

· 论 著 ·

2 208 例疑似新生儿溶血病血清学检测 results 分析

何柏霖

(重庆医科大学附属儿童医院输血科, 重庆 400010)

摘 要:**目的** 探讨新生儿溶血病(HDN)血清学检测与患儿性别、血型、日龄之间的关系,分析溶血 3 项试验对 HDN 的诊断价值。**方法** 对 2 208 例疑似 HDN 患儿的血样标本进行 ABO 和 Rh 血型鉴定、直接抗人球试验、游离试验、释放试验检查,以上试验均采用微柱凝胶法检测。**结果** 在 2 208 例中,有 1 021 例确诊为 ABO-HDN。不同性别新生儿 HDN 阳性率差异有统计学意义($\chi^2=15.461, P=0.000$);A 型和 B 型患儿 HDN 阳性率差异有统计学意义($\chi^2=25.714, P=0.000$);随着患儿日龄增大,HDN 阳性率逐渐降低。在确诊为 ABO-HDN 的患儿中,直抗试验阳性率为 19.59%,游离试验阳性率为 96.96%,释放试验阳性率为 100.00%。**结论** HDN 主要发生于 ABO 血型系统,患儿性别、血型与 HDN 阳性率与有关,患儿日龄越小,HDN 阳性率越高。释放试验的准确率最高,且是诊断 ABO-HDN 的最有力证据。

关键词:新生儿溶血病; 直抗试验; 游离试验; 释放试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.02.022 **中图法分类号:**R722.18;R446.1

文章编号:1673-4130(2020)02-0217-04 **文献标识码:**A

Analysis of serological test results of 2 280 suspected cases of hemolytic disease of newborn

HE Bolin

(Department of Blood Transfusion, Children's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

Abstract:**Objective** To explore the relationship between the serological detection of hemolytic disease of newborn (HDN) and the sex, blood type and age of the children, and to analyze the diagnostic value of three hemolytic tests for HDN. **Methods** ABO and Rh blood group identification, direct anti human cell test, free test and release test were carried out on the blood samples of 2 208 suspected HDN patients. All the above tests were detected by microgel method. **Results** Of the 2 280 cases, 1 021 were diagnosed as ABO-HDN. The positive rate of HDN was statistically significant ($\chi^2=15.461, P=0.000$); the positive rate of HDN was statistically significant ($\chi^2=25.714, P=0.000$) in type A and type B infants; the positive rate of HDN decreased with the increase of age. In the diagnosis of ABO-HDN, the positive rate of direct antiglobulin test was 19.59%, the positive rate of free anti-human globulin assay was 96.96%, and the positive rate of antibody release assay was 100.00%. **Conclusion** HDN mainly occurs in ABO blood group system. The gender, blood group and HDN positive rate are related to each other. The younger the children are, the higher the HDN positive rate is. The release test has the highest accuracy and is the most powerful evidence for the diagnosis of ABO-HDN.

Key words: hemolytic disease of newborn; direct antibody test; free test; release test

新生儿溶血病(HDN)一般特指母婴血型不合引起的胎儿或新生儿免疫性溶血性疾病。当胎儿从父方继承来的红细胞抗原,恰为母亲所缺乏时,就是母子间血型不合。这种胎儿的红细胞对母亲来说是一种异抗原,当它通过胎盘进入母体后,抗原刺激母体产生相应的免疫抗体。这些抗体又可以通过胎盘进

入胎儿体内,与胎儿红细胞起反应,从而使胎儿红细胞遭到破坏。在已知的可以发生 HDN 的 20 多个血型系统 200 余个血型抗原中,以 ABO 系统最为常见,其次为 Rh 系统,其他如 Kell、Duffy、Kidd 等系统也有报道,但极少见^[1]。HDN 临床症状与溶血程度基本一致,多数 ABO 溶血病患儿主要表现为黄疸、贫

作者简介:何柏霖,男,技师,主要从事输血方面的研究。

本文引用格式:何柏霖. 2 208 例疑似新生儿溶血病血清学检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(2): 217-220.

血, Rh 溶血病症状较重, 多数有不同程度的肝脾增大, 严重者甚至死胎^[2]。本研究回顾性分析本院 2 208 例疑似 HDN 患者的血清学检测结果, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2018 年 1—12 月本院疑似 HDN 新生儿血清标本共 2 208 例。其中患儿男 1 217 例, 女 991 例。分别用乙二胺四乙酸二钾抗凝试管和惰性分离胶、促凝剂促凝试管采取患儿静脉血各 2~3 mL。

1.2 仪器与试剂 全自动配血及血型分析仪、孵育器、离心机、ABO-Rh 血型检测卡和抗人球蛋白检测卡均由 Diagnostic Grifols, S. A. 配套提供, 水浴恒温振荡器由上海博迅实业有限公司提供, 不规则抗体筛查细胞由 Sanquin Reagents B. V. 和上海血液生物医药公司提供。

1.3 方法 HDN 血清学检测均按照《全国临床检验操作规程》^[3]和试剂说明书进行。

1.4 判断标准 通过直抗试验、游离试验、释放试验 3 项结果进行分析诊断。直抗试验以出现凝集为阳性, 游离试验和释放试验以可检出与患儿同血型的标准红细胞反应的抗体为阳性。ABO-HDN 3 项试验中, 有 3 项试验或 2 项试验或单独释放试验为阳性即可判定为 ABO-HDN 阳性, 其他试验组合均不足以判定为阳性^[4]。对于非 ABO-HDN 且直抗试验为阳性者, 则做不规则抗体筛查, 判定是否为其他血型系统溶血。

1.5 统计学处理 试验结果采用 SPSS21.0 进行处理, 计数资料以率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血型及溶血类型分布 总共 2 208 例标本中, 阴性 1 165 例, HDN 阳性例数 1 043 例, 其中 ABO-HDN 1 021 例, 占 HDN 总数的 97.89%, 其他非 ABO-HDN 共 22 例, 占总数的 2.11%。在 ABO-HDN 中, 母亲血型 B 型, 患儿血型 A、AB 型各 1 例; 母亲血型 A 型, 患儿血型 AB 型 1 例。见表 1。

表 1 2 208 例标本血型及溶血类型分布(n)

血型	ABO-HDN	Rh-HDN	MNS-HDN	Duffy-HDN	阴性
A	630	6	1	0	251
B	388	3	0	0	267
O	0	10	0	1	581
AB	2	1	0	0	66
合计	1 021	20	1	1	1 165

2.2 患儿性别与 HDN 阳性率之间的关系 在确诊

的 HDN 患儿中, 男、女患儿阳性率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=15.461, P=0.000$)。见表 2。

2.3 患儿血型与 HDN 阳性率之间的关系 患儿血型为 A、B 阳性率比较, 差异有统计学意义($\chi^2=25.714, P=0.000$)。见表 3。

表 2 性别与 HDN 阳性率之间的关系

性别	总例数(n)	阳性例数(n)	阳性率(%)
男	1 217	529	43.47
女	991	514	51.87

表 3 血型与 HDN 阳性率之间的关系

患儿血型	总例数(n)	阳性例数(n)	阳性率(%)
A	888	637	71.73
B	658	391	59.42
O	592	11	1.86
AB	70	4	5.71

2.4 日龄与 HDN 阳性率之间的关系 日龄与 HDN 阳性率之间的关系见表 4。

表 4 日龄与 HDN 阳性率之间的关系

日龄	总例数(n)	阳性例数(n)	阳性率(%)
1 d	60	37	61.67
2 d	559	348	62.25
3 d	266	159	59.77
4 d	273	140	51.28
5 d	224	93	41.52
6 d	180	69	38.33
7 d	135	55	40.74
>7 d	511	142	27.79

2.5 不同 ABO-HDN 结果组合的构成比 在 1 021 例确诊 ABO-HDN 中, 不同组合的构成比结果见表 5。

表 5 不同 ABO-HDN 结果组合的构成比

直抗试验	游离试验	释放试验	阳性例数(n)	构成比(%)
—	—	+	31	3.03
—	+	+	790	77.22
+	+	+	200	19.55

2.6 确诊 ABO-HDN 3 项试验比较 确诊 ABO-HDN 3 项试验比较结果见表 6。

表 6 确诊 ABO-HDN 3 项试验比较(%)

项目	灵敏度	特异度	准确度
直抗试验	19.58	100.00	44.71
游离试验	96.96	99.78	97.84
释放试验	100.00	100.00	100.00

2.7 非 ABO-HDN 溶血统计结果 22 例非 ABO-HDN 溶血统计结果见表 7。

表 7 非 ABO-HDN 溶血统计结果(n)

血型	抗 D	抗 C	抗 E	抗 c	抗 e	抗-M	抗-Fya
A	3	1	2	0	0	1	0
B	2	0	0	1	0	0	0
O	5	2	2	1	0	0	1
AB	0	0	0	1	0	0	0
合计	10	3	4	3	0	1	1
构成比(%)	43.48	13.04	17.39	13.04	0.00	4.35	4.35

3 讨 论

本研究共收集了 2 208 例标本做 HDN 检查,临床上怀疑为 HDN 而血清学结果不支持诊断共 1 165 例,因为在实际中并非所有新生儿都检测 HDN,只有符合诊断为病理性黄疸标准且母婴血型不合才检测 HDN^[2],或者在交叉合血过程中发现与患儿不相容的抗体时通知医生检测 HDN,故 HDN 阳性率较高,为 47.24%,与部分文献的报道相似^[5-6]。证实为血型免疫抗体引起的 HDN 共 1 043 例,ABO-HDN 有 1 021 例,占 97.89%,与詹洁瑜等^[7]的研究结果(96.26%)非常相近,其中 ABO-HDN 阳性率为 47.24%,男 529 例,阳性率为 43.47%,女 514 例,阳性率为 51.87%,女性患儿的阳性率高于男性患儿,差异有统计学意义($\chi^2=15.461, P=0.000$),这与文献报道一致^[8]。2 208 例中,ABO 血型构成比 A(40.22%)>B(29.80%)>O(26.81%)>AB(3.17%),与同时期全院 ABO 血型表型分布构成比 O(34.62%)>A(32.40%)>B(24.30%)>AB(8.69%)差别较大,因为前文所说并非所有患儿均做了 HDN 检查。对于 O 型患儿,只可能发生非 ABO-HDN,而 ABO-HDN 阳性率高于非 ABO-HDN;又因为红细胞上的 A 抗原位点的数目为 $10.5\times 10^{[9]}$,高于 B 型抗原位点数目 $7.5\times 10^{[10]}$,本研究中患儿血型为 A 型阳性例数为 637 例,阳性率为 71.73%,患儿血型为 B 型阳性例数为 391,阳性率为 59.42%,A 型患儿阳性率高于 B 型患儿,差异有统计学意义($\chi^2=25.714, P=0.000$),与国内的报道相似^[11],故构成比顺序发生了较大变化。值得注意的是,本研究发现母亲血型为 B 型患儿血型分别为 A 型和 AB 型的 ABO-HDN 各 1 例,母亲血型是 A 型患儿血型为 AB 型的 ABO-HDN 1 例,故在临床工作中,遇到母亲血型非 O 型的可疑 HDN 标本,也可能发生 ABO-HDN,应引起重视。

HDN 除引起黄疸外,还能造成重度贫血、低蛋白血症、心力衰竭,可致全身水肿,肝脾肿大,对神经系统造成严重伤害,甚至死亡。治疗的关键在于尽早诊

断,所以要尽早对高危 HDN 患者进行血清学诊断。本研究显示,日龄为 2 d 的新生儿 HDN 检出率最高,为 62.25%,随着日龄增大,检出率也随之降低,超过 7 d 时检出率只有 27.79%。这是由于随着发病时间的延长,致敏的红细胞在肝脏和脾脏中逐渐被破坏,游离的 IgG 抗体逐渐消失,其他 IgG 抗体则以抗原抗体复合物存在,失去了反应原性而出现阴性结果^[12]。所以为提高检测的阳性率和准确性,对可疑的患儿应尽早检测,及时给予光照疗法、药物治疗、换血疗法和其他对症治疗,促进患儿康复。

在最终确诊为 ABO-HDN 的 1 023 例患儿中,以游离试验、释放试验阳性组合占比最高(77.22%),直抗试验、游离试验、释放试验均为阳性占比次之(19.55%),单独释放试验阳性占比为 3.03%。提示发生 ABO-HDN 时,一般都是释放试验阳性伴随着游离和(或)直抗试验阳性,而很少甚至不会出现游离和(或)直抗试验阳性而释放阴性的情况。就 3 项试验灵敏度和准确度来说,直抗试验的灵敏度为 19.58%,显著低于游离试验(96.96%)和释放试验(100.00%);直抗试验准确度为 44.71%,也低于游离试验(97.84%)和释放试验(100.00%),直抗试验和释放试验都是检测红细胞上致敏的血型抗体,游离试验则是检测血浆中的血型抗体。通常来讲直抗试验阳性越强,意味着病情越重,释放试验中使用的红细胞浓度是直抗试验的数百倍,故灵敏度很高,游离试验阳性说明病情持续,在新生儿溶血病诊断上有辅助诊断价值^[13]。所以在 ABO-HDN 3 项试验中,释放试验灵敏度和准确度都是 100.00%,只要是阳性,即可诊断为 ABO-HDN。

Rh 血型系统各抗原的抗原性强弱顺序为 D>E>C>c>e。本研究中,Rh 血型不合引起的 HDN 共 20 例,占总 HDN 的 1.9%,结果分别为抗 D 10 例(50%),抗 E 4 例(20%),抗 C 3 例,抗 c 3 例,抗 e 0 例,与刘曦等^[14]的研究抗 D(52.3%)、抗 E(22.5%)的结果大概一致,说明 HDN 发生率也和 Rh 抗原强弱基本相符。

MNS 血型系统是第 2 个被发现的血型系统,其复杂性仅次于 Rh 血型系统。抗 M 最常见的是 IgM 型抗体,78%的抗 M 中含有部分 IgG 型抗体;大多数抗 N 是 IgM 型,通过多次反复输血或妊娠可以产生 IgG 型抗 N 并表现出明显的剂量效应。大多数抗 M 和抗 N 在 37℃无反应性,但也有部分抗 M 和抗 N 在 37℃有反应性。抗 S 通常是 IgG 型抗体,抗 s 可以是 IgM 型也可以是 IgG 型抗体,但以 IgG 为主,MNS 血型系统引起的 HDN 较罕见,但可导致严重的致死性 HDN,故应重视 MNS 血型系统 HDN 的实验室检

测^[15]。本研究发现了 1 例 IgG 型抗-M 引起的 HDN。Duffy 血型系统共有 6 个抗原,该系统抗体主要是通过输血或妊娠免疫产生,多数为抗-Fya,少数为抗-Fyb,是 IgG 类抗体,多数抗 Fya 引起的 HDN 临床症状较轻。本研究发现了 1 例母亲(G3P3)血型 B 型,患儿血型 O 型的抗-Fya 引起的 HDN。

不同性别和血型的 HDN 检出率有差异,对于可疑的 HDN 患者,应尽早进行检测,可以提高检出率。释放试验是诊断 ABO-HDN 的金指标,一旦阳性即可确诊。因本实验室只对非 ABO-HDN 合并直抗阳性者才做不规则抗体筛查检测,故在实际中如存在不规则抗体而直抗未呈阳性者,可能对其他血型系统引起的 HDN 漏检。在条件允许的情况下,实验室应配备多种谱细胞或用更灵敏的方法来检测抗体,在检测血型时就进行不规则抗体筛查,这样可以避免抗体漏检造成 HDN 类型诊断错误,便于早期治疗,促进新生儿康复。

4 结 论

应尽早对可疑 HDN 患者进行检测,不断规范实验室操作和提高专业技术能力,给医生提供快速准确的临床决策,更好地服务于医院和社会。

参考文献

[1] 刘达庄. 免疫血液学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2002:128-129.

[2] 王卫平. 儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:120-123.

[3] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 北京:人民卫生出版社,2015:139-143.

[4] 崔若帅,刘洋,马春娅,等. 疑似新生儿溶血病血清学检测情况对比观察[J]. 人民军医,2018,61(3):249-252.

[5] 聂锋,杜喆. 新生儿溶血病阳性检出率的差异分析[J]. 蚌埠医学院学报,2017,42(4):505-507.

[6] 吴淑华,苗锐. 150 例高胆红素血症新生儿溶血三项检测及相关影响因素分析[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(9):1134-1137.

[7] 詹洁瑜,舒琳琳,颜思璐,等. 新生儿溶血病 Rh 血型分布与临床分析[J]. 中国医学创新,2017,14(17):113-117.

[8] 杨璇,陈富臻,洪强. 501 例新生儿溶血病筛查结果分析[J]. 中国实验血液学杂志,2019,27(1):192-196.

[9] GEOFF DANIELS. Human blood groups[M]. 3rd edition. West Sussex:John Wiley & Sons,Ltd. ,Publication, 2013:35.

[10] 安万新. 输血技术学[M]. 北京:科学技术文献出版社, 2006:29.

[11] 段灵,胡红兵. 3 256 例高胆红素血症新生儿溶血病血清学检测结果分析[J]. 临床血液学杂志,2018,31(10):754-756.

[12] 夏世勤,周晓璐,王竹英,等. 156 例新生儿溶血病患儿血清学检测结果及相关因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014,35(1):22-24.

[13] 胡丽华. 临床输血学检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012:256-257.

[14] 刘曦,范亮峰,郑皆炜,等. 306 例不规则抗体致新生儿溶血病回顾性研究[J]. 中国输血杂志,2018,31(11):1261-1264.

[15] 张印则,徐华,周华友. 红细胞血型原理与检测策略[M]. 北京:人民卫生出版社,2014:221-222.

(收稿日期:2019-05-14 修回日期:2019-09-27)

(上接第 216 页)

[7] 卢岳,吴彤,王卉,等. 预处理前多参数流式细胞术监测的微小残留病对急性髓系白血病异基因造血干细胞移植预后的影响[J]. 中华血液学杂志,2017,38(2):118-123.

[8] VARDIMAN J W, THIELE J, ARBER D A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. Blood,2009,114(5): 937-951.

[9] STREHL S, KÖNIG M, MANN G, et al. Multiplex reverse transcriptase-polymerase chain reaction screening in childhood acute myeloblastic leukemia[J]. Blood,2001,97(3):805-808.

[10] PETERS J M, ANSARI M Q. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia[J]. Arch Pathol Lab Med,2011,135(1):44-54.

[11] MORTAZA R, ALI R N, BABAK N, et al. Role of CD135/CD117 on prognosis and overall survival of acute myeloid leukemia[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2019,20

(9):2625-2631.

[12] YIAU S K, LEE C, MOHD TOHIT E R, et al. Potential CD34 signaling through phosphorylated-BAD in chemotherapy-resistant acute myeloid leukemia[J]. J Recept Signal Transduct Res,2019,39(3):276-282.

[13] EL DEMELLAWY D, NASR A, ALOWAMI S. Application of CD56, P63 and CK19 immunohistochemistry in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid[J]. Diagn Pathol,2008,3(1):1-12.

[14] WARD M S. The use of flow cytometry in the diagnosis and monitoring of malignant hematological disorders[J]. Pathology,2009,31(4):382-392.

[15] BULDINI B, MAURER M M, VAROTTO E, et al. Flow-cytometric monitoring of minimal residual disease in pediatric patients with acute myeloid leukemia: recent advances and future strategies[J]. Front Pediatr,2019,7: 412.

(收稿日期:2019-06-22 修回日期:2019-10-21)