

- [6] YANG S H, HE G D, LI X Y, et al. Prenatal diagnosis of type A fetal interrupted aortic arch by four-dimensional echocardiography with HD-flow STIC: A case report [J]. J Clin Ultrasound, 2022, 50 (2): 198-200.
- [7] 杏玲芝, 冯淑娴, 赵振普. 四维彩超标准化超声在西北地区孕中期胎儿结构畸形筛查中的应用研究分析 [J]. 西北国防医学杂志, 2019, 40 (5): 286-289.
- [8] 刘江华, 肖玲佳, 费敬英. 四维彩超与系统 B 超在胎儿先天性畸形筛查中的应用效果 [J]. 重庆医学, 2022, 51 (S01): 123-124.
- [9] YEO L, LUEWAN S, MARKUSH D, et al. Prenatal Diagnosis of Dextrocardia with Complex Congenital Heart Disease Using Fetal Intelligent Navigation Echocardiography (FINE) and a Literature Review [J]. Fetal Diagn Ther, 2018, 43 (4): 304-316.
- [10] 陈美毅, 赵云霞, 李渊渊, 等. 实时动态四维彩超联合母体血清叶酸和维生素 B12 水平检测在孕中期胎儿中枢神经系统畸形的诊断价值 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2020, 28 (10): 1241-1243, 1268.
- [11] 韩玉娜, 谢靖红, 王冬梅. 二维超声联合四维超声诊断在胎儿颜面部畸形排查中的诊断价值 [J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20 (16): 1782-1786.
- [12] CARDINAL M P, GAGNON M H, TÊTU C, et al. Incremental Detection of Severe Congenital Heart Disease by Fetal Echocardiography Following a Normal Second Trimester Ultrasound Scan in Québec, Canada [J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2022, 15 (4): e013796.
- [13] 徐改春. 二维超声联合四维超声对产科孕胎儿畸形筛查的意义 [J]. 中国药物与临床, 2021, 21 (3): 391-392.
- [14] 赵丽莎, 张西愿, 金鑫, 等. 四维超声联合二维超声在孕中期胎儿畸形筛查中的应用价值研究 [J]. 中国医学装备, 2020, 17 (12): 81-83.
- [15] YAN C, SHENTU W, GU C, et al. Prenatal Diagnosis of Fetal Oral Masses by Ultrasound Combined With Magnetic Resonance Imaging [J]. J Ultrasound Med, 2022, 41 (3): 597-604.

[文章编号] 1007-0893(2023)20-0062-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2023.20.019

DAT 阳性患者血型血清学特征、交叉配血试验结果研究

周召瑜 欧阳丽娟 钟雪梅

(龙南市第一人民医院, 江西 龙南 341700)

[摘要] 目的: 分析直接抗人球蛋白试验 (DAT) 阳性患者的血型血清学特征及交叉配血试验结果。方法: 选取龙南市第一人民医院 2020 年 1 月至 2023 年 6 月收治的 DAT 阳性患者 84 例, 抽取患者血液标本于输血科进行抗体筛查、血型鉴定、交叉配血试验, 分析 DAT 阳性患者的血型血清学特征及试验结果。结果: 84 例 DAT 阳性患者中, DAT 凝集强度为弱凝集 (W+) 者 26 例 (30.95%), + 者 25 例 (29.76%), ++ 者 31 例 (36.90%), +++ 者 2 例 (2.38%); 抗体类型为免疫球蛋白 (Ig) G 者 24 例 (34.52%), 补体 C3 者 16 例 (19.05%), IgG 型+补体 C3 型者 44 例 (52.38%); 不规则抗体筛查显示, 阳性 69 例, 阴性 15 例。血型鉴定结果中, 66 例 ABO 型正反定型不一致, 其中 AB 型血 Rh 阳性 13 例 (19.70%), A 型血 Rh 阳性 20 例 (30.30%), B 型血 Rh 阳性 18 例 (27.27%), O 型血 Rh 阳性 15 例 (22.73%)。交叉配血试验中, 配血不合 69 例 (82.14%), 其中显示主、次侧均呈阳性反应 35 例 (50.72%); 显示主侧呈阳性, 次侧呈阴性反应 21 例 (30.43%); 显示主侧呈阴性、次侧呈阳性反应 13 例 (18.84%)。对于配血不合的患者标本给予针对性处理后, 69 例配血不合的 DAT 阳性患者, 56 例 (81.16%) 交叉配血相合, 13 例 (18.84%) 交叉配血不合。结论: DAT 阳性患者抗体类型以 IgG 型+补体 C3 型为主, 不规则抗体筛查阳性率高, 血型鉴定正反定型不一致比例较高。通过对交叉配血不合情况进行针对性处理, 有利于 DAT 阳性患者血型鉴定, 提高交叉配血相合率, 以提高输血的安全性。

[关键词] 直接抗人球蛋白试验; 血型血清学特征; 交叉配血试验

[中图分类号] R 556.6 **[文献标识码]** B

[收稿日期] 2023-07-29

[作者简介] 周召瑜, 男, 主管技师, 主要从事输血科方面工作。

直接抗人球蛋白试验 (direct antiglobulin test, DAT) 是临床用于检测红细胞膜包被不完全抗体及补体的方法,同时也用于血型血清学试验^[1]。当不完全抗体与抗人球蛋白相结合而引起的红细胞凝集,即为 DAT 阳性。有研究指出, DAT 阳性是引起患者输血前血型鉴定不确定及交叉配血不合的主要原因,而且在患者的血清中可以发现到自身抗体;如果患者在输血时,自身红细胞被吸收,或者具有致敏特征,就会引起血型鉴定的异常,从而产生正反定性的不符,促进交叉配血的凝集,这也是导致交叉配血不合的主要原因^[2]。DAT 阳性患者配血复杂,对部分重度贫血患者而言,其血清自身抗体水平高,加上部分患者有近期输血史,临床配血更加困难^[3]。因此,建立有效的 DAT 检测及抗体鉴定体系,明确 DAT 阳性患者血型血清学特征,提高交叉配血相合率,才能提高输血的安全性。基于此,本研究分析了 DAT 阳性患者血型血清学特征及交叉配血试验结果,具体内容报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择龙南市第一人民医院 2020 年 1 月至 2023 年 6 月收治的 DAT 阳性患者 84 例,其中男性 34 例,女性 50 例,年龄 15~76 岁,平均(54.6±15.7)岁,其中有输血史 45 例,女性中有妊娠史 29 例,有输血史及妊娠史者 17 例。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 (1) 输血前 DAT 筛查阳性;(2) 输血前均完成血型不规则抗体试验;(3) 有明确自身对照及抗体鉴定、配血试验记录。

1.2.2 排除标准 (1) DAT 试验阴性者;(2) 临床资料缺失;(3) 未明确疾病诊断者。

1.3 主要仪器与试剂

TD-2Y 型台式血型血清离心机(中山市生科试剂仪器有限公司), WADiana 交叉配血测试系统(西班牙 WADiana 公司), 强生全自动血型测试系统(美国强生公司); 质控血球、血清、抗人球蛋白试剂(上海血液生物技术有限公司), 抗 A、抗 B、抗 D、抗 C、抗 c、抗 E、抗 e、广谱抗人球蛋白血清、抗人免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) G 血清、抗补体 C3 血清、抗体筛选细胞、抗体特异性鉴定谱细胞(上海血液中心), 抗人球蛋白检测卡(中山市生科试剂仪器有限公司), 微柱凝胶卡及配套试剂(中山市生科试剂仪器有限公司), 凝聚胺试剂盒(珠海 BaSO 公司)。

1.4 方法

1.4.1 DAT 试验 取患者外周静脉血 6 mL, 抗凝, 分离红细胞、血清, 自行制备三洗红细胞悬液, 待用。准备抗人球蛋白反应卡, 取待用红细胞悬液 50 μL 加入

反应卡微柱管中, 配套离心机以 3400 r·min⁻¹ 转速离心, 离心半径为 10 cm, 离心 10 min, 观察结果。DAT 阳性指红细胞滞留于凝胶上端或中上部, 且根据红细胞滞留部位、凝胶背景情况可以分为++++、+++、++、+、弱凝集(W+)等 5 个等级; DAT 阴性指红细胞完全沉至凝胶介质底部。DAT 阳性行抗 IgG、抗补体 C3 抗体分型检测。

1.4.2 抗体鉴定 取干净试管 17 支, 自身对照管加入制备好的红细胞悬液 1 滴, 其他试管分别加入抗体鉴定谱细胞 1 滴, 混合均匀, 观察凝集情况, 判断抗体特异性。37℃ 孵育 0.5 h, 观察溶血及凝集情况; 红细胞用 0.9% 氯化钠注射液洗涤 3 次, 移除上清, 加入抗人球蛋白试剂 1 滴, 混合均匀, 观察溶血及凝集状况, 根据谱细胞格局评定抗体特异性。DAT 阳性凝集强度及分型标准均参照相关标准文献^[4]。

1.4.3 血型鉴定及交叉配血试验 采用微柱凝胶卡进行血型鉴定, 其中 ABO 血型鉴定采用盐水法行正反定型; 疑难 ABO 或 Rh 血型鉴定及交叉配血采用微柱凝胶法及凝聚胺法^[5]。疑难 ABO 或 Rh 血型鉴定采用微柱凝胶法, ABO 及 RhD 卡的微管中装填有葡聚糖凝胶颗粒和抗 A、抗 B、抗 D 标准血清, 如果红细胞表面存在 A 或 B 或 D 抗原, 就会与对应的抗体发生凝集反应。交叉配血采用凝聚胺法, 按照步骤准备好 2 支有标记(主侧、次侧)的试管并备好红细胞悬液, 于试管中加入 0.65 mL 低离子介质溶液, 混合均匀后静置 1 min; 随后加入 2 滴凝聚胺溶液, 混合均匀后静置 15 s, 以转速 3400 r·min⁻¹, 离心半径 10 cm 的参数离心 10 s; 舍弃上清液, 保留管底 0.1 mL 左右液体, 轻摇试管, 观察红细胞有无凝块, 若没有则需重新操作, 直到凝集现象出现停止; 然后将 2 滴重悬液加入管中, 轻轻摇动试管混合并同时观察结果。若凝集现象于 1 min 内散开提示该凝集现象是由凝聚胺引起的非特异性凝集, 配血结果相合; 若凝集现象 1 min 内不散开, 则为红细胞抗原抗体结合的特异性反应, 配血结果不相合。对疑难交叉配血行抗冷抗体吸收试验、磷酸氯喹放散试验及自身抗体吸收试验。

1.5 观察指标

(1) DAT 试验凝集强度分布;(2) 抗体类型分布;(3) ABO 血型正反定型及 Rh 血型鉴定结果;(4) 交叉配血试验结果;(5) 交叉配血不合处理及结果。

2 结果

2.1 DAT 试验凝集强度分布

84 例 DAT 阳性患者中, W+ 者 26 例 (30.95%), + 者 25 例 (29.76%), ++ 者 31 例 (36.90%), +++ 者 2 例 (2.38%)。

2.2 抗体类型分布

84例DAT阳性患者的不规则抗体筛查结果显示,阳性69例,阴性15例;抗体类型为IgG型24例(34.52%),补体C3型者16例(19.05%),IgG型+C3型44例(52.38%),见表1。

表1 DAT阳性患者抗体类型分布 [n(%)]

抗体产生情况	n	IgG型	补体C3型	IgG型+补体C3型
同种抗体	30	9(30.00)	5(16.67)	16(53.33)
全凝集	39	8(20.51)	11(28.21)	20(51.28)
全阴性	15	7(46.67)	0(0.00)	8(53.33)
合计	84	24(34.52)	16(19.05)	44(52.38)

注: DAT—直接抗人球蛋白试验; Ig—免疫球蛋白。

2.3 ABO血型正反定性及Rh血型鉴定结果

84例DAT阳性患者中,66例出现ABO型正反定型不一致,患者最终确定血型为AB型血Rh阳性13例(19.70%),A型血Rh阳性20例(30.30%),B型血Rh阳性18例(27.27%),O型血Rh阳性15例(22.73%)。

2.4 交叉配血试验结果

84例DAT阳性患者交叉配血试验中,配血不合69例(82.14%),其中显示主、次侧均呈阳性反应35例(50.72%);显示主侧呈阳性,次侧呈阴性反应21例(30.43%);显示主侧呈阴性、次侧呈阳性反应13例(18.84%)。

2.5 交叉配血不合处理及结果

对69例配血不合患者中,主、次侧均呈阳性反应患者,取其红细胞3.5 mL,用37℃0.9%氯化钠注射液洗涤3次,解离自身抗体后,行不规则抗体筛查及主侧配血;将部分三洗红细胞经磷酸氯喹放散试验处理,与献血者血浆进行次侧交叉配血。对主、次侧分别呈阳性、阴性反应者,将经磷酸氯喹放散试验处理的红细胞对患者自身抗体进行吸收,并收集吸收抗体处理后的血清进行交叉配血。对主侧呈阴性、次侧呈阳性反应者,采用经磷酸氯喹放散试验或热放散处理后的红细胞行次侧配血。结果显示,56例(81.16%)交叉配血相合,13例(18.84%)交叉配血不合。

3 讨论

DAT在原发性自身免疫性溶血性贫血和溶血症的鉴别和输血中起着非常重要的作用,其发生原因可能与红细胞上的自身抗体有关,或者是献血者与受血者的血液中都有同种抗体,会与红细胞上的抗原发生反应,而且,母亲血液中同种抗体会通过胎盘黏附到胚胎的红细胞膜上,而补体则会将自身抗体、同种抗体等进行活化,促使其与红细胞表面黏附。DAT是自身免疫性溶血性贫血患者输血前常用辅助检查方式,在交叉配血试验中,

DAT阳性是次侧凝集、配血不合的主要原因,导致血型鉴定不合,引起疑难交叉配血,延误治疗时机^[5-6]。相关研究发现,DAT阳性患者血清非特异性自身抗体与供者样本可能出现凝集,同时自身抗体可能掩盖同种抗体,影响血型鉴定结果,造成输血不相容^[7-8]。目前DAT阳性患者交叉配血是输血研究的重点^[9]。

本研究结果显示,DAT阳性患者凝集强度中++者所占比例最高,与赵思源等^[10]的调查结论相似。自身抗体分为两种,一种是冷抗体,一种是温抗体,冷抗体主要存在于人的血液中,IgM类型最多,其效价较低。如果发生感染、冷凝集综合征等情况,患者的血清冷抗体的效价就会升高,而且在正常温度下,患者身体内的冷抗体可以与自身红细胞发生作用,从而对血型识别、交叉配血产生一定的影响。在有自体免疫溶血的患者中,后者往往表现出强烈的过敏反应,从而对交叉配血造成不利的影响。当患者发生浆细胞性白血病、支原体感染时,其冷自身抗体效价可能出现异常升高,并与红细胞产生反应,影响血型鉴定结果,增加交叉配血难度^[11]。一般DAT阳性患者自身抗体以冷自身抗体常见,多存在于血清内,常表现为IgG型或IgM型。本研究对DAT阳性患者进行抗体分型结果发现,IgG型占34.52%,补体C3型占19.05%,均伴冷凝集,而IgG型+补体C3型占52.38%,与杜鹃等^[12]的分型结果相近。受IgG作用,DAT阳性患者红细胞温抗体有较强的致敏性,且当温抗体出现Rh特异性时,可掩盖同种抗体^[13],因此,在行必要输血治疗前,必须对此类患者行交叉配血试验。Rh血型抗体是引起免疫性溶血输血反应的不规则免疫性抗体,主要通过吸附红细胞表面产生致敏作用^[14]。DAT阳性患者存在着自身抗体,容易引起自身红细胞的致敏化,对红细胞吸附,促使抗红细胞抗体形成。当DAT阳性患者在进行输血时,由于自身抗体对患者本身和献血者的红细胞都有不同程度的凝集,导致ABO和Rh疑难血型鉴定的困难,会对交叉配血试验的难度产生一定的影响,加大了交叉配血的难度。本研究的结果显示,66例患者出现ABO血型正反定型不一致,提示患者红细胞内存在自身抗体,并在进行冷抗体吸收试验确定是否存在冷凝集影响后,行磷酸氯喹放散试验,处理自身抗体,帮助判断是否存在自身抗体掩盖抗体及血型特异性状况,确保准确进行Rh表型鉴定试验,可提高血型鉴定的精确性^[15]。

目前,临床上进行交叉配血试验的方法有凝聚胺法、抗人球蛋白微柱凝胶法等。凝聚胺法在临床上应用比较久,特别是在急救配血方面,该法操作简便,可以快速得出检测结果。凝聚胺即高价阳离子多聚物在被溶解之

后, 会释放出更多的正电荷, 与红细胞表面的负电荷产生中和作用, 以减小红细胞的间隔, 从而使正常红细胞之间产生非特异性凝集, 并使 IgG 型抗体可以直接凝集红细胞。当加入中和溶液后, 由于聚合胺基团的电荷中和作用, 导致非特异性的聚合分散, 而由抗体介导的特异性凝集则不会分散。如果 100% 的血球都沉没于微管内, 那么就判定为阳性, 说明受血者和献血者之间的配血符合。此外, 本研究 84 例患者交叉配血试验中, 69 例出现配血不合, 以主、次侧均呈阳性反应常见。对患者疑难交叉配血情况予针对性处理, 完成红细胞洗涤、不规则抗体筛查、冷抗体吸收、磷酸氯喹放散试验等处理, 降低冷凝集强度或确保不发生凝集, 结果发现处理后交叉配血相符率高达 81.16%, 表明采用冷抗体吸收、磷酸氯喹放散试验、自身抗体吸收试验等针对性处理, 可提高 DAT 阳性患者血清血型鉴定准确性, 提高交叉配血的吻合度, 提高临床输血的安全性。

综上所述, DAT 阳性患者 DAT 凝集强度高, 抗体类型以 IgG 型+补体 C3 型为主, 不规则抗体筛查阳性率高, 血型鉴定正反定型不一致比例较高。对交叉配血不合情况进行针对性处理, 可提高血型鉴定准确率及交叉配血相合率, 以提高输血的安全性。

[参考文献]

[1] DE ARAÚJO CDSR, MACHADO BA, FIOR T, et al. Association of positive direct antiglobulin test (DAT) with nonreactive eluate and drug-induced immune hemolytic anemia (DIHA) [J]. *Transfus Apher Sci*, 2020, 60 (1): 103015.

[2] 陈麟凤, 庄健美, 张金荣, 等. 微柱凝胶法直接抗人球蛋白实验阳性强度的影响因素研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2022, 47 (8): 977-981.

[3] 王朝, 周雪丽, 薄丽津, 等. DAT 试管法阴性而微柱凝胶法阳性的原发自身免疫性溶血性贫血患者的临床与实验室

特征 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2022, 30 (5): 1532-1535.

[4] 胡丽华. 临床输血检验 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 15-16.

[5] 陈新春, 邓绍团, 龙韵洪, 等. 自身免疫性溶血性贫血抗体特征与不同输血方案疗效评估 [J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33 (12): 821-824.

[6] 周朝霞, 杨小红. 74 例直接抗人球蛋白试验阳性患者临床特征和 RBC 输注效果分析 [J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2020, 17 (3): 60-63.

[7] 陈麟凤, 庄健美, 张金荣, 等. 直接抗人球蛋白试验阳性强度对患者红细胞输注效果的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2020, 100 (44): 3510-3514.

[8] 郑超, 赵儒, 陈立达, 等. 输血前及产前意外抗体筛查的临床意义 [J]. *中日友好医院学报*, 2021, 35 (2): 119-120.

[9] 苏宇清, 梁延连, 刘笑阳, 等. 深圳地区 1770 例疑难交叉配血标本解决方案的回顾性研究 [J]. *中国输血杂志*, 2021, 34 (12): 1339-1342.

[10] 赵思源, 岳彩娟, 苏慧. DAT 阳性患者抗体凝集强度分析及其对输血治疗效果的影响 [J]. *中国血液流变学杂志*, 2022, 32 (2): 306-309.

[11] 段秉政, 连俊慧, 王淑莲, 等. 直接抗人球蛋白试验抗体凝集强度的影响因素与临床意义 [J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34 (8): 548-551.

[12] 杜娟, 张勇萍, 杨世明, 等. 185 例抗球蛋白试验阳性类型及抗体筛选和交叉配血分析 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2021, 37 (4): 350-354.

[13] 周建明, 曹志林. 直接抗人球蛋白试验阳性患者血型鉴定及交叉配血试验分析 [J]. *实用医院临床杂志*, 2019, 16 (1): 71-73.

[14] 王静, 刘溢香, 谢惠宇, 等. 反复输血患儿红细胞 Rh 表型检测及同型输注的必要性探讨 [J]. *四川医学*, 2022, 43 (11): 1120-1123.

[15] 赵妮, 兰爱侠. 微柱凝胶法检测 ABO 血型正反定型不符的影响因素分析 [J]. *贵州医药*, 2022, 46 (1): 132-133.