

• 个案与短篇 •

成人 A 群轮状病交叉反应 1 例

路 蔓, 刘昕阳, 陈 萍, 李 岩, 李 研, 张惠中[△]
(第四军医大学唐都医院检验科, 陕西西安 710038)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.073

文献标识码:C

文章编号: 1673-4130(2014)05-0653-01

A 群轮状病毒是秋季幼儿腹泻的主要病原体, 而成人主要对 B 群轮状病毒敏感。现就胶体金方法检测成人粪便 A 群轮状病毒结果为弱阳性 1 例进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者王某, 男性, 44 岁。患者 1 月前无明显诱因出现腹部胀痛, 伴盗汗、乏力、纳差, 腹泻等症状。就诊于当地医院按“肠炎”给予对症治疗, 因症状无好转, 故来本院门诊就诊。门诊行血常规、便常规、腹部 B 超检查。血常规检测白细胞 $6.96 \times 10^9/L$, 单核粒细胞百分率 11%; 便常规为黄色稀水便, 潜血、转铁蛋白阴性, 镜检未见异常, A 群轮状病毒弱阳性。腹部 B 超未见异常。

1.2 仪器与试剂 美国 ABI2720 型聚合酶链反应仪; 美国 ALPHA FC2 凝胶图像分析仪。北京万泰生物药业股份有限公司提供的 A 群轮状病毒诊断试剂盒; 北京万泰生物药业股份有限公司提供的人轮状病毒抗原酶联免疫吸附测定试剂盒。

1.3 操作方法

1.3.1 A 群轮状病毒胶体金检测操作方法 旋开滴管, 取出采便勺, 从粪便中收取一勺样本(约 100 mg), 取样后抹平勺面, 放入装有样本稀释液的滴管中, 旋紧滴管。振荡混匀, 折断滴管上的盖帽, 弃去前两滴液体。将测试卡平放干燥平面上。垂直而缓慢滴加 2~3 滴混匀后的样本(约 80 μ L)至测试卡加样端中心。结果判断不可超过 10 min。

1.3.2 B 群轮状病毒酶联免疫吸附检测操作方法 首先将样品对应微孔按序编号, 每板应设阴性对照 2 孔、阳性对照 2 孔、空白对照 1 孔(空白对照孔不加样品及酶标试剂, 其余各步操作相同)。分别在阴、阳性对照孔中加入阴性对照、阳性对照各 50 μ L。然后在待测样品孔先加样品稀释液 40 μ L, 再加待测样品 10 μ L。加样时将样品加于酶标板孔底部, 尽量不触及孔壁, 轻轻晃动混匀。用封板膜封板后置 37 °C 温育 30 min。将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用; 小心揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干。每孔加满洗涤液, 静置 30 s 后弃去, 如此重复 5 次, 拍干。再加入酶标试剂 50 μ L, 空白孔除外。加入显色剂 A 50 μ L, 再加入显色剂 B 50 μ L, 轻轻震荡混匀, 37 °C 避光显色 15 min。最后加终止液 50 μ L, 蓝色立转黄色即为终止反应。以空白孔调零, 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度。测定应在加终止液后 15 min 以内进行。

1.3.3 B 群轮状病毒聚合酶链反应检测 首先提取目的 RNA; 取用生理盐水清洗后的粪便上清液作为样本来提取目

的 RNA。反转录: 把目的 RNA 反转录为 cDNA。电泳后对条带进行分析。

2 结 果

2.1 A 群轮状病毒胶体金法检测结果 A 群轮状病毒诊断试剂盒测试卡上出现两条红线, 但是测定线的颜色明显浅于质控线, 随即判断为弱阳性。

2.2 B 群轮状病毒酶联免疫吸附法检测结果 阳性对照孔平均值大于或等于 1.00; 阴性对照平均值小于或等于 0.10。样品 OD 值大于或等于临界值, 结果为阳性。

2.3 B 群轮状病毒聚合酶链反应后电泳结果 排列一致的 11 条核酸条带出现, 由 11 个片段的双链 RNA 组成。电泳图形为“L”形, 其中第 3、4 条很近, 第 5、6 很近, 其余均等距展开。根据上述特点确认本例腹泻粪便中分离出的轮状病毒为 B 群。

3 讨 论

轮状病毒目前已报道的有 5 个群, 其中 A 群研究得较为清楚。分为 9 个血清型, 其余几群较为复杂。病毒基因组包括 11 个双链 RNA 片段, 核酸电泳带型呈多态性。同群带型排列相似, 群与群之间带型排列差异较大。但近年来对轮状病毒基因分子生物学研究发现, 各群轮状病毒均普遍存在基因重组和重排现象。由于婴幼儿自身免疫系统尚未完善, 机体抵抗力弱, 易受轮状病毒感染, 成为病原体进攻机体重要突破口^[1-3]。交叉反应现象的形成可能与下列因素有关: (1)共同抗原, 不同生物体的某些生物大分子具有相同的抗原结构; (2)共同表位, 不同的生物大分子的某些片段(肽段)具有相同的表位; (3)相似表位, 不同的生物大分子, 其表位的部分空间构象十分类似, 可以和同一种抗体的互补决定区相契合。

参考文献

- [1] 张静, 刘庆玲, 熊德栋, 等. A 群轮状病毒的检测对婴幼儿腹泻的重要性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 1001-1002.
- [2] Vasiljevic B, Antonovic O, Maglajlic-Djukic S, et al. The serum level of C-reactive protein in neonatal sepsis[J]. Srp Arh Celok Lek, 2008, 136(5/6): 253-257.
- [3] 路新国, 周桂芬, 李冰, 等. 轮状病毒感染与轻度胃肠炎并良性婴幼儿惊厥的相关性历史队列研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2009, 12(3): 25-26.

(收稿日期: 2013-11-08)