

应用固相放射免疫法检测特异性 IgM 抗体 进行甲型肝炎早期诊断

周葆华 魏江平 张春燕 郝素梅

(北京第二传染病医院肝炎研究室, 北京)

甲型肝炎病人从粪排毒期很短, 且常开始于血清转氨酶升高之前, 检测甲型肝炎抗原作诊断就有困难。实验室诊断甲型肝炎需要同时测定急性期与恢复期双份血清中的抗体(抗-HAV)滴度, 呈4倍以上升高才有意义, 但往往由于采血时间不合适, 不易作出诊断, 不能用于早期诊断。

本文用 HAVAB-M (美国 ABBOTT 试剂盒), 采用固相放射免疫 (SP-RIA) 法, 检测本院及北京友谊医院急性肝炎住院病人 76 例及正常人 9 例, 共 85 例血清中特异性甲型肝炎的 IgM 抗体 (抗-HA-IgM), 作为甲型肝炎早期诊断的依据。

材 料 和 方 法

(一) 材料

1. 血清标本: 收集两所医院 HBsAg 阴性急性肝炎病人单份血清标本 44 例, 双份血清 16 例, 住院急性乙型肝炎 (HBsAg 阳性) 16 例及正常人 9 例。

2. HAVAB-M (ABBOTT) 试剂盒: 山羊抗人 IgM (μ 链) 包被的聚苯乙烯珠, ^{125}I -抗-HAV, 甲型肝炎抗原 (HAVAg), HAVAB-M 阳性对照 (HBsAg 阴性) 及阴性对照血清, 稀释用缓冲液。

3. FJ-2003/50 型 γ 免疫计数器 (西安二六二厂出品)。

4. HBsAg 诊断血球 (北京生物制品研究所)。

5. 乙型肝炎核心抗原 (HBcAg): 由病人尸检肝脏提取, 滴度为 1:128 (IAHA 法)。

(二) 方法

1. 85 例血清标本中除前述的 16 例来自 HBsAg 阳性病人外, 其他均来自 HBsAg 阴性 (RPHA 法); 44 例单份血清, 16 例双份血清及 9 例正常人

血清的乙型肝炎核心抗体均 < 1:80 (IAHA 法)。

2. SP-RIA 法检测抗-HAV-IgM: 按 ABBOTT 试剂盒说明书操作, 采用双夹心法。① 各孔加待检血清 (1:4,000 稀释) 10 μl , 同时于另孔中加阴性对照血清 10 μl 。② 各孔加入山羊抗人 IgM (μ 链) 包被的珠一只, 混匀后置室温 2 小时, 吸出液体, 用蒸馏水洗 2 遍, 吸干。③ 各孔加入 HAVAg 200 μl , 置 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴培育 18—22 小时, 同上法洗 2 遍。④ 各孔加入 ^{125}I -抗-HAV 200 μl , 置 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴培育 4 小时, 同上法洗后置 γ 免疫计数器测其每分钟脉冲数 (cpm), 结果判断: 先求出阳性对照 cpm 平均值 (\bar{p}) 与阴性对照 cpm 平均值 (\bar{N}), 即 P/N 值需 ≥ 5 以上者, 再按以下公式求出每份待检血清临界值 (Cutoff), $\text{Cutoff 值} = \frac{PC\bar{X} + NC\bar{X}}{2}$, 待检血清 cpm 大于 Cutoff 值为阳性, 小于 Cutoff 值为阴性, 若待检血清 cpm 在 $\text{Cutoff} \pm 10\%$ 以内应重复试验。

结 果 和 讨 论

Locarnini 等报告在甲型肝炎病人早期血清 IgM 成份中发现 HAV 抗体以来^[1], 目前用于检测抗-HAV-IgM 的方法有 SP-RIA 及 ELISA 方法, 由于抗-HAV-IgM 在急性血清中出现早, 高峰升的快, 只需要单份血清就可作出诊断。

由表 1 可见, 44 例 HBsAg 阴性急性肝炎单份血清抗-HAV-IgM 总阳性率为 93.2% (41/44); 其中患儿 11 例全部阳性, 其中 1 例为发病后 45 天仍检测出 IgM 抗体; 33 例成人患者检出阳性率为 90.9%, 表明为甲型肝炎近期感染。

本文于 1983 年 10 月 17 日收到。

部份标本由北京友谊医院儿科收集, 特此致谢。

表 1 76 例急性肝炎病人及 9 例正常人抗-HAV-IgM 检测结果

病 例 类 型	年龄组 (岁)	发病天数 (天)	例数	抗-HAV-IgM(SP-RIA)			
				阳性数%		阴性数%	
HBsAg (-) 急性肝炎单份血清	1—4	3—45	11	11	100	0	0
	15—30	4—25	33	30	90.9	3	9.1
HBsAg (-) 急性肝炎双份血清 急性期 恢复期	3—25	3—22	16	16	100	0	0
		30—120	16	11	68.8	5	31.2
HBsAg (+) 急性肝炎	15—30	7—30	16	3	18.8	13	81.2
正常人血清	6—15		9	0	0	9	100

有 15 例 HBsAg 阴性急性肝炎病人急性期及恢复期双份血清检测抗-HAV-IgM, 结果急性期血清抗-HAV-IgM 全部为阳性, 而恢复期血清阳性率为 68.8%, 表明恢复期血清 IgM 抗体较急性期显著下降, 且其中 11 例双份血清 Cutoff 值急性期较恢复期高 2—7 倍; 恢复期血清 5 例阴性者, 均为发病后 3—4 个月时采血, 抗-HAV-IgM 消失, 符合 IgM 抗体消长情况。Flehmig 等观察到抗-HAV-IgM 于病毒感染过程的早期出现, 且大多数病例抗-HAV-IgM 滴度于黄疸出现后第二至三周达高峰, 于 1—2 个月迅速下降^[2]。

有 16 例 HBsAg 阳性急性肝炎在发病后 7—30 天采血检测抗-HAV-IgM, 仅 3 例为阳性 (18.8%)。说明甲型肝炎急性期 IgM 抗体出现早, 有明显升高, 而非甲型肝炎急性期 IgM 抗体无显著升高。证实检测抗-HAV-IgM 对早期诊断甲型肝炎的特异性。3 例抗-HAV-IgM 阳性者, 是否为甲、乙型肝炎双重感染或 HBsAg 携带者患急性甲型肝炎, 有待进一步研究。9 例正常人血清抗-HAV-IgM 全部阴性, 更证实本文检测方

法的特异性。

Duermeyer 认为, 用抗人 IgM 包被微量滴定板, 采用 ELISA 法检测 IgM 抗体时, 如果血清中存在类风湿因子及 IgG 抗体时, 可出现假阳性。若采用抗人 IgM (μ 链) 包被微量滴定板, 血清中类风湿因子及 IgG 抗体不会出现假阳性^[3]。我们用山羊抗人 IgM (μ 链) 包被聚苯乙烯珠, 选择性的与待检血清中 IgM 结合, 从而避免类风湿因子及 IgG 抗体的干扰。

本文报道应用 HAVAB-M (ABBOTT 试剂盒), 以 SP-RIA 法检测甲型肝炎病人及密切接触者, 可以作为早期诊断指标, 对甲型、乙型、非甲非乙型肝炎鉴别起重要作用。

参 考 文 献

- [1] Locarnini, S. A. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 5: 521, 1977.
- [2] Flehmig, B. et al.: *J. Inf. Dis.*, 140: 169, 1979.
- [3] Duermeyer, W. et al.: *Lancet*, 2: 684, 1978.