

• 临床研究 •

免疫胶体金渗透技术检测抗卵巢抗体的试验研究*

李 凯, 李相新, 文海军, 韦僖雯, 谭汝宏, 江润昌

(广东省佛山市妇幼保健院检验科 528000)

摘要:目的 建立免疫胶体金渗透技术检测抗卵巢抗体(AOAb)的新方法。方法 采用人源卵巢抗原,以胶体金颗粒结合的羊抗人 IgG 为标记抗体,根据免疫胶体金技术原理,建立免疫胶体金渗透技术法检测人血清抗卵巢抗体。分别检测 72 份抗卵巢抗体阳性血清和 88 份健康体检女性血清,并与酶联吸附试验的结果进行对比分析。结果 与酶联免疫吸附试验的结果对比,其符合率为 88.75%,特异性为 90.91%,敏感度为 86.11%。交叉试验与重复试验结果显示,免疫胶体金渗透技术测定抗卵巢抗体具有稳定性和特异性。结论 免疫胶体金渗透技术可以快速准确地测定血清抗卵巢抗体,便于推广普及。

关键词:免疫胶体金渗透技术; 抗卵巢抗体; 免疫性不孕; 酶联免疫吸附试验**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.031**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2016)11-1528-02

抗卵巢抗体是由感染、手术、药物、自身免疫疾病等原因引起的一种靶抗原在卵巢颗粒细胞、卵母细胞、黄体细胞和间质细胞内的自身多靶位多克隆抗体,能够引起卵巢的病理损伤、功能衰竭,进而导致不孕发生^[1-2]。调查研究显示,免疫性因素导致的不孕不育已成为困扰适龄生育人群的重要问题,其中 10%~30% 的不孕患者是由于抗卵巢抗体导致的^[3]。因此,采用免疫胶体金渗透技术建立特异、敏感、快速的抗卵巢抗体检测具有重要的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 1~12 月来佛山市妇女儿童医院就诊的门诊和住院抗卵巢抗体阳性的患者 72 份血清作为试验组,同时选取健康体检女性 88 份血清作为对照组,共计 160 份,平均年龄(28.7±4.5)岁。

1.2 材料

1.2.1 卵巢抗原制备 用生理盐水将人卵巢组织清洗干净,在 pH7.4 的 0.04 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液中匀浆,过滤,5 000 r/min 离心 15 min,弃去上清,将沉淀置于 0.1 g/L 的蔗糖溶液中,加入 Triton X-100 裂解,离心收集上清,通过抗人全血清的琼脂糖交换树脂 sepharose 4B 柱,收集清洗液即为人卵巢抗原^[4]。

1.2.2 试剂 抗人卵巢 IgG 抗体酶联免疫吸附试剂盒购自深圳华康生物医学工程有限公司。

1.2.3 免疫胶体金渗透技术方法的建立 取 1 μg/μL 人卵巢抗原液喷点在硝酸纤维素膜中央作为检测线,其下方喷点健康人血清 IgG 作为质控线,4 ℃ 放置 2 h,37 ℃ 恒温箱内烘干,冷藏备用。

1.3 标本采集与检测 所有研究对象抽取空腹静脉血 2 mL,3 000 r/min,离心 10 min,分离血清,保存于-80 ℃ 冰箱内待检。检测:在加样孔上滴加封闭液 100 μL 待渗入,滴加未稀释血清标本 50 μL,15 min 内观察结果。质控线与检测线都显色者为阳性;质控线显色,检测线不显色者为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据统计分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 吸收试验 将纯化的人卵巢抗原与酶联免疫吸附试验检出的抗卵巢抗体阳性血清 20 份等体积混合后用胶体金试纸条检测抗卵巢抗体,结果均为阴性。

2.2 干扰试验 血清标本中三酰甘油小于或等于 25 mmol/L,总胆红素小于或等于 1 000 mmol/L,血红蛋白小于或等于 10 g/L 时对检测结果无影响。

2.3 对比试验 见表 1。采用免疫胶体金渗透技术与酶联免疫吸附试验分别检测 72 份抗卵巢抗体阳性血清和 88 份健康体检血清,结果对比其符合率为 88.75%,特异性为 90.91%,敏感度为 86.11%,两种方法存在正向一致性($P<0.05$),一致性程度较好($Kappa>0.75$)。

表 1 免疫胶体金渗透技术与酶联免疫吸附试验结果
对比分析(n=160)

免疫胶体金渗透技术	酶联免疫吸附试验		合计
	阳性	阴性	
阳性	62	8	70
阴性	10	80	90
合计	72	88	160

2.4 重复试验及稳定性检测 随机取出不同批次和批间的试纸条进行重复性检测,结果显示,保存 6 个月之内试纸条效果良好,无特异性产生。

3 讨 论

近年来,随着生殖免疫医学的研究和发展,大量的研究数据证明,免疫因素是导致不孕和习惯性流产的重要原因,其中抗卵巢抗体是导致女性不孕较为常见的免疫因素^[5]。抗卵巢抗体是自身免疫系统将卵巢组织作为抗原而引起的自身免疫反应而产生的抗体,其与卵巢组织抗原相互结合时,单核巨噬细胞、淋巴细胞和浆细胞的浸润可以对卵巢造成不可逆的病理损伤,如卵母细胞数量减少、颗粒细胞变性坏死等,进而影响卵巢的正常功能,阻碍卵母细胞成熟、雌孕激素的产生减少等,导致卵巢功能衰退,甚至不孕^[6]。因此,抗卵巢抗体的检测已作为不孕不育患者的重要检测项目,对免疫性不孕的诊断具有重要意义。

免疫胶体金渗透技术是一种以胶体金为标记物,利用抗原与抗体的特异性反应,对待测物质进行定性判断的标记技术。通过免疫胶体金渗透技术检测抗卵巢抗体具有操作简单,反应快速,结果清晰,易于观察,试剂盒可长期保存,费用较低等优点^[7]。避免了酶联免疫吸附试验操作步骤较多、易受反应温度

* 基金项目:广东省佛山市医学类科技攻关资助项目(201208013)。

和反应时间、洗板是否彻底等诸多因素的影响。在本研究中,与酶联免疫吸附试验结果相对比,免疫胶体金渗透技术的结果符合率为 88.75%,特异性为 90.91%,敏感度为 86.11%,两种方法存在正向一致性,而且一致性程度较好。

因此,免疫胶体金渗透技术检测抗卵巢抗体的方法可满足临床快速检测,特别适合于基层医院不孕不育筛查的要求。

参考文献

- [1] 林建华,严隽鸿,林其德,等.抗卵巢抗体对卵巢组织及其功能影响的实验研究[J].中华妇产科杂志,1998,33(1):20-22.
- [2] 陈永珍,朱曼,张苏.抗生殖免疫抗体和女性不孕的关系[J].解剖学杂志,2003,26(6):609-610.
- [3] 陈桂冰,黄绍坤,赵香生,等.免疫不孕患者自身抗体检测·临床研究·

结果分析[J].职业与健康,2008,24(16):1725-1726.

- [4] 陈金娣,黄邱朝,武建国.血清中三种 Ig 类抗卵巢自身抗体的测定及其临床意义[J].临床检验杂志,1994,12(S1):12-14.
- [5] 王逢春.抗卵巢抗体检测在不孕症诊断中的应用[J].医学理论与实践,2011,24(17):2098-2099.
- [6] 赵成元,王丽,王华,等.免疫性不孕抗体阳性引发不孕症的临床诊治分析[J].中国妇幼保健,2013,28(34):4681-4682.
- [7] 朱文钏,孔繁德,林祥梅,等.免疫胶体金技术的应用及展望[J].生物技术通报,2010,26(4):81-87.

(收稿日期:2016-01-17 修回日期:2016-03-27)

妊娠期甲状腺功能减退与不良妊娠结局的关系^{*}

张 雪,陈雪兰,李 辉

(广东省深圳市宝安区松岗人民医院 518105)

摘要:目的 探讨妊娠合并甲状腺功能减退与不良妊娠结局的关系研究。**方法** 对 2014 年 1 月至 2015 年 6 月在深圳市宝安区松岗人民医院就诊的孕妇进行筛查,根据其甲状腺功能异常与否将其分为试验组(甲状腺功能减退)和对照组(甲状腺功能正常),比较两组产妇甲状腺激素指标变化及不良妊娠结局的发生情况。**结果** 对两组孕妇孕期和产后 TSH 浓度结果比较,结果表明孕期不同阶段 TSH 差异较大,孕中、晚期促甲状腺激素(TSH)浓度与孕早期相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),产后血清中 TSH 浓度高于怀孕初期血清中 TSH 浓度,差异有统计学意义($P < 0.05$)。对两组孕妇的妊娠结局结果比较显示,试验组 48 例孕妇中 7 例(14.6%)出现早产,5 例(10.4%)出现贫血,8 例(16.7%)出现自发性流产,5 例(10.4%)出现妊娠高血压综合征。对照组 112 例孕妇中 2 例(1.8%)出现早产,5 例(4.5%)出现自发性流产,两组孕妇妊娠结局差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 对于妊娠合并甲状腺功能减退的产妇,进行甲状腺功能的检测,密切观察变化可有效减少妊娠不良结局发生。

关键词:妊娠; 甲状腺功能减退; 不良妊娠结局

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)11-1529-02

妊娠期甲状腺功能异常和自身抗体阳性对母胎产生一系列近、远期影响包括流产、死胎及胎儿智力缺陷等。早期发现和合理调节可有效规避其对母胎的影响^[1-4]。孕期以游离甲状腺素 3(FT3)、游离甲状腺素 4(FT4)、促甲状腺激素(TSH)及甲状腺球蛋白(TG)反映甲状腺功能更为准确^[5-7]。甲状腺自身抗体包括甲状腺过氧化酶抗体(抗-TPO)和甲状腺球蛋白抗体(抗-TG)^[8-9]。因此本课题旨在通过调查深圳市宝安区松岗街道女性孕前及不同孕期以上指标的浓度,分析和探讨在深圳实施早孕期甲状腺功能筛查包括自身抗体水平的必要性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月至 2015 年 6 月在本院妇科门诊进行孕前筛查的育龄女性和诊断为早孕(≤孕 8 周)的 160 例孕妇作为研究对象,年龄 24~35 岁,平均(27.32±2.42)岁,对 160 例孕妇进行甲状腺功能排查,其中 48 例临床型甲状腺功能减退者为试验组,年龄 24~32 岁,平均(27.41±2.40)岁,48 例甲状腺功能异常孕妇中有 10 例为亚临床甲状腺功能减退,22 例为甲状腺功能减退,16 例为甲状腺功能亢进者。112 例甲状腺功能正常者为对照组,年龄 24~35 岁,平均(27.11±2.02)岁。两组孕妇基本资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有临床可比性。

1.2 诊断标准 筛选条件:病史询问排除既往是否患慢性疾病,如自身免疫性疾病史、甲状腺疾病个人史和家族史,碘缺乏地区生活史及饮食习惯等情况。研究组孕妇诊断标准符合《妊娠和产后甲状腺疾病诊治指南》(2012 年版),即 TSH 大于妊娠期参考值上限,且 FT4 小于妊娠期参考值下限。以第 2.5 和第 97.5 百分位作为 TSH 和 FT4 正常值的下限和上限,确立孕周特异的甲状腺功能正常值参考范围。如果 TSH 小于第 2.5 百分位,FT4 大于第 97.5 百分位,则诊断为临床甲状腺功能亢进;TSH 大于第 97.5 百分位,FT4 小于第 2.5 百分位,则诊断为临床甲状腺功能减低;TSH 大于第 97.5 百分位,FT4 大于或等于第 2.5 百分位但 FT4 小于或等于第 97.5 百分位,则诊断为亚临床甲状腺功能减低;TSH 大于或等于第 2.5 百分位但 TSH 小于或等于第 97.5 百分位,FT4 小于第 2.5 百分位,则诊断为低 T4 血症。抗-TPO>60 mU/L 为阳性。妊娠期 TSH 正常值参考范围 T1 期为 0.1~2.5 mU/L,T2 期为 0.2~3.0 mU/L,T3 期为 0.3~3.0 mU/L。FT4 保持在非妊娠妇女正常范围的上 1/3 水平。

1.3 方法 两组孕妇在妊娠早、中及晚期和产后 1 周进行采血,分离血清,检测血清中 TSH 浓度,血清中甲状腺激素的测定方法采用中国原子能科学研究院提供的试剂盒竞争性结合放射免疫分析法测定,并对比两组孕妇妊娠结局。配套试剂由

* 基金项目:广东省深圳市宝安区科技计划资助项目(2014304)。