

1.3 方法

1.3.1 血型鉴定 ABO/Rh 血型鉴定参照 AUTOVUE 全自动血型分析仪说明书操作; C、c、E、e 和 Wr^a 抗原检测, 按照抗血清试剂说明书操作。

1.3.2 直接抗人球蛋白试验、不规则抗体筛查、抗体特异性鉴定及效价测定 等按参考文献[1]方法操作。

2 结果

2.1 血型鉴定 患者血型为 A 型、CCDee、Wr(a-)。

2.2 直接抗人球蛋白试验 抗-IgG, C3d 阴性。

2.3 不规则抗体筛查 抗人球蛋白法抗体筛查阳性时加做盐水法抗体筛查, 确定是否存在 IgM 类的不规则抗体, 结果见表 1。

[△] 通信作者, E-mail: 15822661978@163. com。