

苏州市 RhD 阴性献血者血型抗原及表型分布研究*

何红红¹ 汤龙海¹ 陆荣¹ 潘志荣¹ 金一鸣¹ 周晓华¹ 王明元¹

[摘要] 目的:分析苏州地区 Rh 阴性血型抗原分布特点及表现型规律,为临床输血提供理论依据。方法:选取苏州市中心血站 2015—2018 年无偿献血者 344 367 例,运用盐水试管法初筛为 RhD 阴性样本 869 例,再用抗人球蛋白凝胶卡式法对其确认,用盐水试管法进行 C、c、E、e 抗原检测以确定表型。结果:初筛 869 例 RhD 阴性标本中有 844 例标本(97.12%,844/869)确证阴性,占本地区献血者 0.25%(844/344 367);D 变异型 25 例(2.88%,25/869),占本地区献血者 0.007%(25/344 367),其中以 ccEe 频率最高(40%,10/25);RhD 阴性样本中以 ccee、Ccee 表现型居多,占比 56.40%(476/844)、32.70%(276/844);e、c 的抗原频率最高,分别为 98.93%(835/844)、95.85%(809/844);RhD 阴性献血者主要为 A、O、B 血型,AB 型最少。结论:苏州地区 RhD 阴性献血者主要表现型为 ccee、Ccee,D 变异型中 ccEe 频率最高。对 RhD 阴性血液样本的定型及对 D 变异型的筛查,有助于保障本地区临床输血安全,为苏州市稀有血型库的建立提供参考依据。

[关键词] RhD 阴性;D 变异型;RhD 表现型;稀有血型库

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.12.011

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Distribution of phenotype and blood type antigen in RhD negative blood donors in Suzhou

HE Honghong TANG Longhai LU Rong PAN Zhirong JIN Yiming
ZHOU Xiaohua WANG Mingyuan

(Department of Clinical Laboratory, Suzhou Blood Center, Suzhou, 215006, China)

Corresponding author: WANG Mingyuan, E-mail: mingyuan98@aliyun.com

Abstract Objective: To investigate the characteristic and distribution of phenotype and blood type antigen in RhD negative blood donors in Suzhou, and provide a theoretical basis for clinical blood transfusion. **Method:** 869 blood samples of RhD negative were screened among the 344 367 blood donors from 2015 to 2018 in Suzhou blood center, and confirmed by the anti-human globulin microcolumn gel card and serologic blood tests for phenotypes. **Result:** 869 RhD negative specimens were confirmed to be RhD negative 844 (97.12%, 844/869), accounting for 0.25% (844/344 367) of the donors in the region; D variant phenotypes 25 (2.88%, 25/869), accounting for 0.007% (25/344 367), ccEe (40%, 10/25) had the highest frequency. The RhD negative were mostly ccee and Ccee phenotypes, accounting for 56.40% (476/844) and 32.70% (276/844), and the e and c antigen occupied higher antigen frequencies, 98.93% (835/844) and 95.85% (809/844) respectively. RhD negative phenotypes were mostly A, O, B types. **Conclusion:** The main phenotypes of RhD negative blood donors in Suzhou were ccee and Ccee, and the ccEe frequency was the highest in D variant. The characteristic of RhD negative blood samples and the screening of D variant would help to ensure the safety of clinical blood transfusion and provide reference for the establishment of rare blood bank in Suzhou.

Key words RhD negative; D variant; RhD negative phenotype; rare blood bank

Rh 血型系统由 Karl Landsteiner 和 Wiener 科学家于 1940 年发现,后经国际输血协会(ISBT)确认的 36 个红细胞血型系统(2016 年)之一^[1-2]。Rh 血型抗原中与临床输血密切相关的是 D、C、c、E、e 5 种抗原,D 抗原免疫原性最强,其次是 c 和 E 抗原^[3]。在我国 RhD 阳性血约占 99%以上,RhD 阴性血仅占 0.2%~0.5%^[4],由于 Rh 血型系统的独特、复杂性,在输血与妊娠过程中可引起免疫性

溶血性输血反应和新生儿溶血病,危及患者或胎儿的生命安全。本研究旨在统计分析我地区 RhD 阴性血型抗原分布特点及表现型规律,为建立我市稀有血型库提供基础理论,保障稀有血型供应与提高临床输血安全。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2015-01-01—2018-11-01 在我站进行无偿献血者 344 367 例,经盐水试管法初筛为 RhD 阴性的血液样本共 869 例。

1.2 试剂与仪器

初筛抗-D(IgM)单克隆抗体(批号 20171812;

*基金项目:苏州市科技计划项目合同(No:SYS201664);
2017 年度苏州市第十九批产业技术创新专项(民生科技)
(No:SS201750)

¹苏州市中心血站检验科(江苏苏州,215006)

通信作者:王明元, E-mail: mingyuan98@aliyun.com

上海血液生物医药有限责任公司);RhD 确认试剂包括:抗-D(IgM+ IgG)单克隆抗体(批号 517148; Dominion Biologicals Limited);抗-D(IgM/IgG)单克隆抗体(批号 BMD1601C; Millipore);抗-D(IgG)、抗-C(IgM)、抗-c(IgM)、抗-E(IgM)、抗-e(IgM)单克隆抗体(上海血液生物医药有限责任公司);微柱凝胶低离子抗人球蛋白卡(批号 50531. 22. 10; Bio-Red);KA-2200 血液学离心机(Kubota);12S II 卡式离心机(Diamed-ID);37S I 卡式孵育箱(Diamed-ID)。

1.3 方法

选用抗-D(IgM)单克隆抗体盐水试管法对血液样本初筛,将初筛 RhD 阴性样本进行实验确认,用 3 种不同厂家的抗-D 试剂进行低离子抗人球蛋白微柱凝胶试验:取 2%~3%的待检红细胞悬液 1 滴于抗人球蛋白卡槽,加 1 滴确证实验用抗-D 单克隆抗体,于 37S I 卡式孵育箱孵育 15 min,后于 12S II 卡式离心机 $200\times g$,离心 10 min,观察结果。Rh 表现型采用盐水试管法进行 C、c、E、e 抗原检测:取 2%~3%的待检红细胞悬液 1 滴,加 1 滴 IgM 型抗-C、抗-c、抗-E、抗-e,KA-2200 血液学离心机 $300\times g$,离心 1 min,观察红细胞凝集情况。

1.4 结果判定

由于初筛 IgM 型抗-D 凝集反应为阴性,确证

实验时如果被检红细胞与 3 种不同厂家 IgM+ IgG 型、IgM/IgG 型或者 IgG 型抗-D 试剂微柱凝胶实验反应结果为阴性,则判定为 RhD 阴性;若待检红细胞与 3 种不同厂家试剂中至少 1 种反应,则其结果判定为弱 D(D 变异型),然后再结合 C、c、E、e 抗原盐水试管法结果进行 Rh 表型分型。

2 结果

2.1 RhD 阴性血型结果的确认

抗-D(IgM)单克隆抗体盐水试管法初筛为 RhD 阴性标本 869 例,经微柱凝胶抗人球蛋白实验确认后,RhD 阴性标本共有 844 例(97.12%),占本地区献血者 0.25%;D 变异型 25 例(2.88%),占本地区献血者 0.007%,见表 1。

2.2 RhD 阴性及 D 变异型献血者各表现型分布

经微柱凝胶抗人球蛋白实验和盐水试管法检测 Rh 各表现型,844 份 RhD 阴性标本共检出 8 种表型,见表 2,分布频率为:ccee>Ccee>CCee>ccEe>CcEe>ccEE>CcEE=CCEe,其中 ccee 表现型最多,占比 56.4%,Ccee 表现型次之,且检出稀有表现型 CcEE 和 CCEe 各 1 例,未检出 CCEE 表现型。25 例 D 变异型中,含 E 抗原表型有 14 例,其中 ccEe(40%,10/25)频率最高,这与济南、洛阳等地区报道结果一致^[2,5]。D 变异型与 RhD 阴性标本 E 抗原的比较见表 3。

表 1 869 份初筛 RhD 阴性标本结果确认

例(%)

年份	RhD 阴性	男	女	D 变异型	男	女
2015	237(28.08)	147(29.82)	90(25.64)	1(4.00)	1(5.26)	0(0.00)
2016	228(27.01)	139(28.20)	89(25.36)	11(44.00)	10(52.63)	1(16.67)
2017	200(23.70)	107(21.70)	93(26.50)	3(12.00)	2(10.53)	1(16.67)
2018	179(21.21)	100(20.28)	79(22.51)	10(40.00)	6(31.58)	4(66.67)
合计	844	493(58.41)	351(41.59)	25	19(76.00)	6(24.00)

表 2 844 份 RhD 阴性标本表现型分布

例(%)

表现型	ccee	ccEe	ccEE	Ccee	CcEe	CcEE	CCee	CCEe	合计
RhD 阴性	476(56.40)	33(3.91)	6(0.71)	276(32.70)	17(2.01)	1(0.12)	34(4.03)	1(0.12)	844
D 变异型	3(12.00)	10(40.00)	0(0.00)	6(24.00)	3(12.00)	0(0.00)	2(8.00)	1(4.00)	25

表 3 D 变异型与 RhD 阴性标本 E 抗原比较 例

分型	含 E 抗原	不含 E 抗原	P
D 变异型	14	11	<0.01
RhD 确认阴性	58	786	

2.3 RhD 阴性献血者 ABO 血型频率

在 844 份 RhD 阴性献血者标本中 A 血型有 261 例(30.92%),B 血型 246 例(29.15%),O 血型 259 例(30.69%),AB 血型 78 例(9.24%),见表 4。

表 4 844 份 RhD 阴性标本 Rh 表现型与 ABO 血型间频率分布

例(%)

	ccee	ccEe	ccEE	Ccee	CcEe	CcEE	CCee	CCEe	合计
A 型	157(18.60)	7(0.83)	0(0.00)	83(9.83)	6(0.71)	0(0.00)	8(0.95)	0(0.00)	261(30.92)
B 型	133(15.76)	11(1.30)	1(0.12)	86(10.19)	6(0.71)	1(0.12)	8(0.95)	0(0.00)	246(29.15)
O 型	142(16.82)	13(1.54)	4(0.47)	84(9.95)	2(0.24)	0(0.00)	13(1.54)	1(0.12)	259(30.69)
AB 型	44(5.21)	2(0.24)	1(0.12)	23(2.73)	3(0.36)	0(0.00)	5(0.59)	0(0.00)	78(9.24)

2.4 本地区 RhD 阴性血 C、c、E、e 抗原表达频率

由于 RhD 阴性者中主要有 C、c、E、e 抗原,对抗原频率分布的研究有助于指导临床相关用血。我地区 RhD 阴性献血者 4 种抗原分布频率为 $e > c > C > E$, e、c 抗原所占比例最高,见表 5。

表 5 844 份 RhD 阴性确认标本 C、c、E、e 抗原分布例(%)

年份	C	c	E	e
2015	99(41.77)	224(94.51)	15(6.33)	234(98.73)
2016	92(40.35)	219(96.05)	17(7.46)	227(99.56)
2017	76(38.00)	192(96.00)	14(7.00)	197(98.50)
2018	62(34.64)	174(97.21)	12(6.70)	177(98.88)
合计	329(38.98)	809(95.85)	58(6.88)	835(98.93)

3 讨论

免疫血液学是一门较复杂的学科,包含 ABO 血型、Rh 血型、MNS 和 P 血型等系统。由于 Rh 血型抗原复杂性,在临床上已逐渐成为除 ABO 血型之外的第二大血型系统。Rh 血型中 D 抗原免疫强度最强,约 80% 的 RhD 阴性患者接受 RhD 阳性红细胞输注后,会产生抗-D IgG 抗体存留体内,出现迟发性溶血性输血反应和胎母血型不合引起的新生儿溶血病,严重影响患者及新生儿的生命安全^[1,6]。

D 抗原表达强度不一,D 变异型不是 D 抗原的缺失,而是弱表达(弱 D 型)或者部分表位的丢失(部分 D 型),最主要的形成原因是基因重组和酸碱基突变^[6-9]。在临床输血中,注意弱 D 也可引起 RhD 阴性受血者产生抗-D 抗体,故要将弱 D 型人群作为 RhD 阳性供血者和 RhD 阴性受血者,避免发生同种输血反应^[7,10]。本文所提及弱 D 型统称为 D 变异型。

在本研究中,869 例初筛 RhD 阴性样本,经过抗球蛋白实验确认,有 844 例(97.12%)RhD 阴性,占本地区献血者 0.25%,符合我国 RhD 阴性人群所占比例;检出 25 例(2.88%)D 变异型,占本地区献血者 0.007%,低于石家庄地区 D 变异型比例^[10],表现出地区性差异。在 25 例 D 变异型个体中有 14 例含有 E 抗原,而在 844 例 RhD 阴性确认个体中有 58 例含有 E 抗原,2 组数据 Fisher's 检验有统计学差异,这或许提示我们 RhD 阴性样本中含 E 抗原的个体为 D 变异型的概率高于不含 E 抗原的个体,而对于其中的机制需进一步测序或蛋白组学的研究。

苏州地区 844 例 RhD 阴性献血者,其 Rh 表型与多地区表现一致,均为 ccee(56.4%)表现型最多,Ccee(32.70%)表现型次之^[10,11-12],但也存在地

区性差异,检出稀有表型 CcEE 和 CCEe(D 变异型)各 1 例。RhD 阴性献血者 ABO 血型主要是 A、O、B 型,AB 型最少,区别于重庆地区(张巧琳,2017),这为区域 RhD 阴性血型数据联网提供参考依据。对 RhD 阴性献血者 C、c、E、e 抗原分布频率比较,该地区 $e > c > C > E$, e、c 抗原所占比例最高,符合一般 RhD 阴性人群抗原分布频率,也同多地区数据报道一致。RhD 阴性献血者及孕妇体内不规则抗体除抗-D 外,抗-E 发生率较高,因此临床交叉配血符合率也较高,而对于体内存在抗-e,抗-c 时,临床输血务必做好交叉配血工作,避免输血时抗原抗体反应破坏红细胞,有效避免免疫性输血反应的发生。

本研究说明我市 RhD 阴性人群及其表现型比例在总体符合我国整体趋势的前提下,又存在地区性差异。今后将加大样本量的保存与统计,并对 D 变异型个体进行核酸检测,进一步研究 D 变异型的发生发展,指导 D 变异型血型临床输血工作。

通过对我地区 RhD 阴性献血者资料的统计,筛查本地区相关抗原及其表现型所占比例,指导我地区 Rh 稀有血型库的建立,并对 RhD 阴性献血者进行不规则抗体的筛查,记录各种 RhD 阴性献血者不规则抗体的种类,必要情况下建立冰冻血液保存库,指导临床交叉配血工作的有效开展。另外,由于各地区可能存在稀有血型、不规则抗体种类的差异,建议各血站电子标签标注表型,并且全国联网或者分区域联网,开展电子配血,根据地区性差异,建立各表型资料库,最大限度供应 RhD 阴性血液的需求(红细胞和血浆),避免地区性“用血荒”和血液的浪费。由于每个人 ABO 血型和 Rh 表现型各具特色,所以临床和血液中心进行血液输注时要制定针对个人的输血策略,采取同种同型血液输入,这样既使一部分 RhD 阴性孕妇避免注射不必要的 Rh 免疫球蛋白,又保障人类输血安全,同时对稀有血型的合理应用也具有重要意义。

参考文献

- [1] Jukuppam G, Krishna D, Jaya V, et al. Prevalence of principal Rh blood group antigens in blood donors at the blood bank of a tertiary care hospital in southern India[J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10: EC07-10.
- [2] 孙昌魁,徐群,吕红娟,等. 济南地区 RhD 阴性献血人群 D 变异型及 Rh 表现型研究[J]. 中国预防医学杂志, 2018, 19(2): 137-139.
- [3] 胡丽华. 临床输血学检验[M]. 3 版, 北京: 人民卫生出版社, 2012: 24-25.
- [4] 赵桐茂. 人类血型遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [5] 马红丽,郑备战,吴文静. 洛阳地区初筛 RhD 阴性献血者 Rh 血型抗原分布情况[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(4): 408-409.

单病种在规范择期手术备血中的应用

李宁¹ 毕晓琳¹ 范亚欣¹ 王忠利² 马晓露³ 高艳⁴

[摘要] 目的:根据单病患者术中红细胞使用量,制定相应病种手术备血方案。方法:收集本市 3 家三甲医院接受髋关节置换术、腰椎管狭窄减压术、子宫切除术、二尖瓣置换成形术这 4 种择期手术患者术前备血和实际术中输血量,用统计学软件进行分析,比较不同手术实际输血率。结果:4 种手术备血量、备血人数明显多于实际输血量 and 输血人数。髋关节置换术 T%和 n%分别为 2.3%、2.4%、输血备血差异度为-0.98,腰椎管狭窄减压术 T%和 n%分别为 53.7%、65.3%,输血备血差异度为-0.46,子宫切除术分别为 5.0%、2.9%、-0.95,二尖瓣置换术分别为 26.8%、35.3%、-0.73。结论:外科手术备血应根据实际手术部位,手术方式,实际输血量 and 输血人数进行循证研究,建立择期手术患者备血策略,单病种在择期手术患者备血策略中可以提供指导性意见,推动节约用血和合理用血的有效实施。

[关键词] 单病种;备血;备血策略

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.12.012

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Application of single disease in Standardization of blood ordering in elective surgery

LI Ning¹ BI Xiaolin¹ FAN Yaxin¹ WANG Zhongli² MA Xiaolu³ GAO Yan⁴

(¹Dalian Blood Center, Dalian, 116001, China; ²The Second Hospital of Dalian Medical University; ³The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University; ⁴Dalian Central Hospital)

Abstract Objective: To analyze the amount of RBC used in the operation in the single disease in order to make a strategy for blood ordering. **Method:** The data of the amount of blood ordering and the actual blood usage in operation were collected and analyzed in the patients with the hip replacement, the decompression for lumbar spinal stenosis, the hysterectomy and the mitral valve surgery from 3 tertiary hospitals. **Result:** The amount of blood ordering and the amount of the planned transfusion patients were more than the actual blood usage and the actual transfusion patients. T%, n% and the difference between ordering units and transfusion units of the four operations were 2.3%, 2.4%, -0.98 (the hip replacement), 53.7%, 65.3%, -0.46 (the decompression for lumbar spinal stenosis), 5.0%, 2.9%, -0.95 (the hysterectomy), and 26.8%, 35.3%, -0.73 (the mitral valve surgery), respectively. **Conclusion:** The surgical blood ordering schedule is proposed according to the site of operation, the surgery way, the actual blood usage and the actual requirements of patients. It has been confirmed that the single disease can provide the guidance opinion to the surgical blood ordering schedule in order to save blood and reasonable usage.

Key words single disease; blood ordering; surgical blood ordering schedule

¹大连市血液中心(辽宁大连,116001)

²大连医科大学附属第二医院

³大连医科大学附属第一医院

⁴大连市中心医院

- [6] Turley E, McGowan EC, Hyland CA, et al. Severe hemolytic disease of the fetus and newborn due to allo-anti-D in a patient with a partial DEL phenotype arising from the variant allele described as RHD*148+1T(RHD*01EL.31)[J]. Transfusion, 2018, 58: 2260-2264.
- [7] Sandler SG, Chen LN, Flegel WA. Serological weak D phenotypes: a review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype[J]. Br J Haematol, 2017, 179: 10-19.
- [8] 于志强, 杨波, 朱丽莉. RHD 基因外显子多态性与妊娠免疫产生抗-D 相关性研究[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(10): 806-808.
- [9] Feng J, Tian L, Chen J. A new RHD variant allele is caused by a RHD 662C>G mutation[J]. Transfusion, 2017, 57: 1566-1567.
- [10] 张慧贤, 赵倩, 王艳彬, 等. 石家庄地区献血者 Rh 阴性血清学表型分布及不规则抗体检出情况[J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(10): 800-801.
- [11] 姜侠, 吴姣姣, 王子璇, 等. 西安地区住院患者 ABO 及 Rh 血型分布调查[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(10): 757-759.
- [12] 童胜兰, 吴洋, 向长港, 等. 江夏地区人群 RhD(-) 血型系统基因频率的分布[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(2): 141-144.