

1996;320.

[4] 周晶苹,彭海,顾松琴,等.海拔 4 750 米地区青藏铁路工人尿微量蛋白水平研究[J].临床荟萃,2008,3(1):42.

[5] 国际高原医学会慢性高原病专家小组.第六届国际高原医学和低氧生理学术大会颁布慢性高原病青海诊断标准[J].青海医学院学报,2005,26(1):3-5.

[6] 尹明,魏丽,李银平,等.环氧化酶在心血管疾病中的研究现状[J].中国危重病急救医学,2000,12(11):698-701.

[7] Yokota C,Kaji T,Kuge Y,et al. In process citation[J].Neurosci Lett,2004,357(3):219-222.

[8] Sasaki T,Kitagawa K,Yamagata K,et al. Amelioration of hippocampal neuronal damage after transient forebrain ischemia in cyclooxygenase 2 deficient mice[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004,24(1):107-113.

[9] 蒋跃绒,殷惠军,陈可冀.环氧化酶与心血管疾病[J].心血管病学进展,2006,27(5):627-630.

[10] 朱明慧,刘旭华,王留意,等.环氧化酶-2 与亚临床动脉粥样硬化关系的临床研究[J].中国当代医药,2010,17(27):42-44.

(收稿日期:2014-05-02)

• 经验交流 •

120 例高危 HPV E6/E7 mRNA 检测结果分析

张凤芹,张清泉,侯素平,冀雪霞,张宪军,杜素果
(哈励逊国际和平医院病理科,河北衡水 053000)

摘要:目的 分析高危人乳头瘤病毒(HPV) E6/E7mRNA 检测结果在宫颈病变的不同情况时的意义。方法 应用支链 DNA 技术检测宫颈脱落细胞和宫颈组织中的 HPV E6/E7 mRNA。结果 细胞学异常组阳性率显著高于细胞学正常组($P<0.05$);宫颈癌前病变和宫颈癌之间阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 宫颈上皮的异常与高危 HPV E6/E7 mRNA 的转录有关,在宫颈癌筛查中检测高危 HPV E6/E7 mRNA 的转录具有临床应用价值。

关键词:人乳头瘤病毒; E6/E7 mRNA; 宫颈病变; 支链 DNA 技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.17.060 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)17-2396-02

宫颈癌是女性生殖道发病率和死亡率最高的恶性肿瘤,属于感染性疾病,但可以预防、治疗甚至治愈。高危型人乳头瘤病毒(HPV)的癌基因 E6/E7 的表达必须通过 E6/E7 mRNA。它们的表达会导致宿主细胞恶性转化。本研究旨在探讨 HPV E6/E7 mRNA 在宫颈病变中检测的意义。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2011 年 10 月至 2014 年 3 月在哈励逊国际和平医院、衡水市第二人民医院、衡水市第四人民医院就诊的患者,年龄 21~65 岁,有性生活的妇女,共 120 例。

1.2 仪器与试剂 主要仪器包括电热恒温鼓风干燥箱、冷光仪。高危 HPV E6/E7 mRNA 检测试剂盒为科蒂亚生物有限公司产品。

1.3 方法 标本的采集与保存:(1)细胞标本的采集用细胞采样器的中央刷毛部分轻轻的深插入子宫颈管内,按同一个时针方向转动采样器 5~8 周后,将收集的细胞放入细胞保存液中。(2)宫颈组织用蜡块包埋的组织,切片,脱蜡至水,用刀片刮下。操作严格按试剂盒说明书进行。

2 结果

2.1 未确诊宫颈癌人群的检测结果分析 79 例未确诊宫颈癌者的标本按细胞学检查结果分为细胞学结果正常组和细胞学结果异常两组,两组间进行 HPV E6/E7 mRNA 阳性率的比较。53 例细胞学结果正常者的 E6/E7 mRNA 阳性率为 51%(27/53),26 例细胞学结果异常者 E6/E7 mRNA(HPV)的阳性率为 85%(22/26),两组阳性率进行比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 对宫颈癌术人群检测结果的分析 7 例细胞学结果正常者 HPV E6/E7 mRNA 阳性者 5 例,阳性率为 71%(5/7),1 例细胞学结果异常者 E6/E7 mRNA 为阳性。由于例数太少无法进行统计学分析。阳性拷贝值范围为 121.750~31 545 copies/mL,应注意密切随访。

2.3 组织学标本的检测 一共对 34 例组织学标本进行了检

测,根据组织学类型将标本分为两组:宫颈鳞状细胞癌组(12 例)和癌前病变组(22 例)。22 例癌前病变组标本的 HPV E6/E7 mRNA 检测的阳性率为 91%(20/22),宫颈鳞状细胞癌组标本的 HPV E6/E7 mRNA 检测阳性率为 100%(12/12),两组间的阳性率进行比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。宫颈癌前病变组 HPV E6/E7 mRNA 检测值的范围为 32.870~11 274.460 copies/mL,宫颈鳞状细胞癌组 HPV E6/E7 mRNA 检测值的范围为 15 516.400~246 410.890 copies/mL。宫颈鳞状细胞癌组标本的阳性拷贝值均值高于宫颈癌前病变组标本。

3 讨论

99.7%的宫颈癌合并 HPV 感染^[1],行 HPV E6/E7 mRNA 检测更能反映 HPV 感染的危害程度^[2]。HPV 感染后,其 DNA 能够整合到宿主细胞 DNA 中,HPV E6、E7 蛋白表达,使抑癌蛋白 P53、Rb 失活,最终会导致宫颈上皮细胞的恶性增生^[3-5]。

通过对 120 例 HPV E6/E7 mRNA 检测结果分析发现高危 HPV E6/E7 mRNA 的阳性率随细胞的异常而上升;CIN 者的 HPV E6/E7 mRNA 阳性表达高达 91%;宫颈癌术后仍有 71%的患者高危 HPV E6/E7 mRNA 为阳性。宫颈鳞状细胞癌患者 HPV E6/E7 mRNA 阳性表达高达 100%且宫颈鳞状细胞癌阳性拷贝值范围为 15 516~24 641 copies/mL,远高于无鳞状上皮细胞内病变者的 HPV E6/E7 mRNA 阳性拷贝值范围 40~2 069 copies/mL。

宫颈上皮的异常与高危 HPV E6/E7mRNA 的转录有关,在宫颈癌筛查中检测高危 HPV E6/E7 mRNA 的转录具有临床应用价值。

参考文献

[1] Muñoz N,Castellsagué X,de González AB,et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer[J]. Vaccine,2006,24 Suppl 3:S3-

10.
[2] 刘桐宇,谢榕. TCT 标本检测高危 HPV E6/E7mRNA 及在宫颈病变中的应用研究[J]. 中华妇幼临床医学杂志:电子版, 2011, 3(7):202-205.
[3] 潘钦石,王瑜敏,陈洁,等. 温州地区宫颈癌妇女人乳头瘤病毒 58E6/E7 基因变异分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(5): 1161-1163.
[4] 王华,蔡红兵,丁晓华,等. 湖北地区宫颈癌组织 HPV16 E7 和 E5

转化基因变异分析[J]. 武汉大学学报:医学版, 2009, 30(6):759-762.
[5] 彭丽娜,王言奎,罗兵,等. 山东青岛地区宫颈癌组织中 HPV16 型 E6 和 E2 基因突变分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(7):608-612.

(收稿日期:2014-05-08)

• 经验交流 •

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌基因分型的研究

王 玮

(天津南开医院核医学科,天津 300100)

摘要:目的 应用多重聚合酶链反应(PCR)对临床分离的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)的金黄色葡萄球菌染色体 *mec* 基因盒(*Staphylococcal chromosomal cassette mec*, SCCmec)基因型及亚型进行分型。方法 收集该院 2012 年 1~9 月临床分离的 30 株耐甲氧西林金黄色葡萄球菌,用多重 PCR 检测 MRSA 的 SCCmec 的基因型及亚型。结果 检出 SCCmec I 型菌株 1 株(3.3%),SCCmec I A 型菌株 1 株(3.3%),SCCmec II 型菌株 4 株(13.3%),SCCmec III 型菌株 23 株(76.7%),SCCmec IV 型菌株 1 株(3.3%)。结论 该院分离的 MRSA 以携带 SCCmec III 为主。多重 PCR 可用于临床实验室 MRSA 的 SCCmec 基因分型。

关键词:葡萄球菌,金黄色; 甲氧西林; 基因型; 抗药性,微生物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.17.061

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)17-2397-02

现今引起社区及医院内感染的主要致病菌以耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)为主。特别是院内感染的菌株病死率极高,常常呈现多重耐药特点,已经成为抗感染治疗中存在的严峻问题。目前的研究表明,金黄色葡萄球菌染色体 *mec* 基因盒(SCCmec)作为一种新型的可移动元件是编码金黄色葡萄球菌对甲氧西林耐药的 *mec* 基因,它区别于转座子和噬菌体。SCCmec 具有以下两种特点:(1)作为载体,使 *mec* 基因在葡萄球菌菌株之间水平传播;(2)可以整合除 *mec* 基因以外的许多耐药基因^[1-2],至今已发现 5 种 SCCmec 基因型及亚型,以 SCCmec I、II、III 和 IV 及亚型多见^[3]。本研究针对本院分离的 MRSA 采用多重聚合酶链反应(PCR)进行基因分型,为进一步了解 MRSA 的耐药性打下基础。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集本院 2012 年 1 月至 9 月从临床各种标本(尿、引流液、胸腔积液和分泌物)中分离的 MRSA 30 株。

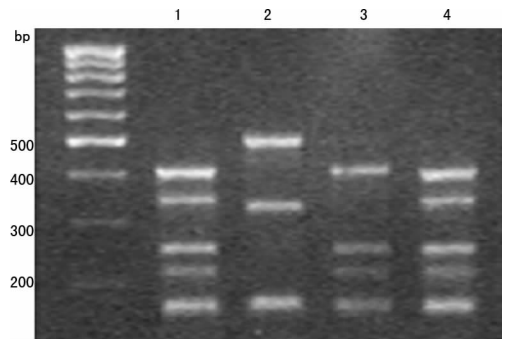
1.2 仪器与试剂 美国应用生物系统公司生产的 AB 9700 型 PCR 仪、北京双恒电泳仪公司生产的 JY600 电泳仪、北京君意东方电泳设备有限公司生产的 JY04S-3A 凝胶成像仪。9 对引物的设计参考文献[3],由上海生工生物工程有限公司合成。dNTP、蛋白酶 K、MgCl₂、10×Buffer、UNIQ-10 柱式细菌 DNA 抽提试剂盒由上海生工生物工程有限公司提供。

1.3 方法 采用 UNIQ-10 柱式细菌 DNA 抽提试剂盒提取 DNA 模板(参考说明书)。所得基因组 DNA 于-20℃保存备用。参照文献[3],把 9 对引物放入同一反应体系建立多重 PCR 检测 SCCmec,反应条件:PCR 反应总体积 50 μL,MECAP4、MECAP7、IS431P4、DCSF2、DCSR1 浓度为 800 nmol/L,MECIP3、MECIP2、pUB110R1、pT181R1、CIF2F2、CIF2R2、RIF5F10、RIF5R13 浓度为 400 nmol/L, RIF4F3、RIF4R9、KDPF1、KDPR1 浓度为 200 nmol/L, DNA 模板 5 μL,10×PCR buffer 5 μL,镁离子 2.5 mmol/L, dNTP(200

μmol/L)5 μL, Taq 酶 0.5 μL,双蒸水补足 50 μL。扩增条件:94℃初变性 4 min;94℃变性 30 s,退火温度 52℃,时间 30 s,72℃延伸 60 s,进行 30 个循环;最后延伸 4 min。在 1.5%的含溴乙锭的琼脂糖凝胶中将所生成的 PCR 产物电泳,最后用凝胶成像系统观察结果。

2 结 果

根据凝胶成像图判定所有菌株基因型,与参考文献[3]进行比对所得。本实验中 30 株 MRSA 中 SCCmec I A 型菌株 1 株(3.3%),SCCmec I 型菌株 1 株(3.3%),SCCmec II 型菌株 4 株(13.3%),SCCmec III 型菌株 23 株(76.7%),SCCmec IV 型菌株 1 株(3.3%)。选取的清晰的凝胶成像图,见图 1。



1、4;SCCmec III 型;2;SCCmec I 型;3;SCCmec II 型

图 1 多重 PCR 检测 SCCmec 电泳图

3 讨 论

存在于 SCCmec 上的插入序列 IS431 是形成 MRSA 多重耐药的原因,同时,SCCmec 基因型别的差异会造成其整合后的耐药基因的差异^[4]。在研究金黄色葡萄球菌获得 *mec* 基因和 MRSA 菌株获得多重耐药的机制方面,SCCmec 基因分型方法要优于其他的分型方法。SCCmec 基因分型结果的不同在一定程度上也取决于 MRSA 菌株来源背景不同。通过实验数