

## 用反向间接血球凝集试验检测 乙型肝炎表面抗原 (HB<sub>s</sub>Ag)

许健音 李 岩 谢彦博 王际彰 舒 潜

(北京生物制品研究所, 北京)

本文介绍一种快速、敏感、便于农村和基层单位使用的反向血凝检测 HB<sub>s</sub>Ag 方法: 人“O”型红血球经戊二醛固定, 鞣酸处理后, 用五种不同方法提纯的 HB<sub>s</sub>Ab/马血清致敏, 其中以 DEAE 纤维素层析-亲和层析法提纯的 HB<sub>s</sub>Ab/马抗体致敏效果最好, 效价最高可达 >1:4096。这种血球检测 HB<sub>s</sub>Ag 的特异性良好, 比对流免疫电泳法的敏感度提高 100—200 倍左右。

用琼脂扩散法、对流免疫电泳法、单相扩散法、反向血凝法、红血球免疫粘连等方法对 59 例各型肝炎及 119 名健康者血清(对流免疫电泳阴性者)作检出 HB<sub>s</sub>Ag 能力比较: 其中 59 份肝炎血清以放射免疫自显影法检出 HB<sub>s</sub>Ag 能力最高为 22/59 (37.2%), 反向血凝法次之为 16/59 (27.2%), 琼脂扩散法最低为 6.7% (4/59)。119 份正常人血清中以反向血凝法检出 HB<sub>s</sub>Ag 能力最高。

作者又将这种致敏红血球制成冻干诊断制剂, 对 310 名各型肝炎及 211 份献血员血清作红血球免疫粘连法、放射免疫自显影法、反向血凝法比较。结果表明, 3 种方法检测 HB<sub>s</sub>Ag 的敏感度相近, 各型肝炎 HB<sub>s</sub>Ag 阳性率分别为 62.6%、60.7%、63.5%, 以反向血凝法稍高。211 份献血员中 3 种方法 HB<sub>s</sub>Ag 的检出结果, 以红血球免疫粘连法最高。

自从 1964 年 Blumberg 发现乙型肝炎表面抗原(下称 HB<sub>s</sub>Ag)以来, 已有多种检测方法, 如双向琼脂扩散、对流免疫电泳、乳胶颗粒凝集试验、红血球免疫粘连试验和放射免疫测定等。这些方法中有的灵敏度较低, 如琼脂扩散和对流免疫电泳等; 有的需要特殊的仪器设备, 如放射免疫分析等; 为了更好地控制乙型肝炎的传播, 加强防治工作, 有必要研究灵敏度高、特异性好、操作方便和不需要特殊仪器设备的检测 HB<sub>s</sub>Ag 的方法。

反向间接血球凝集法(下称反向血凝), 是将抗体吸附在红血球的表面, 如有抗原抗体反应时, 红血球便发生凝集现象。它可以检测微量的抗原<sup>[1-6]</sup>。本文报道反向间接血凝制剂的制备和检测 HB<sub>s</sub>Ag 的试验结果。

### 反向血凝用 HB<sub>s</sub>Ag 诊断 血球的制备

#### 一、HB<sub>s</sub>Ab(乙型肝炎表面 抗原抗血清)的纯化方法

我们曾用 5 种不同方法纯化的 HB<sub>s</sub>Ab 致敏红血球, 选择适用于反向血凝的 HB<sub>s</sub>Ab, 方法如下。

##### (一) 纯化方法

1. 液相吸收-硫酸铵提纯-胃蛋白酶消化法。
2. 固相吸收-硫酸铵提纯-胃蛋白酶消化法。
3. 亲和层析-硫酸铵提纯法。

本文于 1975 年 9 月 16 日收到。

4. 亲和层析-硫酸铵提纯-胃蛋白酶消化法。

5. DEAE 纤维素层析-亲和层析法。

## (二) 操作步骤

1. HB<sub>s</sub>Ab/马血清: 以对流免疫电泳中 HB<sub>s</sub>Ag 与 HB<sub>s</sub>Ab/豚鼠及 HB<sub>s</sub>Ab/马血清形成的抗原抗体复合物(沉淀线)免疫马匹而得。抗 HB<sub>s</sub>Ag 的对流电泳效价为 1:256; 抗人血清蛋白杂抗体效价为 1:128。

2. 液相吸收: 上述 HB<sub>s</sub>Ab/马血清以 1:1 比例加入正常人血清于 37℃ 水浴吸收 1 小时后, 离心, 上清液经对流免疫电泳测定效价为 1:64, 无杂抗体。

3. 固相吸收: 取 HB<sub>s</sub>Ab/马血清, 以戊二醛固定的正常人血清 4 倍量吸收 1 份 HB<sub>s</sub>Ab/马血清。由于戊二醛化人血清有非特异吸附作用, 吸收后效价下降, 对流电泳测定 1:16—1:32, 无杂抗体。

4. 硫酸铵提纯法: 样品用生理盐水稀释 1 倍, 按液体量加入饱和硫酸铵至 40% 浓度, 于 4℃ 放置 2 小时后离心, 取沉淀透析至无残余硫酸铵, 再恢复至原体积, 加饱和硫酸铵至 33% 浓度, 离心取沉淀, 以少许生理盐水溶解沉淀, 透析至无残余硫酸铵为止。

5. 胃蛋白酶消化法: 100 毫升 HB<sub>s</sub>Ab/马血清经硫酸铵提取后, 获得丙种球蛋白 1.5—2 克, 溶于原量 1/2 的生理盐水, 在 0.1M 醋酸钠溶液中透析一夜, 以 1M 醋酸调 pH 至 4.5, 测蛋白浓度, 并将抗体用 0.1M pH 4.5 的醋酸缓冲液稀释至 10 毫克/毫升左右, 胃蛋白酶以 0.1M pH 4.5 的醋酸缓冲液配成 1% 浓度, 临用配制。于丙种球蛋白溶液中按每克蛋白加入 1% 胃蛋白酶 2 毫升, 摇匀置 37℃ 水浴 8 小时, 经常摇动。消化完了后, 用 0.5N 或 1N NaOH 调至 pH 8.0 左右, 以停止酶的活动。再按液体量加入饱和硫酸铵至 50% 浓度沉淀, 取

得丙种球蛋白, 透析除去铵离子及硫酸根离子后即可使用, 所得丙种球蛋白量为 1.5—2.0 克%。

6. 亲和层析法: HB<sub>s</sub>Ab/马血清经人血清蛋白亲和层析柱, 除去抗杂蛋白的抗体成分<sup>[7]</sup>, 提纯后的 HB<sub>s</sub>Ab/马血清对流免疫电泳效价为 1:128, 无杂蛋白抗体。亦曾用经 DEAE-纤维素层析法提纯的 HB<sub>s</sub>Ab/马的 IgG (即 A 峰, 见后) 作亲和层析, 吸收后的 IgG 蛋白质含量为 20 毫克/毫升, 对流免疫电泳效价为 1:128, 无杂抗体。

7. DEAE-纤维素离子交换层析法: 将 HB<sub>s</sub>Ab/马血清用生理盐水稀释一倍后, 加入饱和硫酸铵至 50% 浓度, 所得沉淀用 50% 的饱和硫酸铵洗涤一次, 透析除去铵离子和硫酸根离子后, 加生理盐水至原体积, 即为粗制 HB<sub>s</sub>Ab/马血清球蛋白部分, 其抗 HB<sub>s</sub>Ag 及抗人血清蛋白效价不变, 再按 Raynaud 法<sup>[8]</sup>用 DEAE-纤维素柱层析提取 IgG 及其他血清蛋白成分。即将 20 毫升 HB<sub>s</sub>Ab/马球蛋白(含蛋白质约 1 克)用 pH 6.4 的 0.0175M 磷酸钠缓冲液(P. B.)透析平衡过夜, 经 3000 转/分离心 20 分钟除去沉淀, 上清加到  $\phi 1.5 \times 47$  厘米的 DEAE 离子交换层析柱中, 该柱事先用 pH 6.4, 0.0175M 的 P. B. 流洗平衡。用同一 P. B. 流洗, 流洗速度 50 毫升/小时。在空体积中出现高而尖的 A 峰, 其后出现较平的 B 峰, 换 pH 4.4 的 0.05M P. B. S. (内含 0.02M NaCl) 流洗, 出现较高的 C 峰及拖尾的 D 峰, 再换 pH 4.4 的 0.1M P. B. S. (含 0.5M NaCl) 流洗, 出现较高的 E 峰(图 1)。将流洗液各管检测抗体活性, 结果如下: 抗 HB<sub>s</sub>Ag 及抗人血清蛋白活性均集中在 A 峰中, 其他各峰均无抗体活性。将 A 峰各管合并浓缩至 10—12 毫升, 对流免疫电泳效价为 1:256, 抗人血清蛋白效价为 1:128, 蛋白质含量为 20 毫克/毫升。A 峰

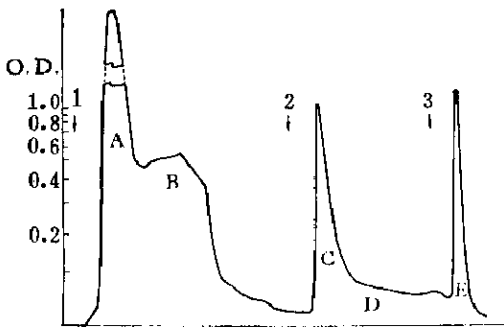


图1 HB<sub>s</sub>Ab/马血清 DEAE-纤维素柱层析洗脱图

注:  $\phi$  1.5×47 公分层析柱, 上柱样品量 20 毫升, 含蛋白质一克。箭头代表加缓冲液处, 图中 1 为 pH 6.4, 0.0175 M 磷酸钠缓冲液 (P. B. S.), 2 为 pH 4.4, 0.05 M P. B. S. (内含 0.02 M NaCl), 3 为 pH 4.4, 0.1 M P. B. S. (内含 0.5 M NaCl)。

为 IgG, B 峰为 IgG 与 IgA 的混合物, C 峰主要成分为 IgA, E 峰为铜蓝蛋白, 转铁蛋白及其他甲种球蛋白等<sup>[9]</sup>。

## 二、戊二醛固定红血球的方法

取新鲜的人“O”型红血球, 用生理盐水离心洗涤 3 次, 以 0.15 M pH 7.2 P. B. S. (磷酸缓冲盐水) 1% 戊二醛 (原浓度 25% 作为 100%) 配制成 2% 血球悬液, 4℃ 固定 30 分钟, 不时振摇, 然后以生理盐水及无离子水各离心洗涤 5 次, 最后用无离子水或 0.15 M pH 7.2 P. B. S. (加 0.01% 硫柳汞) 配成 10% 血球悬液, 4℃ 冰箱存放, 固定后的红血球, 一般可用半年。

## 三、致敏红血球的方法

10% 戊二醛固定的红血球悬液, 使用前以 0.15 M pH 7.2 P. B. S. 洗涤 1—2 次, 用 0.15 M pH 7.2 P. B. S. 配成 5% 血球悬液, 加入等体积 0.005% 的鞣酸溶液, 置 37℃ 水浴 15 分钟, 其间轻微振摇 1—2 次。然后用 P. B. S. 洗涤 3 次, 除去残余鞣酸, 最后换用 0.15 M pH 6.4 P. B. S. 配成 2.5% 血球悬液, 加入等体积抗体 (抗体亦用 0.15

M pH 6.4 P. B. S. 稀释), 一般致敏用的抗体浓度为 0.30—0.70 毫克/毫升。置 37℃ 水浴 30—45 分钟后致敏完毕, 用 0.15 M pH 7.2 P. B. S. 洗涤 1—2 次, 然后用含有 1—2% 灭能健兔血清的 0.15 M pH 7.2 P. B. S. 稀释成 25% 血球悬液, 即可使用。

## 四、反向血凝测定 HB<sub>s</sub>Ag 的方法

用 V 型或 U 型微量血凝板 (冻干血球用 V 型血凝板较好, 阴性对照容易观察, U 型血凝板阴性对照稍大, 不易观察)。以定量玻璃滴管每孔滴加 0.15 M pH 7.2 P. B. S. 或生理盐水一滴 (每滴 25 微升), 然后以微量定量 (25 微升) 稀释棒吸取待检血清, 在血凝板上作倍比稀释, 稀释完毕, 于每孔中滴加 2.5% 抗体致敏的红血球一滴 (25 微升), 放在微型血液震荡仪上振荡 1—2 分钟, 使两者充分混匀。放室温或 37℃ 1—2 小时后判读结果。按血球凝集程度分为: +, ++, +++ 及 +++, 不凝集者为阴性, 终点为 ++。结果为阴性者血球沉聚于孔中央, 周围液体十分清亮, 阳性 ++++ 者血球凝集成伞状, 铺于孔周; 阳性 +++ 血球呈伞状, 凝集直径略小于 +++, 常有卷曲翻边等现象。阳性 ++ 者血球凝集直径更小于 +, 且常有血球聚集在孔中, 周围液体不清等现象。

## 五、不同提纯方法制备的 HB<sub>s</sub>Ab 致敏红血球效果的比较

用上述五种方法提纯的 HB<sub>s</sub>Ab/马血清, 致敏红血球结果见图 2。其中以纯度最好的 DEAE 纤维素柱层析-亲和层析法提纯的抗体作反向血凝时效价最高 (>1:4096), 其他方法提纯的抗体致敏红血球作

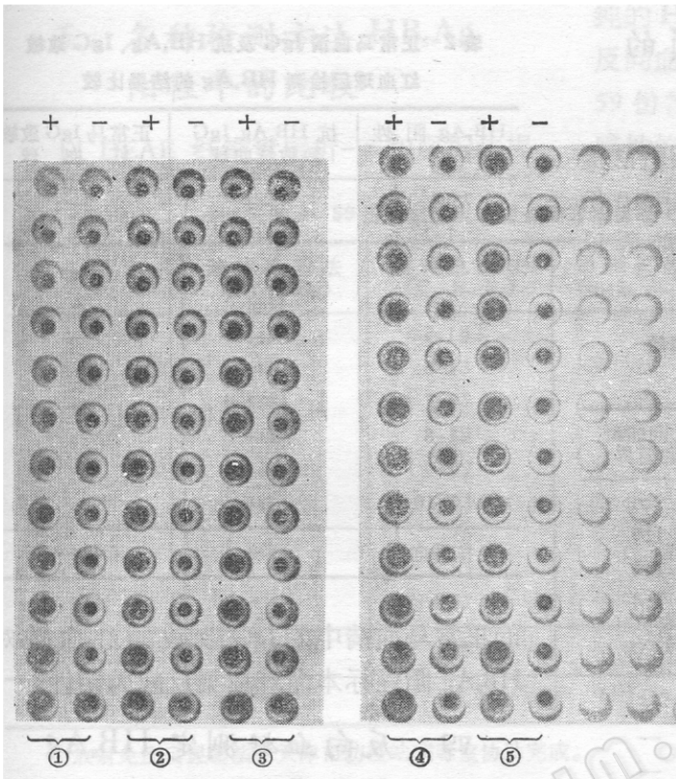


图2 五种不同方法制备的 HB<sub>s</sub>Ab 致敏红血球的结果

注: 1. 自左至右每行从下至上, 由 2 倍稀释开始, 连续稀释至末孔, 为 1:4096。2. 图中的①②③④⑤组代表用五种方法提纯的抗体致敏红血球的结果。3. 图中的(+)行, 为 HB<sub>s</sub>Ag 阳性血清稀释行, 对流免疫电泳效价为 1:16—1:32, (-)行为 HB<sub>s</sub>Ag 阴性血清稀释行。4. 图右两行为空板。

反向血凝时效价较差。

为了探讨抗体纯度对反向血凝试验的影响, 我们在经 DEAE 纤维素柱层析-亲和层析法提纯的 HB<sub>s</sub>Ab 中加入 DEAE-纤维素层析法制备的正常马血清 C 峰 (主要为 IgA), E 峰 (含铜蓝蛋白及甲种球蛋白等) 以及直接用 C 峰或 E 峰致敏戊二醛红血球, 结果见图 3。

图 3 说明马血清经 DEAE-纤维素层析后的 A、C、E 各峰中, E 峰的杂蛋白能影响反向血凝的结果。也就是于马的抗 HB<sub>s</sub>Ag 的 IgG 中(即 A 峰)加入一定量的 E 峰, 能使原来反应良好的血球发生自凝, 因而使 HB<sub>s</sub>Ag 阴性的正常人血清呈可疑阳

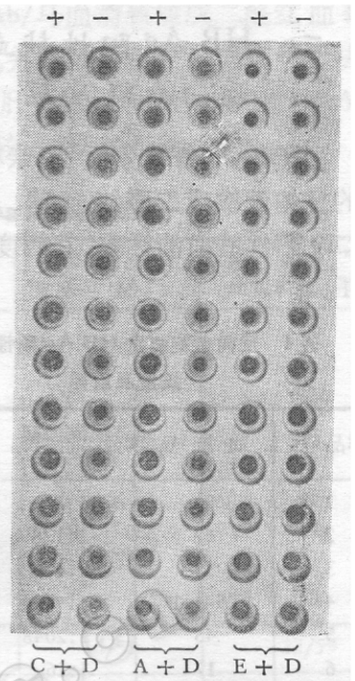


图3 正常马血清中各成份对反向血凝结果的影响

注: 1. 稀释度同图 2 中的注 1。2. A + D = 正常马血清 A 峰 + DEAE-纤维素层析-亲和层析后 A 峰抗 HB<sub>s</sub>Ag 抗体。C + D = 正常马血清 C 峰 + DEAE-纤维素层析-亲和层析后 A 峰抗 HB<sub>s</sub>Ag 抗体。E + D = 正常马血清 E 峰 + DEAE-纤维素层析-亲和层析后 A 峰抗 HB<sub>s</sub>Ag 抗体。3. 同图 2 中的注 3。阳性样品对流免疫电泳效价为 1:8。

性或阳性反应。这个现象是值得注意和进一步探讨的问题。

## 反向血凝检测 HB<sub>s</sub>Ag 的特异性和敏感度

### 一、健康人血清的反向血凝反应

取健康人血清 30 份(经放射免疫自显影法测定阴性), 以 DEAE 纤维素层析-亲和层析提纯的抗体致敏戊二醛红血球作反向血凝, 30 例中仅 4 例于稀释 2 倍时有小于 ++ 的非特异凝集反应外, 其余稀释度均为阴性。

## 二、HB<sub>s</sub>Ag 阳性献血员的 反向血凝反应

用 DEAE-纤维素层析,亲和层析法提纯的抗体致敏戊二醛红血球,测定 10 份 HB<sub>s</sub>Ag 阳性的血清标本,其滴度和前界见表 1。

表 1 反向血凝测定 HB<sub>s</sub>Ag 阳性血清的  
滴度及前界

样品号	血清号	反向血凝 滴度	反向血凝 的前界
1	80	1:64	1:4
2	42	>1:128	1:4
3	57	>1:128	1:4
4	75-1-1	>1:4096	1:4
5	46	1:2048	1:2
6	17	1:16	1:2
7	75-11	1:2048	—
8	75-12	1:512	—
9	75-13	1:512	—
10	75-14	1:4096	—

从表 1 的结果可见,用反向血凝测定 HB<sub>s</sub>Ag 阳性样品时,有时有前界,但滴度在 1:2—1:4 以下,一般前界管比后几管的血凝反应程度稍差,完全显示阴性的前界亦有,但非常少见。因此,根据阴性样品反向血凝的非特异与阳性样品的前界,判定 HB<sub>s</sub>Ag 的阳性及阴性应从第 3 个稀释度开始,即 1:4 以上才判定结果。

## 三、正常 IgG 与抗 HB<sub>s</sub>Ag、 IgG 致敏红血球的比较

用正常马血清的 DEAE-纤维素层析法 A 峰(IgG)致敏红血球,用这种血球作为对照与 HB<sub>s</sub>Ab/马血清(经 DEAE 纤维素层析-亲和层析的马抗 HB<sub>s</sub>Ag)致敏的红血球同时检测 HB<sub>s</sub>Ag 阳性标本结果如表 2。

表 2 说明,抗 HB<sub>s</sub>Ag、IgG 致敏于红血球与 HB<sub>s</sub>Ag 阳性标本产生血球凝集反应,

表 2 正常马血清 IgG 及抗 HB<sub>s</sub>Ag、IgG 致敏  
红血球后检测 HB<sub>s</sub>Ag 的结果比较

HB <sub>s</sub> Ag 阳性 样 品	抗 HB <sub>s</sub> Ag IgG 致敏红血球	正常马 IgG 致敏 红 血 球
75-1-1	++++	—
1-2	++++	—
1-3	++++	—
1-4	++++	—
1-5	++++	—
1-6	++++	—
1-7	++++	—
1-8	++++	—
1-9	++++	—
1-10	++++	—
兔抗马血清	++++	++++

而正常马血清中的 IgG 致敏的红血球对 HB<sub>s</sub>Ag 阳性标本血球凝集反应为阴性。

## 四、反向血凝测定 HB<sub>s</sub>Ag 的敏感性

已知对流免疫电泳 HB<sub>s</sub>Ag 阳性 15 份血清标本与反向血凝法敏感度的比较见表 3。

表 3 对流电泳法与反向血凝法检测 HB<sub>s</sub>Ag  
敏感度的比较

HB <sub>s</sub> Ag 阳性 献血员	对流电泳 滴度	反向血凝 滴度	滴度增加 倍数
1	1:32	>1:4096	>128
2	1:32	>1:4096	>128
3	1:32	>1:2048	> 64
4	1:32	1:2048	64
5	1:8	1:4096	>512
6	1:32	1:4096	>128
7	1:16	1:4096	>256
8	1:16	1:2048	128
9	1:8	1:256	32
10	1:8	1:2048	256
11	1:16	1:2048	128
12	1:8	1:512	64
13	<1:8	1:512	> 64
14	1:16	>1:4096	>256
15	1:32	1:2048	128

## 五、各种检测方法 HB<sub>s</sub>Ag 阳性率的比较

以 DEAE 纤维素层析-亲和层析法提

纯的 HB<sub>s</sub>Ab/马血清致敏戊二醛红血球作反向血凝,并与放射免疫自显影等方法,对 59 份各型肝炎患者血清作检出 HB<sub>s</sub>Ag 敏感性的比较,结果如表 4。

表 4 59 份各型肝炎患者各种方法检出 HB<sub>s</sub>Ag 阳性率比较

检测方法	琼脂扩散法 (D. I. D.)	对流电泳法 (C. E. P.)	单相扩散法 (S. I. R. D.)	反向血凝法 (RPHA)	放射免疫* 自显影法 (RIA)
HB <sub>s</sub> Ag  阳性病例号	19	4	4	1 40	1 28 55
	29	13	15	4 42	4 29 56
	42	15	19	13 46	5 34 57
	55	19	29	15 47	13 40 58
		29	40	16 51	15 42
		42	42	17 55	16 46
		46	55	19 57	17 47
		55	57	28	18 51
		57		29	19 53
占病人总数	4/59	9/59	8/59	16/59	22/59
%	6.7	15.2	13.5	27.2	37.2

\* 放射免疫自显影法由天津市防疫站病毒室协助完成。

表 4 结果说明,五种检测方法中,以放射免疫自显影法检出各型肝炎患者 HB<sub>s</sub>Ag 的阳性率最高,占 37.2%,反向血凝次之,占 27.2%,琼脂扩散最次,仅占 6.7%。

在 119 份健康血清样品中,放射免疫自显影与反向血凝法较对流电泳法能检出更多的 HB<sub>s</sub>Ag 阳性样品,即在对流电泳阴性样品中都有若干样品实际是阳性的。单相扩散板也有时能较对流电泳灵敏一些。从防治肝炎的重要性方面考虑,对流电泳法显然不能满足需要。

## 六、冻干血球的临床使用结果

用 DEAE 纤维素层析-亲和层析法提纯的 HB<sub>s</sub>Ab/马血清致敏戊二醛红血球,制成冻干 74-2 乙型肝炎抗原诊断血球,于北京 302 医院用三种敏感方法(放射免疫自显影法,红血球免疫粘连法,反向血凝法)对 310 份各型肝炎患者的血清检查 HB<sub>s</sub>Ag,与临床常规试验对流免疫电泳法比较阳性检出率,结果见表 5。

表 5 对流免疫电泳及三种敏感方法对各型肝炎及献血员 HB<sub>s</sub>Ag 的检出率

样 品	方 法	对流免疫电泳法	红血球免疫粘连法	放射免疫自显影法	反向血凝法
各 型 肝 炎	HB <sub>s</sub> Ag(+)/ 总人数	119/310	194/310	188/310	197/310
	%	38.3	62.6	60.7	63.5

从表 5 的结果看来,三种敏感方法的敏感度相近,其中反向血凝法 HB<sub>s</sub>Ag 的检出率略高于其他二法。对 211 份健康献血

员的血清也检查了 HB<sub>s</sub>Ag,三种敏感方法检出结果也相近。与对流电泳法比较,这三种方法 HB<sub>s</sub>Ag 的检出率高出近一倍。有

人报道,在迁延性及慢性肝炎患者的血清中 HB<sub>s</sub>Ag 含量较低,用对流电泳法检测时呈时阴时阳现象,而用敏感方法检测时,HB<sub>s</sub>Ag 的阳性率都达到 77% 以上。

## 讨 论

### 一、检测 HB<sub>s</sub>Ag 的三种敏感方法中,以反向血凝法敏感性高

从以上实验材料来看,三种敏感方法均能检出对流电泳法所不能检出的 HB<sub>s</sub>Ag。有人报道用对流电泳阴性而反向血凝阳性的血浆 10 份给健康者输入,发生了 4 例乙型肝炎<sup>[9]</sup>。因此,用敏感的反向血凝法取代目前常规检测 HB<sub>s</sub>Ag 的方法对防止临床输血后乙型肝炎有重大意义。

### 二、检测 HB<sub>s</sub>Ag 的三种敏感方法中,以反向血凝法较方便

放射免疫自显影法须用 I<sup>125</sup> 或 I<sup>131</sup> 标记抗体,需要特殊的仪器设备,广大农村基层无法办到,而且该法检测时间较长(2—3 天)。红血球免疫粘连法要求用新鲜的人“O”型红血球,试验时间亦长(6—8 小时),且手续繁多,不易推广。而 HB<sub>s</sub>Ab 致敏的红血球可冷冻干燥制成乙型肝炎抗原诊断血球,使用方法简便、快速、敏感,不需特殊仪器设备。冻干血球于室温放置十分稳定,易于运送,非常适合于农村基层使用。

### 三、提高抗体的纯度与效价是反向血凝试验成功的关键

以上实验表明,抗 HB<sub>s</sub>Ag/马血清无论经液相吸收,或以正常人血清用戊二醛作成固相进行吸收,经硫酸铵或胃蛋白酶消化法提纯,都能致敏戊二醛红血球。但这种抗体的纯度与效价较差,用它们作反向血凝时,不但阳性样品滴度低,且凝集像不好。有可能造成误诊或漏检。因此,这些提纯方法均不够理想。使用 DEAE 纤维素层析-亲和层析法提纯的抗体致敏红血球,则能使反向血凝检测 HB<sub>s</sub>Ag 的敏感度提高,凝集像良好。因此,它是一种比较好的提纯方法。

## 参 考 资 料

- [1] Kothryn, H. et al.: *Appl. Microbiol.*, 25: 524, 1973.
- [2] Reesink, H. W. et al.: *Lancet*, II:1351, 1973.
- [3] Hirata, A. A. et al.: *Proc. Soc. Exp. Med. Biol.*, 143:761, 1973.
- [4] Hallinger, F. B. et al.: *J. Inf. Dis.*, 128:753, 1973.
- [5] Dressmen, G. R. et al.: *Inf. & Imm.*, 5: 213, 1972.
- [6] Cayzer, L.: *Lancet*, I:974, 1974.
- [7] 北京生物制品研究所生化室诊断用品室: 微生物学通报, 第二卷, 第二期, 17 页, 1975.
- [8] Raynaud, M. et al.: *Ann. L'Inst. Past.*, 109:525, 1965.
- [9] Wallase, J. et al.: *Brit. Med. J.*, 2:412, 1975.

## THE DETECTION OF HB<sub>s</sub>Ag BY THE REVERSED PASSIVE HEMAGGLUTINATION

Xu Jianyin, Li Yan, Xie Yanbo, Wang Jizhang, Shu Jun

*(Beijing Institute of Biologicals, Beijing)*

A rapid, sensitive and simple method for detection HB<sub>s</sub>Ag, namely the reversed passive hemagglutination (RPHA) test, is described in this paper. Tannic acid treated and glutaraldehyde-fixed human type "O" red cells were sensitized by HB<sub>s</sub>Ab/horse serum. Different procedures of HB<sub>s</sub>Ab purification have been compared and the best result was obtained by DEAE-Cellulose ionexchange followed by affinity-chromatography. A maximum titer of  $>1:4096$  may be attained. The specificity of the test was quite satisfactory, while the sensitivity was 100—200 times over the method CEP.

For comparison, 59 serum samples from hepatitis patients were examined for HB<sub>s</sub>Ag using RPHA, DID, SRID, CEP, and RIA techniques. The HB<sub>s</sub>Ag positive rate by RPHA was 27.2% (16/59), whereas those by the other 4 techni-

ques were 6.7%, 13.5%, 15.2%, and 37.2%, respectively. In addition, 119 serum samples from healthy individuals (HB<sub>s</sub>Ag negative by CEP) were found to be the highest positive rate by the RPHA.

Furthermore, in order to make it available for the countryside and basic unit to serve the workers, peasants and soldiers, lyophilized preparations were made from the HB<sub>s</sub>Ab sensitized cells and tests were made against serum samples from 310 hepatitis patients and 211 blood donors using RPHA, IA and RIA. The results of the three sensitive methods were found to be comparable: Positive rates of the patients sera by RPHA, IA and RIA were 63.5%, 62.6%, and 60.7% respectively. The HB<sub>s</sub>Ag positive rate of the donors sera were found to be the highest by IA.