

技术与方法

应用 ELISA 法检测 SARS-Ab^{*}李洪敏 蔡忠军 曹务春^{**} 王巍 李南 张办河^{**}

(中国人民解放军第309医院结核中心 北京 100091)

摘要:探讨对SARS病毒进行临床诊断,分析ELISA法检测SARS-Ab的情况。结果显示对照组检测均为阴性,测试组发病12d前、后阳性检出率分别为2.7%、92%,总检出率为94.7%。29例疑似病人阳性检出率为31%。提示该方法敏感性、特异性强,但12d以前检出率低,而13~16d以后阳性率明显提高。

关键词: ELISA法, SARS-Ab, 检出率

中图分类号: R446.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2003) 05-0087-03

THE DETECTION OF SARS ANTIBODY BY ELISA

LI Hong-Min CAI Zhong-Jun CAO Wu-Chuen

(309 Hospital of PLA, Beijing 100091)

Abstract: To explore the clinical diagnosis methods of SARS virus infection, and analyze the value of ELISA by which the SARS-Ab was detected. The results showed that the control group was negative, the positive detection rate was respectively 2.7% and 92% before and after 12 days when the patients got the SARS in the test group, and the total positive rate was 94.4%. But the detection rate was 31% among 29 suspected patients. In a word, the ELISA method was high specified. The detection rate was lower before 12 days and higher after 13 to 16 days when the patients got the SARS.

Key words: ELISA, SARS-Ab, Detection rate

急性呼吸道综合症(severe acute respiratory syndrome, SARS)在世界范围引起传播,其发病率仍然呈现上升趋势,该病病情发展迅速,治疗效果欠佳,传播广泛,对健康人群危害极大,已引起广泛关注。为及早控制SARS的传播,应用ELISA法检测SARS-Ab,快速诊断该病,其结果如下。

1 材料与方法

1.1 材料

正常对照组120例,均来自本院工作人员,其中男性51例,女性69例,年龄范围18~62岁,平均年龄32.4岁。测试组101例,均来自本院住院患者,其中男性41例,女性60例,年龄范围8~84岁,平均年龄34.8岁。其中疑似病历29例,SARS病历72

^{*} 国家基金资助项目(No.2003AA208403)^{**} 工作单位:军事医学科学院五所作者还有:周历,石玉玲,张涛,王卫,朱超慧,吴晓明^{**}

收稿日期:2003-05-11,修回日期:2002-04-30

例。

1.2 试剂

ELISA 检测试剂盒由军事科学院五所提供的。

1.3 方法

两组每人均空腹抽血 1mL，离心，取血清 10 μ L，加在已包被抗原的试测板内，加稀释液 50 μ L 充分混匀，贴上封口膜，37℃孵育 30min，用 PBS 洗板 5 次，拍干，加带有酶标记抗体 100 μ L，封口混匀，37℃孵育 20min，用 PBS 洗板 5 次，拍干，加底物显色 100 μ L (A 液 50 μ L，再加 B 液 50 μ L) 混匀，放置避光处 10min，加终止液 50 μ L 混匀，以空白管调零，用酶标仪 450nm 波长比色，测 OD 值并记录结果。每批检测时应带有阴、阳性对照样品。判定方法是被测样品的 OD 值减去空白对照 OD 值即为计算值。

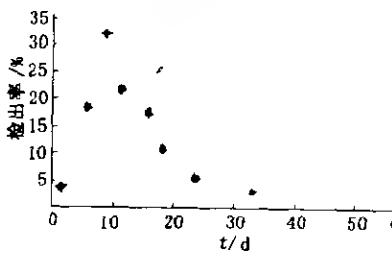
2 结果

对照组 120 例检测均为阴性。72 例 SARS 病历中，2 例是 12d 以前检出，阳性率为 2.7% (2/72)，剩余 66 例自 13d 以后检出，阳性率为 92% (66/72)，还有 4 例未能检测出 (用 RT-PCR 方法检测为阳性)，占 5.6%。在 30 d 以后仍能检出 SARS-Ab 有 9 例，其中有 1 例 65 d 时 SARS-Ab 还为阳性 (表 1)。不同阶段 SARS-Ab 检出分析 (图 1)。72 例 SARS 病历总阳性检出率为 94.4% (68/72)。

表 1 SARS-Ab 检出的不同时间阶段分析

SARS-Ab 阳性检出 (d)								
	1~8	9~12	13~16	16~20	21~30	31~40	41~60	>60
SARS (例)	2		12	31	14	5	3	1
疑似 (例)	2		6	1				

29 例疑似病历阳性检出率为 31% (9/29)。12d 前、后阳性检出率分别为 6.9% (2/29)、24.1% (7/29)，29 例疑似病历总阳性检出率为 31% (9/29)，(图 1)。



3 讨论

急性呼吸综合征 (SARS) 是一组具有类似肺炎临床表现、胸部 X 线特征和对抗生素治疗无反应的疾病。此次流行的非典型肺炎的病原体基本上确定为冠状病毒的变异性^[1~3]。检测由 SARS 感染而产生的相应抗体的含量，成为当前首选方法。

图 1 不同阶段疑似病人 SARS-Ab 检出分析之一^[4,5]。

通过采用 ELISA 方法检测 SARS-Ab，可以分析 SARS 感染情况。该方法操作简便，易于推广应用。整个试验只需 1h 即可完成。从 120 例对照组试验结果分析证实该方法的特异性强。检测结果还显示其感染阳性率与抗体含量高低和产生的时间有显著相关性。发病 9~12d 以前检出率低，仅占 2.7%，说明 SARS-Ab 形成需要一个过程，在抗体达到一定高度时 (12d 后)，才适用 ELISA 方法检测。12d 以后阳性率明显提高，达 92% 以上。29 例疑似病人中，有 20 例到 21d 一直为阴性，与临床病情分析相符，也证明有很高的敏感性。还有 9 例 8d 时为阴性，而 14d 后转为阳性，说明该部分病人抗体

生成缓慢，且含量较少，如图 1 所示。SARS-Ab 产生的含量与生长时间联系紧密，此法可动态观察 SARS-Ab 增高的全过程。总之，ELISA 法可以作为 SARS 感染的诊断和治疗依据之一。同时，实验也证实该方法对疑似病例的确诊有更积极的意义。

参 考 文 献

- [1] WHO. Cumulative number of reported cases (SARS) . Available at <http://www.who.int/csr/sarscountry/2003-4-15>.
- [2] Mika J W, Tuomo P, Olli R, et al. J Clin Microbiol, 1998, 36 (2): 539.
- [3] Thomas G K, Cynthia G. N Engl J Med Available at www.nejm.org on April 10, 2003.
- [4] Drosten C, Gunther S, Preiser W. N Engl J Med Available at www.nejm.org on March 31, 2003.
- [5] 祝庆余, 秦鄂德, 王翠娥, 等. 中国生物工程杂志, 2003, 23 (4): 106.