

ABO 血型试验检验方法现状及进展

辛荣传 综述, 周益强 审校(广西壮族自治区百色市人民医院输血科 533000)

【关键词】 ABO 血型; 检测方法; 进展; 现状

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.14.055 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)14-2010-02

自上世纪奥地利生物学家发现了人类 ABO 血型系统以来,其已经成为临床输血中最重要的临床指导血型系统。ABO 血型的实验检测方法也随着医学检验技术而发展,血型鉴定成为临床科学性和责任性较强的工作,检查结果可直接影响到患者的输血安全,是一项重要的血液检查项目。输血作为一项特殊的治疗手段,可以在紧急时刻挽救患者的生命,准确的血型检查十分重要。本文对 ABO 血型实验检测方法现状及发展综述如下。

1 ABO 血型系统简述

ABO 血型抗原是一种酶催化合成的糖蛋白和糖脂,其主要是 ABO 抗原基因在特异性糖基转移酶催化下在红细胞膜表面生成的^[1]。ABO 抗原决定簇由 5 种类型组成,分别为血型抗原基础物、H 抗原、A1 抗原、A 抗原、B 抗原。决定簇是由单糖经过转移酶转移到特定的核心多糖链末端而生成,其主要的载体为糖蛋白,其中四分之一左右的 ABO 位点位于糖脂上。ABO 抗体分为天然抗体和免疫抗体两种^[2]。一般 O 型血清中含有高浓度的 IgG 型抗 A 和抗 B,其浓度高于 B 型血清和 A 型血清含量。在 B 型血清和 A 型血清中多为 IgM 抗体。母体内的胎儿并未产生 ABO 抗体,在新生儿出生后体内 ABO 抗体逐渐形成,到儿童期体内 ABO 抗体的效价较高,随着年龄的增长,血清中 ABO 抗体效价随之降低,到老年时期血清中的抗 A 和抗 B 均低于一般成年人。

ABO 血型系统中的 ABH 抗原受到相关基因系统的控制,相关基因系统可以控制 ABH 抗原的出现及分布情况^[3]。控制 ABO 血型的相关基因位于第 9 号染色体,3 个等位基因形成 4 种主要的血型: A 型、B 型、AB 型、O 型。其中 A 型和 B 型的等位基因控制着红细胞膜分泌抗原,而 O 型的等位基因对红细胞膜分泌抗原不产生任何影响。hh 基因座位定位于第 19 号染色体上,控制 H 抗原决定簇的生成,其等位基因无抗原活性。ABO 活性物质的分泌能力由 sese 基因控制,个体为隐性 Sese 基因时,红细胞上存在 ABO 抗原,但是红细胞不向分泌物和组织细胞中分泌 ABO 特异性物质。

2 ABO 血型试验检验方法现状

2.1 血凝试验

血凝试验通过红细胞和血清中血型抗原及抗体在液体介质中发生肉眼可见的凝集反应。大致分为 3 种方法:玻片法、试管法、全自动微板法。玻片法是通过在干燥的玻片上,观察标准抗体血清与待测红细胞是否发生凝集反应,从而确定待测红细胞的血型^[4]。其操作简单节省材料,是目前临床中最常使用的血型初筛方法。试管法与玻片法的检测原理基本相同,配血试验中较为基础的试验方法。试管法通过采用更大的反应空间,并且对待测红细胞稀释到一定浓度之后再加入标准抗体血清,并采用低速离心后,观察试管内是否存在肉眼可见的凝集反应判断血型的方法。将待测红细胞的浓度稀释,减少血清中非特异性抗体的浓度,提高了试验的灵敏性。与玻片法只能做正定型试验比较,试管法可对 ABO 血型做正

定型和反定型试验,并且试管法稀释了血清中红细胞的浓度,减少因红细胞浓度过高而出现的假阳性结果。传统的玻片法和试管法因其操作便捷、准确可靠、节省材料等优点仍然在临床 ABO 血型鉴定工作中广泛使用。玻片法和试管法存在许多局限性,如检测时间长、灵敏性差、操作过程不易自动化、检测数量有限,并且结果不易长时间保存。这就需要研发出更加快捷准确的 ABO 血型检测方法。

全自动微板法的出现弥补了传统血型检测的不足,其全自动的加样检测,同时运用扫描仪对试验结果进行判读,经计算机处理分析试验结果。改变了传统 ABO 血型检测的纯手工操作,结果读取时肉眼判断不准确的弊端,具有准确度高、检测速度快、自动化程度高的优点,特别适合批量样本的检测。在血型微量化学检测的同时,节约了大量标准抗血清,并且缩短了检测时间,操作程序更加简单^[5]。目前血型检测样本量大的供血机构基本已经广泛使用全自动微板法,但是有关报道显示,全自动 ABO 血型自动检测系统对特殊 ABO 亚型的正、反判读不宜的问题有待进一步解决。

2.2 微柱凝胶试验

微柱凝胶试验时红细胞抗原与相应的标准抗体的反应在微柱凝胶所形成的介质中完成,如红细胞抗原与相应的标准抗体结合形成结块,在经过离心后不能通过凝胶为主的凝胶分子筛,则凝胶底部不能检测到红细胞,从而鉴定 ABO 血型的结果。

凝胶试验的中性胶试验,凝胶中不含抗体,可用于细胞的筛选及 ABO 血型反定型试验;特异性凝胶试验,凝胶中含有抗体,可检测血型抗原;抗球蛋白凝胶试验,凝胶中含有球蛋白抗体,可检测血型不完全抗体。

微柱凝胶试验是一种改良的血凝试验,与传统血凝法试验相比,其省略了洗涤红细胞的操作,工作程序、结果读取更加标准化、自动化^[6]。微柱凝胶的主要优点有,样本量少、检测结果准确、抗外界干扰能力强、血液自身溶血血脂等相关影响小、试验重复性好等。检测不规则红细胞血型抗体,微柱凝胶试验明显优于经典的试管试验。微柱凝胶试验采用凝胶技术进行抗球蛋白血凝试验,可提高试验的灵敏度和特异性。国外输血领域已经逐步采用微柱凝胶试验作为常规的 ABO 血型检测试验^[7]。

微柱凝胶试验也存在弊端,红细胞的浓度过高或过低都会导致试验过程中离心不彻底,血清中纤维蛋白会出现纤维凝块和细菌污染等原因,都会导致微柱凝胶试验的假阴性或假阳性结果。

2.3 基因型检测

国外有专家曾经成功克隆复制了编码糖基转移酶,并且对编码糖基转移酶进行了基因测序,为基因鉴别 ABO 血型奠定了基因学基础^[8]。通过对 ABO 血型系统抗原糖基转移酶序列分析发现,A 型抗体 DNA 长度为 1 062 bp,其编码蛋白质相对分子质量为 41×10^3 。AB 型其他基因序列和 A 型抗体的 DNA 序列联系紧密。B 型转移酶 DNA 序列在 7

个位置与 A1 型序列存在基因差异,导致其 4 个位置的氨基酸被替代。O 基因与 A1 基因的序列在第 261 位的核苷酸缺失,导致在 351~354 位置基因产生终止密码子。根据 ABO 型基因的突变位点不同,设计出 3 种基因检测方法:聚合酶链反应-序列特异性引物 (PCR-SSP) 检测技术、PCR-单恋构象多态性 (PCR-RFLP) 检测技术和 PCR-序列特异性寡核苷酸探针 (PCR-SSO) 检测技术。基因分型技术检测 ABO 血型的方法操作简便、结果直观、所需样本量少、一次检测样本数多,已经在临床中广泛使用^[9]。虽然 ABO 血型基因分型技术还不能完全代替血型血清学方法鉴定血型,但是在基因序列水平上对 ABO 血型的鉴别,开辟了血型鉴别的新纪元,在未来的血型鉴别中必然会越来越多地应用到实际临床工作中。

3 ABO 血型检测未来发展展望

上述为 ABO 血型试验检测方法是已经成熟的试验方法,并且已经广泛应用于临床血型检测和输血交叉配血试验中。随着临床血型检测的需要,一些试验更快速、操作更简单、读数更准确的 ABO 血型试验检测方法随之应运而生。

3.1 胶体金技术 通过用胶体金颗粒分别标记抗 A、抗 B、抗 H,并将固定于硝酸纤维膜上^[10]。唾液或是唾液的干燥痕迹通过煮沸的方法提取其中的血型抗原物质,再稀释成不同浓度的血型抗原溶液,然后分别滴加于固定的硝酸纤维膜上。抗原物质会与香型的胶体金标记抗体相结合,结合后使胶体金颗粒迅速聚集,胶体金颗粒在聚集后具有显色的特点,相应的抗原物质会呈现出不同的颜色反应。文献^[11]报道,此种方法可检验唾液样本中的血型物质,甚至在样本稀释上千上万倍以后仍然可以检测出准确的结果,非分泌型的唾液样本也可在稀释 10 倍的情况下鉴定出血型物质。此种方法只能鉴别唾液样本,不能鉴别其他样本中的血型物质,存在一定的局限性。

3.2 流式细胞技术 流式细胞技术的鉴定 ABO 血型的具体方法为^[12]:用荧光素标记抗原 A、抗原 B 和相应的各亚型抗体,利用生理盐水稀释待测血样的红细胞,使之成为红细胞混悬液。红细胞混悬液分别加入到试管中,然后加入荧光素标记抗体,将试管避光放置,待受检红细胞的血型抗原和荧光标记抗体结合反应后,再用生理盐水洗涤红细胞,离心除去其中未结合的抗体,立即用流式细胞仪检测出与荧光标记抗体相结合的红细胞。通过计算机软件分析结果可以得出待测红细胞中与抗 A、抗 B 的结合律,从而检测出待测样本红细胞的 ABO 血型分型情况。

流式细胞技术在 ABO 血型抗原细胞分型上具有快速、灵敏、特异性好等优势,并且其检测结果相对准确,试验重复性好,特别适合 ABO 血型的快速检测。但是流式细胞技术鉴定血型的成本较高、操作相对复杂,在临床血型鉴定中存在一定的局限性。不过有相关文献报道显示,流式细胞技术可通过孕妇血液中胎儿的红细胞鉴定胎儿血型^[13],避免了传统侵入性检测鉴别胎儿血型,在临床中具有重要意义。

3.3 酶联免疫吸附试验 (ELISA) ELISA 通过酶联免疫吸附的试验原理、相应的酶标单抗技术、酶与底物反应显色的原理达到鉴别 ABO 血型的目的^[14]。最早报道此方法鉴定血型是用于唾液中血型物质的检测,实验室检验通过利用酶标的单克隆抗 A 和抗 B 与唾液样本中的血型物质发生反应,通过酶和底物作用发生显色达到血型鉴别的目的。ELISA 比经典的血凝试验检测的灵敏度高出千倍以上。ELISA 还可以鉴定精液中的血型物质,试验原理是抗血型物质的单克隆抗体通过与精液和精斑中血型物质相结合,从而鉴别血型^[15]。其特点是

可检测长时间留存的样本,报道称样本即使在 40 ℃ 温度下保存 8 个月的时间,仍然可以通过此方法顺利鉴定血型物质,此方法在法医血型鉴别中有重要意义。

4 小 结

在临床血型鉴别试验中有方法操作简便的血凝试验,也有结果可靠的微柱凝胶试验,还有重复性强的基因型检测法^[16]。以上试验方法和结果基本可以满足临床输血和血型鉴别的需要。但是随着急救医学和紧急事件提出更高的检验要求,检验速度更快,准确性更高的检验方法的提出得到临床检验的重视。传统的血型物质检测不能满足以上情况血型检测的发展需要^[17]。在法医检测血型的多项应用鉴定方法,如胶体金技术、流式细胞技术、ELISA,为临床血型鉴别提供了更加宽广的研究思路,值得临床检验学借鉴。将这些先进的检验方法应用于普通患者血清样本的血型物质检验,成为临床检验学新的研究方向。

参考文献

- [1] 原素梅,郝燕,任吉莲. ABO 血型实验结果矛盾解析[J]. 生物学通报,2011,46(5):15-17.
- [2] 吴英子,陶艳琴,全红兰. 抗凝血和未抗凝血对血型鉴定的影响[J]. 中国实用医药,2012,7(10):115-116.
- [3] 黄秋兰,范德平,高守霞. 基层医院血型鉴定流程的优化[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(22):3096-3097.
- [4] 袁碧和. 卡式微柱凝胶方法在血型鉴定中的应用及价值[J]. 检验医学与临床,2012,9(15):1838-1839.
- [5] 任思嫻,和予馨,王林林. ABO * cisAB. 03. 1. 1 / ABO * O. 02. 01. 1 基因型患者的血型检测及分析[J]. 中国输血杂志,2012,25(4):363-365.
- [6] 张国平,王林,韩惠云. ABO 血型实验的室内质控方法探讨[J]. 中国现代医生,2010,48(11):85-86.
- [7] 周建月,周吉成,杨海燕. ABO 血型鉴定现状与未来[J]. 医学信息,2011,24(6):4044.
- [8] 袁静. 血型鉴定影响因素分析及对策[J]. 中国卫生产业,2013,2(4):138-139.
- [9] 黄锦江,徐研. 无偿献血者血型鉴定的方法学评价[J]. 中国社区医师,2012,13(14):309-310.
- [10] 李俊杰. 手工与自动血型仪检测 ABO 血型方法的比较[J]. 中国实用医药,2011,3(8):242-243.
- [11] 张宇. 微柱凝胶法在新生儿血型鉴定中的应用[J]. 中国医药指南,2012,10(18):152-153.
- [12] 刘婷. 试管法与戴安娜卡检测法在血型鉴定中的应用比较[J]. 中国医药导刊,2012,14(7):1232-1233.
- [13] 黄慧萍,张劲丰,苏荣. 全自动血型系统在血型鉴定中的应用[J]. 现代预防医学,2013,40(20):3839-3840.
- [14] 吴穗,董伟群,佟力. 全自动血型及配血分析系统在血型鉴定中的应用[J]. 山东医药,2012,52(30):87-88.
- [15] 陈宁. 凝胶聚法 ABO 血型鉴定在婴幼儿血型鉴定中的应用[J]. 中国社区医生,2011,2(13):162.
- [16] 于欣,哈丽娜,刘学英. 浅谈联创检验 ABO 血型鉴定的质量控制方法[J]. 包头医学,2011,35(10):69-70.
- [17] 陆贤吉,马幼丽. 全自动血型分析仪在血型鉴定中的应用[J]. 临床血液学杂志,2013,26(10):683-684.