

• 经验交流 •

RhD 阴性献血者血清学表型分型及抗体筛选调查分析

王照军, 李丹慧, 曹红荣, 赵艳梅

(徐州市红十字血液中心质量管理科, 江苏徐州 221006)

摘要:目的 调查 RhD 阴性献血者的血清学表型分型及抗体筛选结果。方法 统计 2012 年 1~12 月徐州地区无偿献血者标本 85 894 例, 用血清学方法确认 RhD 阴性及表型, 使用间接抗球蛋白试验(IAT)进行不规则抗体的筛选。结果 共确认 RhD 阴性 468 例(0.54%), 检出不规则抗体 11 例(2.35%, 11/468), 以 IgG 型抗-D 多见, 效价为 1:2~1:64 不等; RhD 阴性表型包括 dccee(61.54%), dCcee(25.43%), dccEe(7.69%), dCcEe(2.78%), dCCee(2.35%), dCCEe(0.21%); 检出 RhD 变异型 28 例, 占检验科初筛 RhD 阴性(5.65%)。结论 开展 RhD 阴性献血者表型分型和不规则抗体筛选, 不仅可以有效避免溶血性输血反应和新生儿溶血病的发生, 而且对 RhD 阴性患者临床紧急抢救输血治疗提供有力保障, 同时血站还应加强对献血者 RhD 变异型检测, 以保证血液输注安全有效。

关键词: RhD 阴性; 表型; 抗体筛选; D 变异型

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.050

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2014)11-1487-02

Rh 血型系统是人类最具多态性的血型系统之一, 其临床意义仅次于 ABO 血型系统, 可引起溶血性输血反应和新生儿溶血病等^[1], 目前已发现 Rh 系统有 50 多个抗原, 其中与临床意义密切相关的抗原主要有 D、C、c、E、e, 为进一步了解本地区无偿献血者 Rh 血型分布规律, 完善稀有血型献血者档案库, 以满足临床需求, 保障输血安全, 本站血型室对初筛 RhD 阴性献血者标本通过间接抗球蛋白试验(IAT)进行阴性确认、不规则抗体筛选, 采用盐水试管法进行表型分型, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1~12 月在本市无偿献血者标本, 共计 85 894 例。

1.2 仪器与试剂 日本久保田 KA-2200 血型血清学专用离心机, 汉泰 HEMOTYPE 40MRP 4tips 全自动血型分析仪, 37℃ 电热恒温水浴箱。IgM 型抗-D(苏州苏大赛尔免疫生物技术有限公司), 3 种不同厂家确认试剂抗-D1(IgM/IgG)、抗-D2(IgM+IgG)、抗-D3(IgG), 分别来自 MILLIPORE(英国)、Dominion Biologicals Limited(加拿大)和上海血液生物医药公司, IgM 型抗-C、抗-c、抗-E 及抗-e, 抗-IgG+C3d(多抗)、O 型谱细胞、筛选细胞(I、II、III 型, 上海血液生物医药公司), 自制 IgG 致敏红细胞, 所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 本站检验科使用全自动血型仪对无偿献血者标本进行 RhD 血型初筛, 若为 RhD 阴性, 则送血型室使用不同厂家的 3 种 IgG 或 IgG+IgM 抗-D 试剂, 用经典 IAT 进行确认, 同时平行做 RhD 阳性对照, 未见凝集者判定为 RhD 阴性; 若出现凝集则判定为 RhD 变异型(弱 D 或部分 D)^[2], 并进一步采用 IAT 筛选不规则抗体。

1.3.2 采用盐水试管法对 RhD 阴性标本使用 IgM 型抗-C、抗-c、抗-E 及抗-e 进行表型分型, 同时平行做阴、阳对照。

2 结果

85 894 例献血者标本初筛 RhD 阴性 496 例, 进一步通过 IAT 确诊 468 例 RhD 阴性(0.54%), 其表型分布以 dccee(61.54%) 最多见, dCcee(25.43%) 次之, 其他表型分布相应较少, 依次为 dccEe(7.69%), dCcEe(2.78%), dCCee(2.35%), dCCEe(0.21%), 见表 1。检出 RhD 变异型 28 例(弱 D 或部分 D), 由于受试验条件所限未进一步进行 Del 型检测, 所检出 D 变异型占检验科初筛 RhD 阴性 5.65%(28/496), 表型分布以

ccEe(67.86%) 多见, 见表 2。抗体筛选共检出不规格抗体 11 例, 其中抗-D7 例、抗-D(合并抗-Le^a)1 例、抗-M 1 例、冷自身抗体 2 例, 抗-D 抗体效价分别从 1:2~1:64 不等, 见表 3。

表 1 468 例 RhD 阴性献血者表型分布情况

表型	A(n)	B(n)	O(n)	AB(n)	合计[n(%)]
dccee	84	84	91	29	288(61.54)
dCcee	35	35	39	10	119(25.43)
dccEe	13	8	11	4	36(7.69)
dCcEe	5	4	4	0	13(2.78)
dCCee	1	5	5	0	11(2.35)
dCCEe	0	0	1	0	1(0.21)
合计	138	136	151	43	468(100.00)

表 2 28 例 D 变异型(弱 D 或部分 D)表型分布

表型	A(n)	B(n)	O(n)	AB(n)	合计[n(%)]
ccEe	7	3	7	2	19(67.86)
Ccee	2	1	1	0	4(14.29)
Ccee	2	0	0	0	2(7.14)
ccEE	1	0	0	0	1(3.57)
CCee	0	0	0	1	1(3.57)
CcEe	1	0	0	0	1(3.57)
合计	13	4	8	3	28(100.00)

表 3 11 例不规则抗体分布情况

序号	ABO 血型	Rh 表型	抗体性质	效价
1	A	dccEe	抗-D(合并抗-Le ^a)	1:32(4℃ 为 1:2; RT 为 1:1; 37℃ 为 1:1)
2	A	dccee	未确定特异性	/
3	B	dCcee	未确定特异性	/
4	B	dccee	抗-D	1:64
5	B	dccee	抗-D	1:64
6	O	dccee	抗-D	1:2

续表 3 11 例不规则抗体分布情况

序号	ABO 血型	Rh 表型	抗体性质	效价
7	O	dcece	抗-D	1:2
8	O	dccEe	抗-D	1:32
9	O	dcece	抗-M	4℃为 1:32; RT 为 1:2; 37℃为 1:1
10	AB	dcece	抗-D	1:64
11	AB	dccEe	抗-D	1:8

/: 未检出。

3 讨论

人类 Rh 血型系统是最复杂的红细胞血型系统, 发现于 1939 年^[3], 其血型基因位于 1 号染色体短臂 1p34.3~1p36.1 之间, 包括 2 个紧密连锁高度同源的 *RhD* 和 *RhCE* 基因, 各由 10 个外显子组成。*RhD* 基因编码 RhD 多肽, *RhCE* 基因编码 RhCE 多肽^[4], Rh 系统的 5 种主要抗原中, D 抗原具有很强的免疫原性, 其他抗原免疫原性由强到弱依次为 D>E>c>C>e。RhD 抗原表型除正常 D 阳性和 D 阴性表型外, 还存在多种 D 变异型, 主要包括弱 D (weak D)、部分 D (partial D) 和 Del 型^[5-6], D 变异型均能引起免疫应答, 导致同种抗-D 的产生, 为保证临床输血安全, 其作为供血者应视为 RhD 阳性对待, 若作为受血者应以 RhD 阴性血液输注。

本研究对 85 894 例无偿献血者标本通过 IAT 共确认 RhD 阴性 468 例 (0.54%), 符合国内汉族人群 RhD 分布比例^[3], RhD 阴性表型分型以 dcece (61.54%) 最多见, 其次为 dCcee (25.43%), 其他依次为 dccEe (7.69%) > dCcEe (2.78%) > dCCee (2.35%) > dCCEe (0.21%), 因此对于长期需要输血治疗的 RhD 阴性患者, 在初次输血时不仅要给予 RhD 相配合的血液, 还应尽量做到 Rh 系统表型匹配, 以避免多次输血产生同种抗体。

496 例初筛 RhD 阴性献血者中, 共检出 RhD 变异型 28 例 (弱 D 或部分 D), 由于受试验条件所限未进一步进行 Del 型检测, 所检出 D 变异型占检验科初筛 RhD 阴性的 5.65% (28/496), 表型分布以 ccEe (67.86%) 多见 (表 2)。在检测 D 变异型时, 发现 2 例献血者标本由于各种因素导致自身抗体致敏自身红细胞, 出现直接抗球蛋白试验 (DAT) 阳性, 进而干扰 RhD 血型的 IAT 结果, 故笔者参照文献^[7]的方法, 通过使用木瓜酶处理直接抗体阳性红细胞, 使红细胞上结合的 IgG 抗体脱落下来, 以获得 DAT 阴性的红细胞, 再利用 IAT 进行 RhD 抗原鉴定, 最终得到均为 RhD 阴性的准确结果。

Del 型又称吸收放散型, 据调查中国汉族人群 RhD 阴性个体中有 20%~30% 为 Del 型, 目前国内血站进行的 RhD 阴性血清学鉴定试验中, 并不包括吸收放散试验, Del 型个体均作为 RhD 阴性供血者^[1], 但由于 Del 型带有较弱的 D 抗原, 仍可能免疫 RhD 阴性受血者, 故输血时仍存在一定风险^[2]。已有文献报道证实, RhD 阴性患者输 Del 血液后产生了抗-D 或体内抗-D 效价升高, 引起输血反应^[8]。另有文献^[2,9-13]报道, 使用吸收放散试验同时结合分子生物学方法对 RhD 血型进行更为确切的型别分类, 以便准确检出 Del 型, 尽可能使 RhD 阴性受血者输到名副其实的阴性血液, 以确保输血安全有效^[14-16]。

本研究通过 IAT 对 RhD 阴性献血者进行抗体筛选, 共检出不规则抗体 11 例, 其中单独出现抗-D 7 例、抗-M 1 例、抗-D (合并抗-Le^a) 1 例, 另 2 例由于受谱细胞反应格局限制, 未能确

定其特异性。对于产生抗-Le^a 及抗-M 抗体的献血者进一步作相对应的红细胞血型检测, 分别证实其为 Le(a-b+) 型和 “NN” 型, 此乃佐证抗体的产生为外来抗原刺激所形成, 同时对产生抗体的献血者做追踪调查, 发现他们均有输血或妊娠史, 这与前述相互印证。对于检出不规则抗体的 RhD 阴性血液, 本站处理原则为血浆作报废处理, 红细胞制作冰冻解冻红细胞供应临床^[17], 而抗体筛选试验阴性的血浆, 在临床上无论供应于 RhD 阳性或 RhD 阴性受血者, 相合性输注均是安全的。

参考文献

- [1] 马宏伟, 别立莉, 陈赞, 等. 河南省献血者 Rh 阴性表型调查分析 [J]. 中国输血杂志, 2009, 22(10): 831-833.
- [2] 洪纓, 陈强, 王乃红, 等. 成都地区献血人群 RhD 阴性个体遗传学背景研究 [J]. 中国输血杂志, 2010, 23(4): 280-284.
- [3] 马惠兰, 李芳. 晋中市 Rh 阴性献血者血清学表型和不规则抗体调查 [J]. 临床医药实践, 2009, 18(11): 848.
- [4] 周华友, 兰炯采. 人类 Rh 血型系统研究进展 [J]. 中国输血杂志, 2004, 17(3): 211-214.
- [5] 于晓丽, 焦立新. 1 例 Rh 弱 D15 型基因型分析 [J]. 临床输血与检验, 2013, 15(2): 179-180.
- [6] 张月华, 郑春兰, 延义芹, 等. RhD(-) 献血者中 Del 型个体调查及追踪分析 [J]. 中国输血杂志, 2010, 23(4): 303-304.
- [7] 黄海涛. 直抗阳性患者 Rh 血型 D 抗原的鉴定 [J]. 中国输血杂志, 2013, 26(2): 166-167.
- [8] 张趁利, 庞桂芝, 娄白敏, 等. 新乡地区无偿献血者 Rh 血型分布规律与临床应用 [J]. 临床血液学杂志: 输血与检验, 2013, 26(3): 408-410.
- [9] 王娇, 刘巍, 李一丁, 等. 贵阳市无偿献血人群 RhD 变异体的基因型分析 [J]. 中国输血杂志, 2012, 25(2): 146-148.
- [10] 李宏, 宋宁, 邓永福, 等. 四川部分地区汉族献血者 RhD 阴性个体 RHD 基因多态性研究 [J]. 中国输血杂志, 2012, 25(2): 130-132.
- [11] Körmöczí GF, Förstemann E, Gabriel C, et al. Novel weak D types 31 and 32: adsorption-elution-supported D antigen analysis and comparison to prevalent weak D types [J]. Transfusion, 2005, 45(10): 1574-1580.
- [12] Lee YL, Chiou HL, Hu SN, et al. Analysis of RHD genes in Taiwanese RhD-negative donors by the multiplex PCR method [J]. J Clin Lab Anal, 2003, 17(3): 80-84.
- [13] Bombard AT, Akolekar R, Farkas DH, et al. Fetal RHD genotype detection from circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma in non-sensitized RhD negative women [J]. Prenat Diagn, 2011, 31(8): 802-808.
- [14] 段福才, 曹燕飞, 李建华, 等. Rh 弱 D 和 Del 及不规则抗体的检测及意义探讨 [J]. 临床血液学杂志: 输血与检验版, 2013, 26(3): 420-421.
- [15] Credidio DC, Pellegrino Jr J, Castilho L. Serologic and molecular characterization of D variants in Brazilians: impact for typing and transfusion strategy [J]. Immunohematology, 2011, 27(1): 6-11.
- [16] Beckers EAM, Dinkelaar RB, te Boekhorst PAW, et al. Reporting transfusion incidents: two-year experiences of haemovigilance in the Southwest region of the Netherlands [J]. Blood Transfus, 2003, 4: 379-387.
- [17] 王照军, 曹红荣, 赵艳梅. 献血者试管标本血型不符原因分析及处置措施 [J]. 淮海医药, 2012, 30(2): 149-150.