

NGHIÊN CỨU TẠO HẠT LATEX GẮN HBcAg ĐỂ PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG HBcAg TRONG HUYẾT THANH BỆNH NHÂN VIÊM GAN B

Chu Hoàng Hà ^{1,2}, Phạm Minh Tuấn², Đồng Văn Quyền², Phan Trọng Hoàng², Lê Trần Bình ^{1,2}, Đinh Duy Kháng²

¹Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia, Hà Nội

²Viện Công nghệ Sinh học

TÓM TẮT

Bệnh viêm gan B là bệnh truyền nhiễm phổ biến trên thế giới do virus viêm gan B (Hepatitis B virus- HBV). Virus HBV xâm nhiễm tế bào gan, làm tổn thương, gây xơ hoặc ung thư gan. Các virus này có thể được phát hiện nhanh bằng nhiều kit dựa theo nguyên tắc ngưng kết hoặc miễn dịch màu. Kit ngưng kết hạt latex dựa vào protein tái tổ hợp được phát triển thành công để phát hiện các kháng thể kháng HBcAg có mặt trong huyết thanh của người. Kháng nguyên tái tổ hợp HBcAg được gắn lên bề mặt hạt latex bằng liên kết cộng hóa trị. Phản ứng ngưng kết giữa hạt latex gắn HBcAg trên bề mặt với kháng thể kháng HBcAg trong huyết thanh của thử được chuẩn hóa trước khi kiểm tra khả năng ngưng kết với các mẫu huyết thanh của người. Hạt latex gắn với 400 µg HBcAg có khả năng phát hiện kháng thể nhạy hơn khi gắn với HBcAg ở lượng 100 µg và 200 µg và được chọn để kiểm tra các mẫu huyết thanh của người. Kit ngưng kết hạt latex có độ nhạy, đặc hiệu, và độ chính xác cao khi so sánh với các phương pháp thử nhanh (phát hiện HBsAg) và ELISA (phát hiện kháng thể kháng HBcAg). Hạt latex gắn kháng nguyên HBcAg có thể bảo quản ở 4°C trong khoảng 3 tháng hoặc hơn mà không bị mất hoạt tính. Hơn nữa, kit ngưng kết có thể phát hiện được bệnh nhân nhiễm virus HBV ở giai đoạn mãn tính với thao tác thực hiện đơn giản, kinh tế và tiết kiệm thời gian.

Từ khóa: Hạt latex, kháng nguyên tái tổ hợp HBcAg, kháng thể, kit ngưng kết hạt latex

MỞ ĐẦU

Viêm gan virus là một vấn đề quan trọng trong chương trình bảo vệ sức khỏe cộng đồng toàn cầu. Trong số các loại viêm gan virus, viêm gan B là phổ biến và nghiêm trọng hơn cả, có thời gian ủ bệnh lâu dài. Thời kỳ này người bệnh thường không biết mình bị nhiễm virus và khi phát hiện bệnh thì đã ở giai đoạn nguy hiểm. Tỷ lệ tử vong có thể lên tới 50% do bệnh rất dễ biến chứng thành ung thư và xơ gan nếu không được phát hiện kịp thời (Almeida *et al.*, 1971; Beasley, 1988).

Theo Edlich và Donato (2003), hiện nay trên thế giới có khoảng 350 triệu người bị mắc bệnh viêm gan B mãn tính. Hàng năm, khoảng một triệu người tử vong do bị ung thư gan có liên quan trực tiếp đến nhiễm HBV, đứng thứ 3 sau ung thư dạ dày và ung thư phổi.

Việt Nam là quốc gia có số trường hợp nhiễm HBV khá cao với tỷ lệ mang HBsAg trung bình từ 10% đến 20%. Nếu tính chung cả những người mang ít nhất một trong ba dấu ấn HBsAg, anti-HBs và anti-HBc thì tỷ lệ nhiễm HBV lên tới 45% đến 70%,

tỷ lệ viêm gan cấp tính do HBV chiếm 37% đến 49%, tỷ lệ xơ gan do HBV chiếm 47% đến 87% và tỷ lệ ung thư do HBV là 57% đến 80%. HBV được xem là tác nhân hàng đầu gây ung thư nguyên phát ở người (Bùi Đại *et al.*, 2002).

Để ngăn chặn sự lây lan của bệnh và có các biện pháp điều trị kịp thời thì việc chẩn đoán nhanh và chính xác viêm gan B là rất cần thiết. Các phương pháp chẩn đoán viêm gan B chủ yếu là phát hiện kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B (HBsAg) bằng ELISA và phát hiện vật liệu di truyền (DNA) của virus bằng phương pháp PCR. Tuy nhiên, độ chính xác của hai kỹ thuật trên không cao do hai chỉ thị HBsAg và DNA không phải lúc nào cũng tồn tại trong huyết thanh. Trong khi đó, kháng thể kháng HBcAg xuất hiện từ rất sớm và tồn tại khá ổn định gần như suốt cuộc đời người bệnh. Đây rõ ràng là dấu hiệu chứng tỏ sự khác biệt giữa những người đã từng nhiễm HBV với những người chưa hề bị nhiễm. Việc lợi dụng sự có mặt của kháng thể kháng HBcAg để chẩn đoán HBV là hoàn toàn có cơ sở khi kết hợp với các phương pháp đã và đang sử dụng sẽ tạo ra một phương pháp có độ chính xác cao để chẩn

doán HBV, đặc biệt trong các mẫu máu truyền và những người hiến máu (Hoofnagle *et al.*, 1973).

Bằng cách sử dụng HBcAg tái tổ hợp tinh sạch biểu hiện ở *E. coli*, Nguyễn Tiến Minh và đồng tác giả (2003), Phạm Minh Tuấn và đồng tác giả (2007) đã tạo ra kit chẩn đoán HBV bằng kỹ thuật Western blot và dot blot. Kit này phần nào đáp ứng nhu cầu về việc chẩn đoán HBV, tuy nhiên đưa Western blot vào chẩn đoán đại trà tại các bệnh viện còn một số hạn chế do giá thành cao, và tốn nhiều thời gian (cho kết quả trong vòng 2 h). Để có thể xác định nhanh bệnh HBV với thao tác đơn giản, dễ sử dụng, chúng tôi đã tạo ra kit phát hiện kháng thể kháng HBcAg trong huyết thanh bệnh nhân bằng kỹ thuật ngưng kết hạt latex. Hạt latex được tạo ra từ polystyrene (PS), styrene vinyl toluene, silica... có kích thước dao động từ 0,02 - 1000 μm (<http://www.bangslabs.com>). Xét nghiệm ngưng kết hạt latex lần đầu tiên được Singer và Plotz (1956) ứng dụng thành công để chẩn đoán viêm khớp. Từ đó đến nay, hạt latex đã được ứng dụng rộng rãi trong chẩn đoán miễn dịch. Bằng cách gắn kháng nguyên lên bề mặt hạt latex, Sukone và Janya (2005); Yamamoto và đồng tác giả (2000); Xu và đồng tác giả (2005) cũng đã chẩn đoán được bệnh sốt vàng da (Leptospirosis), bệnh viêm não Nhật Bản và bệnh cúm gia cầm (H5N1).

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

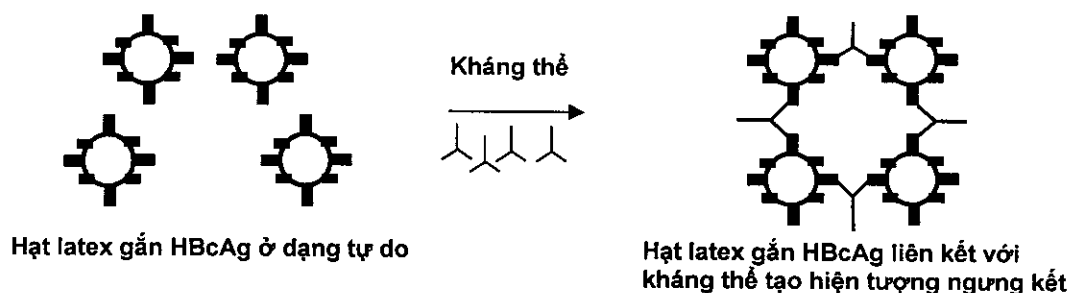
Vật liệu

Huyết thanh của người do Viện Huyết học - truyền máu Trung ương cung cấp: 05 mẫu huyết thanh dương tính với kit thử phát hiện sự có mặt của HBsAg và 05 mẫu huyết thanh không phát hiện có HBsAg. 20 mẫu huyết thanh dương tính với kit phát hiện sự có mặt anti-HBcAg của hãng Bio-Rad (Mỹ, thử bằng phương pháp ELISA) và 20 mẫu huyết thanh âm tính với kit này.

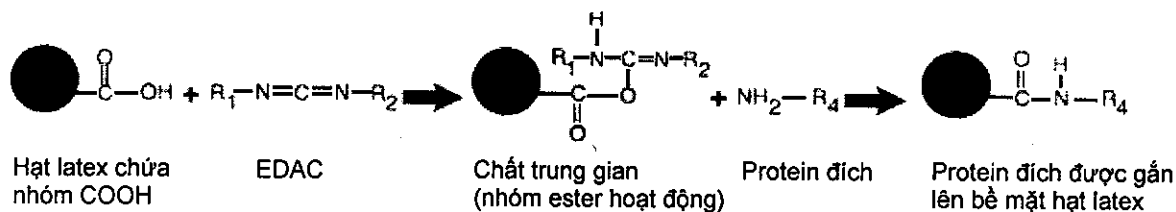
Huyết thanh của thỏ trước, sau gây miễn dịch với HBcAg; và kháng nguyên HBcAg tái tổ hợp tinh sạch sử dụng trong công trình này được Nguyễn Tiến Minh và đồng tác giả (2003) nghiên cứu trước tại phòng Vi sinh vật học phân tử, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phương pháp ngưng kết hạt latex

Hạt latex được gắn HBcAg sẽ có khả năng ngưng kết với kháng thể kháng HBcAg có mặt trong huyết thanh. Nguyên lý ngưng kết được thể hiện ở hình 1 (Gella *et al.*, 1991).



Hình 1. Phản ứng ngưng kết giữa hạt latex được gắn với HBcAg và kháng thể kháng HBcAg. — : kháng nguyên; Y : kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên; $\odot$: latex được gắn với kháng nguyên.



Hình 2. Quy trình gắn protein lên bề mặt hạt latex.

Gắn protein lên bề mặt hạt latex

Để có thể gắn protein vào hạt latex (carboxyl), trước tiên phải hoạt hoá các nhóm carboxyl (COOH) trên bề mặt hạt với carbodiimide (EDAC) hòa tan trong nước. Carbodiimide phản ứng với nhóm COOH để tạo ra hợp chất trung gian (ester hoạt động), chất này sẽ tương tác với các amine bậc 1 trong phân tử protein đích (Hình 2).

Protein tái tổ hợp HBcAg với các hàm lượng 100, 200 và 400 µg lần lượt được gắn lên 12,5 mg hạt latex có kích thước 1,1 µm để chọn lượng protein tối ưu. Quy trình chi tiết gắn protein nghiên cứu vào hạt được tiến hành theo hướng dẫn đi kèm sản phẩm của công ty Bangslabs.

Chẩn đoán HBV bằng phản ứng ngưng kết hạt latex

Nhỏ 10 µl hạt latex gắn HBcAg lên lam kính sạch, sau đó nhỏ 10 µl huyết thanh âm tính và dương tính bằng kit của Bio-Rad (Mỹ), khuấy đều bằng đầu tip. Để ở nhiệt độ phòng 5 - 10 phút, quan sát sự ngưng kết.

Tương tự, nhỏ 10 µl hạt latex gắn HBcAg lên lam kính sạch sau đó nhỏ 10 µl huyết thanh âm tính và dương tính với kit phát hiện sự có mặt của HBsAg, khuấy đều bằng đầu tip. Để ở nhiệt độ phòng 5 - 10 phút, quan sát sự ngưng kết.

Nếu mẫu huyết thanh xét nghiệm dương tính với HBV, kháng nguyên HBcAg tái tổ hợp gắn trên hạt latex sẽ phản ứng với kháng thể kháng HBcAg trong huyết thanh. Phức hợp kháng nguyên-hạt latex-kháng thể sẽ ngưng kết và lắng xuống đáy lam kính, sự ngưng kết có thể dễ dàng quan sát bằng mắt thường và được chụp ảnh dưới kính hiển vi. Ngược lại, nếu mẫu huyết thanh xét nghiệm âm tính với HBV thì sẽ không xuất hiện sự lắng tủa của phức hợp.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Chuẩn hóa lượng kháng nguyên gắn lên bề mặt hạt latex

Quá trình gắn protein lên bề mặt hạt latex phụ thuộc rất nhiều yếu tố như dung dịch đệm, lượng và tính chất của protein, pH... Trong đó, lượng protein đóng một vai trò quan trọng vì khả năng ngưng kết chỉ có thể xảy ra khi số phân tử protein được gắn lên bề mặt hạt latex phải đủ lớn.

Theo tính toán hiện tượng ngưng kết chỉ có thể

quan sát bằng mắt thường khi có 100 đám tủa được tạo thành, mỗi đám tủa có kích thước 50 µm và được tạo thành từ 10^5 hạt latex; mỗi hạt latex cần có 10 liên kết kháng nguyên kháng thể. Do đó, số phân tử kháng thể cần có để phát hiện được bằng phản ứng ngưng kết là khoảng $100 \times 10^5 \times 10 = 10^8$ phân tử. Nếu khối lượng của kháng thể (IgG) là 150000 Da thì lượng kháng thể cần để phát hiện là 15 picograms (<http://www.bangslabs.com>).

Để có thể tìm được lượng kháng nguyên thích hợp nhất, chúng tôi tiến hành phản ứng gắn kháng nguyên HBcAg lên bề mặt hạt latex lần lượt với 100, 200 và 400 µg. Hạt latex sau khi đã gắn kháng nguyên lên bề mặt được trộn với kháng huyết thanh của thỏ. Phản ứng ngưng kết xảy ra, tuy nhiên mức độ ngưng kết là khác nhau tương ứng với nồng độ kháng nguyên. Với hạt latex được gắn 100 µg HBcAg, rất khó quan sát thấy sự ngưng kết kháng nguyên kháng thể bằng mắt thường, chỉ dưới kính hiển vi 10×10 mới thấy hiện tượng ngưng kết xảy ra rải rác (Hình 3b). Hiện tượng ngưng kết được quan sát rất rõ ràng bằng mắt thường khi trộn hạt latex đã gắn 200 và 400 µg HBcAg với kháng huyết thanh của thỏ (Hình 3c, d) nhưng khi gắn 400 µg HBcAg lên bề mặt hạt latex thì phản ứng ngưng kết xảy ra rõ ràng, nhiều nhất. Trong khi đó, hiện tượng ngưng kết không xuất hiện khi trộn hạt latex được gắn HBcAg với mẫu huyết thanh của thỏ (Hình 3a) (mẫu huyết thanh được lấy trước khi tiêm HBcAg).

Như vậy, muốn có phản ứng ngưng kết quan sát được bằng mắt thường thì hạt latex phải được gắn với số kháng nguyên đủ lớn. Khi hạt latex được gắn với 400 µg kháng nguyên HBcAg, chúng tôi thấy rằng phản ứng ngưng kết xảy ra nhanh và rất rõ ràng. Do đó, đây là lượng kháng nguyên thích hợp để gắn lên bề mặt hạt latex và sử dụng chúng trong chẩn đoán bệnh HBV ở người.

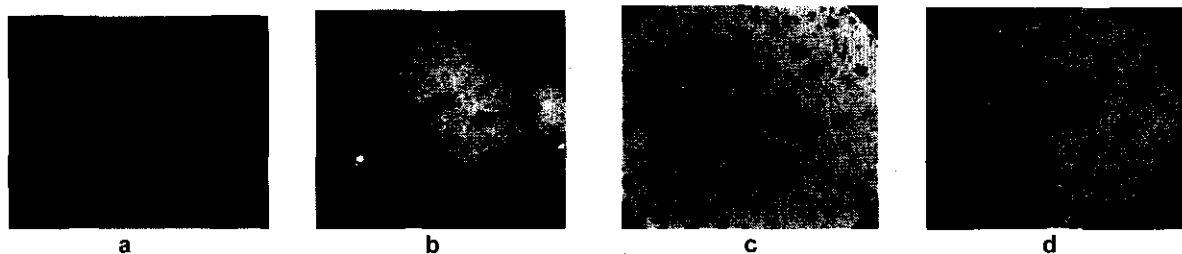
So sánh kit ngưng kết hạt latex với kit phát hiện HBsAg

Phản ứng ngưng kết được thực hiện giữa hạt latex đã gắn kháng nguyên HBcAg với mẫu huyết thanh đã cho kết quả dương tính khi phát hiện HBsAg. Hình 4 cho thấy, cả 5 mẫu huyết thanh đều có khả năng ngưng kết với hạt latex, chứng tỏ bệnh nhân đã xuất hiện chỉ thị miễn dịch thứ 2 là kháng thể kháng HBcAg. Tuy nhiên, mức độ ngưng kết ở các mẫu huyết thanh có sự khác nhau (Hình 4). Đối với các mẫu huyết thanh ở hình 4a, 4b, 4d thì hiện tượng ngưng kết được tạo thành là rất rõ ràng nhưng chưa bằng so với hiện tượng ngưng kết giữa hạt latex

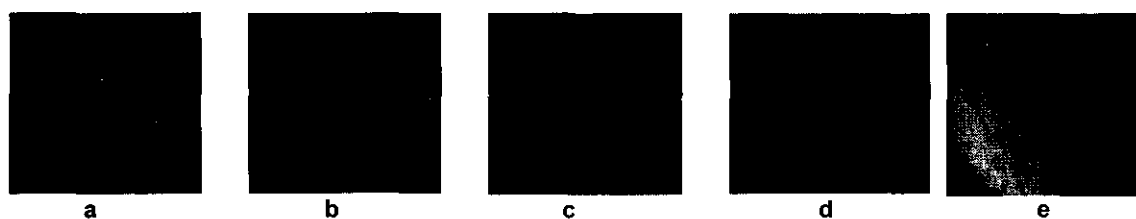
với mẫu huyết thanh của thỏ. Đối với mẫu huyết thanh ở hình 4c, 4e hiện tượng ngưng kết cũng xuất hiện nhưng yếu hơn so với 3 mẫu trên.

Sở dĩ có sự khác nhau này là do quá trình tiến triển bệnh HBV ở các bệnh nhân là khác nhau. Hình 5 cho nồng độ HBsAg xuất hiện trong huyết thanh từ tháng thứ 1 đến tháng thứ 4, trong đó ở tháng thứ 2 và 3 nồng độ này đạt cực đại. Bên cạnh đó, từ tháng

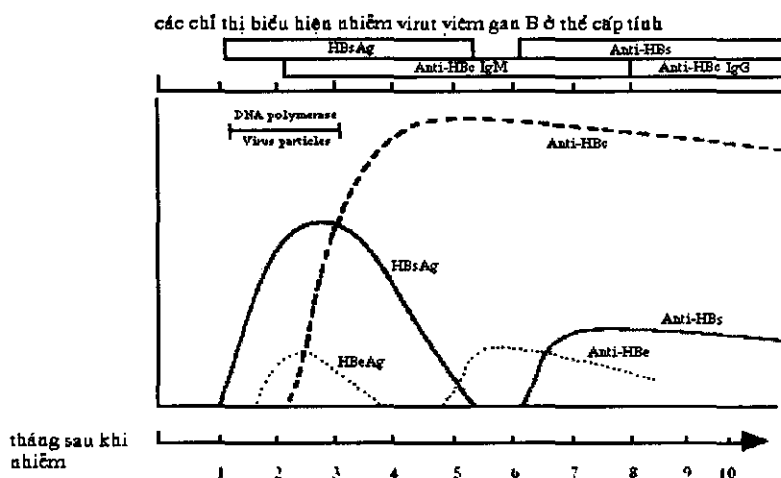
thứ 2 sau khi nhiễm bệnh nồng độ kháng thể kháng HBcAg trong huyết thanh bắt đầu tăng và đạt cực đại từ tháng thứ 3 (<http://www.microbiologybytes.com/virology/HBV.html>). Khi nồng độ HBsAg là cực đại trong huyết thanh thì đồng thời cũng xuất hiện kháng thể kháng HBcAg, tuy nhiên lượng kháng thể này chưa đạt đến điểm cực đại. Do đó, hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên HBcAg và kháng thể kháng HBcAg xảy ra chưa đạt tới điểm cực đại.



Hình 3. Phản ứng ngưng kết giữa kháng huyết thanh thỏ với hạt latex được gắn với 100, 200 và 400 µg HBcAg. Hình ảnh được chụp trên kính hiển vi với độ phóng đại 10 x 10. a: Phản ứng âm tính; b, c, d: phản ứng ngưng kết giữa kháng thể của thỏ với hạt latex được gắn 100, 200, 400 µg HBcAg.



Hình 4. Thử ngưng kết giữa huyết thanh dương tính với kit thử phát hiện HBsAg với hạt latex gắn HBc. a-e: các mẫu huyết thanh dương tính với kit thử HBsAg được trộn với hạt latex

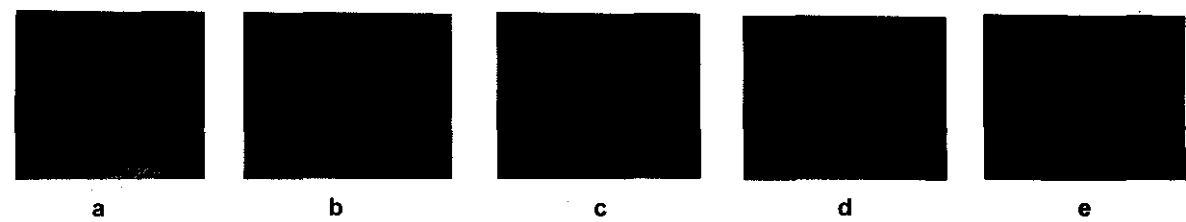


Hình 5. Thời gian và mức độ xuất hiện các chỉ thị của virus viêm gan B trong huyết thanh (<http://www.microbiologybytes.com/virology/HBV.html>; Bùi Đại *et al.*, 2002)

Khi trộn hạt latex đã gắn HBcAg với mẫu huyết thanh cho kết quả âm tính với kit thử phát hiện HBsAg, chúng tôi thu được một mẫu cho kết quả ngưng kết rất rõ ràng trong khi các mẫu còn lại hoàn toàn không có hiện tượng ngưng kết xảy ra. Điều này cho thấy, bệnh nhân có mẫu huyết thanh ở hình 6e đang trong thời kỳ mãn tính do đó với kit thử phát hiện HBsAg không có tác dụng vì trong thời kỳ này HBsAg không có mặt trong huyết thanh mà chỉ có kháng thể kháng HBcAg. Như vậy, hạt latex được

gắn HBcAg cho phép phát hiện được bệnh nhiễm HBV trong giai đoạn mãn tính với độ nhạy cao.

Mẫu huyết thanh ở hình 6e khi được thử bằng kit phát hiện HBsAg cho kết quả âm tính nhưng khi thử sự có mặt của kháng thể kháng HBcAg thì kết quả lại dương tính. Do đó, để có thể sàng lọc các mẫu máu bị nhiễm HBV thì cần phát hiện đồng thời cả hai chỉ thị HBsAg và kháng thể kháng HBcAg. Có như vậy, một ngân hàng máu sạch thực sự với bệnh HBV mới được thiết lập an toàn.



Hình 6. Hiện tượng ngưng kết giữa huyết thanh âm tính với kit thử phát hiện HBsAg với hạt latex gắn HBcAg. a-e: các mẫu huyết thanh âm tính với bộ kit thử phát hiện HBsAg được trộn với hạt latex.

So sánh kit ngưng kết hạt latex với kit phát hiện HBcAg của Bio-Rad

Độ nhạy và độ đặc hiệu của kit ngưng kết hạt latex cũng được xác định tương tự như đối với kit dot blot (Phạm Minh Tuấn *et al.*, 2007). Hai mươi mẫu huyết thanh bệnh nhân đã được xác định là dương tính và âm tính với kháng thể kháng HBcAg bằng kit của Bio-Rad được sử dụng để kiểm tra độ nhạy và độ đặc hiệu của kit ngưng kết hạt latex. Trong số 20 mẫu huyết thanh bệnh nhân đã được xác định là dương tính với kit Bio-Rad, bằng kit ngưng kết hạt latex chỉ xác định được chắc chắn 19 mẫu dương tính. Một mẫu không thấy có hiện tượng ngưng kết rõ ràng (Bảng 1). Như vậy, có khả năng

kỹ thuật ELISA có độ nhạy cao hơn nên xác định được các trường hợp dương tính mà kỹ thuật kém nhạy hơn như kỹ thuật ngưng kết hạt latex không phát hiện được. Như vậy, với 20 mẫu huyết thanh đã được xác định là dương tính với kit ELISA của Bio-Rad thì kit ngưng kết hạt latex có độ nhạy là 95% (Bảng 1).

Tương tự, hai mươi mẫu huyết thanh đã được xác định là âm tính với kit ELISA của Bio-Rad khi xác định lại bằng kit ngưng kết hạt latex của IBT thì không phát hiện được trường hợp dương tính nào (Bảng 1). Như vậy, với 20 mẫu huyết thanh đã được xác định là âm tính với kit ELISA của Bio-Rad thì kit ngưng kết hạt latex có độ đặc hiệu là 100%.

Bảng 1. Kết quả chẩn đoán HBV bằng kit của Bio-Rad và bằng hạt latex gắn HbcAg.

Mẫu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II	+	+	+	x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ghi chú: I: Kit của Bio-Rad phát hiện anti-HBcAg; II: Hạt latex gắn HBcAg để phát hiện anti-HBcAg; +: Dương tính; x: Không xác định.

KẾT LUẬN

Kháng nguyên HBcAg được gắn thành công lên bề mặt hạt latex có kích thước 1,1 µm. ở lượng tối ưu là 400 µg. Ứng dụng thành công hạt latex gắn HBcAg

trong chẩn đoán bệnh HBV ở người với độ đặc hiệu và độ nhạy cao, thao tác rất đơn giản, dễ sử dụng.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài mang mã số QC.06.27,

ĐHQGHN và đề tài cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Almeida JD, Ruben Stein D, Stott EJ (1971) New antigen- antibody system is Australia antigen positive hepatitis. *Lancet* 2: 1224- 1227.

Beasley RP (1988) Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 61: 1942-56.

Bùi Đại, Nguyễn Văn Mùi, Nguyễn Hoàng Tuấn (2002) *Bệnh học truyền nhiễm*. Nhà xuất bản Y học.

Edlich RF, Donato F (2003) Etiology of hepatocellular carcinoma in Italia patients with and without cirrhosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 213-216.

Gella FJ, Serra J, Gener J (1991) Latex agglutination procedures in immunodiagnosis. *Pure Appl Chem* 63: 1131-1134.

Hoofnagle JH, Gerety RJ, Barker LF (1973) Antibody to hepatitis B virus core in man. *Lancet* 2: 869- 873.

<http://www.bangslabs.com>

<http://www.microbiologybytes.com/virology/HBV.html>

Nguyễn Tiến Minh, Bùi Hoàng Anh, Bạch Thị Như Quỳnh, Lê Thị Tâm, Đồng Văn Quyền, Đinh Duy Kháng (2003) Biểu hiện gen mã hóa kháng nguyên lõi của virus viêm gan B ở *Escherichia coli*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 1(4): 433-438.

Phạm Minh Tuấn, Đồng Văn Quyền, Lê Phương Hằng, Đinh Duy Kháng (2007) Nghiên cứu chế tạo bộ kit chẩn đoán virus viêm gan B (HBV) bằng kỹ thuật dot blot. Đang chuẩn bị bản thảo.

Singer JM, Plotz CM (1956) The latex Fixation Test I. Application to the Serologic Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *Am J Med* 21: 888-892.

Sukone P, Janya N (2005) The use of latex agglutination for the diagnosis of acute human Leptospirosis. *J Med Assoc Thai* 88: 1395-1400.

Xu X, Jin M, Yu Z, Li H, Qiu D, Tan Y, Chen H (2005) Latex Agglutination Test for Monitoring Antibodies to Avian Influenza Virus Subtype H5N1. *J Clin Microbiol* 43: 1953-1955.

Yamamoto A, Nakayama M, Tashiro M, Ogawa T, Kurane I (2000) Hydroxyapatite-coated nylon beads as a new reagent to develop a particle agglutination assay system for detecting Japanese encephalitis virus specific human antibodies. *J Clin Virol* 19: 195-204.

DEVELOPMENT OF HBcAg COATED LATEX PARTICLE FOR DETECTION OF ANTI-HBcAg ANTIBODY IN HBV INFECTED PATIENT'S SERUM

Chu Hoang Ha^{1,2,*}, Pham Minh Tuan², Dong Van Quyen², Phan Trong Hoang², Le Tran Binh^{1,2}, Dinh Duy Khang²

¹College of Technology, Hanoi National University

²Institute of Biotechnology

SUMMARY

Hepatitis B is the most common serious liver infection in the world. It is caused by the hepatitis B virus (HBV) that attacks liver cells and can lead to liver failure, cirrhosis or cancer of the liver. The virus is detected by many rapid tests based on agglutination or immunochromatographic principles. A rapid recombinant antigen-based latex agglutination test (LAT) has been developed successfully to detect specific anti-HBc antibodies from human sera. The purified recombinant HBc antigen was attached to carboxyl-modified microspheres via covalent coupling. The agglutination between the recombinant HBc antigen-coated latex beads and anti-rabbit serum was evaluated before these latex beads were tested with human sera. Latex beads coated with 400 µg of the recombinant HBc antigen can detect antibodies more sensitively than the 100 µg, 200 µg-coated latex beads. The new diagnosis test employing HBcAg coated latex beads was sensitive, specific and accurate as compared to the standard lateral flow test and ELISA test. The synthesized HBcAg coated latex beads are stable and could be stored at 4°C for more than three months without losing activity. Moreover, the recombinant HBc antigen-coated latex beads could detect specifically anti-HBc antibodies during chronic phase of the illness. The test is simple, inexpensive, and less time-consuming in the management of a large number of patients.

Keywords: Antibody, latex agglutination test (LAT), latex beads, recombinant HBcAg antigen

* Author for correspondence: Tel: 84-4-7562368; E-mail: chuhoangha@ibt.ac.vn