

· 论 著 ·

血液抗-D 抗体检测在 RhD 阴性患者输注 RhD 阳性同型红细胞中的效果分析

何安聪

(四川省自贡市第四人民医院 643000)

摘要:目的 研究 RhD 阴性患者输注与其血型相同的 RhD 阳性红细胞血液后,患者抗-D 抗体的水平。方法 收集该院 2010 年 1 月至 2016 年 1 月输注 RhD 阳性同型红细胞的 20 例 RhD 阴性患者的临床资料,分析其在输血前及输血后 10、20、30、60、90 d 的抗-D 抗体水平及 RhD 阳性患者的效价。结果 输注 RhD 阳性同型红细胞血液的 20 例 RhD 阴性患者,在输血后 90 d 内有 6 例患者表现为 RhD 阳性,其中男性 RhD 阳性率为 25.0%(3/12)、女性 RhD 阳性率为 37.5%(3/8)。3 例 RhD 阳性的女性患者抗-D 抗体效价分别为 35、278、508。结论 RhD 阴性患者输注 RhD 阳性同型红细胞血液,可刺激机体免疫机制,产生红细胞表面抗-D 抗体,且部分 RhD 阴性患者的红细胞表型会发生改变。

关键词: RhD 血型; 抗-D 抗体; 免疫机制

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.10.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)10-1358-03

Analysis on effect of blood anti-D antibody detection in infusing RhD positive homotype RBC for patients with RhD negative HE Ancong

(Zigong Municipal Fourth People's Hospital, Zigong, Sichuan 643000, China)

Abstract: Objective To investigate the anti-D antibody level after infusing homotype RhD positive RBC in the patient with RhD negative. **Methods** The clinical data in 20 cases of RhD negative infusing homotype RhD positive RBC in our hospital from January 2010 to January 2016 were collected. The anti-D antibody levels before blood infusion and on 10, 20, 30, 90 d after blood infusion and the titers in the patients with RhD positive were analyzed. **Results** Among 20 cases of RhD negative infusing RhD positive homotype RBC blood, 6 cases were RhD positive within 90 d after blood infusion, in which the RhD positive rates were 25%(3/12) in male and 37.5%(3/8) in female. The anti-D antibody titers in 3 cases of RhD positive were 35, 278 and 508 respectively. **Conclusion** Infusing RhD positive RBC blood in the patients with RhD negative can stimulate the immune mechanism, generates the anti-D antibody at RBC surface. Moreover the RBC phenotype in partial patients with RhD negative may change.

Key words: RhD negative; anti-D test; immune mechanism

Rh 血型系统是红细胞血型中最为复杂的血型系统,人体血液红细胞表面有 D 抗原凝集,则为 RhD 阳性,反之为 RhD 阴性^[1]。RhD 阴性的分布因地域种族差距,而存在较大差异,欧洲白种人红细胞 RhD 阴性比例约 15%,中国人群中红细胞 RhD 阴性比例仅在 3%~4%^[2]。Rh 血型的发现,对输血工作的提高和新生儿溶血病的预防提供了重要价值,针对性进行血型分析,可进一步维护母婴健康,减少输血风险。但因中国人群绝大多数为 RhD 阳性,且 Rh 血型系统通常无天然抗体,因此,第 1 次输血时,并不会发现 Rh 血型不符^[3]。而临床上判断红细胞 RhD 阴性或 RhD 阳性的依据,主要通过检测红细胞表面是否有 D 抗原存在,故而,本院选取部分输注 RhD 阳性血液并进行了抗-D 抗体水平检测的 RhD 阴性患者进行相关研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从本院 2010 年 1 月至 2016 年 1 月就诊的患者中,收集 20 例输注 RhD 阳性同型红细胞血液的 RhD 阴性患者资料,其中 12 例男性,8 例女性,年龄 23~48 岁,平均年龄(33.8±6.4)岁,13 例外伤性出血输血,7 例产后大出血输血。纳入标准:患者输血前均无明显溶血、乳糜血;无输血禁忌证和血液传播疾病;患者均为中国汉族成人;输血前均确诊为

RhD 阴性血型,均是第 1 次输注 RhD 阳性同型红细胞血液;非 RhD 阴性妊娠者;输血前,详细了解输血安全事宜,已签署知情同意书。排除标准:有明显凝血功能障碍或溶血性疾病、血液传播疾病;为维吾尔族、哈萨克族等少数民族或非中国汉族成人;存在 RhD 阳性同型红细胞血液输注史,且输血后并未进行抗-D 抗体检测分析,不能确定是否存在红细胞表面抗-D 抗体者;为 RhD 阴性妊娠者,不能输注 RhD 阳性同型红细胞血液者。

1.2 方法 20 例患者均采集 5 mL 血作为标本,按以下方式进行抗-D 抗体水平检测。

1.2.1 蛋白水解酶法 在 100 mL pH5.5 磷酸盐缓冲液中加入 1 g 胰蛋白酶,振荡混匀后放入 37 °C 水浴箱中 30 min,再取出离心沉淀,取上层清液,即得到 1%胰蛋白酶液,将其放于 4 °C 冰箱保存待用;除了采集后发生溶血的红细胞外,所有检测者的红细胞和对照红细胞均用生理盐水洗涤 1 次,然后配制为 5%红细胞悬液;将 15 支小试管分为 3 排,每排试管从左到右依次标记为 C、c、D、E、e;第 1 排试管从左到右依次添加抗 C 血清、抗 c 血清、抗-D 血清、抗 E 血清、抗 e 血清各 1 滴,其余 2 排试管相同;第 1 排 5 支均试管加检测者红细胞悬液各 1 滴,第 2 排 5 支试管均加阳性对照红细胞,第 3 排 5 支试管均加阴性对

照红细胞;15 支试管均加入 1%胰蛋白酶液 1 滴,摇匀后放入 37℃水浴箱中 1 h 后观察结果。结果判定:阳性对照管凝集,阴性对照管不凝集。第 1 排的 5 支试管中有任意 1 支出现凝集,表示 RhD 阳性;5 支试管均无凝集出现,则表示为 RhD 阴性。对于抗 RhD 阴性者,为避免遗漏表面抗原弱 D 型,应进一步做间接抗人球蛋白试验。

1.2.2 间接抗人球蛋白试验 将 3 种不同批号的单克隆 IgG 抗-D 血清 2 滴、检测者 5%红细胞悬液 1 滴加入 3 支试管,振荡后放入 37℃浴箱中 30 min,再取出 1 300×g 离心 15 s。充分悬浮细胞,用生理盐水将其洗涤细胞 3 次,第 3 次洗涤后去除上层清液,再用无菌滤吸净管口周边残余的生理盐水。3 支试管都加抗 IgG、C3d 球蛋白试剂 2 滴,充分摇匀后以 120×g 离心 1 min,轻轻悬浮细胞,观察记录结果。结果判定:3 支试管中任何 1 支出现凝集情况,都属于表面抗原弱 D 型;3 支试管均无凝集情况,则确定为 RhD 阴性。

1.3 评价方法 对 20 例患者进行抗-D 抗体检测,分析其输血前和输血后 10、20、30、60、90 d 的 RhD 血型阳性和阴性变化情况;根据抗-D 抗体检测结果,筛选其中 RhD 阳性患者进行抗体效价测定。

2 结 果

2.1 输血前后 RhD 血型变化 从表 1 数据可知,输注 RhD 阳性同型红细胞血液的 20 例 RhD 阴性患者,在输血后 30 d 时有 3 例患者(男性 1 例,女性 2 例)表现为 RhD 阳性;在输血后 60 d 有 5 例患者表现为 RhD 阳性;在输血后 90 d,有 6 例患者表现为 RhD 阳性;总体男性 RhD 阳性率为 25.0%(3/12)、女性 RhD 阳性率为 37.5%(3/8)。

表 1 20 例患者输血前和输血后各个时间段 RhD 血型变化情况(n)

性别	n	输血前		10 d		20 d		30 d		60 d		90 d	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
男	12	0	12	1	11	0	11	0	11	1	10	1	9
女	8	0	8	1	7	1	6	0	6	1	5	0	5

注:10、20、30、60、90 d 分别表示输血后 10、20、30、60、90 d。

2.2 抗-D 抗体效价测定 在输血后 90 d,从 6 例 RhD 阳性患者中,选择 3 例女性患者,依次标号为 1 号、2 号、3 号,进行效价测定,结果见表 2,其妊娠次数与效价呈正相关。

表 2 3 例 RhD 阳性女患者抗-D 抗体效价

患者编号	抗体特异性	效价	生育史	输血史
1 号	抗-D 抗体	35	G1P1	无
2 号	抗-D 抗体	278	G1P3	有
3 号	抗-D 抗体	508	G1P5	有

注:G 表示生产次数,P 表示妊娠次数。

3 讨 论

Rh 阴性基因是隐性基因,当父母双方都携带 Rh 阴性基因,并且同时遗传给子代,子女才会表现出 Rh 阴性,若父方或母方为 Rh 阳性,或二者皆为 Rh 阴性携带者,但并没有同时遗传给子女,子代血型为 Rh 阳性的几率就会升高^[4]。因此,Rh 阴性在人群中的分布相对稀少,在我国,汉族 Rh 阴性率约为 0.34%,生活在新疆地区的维吾尔族、哈萨克族等少数民族 Rh

阴性率约 5%,且 Rh 抗体一般是通过妊娠或输血获得,故而 Rh 血型不符所引起输血反应相对其他血型较少^[5]。但对于已经接受 RhD 阳性血液输注的 RhD 阴性患者来说,极有可能因为输血而获取 Rh 抗体,所以对于接受了 RhD 阳性同型红细胞血液的 RhD 阴性患者来说,再次输注血液时,需进行抗-D 抗体检测,RhD 阴性只能输入 RhD 阴性红细胞血液,RhD 阳性只能输入 RhD 阳性红细胞血液,以避免发生溶血反应。此外,妊娠也能获得抗-D 抗体,其原因在于当 RhD 阴性母亲受孕后,所怀胎儿为 RhD 阳性时,胎儿红细胞会通过胎盘进入母体,刺激母体红细胞产生 Rh 抗体,抗体产生后会再通过胎盘返回胎儿体内,加大胎儿宫内溶血或新生儿溶血病的发生概率。

血型系统与输血安全密切相关,各个血型系统中,以 ABO 系统抗原最强,其次是 RhD 系统抗原,C、c、D、E、e 是 Rh 血型系统 48 个抗原中最重要的 5 个抗原,3 对等位基因 Cc、Dd、Ee 控制着 6 个抗原,其中抗-d 血清还未发现以单一的形态出现,故而目前认为 d 是“静止基因”、D 的抗原性最强^[6]。根据红细胞表面抗原的表达,Rh 血型系统分为阴性和阳性,抗原性强的 D 型抗原容易用一般方式检出,但一部分表面抗原弱 D 型 Rh 血型,常会因临床操作不当或受外界因素影响而被误诊为 Rh 阴性血型,这不仅极大地影响了 Rh 血型患者的生命安全,也给临床输血工作和血型系统研究带来巨大风险与困扰。因此,对于 RhD 阴性患者进行进一步的弱 D 抗原检测,有利于这类患者的输血安全及临床治疗。虽然国内外关于表面抗原弱 D 型的科研报道并不多,但在中国汉族 RhD 阴性血型分布中,表面抗原弱 D 型约占 30%^[7];而在欧洲地区,表面抗原弱 D 型在 RhD 阴性人群中的比例更高,由此可见,各个地域和种族的红细胞表面抗原表型具有较大差异性。考虑这是因为每个地区及人种的表型基因不同造成的^[8]。故而在临床交叉配血时若发现不凝集现象,也不可就此判断患者血型为 RhD 阴性,尤其对于输血前已经确诊血型为 RhD 阴性患者,因不能排除输注 RhD 阳性血之后其抗原表面是否存在 D 抗体,更需要连续追踪监测其红细胞表面抗原抗体变化。本文研究中,20 例 RhD 阴性患者在输注 RhD 阳性同型红细胞血液后 10~90 d,有 6 例患者先后在不同时期发生了红细胞表面抗原变化,由原先的表面 D 抗原阴性转为 D 抗原阳性;14 例患者仍然表现为红细胞表面抗原阴性。这说明若 RhD 阴性者输注了 RhD 阳性血,除了会在输血后获得后天抗体,也会引起红 Rh 血型患者表型抗原改变。

但 RhD 阴性红细胞血液在人群中分布较少,血库存量有限,所以在 RhD 阴性患者的临床急诊输血工作中,首次输血可不用等待 RhD 抗原阴性同型红细胞血液,可以选择 RhD 阳性同型红细胞血液进行输注,以便及时挽救患者生命^[9]。但 RhD 阴性患者初次输入 RhD 阳性血液,免疫机制产生抗体后,再次被相应的抗原刺激,就会因为记忆性免疫应答反应作用,使得抗体效价在 2~3 周达到最高峰^[10]。所以对于有生产史或妊娠史的 RhD 阴性女性患者,急诊情况下输注 RhD 抗原阴性同型红细胞血液时,需在短期内输入足够的红细胞血液,避免后期因记忆性免疫性抗体产生,引起溶血性输血反应发生。本文结果中,对 16 例已经获得抗-D 抗体的 RhD 阴性患者而言,在今后的临床急救治疗中,输注红细胞血(下转第 1362 页)

果可能出现假阴性。另外,间接免疫荧光分析法主要用于呼吸道感染病毒感染的定性分析,只能确定有无病毒感染,而无法对病毒感染量进行检测。最后,由于本院开展呼吸道病原微生物谱检测项目时间较短,临床对本项目认识度不高,导致本研究可收集到的病例数较少。近年来,多重实时荧光 PCR 已经应用于临床实验室诊断^[15],基因芯片技术、基因测序技术越来越成为检测呼吸道病毒的科学发展的新方向^[16],虽然这些新技术的病毒检出率要大大高于传统方法,但是仪器操作复杂、价格昂贵,要想真正应用于临床诊断工作中还需要一定时间。

参考文献

- [1] Welliver RC. Detection, pathogenesis, and therapy of respiratory syncytial virus infections [J]. Clin Microbiol Rev, 1988, 1(1): 27-39.
- [2] Assaad F, Cockburn WC. A seven-year study of WHO virus laboratory reports on respiratory viruses [J]. Bull World Health Organ, 1974, 51(5): 437-445.
- [3] Hara M, Takao S, Shimazu Y, et al. Three-year study of viral etiology and features of febrile respiratory tract infections in Japanese pediatric outpatients [J]. Pediatr Infect Dis J, 2014, 33(7): 687-692.
- [4] 蓝雨,王大燕,马学军,等. 呼吸道病毒实验室诊断的现状和进展 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(1): 6-8.
- [5] 叶星辰,杨海鸥,王静. 呼吸道病毒实验室检测技术的研究进展 [J]. 检验医学, 2015, 30(8): 861-864.
- [6] 王丹,杨静,王波. 大足地区儿童呼吸道感染病原学分析 [J]. 检验医学与临床, 2015, 12(10): 1364-1366.
- [7] 李凡,徐志凯. 医学微生物学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2013: 239-249.

- [8] 荆红波,张爽,王鹏,等. 九种呼吸道病毒在北京市顺义地区人群中流行特征分析 [J]. 国际病毒学杂志, 2015, 22(4): 240-243.
- [9] 黄江浩,陈宝娜,徐志康,等. 1 499 例深圳市急性呼吸道感染者呼吸道病毒抗原监测分析 [J]. 实用预防医学, 2014, 21(12): 1470-1472.
- [10] 刘琳琳,方斌,李翔,等. 2013 年武汉市呼吸道感染病原谱分析研究 [J]. 中国社会医学杂志, 2015, 32(5): 403-405.
- [11] 王波,蒋莉,董琼,等. 四川省南充市急性上呼吸道感染病原微生物分布特征 [J]. 国际病毒学杂志, 2015, 22(6): 414-416.
- [12] 邓瑛,孙玉兰,石伟先. 北京地区 2010 年 10 月至 2011 年 5 月急性呼吸道感染病毒临床特征分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(10): 2460-2463.
- [13] 赵勤英,徐德顺,金文君. 110 例儿童急性呼吸道感染病毒病原学调查 [J]. 浙江预防医学, 2011, 23(6): 76-78.
- [14] 宋秦伟,朱汝南,邓洁,等. 血清特异性抗体检测在儿童呼吸道感染病原诊断中应用的探讨 [J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(6): 440-444.
- [15] Sultani M, Azad TM, Eshragian M, et al. Multiplex SYBR green real-time PCR assay for detection of respiratory viruses [J]. Jundishapur J Microbiol, 2015, 8(8): e19041.
- [16] Prachayangprecha S, Schapendonk CM, Koopmans M, et al. Exploring the potential of next-generation sequencing in detection of respiratory viruses [J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(10): 3722-3730.

(收稿日期:2016-12-30 修回日期:2017-02-28)

(上接第 1359 页)

液就只能选择 RhD 阴性同型红细胞血液;而对于 3 例红细胞表型抗原已经变化的女性患者,在今后的临床治疗中就需要输注 RhD 阳性血。此外,2 号患者和 3 号患者的效价均显著高于 1 号患者,且妊娠次数与生产次数不呈正比,这提示 2 号患者和 3 号患者既往妊娠史中,可能发生胎儿宫内溶血,影响了其孕育质量。基于上述理论,在 RhD 阴性女性患者的紧急输血治疗后,应进行抗-D 抗体检测,尤其是在 RhD 阴性患者输注 RhD 阳性同型红细胞血液后,更应考虑输血后的长期影响,避免患者在后续的治疗中出现溶血反应,引起不必要的输血医疗纠纷。除此之外,医院还需建立完善的临床输血制度,严格管理输血流程,标准化 RhD 血型患者的红细胞表面 D 抗原检测方式,提高抗-D 抗体检测准确度,并且详细告知患者及家属紧急输血治疗和后续治疗的区别,与患者或监护人签署“稀有血型输血治疗告知同意书”,使输血治疗得以顺利进行。

参考文献

- [1] 吴昌松. RhD 阴性患者输注 RhD 阳性同型红细胞血液抗-D 检测及其效价测定 [J]. 中国输血杂志, 2015, 28(9): 1112-1114.
- [2] 王宝燕,张建耕,徐华,等. Rh 阴性个体输入 Del 红细胞产生抗-D 免疫的研究 [J]. 中国输血杂志, 2011, 24(7):

592-594.

- [3] 李翠莹,黄菲,徐弘,等. 1 例 RhD 阳性变异型的鉴定及血清中检出抗-D 的分析 [J]. 中国输血杂志, 2013, 26(9): 871-872.
- [4] 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.
- [5] 王同显,冯智慧. 血清学弱 D 表型患者 RHD 基因分型的必要性 [J]. 中国输血杂志, 2015, 28(11): 1297-1299.
- [6] 张建军,刘忠,姚余有. 20 例输注 Del 型红细胞的 RhD 阴性受者的回顾性分析 [J]. 临床输血与检验, 2011, 13(3): 214-217.
- [7] 汪根树,李华,张剑,等. RhD 阴性患者接受 RhD 阳性供肝移植 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2011, 17(11): 905-908.
- [8] 迟晓云,杜占慧,李长纓. Rh(D) 阴性患者血液制品输注问题的探讨 [J]. 疑难病杂志, 2011, 10(12): 958-959.
- [9] 李文平. Rh(D) 阴性冰冻解冻去甘油红细胞的常规制备与临床应用 [J]. 重庆医学, 2016, 45(21): 2996-2998.
- [10] 李彤彤,刘晗,董峥. 抗-D 免疫球蛋白与 Rh 新生儿溶血病 2 例 [J]. 临床输血与检验, 2012, 14(4): 355-356.

(收稿日期:2017-01-03 修回日期:2017-02-28)