

呼和浩特地区献血者ABO血型正反定型不符原因分析

苏仁娜¹, 贾雯婷¹, 尚锦青¹, 呼格吉乐², 高乃康^{3*}

(1. 内蒙古自治区血液中心 输血研究室, 内蒙古 呼和浩特 010070;
2. 内蒙古医科大学附属医院 检验科, 内蒙古 呼和浩特 010050;
3. 内蒙古医科大学附属医院 神经外科, 内蒙古 呼和浩特 010050)

【摘要】目的 通过对献血者ABO血型正反定型不符标本的进一步检测, 总结分析正反定型不符的原因, 以保证临床输血的安全有效。方法 对87例无偿献血者ABO血型正反定型不符标本采用ABO血型正反定型、抗体筛选试验、吸收放散试验等血型血清学方法, 并采用PCR-SSP和ABO基因测序方法辅助检测。结果 87例正反定型不符标本中抗体筛选阳性者36例(41.38%, 36/87); 血清抗体减弱21例(24.14%, 21/87); ABO亚型13例(14.94%, 13/87); 冷凝集素17例(19.54%, 17/87)。结论 综合分析各项实验结果, 当血型血清学方法无法确定时, 应进行基因检测, 确保每一位献血者血型鉴定的准确性, 并根据不同的原因, 采用合理的用血建议。

【关键词】ABO血型; 血型正反定型; 血型血清学

中图分类号: R457.1

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2023)04-0415-03

ABO血型在临床输血中尤为重要, 而ABO血型鉴定的准确性是保证临床输血安全的首要前提条件。ABO不相容血液输注引起的溶血性输血反应的后果比输血传播感染的后果严重得多, 因为ABO不相容输血引起立即的急性反应, 而输血传播感染引起延迟的输血反应。正确的ABO血型鉴定包括正反定型检测, 正定型是用已知的抗体检测红细胞上的抗原, 而反定型是用已知的红细胞抗原检测血清或血浆中的抗体, 正反定型相符才能准确鉴定ABO血型, 而实际工作中会有献血者ABO血型正反定型不符的现象。ABO抗原是通过向低聚糖前体中加入单糖单元的特异性糖基转移酶合成的, 而一些疾病会影响ABO抗原的表达, 从而改变红细胞的表型。如ABO启动子的DNA高甲基化, 甲基化影响ABO基因的基因调控, 导致相当比例的ABO等位基因表达的丧失^[1]。现将我们遇到的献血者ABO血型正反定型不符情况总结并报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源

采集2019年1月至2022年12月119 816名献血者, 献血体检符合《献血者健康检测要求》(GB18467-2011)^[2], 在血型复检中发现ABO血型正

反定型不一致或凝集程度减弱者共87例。

1.2 仪器与试剂

抗-A、抗-B、抗-AB、抗-H、抗-A1、抗-M、抗-N、抗-Lea、抗-Leb、抗-P1、A2细胞、抗人球蛋白试剂、红细胞谱细胞(上海血液生物医药有限公司); ABO反定型试剂、红细胞抗体筛选细胞(长春博德生物制品技术有限公司)。检测仪器为离心机(TDZ4-WS长沙湘智离心机、XT4-4.7细胞洗涤离心机), 37℃电热恒温水浴箱(上海医疗器械), 56℃电热恒温水浴箱(上海跃进医疗器械), 试剂专用冰箱(2℃-8℃日本三洋)。

1.3 检测方法

初筛采用纸板法正定型, 血型复检采用PK7300全自动血型仪, 发现血型正反定型不符的标本采用血型血清学方法进行进一步的检测, 包括ABO试管法正定型、红细胞抗体筛选和鉴定、唾液血型物质测定、直接抗球蛋白试验、吸收放散试验、冷凝集素测定等均按照全国临床检验操作规程进行^[3]。ABO血型基因检测外送天津秀鹏生物技术公司进行。

2 结果

采集2019年1月至2022年12月共检测119 816例献血者血型, 血型复检中发现ABO血型正反定型

收稿日期: 2023-03-07; 修回日期: 2023-06-05

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2022MS08004)

第一作者: 苏仁娜(1987—), 女, 硕士, 主管技师。研究方向: 血型学检验及输血研究。E-mail: surenna05@126.com

*通信作者: 高乃康, 男, 博士, 教授, 主任医师。研究方向: 神经外科。E-mail: gaonai kang@163.com

不符 87 例,比例约为 0.07%(87/119 816)。复检正定型不符 13.79%(12/87),复检反定型不符占 86.21%(75/87)。出现正反定型的主要原因为:(1)抗筛阳性者 36 例,其中未确定其特异性者 17 例,确定抗体

特异性者 19 例,包括抗-M 15 例,抗-Lea 2 例,抗-Leb 1 例,抗-D 1 例;(2)抗体减弱 21 例,其中抗-A 减弱 7 例,抗-B 减弱 14 例;(3)ABO 亚型 13 例,其中 5 例进行基因检测;(4)冷凝集素 13 例。具体结果见表 1、2。

表 1 87 例 ABO 血型正反定型不符的构成和原因

正定	反定	抗筛阳性		ABO 亚型	抗体减弱	冷凝集素	合计
		抗体特异性	特异性未确定				
A	O	6	8	1	0	6	21
A	AB	0	0	1	8	0	9
B	O	9	5	0	0	4	18
B	AB	0	0	1	4	2	7
O	A	0	0	2	3	0	5
O	B	0	0	3	6	2	11
AB	A	1	0	0	0	0	1
AB	B	1	2	3	0	2	8
AB	O	2	2	2	0	1	7
合计		19	17	13	21	17	87

表 2 5 例 ABO 亚型标本血清学及基因检测结果

样本编号	反应条件	-A	-B	-AB	-H	A1c	A2c	Bc	Oc	自身	吸收放散	血型物质	测序结果
1	IS	4+	W+	4+	2+	W+w	0	W+w	W+w	W+	+	ABH	BW07/A102
	4℃	4+	2+	4+		2+		2+	2+	2+			
	37℃	4+	W+	4+		0		0	0	0			
2	IS	4+	0	4+	4+	W+	0	0	0	0	+	ABH	A205/B01
	4℃	4+	W+w	4+		1+		W+w	0	W+w			
	37℃	3+	0	4+		0		0	0	0			
3	IS	0	0	W+w	4+	4+	4+	0	0	0	+	非分泌	Bx02/O2
	4℃	0	0	W+w		4+		0	0	0			
	37℃	0	0	0		4+		0	0	0			
4	IS	1+	4+	4+	3+s	1+s	1+	0	0	0	未做	H	B(A)04/O01
	4℃	2+	4+	4+		1+		0	0	0			
	37℃	W+w	4+	4+		1+		0	0	0			
5	IS	0	0	0	4+	3+	3+	W+	0	0	-	H	Bel03/O02
	4℃	0	0	0		1+s		1+s	0	0			
	37℃	0	0	0		1+		W+w	0	0			

3 讨论

ABO 血型正反定型是采供血机构根据《血站技术操作规范》(2019 版)要求对献血者样本进行的必检项目之一,准确 ABO 的血型鉴定是临床用血的前提和保障,在 ABO 血型复检中正反定型不符的情况无法避免^[4]。本文 119 816 例无偿献血者标本中发现 ABO 血型正反定型不符者 87 例,约占 0.073%,高于王娇^[5]报道的 0.02%,低于刘二雄^[6]报道的 0.131%和侯萍^[7]报道的 0.27%。对其 ABO 血型正反定型不符者统计显示,发现主要原因为抗筛阳性,其中不规则抗体特异性主要为抗-M,并以 IgM 类抗体为主,相对来说人血清抗-M 抗体是比较常见的自然发生的抗体^[8]。在临床的交叉配血中会引起盐水介质的次侧凝集,文中还检测到 1 例献血者血浆中有 IgM+IgG 抗-D,2 例 IgM 抗-Lea,1 例 IgM 抗-Leb,对

于血浆中存在不规则抗体者采取非红细胞制品(包括血浆和冷沉淀)做报废处理或者留做质量控制检测使用,红细胞洗涤后使用。这与刘玉敏^[8]报道的对这一类血液制品处理方法相同,既避免了血液浪费,又保证了血液的安全。

在 87 例 ABO 血型正反定型不符样本中,有 21 例是由于抗 A、抗 B 抗体减弱引起,其中抗-A 减弱占 33.33%(7/21),抗-B 减弱占 66.67%(14/21),ABO 血型自然抗体是与自然界多糖抗原物质接触,以及人肠道中细菌抗原刺激产生的抗体^[9],可能与不同人的生活环境,免疫能力不同造成抗 A、抗 B 抗体的强度有差异。在人类中,ABO 基因型受到各种病毒、细菌、原生动物病原体 and 可能的肠道微生物的影响。机制通常是免疫相关,包括病原体黏附,毒素结合,可溶性诱饵和天然抗体等。Yang 等^[9]研究表明,miQTL 通过影响肠道 GalNAc 操纵子浓度,从

而影响 GalNAc 相关细菌的生长而发挥对 ABO 基因型影响的作用。今后对于献血者抗 A、抗 B 抗体的减弱的相关因素有待于进一步的探讨。本文对于抗体减弱者通过增加反定型反应时间,增加血清量,由正常的 2 滴增加到 4~8 滴,以及 4 ℃ 放置一段时间再观察结果,另外增加不同厂家 ABO 反定型红细胞和选用新鲜的 ABO 红细胞进行对比。如果经进一步试验排除 ABO 亚型后,抗体缺失或减弱的献血者可以用于临床输血治疗,提高血液的利用率。

ABO 亚型是一种弱 A 或弱 B 的表现型,抗 A 或抗 B 试剂有时不能检出其抗原性或检出的抗原性弱,也是影响 ABO 血型正反定型不符的主要原因。其鉴定方法除在红细胞正定型中加做抗-AB,抗-A1,抗-H,反定型中加做 A2 细胞外,还可通过吸收放散试验观察其是否具有吸收能力弱而放散能力强的特点,唾液血型物质的测定,对于分泌型的唾液,测定其血型物质有助于 ABO 血型的亚型鉴定,文中共检出 ABO 亚型 13 例,其中 A 亚型 2 例。B 亚型 2 例,AB 亚型 9 例,5 例进行了基因检测,其中一例正反定型不符且同时存在自身抗体,血清学方法不能准确确定其亚型型别,经基因检测确定为 A1Bw,因此当出现正反定型不符情况时,除必要的血清学检测外,血型基因分型、测序技术作为血型血清学的补充,可进一步准确分析血型,避免出现误检和漏检,对保证临床输血的及时性、有效性和安全性都具有重要意义。本实验发现 1 例 B(A) 血型。B(A) 血型是一种 AB 亚型,发生率非常低,在我国献血人群中的发生概率可能是 1/5000~1/10000^[10]。B(A) 血型被认为遗传学上的 B 型,血清学检测结果多表现为 AB 型,但输血时用 AB 型血,可能产生严重的输血反应。B(A) 血型的血清学特点是其红细胞能与抗 B 发生强凝集,与抗 A 发生弱凝集或不凝集,血清中含有抗 A,为了准确地判断 ABO 亚型,我们进一步进行了基因测序,确保其血型鉴定的准确性和输血安全。

冷凝集也是影响血型鉴定的原因之一。Yao 等^[11]研究表明,ABO 正反定型不符常见的原因是由于存在特异性抗体或非特异性凝集,主要是抗 M 抗体和冷反应性的自身抗体,使得捐赠者与冷凝集自身抗体的分型不符,而且和年龄相关,进行反向分型、抗 H 凝集素检测、PCR-SSP 和基因测序分析对提高 ABO 血型分型的准确性有重要意义。本实验发现 17 例冷凝集导致的正反定型不符,冷凝集属于冷反应性的自身抗体,在冬天或者天气较冷的季节容易出现,冷自身抗体的存在干扰其血型鉴定,出

现这种现象可将红细胞和血清分别预热 37 ℃,并尽可能在 37 ℃ 条件下定型。一般情况下正常人体内含有少量冷抗体,效价很低 < 4 ℃ 才有活性,20 ℃ 以上不发生凝集,如果献血者含有极弱的冷自身抗体,37 ℃ 消失,这部分血液用于临床可采取保温输血,如果含有高效价的冷自身抗体,在 37 ℃ 仍有活性则血液应以报废处理。

总之,ABO 血型正反定型不符为疑难血型鉴定范畴,工作人员要高度重视,不仅要进行系统的血型血清学检测,还需结合分子生物学的方法进行检测,尤其对于亚型确切型别的判断,确保血型鉴定的准确性。并根据原因采取合理的用血方案,既保证临床用血的安全有效,又避免不必要的血液资源浪费。对于有高效价特异性的特殊抗体者其血清可用于实验研究。对于稀有血型献血者可建立稀有血型档案,积累资料,有助于了解不同地区和民族人群稀有血型表型频率可能存在的差异。

参考文献

- [1] Miola MP, Oliveira TC, Guimarães AAG, et al. ABO discrepancy resolution in two patients with acute myeloid leukemia presenting the transient weak expression of A antigen[J]. *Hematol Transfus Cell Ther*, 2022, 11(22): 37-39
- [2] 中国国家卫生部国家标准化管理委员会. 献血者健康检查要求: GB18467-2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012: 3
- [3] 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: 118-134
- [4] Ramsey G, Park YA, Eder AF, et al. Obstetric and newborn weak D- Phenotype RBC testing and Rh immune globulin management recommendations: lessons from a blinded specimen-testing survey of 81 transfusion services[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2023, 147(1): 71-78
- [5] 王娇, 胡娟, 宋知杨, 等. 贵阳市无偿献血人群 ABO 血型正反定型不符情况分析[J]. *实验与检验医学*, 2020, 38(5): 1030-1031+1034
- [6] 刘二雄, 孙文利, 胡兴斌, 等. 献血者 ABO 正反定型不合原因分析[J]. *临床输血与检验*, 2018, 20(2): 182-185
- [7] 侯萍, 李晓丰, 李剑平. 沈阳地区献血者疑难血型鉴定原因分析及处理措施[J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(2): 223-224
- [8] 刘玉敏, 张韦, 邵晓琳. 血型正反定型不符和凝集减弱的原因分析及处理[J]. *滨州医学院学报*, 2022, 45(4): 318-320
- [9] Yang H, Wu J, Huang X, et al. ABO genotype alters the gut microbiota by regulating GalNAc levels in pigs[J]. *Nature*, 2022, 606(7913): 358-367
- [10] 刘长利, 苗天红, 刘亚庆, 等. B(A) 血型等位基因分型研究[J]. *中国输血杂志*, 2012, 25(5): 429-431
- [11] Yao MX, Hao X, Xia XX, et al. Retrospective analysis of molecular biology mechanism of ABO blood group typing discrepancy among blood donors in Jinan blood station[J]. *Transfus Clin Biol*. 2022, 29(1): 75-78