KHẢO SÁT KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG KHÁNG HỒNG CẦU BẰNG PHẢN ỨNG HÒA HỢP TẠI KHOA HUYẾT HỌC LÂM SÀNG BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG HUẾ

Nguyễn Thị Tuyết Trâm[1], Nguyễn Duy Thăng[1], Trần Văn Lượng[1],
Hà Thúc Thuận[1], Phan Quang Hoàng Minh[1], Lê Thanh Hải[1],
Hoàng Phước Hoài Thu[1], Nguyễn Thị Bích Tuyết[1]

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *An toàn truyền máu về mặt miễn dịch ngày càng được coi trọng, cần phải có những biện pháp hữu hiệu nhằm hạn chế các tai biến truyền máu, thực hiện truyền máu có hiệu quả.*

Mục tiêu: *Xác định tỷ lệ kháng thể bất thường bằng phản ứng hòa hợp và tìm hiểu các yếu tố liên quan ở những bệnh nhân bệnh lý huyết học.*

Đối tượng và phương pháp: *Nghiên cứu mô tả cắt ngang ở 400 bệnh nhân bệnh lý huyết học tuổi từ 16 trở lên, có chỉ định truyền khối hồng cầu tại Khoa Huyết học Lâm sàng - Bệnh viện Trung ương Huế từ 4/2012 - 5/2013.*

Sử dụng kỹ thuật gelcard và ống nghiệm để thực hiện phản ứng hòa hợp cho bệnh nhân có chỉ định truyền khối hồng cầu.

Kết quả: *Tỷ lệ phản ứng hòa hợp dương tính ở môi trường nước muối sinh lý là 0,8% và ở môi trường AHG là 5,5%. Tỷ lệ bệnh nhân có kháng thể bất thường là 3,5%. Kết quả chưa cho thấy mối liên quan giữa tuổi, giới và số lần mang thai với biểu hiện kháng thể bất thường ngoại trừ truyền máu > 10 lần có liên quan với kháng thể bất thường.*

Kết luận: *Tỷ lệ bệnh nhân có kháng thể bất thường qua phản ứng hòa hợp là 3,5% và truyền máu > 10 lần có liên quan đến kháng thể bất thường kháng hồng cầu.*

Từ khóa: *Kháng thể bất thường kháng hồng cầu, phản ứng hòa hợp.*

ABSTRACT

INVESTIGATION OF IRREGULAR RED CELL ANTIBODIES BY CROSSMATCH REACTION AT CLINICAL HEMATOLOGICAL DEPARTMENT OF HUE CENTRAL HOSPITAL

Nguyen Thi Tuyet Tram[1], Nguyen Duy Thang[1], Tran Van Luong[1],
Ha Thuc Thuan[1], Phan Quang Hoang Minh[1], Le Thanh Hai[1],
Hoang Phuoc Hoai Thu[1], Nguyen Thi Bich Tuyet[1]

Background: *Safety of blood transfusion in immunological aspect has gradually been taken into consideration, therefore it is necessary to have an effective method to prevent the reactions of blood transfusion and to achieve the efficient blood transfusion.*

Objective: *To determinine the rate of irregular red cell antibodies and related factors in patients with*

1.TT Huyết học - Truyền máu
Bệnh viện TW Huế

- Ngày nhận bài (received): 21/10/2014; Ngày phản biện (revised): 15/11/2014;
- Ngày đăng bài (accepted): 29/11/2014
- Người phản biện: TS Trần Thừa Nguyên; ThS.BS. Đồng Sĩ Sằng
- Người phản hồi (corresponding author): Nguyễn Thị Tuyết Trâm
- Email: tramhue1969@yahoo.com.vn

hematological diseases at Clinical Hematological Department of Hue Central Hospital.

***Patients and method**: Cross-sectional descriptive study carried out in 400 patients (age ≥ 16 years) indicated to transfuse packed red blood cells at Clinical Hematological Department - Hue Central Hospital from April 2012 to May 2013.*

Cross-match reaction was performed in both gelcard and tube methods for the patients being transfused with packed red blood cells.

***Results:** Percentage of positive crossmatch reactions in tube method was 0.8%, and in AHG method was 5.5%. Patients with irregular red cell antibodies reached 3,5%. Results of this research have not detected the relationship between age, sex, the times of pregnancy with irregular antibodies yet except the packed red blood cells transfused more than 10 times.*

***Conclusion:** The rate of patients with irregular antibodies was 3,5%, and the transfused packed red blood cells more than 10 times had a relationship with irregular antibodies.*

***Key words:** Irregular red cell antibodies, cross-match reaction.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mô hình bệnh tật ngày càng phức tạp, nhu cầu sử dụng máu ngày càng tăng nên vấn đề an toàn truyền máu trong đó có an toàn truyền máu về mặt miễn dịch cần phải đặc biệt chú trọng. Ở các nước phát triển trên thế giới, xét nghiệm sàng lọc và định danh kháng thể bất thường (KTBT) bằng các bộ panel hồng cầu cũng như xét nghiệm hòa hợp các nhóm máu hệ hồng cầu của người cho và người nhận đã trở thành thường quy. An toàn truyền máu về mặt miễn dịch ở các nước này được thực hiện một cách đồng bộ nên đã hạn chế được tới mức thấp các tai biến truyền máu. Ở nước ta hiện nay, việc thực hiện an toàn truyền máu về mặt miễn dịch chưa được triển khai một cách đồng bộ, nhiều cơ sở truyền máu mới thực hiện định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) và phản ứng hoà hợp (PƯHH) trong môi trường nước muối sinh lý ở nhiệt độ phòng. Trong khi đó, sàng lọc kháng thể bất thường ở người hiến máu và PƯHH cho người nhận máu có sử dụng kháng globulin người (Anti Human Globulin - AHG) mới chỉ được triển khai ở một số cơ sở lớn, do vậy nguy cơ sinh kháng thể bất thường ở những bệnh nhân đã truyền máu nhiều lần là khó tránh khỏi [7].

Nhằm đảm bảo hòa hợp giữa nhóm máu người cho và người nhận, truyền máu có hiệu quả cho bệnh nhân, đặc biệt góp phần nâng cao hơn nữa an toàn truyền máu về mặt miễn dịch, chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu sau:

- Xác định tỷ lệ bệnh nhân có kháng thể bất thường kháng hồng cầu bằng phản ứng hòa hợp nhóm máu hệ hồng cầu.
- Tìm hiểu một số yếu tố liên quan ở bệnh nhân có kháng thể bất thường kháng hồng cầu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: gồm 400 bệnh nhân (≥ 16 tuổi) có chỉ định truyền khối hồng cầu được điều trị tại Khoa Huyết học Lâm sàng - Bệnh viện Trung ương Huế từ tháng 4 năm 2012 đến tháng 5 năm 2013.

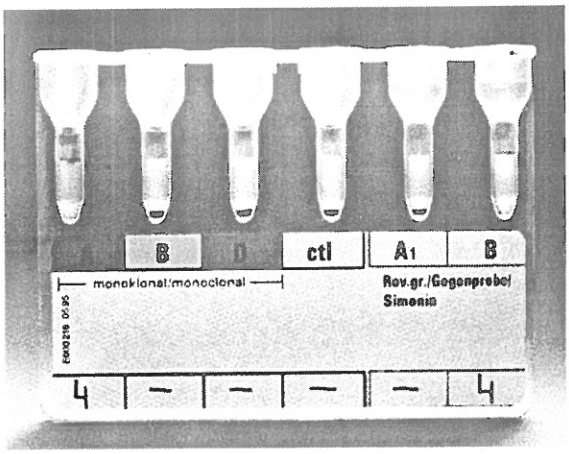
Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân suy giảm miễn dịch (HIV/AIDS), bệnh lý tự miễn (bệnh Lupus), ghép tạng (ghép tế bào gốc, ghép tim, ghép thận...).

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

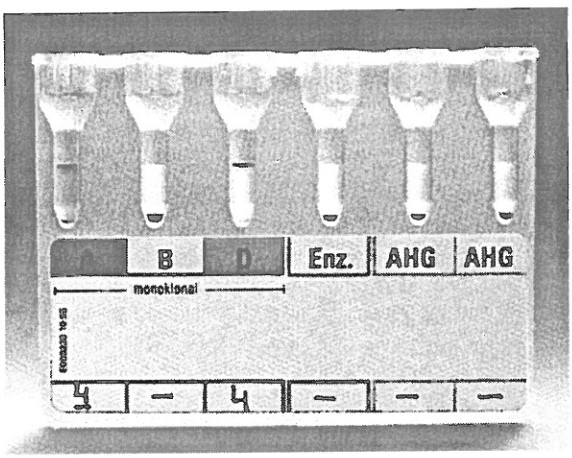
- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.
- Phương tiện nghiên cứu:

• 4ml máu bệnh nhân cho vào hai ống nghiệm (một ống đông để lấy huyết thanh và một ống chống đông để lấy hồng cầu).

• Huyết thanh mẫu, dung dịch pha loãng (Diluent) và gelcard để định nhóm máu hệ ABO, Rh(D); gelcard để thực hiện phản ứng hòa hợp (hãng Bio - Rad) và hồng cầu mẫu 5% để định nhóm máu hệ ABO của Trung tâm Truyền máu - Bệnh viện Trung ương Huế.



Hình 1. Hình ảnh ngưng kết trên gelcard trong định nhóm máu



Hình 2. Hình ảnh ngưng kết trên gelcard trong phản ứng hòa hợp

- Các bước tiến hành:

• Xác định nhóm máu hệ ABO, hệ Rh (D) của bệnh nhân và đơn vị khối hồng cầu.

• Thực hiện phản ứng hòa hợp giữa mẫu máu bệnh nhân và mẫu máu của đơn vị khối hồng cầu ở điều kiện nước muối sinh lý 0,9% (nhiệt độ 18 - 24°C) và ở điều kiện có sử dụng AHG (37°C).

- Tiêu chuẩn xác định kháng thể bất thường:

• Có KTBT: Phản ứng hòa hợp ở một hoặc hai điều kiện dương tính, tự chứng âm tính.

• Không rõ (hoặc chưa phát hiện): gồm hai trường hợp:

- Phản ứng hòa hợp âm tính.

- Phản ứng hòa hợp ở một hoặc hai điều kiện dương tính kết hợp với tự chứng dương tính.

2.3. Xử lý số liệu: bằng phương pháp thống kê y học, sử dụng phần mềm MedCalc 10.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phản ứng hòa hợp và tỷ lệ kháng thể bất thường ở bệnh nhân bệnh lý huyết học

Bảng 3.1. So sánh giữa PƯHH trong môi trường nước muối sinh lý và môi trường AHG

Môi trường xét nghiệm phản ứng hòa hợp		AHG		Tự chứng		Tổng cộng n(%)
		Dương tính	Âm tính	Dương tính	Âm tính	
Nước muối sinh lý	Dương tính	1	2	3	0	3 (0,8)
	Âm tính	21	376	8	14	397 (99,2)
	Tổng cộng n (%)	22 (5,5)	378 (94,5)	11 (2,75)	14 (3,5)	400 (100)

Bảng 3.2. Tỷ lệ kháng thể bất thường

Tổng số bệnh nhân	Có KTBT	%
400	14	3,5

3.2. Một số yếu tố liên quan ở bệnh nhân có kháng thể bất thường

Bảng 3.3. Liên quan bệnh nhân có KTBT với nhóm tuổi

KTBT / Nhóm tuổi	Không		Có			p
	n	%	n	%		
≤ 20	39	9,75	1	0,25		> 0,05
21 - 40	103	25,75	4	1,0	2,25	
41 - 60	90	22,50	5	1,25		
> 60	154	38,50	4	1,0		
Tổng cộng	386	96,50	14	3,5		-

Bảng 3.4. Liên quan giữa bệnh nhân có KTBT với giới

KTBT / Giới	Không rõ		Có		p
	n	%	n	%	
Nữ	218	54,5	10	2,5	> 0,05
Nam	168	42,0	4	1,0	
Tổng cộng	386	96,5	14	3,5	

Bảng 3.5. Liên quan giữa bệnh nhân có kháng thể bất thường với nhóm bệnh

KTBT / Nhóm bệnh	Có		Không rõ		p
	n	%	n	%	
Lành tính	5	1,25	189	47,3	> 0,05
Ác tính	9	2,25	197	49,2	
Tổng cộng	14	3,5	386	96,5	

Bảng 3.6. Liên quan giữa bệnh nhân nữ có KTBT với số lần mang thai

KTBT / Số lần mang thai	Không		Có		p
	n	%	n	%	
Chưa mang thai	35	16,06	1	0,44	> 0,05
Lần 1	13	5,95	0	0	
Lần 2	27	12,39	1	0,44	
≥ 3 lần	143	65,6	8	3,51	
Tổng cộng	218	95,61	10	4,39	-

Bảng 3.7. Liên quan giữa bệnh nhân có KTBT với số lần truyền KHC

KTBT / Số lần truyền KHC	Không		Có		p
	n	%	n	%	
Chưa truyền	215	53,75	1	0,25	< 0,05
01 - 05 lần	44	11,0	2	0,5	
06 - 10 lần	61	15,25	4	1,0	
> 10 lần	66	16,5	7	1,75	
Tổng cộng	386	96,5	14	3,5	

IV. BÀN LUẬN

4.1. Phản ứng hòa hợp và tỷ lệ kháng thể bất thường ở bệnh nhân bệnh lý huyết học

4.1.1. Phản ứng hòa hợp

Kết quả bảng 3.1 cho thấy việc triển khai kỹ thuật có sử dụng AHG đã phát hiện thêm 21 trường hợp cho kết quả âm tính khi làm phản ứng hòa hợp trong nước muối sinh lý ở 18 - 24°C, nhưng lại cho kết quả dương tính ở điều kiện có sử dụng AHG (5,5%). Một số nghiên cứu khác ghi nhận tỷ lệ phản ứng hòa hợp có sử dụng AHG dương tính là: 9,8% (Nguyễn Thu Hạnh - 2008), 1,3% (Đỗ Mạnh Tuấn - 2010), 8,8% (Bùi Thị Mai An - 2012). Như vậy, nếu chỉ thực hiện phản ứng hòa hợp trong nước muối sinh lý ở 18 - 24°C sẽ bỏ sót những trường hợp có kháng thể đồng loại, những trường hợp này chủ yếu do truyền máu chưa hòa hợp kháng nguyên hồng cầu của các hệ nhóm máu khác ngoài hệ ABO hoặc sau quá trình mang thai không hòa hợp kháng nguyên hồng cầu giữa mẹ và con, đây cũng chính là nguyên nhân dẫn đến truyền máu không hiệu quả trên lâm sàng, ảnh hưởng đến kết quả điều trị. Vì vậy, triển khai kỹ thuật sử dụng AHG sẽ hạn chế được các phản ứng tan máu do nguyên nhân miễn dịch, góp phần nâng cao hiệu quả truyền máu và mang lại lợi ích về kinh tế cho bệnh nhân (giảm chi phí do giảm số lượt vào viện điều trị, giảm số lần truyền máu cũng như số ngày điều trị...) [2], [5], [6].

4.1.2. Tỷ lệ kháng thể bất thường ở bệnh nhân bệnh lý huyết học

Việc phát hiện KTBT phải được thực hiện theo quy trình chuẩn bằng kỹ thuật sàng lọc sử dụng panel hồng cầu. Một số nghiên cứu bằng kỹ thuật này của các tác giả trong nước đã ghi nhận tỷ lệ sinh KTBT: 9,8% (Bùi Thị Mai An - 2006), 10,16% (Trần Văn Bảo - 2012). Ở các nước phát triển nhiều nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ kháng thể bất thường là: 1,5% (Nancy Heddlen - Canada, năm 1992), 0,8% (Ozaki Makiko - Nhật Bản, năm 1993-2003), 0,47% (Ma Xianjun - Trung Quốc năm 2008-2010), điều này có thể lý giải được do ở các nước phát triển xét nghiệm sàng lọc, định danh kháng thể bất thường và xét nghiệm hòa hợp các nhóm máu hệ hồng cầu giữa người cho - người nhận đã trở thành thường quy, an toàn truyền máu về mặt miễn dịch được thực hiện một cách đồng bộ nên đã hạn chế nguy cơ sinh kháng thể bất thường [1], [3], [10], [11], [12].

Trái lại, do giới hạn của điều kiện nghiên cứu nên chúng tôi chỉ bước đầu phát hiện những trường hợp có KTBT bằng phản ứng hòa hợp, tỷ lệ bệnh nhân bệnh lý huyết học có kháng thể bất thường trong nghiên cứu của chúng tôi là 3,5% (bảng 3.2). Kết quả của chúng tôi có phần khác với một số tác giả cũng sử dụng phản ứng hòa hợp như tác giả Nguyễn Thu Hạnh - 2008, Đỗ Mạnh Tuấn - 2010 và Bùi Thị Mai An – 2012. Sự khác biệt này có thể do có sự khác nhau về thời điểm, địa điểm và đối tượng nghiên cứu. Việc phát hiện KTBT bằng phản ứng hòa hợp là một phương pháp còn nhiều hạn chế, vì nhiều trường hợp không phát hiện được kháng thể hoặc không thể phân biệt được có KTBT kết hợp với tự kháng thể. Do đó, nghiên cứu này không phải nhằm phát hiện đúng tỷ lệ KTBT mà chỉ là những ghi nhận bước đầu về khả năng phát hiện KTBT tốt hơn bằng phản ứng hòa hợp có sử dụng AHG để bảo đảm an toàn hơn về mặt miễn dịch đối với những cơ sở truyền máu khi chưa có đủ điều kiện sàng lọc và định danh KTBT theo quy trình chuẩn. Vì vậy, vấn đề này cần được tiếp tục nghiên cứu bổ sung [2], [5], [6].

4.2. Một số yếu tố liên quan ở bệnh nhân có kháng thể bất thường

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chưa nhận thấy có mối liên quan giữa các nhóm tuổi với kháng thể bất thường. Tuy nhiên kết quả nghiên cứu của tác giả Bùi Thị Mai An (năm 2006) ghi nhận tỷ lệ sinh kháng thể bất thường cao nhất ở nhóm bệnh nhân trên 60 tuổi, tác giả Nguyễn Kiều Giang (năm 2010) phổ biến là nhóm bệnh nhân dưới 20 tuổi. Sự khác nhau giữa các nhóm tuổi này có thể liên quan đến đối tượng nghiên cứu [1], [4].

Tỷ lệ xuất hiện kháng thể bất thường ở nhóm

bệnh nhân nữ có khuynh hướng cao hơn bệnh nhân nam, có lẽ do ở bệnh nhân nữ ngoài truyền máu, kháng thể bất thường còn có thể sinh ra do trong quá trình mang thai, sinh đẻ có thể người mẹ đã tiếp xúc với kháng nguyên hồng cầu con (bảng 3.4). Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả trong và ngoài nước như: Bùi Thị Mai An, Trần Văn Bảo, Phạm Quang Vinh, Akihiro Takeshita, Nancy Heddlen, Ma Xianjun [1], [3], [8], [9], [10], [11].

Kết quả bảng 3.5 cho thấy biểu hiện kháng thể bất thường có thể gặp ở nhóm bệnh lành tính cũng như ác tính. Tuy nhiên đây chỉ là nhận xét sơ bộ của chúng tôi, để có kết luận chắc chắn cần phải có công trình nghiên cứu sâu hơn với cỡ mẫu lớn hơn.

Qua kết quả nghiên cứu, chúng tôi đã phát hiện được 10 nữ bệnh nhân có kháng thể bất thường, trong số đó khuynh hướng gặp nhiều ở những người mang thai từ 3 lần trở lên (bảng 3.6). Kết quả nghiên cứu của các tác giả Xianjun Ma (2008 - 2010) và Phạm Quang Vinh (2012) khi nói đến đặc điểm lâm sàng ở bệnh nhân bệnh lý huyết học có kháng thể bất thường hệ hồng cầu cũng cho thấy tỷ lệ sinh kháng thể bất thường ở đối tượng có tiền sử thai nghén cao hơn nhiều so với chưa có thai. Điều này có thể lý giải cơ thể của các bà mẹ đó do bị mẫn cảm bởi những hồng cầu mang những kháng nguyên không hòa hợp của con trong những lần mang thai hoặc sinh đẻ trước đây nên khi truyền máu cơ thể lại được mẫn cảm với các kháng nguyên hồng cầu không hòa hợp (sự tái mẫn cảm) sẽ thúc đẩy đáp ứng miễn dịch nhớ, sản xuất ra kháng thể đặc hiệu chống lại những hồng cầu mang kháng nguyên tương ứng [8], [11].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy một trường hợp có kháng thể bất thường ở bệnh nhân nữ chưa truyền máu lần nào, có thể do bất đồng nhóm máu giữa mẹ và thai nhi trong tiền sử 5 lần mang thai. Tỷ lệ sinh kháng thể bất thường tăng dần theo số lần truyền máu, đặc biệt ở nhóm bệnh nhân đã truyền máu trên 10 lần có tỷ lệ cao nhất (7 trường hợp chiếm tỷ lệ 50%). Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của các tác giả Bùi Thị Mai An, Nguyễn Thu Hạnh, Phạm Quang Vinh. Điều này có thể lý giải được vì đa số các kháng nguyên phải có một nồng độ thích hợp và với số lần kích thích nhất định mới có khả năng gây được miễn dịch. Khi số lần truyền máu tăng lên sẽ làm tăng kích thích hệ miễn dịch đối với các kháng nguyên hồng cầu không hòa hợp, do đó tăng khả năng sinh kháng thể bất thường hệ hồng cầu (bảng 3.7) [1], [5], [8].

V. KẾT LUẬN

Trên cơ sở phân tích các kết quả thu được của nghiên cứu, bước đầu chúng tôi xin có một số nhận xét như sau:

- Tỷ lệ bệnh nhân có kháng thể bất thường kháng hồng cầu trong tổng số mẫu nghiên cứu là 3,5%.

- Kết quả chưa cho thấy mối liên quan giữa tuổi, giới và số lần mang thai với biểu hiện kháng thể bất thường. Tuy nhiên, tỷ lệ sinh kháng thể bất thường có khuynh hướng gia tăng theo số lần truyền máu trong đó tỷ lệ cao nhất gặp ở những bệnh nhân truyền máu > 10 lần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Thị Mai An, Nguyễn Thị Quỳnh Nga, Vi Đình Tuấn và cs (2006), "Nghiên cứu sàng lọc kháng thể bất thường hệ hồng cầu ở bệnh nhân bị bệnh máu tại Viện Huyết học Truyền máu Trung ương 2004 - 2005", *Y học thực hành- Công trình nghiên cứu khoa học Huyết học - Truyền máu, 545,* tr. 347- 349.
2. Bùi Thị Mai An, Nguyễn Anh Hùng (2012), "Nghiên cứu kết quả xét nghiệm hòa hợp có sử dụng kháng globulin cho bệnh nhân bệnh máu tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương (2009-2010)", *Tạp chí Y học Việt Nam,* 396, tr. 489 - 492.
3. Trần Văn Bảo, Trần Thị Mỹ Duyên, Phạm Lê Nhật Minh và cs (2010), "Nghiên cứu phát hiện và định danh kháng thể bất thường hệ hồng cầu tại bệnh

viện Chợ Rẫy", *Tạp chí Y học Việt Nam,* 373(2), tr. 524- 528.

4. Nguyễn Kiều Giang, Vũ Bích Vân, Phan Minh Phương và cs (2010), "Nghiên cứu tỉ lệ kháng thể bất thường hệ hồng cầu tại Bệnh viện đa khoa Trung ương Thái Nguyên năm 2010", *Tạp chí Y học Việt Nam,* 373(2), tr. 487- 490.
5. Nguyễn Thu Hạnh (2008), *Nghiên cứu hiệu quả của phản ứng hòa hợp có sử dụng kháng globulin người tại Viện Huyết học Truyền máu Trung ương,* Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
6. Đỗ Mạnh Tuấn, Nguyễn Thị Hồng, Phạm Quang Vinh, Đỗ Đình Đinh, Hoàng Văn Hiền (2010), "Kết quả xét nghiệm hòa hợp có kháng gamma người tại bệnh viện Bạch Mai 2009 - 2010", *Tạp chí Y học Việt Nam,* 373(2), tr. 283- 288.
7. Phan Hữu Quang (2012), "Đánh giá hiện trạng và mức độ cải thiện chất lượng xét nghiệm phát máu tại một số cơ sở truyền máu ở Hà Nội năm 2011", *Tạp chí Y học Việt Nam,* 396, tr. 399- 406.
8. Phạm Quang Vinh, Đào Thị Hằng, Nguyễn Thị Hồng (2012), "Một số đặc điểm lâm sàng, xét nghiệm ở bệnh nhân bị bệnh máu có kháng thể bất thường hệ hồng cầu", *Tạp chí Y học Việt Nam,* 396, tr. 428- 431.
9. Akihiro Takeshita, Hiroko Watanabe, Harumi Fijihara, et al(2010), Collaborative study of irregular erythrocyte antibodies in Japan: Results from the Japanese study group of allo-immunity and antigen diversity in Asian populations, Transfusion and Apheresis Science, 43(1), pp. 3- 8.
10. Heddlen Nancy M., Pamela O'Hoski et al (2008), A prospective study to determine the safe of omitting the antiglobulin crossmatch from pretransfusion testing, *British Journal of Haematology*, 81(4), pp. 579- 584.
11. Ma Xianjun, Jing Fu, Zhonghua Chu et al (2011), Irregular antibody screening in Shandong region and clinical impact on blood transfusion a review of case from 2008 to 2010, *Journal of Convergence Information Technology (JCIT),* 6(12), pp. 338- 344.
12. Makiko Ozaki, Ichinomiya Sadako, Matsuzaki Koji et al (2003), Incidence of Irregular red cell antibodies at Matsuyama redcross hospital-10 year study, *Matsuyama red cross hospital journal of medicine,* 28(1), pp. 31- 35.