

• 论著-研究报告 •

血型血清学检测技术对新生儿溶血病的诊断价值

庞建¹ 孙楠² 常婧妍³ 杨颖群³ 马婷³ 杨江存³

[摘要] 目的:探讨血清学检测技术对新生儿溶血病(HDFN)的诊断价值。方法:收集 2016-07-11—2017-02-10 陕西省人民医院产科及新生儿科患有高胆红素血症的新生儿 1 000 例患儿样本,对其进行血型鉴定、不规则抗体筛查检测、直接抗人球蛋白试验、游离抗体试验以及抗体释放试验检测。结果:①母婴血型不合者 615 例,以病历出院诊断确诊 HDFN 患儿 281 例(45.7%)。② 615 例母婴血型不合患者中,ABO、Rh 系统 HDFN 发生率分别为 50.57%(267/528)、16.09%(14/87),比较差异有统计学意义($P<0.05$)。③ ABO 血型系统母婴血型不合者 528 例,A、B 型血发病率分别为 62.2%及 41.4%,差异有统计学意义($P<0.05$)。④在确诊的 281 例 HDFN 患者中,血清学试验 3 项(直接抗人球蛋白试验、抗体释放试验阳性、游离抗体试验)均为阳性结果占 1.8%;直接抗人球蛋白试验阴性而其余为试验阳性结果占 3.6%;游离抗体试验阴性而其余为试验阳性结果占 7.1%;单独抗体释放试验阳性结果占 87.5%。⑤528 例 O 型母亲血清中 Ig-G 抗 A(B)效价 ≥ 64 的有 216 例,确诊为 HDFN 为 174 例(80.6%);Ig-G 抗 A(B) < 64 的有 312 例,确诊为 HDFN 的有 93 例(29.8%),差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:血清学检测技术对 HDFN 诊断起到一定辅助作用。

[关键词] 新生儿溶血病;溶血 3 项试验;抗体效价

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.08.008

[中图分类号] R556.6 **[文献标志码]** A

Blood group serological detection technology for the diagnosis
of hemolytic disease in newbornsPANG Jian¹ SUN Nan² CHANG Jingyan³ YANG Yingqun³
MA Ting³ YANG Jiangcun³

(¹Blood Station in the Central District of Weinan, Weinan, 714000, China; ²Xi'an Medical College; ³Department of Transfusion Medicine, Shaanxi Provincial People's Hospital)

Corresponding author: YANG Jiangcun, E-mail: 609445783@qq.com

Abstract Objective: To investigate the diagnostic value of serological detection and detection technique for hemolytic disease of the newborn(HDFN). **Method:** A total of 1 000 newborns with hyperbilirubinemia in the department of obstetrics and neonatology of Shaanxi Provincial People's Hospital were collected from 2016-07-11—2017-02-10. Blood group identification and screening for irregular antibodies were performed, direct anti-human globulin test, free antibody test and antibody release test. **Result:** ① There were 615 cases with maternal and neonatal blood group incompatibility, and 281 cases(45.7%) were diagnosed with HDFN by medical records. The incidence of HDFN in ABO and Rh system was 50.57%(267/528) and 16.09%(14/87). ② The 615 cases of maternal and neonatal blood type incompatibility respectively. The difference was statistically significant($P<0.05$). ③ The 528 cases of maternal and neonatal blood type mismatch in ABO blood type system, the incidence rate of type A and type B blood were 62.2% and 41.4% respectively. The difference was statistically significant($P<0.05$). ④ Of the 281 HDFN patients diagnosed, 3 were serological tests(direct antiglobulin test, positive antibody release test, and free antibody test) with positive results of 1.8%; direct antiglobulin test was negative and the rest were The positive result of the test accounted for 3.6%; the free antibody test was negative and the remaining test positive result was 7.1%; the positive result of the single antibody release test accounted for 87.5%. There were 216 Ig-G anti-A(B) titers in the serum. ⑤ The 528 type O mothers, of which 174(80.6%) were diagnosed with HDFN, and 312 were Ig-G anti A(B) < 64 . There were 93 cases(29.8%) diagnosed with HDFN, and the difference was statistically significant($P<0.05$). **Conclusion:** Serological detection technology can play an important role in the diagnosis of HDFN.

Key words neonatal hemolytic disease; hemolysis 3 tests; antibody titers

新生儿溶血病(HDFN)是指母婴血型不合所致的胎儿或新生儿免疫溶血性疾病^[1-2]。胎儿血型由父母双方共同决定,若胎儿从父方获得母方所缺乏的血型抗原时,该抗原进入母体后使母亲产生相

¹ 陕西省渭南市市中心血站(陕西渭南,714000)

² 西安医学院

³ 陕西省人民医院输血科

通信作者:杨江存, E-mail: 609445783@qq.com

应的免疫抗体,这类抗体以 Ig-G 抗体形式可通过胎盘绒毛膜进入到胎儿血液循环中,导致抗原抗体免疫反应,引起胎儿发生贫血、水肿、肝脾肿大,以及出生后进行性黄疸加重^[3-4]。目前人类血型有多种血型系统,新生儿免疫性溶血性贫血中,ABO 血型不合最常见,但是 ABO 血型导致的 HDFN 病情温和,Rh 血型 D 抗体导致 HDFN 较为严重^[5],严重病例可出现胆红素脑病及髓外造血。胆红素脑病是由于新生儿时期严重的高胆红素血症使胆红素通过血脑屏障沉积于脑部而致的神经综合征,大约 1/4 的患儿可留下手足徐动、眼球运动障碍、感觉神经性听力障碍、认知功能障碍及智力低下等后遗症^[6]。

目前 HDFN 实验室检查包括常规检查、血清学检查和流式细胞仪法等。其中常规检查包括外周血常规检查、血胆红素测定、羊水胆红素测定。血清学检查包括血型鉴定(父母及新生儿 ABO、Rh 血型)、3 项实验(直接抗人球蛋白试验、红细胞抗体释放试验、血清游离抗体试验)及母体抗体效价测定。

本文对送检于输血科 1 000 例高度疑似 HD-FN 患儿血样进行检测。通过对脐血进行血清学检查及母体抗体效价测定,综合总胆红素、直接胆红素、血红蛋白及血细胞比容测定结果判读以及出院病历诊断,探讨该试验检测技术对 HDFN 的诊断价值。

1 对象与方法

1.1 对象

收集 2016-07-11—2017-02-10 陕西省人民医院产科和新生儿科送检的 1 000 例患儿样本。该患儿临床表现均为高胆红素血症皮肤黄染不退、胆红素 $>15\text{ mg/dL}$,疑似由于母儿血型不相合引起 HDFN。产后健康新生儿未纳入本观察之列。

1.1.1 HDFN 临床诊断标准 ①排除其他因素而疑似由新生儿溶血所致的黄疸。②红细胞及血红蛋白下降(脐带血 $<13\text{ g/dL}$),网织红细胞升高($>6\%$),外周血有核红细胞升高($>10/100$ 只白细胞)。③直接抗人球蛋白试验阳性或红细胞抗体释放试验阳性^[7]。

1.1.2 HDFN 实验室诊断标准 血清学检查包括直接抗人球蛋白试验(DAT 试验、游离抗体试验以及抗体释放试验)进行疾病诊断,见表 1。

1.1.3 检测试剂 抗 A、抗 B 血型定型试剂、反定型标准红细胞及 Rh(D)血型定型试剂由上海血液生物医药有限责任公司提供。新生儿血型卡(直抗卡)及抗人球蛋白检测卡由长春博讯生物技术有限公司提供。生化项目均由 HITACHI7170S 全自动生化分析仪检测,血红蛋白、血细胞比容均由 Sys-

mex XN2000 检测,检测数据由医院 LIS 系统获取数据。

表 1 HDFN 血清学检查

DAT 试验	游离抗体试验	抗体放散试验	结果判定
+	+	+	确诊 HDFN
+	-	+	确诊 HDFN
-	-	+	确诊 HDFN
+	-	-	可疑 HDFN
-	+	-	可疑 HDFN
+	+	-	可疑 HDFN

1.2 方法

1.2.1 血样采集 取新生儿脐带血 3~5 mL 和母亲静脉血 3~5 mL 分别至 2 个 EDTA-K2 抗凝管中,颠倒混匀并及时送检。

1.2.2 实验室检查 ①采用试管法对母亲及新生儿血样标本进行血型鉴定。②微柱凝胶抗人球蛋白法对母亲样本进行不规则抗体筛查检测,按照长春博讯生物技术有限责任公司抗人球蛋白检测卡说明书进行操作。③新生儿血样进行直接抗人球蛋白试验,按照长春博讯生物技术有限责任公司所生产的抗人球蛋白检测卡的说明书进行操作。为避免假阳性,利用试管法进行重复试验:将受检红细胞洗涤 3 次制成红细胞悬液,取出试管做好标记分别加入红细胞悬液和抗人球蛋白试剂,离心 15 s,1 500 $\times g$,取出后轻微摇动试管观察有无凝集。④新生儿血样抗体释放试验:将压积红细胞与等体积生理盐水混匀于试管中,置 56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴箱孵育 10 min 后离心 3 min 1 500 $\times g$,取出后吸取上层放散液至另一洁净试管,加入待测抗体对应抗原红细胞,放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 30 min 后,生理盐水离心清洗 3 次,加入抗人球蛋白试剂,离心 1 500 $\times g$,取出后轻摇试管观察凝集强度,并进行显微镜观察。⑤新生儿样本进行游离抗体试验:取洁净试管做好标记,每管加新生儿血清 2 滴和标准 A、B 红细胞悬液 1 滴,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min 后,生理盐水洗涤 3 次,弃上清,再加入抗人球蛋白试剂 Ig-G 每管 2 滴,离心 15 s,1 500 $\times g$,观察有无凝集。⑥母亲血清抗体效价检测:用 2-Me 试剂处理待检血清中的 Ig-M 抗 A、抗 B 抗体,消除干扰后,采用盐水倍比稀释法测定 Ig-G 抗体效价。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 进行数据统计分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ABO 血型不合及 Rh 血型系统发生 HDFN 结果比对

送检的 1 000 例患儿标本中,母婴血型不合者

有 615 例,其中 ABO 血型系统 528 例,Rh 血型系统 87 例,出院病历诊断为新生儿溶血病者 281 例,阳性率为 45.7%(281/615),其中 ABO 血型系统 267 例,阳性率为 50.6%(267/528),Rh 血型系统 14 例,阳性率为 16.1%(14/87),经统计学分析差异有统计学意义($\chi^2=35.778, P<0.05$),见表 2。

表 2 ABO 及 Rh 血型系统母婴血型不合发生 HDFN 的结果

项目	HDFN	无 HDFN	合计
ABO 系统	267	261	528
Rh 系统	14 ¹⁾	73	87
合计	281	334	615

与 ABO 系统比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

2.2 HDFN 中 A、B 血型分布情况

HDFN 中 A、B 血型发生率比较结果见表 3。528 例 ABO 血型系统母婴血型不合者中,A 型血发生 HDFN 的概率为 62.2%(145/233),B 型血发生 HDFN 的概率为 41.4%(122/295),经统计学分析差异有统计学意义($\chi^2=22.70, P<0.05$)。

表 3 A、B 血型发生 HDFN 结果

母-婴血型	HDFN	无 HDFN	合计
O-A 型	145	88	233
O-B 型	122 ¹⁾	173	295
合计	267	261	528

与 O-A 型比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

2.3 281 例确诊病例的血清学检测结果

在确诊为 HDFN 的 281 患者中,3 项试验均为阳性的有 5 例(1.8%);直接抗人球蛋白试验阴性+抗体阳性+游离抗体试验阳性者有 10 例(3.6%);直接抗人球蛋白试验阳性+抗体释放实验阳性+游离抗体试验阴性者有 20 例(7.1%);单独抗体释放试验者有 246 例(87.5%);其中单独抗体释放试验阳性与其他 3 组试验相比差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 抗体效价在 HDFN 中的诊断价值

从表 4 可见 528 例产妇中:①抗体效价(抗 A 和抗 B) <64 者 312 例,93 例发生 HDFN,发病率为 29.8%;抗体效价等于 64 者 216 例,174 例发生 HDFN,发病率为 80.6%,经统计学分析差异有统计学意义($P<0.05$)。②随抗体效价增高,HDFN 发生率升高,抗体效价 <64 的发病率为 29.8%,抗体效价 ≥ 64 的发病率为 73.5%,抗体效价等于 128 的发病率为 86.4%,抗体效价等于 256 的发病率为 86.5%。

3 讨论

新生儿溶血是新生儿发生免疫溶血性疾病较为常见的一种原因。临床可表现为不同程度的贫血、黄疸等。其最大的危害是胆红素通过血脑屏障对脑细胞的毒性作用,轻则终身留有后遗症,重则导致死亡^[8]。

表 4 抗体效价在 HDFN 中的诊断

效价	检测人数		HDNH 人数	发病率/%
	O-A	O-B		
<64	124	188	93	29.81 ¹⁾
64	55	43	72	73.47 ²⁾
128	30	36	57	86.36 ¹⁾
256	24	28	45	86.54
合计	233	295	267	50.57

与 64 比较¹⁾ $P<0.05$;与效价 <64 比较,²⁾ $P<0.05$ 。

本研究中 615 例母婴血型不合新生儿,281 例病历出院诊断为 HDFN,发生率为 45.7%(281/615),高于文献报道的 18.7%。该结果由于送检样本为本院新生儿高危人群所致。其中 528 例 ABO 血型不合者发病率占 50.6%,87 例 Rh 血型不合发病率占 16.1%,发患者中 ABO 血型系统占 95.02%,Rh 血型系统占 4.98%,ABO 血型系统的发生率远高于 Rh 血型系统,二者差异有统计学意义($P<0.05$),与文献报道 ABO 系统发病率 98.09%,Rh 血型系统占 1.91%有所差异,但 Rh 系统低于 ABO 血型系统发病率是一致的^[9]。

溶血 3 项试验临床操作简单便捷,其中抗体释放试验灵敏度高,可早期地对该病作出判断,为临床做出正确诊断提供尽早的证据,为临床治疗提供参考。

随着母亲抗体效价的升高,HDFN 的发病率也在升高。母亲血型抗体效价对 HDFN 有提示诊断作用,但不能作为判断标准,这是由于我们在抗体效价与发病率的数据统计过程中,可以发现母体抗体效价达 256 时,溶血 3 项试验为阴性,反而效价为 16 时发生 HDFN 的现象。该现象可能与 Ig-G 抗体亚型有关。有研究表明,Ig-G₁型和 Ig-G₃型较 2 型和 4 型易通过胎膜屏障发生新生儿溶血,尤其以 Ig-G₁型与 ABO 溶血病发生关系更为密切。随着我国二孩政策的放开,HDFN 发生率会增高,开展传统的血型血清学检测技术对 HDFN 早期诊断与防治具有较好的价值。

参考文献

- [1] Yousuf R, Abdul Aziz S, Yusof N, et al. Hemolytic disease of the fetus and newborn caused by anti-D and anti-S alloantibodies: a case report[J]. J Med Case Rep, 2012, 6: 71.

PCT、CRP 联合血清淀粉样蛋白 A 在细菌性肺炎与病毒性肺炎中的应用

崔海涛¹ 秦洪伟²

[摘要] 目的:探讨降钙素原(PCT)、C-反应蛋白(CRP)联合血清淀粉样蛋白 A(SAA)检验在细菌性肺炎感染和病毒性肺炎感染中初期诊断的应用价值。方法:选择诊断为肺炎的 105 例患者,其中细菌性肺炎感染组 60 例、病毒性肺炎感染组 45 例,同时选取相同年龄段的健康查体者 60 例作为健康对照组。分别抽取 2 组患者及对照组空腹静脉血 4 ml,应用免疫层析法进行 PCT 检测;应用胶体金法进行 SAA 检测,采用免疫增强透射比浊法进行 CRP 检测,分别测定细菌性肺炎感染组、病毒性肺炎感染组及对照组的 PCT、CRP 和 SAA 浓度。结果: $\log_{(p/1-p)} = -0.897 + 0.125 \times \text{PCT} + 0.01 \times \text{CRP}$,其中 PCT 的偏回归系数最大,表明 PCT 对细菌性肺炎结果诊断效能最大, $\log_{(p/1-p)} = -0.709 + 0.122 \times \text{SAA} + 0.01 \times \text{CRP}$,其中 SAA 的偏回归系数最大 SAA 对病毒性肺炎结果诊断效能最大。细菌性肺炎感染组 PCT、CRP 升高程度明显高于病毒性肺炎感染组及对照组($P < 0.05$),病毒性肺炎感染组 PCT、CRP 升高程度水平与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:将 PCT、CRP 联合血清淀粉样蛋白 A 检验可协助临床对肺炎感染初期感染类型的鉴别诊断。

[关键词] 降钙素原;C-反应蛋白;血清淀粉样蛋白 A;细菌性肺炎;病毒性肺炎

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.08.009

[中图分类号] R563.1 **[文献标志码]** A

Clinical value of PCT,CRP and SAA test in diagnosis of bacterial pneumonia and viral pneumonia

CUI Haitao¹ QIN Hongwei²

(¹Department of Clinical Laboratory, Jiaozhou Central Hospital of Qingdao, Qingdao, 266300, China; ²Department of Transfusion, Jiaozhou Central Hospital of Qingdao)

Corresponding author: CUI Haitao, E-mail: 15898883686@163.com

Abstract Objective: To investigate procalcitonin(PCT), C reactive protein(CRP) and serum amyloid A protein (SAA) to test the diagnostic value of early bacterial pneumonia and viral pneumonia infection. **Method:** A total of 105 patients with diagnosis of pneumonia were selected. There were 60 cases of bacterial pneumonia infection and 45 cases of viral pneumonia. Fasting blood 4ml was taken of the two groups of patients and the control group, PCT was detected by immunochromatographic assay, SAA was detected by colloidal gold method, and CRP was detected using immune turbidimetric method. PCT, CRP and SAA concentration were detected of viral pneumonia infection group, bacterial pneumonia group and control group, respectively. **Result:** Among the three groups, the differences of PCT, CRP and SAA level were statistically significant ($P < 0.05$); in viral pneumonia group and bacterial pneumonia group, PCT, CRP and SAA levels were higher than those of the control group; and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), SAA of viral infection group and bacterial infection group was significantly higher

¹ 青岛市胶州中心医院检验科(山东青岛, 266300)

² 青岛市胶州中心医院输血科

通信作者: 崔海涛, E-mail: 15898883686@163.com

- [2] Akanmu AS, Oyediji OA, Adeyemo TA, et al. Estimating the Risk of ABO Hemolytic Disease of the Newborn in Lagos [J]. J Blood Transfus, 2015; 2015: 560738.
- [3] 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 (6): 1009—1011.
- [4] 张勇萍, 杨世明, 安宁, 等. 母婴血型不合新生儿溶血病及其血型血清学检测的临床意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(11): 1229—1231.
- [5] 杨冬梅, 李志坚. 不规则抗体致新生儿溶血病的检测结果分析[J]. 中国药物与临床, 2016, 16(3): 438—439.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Kernicterus in full-term infants—United States, 1994—1998[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2001, 50: 491—494.
- [7] 胡亚美, 诸福棠. 实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [8] Handley SC, Posencheg MA. Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn[M]// Neonatal Transfusion Practices. Springer International Publishing, 2017.
- [9] 张泉, 周金安. 6000 例新生儿溶血病标本血型抗体分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2017(6): 975—976.

(收稿日期: 2018-01-25)