

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.18.021

两种放散试验联合检测对新生儿 ABO 溶血病诊断的意义

陈卓瑶, 邓秋连[△], 黄映红, 林爱君

广州市妇女儿童医疗中心输血科, 广东广州 510120

摘要:目的 探讨热放散和酸放散两种方法联合检测对新生儿 ABO 溶血病的诊断意义, 为临床提供诊断依据。**方法** 选择 2017 年 4 月至 2018 年 8 月该院住院的 487 例母婴血型不合且伴有高胆红素血症患儿作为研究对象, 对 487 例患儿的血标本均进行新生儿 ABO 溶血病 3 项试验(直接抗人球蛋白试验、游离抗体试验和红细胞抗体释放试验), 其中红细胞抗体释放试验同时采用热放散试验和酸放散试验检测。比较单一放散试验与两种放散试验联合检测新生儿 ABO 溶血病的结果。**结果** 487 例疑似母婴血型不合且伴有高胆红素血症表现的新生儿中, 确诊新生儿 ABO 溶血病有 135 例, 阳性检出率为 27.7%(135/487); 其中热放散试验和酸放散试验均为阳性 100 例, 阳性检出率为 20.5%(100/487); 热放散试验阳性而酸放散试验阴性 6 例, 阳性检出率为 1.2%(6/487); 热放散试验阴性而酸放散试验阳性 27 例, 阳性检出率为 5.6%(27/487); 直接抗人球蛋白试验+红细胞抗体释放试验阳性 2 例, 阳性检出率为 0.4%(2/487)。单一放散试验与两种放散试验联合检测新生儿 ABO 溶血病的阳性检出率比较, 差异有统计学意义($P < 0.001$), 联合检测阳性检出率显著提高。**结论** 热放散试验和酸放散试验两种方法联合检测可提高新生儿 ABO 溶血病阳性检出率, 降低单一放散试验漏检的风险。

关键词:新生儿 ABO 溶血病; 热放散试验; 酸放散试验

中图分类号: R457

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)18-2660-03

Significance of combined detection of two release tests in the diagnosis of ABO hemolytic disease of the newborn

CHEN Zhuoyao, DENG Qiulian[△], HUANG Yinghong, LIN Aijun

Department of Blood Transfusion, Guangzhou Municipal Women and Children Medical Center, Guangzhou, Guangdong 510120, China

Abstract: Objective To discuss the significance of combined detection of thermal elution test and acid elution test in newborns with ABO hemolytic disease, and to provide basis of clinical diagnosis. **Methods** A total of 487 children with substandard maternal infant blood type combined with hyperbilirubinemia in our hospital from April 2017 to August 2018 were chosen as the research objects. All 487 blood samples were tested with hemolysis three trials, including direct anti-globulin test, free antibody test and antibody released test. Among all the above tests, antibody released test was conducted with both thermal elution test and acid elution test. **Results** The number of confirmed ABO hemolytic disease was 135 cases out of 487 newborns with suspected maternal-infant incompatibility with hyperbilirubinemia. And the positive detection rate was 27.7%(135/487). There were 100 newborns [20.5%(100/487)] which showed both thermal elution test and acid elution test were positive. There were 6 newborns [1.2%(6/487)] which showed that the thermal elution test was positive while acid elution test was negative. In addition, there were 27 newborns [5.5%(27/487)] which showed that the thermal elution test was negative while acid elution test was positive. There were two cases [0.4%(2/487)] showed direct anti-globulin test and free antibody test were both positive. The detective rates between single-released test and the combined tests method in the diagnosis of ABO hemolytic disease were statistically significant ($P < 0.001$). Combined detection methods had improved positive detection rate. **Conclusion** The combined detection of thermal elution test and acid elution test could effectively improve the positive detection rate of ABO hemolytic disease. Either single release test may result in the risk of undetected errors.

Key words: ABO hemolytic disease of newborn; thermal elution test; acid elution test

新生儿溶血病(HDN)指母婴血型因 ABO 血型 不合而引起的同种免疫性疾病。ABO 血型不合导致

的 HDN 是新生儿所有的溶血性疾病中最常见一种^[1],我国人群中 ABO-HDN 发病率为 20%~25%^[2]。该病临床表现为胎儿水肿、贫血、早产或死胎,新生儿黄疸、贫血、肝脾肿大、水肿、核黄疸后遗症等,因此提高早期实验室诊断阳性率对 ABO-HDN 患儿的临床治疗与干预具有重要诊断意义。诊断 ABO-HDN 主要依据为血清学指标,即 ABO-HDN 3 项试验(直接抗人球蛋白试验、游离抗体试验和红细胞抗体释放试验),而红细胞抗体释放试验的结果最具诊断意义,只要其阳性即可确定为 ABO-HDN。红细胞抗体释放试验包括多种检测方法,适用于不同膜抗体的释放,也各有其优缺点。本院自 2017 年在 ABO-HDN 患儿红细胞抗体释放试验中采用了热放散试验和酸放散试验两种方法联合检测,旨在分析联合检测在 ABO-HDN 中的诊断价值,现将两种方法检测结果分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 4 月至 2018 年 8 月本院收治的疑似 ABO-HDN 患儿 487 例,临床上均为母婴血型不合并伴有高胆红素血症,患儿及母亲血型均为 Rh(+)。其中男 292 例,女 195 例;年龄 2 h 至 15 d。采集患儿 EDTA 抗凝静脉血 2~3 mL 进行 ABO-HDN 检测。

1.2 仪器与试剂 标准 A、B 血清试剂,标准 ABO 红细胞,抗体筛选红细胞采用上海血液生物医药责任公司产品;酸放散试剂盒采用长春博德生物技术有限公司产品;所用仪器均采用北京斑珀斯公司的戴安娜微柱凝胶卡、戴安娜专用离心机、戴安娜专用孵育器;DK-420 型电热恒温水槽购自上海精宏实验设备有限公司。所有的试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 直接抗人球蛋白试验 取患儿待检测的红细胞用生理盐水配成 1% 的悬液 50 μ L,加入戴安娜抗人球蛋白卡直接离心观察结果。

1.3.2 游离抗体试验 取戴安娜抗人球蛋白卡标记 1~3 孔分别加入 1% 标准 A、B、O 红细胞 50 μ L 后再加入患儿血浆各 50 μ L,进行检测。

1.3.3 放散细胞准备 将待检血标本以 3 000 r/min 离心 10 min,吸取血浆层放入另一试管备用。取 2 mL 剩余的压积红细胞用 0.9% 生理盐水进行洗涤,速度为 3 000 r/min,离心时间为 5 min,洗涤 3 次后,在两支试管中分别加入洗涤好的压积红细胞各 1 mL,准备同时进行热放散和酸放散试验。

1.3.4 热放散试验 依照《全国临床检验操作规程》^[3] 进行操作。在 1 mL 的压积红细胞中加入等体积的生理盐水,混匀,将试管放置在 56 $^{\circ}$ C 水浴中不断震动 7~8 min,取出后置入预先在 56 $^{\circ}$ C 水浴箱里预温的离心套管内,立即以 2 000 r/min 离心 5 min,吸

取上层液(即放散液)进行检测。

1.3.5 酸放散试验 依照厂商的试剂盒的说明书进行操作。在 1 mL 的压积红细胞加入等体积的溶液 I,混匀后,来回轻轻颠倒试管 4 次,以 3 000 r/min 离心 1 min,转移上清液至另外一洁净试管。在放散液中逐滴加入溶液 II,直至放散液变为蓝色为止(即放散液由酸性转变为中性)。将中和后的放散液离心,3 000 r/min 离心 1 min,上清液用于抗体检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 对数据进行分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ABO-HDN 抗体检测结果 487 例疑似 ABO-HDN 患儿中,确诊为 ABO-HDN 共 135 例,检出率为 27.7%(135/487);其中母-婴血型为 O-A 型 70 例,O-B 型 58 例,A-AB 型 7 例。135 例 ABO-HDN 患儿血样标本中,热放散试验和酸放散试验均为阳性 100 例,检出率为 20.5%;热放散试验阳性而酸放散试验阴性 6 例,检出率为 1.2%;热放散试验阴性而酸放散试验阳性 27 例,检出率为 5.6%;热放散和酸放散试验均为阴性,但直接抗人球蛋白试验+游离抗体释放试验阳性 2 例,检出率为 0.4%。

2.2 两种放散试验结果比较 487 例患儿中,酸放散试验阳性 127 例,检出率为 26.1%(127/487);热放散试验阳性 106 例,检出率为 21.8%(106/487);两种放散试验结果比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 327.50, P < 0.001$)。

2.3 单一放散试验与两种放散试验联合检测结果比较 487 例患儿中,两种方法联合检测阳性检出率为 27.3%(133/487),酸放散试验阳性检出率为 26.1%,酸放散试验与两种方法联合检测阳性检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 457.28, P < 0.001$);热放散试验阳性检出率为 21.8%,热放散试验与两种方法联合检测阳性检出率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 360.63, P < 0.001$)。

2.4 两种放散试验检测 ABO-HDN 的凝集强度 结果显示,热放散法检测 ABO-HDN 的凝集强度主要为+~+++,酸放散法检测 ABO-HDN 的凝集强度主要为++~++++,见表 1。

表 1 两种不同放散试验检测 ABO-HDN 的凝集强度情况[n(%)]

凝集强度	热放散试验(n=106)	酸放散试验(n=127)
W+	5(4.7)	2(1.6)
+	41(38.7)	28(22.0)
++	34(32.1)	47(37.0)
+++	24(22.6)	41(32.3)
++++	2(1.9)	9(7.1)

注:W+为弱阳性

3 讨 论

ABO-HDN 是由于母婴血型不合而引起的免疫性溶血性疾病,患儿临床表现为水肿、黄疸、贫血、肝脾肿大,严重者可发生胆红素脑病,导致大脑损伤,引起智力低下或者不可逆的神经系统后遗症,更甚者威胁到患儿的生命^[4]。因此早发现、早诊断、早治疗,可以避免后续症状的发生,减轻疾病对患儿造成的损伤。目前,对 ABO-HDN 的诊断主要通过 ABO-HDN 3 项试验(直接抗人球蛋白试验、血清游离抗体试验和红细胞抗体释放试验)进行检测^[5]。红细胞抗体释放试验是诊断 ABO-HDN 最有力证据,阳性结果表明患儿红细胞被母体 IgG 抗 A(B) 抗体致敏^[6]。酸放散试验的原理是低 pH 值(酸性条件下)可以破坏蛋白质的静电引力并改变其三级结构,从而致敏红细胞上除 Duffy 系统以外的大部分 IgG 抗体;热放散试验原理为温度在 56 °C 时可将红细胞表面结合的 IgM 类抗体或 ABO 系统 IgG 类抗体解离,相对于其他放散试验,热放散试验效果更显著,更适合 ABO 系统 IgM 抗体的放散^[7]。本研究在抗体释放试验中采取了传统的热放散试验和酸放散试验两种方法联合检测,阳性检出率为 27.3%,比单一方法阳性检出率高。热放散试验阳性检出率为 21.8%,酸放散试验阳性检出率为 26.1%,单一放散试验与两种放散试验联合检测结果比较,差异有统计学意义($P < 0.001$),研究结果与文献^[8]报道的两种放散试验差异无统计学意义不同,可能原因为标本数量不同,以及性别构成不同等差异。本研究结果显示,酸放散法试验阳性检出率优于热放散法($P < 0.001$),与文献^[9]报道相同。

本研究比较了两种不同放散试验检测 ABO-HDN 的凝集强度情况,结果显示,热放散试验的凝集强度主要为 + ~ ++,酸放散试验主要为 ++ ~ +++。两种抗体释放试验各有优缺点,热放散试验关键在于红细胞在 56 °C 水浴中需要充分振摇,要注意振摇的力度,力度太小,会造成放散出的抗体数量较少,出现假阴性;力度太大,会造成放散液严重溶血,难以观察结果;同时在离心时试管应放在 56 °C 水浴的套管里,且离心后需要马上将放散液吸出,以防止因为环境温度的降低而导致抗体重新结合到红细

胞上,最终影响结果。酸放散试验在滴加指示剂时颜色的变化是关键,如果刚变颜色尚未呈蓝色(中性)就进行试验,会出现假阳性或溶血的现象,若使其变为蓝色或偏蓝色时则出现阴性,其原因可能是红细胞在酸性环境中容易破坏和发生变形、肿大,这样的红细胞难以通过微柱凝胶的筛孔,而出现假阳性。

综上所述,如果只选择单一放散试验进行 ABO-HDN 的诊断,会增加漏检的概率,最终影响患儿治疗。两种放散方法联合检测能提高抗体释放试验的阳性率,为患儿的治疗争取时间,减少并发症的发生。

参考文献

- [1] BASU S, KAUR R, KAUR G. Hemolytic disease of the fetus and newborn: current trends and perspectives[J]. Asian J Transfus Sci, 2011, 5(1): 3-7.
- [2] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 邱小汕. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [3] 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: 256.
- [4] 姚拥华, 陈玲, 许锦平, 等. 高胆红素血症对婴幼儿神经行为及智能发育的影响[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(5): 980-982.
- [5] BRUMIT M C, STUBBS J R. Conventional tube agglutination with polyethylene glycol versus Red Cell Affinity Column Technology (REACT): a comparison of antibody detection methods[J]. Ann Clin Lab Sci, 2002, 32(2): 155-158.
- [6] 张钦辉. 临床输血学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 97-105.
- [7] 朱铁楠. 血型鉴别标准与血制品应用技术及医院开展新技术新项目解析[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 186-189.
- [8] 卜祥茂, 刘国风, 李胜军, 等. 两种不同放散试验在新生儿 ABO 溶血病检测中的比较[J]. 临床输血与检验, 2013, 15(4): 349-350.
- [9] 黎海澜, 焦伟, 莫柱宁, 等. 两种放散法检测新生儿溶血患儿红细胞致敏抗体的比较[J]. 广西医学, 2015, 37(5): 678-679.

(收稿日期: 2019-01-10 修回日期: 2019-04-12)

(上接第 2659 页)

作对促进临床合理用血的效果分析[J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(10): 868-869.

- [8] 汪艳, 李冰, 毕晓琳, 等. 2011—2014 年临床输血质量管理回顾性分析[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(12): 1046-1048.
- [9] 孙启凤, 马欣, 张正芳, 等. 6 所医疗机构临床用血现状调

研[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(3): 234-237.

- [10] 苏州市卫生和计划生育委员会. 苏州市医师不良执业行为记分管理办法(试行): 苏卫计监督[2016]20 号[R/OL]. (2016-10-17) [2019-03-14]. <http://www.zfxxgk.suzhou.gov.cn/>.

(收稿日期: 2019-01-20 修回日期: 2019-04-22)