

· 论著 ·

· 专家论坛与共识 ·

## 红细胞血型抗体鉴定专家共识

北京肿瘤学会临床用血专业委员会 中国输血协会临床输血管理专业委员会  
北京医学会输血医学分会 北京市输血协会临床输血管理委员会

**摘要:**红细胞血型抗体鉴定试验是输血相容性检测的重要内容之一,目的是准确鉴定出患者体内存在的同种抗体,并评估其是否能够引起胎儿和新生儿溶血病、溶血性输血反应及降低输入红细胞存活率等。本共识阐述了红细胞血型抗体鉴定的质量管理要点、标本及检测试剂要求、检测方法的原理和选择、常规抗体鉴定流程、结果判读与综合分析解释,旨在提高检测人员正确理解抗体鉴定意义,保证红细胞血型抗体鉴定试验的灵敏、准确。

**关键词:**红细胞血型;抗体鉴定;专家共识

**中图分类号:**R457.1<sup>†</sup>1 **文献标识码:**C **文章编号:**1004-549X(2021)10-1061-07

**Expert consensus of identification of antibodies to red cell antigens** *Clinical Transfusion Branch, Beijing Association of Oncology; Working Party on Clinical Transfusion Management, CSBT; Beijing Association of Blood Bank; Working Party on Clinical Transfusion Management, Beijing Society of Blood Transfusion*

**Abstract:** Identification of antibodies to red cell antigens is one of the important contents of blood transfusion compatibility test. The purpose is to accurately identify the alloantibodies in patients, and assess its association with fetal and neonatal hemolytic disease, hemolytic transfusion reaction, or a notable decrease in transfused red blood cell survival. This consensus summarizes the key points of quality management, requirements for samples and assay, principle and selection of detection methods, process of routine antibody identification, interpretation of result and comprehensive analysis and interpretation of erythrocyte blood group antibody identification, aiming to improve the correct understanding of the significance of antibody identification in the lab and guarantee the sensitivity and accuracy of antibody identification test.

**Key words:** blood group of RBC; antibody identification; consensus

人体血清或血浆中除了抗-A和抗-B是天然存在的特有红细胞规则抗体外,其他抗体统称为红细胞意外抗体。红细胞意外抗体包含同种抗体和自身抗体,前者是针对自身不表达抗原产生的抗体,后者则是针对自身表达抗原产生的抗体。妊娠、输血、移植或注射免疫原性物质等,均可引起针对红细胞抗原的免疫。在血清学试验中检测到的抗体,也可能是由于患者被动注射的免疫球蛋白、输注的供者血浆、移植器官中的过氧淋巴细胞或造血祖细胞(hematopoietic progenitor cells, HPCs)的免疫所致<sup>[1]</sup>。临床检测到抗体时,应鉴定其类型(同种和/或自身)和特异性,并评估其是否能引起胎儿和新生儿溶血病(hemolytic disease of the fetus and newborn, HDFN)、溶血性输血反应和明显降低输入红细胞存活率<sup>[2]</sup>。抗体鉴定过程涉及红细胞抗原表达和抗体特性等相关理论知识、试剂和检测方法选择、实验操作、结果判读与解释以及复杂性抗体鉴定等,无论哪个环节出问题,均会影响抗体鉴定结果的准确性和为临床供血的时效性。有鉴于此,北京肿瘤学会临床用血专业委员会会同中国输血协会临床输血管理专业委员会、北京医学会输血医学分会、北京市输血协会临床输血管理委员会的多名专家,通过对我国临床红细胞血型抗体鉴定现状的研讨和审视,特别是在充分总结其中的经验与得失,并广泛学习国外相关指南、标准和规范的基础上,达成了红细胞血型抗体鉴定的初步共识。以下声

明内容为专家讨论同意用以保障红细胞血型抗体鉴定准确性的推荐要点。

### 1 质量管理

红细胞血型抗体鉴定试验和所有血清学试验一样,正确的操作过程与正确的结果判断解释至关重要。对血清学检测结果做综合分析时,也需考虑到试验过程中可能存在错误的风险,“必须要有足够的实验全过程质量控制项目以保证试剂、仪器和方法符合预期功能”。试剂和仪器性能、实验人员能力须根据实验室相关程序做定期评估,而实验室相关程序的制定应基于质量管理要求、试剂说明书及仪器使用手册。

**1.1 质量管理体系** 与所有的临床实验室一样,输血检测实验室须按照医学实验室的实践标准建立具备可操作性和文件化的质量管理体系,明确其组织结构、程序、过程和必备资源,以满足各种检测项目的需求。

**1.2 人员能力培训** 从事输血相容性检测的人员应经过专业培训,独立上岗前须经过能力评估且测试合格,按计划定期参加能力评估并获得授权。

**1.3 试剂和检测系统** 用于血清学检测的试剂应符合相关规定,严格按试剂说明书要求保存和使用。实验室应明确记录所用试剂的批号和有效期,记录应包括试剂在用时间,并与检测结果直接关联。检测过程中使用的所有仪器均应按仪器使用说明书要求做好日常维护保养;仪器校准须符合参

考标准的具体要求;仪器故障、维修及停机时间,故障的纠正措施和维修后重新使用的相关过程都应记录在案;所有检测系统须使用适宜的质量控制(quality control, QC)程序,质控品的类型和检测频次应与检测系统风险控制相适应。

**1.4 质量控制** 实验室根据检测的实际情况设置阳性和阴性质控的频率。更换试剂批号时应先做质控;使用自动化检测系统时,质控品应以与患者标本相同的方式装载入仪器,在设置质控频率时应考虑机载试剂的稳定性。抗体鉴定试验也应制定相应的质量控制程序,以确保鉴定结果的准确性。如果质控结果未能达到预期,应调查最近 1 次有效质控后的所有试验结果,以确保结果的有效性<sup>[3]</sup>。

**推荐 1:** 抗体鉴定结果须双人审核,其中 1 人应具备中级及以上专业技术职称;输血实验室应及时将抗体筛查阳性和抗体鉴定的结果与临床沟通。

## 2 标本

**2.1 标本要求** 血清和血浆标本均可用于抗体筛查及鉴定试验,乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝血浆标本适用于大多数抗体筛查和鉴定试验,如果抗体检测过程中需要补体,应使用含有补体的血清标本。血清或血浆标本的使用也可由其检测方法决定。在本共识中“血浆标本”是不考虑标本类型的泛指(特殊说明除外),但应注意的是:1) 血浆标本可能漏检反应较弱、与补体结合的抗体;2) 血清标本做反定型或间接抗球蛋白试验时出现的溶血现象可能是阳性结果。根据所使用的检测方法,5~10 mL 全血标本含有的血清或血浆量足以满足简单特异性抗体鉴定的需求,而复杂性抗体鉴定试验可能需要更多全血标本。

**推荐 2:** 血清和血浆标本均可用于红细胞血型抗体鉴定试验。

**2.2 标本采集时间** 输血或妊娠刺激机体初次或再次免疫反应是产生红细胞意外抗体的主要原因。在确定用于交叉配血或抗体筛查标本的采集时间时,须考虑红细胞意外抗体出现的不确定性以及含有残留红细胞的成分血激发机体免疫反应<sup>[4]</sup>。为确保用于输血相容性检测的标本能够代表患者当前免疫状态,对于输血史或妊娠史<3 个月的患者以及既往史不明或无法获得的患者,其血清学检测标本应当是输血前<3 d 的,标本采集当天记为第 0 天<sup>[5]</sup>。有输血目的的抗体鉴定应当使用输血前<3 d 采集的患者血液标本,采集当日记为第 0 天;无输血目的的抗体鉴定可使用采集<7 d,4~8℃ 贮存的全血标本;分离的血浆标本可在≤-20℃ 贮存 3 个月再检测<sup>[1]</sup>。

**推荐 3:** 抗体鉴定首选当日采集的标本;全血标本 4~8℃ 贮存有效期为 7 d;血浆标本≤-20℃ 贮存有效期为 3 个月。

**2.3 标本贮存和保留** 随着贮存时间延长,全血标本会发生包括红细胞溶血、细菌污染、血清中补体失活、红细胞抗体尤其是 IgM 类抗体效价降低等变化。抗体鉴定标本在鉴定试验完成后须在 4~8℃ 贮存 7 d,以备复核。

**推荐 4:** 用于抗体鉴定的全血标本在鉴定试验完成后须在 4~8℃ 贮存 7 d,分离出的血浆标本须在≤-20℃ 贮存 3 个月,以备复核。

## 3 红细胞抗原表达

抗体筛查和鉴定的基础是血清或血浆与已知抗原表达红细胞的反应性。对红细胞抗原表达相关基础知识的掌握和理解有助于综合分析解释抗体筛查和鉴定试验过程中出现的反应性。

**3.1 剂量效应** 某些抗体的反应强度可能因红细胞上相应抗原剂量效应的不同而表现出差异性,即:抗体与具有双倍剂量抗原表达的红细胞具有更强的反应性(或仅与其具有反应性)。不同类型的同种抗体,其抗原抗体反应剂量效应不同;Rh、MNS、Duffy 和 Kidd 等血型系统中的许多抗体会呈现剂量效应。

**推荐 5:** Rh、MNS、Duffy、Kidd 等血型系统中的抗原具有剂量效应,抗体与对应抗原纯合子表达的红细胞反应更强;选择抗体鉴定细胞时,应考虑剂量效应的影响,以免漏检反应弱的、具有临床意义的抗体。

**3.2 成年人和新生儿差异** 成年人红细胞上的一些抗原(如 P1、Le<sup>a</sup> 和 Sd<sup>a</sup>)表达所具有的个体差异,可以通过血清学试验证实,但与个体的合子无关。某些抗原在新生儿脐带及其成年后红细胞上的表达可能发生变化:不表达、表达更弱或表达更强。

**3.3 贮存改变** 患者红细胞及抗体鉴定试剂红细胞组(旧称谱细胞)的抗原在贮存期间减弱,导致抗体鉴定结果失准。

## 4 试剂和检测方法

**4.1 抗体筛查红细胞** 用于输血前抗体筛查的 O 型红细胞,通常为商品化试剂,由 2 或 3 个单一献血者的红细胞组成<sup>[6]</sup>。美国 FDA 批准的商品化抗体筛查试剂红细胞表达的抗原包括 D、C、E、c、e、M、N、S、s、P1、Le<sup>a</sup>、Le<sup>b</sup>、K、k、Fy<sup>a</sup>、Fy<sup>b</sup>、Jk<sup>a</sup> 和 Jk<sup>b</sup>。含有 3 组细胞的抗体筛查试剂,应具有双剂量表达的下列抗原: D、C、E、c、e、M、N、S、s、K、k、Fy<sup>a</sup>、Fy<sup>b</sup>、Jk<sup>a</sup> 和 Jk<sup>b</sup>。Rh、MNS、Duffy 和 Kidd 系统抗体是最常表现剂量效应的抗体。使用自动化仪器做抗体检测时,应根据仪器使用说明书的要求选择试剂红细胞。试剂红细胞应按照试剂说明书使用和贮存,试剂开瓶时应验证性能并确定开瓶后稳定期,如果贮存条件或使用模式变化时应重新验证。试剂红细胞不使用时应冷藏贮存,并在有效期内使用。

**推荐 6:** 抗体鉴定中应被检出的同种抗体包括抗-D、抗-C、抗-E、抗-c、抗-e、抗-K、抗-Fy<sup>a</sup>、抗-Fy<sup>b</sup>、抗-Jk<sup>a</sup>、抗-Jk<sup>b</sup>、抗-Le<sup>a</sup>、抗-Le<sup>b</sup>、抗-M、抗-N、抗-S、抗-s 和抗-P1;应根据患者人群和实验室相关规定选择抗体筛查和抗体鉴定试剂红细胞组,避免漏检在特定人群中表达抗原的对应抗体。

**4.2 抗体鉴定试剂红细胞组** 用表达已知主要血型抗原的试剂红细胞组(通常为 8~16 个试剂红细胞)检测血清或血浆,做红细胞抗体鉴定。试剂红细胞通常为 O 型,可以用于任何 ABO 血型血浆的抗体鉴定。抗体鉴定的每瓶试剂红细胞均来自不同的单一献血者。抗体鉴定试剂红细胞组是通过与抗体发生阳性或阴性反应完成抗体检测,因此它应能覆盖所检测的相关抗体。为确保试验的有效性,抗体鉴定须能准确地鉴定出常见、具有临床意义的同种抗体,如抗-D、抗-



E、抗-K、抗-Jk<sup>a</sup>、抗-Jk<sup>b</sup>、抗-Fy<sup>b</sup>等。试剂细胞的抗原应分散表达,以便常见的单一同种抗体能被准确鉴定而大部分其他抗体能被排除。理想情况下,单一同种抗体与试剂红细胞的大多数反应格局不应与其他抗体的反应格局重叠(比如 K+ 标本的反应格局不能与 E+ 反应格局完全相同)。试剂红细胞组中应包括双剂量抗原表达的试剂红细胞,用于检测具有剂量效应的常见抗体。商品化抗体鉴定试剂红细胞组已列出各个红细胞的抗原表型,但抗体鉴定试剂红细胞组所含的红细胞表型随批次改变而变化,当解读抗体鉴定结果时,须参照同一批次细胞表型说明书。商品化试剂红细胞有 2%~5% 和 0.8% 悬浮红细胞,前者可直接用于试管法。除非怀疑试剂添加剂(如防腐剂)干扰抗体鉴定,通常无需在使用前洗涤试剂红细胞。

**推荐 7:**使用抗体筛查和抗体鉴定试剂红细胞组时,应注意细胞的抗原表达情况,避免漏检中国人群可能存在的血型抗体,如抗-Di<sup>a</sup>、抗-Mi<sup>a</sup>和抗-Mur 等。

**4.3 检测方法** 通常使用的抗体筛查和鉴定技术都是基于红细胞凝集技术(试管法或柱凝集法)或红细胞黏附(固相法)原理。“检测方法应为能检测具有临床意义抗体的方法”,“包括在抗球蛋白检测前于 37℃ 孵育”。目前实验室常规使用的方法均符合这一要求,但每种方法都具有不同的优点和劣势。试管法具有在不同检测相检测的灵活性,并可以使用各种增强介质(从而获得不同程度的灵敏度),且无需特殊设备;柱凝集法和固相法技术具有稳定且客观的检测终点,工作流程标准化以及半自动化或自动化系统操作的能力。柱凝集法、固相法和试管法具有增强血清学反应性的能力,包括温自身抗体的反应性,这在选择献血者血液时可能不具有临床意义。抗体筛查和鉴定试验,有多种方法(图 1)可供实验室选择,选择时应综合考虑方法的灵敏度、特异性、自动化能力(需要时)和成本、所服务的患者群体、实验室规模及其员工专业知识和经验等。实验室应熟悉所选方法的独特反应特性,并选择 1 种或多种其他方法,以帮助调查和解决主要方法不易发现的检测结果。

**4.4 增强介质** 使用试管法检测时,尽管反应体系可能仅由血清或血浆和红细胞(制造商提供的试剂红细胞或盐水悬浮红细胞)组成,但增强介质的使用可以减少孵育时间并提高检测灵敏度。可用的增强介质包括低离子强度盐溶液(low-ionic strength saline, LISS)、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)、22% 牛血清白蛋白等<sup>[7]</sup>,以及其他可用于复杂情况抗体鉴定的增强技术。柱凝集法等其他检测技术同样在检测过程中使用增强介质,各种增强介质的原理、应用和注意事项各有特点(表 1)。

**推荐 8:**使用增强介质时,应注意不同介质的反应原理、应用条件和注意事项(表 1)。

**4.5 抗球蛋白试剂** 大多数抗体筛查和鉴定试验应用间接抗球蛋白试验(indirect antiglobulin test, IAT)。抗球蛋白(antihuman globulin, AHG)可以特异性结合 IgG,也可以使用含有抗 IgG 抗体和抗补体抗体的多特异性试剂。由于单个 IgG 分子可以结合多个补体分子,多特异性试剂可以检测或可以更容易地检测结合补体的抗体。抗球蛋白试剂可以是来自

于单个克隆的单克隆试剂,也可以是来自多个 B 细胞克隆的多克隆试剂;前者仅与特定表位具有反应性,而后者针对靶抗原的多个表位产生反应性。由不同克隆制成的试剂的反应性可能具有差异,混合多种单克隆的试剂可以覆盖更广泛的特异性表位。由于单核细胞不表达 IgG<sub>4</sub> 分子的 Fc 部分的受体, IgG<sub>4</sub> 亚类的红细胞抗体不会引起红细胞破坏,且纯 IgG<sub>4</sub> 亚类的红细胞抗体很少见,因此 FDA 批准的单克隆抗 IgG 不检测 IgG<sub>4</sub> 亚类抗体。抗球蛋白试剂反应性的差异也可能引起检测同一标本的不同实验室之间抗体反应性的差异。

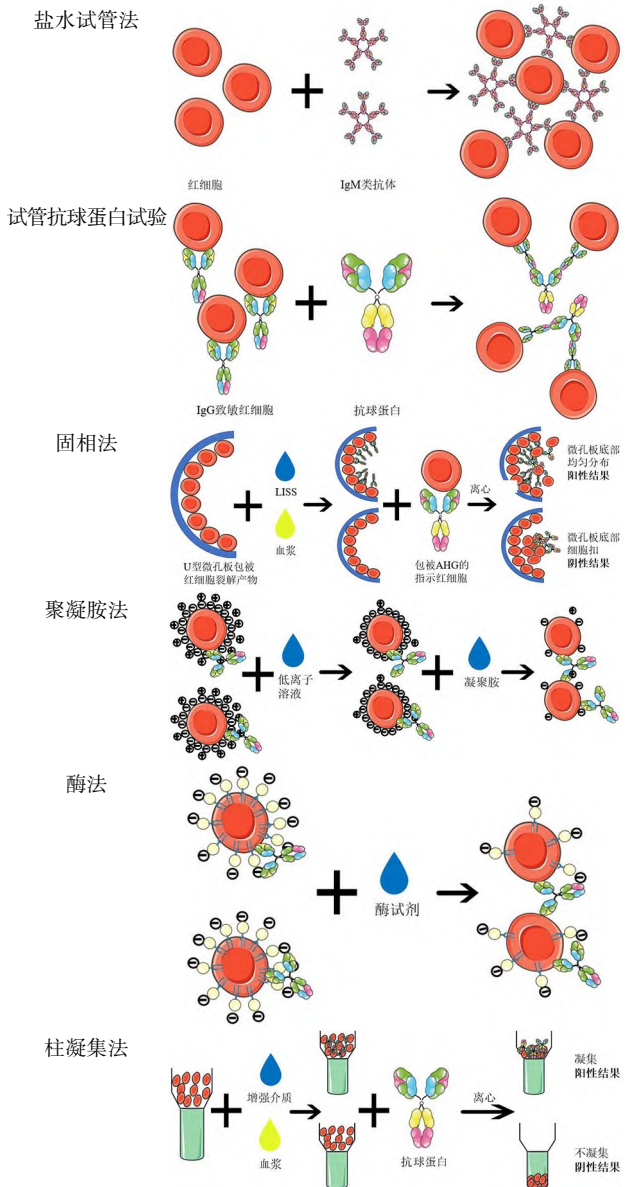


图 1 常用抗体筛查和鉴定试验方法及其原理示意

## 5 抗体筛查

抗体筛查的目的是确定患者体内是否存在具有临床意义的红细胞血型抗体。如果抗体筛查结果阳性,需要进一步对有意义的抗体做鉴定试验,这个过程要求输血实验室最终选择合适的血液供临床输注,同时提醒临床医生可能推迟提供相容血液<sup>[5]</sup>。抗体筛查结果阳性的可能原因包括:1) 同种抗体;2) 自身抗体;3) 同种抗体和自身抗体;4) 缙线状凝集;

5) 针对贮存红细胞的抗体;6) 针对试剂添加剂的抗体;7) 针对红细胞稀释液的抗体;8) 被动获得的抗体,其来源包括输注的血浆(新鲜冰冻血浆、血小板、冷沉淀),Rh 免疫球蛋白(Rh immune globulin, RhIG),血浆制品[如静脉注射免疫球蛋白(intravenous immune globulin, IVIG)]、器官捐献者的淋巴细胞,抗淋巴细胞球蛋白,用于免疫治疗的单克隆抗体。

表 1 不同增强介质的原理应用条件和注意事项

	原理	应用	注意事项
22%~30%白蛋白	IgG 类抗体在体外包被红细胞但不引起凝集反应,加入牛血清白蛋白可提高反应环境的介电常数并降低悬浮红细胞之间 $\zeta$ 电位(负电荷),负电荷减少缩短了细胞间距离,使 IgG 分子可以跨越相邻的红细胞产生凝集反应;白蛋白能破坏和分散与红细胞膜结合的水分子,通过降低结合水引起的空间位阻促进红细胞聚集	抗体筛查、抗体鉴定	白蛋白不增强抗原-抗体反应的第 2 阶段;可以与抗球蛋白试验联合使用;孵育后可立即离心观察结果
LISS	红细胞悬浮于等渗盐水中,细胞膜上的唾液酸使红细胞带负电荷,负电荷形成的排斥力( $\zeta$ 电位)使单个红细胞之间保持一定距离;加入 LISS 可降低反应介质的离子强度,进而增加抗原抗体之间的引力(或降低 $\zeta$ 电位),使原来在盐水介质中不凝集的红细胞抗体能够发生凝集,如用于间接抗球蛋白试验,可加快反应速度,缩短孵育时间	抗体筛查、抗体鉴定	可以与抗球蛋白试验联合使用;孵育后可立即离心观察结果
PEG	这是 1 种水溶性的中性多聚体,当其加入到含有抗原和对应抗体的溶液中时,由于排斥效应作用,使溶液中的抗体浓度相对升高,加速溶液中抗原-抗体复合物的形成	抗体筛查、抗体鉴定	可以与抗球蛋白试验联合使用;孵育后不可立即离心观察结果

## 6 常规抗体鉴定

**6.1 患者病史** 抗体鉴定试验开始前,如果可以获得以下信息,则应考虑患者病史对抗体鉴定试验的方法选择和结果解释的影响。

**推荐 9:** 抗体鉴定检测开始前,应尽可能详细了解患者的既往史,包括输血史、妊娠史、移植史、临床诊断与用药史、生物治疗和免疫治疗情况等,以便于方法选择和结果解释。

**6.1.1 红细胞暴露史** 输血或妊娠刺激机体初次或再次免疫反应是产生红细胞意外抗体的常见原因,无输血史和妊娠史的患者产生具有临床意义的同种抗体的情况鲜见。女性人群在妊娠期间暴露于外来(即胎儿)红细胞,因此较男性更易产生同种抗体。<6 个月婴儿通常不产生同种抗体,但新生儿体内可能有来自母体的被动抗体。患者有输血史,其最近 1 次输血时间非常重要,如果患者的输血时间<3 个月,其可能存在红细胞抗原免疫的风险,且血液循环中存在的供者红细胞可影响某些检测:1) 供者红细胞引起抗原分型试验出现混合视野干扰患者自身红细胞表型的解释;2) 供者红细胞可吸附同种抗体,在做吸收试验时,不能使用自体红细胞。

**6.1.2 临床诊断和疾病** 某些疾病与红细胞抗体有关,使用相应的检测方法,可以在抗体筛查和鉴定中检测到此类抗

体。冷凝集素综合征、雷诺现象和肺炎支原体感染通常与抗-I 有关;传染性单核细胞增多症与抗-i 有关;与成人梅毒和儿童病毒感染有关的阵发性冷性血红蛋白尿,通过 Donath-Landsteiner 试验可能检测出具有特异性的自身抗-P;还有多种疾病,如温自身免疫性溶血性贫血、系统性红斑狼疮、多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病或淋巴瘤等,与温自身抗体相关;接受实体器官或造血干细胞移植的患者可能表现出源自供体过客淋巴细胞的被动抗体。

**6.1.3 药物和生物治疗** 某些药物可对抗体鉴定试验产生干扰,如 IVIG 和 RhIG。某些批次的 IVIG 可含有意外抗体以及抗-A 和抗-B;静注 RhIG 可用于治疗免疫性血小板减少症,这可以解释 RhD 阳性患者体内存在抗-D 的原因。作为免疫治疗药物研发的单克隆抗体也可能干扰血清学检测结果:抗-CD38 用于治疗多发性骨髓瘤和其他 B 细胞恶性肿瘤,输注的 IgG 型抗-CD38 与机体中存在于正常红细胞上的少量 CD38 结合时,抗球蛋白法血清学试验便可出现阳性反应,抗-CD38 也是引起直接抗球蛋白试验(direct antiglobulin test, DAT)阳性的原因<sup>[8]</sup>;CD47 是 1 种表达于所有细胞表面的糖蛋白,处于临床实验阶段的抗-CD47 可干扰输血前检测的所有试验,包括 ABO 反定型、抗体筛查和鉴定<sup>[9-10]</sup>。如果红细胞上表达靶抗原,其他新型免疫疗法的研发和使用可能会引起类似的血清学干扰。

**推荐 10:** 除 IVIG 和 RhIG 外,用于免疫治疗的单克隆抗体(如抗-CD38 和抗-CD47)也会干扰血清学检测结果,新疗法的出现也可能影响血清学检测结果。

## 6.2 抗体鉴定基本要素

**6.2.1 自身对照(auto control)** 指使用与检测试剂红细胞相同的方法检测血清或血浆和自体红细胞的反应性,是抗体鉴定的重要组成部分<sup>[11]</sup>。在患者输血前、孕妇分娩前及献血者检测的抗体筛查中可以不包括自身对照,但在抗体鉴定试验中,增加自身对照有助于提示:1) 同种抗体;2) 自身抗体;3) 同种抗体和自身抗体;4) 体外干扰现象(如抗体活性取决于商品化红细胞试剂中是否存在保存液);5) 药物免疫反应;6) 被动获得抗体。抗体筛查阳性且自身对照阴性时,可使用常规方法做抗体鉴定;实验室须有明确的程序规定在何种情况下,当自身对照阳性时,需不需要做出更多的考虑;但自身对照阳性可能与抗体筛查和鉴定中同种异体红细胞的反应活性无关。

将自身对照检测结果与患者的病史和临床情况相结合,可以为下一步试验的选择提供方向。自身对照阳性可能需要的特殊试验:1) DAT;2) 改变实验技术或方法;3) 吸收试验;4) 放散试验;5) 细胞分离试验。实验室程序中应明确自身对照阳性标本的管理制度并应解决:首先,自身对照阳性是否会影响患者红细胞血型定型的可靠性;其次,自身对照阳性是否会影响抗体鉴定;第三,自身对照阳性是否会对患者的诊断和治疗(包括输注红细胞)产生影响。

**6.2.2 DAT** 与自身对照不同,DAT 是 1 种简单试验,用于检测红细胞在体内是否被免疫球蛋白和/或补体致敏<sup>[12]</sup>。引起 DAT 阳性的主要原因:1) 针对红细胞固有抗原的自身抗体;2) 溶血性输血反应;3) 胎儿及新生儿溶血性疾病;4) 药



物诱导的抗体;5)被动获得的同种抗体(如来自献血者血浆、衍生物或免疫球蛋白);6)非特异性吸附的蛋白(如高丙种球蛋白血症、大剂量静脉注射丙种球蛋白或一些药物引起的红细胞膜改变);7)由于细菌感染、自身抗体或同种抗体引起的补体激活;8)过客淋巴细胞产生的抗体(如器官或造血干细胞移植);9)用于免疫治疗的单克隆抗体。只是 DAT 阳性不能确诊是否为溶血性贫血,需要了解患者的临床诊断、近期用药史、妊娠史和输血史以及是否存在获得性或无法解释的溶血性贫血病因等,综合解释 DAT 阳性结果的意义。输血实验室与临床医生保持沟通,将患者的临床情况与实验室结果相结合,方能明确 DAT 阳性结果的意义。

孵育和使用增强试剂可能引起自身对照的反应性,但这仅是体外现象。如果自身对照在抗球蛋白反应相为阳性,则应做 DAT,如果 DAT 阴性,则应考虑针对增强介质成分的抗体或仅在增强介质中具有反应性的自身抗体;当使用某些增强介质时,温自身抗体和冷自身抗体,例如抗-I、抗-IIH、抗-Pr 等,可能在 IAT 中具有反应性,需要在另一种介质中重复检测;如果 DAT 结果为阳性,须仔细核查患者的输血史,自身抗体或药物可以解释 DAT 阳性结果,但如果患者有同种异体抗体并且近期输注了表达对应抗原的血液,则 DAT 阳性结果可能是由供者红细胞包被同种异体抗体所致,这种情况与临床上的迟发性输血反应有关。

**推荐 11:**综合分析抗体筛查、自身对照、DAT 和抗体鉴定结果,可以为复杂性抗体鉴定的方法选择提供依据。

**6.2.3 初步鉴定** 初始抗体鉴定通常使用与抗体筛查或交叉配血相同的方法。柱凝集法和固相法能在 IAT 相单次读取检测结果,而试管法检测可在不同检测相多次读取检测结果(立即离心、室温、37°C 和 IAT),具有更强的结果读取灵活性;许多实验室使用单次 IAT 结果进行结果判读,因为该方法可检测出绝大多数具有临床意义的同种抗体。初始抗体鉴定使用试管法可以立即离心和/或在使用增强介质前室温孵育判读结果,2 种方式都可以增强对某些抗体(抗-M、抗-N、抗-P1、抗-I、抗-Le<sup>a</sup> 或抗-Le<sup>b</sup>)的检测,并且可以帮助解释在其他检测相出现的反应性。当然并非所有增强介质在 37°C 孵育并立即离心后的凝集强度都是结果判读的依据。例如 PEG 增强时,37°C 孵育将混有 PEG 的红细胞一起离心可导致红细胞非特异性聚集,因此需要洗涤后再做抗球蛋白检测;LISS、白蛋白则和盐水(无增强)一样,37°C 孵育后可立即离心判读凝集强度。37°C 判读结果可以检测能引起红细胞直接凝集的一些抗体(反应强的抗-D、抗-E、抗-K)。如果检测血清标本,偶尔可以通过在 37°C 孵育期间破坏抗原阳性红细胞来检测抗体特异性(如抗-Le<sup>a</sup>、抗-Jk<sup>a</sup>);37°C 孵育后不离心直接观察结果可减少由无临床意义的自身抗体和同种抗体引起的不必要的阳性反应;而且在某些情况下,个别具有潜在临床意义的抗体仅能由其在 37°C 反应性确定检测结果。

除抗体筛查阳性需要进一步鉴定以明确抗体的特异性外,ABO 血型检测反定型结果出现非预期反应时也应做抗体筛查和鉴定,避免漏检可能干扰反定型同种抗体(如抗-M、抗-P1 等)。

**6.2.4 简化鉴定** 如果患者已经被鉴定出抗体,选择试剂

红细胞时应考虑已知的抗体。如果患者红细胞表型是已知的,选择试剂红细胞仅检测患者可能形成的同种抗体。简化鉴定可以最大限度地减少所需的每份标本总量。

**6.2.5 自身红细胞表型检测** 血清学或基因分型确定自身红细胞表型是抗体鉴定的重要组成部分,产生同种抗体的患者红细胞应不表达相对应抗原,这些信息可以指导抗体鉴定过程。近期输血或免疫球蛋白包被患者红细胞都可能干扰患者自身红细胞表型检测,如果不使用相应技术做处理,可能得到误导性结果,处理方法包括自身细胞分离或去除结合的免疫球蛋白;使用基因分型技术获得表型信息,也能够避免上述干扰<sup>[13]</sup>。

**推荐 12:**患者自身红细胞表型是抗体鉴定的重要组成部分。尽管可能存在例外,在初步做抗体鉴定时自身红细胞应不表达预期对应的抗原;自身表型和抗体特异性之间的差异提示患者具有抗原变异或部分抗原。

**推荐 13:**基因分型是获得红细胞表型信息的 1 种公认方法。分子生物学方法可用于解决抗体鉴定中的矛盾结果或血清学与基因分型不一致的结果。

## 7 常规抗体鉴定结果判读与解释

根据抗体鉴定试剂红细胞组是否存在反应性,抗体检测结果被判断为阳性或阴性。鉴定试剂红细胞组包括阳性和阴性结果,在不同检测相可能具有不同反应性,应对每个阳性结果做出综合分析解释。抗体鉴定结果解释是综合技术、知识和技能的复杂过程,需要综合分析抗体筛查、自身对照、DAT 和抗体鉴定结果,没有任何程序适用于评估所有的初步检测,以下列举的只是对部分抗体鉴定结果的解释。

**7.1 阳性和阴性反应的初步评估** 二者在抗体鉴定中同等重要。将 2 种反应的反应模式、检测相、相对反应强度与试剂红细胞组的抗原表达谱加以比较,阳性反应结果可提示抗体的特异性,阴性反应结果则应支持阳性反应提示的抗体特异性。单个常见的同种异体抗体通常呈现清晰的抗原阳性和抗原阴性试剂红细胞反应模式。初步评估只是结果解释过程的第一步,即使在此阶段已出现明显的抗体特异性,采取后续(下列)步骤方能确保准确鉴定出可能存在的所有抗体。

**7.2 抗体排除和特异性初始评估** 通过患者标本与抗原表达红细胞的非反应性来排除对应的特异性抗体,是解释抗体鉴定试剂红细胞组结果的 1 种广泛使用的方法,被称为“排除法”(“cross-out”、“rule-out”或“exclusion”)。操作流程:1)记录所有抗体鉴定试剂红细胞组结果;2)检查第 1 个非反应性红细胞的抗原谱,如果红细胞上存在抗原且患者标本与其不反应,可暂时排除对应抗体的存在,并从抗原谱顶部的列表中记录排除的对应抗原以加快检测过程;3)在该试剂红细胞的所有抗原被剔除后,用其他非反应性试剂红细胞重复试验过程;4)排除其他的特异性抗体,多数情况下,该过程完成后会留下 1 组未被排除的抗体。需要排除的具有临床意义的同种抗体至少应涉及 D、C、E、c、e、K、Fy<sup>a</sup>、Fy<sup>b</sup>、Jk<sup>a</sup>、Jk<sup>b</sup>、S 和 s 抗原,再就是 Le<sup>a</sup>、Le<sup>b</sup>、M、N、P1 抗原和针对某些患者群体特异

(下转第 1175 页)

(上接第 1065 页)

的其他抗原。输血实验室应制定抗体排除程序——列出需要排除的同种抗体,以及根据所选择的检测方法和可用资源是否需要使用单剂量或双剂量抗原阳性红细胞予以排除。最好的排除方法是使用非反应性双剂量抗原表达红细胞来排除抗体,但随着越来越多抗体的出现,双剂量排除可能也变得更加困难。同时,输血实验室的程序还应包括排除标准以外的其他例外情况。

不同来源的试剂红细胞组可能影响抗体排除。表型显示红细胞谱的某些抗原表达双倍剂量,但由于供者可能具有罕见的沉默等位基因血型系统,试剂红细胞可以仅携带单剂量的对偶抗原。

对反应性红细胞的评估:如果抗体鉴定试剂红细胞的抗原表达模式与检测结果中的反应性红细胞完全匹配,将有助于确认抗体的特异性;同时需要额外的检测以排除其他未排除的特异性抗体并确认可疑的特异性抗体,如果在初始判读抗体鉴定试剂红细胞组后无需其他检测便可确定抗体特异性并排除其他特异性抗体,可直接评估准确识别的概率。

**推荐 14:**使用排除法确认抗体特异性时,当患者标本与试剂红细胞表达的抗原不反应时,可以暂时排除存在对应的抗体;只有在综合考虑了抗体性质、抗原表达情况和检测条件等情况下才能作出最终判断。

**7.3 选定红细胞的排除和确认** 使用已知表达或缺乏特定抗原的红细胞可确认或排除抗体的存在。例如如果反应性红细胞的模式完全符合抗-Jk<sup>a</sup>,但不排除抗-K和抗-S,则可选择特定的红细胞做检测;理想情况下,应选择具有 Jk(a-),K+,S-;Jk(a-),K-,S+和 Jk(a+),K-,S-表型的红细胞;选定的红细胞反应模式应既可以确定抗-Jk<sup>a</sup>存在,又可以确认或排除抗-K和抗-S。选择被检抗原表达强的红细胞做检测(来自纯合子供者或具有双剂量抗原表达的红细胞),确保所选红细胞无反应性(不存在抗体),而非因抗体太弱不能与抗原弱表达的红细胞发生反应。在结果解释阶段选定红细胞检测,如果未获得预期的阴性和阳性结果,可以推定鉴定过程出现错误。

**7.4 准确识别抗体的概率** 标本中含有高效价抗体(即循环抗体的量)和试剂红细胞上抗原表达的强度是准确鉴定抗体特异性的 2 个先决条件,但在实际工作中很难确定何时能同时满足这 2 个条件,即使最大程度地控制了这 2 个变量,仍然需要确定试验中得到的反应结果不是偶然结果。由于试剂红细胞上表达或缺乏与特异性抗体相对应的抗原,故抗体鉴定(结果)要求使用足够数量试剂红细胞。判断抗体鉴定结果的标准方法(基于 Fisher 精确概率方法):与 3 种抗原阳性的试剂红细胞具有反应性,与 3 种抗原阴性的试剂红细胞不具有反应性。当此标准方法不能满足判断条件时,宜使用 1 种更为灵活的方法(由 Harris 和 Hochman 计算得出):2 个反应性和 3 个非反应性试剂红细胞、或 1 个反应性和 7 个非反应性试剂红细胞(也可以是 2 个非反应性和 3 个反应性红细胞标本、或 1 个非反应性和 7 个反应性红细胞标本),可满足概率( $P \geq 0.05$ )的最低要求<sup>[14]</sup>。在某些情况下,使用 2 个反应性和 2 个非反应性试剂红细胞做抗体鉴定的结果也

可接受。

**推荐 15:**从概率上讲,抗体鉴定的标准方法要求 3 种抗原阳性试剂红细胞具有反应性、3 种抗原阴性试剂红细胞不具有反应性。

**7.5 自身红细胞表型与抗体鉴定结果的一致性** 患者自身红细胞缺乏对应抗原可以支持推定的抗体鉴定结果;以血清学方法或基因分型确定的红细胞表型也可能需要进一步研究。通过血清学检测得到的抗原阳性分型应通过使用多种来源的抗体检测再确认。因为基因分型未检测基因沉默突变,所以其预测表达抗原与血清学检测抗原阴性的差异,可能说明患者红细胞实际上不表达该抗原;由于存在基因多态性,故患者可能具有变异抗原或部分抗原<sup>[13]</sup>。

## 8 复杂性抗体鉴定

常规抗体鉴定不足以满足临床红细胞血型抗体鉴定的需要,而且不能通过上述过程每次都直接立刻作出对其结果的判定与解释,可能还需要结合其他检测和/或咨询血液学参比实验室。但是常规抗体鉴定时的自身对照可为复杂性抗体问题提出和解决的起点,而 DAT 结果可用于检测方法的选择,需要做复杂性抗体鉴定的情况:1)多种抗体;2)无明显特异性反应性的抗体;3)温自身抗体;4)冷自身抗体;5)引起迟发性血清学/溶血性输血反应;6)高频抗原抗体;7)低频抗原抗体;8)孕期低频抗原抗体;9)药物依赖性抗体;10);试剂成分抗体;11)引起缙钱状凝集的抗体;12)引起其他不规则血清学反应的抗体。这些情况既可单独存在,也可同时出现(如患者可以同时存在同种抗体和自身抗体);某些同种抗体可以与没有列在抗原谱上的其他抗原发生反应。尽管此类抗体大多都没有临床意义,但是某些抗体能够加重对输入的抗原阳性红细胞的破坏。即便输血实验室已精心制定并实施了尽可能完备的制度和程序,仍可能无法在本实验室内解决所有的抗体鉴定问题。因此各实验室都须建立外送鉴定检测抗体制度,明文规定什么情况下标本需要外送血液学参比实验室检测,而在送检之前自己实验室应当做到(但不限于)的 2 条:1)选择固定的工作人员负责完成抗体鉴定试验,按照严格、行之有效的实验方法操作;2)规定对复杂抗体鉴定试验的条件并建立相应的程序帮助工作人员解决该问题,程序可以是单独的 SOP,也可以是程序文件和制度的补充说明,特别是可以使用流程图来指导工作人员在完成常规抗体鉴定评价后,如何应用和选择适当的补充试验完成复杂性抗体鉴定。

## 9 复杂性抗体鉴定试验方法的选择

尽管红细胞血型抗体筛查和基本抗体鉴定可以使用相同的检测方法,但解决复杂性抗体鉴定问题可能需要使用其他替代技术和方法。上述的一些程序已在许多输血实验室内常规使用,其他程序有选择地使用,或仅适用于特殊情况。需要强调的是没有 1 种试验方法是能检测所有抗体的最佳方法。当常规方法未能验证抗体特异性,或怀疑存在抗体但无法确认时,使用其他增强技术或程序或将有所帮助。做红细胞酶处理、低温检测或使用各种增强介质时,应包括自身

对照以确保对结果的正确解释。在使用这些技术时应注意每种技术的优点和缺点、适用条件,以及多种方法联合应用时的注意事项。这些方法包括:1)获得自身红细胞表型;2)使用 LISS 和 PEG 等增强介质;3)降低反应温度;4)增加血清/细胞比例;5)延长孵育时间;6)改变 pH 值;7)酶修饰/破坏红细胞血型抗原;8)化学修饰/破坏红细胞血型抗原;9)抑制技术;10)免疫球蛋白变性;11)吸收试验;12)放散试验;13)吸收、放散试验结合使用;14)抗体效价检测。其他方法:毛细管法、微孔板法、酶联免疫试验,免疫荧光检测法、流式细胞技术、免疫印迹技术等。

10 结语

本共识对红细胞血型抗体鉴定过程中涉及到的质量管理、标本、红细胞抗原表达、试剂和检测方法的原理和选择、常规抗体鉴定过程、结果判读与综合分析解释等关键环节作了阐释。随着检测技术和治疗手段的发展,特别是免疫治疗的发展,红细胞血型抗体鉴定将面临新的、更大的挑战,我们会据此不断总结,根据循证医学证据制定相应的红细胞抗体鉴定指南,以适应红细胞血型抗体鉴定临床标准化、规范化实践应用的需求。

本共识署名单位排名不分先后,并列第一  
本共识专家委员会成员

(并列第一作者,按汉语姓氏拼音排序):

白连军(北京协和医院) 蔡鹏<sup>#</sup>(中国医学科学院肿瘤医院) 甘佳<sup>#</sup>(北京协和医院) 宫济武<sup>△</sup>(北京医院) 李代红(天津市第一中心医院) 李淑萍(首都医科大学附属北京同仁医院) 李喜莹<sup>#</sup>(中国医学科学院肿瘤医院) 李志强(上海交通大学医学院附属第六人民医院) 刘燕明(北京医院) 马娜(云南省肿瘤医院) 苗天红(北京市红十字血液中心) 秦莉(四川大学华西医院) 孙巍(北京大学肿瘤医院) 汪德清(解放军总医院第一医学中心) 王鹏<sup>#</sup>(北京大学第一医院) 王秋实(中国医科大学附属盛京医院) 魏晴(华中科技大学同济医学院附属同济医院) 赵国华(中国医学科学院肿瘤医院) 赵学涛(河北医科大学第四医院)

<sup>#</sup> 执笔人:李喜莹 蔡鹏 甘佳 王鹏;

<sup>△</sup> 通信作者:宫济武(1965.12-),男,主任技师,主要从事输血管理、免疫血液学、临床用血等研究,电话:010-65289292, Email:

13910066259@139.com

参考文献

[1] Lay SE, Debra JB. Identification of antibodies to red cell antigens//Cohn CS, Delaney M, Johnson ST, et al. Technical manual, 20th ed. Bethesda: AABB Press, 2020;389-428.  
[2] Grandstaff-Moulds M. Antibody identification. Transfus and Apher Sci, 2009, 40(3): 195-197.  
[3] 李喜莹,甘佳,王鹏. 输血相容性检测室内质量控制的失控判定与处理专家共识. 中国输血杂志, 2020, 33(1): 8-10.  
[4] 赵国华,赵维齐. BCSH 输血相容性检测程序指南. 中国输血杂志, 2013, 26(11): 1161-1172.  
[5] Milkins C, Berryman J, Cantwell C, et al. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. Transfus Med, 2013, 23(1): 3-35.  
[6] 郭淦平,吴树杰,温妙珍,等. 国内常用抗体筛选试剂红细胞抗原谱分析. 中国输血杂志, 2020, 33(8): 761-764.  
[7] Roman L, Armstrong B, Smart E. Principles of laboratory techniques. ISBT Science Series, 2020, 15(S1): 81-111.  
[8] Chapuy CI, Nicholson RT, Aguad MD, et al. Resolving the daratumumab interference with blood compatibility testing. Transfusion, 2015, 55(6 Pt 2): 1545-1554.  
[9] Brierley CK, Staves J, Roberts C, et al. The effects of monoclonal anti-CD47 on RBCs, compatibility testing, and transfusion requirements in refractory acute myeloid leukemia. Transfusion, 2019, 59(15): 2248-2254.  
[10] Jones AD, Moayeri M, Nambiar A. Impact of new myeloma agents on the transfusion laboratory. Pathology, 2021, 53(3): 427-437.  
[11] Toy P, Chin CA, Reid ME, et al. Factors associated with positive direct antiglobulin tests in pretransfusion patients: a case-control study. Vox Sang, 2010, 49(3): 215-220.  
[12] Judd WJ, Butch SH, Oberman HA, et al. The evaluation of a positive direct antiglobulin test in pretransfusion testing. Transfus Med, 2010, 20(1): 17-23.  
[13] 冯晨晨,陈青. 基因检测技术在红细胞血型鉴定中的应用及进展. 中国输血杂志, 33(12): 1231-1234.  
[14] Harris RE, Hochman HG. Revised P values in testing blood group antibodies. Fisher's exact test revisited. Transfusion, 1986, 26(6): 494-499.

(2021-06-29 收稿,10-17 修回)

本文编辑:蔡辉

欢迎赐稿 欢迎订阅

《中国输血杂志》邮发代号:62-186