

# 甲型肝炎病毒感染后的IgM抗体反应

军事医学科学院微生物学流行病学研究所

张习坦 窦凤琴 朱明宝 吴小明 蒋豫图

近年来,由于检测甲型肝炎(以下简称甲肝)IgM抗体(抗-HAV IgM)技术的建立和发展,不仅使甲肝的早期诊断成为可能,而且有助于病毒性肝炎型别的早期鉴别。有关甲肝病人及HAV实验感染的黑猩猩的抗-HAV IgM反应已有一些作者作过报告<sup>[1-5]</sup>,本文介绍恒河猴实验感染甲肝病毒后抗-HAV IgM的反应,并报告甲肝爆发点中肝炎病人及其接触者和各种住院临床肝炎病人的抗-HAV IgM检测结果。

## 材料与方法

血清标本:①HAV实验感染的3只恒河猴的连续血清标本,3只恒河猴的代号及接种的毒株分别为:mmA-1系以本实验室自79-2号HA病人粪便提取的HAV(79-2株HAV)接种,mmA-2是用本实验室自甲肝病人粪便分离的80-4株HAV接种,mmA-3系以浙江人民卫生实验院提供的杭州甲1-A HAV接种,后者是从HAV实验感染的红面猴粪便分离的。②1979~1980年在3个甲肝爆发点收集的部分肝炎病人及其接触者的血清,病人血清皆采于急性期(发病后2~36天),接触者血清也系肝炎爆发期间采集。③1981年9~11月302医院部分住院肝炎病人的血清,急性肝炎病人的血清标本除2例来自发病后3个月外,其余皆采自发病后4~46天期间,慢性迁延性肝炎(CPH)病人的血清系在急性发作住院后不久采取的。

检测抗-HAV IgM的固相放射免疫试验方法(IgM-SPRIA)具体操作已在另文<sup>[6]</sup>详述,现仅将该方法的主要程序简介如下:以1:1,000稀释的羊抗人IgM血清包被聚乙烯微量试验板,每孔0.1毫升,室温过夜并洗涤后以

1%牛血清白蛋白PBS注满各孔,24°C孵育3小时,洗涤后,加待检血清稀释液0.1毫升于试验孔,每份标本用1或2孔,并同时做2孔阴性血清对照,37°C孵育2小时,经洗涤后再加入4个SPRIA单位的HA Ag 0.1毫升,4°C过夜孵育,次日洗涤后加入<sup>125</sup>I-抗-HAV IgG 0.1毫升(约30万cpm),37°C孵育3小时后再次洗涤,最后切下各孔置γ计数仪上分别测量剩余cpm,以被检标本cpm与阴性对照血清cpm的比值(P/N)≥2.2为抗-HAV IgM阳性。

其它检测方法:猴SGPT系首都医院检验科采用美国麦姆公司PACER自动检测仪检测,人SGPT正常值为7~2310。抗-HAV以SPRIA阻断法(SPRIA-BL)检测,抑制率≥50%为阳性;临床肝炎病人的HBsAg系302医院以RPHA检测。

## 结果

一、实验猴血清标本:图1表明,mmA-1接种HAV后连续血清的总抗-HAV(血清皆1:100稀释检测)、抗-HAV IgM(血清1:200稀释检测)和SGPT活性的检测结果(其粪便中能否排出HAV尚未最后证实)。可看出,在接种后21天,该猴SGPT明显增高并达峰值,而在前一周血清中已可检出抗-HAV IgM,但SGPT才略有增高。以后IgM抗体逐步升高,至接种后35天达高峰,但下降也极快,数天后即不能示出。以SPRIA-BL检测该猴总抗-HAV,接种后第4周才首次示出阳性,以后则持续上升,并在较长时间内维持在相对高的水平。另二只实验猴抗-HAV IgM的出现规律与mmA-1大致相似,但不完全相同:它们的抗

-HAV IgM水平较mmA-1为高,且持续的时间较久,一般在接种后2个月才不能检出(图2)。

清4个月左右采血)皆较前期血清有10倍以上的增高,表明抗-HAV IgM的检测结果是特异的。

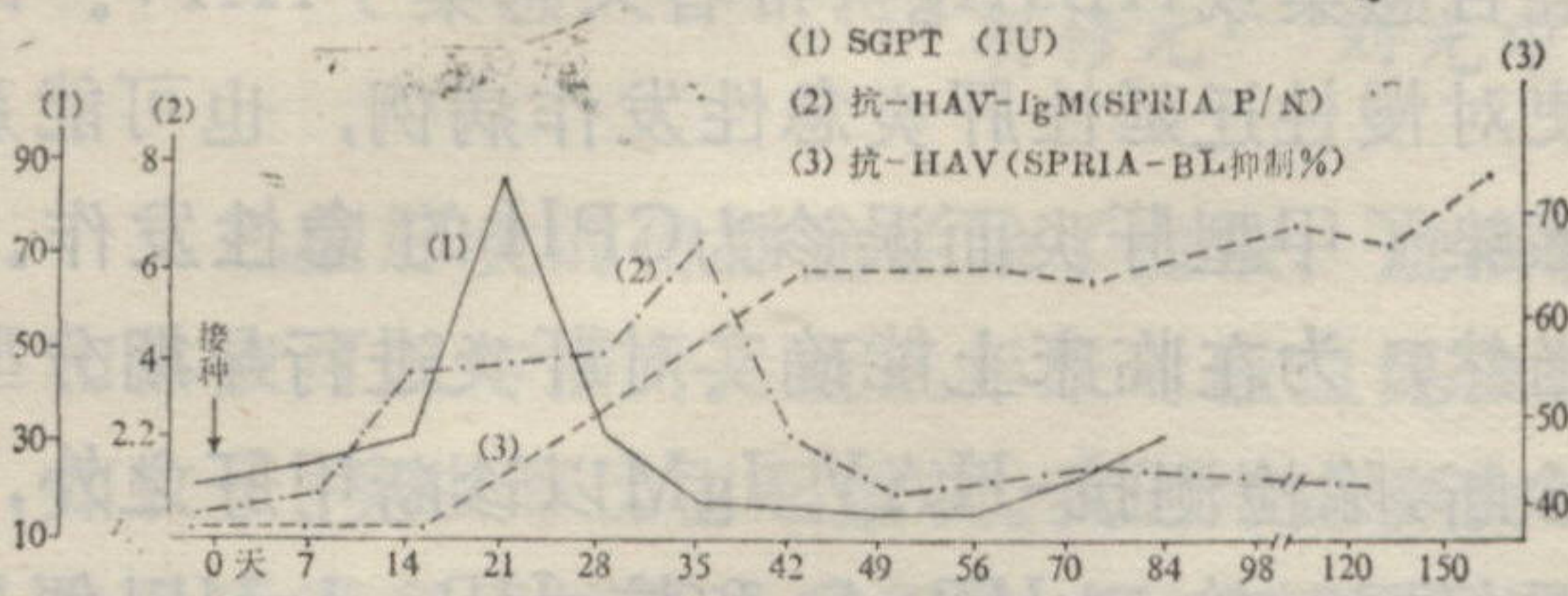


图1 恒河猴(mmA-1)接种HAV后血清中SGPT抗-HAV-IgM和抗-HAV的动态观察

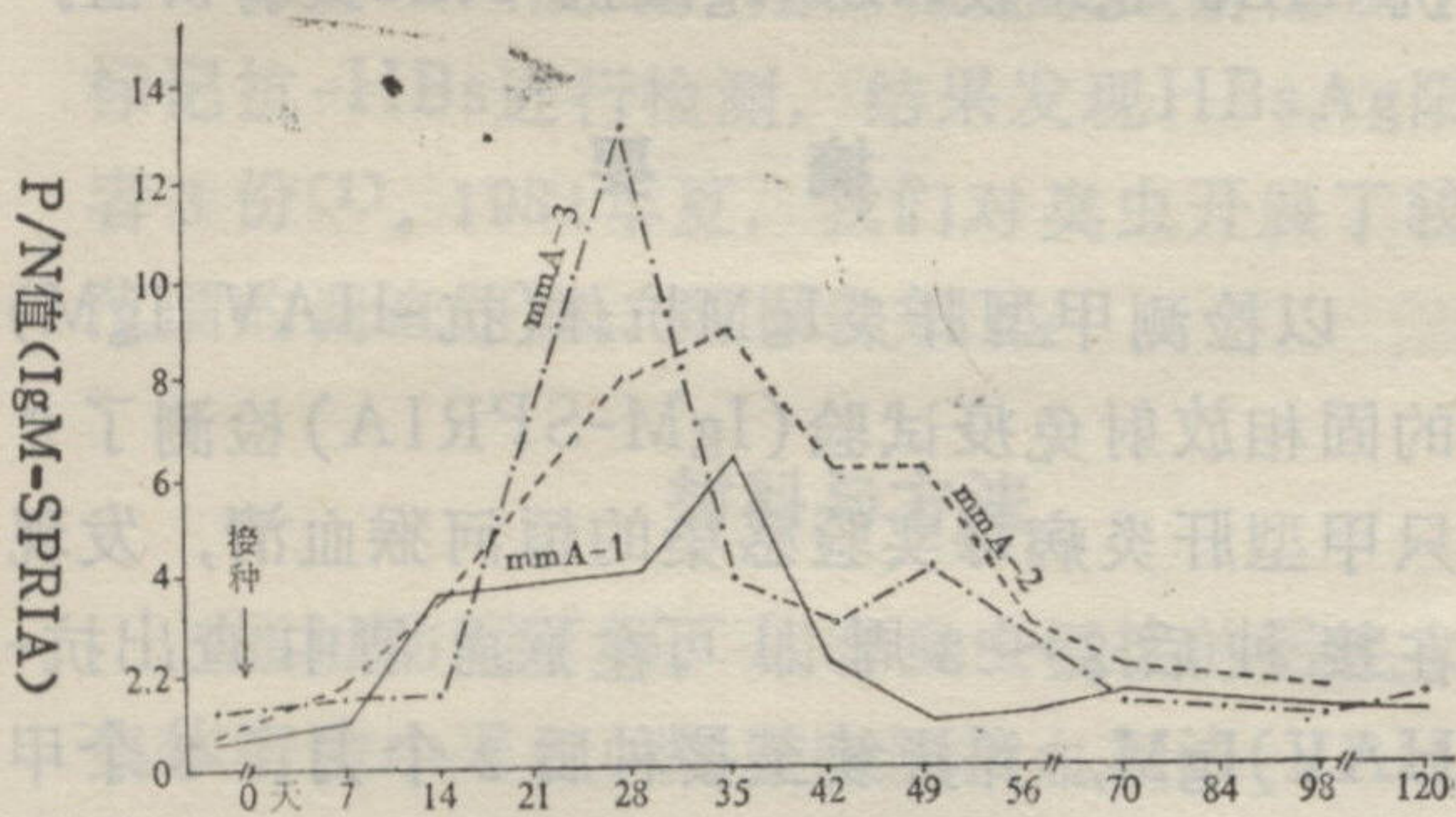


图2 HAV实验感染恒河猴的血清抗-HAV-IgM动态(用IgM-SPRIA)

二、爆发点人的血清标本检测结果:共检测了三个甲肝爆发点病人及其接触者83人的血清标本(血清皆按常规稀释1:1000检测),结果见表1。24例肝炎病人皆抗-HAV IgM阳性,证实为甲肝;40名SGPT升高而无症状的接触者中也有13人抗-HAV IgM阳性,提示为甲肝亚临床感染。为进一步考察其可靠性,曾对其中5人的双份血清以SPRIA-BL检测其总抗-HAV滴度,5人的后期血清(距前期血

表1 甲型肝炎爆发点肝炎病人及其接触者抗-HAV IgM检测结果

组别	例数	抗-HAV IgM阳性		抗-HAV IgM阴性	
		例数	P/N均值 (SD)	例数	P/N均值 (SD)
肝炎病人	24	24	8.08 (1.61)	0	—
SGPT升高而无症状的接触者	40	13	7.53 (4.0)	27	1.21 (0.28)
SGPT正常的接触者	19	0	—	19	1.17 (0.36)

三、临床肝炎病人血清标本:用IgM-SPRIA检测了90例临床肝炎病人的血清标本(皆1:1000稀释检测)。这90例病人,除1例新生儿肝炎外,按临床诊断可分为两大类:急性病毒性肝炎和慢性迁延性肝炎,前者又可根据HBsAg标记分为HBsAg阴性和HBsAg阳性两组。从表2看出,60例HBsAg阴性的急性肝炎病人中,有54例(90%)为抗-HAV IgM阳性,提示为甲肝;但在HBsAg阳性的病人中,也有一半多的病例(58.3%)为抗-HAV IgM阳性,表明系甲、乙二型肝炎的混合感染或是乙型表面抗原携带者又受了甲型病毒感染;而13例慢性迁延性肝炎中,也检出1例为抗-HAV IgM阳性(HBsAg和-抗HBc也皆阳性),提示该患者本次发病是因甲肝病毒感染。

表2 90名住院肝炎病人抗-HAV IgM检测结果

病例类型	例数	抗-HAV IgM阳性				抗-HAV IgM阴性			
		例数	采血时间 <sup>③</sup>	P/N均值	(SD)	例数	采血时间 <sup>③</sup>	P/N均值	(SD)
HBsAg(-)急性肝炎	60	54	4-44	8.65	(1.52)	6	8-41	0.96	(0.26)
HBsAg(+)急性肝炎	12	7	10-40	7.66	(3.50)	5 <sup>①</sup>	40-46	0.87	(0.21)
HBsAg(不详)急性肝炎	4	3	7-25	7.46	(1.25)	1	8	0.91	—
慢迁肝炎	13 <sup>②</sup>	1	—	9.89	—	12	—	0.95	(0.24)
新生儿肝炎	1	0	—	—	—	1	—	1.02	—
合计	90	65	—	8.50	(1.82)	25	—	0.94	(0.22)

注:①其中2例血清采自发病后3个月;②其中12例(包括抗-HAV IgM阳性1例为HBsAg阳性);③采自发病后天数。

### 讨 论

以血清中抗-HAV IgM的检测作为早期诊断甲肝的指标已得到公认。在从猕猴进行的HAV实验感染的研究中, 仅见有抗-HAV阳转的报告<sup>[7-9]</sup>, 未见检测抗 HAV IgM的资料。本文报告的3只HAV实验感染的恒河猴抗-HAV IgM检测结果, 虽然也符合在病人和实验感染HA的黑猩猩中观察到的抗-HAV IgM出现早、短期内达高峰、消退也快的规律, 但与前二者明显不同的是抗-HAV IgM的水平较低, 持续的时间更短。如在甲肝病人, Flehmig<sup>[1]</sup>报告在黄疸出现后1~3周抗-HAV IgM达高峰, 以后很快下降, 但在2~3个月内仍可维持在较高水平, 在感染后一年血清中仍可检出低滴度的抗体。徐志一<sup>[10]</sup>及我们也曾观察到甲型肝炎病人在发病之初血清中抗-HAV IgM滴度可达 $10^{-6}$ , 3个月时降至 $10^{-3}$ 左右, 4、5个月后一般降至 $10^{-3}$ 以下。在HAV实验感染的黑猩猩中, Hansson等<sup>[5]</sup>报告, 最早在接种HAV后19天, 一般在25天左右即出现抗-HAV IgM, 并很快达高峰, 一般持续3~4个月, 长者可达一年。显然, 前述恒河猴抗-HAV IgM的持续时间较人及黑猩猩都短。这或许表明恒河猴虽然感染了HAV, 但程度较轻。

前述甲肝爆发点病人及其接触者的检测结果不仅表明了IgM-SPRIA的特异性, 也表明其敏感性。用IgM-SPRIA检测抗-HAV IgM, 不仅可以早期确诊甲肝患者, 而且可以检出亚临床感染者, 这对甲肝的早期预防和治疗, 对于流行病学研究都有重要意义。由于本文中所查的对象仅系肝炎爆发点中一部分病例及其接触者, 加之对那些血清在1:1000稀释时检测抗-HAV IgM阴性的接触者, 未进一步检测其低倍稀释液, 故尚难以估计病例与亚临床或隐性感染的比例。

抗-HAV IgM的检测有助于临床肝炎病人的早期分型诊断。特别是对那些HBsAg阳性的急性肝炎患者, 以往一般皆诊断为乙型肝炎,

但实际上如前述12例HBsAg阳性的急性肝炎抗-HAV IgM检测结果所表明的那样, 其中有相当比例的患者为甲、乙二型病毒性肝炎的混合感染或HBsAg携带者又感染了HAV。即使对慢性迁延性肝炎急性发作病例, 也可能系感染了甲型肝炎而误诊为CPH的急性发作。当然, 为在临床上能确实对肝炎进行早期分型诊断, 除检测抗-HAV IgM以诊断甲肝之外, 最好同时检测HBsAg和抗-HBc IgM以便早期诊断出乙型肝炎, 因为对于乙肝的早期诊断, 抗-HBc IgM较HBsAg或抗-HBc更有价值。

### 摘 要

以检测甲型肝炎IgM抗体(抗-HAV IgM)的固相放射免疫试验(IgM-SPRIA)检测了3只甲型肝炎病毒实验感染的恒河猴血清, 发现在接种后2~3周即可在猴血清中查出抗-HAV IgM, 并持续至接种后2个月。3个甲型肝炎爆发点中的24名急性肝炎病人以IgM-SPRIA全部证实为甲型肝炎, 并在40名SGPT升高而无症状的接触者中示出13人为抗-HAV IgM阳性, 表明为亚临床甲型肝炎感染。另外, 还报告了90例各种临床肝炎患者的抗-HAV IgM检测结果, 在HBsAg阳性的急性肝炎患者中, 有58.3%的病人同时抗-HAV IgM阳性, 指明为甲、乙二型肝炎的混合感染; 另在12例HBsAg阳性的CPH病人中, 也有1例为抗-HAV IgM阳性。

### 参 考 文 献

1. Flehmig B et al: J Inf Dis, 140:169, 1979.
2. Yoshizawa H et al: Gastroenterology, 78:115, 1980.
3. Lemon SM et al Inf Immu, 28(3):927, 1980.
4. Bengt G et al: Scand J Inf Dis, 13:5, 1981.
5. Hansson BG et al: Scand J Inf Dis, 13:5, 1981.
6. 张习坦等: 用固相放射免疫试验检测甲肝IgM抗体, 内部资料, 1982.
7. Vyas GN et al: Viral Hepatitis Scand Printing, p25, Franklin Inst press, 1978. (转引)
8. 毛江森等: 中国科学, 6:765, 1981.
9. 郭杏英等: 中华微生物学和免疫学杂志, 1(2):84, 1981.
10. 徐志一: 用固相酶标记双夹心法检测甲型肝炎IgM抗体, 内部资料, 1981.