

# 抗幽门螺杆菌抗体检测标准系统的建立 及其在流行病学中的应用

张建中 陈晶晶 蒋秀高

由于幽门螺杆菌 (*H. pylori*, Hp) 人群感染率高, 在正常人群中往往也存在一定的抗 Hp 抗体滴度, 在抗体测定中因选择的阴性参考血清不同, 各检验单位间的资料没有可比性, 同时也不利于病人抗 Hp 治疗后对其抗体滴度变化的观察。本实验在大量人群资料和实验室资料的基础上, 确定了抗 Hp 尿素酶抗体检测中的阳性判断界值, 建立了此抗体检测标准系统, 完成了标准阳性血清中特异性抗 Hp 尿素酶抗体的定量工作。

## 一、材料和方法:

1. 材料: 抗 Hp 抗体阳性及阴性血清各 50 份, 经实验室酶联免疫吸附实验 (ELISA) 和免疫印迹分析 (Western blots) 证实。10736 份其它血清采自北京和河南的四个人群现场。Hp 尿素酶抗原 (HpU) 由本实验室分离纯化。酶标板采用美国 Linbro/Titertek 酶标板。IgG 标准品购自百泰生物技术公司, 为日本北里研究所产品, IgG 含量为 1550mg/dl。参考血清由多份抗 Hp 抗体阳性血清混合而成。

## 2. 方法:

(1) 用  $6\mu\text{g}$  HpU/孔包被酶标板, 用常规 ELISA 方法测定各血清中的抗 Hp 抗体, 用 Linbro/Titertek 酶标仪读取各孔吸光度 (A) [旧称光密度 (OD) 下同], 用参考血清作板间校正后, 用 Fox pro 及 EPI 软件对结果进行分析处理, 确定血清抗 Hp 菌 IgG 抗体检测结果与临床 Hp 菌感染的高符合率判断界值。

(2) 用  $100\sim 0.001\mu\text{g}$  IgG 标准品/孔不同浓度包被酶标板 (每种浓度包被 3 孔), 用 ELISA 方法测定 IgG 标准品的结合量, 观察 IgG 标准品可全部结合时的适宜包被浓度及 IgG 标准品包被量与吸光度 (A) 间存在线性关系的范围。

(3) 用过量抗原 ( $300\mu\text{g}$  HpU/孔) 包被酶标板, 将参考血清按 1: 20~1280 倍比稀释后, 用常规 ELISA 方法测定各稀释血清中的抗 HpU 抗体 (每滴度测定 6 孔), 用 Linbro/Titertek 酶标仪读取各孔吸光度 (A), 绘制不同滴度与吸光度 (A) 间的相关曲线, 在 IgG 标准品包被量与吸光度 (A) 间存在线性关系的范围内, 采用三点计算参考血清中抗 HpU 特异性抗体的含量, 并按其均值推算标准阳性血清中特异性抗 HpU 抗体的含量。

二、结果: 统计结果显示, 用参考血清吸光度 (A) 的 0.77 倍 [即将参考血清稀释 3.74 倍时的吸光度 (A)] 作为判断待测血清的阳性标准时, 达到最高的检测符合率, 此时对 100 份抗幽门螺杆菌抗体阳性及阴性血清的检测符合率为 100%。

IgG 标准品可全部结合时的适宜包被浓度为  $\leq 0.2\mu\text{g}$  IgG 标准品/孔, IgG 标准品包被量与吸光度 (A) 间存在线性关系的范围为包被浓度为  $0.2\sim 0.01\mu\text{g}$  IgG 标准品/孔。

在 IgG 标准品包被量与吸光度 (A) 间存在线性关系的范围内, 采用三点进行参考血清中抗 HpU 特异性抗体的含量测定结果分别为 239、248 和  $248\mu\text{g}/\text{ml}$ , 平均  $245\mu\text{g}/\text{ml}$ 。依此计算得出标准阳性血清中特异性抗 HpU 抗体的含量为  $66\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

本实验在大量人群资料和实验室资料的基础上, 建立了抗幽门螺杆菌血清抗体诊断标准, 并在国内抗幽门螺杆菌尿素酶抗体检测中首次采用判断界值技术, 完成了标准阳性血清中特异性抗幽门螺杆菌尿素酶抗体的定量工作, 不但使检验过程更加稳定, 使各检验单位的资料具有可比性, 也使基层单位应用目测判断结果也能达到检验要求。此标准系统用于慢性胃炎和消化性溃疡的协助诊断及流行病学调查, 在北京天坛医院、友谊医院、北京肿瘤研究所、首都儿科研究所及广东、江西、河北、内蒙、河南等地的应用取得了良好的效果。

作者单位: 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 北京 102206

本课题为国家自然科学基金和卫生部青年基金资助项目

(收稿: 1995-08-10 修回: 1995-09-05)