

# 采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定 室内质量控制

## 标准编制说明

(2018 年 9 月)

## 目录

一、任务来源等基本信息.....	3
二、与我国有关法律法规和其它标准的关系.....	5
三、国际国外相关法律法规标准的情况说明.....	6
四、标准的制（修）订与起草原则.....	7
五、确定各项技术内容的依据.....	8
六、征求意见和采纳意见情况.....	14
七、重大意见分歧处理结果和依据：.....	15
八、提出实施标准的建议.....	55

# 《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》

## 标准编制说明

### 一、任务来源等基本信息

本项目编号：2018-016。第一起草单位：上海市血液中心；共同起草单位：江苏省血液中心，浙江省血液中心。第一起草人：朱自严；主要起草人：上海市血液中心郭忠慧、向东、韩莎莎、刘曦；江苏省血液中心刘衍春、刘毅和马玲；浙江省血液中心何吉、许先国、洪小珍。

2014 年受国家卫生计生委法制司委托，江浙沪三地血液中心共同组成《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》标准编写课题组。上海市血液中心牵头，江苏省血液中心和浙江省血液中心血型领域专家和技术人员共同参与。

卫生行业标准《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》，在完成前期的立项、制订、征求意见和送审工作后，分别于 2016 年 4 月和 2016 年 9 月，经第七届国家卫生标准委员会血液标准专业委员会第三次全体会议和第七届国家卫生标准委员会血液标准专业委员会标准审核会议审查通过。因国家培育发展团体标准，构建新型标准体系的政策导向。国家由过去单一的政府主导的标准逐渐向政府主导加遵循市场规律的市场主体过度。《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》最终没有通过行业标准报批，于 2018 年 7 月作为团体标准重新立项，拟进一步完善，最终形成适用于采供血系统实验室 ABO/Rh 定型室内质量控制标准。

本项目主要分成以下 7 个阶段完成：1.项目启动阶段、2.标准草案初稿形成、3.宁波讨论会、4.征求意见稿形成、5.征求意见阶段、6.意见汇总和讨论阶段以及 7.标准送审稿完成阶段。

2014 年 6 月本项目正式启动：2014 年 6 月 16 日-18 日，标准编写组负责人上海血液中心朱自严和项目组成员郭忠慧参加了国家卫生监督中心在成都举办的第七期全国卫生标准编写培训班。7 月 16 日江浙沪三家合作单位在江苏省南京市召开项目启动会，介绍本项目的目的和意义、计划和任务，传达国家卫生计生委成都培训班关于标准编写的要求和注意事项，通报标准编写的关键时间节点。与会人员交流江浙沪血液中心血型鉴定实验室现有的室

内质控经验，现场考察江苏省血液中心血型室内质控工作。介绍欧美等先进国家对试剂及试验过程的质控要求。总结并分析现有国内外商品化血型质控品的现状及特点，讨论采供血机构 ABO 和 RhD 定型的关键质控点，研究标准的框架结构和内容。

南京会议后，向东、刘衍春和何吉主任从各自工作的实践出发，代表三地血液中心分别向项目组负责人朱自严提供一份书面提纲，在此基础上，借鉴国外（主要是英国、美国和欧洲其他国家）室内质控的一些做法，由上海市血液中心朱自严、郭忠慧等 2015 年 2 月执笔起草了《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质控》标准草案第一稿，上海血液中心参编人员和血型技术人员首先进行讨论和修改。

2015 年 3 月 2 日发草案初稿给江浙两单位审阅。江浙沪三地血型工作人员分别对草案第一稿进行分组讨论，上海血液中心由朱自严主任负责，江苏省血液中心由刘衍春主任，浙江省血液中心由何吉主任负责，进行意见汇总，上海血液中心于 2015 年 3 月 13 日和 3 月 27 日分别收到何吉主任和刘衍春主任的修改意见。标准起草负责人通过邮件与江浙血液中心反复沟通，对达成共识的意见和建议进行及时修改，对有争议的内容进行分类备案。

2015 年 4 月 27 日项目组在浙江省宁波市召开《草案》讨论会，出席会议的有编写组全体成员。包括上海血液中心朱自严、郭忠慧、向东、韩莎莎、刘曦；江苏省血液中心刘衍春、刘毅和马玲；浙江省血液中心何吉、许先国、洪小珍。上海市血液中心和宁波市中心血站部分同行列席会议。在前期工作基础上，对 10 多个有争议的问题以及新增加的内容进行集中讨论。对于有争议的问题重点逐条讨论，一部分条款达成一致，对一些具体条款提出进一步修改的意见的建议。通过宁波会议，编写组达成共识：希望对《标准草案》去芜存菁，弃繁就简，并提高标准可操作性。

宁波会议之后，编写组对标准宁波讨论稿进行了较大修改，按照标准编写格式要求，利用《中国标准编写模板》TC2009 软件进行编写，2015 年 5 月 5 日形成完整的《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》标准草案（征求意见稿），该版本力求结构更加合理，内容更加完善，语言更加准确精炼。

2015 年 5 月初开始同行评议。除了请合作单位江苏和浙江血液中心参编人员继续审核外；《征求意见稿》寄/送全国 28 位血型鉴定专家和技术人员进行评议。征求意见范围包括北京市血液中心、北京军区总医院输血科、上海第二军医大学长海医院输血科、广州市血液中心、大连市血液中心、青岛市中心血站、山东省血液中心，内蒙古呼伦贝尔中心血站、辽宁省血液中心，乌鲁木齐市血液中心、上海第六人民医院输血科、哈尔滨市血液中心、江苏常熟中心血站以及浙江湖州中心血站等 20 余家单位。

编写组于 2015 年 5 月 22 日征求意见结果汇总,利用一周时间对每一位同行提出的意见和建议逐条讨论是否合理,是否采纳以及理由,集中讨论修订标准,2015 年 6 月按照条款重新梳理征求意见稿并着手修改,2015 年 7 月 7 日形成《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》(送审稿讨论稿),2015 年 7 月底经再次审稿和讨论后形成《标准送审稿》。与此同时,进行《标准编制说明》的撰写、修改工作。

2016 年 4 月 14 日第七届国家卫生标准委员会血液标准专业委员会在湖南长沙湖南宾馆召开第三次全体会议。送审标准起草人朱自严和郭忠慧参加会议,第一起草人朱自严向专业委员会汇报标准起草情况,经标委会委员和特邀专家投票表决,《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质控》标准以 29 票同意,3 票反对通过会审,通过率 82%。2016 年 5 月 4 日收到血液委员会秘书处 email 寄来的《标准会审专家组意见》。随后第一起草单位根据会审专家意见对标准送审稿进行了初步修改或说明,并将会审结果、专家意见以及送审稿书面稿邮寄给共同起草单位浙江省血液中心参比室何吉主任和江苏省血液中心研究室刘衍春主任。2016 年 5 月 18 日江浙沪三家血液中心通过 WebEx 电视电话会议,对送审稿专家意见逐条讨论,随后形成报批稿(初稿),电子版发江浙血液中心审阅,5 月 27 日收到浙江省血液中心何吉主任代表许先国和洪小珍的进一步修改意见,指出少数文字和用词的错误和对参考文献的最新版本的更新等意见。2016 年 6 月 12 日江浙沪三家血液中心标准编写人员在上海维也纳大酒店对标准报批稿定稿进行了讨论。2016 年 6 月 14 日上海血液中心执笔完成了本标准的报批稿。

《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》年初作为中国输血协会团体标准立项后,对原稿格式进行必要修改,形成现在的中国输血协会团体标准征求意见稿。

## 二、 与我国有关法律法规和其它标准的关系

本标准的制定遵守《中华人民共和国献血法》。《中华人民共和国献血法》第十条规定:血站应当根据国务院卫生行政部门制定的标准,保证血液质量。血站对采集的血液必须进行检测;未经检测或者检测不合格的血液,不得向医疗机构提供。

本标准符合中华人民共和国卫生部令第 44 号《血站管理办法》的要求。《血站管理办法》第三十条规定:血站应当制定实验室室内质控与室间质评制度,确保试剂、卫生器材、仪器、设备在使用过程中能达到预期效果。第三十五条 血站应当保证发出的血液质量符合国家有关标准,其品种、规格、数量、活性、血型无差错;未经检测或者检测不合格的血液,

不得向医疗机构提供。

本标准按照 GB/T 1.1-2009 标准化工作导则第 1 部分：标准的结构和编写给出的规则起草。

本标准的应用遵循 GB18469-2012《全血及成分血质量要求》第 4 部分：血液安全性检测要求。

本标准遵循《血站技术操作规程》2015 版第 4 部分。

WS/T203-2001《输血医学常用术语》已经发布 15 年，其中有些术语已经过时，本标准使用的术语与定义根据学科发展进行了更新。

### 三、 国际国外相关法律法规标准的情况说明

大部分欧美国家在临床和采供血机构血型鉴定的行业标准中，新方法或新批次试剂使用前质控指南中都包含实验室血型鉴定室内质控方法的内容，而我国现行的各项与血型定型相关的标准、规范中仅仅提及在血型定型中需进行实验室室内质控，但都未涉及应采用何种方法，以何种形式对哪些关键点进行质控。

本标准的术语和定义参考美国血库协会（AABB）《输血技术手册》2014 版，资料性引用文件主要技术指标参考美国血库协会《输血技术手册》2014 版。血型试剂的质控要求参考了美国 FDA 标准，英国输血协会指南并结合我国药典 2015 版对血型试剂的要求。质控方法、质控频次等技术指标参考了欧盟对血型血清学实验室的室内质控要求和美国血库协会的技术要求。本标准起草过程中主要参考了以下国外相关文献：

1. Standards for Blood Banks & Transfusion Services. 28th Ed. USA: AABB,2012
2. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom.7th Ed London.TSO,2005
3. Technical Manual. 18th Ed.USA: AABB,2014
4. Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components. 16th Edition.
5. European Directorate for the Quality of Medicine & Health Care, 2010.
6. Standards for Immunohematology Reference Laboratories 9th Edition. AABB,2016

#### 四、 标准的制（修）订与起草原则

ABO 血型不配合，在所有的输血死亡事故中排名第一；ABO 和 RhD 血型定型差错也是急性溶血性输血反应的最主要原因。血型鉴定是临床输血实验室输血前试验的主要项目，是采供血机构血液化验中最重要的检测内容，对血液质量和临床输血安全都十分重要。而及时精确地鉴定血型，有赖于实验室具备良好的实验技能和室内质量控制能力。

与临床输血实验室不同的是，采供血机构对献血者进行的血型鉴定要求检测体系能够识别各种弱反应、亚型和变异体，最大限度地避免由漏检或错判而导致的患者免疫风险。而临床输血实验室则可将患者的弱 A 和/或弱 B 表型当作 O 型对待，可将弱 D 和 D 变异型当作 D 阴性对待。因此，在采供血机构中所采用的血型定型室内质控标准不同于临床输血实验室。

血型鉴定室内质控工作的重要性毋庸置疑，但目前我国尚未出台“血型鉴定室内质量控制”的国家或行业标准。由于我国红细胞血型鉴定室内质控工作总体较为薄弱，国内虽不乏研究者和实践者，但由于缺少法规性文件约束，加之多数方法存在不足，因此均未能给出令人满意的结果。由于血型鉴定属于定性试验，实验室不能直接照搬临床检验实验室关于定量检测的室内质控原则和方法。

由上海市血液中心率先建立的全国血型血清学室间质量体系已运转多年，对提高行业内输血相关实验室的技术能力和管理水平起到积极推动作用，在一定程度上弥补了室内质控工作的不足，但是室间质控不能代替室内质控工作。室间质评应在各实验室室内质控的基础上进行，正确的工作流程应首先建立室内质控制度。因此我国采供血机构实验室现有工作流程存在较多弊端和潜在不安全因素。

为了提高血液的质量和临床输血的安全，准确鉴定血型，保障输血治疗的安全性和有效性，本标准对采供血系统的血型鉴定的质控工作提出了高标准、严要求。本标准按照人、机、料、环、法质量控制 5 要素，借鉴国外先进国家经验，结合江浙沪三地质控经验，从人员、仪器设备、环境条件、试剂、及技术方法等方面，提出了采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制的具体要求和实施办法，具有实用性和可操作性的特点。考虑到我国采供血实验室质控整体水平不高，尤其是不同地区发展不均衡，各地实验室目前的做法可能距离本标准要求还有差距。本标准全文是推荐性条款，希望各地采供血实验室能将质控工作从无到有开展起来，逐步完善。本标准起草原则为务实，力争做到标准编写落到实处，每一条款有依据，有意义，有技术含量，室内质控方法首先要有效和可靠，在此基础上尽可能简便。

## 五、 确定各项技术内容的依据

### 1. 检测次数的要求是否属于质控范畴？是否需要区分初次献血者和重复献血者标本，并区别对待检测几次？ABO 和 RhD 定型宜检测几次？是否需要 2 种试剂检测 2 次？ABO 定型和 RhD 鉴定独立检测 2 次是否涵盖两次独立取样？

重复是结果质控的重要手段，欧盟标准中 ABO, RhD 定型质控内容涉及检测次数并有明确要求。（Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation No.R(95)15 16<sup>th</sup> Edition, European directorate for the quality of medicines & health care.）欧盟标准中对血型检测区分“初次”和“重复”献血者，不同献血者对检测次数的要求不同。在我国现阶段，由于不能避免冒名顶替等现象，考虑区分初次和多次献血者检测的可行性和安全性，本标准未做相应要求。《血站技术操作规程》(2012 和 2015 版)有明确要求血型需检测 2 次。通过两次检测结果的比对，结果一致时，方可给出血型诊断的结论。

在标准撰写过程中，除了了解江浙沪的血型鉴定工作流程，项目组朱自严和向东到济南、青岛和大连等地血液中心进行了调研，目前在全国采供血机构实验室，对于 ABO 血型的 2 次检测，基本达成共识，但是对于如何检测 2 次，是否可以将采血前的指尖血型鉴定作为一次血型检测结果，存有较多争议。对于 RhD 血型检测两次，亦有异议，部分血站仅检测 1 次。欧盟对 RhD 血型检测两次有明确规定，对两次检测使用不同试剂有明确的要求，我国《血站技术操作规程》2012 版，对检测次数有明确规定，但没有要求两次检测使用不同血型试剂。

对于复检 ABO 血型的试剂和方法无具体细节要求。复检是需要重复正反定型还是仅正反定型即可？Geoff Daniels and Imelda Bromilow: ABO 血型鉴定总是在正反定型一致，并且血型与历史记录以及第 2 遍 ABO 定型结果相符时才给出结论。当不一致发生时，需要重新取样鉴定，必要时需要由参比实验室进一步鉴定（Essential Guide to Blood Groups. 3<sup>rd</sup> Edition. 2014, John Wiley & Sons, Ltd.）。详细论述请参见“七、重大意见分歧处理结果和依据”中问题 4。

ABO 定型和 RhD 鉴定独立检测 2 次是否涵盖两次独立取样的含义，本标准给出明确解释：通常是对血袋放样血型检测管进行两次检测。若出现两次检测结果不一致，或是与历史血型不一致，则重新从血袋取辫子血复验。

在本标准会审中，有少数专家对血型检测 2 次有不同意见，这些专家倾向于将采血前



由采血护士进行的指尖血血型初筛，算做一次血型检测结果。本编写组认为，街头采血前血型初筛采用平板法鉴定正定型，错误率较高，采血前初筛通常不进行 RhD 血型的检测。2015 版《血站技术操作规程》并未将街头采血前血型鉴定作为必须检测项目，在欧美等国对街头采血时不进行相应血型检测，本标准编写组不否认街头初筛的血型检测结果有一定的比对意义，但是血型街头初筛场所不属于严格意义的实验室。鉴于以上原因，为保证 ABO 和 Rh 血型鉴定结果的质量，并尊重标委会血液委员会部分专家的意见。我们对送审稿此项规定（9.1.3）进行了修改，报批稿中参照国外做法，对初次献血者和重复献血者做了不同要求。

## 2. Rh 阴性确认试验的定义？Rh 阴性确认试验中，对抗 D 试剂的要求？要几批抗 D 试剂？单克隆和人血清试剂？初筛与确认试验使用的 IgM 抗 D 是否要求使用针对不同决定簇的单克隆抗体？IgM 抗 D 是否属于阴性确认的一部分，是否需要增加弱阳性样本的 RhD 阴性确认？

AABB 把使用抗球蛋白试验检测 D 抗原的过程，称为“弱 D 的检测”，该试验可以识别 D 变异型和 RhD 阴性；美国 FDA 批准的初筛 RhD 定型试剂不需检出 DVI 的能力，但所有初检阴性标本需进行“弱 D 的检测”，以进一步识别弱 D 等变异型或确认 RhD 阴性表现型；国内从检测目的出发，习惯将该实验称为 RhD 阴性确认试验。对初筛阴性及 1+~2+ 左右的弱阳性标本送检，阳性结果还需排除直接抗球蛋白试验阳性，并进行 D 变异型确认。Rh 阴性及变异型献血者的血清中可能有抗 D 存在，临床输注血浆制品通常是 ABO 同型输注，而不常规进行输血前配合性试验，因此所有 Rh 阴性标本及 D 变异型标本需进行血清的抗体筛选和鉴定试验。意外（不规则）抗体检测阳性的血浆不能输注给有相应抗原的患者。国外文献中没有 RhD 初筛试验和 Rh 阴性确认实验相对应的英文名称：本标准分别翻译为 RhD 初筛试验（Basic RhD type）和 Rh 阴性确认实验（Confirmation for D negative）。本标准建议对初筛阴性及 1+~2+ 左右的弱阳性标本送检，进行 D 变异型（包括弱 D 和部分 D）确认。所有阴性和变异型进行抗体筛选试验，以鉴定其血清中是否有抗 D 抗体存在。D 变异型献血者可以作为 Rh 阳性血液供用临床。

## 3. 为什么 RhD 定型经常推荐使用两种抗 D 试剂？

RhD 初步定型（The basic RhD type）应最好使用两种识别位点相互补的单克隆抗 D 试剂进行，当二者结果一致，并且与历史记录相符时给出 RhD 定型结果。第二次实验作为试剂失灵或其他技术错误的质控。ABO 定型实验中，反定型可作为正定型的对照，但是 RhD 血型鉴定的质量控制需要通过另外一种试剂来实现。本标准规定应选择已知与 DVI 反应的

IgG 抗 D 试剂用于献血者 RhD 定型的确认试验。详细论述请参见“七、重大意见分歧处理结果和依据”中问题 2。

#### 4. 为什么检出 D 变异型（弱 D 和部分 D）是重要的？

抗 D 试剂是否检出 DVI，对于献血者和病人是应区别对待的。对于献血者一个 D 变异型表现型来说，必须将这袋血标记为 RhD 阳性。这是为了防止 D 变异型细胞输注给 RhD 阴性的受血者，使后者产生抗 D 抗体。与之相反，将 D 变异型孕产妇或可能输血的患者来讲，将其视为 RhD 阴性，给予 Rh 阴性血输注是安全的。（Essential Guide to Blood Groups. Third Edition. 2014）

CFDA 对抗 D 试剂尚未出台成文规定，美国 FDA 抗 D 试剂初筛试验及确认试验的具体要求？美国 FDA 批准的几种抗 D，IgM 抗 D 立即离心不需检出 DVI，对于献血者需进一步的弱 D 试验中确认 RhD 阴性表型或弱 D 表型。IgG 抗 D 在抗球蛋白实验中应凝集 DVI。故本标准中规定用于 Rh 阴性确认的抗 D 试剂应能检出 D 变异型。详细论述请参见“七、重大意见分歧处理结果和依据”中问题 3。

#### 5. 基因分型方法不符合血型血清学鉴定方法的要求，是否需在该标准中涉及基因分型？

目前血型血清学技术是国内外相关实验室 ABO、RhD 定型的主要方法，具有快速、简单、可靠、经济、重复性好等优点。但是对于血清学定型存有疑问的标本，或由于试剂或检测方法的局限，例如纯合子与杂合子的鉴定，可在血清学定型的基础上，借助分子诊断的技术解决。通常分子诊断的结果用作参考。

#### 6. 街头初筛是否纳入本标准范围内？不同次检测结果的比对是否包含街头检测结果？

本标准适用于开展 ABO、RhD 血型鉴定的采供血机构实验室，包括血液中心和中心血站的检验科以及免疫血液学实验室等。街头初筛也属采供血机构开展 ABO、RhD 血型鉴定的部门，但并不非常规意义的“实验室”。街头初筛的血型检测结果不能算一次完整的定型试验。血型检测结果应以检验科对血袋放样血 2 次血型鉴定的结果为准，街头采血护士对献血者采血前进行的血型检测结果仅作参考。当明确血型与采血护士初检血型不一致时应向献血者及时更正并说明。详细论述请参见“七、重大意见分歧处理结果和依据”中问题 4。

#### 7. 如何质控抗球蛋白试验？抗球蛋白试剂质控的问题是否写入？凝胶卡抗球蛋白试验的

### 质控问题。

在试管离心法抗球蛋白试验，导致假阴性结果的原因是洗涤不充分，残余的人免疫球蛋白蛋白不能从实验体系中移除，中和了抗人球蛋白（AHG）试剂。为了检查阴性抗球蛋白实验试管的正确性，在实验完成后，向阴性管加入致敏的对照细胞，如果 AHG 试剂没有被中和，则实验应变成阳性，原来的阴性结果可以确认。如果对照细胞不凝集，实验是无效的，需要重做。为了质控洗涤过程是否恰当，应选择弱阳性质控细胞，以确保实验的最大敏感性。在凝胶实验中，抗球蛋白试验不需要洗涤，因此这个质控步骤是不需要的。

本标准中 Rh 阴性确认试验属于抗球蛋白试验，这是 RhD 血型鉴定的重要内容，所以本标准需对这部分实验的试剂及实验过程进行质控。抗球蛋白试剂的质控方法参考了欧盟推荐的方法（Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components 16th edition. European Directorate for the quality of medicine & health care, 2010.）

### 8. 试剂红细胞的溯源问题？

目前 CFDA 尚未出台 ABO 反定型试剂盒(人血红细胞)制造及检定规程。在国家药监局未发布相应标准之前，建议使用国药监械（准）的反定型细胞试剂。《血站技术操作规程》2012 版附录 B《血液检测方法的确认》B.5.1.2 试剂的准备部分是这样规定的：应选择国家批准使用的血型试剂，严格遵从生产商的说明书进行操作。对于正在进行确认的试剂，所有组份应来源于同一批试剂，不能由其他试剂所替代（即使另一种试剂为同一厂家生产）或实验室自己配制。实验室对试剂自行修改，如稀释试剂，应取得生产商的认可，因为任何修改可以导致对试剂的质量保证失效，并产生相关责任。

### 9. 单克隆或人血清试剂的质控，如抗 A、抗 B、抗 D 定型试剂的质控，是采取效价值衡量，效价测定方法是否写入标准？方法依据是什么？尤其是目前商业化有批文的人血清试剂较少，如果经过质控，可否用于实验室特殊血型的鉴定试验中，如 ABO 亚型鉴定、Rh 阴性确认试验等？

血型试剂质量应从反应能力和亲和力两方面考量。抗 A，抗 B 试剂的亲和力参考中华人民共和国药典相关要求。因效价测定结果变异较多，药典规定：用参考品比对试验代替效价测定。但是实验工作中，考虑到参考品不易获得，实验室内部的质控可以通过效价评估试剂的反应能力。经过国际或国家标准溯源的质控品可用于评价试剂质量。效价测定应考虑到抗原的剂量效应，选择不同种类细胞（包括纯合子和杂合子）。平行测定效价，比对试验结

果是有意义的。关于凝集强度判读标准及试管法效价测定有详细描述,见本标准附录 A 和 B,主要参考 AABB 《technique Manual》 18<sup>th</sup>,与《全国临床检验操作规程》第 4 版基本内容一致。

人血清试剂属多克隆抗体,与血型血清学常用的单克隆试剂性质不同,在一些疑难血型的鉴定过程中,如吸收放散试验、Rh 阴性确认试验等具有单克隆试剂无法替代的优点。因此经实验室内部质控合格的人血清试剂,在保证抗体效价、特异性、亲和力的前提系,虽无批文,可用于血型血清学鉴定试验。

#### 10. 抗 AB 试剂在 ABO 定型中为什么已不再作为必须试剂?

过去人源性多克隆试剂广泛使用时,抗 AB 试剂主要用于帮助检测 A 或 B 的亚型,如 A<sub>x</sub> 和 B<sub>x</sub> 血型,现在认为单克隆抗 A,抗 B 试剂已有足够高的反应能力,不少单克隆抗体可以单独检测不同的 ABO 亚型。纵观目前国内外商品化单克隆血型试剂的特点,可能有 50% 的单克隆抗 B 试剂可检出 B<sub>x</sub>,能够检出 A<sub>x</sub> 表型的抗 A 单克隆抗体较少 (<15%)。因此使用单一单克隆试剂可能漏检 A<sub>x</sub> 或 B<sub>x</sub> 血型。

由于我国《全血及成分血质量要求》(GB18469-2012)明确要求 ABO、RhD 血型检测两次,而一次完整的 ABO 定型试验包括正反定型。如使用了不能检测 A<sub>x</sub> 或 B<sub>x</sub> 的单克隆抗体,反定型的试验结果往往会提示与正定型结果不一致,从而引起关注和进一步鉴定。此外实验室自制的抗 AB 试剂由于不容易质控,像美国、英国和欧盟的标准中也不再将抗 AB 试剂作为常规 ABO 定型试验的必须试剂。

#### 11. ABO 和 RhD 血型鉴定中弱阳性质控品的必要性及意义。对质控试剂的弱阳性细胞的要求及依据? A<sub>3</sub>、A<sub>x</sub>、A 脐带血; B<sub>3</sub>、B<sub>x</sub>、B 脐带血; Rh 系统 D 抗原的剂量效应不如 CcEe 明显,是否需要 R1r 杂合子细胞或更弱的弱 D 红细胞质控抗 D 试剂?

质控品是在试验中用于保证和监控试验结果一致性的材料。质控品的基本性能要素是稳定均匀,没有基质效应。质控品可以由试剂生产商或其他厂家提供,也可自制。通常的定性试验只要准备阳性和阴性质控物即可,对于产生两个以上结果的定性试验,可参考定量试验的质控要求。手工试管法血型定型试验结果分成不同等级,如报告为阴性,1+, 2+, 3+, 4+等,这种试验在阴性和 1+阳性之间的设计,类似于只有两种结果的定性试验。所以阳性质控最好选择弱阳性对照。

对于 ABO, RhD 血型鉴定的过程质控,可仅设置阴性对照和阳性对照。因 ABO 定型

由于正反定型的结果存在相互质控的效果，故正定型弱阳性表型或反定型中抗体减弱，如果漏检则可以通过正反定型结果不一致的方式被发现，而进一步复查。RhD 定型中的弱阳性如果被漏检，则会通过进一步的 RhD 阴性确认试验得以明确。

对于试剂的质控，需要弱阳性细胞的反应达到明确的阳性结果。例如抗 A 与 A<sub>3</sub>、A<sub>x</sub>、A 脐带血；抗 B 与 B<sub>3</sub>、B<sub>x</sub>、B 脐带血反应有明确阳性结果。Rh 系统的 D 抗原数量与 Rh 单倍型有较强相关性，杂合子 R<sub>1</sub>r 细胞 D 抗原数量最低，大概每个红细胞上 9900-14600 个，而纯合子 R<sub>2</sub>R<sub>2</sub> 为 15800-33300/个红细胞；R<sub>1</sub>R<sub>2</sub> 为 23000-31000/个红细胞。英国及 WHO 相关文件都是检测抗 D 试剂与 R<sub>1</sub>r O 型红细胞的效价，以免抗 D 试剂漏检 D 抗原弱表达的表型。

## 12. 抗体筛选试验的质控如何做？

常规用抗 D 试剂稀释至 1+，与抗体筛选试验平行进行，可以起到质控试验过程及筛选细胞的作用。单盲法不定期掺入试验人员未知的含有抗体的标本，可质控试验过程及进行试验人员的能力评估。上述两种对抗体筛选的质控出发点不同，前者侧重质控试验过程和试剂。后者采用盲法，防止心理暗示对结果的判断，重点考察实验室试验操作者的能力，兼顾对试验方法和实验试剂的质控。从技术方法的质控角度出发，本标准采纳了前者。因后者的作用可以通过室间质量评估等质控手段得到补充。

## 13. 定性试验（如 ABO，RhD 定型）失控判断规则、原因分析？

ABO、RhD 血型鉴定属于定性试验，通常以质控品是否达到预期反应作为是否失控的依据。质控品检测未达到目标结果，或核对发现任何不符结果均应判定为失控，应立即查找失控原因并及时纠正。可采取重新检测同一质控品，以查明或排除随机误差，如为随机误差，则重新检测结果应在允许范围内。若非随机误差，更换新的质控品。重新检测失控项目，以排除质控品过期，变质或被污染等因素。检查回顾检测过程，包括环境温度，试剂效期和仪器状态等。判断是否环境温度影响，整批次应重新检测，纠正原因并持续监控。若试剂失效或污染，应更换试剂，整批次应重新检测。若仪器出现问题，如吸样针堵塞，不洁，管路漏气等，应排除故障，重新维护并校准仪器。如为人为操作错误，如标本放错，试剂加错，整批次应重新检测。未按操作程序操作，应对实验人员进行重新培训并纠正。

## 14. ABO 亚型定义的修改依据？

针对同行评议意见和建议，对《征求意见稿》中 ABO 亚型的定义，进行如下修改：“ABO

亚型（ABO Subgroups）：根据红细胞膜表面及分泌液中可遗传的 A 或 B 抗原表现的差异，可进一步区分出的 ABO 表型称为 ABO 亚型。最常见的 A 亚型是 A1 和 A2，除此之外还有很多 A、B 抗原弱表达的亚型，如 A3、 Ax、 Am、 Ael、 B3、 Bx、 Bm、 Bel 等。”理由如下：

ABO 亚型定义：美国输血技术手册（AABB）关于 ABO 亚型的定义为：由红细胞表面和分泌液中 A 和 B 抗原的数量差异所形成的表型称为 ABO 亚型。Modern Blood Banking Transfusion Practices 关于 ABO 亚型的定义为：ABO 亚型指与常用人源多克隆抗 A、抗 B、和抗 A、B 试剂反应呈不同血清学弱反应格局的表型。本标准该定义的编写总体参照 Technical Manual 17<sup>th</sup>（AABB）。对于 A1 属于一种 A 亚型的论述，AABB 上明确指明“临床上最常见的亚型是 A1 和 A2。另外，Practical Transfusion Medicine 3 edition 以及 Modern Blood Banking Transfusion Practices 也都将 A1 和 A2 定义为最常见的两种 A 亚型。

“可遗传的”：首先分子检测技术已证明很多弱表现型的 ABO 亚型与许多基因突变相关；其次，很多疾病比如肿瘤和血液病也会造成 ABO 抗原减弱，但是这种减弱属病理性的，不可遗传，不属于亚型的范畴。

## 六、 征求意见和采纳意见情况

发放征求意见表 28 份，收回 28 份。

《采供血机构 ABO/Rh 血型鉴定室内质量控制》标准（征求意见稿）详见附件。

《同行评议及意见采纳情况汇总表》及针对会审专家意见的修改和说明详见附件。

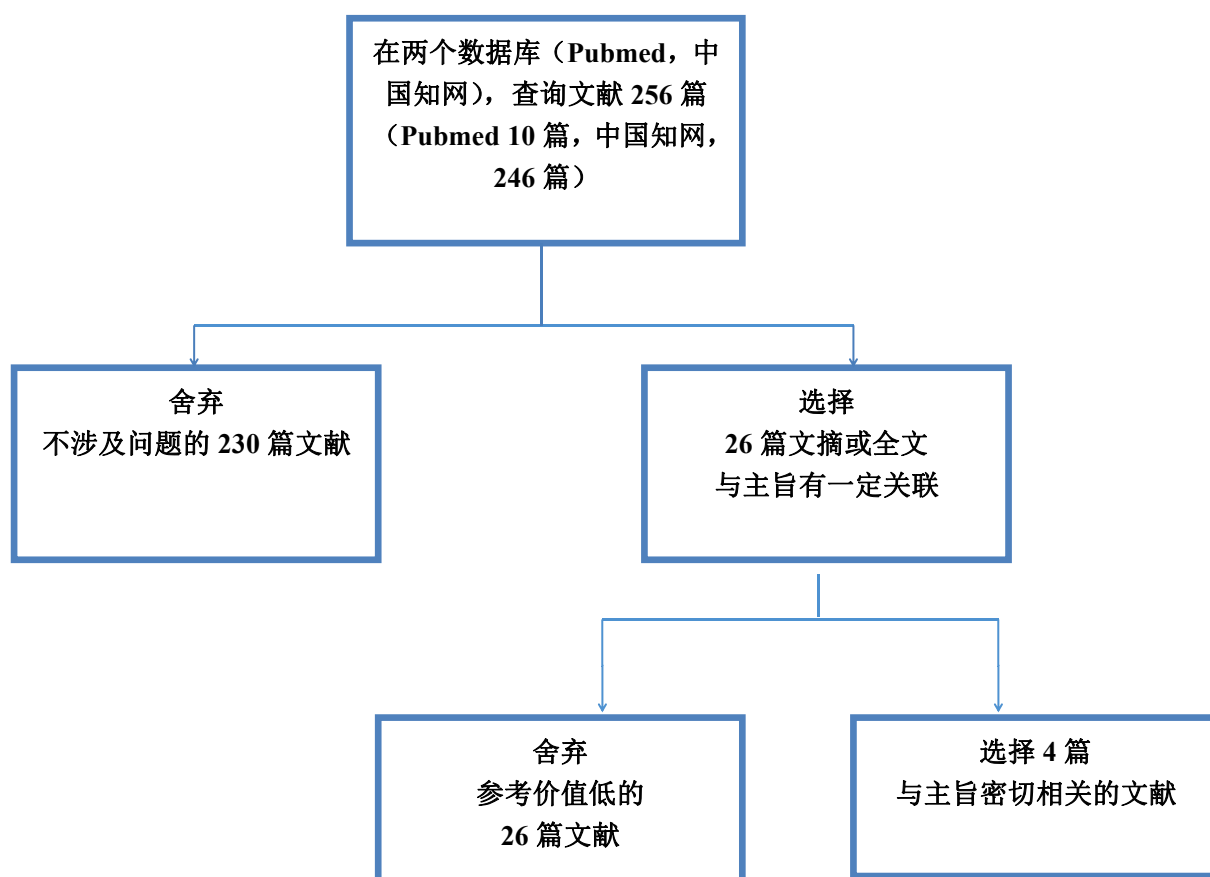
## 七、 重大意见分歧处理结果和依据:

1. ABO 正反定型试剂质控问题: 在对 ABO 正定型进行试剂质量控制时, 是否需涉及对正定型试剂抗体亲和力的质控? 在对新批次血型鉴定试剂的质控时, 为何需选择抗原弱表达红细胞来检测试剂的反应性? (标准送审稿 8.2.2 及 8.2.4)
2. 对 Rh 阴性确认试验试剂的要求(标准送审稿 8.4.4.3)
3. 何种 D 变异型是具有临床意义的, 在 Rh 阴性确认试验中必须被检出? (标准送审稿 8.4.4.3)
4. 实验室应该用何种试验程序在对献血者 ABO 血型进行鉴定(标准送审稿 9.1.3)
5. 对于 Rh 阴性和 D 变异型献血者是否需进行抗体筛查与抗体鉴定(标准送审稿 9.4.6)

## 问题 1: ABO 正反定型试剂质控问题

在对 ABO 正定型进行试剂质量控制时，是否需涉及对正定型试剂抗体亲和力的质控？对新批次血型鉴定试剂的质控时，为何需选择抗原弱表达红细胞来检测试剂的反应性？

### A. 在对 ABO 正定型进行试剂质量控制时，是否需涉及对正定型试剂抗体亲和力的质控？



### 证据概述

孙爱农等<sup>[1]</sup>对国内四家厂商生产的单克隆抗 A/B（都在有效期内，且有国家生产批准文号和批批检定合格证书）的亲和力进行了检测。测定采用瓷板法，分别取 50μl 待检血清抗 A/B，置洁净瓷板方格孔内均匀涂开成圆圈，加等体积相应 10%浓度 A1、A2、A2B、B 型试剂红细胞悬液，立即混匀，面积直径要求在 10mm 以上，滴入红细胞悬液后即刻计时，记录出现肉眼可见凝集时间及 3min 时凝块大小。根据国家标准，抗 A 与 A1 红细胞≤15s、



A<sub>2</sub> 红细胞≤30s、A<sub>2</sub>B 红细胞≤45s、抗 B 与 B 红细胞≤15s 内开始凝集、3min 时凝块达 1mm<sup>2</sup> 以上者，亲和力为合格。连续测定 2 遍以上，取其平均值。作者分别在 8 个月内测定不同厂家单克隆抗 A/B 亲和力两次，结果见表 1。

表 1. 不同厂家单克隆抗 A/B 亲和力测定结果

抗体特异性、所用试剂红细胞	不同厂家试剂分类及检测时距出厂时间							
	I 公司		II 公司		III 公司		IV 公司	
	2 个月	10 个月	2 个月	10 个月	3 个月	11 个月	3 个月	11 个月
	出现凝集时间 (单位 s)							
抗-A (A <sub>1</sub> 红细胞)	3	6	7	9	10	19	17	38
抗-A (A <sub>2</sub> 红细胞)	12	16	14	17	20	40	40	49
抗-A (A <sub>2</sub> B 红细胞)	18	22	19	29	30	51	49	59
抗-B (B 红细胞)	3	6	6	9	11	22	18	30
	3min 时凝块大小 (单位 mm <sup>2</sup> )							
抗-A (A <sub>1</sub> 红细胞)	≥2	≥2	≥2	≥1	≥1	<1	<1	<1
抗-A (A <sub>2</sub> 红细胞)	>1	>1	>1	≥1	>1	<1	<1	<1
抗-A (A <sub>2</sub> B 红细胞)	≥1	≥1	≥1	≥1	≥1	<1	<1	<1
抗-B (B 红细胞)	≥2	≥2	≥2	>1	>1	<1	≥1	<1

亲和力测定结果 I、II 公司产品合格。III 公司产品在 3 个月内合格，在到距生产第 11 个月时，不合格。IV 公司产品始终不合格。作者随访发现两家不合格公司试剂邮寄运输时间太长（超过 10 天），可能因此影响单克隆抗 A/B 活性。作者认为临床所用的单克隆抗 A/B 血型定型试剂，可能存在一些质量问题，其影响因素较多，临床实验室应定期测定单克隆抗体的效价和亲和力。

表 2. 抗 A/B 血型定型试剂检测结果

血型定型实验	抗体特异性所用红细胞	I 公司 (8 个月/18 个月) *	II 公司 (4 个月/12 个月) *	III 公司 (7 个月/24 个月) *
效价	抗 A (A <sub>1</sub> 红细胞)	512	256	256
	抗 A (A <sub>2</sub> 红细胞)	128	64	64
	抗 A (A <sub>2</sub> B 红细胞)	64	32	32
	抗 B (B 红细胞)	512	256	256
亲和力 [s (mm <sup>2</sup> )]	抗 A (A <sub>1</sub> 红细胞)	3(>2)	13(>1)	11(>1)
	抗 A (A <sub>2</sub> 红细胞)	12(>1)	22(>1)	25(>1)
	抗 A (A <sub>2</sub> B 红细胞)	19(>1)	32(>1)	33(>1)
	抗 B (B 红细胞)	5(>2)	16(>1)	14(>2)

S: 凝集的时间; mm<sup>2</sup>: 3min 时凝块大小; \*: 检测时离出厂时的时间/有效期。

另一篇文献中<sup>[2]</sup>，作者对 3 家公司生产的单克隆抗 A/B 试剂（有效期内，具有国家生产

批准文号及“批批检定”合格)的亲和力进行了检测。亲和力测定方法和前一篇文献相同,测定结果见表 2。

结果显示 II 公司抗 B 亲和力未达标, III 公司抗 B 亲和力处于临界值。作者建议购买单克隆抗 A/B 试剂之前进行试剂检测性能的评估;对已在使用的试剂及早补做亲和力的性能检测,摸清所用试剂检测性能情况;对亲和力存有缺陷的试剂,使用中适当延长反应时间;为确保使用期间血型检测试剂质量可靠性,使用者应定期测定其效价和亲和力。

类似的评估不同厂家 ABO 定型试剂质量的文章,也报道随着试剂保存时间延长,试剂亲和力会有所下降<sup>[3]</sup>。个别文献中,虽未检测到亲和力的变化,但文章作者认为其分析的数据仅基于一个批次的试验数据,而各厂家生产的试剂可能存在批间差异,因此,血站对购进的试剂应进行使用前的效价和亲和力检测<sup>[4]</sup>。

选取的两篇有代表性的文献<sup>1,2</sup>分别发表于 2004 和 2011 年,由不同的单位完成。其在亲和力测定方法和判断标准上是一致的。在两份研究中,均观察到保质期内 ABO 正定型试剂亲和力减弱的现象,甚至出现不达标的情况。对亲和力的质控,可确保试剂在使用期间的有效性。

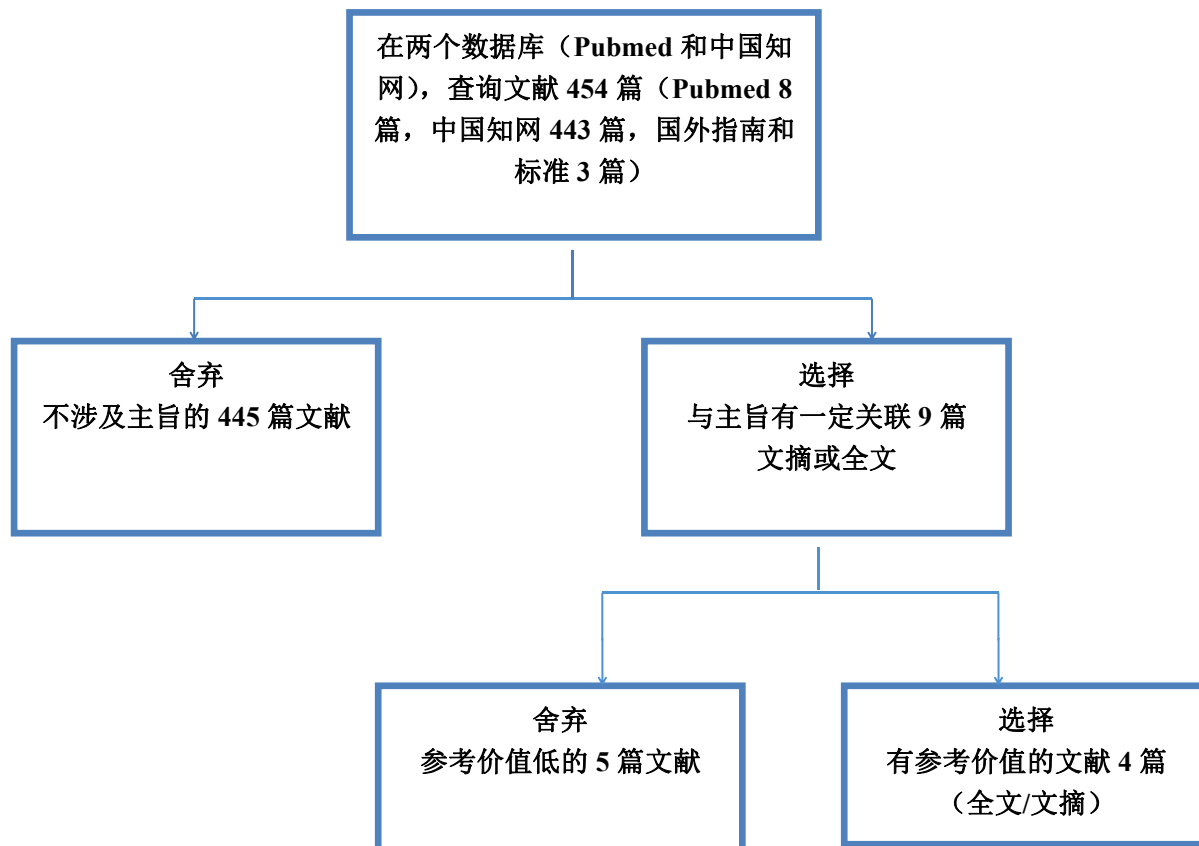
## 建议

根据孙爱农、杨夏等的数据与实验结果,编写组认为对 ABO 正定型试剂进行质量控制时,应包括对抗体亲和力的质控。

## 参考文献

1. 孙爱农,冯志广,李兆兰,何锐洪,吴志峰,廖艳婷,单克隆抗 A(B)试剂质量鉴定与分析,中国误诊学杂志,2004,4(1):34-36.
2. 杨夏,王晓岚,三家单克隆抗 A(B)血型试剂的质量分析,国际检验医学杂志,2011,32(21):2530-2532.
3. 黄丽雅,陈勇高,周越勤,吴少梅,周巨明,马庆宗,抗 A 和抗 B 血型定型试剂稳定性观察及对亚型检测的影响,现代检验医学杂志,2007,22(6):20-23.
4. 朱红芹,周静宇,刘衍春,吴敏慧,张庭祥,抗 A 及抗 B 单克隆血型定型试剂的质量分析,临床血液学杂志,2010,23(8):481-482.

**B. 在对新批次 ABO 血型鉴定试剂质控时,为何需选择抗原弱表达红细胞来检测试剂的反应性?**



**证据概述**

对新批次的 ABO 正定型试剂进行质控时,除了和正常的 ABO 细胞反应外,是否要加入相应抗原弱表达的红细胞,存在一定争议。关注点多集中在抗原弱表达红细胞的不易获得,会导致标准的可操作性受到影响。

对此,我们通过检索已发表的文献,分析质控时加入抗原弱表达红细胞的必要性。黄丽雅等<sup>[1]</sup>选择国内四家不同厂商生产的单克隆 ABO 定型试剂,研究了其与 ABO 亚型红细胞的反应情况。使用的亚型红细胞包括 1 份 A<sub>3</sub>, 1 份 A<sub>x</sub>, 2 份 B<sub>3</sub>, 1 份 B<sub>x</sub>, 1 份 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>。试验时,用人源抗 A、抗 B 作为对照,结果见表 1。

表 1. “单抗 A、抗 B”及人源抗 A、抗 B 与稀有 ABO 亚型红细胞反应结果

所用试剂亚型红细胞	I 公司 2mo		II 公司 3mo		III 公司 4mo		IV 公司 3mo		人源（对照）6mo		人源（对照）12mo	
	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B
A <sub>3</sub> 红细胞	1±	0	W+	0	1+	0	0	0	2+	0	2+	0
A <sub>x</sub> 红细胞	W+	0	0	0	0	0	0	0	2+	0	1+	0
B <sub>3</sub> 红细胞	0	W+	0	1±	0	W+	0	W+	0	2±	0	2±
B <sub>3</sub> 红细胞	0	0	0	W+	0	W+	0	W+	0	2±	0	2±
B <sub>x</sub> 红细胞	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	1+
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> 红细胞	4+	0	4+	0	4+	0	4+	0	4+	+	4+	1+

注：W+表示弱凝集；0 表示不凝集；4+，2+，2±，1+，1±表示凝集程度。

表 2. 不同厂家单克隆抗 A（B）原液和混合液与稀有 ABO 亚型红细胞反应结果

所用试剂亚型红细胞	不同厂家试剂分类及检测时距出厂时间								混合液			
	I 公司 2 个月		II 公司 2 个月		III 公司 3 个月		IV 公司 3 个月		甲组		乙组	
	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-A	抗-B
A <sub>3</sub> 红细胞	2±	0	1+	0	1+	0	1+	0	2±	0	1+	0
A <sub>3</sub> 红细胞	1+	0	0	0	mf	0	mf	0	1+	0	mf	0
A <sub>x</sub> 红细胞	1+	0	0	0	0	0	0	0	1+	0	0	0
B <sub>3</sub> 红细胞	0	1+	0	2±		W+	0	1+	0	1+	0	W+
B <sub>3</sub> 红细胞	0	0	0	1+		W+	0	W+	0	1+	0	W+
B <sub>x</sub> 红细胞	0	0	0	1+		0	0	0	0	1±	0	0
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> 红细胞	4+	0	4+	1+	4+	W+	4+	0	4+	1+	4+	0

注：mf 表示混合外观；W+表示弱凝集；0 表示不凝集；4+，2±，1+，1±表示凝集程度。

表 1 结果显示四家公司的抗 A/B，分别与 ABO 亚型红细胞反应时，均有明显漏检红细胞抗原的现象，因此作者认为患者输血前血型检测必须包括 ABO 正反定型试验。作者还指出人源抗 A/B 具有广谱特异性，虽然根据国家标准，与单克隆抗体比较不具有明显优势，但在 ABO 亚型、弱抗原红细胞检测中，具有优势。

孙爱农等<sup>[2]</sup>选取了四个厂家的抗 A/B 试剂，使用的亚型红细胞有 2 份 A<sub>3</sub>，1 份 A<sub>x</sub>，2 份 B<sub>3</sub>，1 份 B<sub>x</sub>，1 份 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>。除了将原厂试剂和亚型红细胞反应外，作者还将不同厂家试剂混合后与亚型红细胞反应，结果见表 2。

结果显示 4 家单克隆抗 A/B 分别与 ABO 亚型红细胞反应时，均有漏检红细胞抗原的现象。作者将检出效果较好的 I、II 公司单克隆抗体混合后，发现可以测出所有稀有 ABO 亚型红细胞，当然作者提出这种方法临床试验室不得效仿，但提示厂家可以考虑将不同来源杂交瘤细胞制备的合格抗 A/B 混匀，以提高单克隆试剂对人类红细胞抗原广谱识别性，并提出最终产品应该用大批量包括亚型在内的标本进行验证。

Voak D.<sup>[3]</sup>在其文摘中也提出高质量的抗 A/B 单克隆试剂应能在平板法中获得足够的凝集强度，同时在试管法中有能力检测出弱的亚型抗原（包括 A<sub>x</sub> 和 B<sub>w</sub>）。英国血站指南中<sup>[4]</sup>，对常规抗 A 血型试剂的评估，要求至少包括 A<sub>x</sub>、A<sub>3</sub>、A 型脐血中的两个细胞。对常规抗 B 试剂的评估，要求至少包括 B<sub>x</sub>、B<sub>3</sub>、B<sub>v</sub>、B 型脐血中的两个细胞。具体要求参见表 3。

检索到的文献中均推荐或要求用抗原较弱的红细胞对 ABO 定型试剂进行反应性检测。本标准中抗原弱表达红细胞不局限于亚型红细胞，还包括 A/B 型脐带血，国内采供血机构实验室均有能力获得相应红细胞。

## 建议

根据黄丽雅、孙爱农等的数据与实验结果，参考国外血站指南中对定型试剂的要求，编写组认为对新批次血型鉴定试剂的质控时，需选择抗原弱表达红细胞来检测试剂的反应性。

## 参考文献

1. 黄丽雅, 陈勇高, 周越勤, 吴少梅, 周巨明, 马庆宗, 抗 A 和抗 B 血型定型试剂稳定性观察及对亚型检测的影响, 现代检验医学杂志, 2007, 22 (6): 20-23.
2. 孙爱农, 冯志广, 李兆兰, 何锐洪, 吴志峰, 廖艳婷, 单克隆抗 A (B) 试剂质量鉴定与分析, 中国误诊学杂志, 2004, 4 (1): 34-36.
3. Voak D. Monoclonal antibodies as blood grouping reagents. *Baillieres Clin Haematol.* 1990;3(2):219-42.
4. Guidelines for the blood transfusion services in the United Kingdom. 7th Ed. London: TSO. 2005.

表 3. 对常规血型定型试剂的要求

Antibody specificity	Specification	Performance evaluation  As a minimum, two examples of the following reference cells should be included*	Batch release testing					
			Specificity				Potency	
			Positive reactors		Negative reactors			
			Cell type	No.	Cell type	No.		
Anti-A	Normally blue coloured  Should equal or exceed potency of reference preparation(s)  Should detect variants and subgroups as detailed in the manufacturer's instructions for use	A <sub>x</sub> , A <sub>3</sub>  A cord cells	A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B A <sub>x</sub> *	2 2	B O	2 2	A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B	1 2
Anti-B	Normally yellow coloured  Should equal or exceed potency of reference preparation(s)  Should detect variants and subgroups as detailed in the manufacturer's instructions for use	B <sub>x</sub> , B <sub>3</sub> , B <sub>v</sub>  B cord cells	B A <sub>1</sub> B	2 2	A <sub>1</sub> O	2 2	B A <sub>1</sub> B	1 2
Anti-A,B	Normally clear coloured  Should equal or exceed potency of reference preparation(s)  Should detect variants and subgroups as detailed in the manufacturer's instructions for use	A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> , B, A <sub>1</sub> B, A <sub>2</sub> B  A <sub>x</sub> , A <sub>3</sub>  B <sub>x</sub> , B <sub>3</sub>  A and B cord cells	A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B A <sub>x</sub>	1 2 2 2	O	4	A <sub>1</sub> A <sub>2</sub> B	1 2 2
Anti-A <sub>1</sub>	Normally clear coloured  Should equal or exceed potency of reference preparation(s)  Should detect variants and subgroups as detailed in the manufacturer's instructions for use		A <sub>1</sub> A <sub>1</sub> B	2 2	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> B B O	2 2 2 2	A <sub>1</sub>	2

## 问题 2：对 Rh 阴性确认试验试剂的要求

Rh 阴性确认试验中所选用的确认试剂是否需与初筛试剂识别的 D 表位不同.是否可改为“确认试剂与初筛试剂所用的抗 D 需源于不同细胞株”或“厂商需提供克隆号”，三批不同来源的抗 D 或三份不同人源抗 D 是否可作为 Rh 阴性确认试剂？

### 证据概述

正常 RhD 阳性表型红细胞表面约有 10000~30000 个 D 抗原位点，每个 D 抗原决定簇由多种不同的 D 表位构成。D 抗原数量表达下调，或部分 D 表位缺失的红细胞，被称为 D 变异型，如各种弱 D、各种不完全 D<sup>[1]</sup>。由 D 抗原位点数量减少或抗原结构产生变异所产生的变异型 D 红细胞，红细胞上虽然有 RhD 抗原存在，但与常规使用的抗 D 定型试剂不凝集或弱凝集。确定这些红细胞上是否有 D 抗原存在需进一步采用含 IgG 抗 D 抗体的试剂进行抗球蛋白试验以提高试验灵敏度，达到检测弱 D 的目的；以及采用针对不同 D 表位的抗 D 抗体，达到检测是否有 D 表位缺失。当确定红细胞上无 D 蛋白表达时，才能最终判定被检标本为 RhD 阴性，以避免将漏检的带有非正常 D 抗原的红细胞输注给 Rh 阴性患者，导致抗体产生或免疫性输血反应的发生。

单克隆抗体的到来，使得部分 D 抗原与抗 D 反应显示出明显不同的反应格局，这些反应的不同被认为是由不同 D 表位所致。2002 年的血型单克隆抗体会议上的报告中指出，不同的单克隆抗体针对相同的 D 变异型会产生截然不同的结果（表 1）<sup>[2]</sup>。

表 1. 不同单克隆抗体针对 D 变异型反应格局

抗 原 表 位	抗体编号	<i>DII</i>	<i>DIII</i>	<i>DIVa</i>	<i>DIVb</i>	<i>DVa1</i>	<i>DVa2</i>	<i>DVa3</i>	<i>DVa4</i>	<i>DVa5</i>	<i>DVI</i>	<i>DVII</i>	<i>DFR</i>	<i>DBT</i>	<i>DHAR</i>	<i>DHMi</i>	<i>DNB</i>	<i>DAR</i>	<i>DNU</i>	<i>DOL</i>	<i>DYO</i>
1.1	50,82	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	<b>v</b>	<b>v</b>	<b>v</b>	-
1.2	79,83	+	+	-	-	-					-	+	-	-	-	+					
2.1	23,24,34,44,51	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	<b>v</b>
2.2	51,60	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	<b>v</b>
3.1	28,33,43,49,67,72,73,75,95,106,179	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	<b>v</b>	+	+	+	+
4.1	45,56	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
5.1	42,76,116	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
5.2	25,79	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
5.3	86	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
5.4	32,35,41,44,52,70,88,89,109,110,130	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	<b>v</b>	-
5.5	69	+	+	+	+	-					-	+	-	-	-	-					
6.1	35,46,87,98,102,103,113,125,128	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.2	20,29,30,36,45,47,48,55,57,90, 91,92,93,97,105,114	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	<b>v</b>
6.3	31,32,52,56,58,59,62,65,68,71,80, 81,94,95,97,108,114	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	<b>v</b>
6.4	26,28,31,34,37,39,40,43,69,70,83,84, 93,98,99,111,115,134	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<b>v</b>

表 1 续



6.5	30,84,85,86,87,100,119,126	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
6.6	27,37,66,77,78,85	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	v	v
6.7	33,54,61,74,75,81,94,104,122	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	v	+	+	+	+	+	v
6.8	49,53,142,143	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-		+	+	+	+	+	v
8.1	22,74,78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	v	+	-	-	+	+	v
8.2	39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	v	+	+	+	+	+	+
8.3	145	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-		-					
9.1	38,47,56,64,77,96,101,112,118, 120,121,127	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
10.1	54,57	+	+	-	-	-					-	-	-	-	-	-						
11.1	62	+	+	+	+	-					-	-	-	-	-	-						
12.1	38	+	+	+	+	+					-	+	-	+	-	-						
13.1	50	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	nt
14.1	60	+	+	+	-	+					-	+	+	-	-	+						
15.1	53,55,72,76,99	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
16.1	73,68,124,117,180	+	+	+	+	+					+	+	+	+	-	+						

+: 阳性, -: 阴性, v: 有变化的, nt: 未检测

表 2. 不同抗体对 RhD 表位的识别情况

试剂 编号	抗 D 细胞株	弱 D 1&2	DII 和 DNU	DIII	DIV	DV	DCS	DVI	DVII	DOL	DFR	DMH	DAR	DAR-E	DHK 和 DAU-4	DBT	R <sub>0</sub> Har
D 变异型	数目	epD2a	epD2b	epD5a	epD5b	epD5c	epD8	epD9	?								
II	1	+	+	+	+	+	+	-	+	-							
III	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
IVa	2	-	-	+	+	+	+	-	-	-							
IVb	2	-	-	+	+	+	+	-	-	-							
Va	4	+	+	-	-	-	+	+	+	-							
VI	5	-	-	-	-	-	-	+	+	-							
VII	6	+	+	+	+	+	-	+	+	+							
HMi	2	-	+	-	+	+	-	+	+	+							
HMii	2	+	+	-	+	+	+	+	+	-							
DFR	2	-	+	-	-	+	-	+	+	+							
DBT	2	-	-	-	-	-	+	-	-	-							
R <sub>0</sub> Har	2	-	-	-	-	-	+	-	-	-							
选用抗体		BRAD-8 BS227	P3X249 P3X290 BRAD-7 FEF7	HAM-A	BS231 BS229 P3X241	JSML	P3X212 11 F1	BRAD-2 H27 P3X212 23 B10	8D8	JAD7							

A	LHM 76/58	+	+	+	+	+/0	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	(+)/0
B	LHM 76/59	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
C	LHM 174/102	(+)/0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0
D	LHM 50/28	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0
E	LHM 169/81	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0
F	ESD-1	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
G	LHM 76/55	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
H	LHM 77/64	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/0	0	0
I	LHM 70/45	+	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
J	LHM 59/19	(+)/0	+	+	+	+	+	0	0	0	0	(+)	0	(+)	+	+	0
K	LHM 169/80	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0
L	LHM 57/17	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0

表 3. 不同抗体对于不同 D 变异型的检测结果

从表 1 中可以看出，并不是所有的单克隆抗体与 D 变异型细胞都能够有反应。针对同一种 D 变异型，不同的抗体反应性也不一样。例如：表中列出的抗体都可以和 DII 型细胞反应呈阳性结果，但是仅仅只有 5 组抗体能够与 DVI 型细胞反应呈阳性。同样，针对 DFR、DBT 与 DHAR 型细胞，也仅仅只有几组可以检出。如果使用的单克隆抗 D 试剂来源为同一组，或是不同的几组，都有可能会导致由于抗体不能够识别相应的表位而导致的假阴性结果的出现，例如，使用抗体编号为 38,45 和 96 的单克隆抗 D 同样检不出 DII 型，而误判为 RhD 阴性。为了保证各种 D 变异型的检出，一定要选用表位 6.1 组抗体并配合其他 5 组与 DIV 型呈阳性反应的抗体(表位 3.1、4.1、9.1、15.1 与 16.1 组)中选取 2 支，才能避免假阴性的出现。

此外早在 1996 年，Jeff Jones 等人就测定了不同抗体对 RhD 表位的识别情况(见表 2)<sup>[3]</sup>。在对 12 种 D 变异型的 9 个表位进行测定时，就发现不同单克隆抗体对不同 D 变异型的识别具有差异性。

2013 年，Swati Kulkarni 等人对 D 变异型检测试剂盒的测定过程中，同样发现了不同的抗体对于不同 D 变异型的检测结果存在明显差异(表 3)<sup>[4]</sup>。所使用的 12 种单克隆抗 D，对 DIV、DVI 及 DBT 变异型识别性较差，甚至对于 R<sub>0</sub>Har 变异型，几乎不可检出。

目前，大多数国内输血实验室采用 3 支不同批号的单克隆抗 D 或不同人源的抗 D 来对 RhD 阴性进行确认。如果是同一厂商，不同批号的抗 D 往往是来源于同一细胞株，这就可能导致在进行 RhD 阴性确认试验时，漏检某些 D 变异型，导致假阴性结果的出现。而人源性抗 D 虽然是多克隆，但试剂的批间稳定性和不同人源之间抗体效价的一致性质控较难。

总结上述文献，可以看到，使用不同的单克隆抗 D 细胞株，最大限度地识别各种 D 表位，对 D 变异型的检出具有极其重要的作用。

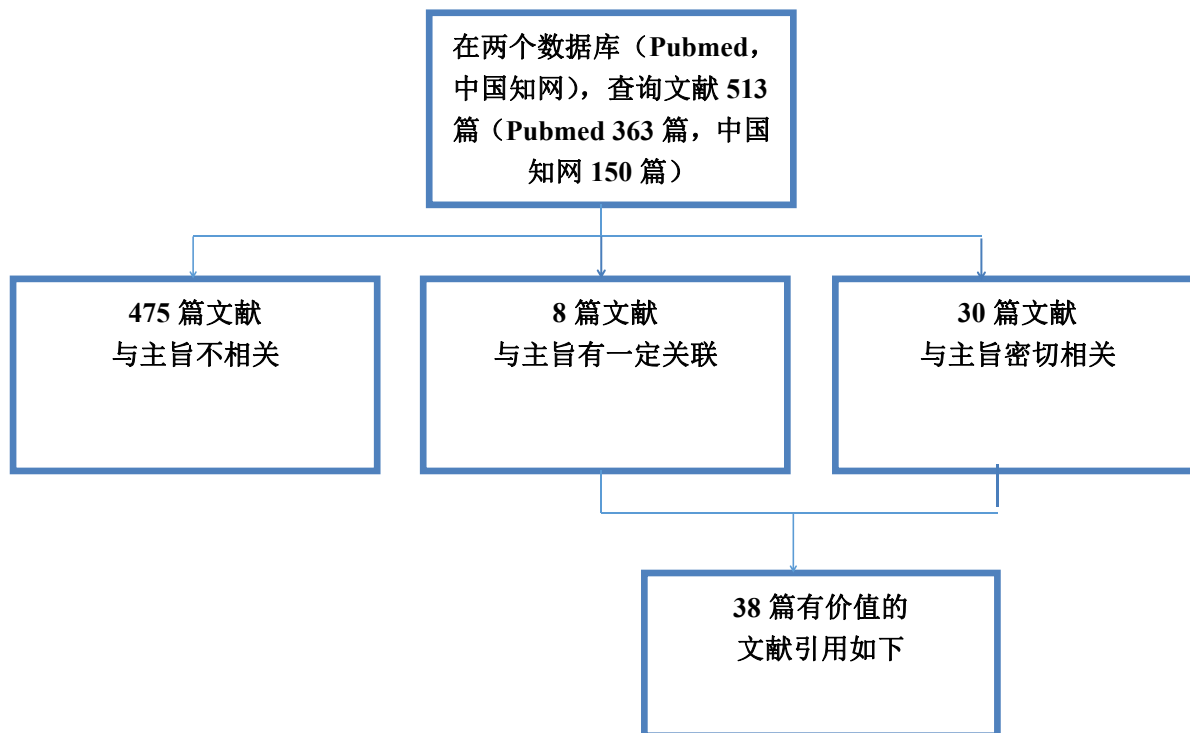
## 建议：

我们建议厂商在推出产品时需明确注明抗 D 试剂的细胞株克隆号。在 RhD 阴性确认试验中建议选用与初筛试剂不同的抗 D 细胞株，以确保所使用的试剂不会对 RhD 抗原表位造成漏检，而导致输血反应的发生。

### 参考文献:

1. 杰夫·丹尼尔. (朱自严等译) 人类血型(第二版); 北京, 科学出版社
2. M. Scott. Rh serology Coordinator's report. *Transfusion Clinical Biology*, 2002 ; 9 : 23-9
3. Jeff Jones, Derek Filbey. Selection of Monoclonal Antibodies for the Identification of D Variants: Ability to Detect Weak D and to Split epD2, epD5 and epD6/7. *Vox Sang*, 1996;70:173-179
4. Swati Kulkarni, Vasantha Kasiviswanathan, Kanjaksha Ghosh. A simple diagnostic strategy for RhD typing in discrepant cases in the Indian population. *Blood Transfusion*, 2013; 11: 37-42

### 问题 3：何种 D 变异性是具有临床意义的，在 Rh 阴性确认试验中必须被检出？



#### 证据概述

正常 RhD 阳性表型红细胞表面有 10000~30000 个 D 抗原位点<sup>[1]</sup>，每个 D 抗原决定簇由 30 个 D 表位组成<sup>[2]</sup>。D 抗原数量表达下调，或部分 D 表位缺失的红细胞，被命名为 D 变异型（D variants）。目前，D 变异型被分为两个亚类：部分 D（partial D）和弱 D（weak D）。部分 D 是一种质变性的变异型，由部分或大量 D 表位缺失所造成<sup>[3]</sup>；弱 D 是量变性的变异型<sup>[3]</sup>，红细胞表面的 D 位点数下降到 70-4000 个左右<sup>[1]</sup>。

由于 D 变异型的 D 抗原表达异常，当具有 D 变异型表型的个体作为患者，需要接受输血，或者作为献血者为患者提供血液时，应当采取何种政策进行应对；以及处于妊娠期的 D 变异型妇女，是否应当采取一定治疗措施，防止新生儿溶血症的发生，保证母婴健康，都是临床上所关注的重点问题。

#### D 变异型个体接受正常 D 阳性抗体免疫刺激后，是否产生抗 D？

Daniels<sup>[3]</sup>总结了接受正常 D 阳性免疫刺激后，会产生抗 D 的 D 变异型，见表 1。

表 1 可产生抗 D 的 D 变异型，引自文献 3

DII	DFL	DWI
DIII	DFR	弱 D1 型*
DIVa	DFV	弱 D2 型*
DIVb	DHAR	弱 D4 型
DV	DHMI	弱 D11 型
DVI	DMH	弱 D15 型
DVII	DMI	弱 D21 型
DAR	DNAK	弱 D57 型
DAU	DNB	DEL-5
DBT	DOL	DEL-ex 8 del

\*存在争议

从这组数据可以看出，绝大多数可免疫产生抗 D 的 D 变异型属于部分 D。在表 2 中，我们将对这些数据的出处、案例进行概述。

表 2. 产生抗 D 的 D 变异型案例报道分析

D 变异型	案例	评价	文献
DII		文献 3 综述提及，但未明确指明出处，在 Pubmed，中国知网搜索，未见具体案例报道。	3
DIII		文献 3 综述提及，但未明确指明出处，在 Pubmed，中国知网搜索，未见具体案例报道。	3
DIV	1 多米尼加共和国一名黑白混血女性，无输血史，有 2 次妊娠史，抗 D 效价 256。（资料来源早于 1997） 2 非洲多哥妇女，无输血史，3 次妊娠史（两个孩子存活，1 名流产），抗 D 效价 16。（2006） 3 瑞士女性，无输血史，2 次妊娠史，抗 D 效价 1。（早于 1997） 4 德国女性，是否有输血史未知，至少 1 次妊娠史，抗 D 效价 2（早于 2000） 5 德国女性，输注 2 单位 D 阳性血液，妊娠史未明，抗 D 效价 8（1996）		10

	6 德国女性,无输血史,4次妊娠,抗D效价4(早于1990)		
	7 德国男性,输注1单位D阳性血液,抗D效价256(2000)		
	8 南斯拉夫女性,输血史未明,妊娠7次,抗D效价1(早于1997)		
	9 德国女性,无输血史,5次妊娠(2名存活,3名流产),抗D效价128(早于1997)		
	10 土耳其男性,输注10单位D阳性血液,抗D效价8(2006)		
	11 德国女性,输血史未明,9次妊娠,抗D效价2(早于1997)		
	12 德国女性,有几次输血(具体次数及输注血型未提及),妊娠1次,抗D效价8(1988)		
DV		文献3综述提及,但未明确指明出处,在Pubmed,中国知网搜索,未见具体案例报道。	
	1983年,26岁高加索妊娠期女性,抗D效价最高为8192,最低为2048,后确认其为DVI		4
	1953年,1名白人妊娠期妇女,当时将其Rh血型定为CD <sup>e</sup> /cde,其血清中检出抗D,效价为4,胎儿未出现HDN	pubmed仅可见标题,文献4推测其为DVI	5
	1957年,1名白人妊娠期妇女,当时将其Rh血型定为CDe/cde,其血清中检出抗D,效价为120,婴儿出现HDN,接受输血后,恢复	pubmed仅可见标题,文献4推测其为DVI	6
	1960年,1名白人妊娠期妇女,当时将其Rh血型定为CD <sup>e</sup> /CdE,其血清中检出抗D,效价为2000,婴儿出现HDN,接受输血后,恢复	pubmed仅可见标题,文献4推测其为DVI	7
DVI	1969年,1名黑人妊娠期妇女,当时将其Rh血型定为CDe/cde,其血清中检出抗D,效价为报道,婴儿出现HDN,接受2次输血后,恢复	pubmed仅可见标题,文献4推测其为DVI	8
	1970年,1名白人妊娠期妇女,当时将其Rh血型定为CD <sup>e</sup> /cde,其血清中检出抗D,效价为4096,婴儿出现HDN,接受两次输血,婴儿死亡	pubmed仅可见标题,文献4推测其为DVI	9
	2008年,35岁汉族女性,无输血史,妊娠3次,均流产,抗D效价32		11
	2014年,56岁汉族女性,有输血史和妊娠史,抗D效价16		12
DAR		文献3综述提及,但未明确指明出处,文献13也提及DAR个体有产生抗D的可能性,但无明确例子,中国知网无类似报道	
DAU		文献3综述提及,但未明确指明出处,在Pubmed,中国知网搜索,未见具体案例报道。	
DBT		文献3综述提及,但未明确指明出处,在	



DFL	一名瑞典人, 抗 D 效价 32	Pubmed, 中国知网搜索, 未见具体案例报道。文献 3 综述提及, 但未明确指明出处, 文献 14 举例	14
DFR	1985 年, 一名居住在汉堡的女性患者, 产生抗 D	文献 3 综述提及, 但未明确指明出处, 文献 15 举例	15
DHAR		文献 3 综述提及, 但未明确指明出处, 在 Pubmed, 中国知网搜索, 未见具体案例报道。	
DHMI		文献 3 综述提及, 但未明确指明出处, 在 Pubmed, 中国知网搜索, 未见具体案例报道。	
DMH		文献 3 综述提及, 但未明确指明出处, 在 Pubmed, 中国知网搜索, 未见具体案例报道。	
DMI	1 名德国人, 抗 D 效价 4		14
DNAK		文献 3 综述提及, 但未明确指明出处, 在 Pubmed, 中国知网搜索, 未见具体案例报道。	
DNB	1 名瑞士人, 1 名德国人, 1 名丹麦人, 2 名奥地利人, 产生抗 D, 效价最低 4, 最高 32	在常规血清学检测中, DNB 会被定为 CcDee, 其 D 抗原无明显下调, 但接受正常 D 抗原刺激后, DNB 个体会产生抗 D	16
DOL	1 名西非国家的艾维族人, 产生抗 D, 效价 128		14
DWI	1 名 74 岁的奥地利女性, 有输血史, 妊娠史, 产生抗 D		17
弱 D1 型	4 名个体检出抗 D	文献 3 认为结果在学术界存在争议	18
弱 D2 型	4 名个体检出抗 D	文献 3 认为结果在学术界存在争议	18
弱 D4 型	5 名弱 D4.0 女性, 12 名弱 D4.2 女性, 2 名弱 D4.2 男性检出抗 D		19
弱 D11 型	1 名女性检出抗 D		19
弱 D15 型	1 名女性检出抗 D		19
弱 D21 型	1 名 72 岁, 妊娠 3 次, 多次输血的高加索女性, 产生抗 D		20
弱 D33 型	1 名女性检出抗 D		19
弱 D57 型		文献 3 综述提及, 但未明确指明出处, 在 Pubmed, 中国知网搜索, 未见具体案例报道。2 年后, 文献 22 指出 RHD (IVS5-38del4) 等位基因不是 DEL 的编码基因, 而是 DFR-3 这种部分 D 的一个调控基因, 该案例是部分 D 引起的。	21
DEL-5	1 名 21 岁高加索女性, 检出抗 D		
DEL-ex del	8 1 名 28 岁黎巴嫩妇女, 产生抗 D		23

从文献看, 有 30 余种 D 变异型 (包括部分 D, 弱 D 及 DEL), 被报道可以产生抗 D, 其中, 以 DIV 和 DVI 的案例报道最多, DIV 的案例主要集中于高加索人种和部分非洲人群, 未见关于东亚人群报道; DVI 的案例在包括中国人群的几乎所有种族中都有报道。关于其

他 D 变异型可产生抗 D 的报道，有的是个例，有的存在争议，有的已经证明是在 D 亚型鉴定中出现错误。对于亚洲最常见的 DEL(K409K)个体是否会产生抗 D，邵超鹏做了研究，他收集了 104 例产生抗 D 的中国孕妇的血样，发现这 104 人中，没有 1 人是 DEL<sup>[31]</sup>。邵超鹏认为这种 DEL 表型可以看做“亚洲型” DEL，具有这种表型的个体不会产生抗 D，可以安全的输注 D 阳性血。因此，对于 D 变异型个体是否会产生抗 D，最需要关注的是 DIV 和 DVI 这两个亚型。

## D 变异型个体是否会诱导 D 阴性个体产生抗 D?

D 变异型诱导真正 D 阴性个体产生抗体的案例报道较少。部分案例见表 3。

表 3 D 变异型诱导 D 阴性个体产生抗体

D 变异型	案例	评价	文献
DV	1 名 DV 婴儿，刺激其 D 阴性母亲，该母亲在第一次妊娠时产生抗 D，引发 HDFN		24
弱 D3 型	1 名弱 D3 型婴儿，刺激其 D 阴性母亲，产生抗 D，		25
DEL-5	1 名高加索 D 阴性患者，接受输血后，产生抗 D，溯源后认为献血者有 1 名是 DEL (IVS5-38del4)，由这种 DEL 引起	2 年后，文献 22 指出 RHD (IVS5-38del4)等位基因不是 DEL 的编码基因，而是 DFR-3 这种部分 D 的一个调控基因，该案例是部分 D 引起的。	26
DEL(K409K)	1 名日本 D 阴性患者，接受输血后，产生抗 D，溯源后认为由 DEL DEL(K409K)引起	该患者年近 70，有多次输血时，溯源分析无法排除是否还输注过其他 D 变异型血液	27
DEL(K409K)	1 名韩国 D 阴性患者，接受输血后，产生抗 D，溯源后认为由 DEL DEL(K409K)引起	该患者年近 70，有多次输血时，溯源分析无法排除是否还输注过其他 D 变异型血液	28
弱 D1 型	1 名 76 岁 ccdee 白人女性，无妊娠史，输注过 5 单位血液，产生抗 D，其中有 1		29

弱 D2 型	<p>单位血液来自 1 名弱 D1 型的献血者，推测由该 D 变异血液免疫刺激产生。</p> <p>1 名 72 岁 ccdee 白人女性，接受过输血，产生抗 D，其中有 1 单位血液来自 1 名弱 D2 型的献血者，推测由该 D 变异血液免疫刺激产生。</p>	30
--------	---	----

部分 D，弱 D，以及 DEL 均有引起 D 阴性个体产生抗 D 的报道。部分 D，弱 D 的案例基本得到学术界认可。对于 DEL 的案例，由 DEL (IVS5-38del4)引起的个案，在两年后，有专门的勘误文章，指出 RHD (IVS5-38del4)等位基因不是 DEL 的编码基因，而是 DFR-3 这种部分 D 的一个调控基因，所以该 D 阴性个体产生抗 D，是由部分 D 所引起的<sup>[22]</sup>。而 2 例 DEL(K409K)引起患者产生抗 D 的报道，两名患者均年岁较高，有多次输血史，在对输血样的追溯分析中，无法排除是否还存在具有其他 D 变异型的供者。

DEL(K409K)是中国人群中最常见的 D 变异型，在初筛 RhD 阴性人群中占 10%~30%<sup>[32-34]</sup>，由于 DEL 检测并不是中国血站系统的常规项目，每年中国都有一些 D 阴性患者不可避免的接受了 DEL 血液，但未见有产生抗 D 的报道。张建军对 10 名真正 RhD 阴性个体输注 DEL 血液，发现，10 名受血者均未产生抗 D<sup>[35]</sup>。由此分析，DEL(K409K)不会免疫刺激 D 阴性个体产生抗 D，或导致 RhD 阴性受者产生同种免疫反应几率**极低**。

## 建议

有临床意义的 D 变异型是指具有该表型的个体，在接受输血治疗，或女性妊娠时，接受 D 阳性血样刺激后，具有产生抗 D 的可能性；或具有该表型的个体，作为献血者，其血液输给真正的 RhD 阴性个体后，具有诱导受血者产生抗 D 的能力。同时，还要考虑相关 D 变异型在特定人群中的频率。

在中国汉族人群中，DEL(K409K)、DVI、弱 D15 型，是最为常见的 3 种 D 变异型<sup>[33,36,37]</sup>，这 3 种 D 变异型占中国人群所有 D 变异型的 90%以上<sup>[33]</sup>；DVI 是中国人群中最常见的部分 D，在上海和浙江地区，DVI 分别占部分 D 的 80%及 70%<sup>[36,37]</sup>；去除 DEL，超过 50%的弱 D 是弱 D15 型<sup>[37]</sup>。除去这 3 种 D 变异型，DV、DFR、弱 D12 型，以及弱 D50 型以后的一些表型（如弱 D51、弱 D53 型等）在中国人群中也有发现，但频率不高<sup>[36-38]</sup>。

综合考虑文献报道的 D 变异型临床意义，及各 D 变异型在中国人群中的频率，具有 DVI 表型的个体，无论其作为受血者、孕妇，还是献血者，都应将其准确鉴定。此外，弱 D15

型、在中国未见有献血者产生抗 D，或诱导真正 D 阴性个体产生抗 D 的报答，但考虑其在中国人群中的频率及国外相关案例报道，也应当将这种表型检出。

在中国人群中还有一部分弱 D 表型，在人群中频率极低，D 抗原数目很少，在有些情况下会被误判为 D 阴性。具有这种表型的妊娠期妇女，如果被判为 D 阴性，并给予抗球蛋白治疗，抗球蛋白药剂是否结合此类红细胞上的少量 D 抗原，对红细胞造成破坏？有关此类情况的文献极少，对该种情况还需进一步评估。

## 参考文献

1. Wagner FF, Gassner C, Müller TH, et al. Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood*. 1999 Jan 1;93 (1):385-93.
2. Scott M. Section 1A: Rh serology. Coordinator's report. *Transfus Clin Biol*. 2002 Jan;9(1):23-9.
3. Daniels G. Variants of RhD--current testing and clinical consequences. *Br J Haematol*. 2013 May;161(4):461-70.
4. Lacey PA, Caskey CR, Werner DJ, Moulds JJ. Fatal hemolytic disease of a newborn due to anti-D in an Rh-positive Du variant mother. *Transfusion*. 1983 Mar-Apr;23(2):91-4
5. Argall CI, Ball JM, Trenelman E. Presence of anti-D in the serum of a Du patient. *J Lab Clin Med* 1953;41:895.
6. WIENER AS, GEIGER J, GORDON EB. Mosaic nature of the Rho factor of human blood. *Exp Med Surg*. 1957;15(1):75-82.
7. Simmons RT, Krieger VI. Anti-Rho (D) antibodies produced by isoimmunization in an Rh positive mother of the unusual genotype R1r (CD<sup>U</sup><sub>e</sub>/CdE). *Med J Aust* 1960;2:1021-2
8. Lowes BC. Hemolytic disease of the newborn due to anti-Rh 14 (RhB). *Vox Sang*. 1969 Mar;16(3):231-2.
9. Brandstädter W, Brandstädter M. Hemolytic disease of the newborn caused by anti-D with factor Du in the mother. *Zentralbl Gynakol*. 1970 Feb 7;92(6):176-8. (德文)
10. von Zabern I, Wagner FF, Moulds JM, Moulds JJ, Flegel WA. D category IV: a group of clinically relevant and phylogenetically diverse partial D. *Transfusion*. 2013 Nov;53(11 Suppl 2):2960-73.
11. 李丹, 邵超鹏, 张悦等部分 D 表型同种抗 D1 例及其基因型分析中国输血杂志 2008,21

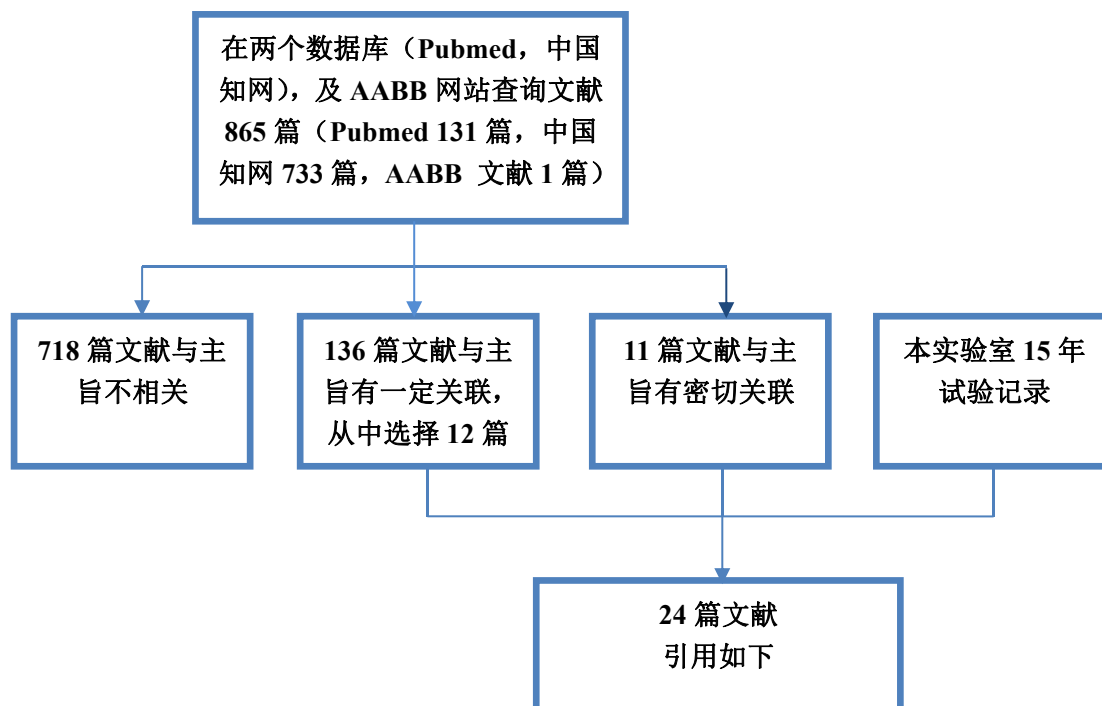
- (9): 680-683
12. 段福才, 曹燕飞, 李大元 RhD 抗原和抗 D 同时存在的血清学检测 1 例临床输血与检验 2014,16 (2): 218-219
  13. British Committee for Standards in Haematology<sup>1</sup>, Milkins C, Berryman J, Cantwell C, Elliott C, Haggas R, Jones J, Rowley M, Williams M, Win N. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. British Committee for Standards in Haematology. *Transfus Med.* 2013 Feb;23(1):3-35.
  14. Flegel WA, von Zabern I, Doescher A, Wagner FF, Strathmann KP, Geisen C, Palfi M, Pisacka M, Poole J, Polin H, Gabriel C, Avent ND. D variants at the RhD vestibule in the weak D type 4 and Eurasian D clusters. *Transfusion.* 2009 Jun;49(6):1059-69.
  15. Lomas C, Grässmann W, Ford D, Watt J, Gooch A, Jones J, Beolet M, Stern D, Wallace M, Tippett P. FPTT is a low-incidence Rh antigen associated with a "new" partial Rh D phenotype, DFR. *Transfusion.* 1994 Jul;34(7):612-6.
  16. Wagner FF, Eicher NI, Jørgensen JR, Lonicer CB, Flegel WA. DNB: a partial D with anti-D frequent in Central Europe. *Blood.* 2002 Sep 15;100(6):2253-6.
  17. Körmöczi GF, Legler TJ, Daniels GL, Green CA, Struckmann R, Jungbauer C, Moser S, Flexer M, Schönitzer D, Panzer S, Gassner C. Molecular and serologic characterization of DWI, a novel "high-grade" partial D. *Transfusion.* 2004 Apr;44(4):575-80.
  18. Pham BN, Roussel M, Peyrard T, Beolet M, Jan-Lasserre V, Gien D, Ripaux M, Bourgouin S, Kappler-Gratias S, Rouger P, Le Pennec PY. Anti-D investigations in individuals expressing weak D Type 1 or weak D Type 2: allo- or autoantibodies? *Transfusion.* 2011 Dec;51(12):2679-85.
  19. Pham BN<sup>1</sup>, Roussel M, Gien D, Ripaux M, Carine C, Le Pennec PY, Andre-Botte C. Molecular analysis of patients with weak D and serologic analysis of those with anti-D (excluding type 1 and type 2). *Immunohematology.* 2013;29(2):55-62.
  20. McGann H, Wenk RE. Alloimmunization to the D antigen by a patient with weak D type 21. *Immunohematology.* 2010;26(1):27-9.
  21. Körmöczi GF, Gassner C, Shao CP, Uchikawa M, Legler TJ. A comprehensive analysis of DEL types: partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization. *Transfusion.* 2005 Oct;45(10):1561-7.

22. nge von Zabern & Willy A. Flegel. IVS5-38del4 deletion in the RHD gene does not cause a DEL phenotype: relevance for RHD alleles including DFR-3. *Transfusion* 2007, Volume 47, 1552-1554.
23. Richard M, Perreault J, Constanzo-Yanez J, Khalifé S, St-Louis M. A new DEL variant caused by exon 8 deletion. *Transfusion*. 2007 May;47(5):852-7.
24. Mayne K, Bowell P, Woodward T, Sibley C, Lomas C, Tippett P. Rh immunization by the partial D antigen of category DVa. *Br J Haematol*. 1990 Dec;76(4):537-9.
25. Needs, M., Poole, J., Tilley, L., Stern, S., Preddy, I. & Win, N. Stimulation of anti-D in pregnancy by a weak D type 3 foetus. *Transfusion Medicine*, 2007 , 17(Suppl.1), 40 (abstract).
26. Wagner T, Körmöczí GF, Buchta C, Vadon M, Lanzer G, Mayr WR, Legler TJ. Anti-D immunization by DEL red blood cells. *Transfusion*. 2005 Apr;45(4):520-6.
27. Yasuda H, Ohto H, Sakuma S, Ishikawa Y. Secondary anti-D immunization by Del red blood cells. *Transfusion*. 2005 Oct;45(10):1581-4.
28. Kim KH, Kim KE, Woo KS, Han JY, Kim JM, Park KU. Primary anti-D immunization by DEL red blood cells. *Korean J Lab Med*. 2009 Aug;29(4):361-5.
29. Mota M, Fonseca NL, Rodrigues A, Kutner JM, Castilho L. Anti-D alloimmunization by weak D type 1 red blood cells with a very low antigen density. *Vox Sang*. 2005 Feb;88(2):130-5.
30. Flegel WA, Khull SR, Wagner FF. Primary anti-D immunization by weak D type 2 RBCs. *Transfusion*. 2000 Apr;40(4):428-34.
31. Shao CP. Transfusion of RhD-positive blood in "Asia type" DEL recipients. *N Engl J Med*. 2010 Feb 4;362(5):472-3.
32. Shao CP, Maas JH, Su YQ, Köhler M, Legler TJ: Molecular background of Rh D-positive, D-negative, D (el) and weak D phenotypes in Chinese. *Vox Sang* 2002; 83:156–161.
33. Li Q, Hou L, Guo ZH, Ye LY, Yue DQ, Zhu ZY. Molecular basis of the RHD gene in blood donors with DEL phenotypes in Shanghai. *Vox Sang*. 2009 Aug;97(2):139-46.
34. 章旭, 林凤秋, 李剑平, 邵超鹏 DEL 型个体抗体筛选的调查分析中国输血杂志 2009, 22 (10): 211-214
35. 张建军 DEL 型红细胞输注 RhD 阴性患者抗 D 抗体调查分析安徽医科大学, 临床检验

诊断学, 2011, 硕士论文

36. Ye L, Wang P, Gao H, Zhang J, Wang C, Li Q, Han S, Guo Z, Yang Y, Zhu Z. Partial D phenotypes and genotypes in the Chinese population. *Transfusion*. 2012 Feb;52(2):241-6.
37. Yan L, Wu J, Zhu F, Hong X, Xu X. Molecular basis of D variants in Chinese persons. *Transfusion*. 2007 Mar;47(3):471-7.
38. 孙国栋, 景海珍, 熊文等在中国人群中首次发现 1 例 Rh 血型弱 D12 型中国输血杂志 2006,19(1): 14-17

#### 问题 4: 实验室应该用何种试验程序在对献血者 ABO 血型进行鉴定



目前，国内绝大多数采供血机构对 ABO 血型的检测，一般为街头采血用玻片法（或纸片法、瓷板法）定型，随后检验科（或化验室）使用微量板法进行正反定型。不少血站认为街头玻片法检测可以视作一次 ABO 定型初筛试验，加上血站内的一次 ABO 正反定型，这便是完成了两次 ABO 血型鉴定的要求。按照上述的操作，是否可以确保 ABO 血型检测准确性？

首先，我们对玻片法进行分析。玻片法具有操作简便、节省材料的优点，但弱凝集反应较易漏检<sup>[1]</sup>。在没有离心作为外力、环境条件较难控制时（IgM 抗体凝集反应仅凭肉眼观测，会出现误判。玻片法的检测灵敏度相对较低，有文献报道，玻片法检测 ABO 血型的错误率高于试管法、微量板法和微柱法<sup>[2-3]</sup>。河南漯河血站及焦作血站对 8422 份血样，使用玻片法和微量板法鉴定 ABO 血型，结果见表 1。

玻片法在凝集强度及一次判读正确率上明显低于微量板法。又由于玻片法不适用于 ABO 反定型试验<sup>[4]</sup>，同时，该方法缺少了 ABO 定型中正反定型结果相互校对的环节。因此，我们建议街头初筛的玻片法血型检测结果不能算一次独立完整的 ABO 定型试验。



表 1. 河南漯河及焦作数据<sup>[2]</sup>

检测方法	样本数	一次判读正确		可疑结果		
		份数	正确率 (%)	份数	可疑率 (%)	
微量板法	正定型	8422	8409	99.94	5	0.06
	反定型	8422	8405	99.91	8	0.09
玻片法	正定型	8422	8231	97.86	180	2.14

2 种检测方法一次判读正确率  $P < 0.01$ ，两种检测方法的结果存在明显差异。

其次，大多数情况下，正反定型吻合，可得到正确的 ABO 血型结果。但有些情况，正反定型结果一致，仍然可能得到错误的 ABO 血型鉴定结果。

许多 A 亚型和 B 亚型个体可能产生抗 A<sub>1</sub>，和不规则抗 B<sup>[7-9]</sup>。在这种情况下，当弱 A 或弱 B 抗原被漏检，血清中存在不规则抗 A 或抗 B 时，可能存在 ABO 正反定型结果“吻合”，但血型鉴定错误的情况。此外，具有弱 A 或弱 B 亚型的个体，如果血清中存在 ABO 系统之外的抗体（如抗 M、抗 Le<sup>a</sup> 或抗 Le<sup>b</sup>），也可能存在 ABO 正反定型结果“相符”，血型定错的可能。表 2 列举了可能出现的正反定型结果“一致”，但 ABO 血型定型任然错误的情况。

表 2-1. 正反定型结果“吻合”，结果误判的可能情况之 1

ABO 亚型	血清中存在 抗 A <sub>1</sub>	血清中存在 不规则抗 B	正定型误判	反定型误判	结果误判
A <sub>亚型</sub> B	有	无	B	B	B
A <sub>亚型</sub>	有	有	O	O	O
AB <sub>亚型</sub>	无	有	A	A	A
B <sub>亚型</sub>	有*	有	O	O	O

\*B 型血清中包含抗 A 和抗 A<sub>1</sub>

表 2-2. 正反定型结果“吻合”，结果误判的可能情况之 2

ABO 亚型	血清中存在 ABO 以外抗体	正定型误判	反定型误判	结果误判
A <sub>亚型</sub>	有	O	O	O
B <sub>亚型</sub>	有	O	O	O

表 3 部分 A 亚型和 B 亚型产生抗 A<sub>1</sub> 和不规则抗 B 抗体的频率

血型	亚型频率	产生不规则抗体的种类	产生不规则抗体的频率
A <sub>3</sub>	<0.1% <sup>[10]</sup>	抗 A <sub>1</sub>	17.50% (7/40), 若考虑 A <sub>3</sub> B, 频率为 10.29% (7/68) <sup>[15]</sup>
A <sub>end</sub>	北京 <sup>[11]</sup> 、佳木斯 <sup>[12]</sup> 、烟台 <sup>[13]</sup> 各有 1 例报道, 频率未报道	抗 A <sub>1</sub>	11.76% (2/17), 如考虑 A <sub>end</sub> B, 频率为 8.70% (2/23) <sup>[15]</sup>
A <sub>x</sub>	约 1/60000 <sup>[14]</sup>	抗 A <sub>1</sub>	60.00% (24/40), 49.42% (85/172) <sup>[15]</sup>
A <sub>cl</sub>	有个例报道, 具体频率待查 <sup>[16-18]</sup>	抗 A 或抗 A <sub>1</sub>	40.00% (12/30), 如考虑 A <sub>cl</sub> B, 频率为 36.17% (17/47) <sup>[15]</sup> 46.67% (63/135), 如考虑
B <sub>x</sub>	有个例报道, 具体频率待查 <sup>[19-21]</sup>	抗 B	AB <sub>x</sub> , 频率为 46.05% (134/291) <sup>[15]</sup>
B <sub>cl</sub>	有个例报道, 具体频率待查 <sup>[22-24]</sup>	抗 B	31.82% (14/44), 如考虑 AB <sub>cl</sub> , 频率为 27.69% (18/65) <sup>[15]</sup>

通常, 对于 ABO 正反定型“相符”, 但 ABO 血型依然定错的案例, 采供血机构实验室是不容易发现的。因为, 在检测过程中如果出现这种情况, 检测体系会把这一结果作为“正确结果”记录。因此我们只能通过相关试验数据进行推测, 这种情况的发生必须是 A 抗原或 B 抗原减弱, 正定型无法检出, 同时, 弱 A 或弱 B 样本中存在抗 A<sub>1</sub> 或不规则抗 B。由于当前我国的药典和 CFDA 在对抗 A 抗 B 试剂的要求中, 仅需可以检测出 A<sub>2</sub> 和 A<sub>2</sub>B 亚型。我们以弱于 A<sub>2</sub> 和 A<sub>2</sub>B, 以及 B 亚型为例, 根据上海市血液中心的数据<sup>[15]</sup>, 其上海地区献血者人群中的频率是 0.35%, 这些亚型产生抗 A<sub>1</sub> 和不规则抗 B 抗体的频率为 17.5%, 两者相乘, 得 0.006% (十万分之六), 该比率在一定程度上反应了 ABO 正反定型“相符”, 但仍可能会将 A 和 B 亚型误判为 O 型的几率。

根据第三届国际血型单克隆大会对 22 株抗 A 单抗细胞株和 18 株抗 B 单抗细胞株与弱 A 和弱 B 抗原的反应情况来看 (表 4, 表 5, 表 6, 表 7), 各种抗 A 和抗 B 细胞株对不同 ABO 亚型细胞反应的效价、亲和力、原管凝集强度存在很大的差异<sup>[5, 6]</sup>, 这些结果表明用单

一细胞株鉴定 ABO 血型时，有漏检 ABO 亚型的可能性。

表 4. 第三届国际血型单克隆大会抗 A 细胞株与 A 亚型的反应<sup>[5]</sup>

Monoclonal	Cells					
	A <sub>x</sub>	AwkB	A BANTU	A <sub>3</sub>	A <sub>h</sub>	A <sub>2</sub> B
Anti-A						
2A-22	+	+++	+	+++	+++	+++
2a-93,-10	+	+++	-	+++	+++	+++
2A-8	-	+++	-	+++	+++	+++
2A-12	-	++	-	+	+	+++
2A-13	-	+	-	++	+	+++
*2A-21	+/-	+++	-	+	+++	+++
2A-2,-4	-	++	-	++	-	+++
2A-7,-11	-	+	-	-	-	+
2A-17	-	+++	-	-	-	+++
2A-1,-6	-	-	-	-	-	+
2A-14,-15	-	+	-	-	-	+++
2A-3,-5	-	-	-	-	-	+
2A-18	-	-	-	-	-	++

\*reacted + with 1 A<sub>x</sub> cell Neg with the other.

表 5. 第三届国际血型单克隆大会抗 B 细胞株与 B 亚型的反应<sup>[5]</sup>

Monoclonal	Cells				
	B <sub>x</sub>	B <sub>v</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>h</sub>	ABwk
Anti-B					
2A-37	+++	+++	++	-	+++
2A-47	+	++	+	-	+
2A-94	++	+++	+	-	+
2A-38	+	+	+	-	-
2A-44	+	+	++	-	-
2a-40,-51	+	-	+	-	-
2A-39,-45	+	-	-	-	-
2A-42,-43,-50	-	-	+	-	-
2A-41,-46,-48,-49	-	-	-	-	-

表 6. 第三届国际血型单克隆大会抗 A 细胞株与 A1、A2、A2B 细胞的反应<sup>[6]</sup>

**Table 6**  
Study of the monoclonal antibodies anti-A

Antibody	Red Blood Cell A1 (pool of 2)				Red Blood Cell A2 (pool of 2)				RBC A <sub>x</sub> CTSA	RBC A <sub>x</sub> DL	RBC A2B	
	Avidity	Intensity	Titer	Score	Avidity	Intensity	Titer	Score	Tube	Plate	Tube	5280635
2A-1	4	4+	512	97	4	2,5+	256	65	0	0	0	0
2A-2	6	3+	32	56	10	2,5+	16	44	0	0	0	3+
2A-3	15	1+	Zone		40	0,5+	Zone		0	0	0	0
2A-4	2	4+	>512	>110	2	4+	512	102	(+)	1+	0	1+
2A-5	5	3+	16	37	15	1,5+	4	15	0	0	0	0
2A-6	2	4+	16	39	3	3,5+	2	14	0	0	0	0
2A-7	2	4+	>512	>120	2	3,5+	>512	>108	0	0	0	0
2A-8	2	3+	>512	>110	3	3+	>512	>110	2+	2+	1,5+	3+
2A-9	3	3+	>512	>110	3	4+	>512	>97	0	0	0	1+
2A-10	6	2+	512	80	20	1,5+	64	49	(+)	0	0	2+
2A-11	3	3,5+	>512	>105	3	3,5+	512	97	0	0	0	0
2A-12	2	3+	>512	>114	3	3,5+	>512	>112	1+	1+	0,5+	(+)
2A-13	2	3+	>512	>112	3	3+	512	97	0	1,5+	1+	3+
2A-14	3	4+	256	90	5	3,5+	128	65	0	0	0	(+)
2A-15	3	4+	512	100	3	3,5+	512	78	0	0	0	0
2A-16	4	2,5+	Zone		7	2,5+	Zone		0	0	0	(+)
2A-17	7	2,5+	4	25	10	2+	2	18	0	0	0	3+
2A-18	19	1+	2	10	25	0,5+	1	8	0	0	0	(+)
2A-21	3	4+	>512	>112	2	3,5+	>512	>112	(+)	1,5+	1+	3+
2A-22	2	3,5+	256	78	3	3,5+	128	75	(+)	1+	1+	3+
2A-93	2	3,5+	>512	>112	2	3+	>512	>106	1+	2+	0,5+	3+

表 7. 第三届国际血型单克隆大会抗 B 细胞株与 B、B3A2/A 细胞的反应<sup>[6]</sup>

**Table 7**  
Study of the monoclonal antibodies anti-B

Antibody	Red Blood Cell B (pool of 2)				RBC-B3
	Avidity	Intensity	Titer	Score	1296930 (tube)
2A-35 (anti-acquired B)	0	0	0	0	0
2A-36 (anti-acquired B)	0	0	0	0	0
2A-37	3	3,5+	128	73	4+
2A-38	1	4+	128	78	4+
2A-39	12	2+	4	7	1+
2A-40	15	2,5+	2	2	2+
2A-41	3	2,5+	4	15	1+
2A-42	2	3+	512	97	3+
2A-43	3	3,5+	>512	>114	3+
2A-44	3	2,5+	128	73	4+
2A-45	2	3,5+	>512	>114	4+
2A-46	2	3,5+	64	62	1+
2A-47	2	2,5+	512	121	4+
2A-48	2	3,5+	>512	>105	3+
2A-49	3	3,5+	512	97	2+
2A-50	2	2,5+	64	62	4+
2A-51	3	3+	512	100	4+
2A-94	2	3+	512	100	3+

There was no agglutination with A or O red blood cells

第二种情况是 A 或 B 抗原减弱,无法检出,同时该个体血浆中含有 ABO 系统之外的同种血型抗体(如,抗 M、抗 Lea 等)。根据本实验室记录,上海献血者人群中产生抗 M 和抗 Lea 的频率之和约为 0.08% (16/200,000),弱于 A2 和 A2B,以及 B 亚型在上海地区献血者人群中的频率是 0.35%,则由于 A 或 B 抗原减弱,而正定型无法检出,同时,血清中又存在 ABO 系统以外的血型同种抗体(抗 M、抗 Lea),导致 ABO 定型出现误判的几率至少是 0.000028% (约千万分之三)。

## 建议

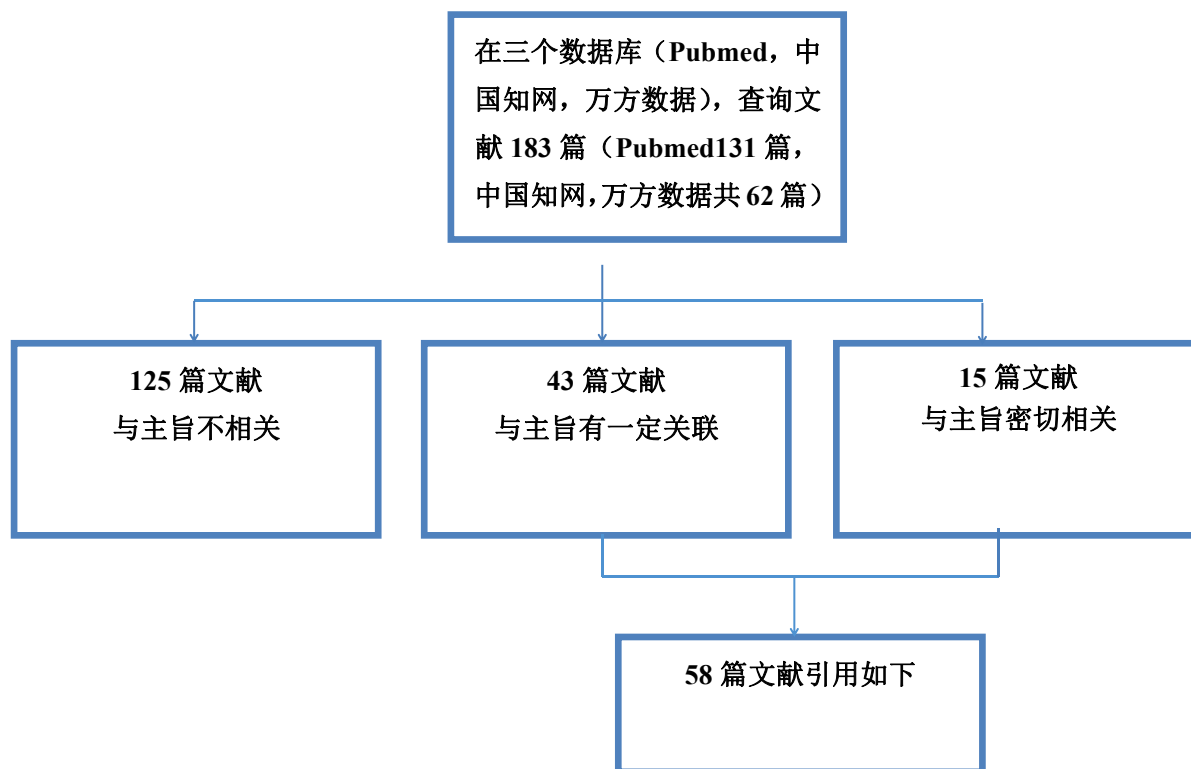
鉴于以上数据分析的结果,编写组认为玻片法检测的敏感度、准确率明显比其他血清学检测技术低。因此,街头玻片法(纸片法、瓷板法)的 ABO 血型检测结果只能最为一种参考,不能当做一次完整的 ABO 检测手段。采供血机构为确保 ABO 定型准确率,排除可能的 ABO 正反定型“相符”,ABO 血型依然错误的情况发生,在玻片法之外,应当进行两次独立的非玻片法(纸片法、瓷板法)ABO 定型检测。在条件许可的情况下,这两次 ABO 定型实验应当使用来自不同细胞株的试剂,确保对 ABO 亚型的最大识别能力。

## 参考文献

1. 郑磊 张鹏 王前等 ABO 血型实验室检测方法现状及进展中国输血杂志 2006, 9 (1): 80-82
2. 张悦 张国平 ABO 血型 2 种检测方法的比较职业与健康 2008,24(14): 1396-1397
3. 刘凯 陈丽 ABO 血型两种鉴定方法的比较中华全科医学 2012, 2
4. Mark K. Fung, Brenda J. Grossman, Christopher D. Hillyer, Technical Manual, 18th Edition, AABB Press, (2014), Red Cell Typing. 2-1, ISBN No. 978-1-56395-888-5
5. D. HARRISON, D. MASON, L. PINDER, R.Y. HARDING , Report on Section 2A Antibodies: ABH and other glycoconjugates – Serology, Transfus Clin Biol 1997 1: 23-27
6. G. JANUS, N. PRIGENT, A. SANCHEZ, L. MULTON, Ph. BOURIN, M. JOUSSEMET, A. BLANCHARD DE VAUCOULEURS , Report on Section 2A Antibodies: ABH and glycoconjugates- Serology other glycoconjugates- Serology. Transfus Clin Biol 1997 1:35-40
7. Tallor GL et al. Frequency of the iso-agglutinin a1 in the serum of the sub-groups A2 and A2B. J Pathol Bacteriol 1942, 54:514-516

8. Juel E. Anti-A agglutinins in sera from A2B individuals. Acta Path Microbiol Scand 1959,46:91~95
9. 花紫菱 李志强红细胞 A2 亚型研究新进展中国输血杂志 2013,26 (12) :1183-1186
10. 宋翠香 刘培贤成功抢救 A3 亚型患者 1 例分析临床医药实践 2011, 20(7):543-544
11. 冀三花 花郝露平 Aend 亚型血型 1 例解放军医学杂志 1987, 2
12. 张显达 赵玉德王丽血型血清学鉴定罕见 A\_(end)亚型 1 例黑龙江医药科学 2008, 05
13. 孙迪 吴晓黎等 A\_(end)亚型及其家系调查 1 例中国输血杂志 2010, 23(8)
14. 侯金友 倪宝兴等 Ax 亚型 1 例报告中国输血杂志 1990, 2
15. 1999 年 10 月至 2015 年 3 月, 上海市血液中心血型参比实验室资料
16. 宿军 宋静等 Ael 亚型伴有抗 A1 1 例中国输血杂志 2009
17. 田兴国 谭金哲等 Ael 亚型引起血型鉴定困难 1 例临床输血与检验 2014
18. 王成辉 陈远贵等 Ael02B 亚型 1 例中国输血杂志 2012
19. 王霞 王湘屏等 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中南医学科学杂志 2014
20. 刘芳 金沙等罕见 Bx 亚型伴不规则抗 B 抗体 1 例检测分析中国卫生检验杂志 2014
21. 鞠祝玲 王君等 Bx 亚型伴不规则抗 B1 例医学理论与实践 2013
22. 别立莉 杨瑞云等 Bel 亚型鉴定及家系调查中国实验血液学杂志 2007
23. 王燕菊 蒋学兵等 Bel 亚型 1 例报告北京医学 2015
24. 陈尚良 曾月婷等 Bel 亚型伴冷凝集误判为 O 型 1 例临床输血与检验 2011

## 问题 5：对于 Rh 阴性和 D 变异型献血者是否需抗体筛查与抗体鉴定



### 证据概述

#### Rh 血型系统概述及 D 变异型产生机理

Rh 血型系统是与临床相关的最重要的血型系统之一,这是由于由于抗 Rh 血型抗原的抗体可以引发新生儿溶血及严重的溶血性输血反应<sup>[1,2]</sup>。人类 Rh 系统是由两个相关性很高的 RHD 和 RHCE 基因编码的,这两个基因分别编码 D 和 CcEe 血型抗原,一般认为,Rh 蛋白符合体是由两分子的 RhD 和两分子的 CcEe 构成的四聚体蛋白复合体,但最近研究表明,Rh 蛋白有可能是一个三聚体结构<sup>[3]</sup>。在正常个体中,RHD 基因正常表达 D 蛋白,而在 RhD 阴性个体中白种人缺失整个 RHD 基因<sup>[4]</sup>,在东方人种中比例大约是 60%-70%<sup>[8,9,10]</sup>。在一些个体体内,由于基因重排等因素,导致一些 D 表位的缺失,使得这些个体可以产生专一性的抗 D 抗体,这些 Du 或弱 D 与正常的 D 只表现为红细胞表面 D 抗原个数减少,从而导致他们他们在于抗 D 血浆反应中表现为弱或者不稳定。对弱 D 的分子生物学检测表明,绝大多数的 RhD 蛋白的改变是由于 D 抗原表达减弱从而导致这些个体可以有产生抗 D 抗体,部分 D 则是缺乏某些基因位点的基因,由于缺失,导致其与针对缺失表位的抗体不凝集,DEL 表型则是抗原质与量都发生了改变,以至于只能通过吸收放散方法检出<sup>[5,-10]</sup>。

## Rh 阴性及 RhD 变异型发生频率与同种抗体产生

大约有 15–17%的高加索人种，5–7%的黑色人种，2%的欧亚人种不表达 RhD 抗原，这个人口比例在中国人群中大约是不到 1%<sup>[11]</sup>。

对于 D 阴性个体，在接受 D 阳性血液后，大约有 85%的个体会产生免疫应答，5–15%的不会产生免疫应答<sup>[12,13]</sup>。当第一次被 D 抗原免疫时，免疫反应十分缓慢，四周后才能检出抗体，这个抗体是 IgM 类型的同种抗体，但是当第二次受到 D 抗原刺激后，免疫反应迅速发生，最快约 48 小时后即可检出 IgG 抗体，最早约 6 日达到峰值产生，并且在一些易感的个体上，最少仅需要 0.03ml 的 D 阳性细胞即可引发免疫反应。在大量 D 抗原刺激下，有些时候第一次免疫与第二次免疫可几乎同步发生<sup>[12,13,6]</sup>。

对于 D 变异型个体，在 D 阳性细胞刺激后有 30 余种 D 变异型被报道可以产生抗 D<sup>[14-34]</sup>

抗体产生主要分为 B 细胞参与免疫和 T 细胞参与免疫，由 B 细胞抗 D 主要针对于由不连续的氨基酸在细胞膜表面构成的空间构想的表位<sup>[35-40]</sup>。抗原特异性的 T 细胞在 MHCII 分子存在的情况下识别蛋白中随机的短的线状多肽链<sup>[41-43]</sup>。

## 证据讨论

### 1) 针对中国不同地区的文献报道，由于多民族，多遗传背景，针对现有国内的调查结果主要有以下两个观点

- i. 第一个观点：在一些地区的调查结果认为，没有强制进行抗体筛查的必要性，其理由为抗 D 是由 D 阴性献血者产生，且通过阴性确认等试验，血浆不会用于 D 阳性受血者，这部分数量占到抗 Rh 系统抗体的一般，而剩余的百分之五十的 IgG 抗体为抗 Rh 系统其他抗原的抗体，效价在低剂量时由于计量效应不足以引发输血反应<sup>[44,45]</sup>。
  - ii. 第二个观点：根据其他一些地区的调查和临床统计，认为抗体筛查，可以及时发现 RhD 阴性或 D 变异型血浆中存在的抗体，避免急性或迟发性溶血反应，保障用血安全<sup>[46-55]</sup>。
- 部分调查结果统计（见表 1）

### 2) 建议

根据以上研究文献和调查数据，由于 D 抗体容易引发溶血性输血反应，所以，对于 D 抗体存在的排除，也就是抗体筛查来说，是十分必要的。在第一个观点，由于其对于其他 Rh 系统血型抗体免疫反应的计算是针对于正常健康人，且估算标准是根据 ABO 系统抗体发生免疫反应的模型进行的，所以其结果并不能有很强的说服力。此外如果根据其观点，如果



在阴性确认等环节出现漏检，那么，对于受血者将产生极大风险。此外，有报道指出，漏检的 D 变异型红细胞引发 D 阴性患者同种免疫<sup>[56]</sup>。故有足够的理由要求进行抗体筛查。进一步，根据相关国外文献研究<sup>[57,58]</sup>，同样认为抗体筛查有利于提高输血安全。

同时，在抗体筛查后，如有检出抗体，血浆会报废而不会进入血液供应，故对于抗体筛查后是否进行抗体鉴定，不应采取强制措施，但通过抗体鉴定，可进一步了解本地区血型基因遗传背景，为更科学，安全的输血是有积极作用，且鉴定出的抗体血浆，可作为科研试剂使用，故抗体鉴定环节还应提倡和鼓励。

## 参考文献

1. Westhoff CM. The Rh blood group system in review: a newface for the next decade. *Transfusion* 2004; 44: 1663-73.
2. Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, editors. *Technical manual*, 16th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 2008
3. Conroy MJ, Bullough PA, Merrick M, Avent ND. Modelling the human Rhesus proteins: Implications for Structure and Function. *Br J Haem* 2005;131:543-51.
4. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 2000;95:375-87.
5. Wagner FF, Gassner C, Muller TH, Schonizer D, Schunter F, Flegel WA. Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood* 1999;93:985-93.
6. S.J. Urbaniak. Alloimmunity to RhD in humans Allo-immunité antigénique RhD chez l'homme *Transfusion clinique et biologique* 13 (2006) 19-22.
7. Daniels G. Variants of RhD--current testing and clinical consequences. *Br J Haematol.* 2013 May;161(4):461-70
8. Lan JC; Chen Q; Wu DL Genetic polymorphism of RhD-negative associated haplotypes in the Chinese
9. Shao CP; Maas JH; Su YQ Molecular background of Rh D-positive, D-negative, D (el) and weak D
10. phenotypes in Chinese
11. Xu Q; Zhang J; Wang Q RHD gene polymorphism among RhD-negative Han Chinese 13. Ye LY; Guo ZH; Li Q Molecular and family analyses revealed two novel RHD alleles in a survey of a Chinese RhD-negative population

12. Daniels GL. Human blood groups. Oxford: Blackwell Science; 1995
13. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine 10th edition. Blackwell Scientific Publications London; 1997(chapt 3, chapt 5).
14. Greiss MA, Urbaniak SJ. In: RhDalloimmunization. Clinical Immunology. Editor PC Sen Gupta; 2003.p. 636–47 (Chapter 57).
15. Daniels G. Variants of RhD--current testing and clinical consequences. Br J Haematol. 2013 May;161(4):461-70.
16. Lacey PA, Caskey CR, Werner DJ, Moulds JJ. Fatal hemolytic disease of a newborn due to anti-D in an Rh-positive Du variant mother. Transfusion. 1983 Mar-Apr;23(2):91-4
17. Argall CI, Ball JM, Trenelman E. Presence of anti-D in the serum of a Du patient. J Lab Clin Med 1953;41:895.
18. WIENER AS, GEIGER J, GORDON EB. Mosaic nature of the Rho factor of human blood. Exp Med Surg. 1957;15(1):75-82.
19. Simmons RT, Krieger VI. Anti-Rho (D) antibodies produced by isoimmunization in an Rh positive mother of the unusual genotype R1r (CDUe/CdE). Med J Aust 1960;2:1021-2
20. Lowes BC. Hemolytic disease of the newborn due to anti-Rh 14 (RhB). Vox Sang. 1969 Mar;16(3):231-2.
21. Brandstädter W, Brandstädter M. Hemolytic disease of the newborn caused by anti-D with factor Du in the mother. Zentralbl Gynakol. 1970 Feb 7;92(6):176-8. (德文)
22. von Zabern I, Wagner FF, Moulds JM, Moulds JJ, Flegel WA. D category IV: a group of clinically relevant and phylogenetically diverse partial D. Transfusion. 2013 Nov;53(11 Suppl 2):2960-73.
23. 李丹, 邵超鹏, 张悦等部分 D 表型同种抗 D1 例及其基因型分析中国输血杂志 2008,21 (9): 680-683
24. 段福才, 曹燕飞, 李大元 RhD 抗原和抗 D 同时存在的血清学检测 1 例临床输血与检验 2014,16 (2): 218-219
25. British Committee for Standards in Haematology1, Milkins C, Berryman J, Cantwell C, Elliott C, Haggas R, Jones J, Rowley M, Williams M, Win N. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. British Committee for Standards in Haematology. Transfus Med. 2013 Feb;23(1):3-35.

26. Flegel WA, von Zabern I, Doescher A, Wagner FF, Strathmann KP, Geisen C, Palfi M, Pisacka M, Poole J, Polin H, Gabriel C, Avent ND. D variants at the RhD vestibule in the weak D type 4 and Eurasian D clusters. *Transfusion*. 2009 Jun;49(6):1059-69.
27. Lomas C, Grässmann W, Ford D, Watt J, Gooch A, Jones J, Beolet M, Stern D, Wallace M, Tippett P. FPTT is a low-incidence Rh antigen associated with a "new" partial Rh D phenotype, DFR. *Transfusion*. 1994 Jul;34(7):612-6.
28. Wagner FF, Eicher NI, Jørgensen JR, Lonicer CB, Flegel WA. DNB: a partial D with anti-D frequent in Central Europe. *Blood*. 2002 Sep 15;100(6):2253-6.
29. Körmöczi GF, Legler TJ, Daniels GL, Green CA, Struckmann R, Jungbauer C, Moser S, Flexer M, Schönitzer D, Panzer S, Gassner C. Molecular and serologic characterization of DWI, a novel "high-grade" partial D. *Transfusion*. 2004 Apr;44(4):575-80.
30. Pham BN, Roussel M, Peyrard T, Beolet M, Jan-Lasserre V, Gien D, Ripaux M, Bourgoïn S, Kappler-Gratias S, Rouger P, Le Pennec PY. Anti-D investigations in individuals expressing weak D Type 1 or weak D Type 2: allo- or autoantibodies? *Transfusion*. 2011 Dec;51(12):2679-85.
31. Pham BN, Roussel M, Gien D, Ripaux M, Carine C, Le Pennec PY, Andre-Botte C. Molecular analysis of patients with weak D and serologic analysis of those with anti-D (excluding type 1 and type 2). *Immunohematology*. 2013;29(2):55-62.
32. McGann H, Wenk RE. Alloimmunization to the D antigen by a patient with weak D type 2. *Immunohematology*. 2010;26(1):27-9.
33. Körmöczi GF, Gassner C, Shao CP, Uchikawa M, Legler TJ. A comprehensive analysis of DEL types: partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization. *Transfusion*. 2005 Oct;45(10):1561-7.
34. von Zabern & Willy A. Flegel. IVS5-38del4 deletion in the RHD gene does not cause a DEL phenotype: relevance for RHD alleles including DFR-3. *Transfusion* 2007, Volume 47, 1552-1554.
35. Richard M, Perreault J, Constanzo-Yanez J, Khalifé S, St-Louis M. A new DEL variant caused by exon 8 deletion. *Transfusion*. 2007 May;47(5):852-7.
36. Wagner SD, Neuberger MS. Somatic hypermutation of immunoglobulin genes. *Annu Rev Immunol* 1996;14:441-57.

37. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 2000;95:375–87.
38. Liu W, Avent ND, Jones JW, Scott ML, Voak D. Molecular configuration of RhD epitopes as defined by site-directed mutagenesis and expression of mutant Rh constructs in K562 erythroleukemia cells. *Blood* 1999;94:3986–96.
39. Nickerson L, Wiersma EJ. Epitope mapping of four monoclonal antibodies specific for the human RhD antigen. *Immunol Lett* 2002;80:33–9.
40. Perera WS, Moss T, Urbaniak SJ. Comparison between hybridoma and Fab/phage anti-RhD: their V gene usage and pairings. *Dis Markers* 2000;16:15–9.
41. Perera WS, Moss T, Armstrong-Fisher SS, Urbaniak SJ. The relationship between functional and molecular aspects of monoclonal anti-D. *Transf Clin Biol* 2001;8:S1.
42. Marsh SGE, Parham P, Barber LD. *The HLA facts book*. London: Academic Press; 2000.
43. Stott LM, Barker RN, Urbaniak SJ. Identification of alloreactive T-cell epitopes on the Rhesus D protein. *Blood* 2000;96:4011–9.
44. Roncarolo M, Levings MK. The role of different subsets of T regulatory cells in controlling autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2000;12:676–83
45. 杨君青, 苏英姿, 计静文, 献血者不规则抗体筛查必要性调查分析, *医药前沿*, 2011, 01(19)
46. 任本春, 池泉, 献血者红细胞血型不规则抗体筛查必要性的探讨, *中国输血杂志*, 2010, 23(2)
47. 杜玮璐, 杜红梅, 马红, 李召选, 平顶山地区无偿献血者红细胞血型不规则抗体检测分析, *中国输血杂志* 2014, 27(5)
48. 高丽平, 张红旗, 部分献血者和受血者 Rh 阴性血清学表型调查, *江苏医药*, 2014, 40(10)
49. 舒群峰, 339 例初筛 RhD 阴性无偿献血者不规则抗体鉴定结果分析, *中国输血杂志*, 2013, 26(9)
50. 李健, 周英, 吕文彬, 陈雪, 迭敏, 龚希, Rh(D) 阴性献血者不规则抗体检测的结果分析, *四川医学*, 2012, 33 (2)
51. 李永红, 崔虎胜, 62 例 Rh(D) 阴性献血者中 4 例 Del 的检出结果分析, *实用医技杂志*, 2010, 17 (12)
52. 车进, 杨亚玲, 李美霖, 北京地区 Rh(D) 阴性献血者分型及不规则抗体筛查, *山西医药杂志*, 2015, 44(7)

53. 李剑波, 杜月娥, 刁丽波, 蔡云玲, 叶文华, 梁艳娇, 何永勋, 大理州 Rh (D) 阴性无偿献血者血清学表型和不规则抗体的调查, 大理学院学报 2014(8)
54. 邵峰, 刘建成, 银川地区献血者不规则抗体筛查结果分析及临床意义, 宁夏医科大学学报 2014(12)
55. 朱剑荧, 兰炯采, 罗洪清, 韶关地区随机献血人群不规则抗体筛查分析, 中国实验血液学杂志 2007(3)
56. 杨松, 张伶, 邹韬, 杨兴明, 赵冰海, 陈科宇, 南充市 Rh 阴性献血者血清学表型和不规则抗体调查[期刊论文]-检验医学与临床 2015(8)
57. 朱关玲, 罗伟琼, 邹翠贤, 饶关琼, RhD 阴性男性患者匹配输血后抗一 D 抗体分析, 中国卫生检验杂, 2008,18(7)
58. Amit Agrawal , Type and screen policy: Is there any compromise on blood safety? Transfusion and Apheresis Science, 50 (2014) 271–273
59. Aseem K. Tiwari, Prashant Pandey, Jyoti Sharma, Kumari Shailja, Surbhi Dixit, Vimarsh Raina, Incidence of clinically significant antibodies in patients and healthy blood donors: A prospective cross-sectional study from a tertiary healthcare center in India, Transfusion and Apheresis Science, 50 (2014) 230–234

表 1. RhD 阴性抗体筛选鉴定调查结果统计

检测类型	检测结果	参考文献
不规则抗体筛查、鉴定	抗 D 11 例,抗-E 7 例 (总 85541)	46
Rh 阴性血各血清学表型的分布	Rh 阴性 482 例(0.46%),经间接抗人球蛋白法确认阴性 452 例(0.44 %),其表型分布以 ccdee 型 273 例(60.40%)为最常见,其次为 Ccdee 型 95 例(21.02%),CcdEe 型 36 例(7.96%),ccdEe 型 24 例(5.31%)和 CCdee 型 24 例(5.31%)(总 103 756 例)	47
339 例初筛 RhD 阴性无偿献血者不规则抗体鉴定结果分析	339 例初筛 RhD 阴性献血员经确认 RhD 阴性 330 例,抗体筛选试验阳性的标本有 8 例,不规则抗体发生率为 2.42%(8/330); 抗体特异性鉴定,8 例均产生抗 D,仅产生抗 D 6 例,抗 D 合并抗-G、C、E1 例,抗 D 合并抗-E 1 例,抗体性质有 IgM 和 IgG 混合 1 例,IgG 7 例; 抗体效价 1~1 024 不等	48
Rh(D)阴性献血者不规则抗体检测的结果分析	1205 份 RhD 阴性献血员标本中, 抗体筛选试验阳性的标本有 20 份,经过抗体鉴定, 其中抗 D 10 份	49
Rh(D)阴性者中 Del 筛查	检出 4 例 Del 型, 占 Rh(D)阴性者中的 6. 45% (总 62 例子)	50
Rh(D)阴性献血者分型及不规则抗体筛查	249 份初筛为 RhD 阴性的献血者确认结果为弱 D / 部分 D 19 例(7. 6%)、DEL 26 例(10. 4%)、阴性 204 例(81. 9%), 筛查出不规则抗体 3 例(1. 2%)	51
Rh (D) 阴性血型的血清学表现型及不规则抗体筛查	确认 Rh (D) 阴性献血者 209 例 (0.15%); 其中含不规则抗体 1 例 (0.48%)	52
不规则抗体筛查	共鉴定出不规则抗体 21 例(0.03%):分别为抗-M 抗体 4 例(0.005%), 抗-k8 抗体 2 例(0. 003%), 抗-E 抗体 4 例(占 0. 005%), 抗-D 抗体 5 例(占 0. 007%), 冷抗体 3 例(0. 004%), 非特异性抗体 3 例(占 0. 004%) (总对 72753 例)	53
不规则抗体筛查	检出 42 例 Rh 抗体(抗-D; 抗-E 和抗-C) (总区 15033 例)	54
不规则抗体筛查	在 433 份送检标本中共确认 Rh 阴性 402 份 (92.8%), 检出 D 变异体 23 份 (5.3%) 不规则抗体检出率为.88‰(249/284140),其中 IgM 抗体 181 例,IgG 68 例(抗 D 33 例,其他抗体 35 例).IgM 抗体效价大部分在 4-32 之间,抗 D 效价为 2-64,其他 IgG 抗体效价为 4-32	55
文献总结	共检出不规则抗体 42 例,检出率为 0.29%,其中冷自身抗体 16 例(IgM)、非特异性不规则抗体 11 例、抗-Mur 3 例、抗-M 5 例、抗-Le~b 5 例、抗-Le~a 1 例、抗-P1 1 例,检出的不规则抗体以效价<16、37℃无活性的 IgM 型抗体为主	44
不规则抗体筛查		45

## 八、 提出实施标准的建议

标准全文是推荐性标准，所有条款均非强制，其目的是为采供血机构的 ABO、RhD 血型鉴定的质量控制提供质量要求和技术指标，采供血机构实验室能够从无到有，有计划有步骤有依据地开始开展质控工作，从而逐步提高行业整体质量水平。