

研究快报

放射免疫法检测血清中 HBcAg

张守仁 曹立森 沙安莉 周瑞璋 戴杏英

(无锡市传染病医院)

乙型肝炎核心抗原 (HBcAg) 存在于完整的乙肝病毒颗粒 (即 Dane 颗粒) 的核心部份, 因其外层包有表面抗原组成的外壳, 故在外周血中不易测到 HBcAg。此外由于外周血中 Dane 颗粒的含量仅为表面抗原颗粒的千分之一。故要求检测方法具有高灵敏度及高特异性。我们通过摸索对比建立了较双抗体夹心法更为敏感的竞争法: 取待检血清 0.2ml, 加抗表面抗原抗体 (抗 HBs 100 μ l, 将包括 Dane 颗粒在内的表面抗原颗粒免疫沉淀, 经离心后, 将沉淀物用磷酸盐缓冲液 (PBS) 离心洗涤三次, 把残留的抗核心抗原抗体 (抗 HBc) 洗净。然后加开壳剂 50 μ l, 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟后再加 150 μ l PBS 和 125 I 标记的抗 HBc (125 I-抗 HBc) 3 万 CPM 左右。混匀后加 HBcAg 包被的聚苯乙烯小珠, 室温过夜, 用蒸馏水洗四遍, 洗去游离的 125 I-抗 HBc, 然后将小珠移到清洁管内作 γ 计数。结果判定: 以 N/S 比值大于 1.24 为阳性, N 为正常阴性对照血清的平均 CPM, S 为待测样品的 CPM。40 例健康献血员的平均 N/S 值为 0.99, SD = 0.083, $\bar{X} + 3SD = 1.24$, 作为本实验的界限值。方法学的摸索, 免疫沉淀所用抗 HBs 量, 以过量为好, 实验证明每 200 μ l 待测血清加入抗 HBs 100 μ l 为好。为清除上清及沉淀物中残留的抗 HBc, 本实验采用 PBS 洗涤三次, 可保证上清及沉淀物中无抗 HBc, 保证实验的顺利进行。所用 125 I-抗 HBc 的特异

性高, 与表面抗原 (HBsAg)、乙肝表面抗体 (抗 HBs)、乙肝 e 抗原 (HBeAg)、乙肝 e 抗体 (抗 HBe)、无交叉免疫反应。方法学的考核: 阳性血清 (32 P-HBV-DNA 探针测定血清中 HBV-DNA 阳性) 58 份测出 HBcAg 阳性 49 份, 敏感度为 84.48%, 假阴性率为 15.52%。HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBc 均为阴性的血清 28 份, HBcAg 测定阴性 27 份、阳性 1 份故特异性为 96.43%, 假阳性 3.57%。中和试验阳性、且重复试验总批内 CV 0.6%, 总批间 CV 为 5.2%, 均表明本文提供的测定 HBcAg 的方法敏感度及特异性均符合实用的要求。本实验将 HBcAg 的测定, 与 HBV 其他血清学标志作比较, 发现 HBeAg 阳性者 70% 为 HBcAg 阳性, HBsAg 阳性者其滴度在 1:2" 则 HBcAg 的阳性率为 40%, 抗 HBe 阳性者 10 例中 2 例 HBcAg 阳性。尤其值得注意的是肝功异常者 20 例中 HBcAg 阳性占 90%, 表明血清中 HBcAg 阳性常提示肝损害, 而且有报道经肝活检证实这点。血清内 HBcAg 的测定可反映 HBV 在肝内的复制信息, 尤其有利于观察疗效以及对预后的分析。HBcAg 阳性者预后差死亡率高。本文提供了一种有实用价值的 HBcAg 测定方法, 适合于临床普及推广应用, 为肝炎血清学检测的“二对半”充实为“三对”的测定, 提供了可能性。

[本文于 1987 年 6 月 8 日收到]