

ABO 血型 B 亚型检测与血清学分析*

宋小川¹ 郑伟² 胡安华¹ 孙喜东² 李凌波³

【摘要】 目的:对 8 例 ABO 血型 B 亚型进行血清学检测并分析,为临床鉴定正反定型不符疑难血型提供借鉴。**方法:**采用微柱凝胶卡式法及试管法进行 ABO 血型定型,并应用红细胞吸收放散试验、唾液中 HAB 血型物质测定等鉴定亚型。**结果:**8 例患者样本红细胞上均存在 B 抗原,并经血清学鉴定均符合 Bx 亚型分类标准。**结论:**Bx 亚型由于红细胞所含 B 抗原极弱,易被误定为 O 型,在亚型红细胞出现正反定型不符的情况下,应使用包括血清学在内的多种方法正确鉴定其血型,以保证输血安全。

【关键词】 ABO 血型;Bx 亚型;血清学

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2017.10.011

【中图分类号】 R457.1 **【文献标志码】** A

ABO blood B subtype detection and serology analysis

SONG Xiaochuan¹ ZHENG Wei² HU Anhua¹ SUN Xidong² LI Lingbo³

(¹The First Teaching Hospital of Xinjiang Medical University, Transfusion Department, Urumqi, 830011, China; ²The 208 Hospital of People's Liberation Army; ³Changchun Bioxun Biotechnology Limited Company)

Corresponding author: SUN Xidong, E-mail: sunxd2006@sina.com; LI Lingbo, E-mail: lilingbo@bioxun.com

Abstract Objective: To serologically detect and analyze 8 samples of ABO blood group of B subtype, and provide the reference for clinical identification of reciprocal stereotypy about mismatching difficult blood type. **Method:** ABO blood group was detected using micro-column gel card test and tube test, and subtype was identified by absorption elution test of red blood cell and matter detection of saliva's HAB blood group. **Result:** The 8 samples of red blood cell existed antigen-B, which matched Bx subtype categorization standard through serology identification. **Conclusion:** Bx subtype was identified to be O type easily, because of significantly weak antigen-B on its red blood cell. Under the circumstance of subtype red blood cell showing ABO typing discrepancy, all kinds of methods including serology detection should be used to identify the blood group correctly for ensuring the security of transfusion.

Key words ABO blood group; Bx subtype; serology

在 ABO 血型系统中, A 亚型可分为 A₁、A₂、A₃、A_m、A_x、A_{el} 等, 而 B 亚型中 B₂ 目前还没有得到公认, 根据 Salmon 等的研究和建议, 认为 B 亚型也参照 A 亚型的定义和分类, 基本可分为 B₃、B_m、B_x、B_{el} 等^[1]。国外 ABO 亚型中报导较多的是 A 亚型, 而我国 B 亚型频率高于 A 亚型, B 亚型中又以 B_x 报道较多^[2]。B_x 亚型是抗原较弱的变异型, 主要由于糖基转移基因第 7 外显子点突变, 降低或改变了酶的活性, 导致 B 抗原弱表达, 其血清学的主要特征是与抗-B 不凝集或弱凝集, 与抗-AB 凝集, 红细胞能吸附和放散抗-B 抗体, 血清中含很弱的抗-B, 分泌型人唾液中含有 B 物质^[3]。现将采用微柱凝胶免疫技术结合血清学吸收放散试验等进

行鉴定的 B_x 亚型 8 例进行分析, 以探讨 B_x 亚型血清学特征及其鉴定策略, 报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源

自 2014-01—2016-01 住院及门诊患者 ABO 血型正反定型不一致标本 8 例, 其中男 6 例, 女 2 例; 年龄 23~51 岁, 平均 36 岁。8 例患者均无手术及外伤史, 无输血及献血史, 无药物过敏史。样本鉴定血型时, 使用微柱凝胶技术在室温下进行正反定型, 正定型均显示为“O 型 RhD 阳性”, 反定型试验其血浆与反定型 A 细胞反应均呈 4+ 凝集, 与反定型 B 细胞均不凝集, 反定型均显示为“B”型。8 例均正反定型不符, 需进一步复查并鉴定其血型。

1.2 试剂与仪器

ABODE 血型检测卡(微柱凝胶)、抗人球蛋白检测卡(不规则抗体筛检)、ABO 血型反定型试剂盒(人血红细胞)均由长春博迅生物技术有限责任公司提供; 不规则抗体检测试剂(人红细胞)由长春博德生物技术有限责任公司提供; 抗-A、抗-B 血型

* 基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (No: 20160204016SF); 吉林省卫计委项目 (No: 2013zc023)

¹ 新疆医科大学第一附属医院输血科 (乌鲁木齐, 830011)

² 中国人民解放军第 208 医院

³ 长春博迅生物技术有限责任公司

通信作者: 孙喜东, E-mail: sunxd2006@sina.com;

李凌波, E-mail: lilingbo@bioxun.com

定型试剂(单克隆抗体)由上海血液医药生物公司提供;单克隆抗-AB、抗-H 均由德国 Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH 公司生产。以上所有试剂均在效期内使用。人血清抗-A、抗-B、抗-AB 由科室自制。TD-3A 型血型血清学离心机由长春博研医学生物仪器公司生产;电热恒温水浴箱由上海实贝仪器设备厂生产。

1.3 方法

8 例样本 ABO、Rh 血型鉴定均采用微柱凝胶卡式法及试管法分别在不同温度条件下检测,卡式法按厂家说明书操作,试管法按文献[4]中方法操作;样本不规则抗体筛检试验采用卡式法,按厂家说明书操作;红细胞吸收放散试验、唾液中 HAB 血型物质测定均按文献[4]中方法操作。

2 结果

2.1 样本 ABO、Rh 血型

8 例患者样本经微柱凝胶卡式法检测,在室温及 37℃下,样本 ABO、Rh 血型均显示为 O 型 RhD 阳性,反定型均为 B 型;但在 4℃条件下 8 例样本红细胞与单克隆抗-B 均出现凝集,反定型样本血浆均与 B 细胞出现凝集,见表 1。8 例样本 ABO 血型及 H 抗原检查(试管法),见表 2。

表 1 微柱凝胶法检测患者 ABO 血型正反定型结果

标本号	温度	正定型			反定型	
		抗-A	抗-B	抗-D	Ac	Bc
1	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	W ⁺	4+	4+	W ⁺
	室温	—	—	4+	4+	—
2	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	W ⁺	4+	4+	1+
	室温	—	—	4+	4+	—
3	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	W ⁺	4+	4+	W ⁺
	室温	—	—	4+	4+	—
4	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	1+	4+	4+	W ⁺
	室温	—	—	4+	4+	—
5	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	W ⁺	4+	4+	W ⁺
	室温	—	—	4+	4+	—
6	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	W ⁺	4+	4+	1+
	室温	—	—	4+	4+	—
7	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	1+	4+	4+	W ⁺
	室温	—	—	4+	4+	—
8	37℃	—	—	4+	4+	—
	4℃	—	W ⁺	4+	4+	W ⁺
	室温	—	—	4+	4+	—

注:W⁺代表弱凝集,—代表阴性。

2.2 样本不规则抗体筛查及红细胞吸收放散试验

8 例样本不规则抗体筛检试验结果均阴性,说

明患者血浆中不存在 ABO 系统以外的不规则抗体。8 例样本均取洗涤 3 次后的患者红细胞悬液(1 ml)与等量人血抗-B 血清混合,4℃吸收 1 h,洗涤后经 56℃热放散,放散液与 4%浓度 B 型红细胞悬液反应均发生凝集,最末洗涤液不凝,证实 8 例患者红细胞上均存在 B 抗原。

2.3 患者唾液中 H 及 AB 血型物质测定

8 例患者中阴性对照、盐水对照及 B 细胞均凝集,而阳性对照、O 细胞均未凝集,说明此 8 例患者唾液中均未测到 B 物质,只含有 H 物质,为非分泌型。将患者红细胞及正常成人 O、B、A₁ 型红细胞分别与抗-H 反应,8 例患者均进行比对,结果凝集强度均分别为 4+、4+、弱凝、弱凝,与亚型 H 物质含量测定标准相符^[5]。

3 讨论

ABO 亚型红细胞 A 或 B 抗原均呈现弱抗原性,所有亚型 H 抗原表达正常或反向升高,分泌型唾液中 HAB 抗原量也不同,弱 B 亚型的分类比较困难,对 B 亚型的判定最好参照 A 亚型的标准^[1],我国 B 亚型频率高于 A 亚型^[6]。参照 A 变异型,弱 B 亚型可分为 B₃、B_x、B_m、B_{el} 及 B_w^[1]。典型的 B_x 红细胞与抗-B 和抗-AB 血清不发生凝集或仅发生弱凝集,B_x 亚型的血清与正常人的 B 型红细胞不发生凝集或发生弱凝集,这说明 B_x 亚型人的血清中有可能存在与自身细胞不发生凝集的弱抗-B。所以在临床输血或血型鉴定时,若 ABO 定型只进行正定型检测,B_x 亚型往往被误定为 O 型。误定为 O 型的 B_x 亚型患者,若输注了 O 型全血;或误定为 O 型的 B_x 亚型供血者的全血,输注给 O 型患者,均有可能出现输血反应^[7]。

在 ABO 血型亚型的鉴定中,一般可根据受检者红细胞抗原与相应血清抗体反应的强弱、血清中抗体的特异性及分泌型人血型物质的性质及量来判断。其中 B_x 亚型分泌型个体的唾液中有时可缺乏 B 物质,仅有 H 物质^[8]。在本试验中,8 例患者红细胞与卡式法中单克隆抗-B(4℃)及人血清抗-B(4℃、室温)均发生凝集,说明其红细胞上存在 B 抗原(吸收放散试验亦证实),样本血浆与 A₁ 红细胞发生凝集,与 B 型红细胞在 4℃条件下发生弱凝集,且样本不规则抗体筛检试验阴性,说明 8 例样本血浆中均存在着不规则抗-B(但不与自身 B 细胞凝集)。本实验结果显示,8 例样本红细胞与抗-B 均未出现混合凝集外观,可以排除 B₃ 亚型,红细胞被抗-AB 凝集,又可排除 B_{el} 亚型^[6]。有研究指出,弱 B 红细胞与抗-AB、抗-B 及抗-H 发生的凝集分别为 1+/2+、0/W⁺ 及 4+ 的凝集反应,且唾液中不含 B 血型物质的为 B_x 亚型,而 B_m 分泌型人中应含 B 物质。根据以上血清学分析,该 8 例样本红细胞应定为 B_x 亚型,且样本血浆中含有在 4℃反

应的弱抗-B 抗体,文献报道这些抗体通常为低反应性抗体,且多为冷性质抗体,可能被错误定型引起血型误判影响输血^[9]。

表 2 试管法检测患者 ABO 血型正反定型结果

标本号	温度	单克隆抗体				人血清抗体			试剂红细胞			
		抗-A	抗-B	抗-AB	抗-H	抗-A	抗-B	抗-AB	A1c	Bc	Oc	自身 c
1	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	—	2+	4+	—	1+	1+	4+	W ⁺	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—
2	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	—	1+	4+	—	1+	1+	4+	1+	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—
3	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	—	2+	4+	—	1+	1+	4+	W ⁺	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—
4	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	W ⁺	2+	4+	—	1+	2+	4+	W ⁺	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—
5	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	—	2+	4+	—	1+	1+	4+	W ⁺	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—
6	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	—	2+	4+	—	1+	1+	4+	1+	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—
7	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	W ⁺	2+	4+	—	1+	1+	4+	W ⁺	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—
8	37℃	—	—	1+	4+	—	—	W ⁺	4+	—	—	—
	4℃	—	—	1+	4+	—	1+	1+	4+	W ⁺	—	—
	室温	—	—	1+	4+	—	W ⁺	W ⁺	4+	—	—	—

注:W⁺代表弱凝集,—代表阴性。

8 例样本卡式法正定型在 4℃下与抗-B 发生凝集,试管法正定型在 4℃下与单克隆抗-B 不凝集,与人源抗-B 及抗-AB 凝集,说明样本红细胞上有弱的 B 抗原,但单克隆抗-B 对其未识别。对于单克隆抗体漏检 Bx 亚型事例,国内已有文献报道^[10]。并认为漏检的原因是《中国生物制品规程》2000 年版对抗-A、抗-B 血型定型试剂(血型抗体)制造及鉴定其特异性要求为抗-B 只凝集含 B 抗原红细胞,包括 B 和 AB,但未要求凝集 B₃、Bx 抗原红细胞。因此,在日常的血型鉴定工作中,应认真进行红细胞抗原抗体的正反定型,对一些特殊的亚型红细胞出现正反定型不符的情况下,应使用包括血清学或分子生物学^[3]等方法正确鉴定其血型,以保证输血安全。

参考文献

[1] Daniels G. Human Blood Groups[M]. 3th ed. Oxford: John Wiley & Sons Ltd,2013:33—40.

[2] 谭淑玲,周先果,申卫东.B 亚型血型 9 例血清学特征及鉴定方法[J]. 广西医学,2012,34(8):1004—1005,1007.

[3] Liu GL,Zhu F,Zheng XL,et al. Identification of Bx02 Alleles and Genetic Analysis of the Involved Ancestry [J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi,2015 ,23: 1749—1752.

[4] 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,2014:118—119,123—124,129.

[5] AABB. TechnicalManual [M]. 18th ed. Bethesda: AmericanAssociation of Blood Banks,2014:296,301.

[6] 李世祥,章旭,李剑平. 罕见 ABO 变异型 Bel 亚型鉴定 1 例[J]. 中国保健营养,2013,23(6):3277—3278.

[7] 王春燕. Bx 亚型 1 例[J]. 临床血液学杂志,2013,26 (12):889—890.

[8] 杜文竹,章旭. ABO 亚型 Bel06 的分子生物学鉴定 [J]. 中国当代医药,2015,22(30):166—167,170.

[9] 王霞,王湘屏,徐新. Bx 亚型伴抗-B 抗体产生的血型血清学特性分析与输血策略[J]. 中南医学科学杂志, 2014,42(4):382—384,387.

[10] 王宏法,刘玉振. 国产血型定型试剂导致 Bx 亚型漏检 1 例原因分析[J]. 中国误诊学杂志,2008,8(25): 6152—6153.

(收稿日期:2017-03-08)