

Evan's 综合征患者输血前血清学试验结果分析与输血策略探讨*

陈漫标¹, 叶汉深^{1△}, 罗广平², 张晓敏² (1. 广东省医学科学院/广东省人民医院输血科 510080; 2. 广州血液中心临床输血研究所 510095)

【摘要】 目的 分析 Evan's 综合征患者输血前的血清学试验结果, 探讨该类患者的输血策略。**方法** 根据患者红细胞直接抗球蛋白分型试验结果, 选择热放散或氯喹放散法, 将放散后的红细胞进行 ABO 和 Rh 血型定型, 并与自身血清进行吸收试验。热放散液或吸收处理后的血清进行抗体筛选和鉴定试验。根据抗体鉴定结果选择合适的血液, 分别采用盐水法、聚凝胺法、LISS/Coomb's 凝胶卡法进行主侧交叉配血试验; 对比患者输血前后的血红蛋白, 以判定输血效果。**结果** 患者血型均得到正确定型; 检出抗-E 2 例、抗-S 1 例, 1 例抗体特异性未明确; 交叉配血结果相合, 输血效果理想。**结论** Evan's 综合征患者的血清学试验相对复杂, 应当综合分析; 要重视血液选择策略, 避免出现输血反应。

【关键词】 Evan's 综合征; 血清学试验; 输血

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 21. 004 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)21-2793-03

Study on pretransfusion testing and transfusion strategy in Evan's syndrome patients* CHEN Man-biao¹, YE Han-shen^{1△}, LUO Guang-ping², ZHANG Xiao-min² (1. Department of Transfusion Medicine, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangdong General Hospital, Guangzhou, Guangdong 510080, China; 2. Institute of Clinical Transfusion, Guangzhou Blood Center, Guangzhou, Guangdong 510095, China)

【Abstract】 Objective To analyze the Evan's syndrome patients' serum tests results, and discuss the strategy for transfusion. **Methods** Patients' RBC was dealt with heat elution or chloroquine elution according to the direct antiglobulin test results. The RBC was divided equally for two parts after elution test, one was used to test the ABO and Rh group, and the other was used to absorpt with autoserum. Irregular antibody was screened and identified with eluant or the serum after absorption test. Homotype blood was chosen for cross match blood test in saline, polybrene and LISS/Coomb's card. **Results** All patients' blood was tested correctly. Antibody-like E was identified in two cases, antibody S was identified in one case, and one patient's antibody specificity was not identified. Blood cross match blood test was negative. **Conclusion** Correct serum tests are complicated for Evan syndrome patient, and strategy for transfusion should be emphasized to avoid transfusion reaction.

【Key words】 Evan syndrome; serum test; transfusion

Evan's 综合征是指自身免疫性溶血性贫血(AIHA)的患者, 同时伴有血小板减少, 并引起紫癜等出血倾向的一种病症。在血液学方面的一个重要临床指征是会产生针对自身红细胞的温型抗体或温、冷共存的抗体而导致溶血和贫血, 并由此引发红细胞交叉配血困难和输血疗效不佳等问题。为对这一类患者的输血前检查和交叉配血进行研究探讨, 作者总结了本科 Evan's 综合征患者的配血情况, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 9 月至 2010 年 4 月本院诊断为 Evan's 综合征患者 4 例。其中男 1 例, 女 3 例, 年龄 28~84 岁。临床表现均有不同程度的贫血和溶血指征。输血前检查发现 3 例患者 Rh 血型无法正确分型, 3 例患者 ABO 血型正反定型不符, 所有患者与其初检正定型同型血液交叉配血均不相合。所有患者近 3 个月均无输血史。

1.2 仪器与试剂 单克隆抗-A、抗-B(长春博德生物技术公司), 反定型标准红细胞(本科自制), Rh 血型定型卡(长春博德生物技术公司), LISS/Coomb's 凝胶卡(瑞士 DiaMed 公司), 直接抗球蛋白试验分型卡(西班牙 Diagnostic Grifols 公司), 抗

体筛选细胞(瑞士 DiaMed 公司), 谱细胞(美国 Immucor 公司), 抗-E、抗-S(美国 Immucor 公司), KA-2200 台式离心机(日本久保田公司)。

1.3 血型血清学检测

1.3.1 ABO 和 Rh 血型鉴定 将患者红细胞进行放散处理, 取放散后的红细胞, 用生理盐水洗涤 4 遍后, 配成 3% 的红细胞悬液, 再行 ABO 正定型和 Rh 血型检测, 并与放散前的结果比较。

1.3.2 直接抗球蛋白 IgG 和 C3d 分型试验 按试剂说明书进行操作。

1.3.3 放散试验 按文献[1-2]方法和试剂说明书进行操作。对于直接抗球蛋白试验中 IgG 和 C3d 分型均阳性者或单纯 C3d 阳性者, 采用轻度热放散法: 患者红细胞用生理盐水洗涤 3 次后, 去末次上清, 加入与压积红细胞等量的生理盐水, 放入恒温振荡水浴箱中, 45 ℃热放散 15 min 后, 离心去上清, 备用; 单纯的 IgG 阳性者, 采用氯喹放散法[3]。

1.3.4 吸收试验 放散后的细胞洗涤 3 次后, 取一定量的压积红细胞, 加入等体积的 1% 木瓜酶, 37 ℃孵育 30 min, 离心去

上清,洗涤 3 次制成压积红细胞,加入 1.5 倍体积的患者血清混匀,37 ℃ 孵育 1 h,离心分离血清。收集吸收后血清,37 ℃ 条件下用抗球蛋白方法检测与放散后的自身细胞凝集强度,判断自身抗体吸收效果。

1.3.5 抗体筛选及鉴定试验 用抗体筛选细胞和谱细胞对吸收自身抗体后的患者血清进行抗体筛选和鉴定。如果血清或热放散液中检出特异性抗体,则使用单克隆抗体对其红细胞进行相应抗原检测。

1.4 交叉配血试验 取经过吸收试验处理后的患者血清,采用盐水介质法、聚凝胺法、LISS/Coomb's 凝胶卡法进行主侧交叉配血。每种方法均用吸收处理前的患者血清作平行对照试验。

1.5 输血效果评估 分别测定患者输血前、输血后第 2 天的血红蛋白(Hb)浓度和红细胞水平,并比较两者的数值,以评估该次输血的疗效。

2 结 果

2.1 患者 ABO 和 Rh 血型鉴定结果见表 1。

2.2 直接抗球蛋白分型试验、抗体筛选和鉴定结果。直接抗

球蛋白分型试验结果,1 号、2 号和 3 号标本为 IgG+C3 阳性,4 号标本为 IgG 阳性。吸收处理后的患者血清抗体筛选试验均为阳性,用谱细胞进行不规则抗体鉴定试验,1 号和 2 号标本检出抗-E,3 号标本检出抗-S,4 号标本没有出现典型谱细胞反应模式,无法确定其特异性。

2.3 不同放散方法处理红细胞,并与自身血清进行吸收试验后的交叉配血结果见表 2。

2.4 输血效果评估结果。患者输血前和输血后第 2 天所测 Hb 和红细胞数值见表 3。

表 1 放散前后患者的 ABO 和 Rh 血型鉴定

患者编号	放散前		放散后	
	ABO 血型	Rh 血型	ABO 血型	Rh 血型
1	AB	CcDEe	A	CCDee
2	AB	CcDEe	B	CcDEe
3	AB	CcDEe	O	CCDee
4	B	CcDEe	B	CCDee

表 2 放散吸收处理红细胞前、后的交叉配血结果

患者编号	未行放散和吸收试验			氯喹放散处理细胞		轻度热放散处理细胞	
	DAT [△]	IAT [◇]	配血 [*]	吸收后 IAT	吸收后配血 [*]	吸收后 IAT	吸收后配血 [*]
1	++++	++++	++++	NT	NT	+	+
2	++++	++++	++++	NT	NT	1+	W+
3	++++	+++	+++	NT	NT	±	-
4	++++	++	+++	—	—	NT	NT

注:△为直接抗球蛋白试验;◇为间接抗球蛋白试验;* 为凝胶卡配血试验;NT 指未进行试验;—表示阴性。

表 3 4 例患者临床输血效果观察

患者编号	输血量(U) [△]	输血前 Hb(g/L)	输血后 Hb(g/L)	输血前红细胞(×10 ¹² /L)	输血后白细胞(×10 ¹² /L)
1	4	34	51	0.29	0.31
2	2	52	69	1.76	2.48
3	4	38	50	0.52	1.00
4	4	70	86	1.80	2.28

注:所有患者均输注 RBC 悬液,△表示 RBC 悬液输注量。

3 讨 论

Evan's 综合征患者以女性多见,就诊时病程长短不一,患者均有不同程度的溶血性贫血,而导致溶血的抗体多为温抗体,少数为温、冷双重抗体共存型。温抗体型患者红细胞表面黏附的抗体为 IgG 型^[4]。包被抗体的红细胞在蛋白介质中(如 ABO 单克隆抗体)有时会发生非特异性凝集,造成 ABO 正向定型、Rh 血型抗原分型错误;患者血清中的冷抗体或温抗体与反定型细胞结合,又可造成反向定型错误^[5]。所以,近年来这种 AIHA 患者的输血前检测越来越得到重视^[6]。本研究 4 例患者中,3 例 ABO 正反定型不符,3 例 Rh 血型抗原分型错误,都与这些因素有关。因此,正确的血型定型方法应该是将患者细胞进行放散,去除吸附的抗体再行相关血型定型试验。对上述血型难定的患者采用热放散或氯喹放散处理其红细胞后,血型均得到正确判定。

AIHA 的发病率约为 1/25 000,成年人多于未成年人,女性多于男性,且多数为中老年人,70% 的患者发病年龄在 40 岁以上^[7]。有报道显示,在有温型自身抗体的患者中 20.4%~

38% 存在同种免疫^[8]。因此,鉴定有自身抗体的患者体内是否有同种抗体就显得非常重要。吸收试验是去除自身抗体、鉴定同种抗体的最好方法。直接抗球蛋白试验阳性的患者,其红细胞在体内就已经发生了吸收反应,红细胞上的抗原位点可能被封闭。因此,必须先从红细胞上放散出自身抗体,使其封闭的抗原位点得以暴露,在体外与自身血清在 37 ℃ 环境中进行吸收试验,以去除自身抗体。一旦自身抗体除去,就可检测吸收后血清中是否有同种抗体。为了增强细胞对抗体的吸收,可以用蛋白酶对细胞进行处理。本研究中 4 例患者血清经过上述处理后,3 例患者血清中的抗体得以鉴定,1 例患者的抗体未能明确鉴定,有两种可能:一种是低频抗体,而谱细胞的抗原谱没有囊括该抗原;另一种是该抗体为非特异性的自身抗体。

红细胞放散方法有很多种,包括热放散、乙醚放散、氯喹放散、WARM 试剂放散等^[9]。为了达到较好的放散效果,应当根据直接抗球蛋白分型试验的结果和各个放散方法的优缺点进行选择。氯喹可将红细胞上附着的 IgG 抗体解离,但不能将 C3d 解离,可能对 Rh 血型系统抗原的作用有所减弱。轻度热

放散对红细胞血型抗原的影响较小,但放散效果可能也要弱于氯喹。本研究中,根据直接抗球蛋白分型结果,1、2、3 号标本选择了轻度热放散法进行抗体放散,4 号则采用了氯喹放散法,并对进行了相应吸收试验后的血清配血效果做了比较。结果表明,采用合适的放散方法对直接抗球蛋白阳性的标本进行放散,尽可能地不破坏或较少破坏红细胞抗原,再用此细胞进行自身抗体吸收试验,这种操作流程对于判别 Evan's 综合征患者的抗体类别是可行的。交叉配血试验表明,在盐水介质和聚凝胺介质中,用上述两种方式处理后的血清配血效果没有差异,但用抗球蛋白凝胶卡配血时,氯喹法处理的血清要稍好于轻度热放散法,但差异不明显。

在交叉配血方面,针对不同类型的抗体在选择血液方面应有所区别对待^[10]。本研究中,鉴定出 2 例抗-E,1 例抗-S,均选择了与患者 Rh 5 个抗原同型的血液,检出抗-S 的患者则进一步选择 S 抗原阴性的血液配血;1 例未明确鉴定者,则选择了 Rh 5 个抗原、MNS、Kidd 同型的红细胞进行配血。4 名患者共输血 14 U,追踪结果表明该次输血效果良好,未出现输血反应。

值得注意的是,采用轻度热放散红细胞再行自身吸收试验时,吸收可能会不是很彻底,吸收后血清间接抗球蛋白试验还可能会出现弱阳性,本研究中也出现了这种情况(表 2)。虽然其对后续的试验影响不大,但在试实际操作中,建议做好对照试验,即用吸收前后的血清分别做间接抗球蛋白、交叉配血试验,并对比结果,以判别抗体鉴定是否正确、交叉配血是否合适。

综上所述,在对待 Evan's 综合征患者的输血前检查和交叉配血问题上,建议根据直接抗球蛋白试验结果选择放散方法,确保血型定型正确,患者血清要进行吸收处理,最好明确抗

体类型,为后续的交叉配血和安全输血做好保障。

参考文献

- [1] 丁苏鄂. 常用血清学技术[M]//刘达庄. 免疫血液学. 上海:上海科学技术出版社,2002:194-220.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 中国输血技术操作规程:血站部分[M]. 天津:天津科学技术出版社,1997:83-86.
- [3] Bercher M. Technical Manual[M]. 15th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks,2005:773-784.
- [4] 周晋,刘述川. 自身免疫性溶血性贫血的诊断和治疗[J]. 中国实用内科杂志,2012,32(5):331-334.
- [5] 晋红梅,杨泽. 自身免疫性溶血性贫血致血型鉴定困难 1 例[J]. 泰山医学院学报,2010,31(9):722-723.
- [6] 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.
- [7] Petz LD, Garratty G. Immune hemolytic anemias[M]. 2nd ed. New York:Churchill Livingstone,2004:61-63.
- [8] Mintz PD. Transfusion therapy:clinical principles and practice [M]. 3rd ed. Bethesda,MD: AABB Press,2011:62-63.
- [9] 王芳,毛伟,李小红. WARM 试剂在温性自身免疫性溶血性贫血中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(2):215-217.
- [10] 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):924-925.

(收稿日期:2013-03-07 修回日期:2013-08-15)

(上接第 2792 页)

调查头孢他啶、头孢吡肟的敏感率分别是 52.8%和 65.3%,对于此 2 种分别为三代和四代的头孢类药物是否可用以治疗 ESBLs 阳性菌株引起的感染,目前尚存争议。

ESBLs 的基因型种类较多,有 TEM 型、CTX-M 型、SHV 型、OXA 型等。由于不同国家和地区使用抗菌药物的种类和数量不同,ESBLs 流行的类型也不同,如意大利以 SHV 型、CTX-M 型为主,加拿大以 SHV 型多见,中国以 CTX-M 和 TEM 型为主。本研究设计了 3 对针对 TEM、CTX-M、SHV 型基因的特异引物,并对产 ESBLs 菌株的耐药基因进行了 PCR 扩增。通过检测发现,TEM、CTX-M 基因型为本院 ESBLs 阳性株主要基因型。但在 72 株阳性株中并没有发现 SHV 型。据李云慧等^[9]研究结果显示,在 54 株产 ESBLs 大肠埃希菌菌株中只检出 1 株该基因型,说明了该基因型的稀少。这与本研究的结果也是相符合的。

另外,结果显示近 50% 产 ESBLs 菌同时携带 2 种以上 ESBLs 基因型。其原因可能是质粒上有 2 种 ESBLs 的编码基因,同时产酶菌基因组合呈多样化。本次实验只检测到 TEM 和 CTX-M 两类 ESBLs 基因,未检测到 SHV 类 ESBLs 基因,没有对其他基因型如 OXA 等进行检测。药敏结果显示对 β -内酰胺类抗菌药物均有一定程度耐药,耐药率最低为头孢西丁 9.72%,对头孢吡肟耐药率为 34.7%,是否存在其他类型 β -内酰胺酶基因,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 李明友,黎永新,林茂锐,等. 591 例中段尿细菌培养结果

分析[J]. 海南医学,2007,18(8):131-136.

- [2] 姚毅,张岚,严仔敦,等. 尿路感染大肠埃希菌耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2012,9(14):1761-1762.
- [3] 王震,周丽萍,庄建伟,等. 大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌耐药基因分析[J]. 中国公共卫生,2008,24(7):818-820.
- [4] 林楨,夏少梅. 大肠埃希菌在尿路感染的分布及产 β 内酰胺酶的耐药分析[J]. 实用医学杂志,2010,26(1):127-129.
- [5] 彭萍. 超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌检测及耐药性分析[J]. 检验医学,2012,27(9):790-792.
- [6] 张永标,张扣兴,唐英春,等. 产质粒介导 AmpC 酶和 ESBLs 细菌的耐药性及 β -内酰胺酶基因研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2004,24(7):577-582.
- [7] 应春妹,陆丽,汪雅萍,等. 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌超广谱 β -内酰胺酶检测及其耐药基因分析[J]. 检验医学,2007,22(3):272-275.
- [8] 廖伟娇,林丽,江洁华,等. 产 ESBLs 与 AmpC 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的基因型分析[J]. 广东医学,2007,28(12):1932-1935.
- [9] 李云慧,翟如波,张昊,等. 产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌耐药性及基因型分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(15):1822-1825.

(收稿日期:2013-04-09 修回日期:2013-07-12)