

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.002

新生儿 ABO 溶血的相关因素分析*

吴李萍, 罗敏, 卢旭, 卿克勤, 李红霞[△]

四川省成都市第一人民医院检验科, 四川成都 610041

摘要:目的 分析新生儿溶血症(HDN)相关检测指标分布情况及其相关影响因素。方法 回顾性分析 2016—2019 年孕妇抗体效价和 HDN 检测结果,并对孕妇年龄、孕次、胎次及患儿性别、日龄、胎龄等临床资料进行分析。结果 不同血型组合夫妻抗体效价比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HDN 阳性检出率女性患儿高于男性患儿,A 型患儿高于 B 型患儿,二胎患儿高于一胎患儿,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HDN 阳性检出率在新生儿出生后 24 h 内最高,且随日龄增加呈逐渐下降趋势,随孕妇 IgG 抗体效价升高而逐渐升高。结论 孕妇 IgG 抗体效价和胎次为 HDN 发生的影响因素,定期监测高风险孕妇抗体效价和尽早进行 HDN 试验可提高 HDN 的诊治效率。

关键词:二孩政策; 抗体效价; 新生儿溶血症; 胎次

中图分类号:R446.11

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)14-1989-04

Analysis of related factors of neonatal ABO hemolysis*

WU Liping, LUO Min, LU Xu, QING Keqin, LI Hongxia[△]

Department of Clinical Laboratory, Chengdu First People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: Objective To analyze the distribution of relevant detection indexes of neonatal hemolysis disease (HDN) and related influencing factors. **Methods** A retrospective analysis of the antibody titer and HDN test results of pregnant women from 2016 to 2019 was carried out, and the clinical data of the pregnant women's age, gestation times, parity, and children's gender, age, and gestational age were analyzed. **Results** There was a statistically significant difference in antibody titers between couples of different blood types ($P < 0.05$). The positive detection rate of HDN in female children was higher than that in male children, children with type A were higher than children with type B, and children with second births were higher than those with first births, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The positive detection rate of HDN was the highest within 24 h after the birth of a newborn, and it gradually decreased with the increased of age, and gradually increased with the increased of the IgG antibody titer of pregnant women. **Conclusion** IgG antibody titer and parity in pregnant women are the influencing factors of HDN. Regular monitoring of antibody titer in high-risk pregnant women and early HDN test can improve the efficiency of HDN diagnosis and treatment.

Key words: two-child policy; antibody titer; neonatal hemolysis disease; parity

新生儿溶血症(HDN)指因母婴血型不合、珠蛋白生成障碍性贫血、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏等各种病因引起胎儿或新生儿红细胞破坏增多,临床通常特指母婴血型不合引起的 HDN^[1-3]。母婴血型不合 HDN 主要见于 ABO 血型系统不合^[1], Rh 血型系统次之,其他血型系统如 MN、Kidd 等不合引起的溶血多为个案报道^[2-4]。ABO 血型不合导致的 HDN 发生概率较高,但严重病例占比相对较低^[5]。随着二孩政策全面放开,约 43.70% 的育龄妇女有意愿生育二孩^[6],但其将经历多次妊娠和分娩,ABO 血型不合引起的 HDN 发生率及其严重程度的变化有待大量临

床数据统计分析。本次研究拟通过回顾 2016—2019 年本院抗体效价及 HDN 筛查结果,探讨 ABO 系统 HDN 发生的相关影响因素及其变化,为 HDN 早期预防、诊断和治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有资料均来源于 2016—2019 年于成都市第一人民医院门诊和住院就诊的患者。统计分析共纳入 3 855 例 O 型血孕妇(丈夫非 O 型血)产前抗体效价结果,628 例 ABO 系统 HDN 试验结果,以及 236 例母婴临床资料齐全的抗体效价和 HDN 试验结果。母婴临床资料包括母亲年龄、抗体

* 基金项目:四川省卫生健康委员会课题(20PJ188)。

作者简介:吴李萍,女,主管技师,主要从事输血医学相关研究。△ 通信作者,E-mail:lihongxia1118@163.com。

本文引用格式:吴李萍,罗敏,卢旭,等.新生儿 ABO 溶血的相关因素分析[J].检验医学与临床,2021,18(14):1989-1992.

效价、孕次、胎次和患儿性别、日龄、ABO血型、胎龄,通过上述资料分析 HDN 发生的相关影响因素。其中一胎患儿 169 例,二胎患儿 67 例;足月患儿 212 例,早产患儿 24 例;孕妇孕 1 次 125 例,孕 2 次 54 例,孕 3 次及以上 57 例,孕次达 9 次者 1 例。

1.2 仪器与试剂 ABO 和 RhD 血型鉴定卡、抗人球蛋白卡、37 °C 孵育器及专用离心机、戴安娜全自动配血系统均购自北京市斑珀斯技贸有限公司;ABO 反定型细胞、不规则抗体筛查细胞均购自长春博德生物医药有限责任公司;56 °C 数显电热恒温震荡水浴箱购自上海跃进医疗器械公司;2-巯基乙醇购自上海血液生物医药责任公司。全部血型和抗体效价检测标本为乙二胺四乙酸二钾抗凝静脉全血 2.0 mL。

1.3 方法

1.3.1 血型检测及不规则抗体筛查 采用戴安娜全自动配血系统检测孕妇血型,对 Rh 阴性孕妇增加不规则抗体筛查。用奥森多血型卡检测新生儿血型。

1.3.2 抗体效价 在孕妇怀孕中期采集夫妻静脉血各 2.0 mL,离心后取 150 μL 的 2-巯基乙醇与 150 μL 孕妇血浆混匀,37 °C 孵育 30 min 后,采用抗人球蛋白法于戴安娜全自动配血系统检测抗体效价。

1.3.3 游离抗体试验 于抗人球蛋白卡中分别加入 2% 标准 A、B、O 红细胞 40 μL,再加入患儿血浆 100 μL,37 °C 孵育 15 min,离心观察结果。

1.3.4 红细胞抗体释放试验 取不少于 600 μL 患儿红细胞,用生理盐水洗涤 6 次,取 300 μL 红细胞与 300 μL 生理盐水混匀,于 56 °C 水浴箱中震荡放散 10 min,取出后立即离心,留上层放散液,于抗人球蛋白

卡中分别加入 2% 标准 A、B、O 红细胞 40 μL,再加入放散液 100 μL,于 37 °C 孵育 15 min,离心观察结果,参照全国临床检验操作规程进行试验^[7]。

1.3.5 直接抗人球蛋白试验 取 1.3.4 所述 40 μL 患儿洗涤 6 次的红细胞,加入 1 mL 生理盐水混匀,取 40 μL 细胞悬液加入抗人球蛋白卡,离心观察结果。

1.4 结果判读

1.4.1 抗体效价 根据戴安娜全自动配血系统成像结果“2+”标准判读抗体效价结果,以滴度表示,分别记为 <1 : 32、1 : 32、1 : 64、1 : 128 和 ≥1 : 256。

1.4.2 HDN 3 项检查中有 2 项阳性或者红细胞抗体释放试验单项阳性均为 HDN^[8]。

1.5 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关影响因素分析采用 Logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同年龄和不同血型组合夫妻抗体效价分布情况 2016—2019 年送检抗体效价检测的 O 型孕妇共 3 855 例,年龄 18~42 岁,平均(26.95 ± 2.81)岁。不同年龄段孕妇抗体效价差异无统计学意义($\chi^2 = 17.142, P > 0.05$),抗体效价 IgG 抗 A(B) ≥ 1 : 64 者 1 819 例,占 47.19%。不同血型组合夫妻抗体效价差异有统计学意义($\chi^2 = 270.461, P < 0.05$),其中 O-AB 组合抗 AB 效价 ≥ 1 : 64 517 例,占 60.35%,O-A 组合孕妇抗 A 效价 ≥ 1 : 64 1 908 例,占 54.04%,O-B 组合抗 B 效价 ≥ 1 : 64 1 430 例,占 33.29%。见表 1。

表 1 不同年龄和不同血型组合夫妻抗体效价分布情况[n(%)]

项目	n	<1 : 32	1 : 32	1 : 64	1 : 128	≥1 : 256
年龄(岁)						
18~<26	1 128	336(29.79)	266(23.58)	209(18.53)	178(15.78)	139(12.32)
26~<31	2 474	700(28.29)	602(24.33)	473(19.12)	429(17.34)	270(10.91)
31~<36	221	63(28.51)	49(22.17)	37(16.74)	36(16.29)	36(16.29)
36~42	32	6(18.75)	14(43.75)	3(9.38)	4(12.50)	5(15.63)
合计	3 855	1 105(28.66)	931(24.15)	722(18.73)	647(16.78)	450(11.67)
夫妻血型						
O-A	1 908	402(21.07)	475(24.90)	430(22.54)	348(18.24)	253(13.26)
O-B	1 430	614(42.94)	340(23.78)	185(12.94)	170(11.89)	121(8.46)
O-AB	517	89(17.21)	116(22.44)	107(20.70)	129(24.95)	76(14.70)
合计	3 855	1 105(28.66)	931(24.15)	722(18.73)	647(16.78)	450(11.70)

2.2 HDN 阳性检出率与新生儿日龄关系 送检 628 例 ABO 系统 HDN 试验结果发现,HDN 阳性 332 例,检出率为 52.87%。其中男性患儿 317 例,HDN 阳性 153 例,HDN 阳性检出率为 48.26%;女性患儿 311 例,HDN 阳性 179 例,HDN 阳性检出率为

57.56%,差异有统计学意义($\chi^2 = 5.439, P < 0.05$);A 型患儿 326 例,HDN 阳性 197 例,HDN 阳性检出率 60.43%,B 型患儿 302 例,HDN 阳性 135 例,HDN 阳性检出率 44.70%,差异有统计学意义($\chi^2 = 15.562, P < 0.05$)。

新生儿日龄呈偏态分布,中位日龄 2 日。患儿 HDN 阳性检出率随日龄增加逐渐降低,患儿出生后 24 h 内 HDN 阳性检出率最高。不同日龄患儿 HDN 阳性检出率差异有统计学意义($\chi^2 = 67.696, P < 0.05$)。3 项溶血试验中,红细胞抗体释放试验最敏感,游离抗体试验次之,直接抗人球蛋白试验最低,3 项检测的阳性率均随患儿日龄增加而有降低趋势,见表 2。

表 2 HDN 阳性检出率与新生儿日龄关系[n(%)]

日龄	n	HDN	HDN 试验		
			A	B	C
≤1 d	200	136(68.00)	72(36.00)	110(55.00)	128(64.00)
2 d	135	85(62.96)	32(23.70)	69(51.11)	76(56.30)
3 d	97	49(50.52)	23(23.71)	39(40.21)	41(42.27)
4 d	54	19(35.19)	4(7.41)	14(25.93)	17(31.48)
≥5 d	142	43(30.28)	9(6.34)	31(21.83)	37(26.06)
合计	628	332(52.87)	140(22.29)	263(41.88)	299(47.61)

注:A 为直接抗人球蛋白试验;B 为游离抗体试验;C 为红细胞抗体释放试验。

2.3 HDN 相关影响因素的 Logistic 回归分析 Logistic 回归分析显示,与 HDN 发生相关的影响因素为孕妇 IgG 抗体效价和胎次。进一步分析显示,HDN 阳性检出率随 IgG 抗体效价升高而逐渐升高,IgG 抗体效价 < 1 : 32 时,HDN 阳性检出率为 14.29%;IgG 抗体效价 ≥ 1 : 256 时,HDN 阳性检出率高达 78.33%,不同效价组间 HDN 检出率差异有统计学意义($\chi^2 = 51.094, P < 0.05$)。236 例患儿 HDN 阳性检出率为 55.93%,二胎患儿 HDN 阳性检出率为 70.15%,明显高于一胎患儿的 50.30% ($\chi^2 = 7.672, P < 0.05$)。尽管 Logistic 回归分析显示孕次不是 HDN 发生的影响因素,但其母亲抗体高效价比例和 HDN 阳性率随孕次增加而升高,其中孕 5 次及以上孕妇共 12 例,所生新生儿均发生 HDN。见表 3。

表 3 母婴不同影响因素 HDN 阳性率比较

影响因素	HDN			χ^2	P
	阳性(n)	阴性(n)	阳性检出率(%)		
母亲					
效价					
<1 : 32	7	42	14.29	55.515	<0.001
1 : 32	17	20	45.95		
1 : 64	19	14	57.58		
1 : 128	42	15	73.68		
≥1 : 256	47	13	78.33		
年龄					
<26 岁	31	22	58.49	3.478	0.176
26~30 岁	78	72	52.00		
>30 岁	23	10	69.70		
胎次					
一胎	85	84	50.30	7.672	0.006

续表 3 母婴不同影响因素 HDN 阳性率比较

影响因素	HDN			χ^2	P
	阳性(n)	阴性(n)	阳性检出率(%)		
二胎	47	20	70.15		
孕次					
1 次	65	60	52.00	10.969	0.089
2 次	28	26	51.85		
≥3 次	39	18	68.42		
患儿					
胎龄					
早产	11	13	45.83	1.105	0.293
足月	121	91	57.08		
血型					
A 型	78	42	65.00	8.114	0.004
B 型	54	62	46.55		
性别					
男	52	52	50.00	2.655	0.103
女	80	52	60.61		

3 讨 论

HDN 的发病机制为胎儿从父亲处遗传到了母亲不具有的血型抗原,母亲由于妊娠、分娩或输血产生了针对该血型抗原的 IgG 抗体,IgG 抗体可以通过胎盘屏障进入胎儿血液循环与胎儿红细胞抗原结合,导致胎儿红细胞致敏甚至溶血^[9],溶血程度与 IgG 抗体效价有很大关系^[10]。胎儿及 HDN 导致的高胆红素血症容易引发核黄疸,治疗不及时将会产生后遗症。早期筛查和诊断 HDN 具有重要临床意义。孕妇抗体效价检测是产前预测 HDN 发生及严重程度的重要实验室依据,HDN 试验为 HDN 的确诊依据,两者抗体效价检测最常用的方法为试管法和微柱凝胶法。微柱凝胶法自 1990 年首次被报道以来^[11],因其操作简便、结果判读客观且可拍照保存,可上机进行大批量检测等优点被广泛应用^[12]。

本研究中孕妇 IgG 抗 A(B)效价 ≥ 1 : 64 者占 47.19%,与叶海辉等^[13]报道的 49.5% 接近,明显高于安莹花等^[14]报道的 28.97%,主要由于本研究与叶海辉等的结果来自微柱凝胶法,而安莹花等的结果来自试管法。采用微柱凝胶法并通过全自动血型分析仪加样和检测具有更好的稳定性和重复性,凝胶卡片拍照判读结果较试管法肉眼判读结果更客观。本研究回顾孕妇 ≥ 1 : 64 抗 A 效价者占 54.04%,明显高于抗 B 效价 ≥ 1 : 64 的 33.29%;患儿 A 型 HDN 阳性检出率为 60.43%,明显高于 B 型患儿的 44.70%,与既往报道的不同血型夫妻组合孕妇抗体效价无差异的结论不一致^[9,15]。不同血型间差异是否由于人群中 A 型和 O 型血人群比例较高及胎儿红细胞上的 A 型抗原决定簇较 B 型多引起,还是由于样本量较小或者临床送检偏倚导致,仍需要后续收集更加大量的数据进行分析。

HDN 试验阳性检出率为 52.87%，患儿日龄呈偏态分布，以出生后 24 h 内最高，且随日龄增加有降低趋势，与研究报道一致^[15]。主要由于胎儿离开母体从缺氧环境进入有氧环境，新生儿体内生理性红细胞溶解立即启动，加上从母体获得的同种血型抗体的病理破坏，致敏红细胞随着时间推移逐渐破坏减少，血浆中的游离抗体也随之消耗减少，因此早期筛查有助于提高 HDN 检测的阳性率。在实际工作中，由于新生儿血容量较少，各项检验采血过多即可能造成患儿贫血^[16]，加之新生儿血管较细，采血较困难，容易出现标本凝集，难免造成重复采血。因此，对于高风险孕妇所生新生儿可在出生时常规采集脐带血进行 HDN 筛查^[17]，不仅可提高溶血 3 项检测阳性率，可早期诊治 HDN，还可以减少患儿因采血过多继发贫血，提高患儿生活质量。

Logistic 回归分析结果发现，HDN 发生相关的影响因素为孕妇 IgG 抗体效价和胎次。进一步分析显示 HDN 阳性检出率随孕妇效价升高而升高，抗体效价为 1 : 128 孕妇所生新生儿 HDN 阳性率高达 73.68%，明显高于抗体效价为 1 : 64 的孕妇 (57.58%)，提示孕妇体内 IgG 抗体效价越高其致敏红细胞的能力越强，其 HDN 发生的可能性越高。二胎患儿 HDN 阳性率为 70.15%，明显高于一胎患儿的 50.30%，提示完整的妊娠分娩较早期流产或主动终止妊娠对刺激母体抗体产生及 HDN 有更大影响。既往研究表明，孕妇体内的 IgG 抗体效价和数量随着孕期增加而增加^[18]，说明妊娠后期抗体效价更值得关注。针对孕中期检测抗体效价 $\geq 1 : 128$ 的孕妇，尤其是有反复流产、引产史及多次分娩史的孕妇，应在孕后期定期复查抗体效价，并监测胎儿健康状况，对于病情严重者应采取服用或注射药物等措施^[19]，符合条件者进行血浆置换或宫内输血^[20]。

综上，二孩政策下，临床应加强高风险孕妇的识别与管理，对有妊娠流产史、分娩史及上一胎发生 HDN 等相关影响因素的 O 型抗体效价 $\geq 1 : 128$ 的孕妇应定期监测抗体效价并评估胎儿宫内健康状况；对高危孕妇分娩新生儿，尽早进行 HDN 筛查，以早期诊断 HDN 并及时治疗。

参考文献

[1] 吴远军, 隗伏冰, 杨勇. 胎儿及新生儿免疫溶血性疾病研究进展[J]. 中华围产医学杂志, 2020, 23(1): 44-51.

[2] 顾松, 王慧欣, 杨彩云, 等. 少见新生儿溶血病七例临床分析[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(5): 369-372.

[3] 杨琳, 焦琴, 崔颖, 等. 23 例 Kidd 血型不规则抗体血清学检测及分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(4): 364-366.

[4] 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.

- [5] DE-HAAS M, THURIK F F, KOELEWIJN J M, et al. Haemolytic disease of the fetus and newborn[J]. Vox Sanguinis, 2015, 109(2): 99-113.
- [6] 石婧瑜, 杜立琛, 兰磊, 等. 基于文献计量法的居民二孩生育意愿研究现状分析[J]. 医学与社会, 2020, 33(5): 63-67.
- [7] 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: 256-257.
- [8] 张泉, 周金安. 6 000 例新生儿溶血病标本血型抗体分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2017, 30(6): 975-976.
- [9] 林朝霞, 董清松. 新生儿 ABO 溶血病的检测与分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(5): 1432-1434.
- [10] LI P, PANG L H, LIANG H F, et al. Maternal IgG anti-A and anti-B titer levels screening in predicting ABO hemolytic disease of the newborn: a Meta-analysis[J]. Fetal Pediatr Pathol, 2015, 34(6): 341-350.
- [11] LAPIERRE Y, RIGAL D, ADAM J, et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions[J]. Transfusion, 1990, 30(2): 109-113.
- [12] 谭兵, 李青, 杨婷, 等. 2 种方法检测孕妇免疫球蛋白 G 抗-A(B)效价的对比研究[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(4): 492-494.
- [13] 叶海辉, 黄洪海, 王晓霖, 等. 孕妇 IgG 效价与不同血型新生儿溶血并发症的相关性分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(5): 1532-1536.
- [14] 安莹花, 刘莹, 刘小艳, 等. O 型血孕妇 IgG 抗 A(B)效价检测与新生儿溶血病相关性分析[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(6): 153-154.
- [15] 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.
- [16] HELLSTRÖM W, FORSELL L, MORSING E, et al. Neonatal clinical blood sampling led to major blood loss and was associated with bronchopulmonary dysplasia[J]. Acta Paediatr, 2020, 109(4): 679-687.
- [17] 范芳. 脐血胆红素联合溶血三项预测新生儿 ABO 溶血病及高胆红素血症的价值[D]. 青岛: 青岛大学, 2016.
- [18] 何凤娥, 刘依霜, 段春艳. 母体 IgG 抗体效应检测对新生儿溶血发生风险的预测价值[J]. 中国血液流变学杂志, 2016, 26(4): 455-457.
- [19] 陈爱萍, 李志飞. 茵栀黄口服液、丹参注射液联合蓝光照治疗新生儿 ABO 溶血性黄疸的临床疗效分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(6): 1587-1589.
- [20] ZWIERS C, VAN-KAMP I, OEPKES D, et al. Intrauterine transfusion and non-invasive treatment options for hemolytic disease of the fetus and newborn- review on current management and outcome[J]. Expert Rev Hematol, 2017, 10(4): 337-344.