

3 种微柱凝胶抗人球蛋白卡检测低效价抗体结果的比较

福建省厦门市妇幼保健院输血科（厦门 361003） 卢春敬 苏奶助 沈雨青 龚君顺

【摘 要】 目的 比较长春博讯（BioXun）、达亚美（Bioad）和戴安娜（Diana）3 种不同厂家微柱凝胶抗人球蛋白检测卡检测低效价抗体的敏感度，并与经典试管法进行比较。**方法** 用 3 种不同微柱凝胶检测卡和经典试管法同时检测我院门诊 159 例 Rh 阴性孕妇的不规则抗体。**结果** BioXun、Bioad、和 Diana 卡测得的不规则抗体真阳性率分别为 3.2%、12.6%、31.4%，试管法为 11.3%。3 种微柱凝胶抗人球蛋白卡检测敏感度组间差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。Diana 卡、BioXun 卡与试管法检测的敏感度差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；Bioad 卡检测与试管法检测的敏感度差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。

结论 各种微柱凝胶抗人球蛋白检测卡敏感度有差异, 可以购买多种厂家的微柱凝胶卡进行检测, 以备必要的时候可以互相验证以免漏检或者出现假阳性。

【关键词】 抗人球蛋白试验; 微柱凝胶法; 试管法; 不规则抗体。

【中图分类号】 R559 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2018)06-0105-03

不规则抗体是指抗 A 抗 B 抗体以外的血型抗体, 主要有 IgM 和 IgG 两种类型, 大多数为 IgG 抗体。不规则抗体检测的方法包括盐水介质法和特殊介质检测法: 如清蛋白介质法、低离子强度介质法、酶技术、抗人球蛋白试验、聚凝胺促凝技术和微柱凝胶试验等。手工抗人球蛋白法(试管法)是最传统和最经典的方法, 但是由于其操作繁琐, 需要时间过长, 在临床工作中存在一定的缺陷。微柱凝胶技术是一种新的不规则抗体筛选的技术, 微柱凝胶法操作简单省时, 因此目前应用最多的方法是抗人球蛋白微柱凝胶法, 但是因其生产厂家不同, 制作过程中的工艺和技术不同, 导致操作步骤不同, 试验结果也可能存在差异。笔者针对我院 Rh 阴性孕妇的不规则抗体检测采用长春博讯(BioXun)、达亚美(Bioad)和戴安娜(Diana)3 种厂家的抗人球蛋白检测卡及试管法, 比较各种方法的检测结果, 以了解 3 种微柱凝胶卡检测低效价不规则抗体的敏感度。

1 资料与方法

1.1 一般资料: 收集我院 2017 年 1—10 月进行正常孕期检查的 159 例孕妇资料, Rh 血型为阴性, 配偶 Rh 血型均为阳性。年龄 20~45 岁。

1.2 方法: 采用 BioXun、Bioad 和 Diana 3 种抗人球蛋白检测卡及试管法, 分别对我院 Rh 阴性孕妇进行不规则抗体检测, 比较各法的检测结果, 计算 3 种微柱凝胶卡检测低效价不规则抗体的敏感度。其中真阳性标本为患者注射过抗 D 免疫球蛋白同时实验室检测不规则抗体阳性的标本。

1.2.1 仪器与试剂: 1) 0.8% 抗体筛选红细胞: 由 3% 抗体筛选红细胞(上海血液医药有限公司)稀释制成。2) 微柱凝胶抗人球蛋白卡: BioXun 低离子抗人球蛋白卡及专用孵育器和专用离心机(长春博讯生物技术有限公司); DiaMed 低离子抗人球蛋白卡及专用孵育器和离心机(瑞士, DiaMed); Diana 低离子抗人球蛋白卡及专用孵育器和离心机(西班牙, Diagnostic Grifols)。3) 试管法试验: 3% 标准抗体筛选红细胞、抗人球蛋白试剂(抗 IgG+C3d)(上海血液医药有限公司), 37℃ 水浴箱(上海精宏实验设备有限公司), 专用离心机(日本久保田)。

1.2.2 检测方法:

1.2.2.1 试管法(手工抗人球蛋白试验): 试管法参照文献[5], 结果以显微镜下观察到凝集为弱阳性。

1.2.2.2 微柱法(微柱凝胶抗人球蛋白实验): 分别取 BioXun、Bioad 和 Diana 3 种不同厂家的微柱凝胶试剂卡, 试验均严格按照各自试剂说明书操作规程进行, 结果判断: 肉眼观察, 以“+/-”视为阳性。

1.3 统计学分析: 利用统计软件 SPSS 15 对 3 种微柱凝胶抗人球蛋白卡和试管法的检测结果的真阳性率进行统计分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

3 种微柱凝胶抗人球蛋白卡及试管法测定的结果见表 1。3 种微柱凝胶抗人球蛋白卡检测敏感度组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。Diana 卡、BioXun 卡检测与试管法检测的敏感度差异有统计学意义($P < 0.05$); Bioad 卡检测与试管法检测的敏感度差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 4 种方法测定结果

项目	试管法	Diana	BioXun	Bioad
		微柱凝胶卡	微柱凝胶卡	微柱凝胶卡
真阳性/例	18	50	5	20
假阳性/例	0	5	0	0
阴性/例	141	104	154	139
合计/例	159	159	159	159
敏感度/%	11.3	31.4	3.2	12.6

3 讨论

Rh 溶血病主要发生于 Rh 血型为阴性的孕妇。RhD 阴性的孕妇因其怀有 RhD 阳性的胎儿, 胎儿的红细胞进入母亲体内后刺激母体产生抗 D 抗体, 因此对于 Rh 阴性的孕妇而言, 定期检测体内抗 D 抗体可以及早干预和预防新生儿 Rh 溶血病的发生。我院针对 Rh 阴性的孕妇管理是于孕 28 周左右时注射一定量的外源性的抗 D 免疫球蛋白, 以阻止自身抗 D 抗体的产生。本文调查的 159 例患者均为 Rh 阴性患者, 在实验中如果出现不规则抗体阳性者, 工作人员会致电患者询问是否注射过抗 D 免疫球蛋白。

白及注射时间,其中真阳性患者均为注射过抗 D 免疫球蛋白患者,即本实验中检测到的不规则抗体均为外源性的抗 D 抗体。因治疗性抗 D 免疫球蛋白注射量较少,故检测时凝集强度较弱,因此本文中检测到的抗体多为低效价的抗 D 抗体。对于低效价的外源性抗体,3 种不同厂家的微柱凝胶卡的检测敏感度和试管法比较是不同的。本文结果表明,BioXun 微柱凝胶检测卡的敏感度明显低于试管法的敏感度,与之前文献报道微柱凝胶卡的敏感度要高于试管法是不相符的,分析其原因可能是因为本文分析的主要是外源性的低效价抗体,而文献报道是体内自身产生的抗体,其效价一般较高。Diana 微柱凝胶卡的敏感度明显高于试管法,具有统计学意义,与相关文献报道相符。而 Bioad 微柱凝胶卡检测敏感度和试管法比较差异无统计学意义,说明 Bioad 微柱凝胶卡敏感度和试管法敏感度相当。

微柱凝胶技术是一种新型的免疫学技术,该技术把微柱凝胶技术与抗人球蛋白技术整合在一起,是生物化学凝胶过滤技术和免疫学抗原抗体反应相结合的产物。微柱凝胶技术通过调整凝胶的浓度来控制凝胶间隙大小,使其间隙只能允许游离的红细胞分离,达到鉴别结果的目的^[2]。文献报道微柱凝胶法的敏感度明显高于试管法^[6];但是本研究发现不同厂家生产的微柱凝胶卡具有不同的敏感度,该实验研究表明微柱凝胶法的敏感度和微柱凝胶卡的生产厂家有较大关系,分析其主要原因可能和制作凝胶卡过程中的工艺有很大关系,尤其是在控制凝胶间隙大小方面,不同工艺会制造出间隙大小不同的微柱凝胶卡,而正是因为凝胶间隙的大小决定着卡的敏感度,因此不同厂家生产的微柱凝胶卡敏感度会存在不同的差异。

本文结果表明,Diana 微柱凝胶卡方法中存在有 5 例假阳性的情况,该 5 例标本经回访患者,重新彻底离心标本,严格操作规范重新实验,结果均为阴性,说明该微柱凝胶法虽然敏感度高,易于大批量操作,但是假阳性的出现率也会比试管法高,分析主要原因有:1) 抗原抗体比例失调,出现前带或后带现象,造成结果的假阳性;2) 标本离心不彻底以致大量的白细胞或血小板聚集成块黏附在凝胶上出现假阳性结果;3) 标本抗凝不充分,血

浆中纤维蛋白干扰引起假阳性,或者标本中存在红细胞小凝块也会造成假阳性的情况;4) 标本放置时间过久;5) 温度的影响,微柱凝胶法中需要将微柱凝胶卡放置在 37 ℃ 的温箱中孵育 15 min,如果温度过低或者孵育时间不足 15 min,不能有效消除冷凝集素的影响,冷凝集素的存在将会出现假阳性;6) 凝胶卡保存不当或过期或者卡内液体蒸发,均会导致结果假阳性;7) 离心机的影响,微柱凝胶卡一般采用专用水平离心机,而且一定选用微柱凝胶卡同厂家的专用离心机,使用不同厂家的离心机或者使用非专用离心机,都将会导致结果出现假阳性或者假阴性,所以在使用微柱凝胶卡时一定要严格按照说明书进行操作试验,否则将会出现假阳性或者假阴性的结果。

由于微柱凝胶实验比传统的试管法实验更便捷,而且结果更易于观察和保存。目前该方法已广泛应用于临床实验室中。因此微柱凝胶法目前是临床检测不规则抗体的常用方法。该文章研究结果将为大家在选择不同厂家的凝胶卡时可以提供一定的参考价值;但是因为该文章的研究范围局限在外源性的低效价的抗体方面,而针对患者自身体内产生的抗体敏感度并没有研究,所以为了更好的服务临床工作,笔者建议在医院和实验室条件允许的情况下可以购买多种厂家的微柱凝胶卡,以备必要的时候可以进行互相验证,以免出现对低效价抗体的漏检或者存在假阳性的情况。

参考文献

- [1] 管政,张军,陈丽,等. 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 [J]. 蚌埠医学院学报, 2011, 36 (8): 872-874.
- [2] 汪德清,于洋. 输血相容性检测实验室质量控制与管理 [M]. 北京:人民军医出版社, 2011: 99.
- [3] 李海云,凌励,丁彦杰. 红细胞血型不规则抗体不同检测方法检测效果比较 [J]. 中国输血杂志, 2015, 28 (9): 1133-1135.
- [4] 杨志钊,周越勤,陈勇高,等. 2 种检测孕妇血清 IgG 抗-A (B) 效价方法的比较 [J]. 中国输血杂志, 2013, 26 (7): 663.
- [5] 李勇. 实用血液免疫学血型理论和实验技术 [M]. 北京:科学出版社, 2006: 594-623.
- [6] 张军,管政,周浩,等. 微柱凝胶技术与传统试管法检测孕妇 IgG 抗 A (B) 效价 [J]. 中国输血杂志, 2008, 21 (12): 948-949.