

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

段秉政¹ 连俊慧¹ 王淑莲² 陶琳¹ 高玉云¹

[摘要] **目的:**探讨直接抗人球蛋白试验(DAT)抗体凝集强度的影响因素及其临床意义。**方法:**采用低离子抗人球蛋白卡对 182 例 DAT 阳性患者标本作凝集强度检测和抗体及补体类型鉴定,并对 DAT 阳性不同凝集强度的患者进行输血后有效率对比分析。**结果:**182 例 DAT 阳性患者中自身免疫性溶血性贫血、系统性红斑狼疮凝集强度 3~4+ 分别为 85.7% 和 76.2%, 占比较其他疾病高;随着输血次数的增加 DAT 阳性患者抗体凝集强度也明显增强;DAT 阳性重度贫血患者中抗体凝集强度 3~4+ 占 87.5%, 而轻度贫血患者中只占 13.5%;单纯 C3d DAT 阳性凝集强度 3~4+ 为 9.1%, 而复合物 IgG+IgM+C3d+C3c DAT 阳性凝集强度 3~4+ 占比为 71.4%。且 DAT 阳性的不同凝集强度患者之间输血前后血红蛋白比较,凝集强度为 3~4+ 组增长水平明显低于 1+ 组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论:**DAT 阳性患者的凝集强度与疾病类型、输血次数、贫血程度和抗体及补体类型相关,且 DAT 阳性患者治疗效果与抗体及补体凝集强度具有一定的关系。因此 DAT 阳性患者抗体及补体凝集强度对 DAT 贫血患者的输血治疗效果和判断预后具有重要的参考意义。

[关键词] 直接抗人球蛋白试验;抗体凝集强度;输血效果

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.08.005

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Influencing factors and clinical significance of coagulation intensity of direct antiglobulin test antibody

DUAN Bingzheng¹ LIAN Junhui¹ WANG Shulian² TAO Lin¹ GAO Yuyun¹

(¹Department of Blood Transfusion, Central Hospital of Baotou, Baotou, 014040, China; ²Department of Neurology, Central Hospital of Baotou)

Corresponding author: WANG Shulian, E-mail: btzxyydbz@163.com

Abstract Objective: To explore the influencing factors and clinical significance of the direct antiglobulin test (DAT) positive agglutination intensity. **Methods:** A total of 182 cases of DAT-positive specimens were tested for antibody strength and antibody and complement typing tests by using microcolumn gel anti-human globulin card, and the efficiency of DAT positive patients with different antibody strengths was compared after transfusion. **Results:** The autoimmune hemolytic anemia and systemic lupus erythematosus agglutination intensity of 3 to 4+ in 182 DAT-positive patients were 85.7% and 76.2%, respectively, which was higher than other diseases. With the increase of the number of blood transfusions, the agglutination intensity of DAT-positive patients also increased significantly; the agglutination intensity of DAT-positive patients with severe anemia was 3-4+ accounting for 87.5%, while the patients with mild anemia only accounted for 13.5%. Simple C3d DAT positive agglutination intensity 3-4+ was 9.1%, while composite IgG+IgM+C3d+C3c DAT positive agglutination intensity 3-4+ accounted for 71.4%. The comparison of hemoglobin value(Hb) before and after blood transfusion among DAT-positive patients with different agglutination intensities found that the increase in agglutination intensities between 3 and 4+ groups was significantly lower than that in the 1+ group, the difference was statistically significant($P < 0.01$). **Conclusion:** The intensity of agglutination in DAT-positive patients may be correlated with the type of disease, the number of blood transfusions, the degree of anemia, and the type of antibodies and complement. And the therapeutic effect of DAT positive patients may have a certain relationship with the strength of antibodies. Therefore, the intensity of antibody agglutination in DAT-positive patients may have important reference significance for the treatment effect and prognosis of anemia patients.

Key words direct anti-human globulin test; antibody type; transfusion effect

抗人球蛋白试验包括直接抗人球蛋白试验(DAT)和间接抗人球蛋白试验(IAT),因 DAT 灵

敏度高于 IAT 而被广泛用于临床^[1]。DAT 阳性主要是自身抗体或者是免疫复合物黏附在 RBC 膜上所致^[2-3],也是提示患者贫血状态受免疫因素影响的主要指标之一^[4],大部分 DAT 阳性患者因体内 RBC 破坏速度快于机体造血速度而存在一定程

¹包头市中心医院输血科(内蒙古包头,014040)

²包头市中心医院内科

通信作者:王淑莲,E-mail:btzxyydbz@163.com

度贫血^[5]。本文回顾性分析 2018—2020 年 182 例住院 DAT 阳性患者结果,旨在探讨影响 DAT 阳性患者抗体凝集强度的相关因素及输血治疗效果的程度,结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料

收集我院 2018 年 10 月—2020 年 9 月经微柱凝胶卡试验方法检测, DAT 阳性需输血治疗的血流动力学稳定患者 182 例为观察对象,其中男 79 例,女 103 例。

1.2 仪器和试剂

美国伯乐公司低离子抗人球蛋白(微柱凝胶法)卡、微柱凝胶抗体分型(含 IgG/C3d/C3c/IgA/IgM)卡,珠海贝索生物技术有限公司低离子介质(LISS),日本 SYSMEX 公司 XE-5000 血细胞分析仪及配套试剂,所有试剂均在有效期内严格按照说明书检测并判断结果。

1.3 红细胞输注与检测方法

采集患者输注去白细胞悬浮红细胞输血前和输血后 24 h 内的血液标本,检测血红蛋白(Hb)值。

1.4 抗体及补体分型试验

用生理盐水将 DAT 阳性患者红细胞洗涤 3~6 次后,用低离子介质液配成 0.8%~1.0% 红细胞悬液,取 50 μ L 加入抗体及补体分型卡中,置于伯乐卡式离心机(离心力 $85 \times g$)离心 10 min 判

读结果。

1.5 输血效果评价指标

用输注 RBC 后 24 h 内患者 Hb 增长水平来评价输注疗效。具体方法按照输注 1 U RBC 后 Hb 水平增加量(g/L) \times 60/患者体重(kg)为计算标准,输注 1 U RBC 后 Hb 增加值 ≥ 5 g/L 为输注有效,0~5 g/L 为输注部分有效, ≤ 0 g/L 为输注无效。

1.6 DAT 微柱凝胶法阳性反应强度的判定

根据微柱凝胶卡的凝集强度判读标准,人工比对判读凝集强度。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析,资料采用 χ^2 检验比较差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

182 例 DAT 阳性患者标本不同凝集强度在疾病中的分布,见表 1。在 182 例患者的疾病类型中,其中自身免疫性溶血性贫血(AIHA) 28 例(15.4%),比例最高;其次是系统性红斑狼疮(SLE) 21 例(11.5%)。AIHA、SLE 患者中抗体凝集强度 3~4+ 分别为 85.7% 和 76.2%,其他疾病高凝集强度所占比例相对较低。

182 例 DAT 阳性患者此前输血次数与标本凝集强度的关系见表 2。可见长期反复输血不仅导致患者自身抗体阳性率增高还与抗体凝集强度呈正相关。

表 1 DAT 阳性患者的疾病类型与标本凝集强度例数

临床诊断	例数	凝集强度/例数					χ^2	P
		4+	3+	2+	1+	±		
AIHA	28	13	11	3	1	0	54.72	<0.01
SLE	21	9	7	4	1	0		
慢性淋巴细胞性白血病	16	4	5	3	2	2		
新生儿溶血病	13	0	3	5	2	3		
急性白血病	12	4	1	3	2	2		
肿瘤	10	1	1	2	4	2		
骨髓增生异常综合征	9	3	5	0	1	0		
感染	10	0	1	2	4	3		
干燥综合征	8	1	1	3	2	1		
类风湿关节炎	5	0	1	1	2	1		
免疫母 T 细胞淋巴瘤	4	0	0	2	1	1		
不明原因贫血	46	6	8	18	10	4		

表 2 DAT 阳性患者的输血次数与标本凝集强度例数

输血次数	例数	凝集强度/例数					χ^2	P
		4+	3+	2+	1+	±		
此前无输血史	20	1	1	2	7	9	65.20	<0.01
此前输血 1~3 次	27	0	2	6	12	7		
此前输血 4~6 次	45	9	14	12	8	2		
此前输血 7~10 次	44	14	13	13	3	1		
此前输血 >10 次	46	17	14	13	2	0		

182 例 DAT 阳性患者贫血程度与标本凝集强度的关系见表 3。DAT 阳性轻度贫血患者中凝集强度 3~4+ 占比为 13.5%，DAT 阳性极重度贫血患者中凝集强度 3~4+ 占比为 87.5%。

182 例 DAT 阳性患者的抗体及补体分型与标本凝集强度的关系，见表 4。单纯 C3d 中 DAT 阳性凝集强度 3~4+ 占比为 9.1%，单纯 IgG 中 DAT 阳性凝集强度 3~4+ 占比为 34.2%，而复合型 IgG+IgM+C3d+C3c 中 DAT 阳性凝集强度 3~4+ 占比为 71.4%，复合型 IgG+C3d+IgA+IgM 中 DAT 阳性凝集强度 3~4+ 占比为

72.2%。

182 例 DAT 阳性不同抗体强度患者输注去白细胞悬浮红细胞后治疗效果，见表 5。抗体强度 4+ 者共计 41 例，其中输血总有效为 20 例(无效率为 51.22%)；抗体强度 3+ 者共计 44 例，其中输血总有效为 30 例(无效率为 31.82%)；抗体强度 2+ 者共计 46 例，其中输血总有效为 33 例(无效率为 28.26%)；抗体强度 1+ 者共计 32 例，其中输血总有效为 30 例(无效率为 6.25%)；抗体强度 ± 者共计 19 例，其中输血总有效为 18 例(无效率为 5.26%)。

表 3 DAT 阳性患者的贫血程度与标本凝集强度例数

贫血程度	例数	凝集强度/例数					χ^2	P
		4+	3+	2+	1+	±		
极重度贫血(Hb <30 g/L)	8	6	1	1	0	0	79.04	<0.01
重度贫血(Hb 59~30 g/L)	29	18	9	1	1	0		
中度贫血(Hb 89~60 g/L)	93	17	27	34	14	1		
轻度贫血(Hb 低于正常~90 g/L)	52	0	7	10	17	18		

表 4 DAT 阳性标本抗体及补体分型和凝集强度例数

抗体及补体类型	例数	凝集强度/例数					χ^2	P
		4+	3+	2+	1+	±		
IgG+C3d	50	13	13	16	4	4	52.74	<0.01
单 IgG	38	4	9	11	12	2		
单 C3d	33	0	3	7	11	12		
IgG+IgM+C3d	29	12	8	5	3	1		
IgG+C3d+IgA+IgM	18	7	6	4	1	0		
IgG+IgM+C3d+C3c	14	5	5	3	1	0		

表 5 DAT 阳性不同抗体凝集强度患者输注去白细胞悬浮红细胞后有效率

凝集强度	例			输血有效率/%	χ^2	P
	输注有效	部分有效	无效			
4+(41 例)	3	17	21	7.32	54.31	<0.01
3+(44 例)	6	24	14	13.64		
2+(46 例)	12	21	13	26.09		
1+(32 例)	21	9	2	65.63		
±(19 例)	16	2	1	84.21		
合计	58	73	51			

3 讨论

本文结果显示 DAT 阳性主要见于 AIHA、SLE、白血病、Evans 综合征、不明原因贫血等血液病和免疫系统疾病。有研究表明，同种异型抗原的免疫刺激产生相应抗体是引起 DAT 阳性率增加的主要原因之一^[6]，如恶性血液病由于长期反复输注多种血液制品 DAT 阳性率明显提高，像干燥综合征等免疫性疾病均伴有不同程度的免疫异常，产生多种抗体而导致患者 DAT 阳性。长期反复使用化

疗药物使治疗的肿瘤患者因体内红细胞致敏，更容易引起机体免疫反应，产生自身抗体和增加抗体强度。本研究结果可见 DAT 阳性凝集强度 AIHA/SLE 最高，一般可达到 2+~4+，明显高于 Evans 综合征、白血病、感染性疾病等(P<0.05)，可能是因 AIHA 与 SLE 发病机制都是相应 B 细胞产生自身抗体增多和体内 CD5⁺ B 细胞增多致抗体产生^[7]，从而导致 DAT 阳性率和凝集强度增高的主要原因。有研究认为像药物吸收/半抗原机制，免疫复合物药物诱导及感染致内环境改变等均可以直接诱导机体产生自身抗体而导致感染性疾病患者 DAT 阳性。骨髓增生异常综合征高凝集强度占比较高，与本研究高凝集强度输血效果不佳不符，可能与本身疾病致红细胞自凝干扰有关，需进一步研究。

有研究表明，受血者其输血频次与自身抗体的产生率呈正相关性，随着输注频次的增加，患者 DAT 阳性率也逐步升高，输注频次达到 6 次以上者其抗体产生率高达 87.9%。可见长期反复输注血液制品不仅可以导致患者自身抗体阳性率升高

还与凝集强度呈正相关,可能是由于长期反复输血使患者体内产生免疫相关物质累积所致。

本研究结果可见 DAT 阳性患者的贫血程度与直抗阳性强度呈正比,因大部分 DAT 阳性的 RBC 存活期会不同程度缩短^[8],如果输血后 DAT 持续呈阳性,输入患者体内的异体红细胞将继续被致敏破坏,可见 DAT 阳性是影响贫血患者输血效果的重要因素之一。

DAT 阳性分型主要以多种抗体补体组合为主,IgG + C3d 等复合型占 61.67%,其中 IgG + C3d 占 26.67%,IgG + IgM + C3d 占 15.00%,IgG + C3d + IgA + IgM 占 8.33%,IgG + IgM + C3d + C3c 占 6.67%,IgG + C3d + C3c + IgA + IgM 占 5.00%。单纯 IgG 占 20%、单纯 C3d 占 18.33%,与 Dierickx 等^[9]、Chaudhary 等^[10]报道基本一致。且复合型抗体的凝集强度要明显高于单纯 IgG 和 C3d,可见进一步检测抗人球蛋白抗体和补体类型及凝集强度,对疾病的贫血严重程度判断、输血效果预判具有一定价值。

输注 RBC 的主要目的是提高 RBC 的携氧能力,改善患者缺氧症状,但如果输血后 Hb 增长未达到预期值,患者缺氧症状未改善,即为无效输血,无效输血不仅导致稀缺血液资源浪费,而且增加患者的医疗负担。不同抗体强度组之间比较发现,DAT 阳性患者输血效果随着抗体强度的增强输血有效率逐渐降低,DAT 凝集强度 4+ 组输血显效率明显低于 2+ 组和 1+ 组,可见抗体效价越高对 RBC 的破坏能力越强,检测抗体凝集强度不仅可以预测输血疗效,也对治疗方案的选择提供了依据。

DAT 阳性患者的确存在不同程度无效输血等风险,DAT 阳性影响输血效果,且输血效果还与抗体强度存在一定关系,而抗体强度与疾病类型、输血次数、贫血程度和抗体及补体类型有关,所以应

重视对输血患者进行 DAT、DAT 阳性分型试验及抗体效价的检测,对于 DAT 阳性贫血患者只有致力于找到引起直抗的原因、消除直抗阳性的因素并有效降低 DAT 阳性凝集强度等,才能保证输血效果,节约血液。

参考文献

- [1] 蔡巧莲,魏寿忠,林桂花. 微柱凝胶直接抗人球蛋白试验阳性分型与临床疾病相关性探讨[J]. 临床血液学杂志,2018,31(4):268-270.
- [2] 曹廷卉,王广杰,红细胞输注的疗效观察与输注无效的探讨[J]. 中国输血杂志,2015,28(10):1241-1243.
- [3] Ricci F, Tedeschi A, Vismara E, et al. Should a positive direct antiglobulin test be considered a prognostic predictor in chronic lymphocytic leukemia [J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2013, 13(4):441-446.
- [4] 阳福桂,刘芳,戚志萍,李宁. 直接抗人球蛋白试验在临床贫血及输血患者中的应用[J]. 临床输血与检验, 2015, 17(6):498-500.
- [5] 刘志刚,蔡晓红,邹纬,等. 红细胞自身抗体阳性患者输血疗效分析[J]. 中国输血杂志,2015,28(8):940-942.
- [6] 梅城,阳福桂,覃婉元,等. 122 例直接抗人球蛋白试验阳性病例分析[J]. 免疫学杂志,2017,33(5):433-436.
- [7] Felder KM, Hoelzle K, Heinritzi K, et al. Antibodies to actin in autoimmune haemolytic anaemia [J]. BMC Vet Res, 2010, 6:18.
- [8] 丁琴丽,皱丽萍,赖密. 直接抗人球蛋白试验阳性患者的输血疗效评估[J]. 当代医学,2018,24(12):73-75.
- [9] Dierickx D, Kentos A, Delannoy A. The role of rituximab in adults with warm antibody autoimmune hemolytic anemia [J]. Blood, 2015, 125(21):3223-3229.
- [10] Chaudhary RK, Das SS. Autoimmune hemolytic anemia: From lab to bedside [J]. Asian J Transfus Sci, 2014, 8(1):5-12.

(收稿日期:2021-01-03)

(上接第 547 页)

- [8] Martin G, Shah D, Elson N, et al. Relationship of Coagulopathy and Platelet Dysfunction to Transfusion Needs After Traumatic Brain Injury [J]. Neurocrit Care, 2018, 28(3):330-337.
- [9] Hall LS, Lennon CS, Hall AM, et al. Combination peptide immunotherapy suppresses antibody and helper T-cell responses to the major human platelet autoantigen glycoprotein IIb/IIIa in HLA-transgenic mice [J]. Haematologica, 2019, 104(5):1074-1082.
- [10] Bertrand G, Danger Y, Croisille L, et al. A new platelet alloantigen (Efsa, HPA-35bw) on glycoprotein IIIa leading to neonatal alloimmune thrombocytopenia [J]. Transfusion, 2019, 59(7):2463-2464.
- [11] Kreuter JD. Identifying human leukocyte antigen

(HLA)-compatible platelets using the Matchmaker programme in alloimmunised platelet-refractory patients [J]. Transfus Med, 2020, 30(1):5-6.

- [12] 杨冬梅,程福,王洁,等. 柠檬酸洗脱血小板表面 HLA-I 类抗原的效率和血小板功能的影响 [J]. 重庆医学, 2019, 48(6):969-972.
- [13] Jandrot-Perrus M, Hermans C, Mezzano D. Platelet glycoprotein VI genetic quantitative and qualitative defects [J]. Platelets, 2019, 30(6):708-713.
- [14] 张桂芬,闫萌. 反复输血后血小板输注无效患者抗体阳性率、特异性及影响因素分析 [J]. 临床血液学杂志, 2020, 33(6):391-393.

(收稿日期:2021-01-07)