

· 论 著 ·

# 深圳地区无偿献血者不规则抗体筛查结果分析

郑楚忠<sup>1</sup>, 唐万兵<sup>1</sup>, 郑望春<sup>2△</sup>, 方 瑛<sup>2</sup>

(1. 广东省深圳市龙岗区人民医院输血科, 广东深圳 518172; 2. 深圳市龙岗区中心血站, 广东深圳 518172)

**摘 要:**目的 对该地区无偿献血者的不规则抗体进行回顾性分析, 以期发现其中的规律, 确保临床输血安全和有效。方法 收集 2011 年 2 月至 2012 年 12 月深圳地区 169 860 例无偿献血者的标本, 用特定抗原的红细胞, 通过盐水法检测不规则抗体, 阳性标本由血型室鉴定抗体特异性。结果 169 860 份无偿献血者不规则抗体阳性 36 例(0.021%), 其中抗-M 阳性 12 例, 抗-D 阳性 4 例, 抗-P<sub>1</sub> 阳性 1 例, 抗-A<sub>1</sub> 阳性 2 例, 冷抗体 1 例, 抗-M 合并其他不规则抗体 1 例, 未知其特异性抗体 15 例; 男性不规则抗体阳性率 0.013%(15/118 723), 女性不规则抗体阳性率 0.041%(21/51 137)。结论 女性的献血者不规则抗体的阳性率高于男性献血者, 且该地区的献血者不规则抗体阳性检出率偏低, 需要结合其他不规则抗体的检出方法, 提高其检出率, 确保输血的安全有效。

**关键词:**不规则抗体; 检出率; 无偿献血者  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.024 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)12-1693-03

## Analysis of irregular antibody screening results of voluntary blood donors in Shenzhen

Zheng Chuzhong<sup>1</sup>, Tang Wanbing<sup>1</sup>, Zheng Wangchun<sup>2△</sup>, Fang Ying<sup>2</sup>

(1. Department of Blood Transfusion, Longgang District People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518172, China; 2. Blood Center of Longgang District, Shenzhen, Guangdong 518172, China)

**Abstract:** **Objective** To retrospectively analyse the irregular antibodies of the local blood donors, in order to find the rules, To ensure the safety and effectiveness of clinical blood transfusion. **Methods** Collected 169 860 blood donors specimens with the specific antigen of red blood cells in Shenzhen area from February 2011 to December 2012, through Brine method for detection of irregular antibodies, positive samples would be identified the specificity of antibodies in blood typing department. **Results** 169 860 healthy blood donors of irregular antibodies were positive in 36 cases(0.021%), with 12 cases anti-M, 4 cases anti-D, 1 case anti-P<sub>1</sub>, 2 cases anti-A<sub>1</sub>, 1 case of cold antibody, anti-M with other irregular antibody in 1 cases; Male irregular antibody positive rate was 0.013% (15/118 723), female irregular antibody positive rate was 0.041% (21/51 137). **Conclusion** The positive rate of irregular antibody in female blood donors is higher than male blood donors, and the positive rate of irregular antibody of blood donors is low in this area, which need to be combined with other irregular antibody detection method to improve the detection rate and ensure the safety and effective of blood transfusion.

**Key words:**irregular antibody; detection rate; voluntary blood donor

不规则抗体是指抗-A、抗-B 或抗-AB 以外的抗体, 红细胞血型不规则抗体可以由多次、大量输血或者妊娠等免疫产生, 是引起溶血性输血反应的主要原因之一。2002 年我国由血型抗原抗体免疫因素引起的输血反应占 12.6%, 其中溶血反应的发生率为 2.56%, 高于西方发达国家, 相当于美国 20 世纪 80 年代水平<sup>[1]</sup>。它也能引起血型鉴定困难、相容性配血难通过、新生儿溶血病(HDN)。正常情况下在血液中不存在不规则抗体, 但母婴血型不合的妊娠或输注血液制品的免疫刺激均可诱导产生不规则抗体<sup>[2]</sup>。患者输入含有不规则抗体的血液, 有可能发生溶血性输血反应, 甚至发生危及生命的重大事件, 因此为无偿献血者做不规则抗体筛查, 对确保临床安全和有效的输血具有重要的临床意义。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2011 年 2 月至 2012 年 12 月本地区无偿献血者的标本, 总共有 169 860 人次, 其中男性 118 723 人次, 女性 51 137 人次。

**1.2 仪器与试剂** Xantus 全自动加样仪(瑞士 Sias 公司生

产); KA-2200 型离心机(日本 Kubota 公司生产); 96 孔 U 型板(苏州康容生物医疗科技有限公司生产); 稳固板式振荡混匀器(德国 Heidolph Titramax 公司生产); VORTEX-Gel 漩涡振荡器(美国 VORTEXGENIE 公司); 电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司生产)。抗-C、抗-c、抗-E、抗-e、抗-A、抗-B 标准血清, 筛选细胞(含有常见的 D, C, E, c, e, M, N, S, s, P<sub>1</sub>, Lea, Leb, K, k, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup> 抗原)和谱细胞(上海血液生物医药公司生产); 间接抗人球蛋白试剂由不同克隆株的 IgG 和 IgM 抗-D 组成(美国 Immucor 公司生产)和另外一种 IgG 抗-D(上海血液生物医药公司生产), 以上试剂全部在有效期内使用。

### 1.3 方法

**1.3.1 盐水法不规则抗体筛查** 用 Xantus 全自动加样仪在 U 型板上每孔加上献血员血浆 100 μL, 然后每孔加入 2% 筛查红细胞 50 μL, 振荡混匀, 1 000 r/min 离心 1 min, 放置室温(22~24 ℃)温育 15~30 min, 观察结果<sup>[3]</sup>, 其中出现凝集为阳性, 不凝集为阴性。

**1.3.2 间接抗人球蛋白试验** 取试管 3 支,被检管(血清 2 滴+5%受检红细胞 1 滴),阳性对照管(不完全抗 D 血清 2 滴+5%D 阳性红细胞悬液 1 滴),阴性对照管(AB 型血清 2 滴+5%D 阳性红悬液 1 滴),混匀,37℃水浴 1 h,生理盐水洗涤 3 次。最后 1 次将上清除尽,并用滤纸将附于试管的盐水吸去,每管各加上生理盐水 1 滴,混匀,每管各加合适浓度的抗人球蛋白血清 1 滴,混匀,1 000 r/min 离心 1 min,观察结果<sup>[3]</sup>,结果判定为出现凝集阳性,不凝集为阴性。

**1.3.3 不规则抗体特异性的鉴定** 对于不规则抗体筛查阳性的标本,由血型室先按盐水不规则抗体的筛查方法,用谱细胞进行不规则抗体的特异性鉴定,对于盐水未出现相应格局的标本,接着按间接抗人球蛋白的方法鉴定其特异性。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 软件进行数据处理,不规则抗体检出率比较用  $\chi^2$  检验,  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 不规则抗体阳性情况** 169 860 份血液标本,有 36 份是阳性,阳性率为 0.021%;其中男性标本阳性为 15 份,阳性率为 0.013%,女性标本阳性为 21 份,阳性率为 0.041%,男女不规则抗体阳性率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.2 不规则抗体的分布情况** 36 例不规则抗体中,抗-M 所占比例最高为 36.1%(13/36),其次抗-D 占 11.1%(4/36),抗-A<sub>1</sub>、抗-P<sub>1</sub>、冷抗体各有 1 例,各占 2.8%(1/36),其他未知特异性的抗体 41.6%(15/36),见表 1。

表 1 169 860 液标本的不规则抗体的筛查结果

| 不规则抗体类型          | 所占比例(/10 万) | <i>n</i> | 占百分比(%) |
|------------------|-------------|----------|---------|
| 抗-M              | 7.06        | 12       | 33.3    |
| 抗-D              | 2.35        | 4        | 11.1    |
| 抗-A <sub>1</sub> | 1.17        | 2        | 5.6     |
| 抗-P <sub>1</sub> | 0.58        | 1        | 2.8     |
| 冷抗体              | 0.58        | 1        | 2.8     |
| 抗-M 合并其他的抗体      | 0.58        | 1        | 2.8     |
| 未知特异性抗体          | 8.83        | 15       | 41.6    |
| 合计               | 21.19       | 36       | 100.0   |

## 3 讨 论

深圳地区 169 860 例无偿献血者的样本发现不规则抗体的检出率仅为 0.021%,明显低于其他研究结果(0.3%~2%)报道,但是和研究者相同初筛方法的同行报道是相一致<sup>[4-5]</sup>。可能是由于本调查的不规则抗体初筛方法学的原因,由于初筛所采用的盐水法,其只能检测出 IgM 类抗体,导致部分 IgG 类不规则抗体的漏检,还有对无偿献血员的献血前的征询时会婉拒以往有献血史的人员,导致此次调查不规则抗体检出率比普通人群检出率低。

本研究结果显示,女性不规则抗体阳性率明显高于男性,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。这可能由于女性有孕产史刺激机体所产生不规则抗体。所以对有孕产史和输血史的妇女进行常规的不规则抗体检测就很有必要,特别检测出针对丈夫的红细胞血型抗原的 IgG 类不规则抗体,可以提前采取措施,有效避免新生儿溶血病的发生,避免引发胎儿水肿、黄疸、贫血和肝脾肿大,甚至并发核黄疸<sup>[6]</sup>。

从本研究结果检出的抗体特异性来看,有 Rh, MNSs, P, ABO 系统和其他未知特异性的抗体,其中 MNSs 系统中的抗-M 最多,达到了 13 例,而大多数抗-M 和抗-N 在 37℃不反应,也无临床意义,见表 1。在平常的输血中可以不考虑它们,如果相容性试验和抗体筛选试验不是在室温孵育的话,就检测不到它们,但是有时抗-M 在 37℃也有活性,导致配血不相容。虽然由抗-M 引起的 HDN 很罕见,但已有报道一例高效价的 IgG 加上 IgM 抗-M 引起新生儿纯红细胞发育不全,并导致培养基中红系细胞增殖减少<sup>[7]</sup>。虽然抗-Leb,抗-M,抗-P<sub>1</sub>这类冷抗体很少在 37℃有活性,一般在体内不引起溶血反应,但是患者在低温麻醉状态下手术时,此类抗体可以激活补体,当机体的体温在冷抗体最适时,可发生溶血反应。而对于检出率第二的抗-D,人们已经意识到加强对其检测的重要性,因为 Rh 系统 5 种抗原的免疫性从强到弱依次为 D、E、C、c、e,其中以抗-E 最多。抗原的免疫原性越大,产生抗体的可能性就越大。在种族分布中的阳性和阴性比例越接近,产生抗体的机会也就会越多。而 E 抗原的免疫原性仅次于 D 抗原,但是 D 抗原者在我国汉族人中分布频率为 0.996,而 E 为 0.47。所以临床上溶血性输血反应以抗-E 为最多,而抗-D 占次位<sup>[8]</sup>。现在笔者本地区的基层医疗单位孕产妇基本都对 Rh(D)阴性人员进行常规检的不规则抗体检测,并对发现效价高的人员进行产前干预,避免了不少由其引起的 HDN。虽然现在不少医院对 Rh(D)抗原进行常规检测,并采取 Rh(D)阴性的同型血进行输注,但却未对 Rh(E)、C、c、e 阴性患者输注同型血,从而刺激机体产生抗体,引发迟发型溶血性输血反应<sup>[9]</sup>。

检测不规则抗体另一个重要的意义,就算是不规则抗体筛查阴性的患者输入交叉配血相合的血液,仍有可能发生溶血性输血反应,主要原因为体内产生的不规则抗体随时间的推移,抗体水平下降至检测不出来,若再次输入相应抗原阳性的血液制品可刺激机体快速产生“回忆性”抗体,引起溶血性输血反应,所以及时进行不规则抗体筛查,可帮助查找溶血性输血反应的原因。在实际工作中如果不规则抗体检测阳性,加上直接抗人球蛋白试验结果也是阳性,比如某些血液病、自身免疫性疾病。由于自身红细胞已经致敏,或者说红细胞处于被吸附的状态,同时此类患者可能还存在同种异型抗体,导致在紧急输血时出现交叉配血困难,无法给患者及时供血<sup>[10-11]</sup>。对预期需要输血的患者要至少提前 1 d 进行不规则抗体的检测,以便有充足的时间鉴定患者体内抗体的特异性而准确的找到相应血液进行交叉配血<sup>[12-13]</sup>。常用的配血方法有两种:酶介质法和抗人球蛋白介质法,而笔者所在单位也对预期需要输血的患者和孕产妇进行常规的备血,从而对不规则抗体阳性或者其他原因导致配血困难的患者提前做好准备,避免由于无法及时输血导致的医疗事故。

综上所述,无偿献血过程中必须进行献血人员的不规则抗体检测,并建立基于计算机系统的献血人员的不规则抗体的类型、频率以及有些稀有血型的资料库,鉴于初筛方法只能查出 IgM 抗体,可以通过其他如酶法、抗人球蛋白方法、凝聚胺等方法来提高不规则抗体的检出率,因这些无偿献血者也可能成为以后的受血者,这能为临床输血安全准确找到合适的血源提供了依据,节省了抗体鉴定的时间,为抢救生命赢得宝贵的时间,并能政府部门制定输血相关政策提供依据,使临床输血更加安全和有效。

果基本一致,进一步证实 Foxp3 水平的升高,导致机体抗肿瘤免疫功能降低,可能是血液系统肿瘤发生发展的重要因素。另外 Treg 数量升高导致机体抗肿瘤免疫作用减弱,不仅可以很好的解释为什么恶性血液病患者机体免疫力低、预后差,还说明 Treg 可成为治疗血液肿瘤的一个新靶点。再生障碍性贫血(AA)患者存在 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群失衡、Th1 细胞数量异常及功能亢进。Moon 等<sup>[12]</sup>研究发现,AA 患者外周血和骨髓中 Treg 数量明显低于健康人,并且与 AA 发病及疗效具有相关性。研究者选择了 AA 中病程最为恶劣的 SAA 病例 20 例进行观察,发现较对照组其 Foxp3 表达水平降低,推测正是因其低水平而导致免疫抑制功能减弱,致使自身免疫性 T 细胞活化增强而使自身免疫应答增强,破坏造血细胞生成而引起骨髓造血功能衰竭乃至停滞。

尽管以往诸多研究对 STAT5 和 Foxp3 的表达及其在致病过程中的作用进行了大量探索,但尚未见将两者结合运用蛋白磷酸化流式细胞术进行定量相关性分析的先例。目前,蛋白磷酸化流式细胞分析技术的应用为揭示病理的信号通路提供了一种可靠的方法<sup>[13]</sup>。本研究将 STAT5 和 Foxp3 在 AL、CL、MDS、SAA 的表达量分别作了相关性分析,结果都显示两者呈正相关关系,这对于这几类恶性血液病的临床诊断与治疗具有重要的潜在意义,同时进一步证实了 STAT5 的激活或抑制致 Foxp3 表达改变而致病的机制<sup>[2]</sup>。至于 STAT5 是通过何种机制调节 Foxp3 的,是进一步深入研究的方向,但现在至少有理由相信,类似 STAT5 和 Foxp3 调节剂等新型药物的研制将会在恶性血液病的分子水平治疗方面取得新的进展。

参考文献

[1] Lim J, Jeong SJ, Koh W, et al. JAK2/STAT5 signaling pathway mediates Bojungbangdocktang enhanced hematopoiesis[J]. *Phytother Res*, 2011, 25(3): 329-337.

[2] Ogawa C, Tone Y, Tsuda M, et al. TGF-beta-mediated Foxp3 gene expression is cooperatively regulated by Stat5, Creb, and AP-1 through CNS2[J]. *J Immunol*, 2014, 192(1): 475-483.

[3] Tam WF, Hahnel PS, Schuler A, et al. STAT5 is crucial to maintain leukemic stem cells in acute myelogenous leukemias induced

by MOZ-TIF2[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(1): 373-384.

[4] Heltemes-Harris LM, Willette MJ, Ramsey LB, et al. Ebf1 or Pax5 haploinsufficiency synergizes with STAT5 activation to initiate acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(6): 1135-1149.

[5] Theodorou M, Speletas M, Mamara A, et al. Identification of a STAT5 target gene, Dpf3, provides novel insights in chronic lymphocytic leukemia[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): 76155.

[6] Warsch W, Grundschober E, Berger A, et al. STAT5 triggers BCR-ABL1 mutation by mediating ROS production in chronic myeloid leukaemia[J]. *Oncotarget*, 2012, 3(12): 1669-1687.

[7] 刘炳楠, 付蓉, 王化泉, 等. 骨髓增生异常综合征患者骨髓 CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> CD123<sup>+</sup> 细胞内 STAT5 磷酸化水平变化[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(6): 480-483.

[8] Memarian A, Nourizadeh M, Masoumi F, et al. Upregulation of CD200 is associated with Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell expansion and disease progression in acute myeloid leukemia[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(1): 531-542.

[9] 蒋黎敏, 徐翀, 傅启华. 骨髓中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>(high)</sup> Foxp3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞与儿童急性 B 淋巴细胞白血病的关联性研究[J]. *检验医学*, 2012, 27(7): 601-605.

[10] Rojas JM, Wang L, Owen S, et al. Naturally occurring CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> T-regulatory cells are increased in chronic myeloid leukemia patients not in complete cytogenetic remission and can be immunosuppressive[J]. *Exp Hematol*, 2010, 38(12): 1209-1218.

[11] 吴小建, 黄芳媚, 王勇. 骨髓增生异常综合征患者 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞、调控基因 FOXP3 的表达及意义[J]. *实用临床医学*, 2010, 11(1): 5-7.

[12] Moon HW, Kim BH, Park CM, et al. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> FoxP3<sup>+</sup> regulatory T-cells in hematologic diseases[J]. *Korean J Lab Med*, 2011, 31(4): 231-237.

[13] 李华梅, 曾意茹, 陈福雄, 等. 磷酸特异化流式细胞术检测骨髓白血病细胞磷酸化信号蛋白的实验研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(5): 1176-1179.

(收稿日期: 2015-02-15)

(上接第 1694 页)

参考文献

[1] 刘达庄, 朱俊, 朱自严, 等. 免疫性输血反应的调查及预防研究[J]. *中国输血杂志*, 2002, 15(3): 159-161.

[2] 池泉, 郭永健, 田兆嵩. 红细胞血型抗体与输血安全[J]. *中国输血杂志*, 2008, 21(8): 649-654.

[3] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 260-261.

[4] 蒋丽华, 韦海春, 黎海澜. 妇幼医院开展不规则抗体筛查的价值和意义[J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 19(16): 2037-2039.

[5] 黄金环, 梁义安, 周先果. 献血者不规则抗体分析[J]. *中国输血杂志*, 2011, 24(6): 516-517.

[6] 杨慧, 赵建萍. 有妊娠史女性患者的不规则抗体筛查[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(6): 1450-1451.

[7] 杰夫·丹尼尔. 人类血型[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 172-173.

[8] 赵玉河, 高冀辉, 王吉寿, 等. 微柱凝胶实验检测受血者不规则抗体分析[J]. *临床血液学杂志: 输血与检验版*, 2007, 4(1): 30-31.

[9] 高峰. 输血与输血技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 68-93.

[10] 杨世明, 张红丽, 张勇萍, 等. 自身免疫性溶血性贫血患者的血清学特性检测分析[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24(8): 834-835.

[11] 杨珊. 165 例患者不规则抗体筛选结果分析及临床意义[J]. *检验医学与临床*, 2010, 7(17): 1864-1865.

[12] 姚文. 交叉配血及安全输血的探讨[J]. *检验医学与临床*, 2010, 7(22): 2532-2533.

[13] 夏荣, 兰炯采. 重视红细胞输注无效, 提高临床输血效果[J]. *中国输血杂志*, 2008, 21(1): 5-8.

(收稿日期: 2015-04-10)