

3 种微柱凝胶抗人球蛋白卡 在检测孕妇 IgG 血型抗体效价中的应用比较

管 政 张 军 陈 丽 郭 博

[摘要]目的:比较 BioXun、DiaMed 和 BioVue 3 种抗人球蛋白检测卡在检测孕妇 IgG 血型抗体效价中的差异,并分别计算它们的医学决定值。方法:用 3 种检测卡和试管法平行检测 137 例与丈夫 ABO 血型不合的 O 型孕妇血清 IgG 抗-A(B)效价水平。结果:BioXun、DiaMed 和 BioVue 卡测得的 IgG 抗-A(B)的平均效价分别为 56.36(30.76)、111.94(59.02)、104.47(58.08),试管法为 28.31(16.41),它们与试管法的差异均有统计学意义($P < 0.01$),并均呈正相关关系($r = 0.950$ 、 0.938 ; $r = 0.913$ 、 0.901 ; $r = 0.873$ 、 0.883)。DiaMed 卡与 BioVue 卡测得的结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。BioXun 卡与 DiaMed 卡或与 BioVue 卡之间差异均有统计学意义($P < 0.01$),但其结果与 DiaMed 卡和 BioVue 卡的结果均呈高度正相关关系($r = 0.960$ 、 0.917 ; $r = 0.948$ 、 0.940)。通过回归方程计算 BioXun、DiaMed 和 BioVue 卡检测孕妇 IgG 抗-A(B)效价时的医学决定值分别为 122(122)、267(228)、215(229)。结论:3 种抗人球蛋白检测卡较之试管法具有高灵敏度,都需重新界定医学决定值。国产 BioXun 卡的灵敏度低于进口 DiaMed 和 BioVue 卡,但其试验结果与进口检测卡试验结果呈高度正相关。进口 DiaMed 和 BioVue 抗人球蛋白检测卡具有相同程度的灵敏度。

[关键词] 微柱凝胶抗人球蛋白试验; 试管法抗人球蛋白试验; IgG 抗体效价

[中国图书资料分类号] R 446.61

[文献标识码] A

Application study of three kinds of microcolumn gel Coombs' test cards in detecting titration of IgG antibody against blood group in pregnant women

GUAN Zheng ZHANG Jun CHEN Li GUO Bo

(Department of Transfusion, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004, China)

[Abstract] Objective: To compare the performance of three kinds of microcolumn gel Coombs' test cards (BioXun, DiaMed and BioVue) in detecting titration of IgG antibody against blood group in pregnant women with blood type O and calculate their critical titres respectively. **Methods:** Parallel tests using three kinds of microcolumn gel Coombs' test cards and tube Coombs' test were carried out for detecting titration of IgG anti-A or IgG anti-B in 137 pregnant women whose blood types were O and incompatible to that of their husbands. **Results:** The mean titres of IgG anti-A(B) determined by BioXun, DiaMed and BioVue cards were 56.36(30.76), 111.94(59.02) and 104.47(58.08) respectively and that determined by test tube Coombs' test was 28.31(16.41). The differences between mean titres which obtained using three kinds of Coombs' cards and which by test tube Coombs' test were significant ($P < 0.01$). The results of three kinds of Coombs' tests were positively correlated with the results of tube Coombs' test ($r = 0.950$ 、 0.938 ; $r = 0.913$ 、 0.901 ; $r = 0.873$ 、 0.883). The results between DiaMed cards and BioVue cards did not show any significant difference ($P > 0.05$). The differences between BioXun cards and DiaMed or BioVue cards were significant ($P < 0.01$), but the results of BioXun cards were highly correlated with each of them ($r = 0.960$ 、 0.917 ; $r = 0.948$ 、 0.940). Based on regression equations, the critical titres for IgG antibody against blood group IgG anti-A or IgG anti-B in pregnant women using BioXun, DiaMed and BioVue cards were 122(122), 267(228) and 215(229), respectively. **Conclusions:** The three kinds of Coombs' cards are all hypersensitive, need to be redefined their critical titres. The sensitivity of domestic BioXun cards is lower than imported DiaMed or BioVue cards, but it has highly positive correlation with imported cards. The sensitivity of DiaMed and BioVue cards are at the same degree.

[Key words] microcolumn gel Coombs test; test tube Coombs test; titration of IgG antibody

胎儿及新生儿溶血病(hemolytic disease of the fetus and the newborn, HDN)是指由母体内存在的与胎儿红细胞不合的 IgG 型血型抗体而引起的新生儿

或胎儿的免疫性溶血性疾病。检测孕妇体内的 IgG 型抗-A 和抗-B 效价可以帮助医生预测发生 ABO 血型系统 HDN 的可能性^[1-2]。传统的检测方法为试管法抗人球蛋白试验(简称试管法),但因操作繁琐,重复性差,正逐渐被微柱凝胶抗人球蛋白试验所代替。不同的微柱凝胶抗人球蛋白检测卡由于生产厂家的制作工艺和原理的不同,操作步骤相异,可能

[收稿日期] 2011-04-19

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 输血科 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 管 政(1971-),男,硕士,主管技师。

导致试验结果存在差异。本研究选取具有代表性的 BioXun、DiaMed 和 BioVue 3 种抗人球蛋白检测卡并配合试管法对我院 137 例孕妇血清进行 IgG 抗-A (B) 效价平行对比试验,并建立相应医学决定值,现作报道。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2010 年 9 月至 2011 年 4 月在我院进行产前检查的 137 例孕妇,血型为 O 型 RhD 阴性,配偶血型均为非 O 型,年龄 20~53 岁。

1.2 仪器和试剂 (1) 试管法:5% 标准 A、B 型红细胞悬液、抗人球蛋白试剂(上海血液医药有限公司),普通水浴箱(上海新苗医疗)及离心机(贝索)。(2) 凝胶抗人球蛋白试验:0.8% 标准 A、B 型红细胞悬液(上海血液医药),BioXun 抗人球蛋白检测卡及其专用孵育器及专用离心机(长春博研医疗仪器有限公司);DiaMed 抗人球蛋白检测卡及其专用孵育器及专用离心机(瑞士 DiaMed 公司);BioVue 抗人球蛋白检测卡及其专用孵育器及专用离心机(强生公司)。(3) 巯基乙醇(长春博迅生物技术公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 标本处理 吸取 500 μ l 孕妇血清与 5 00 μ l 0.2 mol/L 2-Me 并先后加入同一试管中,置水浴箱 37 $^{\circ}$ C 水浴 30 min。用盐水法确认血清中的 IgM 已被破坏,然后用生理盐水依次进行 1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256、1:512、1:1 024、1:2 048 倍比稀释。

1.3.2 试管法 取上述处理的共 10 个稀释度血清各 100 μ l,参照《全国临床检验操作规程》^[3]进行试验。结果以显微镜下观察到“+”凝集的最高稀释度的倒数为抗体效价。

1.3.3 微柱凝胶抗人球蛋白检测卡法 分别标记 BioXun、DiaMed 和 BioVue 3 种抗人球蛋白检测卡,在微孔内分别加入标准 0.8% A 型和 B 型红细胞悬液各 50 μ l,再依次加入上述处理的稀释血清 50 μ l (BioVue 卡中加入 40 μ l),分别置各自专用孵育器内 37 $^{\circ}$ C 温育 15 min (BioVue 卡可为 10 min),再置专用离心机离心。BioXun 卡和 BioVue 卡离心 5 min, DiaMed 卡离心 10 min。结果以出现“+”凝集的最高稀释度的倒数为抗体效价。

1.4 统计学方法 对 3 种抗人球蛋白卡和试管法的检测结果作对数转换后分别计算效价的几何均值和标准差并作方差分析和 q 检验。同时作直线相关与直线回归分析并建立回归方程,计算每种抗人球

蛋白检测卡的医学决定值。

2 结果

2.1 3 种抗人球蛋白检测卡与试管法测定结果 检测卡操作简便,省时 (BioVue 卡 < BioXun 卡 < DiaMed 卡) 结果也较试管法清晰,其中 DiaMed 卡结果容易判断,而 BioVue 卡与 BioXun 卡的结果判断难易程度相当。BioXun、DiaMed 和 BioVue 卡测得的 IgG 型抗-A (B) 平均效价分别为 56.36 (30.76)、111.94 (59.02)、104.47 (58.08),试管法为 28.31 (16.41)。

2.2 3 种抗人球蛋白检测卡和试管法之间的结果分析 DiaMed 卡与 BioVue 卡测得的平均效价之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。BioXun 卡测得的 IgG 类抗-A (B) 平均效价为 DiaMed 卡与 BioVue 卡的 0.50 (0.52) 和 0.54 (0.53) 倍,两者差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。BioXun 卡均与 DiaMed 卡和 BioVue 卡呈高度正相关关系 ($r = 0.960, 0.917; r = 0.948, 0.940$)。BioXun、DiaMed 和 BioVue 卡测得的 IgG 型抗-A (B) 平均效价分别为试管法的 1.99 (1.87) 倍、3.95 (3.60) 倍和 3.69 (3.54) 倍,其差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),并均存在正相关关系 ($r = 0.950, 0.938; r = 0.913, 0.901; r = 0.873, 0.883$)。依次建立回归方程 ($\hat{Y} = 0.948X + 0.375, \hat{Y} = 1.014X + 0.256; \hat{Y} = 0.870X + 0.784, \hat{Y} = 0.994X + 0.562; \hat{Y} = 0.886X + 0.732, \hat{Y} = 1.005X + 0.544$),计算 BioXun、DiaMed 和 BioVue 卡用于检测孕妇 IgG 型抗-A (B) 效价时的医学决定值分别为 122 (122)、267 (228)、215 (229) (见表 1)。

表 1 3 种微柱凝胶抗人球蛋白检测卡及试管法检测孕妇 IgG 抗-A (B) 抗体效价比较 ($n_i = 137; \bar{x}_{igx} \pm s_{igx}$)

检测方法	IgG 抗-A	IgG 抗-B
试管法	1.452 \pm 0.567	1.215 \pm 0.515
BioXun 卡	1.751 \pm 0.566 **	1.488 \pm 0.557 **
DiaMed 卡	2.049 \pm 0.540 $\Delta\Delta$ **	1.771 \pm 0.569 $\Delta\Delta$ **
BioVue 卡	2.019 \pm 0.575 $\Delta\Delta$ **	1.764 \pm 0.587 $\Delta\Delta$ **
F	32.26	30.89
P	<0.01	<0.01
MS _{组内}	0.316	0.311

q 检验:与试管法比较 * $P < 0.01$;与 BioXun 比较 $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

HDN 是由于与母亲血型不合的胎儿红细胞进

入母体并刺激母体产生 IgG 类免疫抗体所致,所引起的黄疸可能导致患儿不可逆的损伤,严重时甚至危及生命。目前已发现有多种红细胞抗原可引起 HDN^[4],在我国主要是由 ABO 血型不合引起的 HDN 为主。研究^[2-5]表明,母体 IgG 型抗-A(B)效价水平的高低与胎儿 HDN 的发病率和症状轻重具有一定的相关性,即如果母体内 IgG 型抗-A(B)效价随着孕期的增长而增高,则提示胎儿发生 HDN 的可能性增大,以及患病后的溶血程度增加。因此,孕期检测母体的 IgG 型抗-A(B)效价水平对于预测 HDN 发生及胎儿的可能受害程度具有重要的意义。

试管法是检测孕妇血清 IgG 抗-A(B)效价水平最经典、最可靠的方法,但该方法同时具有操作复杂繁琐、试验时间较长、结果难以准确判断、不易自动化等缺点。微柱凝胶技术是一种新型的免疫学技术^[6],其利用微柱中凝胶的微孔过滤作用来区分游离红细胞和凝集细胞,是免疫学技术和凝胶分子筛技术的结合。微柱凝胶技术用于不完全抗体的检测,具有操作简便、节省时间、易判读、试验误差少、易于自动化、灵敏度高等优点^[7-9],具备较高的临床应用价值。

随着微柱凝胶技术被广泛应用于临床实验室中,它已经成为检测红细胞抗原或血型抗体的常规血清学方法。目前国内应用的不完全抗体检测卡主要采用微柱凝胶技术的进口 DiaMed、Diana 检测卡和国产 BioXun 检测卡,以及采用玻璃珠柱凝集技术的进口 BioVue 检测卡。研究^[10-12]表明,它们在检测孕妇的 IgG 抗-A(B)效价时都比试管法敏感。

本研究采用微柱凝胶技术的 DiaMed、国产 BioXun 检测卡和采用玻璃珠柱凝集技术的 BioVue 检测卡以及试管法进行平行对比试验。结果显示,3 种抗人球蛋白卡的结果几何均值都显著高于试管法,提示它们的灵敏度都高于试管法。高灵敏度可以提高红细胞抗原或血型抗体的检出率^[9],但是在诊断 HDN 时其高灵敏度并不意味着高诊断率。以试管法的效价 64 作为诊断标准,本研究中 BioXun、DiaMed 和 BioVue 3 种抗人球蛋白检测卡的阳性率分别为 48.91% (38.69%)、80.29% (54.01%)、72.99% (51.09%) 远大于试管法的 28.47% (20.44%)。如果微柱凝胶技术采用与试管法同样的诊断标准,就会带来误诊,因此必须重新界定医学决定值。

本研究选取在中国市场占主导地位且具有代表性的 3 种抗人球蛋白检测卡进行平行对比试验,结果显示,尽管国产 BioXun 灵敏度较之进口卡略低,

但其与进口卡呈高度正相关,且与试管法的相关性在 3 种卡中最高。DiaMed 和 BioVue 同为进口卡,有着相同的灵敏度,不同的是 BioVue 卡的操作时间比 DiaMed 卡减少 10 min,比 BioXun 少 5 min,不过 DiaMed 卡的结果在 3 种卡中最易判读。3 种卡有着不同的优缺点,医学实验室可以根据自己的需求并结合产品价格选择合适的检测卡。值得注意的是,同为凝胶技术的 BioXun 卡和 DiaMed 卡灵敏度不同,但具有同样灵敏度的 2 种进口卡与试管法的相关程度也有异,这就会导致其计算出的医学决定值的差异。当然,不同实验室的操作程序和操作人员不同,也会导致其医学决定值的差异。因此,本研究得出的医学决定值只是本实验的结果,不同实验室在用不同的抗人球蛋白卡用于抗体效价的检测时,必须首先建立本实验室的医学决定值,并把相关信息通知产科或儿科医生。

试管法尽管已经沿用了半个世纪,在检测孕妇 IgG 血型效价方面有着“金标准”,但技术革新的方向不可逆转。虽然微柱凝胶技术有着诸多优点,但其与试管法以及不同品牌之间的灵敏度差异,导致其医学决定值的不同,给实验室人员及临床诊断带来困难。因此,如果不同厂家能够建立共同的行业标准,实验室之间建立标准化操作程序,再经过大量临床研究,就可能建立起微柱凝胶技术在检测孕妇 IgG 血型效价方面的“金标准”,只有这样,微柱凝胶技术才能在检测孕妇 IgG 血型效价时真正取代试管法。

[参 考 文 献]

- [1] 温洁新,马西霞,孙稔侠,等. O 型血孕妇血清中 IgG 抗(A)B 抗体效价与 ABO 新生儿溶血病的相关分析[J]. 广东医学, 2010, 31(11): 1430-1431.
- [2] 卢发强,刘景汉,欧阳锡林,等. 孕产妇血型抗体与 HDN 发生率及溶血程度的临床研究[J]. 中国医师杂志, 2004, 6(10): 1300-1302.
- [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: 257-266.
- [4] 胡亚美,江载芳,褚福堂. 实用儿科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2003: 477-480.
- [5] Hadley AG. Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn [J]. Transpl Immunol 2002, 10(2/3): 191-198.
- [6] Lapierre Y, Rigal D, Adam J, et al. The gel test: a new way to detect cell antigen-antibody reactions [J]. Transfusion, 1990, 30(2): 109-113.
- [7] Shirey S, Cai W, Montgomery RA, et al. Streamlining ABO antibody titrations for monitoring ABO-incompatible kidney transplants [J]. Transfusion 2010, 50(3): 631-634. (下转第 877 页)

程和增加 HIV 感染者病死率,同时也影响到 HBV 感染的自然史。HBV 主要是嗜肝病毒,但它也有亲淋巴细胞的特性,当 HIV、HBV 合并感染后,HBVX 基因产物可使 HIV 反转录水平提高,从而加快 HIV 复制,而 HIV、HBV 合并感染可使 HBV DNA 聚合酶活性增加,HBsAg 清除率下降,HBV 自然感染史延长。亦有学者^[5]认为,HIV 感染导致免疫受损后,HIV、HBV 合并感染者的血清 ALT 水平下降,肝脏损伤减低;但更多的研究^[6]结果显示,HIV、HBV 合并感染肝脏症状加重,肝病进程发展较快,进展为肝纤维化、肝细胞肝癌或出现晚期肝病并发症。本研究结果支持前一种说法。Daar 等^[7]发现,HIV、HCV 合并感染可使 HIV 感染者的 CD4⁺ 细胞计数迅速下降,加速病情的进展,并且 HIV、HCV 合并感染可加速 HCV 感染病程,肝脏活动性病变增多,肝硬化发生率上升,尤其是肝功能衰竭的发生率明显高于单纯 HCV 感染者。本次研究结果与之相一致。

本次研究 125 例 HIV 中 Urea 偏高者 6 例、Cr 偏低 15 例,Urea 与对照组比较差异无统计学意义,各感染组 Cr 低于对照组,可能与 HIV 患者营养不良,吸收蛋白质减少有关,因此 HIV 感染及合并 HBV、HCV 对肾脏并未造成损伤,而 HIV、HCV 合并感染组 Cr 与单纯 HIV 感染组比较有差异,可能为合并感染加重病情。 β_2 -MG 是由 100 个氨基酸残基组成的低分子量蛋白质多肽,主要由淋巴细胞产生,通过肾小球滤过后在近曲小管几近全部被重吸收,其检测肾脏功能损害较血肌酐、肌酐清除率敏感得多,因此,血液和尿液中 β_2 -MG 被广泛应用于肾小球滤过率和肾小管重吸收功能的评价,当血液中 β_2 -MG 含量增高反映了肾小球滤过率下降。文献^[8]报道 β_2 -MG 升高也是机体免疫过度活化的标志之一。因为 HIV 感染机体,不断激活和破坏淋巴细胞也可引起 β_2 -MG 升高;近来也有研究^[9-10]发现 β_2 -MG 升高与 CD4⁺T 淋巴细胞数呈负相关,与 HIV 病毒载量呈正相关,因此 β_2 -MG 升高也被看成

是 AIDS 病情进展的指标之一,并可预示患者预后。本研究 HIV 感染各组 β_2 -MG 明显高于对照组,差异有统计学意义,并且 HIV、HCV 组较单纯 HIV 感染组差异有统计学意义。因此, β_2 -MG 增高并未说明肾功能受损,主要是机体产生更多的 β_2 -MG 所致。

综上,HIV 单独感染肝实质细胞没有造成严重影响,只有合并 HBV、HCV 感染,才会造成肝细胞损伤,而 HIV 单独感染及合并 HBV、HCV 感染似乎没有对肾脏功能造成影响, β_2 -MG 升高是机体免疫过度活化的表现。

[参 考 文 献]

- [1] 戴志澄. 全球中国 HIV/AIDS 流行状况及预防与控制策略[J]. 中国学校卫生 2005 26(1): 84-88.
- [2] Saillour F, Dabis F, Dupon M *et al.* Prevalence and determinants of antibodies to hepatitis C virus and markers for hepatitis B virus infection in patients with HIV infection in Aquitaine [J]. *BMJ*, 1996 313(7055): 461-464.
- [3] 陈谐捷, 蔡卫平, 张坚生, 等. 230 例 HIV/AIDS 患者肝脏损害的临床研究[J]. 中国艾滋病性病 2006 12(5): 406-408.
- [4] 李伟华, 闫惠平, 高艳青, 等. 13 例 HIV/HBV 重叠感染患者的实验指标分析[J]. 中国艾滋病性病 2009 15(5): 473-475.
- [5] 曹晓沧, 连佳, 吕宗舜. HBV 与 HIV 重叠感染及其影响[J]. 世界华人消化杂志 2006 14(11): 1089-1092.
- [6] Lessells R, Leen C. Management of Hepatitis B in patients coinfecting with the human immunodeficiency virus [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004 23(5): 366-374.
- [7] Daar ES, Lynn H, Donfield S, *et al.* Hepatitis C virus load is associated with human immunodeficiency virus type 1 disease progression in hemophiliacs [J]. *J Infect Dis* 2001 183(4): 589-595.
- [8] 范霞, 赵彬, 刁莹莹, 等. HIV 感染者 β_2 -MG 及其他临床免疫指标的研究[J]. 中华检验医学杂志 2007 30(1): 59-60.
- [9] 黄菁, 王清波, 随俊, 等. 血清 β_2 -MG 在 HIV/AIDS 患者中的临床意义[J]. 现代检验医学杂志 2010 25(1): 146-150.
- [10] Halota W, Jaruga B, Pawlowska M. Serum neopterin and β_2 -microglobulin concentrations as "prognostic markers" of AIDS [J]. *Pol Merkur Lekarski* 2002 13: 126-128.

(本文编辑 刘璐)

(上接第 874 页)

- [8] Novaretti MC, Sopeleti CR, Dorlhiac-Llacer PE, *et al.* Use of gel microcolumn assay for the detection of drug-induced positive direct antiglobulin tests [J]. *J Clin Lab Anal* 2005 19(5): 219-227.
- [9] Weisbach V, Kohnhäuser T, Zimmermann R, *et al.* Comparison of the performance of microtube column systems and solid-phase systems and the tube low-ionic-strength solution additive indirect antiglobulin test in the detection of red cell alloantibodies [J]. *Transfus Med* 2006 16(4): 276-284.

- [10] Novaretti MC, Jens E, Pagliarini T, *et al.* Comparison of conventional tube test with diamed gel microcolumn assay for anti-D titration [J]. *Clin Lab Haematol* 2003 25(5): 311-315.
- [11] 李凌波, 王冬倩, 陈云声, 等. 国产微柱凝胶免疫检测试剂卡检测孕妇 IgG 血型抗体效价的实验研究 [J]. 中国免疫学杂志 2008 24(12): 1138-1141.
- [12] 何静, 陈方祥, 刘建忠, 等. BioVue 微柱凝胶法检测孕妇产抗体效价分析 [J]. 江西医学检验 2007 25(1): 2482-2483.

(本文编辑 刘璐)