

用抗人 IgM( $\mu$  链)单克隆抗体早期诊断风疹病毒感染\*

龚镇奎 黄鹤 骆林 肖红雨

(湖北省医学科学院病毒所, 武汉 430079)

R511.204

关键词 抗人 IgM( $\mu$  链), 单克隆抗体, 风疹病毒感染, 间接 ELISA, 诊断

风疹病毒(Rubella virus)感染引起风疹, 该病一般症状较轻, 有的甚至不出现明显症状, 预后良好。但孕妇受感后, 病毒可经血液通过胎盘感染胎儿, 除引起流产、早产或死胎外, 活产者大约有 20% 表现先天性风疹综合症, 导致先天畸形<sup>[1]</sup>。因此, 对风疹病毒感染的早期诊断与优生优育、提高出生人口素质有极为重要的关系。本研究用抗人 IgM( $\mu$  链)单克隆抗体(McAb)作标记抗体, 采用间接 ELISA 检测血清中抗风疹病毒特异性 IgM 抗体, 进行早期诊断, 结果报道如下。

## 材料与amp;方法

## 1 病毒抗原

将风疹病毒(Gos 株)接种到 BHK<sub>21</sub> 细胞, 按文献<sup>[1]</sup>制备粗制抗原。用 Tween-80 和乙醚灭活处理, 经差速离心和甘油梯度离心制备纯化的病毒抗原。

## 2 酶标抗体

用分泌抗人 IgM( $\mu$  链)McAb 的杂交瘤细胞株<sup>[2]</sup>按常规制备腹水抗体, 用辛酸-硫酸胺沉淀法<sup>[3]</sup>纯化, 采用辣根过氧化物酶过碘酸氧化法标记<sup>[4]</sup>。

## 3 血清样品

风疹流行区易感人群的血清 68 份, 其中 28 例双份血(采血时间相隔 25~30 d), 12 例单份血; 麻疹阳性血清 12 份; 弓形虫阳性血清 9 份; 巨细胞病毒阳性血清 4 份; 正常人血清 150 份。

## 4 IgM 抗体检测

将纯化的风疹病毒抗原按本所常规<sup>[5]</sup>包被酶标板。每孔加入样品稀释液 100  $\mu$ L, 分别取血清样品 1  $\mu$ L 加入各孔, 同时作阳性, 弱阳性, 阴性和空白对照各 1 孔。37  $^{\circ}$ C 保温 30 min, 洗板 5 次, 拍干。每孔加入酶标抗体 100  $\mu$ L(空白孔不加), 37  $^{\circ}$ C 保温 30 min, 洗板拍干后, 加底物溶液, 37  $^{\circ}$ C 显色 15 min, 观察结果。结果判断: 当阴性孔 OD  $\leq$  0.1; 弱阳性孔 OD 在 0.2~0.3 之间, 且弱阳性 OD/阴性 OD  $\geq$  2.1 时, 结果可信。样品孔显色深于弱阳性孔则判为阳性, 反之为阴性。

## 5 验证试验

- 5.1 将急性期(第 1 份血)检测为 IgM 阳性的双份血进行抗风疹病毒 IgG 检测, 是否有 4 倍以上增长。
- 5.2 将检测为 IgM 阳性的血清用 2-巯基乙醇处理。
- 5.3 用风疹病毒抗原 37  $^{\circ}$ C 中和 30 min 后, IgM 是否转阴。

收稿日期: 1997-04-23, 修回日期: 1997-06-09

\* 本课题为湖北省科委资助的“九五”重点攻关项目

## 结果与讨论

### 1 风疹病毒特异性 IgM 检测

结果见表 1, 风疹流行区易感人群血清(A)的阳性检出率为 51.5%, 显著高出正常人群(E)6%的阳性检出率。其他 3 类(B、C 和 D)25 份血清中, 除 1 例麻疹阳性血清检出风疹 IgM 阳性外, 其余均为阴性。

### 2 验证试验结果

从 28 例双份血中选出 8 例急性期 IgM 阳性和 4 例(1、3、14 和 15)双份血均为阴性的血清进行抗风疹病毒 IgG 的检测, 结果 8 例急性期 IgM 阳性者其 IgG 抗体滴度恢复期(第 2 份血)均比急性期有 4 倍增长, 而 4 例双份血均为 IgM 阴性者 IgG 都未出现 4 倍增长。将 IgM 阳性血清用 2-巯基乙醇处理和用风疹病毒抗原中和后均转为阴性(见表 2)。

表 1 抗风疹病毒 IgM 抗体检出结果

Table 1 The Detecting result of anti-Rubella virus IgM antibody

血清分类	检测血清份数	抗风疹病毒 IgM 阳性份数(%)
Serum classified	No. of sera tested	Anti-Rubella virus IgM positive (%)
A	68	35(51.5)
B	12	1(8.3)
C	9	0(0.0)
D	4	0(0.0)
E	150	9(6.0)

表 2 验证试验结果

Table 2 The result of verification test

血清序号 No. of serum	IgM	IgG				2-巯基乙醇处理后 After treatment with 2- mercapto ethanol	风疹病毒抗原中和后 After neutralization with Rubella virus antibody
		急性期 Acute		恢复期 Convalescent			
		1:20	1:40	1:80	1:160		
1	-	++++	+++	+++	++		
3	-	+++	++	+	±		
5	+	++++	+++	++++	++++	-	-
9	+	++++	+++	++++	++++	-	-
14	-	++++	+++	++	+		
15	-	++++	+++	++	+		
16	++	+++	++	++++	++++	-	-
17	++	+++	++	++++	+++	-	-
20	++	++++	+++	++++	++++	-	-
22	+	+++	++	++++	+++	-	-
24	++	+++	++	++++	++++	-	-
26	+	+++	++	++++	++++	-	-

用 ELISA 检测抗风疹病毒特异性 IgM 抗体作为风疹病毒感染的早期诊断通常有捕捉法和间接法两种。Gerna 等<sup>[5]</sup>用酶标记的抗风疹病毒 McAb 对两种方法进行了比较评估: 捕捉法的特异性和敏感性分别为 100% 和 91.4%, 间接法为 98% 和 97.1%, 两者的符合率为 96.2%。由于得到高特异性、高亲和力风疹病毒抗体比较困难, 本研究采用了目前国内外同类检测试剂普遍采用的间接 ELISA 方法。在用间接 ELISA 检测抗风疹病毒特异性 IgM 中, 我们采用的酶标抗体是用 3 株抗人 IgM( $\mu$  链)不同位点的 McAb 混合标记的, 从而大大提高了特异性和敏感性。同时, 在样品稀释液中加入了抗人 IgG 等消除干扰的物质, 使非特异性反

应大大减少,阴性血清样品几乎完全无非特异性显色本底。风疹流行区易感人群的检出率为 62.5% (25/40),与国内报道的情况<sup>[7~10]</sup>是一致的,而正常人群仅 6% (9/150)。除 1 例麻疹抗体阳性血清中检出风疹 IgM 阳性外(可能是交叉感染),与其它所试病原体的阳性血清均无交叉反应。从验证试验结果来看,检测结果是准确可靠的。由于整个检测过程仅需 1.5 h,不需特殊的仪器设备,为风疹病毒感染的早期、快速诊断和流行病学调查提供了极为有利的条件。

### 参 考 文 献

- 1 中国医学科学院流行病防治研究所. 常见病毒病实验技术. 北京:科学出版社, 1978.
- 2 田慕贞,董继华,李川江等. 分泌抗人 IgM( $\mu$ 链)单克隆抗体细胞株的建立与鉴定. 中华免疫学杂志, 1985, 6:1~4
- 3 詹发先,龚镇奎,王玉娥. 两种方法提纯的抗-HBe 单克隆抗体及其酶结合物的比较. 湖北预防医学杂志, 1995, 6(4):4~6
- 4 宋干主编. 流行性出血热防治手册. 1987, 227~228
- 5 黄鹤,龚镇奎,肖红雨. 抗-HBC 检测试剂制备中 3 种预包被方法的效果比较. 湖北预防医学杂志, 1995, 6(4):1~3
- 6 Gerna G, Zarmino Z. Development and evaluation of a capture enzyme-linked immunosorbent assay for determination of rubella immunoglobulin M using monoclonal antibodies. J Clinical Microbiology, 1987, 25(6):1033~1038
- 7 张之伦. 1988 年天津风疹流行情况. 中国健康教育, 1992, 13(特刊 5):105~107
- 8 赵金销. 一起由影剧院传布的风疹流行调查报告. 中华流行病学杂志, 1992, 13(6):359~360
- 9 王静芝. 一起风疹暴发流行的调查报告. 佳木斯医学院学报, 1993, 76(2):19
- 10 刘光润. 西宁市区风疹暴发流行病学调查. 中国公共卫生, 1993, 9(9):425

## Early Diagnosis of Rubella Virus Infection with Monoclonal Antibody against Human IgM ( $\mu$ Chain)

Gong Zhenkui Huang He Luo Lin Xiao Hongyu

(Institute of Virology, Hubei Academy of Medical Sciences, Wuhan 430079)

An indirect ELISA by using monoclonal antibody (McAb) against human IgM ( $\mu$  chain) as the antibody labeled with horseradish peroxidase (second antibody) is used in detection Rubella virus-specific IgM for early diagnosis of Rubella virus infection. Through the detection and verification of a large number of sera from normal population, the population closely contacted with Rubella virus and IgM-positive sera samples of Measles virus, cytomegalovirus and Toxoplasma Gondii, it is indicated that this method is specific, sensitive, simple, rapid and no cross-reaction with the positive sera of the pathogens mentioned above. It can be used for early diagnosis of Rubella virus infection and epidemiological survey.

**Key words** Monoclonal antibody to human IgM ( $\mu$  chain), Infection of Rubella virus, Indirect ELISA, Diagnosis