

应,特别在急诊配型时容易发生;放置 5 min 后引物充分溶解,使得扩增反应完全充分,电泳后得到阳性条带清晰、明亮。

3 讨 论

PCR-SSP 是一种简便易行的 HLA 基因分型方法,但是在实际实验过程中会遇到各种各样的问题,主要是抗凝剂使用不当、蛋白质污染、DNA 的浓度过高、*Taq* 酶的含量及加样后扩增板的放置时间等。本研究显示,这些问题都是人为因素造成的。加强操作人员对 PCR-SSP 方法的认知,严格执行实验室标准操作规程,PCR-SSP 在 HLA 基因分型中的常见问题都是可以在人的主观作用下避免的。另外,由于 PCR-SSP 的引物是针对已知基因设计的,所以此方法仅能检测已知多肽性序列,不能检测出新的等位基因。

总之,PCR-SSP 技术是近年来发展起来的基因检测技术,因具有简便、快速、经济等优点受到人们的青睐^[6]。本实验室通过长时间的摸索和总结,将常见问题和解决方法汇总,根据这些原因,修改和完善实验室操作规程,避免各种错误的出现,提高实验的准确性,充分发挥了 PCR-SSP 技术的优越性。

• 经验交流 •

A 群轮状病毒的检测对于婴幼儿腹泻的重要性研究

张 静¹,刘庆玲²,熊德栋¹,赵新惠¹

(1. 山东省滨州市中心医院检验科 251700;2. 山东省淄博市妇幼保健院检验科 255029)

摘 要:**目的** 对 794 例婴幼儿患者粪便进行检测,分析由 A 群轮状病毒引起的婴幼儿腹泻的感染情况。**方法** 采集腹泻婴幼儿新鲜粪便标本,采用 A 群轮状病毒诊断试剂盒,对儿科门诊及住院部腹泻婴幼儿的粪便标本进行 A 群轮状病毒的检测。**结果** 794 例腹泻婴幼儿中检出 371 例 A 群轮状病毒阳性标本,总阳性率为 46.7%。各个年龄段的感染阳性率构成比分别为:<6 个月组为 13.6%,6 个月至 2 岁组为 83.8%,2~5 岁组为 2.6%,表明 6 个月至 2 岁为 A 群轮状病毒的高发年龄段。男性患儿感染率为 47.7%,女性患儿感染率为 45.1%。男女患儿感染率比较无明显差异。**结论** A 群轮状病毒感染是导致婴幼儿腹泻的主要原因之一,6 个月至 2 岁为 A 群轮状病毒的高发年龄段和每年的 10 月至次年 1 月为感染高峰期,临床医生应重视腹泻病原体的检测。

关键词:腹泻;婴儿; 轮状病毒属; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.041

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)09-1001-02

A 群轮状病毒是引起婴幼儿腹泻的主要病原体,季节性 强,多发生在秋冬季节,是危害婴幼儿健康的常见病^[1-2]。为了解急性腹泻婴幼儿中轮状病毒感染的情况,本研究采用 A 群轮状病毒单克隆抗体检测方法,对 2009 年 5 月至 2010 年 5 月滨州市中心医院检验科儿科门诊及住院部腹泻婴幼儿的粪便进行 A 群轮状病毒抗原的检测,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 5 月至 2010 年 5 月滨州市中心医院儿科门诊及住院部急性腹泻婴幼儿 794 例,其中男性患儿 490 例,女性患儿 304 例,年龄在 2 个月至 5 岁之间,其中 6 个月以下的有 108 例,6 个月至 2 岁的有 666 例,2~5 岁的有 20 例。

1.2 方法

1.2.1 检测试剂与原理 试剂由北京万泰生物药业股份有限公司提供,采用胶体金免疫层析法来检测样本中 A 群轮状病毒抗原。测试卡是将羊抗 A 群轮状病毒多克隆抗体直接包被于硝酸纤维素膜上作为检测线,羊抗鼠 IgG 包被作为对照线。检测时样本中的轮状病毒与标记胶体金的轮状病毒单克隆抗体形成复合物。由于层析作用,复合物沿着膜移动,可与包被在检测区的单克隆抗轮状病毒形成双抗体夹心免疫复合物。

1.2.2 试验方法 取适量粪便放入试管,加入 9 倍生理盐水搅拌均匀,静置或低速离心后在加样处滴加 2~3 滴粪便上清液,室温 10 min 后判断结果。如为阳性标本,则可在检测区与

参考文献

[1] 吕世静. 临床免疫学检验[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004: 345.
[2] 郭华国,桂瑞丰,汪宏. 高血脂、肝素对乙型肝炎病毒 DNA 实时荧光定量 PCR 测定干扰机制的探讨[J]. 现代检验医学杂志,2007, 22(1):58-60.
[3] 谭建明,周永昌,唐孝达. 组织配型技术与临床应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:221.
[4] 许飞,吴强,张建伟. *Taq* 酶浓度对 HLA 基因分型结果的影响[J]. 临床输血与检验,2006,8(1):39-40.
[5] Carl W. PCR primer:a laboratory manual[M]. 2nd ed. Woodbury: Cold Spring Harbor Laboratory Press,1995.
[6] 董浙清,黄永禄,范剑. PCR-SSP 技术在 HLA 分型中的应用[J]. 中国高等医学教育杂志,2010(5):144-146.

(收稿日期:2010-12-23)

对照区各凝集成一条红色线,如为阴性,则只在对照区形成一条红色线。

1.3 统计学处理 使用 χ^2 检验和 *U* 检验做统计学处理。

2 结 果

2.1 794 例腹泻婴幼儿粪便中 A 群轮状病毒的检测结果 总的阳性率为 46.7%,男患儿阳性率为 47.7%,女患儿阳性率为 45.1%,男女患儿感染率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表 1。

表 1 794 例腹泻患儿粪便中 A 群轮状病毒检测阳性率

性别	检测例数(<i>n</i>)	阳性例数(<i>n</i>)	阳性率(%)
男	490	234	47.7
女	304	137	45.1
合计	794	371	46.7

表 2 各年龄段婴幼儿轮状病毒抗原检测阳性率及构成比

年龄	检测例数(<i>n</i>)	阳性例数(<i>n</i>)	阳性率(%)	构成比(%)
<6 个月	108	42	38.8	13.6
6 个月至 2 岁	666	322	48.8	83.8
>2~5 岁	20	7	35.0	2.6
合计	794	371	46.7	100.0

2.2 A 群轮状病毒在患儿各年龄段的分布 各个年龄段的感染率分别为: <6 个月组为 38.8%, 6 个月至 2 岁组为 48.8%, >2~5 岁组为 35.0%(表 2)。将 6 个月至 2 岁组与 <6 个月组、>2~5 岁组作比较差异有统计学意义($P<0.01$), 因此表明 6 个月至 2 岁为 A 群轮状病毒的高发年龄段。

2.3 A 群轮状病毒感染的季节性 每年 10 月至次年 1 月份为发病高峰期, 其他月份阳性率较低, 见表 3。

表 3 不同月份 A 群轮状病毒检测阳性率			
时间	检测例数(<i>n</i>)	阳性例数(<i>n</i>)	阳性率(%)
10 月至次年 1 月	593	345	58.2
其他月份	201	26	12.9

2.4 A 群轮状病毒检测阳性标本的粪便性状及镜检结果 794 例 A 群轮状病毒阳性粪便标本中黄色水样便或蛋花样便 498 例(62.7%), 56.8% 的 A 群轮状病毒阳性标本镜检可见+~++ 的脂肪滴, 部分可见少量白细胞, 多数阳性标本无白细胞。

3 讨 论

轮状病毒在电镜下其直径为 65~75 nm 的 20 面体, 有一核心, 含核心病毒, 周围围绕两层壳体, 轮状病毒核心由 11 个不连续双股 RNA 组成。一般人群感染的轮状病毒可分为 A、B、C 3 组病毒, 其中以 A 组最常见, 是婴幼儿重型腹泻的首要病原体。因此, 对婴幼儿腹泻患者进行轮状病毒的检测对于轮状病毒感染的诊断与及时治疗尤为重要^[3-4]。

本研究显示, 轮状病毒感染与性别无关, <6 个月及 2~5 岁的婴幼儿检出阳性率相对较低, 6 个月至 2 岁其阳性率较

高, 占 83.8%, 分析得出 <6 个月的婴儿主要由母乳喂养, 婴儿体内有从母体获得特异性 IgG 抗体, 有乳汁中分泌性 IgA 抗体而获得部分保护作用, 故这一时期婴儿相对不易受轮状病毒的感染。而 6 个月至 2 岁时幼儿大多采用混合喂养或停止母乳喂养, 幼儿体内来自母体的获得性抗体逐渐消失, 而婴幼儿的自身免疫系统又尚未完善, 机体抵抗力弱, 易受轮状病毒的感染, >2 岁的幼儿机体免疫系统逐渐完善, 而且 2 岁以上幼儿感染率较低可能是因为接触过抗原使体内产生了一定量的相应抗体, 对一部分再次接触者起到了一定的保护作用, 故发病较低。因此, 6 个月至 2 岁的婴幼儿应接种轮状病毒的疫苗, 还应相对延长母乳喂养时间, 提倡母乳喂养^[5-6]。

参考文献

[1] 张镇松, 刘秀卿. 318 例腹泻婴幼儿粪便 A 群轮状病毒的检测与分析[J]. 河北医学, 2009, 15(6): 698-700.
[2] 陆惠强, 李晓萍, 姜妍妍, 等. 婴幼儿腹泻轮状病毒检测及结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(2): 210-212.
[3] 周兰, 史新辉, 马兰花. 腹泻患儿 1 064 例粪便中轮状病毒抗原检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 31(5): 486-487.
[4] 袁劲松, 谢国强, 盛裕芬, 等. 腹泻患儿粪便中轮状病毒抗原的快速检测及其临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2004, 19(6): 7-8.
[5] 寿叶女, 徐燕平, 甄国栋. A 群轮状病毒在呼吸道感染伴腹泻患儿中的检测分析[J]. 中国初级卫生保健, 2008, 22(10): 85.
[6] 楼金吐, 张世新. 婴幼儿腹泻病原体检测结果分析[J]. 浙江预防医学, 2008, 20(4): 10-11.

(收稿日期: 2010-12-22)

• 经验交流 •

精浆活性氧水平与男性不育的相关性研究

陈俊清, 罗胜萍, 黄诚刚[△]
(湖北省孝感市中心医院检验科 432000)

摘 要:目的 检测不育症患者精浆活性氧水平, 并分析其与男性不育的相关性。方法 将 267 例男性不育患者按不育类型分为少精子组、弱精子组、少弱精子组、白细胞精子组及畸形精子组 5 组, 与 30 例健康对照组进行比较, 用化学发光法检测其精浆活性氧水平并进行统计学分析。结果 弱精子组患者精浆活性氧水平高于健康对照组($P<0.05$), 其余各组显著高于健康对照组($P<0.01$)。结论 精浆活性氧水平升高可造成氧化应激, 导致精子密度、活力下降以及精子 DNA 发生氧化损伤等一系列反应, 与男性不育密切相关。

关键词:活性氧; 精子; 氧化应激; 男性不育
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.042 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2011)09-1002-03

活性氧(reactive oxy-gen species, ROS)也称氧自由基, 是一些具有比氧更活跃的化学反应性的氧化代谢产物及其衍生的含氧物质。在男性生殖道中, 抗氧化酶系统和非酶性抗氧化物成分使 ROS 的产生和清除保持动态平衡。De Lamirande 和 Gagnon^[1]研究发现适量低浓度的 ROS 在精子获能和顶体反应中起着重要的生理作用, 但是当机体 ROS 产生增加或机体清除能力减弱而造成 ROS 相对增多时, 就会导致细胞氧化应激引起精子的病理损伤, 因此 ROS 对精子功能具有双重的生理作用。本研究通过检测精浆 ROS 水平探讨其与男性不育的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取因不育来本院就诊的 267 例男性患者, 年龄 20~40 岁, 平均 29 岁。身体健康, 无外伤及遗传性疾病

家族史且无明显睾丸、附睾及输精管异常。
1.2 方法 (1)精液收集和检测: 禁欲 2~7 d, 手淫法留取精液, 立即置于 37℃ 孵箱液化。待精液完全液化后使用 CASA 系统检测精子密度、动力学参数等指标。(2)实验分组: 健康对照组 30 例, 精子密度大于或等于 $20\times 10^9/L$, 精子活率大于 60%, a 级精子大于 25% 或 a+b 级精子大于 50%, 有生育史。少精子组 41 例, 精子密度小于 $20\times 10^9/L$, a 级精子大于 25% 或 a+b 级精子大于 50%。弱精子组 65 例, 精子密度大于或等于 $20\times 10^9/L$, a 级精子小于 25% 且 a+b 级精子小于 50%。少弱精子组 104 例, 精子密度小于 $20\times 10^9/L$, a 级精子小于 25% 且 a+b 级精子小于 50%。白细胞精子组 19 例, 精液中白细胞大于 $1.0\times 10^9/L$ 。畸形精子组 38 例, 具有正常形态的精子小于 30%。(3)用化学发光法检测精液 ROS 水平: 将 400

[△] 通讯作者, E-mail: xghcg@163.com。