

新生儿溶血症低效价不规则抗体检出方法探讨

李 亭¹, 李 萌¹, 王晓卫¹, 冯 丽¹, 杨海波²

(¹南京医科大学附属儿童医院检验科,²急诊科,江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:探讨提高新生儿溶血症低效价不规则抗体检出率的方法。方法:分别采用近效期抗筛细胞、远效期抗筛细胞、新配抗筛细胞悬液及加大血浆量的方法分别对患儿低效价抗体进行筛查试验。结果:选用配制多日的近效期抗筛细胞悬液,实验结果显示阴性;洗涤抗筛细胞并重新配置抗筛细胞悬液及选用远效期抗筛细胞悬液,显示不同程度阳性;适当加大血浆量,显示不同程度阳性。讨论:对于低效价不规则抗体的检出,应采用新配置的远效期抗筛细胞悬液进行试验,同时可以加大血浆加入量以提高检出率。

[关键词] 不规则抗体筛查;新生儿溶血症;抗 cE 抗体

[中图分类号] R725.5

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2017)12-1703-02

doi: 10.7655/NYDXBNS20171247

母婴血型不合会引起新生儿溶血症(hemolytic disease of the newborn, HDN), 主要由 ABO 血型及 Rh 血型不合引起。抗体筛查实验能够检出新生儿体内除 ABO 血型系统外的常见血型抗体。但随着母体抗体在新生儿体内的效价降低, 容易造成漏检, 给临床输血造成安全隐患。为进一步确保输血安全, 本研究对本院 1 例常规抗体筛查实验阴性、但交叉配血主次侧均阳性的标本进行提高抗体检出率方法的探讨, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

抗人球蛋白卡(批号 50531.09.03, 伯乐公司, 美国)、抗筛细胞(批号 20170107, 20170117, 上海血液中心)、血型鉴定及不规则抗体筛查质控品(批号 20170108, 北京金豪公司)、专用恒温孵育箱及专用离心机(伯乐公司, 美国)

1.2 方法

不规则抗体筛查及交叉配血室内质控: 严格按照操作说明书进行室内质控试验, 结果无误后, 进行以下各项试验。

1.2.1 患儿不规则抗体筛查

近效期抗筛细胞: 使用已启用多日的近效期抗筛细胞(批号 20170107)进行试验。抗人球蛋白卡微柱中分别加入 1% 抗体筛查细胞 I、II、III 号各 50 μ L, 及待检血浆 25 μ L。专用恒温孵育箱孵育 15 min, 专用离心机(离心力 85 g)离心 10 min, 观察结果。洗涤后抗筛细胞: 将近效期抗筛细胞用生理盐水洗涤 3 次,

配置 1% 悬液。按上述方法进行抗体筛查检测。增加血浆量: 洗涤后抗筛细胞按常规方法进行 3 组抗体筛查实验, 每组待检血浆加入量分别为: 25、50、75 μ L。远效期抗筛细胞: 取用远效期抗筛细胞(批号 20170117)按常规方法进行抗体筛查试验。

1.2.2 患儿母亲不规则抗体筛查

使用已启用多日的近效期抗筛细胞。按上述常规方法进行抗体筛查试验。

1.2.3 交叉配血

标本送检至南京市红十字血液中心, 严格按照操作说明进行交叉配血试验。

2 结果

2.1 近效期抗筛细胞

采用已配置多日的近效期抗筛细胞悬液分别进行患儿及母亲抗体筛查, 结果显示: 患儿 I、II、III 号细胞阴性。母亲 I 号细胞: 3+; II 号细胞: 0; III 号细胞: 3+。

2.2 洗涤后抗筛细胞

将抗筛细胞用生理盐水洗涤 3 次后, 重新配置悬液后进行患儿抗体筛查实验, 结果显示: I 号细胞: 1+; II、III 号细胞: 0。

2.3 增加血浆量

用洗涤并重新配置的抗筛细胞悬液进行患儿抗体筛查, 每组患儿血浆加入量分别为 25、50、75 μ L, 结果显示如表 1。

2.4 远效期抗筛细胞

选用新配置的远效期抗筛细胞悬液进行患儿抗

表 1 不同血浆加入量抗体筛查结果

血浆加入量(μL)	抗筛细胞		
	I 号	II 号	III 号
25	1+	0	0
50	1+	0	±
75	2+	0	1+

体筛查实验,结果显示:I 号细胞:1+;II 号细胞:0;III 号细胞:1+。

2.5 抗体测定

患儿血型为 AB 型 RhDCcEe, 母亲红细胞血型为 B 型 RhCCee, 产妇及患儿血清中存在抗 cE 抗体。

2.6 交叉配血

主次侧均显示 1+。

3 讨论

目前输血科均开展了抗体筛查实验,目的是筛查出除抗 A 和抗 B 之外,其他红细胞血型抗体,因为有临床意义的红细胞同种抗体与溶血性输血反应有关。每套筛选红细胞的表型或抗原谱已经被详细筛选过,筛选细胞要求尽可能包括更多的抗原。

HDN 是指母婴血型不合引起的溶血性疾病,其中比较常见的是 ABO 和 Rh 血型系统的 HDN,其他系统的 HDN 发生较少。Rh-HDN 一旦发病则比较严重。DCcEe 是主要的 Rh 血型系统抗原,东方人中有 C、D、e 抗原者占 70%,有 C、D、E 抗原者占 21%,故临床上常出现 RhDCcEe 抗原的免疫反应,大多数为 D 阳性者产生的免疫性抗体^[1]。然而胎儿 Rh 溶血病也可发生于母亲为 Rh(D)阳性的婴儿,这主要是由于 C、c、E、e 抗原产生免疫反应,致新生儿溶血病。其中,抗 E 抗体是目前临床最常见最有临床意义的血型不规则抗体,几乎都出现在有输血史或妊娠史的患者中^[2]。根据抗体筛选细胞抗原的表达原则,抗筛试验应能检出抗 D、C、c、E、e 等抗体。近年来,采用微柱凝胶法进行抗体筛查已被广泛使用^[3],但是近期发现抗 cE 抗体引起的交叉配血不合,而常规微柱凝胶法抗筛试验阴性的样本。为此,进行了低效价不规则抗体检测方法学的探讨。

本研究采用配置多日的近效期抗筛细胞悬液对患儿及其母亲进行不规则抗体筛查,母亲结果显示阳性,根据筛选细胞格局表,其体内可能存在抗 cE\Leb 抗体(因本实验室没有谱细胞,故无法进行抗体鉴定),但是未能有效检出患儿体内不规则抗

体。洗涤抗筛细胞后重新配置悬液进行患儿抗体筛查,当加入不同量的血浆时,结果呈现不同程度的阳性。抗原抗体反应时,一般血清与红细胞(2%~5%)的比例为 2:1。当抗体效价较低时,可通过增加血浆量及抗体量来加强反应^[4]。本试验也证实,当抗体量增加到一定程度,结果显示阳性,表明适当增加抗体量可以提高抗体检出率。但是由于该患者血量较少,无法观察继续增加血浆量对抗原抗体反应强度的影响。最后采用新配置的远效期红细胞悬液再次进行患儿抗体筛查,结果阳性,且与母亲实验结果一致:体内可能存在抗 cE\Leb 抗体,此结果也与南京市红十字血液中心检测结果相符。红细胞悬液久置易造成红细胞变形甚至溶解,红细胞表面抗原表达受影响,导致抗原抗体反应强度减弱。该患儿体内不规则抗体来自母体,但抗体效价降低,如采用久置红细胞悬液进行试验,容易漏检;而母体内抗体效价较高,则容易检出,进一步证实该患者体内不规则抗体来自母体。对该患儿进行交叉配血试验,因为供血者血液较为新鲜,提高了低效价抗体检出率,所以主侧凝集;患者直接抗人球蛋白试验阳性,且凝集程度不低于次侧凝集,所以考虑次侧凝集是由于患者直抗阳性造成的。

追溯病史,该 HPN 患儿出生 15 d 时进行换血治疗,43 d 时因贫血再次就诊。本例中产妇血型为 B 型 RhDCcEe,患儿血型为 AB 型 RhDCcEe,产妇体内含有高效价的抗 cE 抗体,并且通过胎盘到患儿体内,造成患儿 HDN。通常母体抗体在患儿体内大约存在 13 周左右,并且随着时间的延长,抗体效价逐渐下降,但依旧能够引起新生儿溶血。本例患儿 43 d,体内抗 cE 抗体效价明显降低,采用实验室常规方法容易漏检。

[参考文献]

- [1] 黄颖,林甲进,施顺秋,等. Rh 新生儿溶血病 21 例分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(10): 94-95
- [2] 肖文海,朱红梅. 临床输血患者红细胞血型不规则抗体分析[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(7): 686-687
- [3] 陈月宽,颜利江,付怡欣. 用微柱凝胶法快速检出 IgG 抗-E 抗体引起新生儿溶血病 1 例 [J]. 检验医学与临床, 2017, 14(18): 2813-2814
- [4] 兰炯采, 俞中桥, 陈静娴. 输血免疫血液学实验技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 83-84

[收稿日期] 2017-03-30