

不同方法检测抗-M抗体效果分析比较

韦彩珍¹, 陈宇强², 廖思宇³, 朱诗漫³, 王荣^{3*}

(1. 玉林市第一人民医院输血科, 玉林 537000; 2. 玉林市第一人民医院检验科, 玉林 537000;
3. 右江民族医学院附属医院输血科, 百色 533000)

摘要: **目的** 分析不同方法检测抗-M抗体对检测结果的影响。**方法** 收集抗筛阳性标本且抗-M初筛阳性的标本, 分别用试管法和微柱凝胶法在不同温度下将阳性标本进行普细胞实验, 对不同方法检出抗-M抗体的检出率进行分析。**结果** 在4°C条件下, 试管法和微柱凝胶法检测抗-M抗体的检出率均为92.31%, 在37°C条件下, 试管法检测抗-M的检出率为38.46%, 微柱凝胶法检测抗-M检出率为61.54%。**结论** 4°C条件下, 两种方法检测抗-M抗体灵敏度均高于37°C, 而在37°C时, 微柱凝胶法检测灵敏度高于试管法。玉林地区抗-M检出率较高, 应结合两种不同方法在不同温度条件下检测抗-M, 提高抗-M抗体的检出率, 减少输血不良反应的发生。

关键词: 抗-M抗体; 盐水法; 微柱凝胶法; 反应温度

0 引言

MNS血型系统是第二个被发现的血型系统, 其相应的抗体易引起输血反应^[1]。目前已证实的抗原共有46个, 我国汉族人群中约45%~50%含有M抗原^[2]。MNS血型系统的复杂性排在Rh系统之后^[3], 因而也应重视MNS系统的同种抗体^[4]。抗-M、抗-N、抗-S都属于MNS血型抗体, 抗-M抗体较为常见^[5]。抗-M最佳反应温度是4°C, 多数抗M抗体低于37°C下发生反应, 很容易漏检IgG类抗M^[6]。随着现代输血技术水平的不断提高, 输血前抗体筛查阳性率较过去升高不少, 抗-M抗体检出比例在近年来也在逐年增加。本文旨在分析在不同反应温度条件下使用不同方法鉴定抗-M抗体的灵敏度, 将对指导临床输血实验室鉴定抗-M抗体提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选择2023年1月至2023年12月玉林市第一人民医院抗筛阳性标本290例, 抗-M初筛阳性13例(男性4例, 女性9例)。

1.2 试剂与仪器

人不规则抗体检测用3%红细胞试剂盒(奥森多医疗器械贸易(中国)有限公司, 批号3SS403Z); 普细胞(上海血液生物医药有限责任公司, 批号20231116); 血液分析用稀释液(奥森多医疗器械贸易(中国)有限公司, 批号280731); 抗人球蛋白试剂(上海血液生物医药有限责任公司, 批号20235001);

微柱凝胶试剂卡(奥森多医疗器械贸易(中国)有限公司, 批号AHC333J); 抗-M血清试剂(上海血液生物医药有限责任公司, 批号20231221); 2-Me应用液(上海血液生物医药有限责任公司, 批号20227701); 低速离心机(北京白洋医疗器械有限公司, 型号BY-400C型); 久保田KA-2200血清学离心机(日本Kubota); 血型卡离心机(YZB/USA1763-2008, 美国强生); 微柱凝胶卡孵育器(美国强生BIOVUE); 精密三用恒温水箱(HH600-2B, 上海比朗国仪器有限公司)。

1.3 操作方法

直接抗人球试验: 将抗-M初筛阳性标本红细胞经三次洗涤后制成3%~5%红细胞悬液, 将2滴直接抗人球蛋白试剂加入玻璃试管中, 再加入3%~5%红细胞悬液1滴, 混匀, 放入血清学离心机离心15s, 轻摇试管观察是否有凝集, 镜下观察并记录结果。

自身抗体试验: 取一支试管, 加入2滴患者血清, 再加入1滴患者3%~5%红细胞悬液, 混匀, 离心15s, 轻摇试管观察凝集情况, 并镜下观察记录结果。

试管法普细胞检测抗-M抗体: 取10支试管, 依次编号, 在试管中加入2滴患者血清, 再按编号试管中依次加入相应序号的普细胞1滴, 混匀, 1000g离心15s, 轻摇试管观察凝集情况, 并记录结果。将试管放置在4°C冰箱30min, 混匀, 1000g离心15s, 轻摇试管观察凝集情况, 并记录结果。再将试管放置在37°C水浴箱30min, 混匀, 1000g离心15s, 观察凝集情况, 并记录结果。

基金项目: 国家自然科学基金(62341210)

第一作者: 韦彩珍, 主管技师, 研究方向为输血检验研究。

* 通信作者: 王荣, 博士, 副教授, 主管技师, 研究方向为输血检验研究。E-mail: rongwang50@163.com

微柱凝胶法检测抗-M 抗体: 将抗人球蛋白检测卡编号, 加入 50 μL 血液分析用稀释液, 加入 40 μL 患者血清, 再加入 20 μL 普细胞, 重复 2 次以上步骤, 分别将加好反应物的抗人球蛋白检测卡放入 4°C 环境和 37°C 孵育器 30 min, 最后放入血型卡离心机离心, 记录结果。

抗-M 抗体性质检测: 取 1 mL 患者血清与 1 mL 的 2-Me 应用液加入试管中, 以 1:1 的比例混合, 放置在 37°C 水浴箱 30 min, 用以破坏 IgM 抗-M 抗体, 先在微柱凝胶检测卡中加入 40 μL 的 2-Me 处理后的患者血清, 再加入 20 μL 试剂普细胞, 在 37°C 孵育器中孵育 30 min, 放入血型卡离心机离心, 记录结果。

MN 分型: 在 2 支试管中, 分别加入 2 滴抗-M 试剂、2 滴抗-N 试剂, 再各加入患者悬浮红细胞 1 滴, 混匀, 1000 g 离心 15 s, 观察并记录结果。

2 结果与分析

2.1 直接抗人球试验和自身抗体实验

13 例抗-M 初筛阳性的样本其直接抗人球试验和自身抗体实验均为阴性, 说明自身抗体没有被包在患者红细胞表面(如图 1~2)。

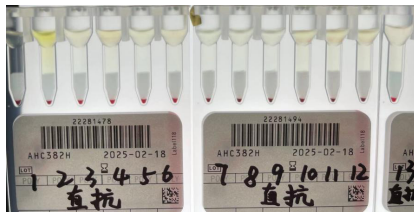


图 1 13 例抗-M 初筛阳性样本直接抗人球试验结果

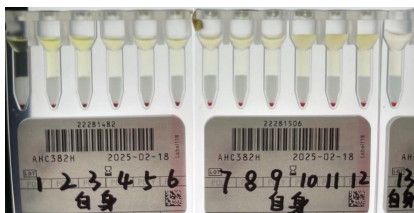


图 2 13 例抗-M 初筛阳性样本自身抗体试验结果

2.2 试管法普细胞检测抗-M 抗体

其中 4°C 条件下, 抗-M 抗体检出 12 例, 检出率为 92.31%。37°C 条件下, 抗-M 抗体检出 5 例, 检出率为 38.46%。在试管法中, 在 4°C 条件下抗-M 抗体检出率明显高于 37°C 条件下的检出率(如图 3)。

2.3 微柱凝胶法检测抗-M 抗体

在 4°C 条件下, 抗-M 抗体检出 12 例, 检出率为 92.31%。37°C 条件下, 抗-M 抗体检出 8 例, 检出率为 61.54%。在微柱凝胶法检测抗-M 抗体时, 4°C 条件下抗-M 抗体检出率高于 37°C 条件下的检出率(如图 4)。

2.4 抗-M 抗体性质检测

经 2-Me 应用液处理后的血清, 用微柱凝胶法检测 IgG 抗-

M, 其中, 有反应性的标本为 8 例, 检出率为 61.54%。其中 7 例为 IgM+IgG 类, 1 例为单纯 IgG 类抗体(如图 5)。

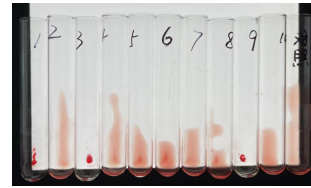


图 3 试管法普细胞检测抗-M 抗体结果

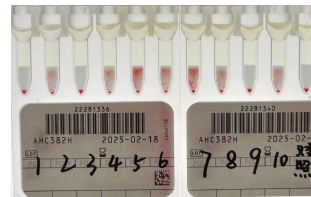


图 4 微柱凝胶法检测抗-M 抗体结果

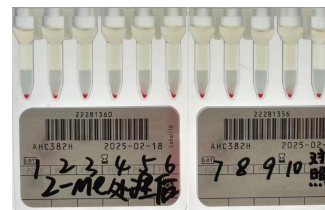


图 5 经 2-Me 处理后用微柱凝胶法检测 IgG 抗-M 结果

2.5 MN 分型

研究中 13 例样本 MN 分型都是 NN 型(见表 1)。

表 1 结果分析: 13 例试管法初筛抗-M 阳性标本中, 单纯 IgM 类抗-M 有 5 例, 编号为 1、3、5、7、9, 单纯 IgG 类抗体有 1 例, 其编号为 4, IgM+IgG 类 7 例, 编号为 2、6、8、10、11、12、13, 同时存在 IgM 和 IgG 类抗体占 53.85%, 低于以往报道的 78%^[7]。在 4°C 条件下, 试管法与微柱凝胶法检测出抗-M 抗体 12 例, 4 号(单纯 IgG 类)标本使用两种方法均未检出。

表 1 13 例抗-M 初筛阳性样本实验室检测结果

编号	试管法		微柱凝胶法			MN 分型	直抗	自身
	4°C	37°C	4°C	37°C	(2-ME 破坏后) 37°C			
1	+	0	+	0	0	NN	0	0
2	+	+	+	+	+	NN	0	0
3	+	0	+	0	0	NN	0	0
4	0	0	0	+	+	NN	0	0
5	+	+	+	0	0	NN	0	0
6	+	+	+	+	+	NN	0	0
7	+	0	+	0	0	NN	0	0
8	+	+	+	+	+	NN	0	0
9	+	0	+	0	0	NN	0	0
10	+	+	+	+	+	NN	0	0
11	+	0	+	+	+	NN	0	0
12	+	0	+	+	+	NN	0	0
13	+	0	+	+	+	NN	0	0

注: + 表示阳性, 0 表示阴性。

3 讨论与结论

通常情况下盐水试管法只能检测出 IgM 类抗体^[7],虽然有研究称,室温条件下,试管盐水法也会有少数的 IgG 类抗-M 产生凝集^[8],但是仅用试管法检测会导致 IgG 类抗-M 抗体漏检。抗人球蛋白添加在微柱凝胶卡中,可以检出 IgG 类抗体,因此,试管法与微柱凝胶法结合,可检出不同类型的抗体,提高了抗-M 抗体的检出率。

大多数抗-M 抗体对温度较为敏感,最佳反应温度为 4℃,25℃ 反应变弱,37℃ 反应减弱甚至没有活性^[7],本次研究中,结果为单纯 IgG 类抗体的标本有 1 例,4℃ 时在试管法和微柱凝胶法中均未检出,而 37℃ 微柱凝胶法呈阳性反应,因此,虽然 4℃ 条件下试管法与微柱凝胶法的检出率已经很高了,但是仍不能忽视 37℃ 微柱凝胶法,以免漏掉单纯 IgG 类抗-M 抗体的检出。

抗-M 抗体大多数是 IgM 类抗体,少数是 IgG 类,IgG 类抗-M 抗体的产生多数由妊娠刺激或输血产生,可引起较为严重的输血反应^[8]。国内外都曾有报道过抗-M 抗体引起的溶血性输血反应的案例^[9]。有活性的 IgG 类抗-M 可以通过胎盘屏障引起严重的新生儿溶血病^[10]。抗-M 最佳反应温度是 4℃,其在 4~20℃ 时具有反应活性,通常情况下,输血过程中不会产生输血反应^[11],若病患在低温麻醉状态下手术时,此类有活性的抗体可激活补体造成溶血反应^[12]。陆琼^[13]等指出,4℃ 冷反应性的抗-M 抗体也会引起新生儿溶血病。如果将含有相应抗原的红细胞给抗筛阳性的患者输注,在补体的作参与下可导致红细胞溶解,甚至危及患者生命^[14]。若是这类抗体能够提前检测出则可以降低临床输血不良反应的风险^[15]。因而,在输血前能够正确检测出抗体对临床输血安全十分重要。在条件容许的情况下,应选择抗原阴性且交叉配血相合的血液输注。

因抗-M 抗体具有冷反应性盐水凝集的特性,会对血型鉴定造成干扰,导致配血困难^[16]。有研究发现,大多数含有抗-M 抗体在做血清学检验时,环境温度低于 37℃ 均可能有反应^[17]。血型鉴定是安全输血的基础,能够正确鉴定出患者的血型在临床安全输血中至关重要。在本次研究中,共有 3 例因抗-M 抗体冷反应性盐水凝集的特性而导致的疑难血型。依笔者经验,此类疑难血型需将患者红细胞用 37℃ 盐水洗三遍,将患者血清 37℃ 洗孵育 30 min,用盐水试管法即可鉴定出患者血型。本研究中有 1 例消化道出血的患者因其多次输注了 M 抗原阴性的血液,导致该患者抗-M 抗体效价较弱,在 4℃ 盐水普细胞时减弱,但做加量血清后,可在 4℃ 盐水普细胞实验中看到凝集加强。

本研究收集了玉林地区典型的临床病例进行分析总结,但收集数据时间较短,病例数较少,且并未做 25℃ 条件下试管法与微柱凝胶法结果对照。下一步还需增加 25℃ 温度条件下做试管法、微柱凝胶法的比较。随着近年来抗-M 抗体引起的新生儿溶血病的病例有明显增多,接下来笔者也将关注抗-M 抗体导致的新生儿溶血病的病例分析。

通过本次研究结果发现,4℃ 条件下,两种方法检测抗-M

抗体灵敏度均高于 37℃,而在 37℃ 时,微柱凝胶法检测灵敏度则高于试管法。但无论是试管法还是微柱凝胶法都会存在漏检的概率,因此在做检测抗体时应在不同温度条件下同时使用试管法与微柱凝胶法以减少抗体的漏检,达到临床输血安全的目的。

参考文献

- [1] 张良子,左琴琴,张泳,等.1779 例疑难配血患者意外抗体分布特征及输血策略分析[J].中国输血杂志,2022,35(09):963-966.
- [2] 高峰.临床输血与检验 2 版[M].北京:人民卫生出版社,2007:72-73.
- [3] KHALID S, DANTES R, VARGHESE S, *et al*. Naturally occurring anti M complicating ABO grouping [J]. Indian J Pathol Microbiol, 2011, 54(01): 170-172.
- [4] 于洋,王旖,孙晓琳,等.1994-2013 年中国患者人群红细胞同种抗体阳性率及特异性分析.中国实验血液学杂志[J].2015, 23(06):1734-1741.
- [5] 涂业桃.抗-M抗体对ABO血型鉴定的影响[J].国际检验医学杂志,2016,37(17):2461-2463.
- [6] 顾松,王亚娟,林影,等.MN与Rh系统新生儿溶血病的临床特点比较[J].中华围产医学杂志,2016,19:284-288.
- [7] 严洁婷,丁梦圆,许学明,等.抗-M抗体检测方式及临床意义研究[J].交通医学,2021,35(04):389-391.
- [8] 燕备战,孔存权,朱伟彦,等.不规则抗体中抗-M的检测及意义[J].临床血液学杂志(输血与检验),2016,29(01):99-102.
- [9] 张进,郑月明.免疫性抗-M引起迟发性溶血性输血反应一例[J].中国输血杂志,1992,5(03):144-146.
- [10] YASUDA H, OHTO H, NOLLET KE, *et al*. Hemolytic disease of the fetus and newborn with late-onset anemia due to anti-M: a case report and review of the Japanese literature [J]. Transfus Med Rev, 2014, 28(01): 1-6.
- [11] SONI SK, GOYAL H, SOOD SK, *et al*. Anti-m antibody in solid tumors-tow case reports [J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2014, 30: 49-53.
- [12] 刘凤霞,刘竞,屈琳,等.抗-M引起血型鉴定困难、交叉配血不合 1 例[J].中国输血杂志,2011,24(08):707-708.
- [13] 陆琼,蔡晓红,范亮峰,等.IgG冷反应性抗-M引起的新生儿溶血病 1 例[J].中国输血杂志,2014,27(08):889-891.
- [14] 陈敏洁,曹锁春,许飞,等.抗-Ec合并抗-M抗体致疑难配血实验分析[J].检验医学与临床,2020,17(03):430-432.
- [15] 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(01):74-77.
- [16] 黄文娟,刘不尽,蒋玉林,等.静脉注射人免疫球蛋白对输血相容性试验的影响[J].检验医学与临床,2022,19(13):1778-1780.
- [17] 魏典典,曹丛雪,李帅.抗-M抗体对血型鉴定、输血相容性检测及临床输血的影响[J].深圳中西医结合杂志,2023, 33(14):73-76.