

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.12.035

1 例补体介导的溶血性贫血鉴定分析*

邹 昕¹, 范小杰^{2△}1. 江苏省常州市中心血站输血研究室, 江苏常州 213004; 2. 江苏省常州市
第一人民医院检验科, 江苏常州 213004

关键词: 补体; 抗体筛查; 溶血性贫血

中图法分类号: R446.6

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2023)12-1818-03

自身免疫性溶血性贫血(AIHA)是指人类免疫功能紊乱产生抗自身红细胞的抗体,与红细胞表面的抗原相结合或激活补体使红细胞寿命缩短的一种获得性疾病。根据自身抗体不同,AIHA 的自身抗体可分为温抗体、冷抗体、温冷抗体混合 3 种类型^[1],其中温冷抗体混合型比较少见。补体是先天免疫的主要参与者之一。抗原抗体复合物可以通过经典途径激活补体形成膜攻击复合物导致红细胞直接裂解或被肝脾捕获参与溶血。现对 1 例补体介导的温冷自身抗体引起的 AIHA 鉴定过程报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,女,72 岁,2019 年 1 月因贫血而输注辐照洗涤红细胞 4 U,2022 年 2 月 5 日因反复黄疸伴茶色尿 6 年余,重度贫血入院,血红蛋白 56 g/L,网织红细胞百分率 1.8%,超敏 C 反应蛋白 97.85 mg/L,总胆红素 23.5 μ mol/L,直接胆红素 9.4 μ mol/L,乳酸脱氢酶 439 U/L,血糖 21.7 mol/L,此次交叉配血中发现 ABO 血型鉴定困难,直接抗球蛋白试验(DAT)阳性,遂送常州市中心血站输血研究室进行交叉配血。

1.2 仪器与试剂 抗-A/B 单克隆抗体(上海血液生物医药有限责任公司,批号:20191119);抗-D(IgM)单克隆抗体(上海血液生物医药有限责任公司,批号:20200301101);ABO 血型反定型红细胞(北京金豪制药股份有限公司,批号:20200701016);抗体筛选细胞(德国 CE 公司,批号:702101);谱细胞(德国 CE 公司,批号:732103;荷兰 Sanquin 公司,批号:8000453184);抗球蛋白凝胶卡(上海润普生物技术有限公司,批号:10210801;长春博迅生物技术有限公司,批号:202100307/20211103);酸放散试剂盒(上海申型医学科技有限公司,批号:20212101);2-巯基乙醇(2-Me,上海血液生物医药有限责任公司,批号:20217701)。

贝克曼高速离心机,久保田 KA-2200 血清学专用离心机;37 $^{\circ}$ C/56 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱;配套卡式离心机。

1.3 方法

1.3.1 血清学检测 采用试管法和微柱凝胶法检测患者 ABO 及 RhD 血型,以及进行 DAT、间接抗球蛋白试验(IAT);在不同的条件下进行不规则抗体筛查(血清在 56 $^{\circ}$ C 灭活、加入新鲜补体试验,2-Me 处理);应用谱细胞进行不规则抗体鉴定;采用等比稀释法进行抗体效价检测。所有试验严格按照第 18 版 AABB^[2]和《输血技术操作规程:输血科部分》^[3]操作规程进行操作。

1.3.2 吸收放散试验 患者自体细胞 45 $^{\circ}$ C 放散至 DAT 阴性,再做自身吸收放散试验。放散试验按照酸放散试剂说明书进行操作。

1.3.3 温度依赖性补体结合试验 采集 ABO 同型献血者不抗凝和 EDTA 抗凝血标本,以获得新鲜血清和红细胞。取洗涤过的红细胞 20 μ L(用生理盐水配成 50% 的细胞悬液)在 37 $^{\circ}$ C 和 22 $^{\circ}$ C 恒温下孵育 15 min,将患者和供体的血清或血浆预热至相同温度,平衡温度后,在预热的红细胞中加入 100 μ L 患者血清和 100 μ L 供体血清(含新鲜补体),相应温度下孵育 1、2、3、4、5、6、7、8 h 观察溶血情况^[4]。

2 结果

2.1 血型血清学检测 ABO 血型血清学鉴定结果:盐水介质立即离心(IS),正定型 A 抗原与抗-A 反应可达 4+,B 抗原与抗-B 反应达 1+,抗-D 反应 4+;反定型 IS 法均有凝集。温盐水洗涤患者红细胞 6 次后继续试验,ABO 正定型为 A 型;反定型在 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 min 后鉴定为 A 型。正反定型一致。

2.2 DAT 结果 直接试管法 DAT 试验结果多抗和抗-C3d 均为 4+,抗-IgG 为弱凝集。同时抗人球蛋白凝胶卡试验结果多抗为 4+,抗-IgG 为 2+。AB 型血

* 基金项目:江苏省英科创新科研基金课题(JS2020001);江苏省常州市卫健委青年人才项目(QN202133);江苏省常州市中心血站站级课题(xz202107)。

△ 通信作者,E-mail:120643256@qq.com。

浆对照阴性。

2.3 血清和血浆不同条件下抗体筛选结果 血清和血浆抗筛结果不一致,37 ℃恒温孵育 15 min 后凝集消失,2-Me 处理 IgM 冷抗体后抗筛结果仍为阳性。自身对照始终为阳性。具体结果如表 1。

血清在 56 ℃孵育 30 min 灭活后做抗筛试验,见表 2,盐水中抗筛结果全阳性,而 IAT 结果全为阴性。加入新鲜血清后,IAT 结果又复为阳性。抗体鉴定结果与抗筛结果一致,没有特异性。

表 1 血清血浆抗筛结果(凝胶卡法)

细胞	血浆原液			血清原液			血清 2-Me 处理		
	IS	IAT1	IAT2	IS	IAT1	IAT2	IS	IAT1	IAT2
I	2+	0	0	2+	4+	2+	0	1+	1+
II	2+	0	0	2+	4+	2+	0	1+	1+
III	2+	0	0	2+	4+	2+	0	1+	1+
自身	2+	2+	2+	2+	2+	2+	0	2+	1+

注:IAT1 表示 IgG+C3d 卡;IAT2 表示 IgG 卡;+表示凝集;0 表示阴性;抗筛细胞批号为 702101。

表 2 血清补体试验结果(试管法)

细胞	血清 56 ℃灭活		血清 56 ℃灭活后加入新鲜血清	
	IS	IAT	IS	IAT
I	2+	0	2+	2+
II	2+	0	2+	2+
III	2+	0	2+	2+
自身	2+	2+	2+	2+

注: +表示凝集; 0 表示阴性。

2.4 抗体效价及性质测定 原始血清用盐水法在 4 ℃时效价为 256;在 22 ℃时效价为 16。2-Me 处理血清用 IAT 法在 37 ℃时效价为 4。

2.5 自身吸收和放散试验 取 45 ℃放散成 DAT 为阴性的患者红细胞 0.5 mL 与自身血清在 4 ℃、37 ℃吸收 1 h,吸收后的血清抗筛结果为阴性,表明无其他特异性同种抗体。取未处理的 0.5 mL 患者压积红细胞进行酸放散试验,在酸放散液中进行抗体筛选,结果 IS 和 IAT 试验全阴性。

2.6 温度依赖性补体结合试验 温度依赖性补体结合试验结果 37 ℃组在试验开始 1 h 出现溶血现象,而 22 ℃组在 4 h 出现溶血,两组随着时间的延长溶血程度均有增加。

3 讨 论

临床上 AIHA 患者体内,自身抗体和同种抗体往往同时存在且呈泛反应现象,此类患者大多数 DAT 呈阳性^[5]。鉴别红细胞上的抗体非常重要,该类患者若进行不相容输血后,其自身抗体会对供者红细胞产生致敏反应,且在补体作用下极易发生溶血现象。

结合本例患者病史、临床表现和实验室检查依据,包括总胆红素、直接胆红素、乳酸脱氢酶等,均证明红细胞有溶血现象。本案例 DAT 试验证明以抗-C3d 阳性为主。高效价的冷抗体致使红细胞自凝,在温盐水洗涤以及 37 ℃孵育后检出患者血型为 A 型、RhD 阳性。该患者原始血清和血浆抗筛结果截然相反,这是由于 EDTA 抗凝剂能够结合 Ca²⁺ 离子,抑制了补体的激活途径,此抗体可能是具有广谱特异性的自身抗体^[6]。在实验室检测时把血清在 56 ℃灭活 30 min,IAT 结果为阴性,而增加新鲜血清即补体,IAT 结果又为阳性,这进一步证明补体介导抗体引起溶血^[7]。在原始血清中的 IAT(抗-IgG+抗-C3d、抗-IgG)均为阳性,与试管法结果一致。进一步尝试证明补体介导的是冷抗体或温抗体还是温冷混合自身抗体引起的溶血。用 2-Me 破坏 IgM 抗体后再进行抗筛,结果凝集强度下降,说明补体介导了温冷混合自身抗体引起溶血。该抗体在 4 ℃时效价高达 256,而 37 ℃时(IAT 法)效价为 4,证明本例患者主要以冷抗体为主^[8]。酸放散抗筛结果全为阴性,原因可能是 IgM/IgG 抗体量少,低于检测阈值而未检出或没有,只有补体致敏红细胞,今后可以考虑其他放散方法,如 56 ℃热放散等方法^[9]。用自身抗体进行冷吸收后发现吸收后的血清抗体筛查阴性,进一步排除有同种抗体存在,且该自身抗体既有冷抗体的特性又有温抗体的特性。AIHA 患者如何输注血液是关键。温度依赖性补体结合试验原理是在体外将患者血浆中的溶血相关抗体置于 37 ℃和 22 ℃充分致敏供者红细胞,加入补体使其吸附于抗原抗体上,通过补体的激活作用在红细胞膜上形成一个通道,使红细胞内的血红蛋白溢出,发生溶血现象^[10-13]。

本例患者温度依赖性补体结合试验在 37 ℃和 22 ℃配血均有溶血现象,说明患者体内存在能与输入红细胞特异性结合的抗体,并且有补体特异性,存在输入后产生血管内急性溶血性输血反应的因素,后来跟医院协商患者暂时不输血。此类患者只在血清中检出抗体,而临床上相当一部分医院只用 EDTA 抗凝管的血浆进行抗体筛查和交叉配血,容易漏检,输血风险很大。如必须输血的话尽量选择常规配血加溶血试验,降低溶血性输血反应及其他不良反应的发生。

参考文献

[1] 姚丽,王忱. 温自身抗体的相关输血对策[J]. 临床血液学杂志,2016,29(8):675-676.
[2] American Association of Blood Banks. Technical manual of the American association of blood banks[M]. 18th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2014:

- 396-399.
- [3] 汪德清,宫济武,李志强,等.输血技术操作规程:输血科部分[M].北京:人民卫生出版社,2016:113-114.
- [4] BARTOLMÄS T,YÜREK S,BALOLA A H,et al. Evidence suggesting complement activation and haemolysis at core temperature in patients with cold autoimmune haemolytic anaemia[J]. Transfus Med Hemother, 2015, 42(5):328-332.
- [5] 孙长杰,霍姿含,刘冰,等.补体 C3d 对抗人球蛋白交叉配血的影响及处理分析[J].临床血液学杂志,2017,30(8):582-586.
- [6] MORIMOTO S,SHINDO T,IGA Y,et al. Small B-cell neoplasm responding to ibrutinib after 17 years of cold agglutinin disease symptom[J]. Rinsho Ketsueki, 2021,62(12):1678-1683.
- [7] 范亮峰,陆琼,姜跃琴,等.人血液经 56℃ 孵育处理后溶血率及血型抗原抗体变化[J].临床输血与检验,2021,23(1):54-60.
- [8] 王睿,王清波,谢婷,等.补体系统 C1q/C3 介导的胶质细胞激活在小鼠抑郁样行为中的作用[J].中山大学学报(医学科学版),2021,42(3):328-337.
- [9] NGUYEN T N,MAENULEIN E,FIHMAN V,et al. Serologic characteristics of oxaliplatin antibodies in 15 patients with drug-induced immune hemolytic anemia[J]. Transfusion,2021,61(5):1609-1616.
- [10] 陈彬彬,李倩,洪雁,等.一例冷抗体型的严重溶血病例报告[J].中国输血杂志,2020,33(7):710-712.
- [11] 李芳瑜,刘晓辉,崔舜.补体系统对骨偶联作用机制的研究进展[J].华中科技大学学报(医学版),2022,51(1):120-123.
- [12] ISAKSSON G L,NIELSEN M B,HINRICHS G R,et al. Proteinuria is accompanied by intratubular complement activation and apical membrane deposition of C3dg and C5b-9 in kidney transplant recipients[J]. Am J Physiol Renal Physiol,2022,322(2):150-163.
- [13] 王晓丽.微柱凝集法与体外溶血不同配血方法在自身免疫性溶血性贫血患者中的应用价值分析[J].河南医学研究,2018,27(13):2415-2416.
- (收稿日期:2022-10-08 修回日期:2023-03-24)
- 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.12.036

北京诺卡菌肺部感染合并支气管扩张 1 例报道

郑焕东¹,李松²,向蓉^{1△}

1. 南方医科大学附属小榄医院检验科,广东中山 528415;2. 广东省中医院大学城医院检验科,广东广州 510006

关键词:诺卡菌感染; 北京诺卡菌; 鉴定; 治疗
中图分类号:R446.5 **文献标志码:**C

文章编号:1672-9455(2023)12-1820-03

诺卡菌是一种广泛分布于土壤和水源的需氧放线菌,属于条件致病菌,主要通过呼吸道吸入或者侵入皮肤、黏膜破损的伤口而感染人体^[1]。免疫功能缺陷或低下患者易感染诺卡菌,如长期应用免疫抑制剂治疗者、自身免疫性疾病患者、艾滋病患者、糖尿病患者及肿瘤患者等,也有国外文献报道称多达三分之一的诺卡菌病患者具有正常的免疫功能^[2]。目前有医学文献报道的北京诺卡菌感染的病例少见,笔者就 1 例北京诺卡菌肺部感染合并支气管扩张的病例报道如下。

1 病例资料

患者,女,52 岁,因“咳嗽、咳痰伴咯血 2 周”,于 2021 年 11 月 30 日收治于广东省中医院大学城医院呼吸科。入院时神志清楚,精神尚可,咳嗽、咳痰,暂无咯血,痰量多,色黄黏稠,味腥臭,易咳出,深呼吸时少许胸痛,无气促,无口干、口苦,无恶寒、发热,无鼻塞、流涕;既往有支气管扩张病史,否认冠心病、糖尿

病、肝炎、高血压、结核等病史。查体:体温 36.8℃,心率:103 次/分,呼吸 20 次/分,血压:90/67 mm Hg,双肺叩诊呈清音,双肺听诊呼吸音清,有湿性啰音。患者曾于 2019 年 7 月 24 日住院期间行胸部 CT 检查,示“双肺多发感染,左肺上叶下舌段及右肺中叶支气管扩张”,遂以“支气管扩张伴感染”收治入院。入院完善相关检查:血常规、凝血功能、肝功能、甲状腺功能均无明显异常,结核抗体检测阳性,结核 DNA 测定阴性,结核干扰素释放试验阴性。

2 病原学检查和治疗经过

2.1 病原学检查

2.1.1 涂片 2021 年 12 月 3 日采集患者深部痰标本送检,涂片后革兰染色镜检,可见革兰阳性杆菌,呈细长丝状,形似串珠,分枝样排列,见图 1。

2.1.2 痰培养 采用无菌拭子挑取患者深部痰标本的脓痰部位分别接种哥伦比亚血琼脂平板、嗜血杆菌巧克力琼脂平板和麦康凯琼脂平板,对标本分区划线

△ 通信作者,E-mail: dong161016@163.com。