

• 临床检验研究论著 •

RhD 阴性献血者 RhD 弱抗原变异体的发生频率

宋任浩,何路军,常 缨
(河北省血液中心,河北石家庄 050071)

摘要:目的 了解 RhD 阴性献血者 RhD 弱抗原变异体的发生频率,为提高输血安全性提供理论依据。方法 首先采用盐水试管法对初筛为 RhD 阴性的血样进行 RhD 表型鉴定;然后采用间接抗球蛋白试验筛查 Partial D 和 Weak D,最后用吸收放散试验从间接抗球蛋白试验确认阴性的血样中筛选并确认 DEL 型。结果 RhD 阴性献血者中最多的 Rh 表型为 dccee,其次为 dCcee,分别为 57.34%(207/361)和 32.13%(116/361)。共筛查出 Partial D 和 Weak D 19 例,总检出率为 5.26%(19/361),其中 dccEe 8 例(2.22%)、dCcee 5 例(1.39%)、dCCee 4 例(1.11%)、dccee 和 dCcEe 各 1 例(0.28%)。共确认 DEL 型 87 例,总检出率为 24.10%(87/361),其中 dCcee 72 例(19.94%)、dCCee 8 例(2.22%)和 dccEe 7 例(1.94%)。结论 RhD 阴性献血者 RhD 弱抗原变异体发生频率较高。常规血清学检测 Rh 阴性的供血者,应进一步排除 RhD 弱抗原变异体,以保障临床输血安全。

关键词:献血者; Rh-Hr 血型系统; 输血

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)19-2534-02

Frequency of RhD weak antigen variant in RhD negative blood donors

Song Renhao, He Lujun, Chang Ying

(Hebei Blood Center, Shijiazhuang, Hebei 050071, China)

Abstract:Objective To understand the frequency of RhD weak antigen variant in RhD negative blood donors, as to provide theoretical basis for improve transfusion safety. **Methods** First, salt water test tube method was used for screening for RhD negative blood phenotype identification; then indirect antiglobulin test (IAT) screening Partial D and Weak D; the DEL was confirmed with adsorption and elution finally. **Results** The most Rh phenotype was the dccee in RhD negative blood donors, followed by dCcee, 57.34%(207/361) and 32.13%(116/361), respectively. 19 cases of Partial D and Weak D were screening out, the overall detection rate was 5.26%(19/361), including the dccEe 8 cases (2.22%), 5 cases (1.39%), dccEe 4 cases (1.11%), dccEe and dCcEe each in 1 case(0.28%). 87 cases of DEL type were confirmed with total detection rate of 24.10%(87/361), including the dCcee 72 cases (19.94%), 8 cases (2.22%) and dCcee 7 cases (1.94%). **Conclusion** Frequency of RhD weak antigen variant in RhD negative blood donors was higher. It would be of important value that further research and clarify the nature of RhD weak antigen variants.

Key words: blood donors; Rh-Hr blood-group system; blood transfusion

人类红细胞 Rh 血型是红细胞血型系统中最复杂的一个,因 Rh 血型抗原具有很强的免疫原性,在临床输血与产科学中占有重要地位,是近年免疫血液学领域中的重点研究课题之一。自 20 世纪 40 年代发现以来,先后共发现了几十种 Rh 血型抗原,具有临床价值的主要抗原为 D、C、c、E 和 e 5 种,其中以 D 抗原的免疫原性最强,临床意义也更为重要。D 抗原是导致产生 Rh 抗体、溶血性输血不良反应和新生儿溶血的主要红细胞抗原。根据红细胞表面 D 抗原的数量和质量, RhD 表型可分为 4 类:(1)常见表型;(2)罕见的 Rh 缺失型;(3)D-等表型;(4)RhD 弱抗原变异体:RhD 抗原数量和质量都有变化的变异体,可分为 Partial D、Weak D 和 DEL 3 类^[1]。携带 RhD 弱表达变异体的血液因只能用非常敏感的间接抗人球蛋白试验或吸收放散试验才可检测出来,常被误认为 RhD 阴性血源而输注给 RhD 阴性受血者,从而产生了免疫抗 D 抗体^[2]。本研究旨在了解本地区 RhD 弱表达变异体在 RhD 阴性献血者中的发生频率,以提高输血的安全性和有效性。

1 材料与方

1.1 研究对象 2012 年 1~12 月微板法初筛为 RhD 阴性的石家庄地区无偿献血者血液标本 361 例。

1.2 主要试剂和仪器 抗球蛋白试剂(上海输血技术有限公

司,批号:20100930);单克隆 IgM+IgG 型抗 D 混合试剂(加拿大 Dominion 公司生产,批号 NDMG06803,德国 Biotest 公司生产,批号 1120817,法国 DIAGAST 公司生产,批号:446000);单克隆 IgM 型抗 D、抗 C、抗 c、抗 E、抗 e(上海市血液中心,批号分别为:20100412、20100316、20100910、20090326)及单克隆 IgG 型抗 D(德国 Biotest 公司生产,批号 1260413)。CW-2 型血细胞洗涤机(美国 SORVALL);80-1 型离心沉淀器(上海手术机械厂);TL-4.7W 型血细胞洗涤离心机(上海市离心机械研究所);BHW2 型水浴箱(北京医疗设备厂);生物显微镜(上海物理光学仪器厂);QL-901 型漩涡振荡器(其林贝尔仪器制造公司);CW-2 型血细胞洗涤机(美国 SORVALL);KA-2200 小型台式离心机(日本久保田公司),BHW2 型水浴箱(北京医疗设备厂);涡旋振荡器(其林贝尔仪器公司)。

1.3 方法

1.3.1 对于初筛为 RhD 阴性的 356 份献血者血液标本采用盐水试管法进行表型鉴定,步骤如下:5% 标本红细胞悬液 50 μ L 加抗-D 试剂 100 μ L 混匀,400 g/min 离心 15 s,肉眼及镜下观察结果,凝集者为 RhD 阳性,不凝集者为阴性,同时做阴阳对照,阴性者再用抗-C、抗-c、抗-E 和抗-e 鉴定其表型。

1.3.2 Partial D 和 Weak D 筛查 采用间接抗球蛋白实验

(IAT):盐水试管法确认 RhD 阴性的 5%标本红细胞悬液 50 μ L 分别与 4 种不同来源和规格的抗-D 试剂 100 μ L 混匀,同时做阴阳对照。37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,生理盐水洗涤 3 次,加抗球蛋白试剂 50 μ L,混匀,400 $\times$ g 离心 15 s,肉眼和镜下观察结果,只要与 1 种抗-D 试剂有凝集反应,就判定为弱 D/部分 D,全部不凝集者为阴性。

1.3.3 DEL 的鉴定 IAT 筛查阴性的标本用吸收放散法进行 DEL 的鉴定,步骤如下:(1)取 IAT 筛查阴性的标本压积细胞 1 份加等量抗-D 血清(将几种抗-D 等量混合使用),混匀,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,生理盐水洗涤 4 次得压积红细胞;(2)然后取压积红细胞 1 份加等量生理盐水混匀,再加 2 份乙醚和氯仿

的混合物,剧烈震荡直到不再分层,400 $\times$ g 离心 5 min,小心吸出下层放散液,置 37 $^{\circ}$ C 10 min,排掉多余的乙醚,400 $\times$ g 离心 1 min,小心吸取上层放散液 100 μ L 加 3%O 型 RhD 阳性红细胞悬液 50 μ L 混匀,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,生理盐水洗涤 3 次,弃尽上清液,加抗球蛋白试剂 50 μ L,400 $\times$ g 离心 15 s,肉眼和镜下观察结果,凝集者确定为 DEL 型。

2 结 果

RhD 阴性献血者中最多的 Rh 表型为 dccee; Partial D 和 Weak D 在 dccEe 表型中发生频率最高,在 RhD 阴性献血者的总检出率为 5.4%;DEL 型在 dCcee 表型中发生频率最高,在 RhD 阴性献血者的总检出率为 24.1%,见表 1。

表 1 RhD 弱表达变异体在 361 例 RhD 阴性献血者中的发生频率(n)

指标	dccee	dCcee	dCCee	dccEe	dCcEe	dccEE	dCcEE	合计
RhD 阴性表型分布	207	116	13	14	6	4	1	361
Partial D 和 Weak D	1	5	4	8	1	—	—	19
DEL 型	72	8	7	—	—	—	—	87

—:此项无数据。

3 讨 论

实验结果显示,361 例 RhD 阴性献血者中最多的 Rh 表型为 dccee(207 例),其次为 dCcee(116 例),分别为 57.34%和 32.13%,与有关报道基本一致^[3-6],但与郑泽旋等^[7]的调查不同,说明 RhD 阴性表型分布有一定的地域差异。本调查还发现,Partial D 和 Weak D 在 dccEe 表型中发生频率最高,为 2.22%(8/361),其次为 dCcee 5 例(1.39%)、dCCee 4 例(1.11%)、dccee 和 dCcEe 各 1 例(0.28%),总检出率为 5.26%(19/361),低于 8.93%的调查数据^[8],与杨珊等^[9]的调查结果接近;DEL 型在 dCcee 表型中发生频率最高,在 RhD 阴性献血者的总检出率为 24.10%,有研究表明 DEL 型多见于亚洲人群,其在 IAT 确认为 RhD 阴性的人群中约占 10%~30%^[10]。

RhD 阴性个体的 RhD 基因具有多态性和地域人群差异,盐水法、IAT 法和吸收放散法等常规血清学方法在筛查 RhD 弱抗原变异体中的应用广泛,在中国用基因分型完全替代血清学检测 RhD 表型的条件尚未成熟^[11]。盐水法不能筛查 RhD 弱抗原变异体,但可以用来做 RhD 阴性表型的鉴定。首先用批量微板法初筛,操作简单快速,再用盐水法分型是较为理想的检测策略。用 5 种抗 Rh 分型血清即抗 C、抗 c、抗 D、抗 E、抗 e 来检测红细胞抗原,理论上可有 18 种表现型。IAT 法是非常敏感的抗原检测方法,但也有一定局限性,受待检抗原、试剂质量和操作的影响。由于 DEL 型红细胞表面 D 抗原数量比 Partial D 和 Weak D 还要少,质量也有变化,只能通过更为敏感的吸收放散试验才能检测出来,故名 DEL。

Partial D 和 Weak D 型受血者输注 RhD 阳性红细胞后可产生抗 D 抗体。所以受血者为 Partial D 和 Weak D 时应作抗 D 阴性论,应输抗 D 阴性血;供血者为 Partial D 和 Weak D 型时应作抗 D 阳性论,不应输血给 RhD 阴性的受血者。有研究显示 DEL 型 D 抗原缺失某些表位可产生抗 D,并且已有 RhD 阴性的受血者由于输注了 DEL 型的血液而产生抗 D 的相关报道,但目前中国均不检测 DEL,仍将其视为 RhD 阴性的受血

者或供血者。为了保障临床输血安全,常规血清学检测 Rh 阴性的供血者,应进一步排除 Partial D 和 Weak D 及 DEL 型等 RhD 弱抗原变异体^[12]。进一步研究和阐明 DEL 型的性质,对于输血实践具有重要价值。

参考文献

[1] 赵桐茂. RhD 抗原变异体及其在输血中的意义[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(1): 1-4.

[2] Yasuda H, Ohto H, Sakuma S, et al. Secondary anti-D immunization by Del red blood cells[J]. Transfusion, 2005, 45: 1581-1584.

[3] 庄杰, 赵龙友, 纪勇平, 等. 丽水市 Rh 阴性献血者血清学表型和不规则抗体调查[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(6): 578-579.

[4] 洪纛, 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.

[5] 杨南, 钱献, 何军, 等. 南昌市无偿献血者 RhD 阴性血型表型分布调查[J]. 临床输血与检验, 2012, 14(4): 347-348.

[6] 朱仕清, 危燕芬. 花都区献血者 RhD 阴性血型表现型分布调查[J]. 中国当代医药, 2012, 5(13): 168-169.

[7] 郑泽旋, 黄蓝生, 温国强, 等. 汕头市 RhD 阴性献血者 Rh 血型表型分布调查[J]. 广州医药, 2011, 42(3): 59-61.

[8] 王晓珠, 兰炯采, 吴绪华, 等. Rh 弱 D 及 Del 样本的检测研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2005, 13(3): 509-511.

[9] 杨珊, 孔庆芳, 谭庆芬. Rh 弱 D、Del 的检测及临床意义探讨[J]. 海南医学, 2010, 38(16): 106-107.

[10] Shao CP, Mass JH, Su YQ, et al. Molecular background of RhD-positive, D-negative, D(el) and weak D phenotypes in Chinese[J]. Vox Sang, 2002, 83(2): 156-161.

[11] 卓传尚, 卓孝福, 郭永建, 等. 福建省 RhD 阴性个体 RHD 基因多态性[J]. 中国实验血液学杂志, 2008, 16(2): 435-438.

[12] 王宝燕, 张建群, 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.