

• 临床研究 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.10.028

Ax22 亚型导致家族性血型鉴定错误的研究

潘宗岱, 李 菲, 苗翠华, 杨美慧, 薛 静, 刘志远[△]

中国中医科学院广安门医院检验科, 北京 100053

摘要:目的 通过对 ABO 血型为 Ax22/B 型的患者及其家属因 A 亚型造成血清学血型鉴定错误的案例进行分析, 总结 ABO 血型鉴定过程中的注意事项及 A 亚型的输血策略。方法 分别选取 A、B 两种不同厂家的微柱凝胶血型鉴定卡及试管法在常温和 4 °C 孵育 10 min 两种条件下对患者及其子女进行血清学血型鉴定; 对所有标本进行吸收放散试验及血型基因鉴定; 分别用微柱凝胶法和聚凝胺法对同一组标本进行交叉配血。结果 B 试剂卡凝集强度明显高于 A 试剂卡, 且正定型 B 试剂卡可以在常温下检测到 A 抗原, A 试剂卡仅在 4 °C 孵育 10 min 后才可检测到 A 抗原。试管法血型可明确显示 A 亚型的反应格局。吸收放散试验显示所有标本红细胞表面均存在 A 抗原, 经基因测序患者为 Ax22/B.01, 其子女基因型为 Ax22/O.01.01。微柱凝胶法交叉配血相合, 聚凝胺法镜下可见细胞凝集, 交叉配血不合。结论 Ax22 会造成检测结果假阴性, 如正反定型不一致或者对检测结果有任何疑问, 应选用试管法或其他检测系统进行复核, 必要时进行基因检测; Ax22 亚型在配血时有假阴性的可能, 有较高的输血风险。

关键词: ABO 血型; A 亚型; 微柱凝胶法; 聚凝胺法; 输血

中图法分类号: R446.9; R457

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)10-1488-04

Analysis of familial blood typing errors caused by Ax22 subtypes

PAN Zongdai, LI Fei, MIAO Cuihua, YANG Meihui, XUE Jing, LIU Zhiyuan[△]

Department of Clinical Laboratory, Guang'anmen Hospital, China Academy of

Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Abstract: **Objective** Through the analysis of the cases of serological blood group identification errors caused by A subtype in patients with ABO blood type Ax22/B and their family members, the precautions in the process of ABO blood group identification and the transfusion strategy of A subtype were summarized. **Methods** Two different manufacturers' microcolumn gel blood type identification cards and tube method were used to identify the blood types of the patient and their children under two conditions, including room temperature and 4 °C for 10 minutes. Perform absorption-elution test and genetic identification on all samples. The same set of samples was cross-matched using microcolumn gel method and polyamine method. **Results** The agglutination strength of the B reagent card was significantly higher than that of the A reagent card, and the B reagent card could detect A antigen at room temperature, while the A reagent card could only detect A antigen after being incubated at 4 °C for 10 minutes. The tube method can clearly display the reaction pattern of A-subtypes. The absorption-elution test showed the presence of antigen A on the surface of red blood cells in all samples. Based on the genetic sequencing, the patient's blood type was Ax22/B.01, and his children's genotype was Ax22/O.01.01. The microcolumn gel cross-match was consistent, and cell agglutination was visible under the microscope with the polyamine method, which was incompatible. **Conclusion** Ax22 subtype will cause false negative test results. If there are inconsistencies or any doubts about the test results, tube methods or other testing systems should be used for verification, and genetic testing should be performed if it is necessary. The Ax22 subtype may have a higher risk of transfusion due to false negatives during blood matching.

Key words: ABO blood type; A subtype; microcolumn gel method; polybrene method; blood transfusion

ABO 及 RhD 血型鉴定是患者入院的必查项目, 在临床用血和器官移植方面起着重要的作用, 《临床用血技术规范》规定, 输血前必须进行 ABO 及 RhD 血型复核, 准确的血型鉴定结果为后续工作的安全性

提供了保证,也是临床手术备血和安全用血的前提^[1]。由于微柱凝胶法操作简单,便于观察且利于自动化检测^[2],所以现阶段临床工作中多采用微柱凝胶卡进行血型鉴定,但是不同厂家试剂存在一定的差异^[3],且仪器图片识别容易漏诊微凝集、对于正反定型不符的特殊血型也不能进行血型分析鉴定^[4],在后期人工复核过程中若不加以重视则容易造成血型鉴定错误。本研究通过对 1 例 Ax22/B 型患者及其家属的血型鉴定错误和在不同检测系统中的检测差异进行分析,以总结 ABO 血型鉴定过程中的注意事项及 A 亚型的输血策略,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,男,65 岁,诊断为中度贫血,无输血史。2023 年 1 月 24 日入院,入院时红细胞计数(RBC)为 $5.48 \times 10^{12}/L$,血红蛋白(Hb)为 116.0 g/L,血小板计数(PLT)为 $330 \times 10^9/L$,ABO 血型鉴定结果为 B 型(A 抗体弱阳性),见图 1,与既往其他临床实验室检测结果 AB 型(备注 A 抗原弱阳性)不一致;后用另一种血型鉴定卡检测结果为 AB 型(A 抗原弱阳性),见图 2,询问其血型家族史,其二哥、三哥口述皆为多年前献血时检测为 B 型,近几年重新检测为 AB 型;子女口述均为 O 型。

项目	抗-A	抗-B	抗-D	对照	A1细胞	B细胞
结果: B型阳性 (A抗体弱阳性)						
判读	-	4+	4+	-	2+	-

图 1 血型鉴定试剂卡 A 反应格局

项目	抗-A	抗-B	抗-D	对照	A1细胞	B细胞
结果: AB型阳性 (A抗原弱)						
判读	-	4+	4+	-	2+	-

图 2 血型鉴定试剂卡 B 反应格局

1.2 仪器与试剂 使用主要仪器包括博唯优柱凝集血型系统[奥森多医疗器械贸易(中国)有限公司, BioVue system]、离心机(台湾贝索生物技术有限公司, BASO 2005-2 型)、医用离心机(长春博讯生物技术有限公司, TD-A 型)、试剂卡孵育器(长春博讯生物技术有限公司, FYQ 型)、智能恒温水浴箱(北京长风仪器仪表公司, HW. SY11-KP1)。仪器经过校验合格,按照实验室标准操作规程进行日常使用和维护,满足相关标准。使用主要试剂包括血型鉴定卡 A(长春博讯生物技术有限公司,批号:

20221105)、血型鉴定卡 B[奥森多医疗器械贸易(中国)有限公司,批号:AHC258J]、抗人球蛋白卡[奥森多医疗器械贸易(中国)有限公司,批号:AHC276F]、反定型细胞(上海血液生物医药有限责任公司,批号:20227015)、血型分析用稀释液[奥森多医疗器械贸易(中国)有限公司,批号:280688]、聚凝胺介质试剂(珠海贝索生物技术有限公司,批号:A210801)、生理盐水(华润双鹤药业股份有限公司,批号:Y1911044W)、抗 A 抗 B 标准血清(北京金豪制药股份有限公司,批号:20220400702)。所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 ABO 血型鉴定 采用 A、B 两种不同厂家的微柱凝胶血型卡和试管法分别在常温和 4℃ 孵育 10 min 两种条件下对患者及其子女的血液标本进行血型鉴定,操作过程严格按照试剂说明书进行。

1.3.2 吸收放散试验 采用患者及其子女的红细胞洗涤后分别与抗 A、抗 B 血清进行吸收,其放散液与 ABO 标准试剂红细胞做凝集试验,参考《AABB 技术手册》^[5]。

1.3.3 交叉配血 采用微柱凝胶法和聚凝胺法分别对患者与 AB 型悬浮红细胞标本进行交叉配血,操作过程严格按照说明书进行。

1.3.4 红细胞凝集强度判定 以“4+、3+、2+、1+、±、w+”表示凝集强度,无凝集反应为阴性,以“-”表示^[6]。

1.3.5 基因检测 使用 ABO 血型外显子 2~7 聚合酶链反应(PCR)引物进行 PCR 扩增,测序结果与 NCBI 血型抗原突变数据库(BGMUT) 突变位点对比进行基因型和表型分析。基因检测由长春博讯生物技术有限公司完成。

1.4 统计学处理 采用 Excel2007 软件进行数据处理。

2 结果

2.1 血型鉴定 3 种血型鉴定方法在不同条件下的反应格局,见表 1。

表 1 两种筛选细胞的抗原表达及患者反应格局						
项目	抗-A	抗-B	抗 D	A1 细胞	B 细胞	O 细胞
试剂卡 A						
患者常温	0	4+	4+	2+	0	/
患者 4℃	1+	4+	4+	3+	0	/
儿子常温	0	0	4+	0	4+	/
儿子 4℃	w+	0	4+	±	4+	/
女儿常温	0	0	4+	0	4+	/
女儿 4℃	w+	0	4+	±	4+	/
试剂卡 B						
患者常温	3+	4+	4+	w+	0	/
患者 4℃	3+	4+	4+	1+	0	/

续表 1两种筛选细胞的抗原表达及患者反应格局

项目	抗-A	抗-B	抗 D	A1 细胞	B 细胞	O 细胞
儿子常温	±	0	4+	0	4+	/
儿子 4 ℃	1+	0	4+	1+	4+	/
女儿常温	±	0	4+	0	4+	/
女儿 4 ℃	1+	0	4+	1+	4+	/
试管法						
患者常温	±	4+	4+	1+	0	0
患者 4 ℃	1+	4+	4+	2+	0	0
儿子常温	±	0	4+	1+	4+	0
儿子 4 ℃	1+	0	4+	2+	4+	0
女儿常温	±	0	4+	1+	4+	0
女儿 4 ℃	1+	0	4+	2+	4+	0

注:/为未进行相关检测。

2.2 吸收放散试验 分别选用患者及其子女的标准进行吸收放散试验,见表 2。

2.3 交叉配血 分别选用微柱凝胶法和聚凝胺法对患者与 AB 型悬浮红细胞进行交叉配血,见表 3。

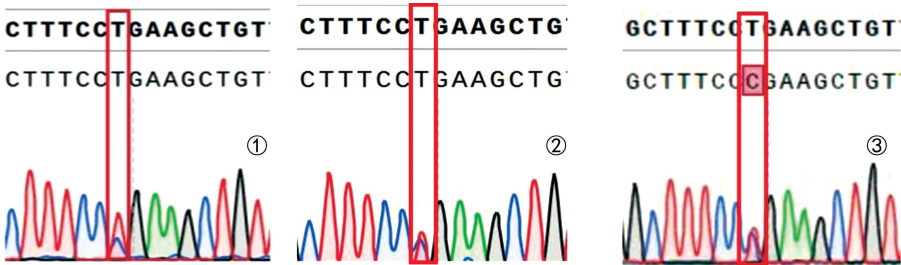
2.4 基因检测 患者检测到 6 号外显子 297A>G 杂合突变,7 号外显子 389T>C、526C>G、657C>T、703G>A、796C>A、803G>C、930G>A 的杂合突变,女儿和儿子均检测到 6 号外显子 261delG 和 7 号外显子 389T>C 的杂合突变,在血型抗原突变数据库(BGMUT)中进行检索,与 Ax22 相符,见图 3。确定患者基因型为 Ax22/B.01,其子女基因型为 Ax22/O.01.01。

表 2吸收放散试验结果

项目	与放散液凝集细胞	红细胞存在抗原
患者	Ac、Bc	A 抗原、B 抗原
儿子	Ac	A 抗原
女儿	Ac	A 抗原

表 3微柱凝胶法与聚凝胺法交叉配血反应结果

方法	主	次	结果
微柱凝胶法	—	—	不合
聚凝胺法	w+	—	相合



注:①为父亲,②为女儿,③为儿子,均检测到 389T>C 杂合突变。

图 3 7 号外显子测序结果

3 讨 论

我国大部分 A 型血人群为 A1 亚型,临床常说常用的 A 型血和 A 型悬浮红细胞也是指的 A1 亚型。临床上所说的 A 亚型是指除 A1 亚型之外的其他亚型,A 亚型红细胞表面存在的 A 抗原会与试剂中的单克隆抗-A 抗体发生凝集反应,所以正定型常表现为 A 型但 A 抗原很弱,如果在血型鉴定过程中(尤其是在仅做血型正定型时)容易将 A 亚型误诊为 A1 亚型或 O 型^[7]。由于 A 亚型体内不存在 A1 抗原,所以 A 亚型的血液中往往存在少量抗 A1 抗体^[8],其血浆与标准 A1 红细胞反应格局表现为弱凝集。本次检出的 Ax22 亚型中 389 T>C 突变导致 L130P 氨基酸突变,是引起 A 型糖基转移酶活性降低的主要原因,Ax22 在我国人群中分布较罕见^[9-10],应丰富实验室检测手段,以免造成漏诊、误诊。

3.1 Ax 亚型血型鉴定结果讨论及相关注意事项

虽然临床常用的血型鉴定方法多为可正反定型的微柱凝胶法,但 A 亚型人群的 A 抗原和抗 A1 抗体均呈现弱凝集或微凝集的反应格局,所以在血型判定过程

中,尤其是采用仪器的图像识别进行血型判定时容易忽略弱凝集,造成血型鉴定误诊。本案例发现试管法和 B 试剂卡的凝集强度明显高于 A 试剂卡,且正定型时试管法和 B 试剂卡可以在常温下检测到 A 抗原,A 试剂卡仅在 4 ℃ 孵育 10 min 后才可检测到 A 抗原,可能是由于两种试剂卡的微柱介质不同和单克隆抗体的覆盖抗原不同所致;反定型试管法可以检测到患者子女的 A1 抗体,而 A、B 两种试剂卡在 4 ℃ 孵育 10 min 后才可检测到 A1 抗体。如仅选择正定型作为血型鉴定的依据,特别容易造成血型鉴定错误和亚型漏诊,本案例中患者及家属病史中血型鉴定为 B 型和 O 型便是这种原因造成的误诊。在本案例的患者血型鉴定过程中,由于忽视了 A 抗原和 A 抗体的凝集偏弱的问题,造成了误诊为 B 型和 AB 型,没有分析可能亚型的存在,所以在血型鉴定过程中如出现正反定型不符或弱凝集的抗原、抗体都需引起注意,在排除人为操作错误后及时采用吸收放散试验^[11]、手工试管盐水法^[12]或其他的检测系统进行复检,必要时进行基因检测。

3.2 Ax 亚型交叉配血结果讨论及相关注意事项

在实际工作中,手术备血不需要术前交叉配血,仅对患者进行 ABO、Rh 血型复核及不规则抗体的筛查,输血科保存适当的血液,以备需要时可以立刻配血、发血,且在患者需要输血时才进行交叉配血^[13]。但使用以上流程前提是受/供血者血样的 ABO、Rh 复核血型正确,如术前血型鉴定结果准确,则可以为后续用血提供准确的指导,也增加了交叉配血的可靠性。如血型鉴定错误则可能延误患者治疗时机,甚至危及生命。而且交叉配血常常需在 37℃ 孵育后进行检测,会降低亚型中免疫球蛋白(Ig)M 抗体的凝集强度,容易漏检。当患者血型鉴定错误,同时交叉配血又漏检时,可能会引起严重的输血不良事件,所以一个准确的血型鉴定结果尤为重要。

因微柱凝胶法配血需在 37℃ 孵育 10 min 之后才进行离心观察,而聚凝胺法在常温下进行。由于 ABO 血型系统中的抗体为 IgM 抗体,其凝集强度在室温条件下高于 37℃ 孵育^[14],所以聚凝胺法可检测到抗 A1 抗体呈现主侧配血不合的格局,而微柱凝胶法因反应温度造成假阴性呈现交叉配血相合的错误格局。如果不能有一个可靠的血型鉴定结果,很难避免临床交叉配血的漏检。此案例中患者及其多位家属均存在血型鉴定错误,如输血前相容性检查不能有效检测到血浆中的抗 A1 抗体,或在紧急输血时没有准备好足够的相合血液^[15],此次临床用血可能会造成严重的输血不良事件^[16]。

3.3 Ax 亚型的输血策略 在输注红细胞时应该选择同血型输血或选择无相应抗原的洗涤红细胞;在输注血浆和血小板时应该选择无相应抗体的血浆。此患者输注红细胞类型为 B 型或 O 型洗涤红细胞,输注血浆类型为 AB 型;其子女的输注红细胞类型为 O 型洗涤红细胞,输注血浆类型为 AB 型或 A 型。

安全是用血过程中的重中之重,而输血前相容性检查的质量控制是保障用血安全的前提。为防止血型鉴定错误,血型检测时务必进行正反定型,对仪器的血型判读结果一定要进行人工复核,反应格局异常或抗原、抗体凝集偏弱时,一定要用其他检测方法进行血型复核,必要时可进行基因检测^[17-18]。最好对亚型患者的家系进行随访调查,明确家族人员的血型及遗传情况,防止血型鉴定错误及其造成的输血不良事件等情况发生。

参考文献

[1] 黄小娟,全非,杨卫华. 86 例患者 ABO 血型正反定型不

符的原因分析及鉴定[J]. 临床血液学杂志, 2020, 33 (12):869-871.

[2] LAZAROVA E, SCOTT Y, VAN DEN BOS A, et al. Multicentre evaluation of the new ORTHO VISION® analyser[J]. Transfus Med, 2017, 27(Suppl 5):354-361.

[3] 孙淑珍,王亚娟,安骄娜,等. 强生血型卡与博讯血型卡在 ABO 血型检测中方法学的差异性比对[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(79):236.

[4] 黄丽平. 全自动血型分析仪在血型鉴定中的应用探讨[J]. 中国医疗器械信息, 2020, 26(21):140-141.

[5] 迪娅·S·科恩,梅根·德莱尼,苏珊·T·约翰逊,等. AABB 技术手册[M]. 20 版. 桂嵘,陈秉宇,黄远帅,等译. 长沙:中南大学出版社, 2022:590-591.

[6] 杨成民,刘进,赵桐茂. 中华输血学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2021:655.

[7] CHOPRA G, KATARIA M, BATRA A K, et al. Detection of a weaker subgroup of A in ABO blood group system[J]. Asian J Transfus Sci, 2022, 16(1):132-134.

[8] 刘素蕊,毕利博,许胜茹,等. Ax 与 ABm 亚型鉴定二例报告[J]. 临床误诊误治, 2018, 31(8):98-100.

[9] 章旭,李剑平. 一例 α -1, 3-N-乙酰半乳糖胺转移酶基因 389T>C 突变的分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018, 35 (5):744-746.

[10] 郝萧,刁雪芹,姜慧,等. 一例 Ax22 亚型的血清学及分子生物学分析[J]. 临床输血与检验, 2023, 25(4):549-551.

[11] 肖志忠,屈英晓. 吸收放散试验解决疑难血型鉴定:附 1 例报告[J]. 实用检验医师杂志, 2023, 15(1):110-112.

[12] 李凤侠. 经典试管法在 ABO 血型鉴定中的作用[J]. 临床血液学杂志, 2020, 33(6):428-429.

[13] 潘宗岱,刘超,薛静,等. 筛选细胞剂量效应造成抗-M 抗体漏检引起的思考[J]. 临床血液学杂志, 2023, 36(2): 109-112.

[14] KLEIN H G, ANSTEE D J. Mollison's blood transfusion in clinical medicine [J]. 12th ed. Somerset, NJ: Wiley-Blackwell Publishing, 2014:75-81.

[15] 周国栋,史丽莉,屈英晓. 1 例颅内损伤患者 B(A)亚型鉴定及临床紧急输血探讨[J]. 实用检验医师杂志, 2022, 14 (1):89-92.

[16] 罗圆圆,马春娅,付丽辉,等. 低效价抗体致溶血性输血反应的相关分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2023, 31(2): 503-508.

[17] 陈雅新,李莺,许进明. Bel 亚型血型鉴定分析及输血策略探讨[J]. 临床血液学杂志, 2023, 36(2):87-90.

[18] 张春燕,颜廷宇,赵素珍,等. B(A)血型研究进展[J]. 临床输血与检验, 2017, 19(1):95-99.

(收稿日期:2023-10-24 修回日期:2024-01-21)