

基于孕妇IgG抗体效价对母婴血型不合所引起的新生儿溶血病早期干预研究

龚丹凤

新生儿溶血病是指由于母婴血型不合引起的胎儿或新生儿同族免疫性溶血性疾病,发病机制为母婴血型不合引起的抗原抗体反应^[1]。对于新出生的孩子来说,其溶血病的严重程度多于孕母怀孕时的溶血程度^[2]。本次研究收集本院2014~2018年新出生的孩子与母亲的血型不合的病例,分析相关诊断资料,旨在寻找简单有效的早期预测干预重症ABO溶血病的新标志物,为早期防治新生儿ABO溶血病提供理论依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2014年1月至2018年8月期间淳安县第一人民医院来进行产前诊断的O型血的怀孕女性1489例,年龄18~45岁,平均年龄(28.52±4.34)岁;孕周15~37周。纳入标准:怀孕女性为O型的Rh(D)阳性血,其丈夫一般为A、B或AB型血,在孕妇怀孕期间进行了不规则的抗体筛查试验,结果呈阴性;并剔除有过献血史;患有肝炎、吸烟或慢性疾病而导致的溶血性贫血或其他原因导致的血液系统疾病的怀孕女性。

1.2 ABO溶血病的诊断标准^[3] ①母亲与其所生孩子出现ABO血型不合;②改良的Coombs试验和抗体释放试验检测后有一项为阳性;③新生儿黄疸症状过早出现,情况严重者在1d内出现,症状较轻的新生儿也会2~3d出现,且症状会随着时间越发加重,或者是有贫血、溶血等证据。

1.3 方法

1.3.1 MG法检测孕妇IgG抗A(B)抗体效价 首先将孕妇血液标本用离心机以3 000 r/min离心1 min,分离血浆。用移液器吸取血浆20 ml移入新的试管,并用移液器添加2-巯基乙醇(由长春博

讯生物技术有限责任公司生产)20 ml,使其在试管中按1:1的比例配成溶液。后用37℃电热恒温水槽孵育30~60 min,破坏孕妇血浆中的IgM抗体,配制成0.5%~0.8%的悬液。然后取6支试管,编号①②③④⑤⑥,其中①管加入350 μl 0.9%氯化钠注射液,剩余②③④⑤⑥管分别加入200 μl 0.9%氯化钠注射液。上述已破坏的IgM的孕妇血浆用移液器吸取50 μl悬液加入①试管,吹打混匀,移液器吸取200 μl加入②试管,吹打混匀,再吸取200 μl加入③试管,依次类推,吹打混匀直到第⑥试管,对倍稀释结束后,使①~⑥管效价为1:16、1:32、1:64、1:128、1:256、1:512。把抗人球蛋白卡6个孔分别做好标记,从试管⑥~①管(按从低浓度到高浓度)按序依次吸入对应的孔中。把卡置于与人体体温相同(37℃)的免疫微柱孵育器(由安徽中科中佳公司生产)孵育15 min。把孵育后的卡放入血型血清学离心机(由湖南湘仪实验室仪器开发有限公司生产)中离心5 min(先以900 r/min离心2 min,然后以1 500 r/min离心3 min),最后判读结果。

1.3.2 MG法检测新生儿溶血三项 将患儿标本用离心机以3 000 r/min离心1 min,分离血浆。用移液器吸取全部血浆移入一个干净试管中,将剩余压积红细胞用0.9%氯化钠注射液洗涤,洗涤6次。然后利用移液器吸取已洗过的压积红细胞至干净试管,配制成0.5%~0.8%的悬液。向悬液中加入等体积的0.9%氯化钠注射液,混匀并在37℃恒温水浴锅中温浴,保持9 min,后取出试管用离心机在3 000 r/min保温离心3 min,使放散液与红细胞分离。移液器吸取上述悬液加入卡1(指新生儿ABO、Rh血型检验卡),每孔各50 μl。用移液器吸取上述试管中的血浆加入卡2(新生儿溶血病不完全抗体检测卡)①②③孔,每孔各50 μl,然后吸取上述溶液的

上层放散液加入卡2④⑤⑥孔,每孔各50 μ l。后将ABO血型反定型人红细胞配制成0.5%~0.8%的悬液,并吸取A型加入至卡2①④孔,B型悬液加入卡2②⑤孔,O型悬液加入卡2③⑥孔,每孔各50 μ l。加液完成后将卡2置于37 $^{\circ}$ C的免疫微柱孵育器孵育15 min。最后将卡1与卡2置于离心机中离心5 min(先以900 r/min离心2 min,然后以1 500 r/min离心3 min),根据微柱凝集卡^[4]对结果判读。

1.4 检测指标 孕妇按照IgG抗A(B)抗体效价分为<1:32、1:32、1:64、1:128、1:256、1:512、>1:512七个等级,分析其IgG抗A(B)不同等级的抗体效价与ABO溶血病发生率之间的关系,以及与年龄、孕次、产次的关系;对于新出生的婴儿,比较在各抗体效价下ABO溶血病患儿溶血指标与母亲产次、患儿网织红细胞(reticulocyte, Ret)%及血红蛋白(hemoglobin, Hb)水平的相关性。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件。采用kendall相关分析、Spearman相关性分析指标与效价的相关性。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表2 孕妇不同年龄、孕次、产次与抗体效价的关系/例

指标		<1:32	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	>1:512
年龄	≤ 30 岁	183	210	219	189	123	92	55
	>30岁	58	64	87	73	64	53	21
孕次	1~2次	178	192	191	169	113	76	40
	>2次	66	77	117	93	72	69	36
产次	1次	164	181	186	165	107	62	28
	≥ 2 次	80	92	119	97	78	83	47

由表2可见,孕妇年龄(28.37 ± 4.57)岁、孕次(2.31 ± 1.37)次和产次(1.42 ± 0.58)次与其抗体效价呈正相关(r 分别=0.81、0.12、0.11, P 均<0.05)。

2.3 ABO溶血病患儿抗体效价与孕妇产次、患儿Ret%及Hb水平相关性见表3

表3 ABO溶血病患儿抗体效价与孕妇产次、患儿Ret%及Hb水平相关性分析

抗体效价	孕妇产次/次	患儿Ret%	患儿Hb水平/g/L
<1:32	1	1.87	171.00
1:32	1.01	1.45	168.50
1:64	1.43	2.68	169.25
1:128	1.27	3.42	164.10
1:256	1.45	4.37	159.92
1:512	1.43	4.29	160.11
>1:512	1.67	5.23	165.59

2 结果

2.1 1 489例孕妇所生产的婴儿中有109例确认为ABO溶血病,其发病率为7.32%,进一步对7个等级的效价中ABO溶血病的发生率比较见表1。

表1 O型孕妇IgG抗A(B)抗体效价分布与ABO溶血病发生率比较

抗体效价分布	检测人数	ABO溶血病发生率/例(%)
<1:32	238	4(1.68)
1:32	271	6(2.21)
1:64	305	14(4.59)
1:128	261	17(6.51)
1:256	184	15(8.15)
1:512	149	26(17.45)
>1:512	81	27(33.33)

由表1可见,发现随抗体效价的升高,ABO溶血病发生率明显增加($Z=-5.16$, $P<0.05$)。

2.2 孕妇不同年龄、孕次、产次与抗体效价的关系见表2

由表3可见,ABO溶血病患儿抗体效价与产次、Ret%呈正相关,与Hb呈负相关(r 分别=0.29、0.38、-0.26, P 均<0.05)。

3 讨论

对于新出生的孩子来讲,ABO溶血病是由于其母亲为O型血,然后产生了抗A型或抗B型的免疫抗体(IgG抗体),并且在母体孕期可途径脐带与胎儿的血液循环相联系,进而会在胎儿体内有红细胞凝集溶解这一现象发生^[5,6]。ABO溶血病病症一般出现于女性怀孕的第一胎,并且其发生率高达50%^[7]。有研究表明孕妇为第二次或多次怀孕时,抗体效价IgG抗A(B)越高,ABO溶血病的危险性就越高^[8]。本次研究结果显示,随年龄、孕次与产次增加,怀孕女性的抗体效价随之升高。可见随着胎儿红细胞进入母体的次数越多,将会刺激孕妇产生相应的抗体量不断增加,而对于胎儿来讲A、B型物质

中和IgG抗体的量十分有限,因此最终导致了抗体效价IgG抗A(B)在不断增高。这与Lozar-Krivec等^[7]的研究结果相一致。

在现实生活中,孕母是A型或B型而其孩子是B或A型所导致的新生儿溶血病的现象不足5%^[9]。有研究表明,早期的新生儿血红蛋白<145 g/L时可诊断为贫血,并且随着胎儿的红细胞增高(>6%)或新出生的孩子有溶血性黄疸病症出现时,骨髓造血系统应急性增生,活跃性明显增加,最终导致了外周血中的红细胞数量明显增多^[10,11]。通过本次研究结果发现在109例ABO溶血病新出生的孩子中,其怀孕女性的抗体效价与产次、Ret%呈正相关,与Hb呈负相关(P 均<0.05),并且随着生母的怀孕次数越多,抗体效价越高,所生的孩子贫血症状越发严重。这与Kumar等^[12]的研究结果相一致。

综上所述,产前对孕妇IgG抗A(B)抗体效价的检测对预测ABO溶血病发生有一定的价值,可作为早期筛查的指标,对临床上的及时干预有一定的指导意义。同时本次研究过程中也存在一些不足,包括对象仅局限于本院、未遵循样本的随机性、选取的是近五年的患者等均影响实验的结果及可靠性。因此在后续的研究中应进一步扩大样本容量及增加样本的随机性,使得研究结果更具价值。

参考文献

- 1 Cao H, Wu R, Han M, et al. Oral administration of Chinese herbal medicine during gestation period for preventing hemolytic disease of the newborn due to ABO incompatibility: A systematic review of randomized controlled trials[J]. PloS One, 2017, 12(7): e0180746.
- 2 Kumawat V, Kulkarni K, Goyal M, et al. ABO hemolytic disease of fetus and newborn; still a diagnostic dilemma: a case report[J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2018, 34(1): 183-184.
- 3 Kattimani VS, Ushakiran CB. Hemolytic disease of the new-born due to ABO incompatibility[J]. Int J Contemp Pediatr, 2018, 5(2): 605-611.
- 4 Chapuy B, Roemer MGM, Stewart C, et al. Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas[J]. Blood, 2016, 127(7): 869-881.
- 5 Firouzi M, Yazdanmehr R, Eliasy H, et al. The prevalence of the ABO hemolytic disease of the newborn and its complications in an Iranian population[J]. Iran J Pediatr Hematol Oncol, 2018, 8(1): 37-47.
- 6 Yogev-Lifshitz M, Leibovitch L, Schushan-Eisen I, et al. Indication of mild hemolytic reaction among preterm infants with ABO incompatibility[J]. Pediatr Blood Cancer, 2016, 63(6): 1050-1053.
- 7 Lozar-Krivec J, Bratanic B, Paro-Panjan D. The role of carboxyhemoglobin measured with CO-oximetry in the detection of hemolysis in newborns with ABO alloimmunization[J]. J Mat Fetal Neonatal Med, 2016, 29(3): 452-456.
- 8 Zwiers C, Scheffer-Rath MEA, Lopriore E, et al. Immunoglobulin for alloimmune hemolytic disease in neonates [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2018, 2(3): 143-156.
- 9 Jones KDJ, Grossman SE, Kumaranayakam D, et al. Umbilical cord bilirubin as a predictor of neonatal jaundice: a retrospective cohort study[J]. BMC pediatrics, 2017, 17(1): 186.
- 10 Lieberman L, Spradbrow J, Keir A, et al. Use of intravenous immunoglobulin in neonates at a tertiary academic hospital: a retrospective 11-year study[J]. Transfus, 2016, 56(11): 2704-2711.
- 11 Honda M, Sugawara Y, Kadohisa M, et al. Long-term outcomes of ABO-incompatible pediatric living donor liver transplantation[J]. Transplantation, 2018, 102(10): 1702.
- 12 Kumar R, Saini N, Kaur P, et al. Severe ABO hemolytic disease of newborn with high maternal antibody titres in a direct antiglobulin test negative neonate[J]. Indian J Pediatr, 2016, 83(7): 740-741.

(收稿日期 2019-01-31)

(本文编辑 蔡华波)