

筛选细胞剂量效应造成抗-M 抗体漏检引起的思考

潘宗岱¹ 刘超¹ 薛静¹ 杨美慧¹ 苗翠华¹ 刘贵建¹

[摘要] 目的:通过对 1 例 M 抗原杂合子筛选细胞造成不规则抗体筛查假阴性病例的思考,指导不规则抗体筛选细胞、交叉配血方法的选择和手术备血流程的注意事项。方法:分别选择筛选细胞 A、B 用微柱凝胶法对同一样本进行不规则抗体筛查;分别用微柱凝胶法和聚凝胺法对同一组样本进行交叉配血。结果:应用筛选细胞 A 的不规则抗体筛查结果为阴性,筛选细胞 B 的不规则抗体筛查为阳性,北京市红十字血液中心抗体鉴定结果为抗-M 抗体,说明筛选细胞 A 检测结果为假阴性。微柱凝胶法交叉配血不合,聚凝胺法交叉配血相合。结论:筛选细胞中存在杂合子会造成不规则抗体筛查假阴性,因此在选择筛选细胞时尽量选择抗原多且纯合子的筛选细胞;在抗体效价较低时聚凝胺法检测结果可能出现假阴性,所以有妊娠史和输血史的患者配血时应尽量选择敏感性较好的微柱凝胶法来检测。

[关键词] 杂合子;剂量效应;不规则抗体;微柱凝胶法;聚凝胺法

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.02.007

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Consideration on missed detection of anti-M antibody caused by dose effect of screening cells

PAN Zongdai LIU Chao XUE Jing YANG Meihui MIAO Cuihua LIU Guijian

(Department of Clinical Laboratory, Guang'anmen Hospital China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, 100053, China)

Corresponding author: LIU Guijian, E-mail:liuguijian@163.com

Abstract Objective: To guide the selection of irregular antibody screening cells, cross matching methods and precautions for surgical blood preparation through thinking about a case of false negative of irregular antibody screening caused by screening cells of M antigen heterozygotes. **Methods:** Screening cells A and B were selected to screen the same sample for irregular antibody by microcolumn gel method. The same group of samples were cross matched by microcolumn gel method and polybrene method. **Results:** The irregular antibody screening result of screening cell A was negative, the screening cell B was positive, and the antibody identification result of Beijing Red Cross Blood Center was anti-M antibody, indicating that the test result of screening cells A was false negative. Cross matching of micro column gel method was incompatible, and polybrene method was compatible. **Conclusion:** The presence of heterozygotes in the screening cells would cause false negative of irregular antibody screening, so the screening cells with more antigens and homozygotes should be selected as much as possible when selecting the screening cells. When the antibody titer is low, false negative results may appear in the test results of the polyclonal amine method. Therefore, the patients with a history of pregnancy and blood transfusion should try to select the micro column gel method with better sensitivity for blood matching.

Key words heterozygote; dose effect; irregular antibody; micro ink gel method; polyamine method

ABO 血型复核、不规则抗体筛查和交叉配血是输血前的常规检查项目,其中不规则抗体筛查可以检测到免疫性抗体,确保输血的安全。在手术备血时尽早进行不规则抗体筛查可以提前发现有意义的免疫性抗体,可避免同种免疫引起的溶血性输血反应,提高输血安全性和有效性,也能为患者配血赢得宝贵的时间,避免医疗事故的发生。由于剂

量效应影响(即纯合子基因编码的抗原量多于杂合子的抗原量)有些抗体对不同的红细胞样本呈现不同的反应强度^[1],杂合子筛选细胞抗体效价比较弱在不规则抗体筛查时可能造成筛查结果假阴性^[2],临床经常有不规则抗体漏检造成血液输注无效^[3]、免疫性溶血^[4]等输血反应甚至危及生命。为了避免检测结果错误引起输血不良反应,筛选细胞的选择和输血相容性检查的质量控制尤为重要。本文对工作中发现的 1 例杂合子筛选细胞造成不规则

¹ 中国中医科学院广安门医院检验科(北京,100053)

通信作者:刘贵建,E-mail:liuguijian@163.com

抗体筛查假阴性的患者进行分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料

患者,女,45岁,诊断子宫多发肌瘤,妊娠史 G1P1,无输血史,血型 O 型 Rh 阳性。2022 年 5 月 24 日入院,入院时各项指标 RBC $5.48 \times 10^{12}/L$, Hb 116.0 g/L, PLT $330 \times 10^9/L$,于 5 月 27 日行经腹全子宫+双侧卵软管切除术,申请备血 4 U。术前不规则抗体筛查结果阴性,与 1 袋 O 型 Rh 阳性悬浮红细胞用微柱凝胶法交叉配血主侧凝集强度 1+,后用另一种筛查细胞复核不规则抗体筛查为阳性,用聚凝胺法复核交叉配血相合。样本送检至北京市红十字血液中心血型鉴定,回报结果为存在抗-M 抗体并成功配血型 O 型 Rh 阳性血 4 U,手术完成顺利术中未用血。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 博唯优柱凝集血型系统(奥森多, BioVue system),离心机(台湾贝索, BASO 2005-2 型);仪器经过校验合格,按照实验室标准操作规程进行日常使用和维护,满足相关标准。

1.2.2 试剂 抗人球蛋白卡(奥森多,批号 AHC258J)、筛选细胞 A(上海血液,批号 20227015)、筛选细胞 B(美国强生,批号 3SS130)、血型分析用稀释液(奥森多,批号 280688);聚凝胺介质试剂(珠海贝索,批号 A210801)、生理盐水(华润双鹤药业,批号 Y1911044W);所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 不规则抗体筛查 采用微柱凝胶法,分别用筛选细胞 A 和筛选细胞 B 在 BioVue system 上对患者的不规则抗体进行筛查。不规则抗体筛查具体方法:在抗人球蛋白卡中加入血型分析用稀释液 50 μ L、患者血浆 40 μ L 和筛选细胞 10 μ L,在 BioVue system 中 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min 后离心 5 min,观察结果。操作过程严格按照说明书进行。

1.3.2 交叉配血 分别用奥森多的抗人球蛋白卡和聚凝胺试剂对患者和献血者红细胞血样进行交叉配血。①微柱凝胶配血法具体方法:选用奥森多抗人球蛋白卡,主侧加入血型分析用稀释液 50 μ L、患者血浆 40 μ L 和 3%~5% 献血者细胞悬液 10 μ L;次侧加入血型分析用稀释液 50 μ L、献血者血浆 40 μ L 和 3%~5% 患者细胞悬液 10 μ L,在 BioVue system 中 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min 后离心 5 min,观察结果。操作过程严格按照说明书进行。②聚凝胺配血法具体方法:取 2 个试管,主侧加入 700 μ L 低离子溶液、2 滴患者血浆、1 滴 5% 献血者细胞悬液、2 滴聚凝胺溶液,次侧加入 700 μ L

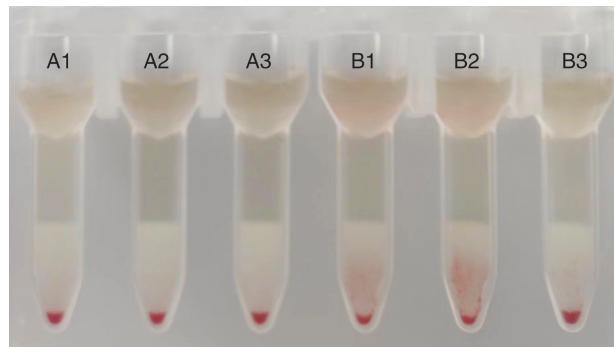
低离子溶液、2 滴献血者血浆、1 滴 5% 患者细胞悬液、2 滴聚凝胺溶液,在贝索离心机中 1000 \times g 离心 10 s,弃去上清液后轻摇试管,目测有无凝集,如无凝集,则必须重做。在主、次试管中分别滴入悬浮液 2 滴并轻摇试管,30~60 s 内观察结果,凝聚现象消失,提示检测呈阴性,配血成功,反之则提示配血失败。

1.3.3 红细胞凝集强度判定 参考文献[5],以“4+、3+、2+、1+、±”表示,无凝集反应为阴性以“-”表示。

2 结果

2.1 不规则抗体筛查

A、B 2 种筛选细胞不规则抗体筛查结果见图 1。



“A1~A3”为筛选细胞 A,检测结果均为阴性;“B1~B3”为筛选细胞 B,结果 B1、B2 为“1+”,B3 为“±”。

图 1 不规则抗体筛查结果

将不规则抗体筛查结果填入表 1,对比 2 种筛选细胞的抗原格局分析可见:筛选细胞 A 不规则抗体筛查结果为阴性,筛选细胞 B 不规则抗体筛查结果为阳性,北京红十字血液中心抗体鉴定结果为抗-M 抗体。鉴定结果说明筛选细胞 A 检测结果为假阴性,查看筛选细胞 A 抗原格局发现 I、III 细胞 M 抗原为杂合子,II 细胞 M 抗原为阴性,分析原因为 M 抗原剂量效应造成不规则抗体筛查假阴性。

2.2 交叉配血

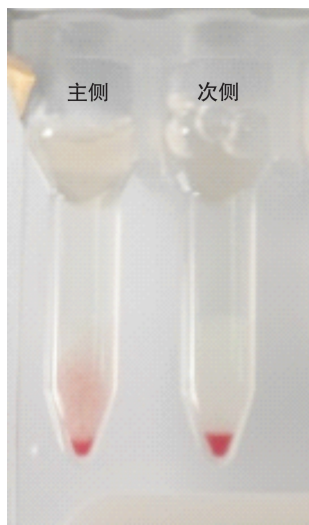
微柱凝胶法交叉配血结果见图 2 和聚凝胺法交叉配血结果见图 3。

将 2 种方法的交叉配血结果填入表 2 比较分析,微柱凝胶法交叉配血结果为主侧凝集强度 1+,交叉配血不合但聚凝胺法交叉配血检测结果主侧无凝集,交叉配血相合。分析原因可能是聚凝胺法敏感性差且抗-M 抗体滴度较低造成配血结果假阴性。

表 1 2 种筛选细胞的抗原表达及患者反应格局

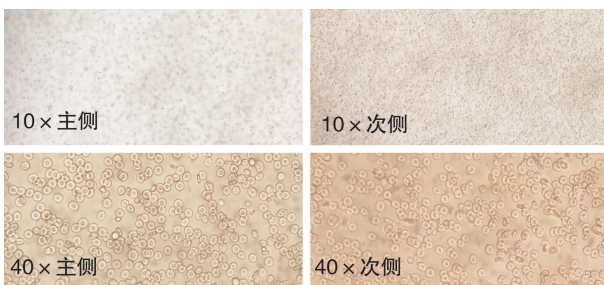
序号	Rh-Hr					KELL				DUFFY		KIDD		Xg	LEWIS			MNS				P	LU		患者
	D	C	E	c	e	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Xg ^a	Le ^a	Le ^b	M	N	S	s	Pl	Lu ^a	Lu ^b		
筛选细胞 A																									
I	+	0	+	+	0	/	/	/	/	+	0	/	/	/	0	+	+	+	0	+	+	/	/	-	
II	+	+	0	0	+	/	/	/	/	+	0	/	/	/	+	+	0	+	0	+	+	/	/	-	
III	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	0	/	/	/	0	+	+	+	+	+	+	/	/	-	
筛选细胞 B																									
I	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	1+	
II	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0	+	0	+	+	0	0	+	1+	
III	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	±	

北京市红十字血液中心抗体鉴定结果抗-M 抗体/为筛选细胞无此抗原信息。



左柱为主侧 1+, 右柱为次测 -。

图 2 微柱凝胶法交叉配血结果



10×主侧、10×次侧为 10 倍镜观察结果, 40×主侧、40×次侧为 40 倍镜下结果; 主次侧均无凝集。

图 3 聚凝胺法交叉配血结果

表 2 微柱凝胶与聚凝胺交叉配血反应结果

方法	主侧	次侧	结果
微柱凝胶法	1+	-	不合
聚凝胺法	-	-	相合

3 讨论

不规则抗体是不符合 Landsteiner 规则的抗体, 只有在接触相应抗原后才会出现, 尤其是有妊

娠史和输血史时出现的风险更高。当存在不规则抗体的患者用血时需要查找相应抗原阴性的血液进行交叉配血, 大大增加了配血的时间和难度。在实际工作中手术备血的流程多是术前不需要交叉配血, 仅对患者进行 ABO、Rh 血型复核及不规则抗体的筛查, 输血科保存适当的血液, 以备需要时可以立刻配血、发血。由于在需要输血时才进行交叉配血, 聚凝胺法配血速度比微柱凝胶法更快, 为了节省时间输血科往往选择聚凝胺法进行配血^[6]。但使用以上流程前提是受/供血者血样的 ABO、Rh 复核血型一致、不规则抗体筛查阴性; 如术前不规则抗体筛查阳性则会进行抗体鉴定和交叉配血, 直到可提供足够相合的血液后方可进行手术。如果筛选细胞杂合子因剂量效应造成不规则抗体筛查假阴性时术前不会准备足够相合的血液, 若术中用血则难以找到相应抗原阴性的血液, 会延误治疗时机甚至危及生命。而且聚凝胺法配血敏感性较低, 当患者存在不规则抗体效价较低时交叉配血结果容易呈现假阴性^[7], 如果不规则抗体筛查和交叉配血同时出现假阴性, 不能及时发现会引起输血不良事件的发生, 所以不规则抗体筛查阴性为前提指导聚凝胺法交叉配血时, 不规则抗体筛查和交叉配血的准确性显得尤为重要。

不规则抗体筛查假阴性的应对策略: 在选择筛选细胞时应避免同一抗原在 3 个筛选细胞上均表达为阴性或有杂合子造成假阴性的细胞, 尽量选择剂量效应安排科学、抗原多、纯合子的筛选细胞, 尤其要覆盖 Rh、MNS、Lewis、P、Duffy 等国内常见的血型系统^[8-9]。也可以选择 2 种以上的筛选细胞协同检测, 提高抗体的检出率。Li 等^[10]研究发现, 通过对几种筛选细胞科学的组合可以有效避免漏检, 甚至可以对出现的不规则抗体进行鉴定, 而且检出率和准确率高于 16 系谱细胞。

交叉配血假阴性的应对策略: 虽然使用聚凝胺法进行交叉配血时间短、速度快, 在急救时可以争取抢救时间, 但聚凝胺法的敏感性明显低于微柱凝

胶法^[7],临床常用有聚凝胺法配血漏检造成输血不良反应事件的发生^[3-4],所以在时间允许的情况下最好选择微柱凝胶法进行交叉配血,尤其针对有妊娠史和输血史等出现不规则抗体的高风险人群,尽量选择微柱凝胶进行配血。

用血安全是用血过程中的重中之重,而输血前相容性检查的质量控制是保障用血安全的前提。为防止不规则抗体筛查的漏检和交叉配血过程中的假阴性,在选择筛选细胞时尽量选择抗原多且纯合子的筛选细胞针对有妊娠史和输血史的患者配血时应尽量选择敏感性较好的微柱凝胶法来检测。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Nixon CP, Krohto SL, Sweeney JD. False-negative compatible antiglobulin crossmatches in samples with alloantibodies to cognate red blood cell antigens[J]. *Transfusion*, 2018, 58(8):2022-2026.
- [2] 刘丽丽. 抗体筛查漏检抗-Mur 致交叉配血不合两例报告[J]. *北京医学*, 2022, 44(4):358-362.
- [3] 邢志勇, 王维娜. 低效价不规则抗体漏检与无效输血的关系及解决对策[J]. *中国输血杂志*, 2019, 32(10):1053-1055.
- [4] 董雅静, 苏瑞蕊, 张霁云, 等. 抗-M 抗体致噬血细胞综合征患者迟发性溶血性输血反应 1 例[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(8):600-602.
- [5] 杨成民, 刘进, 赵桐茂, 等. 中华输血学[M]. 2 版, 北京:人民卫生出版社, 2021:655.
- [6] 王宝燕, 张建耕. 择期手术备血的风险和工作要点[J]. *临床血液学杂志*, 2007, 20(10):195-197.
- [7] 程环. 卡式微柱凝胶技术与聚凝胺法在血型鉴定及输血前红细胞不规则抗体检验中的应用效果比较[J]. *临床医学*, 2020, 40(4):50-51.
- [8] 唐元春, 招淑文, 卓创近. 佛山地区无偿献血者红细胞血型不规则抗体筛查结果分析[J]. *现代诊断与治疗*, 2022, 33(1):74-77.
- [9] 邸艳辉, 白宇, 王新华. 红细胞同种抗体和自身抗体特点及临床应用分析[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(2):130-132.
- [10] Li XF, Lang R, Diao XQ, et al. Clinical Application of Screening Cell Combination Methods in the Prediction of Red Blood Cell Alloantibody[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2021, 29(4):1325-1329.
(收稿日期:2022-08-14 修回日期:2022-10-15)
- (上接第 108 页)
- [20] Nickoloff BJ, Higgs RE, Rodgers GH, et al. LB1506 Novel immunoassay for Serum IL-19 reflects disease activity in psoriasis[J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(9):7-8.
- [21] Anuradha R, Munisankar S, Dolla C, et al. Modulation of CD4⁺ and CD8⁺ T-Cell Function by Interleukin 19 and Interleukin 24 During Filarial Infections[J]. *J Infect Dis*, 2016, 213(5):811-815.
- [22] Echeverría A, Moro-García MA, Asensi V, et al. CD4⁺ CD28null T lymphocytes resemble CD8⁺ CD28null T lymphocytes in their responses to IL-15 and IL-21 in HIV-infected patients[J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 98(3):373-384.
- [23] Dinesh P, Rasool M. Berberine mitigates IL-21/IL-21R mediated autophagic influx in fibroblast-like synoviocytes and regulates Th17/Treg imbalance in rheumatoid arthritis[J]. *Apoptosis*, 2019, 24(7-8):644-661.
- [24] Cho H, Jaime H, de Oliveira RP, et al. Defective IgA response to atypical intestinal commensals in IL-21 receptor deficiency reshapes immune cell homeostasis and mucosal immunity[J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12(1):85-96.
- [25] 张梓楠, 厉坤鹏, 陈浩, 等. 有氧运动对慢性阻塞性肺疾病稳定期免疫及循环的影响[J]. *河北医科大学学报*, 2021, 42(6):661-664.
(收稿日期:2022-07-18 修回日期:2022-09-05)