

• 临床检验研究论著 •

TORCH 感染孕妇 IgG 亲和力检测的临床价值*

吴冬生¹, 吴元健¹, 任雅璐², 王榴红¹

(1. 南京医科大学附属苏州市立医院本部检验科, 江苏苏州 215002;
2. 苏州大学附属第一医院检验科, 江苏苏州 212002)

摘要:目的 通过检测 TORCH 感染孕妇 IgG 亲和力指数(AI),探讨 TORCH 感染类型与妊娠结局间关系。方法 收集 TORCH 各型病原体 IgM 阳性孕妇血清,检测其 IgG 亲和力指数(AI),并追踪妊娠结局。结果 在 TORCH 各病原体近期感染的孕妇中,HSV(含 1 型及 2 型)、RUB、CMV、TOXO 原发感染(AI<30%)的比例分别为 0、3.8%、9.3%、7.9%;在 CMV 原发感染的 10 例孕妇中,2 例妊娠结局异常(稽留流产),CMV 疑似原发感染孕妇中发现 1 例为异常妊娠;TOXO 原发感染孕妇发现 1 例为胎儿畸形(脑积水),其余均为正常妊娠。结论 在 TORCH 各病原体近期感染的孕妇中,以非原发性感染为主;而巨细胞及弓形虫原发感染对胎儿的侵害则远大于非原发感染。

关键词:人类优生优育病毒; 微阵列酶联免疫法; 孕妇
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.013 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2014)05-0538-02

The clinical value of IgG antibodies avidity index detection in pregnant women with TORCH infection*

Wu Dongsheng¹, Wu Yuanjian¹, Ren Yalu², Wang Liuhong¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Headquarter of Suzhou Municipal Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu 215002, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Hospital Affiliated to Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 212002, China)

Abstract:Objective To explore the relationship between the type of TORCH infection and pregnancy outcome through the detection of TORCH infection in pregnant women with IgG avidity index(AI). **Methods** Collected each type of TORCH pathogens IgM positive maternal serum, and detect the IgG avidity index and track the outcome of pregnancy. **Results** The rate of TORCH pathogens recent infection (AI<30%) in pregnant women, HSV, RUB, CMV, TOXO respectively were 0, 3.8%, 9.3%, 7.9%; In the group of pregnant women with TORCH-IgG AI<30%, there were 2 cases of pregnancy outcome of abnormal (missed abortion) and one case of fetal malformations (hydrocephalus). **Conclusion** In the recent infection of TORCH pathogens in pregnant women, mainly are non-primary infection; The damage of cytomegalovirus and *Toxoplasma gondii* primary infection to the fetus is much larger than the non-primary infection.

Key words: human prenatal and postnatal care virus; microarray enzyme-linked immunosorbent assay; pregnant women

TORCH 是指一组由弓形虫(TOXO)、风疹病毒(RV)、巨细胞病毒(CMV)、单纯疱疹病毒(HSV)引起的胎儿感染并致畸或发育异常的常见病原体;经胎盘或产道感染胎儿引起流产、早产、死胎、宫内感染、胎儿生长受限、严重先天畸形、新生儿感染以及中枢神经系统后遗症等。而 TORCH 原发感染对胎儿的危害远大于非原发感染,为了了解孕妇 TORCH 感染状态及其与不良妊娠结局的关系,现对本院产科于 2010 年 12 月至 2012 年 12 月行产前检查并在本院分娩的 18 248 例孕妇进行 TORCH 筛查,并收集 TORCH 各型病原体 IgM 阳性孕妇血清,检测其 IgG 亲和力指数(AI),并追踪妊娠结局。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 12 月至 2012 年 12 月本院产前 TORCH 筛查的 18 248 例孕妇中,经德国维润塞润公司生产的人类优生优育病毒系列检测试剂盒(酶联免疫法)及 TE-CAN 全自动酶免分析仪检测,收集 TORCH-IgM 阳性孕妇血清,包括 TOXO-IgM 阳性孕妇血清 30 例, RV-IgM 阳性孕妇血清 105 例, CMV-IgM 阳性孕妇血清 108 例, HSV-IgM(1+2 型)阳性孕妇血清 103 例,各取 1 mL 于-20℃冰冻保存,试验前未融化过。

1.2 仪器与试剂 TORCH-IgG 试剂由北京华大吉比爱生物

技术公司提供,批号为 20120301;8 mol/L 脲素购自美国 Sigma 公司,主要仪器设备为 AE-1000 生物芯片阅读仪、TS-1000 ThermoInco Shaker 孵育震荡仪。

1.3 IgG 亲和力指数检测及计算 由于蛋白芯片技术在 TORCH 抗体检测中的优越性及相比传统 ELISA 方法具有敏感与特异度高、重复性好的特点^[1-2],使用基于蛋白芯片技术的由北京华大吉比爱生物技术公司提供的 TORCH-IgG 试剂盒及检测仪器,采用微阵列-酶联免疫法,并根据文献^[3-5]报道方法检测及计算 IgG 亲和力指数,步骤如下:将 5 μL 血清标本加入 250 μL 标本稀释液中混匀(1:50 稀释),取 50 μL 加入孔内,每例标本做两孔,37℃孵育震荡 30 min,洗板:其中一孔用 PBST 洗 5 次;另一孔先用 PBST 洗 2 次,用 8 mol/L 脲素洗 1 次,10 min 后再用 PBST 洗 2 次;加入酶标鼠抗人 IgG 抗体继续 37℃孵育震荡 30 min,用 PBST 洗板 5 次,每孔加入 40 μL 发光液,将芯片放入生物芯片阅读仪测各孔样本相关光单位(RLU)。每份标本的 AI 按下列公式计算:AI=(加入蛋白变性剂后的 RLU 值/未加入蛋白变性剂的 RLU 值)×100%。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件,计数资料用独立样本 t 检验,阳性率比较用 χ² 检验。以 P<0.05 为差异有统计

* 基金项目:苏州市科技计划项目(SZD09128)。 作者简介:吴冬生,男,副主任技师,主要从事临床免疫学检验工作研究。

学意义。
2 结 果

以 TORCH-IgG AI<30% 作为判断原发感染的标准, TORCH 各病原体弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒原发感染的比例分别为 7.9%、3.8%、9.3%、0 (见表 1);其中巨细胞病毒原发感染孕妇异常妊娠的发生率为 20.0%, 远高于疑似原发感染(4.5%)及非原发感染(1.3%), 差异有统计学意义($P<0.05$);3 例弓形虫原发感染孕妇中有 1 例异常妊娠, 风疹病毒、单纯疱疹病毒感染孕妇均为正常分娩且未见胎儿异常, 由于病例较少, 故其病毒感染状态对妊娠结局的影响有待于进一步观察(见表 2)。

表 1 TORCH 各病原体 IgG 亲和力分布情况				
病原体	IgM 阳性 例数(n)	AI[n(%)]		
		<30%	30%~50%	>50%
HSV	104	0	2(1.9)	102(98.1)
CMV	108	10(9.3)	22(20.4)	76(70.3)
TOXO	38	3(7.9)	4(10.5)	31(81.6)
RUB	105	4(3.8)	4(3.8)	98(92.4)

表 2 TORCH 各病原体感染孕妇异常妊娠发生率(%)			
病原体	原发感染	疑似原发感染	非原发感染
HSV	0	0	0
CMV	20.0	4.5	1.3
TOXO	33.3	0	0
RUB	0	0	0

3 讨 论
围产期 TORCH 检测目前已在国内普遍开展, 孕妇感染 TORCH 病原体大多无明显症状, 主要通过检测血清中 IgG 或 IgM 抗体来进行诊断, IgG 抗体阳性代表既往感染, 而 IgM 抗体的检出可作为近期活动感染的诊断指标, 但单独检测 IgM 抗体或 IgM 抗体+IgG 抗体阳性无法区分原发感染与非原发感染, 而原发感染对胎儿造成的损害远远大于非原发感染^[6], 新的评价病毒初次感染的途径为基于脲素蛋白变性技术的 IgG 抗体亲和力测定^[7], 其原理为宿主在初次接触抗原产生特异性 IgG 的亲和力随着免疫反应时间的推移会逐渐升高, 因此检测特异性 IgG 的亲和力可区分病毒原发感染和非原发感染(继发感染)。基本方法是用抗原包被酶标板, 加患者血清, 用尿素处理以去除低亲和力抗体(早期抗体), 该方法简单易行, 只需在常规 IgG 的检测法中增加尿素变性后洗脱的步骤。如孕妇为近期原发性感染, 则机体产生特异性 IgG 抗体的亲和力较低, 易被蛋白变性剂(8 mol/L 脲素)变性后洗去, AI 值较低, 如感染发生在较长时间以前或者为通过输血或通过胎盘而被动获得的抗体(继发感染或再感染), 则机体产生特异性 IgG 抗体的亲和力较高, 与包被抗原结合后不易被蛋白变性剂(8 mol/L 脲素)变性洗去, AI 值较高。本实验采用基于蛋白芯片技术的微阵列-酶联免疫吸附试验检测 TORCH 各病原体 IgG 亲和力, 具有高通量、集成化和酶联免疫检测技术的灵敏、特异的优点。

抗体亲和力检测及 AI 计算按 Bodéus 等^[8]的方法进行: AI<30% 划为原发感染, AI 介于 30%~50% 为疑似原发感

染, AI>50% 为继发感染或再感染。本实验研究发现, 在 TORCH 各病原体近期感染(IgM 阳性)的孕妇中, 非原发感染的比例远大于原发感染($P<0.05$), 而通过追踪 355 例 TORCH-IgM 阳性孕妇的妊娠结局发现仅 5 例为异常妊娠, 其中感染巨细胞病毒 4 例中, 2 例为巨细胞病毒原发感染(AI<30%)(引起稽留流产), 1 例为巨细胞病毒疑似原发感染(AI 介于 30%~50%)(引起稽留流产), 1 例为巨细胞病毒继发感染或再感染(AI>50%)(造成死胎);弓形虫原发感染 1 例且引起胎儿畸形(脑积水);而巨细胞病毒原发感染异常妊娠的发生率为 20.0%, 远大于疑似原发感染的 4.5% 及继发感染或再感染的 1.3%, 可见巨细胞病毒原发感染是异常妊娠发生的高危因素;弓形虫原发感染由于标本数太少, 其引起异常妊娠的危害性有待于进一步研究;妊娠期确定风疹感染时间很重要, 在妊娠 8 周内感染, 先天性风疹综合征(CRS)发生率为 85%, 9~12 周为 52%, 而 20 周以后就很罕见^[9], 本试验观察 105 例 RUB-IgM 阳性的孕妇中, 无一例发生异常妊娠, 可能与绝大部分(96.2%)为非原发感染对胎儿影响较小。新生儿 HSV 感染主要是妊娠末期生殖道 HSV 感染和分娩期暴露于生殖道病灶引起且新生儿 HSV 感染总发生率^[9], 孕妇出院后新生儿是否发病难以追踪, 本实验未发现因感染 HSV 而引起的异常妊娠。

综上所述, 在 TORCH-IgM 阳性的孕妇中, 可加测 IgG 亲和力以区分原发感染或继发感染及再感染, 对 IgG AI<30% 的原发感染孕妇, 可密切关注, 必要时可检测羊水及对胎儿进行全方位超声检查, 以减少围产期 TORCH 感染对胎儿的危害。

参考文献

[1] 吴冬生,李欣,吴元健,等.微阵列酶免疫技术在 TORCH-IgG 抗体检测中的应用[J].临床检验杂志,2012,30(8):633-634.
[2] Mezzasoma L,Bacarese-Hamilton T,Di Cristina M,et al. Antigen microarrays for serodiagnosis of infectious diseases [J]. Clin Chem,2002,48(1):121-130.
[3] Petersen E,Borobio MV,Guy E,et al. European multicenter study of the LIAISON automated diagnostic system for determination of Toxoplasma gondii-specific immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG avidity index[J]. J Clin Microbiol, 2005 , 43(4):1570-1574.
[4] 侯林浦,姜英涛,高英,等.巨细胞病毒 IgG 抗体亲和指数测定的方法及临床意义[J].中华临床医学荟萃杂志,2004,1(1):14-17.
[5] Perciani CT,Peixoto PS,Dias WO,et al. Improved method to calculate the antibody avidity index[J]. J Clin Lab Anal,2007,21(3):201-206.
[6] 盛秋,李芬.妊娠期人巨细胞病毒原发性感染的诊断与预防[J].国外医学妇幼保健分册,2004,16(1):99-101.
[7] Hamkar R,Jalivand S,Mokhtari-Azad T,et al. Assessment of IgM enzyme immunoassay and IgG avidity assay for distinguishing between primary and secondary immune response to rubella vaccine [J]. Virol Methods,2005,130(1/2):59-65.
[8] Bodéus M,Feyder S,Goubau P. Avidity of IgG antibodies distinguishes primary from non-primary cytomegalovirus infection in pregnant women[J]. Clin Diagn Virol,1998,9(1):9-16.
[9] 董悦,廖秦平.如何重新评价与解释围产期 TORCH 感染筛查[J].中华检验医学杂志,2008,31(7):742-746.