

### 3 讨 论

免疫性血小板减少症是一种由免疫异常导致的血小板破坏增多,生成减少的一类疾病。目前,ITP 发病机制可以概括为体液和细胞免疫介导的血小板过度破坏、体液和细胞免疫介导的巨核细胞数量和质量异常和血小板生成不足等方面<sup>[2]</sup>。本组资料表明 ITP 患者有很大比例的实验室指标异常,T 细胞亚群中以 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 异常最为明显,这表明 ITP 患者存在细胞免疫功能紊乱。与治疗前相比,ITP 组治疗后各项指标异常情况有一定改善,其中 IgG、IgM 异常情况明显降低,这说明该组实验指标能够很好地反映 ITP 患者的临床状态。及早发现这些血液指标的异常,正确识别,及时处理,将有助于提高化疗效果,延长患者生存期。

T 细胞亚群是参与细胞免疫的主要成分。CD3<sup>+</sup> 细胞水平与对照组相比明显降低,这提示 ITP 患者存在细胞免疫功能低下。在 ITP 中 CD8<sup>+</sup> T 细胞主要是通过 T 细胞介导的细胞毒作用直接破坏抗体包被的血小板,通过凋亡机制及其胞质颗粒依赖机制导致血小板破坏增加。CD8<sup>+</sup> T 细胞水平升高后,通过 T 细胞介导的细胞毒作用参与对血小板的破坏。另外,CD8<sup>+</sup> T 细胞还可抑制衰老的巨核细胞在骨髓中的凋亡,导致血小板的无效生成<sup>[3-4]</sup>。CD4<sup>+</sup> 调节性 T 细胞能抑制 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的活化和增殖,从而抑制由抗体介导的自身免疫性疾病的发生<sup>[5]</sup>。

叶酸为 B 族维生素,主要存在于蔬菜和水果,且人体自身不能合成。缺乏叶酸能引起巨幼细胞性贫血、先天性缺陷和心血管系统疾病。本研究结果显示 ITP 患者体内叶酸水平明显低于对照组,这也进一步影响了血小板的正常代谢,具体作用机制值得进一步探讨。

本研究结果显示 ITP 患者 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平低于对照组,CD8<sup>+</sup> 水平高于对照组,血小板相关抗体 IgG、IgM 水平明显高于对照组。表明 ITP 患者 T 淋巴细胞亚群比例失调,血小板抗体水平升高。经治疗后,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例升高,血小板抗体水平下降。可能作用机制是 ITP 患者存在细胞免疫功能低下,CD4<sup>+</sup> 与 CD8<sup>+</sup> 的比例失调导致免疫内环境的不稳定。在 ITP 患者体 CD4<sup>+</sup> 水平和功能下降,巨噬细胞吞噬作用增强,血小板被吞噬增多,数量减少。同时辅助性 T 细胞与抑制性 T 细胞比例降低导致 B 细胞的分化抑制作用

#### · 经验交流 ·

减弱,进而使 B 细胞和自身反应性 T 细胞过度活化、增殖,最终产生大量自身抗体<sup>[6-7]</sup>。ITP 患者体内出现大量 IgG 和 IgM 型自身抗体后,自身抗体与血小板表面糖蛋白相结合形成抗原抗体复合物,被巨噬细胞摄取并在脾脏中破坏,进一步导致血小板的破坏增加。随着疾病的缓解,上述指标得到一定改善,也能在一定程度上反映 ITP 患者的临床状态。

综上所述,ITP 的患者存在 T 淋巴细胞亚群的功能紊乱和叶酸水平低下及血小板抗体水平高的现象,这些指标在 ITP 的病程发展中起着不可或缺的作用。ITP 患者可出现一种或多种指标异常,而联合检测 T 细胞亚群、血小板相关抗体及叶酸水平变化能够更加准确的为临床诊断和治疗提供支持;进一步提高诊断的准确度,也能为 ITP 的疗效评价及临床选择治疗方案提供更准确的依据。

### 参 考 文 献

- [1] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊治的中国专家共识修订版[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(3): 214-216.
- [2] 胡成琳. 对免疫性血小板减少症发病机制及治疗的研究进展[J]. 重庆医学, 2012, 41(24): 2541-2544.
- [3] Golovina TN, Vonderheide RH. Regulatory T cells overcoming suppression of T-Cell immunity[J]. Cancer Journal, 2010, 16(4): 342-347.
- [4] Campbell DJ, Koch MA. Phenotypical and functional specialization of FOXP3(+) regulatory T cells[J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11(2): 119-130.
- [5] Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases[J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(12): 849-859.
- [6] Liu B, Zhao H, Poon MC, et al. Abnormality of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura [J]. Eur J Haematol, 2007, 78(2): 139-143.
- [7] Hu Y, Ma DX, Shan NN, et al. Increased number of Tc17 and correlation with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia[J]. PLoS One, 2011, 6(10): 26522.

(收稿日期:2014-10-08)

## 酸与热 2 种放散方法联合检测新生儿 ABO 溶血病的临床价值

黄柳梅

(广西壮族自治区妇幼保健院,广西南宁 530003)

**摘要:**目的 探讨酸放散和热两种放散方法联合检测新生儿 ABO 溶血病,为临床提供诊断依据。**方法** 疑似新生儿 ABO 溶血病患儿 890 例进行溶血三项检测,其中释放试验应用酸放散和热放散两种方法联合检测。**结果** 722 例释放试验阳性的血液标本中,酸放散和热放散均为阳性 610 例,符合率为 84.49%;酸放散阴性而热放散阳性 71 例,占 9.83%;酸放散阳性而热放散阴性 41 例,占 5.68%。**结论** 两种放散方法联合检测比单一的酸放散或热放散检测新生儿 ABO 溶血病阳性检出率更高。

**关键词:**新生儿溶血病; 释放试验; 酸放散; 热放散

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.061

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2015)02-0275-02

新生儿 ABO 溶血病(ABO-HDN)是指母婴因 ABO 血型不合而引起的免疫性溶血,溶血三项检测是协助诊断 ABO-HDN 的可靠指标之一。ABO-HDN 的诊断除了临床表现外,

实验室血清学检测是重要的诊断依据<sup>[1]</sup>。本院自 2010 年在新生儿溶血三项试验中,释放试验采用酸放散和热放散两种方法联合检测以来,发现同一患儿同一血液标本两种检测方法结果

不一致。本研究就酸、热两种放散方法检测的722例释放试验为阳性的新生儿血液标本检测结果分析报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2011年9月至2012年12月本院收治的疑似新生儿ABO-HDN的患儿890例,临幊上均出现不同程度黄染,患儿及其母亲血型均为Rh(+)。其中男485例,女405例,年龄1 h至7 d。

**1.2 仪器与试剂** 0.9%生理盐水(双鹤药业公司生产);人ABO血型反定型红细胞试剂盒由上海血液生物医药有限责任公司提供。新生儿ABO、RhD血型检测卡(微柱凝胶)、抗人球蛋白检测卡(微柱凝胶)、酸放散试剂盒、37℃恒温孵育箱、卡式离心机均由瑞士达亚美公司提供。

**1.3 标本采集** 抽取患儿静脉血2~3 mL,采用乙二胺四乙酸抗凝。

**1.4 检测方法** 微柱凝胶检测法进行患儿ABO、RhD血型鉴定,根据母婴ABO是否相合,再按程序微柱凝胶法进行以下检测:直接抗人球蛋白试验,游离抗体试验和抗体释放试验。操作严格按照《临床输血技术规范》、《临床输血检验实验操作规程》及试剂使用说明进行。释放试验用酸、热两种放散方法联合检测。

**1.5 结果判读** 离心后红细胞沉积在凝胶管底部者,表明红细胞未发生凝集,为阴性反应(-);若红细胞聚集在凝胶柱的上部、中部,表明红细胞发生凝集,为阳性反应(+).试验中O型细胞孔均为阴性,说明可排除其他系统新生儿溶血病的可能。溶血三项试验结果阳性率=试验阳性例数/纳入患儿总例数,酸放散释放试验与热放散释放试验符合率=两种方法检测均为阳性结果例数/任意一种方法为阳性结果总例数×100%。

**1.6 统计学处理** 采用Microsoft Excel 2003进行数据处理及统计学分析。

## 2 结 果

890例患儿血液标本直接抗人球蛋白试验阳性率为12.36%(110/890);游离抗体试验阳性率为45.50%(405/890);释放试验阳性率为81.12%(722/890)。722例释放试验阳性的血液标本中,酸放散和热放散均为阳性610例,两种检测方法的符合率为84.49%(610/722);酸放散阴性而热放散阳性71例,占9.83%(71/722);酸放散阳性而热放散阴性41例,占5.68%(41/722)。

## 3 讨 论

新生儿溶血三项试验是指直接抗人球蛋白试验、游离抗体试验、抗体释放试验。直接抗人球蛋白试验是用于检查新生儿红细胞是否受IgG抗体致敏,直接抗人球蛋白阳性、比例较低。这可能因新生儿发育还不成熟,红细胞上A、B抗原相对较少,抗原密度小吸附抗体也较少,在ABO血型系统新生儿溶血病的直接抗人球蛋白试验反应常常较弱甚至无法检出,因此试验结果常呈阴性,只起参考作用<sup>[2]</sup>。

游离试验阳性与母亲体内IgG抗体进入胎儿体内的量有关。若有游离抗体存在,提示病情严重,说明病情还将持续一段时间。游离抗体试验有助于观察疾病的发展趋势和治疗,单项游离抗体阳性只能证实血清中存在抗体,必须结合患儿是否有贫血、血清胆红素增高和母婴血型不合等才能诊断HDN。由于游离抗体在体内只存在数天,抗体可迅速减退,游离试验阴性也并不说明病情较轻,仅起到辅助诊断的作用<sup>[3]</sup>。

释放试验也叫放散试验,放散方法可以用酸放散或热放散。放散试验目的是将附着于红细胞上的抗体放散到小量的生理盐水或低pH值溶液中,这种含有抗体的溶液称为放散液<sup>[4]</sup>。放散液中的抗体具有特异性,与相应抗原结合,从而可以进一步确定抗体的特异性。传统的放散试验一般只做单一酸或热放散。

酸放散的试验原理是红细胞悬浮于低pH值的溶液中,将结合到红细胞表面的抗体蛋白从红细胞表面解离下来,离心取上清液。上清液中含有从红细胞表面解离下来的抗体经中和液中和后,此上清液可进行抗体检查和鉴定<sup>[5]</sup>。热放散实验原理是红细胞表面抗原与血清中相应的抗体在适宜条件下可以发生结合,导致红细胞发生凝集或致敏。这种抗原抗体的结合是可逆的,如果改变某些物理条件,抗体可以从红细胞表面与抗原结合状态转变成为游离状态,成为游离抗体。把已知抗原红细胞加入放散液内观察是否凝集或致敏来鉴定放散液中抗体的种类,以判定被检抗体的特异性<sup>[6]</sup>。

抗体释放试验阳性表明患儿红细胞上有致敏抗体。由于释放试验所使用的红细胞比直接抗人球蛋白试验多数百倍,此方法一旦出现阳性结果,即可明确诊断<sup>[7]</sup>。抗体释放试验是确证试验<sup>[8]</sup>,对临床早期诊断、评估疾病程度、选择治疗方案有其特殊的指导意义。

本研究结果显示,722释放阳性的血液标本中,酸和热放散都为阳性610例,符合率为84.49%,可见释放试验是敏感度较高的一项试验。酸放散阴性而热放散阳性71例,占9.83%;酸放散阳性而热放散阴性41例,占5.68%。说明释放试验如果只选用单一酸放散,不被检出的患儿有71例;如果只选用单一热放散,不被检出的患儿有41例,从而可能被漏诊或误诊。因此,两种放散方法联合检测为临床早期诊断,选择正确的治疗方案进行治疗提供了依据,避免因延误病情所产生的不良后果。因此作者认为两种放散方法联合检测具有广泛的临床应用和推广意义。

## 参 考 文 献

- [1] 马晓红,韩林,毛潇君.新生儿ABO溶血病10年病例回顾分析[J].中国优生与遗传杂志,2001,9(6):76.
- [2] 刘毅,刘衍春,刘洪莉,等.微柱凝胶技术在新生儿溶血病血清学检查中的运用[J].临床检验杂志,2005,23(1):43-45.
- [3] 高志峰,胡丽华,雒维.新生儿溶血病血清学检查2种方法的对比研究[J].临床血液学杂志,2008,21(8):409.
- [4] 童军,杨文冲,刘颖,等.酸放散方法对弱D抗原的筛选研究[J].中国实验诊断学杂志,2006,10(9):1022.
- [5] 李勇,马学严.实用血液免疫学血液理论和实验技术[M].北京:科学出版社,2006:628-633.
- [6] 胡丽华.临床输血检验-实验指导[M].北京:中国医药科技出版社,2010:30-31.
- [7] 胡丽华.临床输血检验[M].北京:中国医药科技出版社,2004:155-158.
- [8] Brumit MC, Stubbs JR. Conventional tube agglutination with polyethylene glycol versus red cell affinity column technology (Re-ACT): a comparison of antibody detection methods[J]. Ann Clin Lab Sci, 2002, 32(2):155-158.

(收稿日期:2014-11-10)