

[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)。

3 讨 论

HDN 是在胎儿或新生儿早期发生的一种免疫溶血性疾病, 容易引起新生儿体内红细胞溶解、破坏, 严重者可危及生命。因此, 需要早期检测、早期诊断、早期治疗。HDN 在我国主要发生在 ABO 血型系统, 其次是 Rh 血型系统, 其他血型系统较少见^[1]。如 2.1 所示, 本中心 2015 年 1 月至 2016 年 6 月由于体内不规则抗体导致的 HDN 病例中, 绝大多数属于 Rh 系统导致的溶血病, 其他系统偶有检出。临床观察结果显示, 当抗-D 效价大于或等于 16 时, 对 HDN 意义较大; 其他不规则特异性抗体大于或等于 8 时, 对 HDN 意义较大^[2]; 但抗体效价的高低, 不能作为判断 HDN 是否绝对发生, 以及严重程度的唯一标准, 必须全面综合临床情况做出诊断。

Rh 血型系统有 D、E、C、c、e 5 种抗原, 以 D 抗原的抗原性最强, 因此 Rh 系统以抗-D 引起的 Rh-HDN 相对多见, 也可见抗-E、抗-C、抗-c, 以及 Rh 双抗体和三抗体的联合抗体报道。由于新生儿的 A(B) 抗原未发育完全, 许多新生儿 ABO-HDN 血液标本的直抗呈弱阳性甚至阴性。而 Rh-HDN 的直抗试验则相当强, 一般都等于或大于 2+。因此新生儿直抗试验阳性的强弱是区别 ABO 和 Rh 溶血病的重要标志。在面对 Rh 孕妇导致的 HDN 时, 如果母亲血型为非 O 型的 Rh 阴性血, 往往通过患儿的血浆, 患儿的放散液, 母亲的血浆 3 套谱细胞加上直抗试验的结果基本可以确定 HDN 的类型。如果母亲为 O 型 Rh 阴性血, 则在考虑 Rh-HDN 的同时, 还需要考虑是否合并有 ABO-HDN。因为胎儿红细胞进入母体后迅速被抗-B 或抗-A 破坏, 所以这类患儿直抗试验结果往往较弱。据文献报道, 如果 Rh 阴性经产妇与其所孕育的 Rh 阳性胎儿的 ABO 血型相合, 其发生 Rh 溶血危险性约 16%, 如果母婴的 ABO 血型不合, 则其危险性仅 2%^[3]。遇到此类患儿的标本, 笔者认为可以找与患儿 ABO 血型同型的 Rh 阴性血液标本与患儿的血浆及放散液反应, 如果有反应, 可证实该患者有 ABO-HDN。值得一提的是, 大多数人认为 Rh-HDN 多发生在经产妇, 因此第一胎往往不做考虑, 但也有报道产妇第一次妊娠时仍可能发生 Rh-HDN。此种情况发生于“外祖母学说”, 即产妇自己的母亲为 Rh 阳性, 产妇本人在胎儿时已接受过一定数量 Rh 阳性母亲血致敏, 当产妇第一次妊娠时, 若胎儿血型与其不合, 又有少量胎儿血进入母体内, 即可产生足够量的 Rh(IgG) 抗体, 导致婴儿发病^[4]。此外, 笔者发现 1 例患儿直抗试验结果为 4+ 强阳性, 患儿血清用盐水 IgG、IgM 抗-D 试剂检测均为阴性, 母亲为 Rh 阴性血液的情况。此种情况应高度怀疑为 D 抗原遮蔽现象导致的抗-D 假阴性。发生的机制为母亲体内存在高效价的 IgG 抗-D, 导致新生儿红细胞上的 D 抗原位点完全封闭, 以致于红细胞上没有多余的 D 位点与血清试剂起反应^[5]。此类标本应将患儿的红细胞进行热放散, 取放散液进行定型或在 2~3 d 后重新抽取患儿的血液标本定型。因此, 对于 Rh 阴性血液的孕产妇, 要考虑各种可能发生的情况, 根据“三项试验”, 即直抗试验、游离试验及放散试验做出诊断。Rh-HDN 输血治疗的一般血型选择为 Rh 血型同母亲, ABO 血型同新生儿或 O 型血, 血液成分选择洗涤红细胞和 AB 型血浆(换血用)。实际工作中寻找 RhE 及 Rhc 阴性血比寻找 RhD 阴性的血要容易。

一些低频抗原导致的 HDN 是工作中容易误判的情况, 此类标本一般直抗试验结果较强, 但游离和放散试验往往呈弱阳性, 甚至为阴性。遇到此类标本, 笔者建议先做 IgG 类、C3 类

直抗试验检测, 如果为 C3 类, 则不考虑 HDN。如果为 IgG 类, 对新生儿血浆、放散液上谱细胞进行检测, 必要时加做母亲的抗体鉴定。当母婴 ABO 血型相合时, 可做母子试验, 若为阳性则可进一步验证低频抗原的存在。本文中检测出 2 例抗-M; 1 例抗-Dia。MN 血型共有 3 种 MN 血型: M、N、MN, 抗-M 抗体大多数属于 IgM 型的天然抗体, 它与 M+N- 细胞反应要强于 M+N+ 的细胞, 具有剂量效应。此血型系统的标本有可能出现直抗试验为(—), 放散试验为(—), 但游离试验为(+)的情况。分析其原因可能为患儿体内的抗-M 抗体被大量消耗。抗-M 溶血病患者输血的原则一般认为是选择与患儿 ABO、Rh 同型的 NN 型红细胞。病情严重达到换血指征者, 则选择与患儿 ABO、Rh 同型的 NN 型全血或 ABO、Rh 同型的 NN 型红细胞加 ABO、Rh 同型血浆进行换血^[6]。Dia 和 Dib 抗原在人出生时就已经发育成熟。IgG-Dia 抗体能够造成严重的 HDN^[7]。而 Dia 抗原为东方人种特异标记, 因此, 实验室用于抗体鉴定的进口谱细胞中往往不含有 Di(a+) 细胞, 国产谱细胞中一般可以检测 Digeo 血型。对于此类标本的输血, 笔者认为在患儿血清致病性抗体的性质一时不能确定, 难以配上相合的血液, 而患儿病情危急不能延误的紧急情况下, 如果患儿体内抗体滴度并不高, 输注患儿血型相同的血液进行换血治疗是可行的。因为通过换血可以将患儿体内的抗体大部分移除。即使还会发生抗原抗体反应, 溶血程度也会大大减轻, 必要时可以进行二次换血。

由不规则抗体导致的 HDN 应引起高度重视。这类标本大多数情况下需要先用谱细胞进行抗体鉴定, 结合直抗试验、游离试验、放散试验结果综合分析^[8]。在某些特殊情况下, 如患儿重度贫血、抗体效价较低、抗体被消耗、标本严重溶血等, 用患儿血液标本的结果不足以诊断 HDN 时, 可以通过其父母的血液标本进一步检测来辅助诊断。

参考文献

- [1] 李军, 周勇, 胡月圆, 等. 新生儿溶血病血清学变化特征分析[J]. 中国新生儿科杂志, 2015, 30(2): 108-111.
- [2] 中国医师协会输血科医师分会. 新生儿溶血病(HDN)免疫血液学试验推荐方案[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(2): 95-100.
- [3] 黄颖, 林甲进, 施顺秋. Rh 新生儿溶血病 21 例分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(10): 94-95.
- [4] 王丹, 蔡紫珍. 非抗-D 所致新生儿 Rh 溶血病的实验室诊断与输血治疗的血液选择[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(11): 953-955.
- [5] 张秋会, 于长江, 张献清. 新生儿溶血病致 D 抗原遮蔽现象引起 D 抗原假阴性的鉴定与分析[J]. 临床血液学杂志, 2013, 26(4): 219-221.
- [6] 边巴卓玛, 夏斌, 伍金林. 新生儿 MN 血型不合溶血病 3 例报道暨文献复习[J]. 中国新生儿科杂志, 2014, 29(1): 22-26.
- [7] 左琴琴, 王红, 吴大洲, 等. IgG-Dia 抗体致新生儿溶血病 1 例[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(11): 1403-1404.
- [8] 聂锋, 赵慎. 新生儿溶血病 3 项试验在临床中的应用[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(11): 1203-1204.