

20例非ABO-HDFN血型血清学分析及临床干预结果比较

洪毅¹, 王华² (1. 西安高新医院输血科, 西安 710075; 2. 陕西省人民医院, 西安 710068)

摘要: 目的 探讨意外抗体致非ABO-胎儿/新生儿溶血病(non-ABO hemolytic disease of the fetus and newborn, non-ABO HDFN)血型血清学分析及临床干预结果比较, 为临床准确诊治提供参考。方法 回顾性分析2015年1月~2020年8月期间新生儿科送检, 陕西省血液中心血型参比室进行检测并最终证实的20例非ABO-HDFN病例, 鉴定20例母亲血清及患儿红细胞放散液中的意外抗体及效价; 并按照临床干预方式的不同, 将患儿分为光疗组、光疗后换血组和光疗后输血组, 采用Kruskal-Wallis检验比较三组之间平均住院天数的差异。结果 20例非ABO-HDFN涉及到4个血型系统的9种意外抗体。三组之间平均住院天数比较, 输血组平均住院天数最高(15.8 ± 6.94 天), 换血组次之(11.25 ± 2.86 天), 光疗组最短(8.5 ± 1.89 天), 三组之间平均住院天数差异有统计学意义($\chi^2=8.046$, $P=0.018$)。结论 血型血清学检测分析是提高由意外抗体致非ABO-HDFN重要检测手段, 临床应根据检出抗体的特性及患儿的病情轻重来评估其风险, 及时对患儿采取必要的干预手段, 对改善患儿预后具有参考价值。

关键词: 新生儿溶血病; 意外抗体; 非ABO-胎儿/新生儿溶血病

中图分类号: R457.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 06-120-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.06.025

Comparison of Serological Analysis and Clinical Intervention Results of 20 Non-ABO-HDFN Serum Types

HONG Yi¹, WANG Hua² (1. Department of Blood Transfusion, Xi'an High-Tech Hospital, Xi'an 710075, China; 2. Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To explore the analysis of serological analysis and clinical intervention results of accidental antibody-to-non-ABO-HDFN, and to provide reference for clinical accuracy. **Methods** Retrospective analysis of neonatal department delivery from January 2015 to August 2020, blood type reference room of Shaanxi Province Blood Center for testing and final confirmation of 20 cases of non-ABO-HDFN cases, identification of 20 cases of mother serum and children in red blood cell release fluid accidental antibodies and efficacy. According to the different clinical intervention methods, the children were divided into three groups of phototherapy group, phototherapy transfusion group and phototherapy transfusion group, and the difference of average hospital days between the compared by Kruskal-Wallis test. **Results** Twenty cases of non-ABO fetal neonatal hemolysis involved 9 unexpected antibodies in 4 blood type systems. Compared with the average number of hospital days between the three groups, the blood transfusion group had the highest average number of hospital days (15.8 ± 6.94 day), the second-lowest number of blood transfusion groups (11.25 ± 2.86 day), and the shortest phototherapy group (8.5 ± 1.89 day), the difference in the average number of hospital days between the three groups was statistically significant ($\chi^2=8.046$, $P=0.018$). **Conclusion** Serological detection and analysis of blood type is an important detection method to improve the non-ABO-HDFN caused by accidental antibodies, and the clinical should evaluate the risk according to the characteristics of detected antibodies and the severity of the disease in the child, and take the necessary intervention measures for the child in time, which is of reference value to improve the prognosis of the child.

Keywords: neonatal hemolytic disease; accidental antibodies; non-ABO-hemolytic disease of the fetus and newborn(non-ABO HDFN)

胎儿或新生儿溶血病(hemolytic disease of the fetus and newborn, HDFN)是指因母亲与胎儿/新生儿红细胞血型不合, 母亲体内产生针对胎儿/新生儿不匹配血型抗原的抗体而引起胎儿/新生儿发生同种免疫性溶血性疾病^[1], 包括ABO-HDFN和由意外抗体导致的非ABO-HDFN。通常认为有ABO血型抗体导致的新生儿溶血病程度相对较轻, 所需临床干预手段较少; 而由意外抗体导致的新生

儿溶血病则可能导致严重的后果^[2]。患有HDFN的患儿应及时治疗, 治疗越早恢复健康的机会就越大, 治疗方法主要有蓝光照射、输注白蛋白、输血以及换血等手段^[3]。本研究对20例由意外抗体导致的新生儿溶血病病例进行回顾性研究, 并对不同临床干预手段效果进行了分析, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2015年1月~2020年8月期间新

生儿科送检,陕西省血液中心血型参比室进行检测并最终证实的非 ABO-HDFN 病例共 20 例,患儿均足月出生,日龄为出生 1h~39 日,其中男患儿 11 例,女患儿 9 例。

1.2 试剂与仪器 抗 A, B 定型试剂, IgM-D, IgG-D 和抗球蛋白试剂, 抗 -C, 抗 -c, 抗 -E, 抗 -e, 抗 -M, 2-Me (上海血液生物医药有限责任公司); A, B 反定型红细胞 (北京金豪制药股份有限公司); O 型红细胞 (实验室自制); IgM/IgG-D, 抗 -Jka, 抗 -Jkb, 抗 -Dia (Millipore, 美国); 抗筛细胞 (Ortho, 美国); 抗体鉴定用谱细胞 (Sanquin, 荷兰); 血液基因组 DNA 提取离心柱型试剂盒 (Roche, 德国); 人类红细胞 RhD 基因分型试剂盒 (天津市秀鹏生物技术开发有限公司); Taq 酶 (Promega Corporation); DL2000 (TaKaRa Bio Inc.). PCR 仪 (SensoquestLabcycle, 德国); 台式离心机 (KA-2200 型, 日本久保田); 台式离心机 (L600A, 湖南湘仪离心机仪器有限公司); 全自动血细胞洗涤离心机 (MC 450, 日本日立); 水浴箱 (GFL, 德国)。

1.3 方法

1.3.1 红细胞血型鉴定: 按文献 [4] 方法, 采用盐水法对 20 例患儿及其母亲进行 ABO, Rh, Kidd, MNS 血型鉴定; 试管抗球蛋白法进行 Rh(D) 阴性血型的确认及 Dia 血型的鉴定; 红细胞 RhD 基因分型按天津市秀鹏生物技术开发有限公司试剂盒说

明进行。

1.3.2 新生儿溶血病检测: 按文献 [4] 方法, 采用试管室温直接离心法对患儿进行红细胞直接抗球蛋白试验, 游离试验及放散试验采用试管间接抗球蛋白法进行。

1.3.3 抗体筛查及鉴定: 按文献 [4] 方法, 采用抗筛细胞与抗体鉴定用谱细胞通过盐水法和试管抗球蛋白法筛查鉴定患儿母亲血清及患儿红细胞放散液中的意外抗体; 2-Me 灭活后的血清进行倍比稀释, 用试管间接抗球蛋白法测定抗体效价。在排除是否并发 ABO-HDFN 时应该选择意外抗体对应抗原阴性的 A/B 型红细胞进行相应试验 (放散及抗体效价检测试验)。

1.4 统计学分析 将 20 例非 ABO-HDFN 病例按照临床最终干预方式^[5]的不同分为光疗组、换血组和输血组, 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析, 采用 Kruskal-Wallis 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 20 例患儿及母亲检测结果 见表 1。结果包括患儿血型、溶血三项试验、红细胞放散液抗体特异性鉴定、患儿母亲血型、抗体特异性鉴定及其效价测定。其中 10 号患儿为 Rh 并发 Kidd-HDFN, 11 号患儿 ABO 并发 MNS-HDFN, 12 号患儿 ABO 并发 Rh-HDFN, 13 号患儿为 MNS-HDFN, 17 号患儿为 Diego-HDFN, 其他均为 Rh-HDFN。

表 1 患儿及其母亲血型血清学检测结果

序号	患儿血型	患儿母亲血型	患儿母亲抗体筛查		患儿血清溶血实验			患儿红细胞放散液抗体
			抗体	效价 (1:)	直抗试验	游离试验	放散试验	
1	A, DCcEe	A, DCCee	IgM-E/IgG-E/IgG-c	2, 16, 2	+	+	+	IgG-E
2	B, DCcee	B, dccee	IgG-D	16	+	+	+	IgG-D
3	B, DCcee	AB, dccee	IgG-D	16	+	+	+	IgG-D
4	B, DCcEe	B, DCCee	IgG-E/IgG-c	8/1	+	0	+	IgG-E
5	B, DCcEe	B, DCCee	IgG-E	16	+	0	+	IgG-E
6	O, DCcEe	A, DCCee	IgG-c/IgG-E	4, 8	+	+	+	IgG-c/IgG-E
7	O, DccEe	O, dccee	IgM-D/IgG-D	2, 64	+	+	+	IgG-D
8	B, DCcEe	B, DCCee	IgG-E	128	+	+	+	IgG-E
9	B, DCCee	B, D--	IgG-Hro	128	+	+	+	IgG-C/IgG-e
10	O, DCcEe, Jk(a+)	O, D ^c CcEe, Jk(a-)	IgG-D/IgG-Jka	128, 8	+	+	+	IgG-D/IgG-Jka
11	A, DCCee, M ⁺	O, DCCee, M-	IgM-M/IgG-M	64, 32	±	+	+	IgG-A/IgG-M
12	A, DCcEe	O, DCCee	IgG-c/IgG-E	2, 32	+	+	+	IgG-A/IgG-E
13	B, DCcEe, M+	B, DccEE, M-	IgM-M/IgG-M	4, 2	±	±	+	IgG-M
14	B, DCcee	B, dccee	IgG-D	64	+	+	+	IgG-D
15	A, DCcEe	A, DCCee	IgM-E/IgG-E	2, 128	+	+	+	IgG-E
16	O, DCcEe	O, DCCee	IgG-E	16	+	+	+	IgG-E
17	A, DCCee, Di(a+)	A, DCCee, Di(a-)	IgM-Dia/IgG-Dia	2, 8	+	0	+	IgG-Dia
18	B, DCcee	AB, dccee	IgM-D/IgG-D	2, 32	+	0	+	IgG-D
19*	AB, DCcEe	AB, DCCee	IgG-E	64	+	+	+	IgG-E
20	O, DCCee	O, dccee	IgG-D	64	+	+	+	IgG-D

注: * 母亲均有输血史且是初产妇, 其余母亲均为无输血史的经产妇。

2.2 RhD 基因分型结果 10 号患儿母亲 Rh 阴性确认试验结果为 D⁺, 根据 PCR-SSP 方法检测结果反应格局确定其为 D VI Ⅲ型, 此型为中国人常见产生抗 -D 抗体的部分 D 基因型。

2.3 患儿首次送检血型参比室检测结果与相应临床干预的相关性 见表2。按照临床干预方式的不同,

患儿分为光疗组、光疗后换血组(换血组)和光疗后输血组(输血组)。结合表1, 光疗组患儿母亲抗体效价较低, 均低于16; 换血组患儿母亲抗体效价最高, 均高于64; 输血组患儿母亲抗体效价为2~128之间。

表2 患儿血液检测与干预后检测结果

序号	血型参比室首次送检			临床干预				住院时间(天)
	日龄	Hb (g/L)	TBIL/IDBIL (μmol/L)	日龄	Hb (g/L)	TBIL/IDBIL (μmol/L)	干预方式(次数)	
1	18 h	182	171.5/162.8	20 h	/	/	光疗	6
2	25 h	121	164.3/143.0	31 h	/	/	光疗	11
3	1 h	164	181.2/169.7	4 h	/	/	光疗	9
4	5 天	131	191.1/162.7	5 天	/	/	光疗	10
5	52 h	122	415.2/389.2	55 h	/	/	光疗	9
6	99 h	126	349.4/273.8	103 h	/	/	光疗	6
7	15 h	102	308.9/279.8	27 h	/	/	换血(2)	13
8	16 h	102	431.7/410.2	22 h	/	/	换血(1)	8
9	36 h	151	308.0/295.9	49 h	122	442.3/418.5	换血(2)	9
10	75 h	110	240.1/200.7	13 天	46	132.3/113.6	换血(1)	15
11	14 h	139	88.0/85.8	7 天	95	181.2/158.1	输血(2)	12
12	98 h	115	213.6/171.6	10 天	90	262.0/241.6	输血(1)	9
13	39min	128	/	59 h	37	28.1/21.5	输血(2)	13
14	12 h	90	143.2/133.0	36 h	69	211.5/192.6	输血(2)	11
15	68 h	119	156.3/138.9	7 天	91	226.5/181.6	输血(2)	16
16	23 h	125	184.3/163.0	30 h	/	/	输血(2)	18
17	79 h	74	186.1/157.0	86 h	/	/	输血(2)	11
18	93 h	113	79.4/67.0	102 h	/	/	输血(4)	33
19	14 h	127	131.1/104.5	6 天	89	249.7/231.0	输血(2)	12
20	26 h	103	142.7/128.4	39 天	65	180.1/153.2	输血(2)	9+14 [*]

注: /: 未检查; *: 第一次住院9天, 第二次住院14天。

2.4 三组平均住院天数的比较 光疗组、换血组和输血组三组间比较, 输血组平均住院天数最高(15.8±6.94天), 换血组次之(11.25±2.86天), 光疗组最短(8.5±1.89天)。采用 Kruskal-Wallis 检验进行统计学比较, 差异有统计学意义($\chi^2=8.046$, $P=0.018$)。

3 讨论

HDFN 是由母体产生的与胎儿血型不相容的 IgG 型血型抗体破坏胎儿/新生儿红细胞而引起的。其遗传免疫基础是胎儿红细胞可表达由父亲遗传而来的显性血型抗原, 当母体缺乏该抗原并发生胎儿红细胞进入母体血液循环的情况时, 母体就可能通过免疫应答产生相应的 IgG 型血型抗体。因此, 以 IgG 类性质存在的红细胞血型抗体在理论上都有可能引起新生儿溶血病的发生, 其中以 ABO 血型系统最为常见, Rh 系统次之, Diego, Kidd, MNS,

PIPK, Duffy, Lewis 等系统也有报道^[6-9]。IgG 血型抗体导致红细胞的破坏, 在妊娠期间可能导致胎儿的贫血, 表现为胎儿的发育不良甚至死胎或流产; 新生儿期红细胞的持续破坏导致一系列的继发现状, 包括新生儿高胆红素血症和新生儿贫血。由于游离胆红素易透过生物膜, 具有生物毒性, 当脑神经基底核细胞结合游离胆红素时, 高胆红素血症新生儿易出现神经系统受损害的症状, 包括发热、嗜睡、吸吮反射弱、痉挛以及高死亡率和不良后遗症; 新生儿贫血会导致缺氧, 并使髓外造血组织代偿性增生, 出现肝脾肿大; 此外, 新生儿清蛋白的大量消耗还会引起水肿等症状。临床调查显示, ABO 血型抗体(IgG-A, IgG-B)引起的 HDFN(ABO-HDFN)病情相对较轻, 而 ABO 血型系统以外的意外抗体引起的 HDFN 往往病情较重, 需要更多的临床干预。

本研究中的 20 例非 ABO-HDFN 涉及到 4 个血

型系统的9种意外抗体,反映出导致免疫性HDFN的抗体复杂性,血型血清学的检测是提高由意外抗体致非ABO-HDFN的重要手段,临床应根据检出抗体的特性评估其风险,对患儿采取主动、及时的干预手段具有参考价值。

在我国,IgG-D引起的Rh-HDFN最为常见,与ABO-HDFN不同,Rh-HDFN在红细胞的破坏机制上与ABO-HDFN不同,以血管外溶血为主。胎儿红细胞可表达完整的Rh蛋白,且抗原数量与成人相近。当胎儿/新生儿红细胞与相应的Rh血型抗体结合后,即被脾脏内的吞噬细胞识别并破坏。由于胎儿/新生儿体内吞噬细胞数量多,而且吞噬细胞的免疫通量大,因此,Rh血型抗体所致的Rh-HDFN表现为红细胞持续破坏,低效价的Rh血型抗体即可导致病情严重的HDFN;其他的血型系统,如Diego, Kidd, MNS, P1PK, Duffy, Lewis等系统的抗体也均可导致严重的新生儿溶血病。本研究中13号患儿是由IgG-M抗体导致的HDFN,尽管母亲血清IgG-M抗体效价只有2,同时患儿总胆红素和直接胆红素水平并不高,但是血红蛋白水平从出生后128g/L迅速下降到出生59h的37g/L,因为IgG-M抗体主要破坏的是造血祖细胞^[10]。因此一旦鉴定出由意外抗体导致的HDFN,应根据抗体的特性积极、及时采取有效的临床干预手段,包括给予新生儿换血治疗和多次输血。我们研究显示,光疗组患儿病情比较轻,住院时间短;输血和换血两组之间新生儿因病情相似,换血组通过把患儿体内含有抗体的自身血液换出,输入正常血液,达到治疗目的;输血是患儿体内已经致敏的红细胞被意外抗体持续破坏,抗体的消耗比较慢,病程持续时间最长,所以对于意外抗体导致严重的HDFN患儿,换血治疗明显缓解患儿病情,住院天数缩短。美国输血协会(AABB)认为^[11],新生儿换血可以去除体内70%~90%的致敏红细胞和50%左右的总胆红素。我们建议临床对于由意外抗体,特别是多种意外抗体导致的非ABO-HDFN,临床应根据检出抗体的特性及患儿的病情轻重来评估其风险,应积极考虑换血治疗,及时对患儿采取必要的干预手段,对改善患儿预后具有参考价值。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] MUNDY C A, BHATIA J. Immunoglobulin transfusion in hemolytic disease of the newborn: place in therapy[J]. International Journal of Clinical Transfusion Medicine, 2015, 3 (default) : 41-45.
- [3] 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.
- [4] 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,2015:118-143.
SHANG Hong, WANG Yusan, SHEN Ziyu. National Guide to Clinical Laboratory Procedures[M]. 4th ed. Beijing: People's Health Press, 2015:118-143.
- [5] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,《中华儿科杂志》编辑委员会.新生儿高胆红素血症诊断和治疗专家共识[J].中华儿科杂志,2014,52(10):745-748.
The Group of Neonatology, Society of Pediatrics, Chinese Medical Association, The Editorial Board of Chinese Journal of Pediatrics. There is a consensus among experts in the diagnosis and treatment of neonatal high bililinemia[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2014,52(10):745-748.
- [6] 刘曦,范亮峰,郑皆炜,等.306例不规则抗体致新生儿溶血病回顾性研究[J].中国输血杂志,2018,31(11):1261-1264.
LIU Xi, FAN Liangfeng, ZHENG Jiewei, et al. 306 fetus and newborn cases with haemolytic disease caused by irregular antibodies: A retrospective study[J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2018,31(11):1261-1264.
- [7] 杨茹,李刚,何欣,等.Rh, MNS等血型系统不规则抗体导致新生儿溶血病的实验室检测分析[J].临床血液学杂志,2019,32(2):109-112.
YANG Ru, LI Gang, HE Xin, et al. Analysis of neonatal hemolytic disease caused by Rh, MNS blood type system irregular antibodies[J]. Journal of Clinical Hematology, 2019,32(2):109-112.
- [8] 李璐.280例新生儿溶血病血清学检测结果分析[J].医学食疗与健康,2020,18(7):172,175.
LI Lu. Analysis of serological test results of 280 cases of neonatal hemolytic disease[J]. Medical Diet and Health, 2020, 18(7): 172, 175.
- [9] 许志远,林裕翔,刘亚庆,等.罕见抗-JK3引起新生儿溶血病及家系Kidd血型基因研究[J].北京医学,2017,39(8):876-879.
XU Zhiyuan, LIN Yuxiang, LIU Yaqing, et al. Unusual anti-JK3 causes hemolytic neonatal diseases and gene of Kidd blood group study in their family members[J]. Beijing Medical Journal, 2017, 39(8):876-879.
- [10] HEATHCOTE D J, CARROLL T E, FLOWER R L. Sixty years of antibodies to MNS system hybrid glycoproteins: what have we learned[J]. Transfusion Medicine Reviews, 2011, 25(2):111-124.
- [11] ROBACK J D, FUNG M K, GROSSMAN B J, et al. Technical Manual (Aabb) [M]. 18th Ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2014: 579.

收稿日期:2021-03-18

修回日期:2021-09-06