

# 直接抗人球蛋白试验阳性病人 ABO、Rh 疑难血型鉴定和交叉配血试验 74 例分析

陆乐,吴玲玲,姚晓娟,陈杰,李平

(南京鼓楼医院输血科,江苏南京 210008)

**摘要:**目的 总结直接抗人球蛋白试验(直接 Coombs 试验)阳性病人的 ABO、Rh 疑难血型鉴定和交叉配血试验的经验。方法 选择 74 例确诊为原发性和继发性自身免疫性溶血性贫血(AIHA)且红细胞直接 Coombs 试验阳性病人,进行聚凝胺法交叉配血、抗冷体的吸收试验、磷酸氯喹放散试验以及自身抗体吸收试验,用吸收后的血清进行抗体特异性的鉴定。结果 59 例病人出现 ABO 血型正反定型不一致,经磷酸氯喹放散试验和自身抗体吸收试验后正确定型;61 例病人出现交叉配血不合,经磷酸氯喹放散试验和自身抗体吸收试验后,50 例病人配血相合。结论 运用磷酸氯喹放散试验、冷抗体吸收试验、自身抗体吸收试验,可明显提高病人血型鉴定准确率以及配血的相合率,确保病人安全输血。

**关键词:**抗球蛋白试验;阳性;血型鉴定;交叉配血;磷酸氯喹;自身抗体

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.02.022

## ABO and Rh difficult blood group examination and cross match blood test in 74 patients positive in direct Coombs test

LU Le, WU Lingling, YAO Xiaojuan, CHEN Jie, LI Ping

(Blood Bank, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

**Abstract: Objective** To summarize the experience in ABO and Rh difficult blood group examination and cross match blood test in 74 patients positive in direct Coombs test. **Methods** Totally 74 patients who were definitely diagnosed with primary or secondary AIHA and were positive in RBC direct Coombs test were chosen for the cross matching by polybrene method, cold antibody absorption test, chloroquine phosphate elution test, and autoantibody absorption test. Antibody specificity was identified using postabsorptive serum. **Results** ABO blood group typing inconsistency was present in 59 patients. The blood groups were correctly typed after chloroquine phosphate elution test and autoantibody absorption test. Cross matching incompatibility was present in 61 patients and bloods were compatibly matched in 50 patients after chloroquine phosphate elution test and autoantibody absorption test. **Conclusion** Chloroquine phosphate elution test, cold antibody absorption test and autoantibody absorption test can significantly elevate the accuracy of blood group examination and compatibility of blood matching to ensure the safety of blood transfusion.

**Key words:** Coombs test; Positive; Blood group examination; Cross matching; Chloroquine phosphate; Autoantibody

抗球蛋白试验(Coombs)主要应用于一些溶血性疾病,如自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、新生儿溶血病、药物诱导以及淋巴瘤等的检测中,帮助确定贫血病人是否有免疫基础<sup>[1]</sup>。Coombs 阳性病人的血清可检测到含有自身抗体,在病人需要进行输血时,由于自身红细胞具有致敏特性或被吸附,从而导致血型鉴定发生错误,出现正反定型不一致,出现交叉配血主侧或次侧凝集<sup>[2]</sup>。由于目前在二甲以下的基层医院较少采用 Coombs 试验进行溶血性疾病病人自身免疫的检测,故容易导致 AIHI 以及新生儿溶血病出现漏诊和误诊,使病人错过最佳

治疗期<sup>[3,4]</sup>。本研究为探讨直接 Coombs 试验阳性病人的 ABO、Rh 疑难血型鉴定和交叉配血出现正反不一致时的应对措施,回顾性分析原发性和继发性 AIHA 的病人输血资料,对直接 Coombs 阳性病人的血型及配血试验结果及应对措施进行总结和分析,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 3 月—2014 年 7 月南京鼓楼医院输血科 74 例确诊为 AIHA 且红细胞直接 Coombs 试验呈阳性病人,其中男性 28 例,女性 46 例,发病年龄 13~79 岁,中位年龄(48.2±8.3)岁。74 例 AIHA 病人中,包括原发性 AIHA 病人 32 例,继发性 AIHA 病人 42 例,其中继发性 AIHA 病人中,新生儿溶血 4 例、淋巴瘤 6 例、骨髓

纤维化8例、慢性淋巴细胞白血病7例、系统性红斑狼疮(SLE)8例、恶性肿瘤9例。

### 1.2 检测方法

**1.2.1 Coombs 试验** 含 DAT(直接 Coombs) 以及 IAT(间接 Coombs) 试验。DAT(直接 Coombs) 是检查红细胞上是否致敏有 IgG 抗体或补体; IAT(间接 Coombs) 是检测血清中是否存在免疫球蛋白 G (IgG) 抗体。本试验中采用的是 DAT: 取研究对象红细胞 1 滴进行 3 次洗涤, 配制成浓度为 6% 的红细胞悬液滴入试管, 将 1 滴浓度为 4% 的 O 型红细胞以及 2 滴该研究对象的血清滴入试管, 充分摇匀后进行离心操作, 观察试管液体是否出现溶血以及凝集现象, 在恒温 37 °C 下进行 30 min 的孵育, 再次进行离心操作, 以生理盐水进行 3 次洗涤, 滴加 IgG 和抗人球蛋白试剂(抗 C3d) 各 2 滴, 充分摇匀后观察试管液体的变化(上述试剂均由上海血液生物医药有限公司生产, 孵育箱、离心机等由长春博讯生物技术有限公司生产)。

**1.2.2 聚凝胺法交叉配血** 加入 1 滴受血者血浆进主侧管, 滴加 1 滴 4% 供血者红细胞悬液; 加入 1 滴供血者红细胞悬液, 滴加 1 滴受血者血浆。所有试管均滴入低离子溶液(LIM) 0.65 mL, 主要成分及含量为 5% 葡萄糖, 0.2% EDTA(2Na), 充分摇匀后在常温下放置 30 s, 再滴加 2 滴凝聚胺(珠海贝索生物技术有限公司生产) 试剂, 取 2 200 g 进行 15 s 离心操作, 轻摇试管出现明显凝集现象, 给所有试管加入 1 滴假凝集稀释液使试管发生非特异性凝集现象, 若凝集在 1 min 后仍存在, 则为阳性, 若 1 min 后消失则为阴性。

**1.2.3 抗冷体的吸收试验** 将被检者的红细胞进行 10 min 的育温操作, 以温度为 37 °C、剂量为 3.5 mL 的生理盐水进行 3 次洗涤, 然后以每管 1 mL 的量分装于 3 个试管中, 取其中 1 管滴加 1 mL 血清, 置于 4 °C 下使其吸收约 1 h, 取 1 000 g 进行 2 min 离心操作; 另取 1 试管滴入剂量为 100 μL 的吸收后

的血清以及剂量为 50 μL 的 4% 自身红细胞悬液, 取 1 000 g 进行 15 s 的离心操作, 观察试管是否发生凝集现象并做好记录。若发生凝集现象, 则可采用另外两支分装试管重复进行吸收试验至最后无凝集现象发生为止, 此时自身抗体已被完全吸收。

**1.2.4 磷酸氯喹放散试验** 取被检者红细胞进行 3 次生理盐水洗涤, 取 0.3 mL 压积红细胞与 0.7 mL 的 20% 磷酸氯喹溶液加入试管中进行充分混淆摇匀, 在正常室温下进行 30 min 的孵育, 取 50 μL 上述处理后的红细胞再次使用生理盐水洗涤 4 次, 配制成 4% 的红细胞悬液进行 DAT 试验。若显示阳性, 则表明未完全解离红细胞上的自身抗体; 若显示阴性, 则表明已完全解离红细胞上的自身抗体, 需进行再次洗涤经磷酸氯喹溶液处理后的红细胞。

**1.2.5 自身抗体吸收试验** 滴入等量的病人血清至磷酸氯喹处理后的红细胞中, 在恒温 37 °C 下进行 2 h 的吸收, 然后进行离心操作, 取上清液进行反定型或 IAT 试验。

## 2 结果

**2.1 血型血清学试验结果** 74 例直接 Coombs 试验阳性的 AIHA 病人中, 有 49 例病人为 IAT 阳性, 25 例病人为 IAT 阴性。全部研究对象的红细胞和血清血型鉴定结果中, 有 59 例研究对象出现 ABO 血型正反定型不一致, 46 例研究对象发生自身红细胞、血清凝集现象, 表明病人血液红细胞中存在自身抗体, 需进行进一步的血型鉴定。先进行抗冷体的吸收试验确定是否受冷凝集影响, 再进行磷酸氯喹放散试验, 结果如表 1 所示; 74 例直接 Coombs 试验阳性的 AIHA 病人中有 34 例血清中可检测到同种抗体, 不规则抗体阳性检出率为 45.95%, 符合相关研究的结论。

**2.2 疑难交叉配血处理** 74 例直接 Coombs 试验阳性病人的交叉配血实验结果中显示, 61 例病人出现配血不合情况。根据病人的不同情况给予有针对性的处理措施: (1) 31 例病人交叉配血结果显示

表 1 59 例病人 ABO 正反定型及 Rh(D) 血型鉴定

氯喹放散前正定			未吸收血清反定型				氯喹放散后正定			吸收后血清反定型				确定血型	例数
抗-A	抗-B	抗-D	Ac	Bc	Oc	对照	抗-A	抗-B	抗-D	Ac	Bc	Oc	对照		
4+	4+	3+	2+	1+	-	-	3+	3+	3+	-	-	-	-	AB Rh 阳性	4
4+	2+	4+	-	4+	-	-	3+	-	3+	-	3+	-	-	A Rh 阳性	10
2+	4+	4+	4+	2+	1+	3+	-	3+	4+	3+	-	-	-	B Rh 阳性	11
2+	2+	3+	3+	3+	1+	2+	-	-	3+	2+	2+	-	-	O Rh 阳性	13
3+	4+	4+	1+	1+	1+	1+	3+	3+	3+	-	-	-	-	AB Rh 阳性	8
3+	-	3+	3+	2+	2+	1+	3+	-	3+	-	-	-	-	A Rh 阳性	8
2+	4+	3+	4+	2+	1+	2+	-	3+	-	3+	3+	-	-	B Rh 阳性	5

主、次侧均呈阳性反应,处理措施为将病人自身的红细胞以温度为 37 ℃、剂量为 3.5 mL 的生理盐水进行 3 次洗涤后,进行抗冷体的吸收试验以解离病人自身的抗体,然后进行不规则抗体筛查以及主侧配血操作,将经磷酸氯喹放散试验处理过的红细胞与供血者的血浆进行次侧交叉配血。(2)19 例病人交叉配血结果显示主侧、次侧分别呈阳性、阴性反应,表明病人血清中存在相同的自身抗体,处理措施为用经磷酸氯喹放散试验处理过的红细胞对病人血清中的自身抗体进行吸收,将经吸收抗体处理后的血清用于交叉配血试验中。(3)11 例病人交叉配血结果显示主侧、次侧分别呈阴性、阳性反应,表明病人红细胞中存在自身抗体从而被吸附或发生致敏反应,处理措施为用经热放散或磷酸氯喹放散处理后的红细胞进行次侧配血试验。(4)61 例配血不合的病人中,受冷抗体影响导致不合的病人有 23 例,有 12 例病人的冷凝集素效价超过 1:1 024,有 26 例病人的冷凝集素效价为 1:247,用温盐水将病人红细胞进行洗涤后,用相同剂量的病人自身血清在恒温 4 ℃ 下进行约 50 min 的吸收试验后,测得病人冷凝集素效价低于 1:40,将病人血清进行吸收冷抗体试验,然后在正常室温下进行抗冷体的吸收、磷酸氯喹放散试验,未发生凝集情况。61 例配血不合的病人经抗冷体的吸收、磷酸氯喹放散试验以及同种自身抗体的检测试验后,结果显示有 50 例病人交叉配血相合,配血相合率高达 81.97%,11 例病人出现交叉配血不合情况,配血不合率为 18.03%。

### 3 讨论

Coombs 试验中呈现阳性反应病人的体内会存在自身抗体,从而导致自身红细胞发生致敏反应,可吸附红细胞形成抗红细胞抗体<sup>[5]</sup>。由于自身抗体具有凝集病人自身及他人的红细胞,从而会影响 ABO 以及 Rh 疑难血型的鉴定结果。多次进行输血的病人会同种抗体,而病人血清中的自身抗体、冷凝集素以及血浆蛋白紊乱等因素也会导致反定型困难<sup>[6-8]</sup>。本研究中 74 例 Coombs 试验中呈阳性反应的病人中,59 例的红细胞经磷酸氯喹处理后,其致敏 IgG 抗体完全解离,且红细胞的完整性及抗原的活性得到比较良好的保持。

病人自身抗体包括冷抗体和温抗体。冷抗体是较为常见的、效价较低的自身抗体,多存在于人体血清中,冷抗体多表现为免疫球蛋白 M(IgM)型<sup>[9]</sup>。但当病人发生支原体感染、浆细胞性白血病或冷凝集综合征,其血清中的自身冷抗体的效价就会表现的异常高,而常温下病人的自身冷抗体也可通过与自身红细

胞发生反应,从而干扰血型鉴定的结果,加大了交叉配血的难度<sup>[10-12]</sup>。临床病例和血型血清分析结果中若发生病人正反定型和自身对照均见凝集现象的情况时,需首先检验该结果是否受冷凝集素的影响。以温度为 37 ℃ 的生理盐水对病人红细胞洗涤 3 次,冷凝集效价表现较高可加入 2 巯基乙醇,使红细胞膜上的 IgM 抗体得到充分解离,再加入自身血清进行充分摇匀,在恒温 4 ℃ 下进行冷抗体的反复吸收,至无出现凝集现象为止。

受 IgG 作用,AIHA 病人红细胞中的温抗体会出现强致敏反应<sup>[13]</sup>。当病人自身温抗体呈现 Rh 等相关特异性,则可掩盖同种抗体的存在,所以病人在进行输血前必须先进行交叉配血试验,可用磷酸氯喹对病人的红细胞进行放散试验,待病人红细胞直接 Coombs 试验显示阴性时,用该红细胞反复吸收病人血清中的自身抗体,再用经完全吸收自身抗体后的血清与谱细胞进行反应,结果有 34 例病人为 Rh 血型抗体。Rh 血型抗体是一种最常见的可导致出现免疫性溶血性输血反应的不规则血型免疫性抗体,可吸附于红细胞表面或使其发生致敏反应<sup>[14]</sup>。本研究 74 例直接 Coombs 试验阳性病人中,有 25 例病人为 IAT 阴性,由于病人血清中的抗体滴度十分低,无法进行自身抗体特异性的血清鉴定,故取病人红细胞进行乙醚放散试验处理后再进行正定型,用经磷酸氯喹放散试验处理后的红细胞进行相关抗体特异性的鉴定。有研究显示<sup>[15]</sup>,乙醚放散液则可用于鉴定抗体的特异性,帮助判断是否出现自身抗体掩盖同种抗体以及是否有血型特异性的情况,大大提高了血型鉴定的准确性。40 例病人进行 Rh 表现检测中,有 32 例病人的 Rh 表型检测结果显示在磷酸氯喹放散试验出现前后不一致的情况,是因为 Coombs 阳性病人的红细胞已被自身抗体致敏,在进行 Rh 抗 D 血清反应后,会与抗球蛋白抗体发生凝集反应,故所有类型的 Rh 表型均会被误判为 CcDEe,只有经磷酸氯喹放散试验处理掉自身抗体后的红细胞,才能用于进行准确 Rh 表型的鉴定试验中。

综上所述,运用磷酸氯喹放散试验、冷抗体吸收试验、自身抗体吸收试验等方法,可有效提高 DAT 阳性病人疑难血型的鉴定准确率和交叉配血的相合率,确保病人输血安全。

### 参考文献

- [1] 刘永霞.抗 Dia 合并抗 E 抗体致交叉配血不合的临床分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(3):369-370.

# 血清促甲状腺激素的高低对胆管结石复发的临床意义

陈峰, 蔡莹

(黄冈市中心医院普外科, 湖北 黄冈 438000)

**摘要:**目的 考察血清促甲状腺激素(TSH)水平对胆管结石复发的影响。方法 选取胆管结石病人 301 例,其中 177 例病人按 TSH 水平分为低 TSH 组 53 例,中 TSH 组 55 例,高 TSH 组 69 例。另 124 例病人给予左甲状腺钠片治疗,依据治疗 3 个月后 TSH 是否恢复正常,分为控制组和非控制组,记录病人 6、12 和 24 个月的胆管结石复发率。结果 高、中、低 TSH 组在 6、12 和 24 个月的复发率差异无统计学意义( $P > 0.05$ );复发组 T3 和未复发组差异有统计学意义( $P < 0.05$ );控制组 6、12 和 24 月胆管结石复发率和非控制组差异有统计学意义( $P < 0.05$ );非控制组 T3 和控制组差异有统计学意义( $P < 0.05$ );非控制组 TSH 和控制组差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 TSH 水平提高可能会导致胆管结石的复发率上升。

**关键词:**血清促甲状腺激素;胆管结石;复发;甲状腺

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.02.023

## Clinical significance of serum level of thyroid stimulating hormone in the recurrence of bile duct stones

CHEN Feng, CAI Ying

(Department of Surgery, Huanggang Central Hospital, Huanggang, Hubei 438000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of serum thyroid stimulating hormone (TSH) on the thyroid of bile duct stones.

**Methods** Selected 301 cases of bile duct stones patients and 177 cases were divided into low TSH group (53 cases), medium TSH group (55 cases) and high TSH group (69 cases) according to the level of TSH. 124 cases of patients received left thyroid sodium tablets treatment. According to the results of treatment, patients were divided into control group and out of control group, recorded 6 months, 12 months and 24 months recurrence rate of hepatolithiasis. **Results** There was no significant difference in recurrence rate between 6, 12 and 24 months in higher, middle and lower TSH group ( $P > 0.05$ ); There was a significant difference between T3 and no

- [2] WOŁOWIEC M, ADAMOWICZ-SALACH A, GOŁĘBIOWSKA-STAROSZCZYK S, et al. Autoimmune hemolytic anemia in children during 2004—2014 in the Department of Pediatrics, Hematology and Oncology, Warsaw Medical University [J]. *Polish Annals of Medicine*, 2015, 22(2): 119-123.
- [3] 佟静, 王忠利, 宫爱华, 等. 模拟电子交叉配血的临床分析 [J]. *医学与哲学*, 2015, 36(16): 30-31.
- [4] 吴学忠, 吕蓉, 李敏, 等. 临床用血前交叉配血不合 104 例原因分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(17): 2263-2264.
- [5] SESHAM R, LEWIN E, ENCHILL B, et al. G490 (P) Coombs positive autoimmune haemolytic anaemia complicating post streptococcal glomerulonephritis (a very rare occurrence) [J]. *Archives of Disease in Childhood*, 2015, 100(3): A209 - A210.
- [6] HASHIMOTO A, FUJIMI A, KANISAWA Y, et al. Successful rituximab treatment for acquired megakaryocytic thrombocytopenic purpura complicated with Coombs-negative autoimmune hemolytic anemia [J]. *Rinsho Ketsueki*, 2013, 54(6): 568-573.
- [7] 刘素芳, 张焯, 张磊, 等. 静脉输注两种球蛋白后对交叉配血的影响 [J]. *北京医学*, 2015, 37(11): 1114-1116.
- [8] OKAZAKI M, HIGUCHI T, KOYAMADA R, et al. Coombs-Negative Autoimmune Hemolytic Anemia Associated With Liver Cirrhosis Due to Hepatitis C Virus [J]. *Journal of Hematology*, 2015, 4(2): 171-173.
- [9] 张勇萍, 杨世明, 穆士杰, 等. 部分血液系统疾病对血型血清学检测的影响及鉴定结果分析 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(1): 100-102.
- [10] SANGANI R, STAMM J. Pulmonary Infiltrates With Eosinophilia (PIE) Complicated by Autoimmune Hemolytic Anemia (AIHA) [J]. *Chest*, 2013, 144(4): 973A-973B.
- [11] LEGA S, MASCHIO M, TADDIO A, et al. Giant cell hepatitis with Coombs-positive haemolytic anaemia: steroid sparing with high-dose intravenous immunoglobulin and cyclosporine [J]. *Acta Paediatrica*, 2012, 102(3): e137-e139.
- [12] 李建刚, 赵家宁, 徐华, 等. 直接抗人球蛋白试验阳性患者交叉配血方法探讨 [J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(4): 130-132.
- [13] 张磊, 张焯, 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.
- [14] BASS GF, TUSCANO ET, TUSCANO JM. Diagnosis and classification of autoimmune hemolytic anemia [J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(4/5): 560-564.
- [15] ASHRAF T, JIANG W, HOQUE MT, et al. Role of anti-inflammatory compounds in human immunodeficiency virus-1 glycoprotein 120-mediated brain inflammation [J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 91.

(收稿日期: 2016-01-28, 修回日期: 2016-03-28)