

血型鉴定常见的疑难问题及处理

广州血液中心
临床输血研究所 罗广平

疑难血型

► 共同特点:正反定型不符或凝集反应异常。

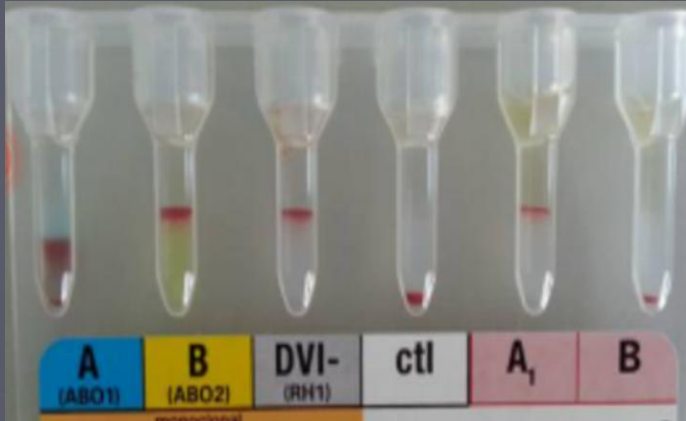
ABO血型检测：正反定型不符

ABO 正反定型相符：正反定型相符且正定型反应强度4+；反定型反应强度 $\geq 2+$ 。

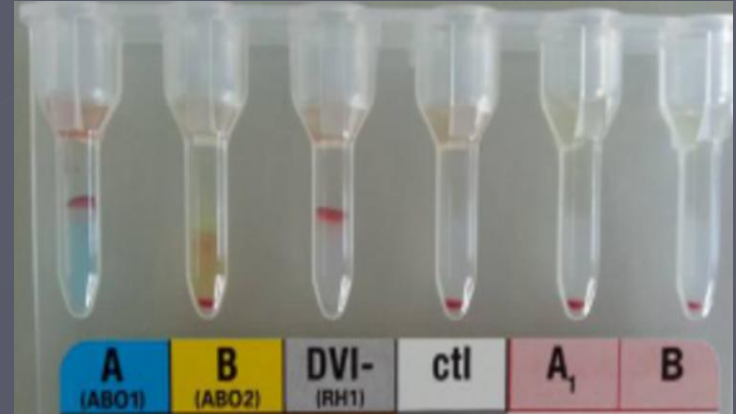
ABO 正反定型不符的定义和范围

- ABO 正反定型不符（多或少抗原、抗体）。
- ABO 正反定型相符，但弱反应，正定型反应强度 $< 4+$ （混合外观），反定型反应强度 $< 2+$ 。
- 正定型为O型，反定型非O型；Ac、Bc凝集强度差别 $> 2+$ 以上。

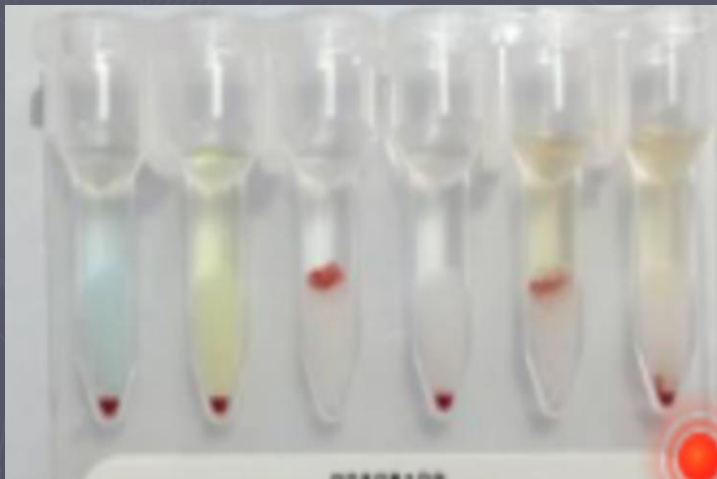
ABO疑难血型的发现：正、反定型不相符



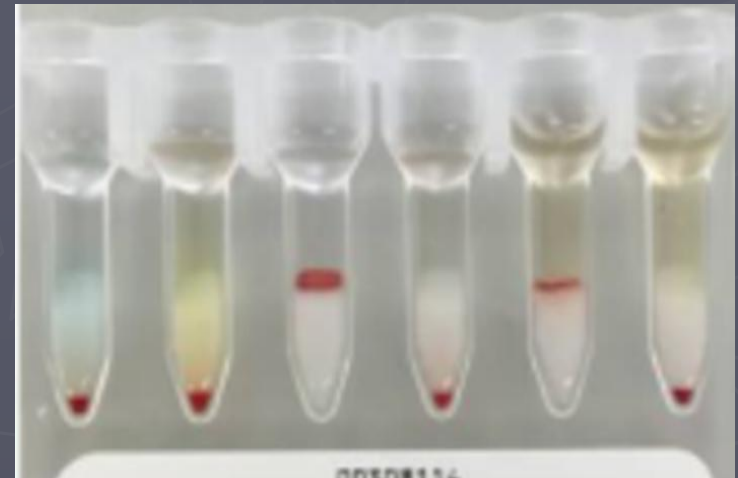
正定AB，反定B。



正定AB，反定AB。但正定的抗-B反应强度<4+。



正定O型，反定O型。但反定的B细胞凝集强度小，只有1+。



正定O型，反定B型。

正反定型不符及其原因

1.技术和管埋错误

2.正定型---红细胞自身相关问题

3.反定型---血清自身相关问题

一、技术和管理错误

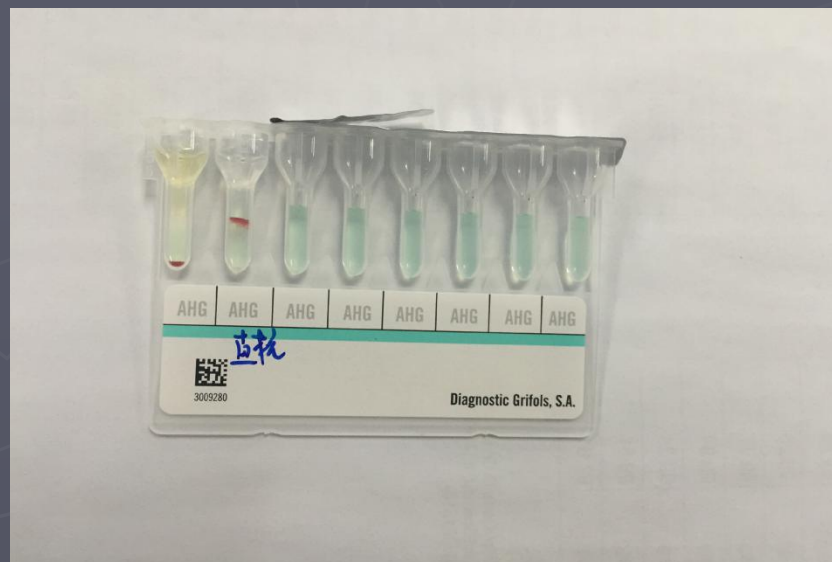
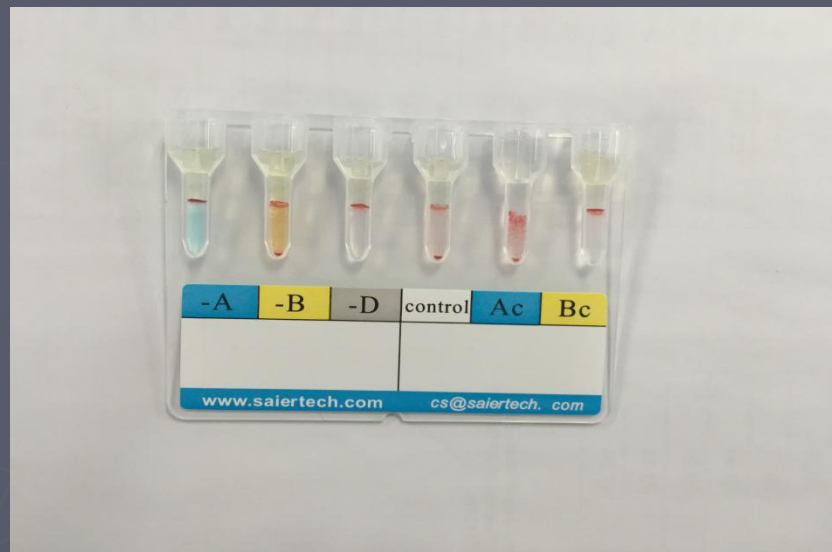
- (1) 标本或试剂搞错，造成假阳性或假阴性结果。
- (2) 器材不洁产生假阳性结果。
- (3) 试剂污染或失效产生假阳性或假阴性结果。
- (4) 离心过度或不足，产生假阳性或假阴性结果。

一、技术和管理错误

- (5) 阳性反应产生溶血现象未能识别，导致假阴性结果。
- (6) 漏加试剂，产生假阴性结果。
- (7) 结果记录或判断错误，产生假阳性或假阴性结果。
- (8) 细胞与血清比例不适当，产生假阳性或假阴性结果。

二、正定型---红细胞自身相关问题

1. 红细胞致敏 直接抗球蛋白试验阳性的红细胞（如自身免疫性溶血性贫血患者的红细胞）在含高蛋白介质的试剂中可发生凝集，产生假阳性结果。



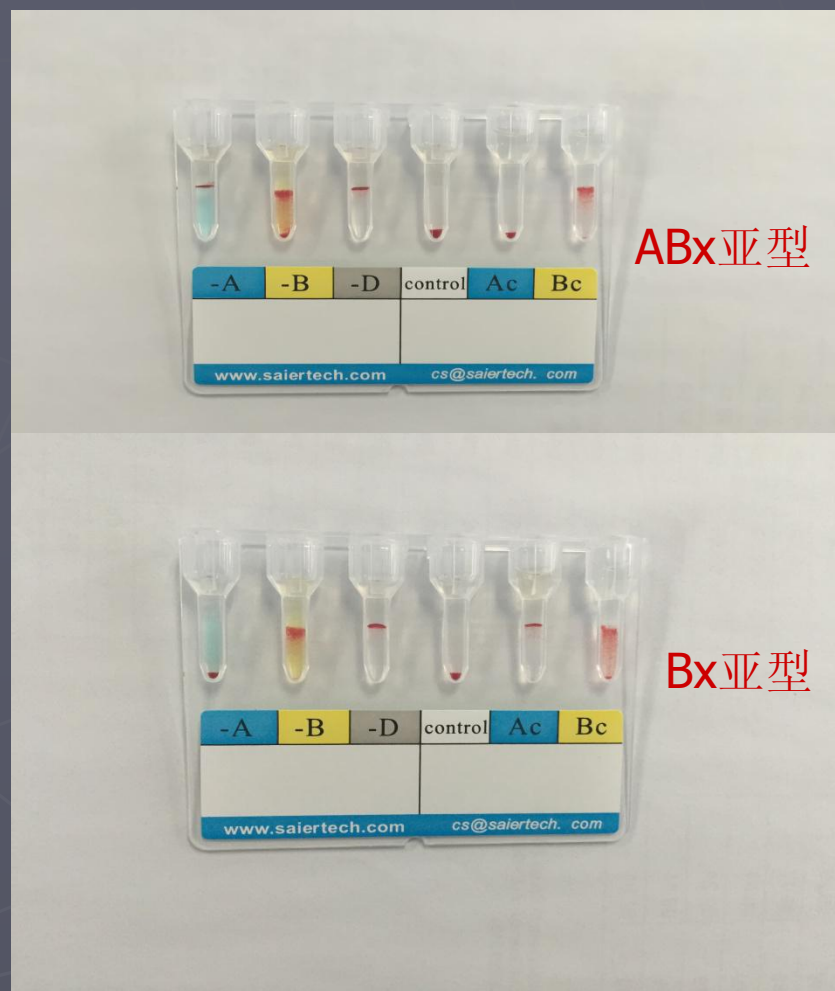
处理方法

方法一：洗涤后的压积受检红细胞于56℃水浴放散10分钟，直至直抗试验阳性结果明显减弱或消失，再次洗涤放散后的细胞用于试管法正定型试验。

方法二：红细胞酸洗脱放散后用于试管法正定型试验。

二、正定型---红细胞自身相关问题

2. ABO亚型 ABO亚型的弱抗原常规方法难以检出，产生假阴性结果。或凝集强度明显减弱，有些亚型血清中由于存在低温特异性抗体造成反定型结果与正定型结果不一致。



解决方法

- * 正定：抗-A、抗-B、抗-AB、抗-A1、抗-H
- * 反定：A1c、A2c、Bc、Oc、自身对照
- * 正反定型在不同温度下反应并比较凝集强度的变化
- * 吸收放散试验
- * 唾液血型物质检测
- * 有条件者可作家系调查或PCR检测血型基因

A 亚型及 B 亚型的鉴定

红细 胞表 现型	红细胞与已知抗血清反应					血清与试剂红细胞反应				分泌者 唾液含 型物质	吸收 放散
	抗 A	抗 B	抗 AB	抗 H	抗 A ₁	A ₁	A ₂	B	O		
A ₁	++++	O	++++	+	++++	O	O	++++	O	A, H	A
<u>Aint</u>	++++	O	++++	+++	++	O	O	++++	O	A, H	A
A ₂	++++	O	++++	++	O	+ (1%)	O	++++	O	A, H	A
A ₃	++mf	O	++mf	+++	O	+ (20%)	O	++++	O	A, H	A
A _m	O/±	O	+ / ±	++++	O	O	O	++++	O	A, H	A
A _x	O/±	O	+ / ++	++++	O	++	O / +	++++	O	A, H	A
<u>Ael</u>	O	O	O	++++	O	O	O	++++	O	H	A
B	O	++++	++++	+		++++	++++	O	O	B, H	B
B ₃	O	++mf	++mf	++++		++++	++++	O	O	B, H	B
<u>Bm</u>	O	O	O / ±	++++		++++	++++	O	O	B, H	B
<u>Bx</u>	O	O / ±	O / ++	++++		++++	++++	+ (20%)	O	B, H	B

注：+至++++凝集强度递增；±弱凝集；mf 混合外观凝集；O 无凝集

二、正定型---红细胞自身相关问题

3. Cis-AB型（顺式AB型） 指从父母的一方同时得到A和B基因在一条染色体上，而另一条染色体上是从父母中另一方来的O基因。顺式AB细胞的B抗原较弱，类似B3亚型。



解决方法

- 1.血清学方法难与**AB**亚型区分。
- 2.家系血型调查可提供有力证据和信息，父母血型可为**AB**型和**O**型。
- 3.分子生物学技术测序分析。
- 4.如果要输血可选用普通**AB**型血液。

二、正定型---红细胞自身相关问题

4. 嵌合体血型 体内有两群红细胞，定型时显示“混合外观凝集”现象。也可见于ABO不同型的骨髓移植术后。真正的嵌合体非常少见，可出现于双胞胎，在胚胎期由于血管的吻合使得2个胎儿的血液发生混合，2种血液都被机体认做自我，不产生抗体。人工嵌合状态可出现于输血后（如O型红细胞输给A或B型人），骨髓移植术后，交换输血及母体、胎儿出血。



解决方法

1.了解病人病史等可获得相关信息。

- * ABO不同型输血（非O型人近期输入O型血）：询问近期输血史、毛细管离心分离自身红细胞后做正定型。

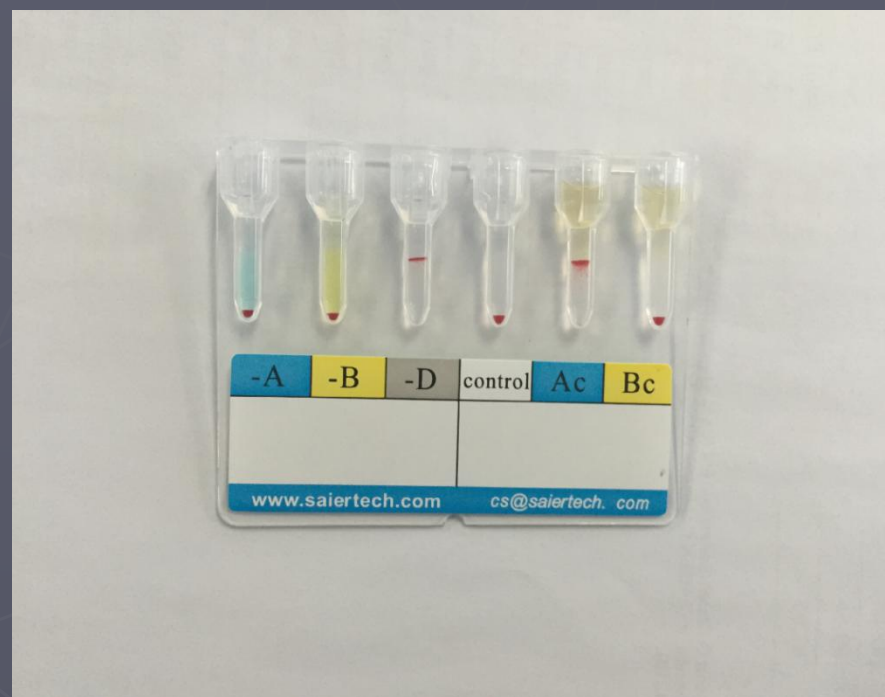
- * ABO不同型骨髓移植术后。

- *是否双胞胎。

2.分子生物学技术分析。

二、正定型---红细胞自身相关问题

5. 疾病因素导致抗原减弱
常见的如白血病、何杰金病、10号染色体转位、红细胞系统极度增生等病人ABO血型抗原可受到暂时抑制，抗原减弱检出困难。红细胞ABO抗原减弱与病程有关，病情缓解时抗原性会恢复。



解决方法

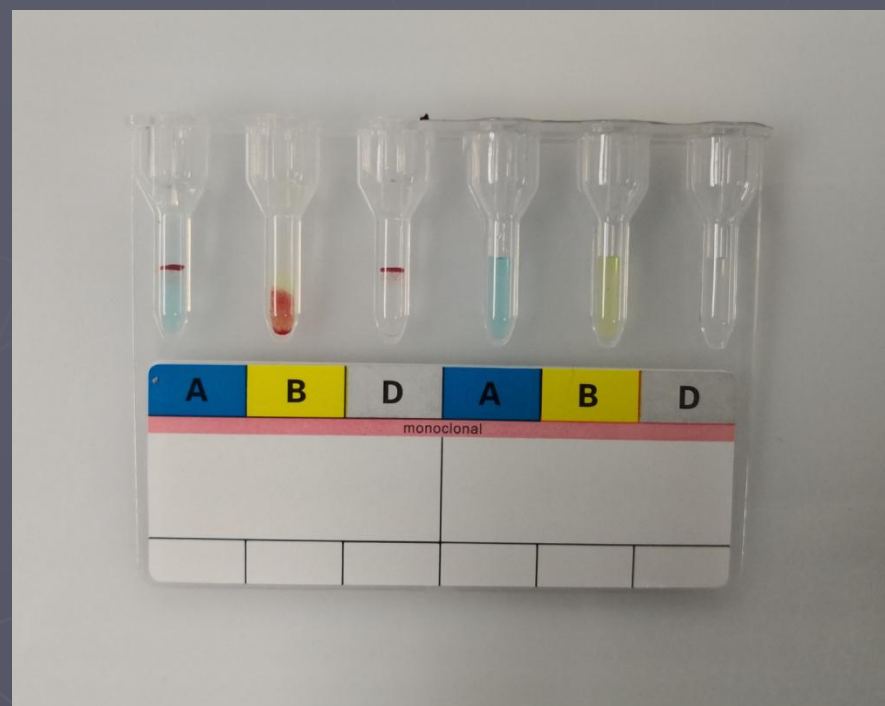
► 1. 询问、查阅病史：与血液病有关。

► 2.

- * 延长孵育时间、4℃孵育
- * 酶处理红细胞
- * 吸收放散试验
- * 唾液血型物质检测
- * 既往血型调查

二、正定型——红细胞自身相关问题

6. 获得性类B 由于革兰氏阴性杆菌的作用，红细胞可获得“类B”的活性。(肠梗阻、结肠、直肠癌或其他下消化道疾病时肠壁通透性增加，细菌多糖进入血液，使A型患者出现获得性类B现象)



解决方法

- 询问病史：与肠道疾病有关。
- 酸化抗-B血清（pH6.0）：不凝集红细胞。
- 唾液型物质检测：不能检出B物质。
- 家系调查证明没有遗传基础：父母、兄弟姐妹中没有相同的表型被检出。

二、正定型---红细胞自身相关问题

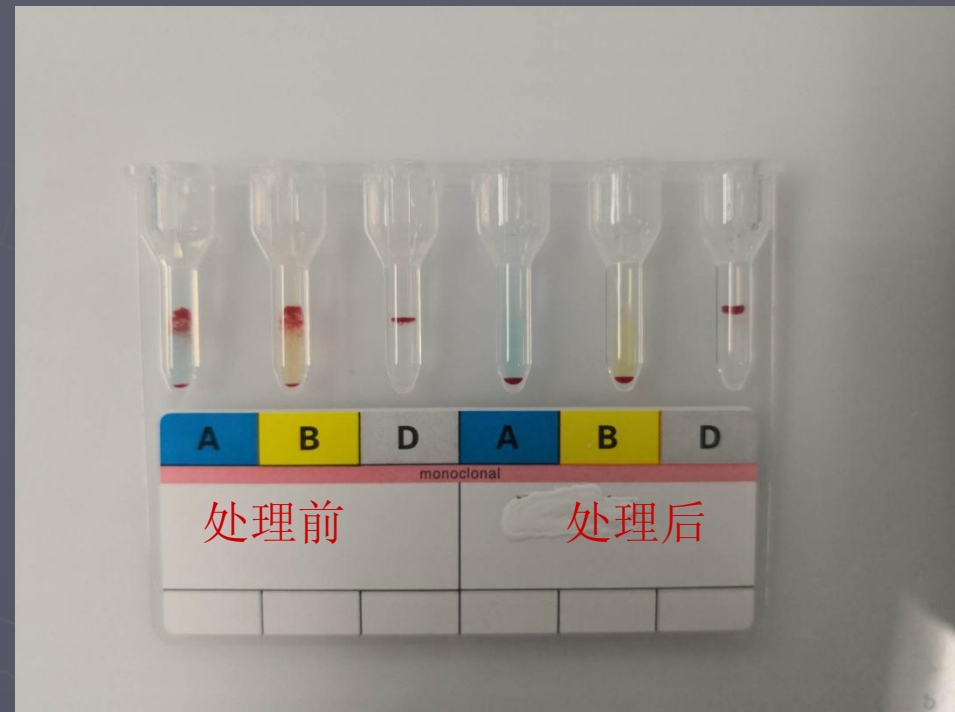
7. 可溶性血型物质增多 胃或胰腺恶性肿瘤患者血清中可能含有过多的可溶性血型物质，这些物质可中和抗A（B）抗体，从而导致正定型凝集反应减弱。

解决方法

► 洗涤红细胞后做正定型。

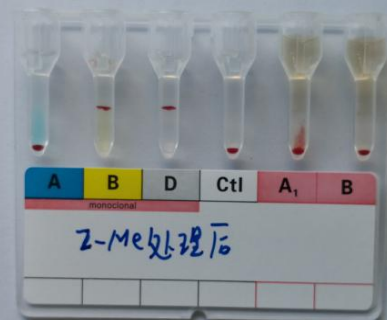
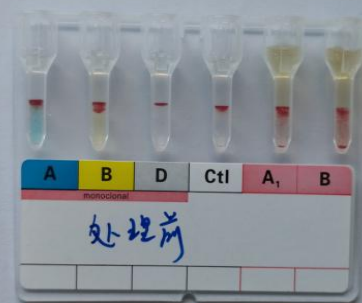
二、正定型---红细胞自身相关问题

8. 红细胞发生自凝现象 患者血清中的高效价自身冷凝集素使红细胞发生凝集。



解决方法

- * 用37℃温盐水洗涤红细胞、45℃热放散3分钟
- * 巯基试剂(0.01M DTT或2-Me)等量混合处理红细胞



三、反定型——血清自身相关问题

1. 血浆置换治疗后 近期内进行大量的血浆置换治疗，影响抗体效价，造成反定型困难。

解决方法：

1. 血浆置换治疗前留取标本。
2. 反定型管放置4-8℃冰箱降温提高反应性。
3. 酶处理ABO反定型试剂红细胞后做反定型。

三、反定型——血清自身相关问题

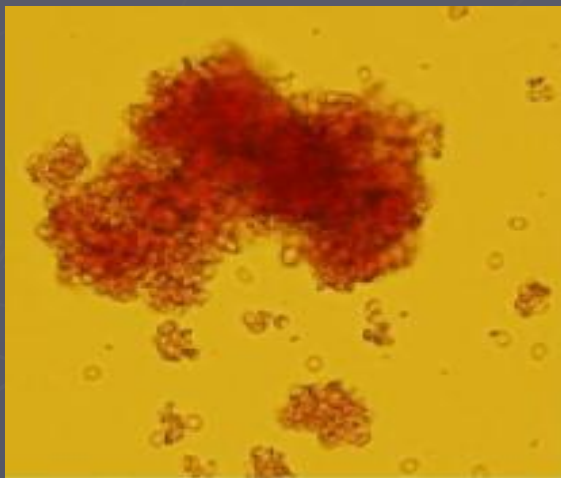
2. 异常的血浆蛋白 病人血浆中异常的白蛋白、球蛋白比例倒置和高浓度的纤维蛋白原等能导致缗钱状形成，造成假凝集现象，多见于如多发性骨髓瘤、巨球蛋白血症、何杰金淋巴瘤、严重的肝病等患者。

3. 高分子聚合物的影响 血浆增容剂（葡聚糖、PVP等）也会引起缗钱状凝集导致假阳性结果。

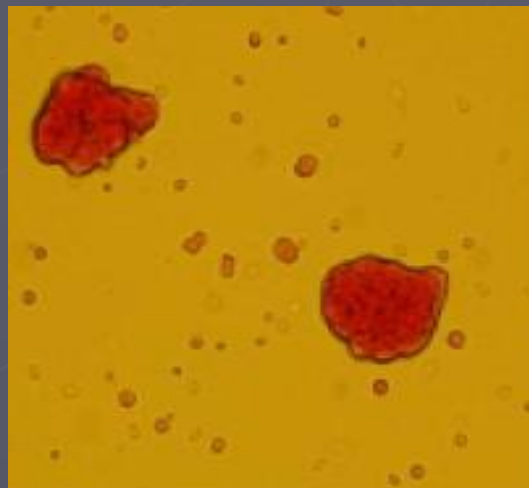


解决方法

缗钱状凝集：洗涤红细胞、盐水替代试验



真凝集：红细胞紧紧地结合在一起，红细胞已变形。



假凝集：红细胞聚拢在一起，红细胞未变形，显微镜下有强反光。

三、反定型——血清自身相关问题

4. 不规则抗体或自身冷凝集素的存在 受检者血浆中含有ABO血型抗体以外的IgM类不规则抗体与试剂A、B、O细胞上的相应抗原起反应。



解决方法

室温反应的同种抗体：

- * 抗体筛选试验；谱细胞做抗体鉴定
- * 选择没有相应抗原的A、B细胞做反定型

冷自身抗体：

- * 自身吸收去除血清中的自身冷抗体后做反定型。
- * 反定型管放置37℃水浴1-2分钟后重新判读结果。

三、反定型——血清自身相关问题

5. 低丙种球蛋白血症 低丙种球蛋白血症病例(如白血病、淋巴瘤及使用免疫抑制剂的患者、先天丙种球蛋白缺乏的患者、免疫缺陷的患者)可能会因免疫球蛋白水平全面下降使血清反定型时无凝集或仅见弱凝集反应。



解决方法

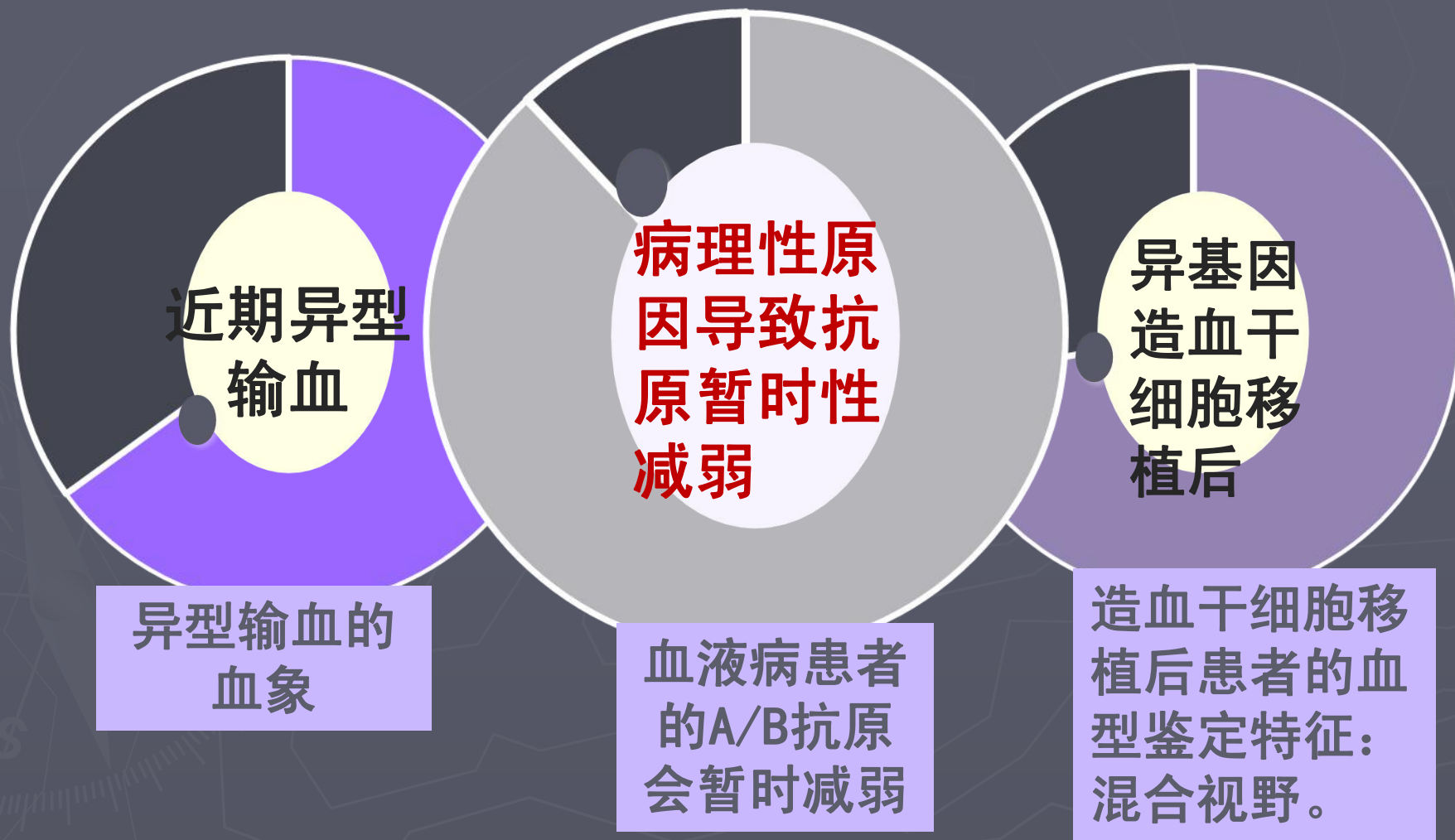
抗体减弱:

- * 免疫球蛋白水平测定
- * 延长孵育时间
- * 4-8℃冰箱降温提高反应性。
- * 酶处理ABO反定型试剂红细胞后做反定型。
- * 既往血型调查。

三、反定型——血清自身相关问题

6. 年龄因素 在未产生自己抗体的婴儿、从母亲被动获得抗体的婴儿，或抗体水平下降的老年人，试验时可出现无凝集或仅见弱凝集反应等异常结果。
7. 骨髓移植术后 ABO不同型骨髓移植患者术后。

ABO血型鉴定出现异常现象时需了解患者的病史



询问、查阅病历

- ▶ 患者的年龄
- ▶ 患者的病史
- ▶ 患者的近期输血史
- ▶ 患者的近期用药史
- ▶ 患者是否进行了骨髓移植
- ▶ 患者以前的血型
- ▶ 患者是否进行过血浆置换术

ABO疑难血型常用的检定方法



ABO常规正、反定型

出现正、反定型的凝集强度与试剂的要求不一致（试剂要求必须正定型强度必须4+，反定强度必须 $>2+$ ）。

吸收放散试验

表达弱A或弱B抗原的红细胞直接离心时不被抗-A或抗-B所凝集，但可以将细胞吸收抗体后重新放散出来，并检测放散出来的抗体特异性以验证弱A或弱B抗原的存在。

唾液型物质检测

大约80%的个体会在分泌液（唾液）中分泌ABH血型物质，可以通过检测唾液中是否存在ABH血型物质来验证ABO亚型、血液病致抗原减弱等血型。

基因检测

用于验证血清学结果、ABO疑难血型的检测：亚型？疾病致抗原减弱？ABO血型新等位基因的发现。

血清学结合分子生物学鉴定红细胞血型。

几种特殊的血型血清学方法介绍



吸收放散试验

用以验证弱A或B抗原。方法：
1、吸收用的红细胞：盐水洗涤3次的压积红细胞1ml。
2、将压积红细胞与抗血清等体积混合，在4℃孵育至少1小时（也可以孵育过夜），期间每隔15分钟混匀一次。
3、用冷盐水洗涤6次后，第7次只加1ml盐水，混匀离心后吸取上清液100ul与对应RBC反应，如果是阳性则继续洗涤，如果是阴性，在压积红细胞中加入等量生理盐水于56℃水浴震荡8分钟，离心获取的上清液为放散液，用试剂红细胞检测放散液（用O型红细胞做对照）。



唾液型物质试验

也称“中和试验”，用以验证，可以作血型的辅助诊断。
方法：
1、型物质准备：2ml唾液，沸水煮10分钟，离心后得到上清液。
2、标化抗血清试剂：用盐水稀释抗血清至对应红细胞产生4+凝集强度的最高稀释度。
3、唾液与修正好的抗血清等体积混合，室温中和30分钟。
4、检测：用Ac检测中和后的抗-A，Bc检测中和后的抗-B，Oc检测中和后的抗-H。结果判断：离心后凝集为阴性的判为唾液中含相关抗原。



巯基试剂消除自身凝集红细胞试验

2Me-巯基乙醇、DTT-二巯苏糖醇均属巯基试剂，可以裂解IgM抗体单体间的三硫键，消除IgM冷自身抗体造成的红细胞的自发凝集，为血型鉴定提供常态悬浮的红细胞。
方法：
1、用盐水洗涤红细胞3遍并配成50%的悬液，加入等量的0.01M的DTT，37℃孵育30分钟。
2、将红细胞洗涤3遍后配成2-5%的悬液备用。



毛细管离心分离自身与输入的红细胞

新生成的自体红细胞比重比输入的红细胞小，可以通过离心的方法与输入的红细胞分离开。方法：
1、用盐水洗涤红细胞3次，在保留白膜层的情况下尽可能去掉上清液。
2、在微量红细胞比积管中加入洗涤红细胞，密封管底，用专用离心机离心15分钟。
3、在距红细胞柱顶端的5mm处切开微量红细胞比积管，用注射器将管中的红细胞冲洗到试管中配成2-5%的悬液备用。

疑难血型举例



患者血型抗体减弱

□ 李某，男，80岁，重度贫血入院，因输血前复核血型发现正反不符，送我中心鉴定。

复查

正定型			反定型		直抗	抗筛
抗-A	抗-B	抗-AB	AC	Bc		
0	3+s	3+s	0	0	0	0

分析：老年患者，抗原减弱？抗体减弱？亚型？



广州血液中心
Guangzhou Blood Center

患者血型抗体减弱

补充实验

- | | |
|---------------------------------------|-------------|
| <input type="checkbox"/> 吸收放散实验 | 不能吸收放散抗-A/B |
| <input type="checkbox"/> 唾液血型物质鉴定 | 检出B/H物质 |
| <input type="checkbox"/> 加做抗-H | 1+ |
| <input type="checkbox"/> 必要时考虑分子生物学实验 | NT |

结 论

血型为B型，属老年患者抗体减弱干扰反定型



广州血液中心
Guangzhou Blood Center

白球比倒置，球蛋白过高

□ 陈某，女，60岁，入院诊断为多发性骨髓瘤。既往无输血史，本次输血前查血型正反不符。生化：白蛋白36g/L,球蛋白79g/L。

复查

正定型			反定型		直抗	抗筛
抗-A	抗-B	抗-AB	AC	Bc		
4+	0	4+	4+	4+	0	阳性



白球比倒置，球蛋白过高

□ 分析

老年患者，多发性骨髓瘤，白球比倒置。考虑：球蛋白增多导致的缟钱状凝集？

补充实验

- 1.镜下观察反定型凝集情况，必要时加入生理盐水。
- 2.唾液血型物质检测。
- 3.必要时分子生物学实验。



广州血液中心
Guangzhou Blood Center

白球比倒置，球蛋白过高

结果

镜下RBC呈现缗钱状凝集，加入N.S后，凝集消失。
血型物质检出A/H物质。

结论

A型，球蛋白异常增高导致的缗钱状凝集而造成的正反不符



广州血液中心
Guangzhou Blood Center

同种抗体所致正反不符

周某，女，28岁，以贫血原因待查入院。G3P1A1，既往无输血史，肝功能检查正常。输血前检查血型正定B型，反定O型，特送检鉴定。

复查

正定型			反定型		直抗	抗筛
抗-A	抗-B	抗-AB	AC	Bc		
0	4+	4+	4+	1+	0	阳性



广州血液中心
Guangzhou Blood Center

同种抗体所致正反不符

分析

女性患者，有多次妊娠史，反定不排除有不规则抗体。视情况加做抗筛实验和吸收放散实验。

结果

抗筛实验阳性，表明有不规则抗体，鉴定为IgM+IgG 抗-M。

结论

B 型，不规则抗体(抗-M)导致正反不符。



广州血液中心
Guangzhou Blood Center

自身抗体导致正反不符

陈某，女，**45**岁，诊断恶性淋巴瘤并重度贫血。既往无输血史，肝功能检查正常，血型正定**AB**型，反定**O**型，特送检。

复查

正定型			反定型		直抗	抗筛
抗-A	抗-B	抗-AB	AC	Bc		
1+	4+	4+	4+	1+s	阳性	阳性



自身抗体导致正反不符 分析

恶性肿瘤患者，正定不排除A亚型或非特异性凝集，反定不排除有不规则抗体。视情况加做直抗实验，抗筛实验和吸收放散实验。

结果

直抗实验阳性，抗筛实验阳性，表明有不规则抗体。 37°C 水浴后证实为单纯的自身冷抗体。自身吸收后的血清反定型为B型，RBC轻微热放散后正定为B型。



自身抗体导致正反不符

结论

B 型，自身冷抗体导致正反不符。

弱反应或缺失抗原事例

正定型			反定型			
抗-A	抗-B	抗-AB	A细胞	B细胞	O细胞	自身对照
-	-	1+	+	3+	-	-

患者的正定型与正常反应强度相比属于减弱的反应。从反定型中可以看出患者具有A抗原。正定型中与抗-AB有弱反应，而与抗-A无反应暗示A亚型的可能。

通过吸收放散、型物质检查确认A亚型。可能是  Ax

ABO亚型抗体引起的正反定型不符事例

-A	-B	-AB	Ac	Bc	Oc	自身
4+	-	4+	1+	4+	-	-

可能血型: 亚型,可能是A₂型有抗-A₁

解决方案: 使用抗-A₁血清进行正定型鉴定



ABO正反定型不符事例

-A	-B	-AB	Ac	Bc	Oc	自身
-	-	-	4+	4+	4+	-

可能血型: (1) Oh孟买型

(2) 或O型有ABO以外不规则抗体

解决方案: (1) 在正定型中添加抗-H检查

(2) 不规则抗体鉴定



意外同种抗体引起的正反定型不符

正定型			反定型			自身
抗 A	抗 B	抗 A B	A 细胞	B 细胞	O 细胞	
4 +	4 +	4 +	+	+	+	—

可能血型：A B，可能含有不规则抗体，进行抗体鉴定



广州血液中心
Guangzhou Blood Center

Thank you!



捐献可以再生的 **血液**
拯救不可重来的生命

联系方式：广州血液中心 临床输血研究所6楼
电话：020-83595049 、 020-83595016