

儿童腹泻与轮状病毒感染的关系及基因电泳型的观察

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 张极舜* 高翠华

自1979年庞其芳等首次报告在北京地区检出了轮状病毒以来,全国各地相继有多处报道。其检查方法多采用酶联免疫吸附法(ELISA)、补体结合法、佐以电镜和免疫电镜观察病毒颗粒。近几年来,使用聚丙烯酰胺凝胶电泳(简称PAGE)方法,进行轮状病毒的基因分析,做为流行病学调查的一种实验室手段,认为有利于型别鉴定。我们使用此种方法,观察了北京市区1983、1984两年的若干病例,并与ELISA方法做了比较:现将主要结果报告如下:

材料和方法

一、调查对象:1983、1984两年中,在北京市区的两个医院住院和门诊患者,大多数是两岁以下的腹泻婴幼儿,收集其粪便作检查。秋冬季腹泻出现在10~2月,共收集标本56份。夏季腹泻在6~8月,共收集90份标本。于-50°C保存。

二、轮状病毒核酸电泳:核酸电泳技术参照Rodger和Herring介绍的方法。从病人粪便中直接提取核酸,使用垂直板式电泳槽。聚丙烯酰胺凝胶电泳的凝胶浓度为3%(样品胶)和10%(分离胶)。在30mA~40mA恒定电流条件下,电泳约5小时。完毕后剥胶、固定、硝酸银染色,观察病毒RNA显带情况。显带颜色过浅的,用低温乙醇浓缩后再次电泳,以获得较清晰的图型。认为满意的胶片,用不同浓度的乙醇做梯度脱水。脱水后的胶片可长期保存,或不经脱水,直接摄影保存。

三、ELISA方法检查:使用的轮状病毒ELISA试剂盒,系卫生部成都生物制品研究所出品。用双抗体夹心法,被检标本为做PAGE检查的同一份标本。用兔抗轮状病毒血清包被,于4°C过夜,洗净后加入

豚鼠抗轮状病毒血清,37°C 2小时,洗净后加入酶标记羊抗豚鼠IgG,37°C 2小时,洗净后加入底物,37°C 30分钟后,加入2M H₂SO₄终止反应。每份标本在同一块板上均用正常兔血清作对照。肉眼判定结果,试验孔与对照孔之间有显著差异的为ELISA阳性。详见轮状病毒酶标试剂盒说明书。

每份标本同时做PAGE和ELISA方法检查。

结果

一、秋冬季儿童腹泻粪便标本共56份,用PAGE检查,有19份检出轮状病毒RNA条带,阳性率为33.9%。ELISA检查出阳性的26份,阳性率为46.4%。

二、夏季腹泻标本90份,用PAGE方法检出轮状病毒RNA条带的仅1份,阳性检出率为1.1%,ELISA方法检查出阳性的8份,阳性率为8.9%。

三、检查粪便标本计146份,用PAGE检出20份有轮状病毒RNA条带的,按Rodger等人的分型,分属于6种电泳图型。其中长型的占14/20(70%),短型的占3/20(15%),另有一种图型与洪涛观察到的成人新轮状病毒及白植生报告的副轮状病毒的图型一致,占3/20(15%)。夏季腹泻中检出的一例为长型。其它长型、短型及新轮状病毒均为秋冬季腹泻中检查出的。

四、PAGE方法与ELISA方法相比较,检出结果不完全一致;ELISA阳性的34份标本中PAGE检出了病毒RNA条带的有20份;反之,ELISA阴性的112份标本中,用PAGE检出三份具有病毒RNA条带,均为成人新轮状病毒电泳图型。

* 已调北京市儿科研究所

中华流行病学杂志

ZHONGHUA LIUXING BINGXUE
ZAZHI

Chinese Journal of Epidemiology
(双月刊)

1981年8月创刊

每逢双月10日出版

中华流行病学杂志编辑委员会编辑 中国预防医学中心流研所出版 北京昌平流字5号,北京市邮政局总发行 全国各地邮电局订阅 国外总发行:中国国际图书贸易总公司(中国国际书店 北京2820信箱) 河北省香河县印刷厂印刷 北京市期刊登记证第479号

CHINESE JOURNAL OF EPIDEMIOLOGY is published bi-monthly by the Institute of Epidemiology and Microbiology, China National Centre for Preventive Medicine, P.O.Box 5 Changping Beijing
Subscriptions: Domestic: Local Post Offices, Foreign: China International Book Trading Corporation, P.O.Box 2820, Beijing, THE PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA