

· 案例分析 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.10.039

# 罕见 A1Bw 亚型伴不规则抗-B 研究

潘家铭<sup>1</sup>, 许先国<sup>2</sup>, 吴泳伦<sup>1</sup>, 孙爱农<sup>1△</sup>

1. 广东省中山市中心血站检验科, 广东中山 528400; 2. 浙江省血液中心输血医学研究所, 浙江杭州 310052

关键词: A1Bw 亚型; 不规则抗-B; 献血者

中图分类号: R446.6; R392.1

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2022)10-1438-03

准确鉴定献血者血型对临床血液正确发放和安全输血至关重要<sup>[1]</sup>, 输血前应正确鉴定供、受血者血型, 而 ABO 亚型会使抗原抗体反应出现异常、减弱或消失, 导致血型正反定型不符, 定型出现困难<sup>[2]</sup>。由于 ABO 亚型很多, 不同的 ABO 亚型常呈现独特的正反定型结果, 笔者在血液检验工作中遇到 1 例 A1Bw11 亚型伴不规则抗-B 标本, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 献血者, 男, 29 岁, 全自动血型仪(微孔板凝集法) ABO 血型检测结果正反定型不符。正定型: 抗-A 4+、抗-B 不凝集, A 型; 反定型: A、B 细胞均不凝集, AB 型。该献血者自述曾在外地献血, 描述当时当地采供血机构血液检验结果是 A 型, 表明该标本血型特殊, 因此需进一步研究。

**1.2 仪器与试剂** 国产麦迪斯 150-8 型全自动血型仪购自深圳爱康生物科技有限公司; SHA-2 型水浴恒温振荡器购自上海高致精密仪器有限公司; 3 种 ABO-Rh 血型定型检测卡购自中山市生科试剂仪器有限公司(简称生科)、达亚美中国有限公司(简称达亚美)及西班牙 Diagnostic Grifols S. A. 公司戴安娜(DG)品牌(简称戴安娜); 抗人球蛋白微柱凝胶卡购自戴安娜; RhD(IgM)血型定型试剂购自上海血液生物医药有限责任公司; 3 种不同来源的单克隆抗-A、抗-B 试剂分别购自上海血液生物医药有限责任公司、长春博德生物技术有限公司、北京金豪制药股份有限公司; ABO 反定型、不规则抗体检测试剂盒购自长春博德生物技术有限公司; 单克隆抗-A1、-AB、-H 均购自德国 CE 公司; Magcore 自动核酸抽提仪、基因组 DNA 抽提试剂盒均购自中国台湾 RBC Bioscience 公司; 9700 型 PCR 扩增仪、3730 DNA 测序仪和 Big Dye<sup>®</sup> Terminator V3.1 测序试剂盒均购自美国 ABI 公司。所有试剂均在有效期内。

## 1.3 方法

**1.3.1 血型血清学检测** (1) ABO 正反定型检测:

用盐水试管法及 3 种 ABO-Rh(CDE) 检测卡, 于不同温度下进行 ABO 正反定型检测, 其中反定型加大 1 倍血浆量。(2) 血浆不规则抗体筛查及鉴定: 分别用盐水试管法及间接抗人球蛋白凝胶法进行试验。(3) 红细胞吸收及放散试验: 按《全国临床检验操作规程》<sup>[3]</sup> 操作, 对比吸收前后血浆抗体效价变化, 并把吸收后红细胞在 56 °C 进行热放散, 放散液分别与标准 A、B、O 型红细胞反应。(4) 血浆吸收及放散试验: 分别用 1 份 A 型及 B 型献血者红细胞, 与 4 倍该献血者标本血浆混合, 4 °C 放置 1 h, 吸收后血浆与标准 A、B、O 型红细胞反应; 同时将吸收后的 A 型和 B 型献血者红细胞做放散试验, 取放散液与标准 A、B、O 型红细胞反应。(5) 血浆不规则抗体滴度检测: 将献血者标本血浆倍比稀释, 与标准 B 型红细胞 4 °C 反应 30 min, 离心观察结果。

**1.3.2 基因检测** 用 Magcore 自动核酸抽提仪进行基因组 DNA 抽提, 用 PCR 扩增仪扩增 ABO 基因第 1~7 外显子序列, 扩增产物直接测序, 测序结果用 SeqScape V2.5 软件进行序列分析, 依据碱基基本情况判定标本基因型, 步骤按试剂说明书和文献<sup>[4]</sup> 进行操作。

## 2 结果

**2.1 ABO 血型检测结果** 从正定型抗-B 反应结果来看, 对于弱凝集的结果判断, 试管法比微柱凝胶卡反应更敏感; 试管法正定型抗-B 在反应温度 4 °C 及 24 °C 时显微镜下可见微弱凝集, 而 37 °C 无凝集; 反定型试管法用 10 份单份 B 细胞与该献血者血浆反应, 24 °C 无凝集, 但 4 °C 放置 30 min, 离心观察, 肉眼均可见凝集(1+)。结果提示该献血者可能红细胞上有 A1 抗原、血浆内有极弱抗-B。另外, ABO 检测卡于 24 °C 反应结果与全自动血型分析仪结果相同, 但在 4 °C 条件下用不同厂家检测卡所做反定型结果有差异。见表 1、2。

**2.2 血浆不规则抗体筛查鉴定结果** 4 °C 及 24 °C 盐

△ 通信作者, E-mail: sunainong8@sina.com。

水试管法及 37 °C 间接抗人球微柱凝胶法同时检测，浆中 ABO 以外的不规则抗体存在。I、II、III 号筛查细胞结果为阴性，可排除该献血者血

表 1 不同条件下盐水试管法 ABO 正反定型结果

反应温度(°C)	正定型								反定型				自身抗体	直接抗体	
	抗-A	抗-B 上海	抗-B 金豪	抗-B 博德	抗-D	抗-H	抗-A1	抗-AB	A1c	Bc	10 份	1 份			Bc
4	4+	±	-	-	4+	2+	4+	4+	-	1+	全部	1+	-	-	-
24	4+	MF	-	-	4+	2+	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-
37	4+	-	-	-	4+	2+	4+	4+	-	-	-	-	-	-	-

注：抗-B 上海指上海血液生物医药有限责任公司抗-B 试剂，抗-B 金豪指北京金豪制药股份有限公司抗-B 试剂，抗-B 博德指长春博德生物技术有限公司抗-B 试剂；±表示肉眼有几乎看不见的凝集，背景浑浊；MF 表示显微镜混合视野凝集；+表示阳性，-表示阴性。

表 2 3 种 ABO 检测卡正反定型结果

反应温度(°C)	厂家	正定型			反定型		
		抗-A	抗-B	抗-D	A1c	Bc	Oc
4	生科	4+	-	4+	-	1+	-
4	达亚美	4+	-	4+	-	-	-
4	戴安娜	4+	-	4+	-	-	-
24	生科	4+	-	4+	-	-	-
24	达亚美	4+	-	4+	-	-	-
24	戴安娜	4+	-	4+	-	-	-

注：+表示阳性，-表示阴性。

**2.3 红细胞吸收及放散试验** 该献血者标本红细胞对抗 A 吸收能力强、放散能力弱，对抗 B 吸收能力弱、放散能力强，疑似标本红细胞有正常 A 抗原和弱 B 抗原，显示该献血者红细胞具有 ABO 亚型的特征。见表 3。

表 3 红细胞吸收及放散试验结果

项目	吸收试验(试管法)		放散试验(凝胶卡)		
	吸收前抗体效价	吸收后抗体效价	A1c	Bc	Oc
抗 A 管	32	/	1+	-	-
抗 B 管	32	32	-	4+	-

注：/表示全部阴性；+表示阳性，-表示阴性。

**2.4 血浆吸收及放散试验** 该献血者血浆标本中抗体仅可被 B 型细胞全部吸收干净，证明其血浆中含不规则抗-B，但是吸收后的 B 型红细胞放散试验却为阴性，可能由于血浆中抗-B 效价太低的原因。

**2.5 血浆抗-B 抗体效价** 分别在盐水试管法和抗人球蛋白介质中检测献血者血浆抗-B 效价，结果显示盐水试管法效价为 1 : 2，属 IgM，而抗人球蛋白中结果为阴性。

**2.6 基因检测结果** DNA 测序结果显示，该献血者标本 ABO 基因与 ABO \* A1.01 参考序列相比，外显子区域存在 c. 297A/G、c. 526C/G、c. 657C/T、

c. 695T/C、c. 703G/A、c. 796C/A、c. 803G/C、c. 930G/A 共 8 处变异，均为杂合变异。除 c. 695T/C 外，其余位点符合 ABO \* A1.01/B.01 杂合子特征。经检索 c. 695T>C 为 ABO \* BW.11 等位基因特征，该变异能导致 232 位亮氨酸转变为脯氨酸，故该献血者 ABO 基因型为 ABO \* A1.01/BW.11，表明该献血者为罕见 A1Bw 亚型伴不规则抗-B。

### 3 讨论

ABO 血型亚型同属 ABO 血型抗原，但抗原结构和性能或抗原位点数有一定差异，主要是以正反定型不一致及抗原性弱为主要特征的多种亚型表型<sup>[5]</sup>。虽然 ABO 亚型在人群中的频率不高，但由于临床检测人群数量较大，因此在临床实际工作中常会遇到 ABO 亚型引起的血型定型或配血困难<sup>[6]</sup>。其中 A 亚型分为 A2、A3、Aend、Ax、Am、Ay、Ael 等，依照 A 亚型的分类标准，B 亚型分为 B3、Bx、Bm、Bel，将不符合这 4 类 B 亚型标准的其他弱表型统称为 Bw<sup>[7-8]</sup>。B 亚型比 A 亚型少，Bw 又是罕见的，它在人群中出现的概率非常低，甚至在血清学上难以被分类<sup>[8]</sup>。

本研究结果显示，标本红细胞与抗-AB、-A1 反应呈强凝集，与抗-H 为 2+ 凝集，可以初步排除 O 型，提示红细胞上含有 A1 抗原。所以在血型检测时，当发现正反定型不符时，可以增用抗-AB、抗-A1、抗-H 参与检测，这对血型的判断有重要提示作用。结合红细胞吸收及放散试验，判断该献血者为 A1B 亚型，其血浆中存在低温盐水抗体，为不规则抗-B(IgM)，效价 1 : 2。本次血清学研究同时采用多种血清学方法进行试验，目的是利用不同方法间优势互补，提高准确性，这在疑难血型的血清学鉴定中尤为重要；另外，发现不同厂家单克隆试剂对弱凝集反应结果存在差异，这可能与不同克隆株单克隆抗血清对其检出能力存在本质差异有关<sup>[9]</sup>；血型血清学方法易受生理性、实验操作、试剂、温度、临床疾病等多种因素影响，对于

一些疑难血型标本往往难以准确定型<sup>[10]</sup>。结合基因检测技术,确定该献血者 ABO 血型表型为 A1Bw,基因型为 ABO \* A1.01/BW.11。

该献血者在既往献血时 ABO 血型检测结果有误,可能误以为其不规则抗-B 与正定型“正”型相符。因此,笔者建议:(1)在正反定型不符或 ABO 抗体活性过低等可疑血型鉴定中,如果试验结果无肉眼凝集,应及时将细胞及血清至少在室温和 4℃ 孵育 30 min,并用显微镜观察,增加红细胞吸收放散试验,提高血型抗原检测的敏感性;(2)提高自身业务水平,避免因技术性原因造成漏检;(3)对凝集强度弱的标本,可选择不同厂家的试剂重复验证;(4)对一些疑难问题必须及时请示上级主管医生,进一步检查。

目前血型抗原基因突变数据库中共记录了 40 个 Bw 等位基因<sup>[11]</sup>,国内曾报道有 Bw11、03、07、14、33、39 等,ABw 等位基因曾报道有 03、07、31、19、12 等,而 A1Bw11 亚型较为罕见。A1Bw11 血清学试验与其他 ABw 亚型存在一定的差异,不同 ABw 亚型红细胞与单克隆抗-B 反应凝集强度不一致,因此镜检十分重要。目前已有报道,大部分 ABw 亚型血浆中均存在抗-B 抗体,可凝集 B 型红细胞,但并不引起自身细胞凝集,其原因有待探究;而 ABw11 与 Bw11 血清学相似点在于红细胞与单克隆抗-B 反应为±,血浆也存在不规则抗-B,所以对 ABw 亚型,如果红细胞定型抗-B 管弱凝集没有被发现,同时反定型 B 细胞管 4℃ 有凝集,ABO 正反定型的假相符,容易误判为 A 型。

该献血者由于属 AB 亚型,作为献血者血液,其红细胞可制备成洗涤红细胞,供 AB 型受血者使用,但血浆因存在不规则抗-B 使用应谨慎,可作为 A 型血浆使用或直接报废;假如作为患者,临床输血时使用洗涤 O 型红细胞及 AB 型血浆。

根据冯晨晨等<sup>[12]</sup>报道,Bw11 与 A 等位基因或 O 等位基因同时遗传时竞争现象存在明显差异,由于条件限制,未能对此献血者家系中 Bw11 基因的遗传展开调查。

影响血型鉴定的因素很多,包括抗原减弱、抗体减弱、ABO 亚型、冷凝素干扰及 ABO 血型变异等<sup>[13]</sup>。血清学无法对血型准确判读时,基因检测是准确定型的最佳选择<sup>[14]</sup>,但传统的血清学检测仍然是血型鉴定的金标准,假如血清学鉴定首先发生错误,将可能导

致 ABO 亚型漏检,甚至引起输血事故。所以日常工作中,准确的血型血清学试验分析是疑难血型鉴定的重要前提,同时将血清学检测与基因检测相结合,可提高血型鉴定的准确性,为临床输血安全提供保障。

## 参考文献

- [1] 侯萍,李晓丰,李剑平. 沈阳地区献血者疑难血型鉴定原因分析及处理措施[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(2): 223-224.
- [2] DE MATTOS L C. Genetic diversity of the human blood group systems[J]. Revista Brasileira Hematologia, 2013, 35(6):383-384.
- [3] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2015:123-124.
- [4] 洪小珍,和艳敏,陈舒,等. 一例 ABO 血型重组等位基因的分子特征[J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(1): 15-19.
- [5] 国杰,张婷. 献血员 A1B 亚型血型鉴定及分析 1 例[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(21):2714-2715.
- [6] 董磊,李双玉,李立新,等. A205B 亚型伴抗-A1 抗体致配血不合 1 例[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(1):142-143.
- [7] DANIELS G. Human blood groups[M]. 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell Sci, 2013:39-40.
- [8] 孙嘉峰,杨晓俊,张爱,等. 3 例 B 亚型标本的血清学表型和基因型结果分析[J]. 临床输血与检验, 2020, 22(5): 506-509.
- [9] 赵媛,冯强,赵一贺,等. 一例 Bw11 亚型的鉴定及分子生物学分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(10):1179-1182.
- [10] 马晓莉,刘丹,金新莉,等. 42 例疑难 ABO 血型的血清学与基因分型[J]. 中国输血杂志, 2020, 33(12):1245-1247.
- [11] 武文,张志波,杨娜,等. 一例 ABw03 亚型的全编码区测序及家系分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(7): 734-736.
- [12] 冯晨晨,任伟超,程道胜,等. Bw11 亚型家系表现 ABO 等位基因竞争现象的研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(1):23-26.
- [13] GARRATTY G. Autoantibodies induced by blood transfusion[J]. Transfusion, 2004, 44(1):5-9.
- [14] 贾雯婷,尚锦青. Bw07/A102 亚型 1 例报告[J]. 中国输血杂志, 2020, 33(8):839-841.

(收稿日期:2021-07-21 修回日期:2022-02-09)