

外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数对新生儿 ABO 溶血病的诊断价值研究

黄 军, 李丽莲, 刘祥玉, 童辉纯 (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** 探讨外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数对新生儿 ABO 溶血病 (ABO hemolytic disease of newborn, ABO-HDN) 的诊断价值, 为临床对 ABO-HDN 的早期诊断提供理论依据。**方法** 选取 2018 年 2 月~2020 年 8 月在南方医科大学附属中山市博爱医院临床诊断为 ABO-HDN 的患儿 375 例, 非 ABO-HDN 患儿 407 例, 使用迈瑞 BC-6900 血液分析仪和 AU5800 生化分析仪分别进行血细胞检测和血清学指标检测, 同时制作外周血涂片快速染色并计数球形红细胞比例。**结果** 375 例 ABO-HDN 患儿中, 直接抗人球蛋白试验阳性 90 例 (24.00%), 间接抗人球蛋白试验 344 例 (91.73%), 抗体释放试验 374 例 (99.73%)。ABO-HDN 组的血红蛋白 (hemoglobin, HGB) 水平比非 ABO-HDN 组低, 差异有统计学意义 ($Z=-5.231, P<0.001$)。ABO-HDN 组的红细胞分布宽度 (red cell distribution width, RDW)、有核红细胞 (nucleated erythrocyte, NRBC) 和血清总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 水平均高于非 ABO-HDN 组, 差异有统计学意义 ($Z=-22.401\sim-3.769$, 均 $P<0.001$)。该研究根据受试者工作特征 (ROC) 曲线把破碎红细胞指数 ≥ 11 表示为外周血破碎红细胞阳性, 球形红细胞计数 $\geq 5\%$ 表示为球形红细胞阳性。分析后得到非 ABO-HDN 组和 ABO-HDN 组外周血破碎红细胞指数阳性率分别为 24.80% 和 87.73%, 两组阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=312.15, P<0.001$)。非 ABO-HDN 组和 ABO-HDN 组的球形红细胞阳性率分别为 29.73% 和 73.87%, 两组阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=152.13, P<0.001$)。外周血破碎红细胞指数诊断 ABO-HDN 的灵敏度、特异度分别为 87.73% 和 75.18%。球形红细胞计数诊断 ABO-HDN 的灵敏度、特异度分别为 73.87% 和 70.27%。对这两个指标进行 Pearson 相关性分析, 发现两个指标具有高度相关性 ($r=0.746, P<0.001$)。**结论** ABO-HDN 的外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数升高, 对 ABO-HDN 的诊断具有较高灵敏度和特异度, 可结合 HGB, RDW, NRBC 和 TBIL 等指标为临床早期诊断 ABO-HDN 提供参考依据。**关键词:** 破碎红细胞指数; 球形红细胞计数; 新生儿 ABO 溶血病

中图分类号: R722.18; R446.111 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 03-088-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.03.020

Study on the Diagnostic Value of Peripheral Schistocyte Index and Spherical Erythrocyte Count for ABO Hemolytic Disease in Neonates

HUANG Jun, LI Li-lian, LIU Xiang-yu, TONG Hui-chun

(Department of Clinical Laboratory, Zhongshan Boai Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangdong Zhongshan 528400, China)

Abstract: Objective To explore the diagnostic value of peripheral schistocyte index and spherical RBC count in blood smear for ABO hemolytic disease (ABO-HDN) in newborns, and to provide a theoretical basis for early clinical diagnosis of ABO-HDN. **Methods** 375 cases of infants with ABO-HDN and 407 cases of infants without ABO-HDN hospitalized in Zhongshan Boai Hospital Affiliated to Southern Medical University were selected from February 2018 to August 2020, and blood routine and serological indexes were detected by Mindray BC-6900 hematology analyzer and AU5800 biochemical analyzer. Besides, the peripheral blood smear was used for rapid staining and the ratio of spherical RBC was counted. **Results** Among 375 cases of ABO-HDN, 90 cases (24.00%) were positive in direct anti-human globulin test, 344 cases (91.73%) were positive in indirect anti-human globulin test, and 374 cases (99.73%) were positive in antibody release test. The hemoglobin (HGB) level in the ABO-HDN group was lower than that of the non-ABO-HDN group, the difference was statistically significant ($Z=-5.231, P<0.001$), and the levels of red cell distribution width (RDW), nucleated erythrocyte (NRBC) and serum total bilirubin (TBIL) were all higher than that of the non-ABO-HDN group, the difference was statistically significant ($Z=-22.401\sim-3.769$, all $P<0.001$). According to the receiver operating characteristic (ROC) curve, the peripheral schistocyte index ≥ 11 and spherical RBC count $\geq 5\%$ were set as positive in this study. After analysis, the positive rate of peripheral schistocyte index in non-ABO-HDN group and ABO-HDN group was 24.80% and 87.73%, respectively. The positive rate of the two groups was statistically significant

作者简介: 黄军 (1979-), 男, 本科, 副主任检验技师, 主要从事细胞形态诊断学研究, E-mail: 15918276534@139.com。

($\chi^2=312.15$, $P<0.001$). The positive rate of spherical RBC in non-ABO-HDN group and ABO-HDN group was 29.73% and 73.87%, respectively, and the difference was statistically significant ($\chi^2=152.13$, $P<0.001$). The sensitivity, specificity of schistocyte index in the diagnosis of ABO-HDN in newborns were 87.73%, 75.18% respectively. The sensitivity, specificity of spherical RBC count in the diagnosis of ABO-HDN in newborns were 73.87% and 70.27% respectively. Pearson correlation analysis was conducted for these two indexes, and it was found that the two indexes had a high correlation ($r=0.746$, $P<0.001$). **Conclusion** Schistocyte index and spherical RBC count of newborn with ABO-HDN are increased, which can be used to diagnose ABO-HDN with high sensitivity and specificity. They can provide a reference basis for early clinical diagnosis of ABO-HDN by combining HGB, RDW, NRBC, TBIL and other indicators.

Keywords: schistocyte index; spherical RBC count; ABO hemolytic disease in newborns

新生儿溶血病 (hemolytic disease of the newborn, HDN) 特指由于母婴血型不合导致的一类新生儿免疫性溶血性疾病, 可引起新生儿贫血、黄疸、肝脾肿大甚至胆红素脑病^[1]。临床上以 ABO 血型不合引起的新生儿 ABO 溶血病 (ABO-HDN) 最为常见^[2-3], 其发生率远高于 Rh 溶血病^[4]。ABO-HDN 主要发生于胎儿期和新生儿早期, 及时的诊治可控制溶血的程度以及改善预后^[5]。目前临床上以新生儿溶血 3 项试验作为诊断标准之一^[6-7], 但该检测过程较为繁琐且花费大。寻求更加简便、经济、快速和准确的实验室指标对于临床早期诊治 ABO-HDN 具有重要的意义。近年来, 有少部分研究发现 ABO-HDN 患儿外周血涂片可见较多的球形红细胞, 该指标对于 ABO-HDN 具有较高灵敏度和特异性, 可作为临床诊断 ABO-HDN 的参考指标^[8-9]。在本课题组的临床实践中发现, 迈瑞 BC-6900 血液分析仪的血细胞检测结果分析中包含破碎红细胞指数, 是破碎红细胞的计数代表值, 该指数与 ABO-HDN 的发生发展密切相关。本研究主要探讨新生儿外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数等指标对诊断 ABO-HDN 的临床价值。

1 材料和方法

1.1 研究对象 选取 2018 年 2 月 ~ 2020 年 8 月在南方医科大学附属中山市博爱医院的临床诊断为 ABO-HDN 的患儿 375 例, 非 ABO-HDN 的患儿 407 例。日龄 0 ~ 29 天, 平均日龄为 3.1 天。男性 441 例, 女性 341 例。ABO-HDN 组患儿日龄 ≤ 2 天患儿 249 例, 日龄 3 ~ 5 天患儿 72 例, 日龄 ≥ 5 天患儿 54 例。ABO-HDN 诊断标准: 母婴 ABO 血型系统不合。直接抗人球蛋白试验或者抗体释放试验阳性者^[10]。ABO-HDN 组与非 ABO-HDN 组的患儿日龄、性别经统计学分析, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 仪器与试剂 外周静脉血的破碎红细胞指数、血红蛋白 (HGB)、红细胞分布宽度 (RDW)、有核红细胞 (NRBC) 检测使用深圳迈瑞公司的试剂, 在迈瑞 BC-6900 血液分析仪上进行测试; 血清 TBIL 测定在贝克曼 AU 5800 仪器上进行测试,

试剂为美国贝克曼公司配套试剂。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。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。微柱凝胶血型卡 (ABD) 及离心机均为戴安娜配套系统产品。新生儿溶血三项试验 (直接抗人球蛋白试验、间接抗人球蛋白试验和抗体释放试验) 试剂由博德生物科技公司提供。

1.3 方法 采集研究者空腹静脉血两管。其中一管血置于无抗凝干燥管中, $1200 \times g$ 离心 10 min, 取血清, 贝克曼 AU5800 仪器运用钒酸盐法检测 TBIL 含量。另外一管血用 EDTA-K2 抗凝管抽取, 破碎红细胞、HGB, RDW 和 NRBC 计数项目严格按照操作说明在迈瑞 BC-6900 血液分析仪上检测。血清学溶血 3 项试验按《全国临床检验操作规程》进行^[10]。

1.4 统计学分析 用 SPSS 20.0 进行统计学处理。数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组计量资料比较采用两独立样本 Mann-Whitney U 检验, 率的比较采用卡方检验, 计量资料的关联分析采用 Pearson 线性相关。通过受试者工作特征 (ROC) 曲线分析, 得出敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及最佳临界值, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 新生儿溶血三项试验结果分析 根据入选对象血型、溶血三项试验结果及其临床症状表现, 确诊为 ABO-HDN 的患儿共 375 例, 其中直接抗人球蛋白试验阳性 90 例 (90/375, 24.00%), 间接抗人球蛋白试验 344 例 (344/375, 91.73%), 抗体释放试验 374 例 (374/375, 99.73%)。

2.2 非 ABO-HDN 组与 ABO-HDN 组新生儿外周血 HGB, RDW, NRBC 和 TBIL 的检测结果比较 见表 1。ABO-HDN 的发病机制与红细胞破坏密切相关, 因此本课题组对两组新生儿外周血红细胞相关指标以及血清 TBIL 水平进行研究。结果发现, ABO-HDN 组的 HGB 水平比非 ABO-HDN 组低, 差异有统计学意义 ($Z=-5.231$, $P<0.001$)。ABO-HDN 组的外周血红细胞 RDW, NRBC 和血

清 TBIL 水平均比非 ABO-HDN 组高, 差异有统计学意义 ($Z=-22.401\sim-3.769$, 均 $P<0.001$)。

表 1 非 ABO-HDN 组与 ABO-HDN 组新生儿外周血 HGB, RDW, NRBC 和 TBIL 结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	非 ABO-HDN 组 ($n=407$)	ABO-HDN 组 ($n=375$)	Z	P
HGB(g/L)	156.61 ± 25.37	148.19 ± 22.39	-5.231	<0.001
RDW	15.61 ± 1.25	15.99 ± 1.64	-3.769	<0.001
NRBC($\times 10^{12}/L$)	0.44 ± 1.57	1.04 ± 5.14	-14.369	<0.001
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	74.97 ± 20.35	204.88 ± 92.01	-22.401	<0.001

2.3 外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数在 ABO-HDN 的诊断效能 见图 1 和表 2。从 ROC 曲线可得出, 外周血破碎红细胞指数诊断截断值设为 11 或者球形红细胞诊断截断值设为 5% 时, 诊断 ABO-HDN 的准确度最高, 因此本研究把破碎红细胞指数 ≥ 11 表示为外周血破碎红细胞阳性, 球形红细胞计数 $\geq 5\%$ 表示为球形红细胞阳性。对不同组别的阳性率进行统计后得出, 非 ABO-HDN 组和 ABO-HDN 组外周血破碎红细胞指数阳性率分别为 24.80% 和 87.73%, 两组阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=312.15$, $P<0.001$); 非 ABO-HDN 组和 ABO-HDN 组的球形红细胞阳性率分别为 29.73% 和 73.87%, 两组阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=152.13$, $P<0.001$)。

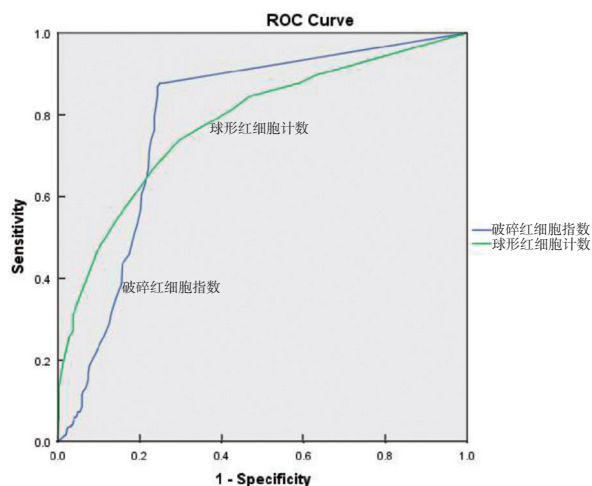


图 1 外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数诊断 ABO-HDN 的 ROC 曲线

为探讨外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数对 ABO-HDN 的诊断价值, 本课题组进一步分析了这两个指标的诊断效能。通过计算得出外周血破碎红细胞指数诊断 ABO-HDN 的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 87.73%, 75.18%, 76.51% 和 86.93%。球形红细胞计数诊断 ABO-HDN 的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 73.87%, 70.27%, 69.60% 和 74.48%。因此, 外周血破碎红细胞指数和球形红

胞计数对 ABO-HDN 均具有较高的诊断效能。

表 2 非 ABO-HDN 组与 ABO-HDN 组新生儿外周血破碎红细胞指数和球形红细胞计数阳性率分析 (%)

项目	非 ABO-HDN 组 ($n=407$)	ABO-HDN 组 ($n=375$)	χ^2	P
破碎红细胞指数 阳性率	24.80	87.73	312.15	<0.001
球形红细胞计数 阳性率	29.73	73.87	152.13	<0.001

2.4 外周血破碎红细胞指数与球形红细胞计数相关性分析 见图 2。为探讨外周血破碎红细胞指数与球形红细胞计数的关联性, 本研究对 ABO-HDN 组的这两个指标进行了 Pearson 相关性分析, 发现两个指标具有高度相关性 ($r=0.746$, $P<0.001$)。

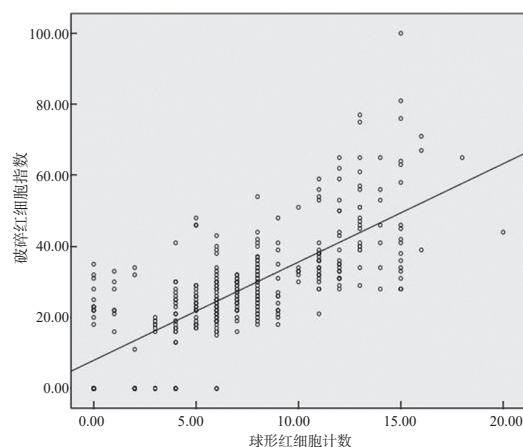


图 2 外周血破碎红细胞指数与球形红细胞计数 Pearson 相关性分析

3 讨论

ABO-HDN 又称 ABO 血型不合溶血病, 指母婴 ABO 血型不合引起的免疫性溶血性贫血。患儿在胎儿时期遗传的来自父亲的显性血型抗原引起母体产生相应的抗体, 其中 IgG 类抗体可通过胎盘^[11]。ABO-HDN 发生免疫性溶血反应时, 靶细胞为胎儿或者新生儿的红细胞, 它可以被 IgG 抗体致敏, 之后自然杀伤细胞通过 Fc-IgG 与致敏的红细胞结合引起红细胞破裂和溶血, 进而引起血清 TBIL 水平升高, HGB 水平降低等生理学改变, 出现贫血、黄疸等临床症状。ABO-HDN 起病急、进展快, 其发现、诊断和治疗都应及时。早期的积极干预可有效地减少胆红素脑病以及神经后遗症的发生^[12]。

HGB, RDW, NRBC 和 TBIL 等常用于评估 ABO-HDN 患儿溶血严重程度^[13-14]。本研究结果显示, ABO-HDN 患儿的 HGB 水平降低, RDW, NRBC 和 TBIL 水平升高, 与吴晓燕等^[15]的结果相符合。但 HGB 与 TBIL 的结果与薛志华等^[12]的研究不一致, 分析原因可能和纳入的病例数有关。薛志华等^[12]的研究中, 实验组和对照组各只有 50 例, 纳入的研究对象数量过少会影响实验结果的可靠

性。本研究的HGB, RDW, NRBC和TBIL水平改变主要和免疫性溶血有关。红细胞遭到破坏时,体内代偿性增加红细胞,而红细胞破坏产生的TBIL在肝脏内无法短时间内代谢清除,最后引起新生儿高胆红素血症。

ABO-HDN的诊断和治疗关键在于及时。新生儿出生时间越久,新生儿溶血病筛查试验检出率越低^[16]。因此,对该患病新生儿应该尽早进行相关检测,以免耽误治疗时机。根据临床的相关表现以及实验室检查一般可以对ABO-HDN作出诊断,其中新生儿溶血三项试验是诊断的主要依据^[17-18]。但新生儿溶血三项试验相对手工操作步骤较多,报告结果时间较长,不利于ABO-HDN患儿的早期诊断和干预。因此,寻求更简便和准确的实验室指标对于ABO-HDN的早期诊断具有极为重要的意义。

本研究结果显示,ABO-HDN患儿的外周血中破碎红细胞阳性率明显高于非ABO-HDN患儿,外周血破碎红细胞用于诊断ABO-HDN时具有较高的灵敏度和特异度。破碎红细胞的出现主要由于母婴ABO血型不合导致IgG抗体通过胎盘进入胎儿血液系统,新生儿红细胞表面被抗体所包裹、激活,随之被巨噬细胞和自然杀伤力细胞释放的溶酶体溶解。该指标检测只需要借助血液分析仪就可以实现,快速简单,容易在临床推广,特别有利于在基层医院普及应用。

与以往研究发现相一致^[8-9],本研究中的ABO-HDN患儿外周血涂片可见到较多的球形红细胞,对于ABO-HDN的诊断具有重要意义。2012年国际血液学标准委员会(ICSH)在破碎红细胞形态诊断标准方面就达成了共识^[19],他们推荐破碎红细胞包括4种形态,其中微球红细胞属于其中之一。在本研究中,球形红细胞计数与外周血破碎红细胞指数呈高度正相关,提示两者可能都是反映红细胞破坏程度的不同指标,对于ABO-HDN诊断都具有较高的检验效能。在本研究中,血涂片中的球形红细胞辨识是人工操作和肉眼识别实现的,准确度受检验人员形态学水平的影响^[20]。如果能开发出成熟的血细胞形态识别系统能准确快速识别出球形红细胞,那样对检测效率和准确度的提高具有非常大的价值^[21]。

综上所述,外周血破碎细胞指数和球形红细胞计数对ABO-HDN的诊断具有较高价值。该检查简单快速,能节约时间和成本,为临床诊断和治疗ABO-HDN提供了参考。因此,临床上一旦发现外周血破碎细胞指数和血涂片球形红细胞比例较高时,应尽早对该患儿进行溶血三项试验、HGB, RDW, NRBC和TBIL等实验室检查。早发现、早

诊断、早治疗,尽量避免ABO-HDN严重并发症的发生。

参考文献:

- [1] 任小宁, 刘曦. 抗-D免疫球蛋白影响Rh-HDN实验诊断1例[J]. 临床输血与检验, 2019, 21(1): 102-104.
REN Xiaoning, LIU Xi. One case of experimental diagnosis of Rh-HDN affected by anti-D immunoglobulin[J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2019, 21(1): 102-104.
- [2] METCALF R A, KHAN J, ANDREWS J, et al. Severe ABO hemolytic disease of the newborn requiring exchange transfusion[J]. Journal of Pediatric Hematology Oncology, 2019, 41(8): 632-634.
- [3] 杨璇, 陈富臻, 洪强. 501例新生儿溶血病筛查结果分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(1): 192-196.
YANG Xuan, CHEN Fuzhen, HONG Qiang. Analysis of screening results in 501 newborns with hemolytic disease [J]. Journal of Experimental Hematology, 2019, 27(1): 192-196.
- [4] 许飞, 曹锁春, 张建伟, 等. 常州地区1 003例新生儿溶血病检查结果分析[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(2): 139-140, 144.
XU Fei, CAO Suochun, ZHANG Jianwei, et al. Analysis of 1 003 cases of neonatal hemolytic disease in Changzhou area [J]. Journal of Clinical Hematology, 2018, 31(2): 139-140, 144.
- [5] 唐建军, 刘莉, 夏斌. 脐带血早期诊断新生儿ABO溶血病对预防严重高胆红素血症的价值[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2018, 14(2): 180-185.
TANG Jianjun, LIU Li, XIA Bin. Values of early diagnosis of neonatal ABO hemolytic disease with cord blood to prevent severe hyperbilirubinemia[J]. Chinese Journal of Obstetrics & Gynecology and Pediatrics (Electronic Edition), 2018, 14(2): 180-185.
- [6] 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 Yi. Analysis of irregular antibodies induced by treatment of neonatal hemolysis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(6): 135-137.
- [7] 屈柯暄, 周丽华, 王淑霞, 等. 新生儿ABO溶血病微柱凝集法放散试验中放散液剂量优化研究[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3): 121-123, 127.
QU Kexuan, ZHOU Lihua, WANG Shuxia, et al. Study on different doses of diffuser in serological test of ABO-hemolytic disease of newborns[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(3): 121-123, 127.
- [8] 黄道连, 蔡凤娟, 童辉纯, 等. 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[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1): 63-66.
HUANG Daolian, CAI Fengjuan, TONG Huichun, et al. Diagnostic value of peripheral blood smear spherical erythrocyte count in ABO-hemolytic disease of the newborn[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(1): 63-66.