

• 调查报告 •

某院新生儿溶血病血清学检测结果分析

卢焕兴,黄悦兰,温俊杰
(广东省江门市中心医院输血科 529000)

摘要:目的 通过对该院新生儿溶血病(HDN)血型血清学检测结果的分析,掌握溶血三项试验(直接抗球蛋白试验、抗体释放试验、游离抗体试验)的检测时间和意义。方法 对临床表现符合 HDN 的 338 例新生儿进行血型血清学检测,分析新生儿出生日龄对三项试验检出阳性率的影响以及实验诊断与临床表现的符合率。结果 溶血三项试验阳性率随新生儿出生日龄的增加而降低,338 例新生儿中,出生日龄小于或等于 2 d 者比大于 2 d 者三项试验的阳性率显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$),血清学检测 HDN 与临床表现的符合率为 55.3%。结论 母婴血型不合的新生儿应在出生 2 d 内进行血清学检测,出生日龄大于 2 d 后,免疫性血型抗体可被破坏使检测结果阴性,从而易造成临床误诊。
关键词:新生儿溶血病; 直接抗球蛋白试验; 抗体释放试验; 游离抗体试验
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.020 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)11-1325-02

Significance of serological testing in hemolytic disease of newborn

Lu Huanxing, Huang Yuelan, Wen Junjie

(Department of Blood Transfusion, the Center Hospital of Jiangmen, Jiangmen, Guangdong 529000, China)

Abstract: **Objective** To explore the opportunity and significance of hemolytic three trials by analyzing the serological detection results in patients with hemolytic disease of newborn(HDN). **Methods** 338 cases of newborn, with clinical manifestation of HDN, were enrolled and detected by serological detection. The influence of newborns' birth age on the positive rate of three trials, and the coincidence rate between laboratory diagnosis and clinical manifestations were also analyzed. **Results** The positive rate of hemolytic three trials decreased with the increasing of newborns' birth age. Among all 338 cases of neonate, the positive rate of those equal with or less than 2 days old was higher than that of those more than 2 days old($P<0.01$). The coincidence rate between the results of serological detection and the clinical manifestations was 55.3%. **Conclusion** Newborns, blood type of whom are not fit to the maternal, should receive serological examination within 2 days after born. 2 days after born, the immunological type of blood group antibodies could be destroyed, which would cause false negative results and cause clinical misdiagnosis.

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

新生儿溶血病(HDN)主要是由于母婴血型不合而引起的免疫性溶血,临床表现为不同程度的贫血、黄疸、水肿、肝脾肿大,严重者可导致核黄疸,甚至死亡。HDN 的实验诊断主要依靠血型血清学检测的直接抗球蛋白试验、抗体释放试验和游离抗体试验三项,分析这三项试验检出阳性率的影响因素,对 HDN 的诊断和治疗有重要作用。

1 资料与方法

1.1 调查对象 2008 年 4 月至 2011 年 12 月本院就诊的黄疸新生儿,有贫血、黄疸、水肿、肝脾肿大等体征,排除感染、红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏等可致溶血的疾病,临床表现符合 HDN 的有 338 例,出生日龄为 1~7 d。

1.2 主要试剂 抗 A 和抗 B 单克隆抗体标准血清、ABO 试剂红细胞、抗球蛋白试剂、谱细胞(上海血液生物医药有限责任公司),抗 D 试剂(北京金豪制药有限公司),抗体筛选细胞(长春博德生物技术有限公司),凝聚胺试剂(中山市生科试剂仪器有限公司)。

1.3 方法 血型鉴定,抗体筛选试验,抗球蛋白试验,抗体鉴定,吸收、放散试验等均严格按照试剂使用说明书和输血技术手册操作。

1.4 HDN 血清学诊断标准 新生儿红细胞释放出与其红细胞上抗原相对应的抗体为 HDN 的诊断依据,若直接抗球蛋白试验和游离抗体试验同时为阳性也可作为 HDN 的诊断依据。

1.5 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件进行 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

338 例临床表现符合 HDN 的新生儿血型血清学检测至少有一项呈阳性的有 193 例,阳性率为 57.1%。可证实 ABO 系 HDN 的有 161 例,疑似 ABO 系 HDN 的有 6 例,可证实 ABO 血型以外或合并 ABO 系 HDN 的有 26 例,血型血清学可证实 HDN 与临床表现的符合率为 55.3%。非 ABO 系 HDN 为 Rh 血型系统,出生日龄均在 1~3 d 内采集血样本进行检测。338 例临床表现符合 HDN 的新生儿三项试验阳性例数在母婴 ABO 血型结构中的分布见表 1,母/婴血型的 O/A 和 O/B 血型不合共 278 例,占 82.2%,其余母婴血型不合占 17.8%。三项试验阳性例数与出生日龄的关系见表 2,出生 2 d 或 2 d 以内的新生儿与出生 2 d 以上的新生儿三项试验阳性结果的比较见表 3,三项试验结果阳性结构模式的发生率见表 4。

表 1 338 例临床表现符合 HDN 的新生儿三项试验阳性例数在母婴 ABO 血型结构中的分布(n)

母/婴 ABO 血型	总例数	直接抗球蛋白试验阳性例数	抗体释放试验阳性例数	游离抗体试验阳性例数
O/A	150	53	84	64
O/B	128	41	76	49
A/B	17	1	2	1
B/A	21	1	3	2
A/AB	12	0	2	1
B/AB	10	1	1	0
合计	338	97	168	117

表 2 三项试验阳性例数与出生日龄的关系				
出生日龄 (d)	直接抗球蛋白试验 <i>n</i> 阳性率[<i>n</i> (%)]	抗体释放试验 阳性率[<i>n</i> (%)]	游离抗体试验 阳性率[<i>n</i> (%)]	
1	53	38(71. 7)	44(83. 0)	41(77. 4)
2	54	36(66. 7)	40(74. 1)	37(68. 5)
3	72	15(20. 8)	31(43. 1)	18(25. 0)
4	51	4(7. 8)	20(39. 2)	11(21. 6)

续表 2 三项试验阳性例数与出生日龄的关系				
出生日龄 (d)	直接抗球蛋白试验 <i>n</i> 阳性率[<i>n</i> (%)]	抗体释放试验 阳性率[<i>n</i> (%)]	游离抗体试验 阳性率[<i>n</i> (%)]	
5	44	2(4. 5)	17(38. 6)	5(11. 4)
6	35	1(2. 9)	12(34. 3)	2(5. 7)
7	29	1(3. 4)	4(13. 8)	3(10. 3)
合计	338	97(28. 7)	168(49. 7)	117(34. 6)

表 3 出生 2 d 或 2 d 以内新生儿与出生 2 d 以上新生儿的三项试验结果比较									
出生日龄(d)	直接抗球蛋白试验			抗体释放试验			游离抗体试验		
	阳性例数(<i>n</i>)	阴性例数(<i>n</i>)	阳性率(%)	阳性例数(<i>n</i>)	阴性例数(<i>n</i>)	阳性率(%)	阳性例数(<i>n</i>)	阴性例数(<i>n</i>)	阳性率(%)
≤2 d(<i>n</i> =107)	74	33	69. 2	84	23	78. 5	78	29	72. 9
>2 d(<i>n</i> =231)	23	208	10. 0*	84	147	36. 4*	39	192	16. 9*
合计	97	241	28. 7	168	170	49. 7	117	221	34. 6

* :*P*<0. 01,与出生 2 d 或 2 d 以内新生儿相应数据比较。

表 4 三项试验结果阳性结构模式的发生率			
直接抗球 蛋白试验	抗体释放试验	游离抗体试验	发生率[%(<i>n</i> / <i>n</i>)]
+	+	+	10. 6(36/338)
+	+	—	12. 4(42/338)
+	—	+	5. 6(19/338)
—	+	+	16. 6(56/338)
—	+	—	10. 0(34/338)
—	—	+	1. 8(6/338)

+: 阳性; —: 阴性。

3 讨 论

分析血型血清学检测结果与 HDN 临床诊断的符合率,更好地利用实验诊断提高 HDN 的防治水平。本研究结果显示,临床表现符合血型不合 HDN 的 338 例新生儿,排除了感染、G6PD 缺乏等可致溶血的疾病,其血清学检测结果与临床诊断的符合率并不高。由表 1 可知,338 例新生儿母/婴 ABO 血型不合以 O/A 和 O/B 的结构比例最高,血型血清学的三项试验中,母/婴血型 O/A 和 O/B 血型不合的阳性率显著高于其他类型血型不合,提示 338 例新生儿可能存在母婴 ABO 血型不合的溶血病,这与 HDN 以母/婴间 O/A 和 O/B 血型不合为主是相符的。预防 HDN 应从孕期开始,做好产前免疫血清学检测,及时了解母体内的抗体情况,必要时进行合理的干预治疗。

由表 2 和表 3 可知,溶血三项试验的阳性结果主要集中在出生 2 d 或 2 d 以内的新生儿,在出生 2 d 后,三项试验阳性检出率明显减少,说明在出生 2 d 以后采集血样,大量免疫性抗体可能已经遭到破坏,血清免疫性抗体减少,反应性减弱。HDN 的发生主要是因为母婴血型不合,在怀孕期间母体产生的 IgG 型免疫抗体通过胎盘屏障进入胎儿血液循环,引起胎儿、新生儿溶血。由于新生儿体内有大量红细胞抗原,可以不断地消耗外来的相对应的免疫性抗体,削弱免疫性抗体的反应性。随着新生儿日龄的增加,免疫性抗体因遭到破坏而迅速减少,造成血型血清学检测呈现阴性结果。

由表 4 可知,三项试验结果阳性的发生率不同,以抗体释

放试验的阳性率最高,两项同时阳性者以抗体释放试验和游离抗体试验均阳性的结构模式最多,三项试验中以直接抗球蛋白试验阳性率最低。许多 ABO 系 HDN 的新生儿直接抗球蛋白试验呈弱阳性反应(混合外观凝聚)甚至阴性,观察结果时,若盐水对照为阴性,显微镜下凡有 3~4 个红细胞的聚集,并均匀分布在红细胞之间则为阳性,反之则为阴性。一般地,Rh 系 HDN 比 ABO 系 HDN 直接抗球蛋白试验阳性反应强^[1]。三项试验的结果有一定的关系:若游离抗体试验阳性,直接抗球蛋白试验和抗体释放试验都应该阳性;若直接抗球蛋白试验阳性,抗体释放试验应该阳性,但游离抗体试验不一定阳性;若直接抗球蛋白试验阴性,其他两项试验应该是阴性,但 ABO 系统除外。一般来说,任何一项出现阳性都可以支持 HDN 的诊断。由于方法的灵敏度不同,三项试验的结果失去了关联性,有时试验结果不完全符合上述情况。在抗体释放试验阳性结果中除 IgG 型抗 A 抗体或抗 B 抗体外,经常会出现另一种 IgG 型抗体,它能凝集 A 型和 B 型标准红细胞^[2]。抗体释放试验是判断新生儿红细胞被 IgG 型抗 A 抗体、抗 B 抗体致敏的最灵敏、准确的方法。由于释放试验所使用的红细胞比直接抗球蛋白试验多几百倍,因此能达到较高的敏感度,此试验一旦出现阳性,表明患者红细胞上覆有 IgG 血型抗体,即可明确诊断^[3]。游离抗体试验阳性表明新生儿血样中有游离的 IgG 型抗 A 抗体或抗 B 抗体,这部分抗体会继续致敏红细胞,使其发生免疫性破坏^[4]。新生儿黄疸高峰日龄为出生后 3~4 d^[5],说明出生后 2 d 以内已有抗原抗体反应致红细胞溶血并把大量的免疫性抗体破坏,这可能是实验诊断与临床表现不相符合的原因。为了防止因免疫性抗体大量破坏使反应性降低而致误诊或漏诊,及时对母婴血型不合的新生儿进行 HDN 检测,可有效区别于其他原因引起的黄疸及生理性黄疸^[6-8]。因此,在婴儿出生 2 d 内采集血样进行血型血清学检测,对 HDN 的正确诊断和治疗有重要意义。

参考文献

[1] 安万新.输血技术学[M].北京:科学技术文献出版社,2006:98-100.
[2] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作(下转第 1328 页)

续表 1 1 404 例健康体检者血清 TSGF 检测结果				
年龄(岁)	性别	<i>n</i>	TSGF ($\bar{x}\pm s$, U/mL)	TSGF ≥ 64 U/mL 例数(<i>n</i>)
>30~40	合计	193	43.46 $\pm$ 13.43	3
	男	278	47.44 $\pm$ 13.16	10
	女	123	49.22 $\pm$ 11.58	6
>40~50	合计	401	47.99 $\pm$ 12.71	16
	男	283	45.10 $\pm$ 12.65	4
	女	135	47.17 $\pm$ 12.16	7
>50~60	合计	418	46.09 $\pm$ 12.56	11
	男	155	51.69 $\pm$ 11.47	8
	女	66	48.60 $\pm$ 10.80	1
>60	合计	221	50.17 $\pm$ 11.49	9
	男	102	50.88 $\pm$ 10.55	4
	女	69	50.01 $\pm$ 10.09	2
总计	合计	171	50.63 $\pm$ 10.37	6
	男	933	46.91 $\pm$ 12.93	27
	女	471	47.26 $\pm$ 12.08	18
	合计	1 404	47.03 $\pm$ 12.65	45

3 讨 论

恶性肿瘤是威胁人类健康的主要疾病之一,已成为仅次于心脑血管疾病死亡的病因。治疗恶性肿瘤的关键是早期发现、早期诊断、早期治疗,降低肿瘤的病死率。

目前已经明确 TSGF 是恶性肿瘤形成和生长时释放到外周血中的特异性肿瘤生长因子,对恶性肿瘤血管增生起重要作用^[1],而非肿瘤血管增生无重要关系。TSGF 作为一种新型的肿瘤标志物其检测机制与传统的肿瘤标志物有本质区别,传统标志物均为肿瘤细胞产生的物质,TSGF 为细胞增殖过程中产生的一类小分子肽,因此在肿瘤早期就有 TSGF 的升高^[2-6]。通过化学显色和分析技术,当细胞发生恶性转化时可以检测到 TSGF 的升高。因此,这个指标可以用来作为体检指标,是一种适合群体肿瘤普查的过筛试验。它有 4 个特点:广谱、特异性比较高、肿瘤早期即升高、不能定位。该检测方法克服了以往只能对一种或几种肿瘤相关物质进行检测的局限性,可以对多种指标进行联合检测。黄开泉等^[7]探讨了 TSGF 在恶性肿瘤早期诊断、疗效观察和预后等方面的应用价值,证实肿瘤组 TSGF 含量明显升高,平均检出阳性率为 83.79%,特异度为

93.44%,与良性肿瘤组和对照组比较有统计学意义差异($P<0.01$)。对 48 例恶性肿瘤患者治疗后进行动态观察,发现 42 例患者血清中 TSGF 含量明显下降($P<0.01$),6 例病情恶化的患者 TSGF 含量无明显变化。TSGF 具有较高的敏感度、特异度和广谱性,对体检人群的早期诊断及肿瘤患者的诊治、疗效观察有一定的临床应用价值。已有研究者证实了血清 TSGF 测定在实体肿瘤的早期诊断及疗效观察中发挥着重要作用^[8-9]。另外胡凯^[10]发现在非恶性肿瘤患者 TSGF 检测中,急性炎症患者和自身免疫性疾病患者有一过性升高。本研究结果显示在 TSGF 可疑阳性和阳性者共 45 例中,均有咽炎、幽门螺杆菌感染或胆囊炎、肝囊肿、脂肪肝等疾病,急性感染病例较少,因此应对 TSGF 阳性结果加以复查,排除假阳性。

随着生活水平的提高,人们对健康体检的要求越来越高,TSGF 作为肿瘤筛查和早期诊断的常用指标,完全能够满足人们的需要。TSGF 测定方法快速方便、灵敏度高、特异性强、无需特殊仪器,适宜在各级医院开展,但在实验中应建立室内质控,保证结果的可靠性。

参考文献

[1] 朱俊,王书奉,张亚梅.肿瘤特异性生长因子在恶性肿瘤中的应用价值[J].蚌埠医学院学报,2004,29(3):271-272.

[2] 卢葵花,余细球,程芳洲,等.肿瘤特异性生长因子检测在消化道肿瘤中的临床意义[J].咸宁学院学报:医学版,2006,20(2):134-135.

[3] 张全温,冯云.肿瘤标志物联合检测在恶性肿瘤诊断中的价值[J].新乡医学院学报,2006,23(6):619-620.

[4] 许文清.恶性肿瘤特异性生长因子检测诊断肿瘤的应用[J].临床和实验医学杂志,2006,5(6):676-677.

[5] 孙丽,李志.血清 TSGF、CEA、CA199 在大肠癌诊断的临床价值[J].国际检验医学杂志,2009,30(12):1196.

[6] 李艳丽,张宝军.乳腺癌患者血清中 CA153、TSGF 的表达及临床意义[J].国际检验医学杂志,2009,30(8):832.

[7] 黄开泉,王书奉,朱俊.肿瘤特异性生长因子(TSGF)检测及临床应用价值[J].中国现代医学杂志,2005,15(17):2655-2657.

[8] 王志贤,马玲.血清 TSGF 测定及其临床应用价值[J].浙江临床医学,2010,12(1):27-28.

[9] 陈芳华,骆曦,饶万楷.恶性肿瘤特异性生长因子对恶性肿瘤的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2011,32(11):1183-1184.

[10] 胡凯.恶性肿瘤相关物质(TSGF)的检测及临床应用[J].中国现代医药杂志,2011,13(4):118.

(收稿日期:2011-12-12)

(上接第 1326 页)

规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:266-268.

[3] 高峰.输血与输血技术[M].北京:人民卫生出版社,2003:101.

[4] 李锡福,顾秀兰,薛湘平.6 种母子 ABO 血型不合的新生儿血型血清学检验结果及新生儿溶血病发生率[J].中国妇幼保健杂志,2008,23(32):4571-4572.

[5] 侯玉华.新生儿 76 例 ABO 溶血临床分析[J].职业与健康,2008,24(11):1109-1110.

[6] 杨秀丽.O 型孕妇血清中 IgG 抗体效价与新生儿溶血病的关系[J].国际检验医学杂志,2009,30(10):1037.

[7] 毕红琳,刘更夫,龚永启,等.Rh 血型系统阴性血型筛查及其临床意义[J].国际检验医学杂志,2011,32(9):953-954.

[8] 郑萍.脐带血 Coombs 试验和新生儿高胆红素血症的关系初探[J].中国输血杂志,2010,23(8):628.

(收稿日期:2011-12-27)