

study of the factor VII rise during pregnancy[J]. Thromb-Haemost, 1998, 79(2):328-330.

[27] Miller CH, de Staercke C, Benson J, et al. Elevated factor VII as a risk factor for recurrent fetal loss[J]. Thromb Haemost 2005, 93(6):1089-1094.

[28] Glaninger A, van Trotsenburg M, Krugluger W, et al. Elevated coagulation factor VIII and the risk for recurrent arlypregnancy loss[J]. ThrombHaemost, 2004, 91 (4):694-699.

[29] 王述昀. 抗心磷脂的研究进展[J]. 国外医学: 儿科分册, 2000, 27(1):27-30.

[30] 梁卓, 王昕. 抗心磷脂抗体与自然流产关系的相关性研究[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(6):1163-1164.

[31] Hughes JR, Davies J, Prentice CR. The effect of different m-I crotitre plates on the enzyme- linked immunosorbent assay (ELIEA) for anticardiolipin antibodies(ACAS)1J2

[J]. Thromb Res, 1996, 84(6):481.

[32] 沈猷忱, 孟文珍, 罗军, 等. 抗 β_2 糖蛋白 1 抗体与习惯性流产[J]. 中国妇产科临床杂志, 2004, 5(2):103-105.

[33] Pereira ML, Bertolaccini A, Escudero C, et al. Value of IgA anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I antibody testing in patients with pregnancy morbidity [J]. Ann Rheum Dis, 2003, 62(6):540-543.

[34] Walid Zammiti. A case-control study on the association of idiopathic recurrent pregnancy loss with autoantibodies against beta2-glycoprotein I and annexin V[J]. Reproduction, 2006, 131(4):817-822.

[35] 刘晶珠, 林丽, 胡静, 等. 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体与反复自然流产的关系[J]. 吉林大学学报, 2006, 32(3):486-487.

(收稿日期:2012-09-15 修回日期:2012-11-19)

ABO 新生儿溶血病实验室检测方法及临床应用

黎海澜 综述, 焦 伟 审校(广西壮族自治区人民医院输血科, 南宁 530021)

【关键词】 新生儿溶血病; 实验室检测; 综述
DOI:10.3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 02. 035 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)02-0200-03

近年来对新生儿溶血病(HDN)的研究越来越受关注, HDN 的早期诊断与防治已成为临床研究的热点。现就 ABO-HDN 实验室检测方法及临床应用等进行综述。

1 ABO-HDN 的发病机制及实验室检测的临床意义

新生儿溶血病是由于母婴血型不合而引起的同族免疫性溶血, 临床表现为不同程度的黄疸、贫血、肝脾肿大, 严重者可有核黄疸, 甚至死亡^[1]。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, 由于自然界广泛存在类 A 和类 B 物质, 故 ABO-HDN 第 1 胎即可发病, 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^[2]。一般由抗-A 引起的 HDN 要比抗-B 常见^[3]。在 A 型、B 型等母亲所生 B、A、AB 型婴儿仅少数发生溶血病。Wang 等^[4]曾报道 1 位 A 型母亲的血清中具有高滴度的 IgG B 抗体, 其效价大于 1:1 024, 导致 B 型新生儿发生溶血; Deng 等^[5]报道了 1 例更罕见的 ABO-HDN, 1 位 O 型母亲所生具有 cisAB 血型的婴儿发生 ABO 新生儿溶血, 在新生儿血清中同时检测出 IgG 抗-A 和抗-B 两种抗体, 该婴儿具有高水平的胆红素血症以及严重的贫血。因此 ABO-HDN 不局限于 O 型母亲所生血型不合婴儿, A 型/B 型母亲所生血型不合婴儿也可发生, 其研究显得越来越重要。

据统计, 孕妇与胎儿发生 ABO 血型不合的概率为 20%~25%, 而其中发生溶血病的概率为 10%左右。西安地区 3 876 例新生儿溶血病产后检测资料的分析结果显示, 由 A、AB 血型不合引起的 HDN 占被检样本的 0.08%, 由 B、AB 血型不合引起的 HDN 占被检样本的 0.1%, 而由 O、A 血型不合引起的 HDN 占被检样本的 20.12%, 由 O、B 血型不合引起的 HDN 占被检样本 19.74%, 后两种血型不合共占 39.86%^[6]。因此对 ABO-HDN 进行早期、准确诊断有重要临床意义。

2 ABO-HDN 实验室检测方法

血型血清学诊断是确诊 HDN 的主要依据。其基本程序

为第一步血型鉴定, 第二步进行三项试验, 第三步从三项检查结果对 ABO-HDN 进行实验室诊断。

2.1 新生儿及父母血型鉴定方法 这是检查 HDN 的第一步, 以便考虑以后进一步检查的程序。血型鉴定的方法很多, 常用试管法, 被认为是最可信赖的方法。随着实验技术的不断发展, 单克隆凝胶血型卡已广泛应用于临床, 全自动血库系统血型鉴定也逐步在临床推广应用^[7]。

2.2 检测导致新生儿红细胞破坏的 IgG 抗-A(B)的方法
2.2.1 临床上对 HDN 的实验室诊断主要依靠 HDN 血型血清学检查,最有力的证据是证实新生儿红细胞被来自母亲的 IgG 抗体致敏。常用的检测方法包括红细胞致敏抗体放散试验、血清游离抗体试验、红细胞直接抗球蛋白试验, 被称为 HDN“三项试验”。

2.2.2 新生儿溶血病红细胞致敏抗体放散技术 在 HDN“三项试验”中, 患儿红细胞致敏抗体放散试验敏感度最高, 是判定新生儿溶血病最为重要的依据。热放散法是 ABO-HDN 诊断最常用、最经典的试验, 它是通过热释放的方法将致敏在红细胞表面的抗体放散到盐水(或 AB 型血清)中, 再用已知的抗原检测盐水中的相应抗体。然而, 因其为物理方法, 热放散试验效果受诸多因素的影响, 摇动的频率与力度、放散时间和温度等均难以控制^[8]。多年来人们对实验室检测方法进行不断地探索, 以寻找更为敏感、简捷的放散方法, 如 2004 年孙爱农等^[9]研究发现改良氯仿放散法适合检测由 IgG 抗-A 或抗-B 导致的 ABO-HDN, 且敏感性并不比传统热放散试验低; 2000 年周晓华等^[10]报道微波放散法可以作为红细胞抗体放散的一种方法。但由于客观原因, 均未能在临床上推广应用。近年来酸放散试验逐渐应用于 HDN 的实验室诊断^[11], 且越来越受到人们的重视, 已被英国血液学标准委员会列为红细胞血液免疫学检测常规方法。

2.2.3 患儿红细胞释放抗体及血清游离抗体检测方法 新生

儿溶血病的严重程度主要与抗体种类、效价高低以及红细胞被致敏程度有关。游离实验是检测新生儿血清中是否存在与其红细胞不配合的 ABO 以外抗体和(或)IgG 抗-A(B),可提示病情严重程度^[12]。使用酶试验检测引发 HDN 的抗体,被认为工序繁琐,对技术人员操作要求高,难度大,耗时长,且在操作过程中易出现假阴性结果^[13]。也有研究者利用不完全抗体快速反应试剂(主要含凝聚胺、聚乙二醇、枸橼酸钠)进行 HDN 的实验室检查诊断^[14]。有人将凝聚胺技术应用于 HDN 抗体检测,认为凝聚胺法的敏感性能达到要求,且快速简便^[15]。近几年微柱凝胶技术(MGCT)被引进 HDN 血型血清学实验,对临床标本检测的敏感性大大提高^[16-20]。

2.2.4 患儿红细胞直接抗球蛋白试验 直接抗球蛋白试验阳性在新生儿溶血病诊断中有着非常重要的作用,阳性结果提示患儿体内红细胞可能被抗体致敏。因此直接抗球蛋白试验敏感性的提高有益于 HDN 初次确诊率的提高。ABO 型溶血病因红细胞上抗体结合少,故直接法常显阴性,须作改良直接法、抗体释放试验及游离抗体试验^[21]。

2.3 检测母体针对新生儿的免疫性抗体 母亲标本做与患儿血型抗原相对应 IgG 抗-A(B)效价的测定。新生儿 ABO-HDN 的发病率随其母亲体内 IgG 抗体效价的升高而升高,且与母亲体内 IgG1 呈正相关^[22]。有研究表明,HDN 的发病率随母体内抗-A(B)水平的升高而递增,但仍有一些高抗体水平的个体并无 HDN,而一些低抗体水平的个体发生了中度至重度的 HDN^[22-24]。这可能与抗体的 IgG 亚型有关,有学者认为主要是 IgG1 抗体引起严重的 HDN,而另一些学者研究显示:严重的 HDN 的发生与 IgG1 和 IgG3 存在相关性^[25-27]。尽管如此,有关 IgG 亚型的定量检测目前仍处于试验阶段,要应用于临床尚待进一步的研究。虽然有关 IgG 抗体滴度与 HDN 严重程度之间的相关程度尚未确定,但目前仍作为临床对新生儿溶血病的实验室诊断依据之一。

3 结束语

HDN 是由于母-胎间血型不合而引起的免疫性溶血性疾病,是儿科最常见的急性溶血性疾病之一,一直备受妇幼医学界的重视,尽管产前、产后、都有有效的治疗手段,但准确、及时的实验室检查检测,做到早发现、早防治仍将是值得探讨和研究的热点。

参考文献

- [1] 张红珊,李文益. 新生儿溶血病诊断和治疗[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2009,14(6):246-248.
- [2] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:266-268.
- [3] Roberts IA. The changing face of hemolytic disease of the newborn[J]. Early Human Development, 2008, 84: 515-523.
- [4] Wang M, Hays T, Ambruso DR, et al. Hemolytic disease of the newborn caused by a high titer anti-group B IgG from a group A mother[J]. Pediatr Blood Cancer, 2005, 45:861-862.
- [5] Deng ZH, Seltsam A, Ye YW, et al. Hemolytic disease of fetus and newborn caused by ABO antibodies in a cisAB offspring[J]. Transfus Apher Sci, 2008, 39: 123-128.
- [6] 马晓旗,贾卉,周勇. 西安地区孕妇产前新生儿溶血病

- (HDN)筛查检测结果分析[J]. 中国优生与遗传, 2005, 13(9):60-63.
- [7] 蒋光明,王保龙,完晓菊,等. 全自动微柱玻璃珠技术提高血型相容性检测效能[J]. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(4):1048-1052.
- [8] 朱碎永,应俊. ABO-HDN 患儿红细胞抗体放散效果与时间、温度的关系[J]. 江西医学检验, 2006, 24(1):84.
- [9] 孙爱农,鲍自谦,查勇. 解离红细胞致敏抗体的 3 种方法比较[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(1):17-18.
- [10] 周晓华,徐惠新,程根林,等. 用微波做红细胞抗体放散试验[J]. 中国输血杂志, 2000, 13(4):249-250.
- [11] Victoria A, Karen M, Byrne, et al. Detection of antibodies in acid eluates with the gel microcolumn assay[J]. Transfusion, 2002, 42(6):698.
- [12] 冯素芳. 新生儿溶血病血清学检测结果分析[J]. 河北医药, 2011, 33(21):3166-3167.
- [13] 罗梅,陈方样,何静,等. 酶试验和微柱凝胶法在新生儿溶血病检测中的效果比较[J]. 重庆医学, 2007, 36(24):2486-2487.
- [14] 罗广平,肖露露,赵阳,等. 不完全抗体快速反应介质在新生儿溶血病检测中的应用[J]. 广东医学, 2003, 24(1):40-41.
- [15] 谢进荣,张兴明,樊崇红,等. 凝聚胺技术在产前血型抗体及新生儿溶血病检查中的应用[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(4):218-219.
- [16] 戎霞,罗广平,陈杨凯,等. ABO 血型不合新生儿溶血病 3 种检测方法的比较[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(5):361-362.
- [17] 刘晗,李彤彤,李浩泷. 传统试管法与微柱凝胶技术检测新生儿溶血病的比较[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(3):266-267.
- [18] 肖瑞卿,林武存,曾杰,等. 两种方法检查新生儿溶血病的比较分析[J]. 重庆医学, 2006, 35(11):967-968.
- [19] 廖长征,黄衍锋,许瑞环,等. 微柱凝胶技术用于新生儿溶血病诊断的效果评价[J]. 中国热带医学, 2007, 7(3):436-437.
- [20] 高志峰,胡丽华,雒维. 新生儿溶血病血清学检查两种方法的对比研究[J]. 临床血液学杂志, 2008, 21(8):409-410.
- [21] 蒋红周. 浅谈新生儿溶血病[J]. 医学信息, 2010, 23(7):2158-2159.
- [22] 张晨光,吴子钊,王亚荣,等. ABO 新生儿溶血病与 O 型孕妇血清中 IgG 及其亚类含量的相关分析[J]. 中国输血杂志, 2007, 20(1):15-16.
- [23] Voak D, Mitchell R, Scott M, et al. Guidelines for blood grouping and red cell antibody testing during pregnancy [J]. Transfusion Med, 1996, 6:71.
- [24] Hadley AG. A comparison of in vitro tests for predicting the severity of hemolytic disease of the fetus and the newborn[J]. Vox Sang, 1998, 74(Suppl 1), 2:375.
- [25] Lambin P, Debbia M, Puillandre p, et al. IgG1 and IgG3 anti-D in maternal serum and on the RBC of infants suffering from HDN: relationship with the severity of the

disease[J]. Transfusion, 2002, 42: 1537-1546.

[26] 张艳, 刘孟黎, 刘晟, 等. 母体血清 IgG 亚型含量与新生儿溶血病的关联[J]. 临床输血与检验, 2006, 8(1): 29-31.

[27] Wu Q, Zhang Y, Liu M, et al. Correlation of Fc(gamma)RIIa(CD32) Polymorphism and IgG antibody subclasses

in hemolytic disease of newborn[J]. Neonatology, 2009, 96: 1-5.

(收稿日期: 2012-06-22 修回日期: 2012-11-18)

NAG α_1 -MG β_2 -MG hs-CRP 对早期肾损害诊断的研究进展

刘 丹¹, 刘 艳² 综述, 黄泽智² 审校 (1. 湖南省邵阳市疾病预防控制中心 422000; 2. 邵阳医学高等专科学校 422000)

【关键词】 肾损害; 微球蛋白; 高敏 C 反应蛋白

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 02. 036 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)02-0202-03

近年来, 各种肾损害继而出现慢性肾功能不全的患者呈逐年增多趋势, 因此寻找早期诊断肾损害的指标在临床工作中显得尤为重要。大量的研究表明, 早期肾损害有相当一部分主要表现为肾小管的损害, 此时血清中肌酐、尿素氮、尿酸等评价肾功能的传统指标并未明显升高, 这些指标都属中晚期指标, 且受多种因素影响, 当这些指标出现异常时, 已经是肾功能损伤比较明显, 甚至是不可逆阶段。因而, 寻找其他更敏感的指标来提高早期肾损害的检出率就显得尤为重要。本文就可应用于诊断早期肾损害的尿 N-乙酰- β -D 氨基葡萄糖苷酶(NAG)、 α_1 -微球蛋白(α_1 -MG)、 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)4 项指标的国内外研究进展做一综述。

1 NAG 对早期肾损害的诊断价值

NAG 是广泛分布于各种细胞溶酶体中的大分子酸性水解酶(相对分子质量 140×10^3), 近端肾小管上皮细胞中含量丰富, 不能由肾小球滤过, 当肾近曲小管受损时尿 NAG 显著升高。研究表明糖尿病肾病(DN)患者在肾小球损伤前, 部分患者已发生肾小管损伤, 运动模型也提示, DN 病理过程中肾小管基底膜和肾小管同时受损^[1]。张晓青等^[2]研究认为尿 NAG 活性升高原因可能基于以下两点: (1) 当肾细胞变性、坏死时, 将溶酶体内的酶释放至尿中; (2) 蛋白质自肾小球滤过增多时, 在近曲小管重吸收, 激活溶酶体酶致尿中排泄增多。因此当肾近曲小管细胞受损或滤过压增高时, NAG 活性显著升高或因滤过膜负电荷减少和裂孔变化, 尿 NAG 水平明显升高, 尿中 NAG 含量远远高于血肌酐和尿素氮, 且改变远早于尿蛋白及肾功能异常的变化, 可用来评价肾脏病进展早期的近曲小管上皮细胞的损害, 作为反映肾小管损害敏感、特异的指标, 尿 NAG 比尿清蛋白可能有更早的预测价值^[3-4], 尿 NAG 酶是近曲小管活动性损伤早期诊断的灵敏指标, 可作为肾小管受损的早期诊断指标^[5]。

2 α_1 -MG、 β_2 -MG 对早期肾损害的诊断价值

α_1 -MG 与 β_2 -MG 均为小分子蛋白质, α_1 -MG 相对分子质量为 26×10^3 , β_2 -MG 相对分子质量为 11.8×10^3 , 二者都能自由通过肾小球, 在肾小管中几乎全部被重吸收并降解, 健康人尿中几乎不含 α_1 -MG 和 β_2 -MG, 当肾小管发生病变时, 则不能很好地被重吸收, 因此连续测定血、尿中 α_1 -MG 和 β_2 -MG 浓度是诊断和评价肾小管损伤或恢复的灵敏指标, 二者在原发性肾脏疾病、糖尿病肾病、高血压肾病、风湿性疾病侵犯肾脏、动态观察及早期肾移植排斥反应、监测金属及药物肾毒性等方面

均具有重要的临床诊断意义^[6-7]。

研究表明糖尿病患者尿清蛋白尚在正常水平时, 尿 α_1 -MG 水平已有升高, 其升高早于微量蛋白尿的出现; 还早于 β_2 -MG, 且在尿中含量稳定, 不易受尿 pH 影响, 因此尿 α_1 -MG 是筛查糖尿病早期肾小管功能损害的高敏感指标。陈燕等^[8]用速率散射比浊法检测分析 102 例不同病程糖尿病患者及 50 例健康对照者尿蛋白定性及尿微量蛋白, 糖尿病组尿蛋白定性及尿微量蛋白测定结果均明显高于健康对照组, 糖尿病组尿蛋白定性阳性率只有 22.5% 而尿微量清蛋白和尿 α_1 -MG 联合检测总阳性率为 75.5%; 尿蛋白定性和尿微量清蛋白、尿 α_1 -MG 联合检测时, 102 例糖尿病者尿蛋白定性阴性者中有 51% 微量清蛋白(MA)或尿 α_1 -MG 阳性, 尿 MA 和 α_1 -MG 联合检测能够提高 DM 早期肾损伤的检出率, 可以减少 DM 早期肾病的漏诊, 随糖尿病病程的延长, 尿蛋白定性、尿 MA 和尿 α_1 -MG 阳性率不断增加, 其检测值不断增高, 而尿 β_2 -MG 检测对糖尿病早期肾损伤的敏感性低于 MA 和 α_1 -MG, 尿 β_2 -MG 增多主要反映近端肾小管重吸收功能受损。

严瑞华和徐秀^[9]研究表明血、尿 α_1 -MG 在轻度高血压时就有显著性升高, 中、重度高血压时升高更明显, 而在血肌酐测定时, 这种差别只是在中度高血压时才出现, 且这种差别也不如上述明显。说明血、尿 α_1 -MG 较血肌酐对肾功能受损有早期诊断意义, 有利于发现肌酐盲区, 当血肌酐尚在正常范围时, 血、尿 α_1 -MG 已出现异常, 肾功能损害与年龄无关, 与血压水平有关, 随着血压水平的升高, 肾功能储备逐渐降低, 至血压近 105 mm Hg 以上时, 肾功能出现明显损害。临界高血压时, 肾脏无明显损害, 轻度高血压时, 肾小球、肾小管已受到损害, 证明血、尿 α_1 -MG 对高血压病肾损害有早期诊断价值, 血、尿 α_1 -MG 浓度是反映肾小球滤过率或肾小管功能的一项敏感而可靠的指标。贺贵等^[10]检测了 780 例原发性肾脏疾病患者的血、尿 α_1 -MG, 并对其中 375 例进行肾脏穿刺肾组织病理学检查, 证明血、尿 α_1 -MG 水平不仅随着肾功能的恶化逐步升高, 在反映肾脏病理改变方面也具有高度敏感性。随着肾脏疾病研究的不断深入, 肾小管间质的病变程度日益引起临床的关注, 其损害的严重程度直接与肾脏病变的发展速度和预后密切相关, 甚至超过原肾小球或肾血管病变本身, 而尿 α_1 -MG 水平不仅反映肾小管的重吸收功能, 还能从侧面反映肾小管间质病理改变的严重程度, 其临床前景值得期待。Jung 等^[11]研究显示接触镉的工人尿 α_1 -MG 增高明显, 可作为早期发现镉所致