

40 例 ABO 血型鉴定出现弱凝集的结果分析及处理

彭慧文, 吴耀良, 侯建军 (中山大学附属第一医院黄埔院区检验科, 广东 528400)

【摘要】 目的 分析 40 例采用玻片凝集法和试管离心法检测 ABO 血型出现弱凝集的结果分析及处理。**方法** 40 例弱凝集样本分别经 37 ℃ 水浴 10 min、9% 生理盐水清洗血细胞 3 次处理, 做盐水试管法的正反定型试验, 直接抗人球蛋白试验, 送输血科进行微柱凝胶法鉴定, 不能确定血型者最后送广州市血液中心鉴定。**结果** 40 例 ABO 血型鉴定出现弱凝集者共有 6 例出现直接抗人球蛋白试验阳性。进行水浴、生理盐水洗血细胞处理后, 弱凝集现象分别减少 40% 和 52%。在 35 例标本中盐水试管法正反定型鉴定和微柱凝胶法鉴定一致性达到 100%, 另有 5 例正反定型不符, 微柱凝胶法鉴定亦不能确定血型者, 送广州市血液中心鉴定, 结果 4 例为 ABO 亚型, 1 例为存在不规则抗体影响。**结论** 鉴定血型时, 当发现 ABO 血型鉴定试验出现弱凝集时, 首先应重复做试验一次, 严格执行操作规程, 使用质量合格的试剂以及细心观察结果, 按步骤一步一步排除弱凝集的可能性, 对一些疑难问题必须及时请示上级主管, 并送上级医院进一步检查。

【关键词】 ABO 血型; 弱凝集; 正反定型试验; 微柱凝胶法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.18.006

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)18-1932-02

Analysis of the results and management of 40 cases of weak agglutination of ABO blood type test PENG Huei-wen, WU Yao-lian, HOU Jian-jueng. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Zhongshan University, Guangdong 528400, China

【Abstract】 Objective To analyze and deal with the results of 40 cases of weak agglutination of ABO blood type test by using slide agglutination and tube centrifugation. **Methods** 40 samples with weak agglutination were washed by water at the temperature of 37 ℃ for 10 minutes, and 9% saline for three times. And the positive and negative stereotypes saline tube test was conducted. The test results of direct antiglobulin were sent to the Department of Blood Transfusion for the appraisal by micro-column gel test, while the controversial ones were sent to Guangzhou Blood Center for identification. **Results** Among the 40 cases of ABO blood type, there were a total of six cases of weak agglutination, which occurred direct positive antiglobulin. After the processes of water bath and saline wash, the weak aggregation was reduced by 40% and 52% respectively. In 35 cases, the correlation of the results identified by brine positive and negative stereotyping methods and by consistent micro-gel test was 100%, and the other 5 cases inconsistent with the positive and negative stereotyping and micro-gel test was sent to Guangzhou Blood Center for identification. As a result, there were 4 cases of ABO subtype and 1 case of irregular antibody. **Conclusion** The test should be done once again when the weak agglutination was found in the identification of ABO blood test, and strict operation rules should be followed as well. And the possibility of weak agglutination should be got rid of with good quality reagents and careful observation, and when came across some difficult problems, consult with the higher authorities in time, and sent to higher level hospitals for further examination.

【Key words】 ABO blood group; weak agglutination; positive and negative stereotypes test; micro-column gel test

ABO 血型鉴定是临床常规检验项目之一, 特别是急诊抢救危重患者输血前必须做血型鉴定, 血型鉴定结果的正确与否关系到输血安全。近年引进的微柱凝胶法虽方法学先进, 结果较准确, 但由于价格十分昂贵, 成本过高, 一般患者难以接受, 在临床上还难以普及推广。基层医院大多采用玻片凝集法和试管离心法鉴定 ABO 血型结果, 但这两种传统的血型鉴定方法存在一定的缺陷, 现以 40 例 ABO 血型鉴定出现弱凝集的结果并如何处理进行分析, 以避免血型误判的情况出现, 保证 ABO 血型鉴定的准确性。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2008 年 8 月至 2009 年 6 月以玻片凝集法和试管离心法鉴定 ABO 血型结果出现弱凝集者共 40 例, 其中男 22 例, 女 18 例, 年龄 14~50 岁。

1.2 试剂 抗 A、抗 B 血型试剂由长春博得生物制品有限公司提供, 抗人球蛋白试剂由广州市血液中心提供, 试剂红细胞、9% 生理盐水由本室自制。

1.3 方法 40 例 ABO 血型鉴定出现弱凝集的标本分别进行以下处理: (1) 样本进行 37 ℃ 水浴 10 min、9% 生理盐水清洗血细胞 3 次处理。 (2) 按全国操作规程做盐水试管法的正反定型试验^[1]。正定型: 2 滴抗血清加 1 滴受检者的 3%~5% 红细胞悬液, 混合, 离心 3 500 r/min, 15 s, 观察结果。反定型: 2 滴受检者的血清, 加 1 滴 3%~5% 标准红细胞悬液, 混合, 离心 3 500 r/min, 15 s, 观察结果。 (3) 直接抗人球蛋白试验^[1]: 将一滴受检者 5% 的红细胞悬液加入干燥的小试管中 (75 mm×12 mm), 用盐水洗涤 3 次 (3 000 r/min, 1 min), 每次洗涤后将上清液全部倒出。加入 2 滴抗人球蛋白试剂, 离心 (3 000 r/min, 15

s),用肉眼或是借助显微镜观察凝集。(4)送输血科进行微柱凝胶法鉴定,不能确定血型者最后送广州市血液中心鉴定。

1.4 统计学方法 采用 SPSS10.0 统计软件进行分析。

2 结 果

40 例 ABO 血型鉴定出现弱凝集者共有 6 例出现直接抗人球蛋白试验阳性。进行水浴、生理盐水洗血球处理后,弱凝集现象分别减少 40%和 52%(表 1)。40 例 ABO 血型进行盐水试管法正反定型鉴定,并送输血科进行微柱凝胶法鉴定,两种方法在 35 例标本中一致性达到 100%,另有 5 例正反定型不符,微柱凝胶法鉴定亦不能确定血型者,送广州市血液中心鉴定,结果 4 例为 ABO 亚型,1 例为存在不规则抗体影响,见表 2。

表 1 40 例血型标本处理前后的结果对比

标本处理	弱凝集现象(n)	百分比(%)
37℃水浴 10 min 前	40	100
37℃水浴 10 min 后	24	60
9%生理盐水清洗血细胞 3 次前	40	100
9%生理盐水清洗血细胞 3 次后	19	48

表 2 5 例疑难血型鉴定结果

标本号	盐水凝集法		微柱凝胶法		广州市血液中心 鉴定结果
	正定型	反定型	正定型	反定型	
1	A 型	AB 型	A 型	AB 型	亚型
2	B 型	O 型	B 型	O 型	亚型
3	AB 型	A 型	AB 型	A 型	亚型
4	O 型	A 型	O 型	A 型	亚型
5	B 型	O 型	B 型	O 型	存在不规则抗体

3 讨 论

ABO 血型鉴定出现弱凝集,要考虑多方面的原因。首先要排除人为及外部因素造成的假凝集,如工作失误,未按 SOP 文件操作,无查对,或经验不足,错判结果,误将血液凝块当作凝集现象等。其次还要考虑是否因为患者自身因素引起的假凝集,如非血型抗原、抗体间反应引起的凝集、细菌污染造成的红细胞多凝或全凝现象,某些白血病或恶性肿瘤患者红细胞抗原性减弱、血浆蛋白紊乱所致某些心肌梗死、感染、外伤以及肿瘤患者纤维蛋白原增高,或由于血液黏稠度的增高引起红细胞互相叠连,在显微镜下呈缗钱状排列、血清中有 ABO 血型以外的抗体,如自身抗 I,常引起干扰、或者是老年人血清中抗体水平大幅度下降、新生儿红细胞所带的抗原部位数目较成年人少。最后考虑是否为 ABO 亚型。

在这 40 例标本中,排除了工作人员粗心大意、标本错放、试管污染以及试剂过期等因素外,均进行 37℃水浴 10 min 和 9%生理盐水清洗血细胞 3 次的处理后,重复 ABO 血型鉴定试验发现弱凝集的现象分别减少了 40%和 52%。说明患者自身因素引起的假凝集比例占一半左右。血液中存在的 IgM 抗体在 22℃室温中抗原抗体反应最强,由于天气,或实验室常年开空调以及血液标本温度低等原因,一些含有冷凝集素的血液可产生假凝集现象。遇此情况,可将试管放 37℃水浴中数分钟凝集即消失,冷却后凝集又可出现,也可将受检红细胞用加温至 37℃的生理盐水洗涤后再作试验。

40 例 ABO 血型鉴定出现弱凝集者共有 6 例出现直接抗

人球蛋白试验阳性。说明这 6 例标本的患者血液中存在自身抗体,红细胞已被抗体致敏,从而在 ABO 血型鉴定中出现了假凝集。如用 9%生理盐水清洗血细胞 3 次后重复试验仍发现有弱凝集,此时应以反定型结果为准,并同时做微柱凝胶法鉴定。

在排除了以上各种可能后,弱凝集仍然出现,正反定型不符,此时应考虑是否为 ABO 亚型。ABO 亚型是指属同一血型抗原,但抗原结构和功能或抗原位点数有一定差异,是遗传基因所决定的弱表现型。ABO 亚型由于红细胞携带的 A 或 B 抗原数量少,与抗 A 或抗 B 反应较弱,甚至不发生凝集,因而往往使弱 A(或弱 B)错判为 O 型,造成血型鉴定错误。根据三复等位基因学说,ABO 血型系统受 A、B、O 3 个等位基因控制,A 和 B 基因并不直接产生 A、B 抗原,而是在产生糖基转移酶(H 转移酶)的基础上,A 基因产生 N-乙酰半乳糖转移酶(A 酶),B 基因产生半乳糖转移酶(B 酶)。这两种酶可使 H 寡糖链(H 抗原)上加入特异性糖,而产生特异性 A 或 B 抗原,如 A、B 基因位点突变,导致合成氨基酸序列发生变异,使转移酶活性或功能改变,从而产生亚型^[2]。40 例血型样本中出现的 4 例亚型,本实验室做正反定型试验不符,送输血科做微柱凝胶法鉴定也是正反定型试验不符,定为疑难血型,最后送广州市血液中心鉴定,确定血型的结果。

有 1 例不规则抗体出现引起假凝集。不规则抗体是指 ABO 血型系统以外的抗体。大约有 0.3%~2%的个体血清中含有不规则抗体^[3]。此时须做不规则抗体筛查试验才能确定血型。

鉴定血型时,当发现 ABO 血型鉴定试验出现弱凝集时,首先应重复做试验一次,严格执行操作规程,使用质量合格的试剂以及细心观察结果,可解决明显的问题,确保标本无混淆,试管无污染,红细胞悬液勿太浓或太淡。血站或是输血科可做吸收放散试验以及唾液血型物质的测定等鉴定^[4],有条件的话可以进一步做 DNA 检测和测序等,以确定供血者红细胞上 A/B 抗原的基因位点和序列^[5]。而基层医院无相关试验条件者可按上述步骤一步一步排除弱凝集的可能性,对一些疑难问题必须及时请示上级主管,并送上级医院进一步检查。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部医政司编. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006.
[2] 高峰. 输血与输血技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003:64-67.
[3] 肖星甫,译. 输血技术学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1985:242.
[4] 姜健,华敏玉,郭永芳,等. 6 例疑难血型鉴定分析[M]. 临床输血与检验,2003,5(4):291-292.
[5] 大久保康人. 血型与输血检查[M]. 李慧文,朱智英,编译. 北京:北京科学技术出版社,1996.
[6] 范海丽,史恩祥,王苗武,等. ABO 血型正反定型不符 75 例原因分析[J]. 华北国防医药,2009,21(2):38-39.
[7] 张萍,陈符. 常见 ABO 血型鉴定错误原因分析[J]. 检验医学与临床,2009,6(1):75-76.
[8] 杨爱龙,庄华. 22 例 ABO 血型正反定型不符的研究分析[J]. 临床血液学杂志,2009,22(10):553-554.