

## ABO 亚型案例报道专刊——B 亚 2019 年 12 月

### 编者导读:

上月期刊我们对国内多篇优秀的 ABO-A 亚型文献进行汇总,探讨了中国人群存在的 A 亚型种类及其在临床应用的作用,本月期刊同样检索了国内公开报道的 B 亚型优秀文献,对中国人群存在的 B 亚型种类,产生抗体情况及对应输血策略进行汇总,以便读者阅读。对于 B(A)亚型,虽然表现出 A2B, AxB 等 A 亚 B 的血清学特征,但是从基因序列的角度来看,该亚型主要是在 B 基因的基础上发生了 1-2 个碱基的突变,故我们暂且将其列入 B 亚这一期期刊。在此郑重感谢所有文章作者所做出的努力及贡献,编者仅为收录方便学习,无观点诱导及评判,亦无商业目的。

共计 23 篇文献,主要内容如下:

- 1、ABO 亚型样本 84 例,主要为 B301, B303, B305, B307, B309, Bw03, Bw08, Bw12, Bw33, Bx01, Bx02, Bx13, B(A)02, B(A)04
- 2、明确产生抗体亚型包括 B301, B303, Bw33, Bx01, Bx02, Bx13 等 9 例,另外有 11 例仅用血清学方法检测具有 Bx, B3, B(A)特征,但未使用基因检测手段验证
- 3、提出对应输血策略 12 篇

## 目录

1 《A101/B301 基因家系分析》 .....	3
2 《番禺献血人群 B 亚型的筛查与基因分型研究》 .....	5
3 《ABO 变异型 A102Bw33 血型基因亚型遗传学鉴定》 .....	6
4 《一例 Bx01O01 亚型伴抗 B 抗体患者的血型鉴定报告》 .....	8
5 《Bx 亚型 1 例血清学与分子生物学分析》 .....	10
6 《一例 ABO 亚型 Bx13 新等位基因的鉴定》 .....	12
7 《Bx 亚型伴抗-B 抗体产生的血型血清学特性分析与输血策略》 .....	14
8 《B 型及 AB 型人中 B 亚型筛查鉴定在人群中的分布频率》 .....	16
9 《国产血型定型试剂导致 Bx 亚型漏检 1 例原因分析》 .....	18
10 《1 例 B3 亚型的血清学和分子生物学分析》 .....	19
11 《 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶基因 425C→T 突变导致 B3 亚型分析》 .....	21
12 《A1B309 亚型的血清学鉴定及基因序列分析》 .....	23
13 《一例罕见 AB 亚型的分子生物学研究分析》 .....	24
14 《Bx 亚型 1 例的分子生物学鉴定》 .....	26
15 《1 例罕见的 B(A)亚型的鉴定》 .....	27
16 《罕见 B(A)02 亚型的血清学特性及基因表达分析》 .....	29
17 《罕见 B(A)血型的鉴定》 .....	30
18 《一个新等位基因 ABO*B(A)07 的鉴定》 .....	33
19 《1 例 B(A)型孕产妇的定型与备血问题的解决》 .....	34
20 《1 例 B(A)02 鉴定及家系分析》 .....	36
21 《ABO 疑难血型的血清学与 PCR-SSP 检测分析》 .....	37
22 《20 例 ABO 亚型的分子遗传学分析及 2 例 ABO 新等位基因的认定》 .....	39
23 《ABO 亚型 Bw 分子机制与临床输血研究》 .....	39

# ABO 亚型案例报道专刊——B 亚

(编辑: 艾丽萍, 刘玉莲, 张悦)

## 1 《A101/B301 基因家系分析》

作者: 张伟, 王守燕, 徐祥

来源: 《中国卫生产业》 2016 年 32 期

### 摘要:

目的: 研究 ABO 血型表型与基因型不符的家系, 分析产生该现象原因。方法: 采用试管法对微板法筛查出的正反定型不符血样做进一步血型血清学分析进行亚型确认。对亚型样本进行血清学分析和 DNA 测序, 测序结果用软件比对分析后确定其基因型。结果: 从 9 278 份 AB 型无偿献血者血样中检出 AB 亚型血样 6 例(检出率为 6.5/万), 其中 Ael B1 例、AB34 例、B(A)表型 1 例。1 例 AB3 亚型个体, 红细胞与标准抗-B 血清凝集为 1+混合视野, 若按血清表现型可归为 ABend; 但是经基因测序其基因均为 A101/B301, 且父代和子代也均为典型 B3 亚型。结论: ABO 亚型确认应采用血型血清学、分子生物学和遗传学相结合的检测方法; B 亚型基因与正常的 A 基因结合在一起表现为 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖转移酶活性的降低, 使 B 抗原表达量减弱。

### 标本来源:

9278 份 AB 血型样本均来源于山东省滨州市 2014—2015 年无偿献血者,经献血者知情同意后, EDTA 抗凝管采集静脉血 5mL 用于检测, 去除重复样本, 献血者身体健康检查按照 2011 年由中华人民共和国卫生部和中国国家标准化委员会联合发布的《献血者健康检查要求》GB18467-2011 操作。

### 血清学结果:

从 2014—2015 年滨州市 9278 份 AB 型无偿献血者血样中, 检出 AB 亚型血样 6 例, AB 亚型在 AB 型人群中的检出率为 6.5/万, 6 例 AB 亚型标本分别为 AelB 1 例、AB3 4 例、B(A)表型 1 例。AB3 亚型献血者中的 1 位先症者, 男, 40 岁, 2014 年 1 月献血 200mL, 复检血型时发现正定型 AB 型, 反定型 A 型。红细胞与标准抗-B 血清凝集为 1+混合视野, 经血清学初步检测怀疑为 ABend 型。经献血者和其家庭成员知情同意后, 用 EDTA 抗凝管采集其妻子、儿子、父亲、姐姐、外甥女采集静脉血 5mL 用于检测。血型血清学检测中, 先症者和其姐姐红细胞与标准抗-B 血清凝集均为 1+混合视野, 血浆中含抗-B 抗体, 血清学表型为 ABend 型, 先症者父亲、儿子和外甥女均为典型 B3 亚型。这个家庭的血型遗传不符合孟德尔遗传规律, 需做进一步分析和检测。家系成员血型血清学结果见表 2。

表 2 血型血清学反应格局

被检人	反应条件	红细胞正定型			红细胞反定型				人源抗血清反应		H 抗原的测定		
		抗 A	抗 B	抗 AB	Ac	Bc	Oc	自身	抗-A	抗-B	Bc	Oc	Pe
先证者	立即离心	4+	1+	4+	0	±	0	0	3+	1+	2+s	4+	1+s
	多次离心	4+	1+mf	4+	0	1+	0	0	3+	1+mf	-	-	1+s
	4℃10 min	4+	1+mf	-	0	2+w	0	0	4+	1+mf	-	-	-
	恢复室温	4+	1+mf	-	0	2+w	0	0	4+	1+mf	-	-	-
妻子	立即离心	4+	0	-	0	4+	0	0	-	-	-	-	-
	多次离心	4+	0	-	0	4+	0	0	-	-	-	-	-
儿子	立即离心	0	4+w	-	3+	0	0	0	0	2+s	-	-	4+w
	多次离心	0	4+	-	4+	0	0	0	0	3+mf	-	-	4+
父亲	立即离心	0	4+	-	3+	0	0	0	0	2+s	-	-	4+w
	多次离心	0	4+	-	4+	0	0	0	0	3+mf	-	-	4+
姐姐	立即离心	4+	1+	-	0	1+s	0	0	3+	1+	-	-	1+w
	多次离心	4+	1+	-	0	1+s	0	0	3+	1+mf	-	-	1+
外甥女	立即离心	0	4+	-	3+	0	0	0	0	2+	-	-	4+w
	多次离心	0	4+	-	3+	0	0	0	0	3+mf	-	-	4+

注:表中 4+:红细胞凝集成一大块,血清清晰透明;3+:细胞凝集成数块血清清晰;2+:红细胞凝块分散成许多小块,血清不清晰;+:肉眼可见大颗粒,周围有较多游离红细胞;±:镜下可见数个红细胞;mf:混合视野;s:较强;w:较弱。

### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

使用 BigDye terminator V3.1 Sequencing, 3730 型 DNA 测序仪。先症者父亲、儿子和外甥女第 6 和第 7 外显子直接测序结果显示: 261 位 delG、297 位 A/G、526 位 C/G、657 位 C/T、703 位 G/A、796 位 C/A、803G 位/C、930 位 G/A、1054 位 C/T、1096G/A 杂合, 其基因型为 B301/O01; 先症者和姐姐第 6 和第 7 外显子直接测序结果与 B101 标准序列相比, 出现 297A/G、476C/T、526C/G、657C/T、703G/A、796C/A、803G/C、930G/A、1054 位 C/T、1096G/A 杂合, 有关序列信息, 根据标本多态性位点情况, 指定其基因型为 B301/A102。B301 基因与 B101 序列比较, 在 1054 位出现 C>T 单碱基突变。

### ABO 基因克隆测序分析:

先症者样本克隆测序结果显示, 1 条单倍体为 B301 突变发生在 1054 位 C>T, 导致氨基酸第 352 位氨基酸由精氨酸 (Arg) 转变为色氨酸 (Trp) 另一条单倍体为 A102。家系遗传特征见图 2。

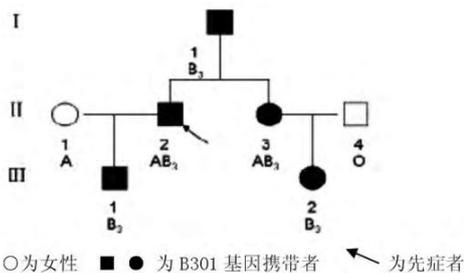


图 2 家系图谱

### 讨论:

混合视野凝集是 B3 亚型红细胞的明显特征, 显微镜下观察, B3 细胞与抗-B 或抗 AB 血清孵育后出现一些被绝大部分游离的非凝集红细胞包围的数个红细胞形成的凝集块。若将凝集细胞去除, 剩余的游离细胞再与抗-B 血清反应, 仍然出现混合视野凝集。先症者和姐姐红细胞与抗-B 凝集达不到 3+混合视野, 且还有较弱的抗-B 抗体, 若按血清表现型可归为 ABend, 基因型为 A101/B301, 经家系调查其父代和子代均为含有 B301 基因单体的 B3 亚型, 故可确定其血型为 AB3 亚型。据报道, 亚型人 A1B3 血浆中大多含有抗-B 抗体,

致使正反定型不一致现象。日常的检测中一般都使用单克隆抗体血清检测，因单克隆抗体效价都很高，增加了与细胞的反应强度，如本家系中的 3 例 B3 亚型标本，先证者父亲、儿子、外甥女与单克隆血清反应均  $\geq 4+$ ，与人源血清反应明显减弱。本家系测序结果表明，先证者与其姐姐的 1054C>T 突变来自他们的父亲，他们的孩子又遗传了该突变，符合孟德尔遗传规律。这一突变与 B101 序列比较，在 1054 位出现 C>T，引起多肽链第 352 位精氨酸 Arg 被色氨酸 Trp 取代。色氨酸为非极性  $\alpha$  氨基酸，而碱性的精氨酸是含有胍基的极性  $\alpha$  氨基酸，生理条件下带正电荷。氨基酸替换打破了电荷平衡，造成了  $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性部分丧失，使 B 抗原合成量减少。ABO 亚型的确认不能单单从血清学或分子生物学改变上来判定，血型血清学表现一致的 ABO 亚型个体，其 ABO 亚型基因结构可能不同，ABO 亚型基因相同的 ABO 亚型个体，血型血清学表现可能会不一致。本家系检出的 2 例 AB3 亚型个体，如果单单只做血型血清学试验，应当归为 ABend 亚型；但是他们的基因都是 A101/B303，而且父代和子代均为典型 B3 亚型。台湾人 Li L 等曾报道父代 Ax 血型，子代与 B 基因结合在一起 Ax+B 加强为 A3B。由此笔者推断，个体基因的两条单倍体在转录过程中相互影响，A 亚型基因与正常的 B 基因结合在一起表现为  $\alpha$ -1,3-N-氨基半乳糖转移酶活性的增强，A 抗原表达量增加；B 亚型基因与正常的 A 基因结合在一起表现为  $\alpha$ -1,3-D-半乳糖转移酶活性的降低，B 抗原表达量减弱。该研究标本量较少致使调查结果有些局限，如果能发展简单易操作的基因分型技术，使大多数血型工作者都能掌握该技术，可以搜集大量表型正常的标本一起做研究，就能更加确切的分析该地区 ABO 基因的遗传多态性，更精准地为临床患者进行血液配型工作，增加临床输血的安全性和有效性。

## 2 《番禺献血人群 B 亚型的筛查与基因分型研究》

作者：谢敬文，蓝文莉，马伟文，莫锦政，黎淑贞

来源：《临床医学工程》2016 年 8 月第 23 卷第 8 期

### 摘要：

目的：随机抽取广州番禺地区的献血者开展 B 亚型筛查，了解该地区 B 亚型的分类特征。方法：采用 96 孔微量板法，使用单克隆抗-A/抗-B 血型定型试剂和人 ABO 血型反定型用红细胞定型试剂检测盒，对献血者样本进行 ABO 血型正反定型检测，凡是正定型凝集强度少于 4+ 或正反定型不一致的样本，使用人源抗-A/抗-B、抗-H 等试剂进行血清学亚型鉴定；采用 PCR-SSP 法对亚型样本进行基因分型。结果：在 13028 例 B 型样本中检出 1 例血清学 B3 亚型，发生频率约为 0.008% (1/13028)，基因分型为杂合型 B303/O2。结论：本地区献血人群中存在 B3 亚型，使用 PCR-SSP 法能准确鉴定亚型的基因型。

### 标本来源：

随机抽取 2013 年至 2014 年在广州市番禺区中心血站参加献血的 13028 名 B 型献血者样本，用 EDTA-K2 抗凝试管留取 5mL 全血备用。

### 血清学结果：

在 13028 名样本中，筛查出 1 例抗-B 试剂呈弱凝集反应。经人源抗-B 检测呈 1+ 混合视野反应格局（表 3），抗-H 试剂反应明显增强，鉴定为 B3 亚型。



血清中含有抗-B 抗体。PCR-SSP 结果显示，样本基因型为 A1B。直接测序分析发现，297A/G、467C/T、526C/G、657C/T、703A/G、803G/C 和 930G/A7 个位点杂合。克隆测序得到 2 个等位基因 A102 和 Bw33。Bw33 基因序列与 B101 基因比对仅第 796 位碱基为 A>C 突变，796C 是 A 基因的特性。结论：796 碱基 A>C 突变导致产生 Bw33 的表型，其血清中产生抗-B 抗体。

**标本来源：**

临床肝血管癌患者，女性，54 岁，蒙古族，无输血史，有妊娠史；入院治疗，ABO 正反定型不符，临床医院送我血液中心进行 ABO 血型鉴定。

**血清学结果：**

样本正定型中抗-A、抗-A1、抗-B，抗 A+B 凝集均较强，呈现 3+~4+，反定型 Ac 凝集不凝集，Bc 凝集有较弱凝集。ABO 正反定型结果见附表。

**Table1. Serological detection of blood group**

Reagent	Reaction of cells with					Antibody in serum			
	anti - A	anti - A1	anti - B	anti - A + B	anti - H	Ac	Bc	Oc	Sc
Reagent1	4 +	4 +	3 +	4 +	3 +	0	+	0	0
Reagent2	4 +	/	3 +	/	3 +	0	+	0	0

"/": not done; "0": Negative; "4 +, 3 +, +": Agglutination strength

**PCR-SSP 检测结果：**

采用 **人红细胞 ABO 血型基因检测试剂盒和人类 ABO 血型基因 cisAB 与 B(A) 检测试剂盒(天津秀鹏公司)** 进行 ABO 基因分型及 cisAB 与 B(A) 血型检测，ABO 基因型为 A1/B 型，人类 ABO 血型基因 cisAB 与 B(A) 检测未检测到试剂盒内包含的基因(图 1)。



**Figure 1. Electrophoretic analysis of ABO, cisAB and B(A) genotyping**

**ABO 基因的 DNA 直接与克隆序列分析：**

应用 BigDye terminator 3.1 Sequencing kit 试剂盒进行测序反应。直接测序分析发现，第 6、7 外显子存在 297A/G、467C/T、526C/G、657C/T、703A/G、803G/C 和 930G/A7 个位点杂合。为了分开 2 个杂合的等位基因，进行基因克隆测序。多个克隆验证，序列比对得到 2 个等位基因 A102 和 Bw33。Bw33 基因序列与 A101 基因比对存在 297A>G、526C>G、657C>T、703A>G、803G>C 和 930G>A6 个位点基因突变；

Bw33 基因序列与 B101 基因比对仅第 796 位碱基 A>C 突变, nt796C 是 A 基因具有的特性。

#### 讨论:

我们对 1 例临床血清学正反定型不符的样本, 采用血清学和分子生物学方法相结合, 进行鉴定和分析。该样本正定型为 AB 型, 反定型有抗-B 抗体。ABO 基因分型有 A 和 B 基因, 基因测序和克隆, 该样本基因型为 A102/Bw33。BGMUT 数据库公布的 ABO 等位基因目前已达到 355 个, Bw 是一类频率相对较高的 B 变异型, 目前国际上共发现 34 种遗传性 Bw 等位基因。Bw33 等位基因是在 B101 基因基础上保留了 A101 基因的 796C 位点, 其他基因突变点与 B101 基因相同。检测该患者血清中有较弱的抗-B 抗体。目前 ABO 亚型的鉴定常采用血清学方法结合基因分型技术进行综合判断。

## 4 《一例 Bx01O01 亚型伴抗 B 抗体患者的血型鉴定报告》

作者: 赵媛, 刘伟, 赵一贺, 宋广平, 李代红

来源: 《实用器官移植电子杂志》2018 年 7 月第 6 卷第 4 期

#### 标本来源:

先证者, 男, 39 岁, 汉族, 大面积烧伤急诊入院进行 ABO 血型鉴定时, 微柱凝胶法判定为 O 型, 常温试管法发现正反定型不符。

#### 血清学结果:

(1) 经典试管法: 结果见表 1。

表 1 经典试管法鉴定结果

	正定型			反定型					
	抗-A	抗-B	抗-AB	抗 A1	抗 H	Ac	Bc	Oc	自身 c
室温立即离心	-	-	1+w	-	3+	4+	+	-	-
4℃离心 10 分钟	-	-	1+s	-	3+	4+	2+s	-	-

(2) 微柱凝胶法: 严格按照戴安娜血型设备使用说明书及操作规程, 进行 ABO 正反定型、不规则抗体筛查、自身抗体检测、直接抗体检测。ABO 血型结果与试管法室温立即离心结果不一致, 正定型抗-A: -, 抗 B: -; 反定型 Ac: 4+, Bc: 2+, 全自动系统判定为 O 型, 见图 1。不规则抗体筛查: I -、II -、III-。自身抗体阴性, 直接抗体阴性。

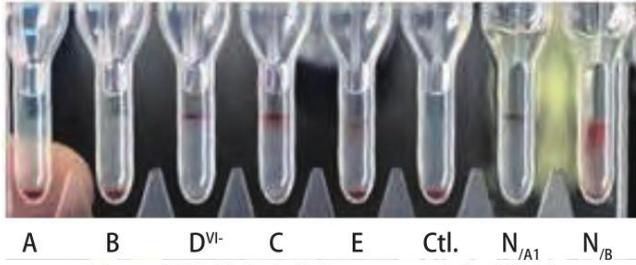


图 1 微柱凝胶法鉴定 ABO 正反定型结果

(3) 吸收放散实验：被检红细胞经 3 次洗涤后留压积红细胞，加入抗-B 血清 4℃ 吸收 1 小时，中间每 10 分钟震荡 1 次，离心取上清与标准抗-B 血清对照，倍比稀释加入 B 型标准红细胞，证实 B 抗原存在。吸收后压积红细胞多次洗涤后 56℃ 热放散 10 分钟，离心取放散液加入 B 型标准红细胞，检测到 B 抗原存在，结果见表 2。

表 2 吸收放散试验结果

项目	抗 B 血清效价						吸收后红细胞放散液 + 标准细胞		
	1:2	1:4	1:16	1:32	1:64	1:128	Ac	Bc	Oc
抗 B 血清吸收前	4+	4+	4+	3+s	3+	2+			
抗 B 血清吸收后	4+	4+	4+	2+	1+s	1+	-	3+	-

**PCR-SSP 检测结果：**

患者 ABO 基因型为 Bx01/O，结果见图 2。

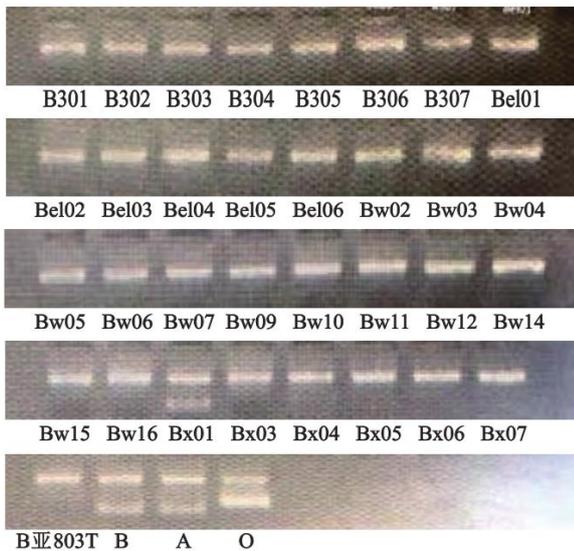


图 2 ABO 血型基因分型电泳图

**ABO 血型基因 DNA 测序结果：**

对患者 1~7 外显子基因测序结果为 Bx01O1 杂合子，根据 NCBI 提供的血型抗原基因突变数据库，比对 A101

基因序列第 6 外显子存在 1 个碱基突变：297A>G；第 7 外显子存在 7 个碱基突变：526C>G；657C>T；703G>A；796C>A；803G>C；871G>A；930G>A。发生 R176G、G235S、L266M、G268A、D291N 氨基酸替换。

#### 讨论：

ABO 亚型的血清学特点是与抗-A、抗-B 反应很弱，甚至无反应，血清中易产生针对减弱抗原的血型抗体，给 ABO 血型鉴定带来困难，易发生误诊。本实验发现由于微柱凝胶法的分子筛只能通过游离单个红细胞，能够检出部分肉眼不可见抗原抗体结合物造成假阳性结果，特别是反应格局与正常 ABO 血型一致时会发生误判。与报道因离心应切力大于弱抗原抗体结合亲和力造成假阴性结果不符，有待进一步分析研究。常温经典试管法由于对弱抗原抗体检出率低于微柱凝胶法，更易发生正反定型不符的非常规反应格局，更易于提示亚型存在的可能性；当发现异常反应格局或试管法与微柱凝胶法结果判断不一致时，应考虑亚型的发现，进一步完善血清学实验，通过吸收放散、检测血型物质、抗体检测等手段进行确认。目前《中华人民共和国药典》未要求单克隆抗-B 血清凝集 B3、BX 抗原红细胞，ABO 亚型漏检发生率高，正定型加入抗-AB 血清十分必要。当发生本文标本正定型为 O，反定型 Ac、Bc 一侧已达 4+且凝聚强度差接近 2+时，将反定型标本放入 IgM 抗体最适反应条件的手段不可行。虽然大部分 ABO 亚型血清学反应格局已有总结，但比较笼统，同时由于大量单克隆血清代替多克隆血清在临床上广泛的使用，故以前由于单独以血清学为基础分类亚型的适当性值得探讨。至今已发现 ABO 等位基因达 300 多个，大多数 ABO 亚型分子基础已明确，随着血型抗原基因数据库的不断完善，运用分子生物学技术进行 ABO 亚型分类已经逐步显示出了特异性、准确性的优势，成为了 ABO 疑难血型鉴定中血清学诊断的有力验证。完善的血清学检测和分子生物学相结合能够有效减少亚型漏检，在满足临床紧急情况的前提下做到合理安全用血，是临床输血安全的最有效保障。Bx 等位基因的个体血清中是否存在抗 B 报道不一。本次发现的 Bx01O01 个例存在较强抗 B 抗体，或提示 Bx 血型表型存在较多异质性，有待进一步研究证实。

#### 输血策略：

本文病例深度大面积烧伤、贫血、休克、急性肾衰竭急诊入院，血清学发现疑难后紧急抢救给予 AB 型血浆 2000ml，O 型洗涤红细胞 4 单位，经血清学吸收放散发现 B 抗原存在，后续治疗改为 B 型血浆输注。经分子生物学鉴定患者血型为 Bx01O01，由于患者存在不规则抗 B 抗体，仍采用配合型输血 O 型洗涤红细胞，患者无输血反应且无效输血现象经治疗转归良好。

## 5 《Bx 亚型 1 例血清学与分子生物学分析》

作者：乔郑磊，戎瑞明，吴攀颀，陆琼，蒋密

来源：《中国临床医学》2016 年 12 月第 23 卷第 6 期

#### 标本来源：

患者女性，68 岁，汉族，2014 年 12 月 14 日开始无明显诱因出现胸闷不适伴心前区隐痛，经检查确认为主动脉夹层，2014 年 12 月 26 日入院准备手术治疗。

## 血清学结果:

### (1) 血型鉴定

表 2 血型血清学试验结果

方法	正定型			反定型		
	抗 A	抗 B	抗 D	A1c	Bc	Oc
微柱凝胶卡式法	-	-	4+	4+	-	-
试管法(室温)	-	1+s	4+	4+	1+w	-
试管法(4℃)	-	1+	4+	4+	1+w	-
不规则抗体筛查			阴性			
直接抗人球蛋白试验			阴性			

### (2) 吸收放散试验结果

放散液与标准 B 细胞反应强度为 1+s, 与 O 细胞不反应, 表明患者红细胞的放散液中有抗-B 抗体存在, 证实其细胞表面存在 B 抗原。

### (3) H 抗原强度比较

患者细胞与标准 B 细胞、标准 O 细胞的抗-H 反应强度依次为: 标准 O 细胞 (4+)、患者细胞 (3+)、标准 B 细胞 (2+)。

## ABO 血型基因 DNA 测序结果:

送上海生工生物工程公司测序。ABO 基因测序结果显示, 外显子 6 出现 261G 缺失与 297A>G 两个突变位点。外显子 7 出现 526C>G, 646T>A, 657C>T, 681G>A, 703G>A, 771C>T, 796C>A, 803G>C, 905A>G, 930A>G, 1096G>A 共 11 个突变位点。

## 讨论:

B 亚型是正常 ABO 抗原以外的抗原较弱的亚型或变异型, 主要有 B<sub>3</sub>、B<sub>w</sub>、B<sub>el</sub>、B<sub>x</sub> 等共 9 种亚型。B 亚型的产生主要是由于半乳糖转移酶第 7 外显子某些碱基发生缺失或者替换, 导致半乳糖转移酶活性降低或者改变, 从而导致红细胞表面 B 抗原数量减少。B 亚型血清学的主要特征是: 与抗 B 发生不凝集或弱凝集, 而与抗 AB 凝集, 红细胞能吸附和放散抗 B 抗体。在某些白血病患者中, B 抗原可暂时减弱为弱 B 形式, 如同 B 亚型的表现。本例患者排除血液病, 被检患者红细胞与标准 A 细胞反应强凝集, 与抗 B 反应仅显示较弱的凝集, 而与抗 A+B 出现明显凝集反应, 表明患者血清中含有正常的抗 A 及较弱的抗 B; 红细胞吸收能力弱于正常人的红细胞, 放散能力强于正常红细胞, 与抗 H 反应显示 O 型类似的强凝集, 表明该样本为 B 亚型。B 等位基因的点突变只是在 703、796、803 位高度保守。B 亚型等位基因除具有 703、796、803 位高度保守的点突变外, 第 7 外显子还出现新的点突变, 如 C502T、G539A、G871A、C873G、C1036G、A1037T、C1054T、G1055A 等。目前发现的 B<sub>x</sub> 亚型有 9 种, 分别为 B<sub>x</sub>01-09, 其主要的突变点为 B<sub>x</sub>01: 871G>A; B<sub>x</sub>02: 905A>G; B<sub>x</sub>03: 541T>C; B<sub>x</sub>04: 588C>G; B<sub>x</sub>05: 976G>T; B<sub>x</sub>06: 900G>C; B<sub>x</sub>07: 808T>A; B<sub>x</sub>08: 550G>A; B<sub>x</sub>09: 889G>A。对第 6 和第 7 外显子进行扩增测序, 测序结果显示: 第 6 外显子出现缺失与 297A>G 两个突变位点, 表明该标本为 BO 基因杂合。第 7 外显子直接测序出现 526C>G、646T>A、657C>T、681G>A、703G>A、771C>T、796C>A、803G>C、905A>G、930A>G、1096G>A, 表明该标本为 B<sub>x</sub>02 与 O02 的杂合。

Bx 亚型是 ABO 血型中 B 型红细胞上抗原量减少所致，往往容易被误定为 O 型。血型鉴定作为现代输血前检测最关键的步骤之一，其准确的检测结果是确保输血安全的重要保证。当出现正反定型不符时，应该结合血清学及分子生物学方法，正确分析血型，以免漏检亚型，进而确保临床输血安全。

#### 输血策略：

若 B 亚型患者输入 O 型血液，或者 O 型血液的患者输入了 B 亚型血液，都可能会出现严重的输血反应。由于 Bx 亚型血液中含有较强的抗 B 抗体，这类符合输血指征的患者应该考虑给予输注 AB 型血浆和 O 型洗涤红细胞。

## 6 《一例 ABO 亚型 Bx13 新等位基因的鉴定》

作者：贺云蕾 俞露 邓刚 许德义 梁伟

来源：《中华医学遗传学杂志》2017 年 12 月第 34 卷第 6 期

#### 摘要：

目的：鉴定 1 例 Bx13 新等位基因。

方法：用标准血清学实验方法进行 ABO 血清学正反定型，对 ABO 基因 7 个外显子及其邻近内含子序列进行 PCR 扩增、测序，并对第 7 外显子进行克隆测序分析。

结果：先证者血清学表现为 Bx 亚型。DNA 克隆及测序分析发现，该个体携带有正常 O01 等位基因，但 B 等位基因第 7 外显子在正常 B101 等位基因的基础上发生 893C>T 错义突变，导致  $\alpha$  1, 3-D-半乳糖转移酶发生 Ala298Val 氨基酸改变。在 100 名随机献血者中未检出此突变。

结论：发现 1 例 Bx13 等位基因，其改变的氨基酸位于酶的高度保守区，可能由此降低了 B 酶的催化活性。

#### 标本来源：

1 例临床患者，女性，51 岁，于 2014 年 8 月因心脏病入院，ABO 血型鉴定时发现正反定型不符，送宁波市中心血站进一步鉴定。在征得其知情同意后，使用 EDTA 抗凝管采集患者静脉血 5mL，进行红细胞血型血清学检测，并抽提全血基因组 DNA 进行分子生物学检测。随机选择 100 名 ABO 血型正常的献血者作对照。

#### 血清学结果：

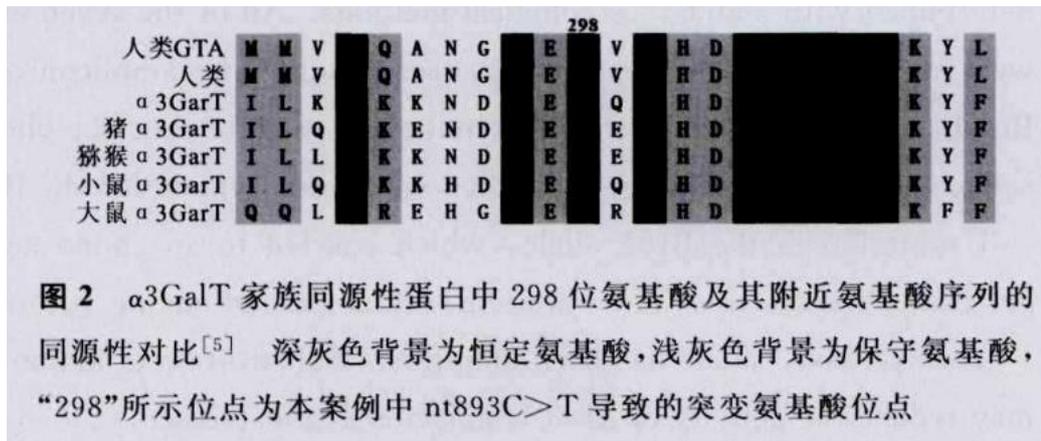
直接抗球蛋白试验结果阴性，ABO 正反定型血清学检测结果：抗一 A(阴性)，抗一 B(1+w)，抗一 AB(1+w)，抗一 H(4+)，A 细胞(4+)，B 细胞(1+)，O 细胞(阴性)，表型(Bx)，基因型(Bx13 / O01)，其中抗一 A、抗一 B 分别使用单克隆抗体血型定型试剂和人源多克隆血清检测，两者结果一致。

#### ABO 血型基因 DNA 测序结果：

送测序公司(上海桑尼测序有限公司)测序。外显子直接测序结果显示 ABO 基因存在 261del、297A>G、526C>G、657C>T、703G>A、796C>A、803G>C、893C>T、930G>A 杂合突变，基因型为 B / O01。第 7 外显子克隆后测序发现，B 等位基因在 B101 的基础上发生 893C>T 错义突变，导致  $\alpha$  1,3-D-半乳糖转移酶第 298 位氨基酸被置换 Ala298Val。该 Bx 新等位基因已提交 NCBI GenBank(序列号为 KP165499)，并被 dbRBC of NCBI 命名为 Bx13。该错义突变 893C>T 未在 100 名随机献血者中检出。

### α 3GalT 家族同源性蛋白比对结果:

通过同源性对比发现第 298 位氨基酸为保守氨基酸(图 2), 提示其在酶活性中具有重要作用。



### 讨论:

Bx 亚型是一种罕见的 ABO 亚型, 目前国际上报道的 Bx 亚型等位基因约有 10 余种。其血清学特点是: Bx 红细胞与抗-B 和抗-AB 发生弱凝集反应, 血清中含有弱的抗-B, Bx 亚型红细胞上的 H 抗原较正常 B 型红细胞有明显增强。本研究中我们发现的 ABO 亚型个体符合以上特征, 为典型的 Bx 亚型。编码转移酶的 B 等位基因与编码转移酶的 A 等位基因相比, 其 cDNA 序列存在 7 个位点(297、526、657、703、796、803、930)碱基的不同, 但 297、657、930 位为同义突变, 只有 526、703、796、803 位导致氨基酸的置换(Arg176Gly、Gly235Ser、Ieu266Met、Gly268Ala)。其中 Leu266Met 和 Gly268Ala 的置换对酶与糖供体 UDP-Gal / UDP-GalNAc 的特异性识别有至关重要的影响, 因此部分 cisAB 或 B(A)等位基因涉及 796 或 803 位碱基的突变。O01 等位基因除了 261 位单碱基缺失外, 其余序列与 A101 相同, 由于终止密码子提早出现, O01 等位基因的产物在 116 位氨基酸后终止。Ogasawara 等在日本人中首先发现 O14 等位基因, 其在 261 位无异常, 与 A101 序列相比仅存在 467、893 两个位点碱基突变导致 156 位、298 位氨基酸置换。467C>T 多态性位点最早在 A102 等位基因中发现, 对酶活性无明显影响, 因此 893C>T 碱基突变导致的 298 位氨基酸改变为破坏酶活性的关键。本文发现的 Bx 亚型样本, 直接测序分析显示存在 261del / G、297A>G、526C>G、657C>T、703G>A、796C>A、803G>C、893C>T、930G>A 多处杂合突变, 结合血清学表型不难判断其 ABO 基因为 B / O; 而克隆测序发现 893 位 C>T 突变位于 B 等位基因上, 由此分析其基因型为 Bx13 / O01。经与 B101 等位基因对比, Bx13 上仅存在一个碱基(893C>T)的差异, 而与 O14 等位基因具有相同的碱基突变, 但在不同的等位基因基础上(A102、B101)。人类血型 A 酶和 B 酶与 α 3GalT 相关基因家族有很高的同源性, 298 位氨基酸在 α 3GalT 族同源蛋白中高度保守。有趣的现象是, 298 位氨基酸的改变, 在 O14 等位基因中表现为 A 酶完全失去活性, 而在 Bx13 等位基因中表现为 B 酶活性降低。虽然目前不清楚同样的氨基酸突变在 A 酶和 B 酶中对酶活性造成的破坏程度为什么会不一样, 但可以肯定的是, 298 位氨基酸对酶活性的重要性同时通过 A 酶和 B 酶自然突变的方式得到了验证, 该位点氨基酸的改变将影响酶的催化活性。由于

未能采集到先证者家系血样，因此无法进一步做家系遗传分析。但根据上述分析，Bx13 等位基因 893C>T 突变导致 298 位氨基酸置换造成的重要影响，在 O14 等位基因以及在物种保守性比对分析中都得到了验证，提示该突变与 Bx 表型的强相关性。

## 7《Bx 亚型伴抗-B 抗体产生的血型血清学特性分析与输血策略》

作者：王霞 王湘屏 徐新

来源：中南医学科学杂志 2014 年 7 月第 42 卷第 4 期

### 摘要：

目的：分析 Bx 亚型伴抗-B 抗体产生的血型血清学特性，并探讨其输血治疗方案。

方法：对 ABO 血型鉴定正反定型不符的样本进行吸收—放散试验、唾液血型物质凝集—抑制试验等血型血清学分析。对符合 Bx 亚型伴抗-B 抗体产生血型血清学特性的患者，采取配合性血液输注，并观察输血疗效。

结果：血型血清学试验结果提示患者为 Bx 亚型伴抗-B 产生，给予 O 型红细胞、AB 型血浆、AB 型血小板输注后，无输血不良反应，输血治疗效果良好。

结论：Bx 亚型伴抗-B 抗体产生的血型血清学特性由于 B 抗原表达减弱，在血型鉴定时导致正反定型不一致。与抗-AB 凝集反应可增强，或不反应。H 抗原表达强度与 O 细胞相似，同时产生低反应活性抗-B。分泌型个体唾液中可缺乏 B 物质，仅有 H 物质。此类患者在病情紧急，无法找到同型血液时，可采用配合性血液输注。

### 标本来源：

2006~2013 年本地区送衡阳市中心血站鉴定的，排除其他原因造成正反定型不符的血样本 2261 例。经血型血清学实验检测，符合 Bx 亚型伴抗-B 抗体产生反应格局的患者标本共 5 例。其中，产后大出血 3 例，年龄 23~35 岁；复合外伤 1 例，男性，53 岁；消化道出血 1 例，男性，61 岁。其中 1 例有输血史，1 例输血史不祥，3 例无输血史。

### 血清学结果：

本次研究对衡阳地区 2006~2013 年期间，2261 例 ABO 血型鉴定正反定型不符的血样本，采用微柱凝胶卡式法和试管法进行 ABO、Rh(D)血型鉴定。其中 ABO 血型正反定型不符，正定型为 O 型；反定型 A1c 凝集 4+，Bc 不凝集或凝集±；Rh(D)阳性样本共 5 例。不规则抗体筛查试验阴性。直接抗人球蛋白试验阴性。遂进行吸收—放散试验、唾液 ABH 血型物质测定等血型血清学确认实验，具体结果见表 1。

表1 血型血清学试验结果

方法	正定型					反定型		
	抗-D	抗-A	抗-B	抗-AB	抗-H	A1c	Bc	Oc
微柱凝胶卡式法	4+	0	0	/	/	4+	0~±	/
试管法(25℃)	/	0	0	0~±	4+	4+	0	0
试管法(4℃)	/	0	0	0~±	4+	4+	w	0
吸收—放散试验	放散液与试剂Ac不凝集,Bc凝集 1+s							
不规则抗体筛查试验	阴性							
直接抗人球蛋白试验	阴性							
唾液ABH血型物质测定	H							

注：“0”表示无凝集反应，“±~4+”表示凝集强度，“w”为弱凝集

## 讨论:

血型鉴定受到诸多因素干扰,包括疾病影响、临床治疗和生理因素、实验技术等原因。ABO抗原的血型或变异型很多,常导致血型鉴定正反定型不一致,也给血型确认工作带来较大的困难。ABO亚型是指以遗传为基础,具有明确的血清学特点,将ABO血型系统进行进一步细分的ABO血型。因年龄、疾病、妊娠等不可遗传的因素造成的血型改变不能认为是亚型;同样,那些虽有基因改变,但并不影响血清学特点的ABO血型也不能称为亚型。根据抗原性表达强弱,在A抗原中主要为A1和A2,其他亚型不多见,B亚型一般分为B2、B3、BX、Bm、Bel。许志远等研究结果显示北京地区中国人群中B亚型高于A亚型,其中,ABO亚型中B亚型伴抗-B产生的比率为15.1%。本地区ABO亚型分布情况还有待于进一步研究。大多数ABO亚型均带有不规则的ABO抗体,这些抗体通常很弱,并且多为冷抗体,很容易漏检,可能被错误定型。作为受血者,如果将亚型误定为正常血型,同时又未能检出这些抗体,很容易导致输血反应。因此,临床上血型鉴定出现正反定型不符或凝集强度不一致的现象时,应迅速查明原因。在排除试剂质量、技术、药物和人为因素后,正定型应加做抗-H、抗-A1、抗-AB血清,反定型应加做O细胞、A1细胞,同时进行吸收—放散试验,检测红细胞弱A和弱B抗原,并进行凝集—抑制试验检测唾液中的血型物质。ABO血型亚型的常规分型鉴定,是基于以红细胞表面抗原表位的多少及活性的强弱,以及该红细胞对相应抗体的吸收放散能力大小为理论依据的血型血清学方法。通常根据以下原则区分红细胞ABO亚型:(1)红细胞与抗-A、抗-A1、抗-B、抗-AB的凝集强度;(2)红细胞上H物质活性的强弱;(3)血清中是否存在抗-A1;(4)分泌型机体的唾液中ABH物质。Bx亚型血清学共同特点是:Bx红细胞与抗-B呈弱凝集反应,有时甚至可不凝;与抗-AB凝集反应增强,有时强于抗-B;H抗原表达强度近似O型红细胞;血清中常有不规则抗-B;分泌型个体的唾液中有时可缺乏B物质,仅有H物质。本次分析的5例患者,盐水试管法正定型受检者红细胞与抗-A、抗-B不凝集;与抗-AB反应时,4例出现弱凝集,1例不凝集;与抗-H凝集4+;反定型与A1c凝集4+,Bc不凝集。唾液ABH血型物质测定存在血型物质H,血型血清学表现基本符合Bx亚型伴抗-B抗体产生血清学格局。4℃增强试验结果似乎是正反定型一致,但实际是B抗原减弱,同时产生低反应活性抗-B,容易使血型误定为O型,同时也为输血制造了困难。由于患者存在进行性大出血,并出现失血性休克,而ABO亚型血型鉴定时需要做的补充实验项目较多,洗涤红细胞成分的时间较长。依据《临床输血技术规范》第十条规定的Rh(D)阴性和其他稀有血型输血原则,应采用自身输血、同型输血或配合性输血。在衡阳市中心血站的指导下,对患者予以配合输注O型红细胞、AB型血浆、AB型机采血小板治疗,未出现输血不良反应。输血后,进行血常规、血清胆红素和凝血功能复检,患者血红蛋白、血小板、凝血功能板等相关指标

实际升高值与输注血量理论提升值基本吻合，胆红素值未出现升高，凝血功能得到明显改善，无输血不良反应，治疗效果良好，痊愈出院。据此，在紧急情况下，对 Bx 亚型伴抗-B 抗体产生患者采取应急方式，进行配合性输血治疗为抢救患者生命争取时间是可行的，这也符合临床抢救原则。

#### **输血策略：**

2261 例血样本经血型血清学实验检测，发现符合 Bx 亚型伴抗-B 抗体产生反应格局的患者标本共 5 例。根据临床输血指征，分别给予 4~11 单位 O 型红细胞、300~2100mL AB 型血浆和 0~30 单位 AB 型血小板配合性血液输注治疗，并在输注血液制品后，进行血红蛋白、血小板、胆红素和凝血功能等相关指标监测。各项检测指标显示，患者输血后血红蛋白、血小板、纤维蛋白原均较输血前有所提高，血清胆红素未出现升高，凝血功能明显改善，出血症状得到控制。

## **8 《B 型及 AB 型人中 B 亚型筛查鉴定在人群中的分布频率》**

**作者：李日华，张志哲，吴会红，李少芳，宋朝蓉**

来源：检验医学与临床 2008 年 10 月第 5 卷第 20 期

#### **摘要：**

**目的** 了解 B 亚型在 B 型及 AB 型人群中的分布频率。

**方法** 先在医院输血科做正、反血型筛查鉴定，然后挑选疑似样本送南宁市中心血站，通过吸收试验、放散试验、抗体及唾液中血型物质检测实验进行亚型鉴定。

**结果** 1211 例 B 型及 AB 型人中检出 4 例 B 亚型，表现频率 0.33%，其中，1009 例 B 型人中检出 B 亚型 3 例，表现频率 0.30%，202 例 AB 型人中检出 1 例 B 亚型，表现频率 0.50%。

**结论** 鉴定血型亚型对临床安全输血至关重要。

#### **标本来源：**

调查对象为 2005 年 1 月至 2007 年 7 月在本院输血科做 ABO 血型鉴定的门诊健康体检者及住院患者，共 1211 例，其中男 508 例，女 703 例，年龄 1~98 岁，B 型 1009 例，AB 型 202 例。

#### **血清学结果：**

1211 例 B 型及 AB 型人中检出 4 例 B 亚型，表现频率为 0.33%。1009 例 B 型人中检出 B 亚型 3 例，表现频率 0.30%，其中 1 例 B3，2 例 BX，202 例 AB 型人中检出 1 例 ABX，表现频率 0.50%。B 型与 AB 型两人群中 B 亚型的分布频率二者经统计学处理， $t=0.8218$ ， $P>0.05$ ，差异无统计学意义。4 例 B 亚型中汉族及壮族各 2 例，女 1 例，男 3 例。4 例 B 亚型血型病例经血清学试验结果如表 1。

表 1 4 例 B 亚型血型血清学试验结果

病例	待检红细胞与下列血清反应				待检血清与下列红细胞反应				吸收能力	放散能力	唾液血型物质	额外抗体	表现型
	抗-A	抗-B	抗-A+B	抗-H	A 细胞	B 细胞	O 细胞	自身血细胞					
例 1 室温	—	—	WK	4+	3+	—	—	—	弱	强, 放散出抗-B	未测	抗-B	B <sub>X</sub>
4 °C	—	WK	1+	—	4+	—	—	—					
37 °C	—	—	WK	—	3+	—	—	—					
例 2 室温	—	mf	mf	3+	3+	—	—	—	弱	强, 放散出抗-B	B、H	无	B <sub>3</sub>
4 °C	—	mf	mf	—	4+	—	—	—					
37 °C	—	mf	mf	—	3+	—	—	—					
例 3 室温	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+ *	弱	强, 放散出抗-A、抗-B	非分泌型	抗-B	AB <sub>X</sub>
4 °C	4+	4+	4+	—	3+	3+	3+	3+					
37 °C	3+	—	3+	1+	—	1+	—	WK					
例 4 室温	—	WK	1+	4+	3+	—	—	—	弱	强, 放散出抗-B	H	抗-B	B <sub>X</sub>
4 °C	—	1+	2+	—	4+	—	—	—					
37 °C	—	WK	1+	—	3+	—	—	—					

注:—表示不凝, +表示凝集, WK 表示弱凝集, mf 表示混合外观。\* 病例 3 的血清中存在较强的冷抗体, 在室温(19 °C)及 4 °C 中自身红细胞盐水悬液呈现 3+ 凝集, 所有测试管均出现 3+ 以上的凝集。

### 讨论:

红细胞血型亚型在不同国家、不同人种、不同地区、不同民族分布频率不同。西方人 B 亚型少于 A 亚型, 在我国 B 亚型频率高于 A 亚型。国内关于 B 亚型的个案病例报道较多, 但大样本的调查报道不多, 本文调查了 1211 例 B 型及 AB 型人中 B 亚型的分布频率。

凡红细胞上显示较弱的 B 特异性者, 统称 B 亚型或弱 B。B 亚型没有特异性诊断血清来鉴定, 区别 B 亚型的标准: (1)红细胞与抗-B、抗-AB 及抗-H 的凝集反应, B 亚型红细胞与抗-B、抗-AB 凝集弱, 甚至不凝集, 但与抗-H 凝集较强; (2)被检血清中是否有额外血型抗体存在, BX 亚型血清中常检出弱冷抗-B 抗体; (3)分泌的唾液中有无 B 物质及 H 物质的存在, BX 亚型人分泌型的唾液中 B 物质极少; (4)红细胞对抗-B 血清吸收及放散的强度, B 亚型红细胞对抗-B 血清吸收能力依次为 B>B<sub>3</sub>>BX>B<sub>m</sub>, 放散的强度 B<B<sub>3</sub><BX<B<sub>m</sub>。

目前, B 亚型的鉴定主要依靠血型血清学。B<sub>3</sub> 型红细胞最大的特征是混合视野凝集外观, 即 B<sub>3</sub> 红细胞与抗-B 及大多数抗-AB 血清混合后出现一些由数个红细胞形成的小凝块, 并被绝大部分游离的非凝集红细胞包围, 绝大部分 B<sub>3</sub> 型人的血清中无抗-B。由表 1 可见病例 2 患者的红细胞与抗-B 及抗-AB 血清混合后出现混合视野, 但强度弱, 镜下方可见, 说明红细胞上的 B 抗原很弱, 但血清中含有较强的抗-A, 患者血清与 A 红细胞混合后出现 3+ 的凝集, 只要能分辨弱凝集与混合视野凝集, 在正、反定型中已可初步定为 B 亚型。典型的 BX 特征是红细胞上的抗原比 B<sub>3</sub> 更弱, 与抗-B 和抗-AB 发生弱凝集, 有的甚至不发生凝集, 分泌型唾液中的 B 物质极少, 常常检测不到, 血清中含有很弱的抗-B。3 例 BX 患者的血清中均检出抗-B 抗体, 特别是例 3(ABX)的血清中抗-B 较强, 与 B 型红细胞混合后出现 1+ 的凝集, 肉眼可见, 很容易被错定为 A 型。例 1 红细胞与抗-A、抗-B 均无凝集, 曾被定为 O 型, 但其红细胞与抗-AB 出现弱凝集, 在 4 °C 时凝集较强。因此为避免定错血型, 血型鉴定必须正、反定型同时做, 如遇到弱凝集最好增加抗-AB 血清及 4 °C 温度的鉴定。

B 亚型可分为 B3、BX、Bm 及 Bel 和 Bw，其中 Bw 表示不符合前 4 种亚型标准的其他 B 亚型。本次调查的 1009 例 B 型人中检出 B 亚型 3 例，表现频率为 0.30%，与赵凤萍等报道的邢台地区 B 亚型分布调查结果基本一致；202 例 AB 型人中检出 1 例 ABX 亚型，表现频率为 0.50%，比上述报道的略低，这可能与调查的例数少有关。本次调查的 4 例 B 亚型中 3 例为 BX，1 例是 B3，BX 比 B3 的表现频率高，而国内文献报道的是以 B3 为多，这是否是地域因素所致，有待进一步进行大样本的调查研究。

#### 输血策略：

由于定错血型，导致例 1 患者(BX)输了 O 型血浆，例 3 患者(ABX)输了 A 型红细胞，但都未出现不良反应。作者认为之所以没有出现不良反应，是因为输入血液抗体被患者血液所稀释，也可能与 B 亚型的抗原较弱，供血者的血清抗-B 抗体效价不高有关。这也可能是造成例 3 患者样本与供血员样本交叉配血时未出现不相容现象的原因。但若供血者的 B 亚型误定为 O 型，当输给 O 型患者时，则会有出现溶血性输血反应的危险，反应的强弱或是否出现反应与受血者血型抗体效价高低和供血员血细胞抗原的强弱有关，所以，鉴定血型亚型对临床安全输血至关重要。由于亚型血难以找到，临床需要输血时，可输 O 型洗涤红细胞或 AB 浆，无免疫抗体时，亦可输同型血。

## 9 《国产血型定型试剂导致 Bx 亚型漏检 1 例原因分析》

作者：王宏法，刘玉振

来源：中国误诊学杂志 2008 年 9 月第 8 卷第 25 期

#### 标本来源：

男，24 岁，未婚。在街头采血点初检血型定为 O 型，采血后复检正定型为 O 型，反定型为 B 型，正反定型不符，是 O 型血清中缺乏相应的抗体，还是红细胞含有极弱的抗原，需进一步确定。

#### 血清学结果：

(1) 血型鉴定献血者正反定型结果见表 1。

表 1 献血者血型正反定型结果

温度	正定型					反定型				
	国产		进口		抗 -AB*	抗 -H	Ac	Bc	Oc	自身 c
	抗 -A	抗 -B	抗 -A	抗 -B						
室温	0	0	0	1+	2+	3+	4+	±	0	0
4℃	0	0	0	2+	3+	4+	4+	1+	0	0
37℃	0	0	0	±	1+	2+	4+	0	0	0

注：\* 为人源性抗 -AB(5 份混合 O 型混合血清)

(2) 吸收放散能力试验：

用已知效价为 64 的抗-B 经献血者红细胞和对照 B 型红细胞吸收后，该献血者抗-B 的效价降为 16，对照红细胞抗-B 效价降为 0，再把吸收抗体后的献血者红细胞和对照红细胞做放散试验，该献血者放散抗-B 的效

价为 8，对照红细胞放散抗-B 效价为 0。

### (3) 血型物质检查：

献血者唾液中不含有 A、B 物质而含有 H 物质。

### 讨论：

B 抗原由强到弱次序是 B>B<sub>2</sub>>B<sub>3</sub>>B<sub>x</sub>>B<sub>m</sub>>B<sub>el</sub>。B 和 B<sub>3</sub> 的区别是 B 凝集成一个大的凝集块，B<sub>3</sub> 为混合外观，B<sub>2</sub> 凝集强度介于 B 和 B<sub>3</sub> 之间。B<sub>x</sub>、B<sub>m</sub>、B<sub>el</sub> 区别是三者均与抗-A、抗-B 不凝集，而 B<sub>x</sub> 与抗-AB 发生凝集，B<sub>m</sub>、B<sub>el</sub> 都与抗-AB 不凝集。B<sub>m</sub> 与 B<sub>el</sub> 区别在于 B<sub>m</sub> 分泌型人中含 B 物质，而 B<sub>el</sub> 分泌型人中不含 B 物质。

该献血者正定型在室温下与国产抗-A、抗-B 均不凝集，与进口抗-A 不凝集、抗-B 凝集，与人源抗-AB 凝集，说明献血者红细胞上有弱 B 抗原，其反定型与 A 型红细胞凝集，与 B 型红细胞在 4℃ 有弱凝集，说明献血者血清中有抗-A 和低温弱抗-B，但在 37℃ 时，反定型只有 A 型红细胞凝集，其余均不凝集。该献血者分泌型个体的唾液中缺乏 B 物质，仅有 H 物质。其红细胞能吸收抗-B，但放散抗-B 的能力要比正常对照 B 细胞强。参照正反定型，综合试验结果，判定该献血者血型为确认为 B<sub>x</sub> 亚型。

血型定型试剂漏检的原因：《中国生物制品规程》2000 年版对抗-A、抗-B 血型定型试剂(血型抗体)制造及鉴定其特异性要求：抗-A 只凝集含 A 抗原红细胞，包括 A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>，未要求凝集 A<sub>3</sub>、A<sub>x</sub> 抗原红细胞，抗-B 只凝集含 B 抗原红细胞，包括 B 和 AB，未要求凝集 B<sub>3</sub>、B<sub>x</sub> 抗原红细胞，因此，目前符合批批检国家标准的血型定型试剂就存在漏检 ABO 弱亚型的隐患。若按国际输血协会(ISBT)标准，则能检测出 A<sub>x</sub>、B<sub>x</sub> 亚型血型，这也是进口试剂能检出 B<sub>x</sub> 亚型的原因。

防止血型定型试剂漏检的对策：(1)建议修改血型定型试剂的国家标准，要求能识别 A<sub>x</sub>、B<sub>x</sub>；(2)采用正确的血型的鉴定方法，即做正反定型；(3)对有疑难血型时，使用人源 O 型人血清来确认弱抗原，这种抗-AB 的混合物与弱 A 或 B 抗原亲和力强，会发生强反应；(4)使用两种以上国产和进口试剂进行确认。

### 输血策略：

B<sub>x</sub> 亚型如作为供血者，其血清中不规则抗-B 在 37℃ 没有活性时，可作为 B 型血输用。B<sub>x</sub> 亚型如作为受血者，因血浆中含有抗-B，给患者输 O 型洗涤红细胞，以确保输血的安全性。

## 10 《1 例 B<sub>3</sub> 亚型的血清学和分子生物学分析》

作者：黄颖，蔡学娇

来源：《中国卫生检验杂志》2019 年 8 月第 29 卷第 16 期

### 摘要：

目的：对 1 例 B<sub>3</sub> 亚型进行血清学和分子机制研究。

方法：应用单克隆抗-A、抗-B、抗-H 试剂检测患者红细胞 ABO 抗原，应用标准 A、B、O 红细胞检测血清中 ABO 抗体，再对 ABO 基因 6、7 外显子和部分内含子进行聚合酶链反应和基因测序分析。

结果：患者红细胞与抗 B 呈弱凝集反应(呈混合视野)，血清中存在抗 A 抗体，基因测序显示 ABO 基因在第

3 内含子发生 IVS3+5G>A 杂合突变, 符合 B303 特征。

结论: ABO 基因 IVS3+5G>A 杂合突变导致 D-半乳糖转移酶活性降低, 引起 B3 表现型。

#### 标本来源:

患者为正常妊娠女性, 27 岁, 汉族, 既往无输血史, 常规 ABO 血型鉴定正反定型不一致。

#### 血清学结果:

从表 1 的反应格局中提示红细胞存在较弱的 B 抗原, 并且镜下出现混合视野凝集, 抗-H 凝集 4+, 由此可判定患者为 B3 亚型可能, 需通过基因检测进一步判断。

表 1 患者 ABO 血型血清学结果

温度	正定型			反定型			
	抗-A	抗-B	抗-H	A 细胞	B 细胞	O 细胞	自身细胞
4 °C	0	mf	4+	4+	0	0	0
室温	0	mf	4+	4+	0	0	0
37 °C	0	mf	4+	4+	0	0	0

注: + 至 4+, 凝集强度递增; mf, 混合视野凝集。

#### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

3730 基因测序仪由美国 ABI 公司提供。ABO 基因第 6 外显子的 261 位 G 缺失, 297A>G 纯合突变。第 7 外显子上存在: 526G>C、657T>C、703G>A、796C>A、803G>C、930G>A、646T>A、681G>A、771T>C、829A>G 杂合突变, 其中在第 3 内含子发生 IVS3+5G>A 杂合突变, 这种突变破坏了剪接供体位点的共有序列, 并导致剪接错误, 该位点突变符合 B303 特点, 所以患者基因型确定为 B303/O02。

#### 讨论:

B 亚型按照血清学特点可分为 B3、Bx、Bel、Bw。B3 亚型最大特征是显微镜下呈现混合视野, 本文红细胞与抗-B 试剂反应出现混合视野凝集, 血清与标准 A 型红细胞反应呈 4+, 造成这种现象的原因国内鲜有报道。Lola Svensson 通过流式细胞检测发现血清学呈混合外观的亚型存在 2 种红细胞; Ding-Ping Chen 进一步对存在 IVS3+5G>A 突变的 B 亚型的混合外观现象深入研究, 发现 B 基因的 IVS3+5G>A 突变引起隐性剪接错误并产生至少 7 种选择性剪接类型, 超过 99% 的剪接转录物不产生功能性蛋白质, 少于 1% 剪接转录物会产生功能性 B3 蛋白, 而且仅一半 B3 蛋白具有正常功能, 从而造成了 B3 的混合凝集现象。目前报道的 B3 等位基因已达 16 种, B303 最早由 YU 报道, 国内对 B303、B05 也有见报道, Ding-Ping Chen 认为 B303 是台湾地区最常见 B3 等位基因。B3 最常见的分子机制是外显子上的点突变造成氨基酸改变, 影响酶的活性, 从而导致 B 抗原的弱表达。本文 B303 等位基因是第 3 内含子发生 VS3+5G>A 杂合突变, 这种内含子突变造成酶活性改变比较少见, 这种突变破坏了剪接供体位点的共有序列并导致剪接错误, 在 mRNA 剪接期间第 3 外显子被直接跳过, 使翻译产物中缺乏 19 个氨基酸, 造成 D-半乳糖转移酶活性降低, 形成 B3 亚型。ABO 亚型虽然少见, 但随着每年临床输血量不断增多, 亚型输血者的数量也随之增加, 而且亚型不合引起的输血反应, 会直接威胁患者的性命安全, 这引起了临床输血工作者的高度重视。

#### 输血策略:

该患者为妊娠孕妇, 若备 O 型洗涤红细胞比较容易造成浪费, 也不利于抢救, 而同型血液难寻, 综合考虑

建议产妇产前储存式自体备血。患者产程顺利，未输注自体血和异体血，因此对于亚型孕产妇采用储存式自体输血是最安全有效的方法。

## 11 《 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶基因 425C→T 突变导致 B3 亚型分析》

作者：崔文燕，王钰菁，邹纬，王学锋，蔡晓红

来源：郑州大学学报(医学版) 2018 年 9 月第 53 卷第 5 期

### 摘要：

目的：探讨 B3 亚型及其家系成员的血型血清学特点及分子机制。方法：对 B3 亚型及其家系成员进行 ABO 血型血清学定型，血浆 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性测定，ABO 基因第 6、7 外显子及其侧翼序列的 PCR 扩增，基因测序和克隆分析。结果：先证者血型血清学鉴定 ABO 血型为 B3 亚型，血浆中 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性 $<1$ ，该家系中 2 份标本 ABO 基因序列与标准序列相比，在第 7 外显子存在 c.425C→T 的杂合突变，致 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶的第 142 位氨基酸由甲硫氨酸替换为苏氨酸，先证者 ABO 基因型为 B305/O102，且能在家系中稳定遗传。结论：基因位点突变 425C→T 是导致 B3 亚型的分子遗传基础，DNA 测序能够阐述 ABO 血型亚型的分子机制及其稳定遗传特性。

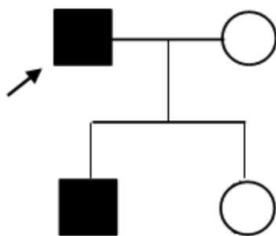
### 标本来源：

先证者为瑞金医院患者，男，92 岁，汉族，既往无特殊病史，无输血献血史，家族中无遗传病史。因胆囊结石行手术切除，ABO 血型鉴定正反定型不一致，并用试管法进行复检。采集其儿子、女儿血标本进行分析，家系图见图 1。所有标本均为 EDTA 抗凝外周静脉血 5mL。

### 血清学结果：

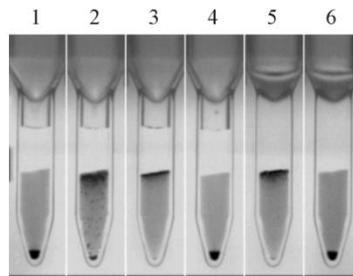
#### (1) 家系成员 ABO 血型血清学鉴定结果

先证者术前备血时自动血型检测系统发现 ABO 血型正定型抗 B 有混合视野凝集，反定型正常，自身对照阴性，见图 2，不规则抗体筛查阴性。立即进行试管法复验，试管法发现正定型抗 B 显示有+++混合视野凝集，反定型正常，鉴定为 B3 亚型。先证者儿子、女儿血型血清学检测结果见表 1。



□:男性;○:女性;■:B3 亚型者;→:先证者

图 1 家系图谱



1:抗 A 抗体;2:抗 B 抗体;3:抗 D 抗体;4:自身对照;5:A1 细胞;6:B 细胞

图 2 先证者自动血型检测系统结果

表 1 B3 亚型家系成员血型血清学检测结果

被检人	反应条件	红细胞正定型		血清反定型			H 抗原测定		
		抗 A	抗 B	Ac	Bc	Oc	Bc	Oc	Pe
先证者	试管法	-	+++ <sup>w</sup> mf	+++	-	-	+ <sup>w</sup>	+++ <sup>w</sup>	+++ <sup>w</sup>
	多次离心	-	+++mf	+++	-	-	未测	未测	未测
	37 °C 5 min	未测	未测	+++ <sup>s</sup>	-	-	未测	未测	未测
先证者之子	试管法	-	++ <sup>w</sup>	+++ <sup>s</sup>	-	-	+ <sup>w</sup>	+++ <sup>w</sup>	+++ <sup>w</sup>
	多次离心	-	++ <sup>w</sup>	+++ <sup>s</sup>	-	-	未测	未测	未测
先证者之女	试管法	-	-	+++	+++	-	未测	未测	未测
	多次离心	-	-	+++	+++	-	未测	未测	未测

+++：一个结实的凝块，背景清晰；++：结实的凝块，重摇后背景仍然清晰；+：不结实的凝块，重摇后背景从清晰到浑浊；+：散在明显的小凝块，轻摇后背景浑浊；-：阴性，细沙样均匀滑落；mf：混合视野，凝集与不凝集同时存在；s：较强；w：较弱

## (2) $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性测定结果

先证者及其儿子的血浆 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性均 $<1$ ；阳性对照为 $1:64$ ，阴性对照为 $<1$ 。

## DNA 测序及克隆分析结果：

送上海生工生物工程技术有限公司进行检测，用 DNA 测序仪(美国 ABI 公司，型号：PRISM377)。先证者第 6 外显子测序显示：261 缺失 G 杂合，297G $\rightarrow$ A。第 7 外显子测序显示：425C $\rightarrow$ T，526G $\rightarrow$ C，657T $\rightarrow$ C，681A $\rightarrow$ G，703A $\rightarrow$ G，771T $\rightarrow$ C，796C $\rightarrow$ A，803C $\rightarrow$ G，930A $\rightarrow$ G。等位基因的命名遵循 ISBT 命名法。患者 ABO 基因第 7 外显子存在 c.425C $\rightarrow$ T 杂合突变，克隆后的 PCR 产物测序结果显示：c.425C $\rightarrow$ T 突变位于患者的 B 等位基因上，即先证者 ABO 基因型为 B305/O102。425C $\rightarrow$ T 突变导致 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶的第 142 位氨基酸由甲硫氨酸转变为苏氨酸。先证者之子与先证者碱基突变位点一致，也存在 425C $\rightarrow$ T 突变，基因型鉴定为 B305/O102；先证者之女为 O102。

## 讨论：

本研究通过对先证者家系基因测序发现，先证者血浆中 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性很弱，存在 c.425C $\rightarrow$ T 位点突变，其儿子遗传了该突变，最终确定为 B305/O102 亚型，符合孟德尔遗传规律。这说明 B3 亚型除了具有明确的血清学特点外，还具有遗传特性。与 B101 序列相比，425 位点这一突变导致多肽链第 142 位甲硫氨酸被苏氨酸替换。甲硫氨酸是含硫的两性氨基酸，在代谢中起着重要作用，可以反应生成 S-腺苷-L-甲硫氨酸，在反应中是甲基供体的服务器。苏氨酸是含有羟基的亲水分子氨基酸，替换甲硫氨酸可造成 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性部分丧失，致使 D-半乳糖通过糖基化作用与前体 H 物质的连接发生部分失活，使得 B 抗原合成量减少，出现了混合视野。先证者红细胞与抗 H 抗体作用后增强也佐证了这一点。

ABO 亚型具有相对特殊的血清学特征，混合视野凝集是 B3 亚型红细胞的明显特征，显微镜下观察，B3 亚型红细胞与抗 B 或抗 AB 血清孵育后出现一些被绝大部分游离的非凝集红细胞包围的数个红细胞形成的凝集块。若将凝集细胞去除，剩余的游离细胞再与抗 B 血清反应，仍然出现混合视野凝集。对先证者进行血清学检测发现，红细胞与抗 B 抗体作用出现+++混合视野凝集、反定型一致，不规则抗体筛查阴性，鉴定为 B3 亚型；采集其儿子、女儿血标本进行检测，儿子与父亲血型一致，正定型抗 B 出现++混合视野凝集，反定型 B 型，鉴定为 B3 亚型，女儿为 O 型。

本文通过 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性测定显示先证者血浆中 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性 $<1$ ，提示先

证者血浆中 $\alpha$ -1,3-D-半乳糖基转移酶活性很弱，B3 亚型等位基因编码的糖基转移酶运转能力差，这可能与亚型血型本身红细胞上的 B 抗原量少、糖基转移酶活性低有关。

目前发现，425 碱基突变 C→T 存在于 2 种等位基因上：在 A 等位基因上突变导致 Ael 表型，在 B 等位基因上突变导致 B3 表型。许先国等报道的 2 例 B305 等位基因与 A1(A101 或 A102)等位基因组合遗传表现为 B3 变异型，出现混合外观凝集现象；李归冀等报道 B305 与 O101 等位基因组合在一起，血清学表现为比正常 B 抗原凝集稍弱，未出现 B3 血型特异性的混合外观表现。而在本例样本中发现，B305 与 O102 组合在一起，表现出混合视野凝集。这表明 B305 与不同等位基因组合，血清学表现会有所不同，这还需要进一步的群体调查或者体外表达去验证。

## 12 《A1B309 亚型的血清学鉴定及基因序列分析》

作者：高健 龚妍妍 谷小燕

来源：《临床血液学杂志(输血与检验)》 2019 年 02 期

### 摘要：

目的：通过探讨 ABO 亚型，提高红细胞输注有效性。方法：ABO 血型鉴定，基因测序。结果：血型血清学结果表现为 AB 亚型，A 抗原表现正常，B 抗原减弱；基因直接测序结果表现为 A1B309 亚型。结论：正确检测红细胞血型，能够提高红细胞输注的有效性。

### 标本来源：

无偿献血者，女，20 岁，学生，因我单位检验科血型鉴定与采血科初筛结果不相符送我科进行血型鉴定，体检征询符合《献血者健康体检要求》。

### 血清学结果：

该献血者的血清学表现为 AB 亚型，A 抗原强度表达正常，B 抗原较正常减弱，患者红细胞与抗-H 的反应没有增强。ABO 正反定型：抗-A 4+，抗-B 2+mf，抗-AB 4+，Ac 0，Bc 0，Oc 0，自身 c 0（数字代表+的个数，代表反应强度，0 代表无凝集、无溶血，mf 代表混合视野）。红细胞 H 抗原检测：B1 2+，B2 2+，O1 4+，O2 4+，献血者±（B1 和 B2 分别代表 B 型献血者 1 号、2 号，O1 和 O2 分别代表 O 型献血者 1 号、2 号）。

### ABO 血型基因 DNA 测序结果：

直接测序：直接测序分析第 6、7 外显子，患者测序结果与 A101 等位基因对比发现存在 255C>T，297A>G，467C>T，526C>G，657C>T，703G>A，796C>A，803G>C，930G>A 等 9 个位点的突变，该患者根据测序结果确定为 A102B309 亚型。A102 亚型的血清学表现型，凝集强度正常，单考虑 B 基因，与 B101 等位基因对比仅第 255 位碱基 C>T 突变。

### 讨论：

中国汉族人群中 B3 亚型很少见，900 个 B 型个体中有 1 例是 B3，1800 个 A1B 个体中有 1 例 A1B3。血型

抗原位点减少，或是亚型血清中产生的不规则抗-A、抗-B，导致血型鉴定或临床输血困难的病例临床较多见。不同亚型在临床输血时有不同的原则，如果输血不合会引起严重的血管内溶血反应，因此需高度引起注意，正确鉴定 ABO 血型对安全输血很重要。该献血者出现了混合视野，强度符合 A1B3，基因直接测序分析发现相对于 B101 基因序列仅在第 255 位碱基处发生突变 (C>T)，结合两者确定为 A1B309 亚型。B3 亚型由于抗原减弱，红细胞上会出现 H 抗原表达增强，但 A1B3 有 A1 抗原的正常表达，所以红细胞表面的 H 抗原并没有增强。基因测序是获知亚型的直接证据，而目前临床输血讲究相容性原则，因此临床输血检测实验还主要依赖于对血清学实验的判断。血清学方法是输血前检测的常规方法，结合基因测序，对临床安全输血更有保障。

**输血策略：**

AB 型在做血清学试验过程中，出现混合视野的亚型有 A1B3 和 A1Bend，而两者输血原则有所不同，前者建议输注 AB 型红细胞或洗涤 B 型红细胞又或是 O 型洗涤红细胞；后者一般建议输注 AB 型红细胞。一般情况下，两者常规血清学试验可以根据凝集强度的不同区分两者，不能区分的情况下建议输注 AB 型红细胞。

## 13 《一例罕见 AB 亚型的分子生物学研究分析》

作者：李双玉，董磊，解金辉，赵瑛

来源：《现代检验医学杂志》第 33 卷 第 4 期 2018 年 7 月

**摘要：**

目的 分析研究一名献血者 ABO 血型形成的分子生物学机制。方法 用血清学方法检测 ABO 和 H 抗原，应用聚合酶链式反应 (PCR) 检测其基因型，再对 ABO 基因第 6, 7 外显子进行直接测序。结果 该献血员血清学检测为 AB 亚型，PCR 结果为 A2/Bw12，直接测序结果为 A205/Bw12。结论 该献血员血型是一例比较罕见的 AB 双侧亚型。为保障输血安全，在该献血员不含抗体的情况下，其血液可以输注给配血相合的 AB 型患者。

**标本来源：**

本中心检验科送检的一例献血员 ABO 疑难血型标本。

**血清学结果：**

见表 1。正定型是 AB 型，反定型也是 AB 型，但是凝集强度有变化，提示可能是亚型。

方法	抗-A	抗-B	抗-AB	抗-A1	抗-H	A1c	Bc	Oc	自身 c
献血员正反定型试管法	4+	2+	-	w+	3+w	0	0	0	0

**PCR-SSP 检测结果：**

分别用 **秀鹏生物技术有限公司的两种试剂盒 ABO-II 代和 B 亚型** 做基因分型，按照试剂说明书操作。对照其结果分型表 (试剂盒每一孔所含引物已标注在电泳胶图上) 判断 ABO 的基因型。ABO-II 代试剂盒的基因分型结果是 A2/B，见图 1，A 侧是亚型，具体是 A2 中的哪一种亚型不能确定。B 亚型试剂盒的基因分

型结果是 A/Bw12，见图 2。

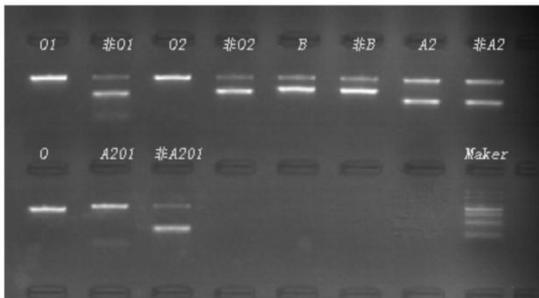


图 1 ABO-II 基因分型结果

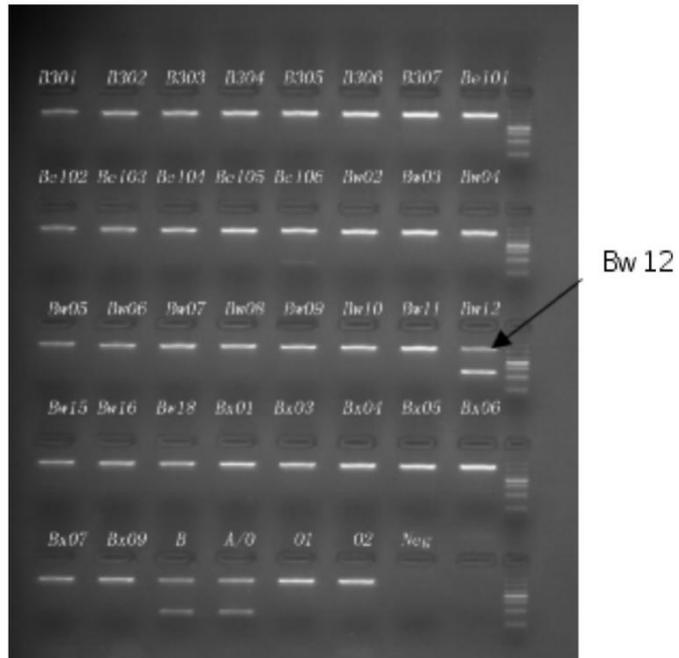


图 2 B 亚型基因分型结果

### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

送英潍捷基（上海）贸易有限公司直接测序。467C>T, 1009A>G, 引起第 156 氨基酸由脯氨酸（P）变成了亮氨酸（L），337 位由精氨酸（R）变成甘氨酸（G），符合 A205 的变化。B 侧突变位置比 B101 多一个，即 278C>T, 导致 93 位的脯氨酸（P）变为亮氨酸（L），与 Bw12 一致。测序结果是 A205/Bw12。

### 讨论:

弱的 B 变异型相对较少，而且难以分类，目前较多报道的有 B(A), B3, Bel, Bw 等。为保障输血安全，正确鉴定 ABO 血型，避免出现因 ABO 血型不合而导致严重的输血反应非常重要。临床上常用血清学方法鉴定 ABO 血型，这种方法易受实验室操作不当、不规范操作、生理因素、疾病、治疗措施等诸多因素影响，出现正反定型不符或凝集强度变化的情况。对于患者而言，出现上述情况时不仅要考虑亚型的可能性，还要考虑年龄、疾病、药物等多种因素带来的影响。而对无偿献血者（健康人）来讲，相对简单些，亚型的可能性比较大。本文中的献血者红细胞与单克隆抗 A 血清反应呈强凝集，而与抗 A1 血清反应呈弱凝集结果，故血清学倾向于 A2 型，而与抗 B 血清反应凝集强度明显低于正常凝集，又怀疑有 B 亚型，通过 PCR 和直接测序验证了这一结果。在日常工作中，当出现正反定型不符时，很容易引起实验人员的注意，但是对出现正反定型一致，只是凝集强度发生变化，加之实验人员经验不足，容易被忽略、漏检，应该引起注意。目前，红细胞血型鉴定的方法很多，当通过抗人球试验、吸收放散、酶化实验等多种血清学方法无法鉴定血型时，可以利用分子生物学技术作为补充，帮助鉴定血型。

### 输血策略:

本文中献血者虽然是 AB 双侧亚型，但没有抗体，其与 AB 型患者盐水、凝聚胺和卡式交叉配血均阴性，其血液可以输注给交叉配血相合的 AB 型患者。如果献血员体内有抗体，为了输血安全，最好不要给患者输注

这种血液。如果患者是这种血型，我们首选主侧配血阴性的洗涤 O 型红细胞，血浆、单采血小板选 AB 型；有条件再寻找交叉配血阴性的同型红细胞。有文献报道在紧急情况而又无库存洗涤红细胞时，也可以输注 O 型去白悬浮红细胞。

## 14 《Bx 亚型 1 例的分子生物学鉴定》

作者：刘伟，李代红，刘纯

来源：《中南大学学报(医学版)》2011，36(12)

### 摘要：

采用标准分析方法分析 1 例 Bx 亚型的血清学特征，再采用 PCR-SSP 技术做 ABO 初步基因分型，并对 ABO 基因第 6 外显子和第 7 外显子进行测序。该标本血清学检测结果：与抗 B 反应为无或 1+，与抗 AB 反应为 1+或 2+，自身不凝集。PCR-SSP 结果为 Bx02/O2。ABO 基因测序结果显示：B 基因外显子 6 出现 261G 缺失，297 为 GG 纯合子，表明该标本为 B 型与 O2 杂合；外显子 7 直接测序出现 297A>G，526C>G，657C>T，703G>A，796C>A，803G>C，905A>G，930A>G，表明该标本为 Bx02 与 O2 的杂合；外显子 7 克隆测序出现 803G>C，905A>G，表明该标本为 Bx/O2。该标本血清学表型为 B 型，测序结果与 Genbank 网站比对鉴定为 ABO\*Bx. 02. 1. 1 与 ABO\*O21. 01. 1. 1 的杂合。

### 标本来源：

患者，男，系天津市第一中心医院骨科住院病人，无输血史，常规血型血清学检测正反定型不符。采集静脉 EDTA 抗凝血 2~3mL。

### 血清学结果：

与抗 B 反应无或 1+；与抗 AB 反应 1+或 2+；自身不凝集，结果详见表 1。

表 1 ABO 正反定型结果

Tab. 1 Results of ABO forward and reverse type			
定型	室温	4 °C	37 °C
时间/min	立即	30	30
正定型			
抗 A	-	-	-
抗 B	-	1 +	-
抗 AB	1 +	2 +	1 +
反定型			
A 细胞	4 +	4 +	4 +
B 细胞	-	-	-
O 细胞	-	-	-
自身细胞	-	-	-



图 1 ABO B 基因 PCR-SSP 结果。

### PCR-SSP 检测结果:

使用 **人类 ABO 血型 B 亚型基因分型检测试剂盒 (PCR-SSP 法, 天津秀鹏生物技术开发有限公司)** 进行 ABO 基因分型检测。根据读板纸证实 Bx 样本基因型为 Bx02/O2(图 1)。

### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

使用 BigDye v3.1 和 ABI 基因测序仪(由美国 AB 公司提供)进行测序。exon6 测序出现 261G 缺失, 297 为 GG 纯合子, 表明该标本为 B 型与 O2 杂合。Exon7 克隆测序出现 803G>C, 905A>G(图 2)。Exon7 直接测序出现 297A>G, 526C>G, 657C>T, 703G>A, 796C>A, 803G>C, 905A>G, 930A>G, 主要是 796A/C, 803G/C, 905A/G 的杂合。

### 讨论:

本研究采用常规血清学方法进行检测, 结果发现红细胞上 B 抗原明显减少, 与抗 AB 反应略增强, 确定为 B 亚型。进一步采用 PCR-SSP 对 ABO 亚型标本进行初步 ABO 基因定型, 证实 Bx 样本基因型为 Bx02/O2。测序结果显示: 第 6 外显子出现 261G 缺失, 297 为 GG 纯合子, 表明该标本为 B 型和 O2 杂合。第 7 外显子克隆测序出现 803G>C, 905A>G; 表明 B 基因克隆测序结果为 Bx/O2。第 7 外显子直接测序出现 905A/G, 796A/C, 803G/C 的杂合, 表明该标本为 Bx02 与 O2 的杂合。目前发现的 Bx 亚型有 9 种, 分别为 Bx01—09。与 B1 比较, 其主要的突变点为 Bx01: 871G>A; Bx02: 905A>G; Bx03: 541T>C; Bx04: 588C>G; Bx05: 976G>T; Bx06: 900G>C; Bx07: 808T>A; Bx08: 550G>A; Bx09: 889G>A。焦立新等报道: Bx02 位点是一个 905A>G 点突变, 导致 B 糖基转移酶 D302G 氨基酸改变, D302G 氨基酸替换改变了酶的高度保守区域, 并减弱了糖基转移酶的活性, 导致 Bx02 表型的出现。因此, 点突变可解释众多血清学弱 B(或弱 A)现象产生的原因——基因突变能导致糖基转移酶活性部分丧失, 从而引起糖类与相应前身物质的连接发生部分缺失, 导致 B(或 A)抗原减弱。Bx 亚型是 ABO 血型中 B 型红细胞上抗原量减少所致, 容易误把 Bx 亚型误定为 O 型, 给临床输血带来危险, 因此应采用多种方法进行检测, 尤其是随着分子生物学技术的发展, 基因检测技术日益广泛应用于临床, 从而可确保临床输血的安全。

## 15 《1 例罕见的 B(A)亚型的鉴定》

作者: 梁路石, 史丽莉, 芦慧霞, 张敏, 侯希亮

来源: 《临床检验杂志》2018 年 12 月第 36 卷第 12 期

### 标本来源:

女, 30 岁, 行产前检查未提示血液系统疾病, 输血史不详。微柱凝胶法检测 ABO 血型提示正反定型不一致, 正定型与抗 A 试剂凝集强度为 2+, 与抗 B 试剂凝集强度为 4+, 反定型与 A1 细胞凝集强度为 4+, 与 B 细胞不凝集。将患者红细胞三次洗涤后试管法复检血型, 反应格局同上。

### 血清学结果:

(1) 与特殊分型试剂及不规则抗体筛选红细胞反应

结果见表 1。

表 1 血清学检测结果

样品	抗 A <sub>1</sub> 血清	人源抗 A 血清	A <sub>2</sub> 型 红细胞	单人份 A <sub>1</sub> 型红细胞			不规则抗体筛选红细胞			抗 H 血清
				I	II	III	I	II	III	
患者细胞/血浆	0	0	2+	4+	4+	4+	0	0	0	4+
B 型红细胞	/	/	/	/	/	/	/	/	/	2+
O 型红细胞	/	/	/	/	/	/	/	/	/	4+

注：“/”未做实验。

(2) 吸收放散实验

将患者红细胞、AB 型健康成人红细胞分别与效价为 32 的人源抗 B 血清、效价为 128 的单克隆抗 B 标准血清进行 4℃吸收实验，选用 56℃热放散法重获血型抗体，分别检测抗 B 血清效价及放散液中抗体效价。人源抗 B 血清经患者红细胞及 AB 型健康成人红细胞吸收后效价分别降为 8 和 0，患者红细胞放散液中抗 B 效价为 8，AB 型健康成人红细胞放散液抗 B 效价为 0。单克隆抗 B 标准血清经患者红细胞及 AB 型健康成人红细胞吸收后效价分别降为 16 和 0，患者红细胞放散液中抗 B 效价为 16，AB 型健康成人红细胞放散液抗 B 效价为 4。

**ABO 血型基因 DNA 测序结果：**

由江苏省血液中心输血研究室完成。ABO 基因第 6 外显子 261 位点缺失 G，297 位点出现 A/G 突变，为 O01 基因。第 7 外显子有 526C/G、657C/T、703G/A、796C/A、803G/C、930G/A 突变，为 B101 基因且出现 B(A)02 型 700C/G 特异突变，使 234 位氨基酸脯氨酸变为丙氨酸，确定该标本为 B(A)02/O01 杂合基因型。

**讨论：**

B(A)亚型是一种罕见的 ABO 亚型，其分子机制为 B 等位基因在正常 B 基因序列的基础上发生单碱基突变，使其具有编码双功能活性酶的能力。B(A)亚型在血清学检测中除表现 B 抗原特异性外，还表现少量 A 抗原特异性，从而干扰血型鉴定及配血工作。B(A)型如误定为 AB 型，输入 AB 型红细胞可引起溶血性输血反应。国内已报道 7 个等位基因，其中 B(A)02 型发生率为 0.78/10 万。在该例血型鉴定中，根据微柱凝胶卡初检结果，首先洗涤红细胞并通过试管法结合镜检复检血型，排除 A 抗原假阳性的可能，并根据凝集外观排除 A3B 型，对照孔阴性排除自凝集现象。根据反应格局，分析可能的情况有：(1)AB 型其中 A 抗原减弱并伴有不规则抗体；(2)A2B 型或 AxB 型伴有抗 A1 抗体和/或其他不规则抗体；(3)B(A)型；(4)CisAB/B 型。白血病引起的血型抗原减弱，其各抗原减弱程度可表现为不一致，存在 AB 型患者表现为单独 A 抗原减弱的案例报道。若伴随其他血型系统的完全抗体则可能表现出表 1 格局。本例中盐水试管法不规则抗体筛查为阴性予以排除。B(A)型中的 A 抗原一般较弱，但其对不同厂家来自不同细胞系的抗 A 血清试剂有不同反应，有些可漏检而有些凝集强度可以达到 4+，故与单克隆抗 A 血清凝集强度上无特征性表现。与抗 A1 标准血清不凝集，则排除 A1B 型和 AintB 型，考虑其他亚型可能。与人源抗 A 血清不凝集，是 B(A)型区别于其他 AweakB 型的一大特征，但也有报道表明 B(A)型与高效价的人源抗 A 血清可能出现弱凝集。患者血浆与 3 个单人份 A1 型红细胞及 A2 型红细胞均出现凝集，证明为抗 A 抗体而非抗 A1 抗体，A2B 型与 AxB 型只

能产生抗 A1 抗体。本例患者 H 抗原增强，与 O 型红细胞 H 抗原相当，而 A2B 型与 AxB 型因有正常的 B 基因其 H 抗原均较弱。CisAB 型血清学多表现为 ABweak 型，如国内大多报道为 A2B3 型或 A2Bx 型，常伴不规则抗 B，H 物质增多，若同时存在 B 等位基因，则可掩盖其 B 抗原的异常，亦无抗 B 抗体，但其 H 抗原不增强。B(A)型中的 B 抗原与 AB 型中的 B 抗原难以区别，可利用吸收放散实验，其特点表现为吸收抗 B 能力弱，而放散抗 B 能力强。

#### 输血策略：

本例可选择交叉配血相合的 B 型悬浮红细胞，而有些经过分子生物学鉴定为 B(A)型的样本仅靠血清学实验无法最终鉴定，此时输血科应积极与临床沟通明确患者用血紧急程度，是否有自体输血条件，并适时启动相容性输血，不可因等待分子生物学报告而延误患者治疗，甚至造成严重后果。

## 16 《罕见 B(A)02 亚型的血清学特性及基因表达分析》

作者：刘秋菊，王少永，林甲进

来源：《中国卫生检验杂志》2019 年 1 月第 29 卷第 1 期

#### 摘要：

目的留取临床血清学表现为 AwB 的血标本进行血型血清学、基因序列检测，探讨其基因表达机制，为临床安全输血提供理论基础。方法采用常规试管凝集法检测 ABO 正反定型，采用 PCR-SSP 法进行其基因分型并测序。结果 3 例样本常规血清学表现红细胞与抗-Aw~2+凝集，与抗-B4+凝集，与抗-A1 不凝集，反定型含有抗-A 抗体；PCR-SSP 法检测标本基因型均为 B(A)型，测序发现均在 700 位核苷酸发生 C>G 的单碱基突变。结论经血清学和基因测序证实，3 例为 B(A)表现型，并携带有 B(A)02 等位基因。

#### 标本来源：

3 例标本来自临床检验中发现 ABO 血型正反定型不一致的血样，分别记为标本 1~3，均无血缘关系。血液采集经患者知情同意，抽取外周静脉 EDTA 抗凝血 5ml 待检。

#### 血清学结果：

试管凝集法检测 3 例样本血型血清学特性，表现红细胞与抗-A 呈 w~2+凝集，与抗-B 呈 4+凝集，与抗-A1 不凝集，反定型含有抗-A 抗体，结果类似于 A 弱 B 强(表 1)。

表 1 3 例血样标本的血型血清学检测结果

标本	抗-A	抗-B	抗-A1	抗-H	Ac	Bc	Oc	自身c
1	W+	4+	-	3+	3+	-	-	-
2	1+	4+	-	3+	2+	-	-	-
3	2+	4+	-	3+	3+	-	-	-

注：- 表示不凝集；W+ 表示弱凝集；1+~4+ 表示凝集强度。

#### PCR-SSP 检测结果：

使用**人类红细胞 ABO 血型-B(A)、CisAB 基因分型试剂盒(中国天津市秀鹏生物技术开发有限公司)**进行 ABO 基因分型检测。标本基因型均为 B(A)型。

#### **ABO 血型基因 DNA 测序结果:**

使用 3730 基因测序仪(美国 ABI 公司)。标本 1~3 的 Exon6 为 261delG 和 297A>G, Exon7 为 526C>G、646T>A、657C>T、681G>A、700C>G、703G>A、771C>T、796C>A、803G>C、829G>A、930G>A 杂合;显示其中 1 条单体型为 O02,与标准序列比对,发现均在 700 位核苷酸发生 C>G 的单碱基突变,基因型确定为 B(A)02/O02。

#### **讨论:**

ABO 亚型可表现出抗原抗体的异常出现、减弱或消失,引起 ABO 血型正反定型不一致,引起血型鉴定困难,这类罕见表型虽然在人群中出现频率较低,但每年临床上需输血人数多,遇到此类表型患者会造成定型配血的困难,又很难找到相应配合的血液,常会耽误患者的抢救和治疗。B(A)型发生比率为 1/(170000~590000),在遗传学上被认为是 B 型红细胞表达较弱的 A 抗原为特性的常染色体控制表型,呈顺式方式遗传,据报道已有 6 种 B(A)型等位基因, B(A)01~B(A)03 首先国外报道, B(A)04~B(A)06 首先国内报道,国内报道也以 B(A)02、B(A)04 为主,文献报道以实验室检测、鉴定正确血型、指导安全输血等内容及个案报道为主。在血清学上表现 B 抗原特异性和少量的 A 抗原特异性,但并不携带 A 等位基因,仅携带 1 个 O 等位基因和 1 个 B(A)等位基因,经其 ABO 基因的第 6 内含子和第 7 外显子测序,确定基因型为 B(A)02 亚型,与 B101 等位基因序列相比,在第 7 外显子存在 700C>G 突变,导致 234 位点的脯氨酸突变为丙氨酸,从而影响鉴定血型的重要残基,233 位点组氨酸、266 位点甲硫氨酸及 268 位点丙氨酸的空间构象,继而改变 ABO 相关的酶类特异性。目前本科发现的 B(A)型仅有 B(A)02 与 B(A)04,认为 B(A)02 型与 B(A)04 型等位基因可能是国内人群 B(A)亚型变异的主要遗传类型,也可能是本地区人群中 B(A)亚型以 B(A)04、B(A)02 基因型为主。所以,无论在临床血型鉴定中,还是在献血鉴定血型时,一定要严格进行 ABO 正反定型,如发现正反定型不一致时,务必结合血型血清学和分子基因技术,正确鉴定血型,以免漏检亚型,从而对保证临床输血安全具有重要的意义。

#### **输血策略:**

对正反定型不符的 ABO 血型患者输血除符合条件采用自体输血外一般遵循同型或相容性输血原则, B(A)型在血清学和遗传学上属于 B 亚型,其个体输血适用于 ABO 亚型原则,即 B(A)型患者如输血时可输洗涤 B 型或三洗 O 型红细胞, B(A)型供血者的红细胞可通过三洗后输给 AB 型患者。

## **17 《罕见 B(A)血型的鉴定》**

**作者:熊莉,周小英,吴红,唐绮,李国良**

来源:《临床检验杂志》2018 年 6 月第 36 卷第 6 期

#### **摘要:**

目的：观察 2 例罕见 B(A)血型的血清学特征并研究其分子机制。

方法：用血型血清学鉴定 2 例献血者标本 ABO 血型，用序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)基因分型和直接测序确定其基因型。

结果：2 例献血者血型血清学检测结果均表现为 B(A)亚型的特点。标本 1 基因分型为 BO2，测序结果为第 7 外显子 B 基因发生 640A>G 突变，符合 B(A)04/O02 的基因型特点；标本 2 基因分型为 BO1，测序结果为第 7 外显子 B 基因发生 700C>G 突变，符合 B(A)02/O01 的基因型特点。

结论：2 例标本均为 B(A)表现型，基因型分别为 B(A)04/O02 和 B(A)02/O01。

#### 标本来源：

2 例血清学定型困难的血液标本均来自健康献血者。1 例为本血液中心检验科送检标本，男，28 岁；1 例为景德镇中心血站送检的疑难血型标本，男，37 岁。

#### 血清学结果：

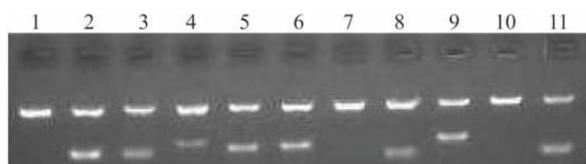
2 例献血者标本经试管法检测，正定型结果：红细胞与抗 A 弱凝集，与抗 B 正常凝集，与抗 A1 不凝集。反定型结果：血清仅与 A 细胞凝集。见表 2。

表 2 2 例献血者标本的血型血清学检测

	抗 A	抗 B	抗 A1	抗 AB	抗 H	A <sub>1c</sub>	A <sub>2c</sub>	Bc	Oc	自身 c
献血者 1	1+	4+	0	4+	3+ <sup>s</sup>	2+	1+ <sup>w</sup>	0	0	0
献血者 2	2+	4+	0	4+	3+ <sup>s</sup>	1+	1+ <sup>w</sup>	0	0	0

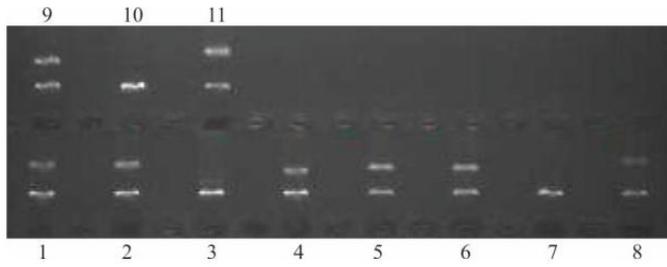
#### PCR-SSP 检测结果：

使用 **人类红细胞 ABO 血型基因分型试剂盒(天津秀鹏公司)**，2 例献血者标本 ABO 基因检测结果分别为 BO2 和 BO1，未检测出 A 等位基因，结合血清学表现，推测为 B(A)亚型(图 1、2)。



注：1~11 孔分别为 O1、O2/B/A/A2、O2、O1/B/A/A2、B、A/A2/O1/O2、A2、A/B/O1/O2、O、A201、非 A201 引物扩增产物。

图 1 标本 1 基因分型结果



注：1~11 孔分别为 O1、O2/B/A/A2、O2、O1/B/A/A2、B、A/A2/O1/O2、A2、A/B/O1/O2、O、A2O1、非 A2O1 引物扩增产物。

图 2 标本 2 基因分型结果

### ABO 血型基因 DNA 测序结果：

测序实验在中国医学科学院输血研究所完成，用 BigDye terminator v3.1 sequencing Kit 做双向测序反应。

献血者标本 1 第 6 外显子区域存在 261G/del 和 297A/G，第 7 外显子存在 646T/A、657C/T、640A/G、681A/G、703A/G、771C/T、796A/C、803C/G、829A/G、930A/G 的杂合，其 B 基因发生 640A>G 的突变，符合 B(A)04/O02 的基因型特点。

献血者标本 2 的第 6 外显子区域存在 261G/del 和 297A/G，第 7 外显子存在 526C/G、657C/T、700C/G、703A/G、796A/C、803C/G、930A/G 的杂合，其 B 基因发生 700C>G 的突变，符合 B(A)02/O01 的基因型特点。

### 讨论：

B(A)血型是一种较罕见的 ABO 亚型。自 1993 年 B(A)01 被报道以来，至 2015 年 5 月，人类血型基因突变库(BGMUT)已报道的 B(A)等位基因有 6 种，B(A)02、B(A)04、B(A)05 和 B(A)06 均首先在国内发现，且以 B(A)02 和 B(A)04 基因频率最高，可能是我国 B(A)血型变异的最主要遗传类型。B(A)型的血清学特点是其红细胞能与抗 B 发生强凝集，与抗 A 发生弱凝集或不凝集，血清中含有抗 A。本文 2 例献血者的 ABO 血型血清学检测结果都表现出 A 强 B 弱的特点，这两位献血者标本经 PCR-SSP 检测，并不携带 A 等位基因，只携带了 1 个 O 等位基因和 1 个 B 等位基因，为了准确地判定 ABO 亚型，我们采用测序方法进一步确定其基因型。B(A)血型的遗传机制是正常的 B 等位基因发生关键的碱基突变，不仅可以正常编码产生 B 转移酶活性，还可产生弱的 A 转移酶活性。本研究测序结果显示，第 1 例献血者标本第 6 外显子存在 261G/Del 和 297A/G，说明有 O02 等位基因；第 7 外显子存在 nt640A>G 的错义突变，故该标本基因型确定为 B(A)04/O02。第 2 例献血者标本第 6 外显子为 261G/Del，说明有 O01 等位基因；第 7 外显子发生了 700C>G 的突变，这是 B(A)02/O01 的分子遗传学基础。B(A)亚型的血清学可有多种不同的表现，金沙等报道至少有 6 种表型 A2Bx、B(A)、AxB、ABx、AintBx 和 A2B。本研究中 2 例献血者标本均表现为典型的 B(A)血清型，唯一不同之处是 A 抗原以及血清中抗 A 的强度。B(A)04 亚型的 A 抗原弱于 B(A)02 亚型的 A 抗原，血清中抗 A 凝集强度也更大，这是否和 B(A)亚型类别不同有关，还需进一步研究。B(A)血型通常给血型鉴定和配血工作带来一定的困扰。因此，在常规血型鉴定中发现弱 A 或弱 B 且正反定型矛盾时，在条件允许

的情况下，应进一步进行分子生物学鉴定，确保血型鉴定的准确性和输血安全。囿于条件限制，本研究未能进行家系调查，对于这类特殊血型标本，应尽可能开展家系调查，对阐明分子遗传背景有重要意义。

## 18 《一个新等位基因 ABO\*B(A)07 的鉴定》

作者：骆宏，罗广平，张润青，莫春妍，廖志坚

来源：《中华医学遗传学杂志》2017, 34(6): 894-896

### 摘要：

目的：探讨一种新的 B(A)型的分子机制。

方法：应用 PCR-序列特异性引物检测一例 ABO 血型正、反定型不一致献血者的 ABO 基因型，同时扩增 ABO 基因的第 6 和第 7 外显子，并进行直接测序和克隆测序。

结果：ABO 血型正、反定型不一致献血者的红细胞不能吸收放散抗-A，血浆中未检出不规则抗体。PCR-序列特异性引物结果显示其基因型为 ABO\*B/O。测序结果显示一等位基因为 ABO\*O02，另一等位基因的突变位点为 297A>G、526C>G、657C>T、701C>T、703G>A、796C>A、803G>C、930G>A；该等位基因被 GenBank 收录(登录号 KM974887)，经检索血型抗原基因突变数据库证实为新的 B(A)等位基因。

结论：鉴定了一新的等位基因 ABO\*B(A)07，为深入研究血型抗原的异常表达和 ABO 血型的准确定型提供了依据。

### 标本来源：

献血者，女，45 岁，献血初筛检测时发现其 ABO 血型正、反定型不一致。签署知情同意后，抽取外周血 5mL，EDTA 充分抗凝后进一步鉴定，明确献血者的 ABO 血型。

### 血清学结果：

献血者红细胞与抗-A 有 2+ 的凝集、与抗-B 有 4+ 的凝集，反定型与 Ale 有 2+ 的凝集，唾液检出 B/H 血型物质(表 2)；吸收放散实验证实红细胞不能吸收放散人源抗-A；直接抗人球蛋白实验阴性；抗体筛选实验阴性。

表 2 献血者血清学定型结果

反应温度	抗-A		抗-B		Anti-A1	Anti-H	A1c	Bc	Oc	唾液检测
	单克隆	多克隆	单克隆	多克隆						
22℃	2+	-	4+	4+	2+	2+	2+	-	-	B/H
4℃	2+s	-	4+	4+	2+s	2+s	2+s	-	-	未检测

### PCR-SSP 检测结果：

用德国 Inno-Train 的 ABO 血型分型试剂盒，结果 B/O 型。

### ABO 血型基因 DNA 测序结果：

用 ABI 3130XL 基因测序分析仪(Applied Biosystems, 美国)。直接测序结果显示 ABO 基因第 6 和第 7 外显子存在 261delG、297A>G、526C>G、646T>C、657C>A、681G>A、701C>T、703G>A、771C>T、796C>A、803G>C、829G>A、930G>A、1096G>A 突变，除了 297A>G 为纯合突变，其余均为杂合突变。克隆测序结

果显示一等位基因为 ABO\*O02, 另一等位基因存在 297A>G、526C>G、657C>T、701C>T、703G>A、796C>A、803G>C、930G>A 突变。

#### 讨论:

B(A)血型为 ABO 血型系统的亚型, 在欧洲高加索人种中发生的频率非常低, 约为 1 / (17~58)万。近年来, 在中国人群陆续发现了不少型别的 B(A), 以 B(A)02 和 O4 型为主。本例献血者的 ABO 血型正反定型不一致, 综合血清学的结果, 定型为 B(A)。献血者的基因型为 ABO\*B / O, 根据此结果推测表型应为 B 型, 这与血清学结果不相符。测序结果表明, 一等位基因为 ABO\*O02, 另一等位基因存在 297A>G、526C>G、657C>T、701C>T、703G>A、796C>A、803G>C、930G>A 突变, 其中, 701C>T 为新的突变位点。该等位基因资料已递交 GenBank(登录序列号为 KM974887), 经检索血型抗原基因突变数据库证实为新的 B(A)等位基因。德国 Inno-Train 的 PCR-SSP 试剂盒将其定型为 B / O, 是因为试剂盒检测位点中没有包括 701C>T 突变位点, 因此被误定为 B 等位基因。

A 等位基因和 B 等位基因的区别主要在第 6、7 外显子, 共有 7 个位点的碱基产生突变, 其中 4 个造成氨基酸的替换, 分别位于 176、235、266、268 位, 这也成为了区别糖基转移酶 A(GTA)和糖基转移酶 B(GTB)的 4 个关键氨基酸。Yamamoto 等的研究表明, 第 266 位和 268 位氨基酸对于决定 GT 酶的特异性非常重要。当第 266 位蛋氨酸和 268 位甘氨酸同时存在时, 糖基转移酶具有 GTA 和 GTB 酶的双重活性, 此时即可形成 A 抗原物质, 也可以形成 B 抗原物质, 并依据这四个关键氨基酸的类型, 用 AAAA 表示 GTA, BBBB 表示 GTB。

关于 B(A)型的分子机制存在两种观点: 一种认为基因突变导致 GTB 具有高度的催化活性, 并能将部分的 A 抗原底物转移至 H 物质上, 这种具有双功能活性的酶使得最终的产物除了 B 抗原外, 还可以形成弱的 A 抗原。另一种则认为, 人体内存在一种高度特异性的活性酶, 催化特异性的底物形成 B(A)抗原。根据已发现的 B(A)类型对四个关键氨基酸型别进行划分, 其中 B(A)02 / 04 / 05 属于 BBBB 型, 支持第一种观点; 而 B(A)01 / 06 属于 BABB 和 BBBA 型, 支持第二种观点。本研究中的等位基因属于 BBBB 型, 在分子机制方面更倾向于支持第一种观点, 即 c. 701c>T 导致的 Pro234Ala 编码区蛋白质的突变, 可能进一步影响了酶的催化活性, 使得部分 A 抗原的底物被催化而形成了弱的 A 抗原, 导致了表型为 B(A)型。

## 19 《1 例 B(A)型孕产妇的定型与备血问题的解决》

作者: 田宗斌

来源: 《中国卫生产业》2018 年第 32 期

#### 摘要:

血液使用安全一直是目前临床输血治疗研究的重点, 输血前的血型定型检测尤为重要, 尤其是较为少见的血型, 需要反复确定血型, 防止差错的发生, 积极处理影响血型定型的相关因素, 并给予干预处理措施, 保障用血安全。

### 标本来源:

2018年3月,该站接到医院送检的标本,院输血科反映称:一个孕产妇的标本ABO正反定型不符,正定AB型、反定型B型。孕妇继往:无输血史,无孕产史,身体健康,并确认她在5年前还献过血,献血证标识B型。在血站血型室检验中,正定型为AB型,反定型为B型,认为应该是AB亚型,含有抗A1的可能性大。但接下来的实验,反定型,A1细胞、A2细胞均凝集。经血站信息系统核实,该孕妇2009、2012、2013年均有无偿活动献血活动,3次献血每次400mL。档案中记载为B型,血液发往临床输血,无输血反应反馈信息,输血使用结果正常。2013年前的检验结果记录调出,正反定型相符为B型。现标本经该站血型室再检验,最终确认血型为B(A)。

### 血清学结果:

(1) 2013年血型实验室的实验记录

2013年正定型、反定型血型检验结果分析见表1。2013年正定型中抗A(-)、抗B(4+)、抗AB(4+)、反定型中A细胞(3+)、B细胞(-)、O细胞(-)、自身细胞(-)。

表1 2013年正定型、反定型血型检验结果分析

正定型			反定型			
抗A	抗B	抗AB	A细胞	B细胞	O细胞	自身细胞
-	4+	4+	3+	-	-	-

注:当时实验记录显示试剂抗A抗B抗AB系长春公司。

(2) 现在血型实验室的实验记录

现在正定型、反定型血型检验结果分析见表2。现在正定型中抗A(2+)、抗B(4+)、抗AB(4+)、抗A1(-),反定型中A细胞(3+)、B细胞(-)、O细胞(-)、自身细胞(-)。

表2 现在正定型、反定型血型检验结果分析

正定型				反定型			
抗A	抗B	抗AB	抗A1	A细胞	B细胞	O细胞	自身细胞
2+	4+	4+	-	3+	-	-	-

注:抗A抗B抗AB系上海试剂。

(3) 验证现孕产妇当做献血者,血型认作是B型时,发往临床输血,使用正常无反馈

现随机取样,取该站献血者标本,B型5个,分别与孕产妇的标本进行交叉实验,孕产妇的血液当做供血者。实验分别进行盐水法、聚凝胺法、微柱凝胶法及抗人球法。总的实验结果一致。虽然孕产妇的红细胞现在正定为AB型,但与B型人的血清不发生凝集。实验记录见表3。

表3 交叉配血实验

患者血清	主管		次管	
	献血者红细胞	献血者血清	患者红细胞	患者血清
	反应阴性		反应阴性	
交叉实验结果:相合				

(4) 再次正反定型实验记录

孕妇血样再次正反定型，增加了 A2 细胞的反定型实验，和 A1 细胞 A2 细胞均发生反应，与通常 A 亚型的反应格局不同，孕妇的血清中的抗 A，与 A2 细胞凝集。结合孕妇红细胞与 B 型人血清的反应情况，最终确定为 B(A)型。正反定型实验记录见表 4。

表 4 再次正反定型实验结果

正定型				反定型				
抗 A	抗 B	抗 AB	抗 A1	A1 细胞	A2 细胞	B 细胞	O 细胞	自身细胞
2+	4+	4+	-	3+	3+	-	-	-

**讨论：**

①献血者的血型检验，通常的程序是：在采血现场的初步正定型，和血液标本回到血站后的再次正反定型，以及血液到临床输血科的再检验，以防止血型差错事故的发生。这次献血者的血型纠正工作，不认为是差错事故。该献血者（孕妇）血型出现检验结果的改变，原因是血型鉴定 2014 年以前与 2014 年后所使用的试剂厂家不同造成的。孕妇在 2014 年以前以献血者的身份，进行的 3 次献血活动，血液被检验结果认定为 B 型无异议。

②B(A)型与 A 亚型反定型格局的区别：反定型时，B(A)型出现 A2 细胞呈阳性，强度 3+~4+。而 A2 亚型及其他 A 亚型的反应结果是多数为阴性，或极少数呈弱阳性结果，强度 1+。

③B(A)型与 A2 亚型、A3 亚型的区别，与 B 型血液交叉配血实验结果的不同。B（A）型与 B 型血液交叉配血实验，结果是主次管均相合。而 A2、A3 亚型与 B 型血液交叉配血实验，结果是主管、次管均凝集。

**输血策略：**

因为孕妇是 B（A）血型，是稀有血型。根据《临床输血技术规范》的要求，从 3 个方面考虑给孕妇备血。

- （1）自身输血由于医院未开展此项业务，排除了自身输血的可能。
- （2）同型输血因 B（A）的稀有性，B 型人中的比例极低，无法备血。
- （3）配合型输血。

①给孕妇提供 O 型洗涤红细胞，配以 AB 型的血浆。从 ABO 血型免疫反应的发生考虑，是最安全的。

②给孕妇提供 B 型血液。因孕妇的血液与 B 型献血员的血液，在做交叉配血实验，结果均相合。孕妇 B（A）型血液的红细胞 A 抗原，不与 B 型献血员的抗 A 发生反应。

③与院方输血科讨论，认为在 O 型红细胞和 AB 型血浆有保障，最终给孕妇提供 O 型洗涤红细胞，配以 AB 型的血浆。

总结：B（A）型应归类为稀有血型，给这类型患者备血，应参照《临床输血技术规范》第二章第十一条的要求。

## 20 《1 例 B(A)02 鉴定及家系分析》

作者：王慧 李剑平

来源：《中国输血杂志》2012 年第 25 卷增刊(中国输血协会第六届输血大会)

**摘要:**

目的: 临床输血科在对患者进行血型检验过程中发现 1 例特殊血型送我室进行鉴定, 为准确及时的鉴定该血型并对结果进行分析, 对其亲属进行家系调查。方法采用血型血清学进行 ABO 血型正反定型试验, 并根据需要追加红细胞与抗血清吸收放散试验和血浆中血型物质检测。并利用 PCR-SSP 方法来检测其 ABO 基因及进行人红细胞 ABO cisAB 与 B(A)血型基因分型检测。结果在该患者及其父亲、孩子的体内均发现 B(A)02 基因, 且血清学有相应的反应格局。结论通过对该患者进行家系分析可以确定该基因的传承。

## 21 《ABO 疑难血型的血清学与 PCR-SSP 检测分析》

作者: 乔艳辉 郭伟鹏 木耶赛尔·伊斯马依力 徐保红

来源: 临床血液学杂志 2016 年 29 卷 12 期

**摘要:**

目的: 通过对 ABO 疑难血型的血清学与基因检测分析, 探讨 ABO 亚型的分布状况和 ABO 血型基因分型的意义。

方法: 采用试管法正反定型、吸收放散试验等一系列血型血清学方法检测分析 97 例正反定型不符血液标本的血清学表型, 对其中 61 例标本, 辅以聚合酶链式反应—特异性序列引物 (PCR-SSP) 基因分型技术检测其基因型。

结果: 97 例 ABO 疑难样本中检出 A 亚型 13 例, B 亚型 8 例, AB 亚型 50 例, B(A) 18 例、CisAB 5 例, B<sup>h</sup>m 1 例, O 型抗-B 抗体缺失 1 例, 1 例有直抗阳性和自身抗体干扰, 排除后被定为 A 型。PCR-SSP 技术检出常见 ABO 基因 4 个 (A、A201、B、O), 以及 ABO 基因型 6 个 (A/O、A201/O、B/O、A/B、A201/B、O/O)。

结论: ABO 疑难血型的鉴定应采用多种血清学方法进行检测, PCR-SSP 技术能识别 ABO 基因型, 作为一种辅助方法可应用于检测 ABO 疑难血型。

**标本来源:**

2010-01~2015-10 于我中心血型室鉴定的排除不规则抗体造成的正反定型不符的献血者血液样本 79 例 (含各地州中心血站送检 7 例)、患者血液样本 18 例, 共 97 例样本。

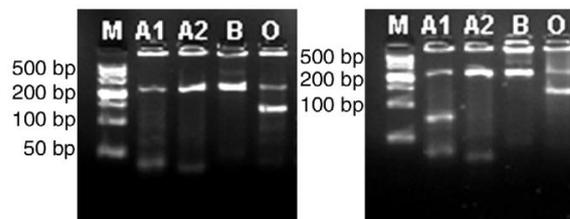
**血清学及 PCR-SSP 结果:**

试管法正反定型加自身对照、抗-A1、抗-AB、抗-H、反定 A2c, 以及吸收放散试验, 依标本具体情况再加做唾液型物质试验。ABO 亚型表型判定用血清学方法。ABO 血型基因分型试剂 (B9801) 由美国 G&T 公司生产。97 例 ABO 疑难样本中检出 ABO 亚型 95 例, 其中 A 亚型 13 例, B 亚型 8 例, AB 亚型 50 例, B(A) 18 例、CisAB 5 例, B<sup>h</sup>m 1 例, 见表 2。结果显示 AB 亚型明显高于 A 亚型和 B 亚型, A 亚型高于 B 亚型。另外 2 例结合基因分型结果, 1 例判定为 O 型抗-B 抗体缺失, 基因型为 O/O (见图 1a), 1 例直接抗人球蛋白试验阳性并自身抗体造成正反定型有多凝集, 排除干扰后被定为 A 型, 基因型为 A/O (见图 1b)。

对其中 61 例 ABO 疑难标本的 PCR-SSP 基因检测中, A<sub>2</sub> (3 例) 基因型为 A201/O, 其他 A 亚型 (5 例) 基因型均为 A/O; B<sub>x</sub> (7 例)、B<sup>h</sup>m (1 例)、B(A) 15 例的基因型均为 B/O; A<sub>2</sub>B (15 例) 基因型为 A201/B; 其他 AB 亚型 (13 例) 基因型均为 A/B。

表 2 95 例 ABO 亚型分布状况

ABO 亚型	例数	ABO 亚型分类、分布
A <sub>亚</sub>	13	A <sub>2</sub> (产生抗-A <sub>1</sub> )3 例、A <sub>end</sub> 1 例、A <sub>3</sub> 1 例、A <sub>el</sub> 2 例、A <sub>x</sub> 3 例、A <sub>int</sub> 3 例
B <sub>亚</sub>	8	B <sub>x</sub> 7 例、B <sub>3</sub> 1 例
A <sub>亚</sub> B	41	A <sub>2</sub> B(产生抗-A <sub>1</sub> )30 例、A <sub>x</sub> B 7 例、A <sub>3</sub> B 2 例、A <sub>m</sub> B 1 例、A <sub>el</sub> B 1 例
AB <sub>亚</sub>	8	AB <sub>x</sub> 5 例、AB <sub>m</sub> 1 例、AB <sub>3</sub> 2 例
A <sub>亚</sub> B <sub>亚</sub>	1	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>
其他	24	B <sup>h</sup> m 1 例、B(A)18 例、CisAB 5 例
合计	95	



a: 基因型 O/O; b: 基因型 A/O。

图 1 疑难血型样本 ABO 基因分型电泳图谱

### 讨论:

ABO 血型是人类最早发现的血型系统, 因其在临床输血上的重要指导作用而成为最具临床意义的血型系统, 准确鉴定献血者和患者的 ABO 血型对保证临床输血安全有效至关重要。常规血型血清学方法鉴定 ABO 血型一般以红细胞表面抗原与抗体凝集实验为基础, 采用正反定型进行检测, 对于正反定型不符的疑难标本依具体情况再进一步做吸收放散试验、唾液型物质测定等实验项目。这些血型免疫学检测优点是操作相对简单、可直接显示抗原抗体反应、常用试剂价格低、几乎可解决所有的红细胞输血相容性问题。PCR-SSP 技术是一项针对 ABO 基因突变位点的不同核苷酸分别设计一系列特异性引物直接鉴定 ABO 基因的检测技术, 它以 DNA 为检材, 不受血型抗体来源以及生物活性细胞的限制, 具有简捷、快速、需要检材少、结果准确等优点。近年来国内研究报道已证实 PCR-SSP 基因分型技术对鉴定 ABO 疑难血型具有可行性, 可作为血型血清学方法的有力补充。

本文研究的 97 例疑难 ABO 血型样本, 均已排除了由不规则抗体引起的正反定型不符的情况, 共检出 95 例 ABO 亚型, A 亚型 13 例, B 亚型 8 例, AB 亚型 50 例, B(A) 18 例、CisAB 5 例, B<sup>h</sup>m 1 例。AB 亚型明显高于 A 亚型和 B 亚型, A 亚 B 种类和数量高于 AB 亚, A 亚型也多于 B 亚型, 这与国内报道的结果有所不同。最常见亚型为 A<sub>2</sub>B (30 例), A<sub>2</sub> 和 A<sub>2</sub>B 均以产生抗-A<sub>1</sub> 抗体被发现, AB 亚型和 B(A) 血型的检出率高于期望值, 显示了 A、B 亚型基因之间存在相互作用。此外有 2 例检测结果显示不属于 ABO 亚型类, 1 例为腰椎间盘突出患者正定 O, 反定 B, 吸收放散试验为阴性, 家系调查也未发现血型异常, 基因分型结果为 O/O, 综合分析后判定为 O 型, 抗-B 抗体缺失, 对此 ABO 天然抗体缺失的生理作用和产生的分子机制还有待进一步的研究和探讨; 另 1 例为溶血性贫血患者, 直接抗人球蛋白试验阳性并有自身抗体, 造成正反定型都有多凝集, 吸收、放散试验排除干扰后被定为 A 型, 基因分型结果也为 A 型。对其中 61 例 ABO 疑难标本的 PCR-SSP 基因检测中, 检出常见 ABO 基因 4 个 (A、A201、B、O), 以及 ABO 基因型 6 个 (A/O、A201/O、B/O、A/B、A201/B、O/O)。这为各类别的 ABO 亚型血清学结果判断提供了有效的参考依据, 特别是对直接抗人球蛋白试验阳性和有自身抗体干扰, 以及抗原抗体减弱或缺失疑难样本的 ABO 血

型的鉴定起到关键作用。此外本文中对 ABO 亚型的 PCR-SSP 分型结果在对照血清学结果的同时, 也为这些 ABO 疑难样本进一步做 DNA 测序分析提供了重要依据。

## 22 《20 例 ABO 亚型的分子遗传学分析及 2 例 ABO 新等位基因的认定》

作者: 章旭 林凤秋 张坤莲 刘显智 李剑平

来源: 《中国输血杂志》2012 年第 25 卷增刊(中国输血协会第六届输血大会)

### 摘要:

目的: 研究 20 例 ABO 亚型标本的分子机制。

方法: 对 20 例 ABO 亚型标本进行血清学检测、聚合酶链反应-序列特异性(PCR-SSP)基因分型及第 6、7 外显子基因测序。

结果: 20 份标本共检测出 16 个 ABO 等位基因。其中 5 个常见等位基因(A101、A102、B101、O01 和 O02)、9 个较少见的等位基因(Ax13、Bw03、Bw08、B307、cisAB02、cisAB03、cisAB06、B(A)04 和 O04)和 2 个新的等位基因(A912A 和 B797C); A912A 新等位基因与 A101 比对存在 2 个碱基突变, 467 位碱基 C>T 和 912 位碱基 C>A 突变, 导致 156 位脯氨酸变成亮氨酸和 304 位丝氨酸变成精氨酸; B797C 新等位基因与 B101 比对存在 1 个碱基突变, 差异仅在 797 位碱基 T>C 错义突变, 导致 266 位甲硫氨酸变成精氨酸, 血清学发生改变, 同时表达 A 和 B 抗原。

结论: 研究揭示了 20 例 ABO 亚型的分子遗传学背景。首次发现 467C>T 与 912C>A 组合的 A 新等位基因和 797T>C 突变的 B(A)新等位基因。ABO 亚型鉴定需要血清学检测和基因分型相结合。

## 23 《ABO 亚型 Bw 分子机制与临床输血研究》

作者: 邓刚 黄丹丹 郭雯玉 许德义 杜勇 马幼丽 张哲

来源: 《中国输血杂志》2012 年第 25 卷增刊(中国输血协会第六届输血大会)

### 摘要:

目的: 研究 ABO 血型系统中 Bw 亚型的分子机制, 并探讨 Bw 亚型在临床输血中的相关问题。

方法: 我们对 1 位 ABO 血型正反定型不符的无偿献血者及其家人的血型, 通过应用血清学鉴定, PCR-SSP, ABO 基因直接测序及 TA 克隆进行单倍体分析等方法对该家系的血型分子机制进行了相关研究, 应用相关生物学软件对该突变位点引起的酶结构和功能的变化进行了分析, 对该突变氨基酸在不同物种中的保守性进行了比较。同时对该献血者以往 3 次所献的血用到临床的输血情况进行了回顾性调查。

结果: 我们在该家系中发现了 3 例比较少见的 Bw 亚型, 该亚型在分子上是由于在半乳糖基转移酶基因第七外显子存在 C721T 杂合突变, 导致 R241W 氨基酸改变所致。用 SIFT 来推测 241 位氨基酸 R 对蛋白功能的

影响，结果显示为 **damaging**。而保守性分析显示 241 位氨基酸 R 在大多数物种均高度保守。而输血情况回顾性调查显示 3 次输血均未发现明显异常。

结论：a-1,3 半乳糖基转移酶基因 721C>T 突变可能是导致 Bw 亚型的分子遗传基础之一，241 位 R 对糖基转移酶活性和其他功能可能具探讨有非常重要作用。亚型在临床输血中的意义及相关作用机制需进一步的临床与实验和研究。

**下期主题：ABO 亚型案例报道专刊——O 亚型及类孟买**



**为中国血型基因检测贡献力量!!!**

**为人民服务!!!**