维普资讯 http://www.cqvip.com

196—198

6058(17)

第8卷第2期 中国病毒学 Vol.8 No.2
1993年6月 VIROLOGICA SINICA Jun. 1993

应用病毒感染细胞酶联免疫吸附试验检测肾综合征出血热病毒抗原和抗体

张天明 胡珍姣 文莉 杨占秋 肖红 向近敏

（湖北医学院病毒研究所，武汉 430071）

R446.62

提 要

应用病毒感染细胞酶联免疫吸附试验（VIC-ELISA）检测肾综合征出血热病毒（HFRSV）感染性滴度比双抗体间接ELISA和间接免疫荧光法（IFA）分别敏感10倍和100倍。VIC-ELISA检测兔抗HFRSV抗体的滴度比双抗体间接夹心ELISA和IFA分别敏感1.6倍和8倍。VIC-ELISA能敏感、快速、有效地检测HFRSV抗原和抗体。

关键词：肾综合征出血热病毒 病毒感染细胞酶联免疫吸附试验 双抗体间接夹心ELISA 间接免疫荧光法 抗原和抗体

ELISA, 肾综合征, 流行性出血热;

自1978年Lee[1]首次用间接免疫荧光法（IFA）证明肾综合征出血热病毒（HFRSV）的存在以来，使HFRS的病原学及其诊断问题逐步趋于解决，随之建立起来的特异性检测技术也在不断地改进和发展。为了进一步提高病毒诊断的特异性和敏感性，我们采用一种新的技术，病毒感染细胞酶联免疫吸附试验对HFRSV抗原和抗体进行了检测，并与双抗体间接夹心ELISA和间接免疫荧光法进行了比较，现报道如下：

材料与方法

一、病毒和细胞 HFRSV H114株系从湖北省EHF急性期患者尿液中分离到，Hantaan病毒76-118株引自美国陆军传染病研究所。A549细胞传代用含10%小牛血清的1640培养基，维持液换以2%小牛血清的1640培养基。

二、兔抗HFRSV血清 用感染滴度为10^4TCID50/ml的Hantaan病毒76-118株给家兔背部多点注射，于注射后第9周取血备用。

三、病毒感染性滴度的测定 用10倍连续稀释的Hantaan病毒76-118株病毒液，接种96孔微量培养板内长满单层的A549细胞，37℃吸附1小时后，吸出病毒液，加维持液培养，同时设细胞对照，第12天分别用VIC-ELISA，双抗体间接夹心ELISA和IFA检测，计算TCID50/ml。

四、病毒感染细胞酶联免疫吸附试验（简称VIC-ELISA） 将76-118株和H114株病毒分别接种于96孔微量培养板内长满单层的A549细胞，37℃吸附1小时后，吸出病毒液，加维持液培养，同时设细胞对照。于第6天和第12天吸出维持液，每孔加10%甲醛，10%氯化钙固定液，室温下20分钟，

本文于1992年7月14日收到，10月13日修回。

维普资讯 http://www.cqvip.com

用蒸馏水洗1次，加2%小牛血清的1640阻断液，37℃ 20分钟，用0.01mol/L pH7.4 PBS含0.1% Tween20洗液洗4次，加兔抗HFRSV血清37℃ 2小时，洗涤，加辣根过氧化物酶标记的羊抗兔抗体37℃ 1小时，洗涤，加入底物ABTS 37℃显色30分钟后，在Bio-TEK自动酶标仪上读取OD值，结果判断：以被检标本OD值比阴性对照标本平均OD值≥2.1为阳性。

五、双抗体间接夹心ELISA　按文献[2]。

六、间接免疫荧光法　按文献[1]。

结果与讨论

一、病毒感染性的滴定　用VIC-ELISA、ELISA和IFA法所测病毒感染性滴度分别为10^4TCID50/ml，10^4TCID 50/ml，10^3TCID 50/ml。VIC-ELISA比ELISA法敏感10倍，比IFA法敏感100倍。

二、兔抗HFRSV抗体的滴度　76-118株和H114株分别感染A549细胞于第6天和第12天用VIC-ELISA测兔抗HFRSV抗体滴度分别为1∶80和1∶320。这表明随着病毒培养时间的延长，病毒在细胞内逐渐增殖，可使检测的敏感性提高4倍。

三、VIC-ELISA与ELISA和IFA测抗体滴度的比较　用VIC-ELISA、ELISA和IFA同时对兔抗HFRSV抗体进行效价滴定，分别为1∶320，1∶200，1∶40。VIC-ELISA比ELISA敏感1.6倍，比IFA敏感8倍。

HFRSV在细胞培养中增殖，一般不引起细胞病变。本文报告的VIC-ELISA是病毒接种于96孔微量培养板细胞单层，增殖后感染细胞已固定在板上，再用ELISA的程序检测。这一方法结合了细胞培养和免疫酶测定的优点，可进行病毒抗原和抗体的检测。采用96孔微量培养板培养病毒具有省材、省力、简便等优点。96孔微量培养板经适当处理后，可重复使用。VIC-ELISA将会得到更为广泛的应用。

参考文献

[1]Lee HW, et al., 1978, *J. Infec. Dis.* 137：298.

[2]张天明等，1991，湖北医学院学报，12：236。

维普资讯 http://www.cqvip.com

Detection of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Virus Antigen and Antibody by VIC-ELISA

Zhang Tianming Hu Zenjiao Wen Li Yang Zhanqiu

Xiao Huong Hsiang Chinmin

(*Virus Research Institute, Hubei Medical University, Wuhan* 430071)

Detection of HFRS virus infectivity titer using virus-infected cell enzyme-linked immunosorbent assay (VIC-ELISA) was more sensitive than the indirect "double-sandwich" ELISA and indirect immunofluorescent antibody (IFA) technique 10 and 100 times respectively. Detection of rabbit anti-HFRS virus antibody titer using VIC-ELISA was more sensitive than the indirect "double-sandwich" ELISA and indirect IFA technique 1, 6 and 8 times respectively. The VIC-ELISA can be used for rapid, sensitive and efficient detection of HFRS virus antigen and antibody.

Key words: Hemorrhagic fever with renal syndrome virus Virus-infected cell enzyme-linked immunosorbent assay Indirect "double-sandwich" ELISA Indirect immunofluorescent antibody technique Antigen and antibody