

导致膜通透性下降; (4) 改变青霉素结合蛋白^[6]。随着医院第 3、4 代头孢菌素的广泛使用, 铜绿假单胞菌感染及其耐药问题日益增加, 但头孢他啶对铜绿假单胞菌产生的 β -内酰胺酶具有高度稳定性, 故其在临床上仍显示较高的抗菌活性^[7]。本组研究显示头孢他啶对铜绿假单胞菌的敏感率为 89. 0%, 其可作为本院临床治疗下呼吸道感染该菌的首选药。不同地区、医院的铜绿假单胞菌耐药机制也可能不同^[8-9]。泛耐药菌株的检出率从 2006 年的 1. 8% 增加到 2010 年的 4. 03%, 检出率有增加趋势^[10]。目前在本院尚未检出泛耐药菌株。

医疗机构要高度重视铜绿假单胞菌的耐药性监测, 严格执行消毒制度, 认真执行无菌操作, 加强抗菌药的管理和控制, 以细菌培养为前提, 微生物敏感性试验结果为依据, 合理选用抗菌药, 强化医院感染控制措施, 防止多重耐药菌株的产生和播散。

参考文献

[1] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 10 版. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 435-436.
[2] 陈日炳, 胡琴. 深圳东部地区临床常见病原菌分布及铜绿假单胞菌的耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1276-

1277.
[3] 张伟博, 倪语星. 铜绿假单胞菌耐碳青霉烯类抗菌药机制[J]. 微生物与感染, 2008, 3(2): 107-110.
[4] 张伟博, 倪语星, 孙景勇, 等. 2010 年中国 CHINET 铜绿假单胞菌耐药性监测[J]. 中华感染与化疗杂志, 2012, 12(3): 161-166.
[5] 李秀, 吴敏飞, 徐雪松. 亚胺培南耐药铜绿假单胞菌的耐药性分析[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(11): 1447-1448.
[6] 张凤凯, Malcom G, Page P, 等. 铜绿假单胞菌对 β -内酰胺类抗生素耐药性主决定因素的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2000, 25(5): 362-367.
[7] 张春华, 喻华, 刘华, 等. 铜绿假单胞菌感染分布及耐药性动态变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(1): 121-123.
[8] 王丽萍, 王茸, 孙长俭, 等. 2005-2008 年医院感染铜绿假单胞菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(13): 1744-1745.
[9] 张伟博, 倪语星, 孙景勇, 等. 2009 年中国 CHINET 铜绿假单胞菌细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 11(6): 436-440.
[10] 辛续丽, 杨朵, 王松雪, 等. 铜绿假单胞菌院内感染分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(1): 99-101.

(收稿日期: 2013-04-10)

• 经验交流 •

血清 sB7-H4 检测在胃癌诊断中的价值

胡建慧¹, 陈 忠², 毛 飞³

(1. 镇江市中医院检验科, 江苏镇江 212003; 2. 苏州永鼎医院检验科, 江苏吴江 215200; 3. 江苏大学基础医学与医学技术学院, 江苏镇江 212013)

摘 要:目的 探讨血清可溶性 B7-H4(sB7-H4)检测对胃癌的诊断价值。方法 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测 50 例胃癌患者、30 例慢性胃炎患者和 30 例健康志愿者血清 sB7-H4 水平, 并分析胃癌患者血清 sB7-H4 水平与临床病理参数的关系。结果 胃癌组血清 sB7-H4 浓度为 (48. 26±12. 32)ng/mL, 显著高于胃炎组[(33. 53±10. 29)ng/mL]和对照组[(28. 40±9. 24)ng/mL], 差异均有统计学意义($P<0. 05$)。胃癌组患者血清 sB7-H4 浓度与肿瘤 TNM 分期、分化程度及有无淋巴结转移相关($P<0. 05$), 但与年龄、性别、肿瘤大小及病理组织类型无关。结论 sB7-H4 与胃癌发生、发展及转移相关, 可作为胃癌诊疗的潜在血清标志物。

关键词: 胃肿瘤; 酶联免疫吸附测定; 血清; 可溶性 B7-H4
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 21. 067 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2013)21-2920-03

B7-H4 是 2003 年发现的一个共刺激分子 B7 家族成员配体, 通过抑制 T 淋巴细胞的增殖、白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)的产生、G₀/G₁ 期细胞周期进程而对 T 淋巴细胞介导的细胞免疫起负调节作用^[1]。在肿瘤、同种异体移植及自身免疫性疾病中抑制人体的自身免疫功能^[2]。B7-H4 可表达于肿瘤细胞的细胞膜和细胞质, 迄今已在多种实体瘤组织中检测到 B7-H4 的高表达。血清可溶性 B7-H4(soluble B7-H4, sB7-H4)检测作为非侵入性检测手段在卵巢癌、血液系统恶性肿瘤及肺癌等疾病的检测中已有报道^[3-5]。但检测其在胃癌患者血清中含量及其与临床病理参数的相关性报道不多, 本研究旨在探讨 sB7-H4 在胃癌诊断中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 1 月至 2013 年 2 月镇江市中医院肿瘤外科收治并经病理组织学确诊为胃癌的 50 例患者(均未接受化疗及放疗)作为胃癌组, 其中, 男 29 例, 女 21 例; 年龄 22~83 岁, 中位 60 岁。另选择胃镜检查及病理学确诊的慢性胃炎患者 30 例和 30 例健康体检者分别作为胃炎组和对照组,

3 组受试者年龄和性别比的差异无统计学意义($P>0. 05$), 具有可比性。

1.2 主要试剂与仪器 主要试剂包括: 抗人 B7-H4 单克隆抗体(美国 eBioscience 公司)、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记羊抗兔 IgG 抗体(北京博奥森生物技术有限公司)、兔抗小鼠多克隆抗体(由江苏大学基础医学与医学技术学院临床免疫学实验室制备)、四甲基联苯胺(3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine dihydrochloride, TMB)底物及显色剂(沈阳惠民生物工程有限公司); 主要仪器包括: Biocell 2010 型酶标仪(郑州博赛生物科技股份有限公司)及酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)微量反应板(美国 Corning 公司)。

1.3 检测方法 采用 ELISA 夹心法检测血清 sB7-H4 的步骤参见文献^[6]。用抗人 B7-H4 单克隆抗体包被酶标板, 胎牛血清封闭, 将待测血清标本加入包被的酶标板中, 参考标准品为重组小鼠 B7-H4 蛋白, 37℃作用 1 h, 加入稀释的兔抗小鼠 B7-H4 多克隆抗体, 用含吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液(phos-

phate buffered solution with Tween-20, PBST) 洗涤 3 次, 再加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体, 显色 15 min 后用 2 mol/L 硫酸终止反应, 在酶标仪上检测 450 nm 波长处的吸光度 (absorbance, A) 值。用标准曲线法计算未知样品浓度。所有受试者均于早晨空腹采集静脉血 3 mL, 于分离胶管中静置 1 h 分离血清, 小量分装, 置 -70 ℃ 保存备用。所有样本进行同批次检测, 每个样本设 2 个平行检测, 取平均 A 值计算样本中 sB7-H4 浓度 (ng/mL)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 相关性分析应用 Pearson 相关系数法, 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

胃癌组患者血清 sB7-H4 水平显著高于胃炎组及对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。胃癌组患者血清 sB7-H4 浓度与临床病理参数的相关性分析显示, 血清 sB7-H4 浓度与肿瘤 TNM (tumor-node-metastasis) 分期、分化程度及有无淋巴结转移相关 ($P < 0.05$), 但与年龄、性别、肿瘤大小及病理组织类型无关 ($P > 0.05$)。

表 1 胃癌组、胃炎组及对照组患者血清 sB7-H4 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	sB7-H4 (ng/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>
胃癌组	50	48.26 ± 12.32	5.354	0.00*△
胃炎组	30	33.53 ± 10.29	1.936	0.06#
对照组	30	28.40 ± 9.24	7.628	0.00

*: $P < 0.05$, 与胃炎组比较; △: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P > 0.05$, 与对照组比较。

表 2 胃癌组患者血清 sB7-H4 浓度与临床病理参数的关系

临床病理参数	<i>n</i>	sB7-H4 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄 (年)			0.698 2	0.488 4
≤60	21	47.10 ± 11.56		
>60	29	49.58 ± 12.96		
性别			0.367 9	0.714 6
男	29	48.89 ± 12.75		
女	21	47.58 ± 11.96		
组织类型			1.219 4	0.228 7
印戒细胞癌	28	50.74 ± 12.74		
黏液腺癌	22	46.52 ± 11.34		
肿瘤大小 (cm)			0.232 9	0.816 0
≤5	32	48.16 ± 11.88		
>5	18	48.99 ± 12.48		
分化程度			3.389 8	0.001 4
中、高分化	33	39.41 ± 11.45		
低、未分化	17	58.07 ± 13.71		
TNM 分期			3.351 5	0.001 6
I + II	19	38.95 ± 10.89		
III + IV	31	58.33 ± 14.01		
淋巴结转移			2.860 0	0.006 3
有	36	57.25 ± 15.07		
无	14	38.87 ± 11.02		

3 讨 论

胃癌的发病率与病死率高居肿瘤的前 4 位, 目前胃癌患者的 5 年生存率仍低于 20%, 寻求胃癌早期诊断的标志物是当前胃癌诊疗的研究热点。共刺激分子 B7 家族及其调节网络在肿瘤免疫逃逸中起重要作用。由于 B7-H4 与 B7 家族其他分子具有 DNA 序列同源性, 在 2003 年被 3 个实验室所认定^[7]。B7-H4 是一个 I 型跨膜蛋白, 与其他 B7 家族成员有 20%~30% 的氨基酸同源性^[8]。B7-H4 通过抑制 T 淋巴细胞的增殖、细胞因子的产生及细胞周期而对免疫应答起负性调节作用^[9], B7-H4 过表达对肿瘤发生、进展和逆转起重要作用^[10], 对多种实体瘤的临床诊断有重要价值, 并可能成为一种新的治疗肿瘤的分子靶标^[11]。血清 sB7-H4 检测作为非侵入性检测手段已逐渐被国内、外学者所重视, Simon 等^[12]首次运用 ELISA 法证实了卵巢癌患者血清中存在高表达的 sB7-H4。胡国艳等^[13]研究显示宫颈癌患者血清 sB7-H4 水平显著高于子宫肌瘤患者及体检健康者, 患者术前 sB7-H4 水平明显高于术后, 它对宫颈癌的辅助诊疗具有一定的临床意义。陈俊俊等^[14]研究表明, 乳腺癌组患者血清中 sB7-H4 含量显著高于乳腺良性疾病组及健康对照组, 乳腺癌患者血清中 sB7-H4 含量与淋巴结转移显著相关, 可作为乳腺癌诊疗的潜在血清标志物。另有研究表明, 在肾癌、食管癌及肺癌等多种肿瘤患者的血清中, sB7-H4 含量明显高于健康者, 它可作为肿瘤诊断的标志物^[15-17]。Arigami 等^[18]研究表明, 检测胃癌患者外周血 B7-H4 mRNA 能够评估对胃癌的进展与预后。肿瘤患者血清中 sB7-H4 含量的升高与肿瘤细胞高表达 B7-H4 密切相关, 国内学者关于胃癌患者血清 sB7-H4 含量高于正常人已有报道^[19], 但只分析了 sB7-H4 含量与胃癌分化程度的相关性, 即低分化腺癌显著高于高分化腺癌, 但没有用慢性胃炎患者做对照研究。本研究在此基础上进一步分析了胃癌患者血清 sB7-H4 浓度与多种临床病理参数的相关性, 并用慢性胃炎患者进行对照, 结果显示胃癌患者血清 sB7-H4 浓度显著高于慢性胃炎患者及正常人, 且其不仅与胃癌分化程度相关, 也与 TNM 分期及有无淋巴结转移相关, 但与年龄、性别、肿瘤大小和病理组织类型无关, 表明 sB7-H4 与胃癌发生、发展及转移相关, 这与体外实验研究结果相符, 即 B7-H4 能在疾病早期抑制 T 淋巴细胞反应, T 淋巴细胞免疫活性是恶性肿瘤预后判断的指标, 肿瘤发生与免疫系统受抑制有关。

综上所述, 血清 sB7-H4 显著升高与机体肿瘤免疫逃逸机制相关, 胃癌患者血清 sB7-H4 水平升高与胃癌发生、发展及转移相关, 血清 sB7-H4 可作为胃癌诊疗的潜在血清标志物。

参考文献

[1] Podojil JR, Miller SD. Targeting the B7 family of co-stimulatory molecules: successes and challenges [J]. BioDrugs, 2013, 27(1): 1-13.

[2] Yu N, Li X, Zheng S, et al. B7-H4's Role "Beyond the Tumor" [J]. Inflammation, 2013 Apr 21. [Epub ahead of print]

[3] Ochoa A, Chen L, Zou W. B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinom [J]. J Exp Med, 2006, 203(4): 871-881.

[4] 王小梅, 胡国艳, 刘伟, 等. 血液系统恶性肿瘤患者血清可溶性 B7-H4 的检测及其临床意义 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(9): 893-895.

[5] 姜孝新, 伍小平, 将艳. 肺癌患者血清可溶性 B7-H4 分子的检测及其临床意义 [J]. 武汉大学学报: 医学版, 2012, 33(1): 81-84.

- [6] 胡国艳,郑淑华,刘伟,等.检测可溶性 B7-H4 ELISA 夹心法的建立[J].细胞与分子免疫学杂志,2008,24(8):831-833.
- [7] Sica GL,Choi IH,Zhu G,et al. B7-H4,a molecule of the B7 family,negatively regulates T cell immunity[J]. Immunity,2003,18(6):849-861.
- [8] He C,Qiao H,Jiang H,et al. The inhibitory role of b7-h4 in anti-tumor immunity:association with cancer progression and survival [J]. Clin Dev Immunol,2011,2011:695834.
- [9] Fauci JM,Straughn JM Jr,Ferrone S,et al. A review of B7-H3 and B7-H4 immune molecules and their role in ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol,2012,127(2):420-425.
- [10] Zhang L,Wu H,Lu D,et al. The costimulatory molecule B7-H4 promote tumor progression and cell proliferation through translocating into nucleus[J]. Oncogene,2013 Jan 14. [Epub ahead of print]
- [11] Zheng X,Li XD,Wu CP,et al. Expression of costimulatory molecule B7-H4 in human malignant tumors[J]. Onkologie,2012,35(11):700-705.
- [12] Simon I,Zhuo S,Corral L,et al. B7-h4 is a novel membrane-bound protein and a candidate serum and tissue biomarker for ovarian cancer [J]. Cancer Res,2006,66(3):1570-1575.
- [13] 胡国艳,郑淑华,刘伟,等.宫颈癌患者血清可溶性 B7-H4 检测及临床意义[J].中国实验诊断学,2010,14(9):1425-1427.
- [14] 陈俊俊,石红兵,郑晓,等.可溶性 B7-H4 分子在乳腺癌患者血清中的表达及其临床意义[J].临床肿瘤学杂志,2012,17(7):597-600.
- [15] Thompson RH,Zang X,Lohse CM,et al. Serum-soluble B7x is elevated in renal cell carcinoma patients and is associated with advanced stage[J]. Cancer Res,2008,68(15):6054-6058.
- [16] 蒋敏,顾国浩,张光波,等.可溶性 B7-H4 在食管癌患者血清中的表达分析[J].广东医学,2009,30(6):925-926.
- [17] Zhang G,Xu Y,Lu X,et al. Diagnosis value of serum B7-H3 expression in non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer,2009,66(2):245-249.
- [18] Arigami T,Uenosono Y,Hirata M,et al. Expression of B7-H4 in blood of patients with gastric cancer predicts tumor progression and prognosis [J]. J Surg Oncol,2010,102(7):748-752.
- [19] 华建江,陈望,姜健,等.可溶性 B7-H4 在早期胃癌中的诊断价值探讨[J].中国免疫学杂志,2012,28(8):745-747.

(收稿日期:2013-05-16)

• 经验交流 •

呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌的生物分型与耐药性研究

常 璠

(西宁市第三人民医院检验科,青海西宁 810005)

摘要:目的 了解呼吸道感染患儿流感嗜血杆菌的生物分型及其对常用抗菌药的耐药情况。方法 对 320 例呼吸道感染患儿的鼻咽分泌物进行流感嗜血杆菌检测,采用流感嗜血杆菌选择性培养基进行分离培养,通过卫星试验进行菌株鉴定,采用吡啶试验、脲酶试验及鸟氨酸脱羧酶试验进行流感嗜血杆菌的生物分型,采用纸片扩散抗菌试验进行微生物敏感性试验,采用头孢硝噻吩纸片检测流感嗜血杆菌 β -内酰胺酶。结果 呼吸道感染患儿鼻咽分泌物的流感嗜血杆菌检出率为 47.50%(152/320),共检出 I、Ⅲ、Ⅳ、V、VI 5 型,分别占 3.29%(5/152)、5.26%(8/152)、33.55%(51/152)、54.61%(83/152)、3.29%(5/152)。产 β -内酰胺酶的流感嗜血杆菌占 42.76%(65/152)。流感嗜血杆菌对四环素、利福平和美罗培南敏感;对阿奇霉素和左氧沙星的耐药率均小于 10.00%;对氨苄西林、氯霉素和复方磺胺甲噁唑的耐药率为 87.50%~100.0%。结论 该院流感嗜血杆菌 IV、V 型是儿童呼吸道感染的主要生物型,产 β -内酰胺酶是其耐药的重要机制。

关键词:嗜血菌,流感; 细菌分型; 抗药性,细菌; 抗菌药; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.068

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)21-2922-02

近年来,随着抗菌药物的广泛使用,流感嗜血杆菌对氨苄西林的耐药日趋严重,特别是 β -内酰胺酶阳性的流感嗜血杆菌对多种抗菌药的耐药引起了医学界普遍关注^[1]。为此,笔者对本院 2012 年 1~12 月流感嗜血杆菌的分离及耐药状况进行了回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2012 年 1~12 月收治的 320 例呼吸道感染患儿,其中,男 186 例,女 134 例;年龄 3~5 岁。对其鼻咽分泌物进行流感嗜血杆菌检测。

1.2 菌株分离与鉴定 采用流感嗜血杆菌选择性培养基进行分离培养,通过卫星试验对分离的菌株进行鉴定。

1.3 生物分型 采用吡啶试验、脲酶试验及鸟氨酸脱羧酶试验进行流感嗜血杆菌的生物分型^[2]。

1.4 微生物敏感性试验 采用纸片扩散抗菌试验(Kirby-Bauer,K-B)进行微生物敏感性试验,药敏纸片为英国 Oxoid 公司产品,结果判断按照美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute,CLSI)2010 年制定的标准

进行判读。

1.5 β -内酰胺酶检测 采用头孢硝噻吩纸片(法国生物梅里埃公司)检测流感嗜血杆菌 β -内酰胺酶。

1.6 质量控制 质控菌株为大肠埃希菌 ATCC35218、流感嗜血杆菌 ATCC49247、流感嗜血杆菌 ATCC49766。

2 结果

从 320 例呼吸道感染患儿的鼻咽分泌物中共分离出流感嗜血杆菌 152 株(剔除同一患者相同部位的重复菌株),检出率为 47.50%(152/320)。对所分离的菌株进行生物分型,共检出 I、Ⅲ、Ⅳ、V、VI 5 型,分别占 3.29%(5/152)、5.26%(8/152)、33.55%(51/152)、54.61%(83/152)、3.29%(5/152)。产 β -内酰胺酶的流感嗜血杆菌占 42.76%(65/152)。

流感嗜血杆菌对常用抗菌药物的耐药性见表 1,流感嗜血杆菌对四环素、利福平和美罗培南敏感;对阿奇霉素和左氧沙星的耐药率均小于 10.00%;对氨苄西林、氯霉素和复方磺胺甲噁唑的耐药率为 87.50%~100.0%;对其他常用抗菌药物呈较高耐药性,耐药率大于 40.00%。