

电化学发光法在检测孕产妇乙肝中的应用

李化会¹ 李化英² 莫晓媚³ 王青¹ 李莉¹ 侯蔚¹ 纪秀兰¹ 宋晓英¹ 纪国欣⁴

(1 青岛大学医学院附属市立医院检验科 青岛 266071 2 山东省新泰市泉沟镇卫生院 新泰 271207

3 青岛市妇女儿童医疗保健中心药剂科 青岛 266011 4 青岛大学医学院附属市立医院产科 青岛 266071)

摘要:背景与目的:探讨电化学发光法(electrochemiluminescence ECL)在检测孕产妇乙肝病毒中的应用价值,从而正确指导乙肝孕妇产后的喂养方式。**方法:**用 ELISA 法和 ECL 法平行测定孕产妇血清乙肝病毒血清标志物(HBV-M),并对 ELISA 法检测表面抗原为阴性而 ECL 法为低浓度的标本,用荧光定量 PCR 测定病毒 DNA。**结果:**ECL 法表面抗原的检出率(9.66%)明显高于 ELISA 法(6.54%), $p < 0.05$,ELISA 法检测为阴性而 ECL 法为低浓度的标本,病毒 DNA 均为阳性。**结论:**ECL 法测定 HBV-M 的敏感性比 ELISA 法高,可以更灵敏的检出低浓度的表面抗原,从而可以更好的指导孕妇产后的喂养方式,但 HBcAb 阳性率过高。

关键词:电化学发光免疫分析法;乙型肝炎病毒;孕产妇

中图分类号:R446 **文献标识码:**A

Application of HBsAg detected by electrochemiluminescence assay in pregnant women

Li Hua-hui¹, Li Hua-ying², Mo Xiao-mei³, et al.

(1 Department of Clinical Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266071;

2 Hospital of Quanguo, Xintai 271207;

3 Department of Pharmacy, Qingdao Medical and Health Center for Women and children, Qingdao 266011;

4 Department of Obstetrics, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266071, China)

ABSTRACT Background & Objective: To investigate the clinical value of HBV detection by the method of ECL in pregnant women and direct them how to feed their children. **Methods:** HBV markers in serum were detected by ELISA and ECL respectively. We used FQ-PCR to detect HBV-DNA in those samples whose HBsAg were negative by ELISA, but were a little higher than that of normal women by ECL. **Results:** The rate of positive HBsAg by ECL and ELISA are 9.66%, 6.54% respectively. The difference between them is significant($p < 0.05$). HBV-DNA is positive in those samples whose HBsAg are a little higher by the method of ECL. **Conclusion:** The sensitivity of HBV markers detection by ECL is higher than ELISA, so we can direct pregnant women more correctly. Unfortunately, the positive rate of HBcAb by ECL is much higher.

Key words: Electrochemiluminescence assay; Hepatitis B virus; Pregnant women

前言

我国是乙型病毒性肝炎的高发国家,据流行病学调查,表面抗原携带率为 15%。乙肝是世界上最常见的传染病之一,世界卫生组织估计本病每年造成约 100 万人死亡。母婴传播是乙型肝炎的一种重要传染方式,其中就包括母乳喂养。在我国由母婴传播引起的乙肝感染约占婴幼儿感染的三分之一^[1]。乙肝的实验诊断对于治疗和预防具有重要的参考意义。ELISA 法操作方便,是目前乙肝血清标志物检测的常用方法,但对于低浓度的表面抗原该法显色很浅,结果不易判断。为提高乙肝检测的灵敏度,特别是筛查出表面抗原浓度很低的孕产妇,有效阻断母婴传播,有必要选择灵敏度更高的检测方法。而电化学发光法以顺磁性微粒为固相载体,大大提高了灵敏度。同时由于标记物的再循环利用,使发光时间延长,强度增加,便于测定。故本研究以 ECL 法进行检测,并与

ELISA 法进行比较。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象:收集 2005 年 4 月到 2006 年 1 月在我院就诊的 321 名孕产妇血清,年龄 25~31 岁。

1.1.2 主要试剂和仪器:上海实业科华生物技术有限公司乙型肝炎病毒检测试剂盒, Bio-rad Model 550 酶标仪, 1575 型洗板机; Elecsys 2010 电化学发光免疫分析仪及配套试剂; 乙肝表面抗原定值参比血清由卫生部临检中心提供; PE5700 荧光定量 PCR 仪, 试剂为中山大学达发基因股份有限公司产品。HBV-DNA 含量大于 103 拷贝/ml 为 HBV-DNA 阳性。

1.2 方法

1.2.1 ECL 法的实验原理:测定模式与 ELISA 相似^[2],分两步进行,以双抗体夹心法测定抗原为例:第一步,发光剂标记的抗体、待测抗原和磁性微粒上吸附的固相抗体形成夹心复合物;第二步,在电极下有磁铁的反应室中,用缓冲液冲洗多余的标记抗体和固相抗体。此时在反应室中发生电化学发光反应。

1.2.2 标本收集:用 ELISA 法和 ECL 法检测收集标本的乙肝

作者简介:李化会,(1977-),男,硕士,研究方向临床检验免疫学

通讯作者:莫晓媚,女,硕士,研究方向分子药理学

E-mail: lhh39153@163.com

(收稿日期:2006-06-30 接受日期:2006-07-26)

标志物,每次以定值参比血清作质控。ELISA 检测为阴性而 ECL 法为低浓度的标本,采用荧光定量 PCR 测定病毒 DNA。所有操作均按仪器和试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理

所有数据均采用 SPSS11.0 软件进行卡方检验,以 $P < 0.05$ 为具有显著性统计学意义。

2 结果

2.1 ELISA 法

321 名孕产妇检出表面抗原阳性者 21 例,阳性率 6.54% (见表 1)。

2.2 ECL 法

检出表面抗原浓度高于正常者 31 例,阳性率 9.66% (见表 1)。其中 10 例表面抗原浓度较低,进行确证实验后,中和率均大于 50%,确定表面抗原为阳性。

2.3 荧光定量 PCR 法

10 例表面抗原浓度较低的标本,HBV-DNA 含量均大于 103 拷贝/ml,说明这些标本 HBV-DNA 为阳性。

2.4 ELISA 法和 ECL 法

对 321 例标本 HBV 标志物表现模式不同的结果见表 2

表 1 ECL 法和 ELISA 法表面抗原检测结果比较

Table 1 HBsAg results by ECL and ELISA

ECL 法	ELISA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	21	10	31
阴性	0	290	290
合计	21	300	321

$$\chi^2 = 0.002, p < 0.05$$

表 2 ECL 法和 ELISA 法 HBV 标志物表现模式不同结果比较

Table 2 Different modes of HBV markers by ECL and ELISA

ECL 法模式	ELISA 法模式	例数	可能原因
145	45	6	低浓度 HBsAg
15	5	4	
135	15	4	低浓度 HBsAg
145	15	8	低浓度 HBsAb
245	25	36	
245	45	15	低浓度 HBsAb
2	全阴	5	
25	2	3	低浓度 HBcAb
45	5	6	
5	全阴	63	
合计		150	

Different modes of HBV markers existing in 150 samples.

3 讨论

本文调查了 321 名孕产妇,ELISA 法检测乙肝病毒表面抗原阳性率为 6.54%,而 ECL 法的阳性率为 9.66%,两种方法阳性率有显著性差异。10 例表面抗原浓度较的的标本经 PCR 证

实 HBV-DNA 为阳性。我们调查的阳性率低于国内外的报道 (21.26%、9.98% 和 19%)^[3-5],可能与研究对象的不同有关。通过表 2 发现,ECL 法在检测乙型肝炎病毒标志物中的优点是明显的,灵敏度高,只是核心抗体阳性率偏高,与邱春娜等人的报道相符^[6]。

乙肝孕产妇应视为发生宫内感染的高危人群,此类人群携带 HBV 量多,所致感染性强^[7],故发生宫内感染机率高,应引起人们的高度重视。母婴传播作为乙肝的一种重要的传染方式,越来越受到人们的重视。在临床上,如果孕产妇为乙肝,医生建议不要母乳喂养,或者做一些相关的处理,如主动免疫等。为了有效阻断母婴传播,必须准确检出乙肝,甚至是表面抗原浓度很低的乙肝,来指导产妇产后的喂养方式。这就需要灵敏度高、特异性强的检测方法来确诊乙肝。现在在临床上常用的检测乙肝的试剂盒,表面抗原的检测下限一般为 0.5 $\mu\text{g/L}$,对低浓度的表面抗原经常容易漏检。而 ECL 法从方法学角度看,仪器使用的固相载体体积小,增大了反应面积,再加上标记物的循环利用,发光时间延长,大大提高了灵敏度,表面抗原可达至 0.05 $\mu\text{g/L}$ 。故 ECL 法对乙肝能极早检测出 HBsAg,确证乙型肝炎病毒感染,可以大大缩短“窗口期”。同时 ECL 法减小了人工加样可能带来的误差,也减少了 ELISA 法中酶标板孔间不均一性所带来的误差,故 ECL 法大大提高了方法的可靠性。另外,从医务人员本身来说,由于 ECL 法实现了全过程的自动化,大大降低了受污染的机会,对于低浓度的标本结果也容易判断。因此本方法值得在临床检验工作中推广。

4 结论

电化学发光法在测定乙肝血清标志物中比 ELISA 法敏感性高,可以更灵敏的检出低浓度的表面抗原,从而可以更好的指导孕妇产后的喂养方式,但 HBcAb 阳性率过高。

参考文献

- [1] 乐杰主编.妇产科学[M].第 6 版.北京:人民卫生出版社,2004: 154
- [2] 吴建民主编.临床化学自动化免疫分析[M].第 1 版.北京:科学出版社,2000:241-243
- [3] 朱黎明,朱英杰,朱定菊,等.少数民族地区孕妇乙肝病毒感染的调查分析[J].临床肝胆病杂志,2005,21(2):73-74
- [4] 梁国平,万小枝,杨菊生,等.乙型肝炎病毒宫内感染[J].新生儿科杂志,1999,14(5):196-197
- [5] Jaiswal SP, Jain AK, Naik G, et al. Viral hepatitis during pregnancy [J]. Int J Gynaecol Obstet, 2001,72(2):103-108
- [6] 邱春娜,劳小斌.电化学发光免疫法定量检测乙肝病毒的临床应用[J].中国热带医学,2005,5(4):678-679
- [7] West DJ, Margolis HS. Prevention of hepatitis B virus infection in the United States: a pediatric perspective[J]. Pediatr Infect Dis J, 1992,11 (10):866-874