

· 临床研究 ·

微柱凝集技术对 O 型血孕妇 IgG 抗体效价的检测及意义^{*}

刘 玲, 陈亚宝[△], 叶 军, 孙雅馨, 顾生贵, 戴跃仙, 叶 勇

(江苏省泰州市人民医院医学检验中心 225300)

摘要:目的 检测夫妇血型不合的 O 型血孕妇血清 IgG 抗体效价, 分析其临床意义。方法 用微柱凝胶法抗人球蛋白试验测定 224 例 O 型血孕妇 IgG 抗体效价。结果 (1) 224 例 O 型血孕妇中, 共检出抗体效价异常者 85 例 (37.9%)。其中妇-夫血型为 O-A 的 94 例标本中, 异常结果 34 例 (36.2%); 妇-夫血型为 O-B 的 91 例标本中, 异常结果 27 例 (29.7%); 妇-夫血型为 O-AB 的 39 例标本中, IgG 抗 A 异常 24 例 (61.5%), 抗 B 异常 15 例 (38.5%)。(2) 对 22 例 O-A、21 例 O-B、14 例 O-AB 妇-夫共 57 例孕妇进行动态检测显示, 54 例首次检测 IgG 抗 A(B) 效价大于或等于 1:64; 但动态检测, 抗体效价未呈进行性上升, 新生儿未出现自身免疫性溶血。1 例首次检测抗 A 1:512、抗 B 1:256, 动态监测抗体效价先上升后几次监测抗体效价均连续维持在 1:1024, 产后出现新生儿溶血症 (HDN)。结论 微柱凝胶检测对 O 型血孕妇血清 IgG 效价进行检测有助于筛选新生儿溶血病高危人群, 对高危人群血型抗体定期进行动态监测, 可有效减少 HDN 的发生, 降低 HDN 的损害程度, 保证优生优育。

关键词: 免疫球蛋白 G; 微柱凝胶技术; O 型血孕妇

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.32.022

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)32-3270-02

Significant of titration of IgG antibody against "O" blood group in pregnant women by using microcolumn gel coombs' test^{*}

Liu Ling, Chen Yabao[△], Ye Jun, Sun Yaxing, Gu Shengui, Dai Yuexian, Ye Yong

(Centre of Clinical Medical Laboratory, Jiangsu Taizhou People's Hospital, Taizhou, Jiangsu 225300, China)

Abstract: Objective To analysis of IgG anti-A and anti-B titre in serum of pregnant women with blood type O. Methods 224 blood samples of pregnant women with blood type O, whose husbands were of blood type A or B, were detected by microcolumn gel Coombs' test. Results 85(37.9%) cases abnormality of IgG antibody titre in 224 pregnant women with blood type O 34(36.2%) abnormality of 94 pregnant women in O-A blood type couple group, 27(29.7%) abnormality in O-B blood type couple group, 24(61.5%) abnormality of anti-A titre and 15(38.5%) abnormality of anti-B titre in 39 pregnant women in O-AB blood type couple group. Detection of IgG anti-A and anti-B titre in serum of pregnant women in 22 cases O-A couple group, 21 cases O-B couple and 14 cases O-AB couple group were dynamic analysis. The result shows birth a neonate without hemolytic disease of the newborn (HDN) in 54 cases IgG titre(anti-A or anti B) $\geq 1:64$ in serum of pregnant women in the first instance without continued increase of IgG titre and a neonate with HDN in anti A titre 1:512 and anti-B titre 1:256 in the first with continued increase to 1:1024 titre of both anti-A and anti-B IgG titre. Conclusion Detecting titre of blood type antibody IgG in serum of pregnant women with ABO alloimmunization is helpful to diagnose HDN and to instruct interventions to lower incidence of the disease. Specially, dynamic analysis should be done for pregnant women with high IgG titre of anti-A and/or anti-B.

Key words: immunoglobulin G; microcolumn gel coombs' test; o blood type pregnant women

新生儿溶血症 (hemolytic disease of newborn, HDN) 是一种母婴血型不合引起的同族免疫性溶血病, 可以导致胎儿早期流产或出现贫血、水肿、肝脾肿大或造成新生儿核黄疸, 甚至死亡^[1-2]。在我国 HDN 多见于 ABO 血型不合引起, 当 O 型血的母亲孕育了不同血型的婴儿时, 胎儿红细胞可通过胎盘进入母体循环, 使母亲产生相应的免疫性抗体 IgG, IgG 可通过胎盘, 致敏胎儿红细胞, 产生不同程度的溶血, 导致死胎、流产、早产或新生儿溶血性贫血、水肿及核黄疸后遗症等疾病。测定孕妇血清中 IgG 类抗 A 和抗 B 效价是预测和判断 ABO HDN 发生的重要依据^[3]。本研究应用微柱凝集技术对 224 例 O 型血孕妇进行了免疫性 IgG 抗体效价的检测, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 3 月至 2011 年 5 月本院门诊产前诊断血型为 O 型 Rh 阳性孕妇, 年龄 18~41 岁, 孕期 16~38 周。224 例孕妇按照其夫的血型分为 3 组: 即 O-A、O-B、O-AB 组, 其中 O-A 组 94 例, O-B 组 91 例, O-AB 组 39 例, 上述

所有孕妇均无肝、肾、血液系统疾病, 血清不规则抗体筛选结果均阴性。其中 12 例孕妇曾有流产史。

1.2 仪器和试剂 0.2 mol/L 二巯基乙醇 (Me 液)、ABO 标准红细胞由上海血液生物医学有限公司提供, Ortho Bivue system 微柱凝胶检测系统由 Johnson-Johnson 公司提供, 离心机为安徽中科中佳科学仪器有限公司产品。

1.3 方法 取 O 型 RhD 阳性孕妇 (丈夫为非 O 型 RhD 阳性) 血清进行抗体效价检测, 第 1 次检测时间为孕期 16 周左右 (孕早期), 以后根据孕情每隔 2~4 周定期检测, 以评估抗体水平并动态监测其变化。(1) 取孕妇血清 100 μ L 加入 100 μ L Me 液于试管内混匀加塞, 置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 min 制成 Me 处理液 (1:2)。取试管 10 支, 分别加入 100 μ L 生理盐水, 于第 1 管加入 Me 处理液 100 μ L (1:2), 使其成 1:4 倍稀释液, 然后依次于相应试管内倍比稀释至 1:2048。取每一稀释度 40 μ L, 再选用与父亲血型相同的标准血球 40 μ L, 混匀 (丈夫为 AB 型

表 1 O 型血孕妇血型抗体检测最高效价结果 (n)

妇-夫血型	n	抗体	≤1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048
O-A	94	抗 A	60	14	13	5	0	2	0
O-B	91	抗 B	64	17	6	2	0	1	1
O-AB	39	抗 A	15	13	6	1	3	1	0
	39	抗 B	24	12	0	2	0	1	0

则分别加入 A 型和 B 型红细胞)。从混匀试管中取 30 μL 分别加入 4 孔中轻摇(不能与柱内试剂相混)。将卡置 37 °C 孵育 15 min,离心判读结果。(2)红细胞完全或大部分停留在凝胶柱的上部或上半部分,即判读为阳性。以阳性最高稀释度管的稀释度作为效价。

2 结 果

2.1 O 型血孕妇血清 IgG 抗 A(B)效价检测结果 将 IgG 抗 A(B)效价大于或等于 1:64 判为异常结果,其中妇-夫血型为 O-A 的 94 例标本中,异常结果 34 例(36.2%);妇-夫血型为 O-B 的 91 例标本中,异常结果 27 例(29.7%);妇-夫血型为 O-AB 的 39 例标本中,IgG 抗 A 异常 24 例(61.5%),抗 B 异常 15 例(37.9%)。224 例 O 型血孕妇中,共检出抗体效价异常者 85 例(37.9%),见表 1。

2.2 不同抗体效价动态检测结果 对 22 例 O-A 抗 A 大于或等于 1:128 动态检测显示:7 例抗体效价呈进行性下降;3 例抗体效价不变,维持 1:128,产后未发生新生儿溶血;11 例抗体效价呈先上升后下降趋势,产后亦未发生新生儿溶血;1 例抗体效价持续上升,后因其他原因终止妊娠。对 21 例 O-B 抗 B 动态检测显示:17 例动态检测呈进行性下降;3 例检测效价在正常范围呈波浪形变化,均未出现新生儿溶血;1 例抗体效价连续 2 次检测为 1:2048,19 周后因并发其他原因终止妊娠。对 14 例 O-AB 抗 A、B 动态检测显示:13 例检测效价未呈进行性上升,均未出现溶血。1 例首次检测抗 A 1:512、抗 B 1:256,动态监测抗体效价先上升后几次监测抗体效价均连续维持 1:1024,产后出现 HDN。

3 讨 论

微柱凝集技术是近年来新兴的血型血清学技术,基于凝集红细胞不能通过具有分子筛作用的凝胶颗粒构成的胶体介质,从而使游离红细胞和凝集红细胞得以分离^[4-5]。自 Lappierre 博士发明微柱凝集技术以来,经过不断的改进和临床大量的实践,微柱凝集技术得到了不断地完善,目前已成为一种常规的红细胞血型血清学检测技术^[6-8]。一般认为,当 IgG 抗 A(B)抗体效价大于或等于 1:64 时^[9-10],血型不合胎儿可能发生 HDN。作者通过长期临床实践及 BioVue 系统工作站应用经验,采用 1:64 作为临界值。当 IgG 抗 A(B)效价大于或等于 1:64 时,即给予密切关注,随访复查。当效价为 1:128 时,如抗体效价持续上升或持续大于或等于 1:256 时,即给予治疗、随访。本研究应用微柱凝集技术对 224 例夫妇血型为 O-A、O-B、O-AB 的孕妇血中 IgG 进行检测,结果显示夫妇血型为 O-A 的 94 例标本中异常结果占 36.2%,夫妇血型为 O-B 的 91 例标本中,异常结果占 29.7%,夫妇血型为 O-AB 的 39 例标本中,IgG 抗 A 异常占 61.5%,抗 B 异常占 37.9%。224 例 O 型血孕妇中,共检出抗体效价异常者占 34.8%。对 57 例孕妇进行动态检测抗体效价,其中 O-A 组 22 例,O-B 组 21 例,O-AB 组 14 例。54 例首次检测 IgG 抗 A(B)效价大于或等于 1:64;但动态检测,抗体效价未呈进行性上升,新生儿未出现

自身免疫性溶血,其中 2 例首次检测效价为 1:1024,但其后的动态检测结果显示,抗体效价下降,并保持在 1:256,未出现新生儿溶血。1 例首次检测抗 A 1:512、抗 B 1:256,动态监测抗体效价先上升后几次监测抗体效价均连续维持 1:1024,产后出现 HDN。

HDN 的发病除与母体血清中 IgG 抗 A(B)效价有关外,还与 IgG 亚类、胎儿红细胞抗原的强弱及胎盘 IgG 抗体通过能力相关。如果 IgG 抗体类型为 IgG2 或 IgG4 时不会发生溶血,只有结合了 IgG1 或 IgG3 时才会发生 HDN^[11-13]。研究发现,孕妇血清中抗体效价与 HDN 严重程度并不密切相关,可能是其他因素影响的结果^[14-15]。作者认为对于 O 型血孕妇及有死胎、流产、生育过溶血儿等不良孕产史的孕妇应该对其血清抗体效价给予高度关注。采用微柱凝集技术对孕妇产前筛查,能较好地帮助临床早期诊断,对高危人群血型抗体定期进行动态监测,可有效减少 HDN 的发生,降低 HDN 的损害程度,保证优生优育。

参考文献:

- [1] 陈海儿. 395 例新生儿 ABO 溶血病检测结果分析及临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 17(4): 92-93.
- [2] 谢辉, 马宏伟. O 型孕妇血清 IgG 抗 A(B)效价与新生儿溶血病关系研究[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(6): 718-719.
- [3] Hadley AG. Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn[J]. Transpl Immunol, 2002, 10(2/23): 191-198.
- [4] Nathalang O, Chuansumrit A, Prayoonwivat W, et al. Comparison between the conventional tube technique and the gel technique in direct antiglobulin tests[J]. Vox Sang, 1997, 72(3): 169-171.
- [5] 黎世杰, 罗广平, 赵阳. 微柱凝胶技术在新生儿溶血病检测中的应用[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(5): 549-551.
- [6] 毛伟, 王跃华, 王芳, 等. 微柱凝集技术在新生儿免疫性溶血病中的应用探讨[J]. 重庆医学, 2006, 35(12): 1066-1067.
- [7] Leitch K, Forrest A, Mitchell R. A preliminary trial of the gel test for blood group serology[J]. Br J Biomed Sci, 1993, 50(1): 64-66.
- [8] 张旭, 彭献, 刘雄伟, 等. 微柱凝胶检测技术在新生儿溶血筛查试验中的应用[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(10): 583-584.
- [9] 中华人民共和国卫生部医政司. 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.
- [10] 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. (下转第 3273 页)

3 讨 论

OSAHS 是在睡眠中发生上气道陷闭造成了呼吸暂停和(或)低通气的反复发生,并由此引起心、肺、脑的一系列损害的临床综合征^[4]。临床特征包括:肥胖、颈粗短、血压增高、血糖异常等^[5]。而女性在妊娠期因上呼吸道黏膜增厚、充血、水肿等因素,出现进行性的体质量增加和全身皮下脂肪堆积的改变。据文献报道,颈部脂肪的堆积会导致上呼吸道狭窄,可诱发或加重 OSAHS^[2]。因此,虽然普通的女性人群 OSAHS 的发病率仅为 2%~5%^[2],但在妊娠后期发病率则迅速上升,可高达 11.4%^[3]。并可引起妊娠期糖尿病^[6-7]、妊娠期高血压、子痫、胎儿宫内发育迟缓等相关性疾病^[3],或在原有疾病的基础上导致病情进一步恶化,甚至可能影响母婴的安全^[8-9]。

是什么因素导致 IGT 孕妇并发 OSAHS 呢?妊娠期糖尿病患者存在胰岛素抵抗现象^[10],而 OSAHS 患者下丘脑-腺垂体-性腺轴紊乱,内分泌异常,由于 OSAHS 反复出现睡眠呼吸暂停导致的睡眠片断化、间断性缺氧等都对下丘脑垂体产生一定的抑制和损伤作用^[11]。已有研究报道,血清雌二醇的减少可导致体质量增加、皮下脂肪沉积、颈围增粗增大,引起和加重 OSAHS;Miller^[12]指出孕酮减少、出现觉醒增加等进一步加重 OSAHS;另有报道,孕酮 P 可加强颈舌肌的活动性,保护上气道免受塌陷,还可作用于呼吸中枢及外周化学感受器刺激通气^[13];Suresrants 和 Polo^[14]指出睾酮 TT 促进 OSAHS 的发生;Collop^[15]也提出性激素在睡眠期间影响呼吸。但是本组资料显示 IGT 孕妇 OSAHS 的发生与雌三醇、孕酮的变化无关。妊娠期糖尿病及 IGT 女性注射胰岛素后降血糖效果不如非妊娠期女性,提示靶细胞有拮抗胰岛素功能,作者推测可能是由于尚未认识到的 OSAHS 所致,但目前还缺乏实验依据。本研究所得结论可能是由于样本量较小、样本较局限、检测的激素指标较少所致。IGT 合并 OSAHS 的发病原因尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(9): 1217-1239.
- [2] Sagheer F, Venkata C, Venkateshiah SB. A 26-year-old pregnant woman with fatigue and excessive daytime sleepiness. Moderate obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome in pregnancy[J]. *Chest*, 2008, 134(3): 637-639.
- [3] Sahin FK, Koken G, Cosar E, et al. Obstructive sleep apnea in pregnancy and fetal outcome[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2008, 100(2): 141-146.

- [4] Tomiyama H, Takata Y, Shiina K, et al. Concomitant existence and interaction of cardiovascular abnormalities in obstructive sleep apnea subjects with normal clinic blood pressure[J]. *Hypertens Res*, 2009, 32(3): 201-206.
- [5] 周新雨, 王晓芹. 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征对机体影响进展[J]. *重庆医学*, 2009, 38(17): 1327-1328.
- [6] Clarenbach CF, West SD, Kohler M. Is obstructive sleep apnea a risk factor for diabetes[J]. *Discov Med*, 2011, 12(62): 17-24.
- [7] Botros N, Concato J, Mohsenin V, et al. Obstructive sleep apnea as a risk factor for type 2 diabetes[J]. *Am J Med*, 2009, 122(12): 1122-1127.
- [8] Calaora-Tournadre D, Ragot S, Meurice JC, et al. Obstructive sleep apnea syndrome during pregnancy: prevalence of main symptoms and relationship with pregnancy induced-hypertension and intra-uterine growth retardation[J]. *Rev Med Interne*, 2006, 27(4): 291-295.
- [9] Ornoy A. Prenatal origin of obesity and their complications: gestational diabetes, maternal overweight and the paradoxical effects of fetal growth restriction and macrosomia[J]. *Reprod Toxicol*, 2011, 32(2): 205-212.
- [10] 耿蕾, 肖小敏, 潘观玉. 妊娠期糖尿病患者孕中期至孕足月胰岛素抵抗变化的临床分析[J]. *重庆医学*, 2010, 39(14): 1860-1862.
- [11] Gambineri A, Pelusi C, Pasquali R. Testosterone levels in obese male patients with obstructive sleep apnea syndrome: relation to oxygen desaturation, body weight, fat distribution and the metabolic parameters[J]. *J Endocrinol Invest*, 2003, 26(6): 493-498.
- [12] Miller EH. Women and insomnia[J]. *Clin Cornerstone*, 2004, 6 Suppl 1: S8-18.
- [13] Fogel RB, Malhotra A, Pillar G, et al. Increased prevalence of obstructive sleep apnea syndrome in obese women with polycystic ovary syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(3): 1175-1180.
- [14] Saresranta T, Polo O. Hormones and breathing [J]. *Chest*, 2002, 122(6): 2165-2182.
- [15] Collop NA. Medroxyprogesterone acetate and ethanol-induced exacerbation of obstructive sleep apnea[J]. *Chest*, 1994, 106(3): 792-799.

(收稿日期: 2011-03-09 修回日期: 2011-06-14)

(上接第 3271 页)

- [11] Zupańska B, Thompson E, Brojer E, et al. phagocytosis of erythrocytes sensitized with known amounts of IgG1 and IgG3 anti-Rh antibodies[J]. *Vox Sang*, 1987, 53(1): 96-101.
- [12] Perri D, Shabani F, Ziaecian G, et al. IFN-gamma treated monocyte/macrophage phagocytosis of red cells sensitized with IgG1 and IgG3 Anti-D containing identical immunoglobulin variable region genes[J]. *Transfus Apher Sci*, 2008, 39(1): 37-44.

- [13] 王玉兰, 林爱丰, 曹来英, 等. IgG 抗体效价与新生儿溶血病的相关性研究[J]. *实用医学杂志*, 2006, 22(4): 391-392.
- [14] 张健, 董建红, 孙佰秀, 等. 微柱凝胶法检测 1 610 例 O 型血孕妇 IgG 抗体效价的研究[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2008, 16(2): 67.
- [15] 韦秋芬. 新生儿 ABO 溶血病发病相关因素分析[J]. *医学文选*, 2003, 22(6): 834-835.

(收稿日期: 2011-04-15 修回日期: 2011-05-29)