

- [9] 黄河,孙翼虎,吴厦华,等.前房穿刺术在急性闭角型青光眼高眼压持续状态下临床应用[J].实用防盲技术,2014,9(1):18-20.
- [10] 孔祥斌,苏鹏,黄玉娟.佛山地区青光眼住院病人流行病学特点[J].黑龙江医药,2018,31(6):28-31.
- [11] 吴晓蓉.慢性闭角性青光眼的临床治疗研究[J].中国伤残医学,2014,22(23):83-84.
- [12] 吴爱华.慢性闭角型青光眼周边虹膜切除和滤过性手术前后眼前段结构参数的对比探讨[J].中国医药导报,2014,11(11):54-57.
- [13] 汤晓东.复合式与传统小梁切除术治疗青光眼疗效的对比[J].医学综述,2014,20(17):3260-3262.
- [14] 古文怡.复合式小梁切除术治疗慢性闭角型青光眼的血压观察[J].中国医药科学,2016,6(10):204-206.
- [15] 冯延琴.复合式小梁切除术治疗原发性慢性闭角性青光眼效果探讨[J].医学信息,2015,28(24):265-265.
- [16] 梁天文,余剑平,王省,等.中枢及外周 M 胆碱受体在溃疡性结肠炎中对胆碱能抗炎通路的影响[J].深圳中西医结合杂志,2008,18(6):340-344.

(收稿日期:2019-11-27 修回日期:2020-06-16)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.16.043

## RhD 阴性献血者鉴定结果分析

祝晓琴,邓永福

眉山市中心血站,四川眉山 620010

**摘要:**目的 探讨血站确认为 RhD 阴性的献血者中弱 D、部分 D、Del 表型的比例及对安全输血的影响。方法 血站使用单克隆 IgM 抗 D 试剂检测 D 抗原,用间接抗人球蛋白试验确认弱 D 或部分 D;将血站确认为 RhD 阴性献血者标本送专业机构,用吸收放散试验和基因分型做进一步鉴定。结果 50 例在血站确认为 RhD 阴性的献血者中,检出弱 D 4 例,占 8%;检出 Del 表型 13 例,占 26%;33 例被确认为 RhD 阴性,占 66%。结论 弱 D、Del 表型作为阴性血液输给阴性受血者,可刺激产生抗体,给临床输血带来安全隐患。

**关键词:**献血者; Rh 血型; 弱 D; 部分 D; Del 表型

**中图分类号:**R457.1

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2020)16-2399-02

Rh 血型系统是输血医学中仅次于 ABO 系统的第二大血型系统,Rh 血型系统常见的抗原有 D、C、c、E、e 5 种,使用相应的抗 D、抗 C、抗 c、抗 E 和抗 e 5 种血型试剂可以鉴定这些抗原。临床上,D 抗原是 Rh 抗原中免疫原性最强的抗原,也是最具有临床意义的抗原,故一般只作 D 抗原鉴定,凡带有 D 抗原者称为 Rh 阳性,不带 D 抗原者称为 Rh 阴性。中国汉族人群中 Rh 阳性比例约为 99.7%,Rh 阴性比例 0.2%~0.4%<sup>[1]</sup>。根据红细胞表面 D 抗原的数量和质量不同及抗原性不同,将 D 抗原分为 5 种:(1)正常 D,常见的 D 抗原。(2)弱 D,D 抗原数量减少,质量无变化。(3)部分 D(表位不完全型 D),D 抗原数量基本正常,但是缺失正常 D 抗原上部分抗原表位(质量减少)。(4)Del 表型(表位不完全型弱 D),D 抗原数量减少,缺失部分 D 抗原决定簇(质量减少)。(5)增强 D,D 抗原数量大量增多,抗原性极大增加。弱 D、部分 D、Del 表型由于抗原数量或质量减少,不能用常规血清学方法检出,需要通过间接抗人球蛋白试验(IAT)、吸收放散或基因检测方法证实其红细胞膜上 D 抗原的存在。如果献血者是弱 D、部分 D 或 Del 表型,其血液输给 Rh 阴性受血者,可能刺激受血者产生抗 D 抗体,导致受血者再次输入弱 D、部分 D 或 Del 表型血液时发生溶血性输血反应。为了解本中心血

站确认为 RhD 阴性的献血者中,弱 D、部分 D、Del 表型的比例,研究者作了进一步的鉴定和分析,现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2003—2009 年本中心血站确认为 RhD 阴性,愿意接受进一步鉴定的献血者 50 例作为研究对象。

**1.2 主要试剂** RhD(IgM)血型定型试剂(上海血液生物医药有限责任公司)、RhD(IgG)血型定型试剂(北京金豪制药股份有限公司)、抗 D(IgM+IgG)血型定型试剂(英国 Millipore 公司)、抗人球蛋白试剂(IgG)检测试剂(上海血液生物医药有限责任公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 检测方法** RhD 血型常规检测采用平板法,将检测为 RhD 阴性的标本进行确认,确认采用试管法,用 2 种不同厂家生产的抗 D 试剂进行 IAT,判读并记录实验结果,所有操作严格按照试剂使用说明书进行。

**1.3.2 进一步鉴定方法** 在中国医学科学院北京协和医学院输血研究所进行鉴定。(1)血清学试验:使用抗 D(IgM+IgG)试剂进行盐水法筛选 RhD 阴性标本;筛选为阴性的标本采用 IAT 进行弱 D 或部分 D 鉴定;IAT 试验采用人源性血清(中国医学科学院输

血研究所、上海血液生物医药有限责任公司)和混合单克隆抗 D[Rh1,批号:430000(DIAGAST)];再使用人源抗 D 血清对剩余标本进行吸收放散试验以检测 Del 表型。初筛阴性标本采用血清学常规试管法做 RhD 表型鉴定,抗 E(20090105)、抗 e(00700001)、抗 C(20070113)和抗 c(00800002)(上海血液生物医药有限责任公司)。(2)基因组 DNA 制备:采用 TIAN-GEN 基因组 DNA 提取试剂盒,从乙二胺四乙酸抗凝的外周全血中制备基因组 DNA,严格按照试剂说明书进行操作。(3)RhD 的序列特异引物-聚合酶链反应(PCR-SSP)法基因分型:对 IAT 确定为弱 D 或部分 D 的阳性标本进行 RhD 10 个外显子的检测,采用 10 对针对 RhD 基因外显子及侧翼序列的 PCR-SSP 引物,特异扩增 RhD 的 10 个外显子(测序 PCR),方法参照文献[2]。

## 2 结 果

50 例 RhD 阴性献血者标本经 IAT、吸收放散试验和 RhD 基因分型检测,检测结果显示,50 例 RhD 阴性献血者中检出弱 D、Del 表型共 17 例,占 34%。其中弱 D 4 例,占 8%;Del 表型 13 例,占 26%。RhD 阴性 33 例,占 66%,其中 Exon1-10 全缺失 29 例,Exon3-9 全缺失 4 例。见表 1。

表 1 50 例 RhD 阴性献血者鉴定结果

项目	n	基因型	占比(%)
弱 D	4	845G>A	8
Del 表型	13	1227G>A	26
RhD 阴性	33	RhD 缺失	66

## 3 讨 论

《全国临床检验操作规程》中 Rh 血型鉴定,当献血者初筛检测为阴性时需进一步进行 Rh 阴性确认试验,以排除弱 D,但是如果检测的是患者标本,则可不必再确认。弱 D 型鉴定采用的是试管法 IAT,Del 需通过更加敏感的吸收放散技术才能检测到。中国人 RhD 阴性群体中 10%~30%的个体是 Del 表型,这类表型的个体在受到 D 抗原免疫刺激时,几乎不产生应答<sup>[3]</sup>。在临床输血中弱 D 型个体输注 RhD 阳性红细胞后可产生抗 D 抗体,所以受血者(患者)为弱 D 型,作 Rh 阴性论,应输注 Rh 阴性血液;供血者(献血者)为弱 D 型者,应作 Rh 阳性论,不应当输血给 Rh 阴性的受血者<sup>[1]</sup>。

对血站已确认为 RhD 阴性的人群中,检出弱 D、部分 D、Del 表型早已有报道,只是检出比例各方报道不同<sup>[3]</sup>。本研究 50 例确认试验为 RhD 阴性的血液中

检出弱 D、部分 D 比例、Del 表型比例低于海南地区<sup>[4]</sup>,高于湖北<sup>[5]</sup>、云南<sup>[6]</sup>、安徽地区<sup>[7]</sup>。

弱 D、部分 D、Del 表型的检测在临床输血中具有比较重要的意义,弱 D、部分 D、Del 表型只是红细胞表面 D 抗原数量或质量减少,但是红细胞表面仍然存在 D 抗原,仍具有一定的免疫原性。当 Rh 阴性受血者输注弱 D、部分 D、Del 表型血液后,可能会刺激受血者产生抗 D 抗体;受血者再次输注 RhD 阳性红细胞、弱 D、部分 D、Del 表型血液时,可能会发生溶血性输血反应,或者导致女性受血者怀孕时流产、新生儿溶血病等,给患者带来输血安全隐患<sup>[8]</sup>。

《血站技术操作规程》(2019 版)规定,RhD 阴性的结果应经过确认试验,但并没有指出确认试验应采用的方法<sup>[9]</sup>。由于血站检出技术和方法等原因,经过 RhD 阴性确认实验,仍然有一定比例的弱 D、部分 D、Del 表型血液无法检出。对于一般的中心血站,使用抗 C 分型和吸收放散试验鉴定可操作性比较强,但还需要相关数据研究和技术规范的支持。本鉴定结果分析提示,由于试剂、操作、方法等原因,血站提供给临床的 RhD 阴性血液中仍有弱 D、部分 D 和 Del。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2015.
- [2] 李宏,宋宁,邓永福,等. 四川地区汉族人群 Rh(D) 变异体分子机制研究[J]. 中国输血杂志,2010,23(5):368-372.
- [3] 邹文涛,何子毅. 无偿献血者弱 D 型的检出[J]. 临床输血与检验,2007,9(1):67-68.
- [4] 叶健忠,杨向萍,蔡于旭,等. 海南汉族 RhD 阴性个体 RHD 基因研究[J]. 中国输血杂志,2005,18(2):97-100.
- [5] 沈钢,章俊华,张浩,等. 湖北汉族 RhD 阴性个体 Rh 表型及 RHD 基因多态性研究[J]. 中国输血杂志,2007,20(4):304-306.
- [6] 蔡玲君,丁权,陈文仙,等. 云南地区 RhD 阴性个体 RHD 基因研究[J]. 中国输血杂志,2006,19(6):452-453.
- [7] 吕蓉,刘忠,方勤,等. 安徽地区 RhD(-) 无关供血者的血型调查[J]. 中国输血杂志,2006,19(5):402-403.
- [8] 林甲进,朱碎永,白植地. Rh 弱 D、Del 的检测及意义[J]. 温州医学院学报,2008,38(4):361-362.
- [9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委关于印发血站技术操作规程(2019 版)的通知(国卫医函[2019]98 号)[EB/OL]. (2019-05-08)[2019-11-28]. <http://www.nhc.gov.cn/zycj/s7658/201905/bdd4f4ccd15c4201bfb6d9e7492d7fab.shtml>.