

- associated with increased adrenal responsiveness, decreased prolactin levels and a more adverse lipid profile in 650 white patients with polycystic ovary syndrome[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2012, 28(3):170-174.
- [2] 江莉. 吸烟对男性精液参数影响的临床研究及吸烟男性精子基因组甲基化变异分析[D]. 南宁: 广西医科大学, 2013.
- [3] 陈伊, 陈胜辉, 张端军, 等. 南昌地区在校大学生精液质量分析及其与吸烟饮酒的关系[J]. *现代诊断与治疗*, 2013, 24(14):3153-3155.
- [4] 肖宇, 黄永刚, 黄朝霞, 等. 不育门诊男性精液质量及影响因素研究[J]. *浙江预防医学*, 2014, 26(2):114-118.
- [5] 周宇林, 陈康, 余波澜, 等. 吸烟对男性不育患者精子核蛋白成熟度的影响[J]. *中华男科学杂志*, 2013, 19(9):794-797.
- [6] Arabi M, Moshtaghi H. Influence of cigarette smoking on spermatozoa via seminal plasma[J]. *Andrologia*, 2005, 37(4):119-124.
- [7] 刘继龙, 陈枚燕, 林春莲, 等. 不育患者精液质量与精子 DNA 碎片及血液微量元素关系的研究[J]. *贵州医药*, 2013, 37(5):400-402.
- [8] 辛楠, 徐野, 张水文, 等. 主动、被动吸烟男性血镉 (Cd) 浓度检验结果与精子质量分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2013, 21(7):114-115.
- [9] 武俊青, 李玉艳, 高尔生, 等. 吸烟对精液质量常规指标影响的研究[J]. *中华流行病学杂志* 2012, 33(12):1228-1232.
- [10] 李彦红, 姚志娟, 王海燕. 生活习惯对男性精液质量的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(6):662-663.

(收稿日期:2015-03-25 修回日期:2015-05-28)

• 临床探讨 •

33 例无偿献血者 ABO 血型正反定型不符原因分析

赵倩, 刘森, 董磊, 安仕萍, 潘彤 (天津市血液中心 300110)

【摘要】 目的 分析无偿献血者 ABO 血型正反定型不符的原因。方法 应用血清学方法检测 ABO 血型正反定型不符标本, 并辅以 ABO 基因分型方法。结果 205 744 例无偿献血者标本, 其中 33 例正反定型不符, 经进一步鉴定抗体筛查阳性 13 例, ABO 亚型 12 例, 血型反定型抗体减弱 8 例。结论 当无偿献血者 ABO 血型正反定型不符时, 应换人多次重检排除人为因素, 同时进一步进行血清学试验及序列特异引物引导的 PCR(PCR-SSP) 基因分型, 确保无偿献血者的 ABO 血型鉴定正确, 使临床输血更加安全和有效。

【关键词】 无偿献血者; ABO 亚型; PCR-SSP 基因分型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.20.051 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)20-3097-02

采供血机构对无偿献血者 ABO 血型的确认主要是通过街头纸片法正定型及站内微板法正反定型 2 遍来判定的。正确鉴定无偿献血者 ABO 血型, 进一步保障临床输血安全是采供血机构每个人员的责任。由于血清不规则抗体的出现及存在 ABO 亚型等原因, 使 ABO 血型正反定型出现不一致, 从而给血型确认工作带来较大的困难。本文分析了本中心检验科 33 例无偿献血者血液标本正反定型不符的原因, 进一步进行了血清学试验及分子生物学试验, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1 月至 2014 年 6 月天津市血液中心检测的 205 744 例无偿献血者标本, 其中 33 例 ABO 血型正反定型不符。

1.2 试剂 血型正定型试剂: 单克隆抗-A、抗-B 购自上海血液生物医药有限责任公司; 反定型试剂: A 细胞、B 细胞、O 细胞购自上海血液生物医药有限责任公司。人源化抗 A、抗 B 试剂, 抗 H 试剂, 抗 A1 试剂均购自上海血液生物医药有限责任公司。基因组 DNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司, 人红细胞 ABO 血型基因 II 代检测试剂盒和人类 ABO 血型基因 CisAB 与 B(A) II 代检测试剂盒购自天津秀鹏生物技术开发有限公司。

1.3 方法 无偿献血者 ABO 血型鉴定: (1) 体采科与机采科

用纸板法进行正定型初检; (2) 检验科微板法进行正反定型复检, 凡正反定型不符或凝集明显较弱的标本, 排除试剂配制、加错等人为因素造成的血型误判, 改变试验条件 (如增加离心及震荡时间等), 再进行 ABO 正反血型鉴定, 若结果不一致, 进一步进行疑难血型的鉴定工作。

1.3.1 ABO 血型鉴定血清学方法 正定型: 抗-A、-B、-A1、-H; 反定型: Ac、Bc、Oc、自身细胞, 必要时加做吸收放散试验、抗体鉴定试验、库姆试验等。

1.3.2 ABO 血型鉴定分子生物学方法 提取血样 DNA, 采用序列特异引物引导的 PCR(PCR-SSP) 基因分型方法, 按照试剂盒说明书进行操作。PCR 扩增体系为: 标本 DNA 20 μ L, 循环参数为 96 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 96 $^{\circ}$ C 20 s, 68 $^{\circ}$ C 60 s, 5 个循环; 96 $^{\circ}$ C 20 s, 65 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 10 个循环; 96 $^{\circ}$ C 20 s, 62 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 15 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min。10 μ L PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳, 220 V 电压电泳 30 min, 在紫外灯下观察电泳结果。

2 结果

33 例正反定型不符的标本, 采用试管法正反定型、吸收放散试验、抗体鉴定试验及库姆试验等血型血清学方法鉴定, 其中抗体筛查阳性 13 例 (39.39%), ABO 亚型 12 例 (36.36%), 抗体减弱 8 例 (24.24%)。33 例正反定型不符原因分析见表 1。

表 1 33 例无偿献血者 ABO 血型血清学及基因鉴定结果

表型	血清学					基因分型	n
	A	B	AC	BC	OC		
抗 B 抗体减弱	4 ⁺	0	0	1 ⁺ ~2 ⁺	0	A 型	3
抗 A 抗体减弱	0	4 ⁺	1 ⁺ ~2 ⁺	0	0	B 型	4
抗 A 或 B 抗体减弱	0	0	1 ⁺ ~4 ⁺	1 ⁺ ~4 ⁺	0	O 型	1
A 亚型	0~2 ⁺	0	0	2 ⁺ ~4 ⁺	0	A201、A205	3
B 亚型	0	0~2 ⁺	3 ⁺ ~4 ⁺	0	0	B(A)04、B(A)02	5
B 亚型含抗 B	0	0~2 ⁺	2 ⁺ ~4 ⁺	W ⁺ ~2 ⁺	0	B 亚型含抗 B	1
A 亚 B	W ⁺ ~2 ⁺	4 ⁺	0	0	0	Am02B、AX13B	2
AB 亚	4 ⁺	W ⁺ ~2 ⁺	0	0	0	AB303	1
抗体筛查阳性	—	—	—	—	1 ⁺ ~4 ⁺	—	13

注:0 为阴性, W⁺ 为弱阳性。— 表示无数据。

3 讨 论

准确鉴定献血员血型极其重要, 正确的 ABO 血型对于血液的正确发放, 保证临床输血安全有效至关重要。当血型鉴定出现正反定型不符时, 应立即核查血液标本、试剂、操作是否有误, 并重新进行血型检测, 排除人为因素之外, ABO 血型抗体减弱、ABO 亚型和不规则抗体(以盐水性质的 IgM 为主)是导致正反定型不符的主要原因^[1-2]。2013 年 1 月至 2014 年 6 月本中心检验科共检测 205 744 例无偿献血者标本, 其中 33 例为 ABO 血型正反定型不符, 占 0.016%。本研究结果显示, 产生血型正反不符的原因主要有出现特异或非特异抗体, 占正反不符标本的 39.39%, ABO 亚型占 36.36%, ABO 血型抗体减弱占 24.24%。

抗体减弱主要见于儿童和老年人。在本文中, 发现有 8 例正反定型正常血型者, 但反定型血型抗体减弱, 对于此类可加大血清量来增强抗原抗体反应且以 O 型红细胞或自身细胞作为阴性对照^[3], 该类献血员的合格血液可按同型放于临床。

正常 ABO 血型抗原凝集强度一般呈 4⁺, 当抗原凝集强度低于 4⁺ 或呈现混合凝集外观时, 应该考虑 ABO 亚型的可能。由于献血员红细胞上抗原弱, 在采血车或站内初检时很可能被错误定型, 在检验科复检时由于是全自动仪读板抗-A/-B 血清的效价低等其他因素的影响也可能无法判定, 所以在出现正反定型不符时应进一步通过其他血清学或分子生物学方法鉴定血型。在无偿献血者人群中存在一定比例的 ABO 亚型, 在本文中, 共发现 12 例亚型, A 或 B 抗原血清学正定型反应呈阴性或弱凝集, 通过吸收放散实验、抗-H、抗-A1 鉴定及基因分型鉴定为血型亚型, 共占总标本的 0.006%, ABO 亚型献血者血液, 若其血清中不含有不规则 ABO 血型抗体, 其血液制品输注给同型患者一般情况下不会产生溶血性输血反应, 若含有相应额外的血型抗体比如 A 亚型含有抗-A1、抗-B 亚型含有抗-B 者, 则不能输注给 A 型或 B 型患者, 以免发生溶血反应而影响治疗效果。若患者为 ABO 亚型, 有可能多次输血, 若输注同型的 A 或 B 型血应考虑到第 1 次输血产生的同种免疫效应。此类

患者最好选择相同的亚型输注或 O 型洗涤红细胞, 保障临床输血安全有效^[4]。

引起 ABO 血型正反定型不符的同种抗体以天然产生的抗-M 为主^[5], 当出现 O 细胞凝集而自身对照阴性时, 应考虑到同种抗体的可能, 本文共发现抗体筛查阳性者 13 例, 其中抗-M12 例, 冷抗体 1 例。掌握无偿献血者不规则同种抗体发生率, 有利于发现有临床意义的不完全抗体, 正确鉴定血型的同时也避免溶血性输血反应的发生。

通过本文的研究分析, 提示检验科人员在自动化判读结果前, 应进行肉眼观察, 及时发现“混合视野凝集”或“弱凝集”标本, 对发现的正反定型不符的标本多人多次进行复核, 排除因仪器等原因造成的假阴性或假阳性。同时增加其他辅助的血型血清学或分子生物学试验方法以正确定型, 否则可能导致 ABO 血型误判。在做 ABO 血型鉴定时必须具有高度的责任心, 熟练规范的操作技能, 严谨细致的分析能力, 发现亚型及不规则抗体的干扰, 做进一步鉴定以确保血液质量及临床用血安全。

参考文献

- [1] 章旭, 李剑平. 455 例 ABO 正反定型不符原因分析[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(8): 623-624.
- [2] 向东. ABO 亚型的检测[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(8): 577-579.
- [3] 屈林, 刘景和, 刘凤霞. ABO 抗原减弱所致疑难血型的原因分析及鉴定方法[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(9): 706-708
- [4] 种慧慧, 闫莉娜. A201 亚型患者输注 A 型血致配血不合 1 例[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(5): 1337-1338.
- [5] 陶翠华, 张真路. 325 例 ABO 正反定型不一致原因分析及处理措施[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(5): 484-485.

(收稿日期: 2015-04-15 修回日期: 2015-05-25)