

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.02.009

IgG 抗体效价及亚型对母婴 ABO 血型不合新生儿溶血病的诊断价值*

梁振国¹, 范 贞^{2△}, 庞新丰², 原艺睿², 孙宁宁², 刘庆生³, 王建红⁴

1. 河南省驻马店市新蔡县人民医院输血科, 河南驻马店 463500; 河南省焦作市妇幼保健院:

2. 输血科; 3. 新生儿科; 4. 医学遗传与产前诊断科, 河南焦作 454000

摘 要:目的 探讨 IgG 抗体效价及亚型对母婴 ABO 血型不合新生儿溶血病(HDN)的诊断价值。方法 选取 2019 年 1 月至 2020 年 6 月河南省驻马店市新蔡县人民医院收治的 298 例高胆红素血症患儿及其母亲作为研究对象。采用微柱凝胶法检测 298 例患儿及其母亲的 ABO 血型;采用抗人球蛋白法检测新生儿溶血三项、母亲不规则抗体;采用巯基乙醇试验检测患儿母亲的血清 ABO 血型系统 IgG 抗体效价;采用酶联免疫吸附试验检测患儿母亲 ABO 血型系统 IgG 抗体亚型(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)。结果 纳入的 298 例高胆红素血症患儿中,母婴 ABO 血型不合 143 例(47.99%),HDN 患儿 115 例(38.59%)。143 例母婴 ABO 血型不合患儿中,早产儿 HDN 的发生率为 91.26%,足月儿 HDN 的发生率为 52.50%,差异有统计学意义($P < 0.05$);第 2 胎 HDN 的发生率为 91.03%,第 1 胎 HDN 的发生率为 67.69%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。受试者工作特征曲线分析结果显示,IgG 抗体效价从 143 例母婴 ABO 血型不合患儿中诊断出 HDN 的曲线下面积(AUC)为 0.957,灵敏度为 0.832,特异度为 0.964,截断值为 1:64。IgG1、IgG3 联合检测诊断 HDN 的 AUC 为 0.953,灵敏度为 0.903,特异度为 0.957,高于两项单独检测。IgG 抗体低效价组 IgG1 水平低于高效价组,IgG3 水平高于高效价组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 母婴 ABO 血型不合导致的 HDN 发生率高,可通过检测孕产妇 ABO 血型 IgG 抗体效价及亚型来预测 HDN 的发生,指导临床治疗。

关键词: IgG 抗体; 新生儿溶血病; ABO 血型

中图分类号: R722.18

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)02-0175-04

The diagnostic value of IgG antibody titers and subtypes in the diagnosis of hemolytic disease of newborns caused by maternal and infant ABO blood type incompatibility*

LIANG Zhenguo¹, FAN Zhen^{2△}, PANG Xinfeng², YUAN Yirui²,

SUN Ningning², LIU Qingsheng³, WANG Jianhong⁴

1. Department of Blood Transfusion, Xincai County People's Hospital, Zhumadian, Henan

463500, China; 2. Department of Blood Transfusion; 3. Department of Neonatology;

4. Department of Medical Genetics and Prenatal Diagnosis, Maternal and Child Health Hospital of Jiaozuo City, Jiaozuo, Henan 454000, China

Abstract: **Objective** To explore the diagnostic value of IgG antibody titers and subtypes in the diagnosis of hemolytic disease of newborns (HDN) caused by maternal and infant ABO blood type incompatibility. **Methods** A total of 298 children with hyperbilirubinemia and their mothers admitted to Xincai County People's Hospital from January 2019 to June 2020 were selected as the research objects. Used microcolumn gel method to detect the ABO blood type of 298 children and their mothers. Used anti-human globulin method to detect three items of hemolysis in newborns and irregular antibodies in mothers. Used mercaptoethanol test to detect the serum ABO blood type system IgG antibody titer of the mothers. Used enzyme-linked immunosorbent assay to detect the ABO blood type system IgG antibody subtypes (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) of the mothers. **Results** Among the included 298 children with hyperbilirubinemia, 143 cases (47.99%) with maternal and infant ABO blood type incompatibility, 115 cases (38.59%) of children with HDN. Among the 143 cases of maternal and infant ABO blood type incompatibility, the incidence of HDN in preterm infants was 91.26%, and the incidence of HDN in term infants was 52.50%, the difference was statistically significant ($P < 0.05$).

* 基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20191368)。

作者简介: 梁振国,男,副主任技师,主要从事血型免疫学研究。△ 通信作者, E-mail: 2108838488@qq.com。

本文引用格式: 梁振国, 范贞, 庞新丰, 等. IgG 抗体效价及亚型对母婴 ABO 血型不合新生儿溶血病的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(2): 175-178.

The incidence of HDN in the second fetus was 91.03%, and the incidence of HDN in the first fetus was 67.69%, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The results of receiver operating characteristic curve analysis showed that the area under the curve (AUC) for the diagnosis of HDN in 143 cases of maternal and infant ABO blood type incompatibility with IgG antibody titer was 0.957, the sensitivity was 0.832, the specificity was 0.964, and the cut-off value was 1:64. The AUC of the combined detection of IgG1 and IgG3 in the diagnosis of HDN was 0.953, the sensitivity was 0.903, and the specificity was 0.957, which was higher than the two separate detect. The IgG1 level in IgG antibody low titer group was lower than the high titer group, and the IgG3 level was higher than the high titer group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The incidence of HDN caused by maternal and infant ABO blood type incompatibility is high, the occurrence of HDN can be predicted by detecting the titers and subtypes of ABO blood type IgG antibody of pregnant and lying-in women, and clinical treatment can be guided.

Key words: IgG antibody; hemolytic disease of newborns; ABO blood type

母婴 ABO 血型不合新生儿溶血病 (HDN) 是由于输血或者妊娠等外源性红细胞免疫刺激, 机体产生对应的血型抗体引起的^[1]。在首次免疫刺激后, 机体产生的不规则抗体含量较低, 无严重溶血反应, 因此也无异常临床表现, 但二次免疫刺激后不规则抗体含量短时间内明显增加, 从而产生严重溶血反应。高胆红素血症是 HDN 引起机体损伤的重要因素^[2]。血型系统 ABO、Rh、MNS、Lewis、Kell、kidd、Duffy、P 等均可见 HDN, 但由于孕产妇容易受到母婴血液融合因素干扰, 且存在 ABO 血型系统天然抗体^[3], 因此 ABO 血型系统发生 HDN 的比例较其他血型系统高^[4]。目前, 关于母婴 ABO 血型不合引起 HDN 的研究较多, 但 ABO 血型系统 IgG 抗体效价及 IgG 抗体亚型水平与 HDN 的关联鲜有报道, 本研究对此进行了分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2020 年 6 月河南省驻马店市新蔡县人民医院收治的 298 例高胆红素血症患儿及其母亲作为研究对象。纳入标准: 新生儿年龄为 0~28 d; 新生儿血清总胆红素 $\geq 119 \mu\text{mol/L}$; 母亲无家族遗传病史, 心肺功能良好, 肝肾功能良好。排除标准: 新生儿及其母亲合并感染、脓毒血症、遗传病等。研究对象及其家属对本研究知情同意。

1.2 仪器与试剂 微柱凝胶血型检测卡、微柱凝胶抗人球蛋白检测卡、离心机、孵育箱购自长春博迅生物技术有限责任公司; 抗体效价检测采用的巯基乙醇为实验室自配试剂; IgG 分型试剂购自荷兰 Sanquin 公司。全血细胞分析仪 (型号: BC5380)、全自动生化分析仪 (型号: BS800) 购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。

1.3 方法 采用微柱凝胶法检测 298 例患儿及其母亲的 ABO 血型; 采用抗人球蛋白法检测新生儿溶血三项 (改良直接抗人球蛋白试验、抗体释放试验和游离抗体试验)、母亲不规则抗体; 采用巯基乙醇试验检测患儿母亲的血清 ABO 血型系统 IgG 抗体效价。采用酶联免疫吸附试验检测患儿母亲 ABO 血型系统

IgG 抗体亚型 (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4) 水平。将新生儿溶血三项中抗体释放试验阳性作为 HDN 的确诊依据。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料以例数或率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 采用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 进行诊断效能分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同临床特征患儿 HDN 的发生率比较 纳入的 298 例高胆红素血症患儿中, 143 例患儿的母亲血型为 O 型 RhD 阳性, 患儿血型为 A 型或 B 型 RhD 阳性, 不规则抗体筛查为阴性, 母婴 ABO 血型不合 143 例 (47.99%), HDN 患儿 115 例 (38.59%)。对 115 例确诊 HDN 患儿的母亲进行 IgG 抗体效价检测, 其中 IgG 抗体效价 $\leq 1:32$ 有 7 例 (6.09%), $1:64$ 有 10 例 (8.70%), $1:128$ 有 19 例 (16.52%), $1:256$ 有 35 例 (30.43%), $\geq 1:512$ 有 44 例 (38.26%), 不同临床特征 HDN 患儿其母亲 IgG 抗体效价分布情况见表 1。143 例母婴 ABO 血型不合患儿中, 早产儿 HDN 的发生率为 91.26% (94/103), 足月儿 HDN 的发生率为 52.50% (21/40), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 27.49, P < 0.001$); 第 2 胎 HDN 的发生率为 91.03% (71/78), 第 1 胎 HDN 的发生率为 67.69% (44/65), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 12.26, P = 0.001$); 男性患儿 HDN 的发生率为 77.33% (58/75), 女性患儿 HDN 的发生率为 83.82% (57/68), 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.95, P = 0.329$); A 型血患儿 HDN 的发生率为 80.00% (64/80), B 型血患儿 HDN 的发生率为 80.95% (51/63), 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.02, P = 0.887$)。

2.2 IgG 抗体效价对 HDN 的诊断价值 采用 ROC 曲线分析 IgG 抗体效价从 143 例母婴 ABO 血型不合患儿中诊断出 HDN 的效能, 结果显示, 曲线下面积 (AUC) 为 0.957, SE 为 0.016, $P < 0.001$, 95% CI =

0.926~0.988, 灵敏度为 0.832, 特异度为 0.964, 截断值为 1:64。

表 1 不同临床特征 HDN 患儿其母亲 IgG 抗体效价分布情况 (n)

患儿临床特征	≤1:32(n=7)	1:64(n=10)	1:128(n=19)	1:256(n=35)	≥1:512(n=44)	合计
胎龄						
早产	5	7	15	28	39	94
足月	2	3	4	7	5	21
性别						
男	4	4	9	17	24	58
女	3	6	10	18	20	57
血型						
A 型	3	2	9	20	30	64
B 型	4	8	10	15	14	51
胎次						
第 1 胎	3	3	9	15	14	44
第 2 胎	4	7	10	20	30	71

2.3 高效价组和低效价组 IgG 抗体亚型水平比较
根据 IgG 抗体效价对 115 例 HDN 患儿的母亲进行分组, 将 <1:128 作为低效价组 (17 例), ≥1:128 作为高效价组 (98 例)。高效价组与低效价组 IgG2、IgG4 水平比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 低效价组 IgG1 水平低于高效价组, IgG3 水平高于高效价组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 高效价组和低效价组 IgG 抗体亚型水平比较 ($\bar{x} \pm s$, g/L)

组别	n	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
低效价组	17	5.40±0.98	2.36±0.19	0.60±0.15	0.28±0.05
高效价组	98	6.40±0.96	2.41±0.20	0.41±0.17	0.27±0.07
t		3.90	0.38	4.32	0.56
P		<0.001	0.351	<0.001	0.289

2.4 IgG1、IgG3 单独及联合检测诊断 HDN 的价值
IgG1、IgG3 联合检测诊断 HDN 的 AUC 为 0.953, 灵敏度为 0.903, 特异度为 0.957, 高于两项单独检测。见表 3。

表 3 IgG1 和 IgG3 单独及联合检测诊断 HDN 的效能

项目	AUC	SE	95%CI	灵敏度	特异度
IgG1	0.918	0.053	0.833~1.004	0.851	0.901
IgG3	0.873	0.044	0.769~0.978	0.751	0.899
IgG1+IgG3	0.953	0.037	0.881~1.026	0.903	0.957

3 讨 论

母婴血型不合 HDN 是引起新生儿高胆红素血症的常见原因, 以 ABO 血型不合最为常见^[5]。母体中若含有与胎儿红细胞血型抗原相应的 IgG 抗体, 则该 IgG 抗体可通过胎盘屏障进入胎儿血液循环, 导致胎儿同种免疫性溶血^[6]。HDN 可引起贫血、溶血、肝脾

肿大等症状, 间接胆红素还可能通过胎儿或新生儿血脑屏障, 引起胎儿或新生儿不可逆的核黄疸, 甚至死亡^[7-8]。

本研究共收集高胆红素血症患儿 298 例, 确诊 HDN 的有 115 例, 占 38.59%, 发生率较高。A 型血与 B 型血、男性与女性患儿 HDN 的发生率比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。1 项关于母婴 ABO 血型系统 IgG 抗体效价越高, HDN 的发病风险也随着升高^[9]。高效价的 IgG 抗体导致重症溶血时会引起早产、死胎、低体质量儿、新生儿核黄疸等不良妊娠结局, 孕产妇血清 IgG 抗体效价可以用于母婴 ABO 血型不合 HDN 的预测及病情和预后评估, 以指导临床选择有效的预防和治疗措施。采用 ROC 曲线分析 IgG 抗体效价从 143 例母婴 ABO 血型不合患儿中诊断出 HDN 的效能, 结果显示, AUC 为 0.957, 灵敏度为 0.832, 特异度为 0.964, 截断值为 1:64, 提示 IgG 抗体效价对 HDN 有较高的诊断效能。《胎儿新生儿溶血病实验室检测专家共识》^[10]提出将高效价 IgG 抗体亚型检测作为胎儿/新生儿溶血病预测和诊断的一种方法。IgG 抗体 4 种亚型与免疫球蛋白 Fc 受体 (FcR) I、FcR II、FcR III 有不同的结合力, 所介导细胞免疫的能力也不一致^[11]。本研究发现, 高效价组 IgG1 水平高于低效价组 ($P<0.05$); IgG2 和 IgG4 水平在高效价组与低效价组间比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。可能原因是 IgG1 与 FcR I、FcR II 和 FcR III 有更好的结合力, 从而介导细胞免疫, 而 IgG2 和 IgG4 与 FcR I 结合力很弱, 也不能与 FcR III 结合, 所以体内即使有较高水平的 IgG2 和 IgG4, 也不能介导细胞免疫, 破坏红细胞。本研究中, 115 例 HDN 患儿中有 17 例患儿的母亲 IgG 抗体效价 <1:128, 且

低效价组 IgG3 水平高于高效价组 ($P < 0.05$), 提示具有 HDN、不明原因黄疸患儿生育史, 不明原因流产史, 不良妊娠结局史的育龄妇女需要在备孕阶段及妊娠早期进行 IgG3 检测, 避免因只检测血型抗体显示低效价而造成的误判。进一步分析 IgG1、IgG3 单独及联合检测诊断 HDN 的价值, 结果显示, IgG1、IgG3 联合检测诊断 HDN 的 AUC 为 0.953, 灵敏度为 0.903, 特异度为 0.957, 高于两项单独检测, 提示早期检测孕产妇血清 IgG 抗体亚型有助于预测母婴 ABO 血型不合 HDN。

陈伟等^[12]研究发现, 有人工流产史的女性发生母婴 ABO 血型不合 HDN 的概率高于一般女性。本研究发现, 143 例母婴 ABO 血型不合患儿中, 早产儿 HDN 的发生率高于足月儿 ($P < 0.05$)。早产儿肝脏中葡萄糖醛酸转移酶水平低于足月儿有关, 该酶的主要作用是催化葡萄糖醛酸与间接胆红素结合形成直接胆红素, 其水平降低时会导致新生儿体内间接胆红素水平较高, 引发黄疸。此外, 143 例母婴 ABO 血型不合患儿中, 第 2 胎 HDN 的发生率高于第 1 胎 ($P < 0.05$), 由于 ABO 血型系统 IgG 抗体为天然抗体, 可以不经免疫刺激产生, 所以在生育第 1 胎时也有较高的 HDN 发病率^[13], 同样若孕妇第 1 胎生育过 HDN 患儿, 那么第 2 胎发生 HDN 的概率会有所提升。

综上所述, 母婴 ABO 血型不合 HDN 的早期诊断和早期干预非常必要。对于夫妻双方血型不合的 O 型血孕妇, 围产期重点监控 ABO 血型 IgG 抗体效价, 有不良妊娠史、生育 HDN 患儿史的孕妇, IgG 抗体效价无论高低都可以通过 IgG 抗体亚型检测来预测 HDN 的发生情况。此外, 若孕妇 IgG1 或 IgG3 水平异常, 还可以通过胎儿非侵入性血型基因检测确定胎儿血型, 结合超声检测胎儿大脑中动脉峰值流速来预测 HDN 的发病风险, 早期干预。

参考文献

[1] 孔庆铸, 袁春雷, 彭建明, 等. 孕妇血型抗体效价与新生儿

ABO 溶血病的相关分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(1):97-99.

[2] 李江萍, 廖国林, 谢跃文, 等. 孕期血型抗体监测与医学干预对新生儿溶血病发病率的影响[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(4):871-872.

[3] 杨伯家, 邹志强, 鲍海娥, 等. O 型血孕妇 IgG 血型抗体效价与 ABO 新生儿溶血病的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(20):2845-2847.

[4] 王冬梅, 董伟群, 邹映东, 等. 2 580 例 O 型孕妇 IgG 抗 A 抗 B 血型抗体效价检测分析[J]. 昆明医科大学学报, 2014, 35(10):119-121.

[5] 贡中桥, 马红丽. 低效价血型抗体导致 ABO 新生儿溶血病的机制研究[J]. 当代医学, 2012, 18(23):24.

[6] 马印图, 陈莉, 张怡, 等. 稀有血型孕妇 IgG 抗体亚型与新生儿溶血病的相关性分析[J]. 医学研究杂志, 2020, 49(7):100-103.

[7] 赵彩霞, 靳晓燕. ABH 血型物质中和 IgG 抗 A(B) 血型抗体的实验探讨[J]. 医学理论与实践, 2020, 33(1):1-2.

[8] 肖军, 郑飞天, 陈柄浩, 等. O 型孕产妇 IgG 抗体效价与胎儿新生儿溶血病关系的 Meta 分析[J]. 中国输血杂志, 2020, 33(9):925-928.

[9] 陈洋, 王慧茹, 周明, 等. 微柱凝胶技术检测 O 型血孕妇血清 IgG 抗体效价与新生儿溶血病的相关性 Meta 分析[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(11):2646-2648.

[10] 李翠莹, 李小薇. 胎儿新生儿溶血病实验室检测专家共识[J]. 临床输血与检验, 2021, 23(1):20-23.

[11] ARORA S, DODA V, MARIA A, et al. Maternal anti-M induced hemolytic disease of newborn followed by prolonged anemia in newborn twins[J]. Asian J Trans Sci, 2015, 9(1):98.

[12] 陈伟, 李菲, 马筱洁, 等. 223 例新生儿溶血病的回顾性研究[J]. 中国输血杂志, 2020, 33(11):1164-1167.

[13] 范贞, 乔静, 庞新丰, 等. Rh 血型不合的新生儿溶血病与不规则抗体相关性分析[J]. 国际遗传学杂志, 2021, 44(1):20-23.

(收稿日期:2021-03-22 修回日期:2021-09-09)

(上接第 174 页)

[11] 殷明刚, 隆霞, 林爽. 糖化白蛋白、糖化血红蛋白在 2 型糖尿病及并发症预测中的作用[J]. 成都医学院学报, 2018, 13(2):189-192.

[12] 卢亚男, 孙志新, 刘丽俊, 等. GA 及 GA/GHb 比值在诊断糖尿病肾病中的临床价值[J]. 重庆医学, 2018, 47(29):3788-3791.

[13] 黄晓雯, 张雪, 叶红波. 糖化血红蛋白、尿微量白蛋白、空腹血糖与糖尿病肾病的关系[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(1):88-90.

[14] 曹雪峰, 李欢, 李艳华, 等. 探讨脑钠肽、同型半胱氨酸、胱

抑素 C 联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(10):68-70.

[15] 吴家斌, 洪富源, 杨国凯, 等. 血清 CysC、RBP 和尿 TRF、mAlb 检测在糖尿病肾病早期诊断中的意义[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(8):1153-1156.

[16] MAYER G, HEERSPIK H J, ASCHAUER C, et al. Systems biology-derived biomarkers to predict progression of renal function decline in type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 2017, 40(3):391-397.

(收稿日期:2021-04-06 修回日期:2021-09-29)