· 检验医师病例辨析 ·

吸收放散试验解决疑难血型鉴定
——附 1 例报告

肖志忠　屈英晓

作者单位：017000　内蒙古自治区鄂尔多斯，鄂尔多斯市中心医院输血科
通信作者：肖志忠，Email：952341288@qq.com
DOI：10.3969/j.issn.1674-7151.2023.01.027

【摘要】 目的　探讨吸收放散试验在疑难血型鉴定中的应用和临床紧急输血方案的实施。**方法**　鄂尔多斯市中心医院于 2022 年 11 月 24 日收治 1 例腰椎骨折需要紧急备血的患者，采用血清学方法进行血型鉴定确定亚型，采用吸收放散试验和唾液血型物质凝集抑制试验及抗-H 凝集强度对比后进行确证。**结果**　该患者血清学检测结果正反定型不符，正定型反应格局为 O 型，反定型反应格局为 B 型，不规则抗体试验为阴性。后经试管法血型鉴定，正定型抗-A 无凝集，抗-B 有 0～± 凝集，自身对照阴性，反定型 Ac 为 4+ 凝集强度，Bc 无凝集，O 细胞无凝集。考虑患者血型为 B 型的可能性大，为确定该患者是否有 B 型抗原，需要进行吸收放散试验，吸收试验的末次洗涤液和标准 Bc 加微柱凝胶卡与放散液及标准 Bc 加微柱凝胶卡对比，末次洗涤液与标准 Bc 无凝集，而放散液与标准 Bc 呈 4+ 凝集，从而确定患者细胞膜上含有 B 抗原。对患者进行唾液采样，进行唾液 ABH 血型物质凝集抑制试验，结果 H 抗原呈阳性。将抗-H 抗体分别加入患者的红细胞、O 细胞、B 细胞、A 细胞中，进行试管法抗-H 抗原检测，结果显示，H 抗原的凝集强度依次为：Oc＞患者＞Bc＞Ac，符合 H 抗原强弱次序：Oc＞大部分亚型＞Bc＞A1c＞A1B，由此得出患者血型为 Bx 亚型。**结论**　Bx 亚型在临床工作中比较少见，进行血清学检测时必须严格执行标准化操作，合理分析原因，明确鉴定思路，吸收放散试验在解决疑难血型时具有较高的应用价值。

【关键词】 吸收放散试验；　唾液血型物质凝集-抑制试验；　抗-H 凝集强度；　疑难血型

Difficult blood type identification solved by absorption and dispersion test: a case report

Xiao Zhizhong, Qu Yingxiao.　Department of Blood Transfusion, Erdos Central Hospital, Ordos 017000, Inner Mongolia Autonomous Region, China
Corresponding author: Xiao Zhizhong, Email: 952341288@qq.com

【Abstract】 Objective　To explore the application of absorption and dispersion test in difficult blood type identification and the implementation of clinical emergency blood transfusion schemes. **Methods**　A patient with lumbar spine fracture who needed emergency blood preparation was admitted to Ordos Central Hospital on November 24, 2022. Blood type identification was performed using serological method to determine subtype and confirmed by absorption and diffusion test, saliva blood group substance agglutination inhibition test, and comparison of anti-H agglutination intensity. **Results**　The serological test results of the patient did not match the positive and negative typing. The positive typing reaction pattern was type O, the negative typing reaction pattern was type B, and the irregular antibody test was negative. After blood type identification using *in vitro* method, positive anti-A did not agglutinate, while anti-B had 0 to ± agglutination. The self control was negative, and negative anti-Ac was 4+ agglutination. Bc did not agglutinate, and O cells did not agglutinate. Considering the possibility that the patient's blood type was B, in order to determine whether the patient had type B antigen, it was necessary to carry out absorption and diffusion test. The last washing solution and standard Bc plus microcolumn gel card of absorption test were compared with diffusion solution and standard Bc plus microcolumn gel card. The last washing solution and standard Bc had no agglutination, while the diffusion solution and standard Bc were 4+ agglutination, so as to determine that the patient's cell membrane contained B antigen. Saliva samples were taken from the patient for saliva ABH blood type substance agglutination inhibition test, and the results showed that H antigen was positive. Anti-H antibodies were added to the patient's red blood cells, as well as O cells, B cells and A cells, and *in vitro* anti-H antigen was detected. The agglutination intensity of H antigen was in the order of Oc > patient > Bc > Ac, which was in line with the order of H antigen strength: Oc > most subtypes > Bc > A1c > A1B. Therefore, the patient's blood type was Bx subtype. **Conclusions**　Bx subtype is rare in clinic, and serological testing must be performed with strict standardization, reasonable analysis of causes, and clear identification ideas.

【Key words】 Absorption and dispersion test;　Salivary blood type substance agglutination-inhibition test; Anti-H agglutination strength;　Difficult blood type

ABO 血型系统有多种亚型，其中 A 亚型的表型比 B 亚型多。西方人群中的 B 亚型少于 A 亚型，我国人群中 B 亚型的频率高于 A 亚型，因此在我国研究 B 亚型对于发现更多 B 亚型表型更为便利[1]。ABO 血型的正确鉴定是安全输血的首要步骤，所以研究各类 B 亚型的血清学特征和鉴定方法对临床输血安全有重要意义。

ABO 亚型虽然少见，但可能严重影响输血安全性和有效性。Bx 亚型是正常 ABO 抗原以外的抗原性较弱的亚型或变异型，主要是由于糖基转移酶基因第 7 外显子的点突变降低或改变了酶活性，导致 B 抗原的表达减弱，为血型鉴定造成困难。临床上常表现为正反定型实验结果不一致，易导致血型错判及配血不合或错配[2]。

ABO 血型与临床安全输血有密切的关系，准确无误的血型鉴定在输血工作中有极其重要的意义，误判血型会使受血者发生溶血性输血反应，严重者甚至可危及生命。本研究报告鄂尔多斯市中心医院收治的 1 例腰椎骨折需要手术备血患者的血型鉴定过程，探讨吸收放散试验在基层医院疑难血型鉴定中的应用，现将结果报告如下。

1 病例资料

1.1 患者临床资料 患者女性，64 岁，因“胸部、腰背部外伤后疼痛、活动受限 5 d”，于 2022 年 11 月 24 日 15：55 收治于鄂尔多斯市中心医院骨科三区，诊断为腰 2 椎体骨折；右 4～7 肋骨骨折。术前紧急备血，患者既往无输血史、无移植配型史，玻片法初筛血型为 O 型 Rh 阳性。本研究符合医学伦理学标准，并经本院伦理委员会审批（审批号：20230323），对患者的检测均获得过知情同意。

1.2 仪器与试剂 抗-A、抗-B 血清由上海血液生物医药有限公司提供，抗 D 血清由北京金豪生物医药有限责任公司提供，ABO 标准红细胞、抗体筛选细胞、抗 H 血清均由江阴力博有限责任公司提供，所有试剂均在有效期内使用。

WADiana8XT 全自动血型/配血分析仪及微柱凝胶卡均由西班牙戴安娜有限责任公司提供；KA-2200 离心机为日本久保田公司生产，恒温水浴箱由上海福玛实验设备有限公司生产。

2 检测方法与结果

采用微柱凝胶法检测患者血型及不规则抗体，同时进行吸收放散试验，确定患者抗原，唾液血型物质凝集抑制试验确定 H 抗原。采用试管法复核患者血型及抗-H 检测结果。

2.1 ABO 血型鉴定 采用微柱凝胶法进行血型及不规则抗体试验，结果显示正定型为 O 型，反定型为 B 型，正反定型不符；不规则抗体试验为阴性。采用试管法复查血型，正定型抗-B 有 0～± 凝集，反定型为 B 型，由此考虑患者血型为 B 型的可能性较大。见表 1。为确定患者是否有 B 型抗原，需要进行吸收放散试验。

2.2 吸收放散试验

2.2.1 压积红细胞采集 采集 1 mL 患者压积红细胞，洗涤 4 次，与 1 mL 抗-B 抗体充分混匀，置于 4 ℃冰箱吸收抗-B 抗体 1 h。

2.2.2 离心操作 以 3 000 r/min 离心 1 min，移去上清液。使用预冷的生理盐水洗涤 8 次，将末次洗涤液和标准 Bc 细胞加入抗人球蛋白微柱凝胶卡，反应后作为对照。

2.2.3 洗涤 在洗涤后的压积红细胞中加入 1 mL 生理盐水，于 56 ℃条件下进行放散反应 10 min，每间隔 1 min 颠倒混匀 1 次。

2.2.4 反应 放散完成后以 3 000 r/min 离心 1 min，取放散液与标准 Bc 细胞进行反应。

2.2.5 结果判定 结果显示末次洗涤液与标准 Bc 不凝集，放散液与标准 Bc 凝集 4+，可确定患者细胞膜上含有 B 抗原。

2.3 唾液血型物质凝集-抑制试验 将血型定型抗-A、抗-B 和抗-H 试剂进行标化，以凝集强度 2+ 为判断标准。取患者自然流出唾液 5 mL，以 3 000 r/min 离心 3 min，去杂质后煮沸 10 min，再以 3 000 r/min 离心 3 min，取上清液各 1 滴，分别与标化后的抗-A、抗-B 和抗-H 标准血清在室温下进行中和反应 10 min 后，加入对应的 4% A、B、O 型试剂红细胞悬

表 1 1 例腰椎骨折需紧急备血患者的血型血清学试验结果

方法	凝集强度										
	抗-A	抗-B	抗-D	A1 细胞	B 细胞	O 细胞	ctl	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	AC-ACC
微柱凝胶法	–	–	4+	4+	–		–	–	–	–	–
试管法	–	0～±	4+	4+	–	–					

注：ctl 为自身对照，Ⅰ为不规则抗体筛查谱 1，Ⅱ为不规则抗体筛查谱 2，Ⅲ为不规则抗体筛查谱 3，AC-ACC 为不规则抗体筛查自身对照，+ 为阳性，– 为阴性；空白代表无此项

液 1 滴，振荡均匀，以 1 000 r/min 离心 1 min，观察结果[3]，显示患者 H 抗原阳性。

2.4 ABO 亚型确认试验　经吸收放散试验确定患者细胞膜上存在 B 抗原，为确定患者是否为 B 亚型，需要对其进行抗 -H 抗原凝集强弱对比试验，经过抗 -H 试验对比，结果显示 H 抗原的凝集强度依次为：Oc＞患者＞Bc＞Ac，符合 H 抗原强弱次序：Oc＞大部分亚型＞Bc＞A1c＞A1B，由此得出该例患者血型为 Bx 亚型。

3　讨论

出现休克的严重创伤患者往往需要大量输血治疗，已有研究显示，早期提高输注血制品（血浆、血小板及红细胞）的比例可以改善患者预后。配血前进行 ABO 血型鉴定、不规则抗体筛查试验、交叉配血是确保安全有效输血的三个关键步骤。而疑难血型鉴定的主要困难在于 ABO 正反定型不一致，只有解决了疑难血型鉴定问题才能以同型或相容性输注。而吸收放散试验在基层医院为临床上解决疑难血型鉴定提供了很大的帮助。利用红细胞吸附免疫球蛋白 M（immunoglobulin M，IgM）类抗体的特异性，通常在 4 ℃比在室温或 37 ℃条件下更容易被吸收；同时利用红细胞吸附的特异性抗体在 56 ℃条件下可以与红细胞分离的特征，为工作中解决实际问题提供了理论基础。

本研究中该例患者因手术顺利没有输血，但是通过试验已经确定血型为 Bx 亚型，如果患者在手术过程中大量失血，合并失血性休克需要输血，已经制定好输血方案，给予患者 O 型红细胞、AB 型血浆、AB 型血小板配合性血液输注治疗。同时采用微柱凝胶法配制 4 U 的 O 型 RhD 阳性血液，主侧均未凝集，次侧为 3+ 凝集，可以输注。由于是非同型输注，已向患者家属交待了患者血型详细情况，家属表示已知情，并签署了《非同型输注知情同意书》。

血型鉴定受到诸多因素干扰，包括疾病影响、临床治疗和生理因素、实验技术等原因。ABO 抗原的血型或变异型很多，常导致血型鉴定正反定型不一致，也给血型鉴定工作带来较大困难。由年龄、疾病、妊娠等不可遗传因素造成的血型改变不能认为是亚型；同样，那些虽有基因改变，但并不影响血清学特点的 ABO 血型也不能称为亚型[4]。根据抗原性表达强弱，在 A 抗原中主要为 A1 和 A2，其他亚型不多见，B 亚型一般为 B2、B3、Bx、Bm、Bel[5]。大多数 ABO 亚型均带有不规则的 ABO 抗体，这些抗体通常反应较弱，并且多为冷抗体，很容易漏检，可能被错误定型。作为受血者，如果将亚型误判为正常血型，同时又未能检出这些抗体，很容易导致患者发生输血反应[6]。在日常临床工作中，血型鉴定出现正反定型不符时，需要认真仔细查找原因，在排除试剂、技术及人为因素后，应迅速与临床医生沟通，询问患者病史、用药史及输血史，同时正定型应加做抗 H、抗 A1、抗 AB 血清，反定型应加做 O 细胞、A1 细胞，同时进行吸收放散试验，检测红细胞弱 A 和弱 B 抗原，并进行凝集抑制试验，检测唾液中的血型物质。

输血治疗是其他治疗无法代替的挽救患者生命的特殊治疗手段[7]。在输血科的日常工作中，尤其是在基层医院以及人员配备和设备配置均不是很完善的条件下，本着正确鉴定血型、遵循配合性输血的原则，选择合理血液输注，关系着临床输血安全。应利用一切可以利用的实验室条件，解决临床实际工作中遇到的疑难血型鉴定及疑难配血问题，同时应积极有效地与临床科室沟通，询问患者病史及输血史，通过分析得到的信息，及时有效地确定治疗思路，尽早提供输血方案，为治疗提供保障。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

1　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. DOI: 10.3969/j.issn.0253–4304.2012.08.016.

2　梁意禅. 1 例 Bx 亚型鉴定和临床输血意义 [J]. 世界临床医学，2017, 11 (21): 195.

3　中华人民共和国卫生部. 中国输血技术操作规程（血站部分）[M]. 天津：天津科学技术出版社，1997: 81–83.

4　向东. ABO 亚型的检测 [J]. 中国输血杂志，2010, 23 (8): 577–580. DOI: CNKI:SUN:BLOO.0.2010–08–003.

5　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. DOI: 10.3969/j.issn.2095–1116.2014.04.016.

6　向东，刘曦，郭忠慧，等. 上海地区中国人群中 ABO 亚型的研究 [J]. 中国输血杂志，2006, 19 (1): 25–26. DOI: 10.3969/j.issn.1004–549X.2006.01.008.

7　李亚梅，李宝萍，李慧萍，等. D– 二聚体增高对交叉配血试验结果的影响 [J]. 实用检验医师杂志，2013, 5 (4): 256, 258. DOI: 10.3969/j.issn.1674–7151.2013.04.019.

（收稿日期：2023–02–16）

（本文编辑：郤文）