

微柱玻璃珠法筛查弱阳性不规则抗体的结果分析

阴瑞兰¹ 魏希建² 徐全民¹

[摘要] 文章分析弱阳性不规则抗体的特征及分布,探讨提高此类抗体的检出策略。回顾性分析 2019 年 12 月—2023 年 3 月不规则抗体筛查标本 5 117 例,其中 55 例不规则抗体筛查呈现弱阳性(凝集强度 $\leq 1+$)标本纳入研究,对弱阳性标本进行抗体特异性鉴定,分析其性别、输血史、妊娠史、不同介质及科室、疾病的分布关系。弱阳性不规则抗体检出率为 1.07%;检出抗体包括 MNS 血型系统抗体 28 例(50.9%),Lewis 血型系统抗体 13 例(23.6%),Rh 血型系统抗体 4 例(7.3%),Diego 血型系统 1 例(1.8%)和冷抗体 2 例(3.6%),特异性不明确抗体 7 例(12.7%);女性 39 例(70.9%);有妊娠史的 31 例(56.4%);无输血史的 48 例(87.3%);弱阳性不规则抗体在抗人球蛋白介质中全部被检出,盐水介质中 42 例被检出(76.4%);外科患者 42 例(76.4%),内科患者 8 例(14.5%);手术患者 20 例(36.4%),孕检患者 14 例(25.5%)。检出的弱阳性不规则抗体主要分布在 MNS 血型系统和 Lewis 血型系统,应重视手术患者和孕妇的不规则抗体筛查,联合微柱玻璃珠法和盐水法可提高弱阳性不规则抗体的检出率。

[关键词] 不规则抗体筛查;弱阳性不规则抗体;MNS 血型系统抗体;Lewis 血型系统抗体;抗体分布

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2024.04.013

[中图分类号] R457.13 **[文献标志码]** B

Analysis of results of screening weak positive irregular antibodies by microcolumn glass bead method

YIN Ruilan¹ WEI Xijian² XU Quanmin¹

(¹Department of Blood Transfusion, Jiaozhou Central Hospital of Qingdao, Jiaozhou, 266300, China; ²Department of Otolaryngology, Jiaozhou Branch of Shanghai East Hospital, Tongji University)

Corresponding author: XU Quanmin, E-mail: xu-quanmin@163.com

Abstract To analyze the characteristics and distribution of weak positive irregular antibodies, and explore strategies to improve the detection of such antibodies. Retrospective analysis of 5 117 irregular antibody screening samples from December 2019 to March 2023, of which 55 samples showing weak positivity (agglutination strength $\leq 1+$) in irregular antibody screening were included in the study. Antibody specificity identification was performed on weak positivity samples, and the distribution relationship between gender, blood transfusion history, pregnancy history, different media, departments, and diseases was analyzed. The detection rate of weak positive specimens was 1.07%. Antibodies were detected in 28 cases(50.9%) of MNS blood group system, 13 cases (23.6%) of Lewis blood group system, 4 cases(7.3%) of Rh blood group system, 1 case(1.8%) of Diego system and 2 case (3.6%) of cold antibody, and 7 cases (12.7%) of unclear specificity antibody; 39 females (70.9%); 31 cases(56.4%) had a history of pregnancy; 48 cases(87.3%) had no history of blood transfusion; All weak positive irregular antibodies were detected in the anti human globulin medium, and 42 cases(76.4%) were detected in saline media; There were 42 surgical patients(76.4%) and 8 internal medicine patients(14.5%); 20 operation patients(36.4%) and 14 pregnancy test patients(25.5%). The weak positive irregular antibodies detected are mainly distributed in MNS blood group system and Lewis blood group system. Attention should be paid to the irregular antibody screening of surgical patients and pregnant women. The combined method of microcolumn glass bead and saline method can improve the detection rate of weak positive irregular antibodies.

Key words irregular antibody screening; weak positive irregular antibodies; MNS blood group system antibodies; Lewis blood group system antibodies; distribution

不规则抗体是人体内产生的 ABO 血型系统以外

的抗体,在输血和妊娠中有着重要的意义。微柱玻璃珠法是一种以玻璃珠为介质的微柱凝集法,其具有敏感性高、结果易判读、图片可长时间保存、可实现自动化等优点广泛用于输血相容性实验中,在实验中由于

¹ 青岛市胶州中心医院输血科(山东胶州,266300)

² 同济大学附属东方医院胶州医院耳鼻喉科

通信作者:徐全民,E-mail:xu-quanmin@163.com

各种因素会出现结果为弱凝集现象,如果实验人员不加以重视,很容易漏检此类不规则抗体。本研究收集 2019 年 12 月—2023 年 3 月不规则抗体筛查的数据及相关资料,分析 55 例弱阳性不规则抗体的特异性及其性别、妊娠史、输血史、不同介质及科室、疾病中的分布关系,希望为此类抗体的检出提供借鉴。

1 资料与方法

1.1 资料

选取 2019 年 12 月—2023 年 3 月不规则抗体筛查标本 5 117 例,其中 55 例不规则抗体筛查结果呈现弱阳性(凝集强度 $\leq 1+$),将 55 例标本纳入研究,收集其年龄、性别、输血史、妊娠史、科室分布、疾病种类等资料,以上信息通过医院信息系统(HIS)和检验系统(LIS)收集。其中男 16 例,女 39 例;年龄 14~87 岁,平均(50 \pm 22)岁;A 型 17 例,B 型 18 例,O 型 13 例,AB 型 7 例。

1.2 试剂与仪器

抗人球蛋白(IgG/C3 d)检测卡(美国 Ortho-Biovu)、AUTOVUE 全自动血型(美国 Ortho-Biovu);抗人球蛋白检测卡孵育器(美国 Ortho-Biovu);抗人球蛋白检测卡离心机(美国 Ortho-Biovu);抗体筛选红细胞试剂盒(上海血液生物医药有限责任公司);十六系抗体谱红细胞(Sanquin Reagents B. V.);十系抗体谱红细胞(上海血液生物医药有限责任公司);抗原分型试剂(上海血液生物医药有限责任公司);S300T 低速离心机[日本久保田(中国)投资有限公司];KA-2200 血库专用离心机[日本久保田(中国)投资有限公司]。

1.3 方法

1.3.1 微柱玻璃珠法 不规则抗体筛查采用强生 AutoVUE 全自动血型分析仪检测,操作流程按照

仪器说明书操作;不规则抗体鉴定采用手工法:加入 50 μ L Bliss 液,40 μ L 患者血浆和 10 μ L 抗体谱红细胞(3%~5%),37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min,离心 5 min 后观察结果。

1.3.2 盐水法 将试管中加入受检血浆 2 滴,加入试剂红细胞(3%~5%)1 滴,1 000 $\times g$ 离心 15 s 观察结果。

1.3.3 红细胞抗原分型 试管里加入单克隆试剂 1 滴,加入患者红细胞悬液(3%~5%)1 滴,1 000 $\times g$ 离心 15 s,观察结果。

2 结果

2.1 弱阳性抗体检出率

在 5 117 例不规则抗体筛查标本中弱阳性的标本 55 例,检出率 1.07%。

2.2 弱阳性抗体的特异性

检出 MNS 血型系统 28 例,占 50.9%;Lewis 血型系统 13 例,占 23.6%;Rh 血型系统 4 例,占 7.3%;Diego 血型系统 1 例,占 1.8%;冷抗体 2 例,占 3.6%;特异性不明确抗体 7 例,占 12.7%,具体见表 1。

2.3 弱阳性抗体性别、妊娠史及输血史分布

检出弱阳性抗体的患者中,女性 39 例,占 70.9%,男性 16 例,占 29.1%;有妊娠史的 31 例,占 56.4%,无妊娠史的 24 例,占 43.6%;有输血史的 7 例,占 12.7%,无输血史的 48 例,占 87.3%,具体见表 1。

2.4 弱阳性抗体在不同介质中的分布

弱阳性抗体在抗人球蛋白介质中全部被检出,在盐水介质中 42 例被检出,占 76.4%,具体见表 2。

表 1 弱阳性抗体的频率、特异性及性别、输血史、妊娠史中的分布

例(%)

| 抗体系统 | 总数 (n=55) | 男 (n=16) | 女 (n=39) | 妊娠史 | | 输血史 | |
|-------------------|--------------|-------------|-------------|----------|----------|---------|----------|
| | | | | 有(n=31) | 无(n=24) | 有(n=7) | 无(n=48) |
| MNS 系统 | | | | | | | |
| 抗-M | 27(49.1) | 6(37.5) | 21(53.8) | 17(54.8) | 10(41.7) | 1(14.3) | 26(54.2) |
| 抗-S | 1(1.8) | 1(6.3) | 0 | 0 | 1(4.2) | 0 | 1(2.1) |
| Lewis 系统 | | | | | | | |
| 抗-Le ^a | 11(20) | 3(18.8) | 8(20.5) | 4(12.9) | 7(29.2) | 1(14.3) | 10(20.8) |
| 抗-Le ^b | 2(3.6) | 0 | 2(5.1) | 2(6.5) | 0 | 0 | 2(4.2) |
| Rh 系统 | | | | | | | |
| 抗-D | 1(1.8) | 0 | 1(2.6) | 1(3.2) | 0 | 0 | 1(2.1) |
| 抗-Ec | 2(3.6) | 1((6.3) | 1(2.6) | 1(3.2) | 1(4.2) | 2(28.6) | 0 |
| 抗-Ec 合并自身抗体 | 1(1.8) | 1(6.3) | 0 | 0 | 1(4.2) | 1(14.3) | 0 |
| Diego 系统 | | | | | | | |
| 抗-Wr ^a | 1(1.8) | 0 | 1(2.6) | 1(3.2) | 0 | 0 | 1(2.1) |
| 冷抗体 | 2(3.6) | 1(6.3) | 1(2.6) | 1(3.2) | 1(4.2) | 1(14.3) | 1(2.1) |
| 抗体不明确 | 7(12.7) | 3(18.8) | 4(10.3) | 4(12.9) | 3(12.5) | 1(14.3) | 6(12.5) |

表2 弱阳性抗体不同介质中的分布 例(%)

| 抗体系统 | 抗人球介质 (n=55) | 盐水介质 (n=42) |
|-------------------|-----------------|----------------|
| 抗-M | 27(49.1) | 25(59.5) |
| 抗-S | 1(1.8) | 1(2.4) |
| 抗-Le ^a | 11(20.0) | 9(21.4) |
| 抗-Le ^b | 2(3.6) | 1(2.4) |
| 抗-D | 1(1.8) | 0 |
| 抗-Ec | 2(3.6) | 0 |
| 抗-Ec合并自身抗体 | 1(1.8) | 0 |
| 抗-Wr ^a | 1(1.8) | 1(2.4) |
| 冷抗体 | 2(3.6) | 2(4.8) |
| 抗体不明确 | 7(12.7) | 3(7.2) |

2.5 弱阳性抗体科室及病种分布

弱阳性抗体的患者中,外科患者42例,占76.4%,内科患者8例,占14.5%,其他科室(急诊科、ICU)5例,占9.1%;疾病类型分布:手术患者20例,占36.4%,孕检14例,占25.5%,其他疾病包括贫血、炎症、肿瘤等,具体见表3。

表3 弱阳性抗体科室及病种分布

| 科室 | 例(%) | 疾病类型 | 例(%) |
|--------|----------|-------|----------|
| 外科科室 | 42(76.4) | 手术 | 20(36.4) |
| 妇产科 | 20(47.6) | 孕检 | 14(25.5) |
| 肝胆外科 | 6(14.3) | 贫血 | 5(9.1) |
| 泌尿外科 | 2(4.8) | 炎症 | 5(9.1) |
| 关节外科 | 6(14.3) | 肿瘤 | 5(9.1) |
| 胃肠外科 | 6(14.3) | 脑血管疾病 | 5(9.1) |
| 脊柱外科 | 1(2.4) | 肝功能不全 | 1(1.8) |
| 胸外科 | 1(2.4) | | |
| 内科科室 | 8(14.5) | | |
| 内分泌血液科 | 2(25.0) | | |
| 康复医学科 | 2(25.0) | | |
| 消化内科 | 2(25.0) | | |
| 呼吸科 | 1(12.5) | | |
| 肾病风湿科 | 1(12.5) | | |
| 其他科室 | 5(9.1) | | |
| 急诊科 | 4(80.0) | | |
| ICU | 1(20.0) | | |

3 讨论

不规则抗体筛查是输血前检测的指标之一,选择相应抗原阴性的血液进行输注是提高输血疗效和降低输血不良反应发生的有效输血策略。在美国食品药品监督管理局所报道的因输血死亡的病例中,溶血性输血反应占55.5%,而其中14.0%是由不规则抗体漏检所引起的^[1]。本研究调查了5117例不规则抗体筛查标本,弱阳性标本检出率为1.07%,如果由于各种原因漏检这些抗体,将为患

者的临床输血带来风险。

本研究调查的弱阳性抗体最常见于MNS血型系统抗体(28例,占50.9%)和Lewis血型系统抗体(13例,占23.6%),张敏等^[2]报道了1例体内存在的弱凝集抗-P导致的ABO血型鉴定时正定型和反定型不符的病例。MNS血型系统抗体和Lewis血型系统抗体是较为常见的不规则抗体,大多数是没有任何刺激而天然产生的IgM型抗体,最适反应温度为4℃,在采用微柱凝集法37℃孵育的条件下表现为弱凝集,但是也有少部分为免疫IgG型抗体,IgG型的抗体可引起溶血性输血反应和新生儿溶血病的发生而具有临床意义^[3-5]。本研究抗-M抗体检出27例,其中女性21例,有妊娠史17例,这与王琛等^[6]调查的81例产生抗M抗体的患者中以女性患者居多一致,可能与女性有妊娠史有关^[7-8]。吴思梦等^[9]调查了94例存在Lewis血型系统抗体的患者,妊娠期患者占37.2%,妊娠期间Lewis抗原量下降,出现一过性Le^(a-b-)表型,孕妇可能产生Lewis血型系统抗体,并且有一部分孕妇即使Lewis抗原阳性,依然会产生Lewis血型系统抗体^[10-11],本次调查检出的抗-Le^a抗体的11例患者中,妊娠期患者8例,占72.7%。另外,检出的抗-M抗体和抗-Le^a抗体共38例患者中,无输血史患者为36例,这与向东等^[12]研究发现抗-M、抗-Le^a更倾向于在非输血患者中产生的结果一致。

弱阳性不规则抗体筛查必须重视有输血史和妊娠史的患者。Rh血型系统抗体多见于有输血史和(或)妊娠史的患者^[13-14],在本调查中发现4例呈弱阳性的Rh血型系统抗体,均为有输血史和(或)有妊娠史的患者体内产生。Wr^a是Diego血型系统的低频抗原,在中国人群中频率<0.01,抗-Wr^a是具有临床意义的抗体之一,经常在健康人、患者和孕妇血清中发现^[15-16],本调查发现抗-Wr^a抗体在1例无输血史有妊娠史的患者血浆中检出。免疫刺激产生的抗体,在产生初期效价较低,抗体产生后随着时间推移,又会发生衰减^[17],致使体内抗体效价低,在检测时表现为弱凝集甚至阴性,罗园园等^[18]报道了1例PEG增强实验鉴定出险些漏检的抗-E抗体。弱阳性抗体还往往造成抗体特异性鉴定困难,本研究中有7例抗体鉴定时无明显格局,无法判断其特异性,由于实验室缺乏试剂,未能做进一步检测,在此类抗体的鉴定中应联合酶法、PEG法等方法来提高抗体检出率。

本研究调查发现弱阳性抗体更容易出现在外科科室的手术患者和孕妇中,这两类患者34例(61.9%);女性患者居多39例(70.9%),有妊娠史的31例(56.4%),无输血史的占大多数,占87.3%,55例抗体有42例在盐水中检出,检出率76.4%,所以应重视手术患者和孕妇的不规则抗体

筛查,试验中除了常用的微柱凝集法,应加做盐水法,以提高弱阳性不规则抗体的检出。

笔者分析结果出现弱凝集除了抗体本身的原因外还包括:①筛选细胞原因:卢燕君等^[19]等通过研究保存期内 M 抗原、Fy^a 抗原和 P₁ 抗原的稳定性,发现 M 抗原和 P₁ 抗原在第 21 天,Fy^a 抗原在第 28 天出现凝集强度明显减弱,筛选细胞时间保存时间过长能引起凝集强度的减弱;②筛选方法原因:目前在实验室使用较多的方法包括微柱凝集法、聚凝胺法和盐水法,其中微柱凝集法敏感性高,但是 IgM 抗体如 MNS 血型系统和 Lewis 血型系统抗体在微柱凝集法 37℃ 孵育的条件下呈现弱凝集;③实验人员对一些不规则抗体认识不足,实验中依赖微柱凝集法结果进行分析判断,忽视了盐水法在不规则抗体筛查和鉴定中的作用。

在不规则抗体实验中,应注重实验人员的知识培训,实验室应建立标准化的操作流程;应选取敏感性较高的实验方法,不能忽视盐水法在不规则抗体筛查中的作用;应重视筛选细胞的质量控制,避免由于抗原减弱造成抗体的漏检,对于不规则抗体筛查阴性而交叉配血阳性的标本,应更换筛查细胞和实验方法进行检测;应重视手术患者和孕妇的不规则抗体检测,建议对此类患者的标本同时使用抗人球蛋白介质和盐水介质进行检测,建议对不规则抗体阳性的患者建立档案尤其是长期输血的患者,避免由于抗体效价降低而造成抗体漏检。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Khalid S, Dantes R, Varghese S, et al. Naturally occurring anti M complicating ABO grouping[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2011, 54(1): 170-172.
- [2] 张敏, 姚韵, 李莺, 等. 抗 P₁ 抗体检测的血清学分析和方法探讨[J]. 临床血液学杂志, 2023, 36(12): 902-905.
- [3] Kaur G, Basu S, Kaur P, et al. Clinically significant anti M antibodies——a report of two cases[J]. Transfus Apher Sci, 2012, 47(3): 259-261.
- [4] Nazri HM, Haslina MNN, Shafini MY, et al. Anti-M induced severe haemolytic disease of foetus and newborn in a Malay woman with recurrent pregnancy loss [J]. Malays J Pathol, 2017, 39(1): 73-76.
- [5] Irani MS, Figueroa D, Savage G. Acute hemolytic transfusion reaction due to anti-Le(b) [J]. Transfusion, 2015, 55(10): 2486-2468.
- [6] 王琛, 焦琴, 杨世明, 等. 81 例抗 M 抗体的鉴定及其对血型血清学检测的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2022, 38(1): 74-77.
- [7] Rai R, Saha SC, Jain A, et al. Anti-M alloimmunization in pregnancy: An unusual cause of bad obstetric history [J]. J Obstet Gynaecol India, 2016, 66 (Suppl2): 607-609.
- [8] 陈君, 宋艳, 叶珍, 等. 妊娠期抗-M 抗体检出率及妊娠结局分析[J]. 临床血液学杂志, 2022, 35(10): 728-731, 734.
- [9] 吴思梦, 王秋实, 何燕京, 等. Lewis 血型系统抗体在备血患者中检出情况分析[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(1): 70-71.
- [10] Farheen K, Bushra M, Nausheen K. Risk of maternal alloimmunization in Southern Pakistan-A study in a cohort of 1000 pregnant women[J]. Transfus Apher Sci, 2015, 52(1): 99-102.
- [11] Subramaniyan R. Serological characteristics of Lewis antibodies and their clinical significance—a case series [J]. Hematol Transfus Cell Ther, 2023, 45(2): 159-164.
- [12] 向东, 龚国琴, 范亮峰, 等. 免疫性因素对常见血型意外抗体产生的影响探讨[J]. 中国临床新医学, 2022, 15(8): 682-686.
- [13] 赵震, 张冬霞, 王晓宁, 等. 9684 例输血患者 Rh 血型系统抗原频率及不规则抗体检测临床价值分析[J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(1): 139-141.
- [14] 陈真, 张继荣. 重复输血患者临床 Rh 表型血清学研究及同型输血必要性研究[J]. 实用检验医师杂志, 2023, 15(4): 347-350.
- [15] Bahri T, Bruyn K, Leys R, et al. Fatal acute hemolytic transfusion reaction due to anti-Wr^a [J]. Transfus Med Hemother, 2018, 45: 438-441.
- [16] 陈敏洁, 杨红梅, 张建伟. 抗-Ce、抗-Jk^a 伴抗-Wr^a 抗体联合检测致交叉配血困难原因分析[J]. 检验医学与临床, 2024, 21(2): 273-277.
- [17] 井忠翠, 葛东梅, 郭明贞, 等. Rh 抗原分型和抗体筛选对临床输血安全的意义[J]. 临床血液学杂志, 2024, 37(2): 132-134, 140.
- [18] 罗圆圆, 马春娅, 付丽辉, 等. 低效价抗体致溶血性输血反应的相关分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2023, 31(2): 503-508.
- [19] 卢燕君, 晁艳, 周厚全, 等. 有效期内抗体筛查细胞 M、Fy^a 和 P₁ 抗原稳定性分析[J]. 临床血液学杂志, 2022, 35(12): 841-845.

(收稿日期: 2023-05-29 修回日期: 2024-02-26)