

人群的血清 PCT 水平通常检测不到($<0.1 \text{ ng/mL}$)^[1]。病毒感染和非感染性炎症反应时 PCT 值不升高或升高不明显,当严重感染并有全身表现时,PCT 水平明显升高并可超过 100 ng/mL ,这时大部分由甲状腺以外的组织产生。近几年来国外已将 PCT 检测广泛用于各种感染性疾病的诊断,认为其是一项有潜在诊断价值、敏感的全新诊断指标^[2]。PCT 在新生儿中的特殊意义也日渐受到重视,这是由于新生儿感染性疾病进展快、危害严重、病死率高,而且在新生儿期它不受母体 PCT 水平高低和窒息缺氧损伤引起的急性炎症反应的影响,仅与新生儿自身细菌感染严重程度有关^[3]。国内也有研究认为^[4],PCT 检测对新生儿脓毒症等严重感染早期诊断及疗效判定具有一定价值。本组资料显示,重症感染组及局部感染组患儿 PCT 阳性率均明显高于非感染组,但一般感染时其 PCT 值升高不明显,通常在 2 ng/mL 以下或在正常范围内,而重症感染时 PCT 值常大于 2 ng/mL ,这与国外有关文献报道一致。Assicot 等^[5]曾提出决定 PCT 水平高低与感染的类型、范围及严重程度有关。局限于某个脏器的细菌感染或不伴随脓毒症表现的都不足以引起 PCT 的明显升高。

CRP 是急性时相蛋白的主要组成部分,是炎症反应的重要标志物。主要由肝脏合成,正常人血清中 CRP 含量非常低,一般小于 10 mg/L ,当机体受感染时,CRP 的合成在 $4\sim 6 \text{ h}$ 内迅速增加, $36\sim 50 \text{ h}$ 达到高峰,含量可为正常值的 $100\sim 1000$ 倍;其半衰期较短,为 $4\sim 6 \text{ h}$,在经过合理的治疗后, $3\sim 7 \text{ d}$ 迅速降至正常。小儿急性感染时,CRP 的检测有助于疾病早期的鉴别诊断^[6]。从本组资料分析,在感染组新生儿中,局部感染组 CRP 阳性率与重症感染组差异无统计学意义,但非感染组患儿阳性率低,因此 CRP 可作为细菌感染及疗效观察的指标,但用于鉴别新生儿自身细菌感染严重程度意义不大,在局

部感染时 PCT 一般不升高或轻微升高,而 CRP 可升高。所以在没有全身感染时,CRP 是一个重要的观察指标,而在全身严重感染时,PCT 诊断价值明显优于 CRP,是一个敏感性、特异性更高的指标。

本研究提示,PCT 检测为新生儿感染性疾病的早期诊断提供了一种快速的病原学辅助诊断依据,特别是大于 $2 \mu\text{g/L}$ 的重危患儿,需高度怀疑全身性细菌感染,通过对 PCT 水平的动态观察,可判断感染是否被控制,可指导临床合理使用抗生素,在一定程度上防止耐药及二重感染,从而减少并发症的发生。

参考文献

[1] 秦丽,黄琦薇. 前降钙素检测在新生儿败血症中的临床应用[J]. 实用儿科临床杂志,2004,19(6):470-471.
 [2] van Leeuwen HJ, Voorbij HA. Procalcitonin concentrations in the diagnosis of acute inflammatory reactions [J]. Ned Tijdschr Geneesk, 2002, 146(36):55-59.
 [3] 赵美健,徐琦新. 降钙素原的临床意义及其在新生儿中的应用[J]. 国外医学儿科学分册,2004,31(2):86-88.
 [4] 刘德贝,曹艳林,邹飞扬,等. 超敏 CRP、IL-6 及 PCT 对新生儿脓毒症早期诊断的意义[J]. 国际检验医学杂志,2010,3(31):212-213.
 [5] Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients [J]. With sepsis and infection Lancet, 1993, 341(41):515-518.
 [6] 史新辉. CRP 在鉴别小儿呼吸道感染时的临床价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,6(31):596.

(收稿日期:2010-05-10)

• 检验技术与方法 •

实时荧光定量 PCR 检测生殖道 HPV(6/11)和高危型 HPV 实验研究

刘春林,赵东岩,邓德耀,李娅红

(云南省第二人民医院/昆明医学院附属第四医院检验科,昆明 650021)

摘要:目的 了解该地区生殖道人乳头瘤病毒(HPV)6/11 型和高危型 HPV(HR-HPV)感染状况。方法 采用 HPV(6/11)型和 HR-HPV 型荧光定量 PCR 诊断试剂盒,对 6 734 例临床表现疑似为尖锐湿疣(CA)患者及 1 453 例女性健康体检者生殖道分泌物进行荧光定量 PCR 检测。结果 6 734 例患者中女性 HPV 感染率明显高于男性($P<0.001$);HPV(6/11 型)检出率(23.24%)明显高于 HR-HPV(14.03%)($P<0.001$);对于女性 HR-HPV 感染,有症状患者检出率(17.38%)明显高于健康体检者(5.64%)($P<0.001$)。结论 HPV 是生殖道感染患者的重要病原,CA 患者以 HPV6/11 型为主;健康女性对 HR-HPV 也有一定程度的潜在感染,定期对 HPV 感染进行筛查,对临床诊治具有重要价值。

关键词:聚合酶链反应; 研究; 生殖

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.06.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)06-0684-03

尖锐湿疣(condyloma acuminatum, CA)是由人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染引起的主要发生在肛门生殖器部位的性传播疾病,近年来该病的发病率持续增长,已成为危害人类健康的常见性病之一。在我国 CA 已位于性病的第 2 位,越来越引起学者们的重视^[2]。现对 6 734 例疑似 CA 患者以及 1 453 例健康体检女性生殖道分泌物进行荧光定量 PCR(FQ-PCR)检测,其中包括最常见的低危型 HPV(6、11 型)和高危型 HPV(16、18、31、33、45、52、56、58 型),为临床诊断和治疗 HPV 感染提供实验室依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在 8 187 例中,有症状患者 6 734 例(男 1 295 例,女 6 892 例,均系 2007 年 1 月 1 日至 2009 年 12 月 31 日期间,该院生殖科、妇科或泌尿科就诊的育龄疑似 CA 患者),体检中心女性健康体检者 1 453 例。研究对象年龄多数集中在 $20\sim 40$ 岁,最小者 16 岁,最大者 54 岁。其中 4 617 例(男 743 例,女 3 874 例)检测 HPV(6/11)亚型,2 117 例(男 552 例,女 1 565 例)检测 HR-HPV 亚型,体检中心 1 453 例女性健康体检者仅检测 HR-HPV 亚型。

1.2 方法 女性用棉拭子沾取无菌生理盐水少许,深入宫颈管内口 1~2 cm 处,轻轻旋转 3 圈,收集宫颈口的脱落细胞,将拭子按无菌操作放入专用试管中。男性用无菌男性专用棉拭子沾取少许无菌生理盐水,深入尿道口内 2~4 cm 处取分泌物,将拭子按无菌操作放入专用试管中。加入 1 mL 无菌生理盐水,漩涡震荡片刻,贴管壁挤干拭子,得分泌物悬液,取悬液 200 μ L 置于离心管中,13 000 r/min 离心 10 min,离心半径 8 cm,弃上清液,再加入 50 μ L DNA 提取液,震荡混匀,100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,离心半径 8 cm,取上清液 2 μ L 加入反应体系扩增。

1.3 仪器与试剂 HPV 检测采用实时荧光定量 PCR 技术,仪器为罗氏公司 Light cycler 荧光定量 PCR 仪,试剂由中山大学基因股份有限公司生产,包括 2 种低危型 HPV(6、11 型)和 8 种高危型 HPV(16、18、31、33、45、52、56、58 型)检测试剂。严格按照说明书进行操作及判定结果。

1.4 HPV 的检测 通过探针对 2 种低危型及 13 种高危型 HPV 基因组的特异性引物,结合特异性的 TaqMan 荧光标记探针技术,应用荧光定量 PCR 仪,进行同步核酸扩增检测。该荧光探针的 5'端标记一个荧光基团,3'端标记一个荧光淬灭基团,5'端荧光基团吸收能量后将能量转移给临近的 3'端荧光淬灭基团,正常情况下检测不到该探针 5'端荧光基团发出的信

号。当溶液中有模板时,模板变性后低温退火,引物与探针同时与模板结合,在引物的介导下,沿模板向前延伸至探针结合处,发生链的置换,Taq 酶的 5'~3'外切酶将探针 5'端连接的荧光基团从探针上切割下来,游离于反应体系中,从而脱离 3'端荧光淬灭基团的屏蔽,接受光刺激发出荧光,切割的荧光基团数与 PCR 产物数量呈正比。PCR 循环条件:93 $^{\circ}$ C 预变性 2 min;然后按 93 $^{\circ}$ C 5 s,57 $^{\circ}$ C 45 s,做 40 个循环;37 $^{\circ}$ C 1 min 做 1 个循环。

1.5 统计学处理 利用 SPSS13.0 统计软件进行 χ^2 检验统计分析。

2 结 果

对 6 734 例疑似 CA 患者进行 HPV DNA 检测,其中 4 617 例检测出低危型 HPV(6/11 型),总阳性率为 23.24%,女性阳性率为 25.40%,男性为 11.98%;2 117 例患者检测出 HR-HPV 亚型,总阳性率为 14.03%,其中女性为 17.38%,男性为 4.53%。患者低危型 HPV 检出率明显高于高危型 ($P < 0.001$)。低危型和高危型 HPV 感染,女性检出率均高于男性 ($P < 0.001$)。由于以体检为目的的原因,1 453 例健康女性仅检测了 HR-HPV 亚型,82 例检测结果为阳性,检出率为 5.64%,明显低于疑似 CA 女性患者 ($P < 0.001$),见表 1。

表 1 女性疑似 CA 患者和女性健康体检者 HR-HPV DNA 检出情况

组别	检测例数(n)	阳性例数(n)	阴性例数(n)	阳性率(%)	χ^2 值	P 值
女性疑似 CA 患者组	1 565	272	1 293	17.38	100.24	<0.001
女性健康体检者组	1 453	82	1 371	5.64		

3 讨 论

HPV 是属于乳多空病毒科 A 亚群内的一组 DNA 病毒,是引起 CA 和宫颈癌的主要病原体。HPV 基因分型主要根据病毒 DNA 与其他任何已知 HPV 的 L1、E6 和 E7 开放读码框架(ORFs)的 DNA 序列同源性小于 90% 来确定,目前被鉴定出的 HPV 基因类型已有 100 多种。HPV 易在潮湿温热环境下生存增殖,有严格的嗜上皮特性,只能感染人的皮肤和黏膜层。根据 HPV 的组织嗜异性,将其分为皮肤类和黏膜类。后者又根据与宫颈癌的关系分为低危型和高危型,低危型包括 HPV6、11、42、43、44 型等,主要引起外生殖器湿疣、外阴及阴道上皮内瘤变、低度宫颈上皮内瘤变;高危型包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 型等 20 余种,可导致中高度宫颈上皮内瘤变,与宫颈癌的发生密切相关^[1-3]。据报道人体感染 HPV 后约 90% 能自然清除病毒,而当机体免疫抑制或免疫缺陷时,生殖器 HPV 感染发生率均增加^[4]。

本研究表明,不同性别对 HPV 的感染有差异,男性感染 HPV 总阳性率为 8.80%(114/1 295),女性为 23.09%(1 256/5 439),两者差异有统计学意义 ($P < 0.001$),女性生殖道更易受 HPV 感染,这可能与女性生殖道内环境、特殊的生理结构有关,HPV 寄居女性生殖道的概率高于男性,女性感染后症状轻微不易察觉,易被忽视而未及时治疗。另外 HPV 感染以年轻女性居多,这可能与年轻女性性生活活跃有关。

宫颈癌是发病率仅次于乳腺癌的女性恶性肿瘤,全球每年约有 50 万新增患者,其病死率在女性肿瘤中占第 1 位^[1],HPV 感染是宫颈癌的主要流行因素,HR-HPV 与宫颈癌高度相关^[4]。本研究显示,HR-HPV 在疑似 CA 的女性患者中有

较高的感染率(17.38%),在女性健康体检者中,HR-HPV 携带率达到了 5.64%。有报道显示 HR-HPV 阳性者子宫颈癌的发病率随着年龄的增长而上升^[5]。由于 HPV 主要通过性传播,因此,提倡健康性行为,养成良好的生活卫生习惯,加强锻炼,定期对 HPV 感染进行筛查,对预防 HPV 感染和宫颈癌的发生具有重要意义。另外,由于不同型别 HPV 感染的致病力不同,且 HPV 感染具有很强的区域性,不同国家、不同地区型别分布不同,所以在不同地区进行 HPV 检测具有重要的实际意义^[6]。

本组中所采用的荧光定量 PCR 是在 20 世纪 90 年代末发展起来的一项全新技术,它融合了普通 PCR 和 DNA 探针杂交技术和优点,直接检测 PCR 过程中荧光信号的变化,具有高灵敏性、高特异性的特点^[7]。通过 PCR 检测,可以准确地检测出 HPV 感染患者各亚型的 HPV DNA 的含量,从而得以研究人群中各亚型的 HPV 感染状况,还可用于 HPV 感染导致的 CA、宫颈上皮内高度病变以及子宫颈癌的治疗监测及疗效评估。

参考文献

[1] Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer[J]. Clin Microbiol Rev. 2003, 16(1): 1-17.
 [2] 何明珊. 人乳头瘤病毒与宫颈病变[J]. 华夏医学, 2008, 21(2): 387-389.
 [3] 童永清, 刘蓓, 李艳, 等. 荧光定量 PCR 检测在宫颈癌筛查中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2): 125-126.
 [4] Ahmed AM, Madkan V, Tying SK. Human papillomaviruses and genital disease[J]. Dermatol Clin, 2006, 24(2): 157-165.

[5] 邹倩, 濮德敏, 周利平, 等. 液基超薄细胞技术及 TBS 系统检测 2 635 例宫颈涂片的临床分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2006, 22(4): 268-270.

[6] 陈亿长, 林漫燕, 蓝柳燕, 等. 粤东地区尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒检测及型别分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(1): 7-8.

[7] 张东红. 宫颈癌中人乳头状瘤病毒检测方法的研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2008, 36(1): 64-67.

(收稿日期: 2010-05-10)

• 检验技术与方法 •

急性颅脑损伤医院感染菌群变迁及耐药性分析

柯俊¹, 邹义春¹, 鲍群丽¹, 罗卓跃¹, 汪宏良^{1△}

(1. 湖北省黄石市中心医院医学检验科 435000; 2. 黄石理工学院医学检验系, 湖北黄石 435000)

摘要:目的 了解急性颅脑损伤医院感染菌群变迁及耐药性现状, 为有效控制急性颅脑损伤医院感染提供依据。方法 采用 VITEK-32 系统和 K-B 纸片法, 对急性颅脑损伤医院感染菌群变迁及耐药性进行统计分析。结果 142 例患者共分离出 148 株病原菌, G⁻ 条件致病菌逐渐成为主要病原菌。对庆大霉素、环丙沙星、青霉素、头孢唑林、头孢哌酮、头孢噻肟、头孢他啶耐药率逐年增加, 2009 年耐药率均为 90% 以上; 对万古霉素、亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦、复方磺胺耐药率较低。结论 加强医院感染管理, 及时进行病原学和药物敏感性检测, 合理使用抗菌剂, 有效地控制急性颅脑损伤医院感染的发生, 提高患者生活质量。

关键词:急性颅脑损伤; 交叉感染; 抗药性, 细菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.06.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)06-0686-02

急性颅脑损伤是神经外科的急危重症, 获得性医院感染是急性颅脑损伤术后患者死亡的主要原因之一, 抗菌剂不合理使用是造成医院感染的重要因素^[1]。现分析急性颅脑损伤患者获得性医院感染菌群变迁及耐药性, 为合理使用抗菌剂, 控制医院感染, 促进急性颅脑损伤术后恢复提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2006 年 1 月至 2009 年 12 月本院神经外科收治的 483 例急性颅脑损伤患者, 其中并发医院感染 142 例, 男 94 例, 女 48 例, 平均年龄为 48.5 岁, 均符合中华人民共和国卫生部制定的《医院感染诊断标准(试行)》^[2]。同一患者不同部位、同一患者不同时间分离出的同一病原菌计为 1 株。

1.2 方法 细菌鉴定仪为法国生物梅里埃的 VITEK-32; 药敏试验采用 K-B 纸片扩散法, 根据 CLSI 2006 年文件判定结果。细菌菌谱及耐药性分析应用 WHONET 5.3 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 医院感染 483 例急性颅脑损伤患者中发生医院感染有 142 例, 发生率为 29.5%, 见表 1。

表 1 142 例急性颅脑损伤患者医院感染调查结果

感染部位	感染病例数(n)	构成比(%)
上呼吸道	28	19.6
下呼吸道	69	48.6
泌尿道	29	20.6
胃肠道	8	5.6
皮肤	5	3.7
其他	3	1.9

2.2 医院感染病原菌 142 例急性颅脑损伤并发医院感染的患者共分离出病原菌 148 株, 见表 2。

2.3 病原菌对常用抗菌剂体外药物敏感试验结果 随着抗菌剂的大量使用和耐药因子在细菌间的传播, 细菌的耐药性不断

增强, 2008 年、2009 年均分离出 5 株肺炎克雷伯菌对除亚胺培南外的十几种抗菌剂均耐药。不同地区抗菌剂使用情况不同, 使得不同地域细菌耐药性也有差别。

表 2 急性颅脑并发医院感染患者病原菌调查结果[n(%)]

病原菌种类	2006 年	2007 年	2008 年	2009 年
凝固酶阴性葡萄球菌	17(53.1)	16(42.1)	14(33.3)	10(27.8)
金黄色葡萄球菌	2(6.3)	2(5.3)	1(2.4)	3(8.3)
大肠埃希菌	2(6.3)	4(10.5)	3(7.1)	3(8.3)
铜绿假单胞菌	3(9.4)	3(7.9)	4(9.5)	8(22.2)
鲍曼不动杆菌	2(6.3)	5(13.2)	10(23.8)	5(13.9)
肺炎克雷伯菌	2(6.3)	3(7.9)	6(14.3)	5(13.9)
其他	4(12.5)	5(13.2)	4(9.5)	2(5.6)

括号内为占当年分离病原菌总数百分比。

3 讨论

颅脑损伤特别是重型颅脑损伤患者因昏迷、神经系统障碍、肢体运动障碍、长期卧床, 机体处于高分解代谢状态, 呈负氮平衡, 机体因过度消耗、脱水、高热导致抵抗力下降; 再者由于中枢神经系统受到伤害, 神经-内分泌-免疫系统的调节功能削弱, 机体免疫功能特别是细胞免疫功能低下, 易受病原微生物侵袭^[3-4]。

表 2 结果表明, 近年来国家卫生行政部门对医院感染重视, 通过加强对医院环境、住院条件、医疗用品及设备监管控制, 医务人员进行医疗诊治行为时严格遵守无菌操作和消毒、隔离制度, 加强医院感染预防与控制, 使得引起外源性医院感染的致病菌(金黄色葡萄球菌等)G⁺ 球菌比例有所下降^[5]。而随着抗菌剂大量的应用, 患者体内菌群失调, 引起内源性医院感染的正常菌群或条件致病菌(如铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、某些真菌等)比例逐年上升^[5]。

某一地区某种抗菌剂大量使用, 该区域病原菌对该种抗菌剂耐药性增加^[6]。由于本院神经外科大量使用头孢唑林、头孢

△ 通讯作者, E-mail: jy69970@163.com.