

新生儿溶血病血型基因专刊

2019 年 6 月

编者导读:

1、国内外文献报道及临床已经将 ABO 及 RhD 基因分型应用于新生儿溶血病的产前胎儿血型预测、产前胎儿血型鉴定及产后新生儿血型鉴定中。

2、孕妇血清 IgG 抗 A 抗 B 效价检测结果在 ABO-HDN 产前预防中存在干扰因素, 胎儿血型产前诊断技术作为辅助诊疗手段早期诊断 ABO-HDN 时可有效提高诊疗水平。

1) 产前胎儿血型预测: 通过胎儿父方血型基因合子型分型(杂合性、纯合型), 预测胎儿 ABO 或 RhD 基因型、表型, 发现新生儿溶血病发生风险, 可早期干预治疗, 加强对该妊娠的产科护理。

2) 产前胎儿血型鉴定: 根据父方基因型, 胎儿血型无法预测时, 以羊水胎儿 DNA 或孕妇血浆游离胎儿 DNA 为检测对象, 可准确鉴定胎儿血型基因型, 对胎儿患病概率作出判断, 可早期干预治疗, 加强对该妊娠的产科护理。

3、产后新生儿血型鉴定: 因新生儿血型抗原抗体特殊性, 临床上婴幼儿 ABO 血型正反定型不符比较常见, 基因检测血型不受年龄等外界因素的干扰, 确保新生儿同型输血及安全输血。

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》	3
2 《溶血病换血治疗的血型基因配对检查》	7
3 《罕见 B(A)亚型新生儿溶血病及血型鉴定》	13
4 《Molecular determination of RHD zygosity: predicting risk of hemolytic disease of the fetus and newborn related to anti-D》	14
5 《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》	15
6 《Non-invasive fetal ABO genotyping in maternal plasma using real-time PCR》	16
7 《Predictive blood group genetics in hemolytic disease of the fetus and newborn: a 10-year review of a laboratory evaluation of amniotic fluid-derived DNA》	17
8 《Antenatal genotyping of the blood groups of the fetus》	18
9 《无创胎儿血型产前诊断在 ABO 溶血病早期诊断中的意义》	18
10 《ABO 溶血病早期诊断中无创胎儿血型产前诊断的价值评价》	19
11 《羊水 ABH 血型物质测定与 ABO 血型基因分型》	21
12 《新生儿溶血病与 HLA-DQB1 相关性研究》	21
13 《荧光定量 PCR 法在不同孕期通过母体血浆检测胎儿 RhCcE 血型》	22
14 《D 抗原遮蔽现象致新生儿 RhD 抗原假阴性的鉴定与分析》	23
15 《英国预防新生儿溶血病抗-D 免疫球蛋白应用指南解读》	24
16 《RhD 抗原阴性孕产妇血液安全管理专家共识》	25
17 《ABO 新生儿溶血病的发病率及重症相关危险因素分析》	26
18 《对孕妇早期检测及治疗在新生儿溶血症临床应用探讨》	27
19 《基于共词分析法分析我国新生儿输血的研究现状》	29

新生儿溶血病血型基因专刊

（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，王洋洋，陈立强，梁结玲

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 12 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，并会越来越多地应用于 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断，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。

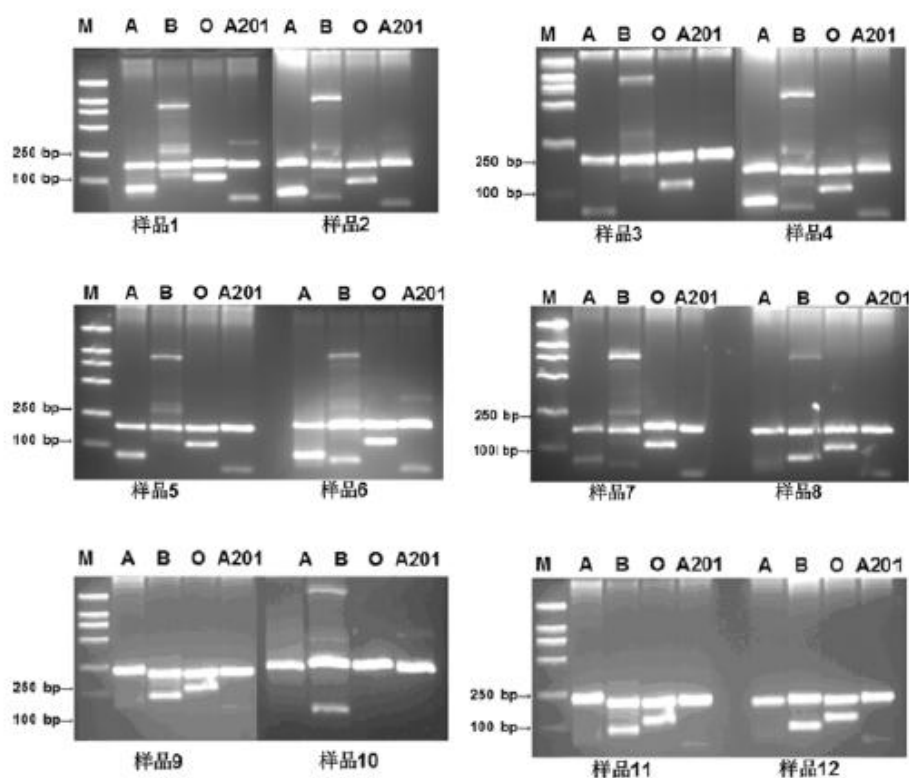


图 1 PCR-SSP 基因分型结果

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，舒琳琳，宁岑，李俊勋

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、Bel03、Bw12 和 Ael05；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/μL）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 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{K}^+/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{Na}^+/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{Cl}^-/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{Ca}^{2+}/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
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 O 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，对新生儿溶血病患者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者血清总胆红素、直接胆红素、间接胆红素及 K⁺ 含量，提高血清 Ca²⁺、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 《罕见 B(A)亚型新生儿溶血病及血型鉴定》

作者：张涛，欧阳熊妍，刘不尽

来源：中国输血杂志 2018 年 4 月第 31 卷第 4 期

摘要：

目的：对罕见 B(A)亚型新生儿溶血病进行血清学分析，并探讨该类血型的鉴定策略。

方法：对 1 例新生儿溶血病标本应用血型血清学方法进行新生儿溶血病相关检测，对发现的 B(A)亚型应用血型血清学、家系调查、分子生物学等方法进行鉴定。

结果：本例为罕见 B(A)亚型新生儿溶血病，并仅与抗原性相对较弱的 A 抗原相关。家系调查发现 3 例 B(A)亚型，基因分型及序列测定证实为 B(A)07 型。

结论：罕见 B(A)亚型新生儿溶血病具有重要临床意义，其血型鉴定过程需要采用多种方法。

讨论：本实验中，患儿原以 B 型血、母亲以 O 型血送检，通过检测发现患儿游离试验和释放试验均查见 IgG 抗-A，但未查见 IgG 抗-B 和其它不规则抗体。结合血型定型时患儿正定型抗-A 呈弱凝集、抗-B 呈强凝集，我们高度怀疑该患儿为罕见 B(A)型或 cisAB 型。我们随即抽检了患儿父亲血型，随后抽检了其姑姑、祖父母的血型，完成了 1 个简单的家系调查，同时将疑为亚型标本进一步做基因分型和序列测定，最终证实为 B(A)亚型。

本例则属于罕见 B(A)亚型新生儿溶血病，并且仅与 B(A)亚型活性相对较弱的 A 抗原有关。这在已有的文献中尚未查见类似报道，进一步丰富了 B(A)亚型在临床方面的意义。

对于 B(A)亚型所致新生儿溶血病的治疗，除常规的药物治疗和光照疗法外，极少数患儿可能需要换血治疗。按照输血理论，最好同型输注，但因 B(A)亚型同型率极低，此时应尽量配合性输注 O 型或 B 型洗涤红细胞，血浆可输注 AB 型血浆。张焱等报到了 38 例 B(A)型患者与 100 例 B 型献血员的交叉配血实验，

主侧配血均相合，说明 B(A)患者完全可以输注 B 型红细胞。

综上所述，鉴于 B(A)亚型在输血和新生儿溶血病方面的临床意义，我们需要引起高度重视，在鉴定 B(A)亚型时应综合采用血型血清学方法、家系调查、分子生物学方法等增加鉴定结果的准确性。

文章研究所用 ABO 基因分型试剂和测序相关试剂为秀鹏生物提供

4《Molecular determination of RHD zygosity: predicting risk of hemolytic disease of the fetus and newborn related to anti-D》

《RHD合子型分子检测：预测抗-D相关新生儿溶血病风险》

作者：Pirelli KJ, Pietz BC, Johnson ST, Pinder HL, Bellissimo DB

来源：Prenat Diagn. 2010 Dec;30(12-13):1207-12

摘要：

目的：建立了一种准确的检测父方 RHD 合子的分子方法，用于预测抗-D 相关的胎儿和新生儿溶血性疾病 (HDFN) 的风险。

方法：采用定量荧光聚合酶链反应(QF-PCR)检测 RHD 外显子 5 和 7，以 RHCE 外显子 7 为内控。从 RHD 外显子 5 或 7 与 RHCE 外显子 7 的峰面积比值来确定基因型和合子。我们测试了 25 个白种人和 25 个非裔美国人(AA)的样本，他们的合子型是通过 Rh 表型和另一种分子方法预测的。此外，我们还对 71 例的父亲样本进行了检测，胎儿已完成产前检查。

结果：RHD/RHCE 比值能明显区分 RHD/D 和 RHD/d 基因型。当 RHD 第 5 外显子拷贝数与第 7 外显子拷贝数不一致时，可以识别出 RHD 变体。分子分析鉴定了 8 例表型检测不正确的合子型，我们在杂交恒河猴箱实验中观察到 3 例假阴性。产前结果与本研究测定父本样本的合子性一致。

结论：QF-PCR 方法能准确测定白种人和 AAs 中 RHD 的合子型，有助于预测胎儿遗传 RHD 的风险。

5 《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。

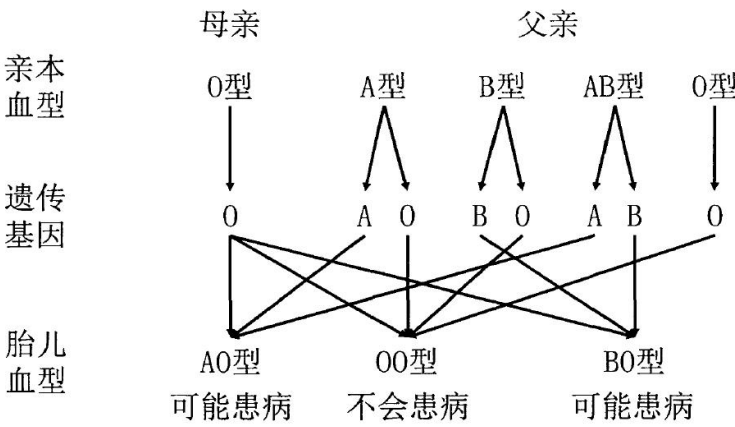


图 2.7 ABO 血型遗传示意图及患病可能

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。

6 《Non-invasive fetal ABO genotyping in maternal plasma using real-time PCR》

《实时 PCR 非侵入性检测母体血浆 ABO 基因分型》

作者：Song W, Zhou S, Shao L, Wang N, Pan L, Yu W.

来源：Clin Chem Lab Med. 2015 Nov;53(12):1943-50

摘要：

胎母 ABO 血型不合是导致胎儿和新生儿溶血性疾病(HDFN)的常见原因。常规血清学检测母体 IgG 抗体水平预测 HDFN 的可靠性较低。无创胎儿 ABO 基因分型为早期预测 ABO-HDFN 提供了新的途径。

目的：探讨实时 PCR 技术在孕妇血浆中检测胎儿 ABO 基因分型的可行性。

方法：收集 73 例妊娠 12 ~25 周的 O 型血孕妇血浆样本，提取含有无细胞孕妇血浆的胎儿 DNA (cffDNA)。

以 taqman 为基础，经甲基化敏感限制性内切酶后进行实时 PCR，检测母体血浆中胎儿来源的高甲基化 RASSF1A 序列。采用 sybr - real-time PCR 技术，利用等位基因特异性引物检测胎儿 ABO 基因型。新生儿血型血清学结果评价胎儿 ABO 基因分型的表现。

结果：73 份血浆标本均检出胎儿 RASSF1A 序列，证实了 cffDNA 提取的成功。胎儿 ABO 基因分型的诊断准确率为 93.2%，其中胎儿基因型 OO、OA 和 OB 的诊断准确率分别为 100%、83.3%和 96.8%。

结论：建立了一种快速、可靠的孕妇血浆 ABO 基因分型方法。本方案适用于产前常规 HDFN 诊断和法医学鉴定。

7 《Predictive blood group genetics in hemolytic disease of the fetus and newborn: a 10-year review of a laboratory evaluation of amniotic fluid-derived DNA》

《新生儿溶血性疾病的血型遗传学预测:对羊水来源DNA实验室评价的10年回顾》

作者：Seto E, Fernandes BJ, Wang C, Denomme GA.

来源：Prenat Diagn. 2007 Nov;27(11):1017-23

摘要：

目的：探讨免疫介导性溶血性疾病胎儿基因鉴定的样本类型、检测方式及错误率。

方法：回顾性分析 1997 年 1 月至 2006 年 12 月在加拿大多伦多西奈山医院进行的所有胎儿血型基因分型检测的实验室信息系统。

结果：在父亲为推测的血型抗原杂合或无法获得分型时，220 名妇女(243 名孕妇)的羊水 DNA 进行了一种或多种抗原的检测(279 项检测)。羊水 DNA PCR 扩增失败率为 5.0%。当父亲被认为是 RHD 的杂合子或无法获得分型时，胎儿阳性率分别为 68.6%和 72.7%。两个羊水 DNA KEL1 SSP-PCR 检测结果与体外培养的羊水细胞 DNA 检测结果不一致。

结论：父亲 RHD 的杂合频率可能被高估。因此，我们建议通过对 RHD 断点的分子分析来评估 RHD 的合子性。如果羊水来源的 DNA 因 PCR 扩增失败而不能确定，则应保留培养的羊水细胞进行检测。我们使用 PCR-RFLP 基因分型方法对 RHCE*E/RHCE* E (Rh E/ E)、KEL1/KEL2 (K/ K)、FYA/FYB (Fy(a/b))和 JKA/JKB (Jk(a/b))进行分型。

8《Antenatal genotyping of the blood groups of the fetus》

《胎儿血型的产前基因分型》

作者: Avent ND

来源: Vox Sang. 1998;74 Suppl 2:365-74

摘要:

在新生儿可能发生溶血性疾病的情况下,胎儿产前基因分型被广泛用于临床管理。对抗原阴性胎儿的快速诊断将排除进一步进行具有潜在风险的侵入性手术的需要,而对抗原阳性胎儿的确定则有可能加强对该妊娠的产科护理。分子基因分型是一项重要的临床应用,其基础是确定表达血型抗原的分子碱基,其中大部分已在基因水平上确定。所有使用的检测方法都依赖于从羊水或绒毛膜绒毛中提取的胎儿DNA的聚合酶链反应扩增。最近的工作探索了利用孕妇外周血中发现的胎儿细胞作为产前诊断核酸来源的潜力。使用非侵入性方法将防止母亲和胎儿暴露在侵入性方法(羊膜穿刺术、绒毛膜绒毛取样和角膜穿刺术)的潜在危险中,这些方法将导致包括流产、胎儿畸形和进一步的母体同种异体免疫等。

9《无创胎儿血型产前诊断在 ABO 溶血病早期诊断中的意义》

作者: 王振勇, 沈国松, 何平亚

来源: 浙江预防医学 2016 年 5 月第 28 卷第 5 期

摘要:

目的: 探讨胎儿血型产前诊断在早期诊断 ABO-新生儿溶血病(HDN)中的价值,为早期发现 ABO-HDN 提供依据。

方法: 回顾性分析 2013—2014 年在湖州市妇幼保健院产前检查的 3777 名 O 型血孕妇血清 IgG 抗 A 抗 B 效价检测情况及妊娠结局,利用孕妇外周血中的胎儿 DNA 检测胎儿 ABO 血型,并评价其在早期诊断 ABO-HDN 中的应用价值。

结果: 3777 名 O 型血孕妇血清 IgG 抗 A 抗 B 效价检测结果显示,ABO-HDN 高风险孕妇 1175 人,占 31.10%,低风险孕妇 2602 人,占 68.90%。对其中 769 名高风险孕妇进行妊娠结局新生儿情况随访,胎儿血型与孕

妇抗 A 或抗 B 相对应的 641 人，占 83.36%；不相对应的 128 人，占 16.64%。对其中新生儿血型与抗体检测相对应的高风险孕妇 ABO-HDN 发病率分析结果显示，抗体效价越高，ABO-HDN 发生率越高(χ^2 趋势=23.752, $P<0.01$)。从血清 IgG 抗 A 抗 B 效价 $\geq 1:256$ 的孕妇中随机选择 30 人，提取孕妇外周血血浆中胎儿游离 DNA，利用聚合酶链反应-序列特异性引物分型检测胎儿 ABO 血型基因型，与胎儿出生后血型一致率为 100%。

结论：孕妇血清 IgG 抗 A 抗 B 效价检测结果在 ABO-HDN 产前预防中存在干扰因素，仅凭其效价高低进行 ABO-HDN 的早期诊断和治疗具有一定的局限性；胎儿血型产前诊断技术作为辅助诊疗手段早期诊断 ABO-HDN 时可有效提高诊疗水平。

讨论：采集孕妇外周血中的游离胎儿 DNA 对胎儿来说属于产前无创性诊断，在 O 型血孕妇 9—15 孕周时即可应用定量 PCR 技术检测孕妇外周血中游离胎儿 DNA 中是否存在 A 或 B 基因，早期诊断胎儿血型。特别是对于高风险孕妇来说，如果怀孕早期诊断胎儿是 O 型血型，即使孕妇抗 A、B 效价再高，因其所怀胎儿为 O 型，可以提前排除母婴血型不合引起的 HDN，避免孕妇妊娠期不必要的干预治疗，减少经济负担；若早期诊断胎儿是非 O 型血型(A 型或 B 型)，临床医生结合孕妇血清中对应的 IgG 抗 A 抗 B 效价动态检测结果，可以排除部分胎儿血型与抗体效价检测结果不相对应的情况。因此，产前对胎儿 ABO 血型进行无创产前诊断，临床医生根据胎儿的血型结果再结合孕妇外周血 IgG 抗 A 或抗 B 效价的动态结果，可为早期诊断 ABO—HDN 提供依据，对优生优育有重要意义。

10 《ABO 溶血病早期诊断中无创胎儿血型产前诊断的价值评价》

作者：翟红梅

来源：《中国继续医学教育》 2017 年 28 期

摘要：

目的：对 ABO 溶血病早期诊断中无创胎儿血型产前诊断的价值进行研究及判定。

方法：选取在本院行产前检查的 100 例 O 型血孕妇对其血清抗 Ig G 或抗 A、B 效价的检测结果、妊娠结局进行分析，采取外周血的胎儿 DNA 检测其 ABO 血型，并评价其在 ABO 溶血病的应用价值。

结果：100 例 O 型孕妇血患者中，其 ABO 溶血病高风险者 30 例，占 30.00%，对 30 例高风险孕妇行妊娠结局及新生儿情况随访，其胎儿血型对应孕妇抗 A 或 B 的患者 24 例，占比 80.00%。对其新生儿血型及抗体检测的高风险孕妇的 ABO 溶血病的发病率进行分析，其抗体效价越高，则 ABO 溶血病的发病率越高。

结论：ABO 溶血病早期诊断中无创胎儿血型产前诊断的价值显著。

讨论：本文研究中，对于血清 IgG 抗 A 或 B 效价在 1：256 以上者随机抽取 10 例，采取聚合酶反应-序列号特异性引物分析胎儿的 ABO 血型基因型，其与胎儿出生后检测一致，表明早期 ABO 检验的可行性。

表 1 母体血浆提取 DNA 检验血型基因型确定胎儿表型结果

DNA 基因型	例数	胎儿表型
O ₁ A ₁	3	A
O ₂ A ₁	1	A
O ₁ A ₂	1	A
O ₁ B	2	B
O ₂ B	1	B
O ₁ O ₁	1	O
O ₁ O ₂	1	O
O ₂ O ₂	0	O

对于 IgG 抗 A 或 B 的效价的检测结果有较多的干扰因素，故临床中仅依据效价对于溶血病进行早期的诊断的局限性较大，本文研究中，其存在溶血病高风险的 30 例，占比 30.00%，且对 30 例高风险孕妇行妊娠结局及新生儿情况随访，其胎儿血型对应孕妇抗 A 或 B 的患者 24 例，占比 80.00%，与王振勇等人的研究结果相接近，但其胎儿血型与抗体效价的检测结果具有差异，其因素与 O 型孕妇于妊娠前接受含有 A、B 血型的物质的刺激亦或 O 型血孕妇怀孕前的破伤风、寄生虫感染所诱导的母体出现免疫反应，使得血清中抗 A 或 B 效价提高。

综上所述，ABO 溶血病早期诊断中无创胎儿血型产前诊断的价值显著，但临床医师需将孕妇血清中的 IgG 抗 A 或 B 效价的动态检测结果考虑在内，以此为早期 ABO 溶血病的确诊提供有力依据。

11 《羊水 ABH 血型物质测定与 ABO 血型基因分型》

作者：陈江，逯心敏，郭渝

来源：重庆医学 2014 年 4 月第 43 卷第 11 期

摘要：

目的：通过检测羊水 ABH 血型物质和序列特异性引物-聚合酶链反应(PCR-SSP)基因技术检测胎儿羊水细胞 ABO 血型基因型，鉴定胎儿 ABO 血型。

方法：选取妊娠 16~25 周的孕妇 53 例，抽取羊水，利用间接凝集实验测定羊水 ABH 血型物质；将羊水细胞进行分离，提取羊水细胞 DNA，运用 PCR-SSP 技术分析其 ABO 血型基因型。

结果：16 例羊水标本为非分泌型，占 30.2%，37 例羊水标本为分泌型，占 69.8%；48 例羊水标本通过 PCR-SSP 方法检测出了 ABO 血型的基因型。经基因鉴定的胎儿羊水细胞 ABO 血型与羊水分泌型 ABH 血型物质检测结果一致。

结论：PCR-SSP 技术可以准确地检测胎儿羊水细胞的 ABO 血型。

12 《新生儿溶血病与 HLA-DQB1 相关性研究》

作者：孙昂 方奎明 栗玉萍

来源：中国现代医药杂志 2014 年 3 月第 16 卷第 3 期

摘要：

目的：目的探讨人类白细胞抗原(HLA)-DQB1 等位基因多态性与新生儿溶血病(HDN)之间的关系。

方法：对 117 例 HDN 患儿和 112 例非新生儿溶血病(NHDN)标本,采用 PCR-SSO 方法进行 HLA-DQB1 基因分型，对基因频率和疾病发生的相对危险度(RR)进行研究。

结果：HDN 患儿中 HLA-DQB1*0301 的基因频数较 NHDN 显著升高(P<0.05)，其 RR 值为 1.721；含有 HLA-DQB1*0301 的 HDN 患儿的总胆红素值较不含该基因的患儿高，其差异有显著性(P<0.05)。

结论：HLA-DQB1*0301 与 HDN 的易感性呈正相关,可能是其易感基因。

讨论：而 HLA-DQB1*0301 也已被证实为不明原因复发性流产的易感基因，这可能与 HLA-DQB1*0301 基

因编码的蛋白质对胎儿生长不利，易引起流产或新生儿黄疸有关。本研究揭示了 HLA-DQB1 基因与 HDN 的相关性，提示其在 HDN 的发生中扮演着重要的作用，我们在掌握夫妇 ABO 及 Rh 血型的基础上，如能通过羊水检测知道胎儿的 HLA 基因型，对 HDN 发生的预防和早期诊断将具有重要作用。但胎儿的 DQB1*0301 基因是否由母亲遗传，该基因与孕妇体内攻击胎儿红细胞抗体的产生是否存在关联，有待进一步研究，从而为临床检查提供可靠的检测指标，为优生优育提供理论依据。

13 《荧光定量 PCR 法在不同孕期通过母体血浆检测胎儿 RhCcE 血型》

作者：李玲 陈青 王震

来源：《中国输血杂志》 2012 年 05 期

摘要：

目的：通目的比较荧光定量 PCR 法(FQ-PCR)在不同孕期通过母体血浆检测胎儿 RhCcE 血型的准确性。

方法：随机采集孕期 8~38 周的孕妇外周血 334 份，分离血浆，提取游离胎儿 DNA，用 FQ-PCR 方法检测胎儿 RhCcE 血型，利用胎儿脐带血标本检测的结果做验证。

结果：在妊娠 8~≤12、13~≤20 及 21~38 周的孕妇中，RhCcE 血型各基因型的 FQ-PCR 检测结果与脐带血血清学检测结果比较：C 基因型正确率分别为 94.1%(16/17)、91.6%(22/24)、100%(18/18)，漏检率为 5.9%(1/17)、8.3%(2/24)、0%(0/18)；c 基因型正确率分别为 97.6%(41/42)、100%(55/55)、100%(30/30)，漏检率为 2.4%(1/42)、0%(0/55)、0%(0/30)；E 基因型正确率分别为 97.8%(46/47)、98.4%(60/61)、100%(35/35)，漏检率为 2.1%(1/47)、1.6%(1/61)、0%(0/35)。

结论：随着孕期的增加，FQ-PCR 法检测胎儿 RhCcE 血型的准确性相应增加，孕晚期时达 100%。

14 《D 抗原遮蔽现象致新生儿 RhD 抗原假阴性的鉴定与分析》

作者：陆少燕，李洵璐，高家良

来源：中国优生与遗传杂志 2017 年第 25 卷第 5 期

摘要：

目的：对 1 例 RHD 阴性产妇产下的 RHD 阳性新生儿因 D 抗原遮蔽现象造成血清学假阴性的进一步鉴定与分析。

方法：采用血清学方法检测新生儿及其父母双方 ABO 及 Rh 血型抗原，对患儿血样进行直接抗球蛋白试验、游离抗体试验及放散试验，对患儿母亲血清进行抗体鉴定，对患儿红细胞热放散洗涤后再做 D 抗原鉴定。PCR 扩增患儿 Rh 基因的上下游盒子并电泳分析产物。

结果：新生儿血型初次定型为 A、d Ccee，患儿母亲血型为 A、dccee，患儿父亲为 O、DCCee；新生儿直接抗球蛋白试验阳性、游离抗体试验阳性且抗体特异性为抗-D 抗体、放散试验阳性且抗体特异性为抗-D 抗体；患儿红细胞热放散洗涤后与试剂抗-D 发生凝集为 RhD 阳性；PCR 产物电泳发现同时存在上游盒子、下游盒子及杂交盒子，为 RHD+/RhD-杂合型。

结论：因母亲体内高效价的抗体进入患儿体内后完全封闭了新生儿红细胞上的 D 抗原，造成其红细胞上没有多余的 D 位点与血清试剂结合，产生假阴性现象。

讨论：综上所述，在工作中如遇到母亲 RHD 阴性，婴儿盐水法 RHD 阴性但直接抗球蛋白试验强阳性时，因考虑到 D 抗原遮断现象的可能，通过进一步的血清学试验或分子生物学方法对其 Rh 血型正确定型，从而为临床提供准确及时的检测结果。这种完全 D 遮断现象可能会误导医生，延误进行产前和产后 RhD-HDN 的常规血清学检测，最终耽误患儿的诊断和治疗。这种遮断现象不仅限于抗-D 抗体，在其他血型系统中也有类似报道。同时应高度重视产前夫妇血型鉴定，孕妇 IgG 抗 -A/ 抗 -B 效价测定及不规则抗体筛查，做到早诊断早预防，以减少新生儿溶血病的发生。

15 《英国预防新生儿溶血病抗-D 免疫球蛋白应用指南解读》

作者：任少敏，刘献成，王同显

来源：2013年26卷2期临床血液学杂志

摘要：

目的：2014 年 1 月 23 日，英国血液学标准委员会(British Committee for Standards in Haematology, BCSH) 发布了最新《BCSH 预防新生儿溶血病抗-D 免疫球蛋白应用指南》(BCSH Guideline for the Use of Anti-D Immunoglobulin for the Prevention of Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn) (以下简称《指南》)，为使用抗-D 免疫球蛋白(anti-D immunoglobulin, 抗-D Ig) 预防 RhD 血型阴性(以下简称 D-) 孕产妇 D 致敏和由此导致的新生儿溶血病(hemolytic disease of the fetus and newborn, HDN) 提出了详尽的推荐意见。该《指南》将成为英国预防 HDN 的国家指南。我国因 > 90% 人口为汉族，其 D-率为 0.3% ~ 0.4% ，远低于白人和黑人的 15% 和 5%，所以我国 HDN 以 ABO 血型不合最多见，Rh 血型不合次之。但由于 Rh 血型不合 HDN 病情多较严重，死亡率或致残率相对较高，而目前我国尚无母婴 Rh 血型不合 HDN 的预防措施，更无相关国家指南，故该《指南》或可成为我们学习和借鉴之范本。

有 1 点值得关注，在我国食品药品监督管理局网站(www.sfda.gov.cn) 上未查到抗-D Ig 的进口许可，抗-D Ig 更未列入国家或地方医保药品目录，目前我国需要做抗-D Ig 预防的孕妇只能在少数外资医疗机构进行，或委托中希网(www.zxiw.com) 购买。我国最新发布的《特殊情况紧急抢救输血推荐方案》推荐，无抗-D 的 D-患者，特别是育龄期妇女和女童，输注 D+ 供者细胞成分后，有条件者应尽快注射抗-D Ig 以预防抗体产生。鉴于对抗-D Ig 的实际需求，建议国家药监管理部门根据具体情况批准其进口许可。由于 HDN 严重威胁新生儿的生命与健康，也建议医保部门将其列入医保药品目录。

16 《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

1. 2. 2 输血科(血库)

- 1) 重新抽取孕妇血样再次做 ABO 血型检测(正反定型)、RhD 血型鉴定(初筛) 与不规则抗体筛查。
- 2) 如果 2 次 RhD 血型鉴定(初筛) 结果均为阴性，应做 RhD 血型确认试验(血清学方法) 及其他 Rh 表型(C、c、E、e) 的检测。
- 3) 须对 RhD 血型确认试验(血清学方法) 结果为阴性且不规则抗体筛查结果为阳性的孕妇，做抗体鉴定并测定其效价，包括 RhD 抗体等。
- 4) 须对 RhD 血型确认试验(血清学方法) 结果为阴性的孕妇的胎儿(新生儿) 生父做 ABO 血型(正反定型) 与 RhD 血型(初筛) 鉴定，以及其他 Rh 表型(C、c、E、e) 检测。
- 5) 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。

7. 1. 1 目前欧美发达国家已普遍使用抗-D 人免疫球蛋白预防 RhD 抗体致敏现象。

7. 1. 2 国内抗-D 人免疫球蛋白至今还未获得国家相关部门认可批准，故必须在获得正式批准后临床才能使用。

7. 2 国外的参考与建议方案 见表 3。

表3 抗-D 人免疫球蛋白的使用建议

	高危因素	用法及用量
孕期出现可能的致敏现象后	妊娠<12 周	阴道流血伴明显的腹痛 人工流产终止妊娠 异位妊娠/葡萄胎手术后 事件发生后≤72 h 肌肉注射 250 IU (300 μg)
	妊娠 12~20 ⁺ 6 周	出现任何致敏事件 事件发生后≤72h 肌肉注射 250 IU (300 μg)
	妊娠 21 周-足月	出现任何致敏事件(无论是否此前使用过免疫球蛋白) 1) 事件发生后≤72h 肌肉注射 500 IU (600 μg) ; 2) 是否需要进一步追加注射剂量取决于相关实验室检查; 3) 孕期如有反复持续的阴道出血,则考虑可间隔≥6 周重复注射 500 IU (600 μg)
孕期的预防性使用	无论此前是否使用过免疫球蛋白阻断治疗,孕期的预防性使用都须进行	方案 1:妊娠 28 周肌肉注射 500 IU (600 μg) 方案 2:妊娠 28、34 周各注射 500 IU (600 μg) 1 次
产后或>20 周的胎死宫内	新生儿血型 RhD 抗原阳性,死胎血型不明	1) 产妇产后≤72h 肌肉注射 500 IU (600 μg) ; 2) 是否需要进一步追加注射剂量取决于相关实验室检查;

17 《ABO 新生儿溶血病的发病率及重症相关危险因素分析》

作者: 裴夏南

来源: 南方医科大学硕士学位论文

摘要:

新生儿 ABO 溶血病发病率

2009-2013 年在南方医院分娩的新生儿共 16092 例, 其中母亲 O 型血、父亲非 O 型血的新生儿共 3980 例, 母婴血型不合有 2116 例; 母婴 ABO 血型不合发生率平均为 13.15%; 其中确诊 ABO-HDN233 例; 在母婴 ABO 血型不合中的发病率平均为 11.01%; 在所有出生人口中的发病率平均为 1.45%; DAT 阳性 152 例, 在 ABO-HDN 中占 65.24%。

18 《对孕妇早期检测及治疗在新生儿溶血症临床应用探讨》

作者：叶海辉，李智山，皮佑珺

来源：国际检验医学杂志2013年10月第34卷第20期

摘要：

目的：通过鉴定孕妇的血型及测定其抗体效价，了解新生儿溶血病(HDN)的潜在发生状况，并探讨孕妇的干预治疗对 HDN 的影响。

方法：对 825 例孕妇(和其丈夫)进行 ABO 及 Rh 血型鉴定，对血型不合孕妇采用微柱凝胶法测定其抗体效价，以 IgG 抗 A(B)效价 ≥ 64 及 IgG 抗 D ≥ 16 为阳性，抗体检测阳性者进行及早的干预治疗，观察干预治疗的临床疗效。

结果：825 对夫妇中 ABO 血型不合者 471 对(57.1%)；抗体检测总阳性率为 44.5%(367/825)；O 型孕妇抗体阳性率显著高于 A 型及 B 型孕妇抗体阳性率(P0.05)，A 型与 B 型孕妇抗体阳性率差异无统计学意义(P0.05)，Rh 血型不相合孕妇 3 例(0.36%)，总阳性率 0.24%(2/825)；ABO 型孕妇抗体总阳性率 44.5%显著高于 Rh 型孕妇抗体总阳性率 0.24%(P0.05)。经干预治疗后，ABO 型及 Rh 型不合者抗体阳性孕妇的效价明显降低，总有效率为 85.6%(316/369)。

结论：本地区孕妇发生 HDN 的风险较大，其中出现 ABO-HDN 概率大于 Rh-HDN 出现概率，且 O 型孕妇较 A 型及 B 型孕妇更容易出现 HDN。干预治疗能够有效降低孕妇血清中相应的抗体效价，从而使得研究过程中出生的婴儿 HDN 发生率低。因此在怀孕 16 周即对孕妇进行首次血型鉴定及抗体效价测定，发现具有潜在 HDN 风险的孕妇，对其进行干预治疗，能够有效降低新生儿出现 HDN，同时减少流产、死胎等情况的发生，确保婴儿安全成长。

表 1 孕妇 ABO 血型不相合及抗体阳性情况

血型(妻-夫)	例数	抗体	ABO-效价 ≥ 64	阳性率 /%
O-A	173	抗 A	131	75.7
O-B	142	抗 B	119	83.8
O-AB	129	抗 A	61	47.3
		抗 B	53	41.1
A-B	12	抗 B	1	8.3
B-A	15	抗 A	2	13.3
相合例数	354	—	—	—
合计	825	—	367	44.5

表 2 干预治疗前后孕妇血清抗体效价分布情况

例

效价	例数	ABO 血型不合抗体效价/IgG 抗 A(B)					例数	Rh 血型不合抗体效价/IgG 抗 D					
		<64	64	128	256	512		<32	32	64	128	256	512
治疗前	367	0	135	159	61	12	2	0	0	1	0	0	1
治疗后	367	182	127	52	6	0	2	1	0	0	1	0	0

注:Rh 不合 IgG 抗 D 效价 512 者,其 IgG 抗 B 效价在治疗后由 128 变为 32。

表 3 ABO 型不合孕妇干预治疗的疗效

例(%)

抗体效价分组	例数	无效	有效
64 组	135	39(28.9)	96(71.1)
128 组	159	13(8.2)	146(91.8)
256 组	61	1(1.6)	60(98.4)
512 组	12	0	12(100)
合计	367	53(14.4)	314(85.6)

表 4 抗体阳性孕妇产儿 HDN 发生情况

HDN 类型	抗体阳性例数	HDN 例数	对应孕妇抗体效价	发生率 /%
ABO 不合型	303	1	128	0.33
		3	256	0.99
Rh 不合型	1	1	16	100

19 《基于共词分析法分析我国新生儿输血的研究现状》

作者：李姣，杨晓燕，石晶

来源：中华妇幼临床医学杂志（电子版）2018 年 2 月第 14 卷第 1 期

摘要：

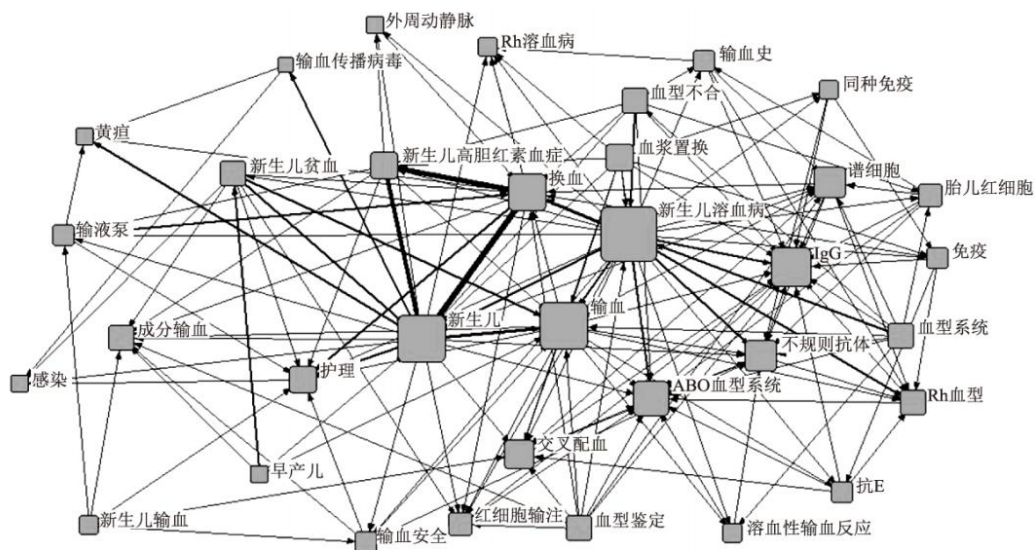
目的：通过共词分析法对我国新生儿输血领域的相关文献进行分析，旨在分析我国新生儿输血的研究现状。

方法：本研究以"新生儿""输血"为关键词，在中国知网(CNKI)数据库检索文献，并限定文献发表时间为 2000 年 1 月 1 日至 2016 年 11 月 30 日，共计获得符合本研究纳入标准与排除标准的文献 259 篇为研究对象。

将获取的 259 篇文献，采用 Microsoft Office Excel 2016 对各关键词及其词频进行统计和分析，提取合适的高频关键词，并对其建立共现矩阵。利用 Ucinet 6.3，对高频关键词共现矩阵绘制可视化网络，对高频关键词的关联性进行分析。

结果：(1)符合本研究纳入标准与排除标准的文献共计 259 篇，提取词频 ≥ 5 次的高频关键词 37 个，包括"新生儿""换血""新生儿溶血病""输血""新生儿高胆红素血症""新生儿贫血"等。(2)本研究高频关键词共现关系图分析结果显示，在我国新生儿输血研究领域，以"新生儿""输血"为核心，"新生儿溶血病"为主要研究热点，其余大部分研究集中于"换血""新生儿高胆红素血症"等方面，关系最为密切的高频关键词是"新生儿"与"换血"，"换血"与"新生儿高胆红素血症"。

结论：目前我国新生儿输血领域的研究主要集中于新生儿溶血病、新生儿高胆红素血症、新生儿贫血等疾病，以及换血疗法方面。在新生儿输血护理、早产儿输血等方面的研究亦有较多涉猎，但是在输血安全、成分输血、输血指征等方面的研究仍较少，如何有效、合理、安全、规范的进行新生儿输血治疗，仍有待进一步研究。



注: IgG 为免疫球蛋白 G

图 1 我国新生儿输血研究领域的高频关键词共现关系图

中国 56 个民族 ABO 血型分布是: A 型 0.2834, B 型 0.2933, O 型 0.3320, AB 型 0.0908, 中国人群中 Rh (D) 阴性者约占 0.0024。据报道, 中国汉族人 ABO 血型不合的妊娠比例为 24.49%-27.67%, 而新生儿溶血病的发病率约为新生儿的 1/140, 即 0.70%。因此可以推测在母子 ABO 血型不合的妊娠中, ABO 新生儿溶血病的发病率大约只有 $0.007 / 0.2449 = 2.86\%$ 。ABO 新生儿溶血病症状一般不会很严重, 经治疗尚可痊愈, 再者还可以预防。Rh 血型新生儿溶血病比 ABO 型新生儿溶血病的发病率还要低得多。



中华医学会临床输血学分会 第三届学术年会

企业参展通知

主办单位：中华医学会
中华医学会临床输血学分会

协办单位：中国医师协会输血科医师分会
云南省医学会
云南省输血协会
云南省第一人民医院
云南省临床输血质量控制中心

2019年9月10-12日
云南省 昆明市

秀鹏荣幸受邀参加本次盛会，届时敬请各位专家、老师光临展台指导！

下期主题：血型基因检测在血液疾病中的应用



为中国血型基因检测贡献力量！！！

为人民服务！！！！