

外周血涂片球形红细胞计数 在新生儿ABO溶血病中的诊断价值^{*}

黄道连,蔡凤娟,童辉纯,邓坤仪,李丽莲,刘继,翁小玲
(南方医科大学附属中山市博爱医院检验科,广东中山 528400)

摘要:目的 探讨新生儿外周血涂片球形红细胞计数对新生儿ABO溶血病(BO-HDN)诊断的临床价值。方法 回顾性分析中山市博爱医院2009~2015年165例临床诊断为新生儿ABO溶血病数据结果作为实验组;以68例非ABO溶血病新生儿数据结果为对照组,调查其相关临床资料和实验室检测指标,并比对分析其溶血三项试验结果。结果 165例新生儿ABO溶血病中球形红细胞阳性为110例,阳性率为66.7%($\chi^2=58.069$, $P<0.05$),其中出生日龄≤2天,3~4天和≥5天的球形红细胞阳性率分别为68.8%,60.5%和66.7%;球形红细胞对新生儿ABO溶血病的诊断灵敏度为66.7%,特异度为88.2%,阳性预测值为93.2%,阴性预测值为52.2%;当球形红细胞计数阳性界点为≥5%时,诊断ABO-HDN的灵敏度为66.7%,特异度为88.2%;若设置球形红细胞阳性界点为≥10%,则诊断ABO-HDN的灵敏度降低到9.3%,但是特异度达到98.5%;ABO-HDN组外周血与非ABO-HDN组比较,有核红细胞、RDW和Ret水平较高,血红蛋白水平较低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结论 外周血涂片球形红细胞计数对ABO-HDN诊断的灵敏度和特异度较高,联合黄疸、贫血和RDW等指标可为ABO-HDN的早期诊断、预防和治疗提供指导。

关键词:新生儿ABO溶血病;外周血涂片;球形红细胞计数;诊断价值

中图分类号:R722.18; R446.111 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)01-063-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.01.016

Diagnostic Value of Peripheral Blood Smear Spherical Erythrocyte Count in ABO-Hemolytic Disease of the Newborn

HUANG Dao-lian, CAI Feng-juan, TONG Hui-chun, DENG Kun-yi, LI Li-lian, LIU Ji,
WENG Xiao-ling (Department of Medical Laboratory, Zhongshan Boai Hospital
Affiliated to Southern Medical University, Guangdong Zhongshan 528400, China)

Abstract: Objective To evaluate the clinical value of neonatal peripheral blood smear spherical erythrocyte count in the diagnosis of ABO-HDN. Methods 165 cases clinically diagnosed with ABO-HDN in Zhongshan Boai Hospital from 2009 to 2015 were listed as the experimental group by retrospective analysis, 68 cases of non-ABO-HDN were listed as control group. Besides, relevant clinical data and experimental examination were investigated, and the results of their hemolysis test were analysed. Results Peripheral blood smear spherical erythrocyte count were positive in 110 cases of 165 patients with ABO-HDN, the positive rate of spherical erythrocytes was 66.7% ($\chi^2=58.069$, $P<0.05$). The spherical erythrocyte positive rates were 68.8%, 60.5% and 66.7% in patients aged ≤2d, 3~4d, ≥5d respectively. The diagnostic sensitivity of spherical erythrocytes to ABO-HDN was 66.7%, the specificity was 88.2%, the positive predictive value was 93.2%, and negative predictive value was 52.2%. When spherical erythrocyte count positive point was set as ≥5% spherical erythrocytes, the diagnostic sensitivity of spherical erythrocytes to ABO-HDN was 66.7% and the specificity was 88.2%. If the positive point was set as ≥10% spherical erythrocytes, the sensitivity of ABO-HDN decreases to 9.3%, and the specificity reaches 98.5%. In ABO-HDN group, the levels of nucleated red blood cell, RDW and Ret were higher, along with the lower level of hemoglobin compared with non-ABO-HDN group (all $P<0.05$). Conclusion The peripheral blood smear spherical erythrocyte count had a high sensitivity and specificity for the diagnosis of ABO-HDN. Combined with jaundice, anemia and RDW, peripheral blood smear spherical erythrocyte count can provide guidance for the early diagnosis, prevention and treatment of ABO-HDN.

Keywords: ABO-hemolytic disease of the newborn; peripheral blood smear; spherical red blood cell count; diagnostic value

新生儿ABO溶血病(ABO-hemolytic disease of the newborn, ABO-HDN)是因为母亲与胎儿ABO血型不合,使得母亲产生抗胎儿血型的免疫抗体(抗A或抗B IgG抗体),母亲血液中的IgG抗体通过胎盘屏障作用于胎儿A或B型红细胞形

成的免疫性溶血性疾病。临床表现为不同程度的黄疸、贫血和肝脾肿大等,少数病情严重者可发展为高胆红素血症或胆红素脑病^[1],临幊上以光疗、药物治疗为主^[2],快速对患儿作出诊断和干预是治疗该病的关键^[3],能大大地降低并发症和后遗症的

* 基金项目:广东省中山市医学科研基金项目(2013A020031)。

作者简介:黄道连(1961—),男,中专,主任技师,主要从事血液形态学研究,E-mail:13702528623@139.com。

发生率^[4]。临幊上预测 ABO-HDN 主要依赖于孕妇产前抗体效价测定以及新生儿血清溶血三项检测,但这些检查设备要求高、花费大,试剂保存时间短、容易失效,在基层医院难以普及。根据相关报道,ABO-HDN 患儿外周血中可出现数目不等的球形红细胞。本文通过回顾性分析我院出生且临幊诊断为 ABO-HDN 或者非 ABO-HDN 的新生儿共 233 例,比对分析其外周血涂片球形红细胞计数的结果,同时联合外周血有核红细胞、血红蛋白、红细胞分布宽度(red cell volume distribution width, RDW)、网织红细胞(reticulocyte, Ret)、胆红素等指标,进而探讨新生儿外周血涂片球形红细胞计数对诊断 ABO-HDN 的实用价值。本研究旨在指导临幊工作,为 ABO-HDN 的早诊断、早治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2009~2015 年本院出生且临幊诊断为 ABO-HDN 的新生儿 165 例为实验组,男性 73 例,女性 92 例;A 型血 83 例,B 型血 82 例,AB 型血 1 例;日龄 2 h~17 天;临幊诊断为非 ABO-HDN 新生儿 68 例为对照组,男性 38 例,女性 30 例;A 型血 23 例,B 型血 44 例,AB 型血 1 例,日龄 10 h~16 天。

1.2 试剂与仪器 血液样本的血红蛋白、RDW,Ret 检测均采用西门子公司的试剂,在西门子 ADVIA2120i 血液分析仪上进行测试;血清胆红素测定试剂由贝克曼公司提供,在贝克曼 AU 5800 仪器上进行测试。抗-A/B/D 血清试剂和 ABO 标准红细胞由上海血液生物医药有限公司提供。外周红细胞血涂片染色使用珠海贝索生物技术有限公司的快速染色液。微柱凝胶血型卡(ABD)及离心机均为戴安娜配套系统产品。溶血三项试验试剂为博德生物科技公司产品。

1.3 检验方法 抽取入选者空腹静脉血两管。其中一管血置于干燥管中,3 000 r/min 离心 10 min,使用上层血清,采用钒酸盐法,在贝克曼 AU5800 仪器上进行胆红素检测。

另外一管血置于 EDTA-K₂ 抗凝管中,血红蛋白、RDW 和 Ret 项目严格按照操作说明在西门子 DVIA2120i 血液分析仪上进行测试。外周血涂片球形红细胞计数、有核红细胞计数与血清学溶血三项试验按《全国临床检验操作规程》^[5]进行,外周血涂片球形红细胞计数≥5%设为阳性。

1.4 ABO-HDN 诊断标准 ①母子血型不合;②抗体释放试验或直接抗人球蛋白试验阳性;③发生高胆红素血症的为临床型,否则为亚临床型^[5]。

1.5 统计学分析 实验结果以均数±标准差(±s)表示,所有数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析处理。阳性率统计学分析采用 χ^2 检验,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 球形红细胞计数阳性率 在收集的 165 例 ABO-HDN 病例中,有 110 例球形红细胞计数阳性,阳性率为 66.7%;而在 68 例非 ABO-HDN 组中,仅有 8 例球形红细胞计数阳性,阳性率为 11.8%,与 ABO-HDN 组相比较,球形红细胞计数阳性率差异具有统计学显著性意义($\chi^2=58.069$, $P<0.05$)。其中出生日龄≤2 天,3~4 天,≥5 天的球形红细胞阳性率分别为 68.8%(77/112),60.5%(23/38),66.7%(10/15);以出生日龄≤2 天的球形红细胞阳性率最高。

2.2 球形红细胞计数对 ABO-HDN 的诊断价值

为进一步研究球形红细胞计数对 ABO-HDN 的临幊诊断价值,我们分析了球形红细胞计数的诊断效能,统计得出球形红细胞对 ABO-HDN 诊断的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 66.7%,88.2%,93.2% 和 52.2%,球形红细胞计数对 ABO-HDN 的临幊诊断表现出较高的诊断效能。

2.3 球形红细胞数量与 ABO-HDN 诊断的关系

为了探讨球形红细胞数量与 ABO-HDN 诊断的关系,我们设置了两个阳性诊断界点,分别为≥5% 球形红细胞计数阳性与≥10% 球形红细胞计数阳性界点,借此来探寻球形红细胞的数量多少与 ABO-HDN 诊断的关联。如果设置阳性界点为≥5% 球形红细胞计数阳性,则诊断 ABO-HDN 的灵敏度为 66.7%,特异度为 88.2%;若设置阳性界点为≥10% 球形红细胞计数阳性,则诊断 ABO-HDN 的灵敏度较低,为 9.3%,但是特异度非常高,达到 98.5%。

2.4 ABO-HDN 组与非 ABO-HDN 组外周血有核红细胞、血红蛋白、RDW,Ret,胆红素的含量差异 见表 1。

表 1 ABO-HDN 组与非 ABO-HDN 组外周血有核红细胞、血红蛋白、RDW,Ret,胆红素的结果比较

组别	ABO-HDN 组(n=165)	非 ABO-HDN 组(n=68)	P
有核红细胞	4.53	2.87	0.03
血红蛋白	141.37±24.28	160.00±25.62	0.00
Ret	279.88±105.37	187.98±101.89	0.000
RDW	18.55±1.85	17.42±1.23	0.000
总胆红素	223.60±102.21	199.59±97.29	0.069

ABO-HDN 组外周血有核红细胞、血红蛋白、

RDW, Ret 与非 ABO-HDN 组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。虽然两组总胆红素含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但是 ABO-HDN 组的胆红素值有轻度升高。

3 讨论 ABO-HDN 是 ABO 血型抗体引起的, 在 O 型母亲所生的 A 型或 B 型婴儿中有较高的发生率^[6], 第 1 胎即可发病, 在新生儿溶血病中最为常见^[7], 但通常病情较轻; 随着妊娠次数增加, 发病率会相应增高, 病情相对严重^[1,8,9]。妊娠或生产过程中胎儿红细胞经过胎盘屏障进入母体, 使母体产生 IgG 抗体, 此抗体透过胎盘进入胎儿, 使胎儿红细胞致敏^[10]。胎儿致敏红细胞部分被单核-巨噬细胞吞噬, 发生溶血; 部分致敏红细胞与补体结合, 加速了致敏红细胞被脾脏清除的过程, 加重溶血; 另有一部分致敏红细胞膜发生缺损, 红细胞趋于球形, 变形能力下降, 寿命缩短, 以上原因均可能形成 ABO-HDN。

血清学试验是目前国内确诊 ABO-HDN 的重要手段之一, 但由于该实验设备要求高、操作复杂, 因此不易对 ABO-HDN 作出早期诊断。近年来, 研究发现孕妇的产前血清 IgG 抗 A(B) 抗体效价升高, HDN 的发生率也随之增加^[11]。在以往的相关研究报道^[1,12], ABO-HDN 患儿外周血可出现数量不等的球形红细胞。本研究发现, 球形红细胞计数用于 ABO-HDN 的诊断时具有较高的灵敏度和特异度。

在部分的 ABO-HDN 病例中, 未能检出球形红细胞, 可能原因为: ①新生儿红细胞膜抗原结合位点少, 结合抗体少未发生明显形态改变; ②母体来源的抗体被新生儿体液或细胞上的抗原 A 或抗原 B 类物质中和而消耗掉, 未与新生儿红细胞表面抗原结合; ③新生儿采血时间过晚, 抗体消耗及致敏红细胞被破坏。而在一些非 ABO-HDN 病例中, 也可以检出球形红细胞, 有可能是葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏、衰老红细胞较多或人为因素制片所致的假球形红细胞等引起; ④不同检验人员识别球形红细胞能力有所差异^[13], 或把握球形红细胞标准不严格, 导致存在一定的假阴性或假阳性。

在本研究中, 有核红细胞计数、血红蛋白、红细胞平均分布宽度、网织红细胞绝对值作为新生儿常规检测指标, 其含量在 ABO-HDN 组和非 ABO-HDN 组之间存在明显差异^[14], 外周血涂片球形红细胞计数可联合以上指标应用于 ABO-HDN 的早期诊断中。

为了明确球形红细胞数量与 ABO-HDN 的关系, 我们设置了两个球形红细胞阳性阈值。球形红

细胞计数阳性阈值设置为 $\geq 5\%$ 时, 灵敏度和特异度均较高, 能很好地作为 ABO-HDN 的筛查指标; 倘若阳性阈值设置为 $\geq 10\%$, 灵敏度很低, 很容易漏诊, 但是特异度非常强, 达到 98.5%, 能准确地诊断是否患 ABO-HDN 病。

ABO-HDN 严重者可出现核黄疸甚至导致死亡^[15], 因此尽早采样和检测尤为重要。本研究结果显示在出生早期采血, 其外周血涂片中球形红细胞的检出率较高, 特别是对于出生 2 天内的新生儿, 其阳性检出率可达 68.8%。其与母体 IgG 抗体在新生儿体内不断被消耗及致敏红细胞被破坏有关, 因此采血做外周血涂片检查最好在出生后 2 天内, 脐带血更佳, 与贾金平等^[16]的报道结论相符。

综上所述, 笔者认为新生儿外周血涂片计数具有较高灵敏度和特异度、简单、仪器要求不高等特点, 与黄疸、贫血、RDW 等指标联合检测可进一步增加其检验效能, 对于早期诊断、预防和治疗 ABO-HDN 有重要的临床意义。在一些因设备简陋而无法开展溶血三项检查的基层医院, 球形红细胞计数具有较高的临床应用价值。但这项技术的应用要求检验人员必须有过硬的专业技能, 能准确地辨别出球形红细胞。

参考文献:

- [1] 邓家栋. 临床血液学[M]. 上海: 科学技术出版社, 1985: 451-453.
Deng JD. Clinical hematology[M]. Shanghai: Science and Technology Press, 1985: 451-453.
- [2] 洪毅. 不规则抗体致新生儿溶血病换血治疗的研究分析[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(6): 135-137.
Hong Y. Analysis of irregular antibodies induced by treatment of neonatal hemolysis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(6): 135-137.
- [3] 林朝霞, 董清松. 新生儿 ABO 溶血病的检测与分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(5): 1432-1434.
Lin ZX, Dong QS. Detection and analysis of ABO hemolytic disease in newborn[J]. Journal of Experimental Hematology, 2014, 22(5): 1432-1434.
- [4] Santavy J. Hemolytic disease in the newborn-history and prevention in the world and the Czech Republic [J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc, Czech Repub, 2010, 154(2): 147-151.
- [5] 田兆嵩, 何子毅, 刘仁强. 临床输血质量管理指南[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 275-277.
Tian ZS, He ZY, Liu RQ. Guidelines for quality management of clinical blood transfusion[M]. Beijing: Science Press, 2011: 275-277.
- [6] 耿波, 梁峰, 夏国新, 等. 降钙素原 C 反应蛋白心肌酶联合检测在新生儿高胆红素血症诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(18): 2441-2443.
Geng B, Liang F, Xia GX, et al. Clinical significance of procalcitonin, C-reactive protein and myocardial enzymes determination in patients with neonatal hyperbilirubinemia[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2014, 35(18): 2441-2443.

- [7] 马晓露.孕母血型抗体与新生儿ABO溶血病发生的相关性分析[J].中国实验诊断学,2009,13(12):1744-1746.
Ma XL. Relationship between ABO hemolytic disease of newborn and maternal antibody[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2009, 13 (12): 1744-1746.
- [8] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[S].4版.北京:人民卫生出版社,2015:123-124.
Shang H, Wang YS, Shen ZY. National guide to clinical laboratory procedures[S]. 4th Ed. Beijing: People's Publishing Press, 2015:123-124.
- [9] 李保才,黎海澜,周雪勤,等.O型孕妇IgG抗体效价与新生儿溶血病发病关系调查分析[J].齐齐哈尔医学院学报,2013,34(12):1806-1807.
Li BC, Li HL, Zhou XQ, et al. Analysis of the relationship between O-type pregnant women IgG titer and neonatal hemolytic disease[J]. Journal of Qiqihar University of Medicine, 2013, 34(12): 1806-1807.
- [10] 刘孟黎,张艳,刘晨,等.新生儿溶血病患儿母亲血清中IgG亚型水平的临床意义[J].细胞与分子免疫学杂志,2006,22(4):498-499.
Liu ML, Zhang Y, Liu S, et al. Clinical significance of serum IgG subtype in maternal serum of neonates with hemolytic disease of the newborn[J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2006, 22(4): 498-499.
- [11] 张静华,张慧芳,吴绍梅.ABO新生儿溶血病与O型母亲免疫性抗体效价的相关性分析[J].放射免疫学杂志,2012,25(2):237-238.
Zhang JH, Zhang HF, Wu SM. Analysis of correlation between hemolytic disease of newborn with ABO and immune titer of O-type mothers[J]. Journal of Radioimmunology, 2012, 25(2): 237-238.
- [12] 朱建锋,潘柏申.血片红细胞形态学检查在疾病诊断中的应用[J].检验医学与临床,2013,10(23):3211-3212.
Zhu JF, Pan BS. Application of blood red blood cell morphology in the diagnosis of disease[J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2013, 10(23): 3211-3212.
- [13] 黄道连,袁春雷,陈健锋,等.自主编写检验形态学系列挂图在临床检验教学中的应用价值评价[J].现代检验医学杂志,2013,28(5):151-154.
Huang DL, Yuan CL, Chen JF, et al. Application and evaluation of self-compiled laboratory's wall charts about cellular morphology in clinical laboratory teaching[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(5): 151-154.
- [14] 杨丽,阎丽华,丁伟,等.新生儿ABO血型不合溶血病临床及实验室结果分析研究[J].现代检验医学杂志,2015,30(4):158-160.
Yang L, Yan LH, Ding W. Clinical and experimental analysis about ABO hemolytic disease of the newborn in Qingdao[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(4): 158-160.
- [15] 吴少云,余占娟,吕豪.51例ABO新生儿溶血病血清学试验结果的分析[J].临床血液学杂志(输血与检验),2017(3):471-472.
Wu SY, Yu ZJ, Lu H. Analysis of hematologic test results in 51 cases of ABO hemolytic disease of the newborn[J]. Journal of Clinical Hematology(Blood Transfusion and Laboratory Medicine), 2017 (3): 471-472.
- [16] 贾金平,汪莎,王沛,等.脐带血在ABO新生儿溶血病早期诊断的研究[J].中国妇幼保健,2013,28(36):5977-5979.
Jia JP, Wang S, Wang P, et al. Experimental study of umbilical cord blood in the early diagnosis of ABO hemolytic disease of the newborn[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2013, 28 (36): 5977-5979.

收稿日期:2017-09-30

修回日期:2017-11-22

(上接62页)

- [5] 刺梅,杨登魁,李江.血清miRNA-1,miRNA-21检测预测PCI术后患者再狭窄的临床价值[J].海南医学杂志,2017,28(6):923-927.
La M, Yang DK, Li J. Value of the expression of miRNA-1, miRNA-21 in serum for predicting instant restenosis of expanded area after percutaneous coronary intervention[J]. Hainan Medical Journal, 2017 28 (6): 923-927.
- [6] Sun T, Dong YH, Du W, et al. The role of microRNAs in myocardial infarction: from molecular mechanism to clinical application[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18 (4): 745.
- [7] 杨寿娟,张颖,刘寅.冠心病患者外周血中miRNA-21的表达水平及其临床意义[J].中国应用生理学杂志,2015,31(2):127-131.
Yang SJ, Zhang Y, Liu Y. Research on expression of miRNA-21 in the peripheral blood of coronary heart disease and its clinical significance[J]. Chinese Journal of Applied Physiology, 2015, 31(2): 127-131.
- [8] Zhang B, Yao Y, Sun QF, et al. Circulating mircoRNA-21 as a predictor for vascular restenosis after interventional therapy in patients with lower extremity arterial occlusive disease[J]. Biosci Rep, 2017, 37(2): BSR20160502.
- [9] 肖星,潘旭东,马爱军,等.微小RNA对内皮细胞炎性反应过程中血管内皮细胞黏附分子1表达的影响[J].中华老年心脑血管病杂志,2016,18(5):522-526.
Xiao X, Pan XD, Ma AJ, et al. Effect of microRNA on expression of VCAM-1 in inflammatory reaction of HUVEC[J]. Chinese Journal of Geriatric Heart Brain and Vessel Disease, 2016, 18(5): 522-526.
- [10] 王婷,潘旭东,马爱军,等.miR-126在ApoE-/小鼠颈动脉粥样硬化斑块中的表达[J].中风与神经疾病杂志,2016,33(4):296-298.
Wang T, Pan XD, Ma AJ, et al. The expression of miR-126 in carotid atherosclerotic plaques in ApoE-/mice[J]. Journal of Apoplexy and Neuropathy Diseases, 2016, 33(4): 296-298.
- [11] Fei L, Zhang J, Niu H, et al. Effects of rosuvastatin and miR-126 on myocardial injury induced by acute myocardial infarction in rats: role of vascular endothelial growth factor a (VEGF-A)[J]. Medical Science Monitor, 2016, 22: 2324-2334.
- [12] 张建超,褚现明,徐昌,等.体外反搏对急性心肌梗死患者血浆微小RNA-126表达量的影响[J].岭南心血管病杂志,2016,22(2):123-126,148.
Zhang JC, Chu XM, Xu C, et al. Effect of enhanced external counterpulsation on the expression of microRNA-126 in patients with acute myocardial infarction[J]. South China Journal of Cardiovascular Diseases, 2016, 22(2): 123-126, 148.

收稿日期:2017-11-05

修回日期:2018-01-01