

新生儿血型基因专刊

2018 年 8 月

编者导读:

- 1、ABO 血型是人的遗传特异性标记, 新生儿期间比身高、体重等指标更能体现个体的差异, 理应被鉴定、记录。但由于新生儿红细胞抗原弱、血清中抗体未产生、辅助鉴定血型的材料(如唾液)不易获得, 采用传统的血清学血型鉴定方法很难定型。
- 2、新生儿溶血病(hemolytic disease of the newborn, HDN)在我国以母婴 ABO 血型不合为主, 发病率为 15.6%; 另如正文相关报道, 5669 例母婴血型不合的标本中, 发展为 HDN 的为 1788 例, 占 31.4%。
- 3、对患儿进行紧急换血可以迅速缓解 HDN 的高胆红素血症, 对严重的免疫性溶血性贫血进行纠正, 消除水肿, 防止胆红素脑病和核黄疸后遗症的发生, 提高患儿存活率, 是治疗 HDN 的有效手段。
- 4、HDN 换血前 ABO 血型鉴定和交叉配血是 2 项必检项目。传统血清学只能通过正定型检测红细胞表面抗原来进行血型鉴定, 会造成血型误判。交叉配血相合是确保输血安全的首要措施, 但新生儿血液与供者 ABO 异型血交叉配血, 多数情况下主侧也未出现预期的正常凝集; 如正文相关报道, 1095 例新生儿标本中未出现预期凝集者占 52.87%, 弱凝集占 33.27%, 这对于新生儿依据交叉配血试验结果判断能否输血局限很大, 配血结果仅在血型准确的情况下方为有效。
- 5、如正文部分文献报道如今血清学技术能够检测出新生儿血型抗体, 从而得到约 50%左右的正反定型一致的血型鉴定结果, 但这些报道只是将反定型中的凝集作为阳性反应, 未确定抗体来自母体还是新生儿自身产生。妊娠过程中, 母体的 IgG 类抗体通过胎盘进入婴儿体内, 微柱凝胶卡的广泛应用, 其高灵敏度提高了反定型检测的敏感性, 是导致新生儿反定型抗体假阳性的原因, 因此血清学正反定型一致性频率有待确认。

6、虽然新生儿血型抗体的效价不高，但若给新生儿错输异型红细胞或者血浆，由于新生儿肝肾功能尚不健全，耐受力差，其可能带来的溶血反应将会是致命的。临床上现多对 HDN 患儿输注 O 型洗涤红细胞、AB 型血浆，这样可以减少因血型误判而带来的输血反应性溶血。但输血的最佳选择仍然是同型输血，新生儿换血量，常是患儿血量的 2 倍，同型输血保证了新生儿输血的安全性，减少输血反应。因此选择最佳又最快速最准确的血型鉴定方法是最好的。

7、RhD 阴性新生儿溶血症，抗 D 抗体进入胎儿血液循环，将新生儿红细胞上的 D 抗原完全封闭，以致红细胞上没有多余的 D 位点与血清试剂起反应，传统血清学检测出患儿的 RhD 抗原实际为假阴性结果，给患儿换血治疗带来干扰。

8、基因分型方法直接从 DNA 水平对 ABO 血型进行鉴定，可以克服血清学方法只针对表型这一不足，保证新生儿及 HDN 患儿血型鉴定结果的准确性和临床换血治疗的安全性，PCR-SSP 基因定型技术将不再局限于疑难血型的鉴定中，并会越来越多地应用于新生儿或 HDN 的血型鉴定中。

目录

1 《聚合酶链式反应-特异性序列引物基因定型在新生儿溶血病 ABO 血型定型中的应用》	4
2 《溶血病换血治疗的血型基因配对检查》	8
3 《婴儿 ABO 血型的鉴定及应用于临床输血》	14
4 《ABO 血型基因分型方法的建立及其在新生儿溶血病早期诊断中的初步应用》	18
5 《新生儿黄疸发病率逐年上升》	20
6 《6000 例新生儿溶血病标本血型抗体分析》	20
7 《新生儿血型鉴定的常见问题和处理》	21
8 《新生儿及婴幼儿 ABO 血型鉴定的影响因素分析》	22
9 《新生儿 ABO 血型鉴定结果分析》	23
10 《90d 内婴儿血型正反定型分析》	24
11 《1012 名新生儿 ABO 及 Rh 血型鉴定结果分析》	25
12 《新生儿血型检测及抗体性质分析》	26
13 《新生儿 ABO 血型正反定型及其交叉配血实验结果分析》	28
14 《试管法、微柱凝胶法及血型检测卡鉴定新生儿血型的效果比较》	29
15 《幼儿血型 B 抗原性减弱的分析及探讨》	30
16 《D 抗原遮断致新生儿 RhD 抗原假阴性 1 例》	30
17 《RhD 抗原阴性孕产妇血液安全管理专家共识》	31

新生儿血型基因专刊

（编辑：艾丽萍）

1 《聚合酶链式反应-特异性序列引物基因定型在新生儿溶血病 ABO 血型定型中的应用》

作者：廖扬勋¹，王洋洋²，陈立强²，梁结玲¹

（1.广东省肇庆市中心血站；2.广东省肇庆市第一人民医院检验科）

来源：检验医学与临床 2012 年 7 月第 9 卷第 13 期

摘要：

目的研究聚合酶链式反应-特异性序列引物（PCR-SSP）基因定型在新生儿溶血病（CHDH）ABO 血型定型中的应用。**方法**收集 20 例来自广东省肇庆市第一人民医院新生儿溶血病（HDN）的样本，对这些样本进行 ABO 血型鉴定等一系列血型血清学方法进行检测，然后用 PCR-SSP 基因定型技术进行样本的基因分型。**结果**与其血型的血清学分型结果进行比较，新生儿溶血病 ABO 血型的定型是新生儿输血的必要保障，而 PCR-SSP 基因分型较血型血清学方法更快捷、准确。**结论**PCR-SSP 基因定型技术将不再局限于疑难血型的鉴定中，并会越来越地应用于 HDN 的鉴定中。

新生儿溶血病（HDN）在临床上比较多见，是早期新生儿胆红素升高的常见原因。不少学者都研究了血型血清免疫性抗体与新生儿溶血病的关系。临床上对 HDN 常需进行输血治疗，一般 ABO 溶血病临床输血应用与婴儿同型或 O 型红细胞、AB 型血浆（病程 2 周内宜输注 O 型洗涤红细胞；2 周后则可输同型洗涤红细胞）；这时对 ABO 血型的快捷、准确定型显得尤其重要。常用的 ABO 血型血清学检测受影响因素较多，有其一定的局限性。应用目前血型基因检测的常用方法聚合酶链式反应—特异性序列引物（PCR-SSP）基因分型技术，它是根据血型基因序列不同的突变位点，使用序列特异性引物，直接扩增目的基因片段，使判型更准确。

1 材料和方法

1.1 样本来源 12 例来自广东省肇庆市第一人民医院临床确诊为 HDN 正反定型不相符样品，每份样本取乙二胺四乙酸（EDTA）抗凝血。

1.2 试剂与仪器 单克隆抗 A、抗 B 标准血清（上海血液生物医药有限责任公司产品）、ABO 反定型用红细胞（上海血液生物医药有限责任公司产品）、基因组 DNA 提取试剂盒（大连宝生物公司产品）、TaqDNA 聚合酶（大连宝生物公司产品）、Marker（大连宝生物公司产品）、ABO 血型基因分型试剂盒（美国 G&T 公司产品）、MJOPTICONII 扩增仪（美国 MJ 公司产品）。

1.3 血型血清学试验 检测 12 份样品均出现正反定型不相符。

1.4 基因分型实验

1.4.1 按美国 G&T 公司试剂说明书进行提取样品基因组 DNA。

1.4.2 运用血型 PCR-SSP 方法，用反应混合液（Mix-A，Mix-A201，Mix-O，Mix-B 基因，内对照物、dNTPs、PCR 缓冲液等）7 μ L；样本 DNA 提取液 1 μ L；0.5UTaq DNA 聚合酶 1 μ L 混匀。在 PCR 扩增仪扩增，参数如下：95 $^{\circ}$ C 预变性 5min；然后 95 $^{\circ}$ C30s，60 $^{\circ}$ C30s，72 $^{\circ}$ C90s，共 30 个循环；最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5min。

1.4.3 PCR 扩增产物经 4% 琼脂糖凝胶电泳 30min，在凝胶成像系统下拍照记录结果。

2 结果

12 例血型样本的 PCR-SSP 基因分型结果见图 1。从图 1 可见凝胶电泳照片图中，内对照约 207bp，阳性 A：75bp；阳性 B：90bp；阳性 O：127bp。样本有 7 例的基因型为 A / O 型，4 例为 B / O 型和 1 例为 BB 型。基因分型结果与血型血清学血型实验结果见表 1。由表 1 可以看出，其中 11 例样品血清学血型与基因分型相符，1 例样品血清学血型与基因分型不相符。

表 1 样品血清学正定型血型与基因分型基因型

血清学血型	基因型	PCR-Mix 产物长度(bp)				内对照产物 长度(bp)
		A(75)	A201(117)	B(90)	O(127)	
1 A型	A/O	+	—	—	+	207
2 A型	A/O	+	—	—	+	207
3 A型	A/O	+	—	—	+	207
4 A型	A/O	+	—	—	+	207
5 A型	A/O	+	—	—	+	207
6 A型	A/O	+	—	—	+	207
7 O型	A/O	+	—	—	+	207 ^a
8 B型	B/O	—	—	+	+	207
9 B型	B/O	—	—	+	+	207
10 B型	B/B	—	—	+	—	207
11 B型	B/O	—	—	+	+	207
12 B型	B/O	—	—	+	+	207

注：^a 为 7 号样本；+ 表示阳性，— 表示阴性。

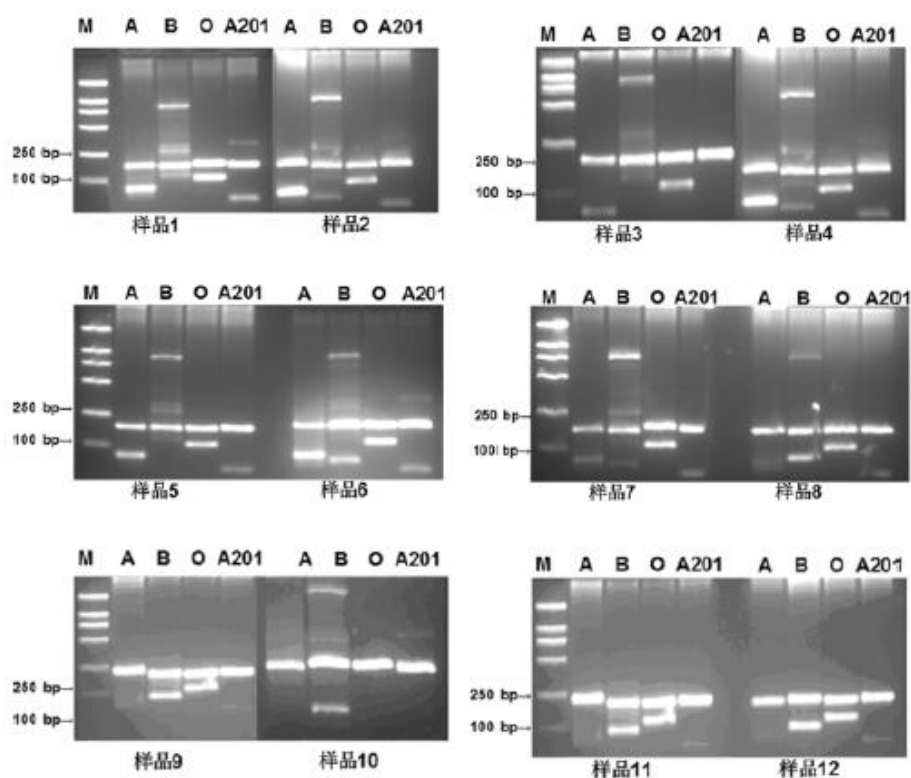


图 1 PCR-SSP 基因分型结果

3 讨论

HDN 在临床上比较多见，亦较常对患儿进行输血治疗。HDN 以母婴 ABO 血型系统不合引起者较多见，Rh 及其他血型系统不合引起者较少，但溶血症状较 ABO 血型不合溶血病严重。HDN 的 ABO 血型鉴定在临床诊断及临床输血就显得尤其重要。但新生儿的 ABO 血型由于血清中的抗体一般要在出生后 4-6 月后才能产生自身抗体，而且患儿体内有母体产生的 IgG 血型免疫性抗体。这样对于血型血清学来讲就有其局限性了。临床上婴幼儿 ABO 血型正反定型不符比较常见，多因抗体尚未产生或产生量太少，不足以引起肉眼可见的凝集反应所致。血型血清学检测只能通过正定型检测红细胞表面抗原来鉴定。单纯的血型血清学正定型会造成误判血型，如本实验中一例 A 亚型的如只用血型血清学正定型会误判为 O 型。临床上现多对 HDN 患儿输注 O 型洗涤红细胞、AB 型血浆，这样可以减少因血型误判而带来的输血反应性溶血。但输血的佳选择仍然是同型输血，因此选择佳又最快速最准确的血型鉴定方法仍然是最好的。新生儿换血量，常是患儿血量的 2 倍，同型输血保证了新生儿输血的安全性，减少输血反应。近年血型基因检测的常用 PCR-SSP 技术有其简便快捷，准确不受抗体影响等优点而越来越多地应用于血站和血库的疑难血型鉴定中。当今，经典免疫血液学和分子免疫血液学很自然地整合在一起，形成了“后基因组时代免疫血液学”。

在整合的前提下，血清学方法和基因分型方法取长补短，相互补充，不存在谁取代谁的问题。从提高输血安全性方面考虑，向临床提供基因分型的血液制品，从供受者表型匹配逐步升级到基因型匹配，是今后的发展方向。血清学技术相对比较普及，当前加强分子生物学教育显得刻不容缓。所以 PCR-SSP 基因定型技术将不再局限于疑难血型的鉴定中，而会越来越多地应用于 HDN 的鉴定中。

2 《溶血病换血治疗的血型基因配对检查》

作者：詹洁瑜 1，舒琳琳 1，宁岑 1，李俊勋 2※

（1.广州市白云区妇幼保健院，广州市白云区第一人民医院；2.中山大学第一附属医院）

来源：深圳中西医结合杂志2017年5 月第27 卷第10 期

摘要：

目的探讨新生儿溶血病换血治疗时血型基因配对检查的可行性，指导新生儿溶血病的诊断和换血治疗。**方法**选择白云区第一人民医院具有高胆红素血症，不同程度的贫血和水肿，血清学方法鉴定血型均表现为 ABO 血型正反定型不符的 10 例患儿标本为研究对象，通过序列特异性聚合酶链扩增技术（PCR-SSP）和基因测序技术对样本进行基因分型，并采用换血疗法对确诊的 ABO 血型系统新生儿溶血病患者行换血治疗，对比换血前后的患者血清总胆红素、直接胆红素和间接胆红素及 Na⁺、K⁺、Cl⁻和 Ca²⁺含量情况，评价换血治疗效果。**结果**高精度的 PCR-SSP 和基因测序的血型基因分型结果完全相同，发现 10 例患者中有 3 例为 cis-AB01、2 例为 B（A）04，分别各有 1 例 cis-AB02、B（A）02、Be103、Bw12 和 Ae105；对 10 例患儿换血治疗后血清总胆红素、直接胆红素和间接胆红素及 K⁺含量显著低于治疗前，差异具有统计学意义（P<0.01），而 Ca²⁺、Cl⁻和 Na⁺的含量显著高于治疗前，差异均具有统计学意义（P<0.01）。**结论** PCR-SSP 和基因测序技术可以用于溶血病换血治疗时 ABO 血型正反定型不符的 ABO 疑难血型的鉴定定型，血型基因配对检查具有良好的临床应用价值。

新生儿溶血病（hemolytic disease of the newborn, HDN）是由母婴血型不合导致的新生儿免疫性溶血，30 个血型系统的抗原均可导致此病的发生，但常见于 ABO 和 Rh 血型系统，其他系统的 HDN 发生较少。在国外以 Rh 血型不合引起的 HDN 为主，而我国以 ABO 血型不合引起的 HDN 为主，发病率为 15.6%。ABO 血型系统 HDN 是由母婴 ABO 血型不合导致的 HDN，常发生于母亲为 O 型血，而新生儿为 A 型或 B 型血的情况，且由抗-A 引起的 HDN 较抗-B 引起的更为常见，但抗-B 型的病情往往比抗-A 型的更为严重。该病具有发病早、发展快和病情危重的特点，可导致新生儿核黄疸甚至死亡。对患儿进行紧急换血可以迅速缓解新生儿高胆红素血症，对新生儿严重的免疫性溶血性贫血进行纠正，又能消除水肿，防止胆红素脑病和核黄疸后遗症的发生，提高患儿存活率，是治疗 HDN 的有效手段。但在换血治疗时，常因遇到 ABO 亚型、表型被疾病干扰和新生儿抗体未形成等问题，从而导致传统血清学方法很难对患者血型做出完整、准确的

鉴定,进而影响换血治疗的进行,延误治疗时机。但采用基因分型技术对鉴定血型却不受这些因素的影响,能对各种疑难血型准确定型,保证输血的安全性和有效性。为了克服传统血清学方法鉴定血型的不足,保证 HDN 患儿血型鉴定结果的准确性和临床换血治疗的安全性,笔者对急待换血治疗的疑难血型 HDN 患儿进行了血型基因配对检查,以指导其临床换血治疗。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取广州市白云区第一人民医院收治的急需换血治疗的 HDN 患儿 10 例为研究对象。患儿均有高胆红素血症,不同程度的贫血和水肿,换血治疗前采用血清学方法鉴定血型均表现为正反定型不符。患儿母亲的血型均为 O 型血。

1.2 仪器和试剂

快速抽提血液基因组试剂盒(上海生工生物有限公司);PCR 仪(美国 Perkin Elmer 公司);UV-2102C 紫外可见分光光度计(美国 Unico 公司);凝胶电泳成像系统(美国 Bio-Rad 公司);DYY-III2 型电泳仪(北京六一仪器厂);dNTP(MBI 公司);Taq DNA 聚合酶(MBI 公司);琼脂糖(美国 Promega 公司);ABO 血型基因分型试剂盒和 ABO 血型基因亚型分型试剂盒(天津秀鹏有限公司);AB 标准血清(南京华欣药业生物工程有限公司);引物合成和 DNA 序列测定(华大基因公司)等。

1.3 方法

严格按照上海生工生物有限公司快速抽提血液基因组试剂盒使用说明书的要求提取患者血液 DNA,并用 UV-2102C 紫外可见分光光度计测定其浓度(30~50ng/ μ L)和 A260/A280(1.8~2.0);利用特异性序列核酸扩增(polymerase chain reaction-sequence specific primers, PCR-SSP)和脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)测序法对正反定型不符的 10 例新生儿溶血病患儿进行血型基因分型。

(1) PCR-SSP 基因分型。按照 ABO 血型基因分型试剂盒说明书的要求处理,取 PCR-SSP 反应产物进行凝胶电泳,对照分型表格判断其 ABO 血型;按照 ABO 血型基因亚型分型试剂盒说明书的要求处理,取 PCR-SSP 反应产物进行凝胶电泳,对照分型表格判断其 ABO 血型。

(2) DNA 测序确认分型。采用 25 μ L 反应体系: Taq DNA 聚合酶、DNA 模板、引物对和双蒸水等;反应条件为:预变性 95 $^{\circ}$ C5min,变性 95 $^{\circ}$ C30s,退火 60 $^{\circ}$ C30s,延伸 72 $^{\circ}$ C2min,共 40 个循环,72 $^{\circ}$ C延伸 10min;PCR 产物进行凝胶电泳,检验是否存在目的片段;含目的片段的 PCR 产物交华大基因公司测序;将测序结

果用 Chromas 软件与 NCBI 基因文库的糖基转移酶序列在 Blast 上进行比对；换血治疗：如果患者为 ABO 系统血型不合时采用 O 型红细胞和 AB 型血浆的重组血液进行换血治疗，并对比治疗前后患儿血清总胆红素、直接和间接胆红素及 Na⁺、K⁺、Cl⁻和 Ca²⁺含量情况，评价换血治疗效果。

1.4 统计学方法

研究所得原始数据首先使用 Excel 2007 进行初步整理，采用 SPSS19.0 软件进行数据处理，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 t 检验，计数资料用百分比表示，采用 χ^2 检验， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 患儿 PCR-SSP 基因分型

本研究中，10 例新生儿溶血病患儿 ABO 正反定型不符的标本通过 PCR-SSP 初筛板不能确切的对其 ABO 血型定型，应使用 ABO 血型基因亚型分型试剂盒。通过高分辨的 PCR-SSP 基因分型发现 10 例患者中有 3 例为 cis-AB01、2 例为 B (A) 04，分别各有 1 例 cis-AB02、B (A) 02、Bel03、Bw12 和 Ael05。

2.2 患儿 DNA 测序分型

根据第 6、7 号外显子的核苷酸差异，将测序结果同 Genbank 的序列进行比较。患儿 ABO 血型的单倍体同 PCR-SSP 分型结果相同，即 10 例患者中有 3 例为 cis-AB01、2 例为 B (A) 04，分别各有 1 例 cis-AB02、B (A) 02、Bel03、Bw12 和 Ael05，说明 PCR-SSP 可以对新生儿溶血病患者 ABO 正反定型不符的 ABO 疑难血型进行定型。

2.3 患儿换血治疗前后血清胆红素和电解质比较

10 例新生儿溶血病患儿换血治疗后的血清总胆红素、直接和间接胆红素含量显著低于治疗前，差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)；新生儿溶血病患儿换血治疗后的 K⁺含量显著低于治疗前，而 Ca²⁺、Cl⁻和 Na⁺的含量显著高于治疗前，差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$)，见表 1。

表 1 患儿换血治疗前后血清胆红素和电解质比较

($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	总胆红素 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	直接胆红素 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	间接胆红素 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	K ⁺ /mmol · L ⁻¹	Na ⁺ /mmol · L ⁻¹	Cl ⁻ /mmol · L ⁻¹	Ca ²⁺ /mmol · L ⁻¹
换血前	722.1 ± 186.3	118.4 ± 56.2	560.7 ± 152.8	5.21 ± 0.65	135.19 ± 8.94	103.25 ± 8.01	2.15 ± 0.19
换血后	241.6 ± 103.7 ^a	51.5 ± 21.5 ^a	241.2 ± 122.2 ^a	3.59 ± 0.48 ^a	145.63 ± 7.38 ^a	116.37 ± 5.83 ^a	2.33 ± 0.29 ^a

与换血前比较。^a $P < 0.01$

3 讨论

1900 年奥地利科学家 Landsteiner 首先发现了分为 A、B 和 O3 型的 ABO 血型系统，至 1902 年 Des 发现了 ABO 血型系统中的 AB 型血型。目前，ABO 血型系统是已发现的 30 个血型系统中最为重要的一个，

主要包括 A、B、O 和 AB 共 4 种表型抗原。ABO 血型抗原的多态性是由于红细胞表面含有糖脂和糖蛋白多糖链的多态性导致的。A 抗原的免疫活性结构域为 $\text{GalNAc}\alpha 1\rightarrow 3(\text{Fuc}\alpha 1\rightarrow 2)\text{Gal}-$ ，而 B 抗原的免疫活性结构域是： $\text{Gal}\alpha 1\rightarrow 3(\text{Fuc}\alpha 1\rightarrow 2)\text{Gal}-$ ，他们是通过一系列的生理生化过程合成的。ABO 血型系统中的 ABH 抗原是糖基转移酶催化反应的产物，而不是直接通过遗传基因转录、表达得到的产物。ABO 血型系统中的 ABH 抗原是通过 ABO 基因座位上的等位基因（A 基因和 B 基因）转录和表达产生 A 转移酶和 B 转移酶 H 抗原（H antigen： $\text{Fuc}\alpha 1\rightarrow 2\text{Gal}-$ ）分别在 A 转移酶和 B 转移酶进一步催化下进行糖原合成反应，分别产生具有特异性的 A 抗原和 B 抗原。然而，O 基因是无功能的基因，不能转录、表达生成 A 转移酶和 B 转移酶，因而 O 型血红细胞表面的 H 抗原保持未被修饰，缺乏 A、B 抗原。ABO 基因位于 9 号染色体的长臂（9q34）上，基因组全长约 18kb，包括 7 个外显子（长约 1065bp）和 6 个内含子（从 28bp 到 688bp 不等）。ABO 基因同源性较高，多数常见的基因之间只相差几个核苷酸，临床表型的多态性位于 6 号和 7 号外显子上。ABO 基因座位有 3 个主要等位基因：A、B 和 O。血型基因多态性主要以编码替代氨基酸的或启动子区域的单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms, SNPs）为主，其他还包括基因缺失、引发移码突变的单核苷酸缺失、由于紧密连锁基因内部重组导致基因杂交体的产生等。经 dbRBC 数据检索显示，目前有 169 种 ABO 血型系统的等位基因，已确立的 A 等位基因、B 等位基因、O 等位基因及 AB 等位基因的数目分别达 56 个、43 个、60 个和 10 个。

ABO 血型系统血型的定型常采用常规的血清学血型定型技术，目前已经非常完善，并已被标准化。但 ABO 亚型、表型被疾病干扰和新生儿抗体未形成等问题，可能会导致传统血清学方法很难对患者血型做出完整、准确的鉴定。ABO 血型系统血型的不同是由于基因水平上部分核苷酸的增减变化导致的。因此，可以通过分析这基因中核苷酸的情况来判断 ABO 血型系统血型基因型进而确定血型，这在技术上是可行的。血型基因分型技术克服了传统的血清学方法分型的不足。血型基因分型所需样品更加广泛，毛囊、组织块、血痕和羊水等各种有核细胞都可用来作为分型的样品，而不必考虑表达问题；避免了传统血清学定型易受血清中自身抗体和不规则抗体影响的限制；避免了传统血清学定型易因肿瘤和白血病等疾病导致血型抗原异常表达的影响；避免了传统血清学鉴定血型时假凝集和弱凝集现象对鉴定结果的影响；同时，血型基因分型技术可发现 ABO 血型亚型的分布情况。

针对 ABO 血型系统的基因分型技术主要包括：限制性片段长度多态性聚合酶链反应（polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism，PCR-RFLP）、单链构象多态性聚合酶链反应（polymerase

chain reaction–single strand conformation polymorphism, PCR–SSCP)、PCR–SSP、序列特异性引物扩增技术聚合酶链反应 (polymerase chain reaction–sequence based typing, PCR–SBT) 和核酸测序法等。其中, PCR–RFLP 技术是利用 PCR 仪扩增出包含突变位点的 DNA 片段, 扩增产物用突变位点特异的限制性内切酶处理得到特定片段, 经凝胶电泳检测这些片段便能获得 SNP 的特征, ABO 基因型可以通过 SNP 组合的方式进行鉴定; PCR–SSCP 技术进行 ABO 血型系统血型基因分析的原理是: 利用多重 PCR 选择性扩增出 ABO 基因的 SNP 和单碱基插入或缺失突变的相关片段, 然后将 DNA 双链解链为 DNA 单链, ABO 等位基因间核苷酸序列的差异可以造成凝胶电泳时电泳迁移率的不同, ABO 基因型可以通过分析电泳带型的组合方式进行鉴定; PCR–SSP 是目前最常用的基因分型技术, PCR–SSP 基因分型技术是利用 ABO 基因座特异的 SNP 设计相应的引物, 如果该引物 3'端碱基与 ABO 等位基因互补, PCR 就能延伸扩增, 否则就无法延伸, 然后通过 2%左右的琼脂糖凝胶电泳检查 PCR 扩增产物的有无鉴定特异性等位基因。本研究采用 PCR–SSP 基因分型技术对 10 例新生儿溶血病患者 ABO 正反定型不符的标本进行了基因分型研究。本研究发现, 通过 PCR–SSP 初筛板对于极少数稀有 ABO 血型的判读会出现困难, 不能确切的对其 ABO 血型定型, 应使用 ABO 血型基因亚型分型试剂盒。通过高分辨的 PCR–SSP 基因分型发现 10 例患者中有 3 例为 cis–AB01、2 例为 B (A) 04, 分别各有 1 例 cis–AB02、B (A) 02、Bel03、Bw12 和 Ael05, 这与 DNA 测序比对所得到的结果一致。研究说明, 传统的 ABO 血型系统血型血清学分型和 PCR–SSP 初筛法均不能进行有效的分型, 而 ABO 基因测序和高分辨 PCR–SSP 分型方法可以对 ABO 血型进行准确分型, 这与张纯武等 (2013 年) 的研究结果一致。本研究的结果说明, 对新生儿溶血病患儿可能因为出生时间较短, 体内 ABO 血型抗原尚未生成或含量较低, 采用传统的血清学血型鉴定方法很难定型, 而采用 ABO 基因测序和高分辨 PCR–SSP 分型等基因分型的方法效果较好, 可以用在溶血病换血治疗的血型配对检查之中。

ABO 血型系统新生儿溶血病是由母婴 ABO 血型不合导致的新生儿溶血病, 常发生于母亲为 O 型血, 而新生儿为 A 型或 B 型血的情况, 且由抗–A 引起的 HDN 较抗–B 引起的更为常见, 但抗–B 型的病情比抗–A 型的更为严重。ABO–HDN 的发生机制主要是同种被动免疫。当胎儿从父亲继承了母亲所没有的红细胞抗原作为异体抗原经胎母输血到达母体血液, 或母体曾因输血带入本身所没有的异体抗原, 这些刺激均会导致母体产生相应的抗体。初次接触异体抗原, 主要形成少量的免疫球蛋白–M (immunoglobulin–M, IgM) 类抗体, 产生免疫记忆细胞; 当再次遇到相同抗原时, 母体免疫记忆细胞迅速被调到, 产生大量免疫球蛋白–G (immunoglobulin–G, IgG) 类抗体, 并穿越胎盘屏障进入胎儿体内, 与胎儿红细胞上的血型抗原发生

特异性结合而导致胎儿溶血的发生。

紧急换血治疗可以迅速缓解新生儿高胆红素血症，对新生儿严重的免疫性溶血性贫血进行纠正，又能消除水肿，防止胆红素脑病和核黄疸后遗症的发生，提高患儿存活率，是治疗新生儿溶血病的有效手段。前人在新生儿溶血病的换血治疗方面做了大量的研究，例如赵鲁强（2016 年）对 120 例溶血病患儿进行了换血治疗，结果显示，换血治疗后血清总胆红素、直接和间接胆红素含量显著低于换血治疗前，与换血治疗前相比，换血治疗后血清 Na^+ 、 Cl^- 和 Ca^{2+} 含量均显著升高，而 K^+ 含量显著下降，差异均有统计学意义（ $P<0.05$ ）。胡德飞等（2016 年）研究了不同比例血量重组血治疗 ABO 血型不合溶血病的效果，结果发现，换血后 O 型浓缩红细胞和 AB 型血浆比例为 3: 1 的观察组和 O 型浓缩红细胞和 AB 型血浆比例为 2: 1 的对照组的总胆红素均有所下降，但观察组下降更明显，研究认为采用 O 型浓缩红细胞与 AB 型血浆 3: 1 比例对 ABO 血型不合溶血病患儿进行换血治疗，可维持血清电解质的稳定，降低血清胆红素水平，有效预防贫血，临床应用价值较高。樊永强等（2015 年）对新生儿溶血病换血治疗的效果进行研究时发现，换血后患儿体内血清总胆红素、间接胆红素、血小板和白细胞水平明显下降，血糖水平升高，认为溶血病换血可及时移去患者血液中的抗体和致敏红细胞，进而减轻溶血现象，降低血清胆红素浓度，防止核黄疸，同时换血治疗可以纠正贫血，防止患者心力衰竭，治疗过程中患者内环境比较稳定，极少有不良反应发生。本研究中，10 例经血型基因分型的新生儿溶血病患儿，经换血治疗后的血清总胆红素、直接和间接胆红素含量显著低于治疗前，差异具有统计学意义（ $P<0.01$ ）；新生儿溶血病患儿换血治疗后的 K^+ 含量显著低于治疗前，而 Ca^{2+} 、 Cl^- 和 Na^+ 的含量显著高于治疗前，差异均具有统计学意义（ $P<0.01$ ）。本研究说明换血治疗新生儿溶血病能快速降低患儿血清总胆红素、直接胆红素和间接胆红素，维持血液电解质的平衡，对新生儿溶血病的治疗具有良好的效果，这与胡德飞、樊永强和赵鲁强等的报道一致。

PCR-SSP 和基因测序技术可以用于溶血病换血治疗时 ABO 血型正反定型不符的 ABO 疑难血型的鉴定定型，血型基因配对检查具有良好的临床应用价值。换血治疗可以降低新生儿溶血病患儿血清总胆红素、直接胆红素、间接胆红素及 K^+ 含量，提高血清 Ca^{2+} 、 Cl^- 和 Na^+ 的含量，对新生儿溶血病具有较好的治疗效果。

文章研究所用 ABO 基因分型试剂为秀鹏生物 ABO 血型基因分型试剂盒（PCR-SSP 法）

3 《婴儿ABO血型的鉴定及应用于临床输血》

作者：张印则，兰炯采，李伟¹，刘忠，夏荣，周华友

第一军医大学南方医院输血科¹；北京红十字血液中心

来源：中国实验血液学杂志2003,11（3）

摘要：

为了研究 6 个月内婴儿 ABO 血型正确定型方法及影响因素，采用常规血清学法、凝胶柱法及 PCR-SSP 3 种方法对 6 个月以内的婴儿进行血型鉴定。结果表明：在使用不同方法检测婴儿 ABO 血型结果不符的 33 例中，常规血清学方法 32 例红细胞定型与血清定型不符，1 例是由细菌感染产生类 B 抗原所致的假相合。凝胶柱法可正确定型 27 例，正确率 84.4%。PCR-SSP 法可对所有标本做出正确定型。凝胶柱法与 PCR-SSP 法有显著性差异。结论：对 6 个月以内的婴儿进行 ABO 血型鉴定，推荐采用凝胶柱技术。凝胶柱法红细胞定型与血清定型相符的婴儿输血采用同型输注，但若婴儿患有感染性疾病时，应考虑到类 B 抗原引起的假相合。凝胶柱法红细胞定型与血清定型不符的婴儿输血时使用 O 型洗涤红细胞等成分血，待 PCR-SSP 法分型结果做出后，改为同型输血。

婴儿 ABO 血型抗原发育尚不成熟，ABO 血型抗体合成量较少，使用常规血清学方法对婴儿进行 ABO 血型鉴定时往往会出现红细胞定型与血清定型不一致。婴儿血型定型困难会影响婴儿的及时治疗，甚至威胁患儿的生命。这种情况在临床上也较常见，而采用基因分型方法直接从 DNA 水平对 ABO 血型进行鉴定，可以克服血清学方法只针对表型这一不足，从而大大提高 ABO 血型定型的准确性。现就难定血型婴儿的血型鉴定及其用血原则报告如下。

材料与方

对象

2001 年 2 月至 2002 年 2 月需要输血治疗的 6 个月以内使用常规血清学法、凝胶柱(micro-column gel-typing system)法及基因分型法检测 ABO 血型分型结果不一致的随机选择 33 例，男婴 23 例，女婴 10 例。

材料

ABO 血型血清学分型 红细胞定型试剂：抗 A 和抗 B 血清(效价为 128)由上海红十字血液中心提供。血清定型试剂：由 5 份以上同型红细胞洗涤后混合而成，检测当天配制。凝胶柱试剂由瑞士 DIAMED 公司

提供，操作严格按照说明书进行。

ABO 血型基因分型(序列特异性引物聚合酶链反应法, PCR-SSP) DNA 提取: 采用快速盐析法。用 Tris-EDTA 缓冲液(pH 8.0)将 DNA 终浓度调至 100- 300 ng/ml。ABO 血型基因分型引物: 由美国 G&T 公司合成、鉴定, 特异性引物设计参见已公布的血型基因序列。内对照为人生长激素(HGH)基因的引物对(表 1)。PCR 反应体系: 总反应体系 10 μ l, 各成分终浓度为 Tris 67 mmol/L, pH 8.8, (NH₄)₂SO₄16.6 mmol/L, MgCl₂22 mmol/L, Tween20 0.01%(v/v), HGH 0.4 μ mol/L, dNTP 200 μ mol/L, 引物浓度为 1.4 μ mol/L, Taq 酶 0.33 U(表 1)。PCR 循环参数: 95 $^{\circ}$ C 预处理 5 分钟, 95 $^{\circ}$ C 30 秒; 60 $^{\circ}$ C 30 秒; 72 $^{\circ}$ C 90 秒, 共 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 分钟。电泳 10%琼脂糖凝胶电泳, 10 V/cm, 25 分钟。紫外灯下判断结果。

Table 1 The constitution and optimal concentration of mixed primers and their products

Mixed primer	Specificity	Concentration (μ mol/L)	Size of product (bp)	Primer sequence
Mix-1	O ¹	1.4	1 790	5'-GGAAGGATGTCCTCGTGGA
Mix-2	O ²	1.4	253	5'-CGATTCTACTACCTGGGGA
Mix-3	B	1.4	252	5'-GATTTCTACTACATGGGGGC
Mix-4	A (A ¹ , A ²)	1.4	1 298	5'-TATGTCTTCACCGACCAGCT
Human growth hormone			429	5'-GCCTTCCCAACCATTCCTT 5'-TACCGGATTCTGTGTGTTTC

O¹: O¹ subtype. O²: O² subtype

结果

在使用常规血清学法、凝胶柱法及基因分型法检测婴儿 ABO 血型结果不符的 33 例中, 采用常规血清学法检测有 32 例红细胞定型与血清定型不符; 有 1 例(例 3)红细胞定型与血清定型相符均为 B 型, 与凝胶柱法结果一致, 但与基因分型法检测结果不一致, 基因分型检测结果为 O 型。这系由细菌感染造成的假相合。半年后采用以上 3 种方法对该婴儿血型进行复检, 红细胞定型与血清定型均为 O 型。

在常规血清学法检测红细胞定型与血清定型不符的 32 例中, 采用凝胶柱法检测可正确定型 27 例, 正确率为 84.4%(27/32)。仅有 5 例红细胞定型与血清定型不符, 错误率 15.6%(5/32), 见表 2。5 例凝胶柱法红细胞定型与血清定型仍不合者, 经 PCR-SSP 法证实。于 6 个月后进行追踪检测, 凝胶柱法与 PCR-SSP 法的结果一致。

PCR-SSP 法可对所有标本做出正确定型, 可作为参比试验。凝胶柱法与 PCR-SSP 法有显著性差异($\chi^2=5.42$, $P<0.05$)。

33 例婴儿共输浓缩红细胞 30.5 单位(6 100ml), 每例平均输血 0.92 单位(184.84 ml)。输血原因主要是贫

血、手术、感染等。凝胶柱法红细胞定型与血清定型一致，婴儿输血均采用同型输注，但应考虑到细菌感染引起的假相合。凝胶柱法分型不符的婴儿采用 O 型洗涤红细胞输注，待 PCR-SSP 分型结果作出后，改用同型输血。33 例患儿输血后均未发生输血反应。

Table 2 The blood group typing of 33 cases by serological, micro-column gel typing system and gene typing(PCR-SSP)

Case No.	Sex	Age	Routine serological method				Micro-column gel typing system				Gene typing	Blood group
			A-Ab	B-Ab	A-Cell	B-Cell	A-Ab	B-Ab	A-Cell	B-Cell		
1	F	5m	3+	—	—	—	4+	—	—	1+	A/O ¹	A
2	M	40d	—	2+	W+	—	—	3+	3+	—	B	B
3	M	2m	—	2+	1+	—	—	2+	2+	—	O ¹	O
4	M	50d	2+	—	—	—	3+	—	—	—	A	A
5	M	6m	4+	—	—	—	4+	—	—	W+	A	A
6	M	12d	—	3+	—	—	—	3+	1+	—	B/O ¹	B
7	F	1m	—	—	1+	—	—	—	3+	1+	O ¹	O
8	F	3m	—	—	1+	—	—	—	3+	1+	O ¹	O
9	M	50d	—	—	—	—	—	—	1+	—	O ¹	O
10	M	2m	3+	—	—	—	4+	—	—	2+	A/O ¹	A
10	M	2m	3+	—	—	—	4+	—	—	2+	A/O ¹	A
11	M	2d	2+	—	—	—	3+	—	—	—	A	A
12	M	40d	2+	—	—	—	3+	—	—	—	A/O ¹	A
13	M	3d	—	1+	—	—	W+	1+	—	—	AB	AB
14	F	6m	3+	—	—	—	4+	—	—	1+	A	A
15	M	8d	—	2+	—	—	—	3+	1+	—	B	B
16	M	3m	3+	—	—	—	3+	—	—	2+	A	A
17	M	10d	—	2+	—	—	—	3+	1+	—	B	B
18	M	6m	3+	—	—	—	4+	—	—	1+	A	A
19	M	45d	—	2+	—	—	—	3+	1+	—	B/O ¹	B
20	M	19d	—	2+	—	—	—	2+	2+	—	B	B
21	M	2m	3+	—	—	—	3+	—	—	1+	A	A
22	F	1m	3+	—	—	—	3+	—	—	1+	A/O ¹	A
23	M	44d	—	—	—	—	—	—	1+	—	O ¹	O
24	F	2m	—	1+	—	—	—	2+	1+	—	B	B
25	M	39d	—	2+	—	—	—	2+	1+	—	B	B
26	M	6m	4+	—	—	—	4+	—	—	1+	A	A
27	M	2m	3+	—	—	—	4+	—	—	2+	A/O ¹	A
28	M	1m	—	2+	—	—	—	2+	2+	—	B	B
29	F	3m	—	—	1+	—	—	3+	1+	—	B/O ¹	B
30	M	2m	2+	—	—	—	3+	—	—	1+	A	A
31	F	1m	—	—	1+	—	—	—	3+	1+	O ¹	O
32	M	6m	3+	—	—	—	4+	—	—	1+	A	A
33	M	2m	3+	—	—	—	3+	—	—	1+	A/O ¹	A

F; femal. M; male. m; month. d; day. Ab; antibody. 1+; +, 2+; ++, 3+; +++, 4+; +++++, w+; weak +, O¹; O¹ subtype

Table 3 Analysis of the causes for discrepancy of ABO blood group in 33 cases typing with red blood cell and serological methods

Cause	Case No.	Totoal number of cases
Lack of Ag		
A-Ag	13	1
B-Ag	29	1
Lack of Ab		
A-Ab	2, 6, 15, 17, 19, 20, 24, 25, 28	9
B-Ab	1, 3, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 21, 22, 26, 27, 30, 31, 32, 33	19
A-Ab and B-Ab	9, 23	2
False coincidence induced by bacterial infection	3	1

Ag; antigen. Ab; antibody

讨论

婴儿 ABO 血型红细胞定型与血清定型不符在临床上比较常见。婴儿出生后,在其个体发育过程中红细胞表面 ABO 血型抗原不及成人水平。有研究表明婴儿红细胞表面 ABO 血型抗原位点只占成人的 1/4。由表 3 可以看出,例 13 和例 29 是由于缺乏相应抗原而导致的血型误判,但在婴儿 ABO 血型红细胞定型与血清定型不符中抗原缺乏导致的误判不是主要原因,只占 6.06%(2/33)。婴儿 ABO 血型红细胞定型与血清定型不一致主要是由于婴儿相应抗体尚未产生或产生的量很少引起的,占 90.9%(30/33)。其中 19 例缺乏 B 抗体,占 63.3%(19/30),8 例缺乏 A 抗体,占 26.7%(8/30),1 例是由 A 抗体较弱所致,占 3.3%(1/30),2 例同时缺乏 A 抗体及 B 抗体,占 6.7%(2/30)(表 3)。婴儿 IgG 血型抗体是在出生后 3 个月开始合成,3-5 岁达到成人水平。虽然母体 IgG 可以穿过胎盘屏障而进入婴儿体内,但 Ig 半衰期很短,约 16-24 天。IgM 类抗体虽可在胚胎晚期形成,人体天然血型抗体也为 IgM,但不同个体所处环境不同,受天然血型物质的刺激程度及强度也不同,而且不同个体对天然血型物质刺激的反应性也不同。因此某些婴儿不产生天然血型 IgM 抗体或其效价极低,而与相应红细胞不产生可见的凝集反应,造成血清定型不凝集。从表 3 可以看出,6 个月以内的婴儿 ABO 血型红细胞定型与血清定型不符主要是由于缺乏相应抗体所致,而且 B 抗体比 A 抗体出现得还要晚。

值得注意的是,患细菌感染性疾病的婴儿在使用常规血清学法及凝胶柱法进行 ABO 血型鉴定时会出现假相合的现象。如例 3 的“O”型血误判为 B 型。这是由于该婴儿患有肺炎(革兰阴性菌感染),导致细菌多糖抗原-类 B 抗原吸附于红细胞表面,造成红细胞定型为 B 型;而血清中只有 A 抗体,B 抗体尚未产生,故只与 A 细胞发生凝集反应,血清定型结果也为 B 型。看上去红细胞定型与血清定型结果相符,但与 PCR-SSP

结果不符，实际上血型为 O 型。待感染控制后，类 B 抗原消失，使用 3 种方法进行 ABO 血型复检结果均为 O 型。所以对于革兰阴性菌感染的婴儿在进行血型鉴定时，最好使用基因分型的方法来检测。

凝胶柱法较常规法更为敏感。33 例不同方法检测血型结果不一致的样本经凝胶柱法检测后，红细胞定型与血清定型都有不同程度的增强，可以正确定型 27 例(表 2)。但不能排除细菌感染(红细胞表面吸附类 B 抗原导致血型误判)的影响。凝胶柱法与 PCR-SSP 法有较高的符合率，达 84.4%。与 PCR-SSP 法相比，凝胶柱法虽不能对所有样本做出正确定型，但该法简单，所需时间短，不致延误患者病情。基本可满足临床需求。对于凝胶柱法不能正确定型及患感染性疾病的个体，应采用 PCR-SSP 法对其进行鉴定。

PCR-SSP 法与血清学方法相比，克服了血清学鉴定只能鉴定表现型的局限，而是直接从 DNA 水平进行鉴定，结果更加准确可靠。ABO 血型抗原的合成是在糖基转移酶作用下，将不同的单糖结合到 H 物质上的一系列酶促反应。酶的底物少会导致 ABO 抗原性减弱，而 PCR-SSP 法完全不考虑以上因素，它针对的是细胞核内 DNA 的遗传特征，不受表型的影响，可更直接更准确地指定 ABO 血型。然而，PCR-SSP 法对 ABO 血型进行鉴定时，所需时间较长。

ABO 红细胞定型与血清定型不合的婴儿输血，仍应按照同型输注这一原则进行输血。对于那些少数凝胶柱法仍不能准确定型的，最好使用成分输血，如输注 O 型洗涤红细胞，AB 型血浆等以解决婴儿急需用血的问题，并尽可能减少对婴儿的同种免疫刺激，使其用血更加合理、安全。待 PCR-SSP 法血型定型结果做出后，再按照同型输注这一原则进行输血。

4 《ABO 血型基因分型方法的建立及其在新生儿溶血病早期诊断中的初步应用》

作者：张朝

来源：西北大学硕士学位论文

摘要：

近年来，分子生物学及实验技术领域研究突飞猛进，对血型基因型的研究亦广泛开展，为使血型基因型更好的服务于临床，本研究建立和优化了两种 ABO 血型基因分型方法，并尝试应用于新生儿溶血病的早期

诊断。

新生儿溶血病临床上常表现为不同程度的黄疸、贫血、肝脾肿大，严重者致死，部分幸存者出现运动障碍和智力发育不全等后遗症，根据新生儿溶血病的发病机理，在黄疸症状出现之前，胎儿血液循环中已存在来自孕妇血液中的抗体。因此，若能在黄疸症状出现之前作出明确诊断并开始治疗，可有效避免出现更为严重的临床症状。

根据新生儿溶血病的发病机理及血型的遗传规律初步尝试通过 ABO 血型基因分型达到对新生儿溶血病早期诊断的目的，更好的服务于临床。ABO 型新生儿溶血病多发于母亲血型为 O 型的胎儿身上，根据 ABO 血型系统的遗传特性，当父亲血型为 A 型、B 型或 AB 型时，胎儿血液中就可能出现与母亲不同的红细胞抗原（如图 2.7）。随着分子遗传学的发展，可以通过测定父亲血型基因来推断胎儿血型，以预测新生儿溶血病的发生。

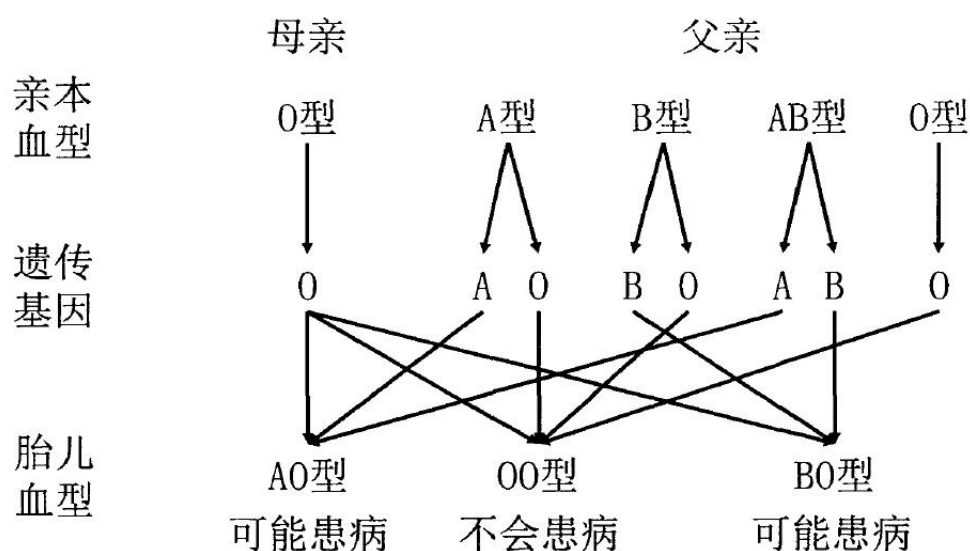


图 2.7 ABO 血型遗传示意图及患病可能

由图可知，当母亲血型为 O 型时，只需检测父亲血型是否为 A、B 或者 AB 型，就可初步推测胎儿可能的基因型，但由于等位基因 O 为隐性基因，当父亲血型为 A 或者 B 型时，则存在两种情况：父亲血型为纯合子或者为杂合子。当父亲血型为纯合子，即 AA 或者 BB 型时，胎儿血型必然会出现 A 或者 B。当父亲血型为杂合子，即 AO 或者 BO 时，胎儿血型则有 50% 的机率出现 A 或者 B。因此，在怀孕早期测定父亲血型基因型对新生儿溶血病早期诊断有一定的意义。

在孕期达到一定时间后，孕妇外周血中存在微量胎儿游离 DNA，对于新生儿溶血病而言，孕妇血型已知为

O 型，因此可通过检测孕妇外周血中胎儿游离中是否存在 A 或 B 基因，即可直接得到胎儿血型，对胎儿患病概率作出判断。

5 《新生儿黄疸发病率逐年上升》

作者：大众卫生报

来源：第四届中美（潇湘）儿科医学国际高峰论坛

摘要：

根据中国新生儿胆红素脑病多中心流行病学调查数据显示，2009 年 1 月至 2009 年 12 月全国 33 家三甲医院共报告胆红素脑病或核黄疸 348 例。而根据湖南省儿童医院住院患儿统计数据，2013.1.1-2015.8.31 共收治黄疸住院儿童 4703 人次；其中 2013 年 1684 人次、2014 年 1803 人次、2015 年截止 8 月 31 日收治 1216 人次。发病呈逐年增高趋势。

6 《6000例新生儿溶血病标本血型抗体分析》

作者：张泉，周金安

来源：临床血液学杂志 2017 年 30 卷 12 期

摘要：

我科近几年 HDN 检测的标本持续呈上升趋势，而且 HDN 的阳性检出率也呈逐渐增高趋势。5669 例血型不合的标本中，确诊和可疑为 ABO 溶血的为 1788 例，占 31.4%。在检测确诊 HDN 的抗体中，以 ABO 血型系统为最多，其次为 Rh'血型系统，笔者收集的标本中，检测 HDN 确诊的为 1465 例，其中抗 A 抗 B 引起的新生儿溶血为 1437 例，占 98.09%，其次为 Rh 血型系统，占 1.91%。在 Rh 系统引起的 HDN 中，最常见的抗体为抗 D，其次为抗 E。

表 3 1 465 例确诊 HDN 及抗筛阳性标本抗体鉴定分析结果

溶血类型	ABO 系统		Rh 系统			抗 A 合 并抗 D	抗 A 合 并抗 E
	抗 A	抗 B	抗 D	抗 E	抗 c		
例数	963	474	20	5	1	1	1
百分比/%	65.73	32.35	1.37	0.34	0.07	0.07	0.07
合计/例(%)	1 437(98.09)		26(1.77)			2(0.14)	

7 《新生儿血型鉴定的常见问题和处理》

作者：周金安，刘慧芳

来源：国际检验医学杂志2011年11月第32卷第19期

摘要：

在新生儿血型鉴定中，因其红细胞抗原数量少，自身抗体还未产生，同时受母体抗体干扰等原因，血型鉴定难度相对较成人更大。同时，因为新生儿血容量小、耐受力差，输血过程中极弱的凝集可能带来很严重的后果，所以其输血需要非常慎重，对血型的准确鉴定至关重要，是输血的第一步。

1 新生儿的血型抗原特点

新生儿红细胞上的 A1 抗原位点数量约为 $(250-370) \times 10^3$ 个，B 抗原位点数量约为 200×10^3 个，而成人红细胞上的 A1 抗原位点数量为 $(810-1170) \times 10^3$ 个，B 抗原位点数为 $(610-830) \times 10^3$ 个，新生儿红细胞所带的 A、B 抗原位点数目只有成人红细胞数目的 25%~50%。但新生儿 Rh 血型系统已基本发育成熟，出生时其抗原数量基本和成人相同。ABO 血型系统抗原数量较少，导致新生儿血型鉴定中可能出现弱的凝集或者混合视野的凝集，特别是 B 抗原，其数量相对更少，在正定型时，可能出现很弱的凝集。

2 新生儿的血型抗体特点

2.1 新生儿自然抗体的特点 ABO 血型系统的抗体多为自然产生的抗体，是自然环境中的 A 和 B 物质免疫的结果，一般在胎儿初生 3 个月后检出，而后效价会逐渐增高，到 5-10 岁时达到成人水平。6 个月以内的婴儿血清抗体大多含量不高，而且其效价比较低，与抗原结合能力也比较弱，因此通过检测血清中的抗体来鉴定其真实血型意义不大。

2.2 获得性抗体 母体内的 IgG 类抗-A 和抗-B 抗体可以通过胎盘，这些抗体可以游离于新生儿血清中，也可以与红细胞发生结合从而致敏红细胞。游离的 IgG 类抗体可以在盐水介质中凝集红细胞，从而导致反定型的假阳性结果，被致敏的红细胞上结合的抗体可能干扰诊断血清与红细胞抗原的结合，导致假阴性的正定型结果，所以对新生儿血型鉴定反定型意义的评估是比较重要的。

讨论：获得性抗原分为获得性 A 抗原和获得性 B 抗原，但获得性 A 抗原极为少见。当出现肠道系统感染时，大肠杆菌（血清型 O86）的细菌性多糖透过肠壁进入患者血液循环，结合于患者红细胞，这些多糖为 B 样多糖，能够与抗-B 结合，即为获得性 B 抗原，血型鉴定时，易误判定为 B 抗原阳性。针对这类患者，病

情、家族调查是很重要的，必要时需要基因方法鉴定血型。

在新生儿输血、做新生儿溶血试验等情况时，需要鉴定血型。因为新生儿本身体质量轻，耐受比较差，输血风险很大，所以血型的准确鉴定是至关重要的。同时只有准确鉴定了新生儿血型，才能正确进行新生儿溶血试验。新生儿红细胞抗原较弱、抗体未产生、易受母体干扰等原因，鉴定血型时需要非常仔细认真。

8 《新生儿及婴幼儿 ABO 血型鉴定的影响因素分析》

作者：覃日吉，范微，谭玉清，杨莉莉

来源：广西医科大学学报 2017 年 8 月；34（8）

摘要：

目的：探讨新生儿及婴幼儿 ABO 血型鉴定的影响因素及处理对策，以确保临床输血安全。**方法：**选取 2016 年 1 月至 2017 年 1 月在广西柳州市柳江区妇幼保健院产科出生及儿科住院的 3 例误定血型的新生儿、119 例 ABO 血型正反定型结果不一致的新生儿及婴幼儿为研究对象，血型鉴定采用试管法，必要时应用微柱凝胶新生儿 ABO、RhD 血型检测卡对照，对 ABO 血型的误定、ABO 血型正反定型结果不一致的原因进行分析。**结果：**（1）3 例血型误定中 1 例是脐血标本质量的问题，2 例是疾病因素的影响。（2）119 例正反定型结果不一致的首要原因是抗原弱、抗体效价低 80 例（67.2%），其次是不规则抗体阳性 14 例（11.8%），然后是抗体封闭 12 例（10.1%）、血型物质中和 7 例（5.9%）、直接抗人球蛋白试验阳性 3 例（2.5%）、胶原蛋白干扰 3 例（2.5%）。**结论：**多种因素不同程度地影响着新生儿及婴幼儿血型鉴定，针对影响因素采取有效的处理方法，可确保 ABO 血型鉴定的准确度。

表 1 119 例新生儿及婴幼儿正反定型不一致的原因及处理对策

原因	n (%)	处理对策
弱抗原、抗体效价低	80(67.2)	加大细胞浓度,加大血清量,4℃反应,吸收放散实验,卡式法
不规则抗体阳性	14(11.8)	洗涤红细胞,并做放散试验,至 DAT(—)时再定型
抗体封闭	12(10.1)	将红细胞与生理盐水混合后置 56℃条件下做抗体放散 10 min 后检测
血型物质中和 ^[4]	7(5.9)	洗涤红细胞 3 次后配置成红细胞悬液检测
直接抗人球蛋白试验阳性	3(2.5)	预温法后做抗体放散试验
胶原蛋白干扰	3(2.5)	洗涤红细胞,去除胶原蛋白

9 《新生儿 ABO 血型鉴定结果分析》

作者：农荣欣

来源：实验与检验医学 2014 年 8 月第 32 卷第 4 期

摘要：

目的：探讨新生儿 ABO 血型鉴定结果。方法：我院 2011 年至 2012 年在我院产科正常分娩新生儿出生后 48h 时内采用试管法正定型检测 ABO 血型 327 例，18~24 个月内对其采用 ABO 正反定型法进行 ABO 血型确认，统计分析新生儿 ABO 血型检测结果。结果：新生儿 48h 内血型鉴定错误 53 例，错误率为 16.21%。结论：新生儿 ABO 血型检测错误率较高，需严格规范操作，新生儿 ABO 血型检测结果有待 1 年半后做进一步的确认。

表 1 327 例新生儿两个时期血型检测结果对比

血型	正定型 (出生后 48h 内)	正反定型 (18~24 个月)	误差		错误率
			确认血型	例数	
O	167	132	A	11	20.96%
			B	13	
			AB	11	
			O	3	
A	86	78	B	1	9.30%
			AB	4	
			O	2	
			AB	3	
B	50	45	A	2	10.00%
			AB	3	
			O	2	
			A	2	
AB	24	19	B	1	20.83%
			O	2	
			A	2	

10 《90d 内婴儿血型正反定型分析》

作者：周金安，艾伯平，何磊，陈秀兰

来源：2013年26卷2期临床血液学杂志

摘要：

目的：分析 90d 内婴儿不同年龄段的血型鉴定正反定型符合率。方法：采用全自动血型分析仪和手工微柱凝胶卡的方法进行检测。结果：767 例标本正反定型一致为 444 例，符合率为 57.9%，各年龄段符合率分别为：0d57.2%；1~7d63.1%；8~30d48.1%；31~60d52.9%；61~90d68.2%。结论：90d 内婴儿血型正反定型符合率跟年龄非正相关，符合率与血型无明显相关性。

正定型凝集强度在 2+ 及以上，凝集结果评分达到 8 分的记录为阳性，因为新生儿及婴儿血清抗体本身很弱的原因，反定型凝集强度 1+，凝集评分达到 5 分及以上的记录为阳性。767 例标本正反定型符合情况见表 1。444 例血型正反定型一致的血型分布情况：A 型 146 例（32.9%），B 型 131（29.5%），O 型 167（37.6%）。

表 1 767 例 90 d 内婴儿血型鉴定正反定型符合情况
n(%)

年龄/d	病例数	符合例数	不符合例数
0	545	312(57.2)	233(42.8)
1~7	122	77(63.1)	45(36.9)
8~30	27	13(48.1)	14(51.9)
31~60	51	27(52.9)	24(47.1)
61~90	22	15(68.2)	7(31.8)
合计	767	444(57.9)	323(42.1)

11 《1012名新生儿ABO及Rh血型鉴定结果分析》

作者：吴涛，张长虹，周俊，杨连贵，杜海燕，安恒奇

来源：中国输血杂志2010年7月第23卷第7期

摘要

目的：通过新生儿 ABO、Rh 血型鉴定，分析不同胎龄新生儿血型抗原、抗体的产生情况。方法：应用全自动血型/配血系统对我院儿童医院 1012 名不同胎龄新生儿进行 ABO、Rh 血型鉴定，比较其抗原、抗体产生的结果。结果：早产、围足月、足月相比，不同胎龄 ABO 血型正反定一致率为 46.91%。结论：ABO 抗原抗体的产生与胎龄有关，而 Rh 抗原的产生与胎龄无关，出生时部分新生儿已产生 ABO 抗体。讨论：血型，尤其是 ABO 及 Rh 血型的正确鉴定是保证输血安全的首要条件，否则会危及患者的生命安全。新生儿由于自身血型抗原、抗体的产生特点，对血型的正确鉴定提出了更高的要求。

表 3 不同胎龄 ABO血型正反定一致性鉴定结果 (%)

	一致性				合计
	A	B	O	AB	
早产	27.5(47/171)	36.5(88/241)	50.5(97/192)	98.5(67/68)	45.49(299/672)
围足月	33.0(30/91)	57.4(74/129)	48.8(40/82)	96.6(28/29)	51.96(172/331)
足月	0	66.7(2/3)	20.0(1/5)	55.6(5/9)	44.44(8/17)
合计	29.28(77/262)	43.97(164/373)	49.46(138/279)	94.34(100/106)	46.91(479/1020)

本研究认为，血清中 IgMABO 抗体是出生时就合成或逐渐合成或含量逐渐增多的，只是合成的量少时，常规法会漏检。采用更为敏感的方法正确鉴定正定型更为重要。因此，在新生儿常规血型检查时，应同时进行正反定型。为了减少因新生儿抗原较弱所致的误定型，不能一概认为抗体“未合成”而忽略了反定型部分。新生儿 ABO 血型正反定型不一致，如需要输血，在抗筛阳性或在交叉配血不合，对血型鉴定存有疑问时，可进一步鉴定。唾液血型物质检测有一定参考价值，但是多数情况下取婴儿唾液困难，可采用吸收放散试验进一步核实或 PCR 技术检测 ABO 血型基因，以正确判定 ABO 血型。

12 《新生儿血型检测及抗体性质分析》

作者：周金安，何磊，皮兰敢

来源：国际检验医学杂志2013年10月第34卷第20期

摘要：

目的：统计新生儿血型正反定型一致的比例和抗体性质，分析抗体来源。方法：用微柱凝胶卡的方法检测新生儿血型，正反定型一致的血清用二巯基乙醇(2-Me)破坏 IgM 类抗体，比较破坏前后抗体效价，确定抗体性质。结果：831 例新生儿标本正反定型一致为 477 例，符合率为 57.4%。利用 2-Me 破坏后抗体效价无变化的为 93.9%，5.7%下降 1 倍，0.4%下降 2 倍。结论：导致新生儿血型鉴定正反定型一致的抗体主要为 IgG 类。

因为新生儿血清抗体本身较弱，反定型凝集强度 1+，凝集评分达到 5 分及以上的记录为阳性。831 例新生儿标本正反定型符合情况见表 1

表 1 831 例新生儿血型鉴定正反定型符合情况[n(%)]

年龄(d)	n	符合例数	不符合例数
0	613	350(57.1)	263(42.9)
1~7	146	92(63.0)	54(37.0)
8~14	31	16(51.6)	15(48.4)
15~21	23	11(47.8)	12(52.2)
22~28	18	8(44.4)	10(55.6)
合计	831	477(57.4)	354(42.6)

胎儿在母体内因为胎母屏障的存在，接触自然界 A 或 B 物质刺激的机会很少，加上出生后新生儿免疫系统发育不完全，自身产生 IgM 类血型抗体的比例很低，因而传统教材中将 3 个月内婴儿血型鉴定反定型不作为常规检测。但如今，越来越多的文献报道能够检测出新生儿血型抗体，从而得到正反定型一致的血型鉴定结果，但这些报道均未对抗体的性质和来源进行分析，只是将反定型中的凝集作为阳性反应，因而未确定抗体来自母体还是新生儿自身产生。

血型 A、B 抗原为糖蛋白，分布于红细胞的最外层，是红细胞血型系统中免疫原性最强的一类抗原，因而 IgG 类血型抗体能够结合这些抗原从而导致红细胞在盐水介质中凝集。在妊娠过程中，母体的 IgG 类抗体能够顺利通过胎盘进入婴儿体内，并且随着微柱凝胶卡的广泛应用，其高灵敏度提高了反定型检测的敏感性，较弱的凝集也能够比较好的检测出来，这些原因都是导致新生儿反定型抗体阳性的原因。

本科检测的 831 例新生儿标本中，正反定型一致的 477 例，占 57.4%，这些标本很多为新生儿溶血或者黄疸患者，这些患者很多血浆中有来自母体的 IgG 类抗体，因而正反定型一致的比例会高于所有新生儿普查的比例。

新生儿期，其自身不能产生 IgG 类血型抗体，但这类抗体能够来源于母体，因为孕期母体的 IgG 类抗体可以通过胎盘进入胎儿体内，而 IgM 类抗体不能通过胎盘，所以新生儿血型反定型中，IgG 类抗体来自于母体，IgM 类抗体由新生儿自己产生。2-Me 能够选择性破坏 IgM 类抗体结构，破坏其结合红细胞的能力，从而检测共存 IgG 类抗体。利用 2-Me 的这个特点，将血型检测中正反定型一致的新生儿血浆，用 2-Me 破坏 IgM 类抗体后，检测破坏前后抗体效价下降情况，即可确定新生儿血浆中的抗体的性质，从而确定抗体来源。

作者检测的 477 例正反定型一致的新生儿标本中，用 2-Me 处理后，抗体效价无变化的 448 例，占 93.9%，其余 29 例有小幅效价降低，说明作者所收集的 477 例血型标本中，93.9% 的新生儿血型抗体为 IgG 类。另外，从表 1 可以看出，随着新生儿年龄的增长，正反定型的符合率呈下降趋势，说明来自母体的血型抗体被代谢和消耗而逐渐减少。这些数据都充分说明，新生儿血型鉴定中，导致正反定型一致的抗体主要是来自于母体的 IgG 类抗体。

表 2 477 例正反定型一致血型抗体效价分布及
2-Me 破坏后效价下降情况

破坏前效价和比例		破坏后下降情况分布[n(%)]		
效价	例数(%)	无下降	降 1 倍	降 2 倍
256	4(0.8)	3(75.0)	1(25.0)	0(0.0)
128	18(3.8)	16(88.9)	2(11.1)	0(0.0)
64	118(24.7)	110(93.2)	7(5.9)	1(0.8)
32	134(28.1)	125(93.3)	8(6.0)	1(0.7)
16	129(27.0)	120(93.0)	9(7.0)	0(0.0)
8	60(12.6)	60(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
4	14(2.9)	14(100.0)	0(0.0)	0(0.0)

13 《新生儿 ABO 血型正反定型及其交叉配血实验结果分析》

作者：雷丽明，王华，彭兰

来源：国际检验医学杂志 2014 年 10 月第 35 卷第 20 期

摘要：

目的：分析新生儿 ABO 血型正反定型的符合情况及与异型血交叉配血的试验结果，探讨交叉配血试验在婴幼儿输血时的局限性及保证新生儿安全输血的有效措施。**方法：**对 1 095 例新生儿血液标本用微柱凝胶卡进行 ABO 血型鉴定，并与异型血做交叉配血试验。结果 1 095 例新生儿标本中，弱 A、弱 B 抗原检出率分别为 3.99%、17.93%，以弱 B 抗原为主；血型抗体阴性率抗-A 为 53.72%，抗-B 为 60.70%；与异型血做交叉配血时，主侧未出现预期凝集者占 52.87%，弱凝集占 33.27%，次侧弱凝集占 9.49%。**结论：**新生儿 ABO 抗原抗体成熟度及正反定型符合率均不及成人，依据交叉配血试验结果进行输血有一定局限性，应高度重视新生儿 ABO 血型的正确性，明确新生儿个体输血策略，以免给新生儿误输 ABO 异型血造成溶血性输血反应，保证其输血安全。

讨论：可见即便将新生儿血液与 ABO 异型血交叉配血，其多数情况下主侧也未出现预期的正常凝集，而呈弱凝集甚至阴性，但次侧由于新生儿 A 抗原、B 抗原发育相对较早，虽然抗原可能较弱或抗原决定簇数量不如成人，但与相应抗体反应时，可出现弱凝集，而绝不会出现阴性反应，因此，次侧结果可靠。但在临床实践中，由于主侧结果是判断配血是否相合的最主要因素，这对于新生儿依据交叉配血试验结果判断能否输血局限很大。由于新生儿辅助鉴定血型的材料（如唾液）不易获得，而且新生儿一般是出生后第 1 次做血型鉴定，无历史资料可查，这就给新生儿 ABO 血型的准确鉴定带来了很大的困难。

对一般患者来说，配血相合是确保输血安全的首要措施，但对新生儿来说，却必须首先考虑血型的准确性，配血结果仅在血型准确的情况下方为有效。

虽然新生儿血型抗体的效价可能不高，但若给新生儿错输异型红细胞或者血浆，由于新生儿肝肾功能尚不健全，耐受力差，其可能带来的溶血反应将会是致命的，因此对于 ABO 血型无法确定，患儿又必须输血的情况，切不可盲目依据交叉配血结果，最好选择 O 型血洗涤红细胞，以免不完全抗体产生对今后的输血造成影响，或导致严重的输血后果危及患儿生命。由于新生儿血型血清学检测结果的独特性，致使其 ABO 血型鉴定与安全输血成为当今的一大难题。输血工作者必须加强责任心，仔细观察结果，避免误判漏判。

同时新生儿对制品种类、规格要求较高，因此，希望相关部门尽快制定儿科输血及检测技术规范，使儿科输血工作做到“有法可依”。

14 《试管法、微柱凝胶法及血型检测卡鉴定新生儿血型的效果比较》

作者：覃日吉，范微，谭玉清，杨莉莉

来源：海南医学 2018 年 2 月第 29 卷第 4 期

摘要：

目前，新生儿输血指征尚没有统一的标准和认识，多数学者认为存在下列情况，可为输血指征：1) 新生儿出生 24h 内静脉血血红蛋白(Hb)<130g/L；2) 出血时严重贫血和(或)低血容量性休克，急性失血量 $\geq$ 总血容量的 10%；3) 医源性失血累计 $\geq$ 5%~10%总血容量；4) 慢性贫血患儿，Hb<80~100g/L[或血小板(Hct)<0.25~0.30]，临床出现与贫血相关的症状，如安静状态下有气急、呼吸困难、反复呼吸暂停、心动过速或过缓、进食困难、体重不增和表情淡漠等；5) 患严重呼吸系统疾病新生儿，需相对高质量浓度氧和呼吸支持治疗，当 Hb<130g/L 而 Hct>0.4 时，输注含成人 Hb 的血液制品在肺功能障碍期间可提供更多的氧。成人红细胞因含有较多的 2,3-二磷酸甘油酸(2,3-DPG)，较胎儿 Hb 可释放更多的氧；6) 患有严重心脏疾病新生儿(表现为发绀或充血性心力衰竭)需要维持较高的 Hb，一般在 130g/L(Hct>40%)以上，以增加氧输送至全身，改善缺氧；7) 严重新生儿溶血病且患儿血脑屏障发育不完善应进行换血；8) 需要外科手术的新生儿，应维持 Hb 在 100g/L(Hct>30%)以上。因此，对于具有输血指征的新生儿输血，快速准确地鉴定血型，确保新生儿输血安全具有重要的临床意义。

15 《幼儿血型 B 抗原性减弱的分析及探讨》

作者：杨云乐，马玲，王晓卫，韩军，李亭

来源：临床血液学杂志 2018 年 3 卷 8 期

摘要：

目的：分析 2 例幼儿血型 B 抗原减弱的原因，为今后婴幼儿血型的进一步研究提供实验性数据。方法：对 2017 年 2 例 13 个月龄患儿血型 B 抗原性减弱的样本进行血清学和 Sanger 双碱基 DNA 分子测序分析。结果：2 例样本其中 1 例 ABO 血型基因型为 B101，另 1 例为 Bw 型。结论：本次研究提示，幼儿血型抗原减弱可能是红细胞上血型抗原表达减弱导致，血型基因并未发生突变；也有可能是由于血型亚型造成，在儿童血型鉴定时尤其要重视。

讨论：国内虽然也有少数有关新生儿 ABO 血型系统抗 A 和（或）抗 B 抗体的报道，但未见现阶段我国不同年龄段 ABO 血型抗原与抗体及其相关问题的系统的、综合性的研究。前期试验研究中我们发现，血型抗体产生的年龄界限不明，1 岁以上的幼儿仍存在正反定型不一致情况，而新生儿也有正反定型一致的现象。ABO 血型系统的亚型在血清学试验中，其抗原也表现出不同程度凝集减弱或无凝集。所以，儿童血型鉴定时，如果是由于 ABO 亚型造成的抗原性减弱或正反定型不一致，则更容易被忽视和漏检。

16 《D 抗原遮断致新生儿 RhD 抗原假阴性 1 例》

作者：林甲进，朱碎永，张瑛

来源：中国输血杂志 2015 年 8 月第 28 卷第 8 期

摘要：

目的：对 1 例 RhD 阴性产妇所生的 RhD 阳性新生儿因 D 抗原遮断引起假阴性现象而进行血型血清学检测分析。方法采用血型血清学方法检测新生儿及父母血型抗原。结果新生儿血型 A、DCcee，母亲血型 A、dCcee，父亲血型 A、DCCee；新生儿直接抗球蛋白试验强阳性、游离抗体试验阳性、放散试验放出 ABO 以外抗体；对新生儿进行 RhD 血型检测时，试管盐水法结果无凝集，易误判为 RhD 阴性。结论通过血型血清学检测证实 IgG 抗-D 高效价抗体完全封闭了新生儿红细胞上 D 抗原，以致红细胞上没有多余的 D 位

点与血清试剂起反应，产生了假阴性。

由于高效价抗 D 抗体进入胎儿血液循环，将新生儿红细胞上的 D 抗原完全封闭，以致红细胞上没有多余的 D 位点与血清试剂起反应，此时应用 IgG 抗-D（盐水法）检测出患儿的 RhD 抗原实际为假阴性结果，这种现象称为遮蔽现象。

17 《RhD 抗原阴性孕产妇血液安全管理专家共识》

作者：《RhD 阴性孕产妇血液安全管理专家共识》制订协作组

来源：中国输血杂志 2017 年 10 月第 30 卷第 10 期

摘要：

医护人员应建议做下列检查或转至输血科门诊随访：（1）须对 RhD 血型确认试验(血清学方法)结果为阴性的孕妇做不规则抗体筛查结果再次确认，如果筛查结果阳性，应做抗体鉴定并测定抗体效价；（2）须对胎儿(新生儿)做 ABO 血型与 RhD 血型鉴定(初筛)；（3）须对孕妇与其胎儿(新生儿)生父做其他 Rh 表型(C、c、E、e)检测，在条件允许的情况下，宜对孕妇及胎儿(新生儿)生父做 RhD 血型分子生物学及其他红细胞血型系统血清学或(和)分子生物学检测。（4）对被确认为 RhD 血型阴性及不规则抗体筛查阴性的孕妇，医护人员应密切关注妊娠期存在新发高危因素导致孕妇产生 RhD 抗体致敏现象(简称致敏现象)可能引起的宫内胎儿溶血，应在产检过程中增加胎儿宫内情况监测频次;及时纠正各类原因导致的孕妇贫血现象，使其血红蛋白(Hb)≥110g/L。

输血科：在条件允许的情况下，孕妇与胎儿(新生儿)生父宜做 MN、Duffy、Kell、Kidd、Lewis、Lutheran 等红细胞血型系统抗原血清学或(和)分子生物学检测；也可做 RhD 血型分子生物学检测，以便作为推测胎儿(新生儿)血型尤其是 RhD 血型的依据。



为中国血型基因检测贡献力量!!!

为人民服务!!!