
**FREQUENCY OF RED BLOOD CELL ANTIGENS AND PREVALENCE OF
IRREGULAR ANTIBODIES AMONG BLOOD DONORS IN THE REPUBLIC OF
NORTH MACEDONIA**

Danica Popovska

Institute of Transfusion Medicine, Skopje, Republic of North Macedonia,
danica.211514@student.ugd.edu.mk

Ivana Mickovski

Faculty of Medical Sciences, University of Goce Delcev – Stip, North Macedonia,
ivana.mickovski@ugd.edu.mk

Abstract: In contemporary transfusion medicine, accurate knowledge of erythrocyte antigen distributions and the prevalence of irregular erythrocyte antibodies is essential for safe, effective blood transfusion practices. This thesis analyzes the frequency of erythrocyte antigens and determines the prevalence of irregular erythrocyte antibodies among blood donors in the Republic of North Macedonia.

The study is based on blood samples from voluntary donors, analyzed using standardized immunohematological methods for blood grouping, antigen typing, and antibody screening. Special attention is given to the ABO and Rh blood group systems, as well as clinically significant antigens from other blood group systems, including Kell, Duffy, Kidd, and MNS.

Detecting irregular antibodies is clinically important because they can cause hemolytic transfusion reactions and hemolytic disease of the fetus and newborn. Early identification helps prevent adverse transfusion outcomes and improves patient safety.

The results provide insight into the immunohematological profile of the donor population and highlight the distribution of both high- and low-frequency erythrocyte antigens. The findings also indicate the proportion of donors with clinically significant irregular antibodies, which is crucial for planning safe transfusion strategies and maintaining adequate blood bank inventories.

This study emphasizes the importance of continuous screening, proper documentation, and the establishment of donor registries, especially for individuals with rare blood group phenotypes. Such measures facilitate the timely identification of compatible blood units for patients with complex transfusion requirements.

Additionally, the study identifies potential variations in antigen distribution relative to other European populations, providing a broader epidemiological context. The data may support the development of targeted donor recruitment strategies, particularly for rare blood group phenotypes. Furthermore, the findings underscore the importance of integrating advanced immunohematological testing methods into routine transfusion practice to improve diagnostic accuracy and patient outcomes.

In conclusion, the data obtained in this thesis contribute to a better understanding of the genetic and immunological diversity of the population in North Macedonia. The results can be used to optimize transfusion protocols, enhance the safety of blood transfusion procedures, and support the development of national guidelines in immunohematology.

Keywords: erythrocyte antigens, irregular antibodies, blood donors, transfusion safety, immunohematology.

**ФРЕКВЕНЦИЈА НА ЕРИТРОЦИТНИ АНТИГЕНИ И ПРЕВАЛЕНЦА НА
ИРЕГУЛАРНИ ЕРИТРОЦИТНИ АНТИТЕЛА КАЈ ДАРИТЕЛИ НА РСМ**

Даница Поповска

¹Институт за трансфузиона медицина Скопје, Северна Македонија,
danica.211514@student.ugd.edu.mk

Ивана Мицковски

Факултет за медицински науки, Универзитет Гоце Делчев - Штип, Северна Македонија,
ivana.mickovski@ugd.edu.mk

Резиме: Во современата трансфузиона медицина, прецизното познавање на дистрибуцијата на еритроцитните антигени и преваленцата на ирегуларните еритроцитни антители е од суштинско значење за

обезбедување безбедна и ефикасна трансфузија на крв. Оваа специјалистичка теза има за цел да ја анализира фреквенцијата на еритроцитните антигени и да ја утврди преваленцата на ирегуларните еритроцитни антители кај крводарителите во Република Северна Македонија.

Студијата се базира на анализа на примероци од крв собрани од доброволни дарители, користејќи стандардизирани имунохематолошки методи за одредување на крвни групи, типизација на антигени и скрининг на антители. Посебно внимание е посветено на ABO и Rh крвнотрупните системи, како и на клинички значајните антигени од други крвотрупни системи како што се Kell, Duffy, Kidd и MNS.

Детекцијата на ирегуларните антители има значајна клиничка важност поради нивниот потенцијал да предизвикаат хемолитички трансфузиски реакции и хемолитичка болест на фетусот и новороденчето. Затоа, раната идентификација на овие антители придонесува за превенција на несакани трансфузиски исходи и ја подобрува безбедноста на пациентите.

Резултатите од ова истражување даваат увид во имунохематолошкиот профил на донорската популација и ја истакнуваат дистрибуцијата на високо-фреквентни и ниско-фреквентни еритроцитни антигени. Наодите исто така го покажуваат процентот на дарители со клинички значајни ирегуларни антители, што е од клучно значење за планирање на безбедни трансфузиски стратегии и одржување на адекватни резерви во банките на крв.

Оваа студија ја нагласува важноста на континуиран скрининг, соодветна документација и воспоставување на регистри на дарители, особено за лица со ретки крвотрупни фенотипови. Ваквите мерки овозможуваат навремена идентификација на компатибилни крвни единици за пациенти со сложени трансфузиски потреби.

Дополнително, студијата придонесува за идентификација на потенцијални варијации во дистрибуцијата на антигените во споредба со други европски популации, обезбедувајќи поширок епидемиолошки контекст. Добиените податоци можат да помогнат во развојот на таргетирани стратегии за регрутација на дарители, особено за ретки крвотрупни фенотипови. Понатаму, наодите ја нагласуваат важноста од интеграција на напредни имунохематолошки методи во рутинската трансфузиска пракса со цел подобрување на дијагностичката точност и исходите кај пациентите.

Во заклучок, податоците добиени во оваа теза придонесуваат за подобро разбирање на генетската и имунолошката разновидност на популацијата во Северна Македонија. Резултатите можат да се искористат за оптимизација на трансфузиските протоколи, унапредување на безбедноста на трансфузиските процедури и поддршка на развојот на национални насоки во имунохематологијата.

Клучни зборови: еритроцитни антигени, ирегуларни антители, крводарители, трансфузиска безбедност, имунохематологија

1. ВОВЕД

Крвните групи претставуваат специфични молекули на површината на еритроцитната мембрана со карактеристичен биохемиски состав. Тие се дефинираат преку реакција со соодветни антители, што укажува дека одредени индивидуи не го поседуваат дадениот антиген. Интернационалното здружение за трансфузија на крв (ISBT) досега идентификувало и класифицирало 398 еритроцитни антигени во рамки на 48 крвотрупни системи. За нивната експресија се одговорни 56 гени, кои се целосно секвенционирани, овозможувајќи идентификација на генетските полиморфизми поврзани со овие антигени. Гените што ги кодираат системите ABO, H, I, Lewis, Globoside и P се одговорни за синтеза на гликозилтрансфери, додека останатите гени кодираат структурни протеини на еритроцитната мембрана. Оттука, секој крвотрупен систем претставува засебна генетска целина. Најкомплексни се Rh и MNS системите, со 50 и 46 антигени, соодветно, додека 13 системи се претставени со само еден антиген (Daniels, 2005; Lögdberg et al., 2011).

Клиничката важност на еритроцитните антигени се манифестира пред сè во трансфузијата на крв, бременоста и трансплантацијата на органи и ткива. Имунолошкиот систем на примателот може да реагира на внесените крвни клетки доколку тие се разликуваат во однос на антигенските карактеристики (еритроцитни, леукоцитни, тромбоцитни и др.), што кај дел од пациентите доведува до создавање на алоантители. Се проценува дека инциденцата на алоимунизација кон еритроцитните антигени глобално изнесува околу 2–10%, додека кај одредени групи на политрансфундирани пациенти може да достигне и до 60% (Daniels et al., 2002). Најчесто детектирани антители се оние насочени кон антигените E, K, Fya, Kidd, c и C. Најголемо клиничко значење има ABO крвотрупниот систем затоа што тој е единствен систем во врска со кој секоја индивидуа поседува природни ABO-антители, т.н. изохемаглутинини A и B во зависност од ABO-антигенот кој е присутен на еритроцитите. Овие антители индивидуата ги создава во периодот од 4 месец по раѓањето и достигнуваат концентрација како кај возрасна индивидуа до крајот на втората година од животот.

Втор по клиничко значење е Rh крвогрупниот систем со антигените D, C, E, c, e. Овие антигени по својот биохемиски состав се протеини и поради тоа се потентни имуногени кои доведуваат до создавање на алоантитела по пат на трансфузија на Rh некомпатибилни еритроцити кај пациенти кои не го поседуваат соодветниот антиген. Најголемо клиничко значење има RhD антигенот бидејќи 85% од индивидуите од белата раса го поседуваат, додека 15% не го поседуваат истоимениот антиген. Покрај ABO и Rh системите, значајна клиничка улога во трансфузијата на крв и во бременоста имаат антигените од крвогрупните системи Kell (K, k), Kidd (Jka, Jkb), Duffy (Fya, Fyb), MNS (M, N, S, s) и Lutheran (Lua, Lub), додека антигените од системите Lewis (Lea, Leb), P и други генерално се сметаат за помалку клинички значајни.

Со цел детекција на антитела насочени против еритроцитните антигени, во имунохематолошките лаборатории рутински се спроведува скрининг на антиеритроцитни антитела (AEAT) кај крводарители, приматели на трансфузија и бремени жени. Со овој скрининг се идентификуваат антитела различни од т.н. „природни“ анти-A и анти-B, кои се физиолошки присутни кај секој поединец во зависност од неговата ABO крвогрупа припадност.

2. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Направена е ретроспективна анализа на резултатите од еритроцитна типизација и детекција на еритроцитни антитела кај 93000 доброволни дарители на крв кои дарувале крв во периодот од 2022 до 2024. Критериумите за избор на дарителите опфатени во студијата се усогласени со Законот за безбедност на крвоснабдувањето на Република Македонија од 2007 година, како и со препораките за селекција на доброволни крводарители утврдени од Европскиот директорат за квалитет на медицинските производи (EDQM) при Советот на Европа (CE). Примероците беа земани во епрувети со EDTA (6 ml) и анализирани со помош на микроаглутинациска техника во картички (Column Agglutination Technique - CAT). Оваа метода користи картички со инкорпориран гел Sephadex G-100. За изведба на тестовите беше користен комплетно автоматизиран анализатор IH-1000 (Bio-Rad). Се користеа специфични конфигурации на картички за одредување на комплетна крвна група, Rh-фенотип, Cellano (k) антиген, и слаб D-антиген (Du). Детекцијата и идентификацијата на ирегуларни AEAT се вршеше со LISS/Coombs ANG картички врз принцип на индиректен антиглобулински тест (IAT), користејќи пулирани тест еритроцити за скрининг и панели од 11 поединечни тест еритроцити за идентификација.

3. РЕЗУЛТАТИ

Во Институтот за трансфузиона медицина во Скопје, во периодот од 2022 до 2024 година за 93.000 доброволни дарители на крв направени се 162.667 крвни групи и 162.680 ирегуларни AEAT. Од вкупниот број тестови, 131.748 (80.99%) се од мажи, а 30.932 (19.01%) се од жени дарители на крв. Фреквенцијата на ABO крвните групи кај вкупно 93.000 крводарители е прикажана во Табела 1. Од нив, 132.081 (80.95%) се мажи, а 31.075 (19,05%) се жени. Присуството на RhD антигенот е утврдено кај 138.905 (85,3%) дарители, односно тие се D-позитивни, додека кај 23.761 (14,7%) дарители антигенот не е детектиран, односно се D-негативни.

Табела број 1 - Фреквенција на ABO-крвни групи и RhD антигенот

| Крвни групи | Фреквенца No (%) | RhD позитивни No (%) | RhD негативни No (%) |
|-------------|------------------|----------------------|----------------------|
| A | 66.450 (40.73) | 56.984 (34.93) | 9.466 (5.80) |
| O | 55.125 (33.8) | 24.003 (14.71) | 3.881(2.38) |
| B | 27.884 (17.09) | 46.775 (28.67) | 2.083 (5.13) |
| AB | 13.510 (8.28) | 11.427 (1.28) | 2.083 (0.10) |

Извор: Истражување на авторите

Фреквенцијата на клинички најрелевантните антигени од Rh системот (RhD, RhC, RhE, Rhc и Rhe) кај 33.017 типизирани дарители е прикажана во Табела 2. Застапеноста на Rh-фенотиповите со присуство на D, C или E антиген се движи од 32,7% кај фенотипот DCsee, кој е најчест, до 0,003% кај фенотипот DCCEE, со најниска фреквенција. Rh-негативниот фенотип ddsee е присутен кај 15,1% од испитуваните крводарители.

Табела број 2 - Фреквенција на Rh-антигени кај дарители на крв

| Антиген | D (RH1) | C (RH2) | c (RH4) | E (RH3) | e (RH5) | K | k |
|-------------------------|---------------|--------------|--------------|-------------|--------------|------------|---------------|
| Фреквенца No (%) | 138905 (85.3) | 23723 (64.5) | 25060 (75.9) | 8413 (25.4) | 32325 (97.9) | 2532 (7.6) | 33.004 (99.9) |

Извор: Истражување на авторите

Фреквенцијата на антигените Kell (K или K1) и Cellano (k или K2) од Kell крвогрупниот систем кај 30.501 типизирани крводарители, како и многу ретката појава на антигенот K во хомозиготна форма (K+k-), е прикажана во Табела 3.

Табела број 3 - Фреквенција на Kell-антигени и фенотипови

| Kell-антиген | Фреквенција No (%) | Kell-фенотип | Фреквенција No (%) |
|--------------|-----------------------|--------------|-----------------------|
| K (KEL1) | 2.532 (7.6) | K+k- | 29 (0.087) |
| k (KEL2) | 33.004 (99.9) | K+k+ | 2503 (7.57) |
| | | K-k+ | 30501(92.33) |

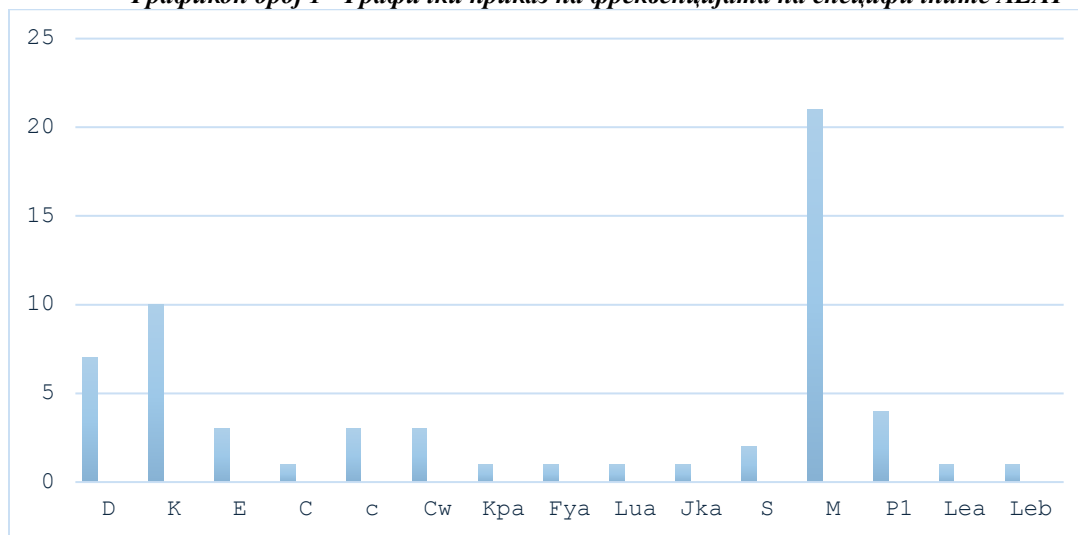
Извор: Истражување на авторите

Во периодот од 2022 до 2024 година направени се вкупно 162.680 ИАТ (индиректен антиглобулински тест) кај 93000 дарители на крв како дел од редовното имунолошко тестирање од кои 196 (0.021%) биле иницијално позитивни. Од нив 16 (0.017%) биле лажно позитивни а кај 180 (0.19%) било потврдено присуство на АЕАТ со ИАТ. Преваленцата на ирегуларно АЕАТ кај дарителите на крв е 0.19%.

Од вкупно детектираните 180 АЕАТ, 61 (33.9%) биле со одредена специфичност, а 119 (66.1%) биле неспецифични антители. Според добиените резултати идентифицирани се вкупно 61 специфични антиеритроцитни антители, меѓу кои најголема застапеност има анти-М антители со 21(34.42 %) случаи, потоа анти-К со 10 (16.39 %), а останатите специфични антиеритроцитни антители се со помала фреквенција како што е прикажано на графикон број 1.

Кај 28 (0.03%) од вкупно 93000 дарители утврден е позитивен ДАТ, односно присуство на антиеритроцитни автоантитела. Во однос на полот, 17 (60.8%) се мажи а 11(39.2%) се жени.

Графикон број 1 - Графички приказ на фреквенцијата на специфичните АЕАТ



Извор: Истражување на авторите

4. ДИСКУСИЈА

Популационата генетика укажува дека постојат значајни варијации во распределбата на еритроцитните антигени меѓу различни етнички групи. Резултатите од ова истражување исто така покажуваат разлики во утврдената фреквенција на одредени еритроцитни антигени во споредба со африканската, индиската, кинеската и европската популација. Така, распределбата на АВО крвните групи кај нашата популација значително се разликува од онаа во Индија, каде според Patidar & Dhiman (2020) О крвната група изнесува 35%, А 23%, В 34% и АВ 8%. Во индиската популација, фреквенцијата на Rh антигените, со исклучок на е антигенот (98,0%), исто така покажува разлики во однос на нашите податоци и изнесува 93,6% за D, 87% за С, 20,0% за Е и 58% за с антигенот според Mitra et al. (2014). Најчест Rh фенотип во нашата популација е DCsee со 32,7%, додека во Индија истиот фенотип е застапен со 23,5%. Од друга страна, најчест фенотип во индиската популација е DCsee (40,87%), според анализата на Kahar и Patel (2014).

Дарителите на крв во голема мера ја претставуваат општата популација, како во однос на демографските карактеристики, така и во однос на наследните биолошки особини кои не се менуваат во текот на животот, како што се крвните групи. Поради тоа, промените во демографската структура на населението можат да влијаат врз фреквенцијата на еритроцитните антигени, што е потврдено и во две поголеми студии спроведени во Македонија, каде е извршена типизација на антигените од ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS и Lutheran системите кај крводарители (Makarovska-Bojadzieva et al., 2017). Во споредба со белата раса, каде што O крвната група изнесува околу 45%, кај нашата популација таа е 33% и е значително пониска, додека застапеноста на крвната група B 18% и AB 8% е повисока во однос на 9% и 4% кај белата раса. Според резултатите од ова истражување, се забележува и континуиран пораст на фреквенцијата на B крвната група кај локалната дарителска популација. Во рамките на тековната студија, кај 196 (0,21%) од испитаните крводарители беше детектиран иницијално позитивен скрининг за АЕАТ, кој потоа беше потврден кај 180 (0,19%) случаи. Фреквенцијата на примероци со лажно позитивен резултат на скрининг изнесува 16 (0,017%). Преваленцата на АЕАТ кај дарителите на крв е во пораст така што во испитуваниот период е утврдена преваленца од 0.19% што е повисоко во однос на периодот 2018-2021 (0.10%), како и во однос на периодот 2009-2014 (0.078%), Makarovska-Bojadzieva et al., 2009.

5. ЗАКЛУЧОК

Еритроцитните антигени и антиеритроцитните антители имаат клучно значење за безбедноста при трансфузијата на крв. Во оваа ретроспективна студија беа анализирани 93.000 доброволни дарители на крв во периодот 2022–2024 година, при што беше утврдена дистрибуцијата на ABO и Rh крвните групи и преваленцата на ирегуларни антиеритроцитни антители.

RhD антигенот беше присутен кај 85.3% од дарителите, додека преваленцата на ирегуларни антиеритроцитни антители изнесуваше 0.19%, што покажува пораст во однос на претходните периоди. Најчесто детектирано специфично антители беше анти-M, следено од анти-K. Позитивен директен антиглобулински тест беше утврден кај мал број дарители, што укажува на ретка, но клинички значајна појава на автоантитела.

Добиените резултати ја нагласуваат важноста од рутинско скрининг тестирање на дарителите и континуирано следење на фреквенцијата на еритроцитните антигени и антители, со цел обезбедување сигурна и квалитетна трансфузиона терапија.

ЛИТЕРАТУРА

- Arthur, C. M., Hollenhorst, M., Wu, S. C., et al. (2024). ABO blood groups and galectins: Implications in transfusion medicine and innate immunity. *Seminars in Immunology*, 74–75, 101892. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2024.101892>
- Cartron, J. P. (2001). Structural and functional diversity of blood group antigens. *Transfusion Clinique et Biologique*, 8, 163–199.
- Daniels, G. (2005). The molecular genetics of blood group polymorphism. *Transplant Immunology*, 14(3–4), 143–153.
- Daniels, G., & Bromilow, I. (2011). *Essential guide to blood groups* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Denomme, G. A. (2004). The structure and function of the molecules that carry human red blood cell and platelet antigens. *Transfusion Medicine Reviews*, 18, 203–231.
- Groot, H. E., Villegas Sierra, L. E., Said, M. A., Lipsic, E., Karper, J. C., & van der Harst, P. (2020). Genetically determined ABO blood group and its associations with health and disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 40, 830–838.
- International Society of Blood Transfusion. (2021–2023). ISBT blood group allele database: 006 KEL and 019 KX alleles. <https://www.isbtweb.org/isbt-working-parties/rcibgt.html>
- Jajosky, R. P., Wu, S.-C., Zheng, L., Jajosky, A. N., Jajosky, P. G., Josephson, C. D., Hollenhorst, M. A., Sackstein, R., Cummings, R. D., Arthur, C. M., & Stowell, S. R. (2023). ABO blood group antigens and differential glycan expression: Perspective on the evolution of common human enzyme deficiencies. *iScience*, 26(1), 105798. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105798>
- Kahar, M. A., & Patel, R. D. (2014). Phenotype frequencies of blood group systems (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, P, Lewis, and Lutheran) in blood donors of South Gujarat, India. *Asian Journal of Transfusion Science*, 8(1), 51–55. <https://doi.org/10.4103/0973-6247.126693>
- Kamchev, N., Kamcheva Mihailova, G., & Dukovski, R. (2021). *Transfusion medicine*. NU University Library “Goce Delchev”.

- Maheshwari, A., Zubair, M., & Maheshwari, A. (2024). Kell blood group system. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Makarovska-Bojadzieva, T., Blagoevska, M., Kolevski, P., & Kostovska, S. (2009). Optimal blood grouping and antibody screening for safe transfusion. *Contributions, Section of Biological and Medical Sciences, MASA*, 30(1), 119–128.
- Makarovska-Bojadzieva, T., Velkova, E., & Blagoevska, M. (2017). The impact of extended typing on red cell alloimmunization in transfused patients. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 5(2), 107–111.
- Patidar, G. K., & Dhiman, Y. (2020). Distribution of ABO and Rh (D) blood groups in India: A systematic review. *ISBT Science Series*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/voxs.12576>
- Westhoff, C. M. (2021). The Rh blood group system in review: A new face for the next decade. *Transfusion*, 61(1), 18–24. <https://doi.org/10.1111/trf.16225>
- Yazer, M. H., & Spinella, P. C. (2019). Review of low-titer group O whole blood use for massively bleeding patients around the world in 2019. *ISBT Science Series*, 14(3), 276–281. <https://doi.org/10.1111/voxs.12495>