

• 案例分析 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 18. 036

罕见抗-M 鉴别分析:附 1 例报道*

邹 昕^{1,2},虞 茜^{1,2},马思飞^{1,2},杨红梅^{1,2△}

1. 江苏省常州市中心血站输血研究室,江苏常州 213004;2. 江苏省常州市
临床输血重点专科实验室,江苏常州 213004

关键词:抗-M; MNS 血型; 吸收放散实验; 基因测序
中图法分类号:R446. 6 文献标志码:C 文章编号:1672-9455(2023)18-2780-03

MNS 血型系统是第 2 个被发现的血型系统,目前大约包括 50 个抗原。抗-M 是较常见的“天然抗体”,国内有研究报道,产前抗体筛查中抗-M 被列为继 Rh 血型系统的第 2 位常见抗体,大多数抗-M 只在低于 37℃ 有反应,最适反应温度为 4℃^[1]。常州市中心血站在献血者筛查中发现 1 个特殊案例,血浆中存在一种罕见的抗-M,影响 ABO 血型鉴定,但这种抗-M 不与其自身 M 抗原阳性红细胞凝集。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 献血者,女,30 岁,江苏常州人,汉族,2022 年 4 月 12 日首次无偿献血,在常州市中心血站检验科筛查的过程中发现其 ABO 血型正定型为 B 型,反定型为 O 型,因正反定型不符送 EDTA 抗凝血和非抗凝血标本到常州市中心血站输血研究室进行血型鉴定。

1.2 仪器与试剂 日本久保田 KA-2200 血清学专用离心机;上海跃进医疗 37℃ 恒温水浴箱;强生 ORTHOTM Workstation 离心机。抗-A/B 单克隆抗体(批号:20201221)、抗-D (IgM) 单克隆抗体(批号:20201201104)、ABO 血型反定型红细胞(批号:20225309)、抗-M 和抗-N(批号:20211011、20200709)、2-Me(批号:20217701)、酸放散试剂盒(批号:20212101)均购自上海血液生物公司;抗体筛选细胞和谱细胞(批号:702205、732205)购自德国 CE 公司;抗人球蛋白卡(批号:AHC228H)购自强生公司;人源抗-M(批号:20220128)自制。

1.3 方法

1.3.1 血清学检测 用试管法进行 ABO、Rh 血型鉴定;用试管法、凝胶卡法进行直接抗球蛋白试验和不规则抗体筛查;应用谱细胞进行不规则抗体鉴定;用等比稀释法进行抗体效价检测。所有试验严格按照《全国临床检验操作规程》^[2] 及试剂说明书进行操作。

1.3.2 吸收放散试验 用生理盐水洗涤 3 次所需压

积细胞 1 mL(O 型分别为 MN 型、MM 型、NN 型红细胞以及自身红细胞),均加入等量受检血清混匀,放入 4℃ 冰箱吸收 60 min,其间摇动混匀 2~3 次,离心去上清液,然后用 4℃ 生理盐水洗涤 6 次,取第 6 次洗涤液作为对照,分别加入与红细胞等量的生理盐水,56℃ 水浴热放散 10 min,其间摇动混匀 2~3 次,离心取放散液,挑选相应的谱细胞进行检测。

1.3.3 MN 基因测序分析和序列比对 该实验部分由天津秀鹏公司完成。根据 GenBank 的 NG-007470 基因参照序列,使用 Oligo 软件自行设计 GYPA 基因第 2 外显子的上、下游引物,进行扩增,PCR 产物测序及序列比对。

2 结 果

2.1 ABO/MNS 血型血清学实验结果 该献血者血型正定型为 B 型,反定型结果显示血清与 A、B、O 细胞均为凝集状态,但与自身细胞无凝集,红细胞与单克隆抗-M 及人源抗-M 反应均有凝集,该献血者 MNS 血型见表 1。用经筛选出 M 阴性的 Ac、Bc、Oc 献血者红细胞做反定型,结果为 B 型。

2.2 直接抗球蛋白试验 多特异性抗球蛋白、抗-IgG、抗-C3d 均为阴性。

2.3 抗体鉴定 该献血者反定型结果提示其体内有不规则抗体,进一步进行抗体鉴定。其血浆与德国 CE 谱细胞(批号:732205)反应,在盐水、聚凝胺、抗球蛋白凝胶卡试管法中结果符合 IgM 型的抗-M。用酶处理细胞进一步进行抗体鉴定,实验结果均为阴性。为了排除 IgM 抗体的干扰,血清与等量的 2-Me 在 37℃ 孵育 30 min,继续抗体鉴定结果均为阴性。

2.4 吸收放散试验 将该献血者血浆分别用 O 型的 MM、NN 型红细胞以及自身红细胞吸收,该献血者的红细胞用人源抗-M 血清吸收,再进行热放散。放散液与相应的谱细胞(1、3、4 号)反应结果见表 2。

2.5 抗体效价测定 用纯合子 MM 型细胞作效价测定,试管法检测该抗-M 效价为 16。

2.6 MN 基因测序分析和序列比对 基因测序

* 基金项目:江苏省常州市卫健委青年人才项目(QN202133);江苏省常州市中心血站站级课题(xz202107)。
△ 通信作者,E-mail:yhmei83@126.com。

GYPA 第 2 外显子 59 位 C>T,71 位 G>A,72 位 T>G(均为杂合峰)。测序结果显示标本基因分型结果与血清学分型结果相符为 MN 型,碱基序列未发现异常突变。特征序列见图 1。

表 1 该献血者 ABO/MNS 血型血清学实验结果

反应条件	正定型			反定型				MNS 血型		
	抗-A	抗-B	抗-D	Ac	Bc	Oc	自身对照	抗-M	抗-N	人源抗-M
IS(立即离心)	0	4+	4+	4+	2+	2+	0	2+	2+	2+
37 ℃ 10 min				4+	0	0	0			

注:反定型 Ac、Bc、Oc 均为 M 阳性。

表 2 吸收放散试验结果

反应细胞	献血者的血清			献血者的红细胞
	用 MM 型细胞吸收后放散液	用 NN 型细胞吸收后放散液	用自身细胞吸收后放散液	用人源抗-M 血清吸收后放散液
谱细胞 4 号 MN 型	2+	0	0	2+
谱细胞 3 号 MM 型	2+	0	0	4+
谱细胞 1 号 NN 型	0	0	0	0
自身细胞 MN 型	0	0	0	2+

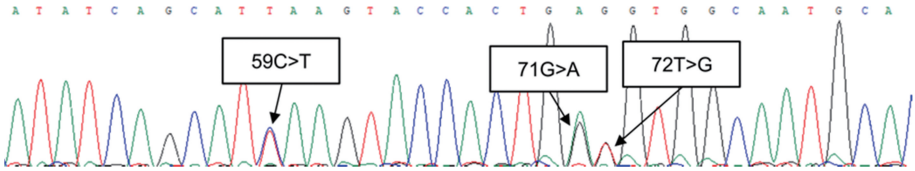


图 1 基因测序 GYPA 第 2 外显子结果

3 讨 论

类同种特异性自身抗体(简称类抗体),被认为具有明显红细胞同种抗体特异性,又能被该特异性抗原阴性的红细胞吸收的一类抗体,而真正的同种抗体仅能被抗原阳性的红细胞吸收^[3-5]。通常情况下,红细胞表面存在相关的抗原,而血浆中不应存在该抗原对应的抗体。该献血者血清在盐水介质中检测出明显特异性抗-M,自身有 M 抗原,与自身细胞不凝集,结果相矛盾不符合常理,因此排除类抗-M。有研究表明人类红细胞 MNS 血型中抗-M 的产生与 M 抗原是否存在没有必然关联,与相关基因 GYPA 的表达也无明显关联^[6-7],为了研究这个问题从两方面着手考虑:(1)该检测的抗体是否为抗-M;(2)该检测的抗原是否为 M 抗原。

笔者又用进口 Sanquin(批号:800451970)的 16 份谱细胞鉴定,再次证实该抗体有抗-M 特异性。有文献报道抗-M1 同样具有抗-M 特异性,研究发现早期的抗-M1 是在 NN 个体血清中和抗-M 一起被发现的,M1 只在 M 阳性红细胞上存在,抗原在非洲裔人群中频率高达 24%,而在白种人中频率为 4%^[8]。抗-M1 也被认为是唯一的特异性,与抗-M 不同,但又有交叉反应,在谱细胞上显示没有剂量效应,不符合积分规律。本案例中谱细胞凝集强度具有明显的剂量效应,基本排除该抗体为抗-M1。用吸收放散试验进一步证明献血者抗-M 能被异体的 M 抗原阳性的细

胞吸收放散,但不能被 M 抗原阴性和自身细胞吸收放散,且没有证据表明献血者体内红细胞被自身抗体破坏,能排除该抗-M 为自身抗体。早期文献中发现在 M 抗原阳性的个体血清中鉴定出类抗-M 同种抗体,这种抗体与自身细胞不反应,患者的类抗-M 和他的 MN 型孩子的细胞均不反应,与 MN 型姐妹也不发生反应^[9]。鉴于吸收放散试验结果,该献血者的血浆不能输注给 M 阳性患者,若为受血者,需要输注交叉配血相合的 M 阴性血液。

MNS 系统本身也是一个复杂的系统,很多抗原能够发生交叉反应。比如一些单克隆抗-M 与 He 会有交叉反应,但是多克隆抗-M 不涉及这种交叉反应问题^[8]。因此笔者用人源的抗-M 鉴定进一步证实该献血者为 M 抗原阳性。MNS 血型系统基因多态性的产生机制主要有单核苷酸突变(相关抗原如 S/s、Mit 等)、两个或多个核苷酸突变(如 M/N 抗原等)、基因转换(如 Mia、Mur 抗原等)、基因不等位交换^[8](如 Hil 抗原等)。该献血者 MN 基因测序分析和序列比对结果与血清学分型结果相符为 MN 型,碱基序列未发现异常突变。还有一种情况由于 GYPA 和 GYPB 发生了不等交换产生了变异体 GP. Hil 表型红细胞,它不仅是一个表达 GP(B-A)血型蛋白的杂交基因,而且其两侧有正常的 GYPA 和 GYPB^[10]。这样的杂交子可以解释异常的 MNS 表型。献血者血清学分型结果为 MN 型但其凝集强度偏弱,MN 基因测序

分析和序列比对结果也为 MN 型。由于实验条件有限,本案例没有应用免疫印迹技术进一步鉴定血型糖蛋白,对其蛋白结构是否有变化无法判断,允许的情况下可以做家系调查,同时还应分析该例抗-M 与其他人类和单克隆抗-M 的性能区别,如不同人的红细胞 M 血型检测、吸收放散试验,还要检测吸收后血浆中的抗-M 活性。

综上所述,MNS 系统的相应抗原复杂且多样化,本文报道的该例献血者红细胞上既有 M 抗原,血清中又检出抗-M,因此将血型血清学和分子生物学方法相结合才能更准确地鉴定标本。该献血者血浆中存在一种罕见的抗-M,这种抗-M 不与 M 抗原阳性的自身红细胞凝集,但与异体 M 阳性红细胞反应,其血浆不能输注给 M 阳性的患者,患者输血时应该选择交叉配血相容的 M 阴性红细胞。

参考文献

[1] 任明,江梦天,强文,等. IgG 性质冷反应性类抗-M 特异性自身抗体的鉴定与输血[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(23):2942-2944.

[2] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2015:118-137.

[3] 苏湘晖,栗玉萍,陈敏,等. 类抗-M 自身抗体的输血分析

[J]. 当代医学,2018,24(10):108-109.

[4] 封彦楠,马春娅,杨鑫,等. 类同种自身抗体患者血清学特点及抗体分布回顾性分析[J]. 中国实验血液学杂志,2021,29(4):1301-1307.

[5] KLEIN M N,LARKIN E J,MARSHALL J N,et al. Autoantibodies to red blood cell surface Glycophorin A impact the activation poise of circulating leukocytes[J]. Transfusion,2022,62(1):217-226.

[6] 陈云龙,梁延连,苏宇清,等. 人类红细胞 MN 血型中抗-M 与 GYPA 基因表达的相关性[J]. 临床输血与检验,2014,16(1):8-10.

[7] 刘长利,赵卫军. 编码 MNS 血型抗原的 GYP 基因组研究进展[J]. 中国实验血液学杂志,2012,20(1):200-204.

[8] 杰夫·丹尼尔. 人类血型[M]. 朱自严,译. 北京:科学出版社,2007:168-170.

[9] HEATHCOTE D J,CARROLL T E,FLOWER R L. Sixty years of antibodies to MNS system hybrid glycoporins:what have we learned? [J]. Transfusion Med Rev,2011,25(2):111-124.

[10] 梁延连,苏宇清,张印则. 中国人群部分 GPA 分子结构的改变对 MN 血型抗原表达影响的研究[J]. 中国输血杂志,2014,27(6):597-599.

(收稿日期:2023-04-03 修回日期:2023-07-17)

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.18.037

4 株侵蚀艾肯菌引起的感染病例分析

朱德永,袁 雕,陆兴热

云南省文山壮族苗族自治州人民医院检验科,云南文山 663099

关键词:侵蚀艾肯菌; 抗菌药物; 牙周疾病

中图法分类号:R446.5

文献标志码:C

文章编号:1672-9455(2023)18-2782-03

艾肯菌隶属于细菌域、变形杆菌门、β-变形杆菌纲、奈瑟菌目、奈瑟菌科。侵蚀艾肯菌是艾肯菌中的唯一菌种。侵蚀艾肯菌是人类黏膜表面正常菌群的一部分,可以从上呼吸道标本中分离到,从胃肠道或泌尿生殖道标本中也可以分离到,通常不致病,只形成带菌状态,当机体免疫力下降及黏膜表面破损时,此菌会进入周围组织引起感染^[1]。该菌为苛养性细菌,营养要求高,生长缓慢、培养数日才能生长,其分离培养较为困难,又称为“难培养的细菌”,该菌不易被识别,若检验技术不熟练,往往造成漏检^[2]。本文分析本院 2020 年 11 月 1 日至 2022 年 12 月 31 日分离的 4 株侵蚀艾肯菌的临床资料,为今后临床合理诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例 1:患者,女,57 岁,咳嗽、咳痰

20 余年,支气管扩张伴感染,支气管镜灌洗液送检。病例 2:患者,女,52 岁,右眼流泪、分泌物多 10 余年,右眼慢性泪囊炎,抽取脓液送检。病例 3:患者,男,8 岁,3 d 前无明显诱因红肿包块,右侧颌面间隙感染,抽取脓液送检。病例 4:患者,男,13 岁,口腔佩戴矫正器,10 d 前开始左面部肿痛,左侧颌面间隙感染,抽取脓液送检。

1.2 实验仪器及试剂 SMART CELL Heal force CO₂ 培养箱、VITEK 2 Compact;血平板、麦康凯平板、巧克力平板、沙保弱平板、VITEK 2 Compact NH 卡,均购自梅里埃(上海)生物制品有限公司;氧化酶纸片购自杭州天和生物有限公司;H₂O₂ 试剂购自一心堂药店;革兰染色试剂购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.3 方法 标本采集、送检、接种参照《全国临床检