

234 例不规则抗体性质分类与临床输血对策

曹国平 罗云 丁婧 韦颖 张美英 丁晓红 陈男(扬州大学附属泰兴医院 输血科 江苏 泰兴 225400)

摘要:目的 探讨不规则抗体性质、分布特点以及临床输血安全性与应对策略。方法 对 43 420 份血型鉴定与备血标本进行不规则抗体筛查,并对阳性标本以谱细胞鉴定与效价测定,同时检测其红细胞上特异性抗原。结果 检出不规则抗体 234 例,其中 158 例在血型鉴定时出现异常凝集反应。MNS 系统 67 例中抗-M59 例,Rh 系统 64 例中抗-E 46 例,Lewis 系统 32 例中抗-Le^a29 例,其中 22 例红细胞上含 A₁ 抗原,复合抗体 21 例,全凝集等不明抗体 43 例。结论 不规则抗体阳性率为 0.54%,其中 67.52% 影响 ABO 反定型结果,抗-M、抗-E 和抗-Le^a 是临床输血中的 3 大主要不规则抗体,复合抗体占 8.97%,其与杂合子谱细胞凝集强于纯合子谱细胞。Lewis 抗体与 A₁ 抗原关系密切。增加 Rh(E)、M 抗原常规检测项目并同型输血,将有效降低不规则抗体的产生以及由此引起的输血不良反应。

关键词: 不规则抗体; MNS Rh Lewis 血型系统; 输血; 不良反应

中图分类号: R457.1⁺1 文献标识码: A 文章编号: 1004-549X(2015)7-0809-03

234 cases of irregular antibody classification and the strategies in clinical blood transfusion CAO Guoping, LUO Yun, DING Jing, WEI Ying, ZHANG Meiyang, DING Xiaohong, CHEN Nan. Blood Transfusion Department of Affiliated Taixing Hospital of Yangzhou University, Taixing, 225400, China

Abstract: Objective To observe the nature and distribution of the irregular antibodies in order to study the safety and strategies in clinical blood transfusion. **Method** By screening the irregular antibodies from 43420 cases of blood grouping and preparatory blood samples, authenticating the positive samples and testing the dilution concentration by the spectrum cells and detecting the specific antigens on the red blood cells. **Result** 234 cases of irregular antibodies were found of which 158 cases showed irregular agglutination during blood group test. There are 59 cases of M antibodies among 67 cases of MNS system, 46 cases of E antibodies among 64 cases of Rh system, 29 cases of Le^a antibodies among 32 cases of Lewis system of which 22 cases carry A₁ antigens on the red blood cells, 21 cases of complex antibodies and 43 cases of unknown antibodies including pan-agglutination. **Conclusion** The positive rate of the irregular antibodies is 0.54% and 67.52% of which will affect the testing of blood group. M, E and Le^a antibodies are the three major irregular antibodies which influence the clinical blood transfusion. 8.97% of the irregular antibodies are complex antibodies which can agglutinate more tightly with the heterozygote spectrum cells than with the homozygote ones. The antibodies of Lewis are more related to A₁ antigen. Adding tests of Rh(E) and M antigens in regular work and transfusing the blood of same type will effectively reduce the appearance of irregular antibodies and the adverse reactions of blood transfusion which may be caused.

Key words: irregular antibody; blood group system of MNS, Rh, Lewis; blood transfusion; adverse reaction

WHO 确认的血型系统已达 30 多个,而不规则抗体系指除 ABO 血型系统以外的抗体,也是影响血型鉴定、交叉配血和输血安全的重要因素之一。

我们对 43 420 份患者和配血不合的献血者进行不规则抗体筛查,并以谱细胞鉴定、同时检测其红细胞上单特异性抗原,根据统计结果综合分析,旨在进一步提高对不规则抗体系统而全面的认识。选择无相应抗原的血液经交叉配血合格后输注,确保了临床输血的有效性与安全性。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 标本 取自 2010 年 1 月至 2014 年 6 月间本院住院患者及配血不合之献血者共 43 420 份,非输液侧肢体静脉血 5mL,EDTA-K₂ 抗凝,必要时以硅化管采集不抗凝血分离

血清。

1.1.2 抗人球蛋白卡和 4% 不规则抗体筛检细胞(各批次)长春博讯生物技术有限公司生产。

1.1.3 谱细胞及单克隆抗体 各批次谱细胞与 IgM 抗-D、E、e、C、c、M、N、P₁ 及抗 IgG、C3d、2-Me,上海血液生物技术有限公司生产。抗-Fy^a、Fy^b、抗-S、s、Le^a、Le^b、Jk^a、Jk^b 由江阴力博公司赠送。

1.1.4 血型鉴定卡与反定型细胞(各批次)美国强生及北京金豪制药股份有限公司生产。

1.1.5 辅助设备 长春博研 BYLTD-3A 型、Baso2005-2 型及强生 Ortho BioVue 型专用离心机、移液器、10mm × 600mm 试管、免疫微柱孵育器、水浴箱、4℃ 冰箱、OLYMPUS-41 双目显微镜、0.9% 外用生理盐水等。

1.2 方法

1.2.1 样本处理 将样本以 1 000g 离心 3min,充分分离血浆。制备 1% 或 3% - 5% 红细胞悬液,用于正定型及其它血

型单特异性抗原检测。

1.2.2 血型鉴定:以血型卡和标准细胞按标准操作规程进行 ABO 正、反定型及 Rh(D) 检测。

1.2.3 不规则抗体筛查

1.2.3.1 抗人球蛋白微柱卡法(常规):严格按说明书操作。据凝集情况对照该批筛检细胞格局初步判定抗体可能类型。

1.2.3.2 盐水法:按说明书操作,加做自身对照,镜下观察结果。对照管凝集则为自身凝集,检测管凝集对照管无凝集则为阳性,根据反应格局初步判定结果。试管离心后重置 37℃ 30 min,如凝集消失则判定抗体性质为 IgM 类,不消失则为 IgG 类、高效价 IgM 类或混合类,另取血浆 2-Me 灭活后以 Ig 卡进一步检测。

1.2.4 特异性抗体鉴定 视初筛抗体类型选择恰当方法,据该批细胞谱确定抗体性质。

1.2.4.1 盐水法(IgM 类):取 11 支小试管按谱细胞说明书操作,加设自身对照。

1.2.4.2 抗人球蛋白卡法(IgG 类):各孔加 2-Me 灭活血浆 100μL 及相应谱细胞原液 20μl(免稀释),加设自身对照,

37℃ 孵育 15 min 后离心观察结果。

1.2.4.3 放散试验 如怀疑复合抗体,将待检血浆与其特异抗原之一的 O 细胞吸收后放散,以放散液与相应特异抗原阴、阳性 O 细胞反应,若与阴性细胞不凝集而阳性细胞凝集则含该抗体。

1.2.5 单特异性抗原检测:选择待证抗原相应的单克隆抗体按说明书在最适温度下检测以加强凝集。如凝集说明待检红细胞含相应抗原,则基本排除该抗体存在,不凝集则无相应抗原,鉴定结果可信。

1.2.6 效价测定。据抗体性质决定是否灭活血浆,倍比稀释后选择试管法或 Ig 卡式法,加阳性混合谱细胞在最适温度下反应,以最高凝集管(孔)稀释倍数为其效价。

2 结果

2.1 不规则抗体致反定型异常凝集情况 对 234 例不规则抗体样本作血型鉴定时,共 158 例呈现标准细胞联合或单独异常凝集,其中 2 例溶血,异常凝集总例率 67.52%(表 1)。

表 1 234 例不规则抗体致反定型异常凝集情况 (n)

标准细胞\凝集强度	±	1+	2+	3+	4+	合计	阳性率%
O 细胞	16	32	57	27	4	136	58.12
A 细胞(A/AB 型)	7	16	39	13	2	77	32.91
B 细胞(B/AB 型)	3	19	18	6	1	47	20.09
合计	26	67	114	46	7	260(158▲)	67.52▲

▲同一样本多细胞凝集时 n = 1

2.2 不规则抗体性质 对 43 420 例样本进行不规则抗体筛查,检出阳性 234 例,阳性率 0.54%,对初筛阳性的样本以谱细胞经不同方法鉴定(表 2)。

表 2 234 例不规则抗体性质分类汇总

抗体性质	阳性(例)	阳性率%	抗体性质	阳性(例)	阳性率%
D	10	4.27	Tja▲	1	0.43
C	3	1.28	Di ^b /Do ^b	1	0.43
Ce	4	1.71	Le ^a (IgM)	27	11.54
c	1	0.43	Le ^a (IgG)	1	0.43
E	34	14.53	Le ^a + S	1	0.43
Ec	10	4.27	Le ^b	3	1.28
EcS	1	0.43	Jk ^a (IgG)	3	1.28
EP ₁	1	0.43	Jk ^b P ₁	1	0.43
M(IgM)	50	21.37	Fy ^b	1	0.43
M(IgM + IgG)	4	1.71	Fy ^a (IgG)	10	4.27
M(IgG)	4	1.71	Fy ^a (IgM)	16	6.84
MS	1	0.43	I (高寒冷凝集)	6	2.56
MJk ^b	1	0.43	其它自身抗体	2	0.85
N(IgM)	2	0.85	不明抗体	18	7.69
N(IgG)	1	0.43	假阳性	11	4.70
S	1	0.43	假阴性	1	0.43
P ₁	2	0.85	总计	234	0.54

▲上海血液中心 WHO 血型参比实验室检测

3 讨论

从表 1 可见,67.52%的不规则抗体影响了 ABO 反定型结果观察,表现为单细胞或多细胞凝集,致异常凝集总数大于样本数。除 O 细胞反应率达 58.12%外,非 O 型 A、B 细胞多数有异常凝集,强度以 2+ 为主占 43.85%。标准细胞是携带已知 ABH 和其它未知血型系统抗原的红细胞,不规则

抗体与相应抗原特异性反应,导致异常凝集或溶血从而干扰 ABO 血型结果判读,但亦使不规则抗体易被发现。有报道 ABO 正反定型不符的原因中不规则抗体占 19.92%^[1]。由表 2 可见, MNS、Rh 和 Lewis 血型系统是产生不规则抗体的 3 大主要系统,占 69.66%(含复合抗体),分别占 28.63%、27.35%和 13.68%。而单特异性抗体主要为抗-M、抗-E 和抗-Le^a,分别占 25.21%、19.66%和 12.39%。有作者表示 Rh

系统不规则抗体占 72.42% ,MNS 系统仅占 6.9%^[2] ,与本研究差距较大 ,可能与 RhD 同型输血及检测方法与条件可关。

由于 MNS 系统中 M 表型分布频率明显低于 N 表型 ,故更易产生抗-M^[3]。从表 2 可见抗-M 绝大多数为天然产生的 IgM 类冷抗体 ,少数因输血等产生 IgG 类或混合类抗体 ,检测时应根据性质选择恰当的实验方法与条件 ,如盐水法和 4℃ ,37℃ 孵育将使 IgM 类抗体漏检 ,导致阳性率大为降低 ,尤其是低效价者。本组中抗-M 效价多在 2-32 间 ,≥64 者少见 ,虽由此引起的迟发性溶血性输血反应(DHTR)和新生儿溶血病(HDN)报道较少^[4] ,但我们认为在临床输血中应筛供无 M 抗原的同型血 ,以减少刺激 ,降低免疫抗体产生的风险。本组中抗-S 为低频抗体且多与其它系统抗体同时被检出 ,可见报道^[5-6]。抗-s 更稀有 ,大多为 IgG₃ 型 ,亦可致 DHTR 和 HDN^[8]。由于重视 RhD 同型输血故抗-D 产生减少 ,仅占 Rh 系统的 15.63% ,但其它抗原刺激依然存在 ,尤其是 E 抗原性仅次于 D ,导致抗-E(c) 占 Rh 的 71.88%。本组 46 例抗-E 中 3 例发生了严重的 DHTR ,经扩容、抗休克、碱利尿尿处理 ,预后良好 ,其它需输血者均提供 E 阴性且交叉配血合格的红细胞。故建议输血前将 Rh(E) 作为常规检测且 Rh(DE) 同型输血 ,将会大大降低抗-E 产生的机率 ,减少不良反应发生 ,与陆紫敏等观点一致^[7]。本组 64 例 Rh 系统抗体 9 例发生 HDN ,占 14.06% ,经谱细胞鉴定 8 例抗体性质与母亲一致 ,1 例母体内为低效价(32) 复合抗体 Ce ,患儿血清中仅测出优势抗体(抗-C) 并发生溶血。

本组 Lewis 系统中 ,IgM 类抗-Le^a 占绝大多数 ,罕见 IgG 类 ,效价均≤4。32 例中 A 型 13 例、AB 型 9 例 ,亦证实 Lewis 抗体与 A₁ 抗原关系密切。Lewis 抗原起源于肠道或肾 ,游离于血浆并被红细胞吸收 ,抗体仅出现在分泌型的 Le(a-b-) 个体 ,大多含抗-Le^a 的血清中还含弱抗-Le^b ,本组未同时检出。尽管 Lewis 抗体较常见 ,但因是冷抗体且效价≤4 ,仅少数发生 HTR ,一般不造成 HDN^[8] ,故我们提供经 37℃ 孵育且配血相容的血液输注。表 2 中复合抗体占 8.97%。其中 Rh 系统占 71.43% ,以抗-Ec 为主、抗-Ce 次之 ,再次为抗-S 占 14.29% ,个别涉及 Lewis、P、Kidd、Duffy 系统。结果观察发现复合抗体与杂合子谱细胞凝集其强度强于纯合子 ,判读时如与单一格局不符 ,应结合凝集强度及单特异抗原检测综合考虑是否有复合抗体存在 ,以放散试验证实。

Kidd 系统抗体很难被检测 ,本组阳性率仅 2.14% ,均为 IgG 类 ,酶处理细胞可提高阳性率。抗-Jk^a3 例独立出现、而抗-Jk^b2 例与抗-M、-P 同时出现 ,反映出 Kidd 抗原的低免疫原性。因其常造成 HTR ,故具高潜在危险性^[8]。抗-P₁ 占 1.71% ,较罕见 ,可单独或联合存在。1 例抗-Tja 是极其罕见的强力溶血性抗体 ,几乎能凝集所有人红细胞 ,可引起严重致死的 AHTR ,如为献血者其血浆不可用于临床。近十年来未见相关报道 ,其免疫血液学及分子生物学特性有待进一步深入研究。抗-Di^a 亦罕见 ,在蒙古人中比例较高 ,由输血等免疫刺激产生 ,偶见引起 HDN^[9]。Geoff Daniels 认为亚洲人

产生抗-Fy^a 的概率低 ,天然抗-Fy^a 非常罕见 ,主要是 IgG₁ ,常因妊娠与输血产生并可致 HTR 或 HDN^[8] ,而本研究却以盐水法检出一定比例 ,有待进一步探讨。由于国产谱细胞中抗-Fy^a 与抗-s 反应格局均为自身阴性的全凝集 ,同时 7.69% 的不规则抗体分类不明 ,可能是反应性不典型或其它未知抗体 ,应增加细胞谱并以单克隆抗体检测红细胞上单特异抗原以进一步区分。对自身阳性的全凝集应注意区分 ,可能为抗凝不全、药物或疾病如高纤维蛋白血症、巨球蛋白血症等标本因素致假阳性 ,应用血清以 Ig 试管法检测 ,或为自身抗体或自身与同种抗体并存 ,或寒冷凝集(Li 系统)。DTA 阳性时检测孔阳性有意义 ,如 DTA 阴性、ITA 阳性或检测孔凝集强度低于自身对照则为自身抗体占 4.7% ,尤其高寒冷凝集素抗-I 导致免疫血液学检测特别困难 ,所有试剂及操作均应保持 37℃ ,可采用凝聚胺法或 Ig 试管法 ,忌用卡式法 ,如不能做到 37℃ 恒温离心会呈假阳性 ,镜检前做好准备 ,动作迅速 ,以免影响判读。输血前先将血液 37℃ 复温并保温输注。卡式法初筛阳性或与格局不符标本 ,应以盐水法(设自身对照)复测是否为 IgM 类或混合抗体 ,提供最适温度、45 轻摇试管至细胞全部散开 ,用力过小则致假阳性 ,用力过大或室温放置过久易降低凝集强度呈假阴性 ,目测不凝应镜下观察 ,低效价(≤4) IgM 类抗体以 Ig 卡法检测亦可呈假阴性。

综上所述 67.52% 的不规则抗体影响 ABO 反定型。抗-M、抗-E 和抗-Le^a 为临床 3 大主要不规则抗体 ,应根据抗体种类与性质选择不同检测方法和条件。足够重视临床意义较大的低频抗体。筛供与患者相同抗原之血液 ,可减少和避免输血不良反应的发生 ,特别是 HTR 与 HDN。

参 考 文 献

- [1] 刘敬闪 ,戚海 ,何路军 ,等. 献血者 ABO 血型正反定型不符情况分析 ,临床血液学杂志 2013 26(6) :842-843.
- [2] 于笑雅 ,周雪莹 ,兰炯采 ,等. 输血前 3 项试验在疑难配血工作中的应用 ,中国输血杂志 2013 26(1) :5-6.
- [3] 曹国平 ,罗云 ,丁婧 ,等. 泰兴地区人群中 MN 及 P 血型表型分布频率调查 ,中国输血杂志 2014 27(1) :75-76.
- [4] 黄靓 ,魏晴 ,代方 ,等. 通过母体标本确认抗-M 导致新生儿溶血病 1 例 ,中国输血杂志 2010 23(9) :747-748.
- [5] 刘婧婧 ,白连钧 ,甘佳. 抗-E、抗-S、抗-Jk^a 引起交叉配血不合 1 例报告 ,北京医学 2012 34(5) :391-392.
- [6] 周晓阳. 抗体筛查检出抗-S11 例 ,中国输血杂志 2010 23(3) :219-220.
- [7] 陆紫敏 ,祖亚钧 ,梁萍 ,等. RhE 抗原分布与临床输血关系的研究 ,临床血液学杂志 2012 34(8) :479-481.
- [8] Geoff Daniels(UK) ,Human Blood Groups 朱自严主译 ,北京:科学出版社 2007 ;171-176 66-75 388-393 409-416.
- [9] 李维 ,廖红文 ,段恒英 ,等. 检出罕见的抗-Di^a 及抗-E 联合抗体 1 例 ,中国输血杂志 2012 34(10) :1040-1042.

(2014-10-11 收稿 2015-04-10 修回)

本文编辑:李弘武