

## 过量 IgG 抗 D 致敏 RBC 的前带现象引起 DAT 阴性

郑凌<sup>1</sup> 刘衍春<sup>1</sup> 刘太香<sup>1</sup>

[关键词] 直接抗人球蛋白试验;前带现象;抗体效价

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2016.06.028

[中图分类号] R457.1 [文献标志码] D

### DAT negative caused by prozone of excessive IgG anti-D sensitized RBC

**Summary** One case of suspected anti-D IgG antibody negative results caused by excessive DAT samples for further analysis in order to understand the reasons for producing DAT negative. Red blood cells may be sensitized specimens, while DAT test is negative, additional tests should be done, to prevent excessive production of antibodies, "prozone phenomenon" correct interference results.

**Key words** direct antiglobulin test; prozone elution; antibody titer

抗原抗体的反应有一定的量比关系,只有当二者的量处于一定比例时,才会出现可见的反应。如果抗体过量,就有可能不出现可见的凝集反应,这种免疫学现象被称为“前带现象”。在血型血清学检测中,直接抗人球蛋白试验(DAT)是判断红细胞是否被抗体致敏的重要实验,笔者最近在检测 1 份 RhD 阴性产妇的婴儿标本时发现过量的抗 D 致 DAT 检测为弱阳性的结果,出现了少见的所谓“前带现象”,现报告如下。

#### 1 材料及方法

##### 1.1 样本

患儿母亲为 O 型 RhD 阴性(此前生产、流产各 1 次),有 RhIgG 抗 D。患儿病历摘要:患儿因其母有 RhIgG 抗 D 血型抗体阳性出生后即入院。系 G2P2,胎龄 39<sup>+</sup>2W,由于母亲子宫疤痕,行剖宫产,出生体重 3 650 g, Apgar 评分 10 分,产后检母亲 RhDIgG 效价 1:16(院检);巩膜黄染,总胆红素 36.4 μmol/L,直接胆红素 11.6 μmol/L,乳酸脱氢酶(LDH)543.6 U/L。采患儿及母亲 EDTA 抗凝外周血送本室。

##### 1.2 试剂

抗-A、-B、ABO 标准细胞、抗 IgG/C<sub>3</sub>d、抗-C、-c、-E、-e 均购自上海血液生物医药有限公司(批号分别为:20140101、201405336、20140424、200143003、201431101、20143202、20143301);抗 D 购自 Bio-Rad 公司(批号:2335060);抗 AB 购自 Sanquin 公司(批号 8000183034-20150224);谱 11 细胞购自 REAGENS 公司(批号:731501-20150302);酸放散试剂、酶处理细胞:自制;微柱凝胶卡购自 BIO-RAD 公司(批号:505318702-201505);长春博迅生物技术有限公司(批号:

20141001-20151007)。

#### 1.3 方法

患儿及其母亲血型鉴定、DAT、IAT、谱细胞(Panel cell)检测分别采用试管法、卡式法。热放散法、酸放散法分别见文献<sup>[1-2]</sup>。

#### 2 结果

##### 2.1 血型鉴定结果

患儿红细胞与抗-A、-B、-AB、-D 检测结果分别是 0、0、0、4+,且 DAT 为 ±。患儿母亲血型为 O 型 RhD 阴性,且 DAT 为 0。

##### 2.2 热放散检测结果

用 O 型标准细胞(Oc)与患儿血清(Ps)及酶处理的 O 标准细胞(O'c)与 56℃ 热放散的放散液(Pe1)做 IAT,结果分别出现 4+、2+。据此怀疑患儿红细胞有抗体致敏。

##### 2.3 酸放散检测结果

EDTA-酸放散是更适用于 IgG 类抗体的放散,故用患儿标本的压积 RBC 做酸放散。取患儿酸放散液(Pe2)及母亲血清(mPs)分别与谱细胞进行检测,均有 IgG 抗 D 检出,结果见表 1。表 2 是患儿酸放散液和患儿血清及患儿母亲血清的抗 D 效价。

##### 2.4 相容性检测结果

**2.4.1 自身相溶性检测** 患儿血清与自身 RBC,有凝集。

**2.4.2 母子相容性检测** 母亲血清与患儿 RBC(因 2 人 ABO 同型)做 IAT,有凝集。

#### 3 讨论

本实验室对 HDN 的标本检测,严格进行 DAT、游离抗体、放散液抗体检测 3 项试验,其中游离抗体、放散液抗体检测分别与普通标准细胞和酶处理的红细胞反应,根据 3 项检测结果的不同组合做出是否为血型抗体引起的 HDN 存在的结论。在 3 项试验中,游离抗体检测阳性是 HND 的重要指标。有些研究介绍仅凭 DAT 阴性结果不能说明

<sup>1</sup>江苏省血液中心输血研究室(南京,210042)  
通信作者:刘衍春,E-mail:lyc60@126.com

表 1 患儿酸放散液及母亲血清与谱细胞反应结果

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Zc	mZc
Pe2	4+	4+	0	0	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	
mPs	4+	4+	0	0	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	0

注:mZc 为母亲细胞,Zc 为患儿自身细胞。

表 2 患儿酸放散液、患儿血清及母亲血清的抗 D 效价

IAT 效价	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Pe2	1+s	1+s	1+s	1	±	±	0	0	0
Ps	1+s	1+s	1+	1+	1+	±	±	0	0
mPs	2+	2+	1+s	1+s	1+	1+	1+	1+	±

没有血型抗体的存在,给出的原因可能或是 ABO 血型发育晚,故细胞上抗原数较少,结合的抗体也少;或是亲合力低的抗体被洗脱掉,难以形成可见的 DAT 阳性反应等,对抗体过量导致 DAT 出现阴性或弱阳性的结果,讨论不多,工作人员也往往忽视此重要的方面。

Rh 系统的抗原抗体在胚胎期即发育成熟,RhD 阴性的孕妇受胎儿 RhD+ 红细胞的刺激后在体内产生抗 D,进入胎儿体内致敏胎儿红细胞,或造成 HDN。本文中的患儿及其母亲血型结果分别为 O 型 RhD 阳性 (CcDee) 和 O 型 RhD 阴性 (ccdee),患儿标本 DAT 为弱阳性,母亲 DAT 为阴性。采用热 (56℃) 放散法放散患儿 RBC,放散液与 Oc 及 Oc 进行抗体筛查,结果分别为 2+、4+。再采用对 IgG 抗体放散效果更好的酸放散法对患儿 RBC 进行放散,取其酸放散液及其母亲血清分别与谱细胞反应,结果格局清晰均检出抗 D,且凝集强度为 3+,明确提示抗 D 抗体的存在。为何 DAT 的结果为 -/±,2 种放散法的放散液均检测出较强的抗 D,分析 DAT 阴性而放散液强阳性的原因非常重要。William 等<sup>[3]</sup> 研究对可溶性抗原抗体反应中抗体过量出现的凝集情况有清晰的论述(图 1)。用在 DAT 中图 1 的解释:抗 D(一抗)与红细胞上的 D 抗原特异结合,出现致敏,当加入抗人球(二抗)时,此时的抗 D(一抗)是抗原的角色,如抗原(抗 D)过量,出现图 1 中右上角凝集或沉淀下降的情况。在凝集试验及沉淀试验中,由于抗体或抗原的浓度过高或过量而致凝集或沉淀反应为阴性或弱阳性的现象,即此现象称之为前带现象<sup>[4]</sup>。颗粒型(细胞型)抗原或抗体过量有无此现象? Judd 等<sup>[5]</sup> 对于“前带现象”所致 ABO 反定型的差异进行了详细的分析。

前带现象本质上是一种假阴性。当对试验所用样本(血清或细胞)进行适当稀释后,再做相应的凝集或沉淀试验,即可克服此假阴性结果。为验证我们的分析,我们对酸放散液、患儿血清及母亲血

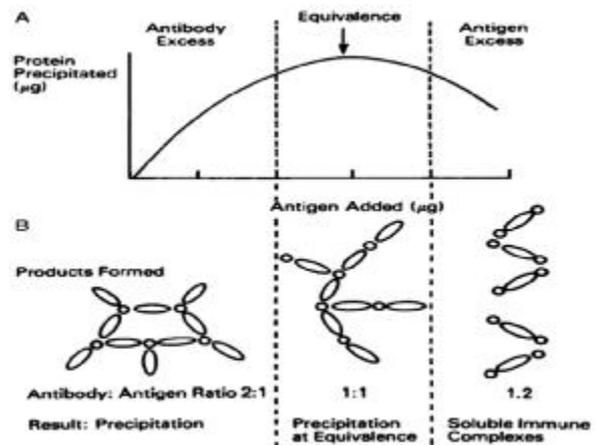


图 1 免疫反应过程中抗原或抗体过量时的前带现象

清进行了抗 D 效价的检测(表 2),其结果分别为 1:8、1:16、1:128。母亲血清出现 1:128 的抗 D 效价,说明由于母亲血循环中存在大量的抗 D 抗体,使得患儿红细胞的放散液检出了 1:8 的抗 D 效价。此结果说明,患儿红细胞的 DAT 阴性是由于多量的抗 D(一抗)与患儿的红细胞结合,以致该 RBC 在加入抗人球时,该抗人球抗体(二抗)不能与一抗很好结合起到“搭桥”做用,造成所谓“前带现象”,结果出现 DAT 阴性。

通过以上分析,就 Rh 抗 D 的 DAT 阴性而言,其可能为:①无特异性抗体存在;②红细胞上抗原的量偏少,结合的抗 D 自然也少(如 <150 抗体分子/细胞<sup>[6]</sup>),不足以形成 DAT 的阳性;③抗体量多形成的“前带现象”,出现 DAT 阴性。

本例标本的检测提示:①抗原抗体的反应需要一定的比例,否则,形成不了适当的抗原抗体复合物,因而不能产生明显可见的(肉眼观)凝集或沉淀。②当出现 DAT 为阴性结果时,不应草草判断其 RBC 未被致敏,要参考临床的情况,考虑 RBC 是否被“过分”致敏的可能性。③对所谓 DAT 阴性的样本,使用酸放散法放散 RBC 上的物质,比热放散法的效果要好的多<sup>[7]</sup>。

血因子等的丢失会造成患者凝血功能降低,可以适当补充新鲜冰冻血浆或血小板等;回输回收式自体血对患者免疫功能抑制情况较异体输血要轻得多,而且免疫抑制恢复的更快;回收式自体血类似形态较好的洗涤红细胞,携氧能力强、寿命较长,能维持有效的血液循环,明显改善血液氧合和能量代谢。回收式自身输血的特点有安全可靠、及时有效、节约血源,是推动临床合理用血的重要力量,也是血液保护新技术中的最重要手段之一。

#### 参考文献

- [1] 高峰. 临床输血与检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007:172-172.
- [2] Tomimaru Y, Eguchi H, Marubashi S, et al. Advantage of autologous blood transfusion in surgery for hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2011,17:3709-3715.
- [3] 和学忠,李玉梅,王加荣. 回收式自体血回输在60例急诊手术中的应用[J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(5):104-105.
- [4] 王鹏宇,蔡建明,黄华君. 自体血回输在宫外孕破裂出血术中的应用[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(2):184-185.
- [5] 金淑蓉,徐凤娟,叶宏辉,等. 术中自体血回输在神经外科手术中的应用分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版), 2014, 27(2):322-323.
- [6] 刘毅萍,杨学权. 自体血回输中肝素含量对患者凝血功能的影响[J]. 中国医药指南, 2008, 6(14):39-39, 41.
- [7] 徐俊昌,刘翰霖,贾吉光,等. 术中自体血回输中肝素含量对骨科手术患者凝血功能影响[J]. 中国实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(6):619-620.
- [8] 孙新艳,宋冰冰,王俊科,张晓光. 自体血回输对病人血浆肝素含量的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2002, 18(4):184-185.
- [9] 白玲,马延伟. 术中自体血回输量对患者凝血功能的作用[J]. 中外健康文摘, 2014, 27(9):125-126.
- [10] 阮国祥,单筠,朱俊. 自体血回输在脑外科手术中的应用[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(7):838-839.
- [11] 黄静,方平,黄河. 自体血回输对骨科手术患者血常规和出血时间的影响[J]. 重庆医学, 2008, 37(17):1932-1933.
- [12] Chen Gang, Zhang Fengjiang, Gong Ming, et al. Effect of perioperative autologous versus allogeneic blood transfusion on the immune system in gastric cancer patients[J]. Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology), 2007, 3:1673-1581.
- [13] 魏明,刘佳,涂玲,等. 自体血回输对心脏手术患者围手术期细胞免疫功能的影响[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(12):1305-1307.
- [14] 高伟峰,沈奕炯,邵景汉,等. 自体血回输对红细胞天然免疫功能影响的研究[J]. 现代实用医学, 2013, 25(2):146-148.
- [15] 张丽娜. 回收式自体血回输与异体血输血对全髋关节置换术患者免疫功能的影响[J]. 中国实用医药, 2014, 9(22):57-58.
- [16] 张晓欣,吴论,彭学强,等. 参附注射液对自体血回输患者围术期体液免疫功能的影响[J]. 中国医学创新, 2012, 9(23):4-6.
- [17] 蔡诚毅,马武华,邓恋,等. 川芎嗪注射液对脊柱手术患者自体血回输后 IL-2、IL-10 及 IFN- $\gamma$  的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(4):474-477.
- [18] 田香,胡社军. 犬自体血回输中使用白细胞超滤对红细胞免疫功能的影响[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(8):832-834.
- [19] 李建华,李斌,胡惠英,等. 自体血回输对骨科手术患者组织氧代谢的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2013, 29(4):322-324.
- [20] 杭建飞,田先平. 自体血回输在失血性休克患者手术中的应用[J]. 中国农村卫生事业管理, 2014, 34(12):1559-1560.
- [21] Newman ET, Watters TS, Lewis JS, et al. Impact of perioperative allogeneic and autologous blood transfusion on acute wound infection following total knee and total hip arthroplasty [J]. J Bone Joint Surg Am, 2014, 96:279-284.

(收稿日期:2015-07-14)

(上接第511页)

#### 参考文献

- [1] John D Roback, Brenda J Grossman, Teresa Harris, et al. Technical Manual [M]. 17th ed. Maryland: AABB, 2011: 918-919.
- [2] 郑凌,刘衍春,吴敏慧,等. 甘氨酸 HCl /EDTA 酸放散法在 AIHA 标本配血中的应用[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(10): 1005-1007.
- [3] William E Paul. Fundamental Immunology [M]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012:203-205.
- [4] Julius M Cruse, Robert E Lewis. Illustrated dictionary of immunology [M]. 3 ed, New York: CRC Press, 2010:600-600.
- [5] Judd WJ, Steiner EA, O'Donnell DB, et al. Discrepancies in reverse ABO typing due to prozone. How safe is the immediate-spin crossmatch? [J]. Transfusion, 1988, 28:334-338.
- [6] Villa MA, Fantini NN, Revelli N, et al. IgA autoimmune haemolytic anaemia in a pregnant woman [J]. Blood Transfus, 2014, 12: 443-445.
- [7] Burin des Roziers N, Squalli S. Removing IgG antibodies from intact red cells; comparison of acid and EDTA, heat, and chloroquine elution methods [J]. Transfusion, 1997, 37:497-501.

(收稿日期:2015-05-14)