

Problemy z oznaczeniem grupy krwi ABO związane z występowaniem alloprzeciwciał anti-M z układu MNS — doświadczenia własne

Barbara Sowa, Michał Kunysz

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa, Katowice

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Sowa B, Kunysz M. Interference of anti-M antibody with ABO blood grouping — own experience. *J Transf Med* 2024; 17 (1): 1–6.
 DOI: 10.5603/jtm.99707

Należy cytować wersję pierwotną

Streszczenie

Wstęp: Alloprzeciwciała anti-M są dość często występującymi naturalnymi przeciwciałami typu zimnego. Zazwyczaj są klasy IgM, ale występują także jako przeciwciała klasy IgG lub IgM z komponentą IgG. Najczęściej nie wykazują aktywności w temperaturze 37°C i w takim przypadku są traktowane jako nieistotne klinicznie. Przeciwciała anti-M klasy IgM mogą być przyczyną odchyień od klasycznego schematu oznaczania grupy krwi w układzie ABO u pacjentów.

Materiał i metody: W niniejszej pracy przeanalizowano doświadczenia własne Pracowni Konsultacyjnej Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) w Katowicach związane z wykrywaniem i identyfikacją alloprzeciwciał anti-M oraz problemem z oznaczeniem grupy krwi wynikającym z ich obecności. Od 01.01.2022 roku do 30.06.2022 roku wykonano 1800 badań konsultacyjnych oraz badań grup krwi. Analizowaną pulę badań podzielono na dwie grupy w zależności od wieku pacjenta: od 4. miesiąca życia do 18. roku życia i powyżej 18. roku życia. W 137 przypadkach wykryto i zidentyfikowano alloprzeciwciała anti-M z układu MNS. W przypadkach, w których wystąpiły problemy z oznaczeniem grupy krwi, zastosowano dodatkowe procedury, takie jak: oznaczenie grupy krwi techniką próbówkową z zachowaniem temperatury 37°C, użycie krwinek wzorcowych O, A1, B M-ujemnych, traktowanie surowicy badanej odczynnikami 2-ME.

Wyniki: Przeciwciała anti-M stanowiły większy problem przy oznaczaniu grupy krwi u osób poniżej 18. roku życia niż u starszych pacjentów. Występowały około 2 razy częściej klasy IgM niż klasy IgG/IgG+IgM niezależnie od wieku grupy badanej.

Wnioski: Przeciwciała anti-M wywoływały nieoczekiwane reakcje dodatnie surowicy badanej z krwinkami wzorcowymi, utrudniając interpretację otrzymanych wyników i opóźniając wydanie wyniku grupy krwi.

Słowa kluczowe: alloprzeciwciała anti-M, układ MNS, grupa krwi w układzie ABO

J. Transf. Med. 2024; 17: 7–12

Adres do korespondencji: Michał Kunysz, Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa, ul. Raciborska 15, 40–074 Katowice, e-mail: kunyszmicchal2@gmail.com

Nadesłano: 02.10.2023

Przyjęto do druku: 02.11.2023

Data pierwszej publikacji: 29.03.2024

Artykuł jest dostępny bezpłatnie na podstawie licencji Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) umożliwiającej jego pobranie oraz udostępnianie pod warunkiem wskazania autorstwa i wydawcy. Niedopuszczalne jest wprowadzanie jakichkolwiek zmian lub wykorzystanie komercyjne bez zgody wydawcy.

Wstęp

Układ grupowy MNS został odkryty w 1927 roku przez Landsteinerja i Levina jako drugi po układzie ABO. W nomenklaturze *International Society of Blood Transfusion* (ISBT) otrzymał symbol MNS i numer 002. Nazwa układu pochodzi od 3 pierwszych zidentyfikowanych antygenów, czyli M, N, S. Obecnie w skład układu wchodzi 50 antygenów [1–3].

Antygeny układu MNS są kodowane przez geny *GYP A* i *GYP B* umiejscowione na chromosomie 4. Produktami tych genów są: GPA (sjaloglikoproteina MN zwana również MIRL2) oraz GPB (sjaloglikoproteina Ss). Obie sjaloglikoproteiny są składnikami błony komórkowej krwinki czerwonej. Trzeci gen *GYPE* sąsiaduje z genami *GYP A* i *GYP B*, ale nie koduje składników błony komórkowej. Bierze natomiast udział w rearanżacji genów, co skutkuje dużą różnorodnością alleli [1, 4].

Podstawową funkcją antygenów układu MNS jest zapewnienie ujemnego ładunku na powierzchni błony komórkowej krwinek czerwonych. Dzięki temu krwinki odpychają się od siebie i nie ulegają agregacji. Antygeny te są również receptorami dla składników dopełniacza, bakterii i wirusów, a w szczególności odpowiadają za zakażenie *Plasmodium falciparum* (malaria). Glikoforyna A jest regulatorem w zakresie oporności erytrocytów na działanie składników dopełniacza. Chroni krwinkę czerwoną przed hemolizą, nie dopuszczając do formowania i przyłączania się kompleksu ataku na błonę komórkową C5b-C9 [1, 3, 4].

Pierwszym odkrytym antygenem układu MNS jest antygen M. Został zidentyfikowany w 1927 roku w surowicy królików immunizowanych ludzkimi krwinkami czerwonymi, a jego nazwa powstała od słowa “immune”. Występuje u 78% ludzi rasy białej i u 74% ludzi rasy czarnej [1, 4]. Przeciwnym antygenem do antygeny M jest antygen N. Cechą wspólną obu antygenów jest wrażliwość na enzymy: ficynę i papainę oraz oporność na DTT (ditiotretitol) i kwasowe środowisko, natomiast różnią się wrażliwością na trypsynę: antygen M jest na nią odporny, a antygen N wrażliwy [1, 4].

Częstość występowania fenotypów układu MNS w populacji polskiej przedstawiono w tabeli 1 [5].

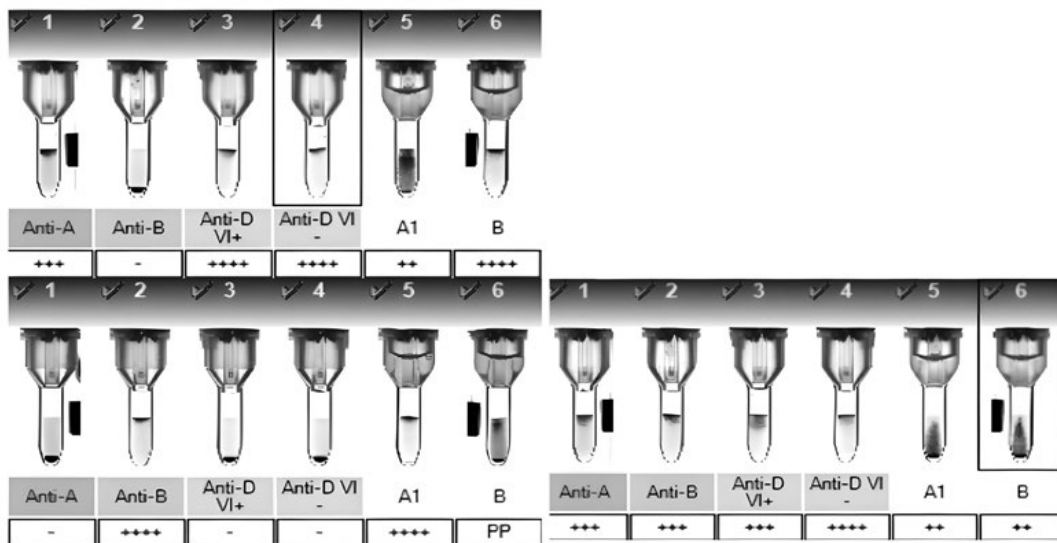
Alloprzeciwciała anty-M najczęściej występują jako przeciwciała pochodzenia naturalnego klasy IgM i optimum reakcji osiągają w temperaturze 4°C w teście bezpośredniej aglutynacji w NaCl. Zdarzają się również przeciwciała naturalne anty-M w klasie IgG, a często obserwuje się występowanie obu klas

Tabela 1. Częstość występowania fenotypów układu MNS w populacji polskiej [5]

Fenotyp	%
MMSS	8,4
MMSs	14,4
MMss	9,7
MNSS	6,1
MNSs	21,7
MNss	22,7
NNSS	0,7
NNSs	4,6
NNss	11,6

jednocześnie. Najczęściej są nieaktywne w temperaturze 37°C i w takim przypadku w praktyce transfuzyjnej traktowane są jako nieistotne klinicznie. Natomiast alloprzeciwciała anty-M, które reagują w 37°C w pośrednim teście antyglobulinowym, są uznawane za potencjalnie znaczące klinicznie i do przetoczenia dobiera się KKCz (Koncentrat Krwinek Czerwonych) bez antygeny M. Przeciwciała te bardzo rzadko są przyczyną ciężkich hemolitycznych reakcji poprzetoczeniowych i choroby hemolitycznej płodu i noworodka. Nie reagują w testach enzymatycznych i wykazują efekt dawki (silniejsza reakcja z homozygotycznymi krwinkami wzorcowymi o fenotypie MM niż z heterozygotycznymi krwinkami o fenotypie MN) [1, 3, 4]. Naturalnie występujące przeciwciała anty-M wykrywa się z częstością 1/2500 zdrowych dawców oraz znacznie częściej u chorych dzieci i dorosłych z infekcjami bakteryjnymi [1, 4]. Przeciwciała mogą się pojawić również w przebiegu ciąży. Często zdarza się, że kobiety ciężarne o fenotypie NN wytwarzają alloprzeciwciała anty-M, mimo że płód nie posiada antygeny M [1, 3, 4]. Chociaż specyficzne mechanizmy powstawania naturalnych alloprzeciwciała anty-M nie zostały jeszcze wyjaśnione, uważa się, że tak jak w przypadku układu ABO i innych naturalnie występujących przeciwciała klasy IgM, to mikroflora jelitowa, patogeny i białka związane z pożywieniem są bodźcami w procesie tworzenia przeciwciała, w którym pośredniczy pierwotny układ odpornościowy [6].

Ze względu na swój charakter oraz optymalną temperaturę reakcji przeciwciała anty-M mogą powodować odchylenia od klasycznego schematu oznaczania grupy krwi u pacjentów. Alloprzeciwciała anty-M klasy IgM, podobnie jak izoaglutyniny anty-A i anty-B, są przeciwciałami kompletnymi. W badaniu grupy krwi z zastosowaniem technik



Rycina 1. Przykłady problemów z oznaczeniem grupy krwi u pacjentów z alloprzeciwciałami anti-M

mikrokolumnowych mogą reagować z krwinkami wzorcowymi A1, B, na których znajduje się antygen M, co może prowadzić do uzyskania nieoczekiwanych reakcji dodatnich z surowicą badaną (ryc. 1). Problem ten w mniejszym stopniu dotyczy pacjentów z grupą krwi O, ponieważ w ich przypadku prawidłowe reakcje dodatnie występują zarówno z krwinkami wzorcowymi A1, jak i B, a reakcja nieprawidłowa wywołana przez przeciwciała anti-M jest w ten sposób maskowana. W przypadku techniki próbki mogą wystąpić nieoczekiwane reakcje dodatnie z krwinkami wzorcowymi grupy O, A1 i B, jeżeli posiadają antygen M z układu MNS [1, 3, 4, 7].

Materiał i metodyka oznaczania grup krwi w układzie ABO

Podstawową techniką stosowaną do oznaczania grupy krwi w układzie ABO i wykrywania alloprzeciwciał odpornościowych jest technika mikrokolumnowa automatyczna z wykorzystaniem analizatora IH-500 firmy BIO-RAD i dedykowanych krwinek wzorcowych. Do oznaczania grupy krwi, wykrywania i identyfikacji alloprzeciwciał, oprócz techniki mikrokolumnowej automatycznej, stosowano metody i techniki, takie jak mikrokolumnowa manualna firmy BIO-RAD i próbki (opisane w dostępnych przepisach prawnych [8]).

W niniejszej pracy przeanalizowano wyniki badań związane z wykrywaniem i identyfikacją alloprzeciwciał anti-M oraz problemem z oznaczeniem grupy krwi wynikającym z ich obecności, zebrane w pierwszej połowie 2022 r. Wykonano łącznie 1800 badań konsultacyjnych oraz oznaczeń

grup krwi. Analizowaną pulę badań podzielono na dwie grupy w zależności od wieku pacjentów: od 4. miesiąca życia do 18. roku życia (73 pacjentów) i powyżej 18. roku życia (1727 pacjentów). Próbkę badaną pobrano i oddziałów szpitalnych. W 137 przypadkach wykryto i zidentyfikowano alloprzeciwciała anti-M. U wszystkich pacjentów z alloprzeciwciałami anti-M oznaczono antygen M na krwinkach czerwonych; w żadnym wypadku nie wykryto antygenu M. U pacjentów z grupą krwi O oznaczoną technikami mikrokolumnowymi nie obserwowano problemów z interpretacją uzyskanych reakcji, mimo obecności w surowicy alloprzeciwciał anti-M. Tę grupę pacjentów oddzielnie umieszczono w analizie.

Jak rozwiązywano problemy z oznaczeniem grupy krwi

W przypadku wystąpienia nieoczekiwanych reakcji dodatnich surowicy badanej z krwinkami wzorcowymi grupy A1 i B w technice mikrokolumnowej zastosowano następujące rozwiązania:

- **Badanie techniką próbkową:** procedurę oznaczania grupy krwi wykonano w próbkach z zachowaniem temperatury 37°C. Przeciwciała o swoistości anti-M klasy IgM nie reagują w tej temperaturze, dzięki czemu uzyskano prawidłowe reakcje z krwinkami wzorcowymi.
- **Roztwór 2-ME (2-merkaptoetanol):** służący do różnicowania przeciwciał klasy IgG od IgM poprzez rozkład przeciwciał klasy IgM [9]. Do surowicy badanej dodano roztworu 2-ME w stosunku 1:1 i inkubowano w cieplarnie

w temperaturze 37°C przez 2 godziny. Zastosowana metoda jest bardzo skuteczna w przypadku przeciwciał anti-M klasy IgM, jednak trzeba mieć na uwadze, że roztwór 2-ME może rozkładać izoaglutyniny anti-A i anti-B w surowicy. Oznaczenie grupy krwi po zastosowaniu 2-ME przeprowadzono w temperaturze pokojowej techniką próbówkową.

- **Badanie grupy krwi techniką próbówkową z zastosowaniem krwinek wzorcowych O, A1, B bez antygeny M produkcji RCKiK w Katowicach.** Użycie wymienionych krwinek wzorcowych pozwoliło uzyskać prawidłowe reakcje (zgodne z regułą Landsteinerja) surowicy badanej z krwinkami O, A1, B.

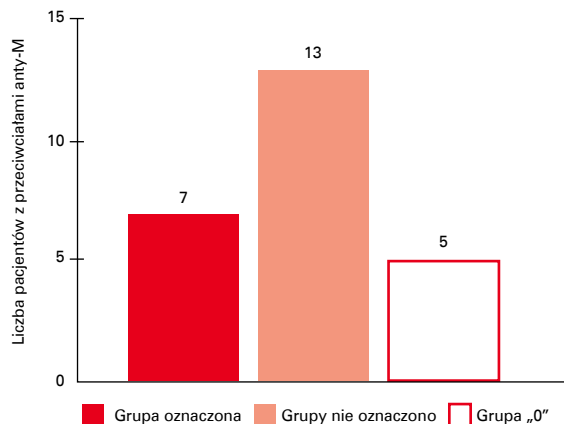
Wyniki

Grupa badana w przedziale wiekowym od 4. miesiąca życia do 18. roku życia liczyła 73 osoby. U wszystkich pacjentów w tym przedziale wykonano oznaczenie grupy krwi, wykrywanie i identyfikację przeciwciał. U 25 pacjentów zidentyfikowano alloprzeciwciała anti-M. W 13/25 przypadkach, przy zastosowaniu metody automatycznej, wystąpił problem z oznaczeniem grupy krwi. U 12 pacjentów można było prawidłowo oznaczyć i zinterpretować grupę krwi, bez wprowadzania dodatkowych procedur, ale w 5 przypadkach była to grupa krwi O (ryc. 2).

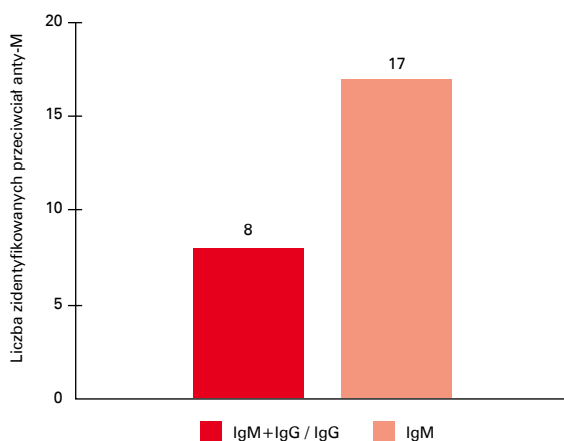
Spośród 25 wykrytych przeciwciał anti-M w 17 przypadkach otrzymano reakcję ujemną w teście pośredniego testu antyglobulinowego (PTA) po zastosowaniu odczynnika 2-ME lub z odczynnikiem monoklonalnym anti-IgG, co wskazywało na klasę IgM przeciwciał, pozostałe 8 wskazywało na klasę IgG lub IgG + IgM (ryc. 3).

Grupa badana w wieku powyżej 18. roku życia liczyła 1727 osoby. U wszystkich pacjentów w tym przedziale wiekowym wykonano wykrywanie lub/i identyfikację przeciwciał. Przeciwciała anti-M zostały zidentyfikowane w 111 przypadkach. U 102 pacjentów z przeciwciałami anti-M przeprowadzono badanie grupy krwi. W 41 przypadkach, przy zastosowaniu techniki mikrokolumnowej automatycznej, wystąpiły problemy z jej oznaczeniem. W 61 badaniach można było prawidłowo oznaczyć i zinterpretować grupę krwi bez wprowadzania dodatkowych procedur, ale w 24 przypadkach była to grupa O (ryc. 4).

Spośród 111 przypadków wykrytych alloprzeciwciał anti-M, 75 należało do klasy IgM; w 9 przypadkach otrzymano reakcję ujemną w teście PTA (reakcje dodatnie tylko w teście solnym



Rycina 2. Wynik oznaczenia grupy krwi (4 mż.–18 rż.)

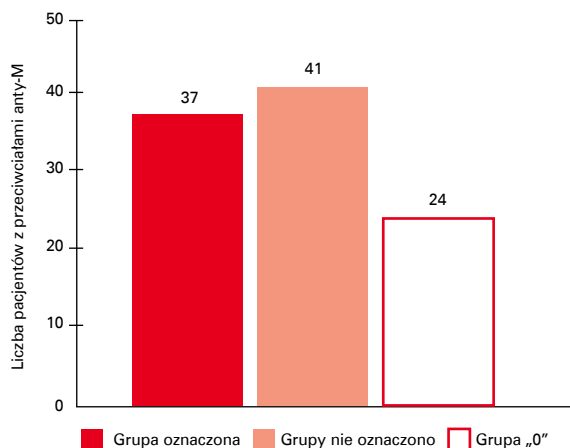


Rycina 3. Wykrywane klasy przeciwciał anti-M (w grupie pacjentów od 4 mż.–18 rż.)

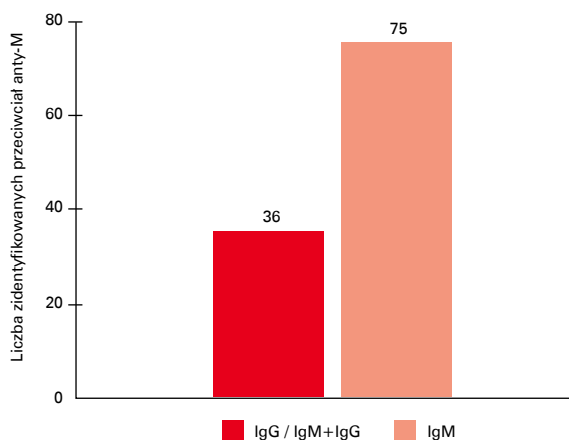
w temperaturze pokojowej); w 6 przypadkach otrzymano reakcję ujemną z zastosowaniem testu PTA z odczynnikiem monoklonalnym anti-IgG; w 60 przypadkach otrzymano reakcję ujemną w PTA po zastosowaniu odczynnika 2-ME. Pozostałe 36 uzyskanych wyników wskazywało na klasę IgG lub IgG + IgM (ryc. 5).

Dyskusja

Alloprzeciwciała anti-M są dość często występującymi naturalnymi przeciwciałami typu zimnego. Zazwyczaj są klasy IgM, ale występują także jako przeciwciała klasy IgG lub IgM z komponentą IgG. Znaczenie kliniczne alloprzeciwciał anti-M zależy od temperatury, w jakiej reagują oraz od ich klasy i pochodzenia. Pacjenci z zidentyfikowanymi alloprzeciwciałami anti-M, u których zostały one określone jako istotne klinicznie, powinni mieć doborczy do transfuzji koncentrat krwinek czer-



Rycina 4. Wynik oznaczenia grupy krwi (powyżej 18 rż.)



Rycina 5. Klasy przeciwciał anti-M w grupie badanej powyżej 18. roku życia

wonych bez antygenu M z układu MNS. Naturalnie występujące przeciwciała anti-M znacznie częściej występują u dzieci niż u dorosłych [10].

Istotność kliniczna przeciwciał anti-M z układu MNS wynika z możliwości wystąpienia reakcji hemolitycznej u pacjentów po przetoczeniu krwi z antygenem M oraz ryzyka wywołania choroby hemolitycznej płodu i noworodka. Przeciwciała klasy IgG przechodzą przez łożysko do krążenia płodu i mogą spowodować u płodu niedokrwistość oraz retikulocytopenię poprzez proces niszczenia M-dodatnich erytroidalnych komórek prekursorowych. Prowadzi to do zahamowania erytropoezy. Mechanizm wywoływania choroby hemolitycznej płodu i noworodka przez alloprzeciwciała anti-M jest bardzo podobny jak w przypadku alloprzeciwciał anti-K z układu Kell [3, 10].

W analizowanym przedziale czasowym (01.01.2022–30.06.2022) wykryto i zidentyfikowano alloprzeciwciała anti-M u 137 pacjentów, co stanowi 7,6% z 1800 przeprowadzonych badań. Makroo i wsp. w swojej pracy podają częstość występowania przeciwciał anti-M na poziomie 8,22% [11], natomiast Shah i wsp. donoszą o 13,98% wykrytych alloprzeciwciał anti-M w badanej grupie pacjentów [12]. W grupie pacjentów holenderskich przeciwciała te występują w 10,3% przypadków, a u japońskich w 7,2% [6].

Alloprzeciwciała anti-M klasy IgM mogą być przyczyną odchyień od klasycznego schematu reakcji otrzymywanych w trakcie oznaczania grupy krwi w układzie ABO [6]. W badanych próbkach były one jedną z przyczyn problemów z określeniem grupy krwi ABO u dzieci i dorosłych. W grupie badanej od 4. miesiąca życia do 18. roku życia przeciwciała anti-M stanowiły 34,25% ogółu wykrytych przeciwciał. W 68% przypadków należały one do klasy IgM. Spośród wszystkich dzieci ze zidentyfikowanymi alloprzeciwciałami anti-M: u 52% wystąpił problem z oznaczeniem grupy krwi, u 28% określono grupę krwi bez konieczności zastosowania dodatkowych procedur, u 20% oznaczono grupę krwi O.

W grupie badanej powyżej 18. roku życia alloprzeciwciała anti-M wykryto w 6,5% zdiagnozowanych przypadków; 67,6% z nich należało do klasy IgM. Spośród wszystkich pacjentów dorosłych z zidentyfikowanymi przeciwciałami anti-M: u 40,19% wystąpił problem z oznaczeniem grupy krwi w układzie ABO techniką mikrokolumnową automatyczną, u 36,27% określono grupę krwi bez konieczności zastosowania dodatkowych procedur, u 23,52% oznaczono grupę krwi O.

W przypadkach, w których wystąpiły problemy z oznaczeniem grupy krwi, zastosowano dodatkowe procedury, takie jak: oznaczenie grupy krwi techniką próbówkową z zachowaniem temperatury 37°C, użycie krwinek wzorcowych O, A1, B bez antygenu M, traktowanie surowicy badanej odczynnikiem 2-ME. W każdej próbce badanej uzyskano prawidłowe reakcje krwinek wzorcowych z surowicą/osoczem.

Podobny sposób postępowania opisali Tondon i wsp. Przedstawili przypadek 15-letniego pacjenta z alloprzeciwciałami anti-M, u którego wystąpiły nieoczekiwane reakcje dodatnie surowicy badanej z krwinkami wzorcowymi O, A1, B. Aby otrzymać prawidłowy obraz reakcji, powtórzyli badanie z zachowaniem warunków temperatury 37°C, a następnie potwierdzili otrzymaną grupę krwi przy użyciu krwinek wzorcowych A1, B bez

antygeny M [13]. Ferdowski i wsp. również opisali przypadki problemów z oznaczeniem grupy krwi ABO spowodowane występowaniem przeciwciał anty-M. W celu uzyskania prawidłowych reakcji z krwinkami wzorcowymi do badania wykorzystali krwinki A1, B bez antygeny M [14].

Inną metodę rozwiązywania opisanych wyżej problemów zaproponowali Mathur i wsp. [15]. Opisałi przypadek 32-letniego dawcy krwi, u którego otrzymano dodatnie reakcje surowicy z krwinkami O, A1, B oraz panelem krwinek do wykrywania alloprzeciwciał. Określono swoistość wykrytych alloprzeciwciał jako alloprzeciwciała anty-M z układu MNS klasy IgM + IgG. Oznaczenie grupy krwi powtórzono z zastosowaniem techniki mikrokolumnowej i papainowanych krwinek wzorcowych A1, B. Otrzymano prawidłowy obraz grupy krwi. Antygen M jest wrażliwy na papainę, która rozkłada sialoglikoproteiny w miejscach ekspresji antygenów układu MNS, dlatego przeciwciała anty-M nie mogą się związać z papainowanymi krwinkami wzorcowymi [15]. Khalid i wsp. również opisali przypadek 58-letniej pacjentki z alloprzeciwciałami anty-M, które spowodowały trudności z oznaczeniem grupy krwi ABO. Surowica pacjentki wykazywała aglutynację z krwinkami wzorcowymi A1, B w technice mikrokolumnowej. W celu uzyskania prawidłowych reakcji surowicę badaną poddano adsorpcji z krwinkami o fenotypie MM w temperaturze pokojowej. Po wyadsorbowaniu alloprzeciwciał anty-M z surowicy udało się poprawnie oznaczyć grupę krwi pacjentki [16].

Wnioski

Przeciwciała anty-M stanowią większy problem przy oznaczaniu grupy krwi (nie uwzględniając grupy O) u osób poniżej 18. roku życia niż u starszych pacjentów. Przeciwciała anty-M występują około 2 razy częściej jako klasa IgM niż IgG/IgG + IgM niezależnie od wieku grupy badanej. Wywołują nieoczekiwane reakcje dodatnie surowicy badanej z krwinkami wzorcowymi, utrudniając interpretację otrzymanych wyników i opóźniając wydanie wyniku grupy krwi.

Konflikt interesów: nie zgłoszono

Piśmiennictwo

1. Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson ML. The blood group antigen facts book. Academic Press, London 2012: 53–62.

2. ISBT <https://www.isbtweb.org/resource/002mnsalleles.html>.

3. Datta SS, Basu S. Importance of clinically significant anti-M antibody in hematopoietic stem cell transplantation. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2016; 32(Suppl 1): 208–210, doi: [10.1007/s12288-015-0566-6](https://doi.org/10.1007/s12288-015-0566-6), indexed in Pubmed: [27408393](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27408393/).

4. Fabijańska-Mitek J. Immunohematologia. Grupy krwi i niedokrwistości. Fundacja Pro Pharmacia Futura; Warszawa 2018: 60–65.

5. Kuśnierz-Alejska G. Częstość występowania poszczególnych fenotypów i antygenów układu grupowego MNS w populacji polskiej. *Acta Haematol Pol* 2000; 31(3): 273–278.

6. Tamai Y, Ohto H, Yasuda H, et al. Pediatric RBC alloimmunization consortium. Allo-anti-M: detection peaks around 2 years of age, but may be attenuated by red blood cell transfusion. *Transfusion* 2021; 61(9): 2718–2726.

7. Fabijańska-Mitek J, Bochenek-Jantczak D, Grajewska A. Badania immunohematologiczne w transfuzjologii - kompendium. Fundacja Pro Pharmacia Futura; Warszawa 2023: 49–50.

8. Obwieszczenie Ministra Zdrowia z 17 lutego 2021 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie leczenia krwią i jej składnikami w podmiotach leczniczych wykonujących działalność leczniczą w rodzaju stacjonarne i całodobowe świadczenia zdrowotne.

9. Ulotka odczynnika 2-ME, producent RCKiK w Katowicach; <https://odczynniki-serologiczne.pl/oferta/odczynniki-2-me-roz-twor-do-roznicowania-przeciwcial-klasy-igm-i-igg>.

10. Das R, Dubey A, Agrawal P, et al. Spectrum of anti-M: a report of three unusual cases. *Blood Transfus.* 2014; 12(1): 99–102, doi: [10.2450/2013.0008-13](https://doi.org/10.2450/2013.0008-13), indexed in Pubmed: [24333070](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24333070/).

11. Makroo RN, Arora B, Bhatia A, et al. Clinical significance of antibody specificities to M, N and Lewis blood group system. *Asian J Transfus Sci.* 2014; 8(2): 96–99, doi: [10.4103/0973-6247.137442](https://doi.org/10.4103/0973-6247.137442), indexed in Pubmed: [25161347](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25161347/).

12. Shah SP, Kalgutkar SM, Sawant RB, et al. Anti-M antibodies: Biphasic (reactive at room temperature and at 37°C): A case series. *Asian J Transfus Sci.* 2016; 10(2): 159–160, doi: [10.4103/0973-6247.172181](https://doi.org/10.4103/0973-6247.172181), indexed in Pubmed: [27605857](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27605857/).

13. Tondon R, Kataria R, Chaudhry R. Anti-M: Report of two cases and review of literature. *Asian J Transfus Sci.* 2008; 2(2): 81–83, doi: [10.4103/0973-6247.42695](https://doi.org/10.4103/0973-6247.42695), indexed in Pubmed: [20041082](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20041082/).

14. Ferdowski S, Mohammadi S, Ahmadnezhad M, et al. Anti-M antibody and ABO blood grouping discrepancy: a report of three cases with review of literature. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2022; 44(2): 288–290, doi: [10.1016/j.htct.2020.09.150](https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.09.150), indexed in Pubmed: [33358685](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33358685/).

15. Mathur A, Dontula S, Jagannathan L. An unusual case of a potentially clinically significant anti-M antibody in a healthy male blood donor without any history of blood transfusion. *Blood Transfus.* 2011; 9(3): 339, doi: [10.2450/2011.0069-10](https://doi.org/10.2450/2011.0069-10), indexed in Pubmed: [21251471](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21251471/).

16. Khalid S, Dantes R, Varghese S, et al. Naturally occurring anti M complicating ABO grouping. *Indian J Pathol Microbiol.* 2011; 54(1): 170–172, doi: [10.4103/0377-4929.77394](https://doi.org/10.4103/0377-4929.77394), indexed in Pubmed: [21393909](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21393909/).