维普资讯 http://www.cqvip.com

重庆医科大学学报 1993年第18卷第4期

PAGE和ELISA法检测轮状病毒的比较

临床微生物学、临床免疫学教研室 卢贤瑜

提 要 本文用PAGE和ELISA两法分别对182份疑为病毒性腹泻粪便标本进行人轮状病毒的检测，并对两法进行了比较。两法吻合率为81.87%，两法灵敏度分别为98.33%和95%；特异度分别为100%和92.5%；重复率分别为99.0%和94.0%。由于ELISA检测轮状病毒操作简便，需时短，更适合基层实验室推广应用

关键词 人轮状病毒；聚丙烯酰胺凝胶电泳；酶联免疫吸附试验

中图分类号 R446.6

人轮状病毒（Human Rotavirus，HRV）是引起小儿腹泻的重要病原之一，在我国主要引起婴幼儿秋季腹泻[1-3]。该病为病毒所致，治疗主要以支持疗法为主，故尽早明确诊断，把握治疗方针，不但可以减少经济上浪费，而且还可以避免由滥用抗生素所致的肠道菌群紊乱和失调。为此在发病早期尽早地检出粪便中HRV至关重要。

HRV的检测方法较多，常用的有电镜、免疫电镜、聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和酶联免疫吸附试验(ELISA)[4]。电镜由于设备和专业技术人员的要求，限制其临床应用。目前实验室用得最多的是PAGE和ELISA。近年来对这两种方法报道较多，但对这两种方法的比较甚少。我们采用这两种方法分别对182份疑为病毒性腹泻粪便标本进行了实验，并对两法进行了比较。

材料和方法

标本 用清洁粪栓管采集1987年秋季（10—12月）到重庆医科大学附属儿童医院就诊的所有疑为病毒性腹泻的患儿粪便182份，置无菌青霉素小瓶内，立即存放于−20℃冰箱中，实验前迅速解冻。

试剂

1. PAGE所用试剂：参照《腹泻病实验诊断手册》[5]配制。

2. ELISA试剂盒：州兰生物制品研究所生产，批号：87004。

方法

1. PAGE试验，参照《腹泻病实验诊断手册》从粪便中提取HRV—RNA，进行PAGE，硝酸银染色后观察结果。

2. ELISA试验按试剂盒说明操作：用免抗轮状病毒抗体包被，洗涤，加标本50μl，洗涤，加酶标抗体（抗体同前），洗涤，加底物，终止液，用酶标光度计测波长为492nm的OD值。

结果和讨论

所做PAGE电泳图如图Ⅰ。从图中可晰清辨认出有11条电泳带的HRV-RNA，并可辨出长型（Long pattern，L型）和短型（Short pattern，S型）。如果电泳图上完全无电泳带则为阴性。图Ⅰ中A、B、E、F为短型，C、D、G为长型。长短型的区别是第11条带和第10条带的距离不同，距离短的为短型，距离长的为长型。产生的原因是长型轮状病毒的RNA第11条片段分子量比短型的小，故电泳时泳动得较远。

ELISA结果为标本OD值与阴性对照OD值之比（P/N值）大于3为阳性，小于2为阴性，2～3之间为可疑。可疑标本需重复实验，得出结果。182份标本两法实验结果

维普资讯 http://www.cqvip.com

见表1。

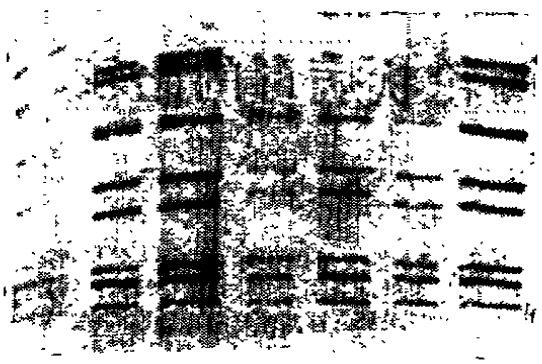


图1 轮状病毒RNA电泳图

注：图中A、B、E、F为短型，C、D、G为长型。

表1 182份标本PAGE和ELISA检测结果

PAGE	ELISA +	ELISA −	合计
+	88	18	106
−	15	61	76
合计	103	79	182

注：+表示实验结果阳性，−表示实验结果阴性。

182份标本中PAGE和ELISA结果均为阳性的88份，均为阴性的61份。两法结果吻合率为81.87%。其中18例为PAGE阳性ELISA阴性，15例为PAGE阴性ELISA阳性，对这两项结果用卡方检验，$P>0.05$，无显著性差异。

为了解两法重复性实验的情况，两法从测检均阳性的标本中随机抽样60份定为阳性标，本从两法检测均为阴性的标本中抽机样随40份定为阴性标本，反复做PAGE和ELISA各三次，其结果如表2。

从表2结果可得出PAGE与ELISA重复率分别为99.0%和94.0%；灵敏度分别为98.33%和95.0%，特异度分别是100%和92.5%。

PAGE是通过检测轮状病毒RNA来确定轮状病毒是否存在。HRV-RNA由11条片段组成，由于每个片段所含碱基对数目不等，分子量大小不同，分子量子0.2～2×10^6，故在PAGE时移动速度不同而呈现11条电泳带[6,7]。该法检测HRV是非常可靠的，特异度高，几乎无假阳性存在。只有在提取RNA时标本被RNA分解酶所污染(皮肤上偶有这类酶存在，故应避免手接触标本；或所用器皿被该种酶污染)，破坏了RNA，可产生假阴性。据我们实验体会，如严守操作规程，此种情况完全可以避免。此时，PAGE实验的另一优点是可以发现长短两型混合感染的情况，我们实验中就曾发现了一例[8]。

表2 重复三次PAGE和ELISA实验结果

	第一次		第二次		第三次	
	APGE阳性	ELISA阳性	PAGE阳性	ELISA阳性	PAGE阳性	ELISA阳性
60例阳性标本	60	57	59	58	58	56
40例阴性标本	0	3	0	4	0	2

ELISA检测轮状病毒抗原也是较可靠的实验之一，其灵敏度为95.0%，但由于粪便中偶有一些杂蛋白或类风湿因子等存在可干扰实验，出现少数假阳性，这点ELISA法稍逊于PAGE法。在重复试验中，40例阴性标本反复作ELISA时有2～4例结果为阳性，分析其原因：1.可能为粪便中某些杂蛋白的干扰，2.可能是ELISA实验过程中洗板之误差或是邻近孔阳性标本污染所致等，后一可能因素应在实验中尽可能避免。

比较两法，PAGE所用试剂复杂，方法较繁琐，全过程需16～20h，需电泳仪和垂直板状电泳槽，而ELISA方法简便易行，如无酶标光度计也可肉眼观察判断结果，需时短，约6～8h，故更易于在基层推广。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

[1] Steinhoff MC, J Pediatrics 1980;96(4):611

[2] Dimitrov DH, et al, Infect Immun 1983; 41(2):523

[3] 施耦笙，等. 中华微生物学和免疫学杂志 1982; 2(4):206

[4] 卢贤瑜. 国外医学临床生物化学与检验学分册1986; 7(2):6

[5] 中国微生物学会人兽共患疾病病原学专业委员会 卫生部兰州生物制品研究所 腹泻病实验诊断手册 1985; 30

[6] Rodger SM, et al. J Clin Microbiol 1981; 13:272

[7] Kalica AR, et al. Virol, 1978; 87:247

[8] 卢贤瑜，等. 中华流行病学杂志 1989年第10卷特刊11号119

（收稿日期 1993—03—26）

COMPARISON OF PAGE AND ELISA METHODS IN DETECTION OF HUMAN ROTAVIRUS

Lu Xianyu

Dept of Clinical Microbiology and Immunology

Human Rotavirus(HRV) was detected in 182 stool samples from the patients suspected of suffering from virus diarrhea PAGE and ELISA methods were applied and compared. The correspondence rate of the two methods was 81.87%. The sensitivities for PAGE and ELISA methods were 98.33% and 95%, the specificities were 100% and 92.5%, reproducibilities, 99.0% and 94.0% respectively Since ELISA is a simple and rapid procedure, it can be widely used in small Laboratories

KEY WORDS Human Rotavirus; Polyacrylamide gel electrophoresis; Enzyme linked immunosorbent assay.

（上接291页）

STUDY ON THE INCREASING OF CURE RATE OF HYPERTHYROIDISM TREATED WITH A SINGLE DOSE OF ^{131}I

Li Xiaofang, et al

Dept of Nuclear Medicine, The First Hospital

In analysing the clinical data of cured and uncured hyperthyroidism patients treated with single dose ^{131}I, It was found that the wain affecting factors are thyroid weight, Taff, total ^{131}I dose and Rad amount, The ways to raise the cure rate of hyperthyroidism with ^{131}I was discussed

KEY WORDS Hyperthyroidism, ^{131}Iodine; Thyroid weight; Teff, Rad amount