

青霉烯酶和 NDM 的菌株耐药机制复杂,往往一种菌携带好几个耐药基因,不仅可对碳青霉烯类抗菌药物耐药,同时也可对喹诺酮类、头孢菌素等多种常用抗菌药物耐药,并且通过质粒进行耐药性传递,引起严重的医院感染。常用抗菌药物对其无效,目前治疗可以考虑联合使用多黏菌素 B 和多利培南,但其疗效尚需进一步研究。

在 497 株非产酶的大肠埃希菌中,氨曲南、头孢西丁、头孢替坦、头孢他啶、头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南、氨苄西林/舒巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星等 11 种抗菌药物显示出极高的抗菌活性,未出现耐药株。说明非产酶大肠埃希菌感染可首选以上任何一种药物治疗,而磺胺甲噁唑/甲氧苄啶的耐药率已高达 35.61%,已不适合选用。

总耐药率研究表明在治疗大肠埃希菌感染中,碳青霉烯类抗菌药物抗菌活性最强,其次是头孢替坦及阿米卡星,其他依次是阿米卡星、呋喃妥因、哌拉西林/他唑巴坦及头孢西丁。

值得关注的是头孢替坦在同时产 ESBLs 与 AmpC 时,耐药率占 28.82%,而在单产 ESBLs、单产 AmpC 时及非产酶株中均未出现耐药株,显示出极高的抗菌活性。说明该药也可作为治疗大肠埃希菌感染的首选药之一。

综上所述,产酶大肠埃希菌多药耐药形势严重,密切关注多药耐药大肠埃希菌在临床的流行情况,分析总结其耐药规律和特点,最好结合药敏报告有针对性地选择相应合理的抗菌药物,对提高治疗效果,延缓细菌耐药有着十分重要的意义。

参考文献

[1] Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study[J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(9): 597-602.

[2] Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of

beta-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(3): 969-976.

[3] 劳小斌, 刘小强, 邱春嫦, 等. 广州地区肠杆科细菌产超广谱 β -内酰胺酶与 AmpC 酶的检测及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(23): 5650-5652.

[4] 陈枫, 黄永茂, 曹勇, 等. 产 ESBLs 大肠埃希菌耐药性及基因型分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(2): 123-125.

[5] 招恒泉, 马均宝, 刘红军. 超广谱 β -内酰胺酶基因分型特点及其对抗菌药物敏感性分析[J]. 中国药物经济学杂志, 2016, 1(5): 185-187.

[6] 唐婧媚, 黄永茂. AmpC β -内酰胺酶致细菌耐药机制的研究进展[J]. 西南军医, 2014, 16(3): 300-302.

[7] 张戡, 邓敏, 谢新生, 等. 产 AmpC 酶肺炎克雷伯菌质粒介导的多药耐药性与基因型研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(1): 7-9.

[8] 杨莉, 张红岩. 碳青霉烯酶基因型研究进展[J]. 中国微生物学杂志, 2014, 26(3): 366-368.

[9] 卢玲玲, 郑国军, 涂斐佩, 等. 大肠埃希菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药机制研究[J]. 中国抗菌药物学杂志, 2016, 41(4): 296-300.

[10] 李智伟, 朱玥洁, 马秀敏, 等. 新疆地区 2807 株肺炎克雷伯菌耐药性变迁特点[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(1): 39-41.

[11] Johnson AP, Woodford N. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance[J]. J Med Microb, 2013, 62(Pt 4): 499-513.

(收稿日期: 2017-03-16 修回日期: 2017-05-16)

• 临床研究 •

一种乙型肝炎病毒核酸 PCR 定量检测试剂的性能验证*

王战争¹, 冯飞雪², 肇玉博², 杨 洋¹, 李钰乐¹, 马艳侠^{2△}

(1. 陕西中医药大学医学技术学院, 陕西咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学附属医院检验科, 陕西咸阳 712000)

摘要:目的 验证和评价一种乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)定量 PCR 检测试剂的性能。方法 根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI) EP 系列文件和 ISO15189:2012 的相关要求对试验试剂的精密度、正确度、可报告范围、定量检测限进行评价。结果 精密度:高值(10^6 IU/mL)、低值(10^3 IU/mL)标本检测浓度对数值的批内变异系数(CV)分别为 3.27%、4.00%,批间 CV 分别为 4.84%、4.89%;正确度:试验试剂与比对试剂具有较好的相关性,直线回归方程为 $Y=1.006 2X+0.226 4$, $r^2=0.984 7>0.95$;可报告范围:试验试剂在 $4.76 \times 10^2 \sim 4.76 \times 10^8$ IU/mL 范围内具有良好的线性($Y=0.995 9X+0.183 9$, $r^2=0.999>0.95$);定量检测限为 500 IU/mL。结论 试验试剂的各项检测性能与厂家声明相符。

关键词:乙型肝炎病毒核酸; 定量检测; 精密度; 可报告范围; 正确度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.15.029 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2017)15-2098-04

乙型肝炎病毒(HBV)感染可引起急慢性乙型肝炎、肝硬化、肝癌等。根据世界卫生组织统计,全球大约有 20 亿人曾经感染过 HBV,约有 3.5 亿慢性乙型肝炎感染者^[1]。据最近一

次全国乙型肝炎流行病学调查结果显示,我国 HBV 感染率为 7.18%^[2]。HBV 荧光定量 PCR 的检测可以直接反映患者体内 HBV DNA 的含量、感染状况、抗病毒疗效,对乙型肝炎的

* 基金项目:陕西省社会发展科技攻关项目(2016SF-177)。

△ 通信作者, E-mail:13991038586@163.com。

诊断、治疗和预后有重要意义^[3-4]。目前国内乙型肝炎定量 PCR 检测试剂多采用碱裂解法和煮沸法提取核酸,其缺点是操作步骤多,裂解不充分,容易丢失核酸,易交叉污染^[5-6]。湖南圣湘生物科技有限公司“一步法”乙型肝炎病毒核酸检测试剂,不需要核酸的浓缩和提取^[7],减少了核酸的丢失和污染,操作简单^[8]。为了验证该试剂的各项性能参数是否符合要求,本研究参照《医学实验室质量和能力认可准则》ISO15189:2012^[9]和美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP 系列文件^[10-13]对湖南圣湘生物科技有限公司提供的 HBV DNA 检测试剂进行性能验证,现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 血清标本选自本实验室日常检测血清标本 40 份,其中阴性血清标本 4 份,来自健康体检者,且由试验试剂(湖南圣湘生物科技有限公司)和比对试剂(广东达安基因股份有限公司)均验证为阴性,阳性血清标本 36 份,所有标本放-20℃冰箱内保存备用。

1.2 仪器与试剂 美国应用生物系统公司(ABI)7300 型实时荧光定量 PCR 仪,杭州奥盛干式恒温器,Hema 冷冻高速离心机,湖南圣湘生物科技有限公司 HBV DNA 检测试剂盒(批号 2016007),广东达安基因股份有限公司 HBV DNA 检测试剂盒(批号 2016011)。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP05-A2^[10]相关要求,取高值(10^6 IU/mL)、低值(10^3 IU/mL)血清标本各一份,用试验试剂分别检测,每个标本做 10 个复孔,此为批内试验;再连续 5 个工作日重复检测高值(10^6 IU/mL)、低值(10^3 IU/mL)血清标本,每份标本做 3 个复孔,此为批间试验;分别计算批内、批间的均值、标准差(SD)及变异系数(CV),比较批内和批间 CV 值是否符合厂家声明的小于 5%。

1.3.2 正确度验证 参照 CLSI EP15-A2^[11]文件执行,从日常检测的血清标本中随机抽取 40 份。其中阴性血清标本 4 份,阳性血清标本 36 份;阳性标本水平为 $10^2 \sim 10^8$ IU/mL,用比对试剂和试验试剂同时检测。所有操作严格按照试剂和仪器说明书进行。

1.3.3 可报告范围验证 参照 CLSI EP06-A^[12]相关要求,试验试剂说明书提供的可报告范围为 $1 \times 10^2 \sim 5 \times 10^9$ IU/mL;选本实验室收集到的最高浓度阳性标本(4.76×10^8 IU/mL),用混合阴性血清 10 倍浓度梯度稀释至 10^2 浓度,用试验试剂检测,每个稀释浓度做 2 个复孔。

1.3.4 定量检测限验证 参照 CLSI EP17-A2^[13],选用试验试剂检测的 500 IU/mL 浓度水平标本,用混合阴性血清按原倍、2 倍、5 倍稀释,然后分别分装冻存于-20℃冰箱;用试验试剂测定,每天 2 批,每批间隔时间大于 2 h,共检测 5 d。计算均值、SD、CV。根据室间质量评价的允许误差及临床需求,设定本实验室 HBV DNA 的允许总误差(TEa)为 20%,在不考虑偏倚的情况下,TEa=2CV,所以 $CV \leq 1/2 TEa$ 对应的浓度即为定量检测限。

1.4 质控 所有试验均做阴性、弱阳性质控,质控在控结果才有效,否则需要重新检测。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理及统计学分析,所有的检测结果均进行以 10 为底的对数转换,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组定量指标的一致性检验参照文献^[14], $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 精密度 根据定量结果显示高值(10^6 IU/mL)标本,低值(10^3 IU/mL)标本的批内和批间 CV 值均小于 5%,符合厂家声明。见表 1。

表 1 批内和批间精密度试验结果(log 值)			
试验类型	浓度	均值($\bar{x} \pm s$)	CV(%)
批内试验	高值(10^6 IU/mL)	6.12±0.20	3.27
	低值(10^3 IU/mL)	3.25±0.13	4.00
批间试验	高值(10^6 IU/mL)	6.40±0.31	4.84
	低值(10^3 IU/mL)	3.07±0.15	4.89

2.2 正确度验证 2 种试剂检测结果相关性较好,直线回归方程为 $Y=1.006 2X+0.226 4$, $r^2=0.984 7 > 0.95$,系数 b 的 95%可信区间为(0.963 2,1.049 0),包括 1;截距 a 的 95%可信区间为(-0.006 4,0.459 2),包括 0;说明 2 种试剂具有较好的一致性,符合厂家声明。见图 1。

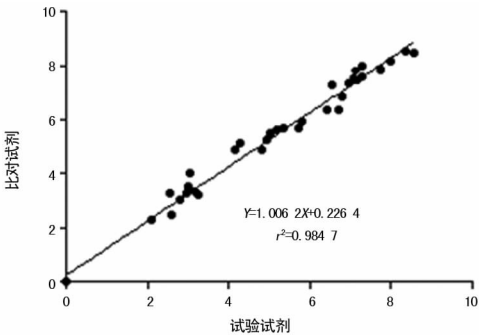


图 1 比对试验回归曲线(log 值)

2.3 可报告范围 本次试验得到的线性范围是 $4.76 \times 10^2 \sim 4.76 \times 10^8$ IU/mL,在厂家声明范围 $1 \times 10^2 \sim 5 \times 10^9$ IU/mL 内。根据定量结果得直线回归方程为: $Y=0.995 9X+0.183 9$, $r^2=0.999 0 > 0.95$,b 为 0.97~1.03,结果显示试验试剂检测结果为 $4.76 \times 10^2 \sim 4.76 \times 10^8$ IU/mL,具有很好的线性。见图 2。

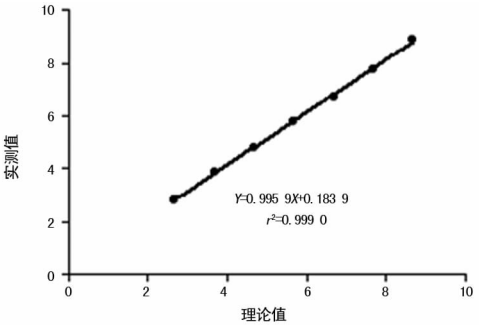


图 2 线性试验回归曲线(log 值)

2.4 定量检测限验证 500 IU/mL 浓度水平的标本 CV 值为 8.03% $<10\%$,符合目标误差要求,所以试验试剂的定量检测限为 500 IU/mL。见表 2。

表 2 定量检测限结果(log 值)		
浓度(IU/mL)	均值($\bar{x} \pm s$)	CV(%)
100	2.04±0.25	12.25
250	2.37±0.28	11.81
500	2.74±0.22	8.03

3 讨 论

ISO15189:2012 要求每当试剂盒的试剂组分或试验过程改变,或使用新批号或新货号的试剂盒之前,应进行性能验证^[9]。目前还没有权威的机构发布分子生物学领域性能验证的具体方案,本次研究参考 CLSI EP 系列文件旨在对湖南圣湘生物科技有限公司提供的一种 HBV DNA 检测试剂进行方法学评价,具体内容包括精密度、正确度、可报告范围、定量检测限。

精密度是指连续多次重复检测结果的一致性,包括批内和批间精密度。参照 CLSI EP05-A2^[10]和文献^[15],据表 1 结果显示高值(10^6 IU/mL)标本、低值(10^3 IU/mL)标本批内 CV 值分别为 3.27% 和 4.00%,批间 CV 值分别为 4.84% 和 4.89%,均小于厂家声明的 CV(5%)。

正确度指重复测量均值与真值的接近程度,通常用偏倚表示,是性能验证的重要内容。CLSI EP15-A2^[11]要求的正确度验证方案有两种,第一种方案是检测具有指定值的参考物质,第二种方案是用试验方法与比对方法同时检测患者血清标本。对于第一种方案,参考物质的基质与患者血清标本的基质不一样,在实际操作中不能反映真实情况,而且不易获取。结合本实验室实际情况,以及为了更好地满足临床需求,本次试验采用了第二种方案,用试验方法和比对方法同时检测患者血清标本,比较两种方法结果偏倚是否在可接受范围。参照文献^[14]将试验结果进行直线回归分析,检测斜率 b 和截距 a 与 1 和 0 之间的差别是否有统计学意义,结果显示 b 和 a 的 95% 的可信区间分别包括 1 和 0,说明按 $\alpha=0.05$ 的检验水准下,2 组差异无统计学意义($P>0.05$),试验试剂与比对试剂的检测结果一致,检测性能相当。此外,本次试验还用试验试剂检测了 2016 年国家卫生和计划生育委员会和陕西省临床检验中心室间质评标本,PT 成绩为 100%。

可报告范围是指检测方法可报告的所有结果范围即检测线性范围;根据 CLSI EP06-A^[12]要求,结合文献^[16],厂家声明的线性范围最高限为 5×10^9 IU/mL,而本实验室收集到的最高浓度血清标本为 4.76×10^8 IU/mL,以此为上限 10 倍浓度梯度稀释至 10^2 浓度水平,结果显示检测系统在 $4.76 \times 10^2 \sim 4.76 \times 10^8$ IU/mL 范围内呈线性。

定量检测限确定参照 CLSI EP17-A2^[13]文件,检测限包括空白限、检出限和定量检测限。定量检测限是可靠的检测分析物的最低实际浓度,并且观察到的检测结果不确定性小于或等于实验室设定的目标或者方法。结合本实验室实际情况,本次定量检测限的验证方法为取试验试剂检测的 1 个低浓度标本(500 IU/mL)倍比稀释后;做多标本、多天、重复测定,然后分析结果, $CV \leq 1/2$ 允许总误差(10%)对应的浓度即为定量检测限,表 2 结果显示试验试剂的定量检测限为 500 IU/mL。

最近几年来一步法提取 HBV 核酸已有报道^[3,17-19],湖南圣湘生物科技有限公司提供的一步法(免核酸提取法)核酸提取试剂,是在 PCR 反应管中加入 $5 \mu\text{L}$ 的核酸释放剂,再分别加入 $5 \mu\text{L}$ 血清标本、阴、阳性对照品,以及标准品,吸打 3~5 次混匀,室温下静置 10 min,然后每管加入 $40 \mu\text{L}$ PCR 反应液,上机检测;其操作简单,提取率高,无加热、离心等操作,核酸没有损失,全部被转入扩增^[3],可满足临床实验室 HBV DNA 检测的要求,但试验试剂是 $5 \mu\text{L}$ 核酸释放剂加 $5 \mu\text{L}$ 血清标本,加样量少,需要精密的移液器,对操作人员的技术要求高。为避免人为因素及移液器造成的系统误差,我国已有多家医院检验科使用全自动核酸提取扩增一体工作站,保证了检验

结果的准确性。

综上所述,试验试剂具有较好的检测性能,方法学评价内容(精密度、正确度、可报告范围、定量检测限)均与厂家声明一致。

参考文献

- [1] World Health Organization. Hepatitis B Fact Sheet N° 204 [EB/OL]. [2016-04-28]. <http://www.who.int/media-centre/factsheets/fs204/en/index.html>
- [2] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2015,9(5):570-589.
- [3] 李兵,王敏,徐六妹,等.三种 HBV 荧光定量 PCR 试剂的比较及结果分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2010,24(4):301-304.
- [4] 李金明.实时荧光 PCR 技术[M]. 北京:人民军医出版社,2007:190-198.
- [5] 张耀辉,刘志锋,吴健玲.血清 HBV-DNA 模板不同提取方法的比较和选择[J]. 临床和实验医学杂志,2010,9(1):40-41.
- [6] 范公忍,韩聚强,胡学玲,等.两种核酸提取方法对血清 HBV DNA 荧光定量检测结果的影响[J]. 中国卫生检验杂志,2013,23(9):2110-2114.
- [7] 陆金春,冯瑞祥,张敏,等.一种新型快速定量检测 HBV DNA 试剂的评价[J]. 临床检验杂志,2012,30(12):976-977.
- [8] 荆成宝,禹梅,刘婕.2 种 HBV-DNA 荧光定量 PCR 检测试剂的比较[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(2):206-207.
- [9] International Organization for Standardization. ISO15189 Medical laboratories-requirements for quality and competence[S]. Geneva:ISO,2012.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP05-A2 Evaluation of precision performance of quantitative methods[S]. 2nd edition. Wayne,PA,USA:CLSI,2004.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 User verification of performance for precision and trueness [S]. 2nd edition. Wayne,PA,USA:CLSI,2005.
- [12] Clinical and Laboratory Standards. Institute. EP06-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures;a statistical approach[S]. Wayne,PA,USA:CLSI,2003.
- [13] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP17-A2 Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures [S]. 2nd edition. Wayne,PA,USA:CLSI,2012.
- [14] 胡良平.检验医学科研设计与统计分析[M]. 北京:人民军医出版社,2004:185-186.
- [15] 罗浩元,雷艳梅,刘集鸿,等.电化学发光法检测抗甲状腺过氧化物酶抗体的性能验证及其在甲状腺疾病中的诊断价值[J]. 实验与检验医学,2015,33(1):77-79.
- [16] 冯洋,徐上放,鲁静.OLYMPUS AU640 型全自动生化分析仪性能验证[J]. 实验与检验医学,2014,32(2):229-232.

[17] 龙幼敏,明凯华,陈英姿,等. 一种免核酸提取 HBV-DNA 荧光定量 PCR 试剂盒临床应用价值的评估[J]. 临床医学工程,2011,18(5):652-653.

[18] 李成德,黄晓佳,陈雄毅. 不同核酸提取方法在 HBV DNA 荧光定量检测中的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2010,31(12):1361-1363.

[19] 陈雪初,叶剑荣,蔡俊平. HBV DNA 免提取核酸荧光定量 PCR 检测法应用评价[J]. 中国现代医学杂志,2012, 22(11):25-29.

(收稿日期:2017-03-26 修回日期:2017-05-26)

• 临床研究 •

不规则抗体致新生儿溶血病的实验检测结果回顾性分析*

杨 茹,任 明,沈 钢
(武汉血液中心输血研究室,武汉 430030)

摘 要:**目的** 探讨不规则抗体导致的新生儿溶血病(HDN)实验室检查及临床输血策略。**方法** 对武汉血液中心 2015 年 1 月至 2016 年 6 月接收的 3 324 例患儿标本中,由不规则抗体导致的 HDN 检测结果进行回顾性分析。**结果** 3 324 例患儿标本中,Rh 系统导致的 HDN 25 例(其中含 Rh 系统合并 ABO 系统 HDN 1 例,抗-D 抗原遮蔽现象导致的 HDN 1 例),MNS 血型系统 2 例,Diego 血型系统 1 例。**结论** 不规则抗体导致的 HDN 以 Rh 系统居多,判断由不规则抗体导致的 HDN 应结合抗体检测结果、直抗试验、游离试验及放散试验结果进行综合分析。

关键词:新生儿溶血病; 不规则抗体; 直接抗人球蛋白; 游离放散
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 15. 030 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)15-2101-02

在日常工作中,经常会遇到一些由于母亲体内有不规则抗体而导致的新生儿溶血病(HDN),所谓不规则抗体,指的是血清中抗-A、抗-B 以外的其他血型抗体。且这类患儿红细胞与母亲血清中的抗体性质一时都难以确定,需综合分析。本研究回顾性分析了武汉血液中心 2015 年 1 月至 2016 年 6 月接收的标本中具有代表性的因不规则抗体导致的 HDN 实验室检测结果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本中心 2015 年 1 月至 2016 年 6 月接收的 3 324 例患儿标本中,因不规则抗体导致的 HDN 患儿 28 例进行分析。Rh 系统 25 例,包含 Rh 系统合并 ABO 系统溶血病 1 例,抗 D 抗原遮蔽现象导致的 HDN 1 例;其他抗体导致的 HDN 较少见,其中包含 MNS 血型系统 2 例,Diego 血型系统 1 例。

1.2 仪器与试剂 久保田免疫血液学离心机(型号:KA-2200,日本),恒温水浴箱(国华,型号:HH-60),微柱凝胶仪离心机、微柱凝胶仪空气浴(Bio-Rad,美国,型号:12S II、37 S I),微柱凝胶卡(Bio-Rad,美国,批号:50531. 07. 06),抗-A、-B 标准血清(长春博德,批号:20151005),谱细胞(上海血液生物医药公司,批号:20153002、20163201、20160405、20163301、20151224、20160104),O 型筛选细胞、抗-M 单克隆抗体、抗-N

单克隆抗体,直接抗人球蛋白(抗-IgG+C3d)、直接抗人球蛋白(抗-IgG)、直接抗人球蛋白试剂(抗-C3d)(上海血液生物医药公司,批号:20167015、20141031、20150202、20151127、20155101、20151224),抗-D(IgG/IgM)单克隆抗体(Sanquin,荷兰,批号:8000221333)、谱细胞(Sanquin,荷兰,批号:8000230103),A 细胞、B 细胞均为本站自制。

2 结 果

2.1 不规则抗体致 HDN 抗体分布 2015 年 1 月至 2016 年 6 月,因不规则抗体导致的 HDN 患儿 28 例,其中 Rh 系统共 25 例,包括抗-D 16 例,抗-E 4 例,抗-c 2 例,抗-E 合并抗-D 3 例;MNS 系统 2 例,即抗-M 2 例;Diego 系统 1 例,即抗-Dia 1 例。

2.2 1 例 Rh 系统合并 ABO 系统溶血病的溶血 3 项实验结果 1 例 Rh 系统合并 ABO 系统溶血病的患儿,血型为 A 型,Rh(+),溶血三项实验检查结果为:直抗 1+,游离试验 A 细胞 1+,B 细胞(-),O 细胞(±),放散试验 A 细胞 1+,B 细胞 1+,O 细胞 1+。

2.3 2 例抗-M 导致的 HDN 谱细胞检测结果 从 2 例抗-M 患儿的谱细胞反应格局可以看出为典型的抗-M 导致的 HDN,在盐水下有较强的反应,此 2 例抗-M 导致的 HDN 均为 IgM+IgG 型。见表 1。

表 1 2 例抗-M 导致的 HDN 谱细胞检测结果

M 谱细胞格局	1(-)	2(-)	3(+)	4(-)	5(+)	6(+)	7(+)	8(+)	9(-)	10(+)	11(-)	自身
患儿 1(盐水)	—	—	4+	—	3+	3+	3+	3+	—	3+	—	2+
患儿 1(抗人球蛋白)	—	—	1+	—	±	1+	±	±	—	±	—	—
患儿 2(盐水)	—	—	4+	—	4+	4+	3+	3+	—	4+	—	1+
患儿 2(抗人球蛋白)	—	—	1+	—	3+	3+	3+	3+	—	3+	—	—

* 基金项目:武汉市卫生与计划生育委员会科研项目(WG14A03)。