

检测唾液IgM抗-HAV诊断甲型肝炎的研究

浙江省杭州市卫生防疫站* 汪义和 张燕琴

杭州市第六人民医院 刘如星 邵芯仪 刘宝根

提要 本文采用检测唾液IgM抗-HAV来诊断甲型病毒性肝炎(甲肝)进行了研究。结果表明, IgM抗-HAV能可靠地在血清学证实的58例急性甲肝和9例甲乙混合感染的患者唾液中检出, 而不能在非甲肝患者其中包括34例急性乙肝和30例非甲非乙肝及10例健康人唾液中检出。证明采用唾液标本来诊断甲肝是特异的。唾液比血清更易获得, 这就为今后甲肝的诊断和流行病学调查提供了更有利的条件。

关键词 唾液诊断 IgM抗-HAV 甲型病毒性肝炎

检测血清IgM抗-HAV已广泛用于甲肝的诊断和流行病学调查^[1~4]。但在甲肝爆发流行中, 对患者的密切接触者采集血清标本, 尤其涉及小儿时, 有一定困难。因而降低了HAV感染的诊断率, 也影响到采取有效的控制措施。本文介绍一种用唾液检测IgM抗-HAV的ELISA, 具有血清检测同样的特异性和敏感性。现报告如下。

材料与方 法

一、对象和标本: 观察对象为杭州市第六医院收住入院的189例急性肝炎患者。入院后同时采集血清和唾液样品, 健康人唾液取自近期无肝炎史的本站职工。采集后均置低温冻存待检。

二、试剂和方法: IgM抗-HAV ELISA试剂来自唐山市卫生防疫站。检测唾液样品, 设3份近期无肝炎史唾液阴性对照和2份唾液阳性对照(经浙江省医学科学院甲肝实验室提供的标准品标化)。其余操作步骤和结果判定均与血清检测相同, 按说明书进行。IgM抗-HBc检测试剂来自北京生化免疫试剂中心, 方法按说明书。

结 果

一、唾液稀释度的确定: 取血清IgM抗-

HAV阳性患者唾液10份, 按下列稀释后, 加入ELISA检测系统中, 最后读取OD值, 其结果见表1。原倍唾液与血清结果一致, IgM抗-HAV均为阳性。但随着唾液的稀释, 其OD值和T/N值均逐步下降, IgM抗-HAV阳性检出率也明显减低。12例临床诊断为急性甲肝患者同时采集的血清和唾液, 唾液为原倍, 血清经常规1:1000稀释, 一并加入同一检测系统。结果指出, 两者的反应强度(OD值和T/N值)基本一致(附图)。说明原倍唾液用于检测是合适的, 故确定后面的实验, 唾液标本均采用原倍加入。

二、唾液和血清样品IgM抗-HAV阳性检出率比较: 对189例急性病毒性肝炎患者同时采集的唾液和血清样品, 采用ELISA同时检测IgM抗-HAV, 其结果见表2。血清IgM抗-HAV阳性率为39.7%(75/189), 而唾液阳性率为35.4%(67/189), 基本一致, 但血清阳性的75份中, 唾液阳性67份, 阴性8份。此8份阴性唾液, 后经浙江医科院提供的IgM抗-HAV ELISA试剂检测仍为阴性。查采样距发病日期, 其中5例超过1个半月, 可能为体内IgM抗-HAV浓度较低, 血清尚能检出, 而唾液已降至无法查出。血清阴性的114份中, 唾液全部阴性。两者总符合率为95.8%(181/189)。

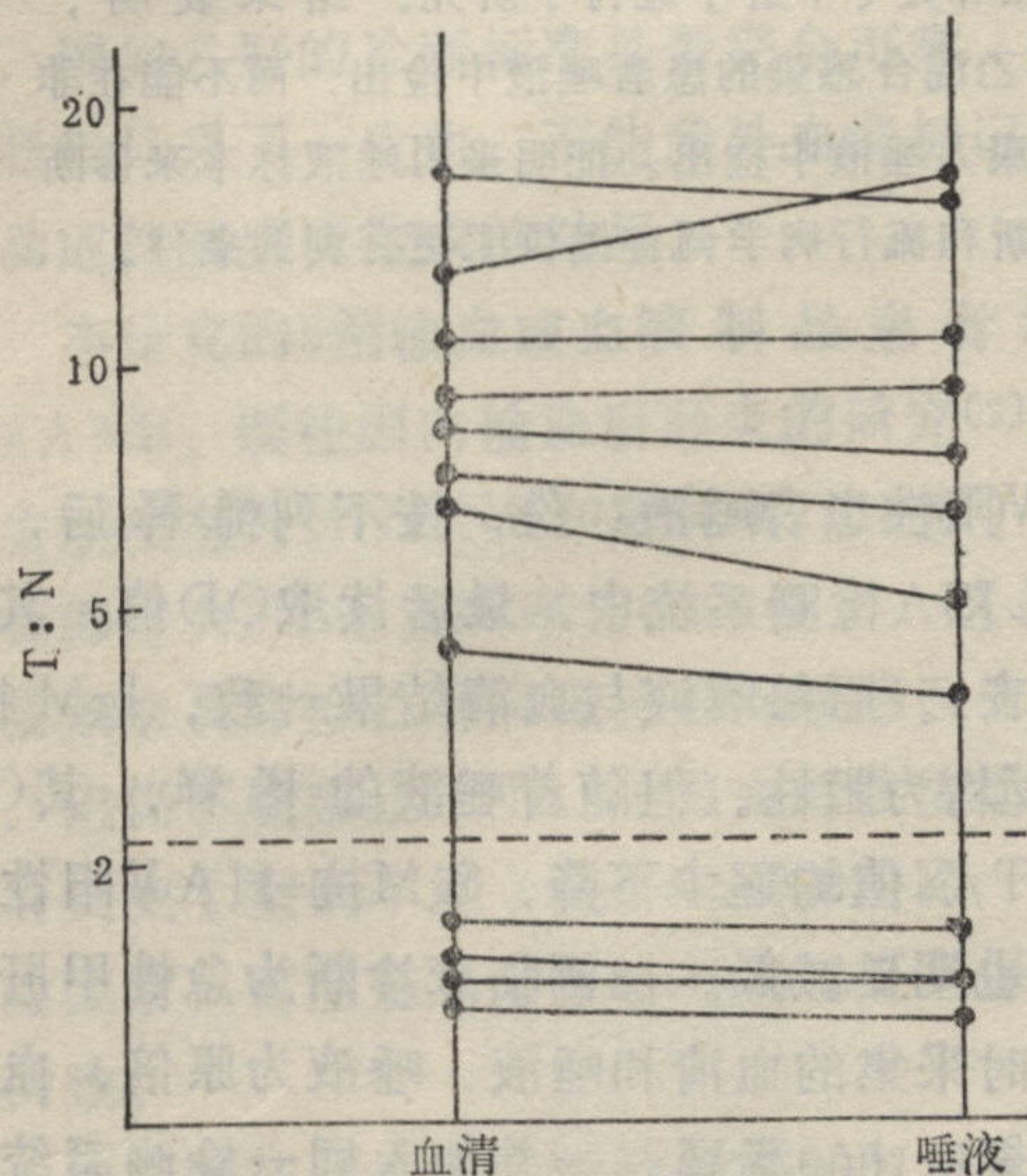
* 邮政编码 310006

表1

不同稀释度唾液样品IgM抗-HAV检测结果

	稀 释 度 (1:)			
	1	5	10	20
平均OD值	0.40(0.20~0.83)	0.21(0.06~0.48)	0.18(0.06~0.47)	0.08(0.05~0.18)
平均T/N值*	6.69(3.33~13.81)	3.50(1.00~8.00)	3.01(1.00~7.83)	1.41(0.83~3.00)
阳性检出率	10/10	7/10	5/10	2/10

* T/N为检测样品与阴性对照平均OD值之比



附图 12例急性甲肝患者同时采集的唾液和血清T/N值

若以血清结果为标准, 则唾液的敏感性为89.33% (67/75), 特异性为100.00% (114/114)。

三、各型肝炎唾液IgM抗-HAV检测结果: 189例急性肝炎经血清学检测, 将其分为急性甲肝(IgM抗-HAV阳性)66例、急性乙肝(IgM抗-HBc阳性)84例、甲乙混合感染

表2 189例急性肝炎患者唾液和血清IgM抗-HAV检测结果

	血 清		合 计
	+	-	
唾 液	67(89.33)	0(0.00)	67(35.45)
液 阴	8(10.67)	114(100.00)	122(64.55)
合 计	75(39.68)	114(60.32)	189(100.00)

(IgM抗-HAV和IgM抗-HBc均阳性)9例及非甲非乙肝(IgM抗-HAV和IgM抗-HBc均阴性)30例。上述各型肝炎和健康人唾液IgM抗-HAV检测结果见表3。血清学诊断为急性甲肝的66例, 唾液IgM抗-HAV阳性58例。血清学证实为急性乙肝的84例, 唾液IgM抗-HAV全部阴性。血清学检测IgM抗-HAV和IgM抗-HBc均阳性的9例甲乙混合感染, 唾液IgM抗-HAV全为阳性, 后经IgM抗-HBc检测也均为阳性。血清检查IgM抗-HAV和IgM抗-HBc均为阴性的30例非甲非乙型肝炎, 唾液IgM抗-HAV均为阴性。10例健康人唾液亦未检出IgM抗-HAV, 说明用唾液标本来诊断甲肝是特异的。

表3

各型肝炎唾液IgM抗-HAV检测结果

唾液分组(份数)	阴 性			阳 性		
	例数(%)	平均T/N	SD	例数(%)	平均T/N	SD
急性甲肝(66)	8(12.13)	1.84	0.35	58(87.87)	7.34	2.17
急性乙肝(84)	84(89.29)	1.43	0.37	—	—	—
甲乙混合(9)	—	—	—	9(10.71)	5.85	1.34
非甲非乙(30)	30(100.00)	1.52	0.38	—	—	—
健康人(10)	10(100.00)	1.27	0.34	—	—	—

讨 论

最近, Parry等^[5]采用放射免疫检测方法对唾液中甲肝和乙肝抗体进行了研究, 结果表明唾液中有相当高的IgM抗体水平, 对急性甲肝和乙肝的诊断及爆发点的流行病学调查有很高的实用价值。

本组资料采用ELISA, 通过对患者和健康人血清和唾液的比较检测, 证明IgM抗-HAV只能在血清学证实的58例急性甲肝和9例甲乙型混合感染的患者唾液中检出, 而不能在非甲肝患者, 其中包括75例急性乙肝和30例非甲非乙肝以及10例健康人唾液中检出。表明采用本法检测唾液IgM抗-HAV来诊断甲肝是特异的。但在血清学证实的66例急性甲肝中, 8例唾液IgM抗-HAV阴性, 说明用唾液来诊断甲肝, 其敏感性低于血清, 可能会出现一些假阴性。

在本ELISA检测系统中, 当唾液标本采用原倍加入时, 与同时采集的血清相比, 不仅IgM抗-HAV阳性检出率基本一致, 而且ELISA的反应强度也大致相似。Parry等^[5]认为, 这种情况是不奇怪的, 因为这种反应只与IgM抗-HAV总比例有关, 而与其绝对浓度关系不大。由于唾液IgM均来自血浆, 如果唾液标本含有足够的IgM可占据固相上所有抗IgM结合位点, 那么其反应强度就与同时采集的血清很相似。在我们的实验中, 选定唾液稀释度为原倍, Parry等^[5]在其检测系统中唾液选用1:10稀释, 可能是由于作者采用的放射免疫检测系统比本ELISA系统更敏感所致。

因为唾液比血清更易被获得, 尤其是小儿。这就为甲肝爆发流行的调查、采取有效的控制措施及检查控制效果提供了更有利的条件。因为采集唾液标本无任何痛苦, 患者愿意合作。调查人员可扩大调查范围, 可不只是限于病人最密切接触者。我们相信, 唾液检查会产生新的流行病学资料, 如弄清多年来争议的

HAV感染黄疸与非黄疸、显性与隐性感染患者比例问题及用小量免疫球蛋白来控制甲肝爆发流行的效果问题。

本资料对其它病毒性疾病的诊断和流行病学调查也将会有一定的参考价值。

Study on Diagnosis of Hepatitis A by Testing Salivary IgM Anti-HAV Wang Yihe, et al., Hangzhou Health and Anti-epidemic Station, Zhejiang Province

The use of salivary samples to diagnose acute hepatitis A was investigated. Result indicated that IgM anti-HAV can be reliably detected in saliva of 58 cases with acute hepatitis A and 9 cases with mixed infection of hepatitis A and B. It is not present in saliva of individuals without recent hepatitis A including 84 cases with acute hepatitis B, 30 cases of hepatitis non A non B and 10 healthy individuals. It was suggested that use of salivary samples to diagnose hepatitis A was specific.

It's concluded that saliva is a convenient and satisfactory alternative to serum for the clinical diagnosis and epidemiological investigation of hepatitis A infection.

Key words Salivary diagnosis IgM anti-HAV Hepatitis A

参 考 文 献

1. Flehmig B, et al. A solid-phase radioimmunoassay for detection of IgM antibodies to hepatitis A virus. *J Infect Dis* 1979; 140: 169.
2. Moller AM, et al. Detection of immunoglobulin M antibodies to hepatitis A virus by ELISA. *J Clin Microbiol* 1979; 10(5): 628.
3. 汪义和, 等. 甲型病毒性肝炎早期诊断—ELISA法检测特异性IgM抗体的研究. *中华流行病学杂志* 1985; 6(2): 88.
4. 孙炳麟, 等. 杭州市病毒性肝炎分布特征及其防制对策的研究. *中华流行病学杂志* 1990; 11(1): 12.
5. Parry JV, et al. Diagnosis of hepatitis A and B by testing saliva. *J Med Virol* 1989; 28: 255.

(1990年11月22日收稿, 1991年3月5日修回)