

• 短篇论著 •

罕见类孟买 Bm<sup>h</sup> 血型血清学鉴定分析李 静<sup>1</sup>, 姚克文<sup>2</sup>, 张 彬<sup>2</sup>, 丑广程<sup>3</sup>

(1. 保定市中心血站, 河北保定 071000; 2. 保定市妇幼保健院, 河北保定 071000;

3. 河北大学附属医院, 河北保定 071000)

**摘要:目的** 通过对 1 例类孟买血型的鉴定, 探讨鉴定方法及血清学特点, 为临床输血提供血源信息。**方法** 运用血清学、吸收放散试验检测 ABH 抗原及相应抗体, 中和抑制试验测定唾液血型物质, 利用新生儿红细胞的特性鉴定抗体是抗-H 或抗-HI 抗体。**结果** 吸收释放试验验证出红细胞上 B 抗原存在, 唾液中中和试验验证出 B 及 H 血型物质存在, 血清中抗体特性为抗-H 抗体, Lewis 血型为 Le(a-b+), 该患者为分泌型类孟买 Bm<sup>h</sup> 血型。**结论** 高度谨慎对待正反定型不一致的标本, 必要时加做其他血清学试验, 是发现稀有血型的基础; 准确鉴定类孟买 Bm<sup>h</sup> 血型是输血治疗前的关键措施。**关键词:** 类孟买血型; 抗-H 抗体; 分泌型; 正反定型**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.24.027**中图法分类号:** R457.1+1**文章编号:** 1673-4130(2020)24-3053-03**文献标识码:** B

类孟买血型, 是极为罕见 H 缺失的 ABO 亚型, H 抗原是一种含有岩藻糖的糖单位, 是 ABO 血型系统中 A、B 抗原形成的前体物质, 在人体中存在两种表达形式, 一种是以脂溶性 H 抗原在红细胞和血管内皮等组织细胞膜上表达, 另一种以水溶性 H 抗原在体液、分泌液(如唾液和胃液)中表达。类孟买血型人群因红细胞膜上完全或部分缺失 ABH 抗原, 而分泌液中可表达或不表达 ABH 物质<sup>[1]</sup>。在日常血型鉴定中, 红细胞上 A、B 抗原缺乏或弱表达时, 容易分析为抗体减弱, 而造成类孟买血型的漏检及鉴定错误, 类孟买血型中含有特异性的抗-H 或抗-HI 抗体, 呈现为多样性, 容易被忽略而造成血液输注风险。ABO 血型抗原性极强, 当输入相应抗原血液或 37 °C 有活性的抗体时, 易激活补体造成严重的溶血性输血反应, 因此, 血型的正确鉴定是输血医学中的重要环节。鉴于类孟买血型的特殊性和罕见性, 建立合适的血型筛查策略, 对每一例个体的血清学定型分析方案, 以及分子生物学的基因鉴定都具有重要意义, 但多数输血科不具备分子生物学技术鉴定的条件, 因此, 血型血清学的正确诊断能及时有效减少误诊、漏诊及输血事故的发生, 是临床输血安全的最直接保障。保定市中心血站实验室发现 1 例因正反定型不符而提示进行 H 抗原检测, 后经血清学鉴定为分泌型类孟买 Bm<sup>h</sup> 血型, 同时也是本市首次发现的类孟买血型, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 患者, 女, 65 岁, 汉族, 保定市人, 因双膝骨性关节炎住院治疗, 入院后常规血型鉴定及备血, 血型检测时发现其 ABO 正反定型不符, 正定型为 O 型, 反定型为 B 型(患者无输血史), 医院将患者血

样送至保定市中心血站血型研究室鉴定。

**1.2 仪器与试剂** 标准血清抗-A、抗-B(批号 20181020)、抗-H(批号 20190114)、标准 ABO 红细胞(批号 20195320)、Rh 血型分型试剂、MN 试剂(20190403)、抗人球蛋白试剂(批号 20185001)及谱细胞(批号 20190530)均为上海血液生物医药有限责任公司, 抗-Lea(批号 8000245780)、抗-Leb(批号 8000249125)均为荷兰 Sanquin 公司, 人源抗-A、抗-B 和抗-AB(效价 ≥ 128, 且不含不规则抗体)、新鲜新生儿细胞、新鲜成人细胞均为保定市中心血站实验室自制, 所有试剂均在有效期内使用。血清学专用离心机(日本久保田, KA2200)、电热恒温振荡箱、水浴箱。

**1.3 方法** 以下试验方法按照文献[2]及厂家试剂说明书操作。

**1.3.1 血型鉴定** ABO 正定型增加 2 份人源抗-AB(抗-AB<sup>1</sup> 和抗-AB<sup>2</sup>), H 抗原的鉴定分别用 Oc 和 Bc 做强、弱阳性对照, 反定型加自身 c 对照。

**1.3.2 直接抗人球蛋白试验及相关血型鉴定** 检测患者红细胞直接抗人球蛋白试验、Rh 分型、MN 及 Lewis 血型。

**1.3.3 吸收放散试验** (1)取患者三洗红细胞 1 份, 与等量人源抗 B 血清混合, 4 °C 吸收 1 h, 冷盐水洗涤 6 次, 56 °C 放散 10 min, 离心取放散液 1 与标准 B 细胞反应, 取 O 型细胞同步阴性对照。(2)取与患者 Rh 分型同型的 O 型三洗红细胞对患者血清进行吸收放散(方法同上), 获得上清液 2(吸收后上清液与 O 型红细胞反应为阴性)和细胞放散液 2。

**1.3.4 不规则抗体及特异性的鉴定** (1)用谱细胞对上述上清液 2 和放散液 2 分别在室温盐水和抗人球介中进行筛查试验。(2)选用 B、O 型新生儿红

细胞和成人红细胞分别与患者血清进行试验。(3)取患者血清加等量 O 型(分泌型)唾液室温中和 15 min 后,加 O 型红细胞进行血型物质中和试验(同时做盐水对照)。

**1.3.5 唾液血型物质检测** 单克隆抗-H 和人源抗-A、抗-B 血清倍比稀释,取凝集强度(2+)作为最适稀释度。患者唾液经 24 h 冷冻后煮沸处理,离心上清液与抗血清做中和抑制试验(同时做盐水对照)。

**1.3.6 抗-H 效价测定** 生理盐水倍比稀释患者血

清,加 O 型红细胞分别在 4 °C、室温、37 °C 条件下孵育 10 min,离心后取凝集强度为“1+”稀释度的倒数为抗体效价。

**2 结果**

**2.1 患者血型鉴定** 患者正定型为 O 型,反定型与 ABO 各细胞发生不同程度的凝集,与自身细胞和抗-H 不反应(对照 Oc 反应 3+,Bc 反应 1+),红细胞上检测不到 A、B、H 抗原,血清中存在不规则抗体,初步鉴定为孟买或类孟买血型。见表 1。

表 1 血型鉴定结果

反应条件	正定型				反定型							
	抗-A	抗-B	抗-AB <sup>1</sup>	抗-AB <sup>2</sup>	抗-H			Ac	Bc	Oc	自身 c	
					Pc	Oc(对)	Bc(对)					
4 °C	0	0	0	w+	0	4+	1+s	4+	2+	2+s	0	
室温	0	0	0	0	0	3+	1+	4+	1+	1+s	0	
37 °C	/	/	/	/	/	/	/	3+	0	w+	0	

注:Pc 为患者细胞;0 为不凝集;w 为弱凝集;s 为强凝集;/为未做检测。

**2.2 直接抗人球蛋白试验及相关血型鉴定** 患者红细胞多抗(IgG+C3d)试验结果为阴性,Lewis 血型为 Le(a-b+),其他血型为 CCDee、MN 型。

**2.3 吸收放散试验** 患者红细胞的吸收放散液 1 与标准 B 细胞室温凝集,检出 B 抗原,鉴定为类孟买血型;血清吸收后上清液 2 反定型为 B 型,排除不规则抗体的存在,正反定型一致。见表 2。

表 2 吸收放散试验结果

试剂	人源抗-B (放散液 1)	Oc 对照	O 型 CCDee 吸收	
			上清液 2	放散液 2
Ac	/	/	3+	0
Bc	1+	0	0	0
Oc	0	0	0	1+

注:0 为不凝集;/为未做检测。

**2.4 不规则抗体的鉴定** 用谱细胞检测吸收后的上清液 2,在盐水介质及抗人球蛋白试验反应中均为阴性,血清中没有 ABO 系统以外的抗体;谱细胞与放散液 2 在盐水介质反应格局为 1、3、4、7、9 号细胞为 1+s 凝集强度,2、5、8 号细胞为 2+凝集强度,6、10 号细胞为 2+s 凝集强度,自身细胞为阴性,抗人球蛋白试验反应为阴性。患者血清与新生儿红细胞的凝集反应,无论是室温还是 4 °C 都明显弱于成人红细胞,血型物质中和试验中抗体可被血型物质抑制,不再与 O 细胞凝集,总结上述试验确定血清中不规则抗体为抗-H 抗体,而不是抗-HI 抗体。见表 3。

**2.5 唾液血型物质** 试验结果为加 Ac 的抗-A 管未被抑制 2+,加 Bc 的抗-B 管完全抑制 0,加 Oc 的抗-H 管部分被抑制 1+,检出患者唾液中存在 B、H 血型物质,未检测出 A 物质,鉴定患者为分泌型。

**2.6 抗体效价** 抗-H 抗体 4 °C 效价为 64,室温效价为 16,37 °C 效价为 <1。

表 3 不规则抗体特异性鉴定结果

温度	成人				新生儿			
	B1c	B2c	O1c	O2c	B1c	B2c	O1c	O2c
室温	1+	w+	1+s	1+s	0	0	w+	w+
4 °C	1+s	1+	2+	2+	0	w+	1+	1+

注:0 为不凝集;w 为弱凝集;s 为强凝集。

**3 讨论**

类孟买型是一种罕见的红细胞血型表型,其发生概率极低,据文献报道,在中国台湾和福建,类孟买型出现频率较高,为 1/8 000~1/8 500,在北京低至 1/1 020 000<sup>[3]</sup>,此类孟买血型为首次在本市发现,突显其稀有血型的医学价值。孟买与类孟买血型都是 H 抗原的缺失型,主要区别在于红细胞和分泌液中是否能检测到 ABH 抗原物质<sup>[4]</sup>。类孟买型在分泌液和血浆中含有 I 型 ABH 抗原,可用唾液血型物质检测,红细胞上无血清学方法检测的 H 抗原,但可以携带有少量的 A 和(或)B 抗原,是因个体遗传差异性表现为类孟买血型的多样性,通常认为是红细胞上吸附了血浆中的糖脂类血型物质所导致<sup>[5]</sup>。本文患者血型正定型未检出红细胞上 ABH 抗原,但人源的抗-AB 在 4 °C 表现为弱反应性,分析是由于红细胞从血浆中吸附了微弱的 A 或 B 抗原,因数量极少而不能被标准血清检测出;通过红细胞吸收放散试验检测到抗-B 抗体,说明红细胞上存在 B 抗原,唾液血型物质试验也检出相应的 B 及 H 物质,确定患者为类孟买 Bm<sup>h</sup> 分泌型。

Lewis 抗原的合成依赖于 Le 基因和 Se 基因,分

泌型个体产生可溶性 ABH 物质的能力也是由 Se 基因决定。在分泌型人体内具有 Le 和 Se 基因, Se 基因产生 I 型 H 抗原, 作为 Le 基因编码的  $\alpha 1, 4$ -岩藻糖转移酶转化成两次岩藻糖基化的 Leb 抗原, 所以在他们的唾液中有 Lea 和 Leb 抗原, 红细胞 Lewis 血型表现为 Le(a-b+); 而非分泌型人 se 不能将前体物质转化成 I 型 H 抗原, 形成单次岩藻糖基化的 Lea 抗原, 因此, 在他们的唾液中仅有 Lea 抗原, 红细胞 Lewis 血型表现为 Le(a+b-)。文献报道类孟买血型个体 Lewis 血型表现为 Le(a-b+) 或 Le(a-b-), 而不会表现为 Le(a+b-)<sup>[6]</sup>, 本文患者 Lewis 血型为 Le(a-b+), 与唾液血型物质检测相互验证。在实际工作中, 往往受标本来源限制、采集困难等影响, 无法进行唾液血型物质试验, 而不能确认患者的分泌状态, 此时 Lewis 血型鉴定更突显其优越性。

类孟买血型的血清中除 ABO 分型的抗-A 或抗-B 外, 常含有抗-H、抗-HI 抗体或两者皆有。H 抗体的典型特征是能被分泌型唾液抑制, 能与 O 型脐血反应(比成人 O 细胞的反应弱), 反之则称为抗-HI 抗体<sup>[5-6]</sup>。本次试验中采用新生儿细胞来验证抗体的这一性质, 正是因为新生儿红细胞是 i 表型且 H 抗原反应性弱, 与成人红细胞对比佐证, 将其他类型抗体与抗-H/抗-HI 抗体区分, 同时还可以解决基层实验室获取脐血细胞困难的问题。孟买型个体产生的抗-H/抗-HI 抗体是特殊冷抗体, 在 4~37 °C 范围内活性较大, 室温下也可影响血型的鉴定, 而抗-HI 抗体生物活性相对较弱, 37 °C 有活性, 溶血性强的抗-H 抗体比抗-HI 抗体更具有输血风险性, 则更应被给予重视。

正确鉴定类孟买血清中抗体特性可辅助选择适合的血液输注。文献报道了类孟买血型输血策略有两类, 即同型输注和配合型输注<sup>[7-8]</sup>, 考虑本文患者手术存在输血可能性, 随机选取了 10 人份的 B 型去白悬浮和 O 型洗涤红细胞血做交叉配血试验, 结果发现与 O 型血在 37 °C 抗人球蛋白中显示较弱凝集, 与 B 型血为阴性反应。考虑实验室结果与实际输血情况存在差异, 交叉配血相并不能表明输注血液就绝对安全有效, 结合以往文献报道<sup>[9]</sup>, 37 °C 有反应活性的抗-H 抗体通常能够激活补体, 引起溶血性输血反应发生, 对检测结果的判断和临床输血安全产生影响。本实验室正确确定患者血型后, 将这一血型特点和输血指导方案反馈给临床, 临床重新规划了手术方案, 为患者成功避免了输血风险。

目前, 微柱凝胶血型卡的普及, 易造成类孟买血型的漏检。类孟买血型由于个体遗传的差异性, 存在血清学特性的差异, 红细胞上无或弱表达的 A、B 抗原, 抗体凝集的强弱影响, 易被误定为 O 型<sup>[10-11]</sup>, 而导致输血反应的发生<sup>[12]</sup>, 所以建议在卡式定血型时, 大部分凝胶卡上没有 O 细胞反应孔, 需谨慎对待血型定型不符的标本, 尤其是鉴定为 O 型血时反定型中 Ac

和 Bc 凝集相差大于“2+”以上反应, 加做 O 细胞或抗筛细胞和自身对照, 必要时结合抗-H 抗体血清的应用, 不仅有利于 ABO 亚型鉴定, 更能避免罕见的孟买与类孟买血型的漏检。

综上所述, 随着血型血清学检测方法和试剂的完善, 类孟买血型即使在基层输血实验室也可得到快速准确的鉴定, 这可帮助研究者及时有效地分析稀有血型, 从而避免输血风险。而将来进一步结合分子生物学做基因检测和测序, 更有助于阐明此类罕见血型的遗传特性和基因多态性<sup>[13]</sup>。血型的正确鉴定固然重要, 而输血不良反应的应变对策, 也是为此类患者提供优质安全输血的有力保障<sup>[14-15]</sup>。

## 参考文献

- [1] MARK K F, BRENPA J G, CHRISTOPHER D H, 等. AABB 技术手册[M]. 桂嵘, 陈秉宇, 黄远帅, 译. 18 版, 长沙: 中南大学出版社, 2019: 200-201.
- [2] 尚红, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 118-143.
- [3] 木耶赛尔·伊斯马依力, 徐保红, 郭伟鹏, 等. 罕见 Ah 类孟买血型的鉴定[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(12): 1411-1412.
- [4] 耿宝财, 杨信军, 王雅丽, 等. 类孟买 B 血型报告 1 例[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(8): 855-857.
- [5] 杰夫·丹尼尔. 人类血型[M]. 朱自严, 译. 2 版(中文翻译版). 北京: 科学出版社, 2007: 10-66.
- [6] 朱泽航, 陆元善. 类孟买血型血清学鉴定及家系调查探讨[J]. 检验医学, 2015, 30(9): 874-876.
- [7] 赵娟, 宋建, 周小芳, 等. 类孟买孕妇血型鉴定及血液保障策略的研究[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(8): 1006-1009.
- [8] 刘巍, 蔡晓红. 贵阳市 1 例稀有血型类孟买 Bmh 的检测分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(24): 3584-3585.
- [9] 谢进荣, 吴维华, 金月林, 等. 2 例类孟买型血型的血清学鉴定及输血实践[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(9): 1065-1067.
- [10] 周小芹, 沈志辉, 张乃淙, 等. 类孟买血型血清学特点及基因突变分析[J]. 军事医学, 2017, 41(10): 822-824.
- [11] 唐聪海, 林小晶, 胡晓明, 等. 4 例类孟买型血型血清学特点研究[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(6): 525-527.
- [12] 陈发文, 谢海花, 杨晓俊, 等. 3 例类孟买血型的分子遗传机制研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(6): 1793-1798.
- [13] 赵倩, 王振雷, 苏曼, 等. 1 例类孟买血型的鉴定及分子机制研究[J]. 临床血液学杂志, 2019, 32(2): 159-161.
- [14] 陈萍, 沈雨青, 张水木. 类孟买血型的鉴定及输血对策探讨[J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(6): 508-509.
- [15] 刘秋菊, 朱碎永, 林甲进. 类孟买型血清学特点及后续输血策略的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(9): 1276-1278.