

• 临床研究 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.11.028

A1Bw 亚型中多重抗体漏检的临床研究*

邹昕¹, 范小杰^{2△}1. 江苏省常州市中心血站输血研究室, 江苏常州 213004; 2. 江苏省常州市
第一人民医院检验科, 江苏常州 213004

摘要:目的 分析 1 例 A1Bw 亚型样本的血清学和分子生物学特征及交叉配血不合原因。方法 采用试管法对该样本进行 ABO 血型血清学检测、吸收放散试验、唾液血型物质检测、酸化血清试验、ABO 基因第 1~7 外显子扩增产物基因测序。以“ABO 亚型”和“不规则抗-B/抗-A 抗体”为关键词, 对中国知网数据库 2020 年 1 月至 2023 年 8 月发表的文献进行文献检索。结果 该样本血清学表型为 cisAB/A 或 ABx, 同时血清中产生同种抗-Lea、抗-E 抗体伴不规则抗-B 抗体。ABO 基因序列分析结果显示, ABO * A1.02/B.01 杂合, 且第 7 外显子发生 c.721C/T 基因突变, 最终该血型判定为 ABO * A1.02/BW.03 基因型。文献检索结果显示, 共检索到文献 42 篇, 排除分子技术、肿瘤疾病等文献, 最终纳入 18 篇文献。该文主要从亚型中不规则抗体检测的角度出发, 重点叙述多重抗体漏检分析, 总结当存在 ABO 血型以外的不规则抗体时, 亚型中的不规则抗-B/抗-A 抗体的检测流程。结论 血清学试验结合分子生物学方法可更准确鉴定 ABO 亚型, 正确鉴定亚型中不规则抗体是保障输血安全的前提。

关键词: ABO 亚型; 不规则抗-B/抗-A 抗体; 抗-Lea 抗体; 抗-E 抗体; ABO * A1.02/BW.03
中图法分类号: R457.1; R446.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2024)11-1651-04

Clinical study on missed detection of multiple antibodies in A1Bw subtype*

ZOU Xin¹, FAN Xiaojie^{2△}

1. Blood Transfusion Laboratory, Changzhou Central Blood Station, Changzhou, Jiangsu 213004, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Changzhou, Changzhou, Jiangsu 213004, China

Abstract: Objective To analyze the serological and molecular characteristics of a case of A1Bw subtype and the cause of cross-matching incompatibility. **Methods** The samples were subjected to serological test of ABO blood type, absorption and elution test, saliva blood type substance detection, acidified serum test, gene sequencing of ABO gene exons 1-7 amplification products. “ABO subtype” and “irregular anti-B/anti-A antibody” were used as keywords to search the literature published in China National Knowledge Infrastructure database from January 2020 to August 2023. **Results** The serological phenotype of this specimen was cisAB/A or ABx and allo-anti-Lea, and anti-E and irregular anti-B antibodies were produced in the serum. The results of ABO gene sequencing showed that the patient was heterozygous for ABO * A1.02/B.01 and had a mutation in exon 7 of c.721C/T gene, which finally determined the ABO * A1.02/BW.03 genotype. The results of literature retrieval showed that a total of 42 literatures were retrieved, excluding molecular techniques and tumor diseases, and a total of 18 literatures were finally included. From the perspective of irregular antibody detection in subtypes, this paper focuses on the analysis of multiple antibody missed detection, and summarizes the detection process of irregular anti-B/anti-A antibodies in subtypes when irregular antibodies other than ABO blood type exist. **Conclusion** Serological test combined with molecular biological methods can more accurately identify ABO subtypes. Correct identification of irregular antibodies in ABO subtypes is a prerequisite for blood transfusion safety.

Key words: ABO subtype; irregular anti-B/anti-A antibodies; anti-Lea antibody; anti-E antibody; ABO * A1.02/BW.03

* 基金项目: 江苏省英科创新科研基金课题(JSYK2023018); 江苏省常州市科技局项目(CJ20220240); 江苏省常州市中心血站站级课题(XZ202305)。

作者简介: 邹昕, 女, 主管技师, 主要从事临床输血技术方向的研究。△ 通信作者, E-mail: 120643256@qq.com。

ABO 血型系统的特点是红细胞上存在 A 抗原或/和 B 抗原,若血清中有相反的抗体,则可以用红细胞凝集试验来鉴定,只有当正、反定型符合时,方可确认血型^[1]。临床上经常会出现 ABO 血型正反定型不符的情况,排除生理、病理、造血干细胞移植等因素,需要考虑是否存在 ABO 亚型或血型不规则抗体^[2],若二者同时存在则会给血清学鉴定带来更多挑战。笔者在临床血型鉴定工作中遇到 1 例血清学鉴定结果为 cisAB/A 血型或 ABx 血型,产生同种抗-Lea 抗体、抗-E 伴不规则抗-B 抗体,基因型为 ABO * A1.02/BW.03 的样本,并进行相关文献复习。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,女,汉族,83 岁,无输血史,2022 年 4 月因贫血就诊于常州市某医院,血红蛋白(Hb)为 67 g/L,申请备血。采集外周静脉血 5 mL,采用乙二胺四乙酸(EDTA)进行抗凝处理,等待检测,常规备血过程中发现其血型正反定型不符,样本于当日送至常州市中心血站输血研究室进行血型鉴定。

1.2 方法

1.2.1 血清学检测 采用试管法对患者样本进行 ABO 正反定型试验;分别用立即离心法(IS)、凝聚胺法(Poly)、间接抗球蛋白法(IAT)对其进行抗体筛查。

1.2.2 吸收放散试验 取 1 mL 患者血浆与 1 mL 的 O 型 Lewis 血型及 Rh 血型 Le(a+)/CCDee 压积红细胞置于 4 °C 环境中吸收 1 h,采用冰冷盐水洗涤 6 次,将洗涤后的压积红细胞与等量生理盐水置于 56 °C 环境中放散 10 min。将吸收后的血浆用于抗体筛查和血型反定型,用 O 型 Rh 血型 ccDEE 压积红细胞在 37 °C 环境中进行第 2 次吸收,再次重复以上

试验。

1.2.3 唾液血型物质的测定 处理制备患者唾液样本,制备适宜稀释度的血型试剂,分别将 1 滴经适当稀释的血型试剂与 1 滴经处理的唾液混匀,在室温条件下中和 5 min。每管加入 1 滴洗涤过的 2%~5% 指示细胞悬液,进行混匀反应。

1.2.4 酸化血清试验 用 0.1 mol/L 盐酸调整患者红细胞 pH 值至 6.0,用酸化后的患者红细胞与抗-A 抗体、抗-B 抗体试剂进行血清反应。同时用已知 B 型红细胞(Bc)做对照试验。所有试验均严格按照文献[3]中的试剂操作说明书进行。

1.2.5 ABO 基因测序 对患者样本分别进行 ABO 基因第 1~7 外显子测序以确定突变位点所在基因位置。委托天津秀鹏生物技术开发有限公司,设计 ABO 基因 1~7 外显子的扩增引物,以及采用 Sanger 测序法,将目的片段进行扩增后,使用测序仪测序并读取结果。

1.2.6 文献检索 以“ABO 亚型”和“不规则抗-B/抗-A 抗体”为关键词,对中国知网数据库 2020 年 1 月至 2023 年 8 月发表的文献进行文献检索。

2 结果

2.1 血清学检测结果 患者正定型:红细胞与抗-A 抗体凝集强度为 4+,与抗-B 抗体的凝集强度为 2+,与抗-A1 抗体、抗-AB 抗体的凝集强度为 4+,与抗-H 抗体呈弱凝集。患者反定型:血浆与 A 型红细胞(Ac)、Bc、O 型红细胞(Oc)呈弱凝集,与自身细胞不反应。为排除冷性不规则抗-B 抗体,将反定型试管置于 37 °C 环境中孵育 15 min 后离心,反定型结果仍有凝集。于是进行抗体鉴定试验,鉴定结果为抗-Lea 和抗-E 抗体,见表 1。

表 1 抗体鉴定格局表

序号	Rh-hr	D	C	E	c	e	Cw	K	k	M	N	S	s	Pl	Le ^a	Le ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Di ^a	IS	IAT	Poly
1	R ₁ R ₁ K+	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0
2	R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	2+	3+
3	r'r	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0
4	r''r	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	2+	3+
5	rrK+	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	0
6	R ₀ r	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	0
7	R ₁ R ₁ W	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0
8	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0
9	R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	2+	+	1+
10	R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0
11	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	0	1+	0	0
自身	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

注:1+~3+表示凝集强度;0 表示阴性;-表示未检测。

2.2 吸收放散试验结果 患者红细胞能够吸收人源抗-B 抗体,证实红细胞上的 B 抗原比较弱,显示患者红细胞可能具有 ABO 亚型的特征。患者血浆经 O 型 Lewis 血型及 Rh 血型为 Le(a+)/CCDee 压积红细胞第 1 次吸收后,上清液中仍存在免疫球蛋白(Ig) M 型抗-B 抗体;上清液继续用 O 型 Rh 血型 ccDEE 压积红细胞在 37 °C 环境下进行第 2 次吸收后,上清液中未检出免疫球蛋白(Ig)G 型抗-B 抗体。试验结果见表 2。

表 2 患者血清吸收放散试验

反应条件	Bc	Oc/Le(a+)	Oc/ccEE
第 1 次吸收后 (IS)			
上清液	1+	-	-
放散液	-	1+ ^w	-
第 2 次吸收后 (IAT)			
上清液	0	-	-
放散液	-	-	1+

注:1+表示凝集强度;0 表示阴性;w 表示稍弱;-表示未检测。

2.3 不规则抗-B 抗体鉴定结果 选取 Le(a-b-)/CCDee 分型的 Bc 作为反定型红细胞离心结果为阳性;利用 2-Me 破坏血浆中 IgM 型抗-B 抗体继续检测 IgG 型抗-B 抗体,结果为阴性。试验结果再次证实患者体内存在 IgM 型不规则抗-B 抗体。

2.4 唾液血型物质的测定结果 患者红细胞 Lewis 系统抗原测定,表现型为 Le(a-b-)。患者唾液中未检出血型物质。

2.5 获得性 B 抗原鉴别 患者红细胞上 B 抗原在盐酸酸化前后与抗-B 抗体的凝集强度不变,均为 2+,对照 B 抗原与抗-B 抗体凝集强度均未改变。

2.6 ABO 基因测序结果 患者样本 ABO 基因测序结果与 ABO * A1.01 等位基因序列比对,发现患者 6 和 7 外显子存在 c.467C/T、c.297A/G、c.526C/G、c.657C/T、c.703G/A、c.796C/A、c.803G/C、c.930G/A 基因突变,符合 ABO * A1.02/B.01 基因同时携带伴 c.721C/T 基因突变,该突变可以产生 ABO * BW.03 等位基因导致 P.Arg241Trp 的改变。见图 1。

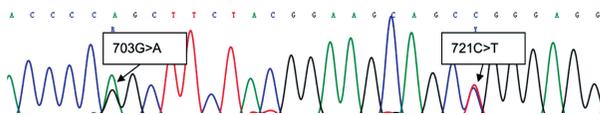


图 1 聚合酶链反应测序结果

2.7 文献复习结果 共检索到文献 42 篇,排除分子技术、肿瘤疾病等文献,最终共纳入 18 篇文献。结合病例分析和文献复习,本文主要从亚型中不规则抗体检测的角度出发,重点叙述亚型中多重抗体漏检分析,总结亚型中的不规则抗-B/抗-A 抗体的检测流程。

2.7.1 正反定型不符的常见原因 笔者从两方面去探讨:一方面红细胞上血型抗原增强或减弱,包括正常的生理因素、疾病、人为因素(输血和移植等)、未知抗原获得(多凝集现象)、亚型等^[4]。本研究纳入分析的 18 篇文献中,有 8 篇是针对 ABO 基因突变,突变有 ABO 基因序列的核苷酸置换、缺失、插入和基因重组等^[2,4-10],这些改变使得糖基转移酶基因发生了突变,改变了糖基转移酶的活性,从而导致红细胞上表达的 A 或 B 抗原的种类或数量发生改变,给临床血型鉴定和交叉配血带来困难。另一方面血清中抗血型抗体的增强或减弱,包括生理因素、疾病(抗体缺失及免疫抑制)、自身免疫产生不规则抗体、亚型、人为因素(输液)等,其中有 10 篇文献针对血型抗体进行研究文献^[11-20]。

2.7.2 不规则抗-B/抗-A 抗体 虽然分子生物学可以对基因精准检测,然而从临床输血安全层面考虑,血清学检测才是最关键的技术^[12],如亚型中红细胞上弱抗原的表达、血清中不规则抗-A/抗-B 抗体可引起 ABO 血型正反定型不相符或交叉配血不合,筛选 37 °C 环境中及经 IAT 处理后有反应活性的抗-A/抗-B 抗体以免引起溶血性输血反应及新生儿溶血病^[13]。本研究纳入的 18 篇文献中,ABO 亚型产生不规则抗-A/抗-B 有 14 篇,如焦琴等^[14] 研究报道,有 11 例(15.94%)患者血清中伴有 IgM 型不规则抗-A 抗体,8 例(11.59%)患者血清中伴有 IgM 型不规则抗-B 抗体。武云香等^[15] 研究报道 Bx 亚型,红细胞上有 B 抗原弱表达,而血清里有抗-B 抗体存在,这个抗体可以和其他 Bc 反应,但跟自身红细胞不反应。在实际操作过程中可以增加反定型的血清用量,或利用吸收放散试验区分不规则抗体,还可以做患者的唾液试验、酶联免疫吸附试验、红细胞凝集抑制试验等^[16]。

3 讨 论

不规则抗体分为 IgM 和 IgG 类,ABO 血型系统抗原作为胸腺非依赖抗原易产生 IgM 完全抗体,比 IgG 抗体更易结合抗原和激活补体,可以导致严重溶血反应^[17]。当亚型合并不规则抗体时,给血型鉴定工作带来更大的挑战,本文概述了在多重抗体包括 IgM 类/IgG 类抗体中鉴定不规则抗-B 抗体。

本例患者 ABO 血型血清学检测结果表现为 A 抗原强,B 抗原弱,反定型 Ac、Bc、Oc 均有凝集,提示患者血清中存在不规则抗体。排除疾病的影响,从血清学表现推测可能为获得性 B、cisAB/A 或 ABx,合并不规则抗体。首先从不规则抗体出发,抗体鉴定发现该患者体内存在 IgM 型抗-Lea 抗体和 IgG 型抗-E 抗体,该抗体的存在影响 ABO 血型反定型的鉴定。当避开以上不规则抗体进行交叉配血时,结果仍显示

不合,于是进一步排除是否存在不规则抗-B 抗体。通过多次吸收放散试验及筛选 Le(a-b-)/ee 的 Bc 作为反定型验证细胞,证实其体内有 IgM 型抗-B 抗体。唾液酸血型物质测定结果发现,唾液中不存在血型物质,可能原因是患者红细胞 Lewis 系统表现型为 Le(a-b-)为非分泌型。获得性 B 抗原常常是由于肠道细菌感染,细菌酶改变免疫血型 A 糖,从而产生获得性 B 抗原,其血清学特点是只有血型为 A 型的人群出现获得性 Bc,在 pH 值 ≤ 6.0 的酸性条件下,红细胞与抗-B 抗体的凝集消散^[18]。酸化血清试验红细胞的凝集前后未发生改变,可以排除获得性 B 抗原的存在。最后经测序证实该患者的基因型为 ABO * A1.02/BW.03,由于 B 基因的第 7 外显子的 c.721C>T 基因突变引起的,该突变引起第 241 位氨基酸精氨酸(Arg,R)被色氨酸(Trp,W)替换,氨基酸的替换可能造成了 α -1,3-D-半乳糖氨基转移酶部分失活,导致 D 半乳糖和前体 H 物质的连接发生部分缺失,引起 B 抗原的表达减弱^[19]。分子生物学检测技术的发展为 ABO 亚型鉴定提供了可靠的技术支持,但约有 30.00% ABO 血型异常却找不到基因突变位点^[20],并且无法检出不规则抗体的影响,所以血型血清学技术仍须得到重视。

综上所述,该患者血型为 ABO * A1.02/BW.03 基因型,血清中产生同种抗-Lea 及抗-E 抗体合并不规则抗-B 抗体。该患者输血时应尽量避开上面 3 种抗体相应的抗原。因此,联用血清学和分子生物学检测技术对 ABO 血型的准确鉴定具有重要作用。

参考文献

- [1] 孔永奎,孔存权,宋婕,等. B(A)02 亚型一例分子遗传学特征[J]. 郑州大学学报(医学版),2020,55(3):423-426.
- [2] 潘家铭,许先国,吴泳伦,等. 罕见 A1Bw 亚型伴不规则抗-B 研究[J]. 检验医学与临床,2022,19(10):1438-1440.
- [3] COHN C S, DELANEY M, JOHNOSON ST, et al. Technical Manual (AABB), 20th Edition[M]. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2020: 404-407.
- [4] 李莺,余悦娇,徐智杰,等. ABO~ * B.01 等位基因 c.796A>C 突变所致 ABO 疑难血型的鉴定与分析 2 例[J]. 中国输血杂志,2022,35(5):572-574.
- [5] 尹志柱,田丰,孙国栋,等. 2 个新的 ABO 血型等位基因发现和序列分析[J]. 临床输血与检验,2020,22(3):294-296.
- [6] 史丽莉,陆乐,肖建宇,等. 一例 ABO * B3.05/O.01.01 基因型鉴定及其遗传学特点[J]. 中国输血杂志,2020,33(12):1229-1231.
- [7] 许基平,何屹,田力,等. 1 例 ABw 表型的血清学特征及家系研究[J]. 四川医学,2023,44(5):514-518.
- [8] 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.
- [9] 章旭,李晓丰,周助人,等. 沈阳地区 20 例 ABO 亚型的血清学和分子生物学研究及 2 例 ABO 新等位基因的认定[J]. 中国输血杂志,2022,35(1):86-89.
- [10] 张震,洪俊,徐钰茜,等. 无锡地区无偿献血者 ABO 亚型血型血清学及分子生物学特征研究[J]. 临床输血与检验,2021,23(5):644-647.
- [11] 陈萍,张水木,雷航,等. 血清学鉴定与基因检测互补验证 ABO 疑难血型的应用探讨[J]. 诊断学理论与实践,2020,19(1):69-73.
- [12] 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.
- [13] 陈扬,杜娟,李颖,等. 抗 A1 抗体的血清学检测及其临床意义分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2022,38(9):837-841.
- [14] 焦琴,安宁,杨世明,等. 69 例 ABO 亚型的血型血清学检测及其临床意义分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2022,38(7):646-650.
- [15] 武云香,赵沛喆,左江涛,等. 罕见 Bx02 亚型的鉴定及分子遗传学分析[J]. 山西医科大学学报,2022,53(4):491-494.
- [16] 刘玉敏,张韦,邵晓琳. 血型正反定型不符和凝集减弱的原因分析及处理[J]. 滨州医学院学报,2022,45(4):318-320.
- [17] 林秋燕,张进萍,黄震宇,等. ABO 疑难血型的基因型鉴定与序列分析[J]. 中国输血杂志,2023,36(01):8-10.
- [18] 秦洪伟,李守蕾,薛杰,等. 疑似 B3 亚型标本的 ABO 基因检测与输血策略分析[J]. 临床血液学杂志,2022,35(4):294-296.
- [19] 黄文娟,刘不尽,邹海曼,等. 重庆地区无偿献血者 ABO 亚型分布及鉴定浅析[J]. 中国输血杂志,2020,33(5):494-496.
- [20] 李茵,赵倩,苏蔓,等. 罕见的 A3 亚型的血清学和分子生物学研究[J]. 临床血液学杂志,2021,34(2):109-111.

(收稿日期:2023-12-16 修回日期:2024-02-08)