

• 临床检验研究论著 •

156 例新生儿溶血病患儿血清学检测结果及相关因素分析*

夏世勤¹, 周晓璐¹, 王竹英², 杨 眉^{1△}, 王茂玲¹, 于慧芳¹

(1. 贵州省人民医院输血科, 贵州贵阳 550002; 2. 遵义医学院检验系, 贵州遵义 563000)

摘要:目的 分析新生儿溶血病(HDN)患儿血清学检测结果并探讨其与母体孕期血型抗体效价、患儿性别、母婴血型组合、患儿放散液抗体效价等因素的关系。方法 对 156 例患高胆红素血症的新生儿血标本进行血型鉴定和溶血 3 项试验, 放散试验结果阳性标本进一步检测血型抗体效价, 同时收集患儿血清胆红素、母体孕期血型抗体效价、母婴血型组合、患儿性别及标本采集时间等数据, 然后进行统计学分析。结果 (1) 156 例标本中有 89 例为 ABO-HDN (57.05%), 有 1 例为 Rh HDN (0.64%); (2) HDN 的发生与母亲孕期抗体效价相关 ($P < 0.01$) 且抗体效价越高, HDN 发生率越高; (3) 患儿放散液抗体效价与其血清胆红素水平无相关性 ($P > 0.05$); (4) 不同母婴血型组合的患儿 HDN 的发生率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), O-A 型 (30.12%) 高于 O-B 型 (26.92%); 标本采集时间与 HDN 的检出率密切相关 ($P < 0.01$), 随着出生时间延长, HDN 检出率也随之减低。结论 (1) 血清学溶血 3 项试验中放散试验的灵敏度最高, 是实验室判断新生儿溶血病最准确的指标。 (2) 新生儿溶血病发生率随着孕妇血型抗体效价升高而升高。 (3) 出生后疑为 HDN 的新生儿应尽早采集标本送检。

关键词: 溶血症, 新生儿; 血型抗体效价; 胆红素

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.01.009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)01-0022-03

Analysis of serological test results and related factors of hemolytic disease of newborn in 156 cases*

Xia Shiqin¹, Zhou Xiaolu¹, Wang Zhuying², Yang Mei^{1△}, Wang Maoling¹, Yu Hui Fang¹

(1. Blood Transfusion Department, People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou 550002, China;

2. Department of Medical Laboratory, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

Abstract: **Objective** To analyze the serologic test results of hemolytic disease of newborn (HDN) and explore the relationship between serological results and related factors such as the maternal blood type antibody titer during pregnancy, sex of newborn, blood type of newborn and antibody titer of elution liquid of newborn. **Methods** The blood type and hemolysis three trials (direct antiglobulin test (DAT), free antibody test and elution test) of 156 newborns with hyperbilirubinemia were detected. The blood type antibody titer of elution liquid was detected when result of elution test was positive. At the same time, some clinical data of these newborns including sex, specimens collecting time and serum bilirubin values were collected. Then all data was statistically analyzed. **Results** (1) There were 89 cases of ABO HDN (57.05%) and 1 case of Rh HDN (0.64%) in all 156 newborns. (2) The occurrence of HDN was correlated with the maternal blood type antibody titer during pregnancy ($P < 0.01$), and the higher the antibody titer, the more HDN occurred. (3) There was no correlation between antibody titer of elution liquid and serum bilirubin values ($P > 0.05$). (4) There was statistical difference of HDN occurrence among different combinations of maternal and neonatal blood group ($P < 0.05$), such as type O-A (30.12%) > type O-B (26.92%). Specimen collection time was closely related to the positive rates of HDN detection ($P < 0.01$), and with the birth time extended, positive rate of detection was reduced. **Conclusion** (1) Elution test is the most sensitive test in hemolysis three trials and is the most accurate laboratory indicator to diagnose HDN. (2) The occurrence rate of HDN rises when the maternal blood type antibody titer during pregnancy rises. (3) After the birth, HDN suspected newborns should be collected samples as early as possible.

Key words: hemolytic disease of newborns; blood type antibody titer; bilirubin

新生儿溶血病(hemolytic disease of newborns, HDN)是指母婴血型不合, 母亲血液中抗胎儿红细胞的免疫抗体 IgG 通过胎盘进入胎儿循环, 发生同种免疫反应导致胎儿、新生儿红细胞破坏而引起的溶血, 是一种危害胎儿及新生儿健康甚至生命的同种免疫性溶血疾病, 常引起死胎、流产或早产, 出生后表现为贫血、黄疸, 严重的会导致心力衰竭^[1]。血液中高水平胆红素还会引起胆红素脑病和继发性核黄疸, 造成永久性神经系统发育障碍^[2], 及早诊断与治疗 HDN 可以减少后遗症的发生。ABO 系统的 HDN 最多, 其次为 Rh 系统。溶血 3 项试验(直接抗人球蛋白试验、游离试验、放散试验)对 HDN 的临床诊断

具有重要的价值。本文就 156 例新生儿溶血 3 项试验结果, 结合患儿血清胆红素、ABO 血型、性别及其母亲孕期的血型抗体效价等因素进行分析, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 2012 年 1~12 月临床送检的出生后高于正常水平且进行性加重的新生儿血液标本 156 例。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 TD-3B 和 TD-3A 型血型血清学多用离心机(长春博研科学仪器有限责任公司), ID-Incubator 37 SI 保温孵育器。

* 基金项目: 贵州省科技计划课题研究项目[黔科合 LS 字(2011)006 号]; 贵阳市科技计划项目[筑科合同(2011103)41 号]。 作者简介: 夏世勤, 女, 主管检验技师, 主要从事临床输血及临床检验研究。 △ 通讯作者, E-mail: 2821907497@qq.com。

1.2.2 试剂 抗人球蛋白检测卡及新生儿 ABO、RhD 血型检测卡(长春博迅生物技术有限责任公司),不规则抗体检测试剂及 ABO 反定型试剂盒(长春博德生物技术有限责任公司)。

1.3 方法

1.3.1 新生儿血型鉴定和溶血 3 项试验 血型鉴定和直接抗人球蛋白试验:严格按长春博迅新生儿 ABO、RhD 血型检测卡(微柱凝胶)说明书操作。

1.3.2 抗体筛选试验 严格按长春博迅抗人球蛋白检测卡(微柱凝胶)说明书操作,分别检测患者血浆和放散液中的不规则抗体。

1.3.3 患儿血型抗体效价测定(微柱凝胶法) 将放散液倍比稀释,取一抗人球蛋白检测卡,将倍比稀释的放散液依次加入卡内各孔,然后再加入标准红细胞,置于 ID-Incubator 37 SI 孵育 15 min(37℃)。最后,取出放入 TD-3B 型血型血清学多用离心机离心 5 min,肉眼观察结果。

1.3.4 收集患儿的基本临床资料(姓名、住院号、性别、送检时间、临床症状及体征、临床诊断以及疾病转归等),并追踪其母亲孕期的血型抗体效价以及患儿血清胆红素。

1.4 结果判定

1.4.1 微柱凝胶法 红细胞留在微柱上一端或分布在凝胶中为试验结果阳性,红细胞降至微柱底部为试验结果阴性。

1.4.2 HDN 诊断标准^[3] 高胆红素血症(血清总胆红素足月儿大于 221 μmol/L,早产儿大于 257 μmol/L);母婴血型不合;3 项试验中放散试验或直抗试验有 1 项阳性即可判为阳性;新生儿出现黄疸、贫血等临床表现。

1.5 统计学处理 实验结果采用统计学软件 SPSS 11.5 进行统计学分析,分别采用 *t* 检验、 χ^2 检验、 χ^2 分割法对实验数据进行统计学分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HDN 患儿血清学检测结果 156 例标本中有 89 例为 ABO-HDN(57.05%),有 1 例为 Rh HDN(0.64%);其中直接抗人球蛋白试验(直抗试验)阳性者 20 例,阳性率为 12.82%;放散试验阳性者 90 例,阳性率为 57.69%;游离抗体试验阳性者 58 例,阳性率为 37.18%,见表 1。

表 1 3 项试验结果分布($n=156$)

直抗试验	游离试验	放散试验	ABO 以外抗体筛查	结果判定	例数及所占比例 [$n(\%)$]
+	+	+	—	确诊 ABO HDN	17(10.90)
—	—	+	—	确诊 ABO HDN	29(18.59)
+	—	+	—	确诊 ABO HDN	2(1.28)
—	+	+	—	确诊 ABO HDN	41(26.28)
+	—	+	+	确诊 Rh HDN	1(0.64)
—	—	—	—	非 HDN	66(42.31)

+:阳性 —:阴性。

2.2 HDN 发生与母体孕期不同抗体效价的关系 母体孕期的抗体效价与 HDN 的发生有明显的相关性($\chi^2=43.65, P<0.01$),且 HDN 发生率随着母体孕期抗体效价升高而升高。当母亲孕期抗体效价大于或等于 1:64 时,HDN 的发生率为 100%,见表 2。

2.3 患儿放散液的抗体效价与婴儿血清胆红素的关系 患儿放散液为不同抗体效的患儿间进行比较,其血清胆红素值的差

异无统计学意义($t=1.571, P>0.05$),见表 3。

表 2 HDN 发生率与母体孕期抗体效价的关系

免疫性抗体	母体孕期抗体效价			
	≤1:16	1:32▲	1:64▲△	≥1:128▲△
HDN	36	17	20	17
无 HDN	60	6	0	0

▲: $P<0.01$,与抗体效价小于或等于 1:16 比较;△: $P<0.01$,与抗体效价小于或等于 1:32 比较。

表 3 患儿放散液的抗体效价及血清胆红素值

项目	抗体效价			
	≤1:2	1:4	1:8	≥1:16
婴儿例数(n)	24	29	25	12
胆红素平均值($\mu\text{mol/L}$)	207.58	256.91	234.01	262.21

2.4 HDN 的发生与患儿血型、性别、标本采集时间的关系 ABO 系统 HDN 的发生率与患儿的 ABO 血型明显相关($\chi^2=4.13, P<0.01$),其中 A 型(30.12%)大于 B 型(26.92%);不同时间段采集标本的患儿 HDN 阳性率差异有统计学意义($\chi^2=11.22, P<0.01$),且两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$),采集时间越晚,HDN 阳性率越低;患儿性别与 HDN 发病率不相关($\chi^2=0.180, P>0.05$),见表 4。

表 4 患儿性别、血型、标本采集时间与 HDN 发生的关系(n)

是否发生 HDN	血型		性别		标本采集时间		
	A	B	男	女	<3 d	3~7 d	>7 d
HDN	47	42	46	44	39	45	6
无 HDN	24	42	36	30	15	37	14

3 讨 论

溶血 3 项试验是早期检测 HDN 的诊断依据,其中又以放散试验的敏感度最高,本文中 156 例患儿直接抗人球蛋白试验、血清游离抗体试验和放散试验的阳性率分别为 12.82%、37.18%和 57.69%。

HDN 的发病与新生儿母亲孕期体内的血型抗体效价高低相关,且随着母体孕期血型 IgG 抗体效价增高,HDN 的发生率也相应增高^[4],与以往相关文献报道相符^[5]。与以往报道不符的是,本文结果显示母体孕期血型抗体效价小于或等于 1:32,并非就是一个相对安全的阈值,其 HDN 发生率仍达 68.0%。这可能与母体孕期血型抗体效价检测所用的方法相关,本研究中的母体孕期血型抗体效价检测方法多为间接抗人球蛋白试管法,因其方法学自身的局限性,结果多偏低。

理论上,放散液中血型抗体效价越高,与患儿红细胞上相应抗原结合的抗体越多,其红细胞破坏的概率越高,相应的血清胆红素也就越高,对患儿的危害越大。本文就放散试验阳性的患儿放散液中血型抗体效价和血清胆红素值进行统计学分析,未发现二者之间有相关性。可能由于部分患儿溶血非常严重,即胎儿时期已经发生严重溶血,大部分致敏红细胞已被破坏,因此放散液效价与临床溶血症状不符。此外患儿体内的血型抗体含量并不是临床溶血症状轻重的唯一决定性因素,抗体的结合力、致敏红细胞上的 IgG 抗-A(B)亚类^[6]、吞噬细胞的

黏附能力、患儿血液中溶胞素含量^[7],以及新生儿肝脏功能等諸多因素也影响着 HDN 患儿的临床症状。

ABO 系统 HDN 的发病多以母婴血型为 O-A、O-B 或 O-AB 为主。本文中母婴 O-A 血型 HDN 检出率明显高于母婴 O-B 血型,与文献报道一致^[8]。因为胎儿红细胞上的 A 位点(抗原决定簇)较 B 位点多,结合抗体也相应多,故发生 HDN 的概率也相对较高。

患儿出生后标本尽早采集有利于 HDN 的检出,随着发病时间的延长,大部分致敏红细胞被溶解破坏,大部分 IgG 血型抗体被中和后以游离抗原抗体复合物形式存在而失去了反应原性,HDN 的检出率也随之降低,出生 7 d 后采集的标本 HDN 检出率会大幅降低。此外,游离抗体试验有助于观察疾病的发展趋势和治疗。因此临床标本应尽早送检,以提高检出率,减少核黄疸的发生。本研究未发现患儿性别与 HDN 发生率相关。

综上所述,HDN 对胎儿及新生儿健康和生命有极大的危害性,其发生率与母体孕期血型抗体的效价、母婴血型等有明显相关性,且另有文献报道母亲孕期血型抗体效价愈高,新生儿胆红素浓度在 24 h 内升高愈明显,对婴儿的危害愈大^[9]。因此,母体孕期的产前 HDN 筛查(检测夫妇血型、孕妇不规则抗体筛查、孕期定期检测相应血型抗体效价)对 HDN 的预防至关重要,应作为优生优育检测项目来开展。同时,HDN 的检出率与标本的采集时间密切相关。因此,疑为母婴血型不合的新生儿在出生后,应及早采集其标本送检,以提高检出率,达到

早发现、早治疗的目的,尽量减低 HDN 的危害。

参考文献

- [1] 黄瑞英. 新生儿溶血病实验室检测研究进展[J]. 医学理论与实践, 2011, 11(12): 1410-1414.
- [2] Maisels MJ, Mcdonagh AF. Phototherapy for neonatal jaundice [J]. N Engl J Med, 2008, 357(9): 921-928.
- [3] 沈晓明, 王卫平. 儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 114-120.
- [4] 孙悦玲, 孙红格. 孕期夫妇血型血清学检测与新生儿溶血病关系的探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14(1): 59-60.
- [5] 陆莉, 赵丽, 李娟, 等. 485 例 O 型血孕妇 ABO 血型抗体效价的检测结果分析与新生儿溶血病的防治[J]. 中国妇幼保健, 2006, 23(19): 2703-2707.
- [6] Urbaniak SJ, Greiss MA. RhD hemolytic disease of the fetus and the newborn[J]. Blood Rev, 2008, 14(1): 44.
- [7] Jatil JS, Gupta SC. Role of antibody dependent cell mediated cytotoxicity in ABO hemolytic disease of the new born[J]. India J Pediatr, 2009, 62(5): 586.
- [8] 韦秋芬. 新生儿 ABO 溶血病发病相关因素分析[J]. 医学文选, 2004, 22(6): 833-835.
- [9] 韩桂珍, 王秀芳. 新生儿高胆红素血症 320 例临床分析[J]. 中国医药科学, 2013, 2(3): 151-153.

(收稿日期: 2013-08-08)

(上接第 21 页)

- concentration and open-angle glaucoma[J]. Arch Ophthalmol, 2008, 95(2): 308-310.
- [7] Kang JH, Pasquale LR, Willett W, et al. Antioxidant intake and primary open-angle glaucoma: a prospective study[J]. Am J Epidemiol, 2006, 158(2): 337-346.
 - [8] Liu Q, Ju WK, Crowston JG, et al. Oxidative stress is an early event in hydrostatic pressure induced retinal ganglion cell damage [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(10): 4580-4589.
 - [9] Ko ML, Peng PH, Ma MC, et al. Dynamic changes in reactive oxygen species and antioxidant levels in retinas in experimental glaucoma[J]. Free Radic Biol Med, 2005, 39(3): 365-373.
 - [10] Banasiak KJ, Xia Y, Haddad GG. Mechanisms underlying hypoxia-induced neuronal apoptosis[J]. Prog Neurobiol, 2008, 70(2): 215-249.
 - [11] Zanno-Moreno V, Marco-Ventura P, Lleo-Perez A, et al. Oxidative stress in primary open-angle glaucoma[J]. J Glaucoma, 2008, 17(4): 263-268.
 - [12] Feilchenfeld Z, Yücel YH, Gupta N. Oxidative injury to blood vessels and glia of the pre-laminar optic nerve head in human glaucoma[J]. Exp Eye Res, 2008, 87(5): 409-414.
 - [13] Lehtinen MK, Yuan Z, Boag PR, et al. A conserved MST-FOXO signaling pathway mediates oxidative-stress responses and extends life span[J]. Cell, 2006, 125(7): 987-991.
 - [14] Welge-Lüssen U, Birke K. Oxidative stress in the trabecular meshwork of POAG[J]. Klin Monbl Augenheilkd, 2010, 227(2): 99-107.
 - [15] Li G, Luna C, Liton PB, et al. Sustained stress response after oxi-

ductive stress in trabecular meshwork cells[J]. Mol Vis, 2007, 13(20): 2282-2288.

- [16] Kinsey V. Transfer of ascorbic acid and related compounds across the blood-aqueous barrier[J]. Am J Ophthalmol, 2008, 30(10): 1262-1266.
- [17] Purcell EF, Lerner LH, Kinsey VE. Ascorbic acid in aqueous humor and serum of patients with and without cataract: physiologic significance of relative concentrations[J]. AMA Arch Ophthalmol, 2008, 51(1): 1-6.
- [18] Welge-Lüssen U, Birke K. Oxidative stress in the trabecular meshwork of POAG[J]. Klin Monbl Augenheilkd, 2010, 227(2): 99-107.
- [19] Virno M, Bucci MG, Pecori-Giraldi J, et al. Intravenous glycerol-vitamin C (sodium salt) as osmotic agents to reduce intraocular pressure[J]. Am J Ophthalmol, 2007, 62(5): 824-833.
- [20] Fishbein SL, Goodstein S. The pressure lowering effect of ascorbic acid[J]. Ann Ophthalmol, 2007, 30(6): 487-491.
- [21] Linner E. The pressure lowering effect of ascorbic acid in ocular hypertension[J]. Acta Ophthalmol (Copenh), 2008, 60(3): 685-689.
- [22] Elisaf M, Kitsos G, Bairaktari E, et al. Metabolic abnormalities in patients with primary open-angle glaucoma[J]. Acta Ophthalmol Scand, 2008, 79(1): 129-132.
- [23] Jampel HD, Moon JI, Quigley HA, et al. Aqueous humor uric acid and ascorbic acid concentrations and outcome of trabeculectomy [J]. Arch Ophthalmol, 2008, 116(2): 281-228.

(收稿日期: 2013-07-08)