

南昌地区婴幼儿腹泻轮状病毒核酸电泳分析

胡桂珍 谭展田 邓水生 陈德怀 邹伟民 王晓华
(江西省医学科学研究所)

文运弟 梅魁敏 陈志军 陈六英
(江西省儿童医院)

潘达鑫 伍学洲
(江西中医学)

摘要 应用核酸凝胶电泳法对 49 份婴幼儿急性腹泻粪便标本进行了分析研究。试验结果表明, 其中 34 份呈现轮状病毒核酸电泳型。包括长型和短型两个亚群。在长型中有两种不同的电泳图型, 并且对轮状病毒的实验诊断与电镜检测做了比较, 结果证实二者的敏感性和特异性相似, 而核酸电泳法具有更多的优点, 便于推广应用。

关键词 轮状病毒; 核酸电泳型; 混合电泳

轮状病毒是引起人和哺乳动物急性胃肠炎的主要病因, 目前已被国内外许多学者所证实^[1-3]。轮状病毒是双链 RNA 病毒, 整个基因组由 11 个 RNA 片段组成。由于片段分子量的大小不同, 故在聚丙烯酰胺凝胶电泳中, 可出现不同的 RNAs 迁移区带图(称之为电泳型)。国外应用轮状病毒核酸电泳分析对该病毒的实验诊断; 病毒鉴定、分类、分型以及新种的发现; 分子流行病学调查等的研究, 已有不少文章^[4,5]。国内研究还很少。1983 年我们建立了轮状病毒核酸电泳分析。并对 49 例秋、冬季婴幼儿急性胃肠炎患者的腹泻粪便标本(1982 年 32 例, 1983 年 17 例), 进行核酸电泳型分析。现将结果报道如下:

材料与方法

1. 粪便标本的采集: 婴幼儿急性胃肠炎患者早期腹泻新鲜粪便标本, 内加 0.1% 叠氮钠防腐, 置 -20℃ 冰箱内备用。

2. 病毒的分离提取和电镜观察: 按本室报道^[6]的方法进行。

3. 病毒核酸聚丙烯酰胺板状凝胶电泳: 参照 Herring^[7] 和 Gaul 等^[8]的方法进行。

结果与讨论

(一) 电镜检测

49 份标本中有 34 份见到典型的轮状病毒颗粒。阳性率为 69.4%。

(二) 核酸电泳

49 份标本进行核酸电泳分析, 其中 34 份呈现典型的轮状病毒核酸电泳图型。其核酸片段在电泳图上显示出清晰的 11 条区带, 构成很有特征的 RNA 电泳型, 其阳性率 69.4%。核酸电泳结果表明, 该实验技术可用于直接检测患者急性腹泻粪便标本中的轮状病毒, 其敏感性和特异性可与电镜法相比, 为临床诊断提供了一种简单、灵敏、快速的较理想方法。

(三) 病毒核酸电泳型分析

按照 Kalica 等^[9]提出的核酸电泳分型原则, 我们对上述 34 例核酸电泳型进行了分析研究, 发现仅 1982 年 1 例是短型(第 10 和 11 条 RNA 片段泳动较近), 属亚群 I, 余下的 33 例电泳型均是长型(第 10 和 11 条 RNA 片段泳动较远), 属亚群 II(见图 1)。长型和短型与 Espeljo 等人^[10]分别称之为 2S 和 2L 型相似。

在短型和长型混合电泳图型中, 可见到第

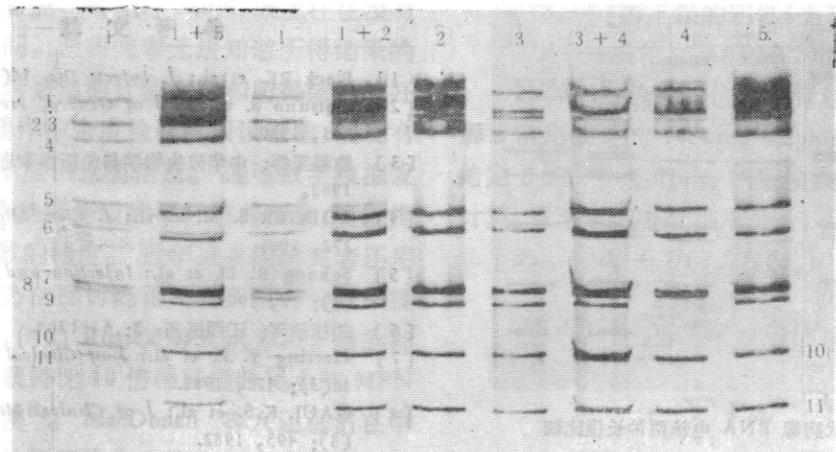


图1 轮状病毒 RNA 电泳短型和长型比较
(1号为短型; 2、3号为长型; 4、5号为长型。)

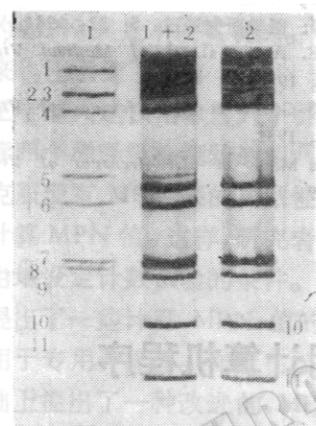


图2 短型和长型比较

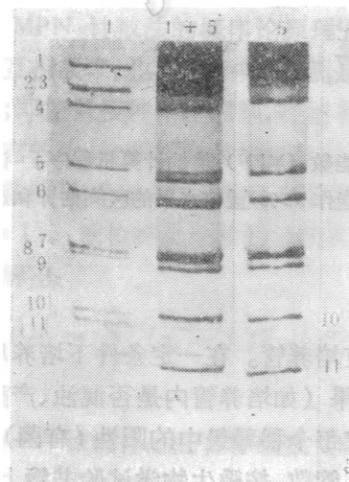


图3 短型和长型比较

2、3、5、9、11条 RNA 片段泳动存在着差别

(见图2)。在短型和长型混合电泳图型中,可见到第5、6、9、11条 RNA 片段泳动不同(见图3)。

通过交叉比较和混合电泳,我们对长型(亚群 II)进行了分析,其结果发现在长型中存在二种不同的电泳型,分别称为长型₁(82年流行株)和长型₂(83年流行株)。长型₁的特征是第2、3片段分离开,第5、6 RNA 片段分离较窄,而长型₂是第2、3片段未分开,第5、6片段分离较宽,用两者混合电泳时,在第二区段中可见到4条 RNA 区带(见图4、5)。

综合上述结果,说明轮状病毒核酸电泳型除长型和短型外,在同一亚群不同株的轮状病毒中还出现众多的电泳型,这一特性对于轮状

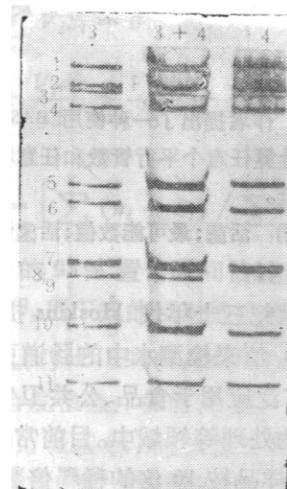


图4 长型₁和长型₂比较

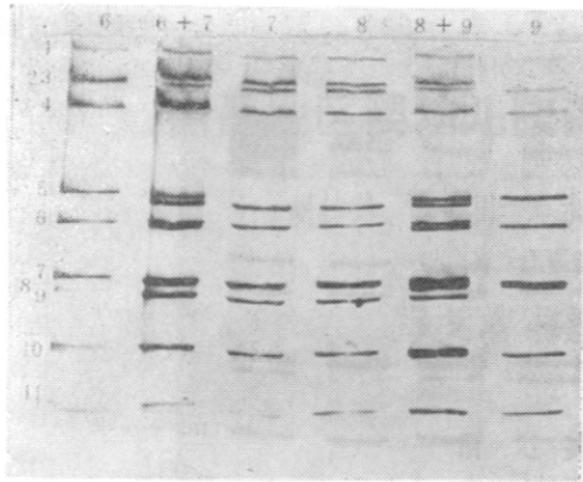


图 5 轮状病毒 RNA 电泳两种长型比较
(7、8 号为长型; 6、9 号为长型。)

病毒的鉴定、分类及分型是很有价值的^[11-13]。

目前根据血清学研究报道^[14], 已知轮状病毒除共同的群特异性抗原外, 还可区分为亚群 I (包括血清型 2 型)、亚群 II (包括血清型 1、3、4 型), 我们发现在长型(亚群 II) 中存在着两种电泳型不同的病毒株, 它们有可能是不同的两种血清型, 这有待于进一步研究证实。

参 考 文 献

- [1] Black R.E. et al.: *J. Infect. Dis.* 14(3): 660, 1980.
- [2] Matsuno S. et al.: *J. of General Virology*, 48(2): 253, 1980.
- [3] 施鹤笙等: 中华微生物学与免疫学杂志, 2(4): 206, 1982。
- [4] RODGER S. M. et al.: *J. Clin. Microbiol.* 13(2): 272, 1981.
- [5] Schnog R. D. et al.: *Infection and Immunity*, 33 (1): 17, 1981.
- [6] 胡桂珍等: 江西医药, 3: 6, 1984。
- [7] Herring Y. E. et al.: *J. of Clinical Microbiology*, 16 (3): 472, 1982.
- [8] GAUL K.S. et al.: *J. of Clinical Microbiology*, 16 (3): 495, 1982.
- [9] Kalica A. R. et al.: *Infection and Immunity*, 33 (3): 958, 1981.
- [10] Espejo R. T. et al.: *Infection and Immunity*, 27 (2): 351, 1980.
- [11] 戴国珍等: 医学研究通讯, 5: 22, 1984。
- [12] Follett E. A. et al.: *J. of Medical Virology*, 11 (1): 39, 1983.
- [13] BEARDS G. M. et al.: *Archives of Virology*, 74 (1): 65, 1982.
- [14] Thouless M. E. et al.: *Archives of Virology*, 73 (3): 219, 1982.