

新生儿溶血病患者临床资料与溶血程度关系的研究*

刘建朝¹ 王亚红² 贺锋³

【摘要】 目的:探讨新生儿溶血病(HDN)患儿不同性别、疾病类型、确诊日龄、直接抗人球蛋白试验(DAT)凝集强度与溶血、贫血程度关系。**方法:**分析2016年1月—2019年12月确诊HDN患儿104例,检测所有患儿总胆红素(TBIL)、乳酸脱氢酶(LDH)、血红蛋白(Hb)浓度,根据患儿性别、疾病类型、确诊日龄、DAT凝集强度分成不同组别,比较各组间TBIL、LDH、Hb浓度差异,并分析临床资料与溶血、贫血指标关系。**结果:**104例HDN患儿中,男48例,占46.15%,女56例,占53.85%,不同性别患儿TBIL、LDH、Hb浓度差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。Rh-HDN患儿TBIL、LDH均高于ABO-HDN,Hb浓度低于ABO-HDN,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);ABO-HDN患儿中,O-A组TBIL浓度高于O-B组,Hb浓度低于O-B组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);O-AB组TBIL均高于O-A组和O-B组,Hb低于O-B组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);Rh-HDN患儿中,抗-D组TBIL、LDH均高于抗-E/C/Ce组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。确诊日龄 <4 d患儿TBIL、LDH浓度低于4~7d组和 >7 d组,确诊日龄4~7d组TBIL浓度低于 >7 d组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。DAT4+组TBIL、LDH浓度高于3+、2+、 ≤ 1 +组,Hb浓度低于2+、 ≤ 1 +组,DAT3+组TBIL、LDH浓度高于2+、 ≤ 1 +组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。Rh-HDN患儿容易引起TBIL、LDH升高和Hb降低,确诊日龄、DAT凝集强度与TBIL、LDH呈正相关,DAT凝集强度与Hb呈负相关(均 $P<0.05$)。**结论:**HDN患儿性别与溶血、贫血程度无关,对于Rh引起的HDN、确诊日龄 >7 d、DAT凝集强度 $\geq 3+$ 患儿,应密切关注TBIL和Hb变化情况,及时采取相关措施,防止胆红素脑病发生。

【关键词】 新生儿溶血病;Rh血型系统;ABO血型系统;溶血程度;直接抗人球蛋白试验

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.02.007

【中图分类号】 R722.18 **【文献标志码】** A

Study and analysis of correlation of clinical characteristics and degree of hemolysis and anemia in newborn children with hemolytic disease

LIU Jianchao¹ WANG Yahong² HE Feng³

(¹Medical Laboratory, Hunan College of Occupational Disease Control, Changsha, 410007, China; ²Laboratory of 921 Hospital of the Joint Service Support Force of the People's Liberation Army; ³Blood Transfusion Department of Zhuzhou Central Hospital)

Correspondence author: HE Feng, E-mail: hefeng207@126.com

Abstract Objective: To analyze the relationship between different gender, disease types, age of diagnosis, agglutination intensity of direct anti-human globulin test and degree of hemolysis and anemia in newborn children with hemolytic disease(HDN). **Methods:** A total of 104 cases of HDN newborn children who were diagnosed in our hospital from January 2016 to December 2019 were analyzed, and total bilirubin(TBIL), lactate dehydrogenase(LDH), hemoglobin(Hb) concentrations of all children were detected. According to gender, disease type, age of diagnosis and DAT agglutination intensity, all children were divided into different groups, and the differences in TBIL, LDH, Hb concentrations between the groups were compared and statistically analyzed. **Results:** Of the 104 HDN children, 48 cases were male, accounting for 46.15%, and 56 cases were female, accounting for 53.85%. There were no statistically significant differences in the concentrations of TBIL, LDH, and Hb among children of different genders(all $P>0.05$). Children with Rh-HDN had higher TBIL and LDH than that of ABO-HDN, and Hb concentration was lower than that of ABO-HDN, the differences were statistically significant(all $P<0.05$). Among the ABO-HDN patients, the TBIL concentration in the O-A group was higher than that in the O-B group, and the Hb concentration was lower than that in the O-B group. The differences were statistically significant(both $P<0.05$). The TBIL in the O-AB group was higher than that in the O-A group and O-B group, and the Hb was lower than that in the O-B group, the difference was statistically significant(both $P<0.05$). Among Rh-HDN patients, TBIL and LDH in anti-D group were higher than those in anti-E/C/Ce group, and the differences were statistically significant(both $P<0.05$). The TBIL concentration in the diagnosed day 4-7 days group was lower than that in the >7 day group, and the differences were statistically significant(both $P<0.05$). TBIL and LDH

*基金项目:湖南省卫生健康委科研项目(No:20201481)

¹湖南省职业病防治院医学检验科(长沙,410007)

²中国人民解放军联勤保障部队第921医院检验科

³株洲市中心医院输血科

通信作者:贺锋,E-mail:hefeng207@126.com

concentrations in DAT4 + group were higher than those in 3+, 2+, ≤ 1 + group, Hb concentration was lower than that in 2+, ≤ 1 + group, TBIL, LDH concentration in DAT3 + group were higher than those in 2+, ≤ 1 + group, and the differences were statistically significant(all $P < 0.05$). Children with RH-HDN were likely to cause an increase in TBIL and LDH and a decrease in Hb. The age of diagnosis and DAT agglutination intensity were positively correlated with TBIL and LDH, and DAT agglutination intensity was negatively correlated with Hb(all $P < 0.05$). **Conclusion:** The gender of children with HDN had no correlation with the degree of hemolysis and anemia. For children with HDN caused by Rh, age of diagnosis > 7 days and DAT agglutination intensity $\geq 3+$, it should pay close attention to changes in bilirubin and hemoglobin, and take timely measures to prevent bilirubin encephalopathy.

Key words hemolytic disease of newborn; Rh blood group system; ABO blood group system; hemolysis degree; direct anti human globulin test

新生儿溶血病(hemolytic disease of newborn, HDN)是由于母体内 IgG 类抗体通过胎盘屏障进入胎儿血液系统,导致胎儿 RBC 破坏,从而发生免疫性溶血疾病^[1]。HDN 主要临床症状为贫血、黄疸、水肿、肝脾肿大,严重者可出现心力衰竭,危及患儿生命。部分患儿可因溶血严重,胆红素持续升高并进展至核黄疸,导致中枢神经系统中毒,引起智力障碍和运动障碍^[2],通常采用药物、物理、全血置换等治疗手段迅速降低患儿胆红素浓度。以往研究主要集中在 HDN 的诊断和治疗措施方面^[3],对于 HDN 患儿各种影响因素与溶血程度相关性方面的研究较为少见。本研究统计分析 104 例 HDN 患儿不同疾病类型、确诊日龄、直接抗人球蛋白试验(DAT)凝集强度与溶血程度的关系,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 对象

2016 年 1 月—2019 年 12 月我院确诊 HDN 患儿 104 例,其中男 48 例,女 56 例,根据 HDN 疾病类型可分为 ABO-HDN 89 例,Rh-HDN 15 例。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 总胆红素(TBIL)、乳酸脱氢酶(LDH)由 BECKMAN AU5831 生化分析仪检测,血红蛋白(Hb)由 Sysmex-XN2000 全自动血细胞分析仪检测,凝胶卡孵育器由长春博讯生物技术有限公司生产,TD-A 血型卡专用离心机由长春博研器械公司生产。

1.2.2 试剂 抗人球蛋白试剂由上海血液生物医药有限责任公司生产;不规则抗体检测试剂由长春博德生物技术有限公司生产,谱细胞由上海血液生物技术有限公司生产。

1.3 方法

1.3.1 新生儿溶血 3 项检测 所有患儿进行新生儿溶血 3 项检测,包括游离抗体试验、放散试验、DAT,记录 DAT 凝集强度,当放散试验阳性或者 DAT、游离抗体试验阳性即可诊断为 HDN。

1.3.2 不规则抗体筛查 游离试验中对与“O”型 RBC 反应样本均进行不规则抗体筛查,取微柱凝

胶卡,分别标记 I、II、III,每孔加入 0.8% RBC 和血清 50 μ L,37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,微柱凝胶检测卡专用离心机离心 5 min,取出后判读结果。

1.3.3 不规则抗体鉴定 不规则抗体筛查阳性标本进行抗体鉴定,应用微柱凝胶卡法或试管法对不规则抗体进行鉴定,对照凝胶卡反应格局判断抗体特性,对于确认抗体特异性的标本分别用单克隆抗体检测患儿和母亲 RBC 是否含有相应抗原,留取因 Rh 抗体所致 HDN 标本信息。

1.3.4 生化指标和 Hb 的检测 采集患儿血液,3000 r/min 离心 5 min,分离血清,BECKMAN AU5831 生化分析仪检测血液中 TBIL、LDH。采集 EDTA-K₂ 抗凝标本 2 mL,混匀后通过 Sysmex-XN2000 全自动血细胞分析仪检测 Hb 浓度,并做好相关质控。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件建立数据库进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组样本之间的比较采用独立样本 t 检验,多组样本间的比较采用方差分析,相关性分析采用 Spearman 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同性别 HDN 患儿溶血指标比较

104 例 HDN 患儿中,男 48 例(46.15%),女 56 例(53.85%),男性患儿 TBIL、LDH、Hb 浓度分别为 (159.89 ± 13.78) μ mol/L、 (359.05 ± 24.88) U/L、 (132.74 ± 12.55) g/L,女性患儿 TBIL、LDH、Hb 浓度分别为 (156.95 ± 11.27) μ mol/L、 (355.69 ± 36.98) U/L、 (135.10 ± 13.67) g/L,2 组各溶血指标比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 不同类型 HDN 和母婴血型差异所致溶血情况分析

104 例 HDN 中,ABO-HDN 89 例(85.58%),Rh-HDN 15 例(14.42%)。89 例 ABO-HDN 患者中,O-A 组 TBIL 浓度高于 O-B 组,Hb 浓度低于 O-B 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);O-AB 组 TBIL 均高于 O-A 组和 O-B 组,Hb 低于 O-

B组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。Rh-HDN患者中,抗-D组TBIL、LDH均高于抗-E/C/Ce组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。ABO-HDN患儿TBIL、LDH浓度均低于Rh-HDN,差异均有统计学意义($t = 7.799, 7.015$, 均 $P < 0.05$),Hb浓度高于Rh-HDN患儿,差异有统计学意义($t = 2.104, P < 0.05$),见表1。

2.3 不同确诊日龄患儿溶血指标比较

各组间TBIL、LDH浓度差异有统计学意义($F = 28.804, F = 9.843, P < 0.05$),确诊日龄 < 4 d患儿TBIL、LDH浓度低于4~7d组和 > 7 d组,

确诊日龄4~7d组TBIL浓度低于 > 7 d组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),各组间Hb浓度差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表2。

2.4 不同DAT凝集强度溶血指标比较

DAT4+组TBIL、LDH浓度均高于3+、2+、 ≤ 1 +组,Hb浓度均低于2+、 ≤ 1 +组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。DAT3+组TBIL、LDH浓度均高于2+、 ≤ 1 +组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),DAT2+、 ≤ 1 +组间,TBIL、LDH、Hb浓度差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表3。

表1 不同类型HDN和母婴血型差异所致溶血情况分析

母婴血型	例数	TBIL/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	LDH/ $(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$	Hb/ $(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
ABO-HDN	89	153.54 \pm 15.66	349.57 \pm 32.69	135.27 \pm 14.55
O-A	42	158.26 \pm 8.66	345.29 \pm 26.75	130.75 \pm 12.57
O-B	36	141.54 \pm 11.25 ¹⁾	351.77 \pm 28.22	142.67 \pm 13.28 ¹⁾
O-AB	11	174.79 \pm 12.11 ¹⁾²⁾	358.71 \pm 27.99	128.31 \pm 11.52 ²⁾
F	—	53.142	1.231	10.343
P	—	< 0.05	0.297	< 0.05
Rh-HDN	15	186.59 \pm 11.75	402.74 \pm 29.57	126.55 \pm 16.59
抗-D	8	189.66 \pm 14.56	411.55 \pm 24.22	124.75 \pm 15.26
抗-E/C/Ce	6	162.59 \pm 17.27	376.28 \pm 32.57	134.71 \pm 13.14
抗-c	1	306.03	491	92
t	—	3.183	2.332	1.279
P	—	< 0.05	0.038	0.225

与O-A组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与O-B组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

表2 不同确诊日龄患儿溶血指标比较

日龄	例数	TBIL/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	LDH/ $(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$	Hb/ $(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
< 4 d	72	149.59 \pm 16.29	348.75 \pm 29.18	135.22 \pm 16.27
4~7d	21	171.26 \pm 21.22 ¹⁾	372.77 \pm 31.28 ¹⁾	130.28 \pm 15.57
> 7 d	11	190.63 \pm 28.41 ¹⁾²⁾	383.17 \pm 32.46 ¹⁾	133.21 \pm 18.27
F	—	28.804	9.843	0.757
P	—	< 0.05	< 0.05	0.472

与 < 4 d组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与4~7d组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

表3 不同DAT凝集强度溶血指标比较

DAT凝集度	例数	TBIL/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	LDH/ $(\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$	Hb/ $(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
$\leq 1+$	37	146.38 \pm 28.96 ¹⁾²⁾	348.20 \pm 23.57 ¹⁾²⁾	140.19 \pm 14.61 ¹⁾
2+	41	152.59 \pm 22.34 ¹⁾²⁾	341.29 \pm 26.13 ¹⁾²⁾	133.39 \pm 12.55 ¹⁾
3+	18	171.72 \pm 21.06 ¹⁾	386.79 \pm 29.25 ¹⁾	131.29 \pm 19.72
4+	8	212.57 \pm 14.99	414.28 \pm 25.86	114.77 \pm 15.55
F	—	18.783	27.654	6.765
P	—	< 0.05	< 0.05	< 0.05

与4+组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与3+组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

2.5 临床资料与溶血、贫血指标相关性分析

性别与TBIL、LDH、Hb无明显相关($P > 0.05$);疾病类型中,RH-HDN患儿容易引起TBIL、LDH升高和Hb降低;确诊日龄与TBIL、LDH呈正相关($r = 0.472, P = 0.000, r = 0.203, P = 0.038$),与Hb无明显相关($P > 0.05$);DAT凝集强度与TBIL、LDH呈正相关($r =$

$0.542, P = 0.000, r = 0.462, P = 0.000$),与Hb呈负相关($r = -0.479, P = 0.000$)。

3 讨论

母婴血型不合HDN是早期新生儿高胆红素血症的常见原因之一,引起HDN最主要的为ABO血型系统,其次为Rh血型系统^[4]。ABO-HDN主要发生在母亲为“O”型,胎儿为非“O”型之间,也有

部分发生在母婴均为非“O”型的不同血型之间^[5]。HDN 主要为血管外溶血,随着溶血的发生 TBIL、LDH 升高,Hb 浓度降低,因此本研究采用上述指标来评价 HDN 患儿溶血和贫血程度。

有研究报道,女性患儿发生 HDN 概率高于男性,性别差异是导致 HDN 的重要因素^[6]。本研究比较了不同性别患儿 TBIL、LDH、Hb 的差异,发现 2 组患儿均存在不同程度贫血和溶血,但贫血和溶血指标差异无统计学意义($P > 0.05$),说明性别可能与患病率有关,但与确诊患儿的溶血程度无关。

O-A 组 TBIL 浓度高于 O-B 组,Hb 浓度低于 O-B 组,差异均有统计学意义,差异产生原因可能与 A 型 RBC 上抗原决定簇多于 B 型,与抗体结合后溶血能力更强有关^[7]。O-AB 组 TBIL 均高于 O-A 组和 O-B 组,Hb 低于 O-B 组,这是因为“O”型孕妇可产生 IgG 类抗-A、抗-B、抗-AB,以上抗体均可以与“AB”型 RBC 结合,与单一抗体相比,溶血程度更高。Rh 血型系统包含 5 个抗原,各抗原的免疫原性强弱依次为 D>E>c>C>e。目前,比较抗-D 与非抗-D 导致 HDN 的溶血结果的报道较少,陈盈盈等^[8]研究报道显示抗-D 患儿 TBIL 峰值总体水平较抗-E/c 和抗-Ec 低,Hb 比较差异无统计学意义。

本研究结果显示抗-D 组 TBIL、LDH 均高于抗-E/C/Ce 组,差异均有统计学意义,说明 D 抗原免疫原性更强,患儿溶血、贫血程度更严重。以往研究表明抗-c 引起的交叉配血不合或 HDN 可导致受血者或患儿出现严重的溶血反应^[9],本研究因只纳入 1 例抗-c 引起 HDN 样本,所以无法与其他组别进行溶血相关指标的比较,该患儿 TBIL 为 306.03 $\mu\text{mol/L}$ 、Hb 为 92 g/L,出现严重溶血,筛选 DCCee 红细胞,双倍血容量进行全血置换,迅速降低患儿 TBIL 水平。

本研究亦发现 Rh-HDN 患儿 TBIL、LDH 均高于 ABO-HDN 患儿,说明 Rh 血型系统所致 HDN 溶血程度高于 ABO 血型系统,这是因为 ABO 血型抗原出生时发育不完全,溶血依赖于补体,而补体在新生儿时期量很少,而 Rh 抗体对补体依赖性较差,并同时可以引起血管内和血管外溶血有关^[10]。有研究报道 HDN 患儿出生时与其他患儿无明显差异,仅存在轻中度的皮肤黏膜黄染,无明显溶血和贫血症状^[11]。

本研究发现确诊日龄 < 4 d 患儿 TBIL、LDH 浓度低于 4~7 d 组和 > 7 d 组,确诊日龄 4~7 d 组 TBIL 浓度低于 > 7 d 组,说明 HDN 患儿如不进行相关治疗,溶血和贫血程度会加重。HDN 患儿中 DAT 凝集强度越高,溶血和贫血程度越严重,这是因为 IgG 致敏 RBC 的 Fc 段可被巨噬细胞 Fc 受体

识别结合,更容易引起 RBC 被吞噬破坏,导致溶血、贫血的发生^[12]。相关性分析结果显示,Rh-HDN 患儿溶血和贫血程度更高,确诊日龄与 TBIL、LDH 呈正相关,DAT 凝集强度与 TBIL、LDH 呈正相关,与 Hb 呈负相关。

综上所述,HDN 患儿溶血程度与性别差异无关,与疾病类型、确诊日龄、DAT 凝集强度相关,对于 Rh 引起的 HDN、确诊日龄 > 7 d、DAT 凝集强度 $\geq 3+$ 患儿,应密切关注 TBIL 和 Hb 变化情况,尤其是抗-c、抗-D 引起的 HDN 患儿,可能会导致出生后 TBIL 迅速增高,对于此类患儿应该通过糖皮质激素、丙种球蛋白或者光疗的方法迅速降低 TBIL 浓度,对于重症患儿可通过全血置换,及时换出抗体和致敏 RBC,降低血清 TBIL 浓度,同时可纠正贫血,防止心力衰竭。

参考文献

- [1] Bhardwaj K, Locke T, Biringir A, et al. Newborn Bilirubin Screening for Preventing Severe Hyperbilirubinemia and Bilirubin Encephalopathy: A Rapid Review [J]. *Curr Pediatr Rev*, 2017, 13(1): 67-90.
- [2] 杨勇,任雪军,朱樱梅. 新生儿溶血性高胆红素血症与胆红素脑病的关系研究[J]. *中国妇幼保健*, 2019, 34(8): 1773-1774.
- [3] 徐承琴,白婧,魏广友. 换血疗法治疗新生儿高胆红素血症的临床疗效[J]. *医学综述*, 2019, 25(16): 3313-3316.
- [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] 贺锋. 抗-A、抗-B 效价质控品的制备及初步应用[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(4): 272-274.
- [6] 尹明伟,陈学军,曾智,等. 母婴 ABO 血型不相合的高胆红素血症患儿新生儿溶血病确诊率的影响因素分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(6): 663-666, 670.
- [7] 解金辉,种靖慧,黄娴,等. 1939 例 ABO 血型系统新生儿溶血病的血型分布[J]. *中国应用生理学杂志*, 2014, 30(4): 380-381.
- [8] 陈盈盈,周超,徐军,等. 41 例 Rh-HDFN 血清学试验和临床检验结果的分析研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(7): 883-885.
- [9] 孙福廷,王立萍. IgG 抗-c 引起迟发型溶血反应及血浆置换治疗 1 例[J]. *临床血液学杂志*, 2015, 28(8): 732-733.
- [10] 胡丽华. 临床输血学检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2017: 42-43.
- [11] Xiao Y, Zhou L, Lei X, et al. Genome-wide identification of WRKY genes and their expression profiles under different abiotic stresses in *Elaeis guineensis* [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0189224.
- [12] 邵宗涛,郑萌颖. 自身免疫性溶血性贫血治疗进展[J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(11): 855-860.

(收稿日期:2020-07-06)