

临床实验室早期诊断 ABO-HDN 三种增强试验应用比较研究*

李 君, 侯金友, 张 慧, 卢焱坤, 邹红蕊, 张晓磊, 张秀梅

(开滦总医院输血科, 河北唐山 063000)

摘要:目的 探讨《HDN 产后免疫血液学试验推荐方案》中增强试验在临床实验室早期诊断 ABO 系统新生儿溶血病 (HDN) 中的应用效果。方法 可疑 ABO-HDN 患儿 274 例, 检测母亲 ABO, RhD 血型及 IgG 抗-A/B 效价及患儿 ABO, RhD 血型和三项溶血试验, 采用经典抗球蛋白试验 (对照组) 和《HDN 产后免疫血液学试验推荐方案》中的三种增强试验分别是酶处理细胞增强试验 (试验组 1)、添加低离子强度 (LISS) 溶液 (试验组 2)、添加聚乙二醇 (PEG) 溶液 (试验组 3) 检测游离抗体和放散液抗体, 比较四种方法的临床诊断效果。结果 274 例患儿确诊 ABO-HDN 161 例 (58.8%), 其中 A 型 87 例 (54.0%), B 型 74 例 (46.0%), 不同血型患儿 HDN 患病率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.089, P > 0.05$)。161 例 ABO-HDN 患儿中直抗阳性 25 例 (15.5%)。对照组放散试验漏检率为 5.8% (16/274)。试验组游离试验和放散试验检出率均高于对照组, 其中试验组 1 检出率最高, 试验组 3 次之, 试验组 2 低于 1, 3 组 ($\chi^2_{游离} = 46.438, \chi^2_{放散} = 37.534$, 均 $P < 0.05$)。HDN 发病例数和总胆红素水平随着酶处理细胞增强试验放散液抗体效价增高而增加 ($\chi^2 = 18.931, F = 12.624, P < 0.05$)。结论 酶处理细胞增强试验检出效果最佳, 能为实验室早期诊断 ABO-HDN 提供可靠的依据。

关键词: 增强试验; ABO-新生儿溶血病; 实验室早期诊断

中图分类号: R457.1 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)03-133-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.03.034

Comparative Study on the Three Enhanced Tests for Early Diagnosis of ABO-HDN in Clinical Laboratory

LI Jun, HOU Jin-you, ZHANG Hui, LU Yan-kun,

ZOU Hong-rui, ZHANG Xiao-lei, ZHANG Xiu-mei

(Department of Blood Transfusion, Kailuan General Hospital, Hebei Tangshan 063000, China)

Abstract: **Objective** To discuss the application of enhanced tests recommended in the 《HDN postpartum immunity hematology test recommendation》 for early diagnosis of ABO-HDN in clinical laboratory. **Methods** Collected 274 cases of children with suspected ABO-HDN, tested ABO, RhD type and anti-A/B IgG titer of their mother, and test children ABO, RhD type and three hemolysis test of children used classical antiglobulin test (control group) and three kinds of enhancing experiment respectively enzymatic processing enhancement test (group 1), add low ionic strength solution (LISS) (group 2), adding polyethylene glycol (PEG) solution (group 3) introduced in the 《HDN postpartum immunity hematology test recommendation》 to detect free antibodies and antibodies of elution liquid. Then compared clinical diagnosis effect of the four methods. **Results** 161 cases were diagnosed ABO - HDN in the 274 cases (58.8%), type A 87 cases (54.0%), type B 74 cases (46.0%), and there was no statistical significance between different ABO blood group of HDN ($\chi^2 = 0.089, P > 0.05$). 25 cases (15.5%) were positive in direct antiglobulin test. The missing rate of the control group in tossing test was 5.8% (16/274). The positive rate of group 1, 2, 3 in free test and tossing test were all higher than the control group. Experimental group 1 had the highest detection rate, while group 2 was less than group 1 and group 3 ($\chi^2_{游离} = 46.438, \chi^2_{放散} = 37.534$, all $P < 0.05$). The incidence of HDN and the total bilirubin level was increasing with the increase of antibody titer detected using enzymatic processing enhancement test ($\chi^2 = 18.931, F = 12.624, P < 0.05$). **Conclusion** Enzymatic processing enhancement test was optimal. It could provide reliable reference for early diagnosis of ABO-HDN in clinical laboratory.

Keywords: enhancement test; ABO-HDN; clinical early detection

新生儿溶血病 (hemolytic disease of the newborn, HDN) 主要是指母婴红细胞血型不合引起的新生儿同种免疫性溶血性疾病^[1], 在我国以 ABO-HDN 最多见, 其次为 Rh-HDN。由于新生儿血液特点, ABO 系统 HDN 三项试验往往出现极弱的

阳性结果, 与患儿临床症状不相符, 干扰临床诊断。因此本研究采用《HDN 产后免疫血液学试验推荐方案》^[2]中四种试验方法检测临床送检可疑 HDN 的标本, 比较四种方法中哪种方法能为临床实验室早期诊断 ABO-HDN 提供更加准确的结果, 现报

* 作者简介: 李 君 (1985-) 女, 硕士, 主管技师, 主要从事输血前免疫学实验工作, E-mail: 278800026@qq.com。

告如下:

1 材料与方法

1.1 研究对象 2016年1~12月本院436例黄疸患儿,男性229例,女性207例;排除生理性黄疸,因感染、新生儿珠蛋白生成障碍性贫血、窒息、母乳性黄疸等因素所致的新生儿高胆红素162例;可疑母婴血型不合导致的HDN 274例,采集该274例患儿及其母EDTA抗凝血标本各3 ml备用。新生儿高胆红素血症诊断参考文献[3];HDN诊断标准参考文献[4]。

1.2 仪器和试剂 ABO, RhD血型微柱凝胶检测卡、ABO标准红细胞和低离子强度盐溶液(LISS),均购自长春博迅生物技术有限责任公司;聚乙二醇(PEG)溶液购自长春博德生物技术有限责任公司;抗球蛋白试剂、木瓜酶粉剂、pH5.5 PBS浓缩液30 ml(10×)购自上海血液生物医药有限责任公司,所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法 母亲血样进行ABO, RhD血型检测和IgG抗-A/B效价检测;患儿血样进行ABO, RhD血型检测和三项溶血试验检测,分别采用经典抗球蛋白试验(对照组)和《HDN产后免疫血液学试验推荐方案》^[2]中的三种增强试验分别是酶处理细胞增强试验(试验组1)、添加低离子强度(LISS)溶液(试验组2)和添加聚乙二醇(PEG)溶液(试验组3)检测游离抗体和放散液抗体(均采用热放散获得),试验方法参考文献[2]操作。比较四种方法的临床诊断效果。按照放散液抗体效价情况将检出效果

最佳组分为三组:A组效价1~4;B组效价8~16;C组效价≥32,分析不同组间HDN发生情况。

1.4 统计学分析 采用SPSS17.0对数据进行统计学分析,计数资料用百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间的比较采用方差分析。以 $P < 0.05$ (双侧)为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 274例新生儿确诊ABO-HDN结果 274例患儿确诊ABO-HDN共161例(58.8%),其中A型87例(54.0%),B型74例(46.0%),不同血型患儿HDN患病率差异无统计学意义($\chi^2 = 0.089$, $P > 0.05$)。161例患儿母亲均为O型、RhD阳性,母体IgG抗体效价64~256之间33例(20.5%),256~512之间共68例(42.2%),>512共60例(37.3%),差异均有统计学意义($\chi^2 = 53.121$, $P < 0.05$)。

2.2 274例新生儿游离、放散试验结果 见表1。161例确诊ABO-HDN患儿直抗阳性25例(15.5%)。经典抗球蛋白方法放散试验漏检率为5.8%(16/274)。试验组检出率均高于对照组,其中试验组1检出率最高,试验组3次之,试验组2低于试验1,3组($\chi^2_{\text{游离}} = 46.438$, $\chi^2_{\text{放散}} = 37.534$, $P < 0.05$);试验组游离抗体、放散液抗体效价高于其他三组($F_{\text{游离}} = 23.711$, $F_{\text{放散}} = 35.586$, 均 $P < 0.05$),提示酶处理细胞增强试验早期检测ABO-HDN效果最佳。

表1

274例新生儿游离放散试验结果

变 量	对照组	试验组1	试验组2	试验组3
游离抗体[κ (%)]	99(36.1)	119(43.4)	106(38.7)	109(39.8)
放散液抗体[κ (%)]	144(52.6)	161(58.8)	152(55.5)	157(57.3)
游离抗体效价	6.31±5.06	11.53±8.97	9.00±7.64	9.47±7.61
放散液抗体效价	15.44±14.61	36.65±40.55	18.91±17.27	22.09±19.44

2.3 酶处理细胞增强试验放散液不同抗体效价与HDN的关系 见表2。

表2 酶处理细胞增强试验放散液抗体效价与HDN的关系

分组	HDN[κ (%)]	总胆红素水平(mmol/L)	Hb水平(g/L)
A组	45(28.0)	175.68±60.70	169.75±28.37
B组	57(35.4)	181.32±79.23	169.33±34.52
C组	59(36.6)	184.20±85.74	167.79±37.11

A组、B组与C组间HDN发病率及总胆红素水平差异有统计学意义($\chi^2 = 18.931$, $F = 12.624$, $P < 0.05$);Hb水平差异无统计学意义($F = 1.357$,

$P > 0.05$);说明HDN发病例数和总胆红素水平随着酶处理细胞增强试验放散液抗体效价增高而增加。

3 讨论 目前人类红细胞有35个血型系统,300余个血型抗原,相关文献已报道有50种以上的不同红细胞抗原与HDN有关^[5]。国内报道的母婴血型不合的免疫性溶血病中,ABO血型不合者约占85.3%^[6],而且ABO-HDN第一胎也可发病^[7],由此可见ABO-HDN引起的潜在危险性不容忽视。但新生儿体内存在的母体溶血性抗体随着疾病的进展而逐渐消耗,可能造成阴性结果,新生儿出生时间越长,筛查试验检出率越低^[8],给临床早

期诊断带来困扰。因此,对 ABO-HDN 临床早期诊断的实验研究有重要意义。

本研究采用经典抗人球蛋白试验和《HDN 产后免疫血液学试验推荐方案》中三种增强试验方法分别是酶处理细胞增强试验、添加低离子强度(LISS)溶液、添加聚乙二醇(PEG)溶液检测游离抗体和放散液抗体,目的是找到 HDN 检测的最佳试验方案,为临床早期诊断提供更加准确的依据。经典抗球蛋白试验是检测 HDN 的经典方法,但是一些病例往往发病几天后才引起注意,有可能导致弱抗体的漏检。本研究发现经典抗球蛋白法检测 HDN 时,放散试验漏检率达到 5.8%(16/274),有可能是由于抗体效价低于检测下限而导致的假阴性结果。四种方法比较结果显示:试验组检出率均高于对照组,其中酶处理细胞增强试验阳性率最高,且抗体效价均值最高,说明酶处理细胞增强试验在实验室早期检测 ABO-HDN 时效果优于其他组别。此外,HDN 发病例数和总胆红素水平随着酶处理细胞增强试验放散液抗体效价增高而增加,这也能为临床预测 HDN 的严重程度提供参考。由此可见:酶处理细胞增强试验不仅能为 ABO-HDN 的早期诊断与治疗提供更加准确的试验结果,还能提示发生 HDN 的危险程度。因此,与临床症状不符的弱阳性结果,为避免漏检发生,可采用酶法提高检测效果,为早期诊断与治疗争取时间。但值得注意的是,酶法的应用有一定的局限性,酶法对 M, N, Fya, Fyb 等血型抗原有破坏作用,会造成 M, N, Fya, Fyb 等血型抗体漏检,因此怀疑 M, N, Fya, Fyb 等血型抗体所致的 HDN 时,可参考《HDN 产后免疫血液学试验推荐方案》,结合具体情况选择最佳的试验方法。

综上所述,参考《HDN 产后免疫血液学试验推荐方案》进行 HDN 的检测,采用酶处理细胞增强试验,能为临床实验室早期诊断提供可靠的试验依据,有效降低漏检率,尤其是面临“二胎时代”带来的新的机遇与挑战,临床更应提高重视程度,把握最佳治疗时机。

参考文献:

- [1] 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]. J Mod Lab Med, 2016, 31(6): 135-137.
- [2] 中国医师协会输血科医师分会. 新生儿溶血病(HDN)免疫血液学试验推荐方案[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(2): 95-100.
- Chinese Medical Association Blood Transfusion Physicians Branch. Hemolytic disease of newborn (HDN) postpartum immunity hematology test recommendation[J]. Chin J Blood Transfusion, 2012, 25(2): 95-100.
- [3] 杨锡强, 易著文. 儿科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 134-136.
- Yang XQ, Yi ZW. Pediatrics[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 134-136.
- [4] 桂永浩, 申昆玲, 毛萌, 等. 小儿内科学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2014: 81-84.
- Gui YH, Shen KL, Mao M, et al. Pediatric internal medicine[M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House, 2014: 81-84.
- [5] Altuntas N, Yenicesu I, Himmetoglu O, et al. The risk assessment study for hemolytic disease of the fetus and newborn in a university hospital in Turkey[J]. Transfus Apher Sci, 2013, 48(3): 377-378.
- [6] 兰炯采, 俞中桥, 陈静娴. 输血免疫血液学实验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 163.
- Lan JC, Yun ZQ, Chen JX. Experimental technique of blood transfusion immunology and hematology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 163.
- [7] 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, et al. Clinical and experimental analysis about ABO hemolytic disease of the newborn in Qingdao[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(4): 158-160.
- [8] 刘玲, 陈亚宝, 张立新, 等. 182 例疑似新生儿溶血病患儿的血清学检测结果[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(8): 631.
- Liu L, Chen YB, Zhang LX, et al. Serological results of 182 cases of suspected neonatal hemolytic disease[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2012, 30(8): 631.

收稿日期: 2017-04-26

修回日期: 2018-03-19