

由 ABO 正反定型不符发现类孟买血型

朱永亮¹ 许进明¹ 李莺¹ 史丽莉² 周小玉¹

[摘要] 目的:研究类孟买血型的鉴定。方法:用血型血清学、吸收放散试验检测 ABH 抗原及相应抗体,并进行唾液血型物质检测以及血型基因分型最终鉴定类孟买血型。结果:常规血型血清学未检出 B、H 抗原,吸收放散试验检出 H 抗原,利用新生儿红细胞和标准红细胞与患者血清反应结果的对比检出抗 H 或抗 HI, Lewis 血型为 Le(a-b+),唾液中检出 B、H 血型物质从而鉴定该患者血型为 B_{mh},和该例患者血型基因分型结果一致。结论:规范疑难血型的鉴定是发现稀有血型 and 保证安全输血的必要条件。

[关键词] 类孟买血型;正反定型

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.08.013

[中图分类号] R457.11 **[文献标志码]** A

The discovery of para-bombay phenotype by ABO forward and reverse typing unconformity

ZHU Yongliang¹ XU Jinming¹ LI Ying¹ SHI Lili² ZHOU Xiaoyu¹

(¹Department of Blood Transfusion, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 210029, China; ²Jiangsu Province Blood Center)

Corresponding author: ZHOU Xiaoyu, E-mail: deerzxy@163.com

Abstract Objective: To study the identification of para-Bombay phenotype. **Method:** The ABH antigens and corresponding antibodies were detected by blood group serology as well as absorption and dispersion test. The para-Bombay phenotype was finally identified by carrying out saliva blood group material detection and blood type genotyping. **Result:** B and H antigens were not detected in conventional blood genegroup serology, and H antigen was detected by absorption and dispersion test. Anti H or HI were detected by comparing the result of neonatal red blood cells responding with patient serum and that of standard red blood cells responding with patient serum. Lewis' blood type is Le(a-b+), and B and H blood type material were detected in his saliva so that the blood type of the patient was identified as B_{mh}, the same as the blood type genotyping result of the patient. **Conclusion:** It is necessary to regulate the identification of difficult blood types for finding rare blood types and ensuring safe blood transfusion.

Key words para-bombay phenotype; group typing and reverse typing

类孟买血型在我国是一种极为罕见的血型。日常工作中,未按规定鉴定程序处理正反定型不一致的现象,易导致类孟买等稀有血型的漏检或误判,有报道类孟买血型易定为 O 型^[1] 从而给安全输血带来隐患。我们在临床工作中碰到 1 例类孟买 B_{mh} 血型患者,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源

患者,男,30 岁,来我院进行 ABO 血型检验时发现正反定型不一致,排除操作误差、病史、输血史等的影响,于是进行进一步的规范鉴定研究。同时送江苏省血液中心进行基因测定。

1.2 试剂与仪器

ABO 试剂红细胞(长春博迅生物医药有限公司);新生儿红细胞(取 3 份等量新生儿洗涤后红细

胞混合,制成 4% 的红细胞悬液);血型微柱凝胶卡(BIO-RAD 公司);单克隆抗-A、抗-B、抗-AB、抗-H、抗-Le^a、抗-Le^b(均为上海血液生物医药有限公司);基因组提取试剂盒(北京原平皓公司);dNTPs (GENERAY Biotech 公司);Mgcl₂、10 * PCR Buffer、Taq DNA 酶(均为美国 Promega 公司);特异性引物及内参引物(由上海生工公司合成)。所有试剂均在有效期内使用。孵育器、微柱凝胶卡专用离心机(均为 BIO-RAD 公司);PCR 扩增仪(美国 Applied Bio-system 公司,PE600);荧光可见光凝胶成像分析系统(Alpha Innotech 公司,Alpha ImagerEP)。

1.3 试验方法

ABO 血型鉴定按照 BIO-RAD 公司 ABO 微柱凝胶卡式法操作说明书。正反定型试管法、吸收放散试验及唾液中血型物质检测均按照《全国临床检验操作规程》^[2] 进行。血型基因分型按照基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取全血 DNA,PCR 扩增 ABO 基因的第 6、7 外显子,所需引物由上海生工

¹南京医科大学第一附属医院输血科(南京,210029)

²江苏省血液中心研究室

通信作者:周小玉, E-mail: deerzxy@163.com

生物技术有限公司合成,PCR 扩增条件,扩增引物及测序引物序列见参考文献[3]。FUT1 和 FUT2 基因 PCR 扩增条件、相关引物序列及测序引物序列参考文献[4]。

2 结果

2.1 血型抗原抗体的鉴定

用血型微柱凝胶卡进行型鉴定时正反定不一致,于是立即按照规范用抗-AB,抗-H 和患者红细胞反应,用标准 A、B、O 红细胞及自身红细胞和患者血清在不同温度进行反应,结果见表 1。

表 1 ABO 血型抗原抗体鉴定结果

温度	正定型				反定型			
	抗-A	抗-B	抗-AB	抗-H	A _c	B _c	O _c	自身 C
22℃	0	0	0	0	4+	0	0	0
4℃	0	0	0	0	4+	1+	2+	0
37℃	0	0	0	0	4+	0	0	0

表 2 患者血清与新生儿及成人红细胞试验结果

温度	成人红细胞		新生儿红细胞		自身对照
	B _c	O _c	B _c	O _c	
4℃	1+	2+	0	0	0
37℃	0	0	0	0	0

表 3 患者红细胞与抗 B 吸收放散液的试验结果

与抗 B 吸收放散液	试剂红细胞		新生儿红细胞		自身细胞
	B _c	O _c	B _c	O _c	
4℃	0	0	0	0	0
37℃	0	0	0	0	0

表 4 患者红细胞与抗 H 吸收放散液的试验结果

与抗 H 吸收放散液	试剂红细胞		新生儿红细胞		自身细胞
	B _c	O _c	B _c	O _c	
4℃	2+	3+	0	0	0
37℃	1+	2+	0	0	0

2.4 Lewis 血型鉴定

Lewis 血型为 Le(a-b+),患者为分泌型。

2.5 患者唾液血型物质的检测

抗 B 管完全抑制,抗 H 管部分被抑制,说明患者唾液中存在 B、H 血型物质,检测结果消化液与抗 A 吸收 3+;消化液与抗 B 吸收 0;消化液与抗 H 吸收 +。

2.6 血型基因型鉴定

患者 ABO 基因测序结果为 B101/001,FUT1 基因测序结果核苷酸 547-548AG 缺失,h1:nt 547-552 缺失 AG(AGAGAG)-(AGAG)。FUT2(SE) nt357C/T 同义突变。

2.2 用新生儿的红细胞进行抗体鉴定

选用 B 型和 O 型新生儿红细胞和成人红细胞分别与学生血清在 4℃、37℃ 进行试验,由此说明 4℃时该患者的反定型凝集可为抗-HI 冷抗体引起,结果见表 2。

2.3 吸收放散试验

取放散液分别与试剂红细胞和新生儿红细胞在 4℃、37℃ 进行试管法反应,结果见表 3,表 4。未检出 B 抗原。吸收放散试验未检出 B 抗原,检出 H 抗原,可以排除孟买血型,考虑类孟买血型。

3 讨论

类孟买血型是一种罕见的红细胞血型,是由于 α -1,2 岩藻糖基转移酶基因突变导致红细胞表面 H 抗原部分或完全缺失,红细胞上缺乏血清学足以检出的 H 抗原,唾液中存在 H 物质,血清中可能含有抗 H 或抗 HI,在血清学正定型试验未检出 A 或 B 抗原时,易被误判成 O 型,所以正定型试验中应增加标准 O 细胞来预防误判。

由于类孟买血型的红细胞缺乏的 H 抗原,而 H 抗原是 A、B 抗原的前身物质,所以类孟买血型的 A、B 抗原表达极弱,本次试验中常规正定型和吸收放散试验均未检出 B 抗原。人源高效价抗血清比单克隆抗血清能提高患者红细胞上微量 A 或 B 抗原的检出。本次试验因标本量不足,未将 2 种方法进行比对。但在患者唾液血型物质的检测中检出 B 和 H 血型物质,证实该患者为 B_{mh}分泌型。

分子生物学试验中 ABO 基因测序结果证实患者含有 B 基因。FUT1 位点上的基因存在多态性,表现最多的主要有 FUT1 位点上的 4 个隐性基因,其中以 H₁(nt547-552 缺失 A 和 G)最为常见,该患者经过 FUT1 基因测序证实为最常见的 H₁型。

新生儿红细胞上 H 抗原反应性弱,这一特点可以解决试验中 H 抗原阴性红细胞无法获取的问题,通过新生儿红细胞和成人红细胞与学生血清的反应结果对比佐证患者血清中含有抗 H 或抗 HI,从而将抗 H 或抗 HI 与其他类型抗体进行区分。

类孟买血型患者如需输血,有报道称类孟买血清中的抗 H 或抗 HI 效价弱,在 37℃ 常无反应,此类孟买血型者可输 O 型或同型(在 37℃ 交叉配血无反应)的红细胞^[5]。若其抗 H 或抗 HI 在室温

不同反应条件的半乳甘露聚糖检测的研究*

何静¹ 熊永芬¹ 周强¹ 李鹏程¹ 王顺¹

[摘要] 目的:半乳甘露聚糖(GM)试验是一种诊断侵袭性曲霉感染(IA)的早期抗原指标,本实验旨在探索孵育方式与显色时间对 GM 试验结果的影响。方法:采集武汉市第一医院 137 例住院患者的血清或肺泡灌洗液样本进行实验,按不同的孵育方式和显色时间分别将实验进行分组,计算不同组的阳性率,再用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。结果:取待测样本与标准血清的吸收度的比值(I 值) ≥ 0.5 为阳性,不同实验组的阳性率均差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:孵育方式和显色时间对 GM 试验的结果有显著影响。

[关键词] 侵袭性真菌感染;侵袭性曲霉感染;GM 试验;孵育方式;显色时间

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.08.014

[中图分类号] R446.5 **[文献标志码]** A

Analyses of different methods of GM test

HE Jing XIONG Yongfen ZHOU Qiang LI Pengcheng WANG Shun

(Department of Transfusion Medicine, Wuhan Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital/Wuhan NO. 1 Hospital, Wuhan, 430022, China)

Corresponding author: WANG Shun, E-mail: wang_shun6688@sina.com

Abstract Objective: Galactomannan(GM) test is an early antigen index for diagnosis of invasive aspergillus infection(IA). The aim of this experiment is to investigate the effects of different incubation conditions and coloration time on GM test. **Method:** A total of 137 inpatients with serum or alveolar lavage fluid were enrolled in our hospital as the test sample. The positive rate of different groups was calculated by grouping the experiment according to different incubation conditions and different coloration time. Statistical analysis was taken using SPS S13.0 software. **Result:** The ratio of the absorbance of the test sample to the standard serum(I value) was greater than 0.5, and both of the differences of incubation conditions and coloration time had statistical significant($P < 0.05$). **Conclusion:** Incubation conditions and coloration time may both have significant effect on the results of the GM test.

Key words invasive fungal infections; invasive aspergillosis; galactomannan test; incubation conditions; coloration time

侵袭性真菌感染(invasive fungal infections, IFI)是指真菌侵入人体血液和组织生长繁殖并致其损害,导致人体病理改变的病理生理过程。近几年各地研究数据显示,IFI 的发病率和病死率逐年

升高^[1]。IFI 难与其他感染性疾病鉴别诊断,故常在尸检时才被确诊。非培养的实验室诊断方法有(1,3)- β -D 葡聚糖检测(G 试验)、半乳甘露聚糖检测(galactomannan test, GM 试验)和 PCR。其中 GM 试验被普遍认为是不会增加患者感染风险的诊断侵袭性曲霉感染非侵入性的检测方法,也被欧洲癌症研究和治疗组织/侵袭性真菌感染协作组(EORTC/MSG)^[2]认可为真菌学标准诊断指标之

* 基金项目:国家自然科学基金项目(No:81301507)

¹ 武汉市中西医结合医院/武汉市第一医院输血科(武汉, 430022)

通信作者:王顺, E-mail: wang_shun6688@sina.com

及 37℃ 有活性,故仅考虑 ABO 同型往往不能解决血液配合问题,需要多中心,多区域协作解决同型血液。对于符合自体输血指征的患者,应积极开展自体输血。无法找到同型供者需紧急输血时,在可用最小剂量的 ABO 同型红细胞,同时使用激素,缓慢输注,输注过程密切观察,做好输血不良反应的应对对策^[6]。

参考文献

- [1] 胡永红,高小华. 1 例 4 次误定为 O 型的 O^{AH}m 型分析报告[J]. 中国输血杂志, 1994, 7(1): 32.
- [2] 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: 118-139.

- [3] Chen Q, Xiao J, Wang S, et al. ABO sequence analysis in an AB type with anti-B patient[J]. Chin Med J (Engl), 2014, 127: 971-972.
- [4] 颜祺东,张万忠,田力,等. 1 例类孟买型家系的分子遗传学研究[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(5): 448-449.
- [5] 夏爱军,穆士杰,张献清,等. 类孟买血型 Am^b1 例[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2011, 24(4): 253-254.
- [6] 陈萍,沈雨青,张水木. 类孟买血型的鉴定及输血对策探讨[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2016, 29(6): 508-509.

(收稿日期:2018-04-22)