

- 会. 老年髋部骨折诊疗专家共识(2017)[J]. 中华创伤骨科杂志, 2017, 19(11): 921-927.
- [5] 中华医学会麻醉学分会老年人麻醉学组, 中华医学会麻醉学分会骨科麻醉学组. 中国老年髋部骨折患者麻醉及围术期管理指导意见[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(12): 897-905.
- [6] 王皓, 徐洪刚. 超声引导高位髂筋膜间隙阻滞在老年髋部骨折手术中的应用[J]. 锦州医科大学学报, 2019, 40(3): 63-66.
- [7] 郑强. 围术期静脉输注乌司他丁对髋部骨折老年患者术后谵妄的影响[D]. 青岛: 青岛大学, 2020.
- [8] 谈世刚, 周翔, 鲁汉杰, 等. 右美托咪定滴鼻联合髂筋膜间隙阻滞在老年髋部骨折患者围术期的应用效果[J]. 临床麻醉学杂志, 2022, 38(12): 1248-1253.
- [9] 阮倩, 自华芬, 陈莉, 等. 髂筋膜间隙阻滞联合浅全麻对老年髋骨骨折手术患者围术期皮质醇、促肾上腺皮质激素浓度和术后睡眠质量的影响[J]. 老年医学与保健, 2021, 27(4): 838-842.
- [10] 王金英, 钟明强, 郭玲, 等. 超声引导下髂筋膜神经阻滞联合喉罩全身麻醉在 AD 老年患者髋部骨折手术中的临床应用[J]. 吉林医学, 2023, 44(1): 92-95.
- [11] 金茹, 刘鸽. 超声引导下股神经阻滞和髂筋膜间隙阻滞在老年患者全髋关节置换术中的麻醉效果比较[J]. 中国医药科学, 2022, 12(2): 89-92.
- [12] 李翊斌, 胡佳艳, 张燕, 等. 连续股神经阻滞镇痛对老年髋部骨折患者术后谵妄的影响[J]. 浙江临床医学, 2020, 22(4): 528-529.
- [13] 宋洁, 胡宪文, 陈齐, 等. 超声引导下髂筋膜神经阻滞联合全麻对老年股骨近端骨折患者术后血清疼痛介质 PGE₂、SP 和认知功能及睡眠质量的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(23): 4536-4540.
- [14] 沈莉, 马登明. 超声引导下腰方肌阻滞与髂筋膜间隙阻滞在老年髋部骨折术前镇痛的应用比较[J]. 国际医药卫生导报, 2020, 26(15): 2265-2269.
- [15] 乔丽娜, 范捷, 韩春芝. 基于血清 Cor、Glu 水平研究腹横筋膜阻滞联合髂筋膜阻滞对老年髋关节置换患者镇痛的作用机制[J]. 中国现代医药杂志, 2023, 25(9): 54-58.
- [16] 张波波, 李新友, 张小卫, 等. 老年脊柱手术患者术后发生谵妄的危险因素分析[J]. 中国矫形外科杂志, 2019, 27(9): 815-818.
- [17] 尹海玲, 张文文, 单涛, 等. 髋关节囊周围神经阻滞联合股外侧皮神经阻滞与髂筋膜间隙阻滞用于老年患者全麻下全髋关节置换术效果的比较[J]. 中华麻醉学杂志, 2021, 41(5): 567-570.
- [18] 张春敏, 王晓鹏, 庄萍. 全身麻醉复合超声引导下髂筋膜阻滞在髋部骨折手术中的临床应用观察[J]. 中国药物与临床, 2020, 20(13): 2244-2246.
- [19] 季加伟, 刘艳, 王猛, 等. 超声引导下腹股沟上髂筋膜阻滞在股前外侧皮瓣移植手术中的风险-效益评价[J]. 西部医学, 2023, 35(11): 1662-1668.
- [20] 田金元, 王琪, 王古玥, 等. 超声引导下不同路径髂筋膜间隙阻滞在全膝关节置换术患者镇痛中的应用研究[J]. 实用医院临床杂志, 2021, 18(2): 33-36.
- [21] 乔飞, 秦婷婷, 汪珺. 超声引导下股神经股外侧皮神经阻滞联合连续硬膜外麻醉在髋部骨折手术中的应用[J]. 世界临床医学, 2017, 11(7): 58.

(收稿日期: 2023-06-25 修回日期: 2023-11-02)

• 临床研究 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2024. 03. 034

1 例 ABO 疑难血型的鉴定与临床疑难输血探讨

周 宇¹, 牛长春², 廖 璞², 陶翠华^{3△}

1. 川北医学院, 四川南充 637002; 2. 重庆市人民医院检验科, 重庆 401121;

3. 武汉亚洲心脏病医院输血科, 湖北武汉 430022

摘要:目的 通过对 1 例 ABO 疑难血型进行鉴定, 探讨临床疑难输血的原则和策略。方法 对 1 例正反定型不符的患者采用标准血型血清学方法进行 ABO 血型、Rh 血型、不规则抗体筛查、吸收放散试验, 采用 PCR 基因测序方法确定其遗传基因型。结果 该患者血清学检测正定型 A 抗原正常, B 抗原减弱(呈 2+^{mf} 双群现象), 反定型 Ac、Oc 不凝集, Bc 有很轻微的凝集(W⁺)。进一步试验鉴定确定为 ABx 亚型。根据测序结果和基因分型推测该患者基因型为 A1.02/Bw.03。结论 α-1,3 半乳糖基转移酶基因(B 基因)第 7 个外显子中 nt721 处的 C>T 变异可导致 241 位氨基酸由精氨酸变成色氨酸, 在该患者的红细胞上检测到 A 抗原和弱 B 抗原, 血清中存在弱抗 B 抗体, 血清学表型为 ABx。ABx 亚型是 ABO 血型亚型中的一类, 人群中极其罕见, 由罕见的等位基因产生。对于正反定型不符的异常血型结果应采用多种方法进行鉴定, 提高亚型检出率和疑难血型鉴定的准确率。

关键词: 疑难血型; ABO 亚型; 输血; A102/Bw03

中图法分类号: R457.1+1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)03-0426-04

输血是现代医疗中不可缺少的一部分, 但输血之前也存在诸多的问题与挑战, 其中血型鉴定对于临床

输血至关重要,正确的血型鉴定才能保证临床用血的安全^[1]。由于基因突变、糖基转移酶数量与活性改变等导致多种正反定型不符的亚型疑难血型出现,导致血清学鉴定难度大,交叉配血困难^[2],对检验人员的能力和临床选用合适的血液制品提出了更高的要求。通过标准血清学方法进行 ABO 血型、不规则抗体筛查、交叉配血试验、吸收放散试验和基因测序分型等实验,可进一步提高 ABO 血型疑难血型鉴定的准确性,以此提高临床用血的安全性和有效性。笔者在临床住院患者日常血清抗筛检测样本中发现 1 例正反定型不符的情况,最终鉴定为 AB 亚型。虽然该例内科患者并未要求输血,但考虑亚型病例较为罕见,故通过分析该例患者的鉴定,进一步探讨了临床输血难点和策略,进而为临床疑难血型鉴定提供案例参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,女,70 岁,临床诊断为心绞痛,无输血史,有妊娠史,于 2020 年 9 月 3 日在武汉亚洲心脏病医院进行常规血型及不规则抗体筛查,血型检测发现正反定型不符,正定型 B 抗原凝集强度减弱,疑似亚型,遂进一步展开深入研究。

1.2 试剂与仪器 单克隆抗-A(上海血液生物医药有限责任公司,生产批号:20200201,效价 1:256);单克隆抗-B(上海血液生物医药有限责任公司,生产批号:20200201,效价 1:128);抗-H(江苏力博医药生物技术股份有限公司,生产批号:20160707,效价 1:64);抗-A₁(江苏力博医药生物技术股份有限公司,生产批号:20180830,效价 1:128);ABO 红细胞(江苏力博医药生物技术股份有限公司,生产批号:202008008);3%不规则抗体筛选红细胞(江苏力博医药生物技术股份有限公司,生产批号:20200922);KA-2200 日本久保田小型台式专用离心机;Ortho BioVue 专用卡式离心机;Ortho vision Max 奥森多全自动血型及配血分析仪。

1.3 方法

1.3.1 血型血清学试验 采用试管法和微柱凝胶法检测患者 ABO 血型、Rh 血型及进行不规则抗体筛查和鉴定^[3-4],此外还进行行吸收放散试验。所有试验方法均严格按照《全国临床检验操作规程》^[5]或者试剂说明书进行操作。

1.3.2 洗涤红细胞的制取 取 4 支试管,分别加入 50 μL 的健康人 A、O、AB 以及本例患者离心后红细胞,然后加入生理盐水至试管 2/3~3/4 处,充分振荡、混匀、洗涤后放入久保田离心机 1 000 r/min 离心 1 min,然后弃去上清生理盐水,重复操作 3~5 次,最后留下的离心后红细胞即为洗涤红细胞,用于与抗-A₁、抗-H 反应。

1.3.3 PCR 法基因测序分型 全血提取 DNA 采用 PCR 法对 ABO 基因的 7 个外显子进行扩增^[6-7],对 7

个外显子全编码区进行直接测序^[8-9],并检索血型抗原基因突变数据库(BGMUT)^[10]进行对比。

2 结果

2.1 本例患者 ABO 血型正反定型结果 试管法显示正定型有 A、B 抗原,反定型 Bc 端有弱反应,见表 1。

方法	正定型			反定型			
	-A	-B	-D	Ctrl/Oc	A1c	Bc	Self
微粒凝胶法	4+	2+ ^{mf}	4+	0	0	W ⁺	/
试管法	4+	2+	4+	0	0	1+ ^{mf}	0

注:1+^{mf}、2+^{mf} 分别为凝集强度为 1+、2+ 的混合外观凝集;+ 为凝集;W⁺ 为弱;0 为不凝集;Ctrl/self 为自身对照。

2.2 健康人 A、O、AB 型洗涤红细胞及本例患者洗涤红细胞(Pc)分别与抗-A₁、-H 血清试剂的反应 O 型红细胞表面存在大量前体抗原 H。Pc、Ac 与抗-A₁ 反应强度相同,与抗-H 反应强度则是 Pc 更高。见表 2。

表 2 健康人 A、AB、O 型标准红细胞及本例患者红细胞与抗-A₁ 与抗-H 抗体反应

洗涤红细胞	-A ₁	-H
Ac	4+	W ⁺
Oc	0	4+
ABc	3+	1+W
Pc	4+	1+W

注:1+W 为反应程度为弱 1+;+ 为凝集;W⁺ 为弱;0 为不凝集。

2.3 不规则抗体筛查结果 患者血清与抗筛细胞 I、II、III 号细胞反应均呈阴性,排除不规则抗体存在的可能性。见表 3。

方法	筛选细胞 I	筛选细胞 II	筛选细胞 III	结果
微粒凝胶法	0	0	0	0
试管法	0	0	0	0

注:0 为不凝集。

2.4 本例患者吸收放散试验结果 放散液与标准 B 型红细胞反应,与标准 O 型红细胞不反应,本例患者红细胞表面存在弱 B 抗原。见表 4。

项目	Bc	Oc
患者红细胞放散液	2+	0
对照 O 细胞放散液	0	0

注:+ 为凝集,0 为不凝集。

2.5 基因测序分型结果 本例患者 ABO 基因第 1~7 外显子测序显示 ABO 基因的第 6、第 7 个外显子上存在 297 A/G、467 C/T、526 C/G、657 C/T、703 A/G、721 C/T、796 A/C、803 C/G、930 A/G 杂合,见表

5;第 7 外显子存在碱基 467C>T;721C>T 变异,此突变引起多肽链氨基酸 P156L;R241W 替换,见表 6。经检索 BGMUT,此患者 2 个等位基因分别为 A1.02

和 Bw.03,确认该患者 ABO 血型的基因型为 ABO * A1.02/Bw.03。

表 5 患者血型的基因测序结果

核苷酸位置	第 4 外显子		第 6 外显子		第 7 外显子											
	188	189	261	297	467	526	646	657	681	703	721	771	796	803	829	930
患者	GG	CC	GG	AG	CT	CG	TT	CT	GG	AG	CT	CC	AC	CG	GG	AG
参考序列																
A1.01	G	C	G	A	C	C	T	C	G	G	C	C	C	G	G	G
A1.02	G	C	G	A	T	C	T	C	G	G	C	C	C	G	G	G
B1.01	G	C	G	G	C	G	T	T	G	A	C	C	A	C	G	A
O.01	G	C	Del	A	C	C	T	C	G	G	C	C	C	G	G	G
O.02	A	T	Del	G	C	C	A	C	A	G	C	T	C	G	A	G
Bw.03	G	C	G	G	C	G	T	T	G	A	T	C	A	C	G	A

表 6 单核苷酸及氨基酸替换结果

等位基因	参考基因	碱基替换	氨基酸替换	表现型
A1.02	A1.01	467C>T	P156L	A1
Bw.03	B1.01	721C>T	R241W	Bx

3 讨 论

ABO 等位基因位于染色体 9q34.1~q34.2,全长 19.5 kb,编码区由 7 个外显子组成,长 1 062 bp。第 6、7 号外显子约占编码区长度的 77%^[11],编码酶的催化活性区同时也是 ABO 亚型基因突变的主要区域。糖基转移酶 A 和 B 均由 354 个氨基酸组成,且具有高度的同源性,二者一级结构仅有 4 个氨基酸残基的差异。ABO 血型系统具有一定的血清学特点,但分子机制各不相同,B 亚型较 A 亚型少见,Bx 则更是罕见^[12],本研究患者鉴定为 ABx 亚型,同时血清中检出不规则的弱抗 B 抗体。

ABO 血型基因多态性决定了 ABO 血型抗原多态性^[13-16],但迄今为止关于 ABO 基因完全缺失导致 O 表现型的案例较少报道,也未发现 ABO 基因碱基连续缺失的现象,提示单核苷酸多态性(SNPs)是形成 ABO 基因多态性的重要因素。本例患者有 2 处单个核苷酸的改变导致氨基酸置换,467C>T 导致 156 位氨基酸由脯氨酸替换为亮氨酸;721C>T 使 241 位氨基酸由精氨酸替换为色氨酸,但第 156 位氨基酸不位于酶的催化活性中心,故而此处虽为氨基酸突变但并不影响糖基转移酶的活性与生物学功能。但第 241 位氨基酸则处于糖基转移酶的催化活性区,此处突变后蛋白质一级结构改变导致构象发生改变,使糖基转移酶的特异性、活性改变,从而造成 ABO 血型中 B 抗原表达数目减少,与抗-B 反应凝集强度减弱,形成亚型。

3.1 疑难输血的原则与方案策略 血型的准确鉴定

是临床输血的根本,即便是亚型的疑难临床输血,也需要精确分型,亚型鉴定的意义在于为受血者选择最合适的血液保障输血安全与有效。针对上述 ABx 亚型的临床输血,同型供血者是最佳选择,按现有的血清学特点来看,最理想的血源应该是相同 ABx 亚型血液,但是在现实情况下较难以实现^[17]。由于患者血清中存在弱 B 抗体,虽然强度不高,但在输血的时候不可忽略其作用,临床输血首先就是要保证输注的红细胞不被破坏,故而不能选用 B 型血和 AB 型血,由于患者血清中存在抗-B,所以输注 AB 型血同样会出现凝集反应,对于 A 型血,虽然血清中存在抗-B,但并不会发生强烈的凝集反应,因为 B 亚型抗原的表达不仅有量变而且还有质变;况且随着血液的输入,其中的抗体进入人体循环血液后,也会被稀释而效价降低,因此,A 型血可作为一种输入血型,在患者有输血需求指征的时候,可以选用 A 型洗涤红细胞进行输注。O 型红细胞被称为“万能输血型”,在紧急情况下,为挽救生命,避免同种抗体的产生,可以在交叉配血试验满足主侧不凝集的情况下,少量缓慢输入 O 型洗涤红细胞。总之,绝对安全的输血是没有的,亚型的疑难输血要严防血型的漏判、误判,尽可能制订准确、有效的输血策略,才能提高安全输血水平^[18-19]。

3.2 基因测序分型对临床罕见亚型的作用 与本例患者血清学相似的另外一种罕见亚型 cisAB 也是红细胞表面存在 B 抗原弱表达,同时血浆中有 1+~3+ 的抗-B。2 种亚型红细胞表面的 A、B、AB 抗原的表达强度类似,仅凭血清学格局难以肯定地区分。

检索 BGMUT ABw03 与 cisAB 基因序列,cisAB 特有的碱基突变在 700C>T,引起第 234 位氨基酸由脯氨酸替换为丝氨酸(P234S)^[1];本例患者 ABw03 在 721C>T 发生了特有的点突变,引起 241 位氨基酸由精氨酸替换为色氨酸(R241W)。二者相比仅存在单

个氨基酸的差异,但-A1 和-H 反应格局有明显差别。不过肉眼观察凝集强度存在主观差别,同时血清学反应也受多种其他因素的干扰,准确度不够高,还是存在无法完全肯定的情况。ABO 亚型无论是抗原的量变还是质变,其血清学试验外在形式都一样,都仅表现为凝集强弱的变化,这才导致血清学鉴定困难,因此开展基因检测分型技术十分有必要^[20],可作为血清学鉴定的重要补充,帮助顺利解决疑难血型鉴定困难的问题,具有重要的临床意义。

3.3 ABO 亚型鉴定基本方法思路 一般情况下进行 ABO 血型正反定型鉴定时,发现正反定型不一致,通常根据是否正定型抗原凝集强度减弱呈双群现象(混合视野 MF)、红细胞表面 H 抗原强度以及是否可以通过吸收放散试验检测到弱抗原等进行 ABO 亚型的鉴定^[21]。但在鉴定这种疑难血型时,既有技术问题也有患者血型的问题,故而在遇到血型鉴定正反定型不一致的情况下,除常规试验外,正定型试验增加抗-H、抗-A₁、抗-AB 血清抗体;反定型增加 O 型标准红细胞、A₁ 型红细胞、A₂ 型红细胞等(反定型对于亚型筛选尤为重要,正定型弱抗原不发生凝集反应的时候,反定型的弱抗体可有提示性作用,防止漏检),再进行直接抗人球蛋白试验、吸收放散试验、基因测序检测等最终准确分型^[22]。

由于实验条件有限并未对本例患者进行家系调查和糖基转移酶活性的测试,缺乏 ABO 等位基因的遗传方式及该例 ABO 复合亚型出现的具体机制等信息。总之,更全面的基因序列测序和更加完整的家系调查有助于丰富 ABO 血型的基因多态性、ABO 亚型形成的关系及其可能的遗传方式。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 雷航,蔡晓红,王钰箐,等. AB_x 亚型相关的 B 型糖基转移酶突变 p. R180C 的酶动力学研究[J].中国输血杂志,2020,33(11):1140-1143.
- [3] 尹志柱,田丰,孙国栋,等.2 个新的 ABO 血型等位基因的发现和序列分析[J].临床输血与检验,2020,22(3):294-296.
- [4] 吕明丽,李金星.一例 ABx 血型鉴定报告[J].天津医药,2003,31(12):811.
- [5] 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,2015:118-119.
- [6] LIU F,LI G,LI J,et al. A novel mutation eliminates GA-

- TA-1 and RUNX1-mediated promoter activity in galactosyltransferase gene[J]. Transfus Med Hemother,2022,49(6):331-337.
- [7] 王北元,焦立新,鞠瑞青. ABx 亚型鉴定 1 例[J]. 中国实验诊断学,2010,14(9):1500.
- [8] 瞿珍,何鸣镛,赵磊,等. 1 例 B(A)亚型血型鉴定及分析[J]. 微循环学杂志,2021,31(3):63-66.
- [9] 肖建宇,方乐,陈青,等. 一例 A102/Bw03 亚型的血清学和分子生物学研究[C]//中国输血协会. 中国输血协会第八届输血大会论文专辑. 北京:《中国输血杂志》编辑部,2016:1.
- [10] YIP S P. Compilation of ABO alleles in BGMUT[EB/OL]. (2011-04-19) [2023-05-31]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gv/mhc/xslcgi.cgi?cmd=bgmut/systems_info&system=abo.
- [11] 肖建宇,冯晨晨,刘太香,等. ABO 基因第 7 外显子 c. 721C>T 变异导致 ABO 亚型的研究[J]. 中国实验血液学杂志,2021,29(6):1917-1922.
- [12] 夏爱军,张献清,穆士杰,等. 无偿献血血中发现 ABx 亚型 1 例[J]. 第四军医大学学报,2006,27(10):889.
- [13] 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(1):8-10
- [14] HONG X,YING Y,ZHANG J,et al. Six splice site variations,three of them novel,in the ABO gene occurring in nine individuals with ABO subtypes[J]. J Transl Med,2021,19(1):470.
- [15] 祝宏,吴亚玲,励晓涛,等. ABO 亚型 ABw07 一家系的分子生物学研究[J]. 中华医学遗传学杂志,2008,25(6):678-680.
- [16] 张爽,马怡然,郝一文. A 亚型鉴定与临床输血[J]. 中国医科大学学报,2021,50(4):378-381.
- [17] 胡思群,朱碎永,施顺秋,等. B 亚型血清学鉴定及基因测序分析[J]. 中国卫生检验杂志,2019,29(23):2837-2839.
- [18] 洪小珍,应燕玲,许先国,等. 一例 ABO 亚型 ABx09 的分子生物学研究和鉴定[J]. 中华医学遗传学杂志 2011,28(5):548-551.
- [19] 麦志周,林俊填,钟可文,等. 1 例输血患者疑难血型的鉴定与分析[J]. 临床医学研究与实践,2021,6(2):21-22.
- [20] 曾一梅,雷航,王钰箐,等. 1,3-D-半乳糖基转移酶 p. Arg187Cys 突变导致形成 ABx 亚型[J]. 临床输血与检验,2021,23(1):41-45.
- [21] 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.
- [22] 吴新明,季方圆,霍霓,等. 一例 ABO 亚型新变异位点的分析[J]. 中华医学遗传学杂志 2022,39(10):1158-1160.

(收稿日期:2023-06-28 修回日期:2023-11-02)