

• 论 著 •

孕妇产前 IgG 血型抗体效价测定及临床应用

凌利芬¹, 朱新建^{1△}, 刘 玟¹, 聂署萍¹, 李振华¹, 蔡南盛²

(1. 广东医学院附属深圳市第四人民医院检验科, 广东深圳 518033; 2. 广东医学院检验学院, 广东东莞 523000)

摘要:目的 观察孕妇产前体内 IgG 血型抗体水平及与新生儿溶血病的关系。方法 采用微柱凝胶抗人球蛋白卡法对 255 例夫妇进行产前 IgG 血型抗体效价及 ABO 血型测定。结果 在对 195 例夫妇 ABO 血型不合调查中, IgG 血型抗体水平异常 (≥ 64) 阳性率为 93.8%。其中 IgG 抗 A(B) 效价: < 64 为 12 例 (6.2%), 64 为 12 例 (6.2%), 128 为 60 例 (30.8%), 256 为 39 例 (20%), 512 为 45 例 (23.0%), $1\ 024$ 为 27 例 (13.8%)。丈夫/孕妇血型组合为 A/O 与丈夫/孕妇血型组合为 B/O 两组间 IgG 抗体检出率比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 4.361, P = 0.499$), AB 血型的父亲其妻子抗体效价更高。结论 对夫妇 ABO 血型不合孕妇产前 IgG 血型抗体效价测定有助于新生儿溶血病的产前预测, 以利于尽早采取有效预防、治疗, 减少新生儿溶血病的发病率, 对于人口优生方面具有重要意义。

关键词: 新生儿溶血病; ABO 血型; 抗体效价; 微柱凝胶

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.019

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)08-1062-03

The clinical application of prenatal serum blood group IgG antibody titer determination

Ling Lifen¹, Zhu Xinjian^{1△}, Liu Bin¹, Nie Shuping¹, Li Zhenhua¹, Cai Nansheng²

(1. Department of Clinical Laboratory of Shen zhen Fourth Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Shenzhen, Guangdong 518033, China; 2. Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523000, China)

Abstract: Objective To assess the relationship between the serum IgG antibody titer of pregnant women and the hemolytic disease of newborn(HDN). **Methods** Using microcolumn gel coombs card assay method to determine titer of 255 cases of couples antenatal serum IgG antibody and ABO blood group. **Results** with 195 cases of ABO-incompatible couples, the positive rate of abnormal serum IgG antibody (≥ 64) was 93.8%. The titer of anti-A/B IgG: in 12(6.2%) cases was < 64 ; in 12(6.2%) cases was 64; in 60(30.8%) cases was 128; in 39(20%) cases was 256; in 45(23.0%) cases was 512; in 27(13.8%) cases was 1 024. There were no statistical differences between IgG anti-A(B) titers distribution between A/O blood group matching and B/O blood group matching ($\chi^2 = 4.361, P = 0.499$). IgG anti-A(B) titers was higher in AB/O blood group matching. **Conclusion** we can take early and effective prevention, treatment, reducing the incidence of HDN by the determination of prenatal serum IgG antibody titers in ABO-incompatible couples, which is important for the population of eugenics.

Key words: hemolytic disease of newborn; ABO blood group; antibody titer; microcolumn gel

新生儿溶血病是指由于母婴血型不合, 母体血液中含有针对胎儿或新生儿红细胞抗原的 IgG 抗体, 并通过胎盘绒毛膜进入胎儿血液循环, 致敏胎儿而发生的同种免疫性溶血。在我国, ABO 血型系统引起的新生儿溶血病最为常见, 但引起中等程度和严重的新生儿溶血病最常见的原因是 Rh 血型系统的 D、E 抗原, 其次是 A 和 B 抗原。ABO 系统抗原所致新生儿溶血病中母亲为 O 型的最常见, 即 ABO 型新生儿溶血病 (ABO-HDN)。这种因母子血型不合而引发的新生儿溶血病, 近年来日益受到临床医生的重视。为观察孕妇血液 IgG 抗体效价与新生儿溶血病的关系, 笔者对 255 例孕妇血浆进行了血型 IgG 抗体测定, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 5 月至 12 月于深圳市第四人民医院妇产科进行产检的妇女, 共 255 例。其中孕妇血型为 O 型而丈夫为 A 型、B 型或 AB 型者共 195 例, 孕妇非 O 型者 54 例, 丈夫孕妇均为 O 型 6 例。纳入研究的孕妇年龄 21~42 岁, 平均 28.6 岁, 均具有 1 次或 1 次以上妊娠史, 无输血史。全部

采用枸橼酸钠真空管静脉采血, 进行 ABO、RH(D) 血型鉴定和孕妇产前 IgG 血型抗体检测。

1.2 仪器与试剂 Dianafuge 卡式离心机和微柱凝胶检测卡 (DG Gel Coombs) 均由西班牙进口, 由北京斑珀斯技贸有限责任公司提供。FYQ 型免疫微柱孵育器、单克隆微柱凝胶血型卡、标准 A、B 红细胞 (0.8%) 均由长春博研科学仪器有限公司提供。0.2 mol/L 2-巯基乙醇 (2-me) 采用进口试剂 (浓缩液) 自行配制。

1.3 方法

1.3.1 用单克隆微柱凝胶卡进行夫妇 ABO 正反定型、RH (D) 定型 严格按操作说明书进行。

1.3.2 配制中和血清 (浆) 200 μ L 孕妇血浆 (血清) 加入 200 μ L 0.2 mol/L 巯基乙醇 (2-me) 灭活 IgM 抗体, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30~60 min。

1.3.3 IgG 抗体效价 排 4 支小试管。第 1 管加 20 μ L 中和血清 (血浆) 及 1 260 μ L 生理盐水。第 2~4 管各加 200 μ L 生理盐水, 从第 1 管取 200 μ L 加入第 2 管, 依次倍比稀释 (相应

稀释度分别为 128、256、512、1 024)。上述各管分别取 50 μL 加于 Dianagel Coombs 卡中,再分别加入 25 μL 2% 的丈夫 RBC,37 °C 孵育 15 min。取出检测卡用 Dianagel 专用离心机离心 9 min,观察结果,结果按出现“+”的前一管的稀释度进行抗体效价报告,效价 ≥64 为异常。

1.3.4 结果判断 红细胞抗原与相应抗体在微柱凝胶中形成的特异性抗原抗体复合物悬浮在凝胶表面或凝胶中,为阳性反应;沉于凝胶的底部为阴性反应,以出现阳性反应的最适合稀释度为 IgG 抗 A(B)的效价。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行数据分析,对不同血型组间 IgG 效价比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

本组孕妇血型检测共 255 例,RH(D)均为阳性,其中夫妇

ABO 血型不合(丈夫 A、B 或 AB 型,孕妇 O 型)195 例,占 76.5%。在 ABO 血型不合 195 例检测中,IgG 抗 A(B)效价为 64 的有 12 例(6.2%),效价为 64 的有 12 例(6.2%),效价为 128 的有 60 例(30.8%),56 的有 39 例(20%),512 的有 45 例(23.0%),1 024 的有 27 例(13.8%),血型分布情况为丈夫/孕妇的血型组合:A/B、B/A、A/A、B/B、A/AB、O/O,共 60 例(23.5%),其 IgG 抗 A(B)效价绝大部分小于 64。

255 例不同血型的 IgG 抗 A(B)效价分布情况见表 1。其中丈夫/孕妇血型组合为 A/O 的 IgG 抗体异常阳性比例占 50.8%(99/195);丈夫/孕妇血型组合为 B/O 的 IgG 抗体异常阳性比例占 30.8%(60/195);丈夫/孕妇血型组合为 AB/O 的 IgG 抗体异常阳性率为 12.3%(24/195)。A/O 与 B/O 两种组合间 IgG 抗体检出率差异无统计学意义($\chi^2 = 4.361, P = 0.499$)。

表 1 255 例不同血型的 IgG 抗 A(B)的效价分布[n(%)]

丈夫/孕妇血型组合	n	<64	64	128	256	512	1 024
A/O	105	6(5.7)	6(5.7)	27(25.7)	27(25.7)	27(25.7)	12(11.4)
B/O	66	6(9.1)	6(9.1)	18(27.3)	9(13.6)	18(27.3)	9(13.6)
AB/O	24	0(0.0)	0(0.0)	15(62.5)	3(12.5)	0(0.0)	6(25.0)
A/B	21	21(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
B/A	15	15(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
A/A	6	6(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
B/B	9	9(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
A/AB	3	3(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
O/O	6	6(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
合计	255	72(28.2)	12(4.7)	60(23.5)	39(15.3)	45(17.7)	27(10.6)

3 讨论

新生儿溶血病的发病机制是胎儿的血型基因一半来自母亲,另一半来自父亲,当胎儿从父亲继承的红细胞抗原,恰为母亲所缺乏时,胎儿的红细胞对母亲是一种抗原,可刺激母体产生相应的 IgG 抗体,这些抗体又可经胎盘进入胎儿体内,破坏胎儿红细胞,出现胎儿或新生儿溶血病。我国 Rh 血型不合引起的新生儿溶血病远较 ABO 少见,但 Rh 血型 D 抗原是引起中度和重度新生儿溶血病的最常见原因,而在产前进行一定的免疫预防措施可有效降低新生儿溶血病的发生^[1]。

从理论上讲,母/子血型为 O/A、O/B、O/AB、A/B、B/A 等组合都有可能使新生儿发生新生儿溶血病,但实际上 90% 以上的新生儿溶血病患母亲为 O 型,这是由于母体内存在 IgG 抗 A、抗 B 所致,而且第一胎即可发病。但由于胎盘屏障的保护作用、血型物质部分中和抗体作用以及胎儿红细胞抗原吸收作用等因素,ABO-HDN 一般不易做到产前准确预报。国内外研究证明,母体血清中 IgG 性质血型抗体含量的高低与新生儿溶血病发病率有直接关系,孕妇体内 IgG 性质抗体效价的高低可预测其体内胎儿发生新生儿溶血病概率的大小。如果母体内 IgG 抗 A(B)效价随着孕期增加(20 周后)而增长,提示胎儿受害的可能性增大。严重者可引起胎儿贫血、水肿、流产、死胎、早产及新生儿溶血病或核黄疸。传统试管法一般当夫妇

IgG 抗 A(B)效价大于或等于 64 可认为有临床意义,当效价大于或等于 256 或者检测到抗体效价持续升高达 4 倍以上时,可认为胎儿受害可能性大,应进行定期检测,必要时采取药物治疗^[2]。微柱凝胶法较传统试管法平均提高 2~3 个效价,采用微柱凝胶法后,由于灵敏度和特异性得到提高,效价(效价)也随之提高。因此,使用微柱凝胶法时以抗体效价大于或等于 128 为新生可能受害水平^[3-4]。然而实际工作中孕妇体内抗 A(B)IgG 抗体效价大于 128 并发生新生儿溶血的概率很小。一些高抗体水平的个体不发生新生儿溶血病而一些低抗体水平的个体发生了中至重度的新生儿溶血病^[5],这与部分新生儿血型跟母体相同以及孕妇胎盘致密性情况有关。另一方面 IgG 抗体亚型的因素如 IgG2 含量与新生儿溶血病的发病无相关性,IgG4 在体内不能激活补体系统,不会引起红细胞的损害等^[6-7]。一些孕前未受胎儿免疫刺激的女性体内同样存在高效价 IgG 抗体等因素干扰。怀孕后进行血型抗体效价复查,前后两次效价结果升高才有意义,孕妇进行不规则抗体筛查,可以尽早发现不规则抗体,及时对孕妇进行新生儿溶血病的预防和治疗,从而降低新生儿溶血病的发生^[8]。

本组 195 例血型不合孕妇中,IgG 抗 A(B)效价大于或等于 64 者 183 例,阳性率为 93.8%(183/195),与王红梅等^[9]报道的 39.7% 差别较大,与国内一些报道相近^[10-11]。原因是本

院妇产科医生在对孕妇产前体检时,只要孕妇血型为 O 型,孕早期在 20 周以上时均做产前 IgG 血型抗体检测,所以本组试验多为孕妇为 O 型的人群。60 例血型分布情况为丈夫/孕妇: A/B、B/A、A/A、B/B、A/AB、O/O。IgG 抗 A(B)效价均小于 64,考虑发生新生儿溶血病的概率低,没有进一步研究。本组 6 例 O/O 抗体效价均小于 64,3 例为先兆流产。本组 IgG 抗 A(B)效价阳性率,丈夫/孕妇血型 A/O 与 B/O 差异无统计学意义,与林静^[12]的报道一致。本次试验发现丈夫/孕妇血型 AB/O 妻子抗体效价高于血型 A/O、B/O 组。A、B 型血型的父亲新生儿溶血病发病率高于 AB 型^[13],但 AB 血型的父亲其妻子抗体效价更高,跟本次试验结果相符合,就其原因有待于进一步研究。

引起 ABO-HDN 的血型抗体都是 IgG 类抗体,此类抗体是 37 °C 条件下强反应性的温抗体,最具临床意义。这类不完全抗体在孵育时都可以结合红细胞上的抗原,但不引起肉眼可见的凝集反应,而抗人球蛋白实验能检出这种不完全抗体。本组采用微柱凝胶检测卡,就是近年来兴起的免疫检测法,是免疫学抗原抗体反应相结合的产物。其基本原理是生物化学凝胶过滤技术和免疫学抗原抗体反应相结合,通过调节凝胶的浓度来控制凝胶间隙的大小,使其间隙只能允许游离的 RBC 通过,从而使游离 RBC 与聚集 RBC 分离,如果通过离心 RBC 沉积在凝胶管底部,则表明 RBC 未发生凝聚,为阴性反应。若 RBC 聚集在凝胶带上部或凝胶中,则表明 RBC 发生凝集,为阳性反应。本法有操作简便、重复性好、灵敏度高,而且不需重复洗涤红细胞、结果易于判断等优点,已广泛用于临床试验。

虽然母婴 ABO 血型不合仅少数发生新生儿溶血病(16.5%),但孕妇血清抗体效价与新生儿溶血病发生率呈正相关,所以在实际工作中,应建议 ABO 血型不合的孕妇,特别是 O 型血孕妇进行产前 IgG 血型抗体动态监测,针对抗体效价高的孕妇给予药物治疗,是减少新生儿溶血病发生的有效方法,对于优生优育、提高人口素质具有重要的意义。

参考文献

[1] Starcevic M, Mataija M, Sovic D, et al. The importance of antena-

(上接第 1061 页)

卫生出版社,2013:118-120.

[3] 方群. 妇产科检验诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:1.

[4] 张金珍,谢丹萍,蒋素莹,等. 妊娠中期检测母体血清三联标志物筛查胎儿发育异常的临床应用[J]. 中外医学研究,2014,12(3): 71.

[5] 董毅飞,彭海英,熊进,等. 化学发光法孕中期三联筛查高危孕妇 221 例产前诊断结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2012,20(4): 24-26.

[6] 尤敏华. 妊娠期激素及酶的功能[J]. 基层医学论坛,2012,16(23):3093.

[7] 张淑莉,齐洪伟. 母血 FE3、hPL 检测胎盘功能对慢性胎儿宫内窘迫诊断价值的研究[J]. 中国实用医药,2013,8(8):6-7.

[8] 何英明,周力学,麦美琪,等. 2 656 例妊娠晚期血清雌三醇(E3)的检测分析及临床价值的探讨[J]. 海南医学,2003,14(12):65-66.

[9] 张立宇,王桂香,游存厚. 人胎盘生乳素、分娩动因与早产关系的研究[J]. 中国疗养医学,2013,22(5):423-425.

tal immunoprophylaxis for prevention of hemolytic disease of the fetus and newborn[J]. Acta Med Croatica,2011,65(1):49-54.

[2] 杨江存,曹晓莉. 临床输血质量管理[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:185-187.

[3] 卢发强,刘景汉,欧阳锡林,等. 孕产妇血型抗体与 HDN 发生率及溶血程度的临床研究[J]. 中国医师杂志,2004,6(10):1300-1302.

[4] 何静,陈方祥,刘建忠,等. BioVue 微柱凝胶法检测孕妇产前抗体效价分析[J]. 重庆医学,2007,36(24):2482-2483.

[5] Hadley AG. A comparison of in vitro tests for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn[J]. Vox Sang,1998,74(Suppl 2):375-383.

[6] 江晓明,杜平,马佳佳. 100 例男性血型抗体效价检测结果分析[J]. 医学信息,2014,27(2):292-293.

[7] Leger RM. In vitro cellular assays and other approaches used to predict the clinical significance of red cell alloantibodies:a review [J]. Immunohematology,2002,18(3):65-70.

[8] Nagao N. Clinical significance of screening test for irregular antibodies[J]. Nihon Rinsho,1999,57(Suppl):582-586.

[9] 王红梅,胡兆平,廖艳秋. 夫妇 ABO 血型不合的孕妇产前免疫学检查分析[J]. 中国输血杂志,2000,13(1):30.

[10] 董国飞,彭明喜,汤晓娟,等. 孕妇产前 IgG 抗 A(B)抗体水平监测及意义[J]. 实用医学杂志,2009,25(8):1244-1246.

[11] 王冬梅,董伟群,邹映东,等. 2 580 例 O 型孕妇 IgG 抗 A 抗 B 血型抗体效价检测分析[J]. 昆明医科大学学报,2014,35(10):119-121.

[12] 林静. 孕妇产前血清 IgG 抗-A(B)效价与新生儿溶血病的相关性分析[J]. 上海预防医学,2014,26(4):174-176.

[13] 李建刚,付超,姚锁良,等. ABO 型新生儿溶血症筛查结果分析[J]. 临床血液学杂志:输血与检验,2014,27(6):1009-1011.

(收稿日期:2016-01-11)

[10] Bersinger NA, Adegard RA. Second- and third-trimester serum levels of placental proteins in preeclampsia and small-for-gestational age pregnancies[J]. Acta Obstet Gynecol Scand,2004,83(1):37-45.

[11] 彭杨水,李格芳,夏定纹. 血清 FE3 和 HPL 联合测定胎儿胎盘功能[J]. 放射免疫学杂志,2003,16(5):275-277.

[12] 符丽华,甘玉杰,关燕鸣,等. 妊娠期高血压疾病与血清游离雌三醇的相关性及其对妊娠结局的影响[J]. 中国基层医药,2013,20(1):11-13.

[13] 于彩霞,王会芳,胡哲英. 探讨血清雌三醇和人胎盘催乳素水平与高危妊娠的关系[J]. 解放军医学院学报,2014,35(2):150-152.

[14] 庞伟斌,王红武,付妮娜,等. 189 例孕妇血清雌三醇和胎盘泌乳素测定监测胎盘功能分析[J]. 吉林医学,2012,33(23):4951-4952.

(收稿日期:2015-12-23)