

脐带血血型血清学检测在新生儿溶血病中的应用*

刘娟¹, 陈勇², 唐海东³, 谭美芳^{1△}, 潘枫¹, 熊德琼¹, 张泽君¹, 冯晨程¹, 李维¹

(1. 四川省达州市中西医结合医院输血科 635001; 2. 四川省泸州市纳溪区
人民医院检验科 646000; 3. 四川省达州市中心血站成分科 635001)

[摘要] **目的** 探讨脐带血血型血清学检测在新生儿溶血病(HDN)早期诊断中的应用价值。**方法** 对 2017 年 1 月至 2019 年 10 月达州市中西医结合医院正常分娩的产妇脐带血做血红蛋白(Hb)、总胆红素(TSB)、ABO 血型、RhD 血型检测,对于母婴 ABO 血型不合(O-A、O-B、O-AB)、母婴其他血型(O-O、非 O-A、B、AB、Rh 系统抗-D 除外)中母亲不规则抗体筛查阳性的新生儿脐带血做新生儿溶血 3 项试验。**结果** 1 969 例脐带血标本母婴血型 O-A 型 476 例,确诊 HDN 127 例(26.68%),O-B 型 339 例,确诊 HDN 76 例(22.42%),O-AB 型 42 例,确诊 HDN 3 例(7.14%),1 112 例母婴其他血型中母亲不规则抗体筛查阳性 28 例,确诊 HDN 19 例(1.71%)。**结论** 脐带血血型血清学检测在新生儿溶血病中的应用效果显著。

[关键词] 新生儿溶血病;血型;基层医疗机构;脐带血;诊断

[中图分类号] R556.6+3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)14-2492-04

Application of blood group serological testing of umbilical cord blood in neonatal hemolytic disease*

LIU Juan¹, CHEN Yong², TANG Haidong³, TAN Meifang^{1△}, PAN Feng¹,
XIONG Deqiong¹, ZHANG Zejun¹, FENG Chencheng¹, LI Wei¹

(1. Department of Blood Transfusion, Dazhou Municipal Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Dazhou, Sichuan 635001, China;
2. Department of Clinical Laboratory, Naxi District Peoples Hospital, Luzhou, Sichuan 646000, China; 3. Department of Component, Dazhou Municipal Central Blood Station, Dazhou, Sichuan 635001, China)

[Abstract] **Objective** To explore the application value of blood group serological detection of umbilical cord blood in the early diagnosis of hemolytic disease of newborn(HDN) in basic medical institutions. **Methods** Hemoglobin(Hb), total bilirubin(TSB), ABO blood group, and RhD blood group of umbilical cord blood in the parturients with normal labor in the Dazhou Municipal Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine from January 2017 to October 2019 were detected. The neonatal umbilical cord blood of maternal irregular antibody screening positive for the maternal and infant ABO blood group incompatibility(O-A, O-B, O-AB) and maternal and infant other blood groups(O-O, non-O-A, B, AB, except for anti-D in Rh system) conducted the neonatal hemolytic 3-item test. **Results** Among 1 969 umbilical cord blood samples, in 476 cases of mother and infant blood group O-A group, 127 cases (26.68%) were diagnosed as HDN; in 339 cases of O-B group, 76 cases (22.42%) were diagnosed as HDN; in 42 cases of O-AB group, 3 cases (7.14%) were diagnosed as HDN, in 1 112 cases of other maternal and infant blood groups, 28 cases were detected positive in maternal irregular antibody screening, 19 cases (1.71%) were definitely diagnosed as HDN. **Conclusion** The application effect of the umbilical cord blood group serological testing is effective in neonatal hemolytic disease.

[Key words] hemolytic disease of newborn; blood group; basic medical institutions; umbilical cord blood; diagnosis

* 基金项目:四川省达州市卫生健康委员会科研项目(201708)。 作者简介:刘娟(1977-),副主任技师,本科,主要从事临床输血技术及管理的研究。 △ 通信作者, E-mail:371590349@qq.com。

母子血型不合是高危妊娠原因之一,不仅在妊娠期间可引起流产、早产、胎儿畸形、死胎、死产等,更是引起新生儿溶血病(HDN)的主要原因^[1],所以 HDN 的早期诊断和治疗尤为重要。目前,国内外针对 HDN 已进行了很多孕期相关检测,包括孕妇不规则抗体筛查与鉴定、血清抗体效价检测等,但最终确诊都需要新生儿期的检测^[2-3]。基层医疗机构由于孕产妇围产保健意识相对薄弱,设施设备不够完善,医疗技术人员水平参差不齐,所以一般会在出现病理性黄疸时再为患儿做 HDN 检测,往往诊断较晚,可能对患儿神经功能造成不可逆的损害,即影响治疗,又对患儿及家长的身心健康造成了危害。本研究对 1 969 例脐带血标本进行了 HDN 血型血清学检测,以进一步指导临床工作,促进 HDN 的早诊断、早治疗,减少对患儿的损害,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2017 年 1 月至 2019 年 10 月在达州市中西医结合医院正常分娩的产妇脐带血标本 1 969 例,研究对象父母 RhD 血型均为阳性,母亲无妊娠并发症,新生儿无早产、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏疾病,肝功能正常,单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、风疹病毒、弓形虫等检测结果为阴性。母婴血型 O-A 型 476 例,O-B 型 339 例,O-AB 型 42 例,其他血型(O-O、非 O-A、B、AB、Rh 系统抗-D 除外)1 112 例。

1.2 仪器和试剂

A、B、O 标准红细胞、新生儿 ABO、RhD 血型检测卡(微柱凝胶)、HDN 胎(婴)儿不完全抗体检测卡(抗人球蛋白检测卡)由长春博讯生物技术有限责任公司提供。抗人球蛋白(抗 IgG、抗 C3d)检测卡, LB-3000 医用离心机由江苏力博医学生物技术股份有限公司提供。TD-A 型医用离心机, FYQ 免疫微柱孵育器由长春博讯科学仪器有限责任公司提供, LISS/coombs 试剂卡由瑞士达亚美公司提供。

1.3 方法

对 1 969 例脐带血标本做血红蛋白(Hb)、总胆红素(TSB)、ABO 血型、RhD 血型,对于母婴 ABO 血型不合(O-A、O-B、O-AB)、母婴其他血型(O-O、非 O-A、B、AB、Rh 系统抗-D 除外)中母亲不规则抗体筛查阳性的新生儿脐带血做新生儿溶血 3 项试验,即:直接抗人球蛋白试验(DAT)、游离试验、放散试验。方法为微柱凝胶法,母婴 ABO 血型不合(O-A、O-B、O-AB)的脐带血释放试验做热放散,母婴其他血型(O-O、非 O-A、B、AB、Rh 系统抗-D 除外)中母亲不规则抗体筛查阳性的新生儿脐带血释放试验做酸放散。相关操作标准参照《全国临床检验操作规程》^[4]。

1.4 判断标准

HDN 判断标准见表 1^[5];直接抗人球蛋白试验(DAT)或游离试验单项阳性只能判断可疑 HDN;溶

血 3 项试验中如有 1 项释放试验阳性或 3 项试验中有 2~3 项同时阳性,均可判断为 ABO HDN^[6]。

表 1 溶血 3 项试验对 ABO HDN 的诊断

DAT	游离试验	释放试验	结果判断
-	-	-	不能确诊由血型免疫抗体引起的 HDN
+	-	-	疑为 ABO-HDN(少见)
-	+	-	疑为 ABO-HDN(少见)
-	-	+	确诊为 ABO-HDN
+	-	+	确诊为 ABO-HDN
+	+	-	确诊为 ABO-HDN
-	+	+	确诊为 ABO-HDN
+	+	+	确诊为 ABO-HDN

+: 阳性; -: 阴性。

1.5 统计学处理

采用 SPSS19.0 对数据进行统计学处理,计数资料采用百分比表示,组间比较用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 1 969 例脐带血标本中新生儿溶血 3 项检测结果

母婴血型 O-A 型 476 例,确诊 HDN 127 例(26.68%),母婴 O-B 型 339 例,确诊 HDN 76 例(22.42%),母婴 O-AB 型 42 例,确诊 HDN 3 例(7.14%),母婴其他血型 1 112 例,确诊 HDN 19 例(1.71%)。母婴 ABO 血型不合(O-A、O-B、O-AB 型)中确诊 HDN 占本实验研究确诊 HDN 总例数的 91.56%(206/225),与其他血型组间比较差异有统计学意义($P<0.01$),而 O-A 型与 O-B 型血型间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 1 969 例脐带血溶血 3 项试验检测结果[n(%)]

血型(母-婴)	n	DAT 阳性	游离试验阳性	放散试验阳性	确诊 HDN
O-A	476	32(6.72)	106(22.27)	113(23.74)	127(26.68)
O-B	339	18(5.31)	55(16.22)	71(20.94)	76(22.42)
O-AB	42	2(4.76)	3(7.14)	3(7.14)	3(7.14)
其他	1 112	18(1.62)	13(1.17)	18(1.62)	19(1.71)
合计	1 969	70(3.56)	177(8.99)	205(10.41)	225(11.43)

2.2 1 969 例脐血标本 Hb 检测结果

1 969 例脐血标本血红蛋白 Hb 分为 A、B、C 组,其中 A 组为 Hb>140 g/L, B 组 Hb 120~140 g/L, C 组 Hb<120 g/L。A 组 1 392 例,确诊为 HDN 132 例(9.48%), B 组 448 例,确诊为 HDN 64 例(14.29%), C 组 129 例,确诊为 HDN 29 例(22.48%)。A 组与 B 组间比较差异无统计学意义($P>0.05$), A 组与 C 组、B 组与 C 组间比较差异均有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 1 969 例脐血标本 TSB 检测结果

1 969 例脐血标本 TSB 分为 D、E、F 组,其中 D 组 TSB>220 $\mu\text{mol/L}$, E 组 TSB 103~220 $\mu\text{mol/L}$, F

组 TSB < 103 $\mu\text{mol/L}$ 。其中 D 组 230 例确诊 HDN 66 例 (28.70%), E 组 638 例确诊 HDN 82 例 (12.85%), F 组 1 101 例确诊 77 例 (6.99%), D 组与 E、F 组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), E 组与 F 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 一致性检验

HB 检测与新生儿溶血 3 项检测结果进行一致性检验分析,以 Hb < 120 g/L 作为 Hb 检测的试验标准,见表 3。Hb 检测结果与新生儿溶血 3 项检测结果的 $Kappa$ 系数 = 0.088, $P < 0.001$ 。

表 3 HB 检测与新生儿溶血 3 项结果检测一致性情况 (n)

HB 检测	阳性	阴性	合计
<120 g/L	29	100	129
\geq 120 g/L	196	1 644	1 840
合计	225	1 744	1 969

本研究的 TSB 检测与新生儿溶血 3 项检测结果进行一致性检验分析,见表 4。TSB 检测结果与新生儿溶血 3 项检测结果的 $Kappa$ 系数 = 0.197, $P < 0.001$ 。

表 4 TSB 检测与新生儿溶血 3 项结果检测一致性情况 (n)

TSB 检测	阳性	阴性	合计
>220 $\mu\text{mol/L}$	66	164	230
\leq 220 $\mu\text{mol/L}$	159	1 580	1 739
合计	225	1 744	1 969

3 讨论

HDN 一般特指母婴血型不合引起的胎儿或新生儿免疫溶血性疾病。理论上凡是以 IgG 性质出现的血型抗体都可以引起 HDN,其中以 ABO 血型系统最常见,其次为 Rh 血型系统, Kidd、Duffy、Kell 等血型系统引起 HDN 也有报道^[6]。本研究结果显示,母婴 ABO 血型不合 (O-A、O-B、O-AB) 的新生儿中确诊 HDN 的比例为 91.56% (206/225), Rh 血型系统除抗 D 外确诊 HDN 比例为 8.44% (19/225),实验结果与文献报道不一致, ABO 溶血病占新生儿溶血的 85.3%, Rh 溶血病占 14.6%^[7]。由于对 RhD 阴性孕妇关注度比较高,一般不会漏检,所以本实验研究对象排除了 RhD 阴性案例,导致 Rh 溶血病比例相对较少, ABO 溶血病比例偏高。本研究采用的确诊 HDN 的 3 项试验中 DAT 是用于检查新生儿红细胞是否受 IgG 抗体致敏,阳性率较低。释放试验和 DAT 目的相同,是 3 项试验中灵敏度最高的一项试验,该项单独阳性可作为 ABO-HDN 的确诊试验,具有较高的诊断价值。游离试验阳性率也较高,但需与其他两项试验中任何一项同时阳性才可以判定为 ABO-HDN。文献中母婴 ABO 血型不合的新生儿脐带血约有 20% 血清学常规 3 项试验为假阳性,而本研究中 ABO-

HDN 总的阳性率 24.04% (206/857),这与国内外文献和临床实际案例不太相符,因为有些 HDN 少量溶血发生在宫内,出生后的溶血 3 项试验是测不出的,全部表现为阴性^[8-13]。另外,本实验研究所采用的试剂、凝胶卡、操作方法、病例的选择等也导致阳性率之间有差异。

脐带血 Hb 在 HDN 的早期诊断中有着重要的参考价值。本实验研究表明,当 Hb < 120 g/L 时, HDN 确诊率明显升高,而 Hb 120 ~ 140 g/L 与 Hb 大于 140 g/L 两组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),但尚需除外因基线不同造成对结果的误判,如产妇营养不良,某些血液系统疾病,生产时合并产科并发症,大剂量输液等导致的脐血 Hb 偏低。当新生儿脐带血 Hb 低于正常值时,一定要根据患儿病史尽快筛查 G6PD 缺乏、 α 地中海贫血、遗传性球形红细胞增多、Hb 合成异常、丙酮酸激酶缺乏等疾病,并动态观察新生儿 Hb 水平和网织红细胞,以免延误新生儿病情^[14];同时,本研究结果表明,HB 检测结果与新生儿溶血 3 项检测结果一致性较差,HB 检测数据只能用于 HDN 疾病诊断参考。

非结合胆红素升高在诊断溶血时有较重要的参考价值,同时过高的胆红素可通过血脑屏障对新生儿造成永久性的神经损害^[15]。有研究表明,随着 TSB 增高,高胆红素血症发生率增多,并且随着 TSB 水平增高,给予光疗病例增多^[8]。本研究对 1 969 例新生儿脐带血做常规 TSB 检测,结果显示 D、E、F 组比较差异均有统计意义 ($P < 0.01$)。考虑 TSB 水平与母体胎盘屏障、抗体的强度、亚类、胎儿红细胞的发育程度、胎儿代偿性造血功能及免疫功能等密切相关^[16],因此,动态监测新生儿每日 TSB 或经皮胆红素 (TcB) 上升水平更有价值。但是本研究表明,TSB 检测结果与新生儿溶血 3 项检测结果一致性较差,TSB 检测数据只能用于 HDN 疾病诊断参考。

本研究中其他血型组中母亲不规则抗体筛查阳性 28 例,确诊为 HDN 的患儿 19 例,其中有 17 例为 Rh 血型系统所导致的 HDN,有 13 例患儿采用了换血治疗,而 O-A、O-B、O-AB 组无重度 HDN 患儿。提示关注 ABO-HDN 的同时,要充分认识 Rh 除抗-D 外血型系统在预防和诊治 HDN 方面的重要性。提示应对 RhD 阳性非 O 型母亲这个群体予以重视。本实验研究对不规则抗体筛查阳性的产妇常规进行脐带血血型血清学检测,对 HDN 的早期诊断和治疗具有非常重要的价值,它既可以确认产妇抗体类型,为产妇安全用血提前做好准备,又能为新生儿治疗准备相匹配的血液。当母婴 ABO、RhD 血型相合而 Rh 表型不相合时,妊娠会产生免疫性红细胞抗体如抗-E、抗-C、抗-c 等,并且会随着妊娠次数的增加而增加,而孕妇产前如果输过 Rh 表型不相合或者含其他抗原的血液也是产生免疫性红细胞抗体的原因之一,这些免疫

性红细胞抗体会导致新生儿发生 HDN。因为 Rh 血型系统的抗原是多肽类,会引起严重的 RhHDN^[17],对患儿的危害远远大于 ABO 溶血病,它会导致胎儿或新生儿贫血、黄疸、严重病例可能发生核黄疸(高浓度胆红素造成的脑损伤),甚至死亡^[18]。

目前,随着优生优育知识的普及和免疫学理论在产科地位的日渐提高,HDN 的诊断方法越来越精准,基因检测^[19]、新生儿血型血清学检测、孕期抗体筛查、鉴定和胎儿大脑中动脉收缩期峰值流速(MCA-PSV)^[20]等联合检测,对 HDN 的早期诊断和治疗有明确的指导作用,但基层医疗机构往往由于设施设备、人员等因素不能完全开展相关工作。本研究采用脐带血血型、溶血 3 项、Hb、TSB 等血清学检测,基层医疗机构易开展,结合 HB、TSB 或 TCB 动态监测,提高了 HDN 早期诊断的灵敏度和特异度,结果准确可靠。脐带血采血简单,操作方便,不会给新生儿带来侵入性损伤,家长易接受。对基层医疗机构早期诊断、早期干预 HDN 有着极其重要的作用,值得推广应用。

参考文献

[1] 徐文皓,黄亚娟. Rh 阴性孕妇的产前免疫血液学检查及妊娠结局分析[J]. 实用妇产科杂志, 2017,33(10):772-777.

[2] 周丽华,袁志敏,莫亚明,等. 孕产妇不规则抗体筛查在新生儿溶血病诊断中的应用[J]. 临床输血与检验, 2019,21(5):468-470.

[3] 雷芳,王苗,杨亚兴,等. 新生儿溶血三项及孕妇血清抗体效价检测在新生儿溶血病诊断中的应用价值[J]. 临床医学研究与实践, 2019,4(18):83-85.

[4] 郭莹莹,霍姿含,王震,等. 1350 例新生儿溶血三项试验的血清学检测分析[J]. 中国免疫学杂志, 2016,32(9):1357-1359.

[5] 卢伟能,周艳霞,荣箫,等. 经外周动静脉全自动换血术治疗高胆红素血症新生儿前后脑电活动的变化[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016,31(12):919-922.

[6] 苏敏,张映辉. 新生儿脐血 IgE 与母血 IgE 及婴儿过敏性疾病的关系[J]. 山东医药, 2016,56(20):46-48.

[7] 方强,丁国徽,沈国松. 283 例胎儿血型基因型鉴定结果分析[J]. 中华检验医学杂志, 2017,40(9):721-723.

[8] 李小飞,刁雪芹,刘兴莉,等. 抗-K 引起新生儿溶血病的研究——附报告 1 例[J]. 中国输血杂志, 2015,28(9):1115-1117.

[9] 彭小友,周杰英,阳爱丽,等. 53 例患儿疑难配血原因分析与输血对策探讨[J]. 检验医学与临床, 2020,17(5):600-602.

[10] 夏悦昕,王霓,张力,等. 孕妇不规则抗体筛查 273 例分析[J]. 中国临床医生杂志, 2019,47(7):854-855.

[11] 张伟,邵峰,步晓筠. 不规则抗体引起新生儿溶血病(附 20 例分析)[J]. 宁夏医科大学学报, 2018,40(02):202-204.

[12] REE I M C, BESUDEN C F J, WINTJENS V E H J, et al. Exchange transfusions in severe Rh-mediated alloimmune haemolytic disease of the foetus and newborn; a 20-year overview on the incidence, associated risks and outcome[J]. Vox Sang, 2021,41(Suppl 1):1-5.

[13] PAN J, ZHAN C, YUAN T, et al. Intravenous immunoglobulin G in the treatment of ABO hemolytic disease of the newborn during the early neonatal period at a tertiary academic hospital: a retrospective study[J]. J Perinatol, 2021,41(6):1397-1402.

[14] 徐文皓,向东. 红细胞免疫抗体引起的新生儿溶血病 4 例报告[J]. 临床儿科杂志, 2015,33(6):562-566.

[15] 郑辉,邱堃,吴桐. 既往不良妊娠史 ABO 型血孕妇产前血清 IgG 抗体效价检测的临床意义[J]. 山东医药, 2017,57(33):81-83.

[16] GUPTA V, SIDHU M, SHAH S N. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to multiple alloantibodies in pregnancy [J]. Asian J Transfus Sci, 2020,14(1):83-86.

[17] 王婧,潘家华. 母婴 Rh 血型不合溶血病的诊治进展[J]. 中国新生儿科杂志, 2016,31(2):152-155.

[18] ZHU X J, WEI J K, ZHANG C M. Evaluation of endothelial microparticles as a prognostic marker in hemolytic disease of the newborn in China[J]. J Int Med Res, 2019,47(11):5732-5739.

[19] 赵文博. 新生儿 Rh 血型不合溶血病基因诊断与临床治疗研究进展[J]. 中国处方药, 2018,16(9):24-25.

[20] 敖雪,谭世桥,余海燕. 母婴 Rh 血型不合胎儿和新生儿溶血病相关临床问题研究[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2018,14(3):249-255.