DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.02.040

267: E342

6 Quinlan P T, Thomas A P, Armston A E *et al*. Measurement of the intramitochondrial volume in hepatocytes without cell disruption and its elevation by hormones and valinomycin. Biochem J, 1983; 241(2): 395

7 Thurattle G A, Adrados C, Ebbe S *et al*. Mean platelet volume. The need for a reference method. Am J Clin Pathol, 1984; 81: 769

(收稿: 1997-03-24;修回: 1998-01-20)

(编辑 张大春)

PCR检测尿液中乙肝病毒 DNA及意义

Using PCR to detect HBV-DNA in urine

李碧清* 邓光贵 (第三军医大学附属大坪医院检验科) 重庆, 400042

提 要 目的: 比较乙型肝炎病人血清及尿液中乙肝病素 DNA情况。方法: 经 EIA法检测证实 HBV感染阳性病人血清及尿液用毛细管 PCR法检测 HBV-DNA并再用 EIA法检测尿液 HBV标志。结果: 乙肝 5项检查 HBeAg阳性组、HBeAb阳性组、全阴性组血清中的 HBV-DNA阳性率分别为 92.5%、50%、14.3%;其对应尿液的 HBV-DNA阳性率分别为 33%、25%、0。结论: 血清 HBeAg阳性病人,血清和尿液中的 HBV-DNA阳性检出率高; HBeAg阴性、HBeAb阳性组的病人血清 HBV-DNA阳性提示血清 HBeAb阳性病人可能仍具传染性。

乙型病毒性肝炎是常见传染性疾病。文献报告血清中乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV-DNA)阳性,提示患者肝脏存在活动性乙型肝炎病毒(HBV)复制,并且有较高的传染性[1]。当血清中 HBV-DNA标志物阳性时,尿液中是否会同时检出 HBV-DNA尚未见报告。本研究对经酶免疫法(EIA)检测血清 HBsAg HBeAg HBcAb阳性及 HBV 5项标志全部阴性的病人,用 EIA法检测其尿液 HBV标志物和用聚合酶链反应(PCR)法检测其血清、尿液 HBV-DNA进行比较,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源

49例血清及 49例尿液标本来自 1995年 5月至 6月中旬我院门诊和住院病人,且血清和尿液为其对应标本。病人中男性 29例,女性 20例。最小年龄 12岁,最大年龄 71岁,大多数为 18~48岁。经 EIA法检测血清 HBsAg HBeAg HBcAb阳性者为 1组(简称 HBeAg阳性组); HBsAg HBeAb HBcAb阳性者 8例为 1组(简称 HBeAb阳性组); HBV 5项标志全部阴性 14例为阴性组。将 3组各自对应的尿液用同样的试剂 EIA法检测其 HBV标志。取血清、尿液标本不加防腐剂及时存放于冰箱冷冻室内保存待检测用。

1.2 方法

1.2.1 EIA法 试剂盒购于上海科华公司,批号为: 950425临界值血清由卫生部临检中心提供,批号为: 950612

1.2.2 PCR检测法 由空军总医院临床分子生物学研究室提供的毛细管 PCR试剂盒。引物是对 HBV core基因序列设计,扩增片段为 423 bp,能扩增所有亚型 HBV,在严格防污染条件下,按使用说明操作和判断结果。尿液取样 200μl,血清取样 100μl,反应体系在毛细管 PCR扩增仪(宝神电子技术公司)上循环 40次,产物用琼脂糖凝胶电泳,溴乙锭染色法紫外光检测[3]。

2 结果

2.1 PCR法检测 3组血清和尿液的阳性率,见表 1

表 1 PCR法检测不同人群血清和尿液 HBV-DNA的结果

组别	例数	血清 HBV-DNA阳性例数(%)	尿液 HBV-DNA阳性例数(%)
HBeAg阳性组	27	25(92.5)**	9(33.0)**
HBeAb阳性组	8	4(50.0)*	2(25.0)*
阴 性 组	14	2(14.3)	0(0)

*: $P<0.05$,**: $P<0.01$与阴性组比较

* 李碧清,女,47岁,副主任技师

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 PCR法与 EIA法检测 3组尿液 HBV-DNA阳性率,见表 2

表 2 PCR法与 EIA法检测不同人群尿液 HBV情况比较

组别	例数	PCR阳性例数 (%)	EIA阳性例数 (%)
HBeAg阳性组	27	9(33.0)**	2(7.4)
HBeAb阳性组	8	2(25.0)*	0(0)
阴性组	14	0(0)	0(0)

*: $P<0.05$,**: $P<0.01$与阴性组比较

3 讨论

3.1 HBV-DNA阳性率比较

EIA法检测血清 HBV的标志物为 HBeAg阳性组、HBeAb阳性组病人以及全阴性正常人的血清,其 HBV-DNA阳性率分别为 92.5% (25/27)、50% (4/8)、14.3% (2/14),与其他学者报告一致[1,2]。其对应尿液组的 HBV-DNA阳性率分别为 33% (2/27)、25% (2/8)、0 血清中的 HBeAg阳性组,血清和尿液中的 HBV-DNA检出阳性亦高,组间比较,血清、尿液 HBeAg阳性组与阴性组比较 $P<0.01$,相差非常显著; HBeAb阳性组与阴性组比较 $P<0.05$

3.2 方法学比较

本实验 PCR法检出了 HBeAg阳性中尿液 HBV-DNA阳性率 33%, HBeAb阳性组尿液中 HBV-DNA阳性率 14%,阴性组为 0 EIA法未能检出更多尿液中 HBV标志物,只检出 HBeAg阳性组中 2例 HBcAb阳性,证明 PCR法灵敏度高,较 EIA法更能有效地检出 HBV阳性病人尿中存在 HBV-DNA

3.3 PCR检测尿液中 HBV-DNA的意义

HBV-DNA阳性表明 HBV在体内复制,有传染性[1]。用 PCR法检出患者尿液中 HBV-DNA,则证明 HBV患者的尿液有传染性。由本实验资料表明当血中 HBeAg阳性时,其血清 HBV-DNA阳性率亦高,具有很好的相关性。由于 PCR手续麻烦、价格贵,若血清 HBeAg阳性,不必再用 PCR测血清中 HBV-DNA HBeAg阳性组的尿液 HBV-DNA33% 阳性; HBeAb阳性组其尿液中 HBV-DNA有 25%阳性,提示对 HBV阳性病人尿液注重防护措施。本实验中血清 HBeAb阳性的病人 HBV-DNA阳性在血清中占 50%,尿液占 25%。认为 HBcAb出现即表示该病人没有传染性这一看法值得商榷。

关键词 酶免疫法;聚合酶链反应;尿 /分析
中图法分类号 R446.122

参考文献

1 李小玲.乙型肝炎患者血清 HBV-DNA与 e系统的相关性.中华传染病杂志, 1994; 12(3): 176
2 陈述林.乙型肝炎血清学标志临床意义的再认识.国外医学:传染学分册, 1993; (2): 60
3 李建标,谭 津,相瑞馥等.毛细管 PCR技术在传染病快速诊断上的初步应用.中华微生物学和免疫学杂志, 1997; 17(2): 144

(收稿: 1997-05-21;修回: 1997-10-28)
(编辑 汪勤俭)

鞭毛染色法染色条件的探索

A modified method of flagellum staining

蹇 锐* 李芹阶 刘启富 陈 剑 (第三军医大学基础医学部微生物学教研室)重庆, 400038

提 要 目的:探索一套细菌鞭毛染色法的最佳化条件。方法:采用不同琼脂浓度的培养基中生长的变形杆菌,以不同菌液浓度制成涂片,染色,对比其在不同媒染剂、媒染时间、染色液和染色时间条件下的影响。结果:通过对不同染色条件进行优化筛选,确定了一套最佳条件。结论:改进后的染色法所需试剂少,染色时间短,操作简单,鞭毛着色清晰,重复性好。

细菌的鞭毛染色法在细菌学分类,微生物教学实验和一些细菌学诊断中,都是一种常用的染色技术。目

* 蹇 锐,男, 25岁,助理实验师,大专

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net