

ESBLs 菌株携带 ESBLs 质粒的同时带有对氨基糖苷类、喹诺酮类耐药基因,因而出现多重耐药现象有关^[10]。故临床治疗大肠埃希菌引起的感染时,应及时关注是否产 ESBLs,以便合理使用抗菌药物。

综上所述,建议临床医生应积极关注产 ESBLs 大肠埃希菌监测的动态性,了解和掌握病原菌的耐药性变迁及抗菌药物使用的变化趋势,根据药敏试验及病原菌耐药谱检测选用抗菌药,减少多重耐药菌株的产生,控制产 ESBLs 大肠埃希菌在医院内的传播和流行。

参考文献

[1] 李家泰,李耘,齐慧敏. 2002 年-2003 年中国革兰氏阴性细菌耐药性检测研究[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(1):19-29.
[2] 张继付. 尿路感染大肠埃希菌产超广谱 β-内酰胺酶和头孢菌素酶的检测及耐药性分析[J]. 药物研究,2009,18(21):3-4.
[3] 杨澍,徐强胜,王雪刚,等. 990 株大肠埃希菌的耐药性及 β-内酰胺酶基因的检测[J]. 中国医院用药评价与分析,2011,11(12):1113-1115.
[4] 蒋冬香,陈刚,王玉春,等. 产 ESBLs 大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌

的临床分布与耐药[J]. 中华医院学杂志,2011,8(11):1366-1367.

[5] 陈怡丽,郭鹏豪,黄汉,等. 某院 2008-2012 年儿科血培养病原菌变迁及耐药谱分析[J]. 检验医学与临床,2014,5(11):589-594.
[6] 汪复. 革兰氏阴性杆菌对 β-内酰胺类的耐药性及防治[J]. 中华传染病杂志,2000,18(3):207-210.
[7] 高春明,李家斌,程君,等. 超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌耐药性分析[J]. 蚌埠医学院学报,2008,33(5):531-532.
[8] 汪复,朱德妹,胡付晶,等. 2007 年中国 CHNET 细菌耐药性检测[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(5):325-333.
[9] 杨小影,宋慧萍,杨萍芝,等. 超广谱 β-内酰胺酶大肠杆菌院内感染分布及耐药性研究[J]. 检验医学与临床,2014,11(12):1613-1617.
[10] 沈定霞, Jones RN, 吴坚, 等. 产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌的测定及其耐药表型和基因型[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000,20(3):273-276.

(收稿日期:2015-07-18)

• 临床研究 •

感染毛滴虫女性的乳头瘤病毒感染情况分析

孟少志

(武汉市中心医院,湖北武汉 430014)

摘要:目的 分析感染毛滴虫女性的乳头瘤病毒(HPV)感染率及基因型分布情况。方法 2010 年 1 月至 2014 年 12 月该院收治的滴虫感染,且同时做了 HPV 检查的女性患者 673 例,分析 HPV 感染率及基因型分布。结果 HPV 总感染率为 42.20%(284/673),40~<50 岁年龄段感染率最高,达 46.36%(121/261),其次为大于或等于 50 岁年龄段感染率,达 40.78%(84/206),但是不同年龄段的感染率差异无统计学意义($\chi^2=3.450,P=0.329$)。在 284 例同时感染滴虫、HPV 女性中,高危型感染以 16 型为主,其次是 52、58、18 型等。低危型感染以 11 型为主。结论 感染毛滴虫女性的 HPV 感染率高于一般人群,但是感染的 HPV 基因型分布与一般人群相似。

关键词:毛滴虫; 乳头瘤病毒; 宫颈癌
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.22.044 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)22-3318-03

阴道炎是女性常见的生殖系统疾病,引起感染的常见病原菌为细菌、酵母菌和毛滴虫。毛滴虫是一种常见的性传播厌氧性寄生物。感染毛滴虫的女性可能通过相同途径感染其他性传播疾病,其中人乳头瘤病毒(HPV)与宫颈癌前病变及宫颈癌的发生密切相关。HPV 病毒家族有 100 多种基因型,其中 15 种高危型具有很强的致癌作用^[1-3]。本研究分析了感染毛滴虫女性的 HPV 感染的频率及基因型分布情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2014 年 12 月武汉市中心医院收治的滴虫感染,且同时做了 HPV 检查的女性患者 673 例。

1.2 仪器与试剂 HPV 分型检测试剂盒、DNA 提取试剂盒和 DNA 扩增试剂盒及 HB2009A 快速杂交仪购自潮州凯普生物化学有限公司;CFX96 伯乐公司 PCR 仪。

1.3 标本采集 采用阴道扩张器充分暴露宫颈,用棉拭子插入宫颈内 1~2 cm,停留 15 s,旋转 2 周,取得的阴道分泌物放入无菌试管中立即送检,采用直接涂片显微镜检查。然后拭去宫颈口过多的分泌物,将采样宫颈刷置于宫颈口,将宫颈刷旋转 4~5 圈,然后取出,折断刷头并放入洗脱管中,旋紧管盖并标记,置-20℃冰箱保存待检。

1.4 检测方法

1.4.1 DNA 的提取 取保存有宫颈细胞的细胞保存液 0.5 mL,以 14 000 r/min 离心 1 min,弃上清后,采用潮州凯普生物化学有限公司的细胞裂解液提取 DNA,具体操作按照厂家说明书操作。

1.4.2 PCR 扩增 将 PCR Mix 23.25 μL,DNA Taq 酶 0.75 μL,上述提取的 DNA 1 μL 混匀。扩增反应体系为 25 μL。同时设立空白对照,阳性对照。扩增条件为:95℃预变性 9 min;95℃变性 20 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 40 个循环;72℃保存 5 min。

1.4.3 杂交、孵育和显色 打开杂交仪,使其处于准备状态。取 PCR 产物 25 μL 在 95℃加热 5 min,然后立即冰水浴 3 min。将上面变性好的 PCR 产物加入 0.5 mL 预热至 45℃的杂交液中,然后加在薄膜上,盖上盖板温育 10 min 后,开泵进行导流杂交。杂交后用 45℃的杂交液冲洗膜三次,每次 0.8 mL。然后在 25℃用 0.5 mL 封阻液封闭 5 min。排干封阻液,加入 0.5 mL 酶标液孵育 5 min。用溶液 A 洗膜 4 次,每次 0.8 mL。加入 0.5 mL 的 NBT/BCIP 溶液,显色 5 min。完后排干 NBT/BCIP 溶液,用溶液 B 洗膜 3 次,每次 1 mL,再用 2 mL 的

蒸馏水漂洗。晾干待读取结果。

1.4.3 结果判读 (1)检测结果阳性点位清晰可见的蓝色圆点,Biotin 对照点和内对照点(模板 DNA 探针)均为阳性结果有效。(2)空白对照为上面 2 个对照点阳性外,其他点全是阴性。(3)阳性对照为除 2 个对照点阳性,每个 HPV 基因型对应的位置全是阳性。(4)每张膜上有 21 种基因型:6、11、16、18、31、33、35、39、42、43、44、45、51、52、53、56、58、59、66、68 和 81。对应基因型位置出现清晰可见的蓝色圆点即为相应的基因型阳性。(5)如果有一个或者一个以上的基因型阳性,即代表 HPV 该基因型阳性,结果为单一的或者混合的 HPV 感染。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 不同年龄段患者 HPV 感染亚型的分布(n)

年龄	HPV 基因型高危型															HPV 基因型低危型					
	16 型	52 型	58 型	18 型	33 型	68 型	53 型	39 型	45 型	31 型	51 型	35 型	56 型	66 型	59 型	11 型	81 型	6 型	44 型	42 型	43 型
20~<30 岁	10	8	2	3	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	1	0	0	0	0
30~<40 岁	11	24	9	6	3	5	2	1	2	1	1	0	1	0	0	11	2	0	0	0	0
40~<50 岁	56	28	16	18	9	6	4	5	1	3	1	0	0	0	0	15	3	3	1	0	0
≥50 岁	42	21	12	5	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	9	2	1	0	0	0
合计	119	81	39	32	14	12	7	6	3	4	3	2	1	1	0	39	8	4	1	0	0

3 讨 论

毛滴虫是一种常见的性传播寄生原虫,一般在 25~42℃ 环境下能够运动,生长繁殖。感染的女性阴道分泌物呈黄色、稀水样或黏稠。直接涂片显微镜检查可以看到虫体活泼运动。通常通过不洁性生活传播,毛滴虫感染目前临床治疗效果较好。但是毛滴虫感染可增加其他性传播疾病的感染危险。在常见的性传播疾病中,HPV 的感染可以引起宫颈上皮细胞的瘤变和宫颈癌。多种 HPV 基因亚型与宫颈癌的发生关系密切,HPV 病毒的筛查和分型对宫颈病变的预防、治疗和病理学检查都具有重要意义^[4-7]。不同人群 HPV 的感染率和基因亚型的分布有差异^[8-9]。

本研究特意选取 673 例发现滴虫并同时做了 HPV 检测的受检女性进行分析,HPV 总感染率为 42.20%(284/673)。滴虫阳性的女性 HPV 总感染率与马杰等^[10]报道的武汉疑似 HPV 感染女性检测阳性率 40.17%接近,但是明显高于湖北宜昌地区报道的 14.74%一般人群感染率^[11],无锡市普通筛查女性 12.98%的 HPV 感染率^[12],以及石家庄市接受 HPV 筛查女性的 36.3%阳性率^[13]。武汉的报道受检对象是疑似人群,阳性率较高,其他地区针对普通女性,阳性率低。滴虫阳性的女性感染 HPV 的概率高于普通女性。本研究 40~<50 岁年龄段感染率最高 46.36%(121/261),其次为大于或等于 50 岁年龄段 40.78(84/206)、30~<40 岁年龄段 39.43(56/142)和 20~<30 岁年龄段 35.93(23/64)。与北京市报道的 40~<50 岁年龄段感染率最高报道基本一致^[14]。与无锡市报道大于或等于 50 岁年龄段检测阳性率最高^[12],其次是 40~<50 岁年龄段的报道稍有差异。湖北宜昌市的报道对年龄的分段与本文不同^[11]。但是本研究不同年龄段 HPV 感染率的差异无统计学意义($P>0.05$)。可能是滴虫感染特殊人群差异,也有可能是地域差异。在本文 284 例 HPV 阳性的毛滴虫感

2 结 果

2.1 不同年龄段滴虫感染患者的 HPV 感染率 673 例滴虫感染患者的 HPV 总感染率为 42.20%(284/673),40~<50 岁年龄段感染率最高,达 46.36%(121/261),其次为大于或等于 50 岁年龄段 HPV 感染率 40.78%(84/206)、30~<40 岁年龄段 39.43%(56/142)和 20~<30 岁年龄段 35.93%(23/64)。但是不同年龄段 HPV 感染率的差异无统计学意义($\chi^2=3.450,P=0.329$)。

2.2 不同年龄段患者 HPV 感染亚型的分布 在 284 例滴虫、HPV 同时感染的女性中,HPV 高危型感染以 16 型为主,其次是 52、58、18 型等。低危型感染以 11 型为主,其次为 81、6 型等。除 30~<40 岁年龄段高危型以 52 型为主,其他三个年龄段与总体一致。59、42、43 型未检出。见表 1。

染女性中,高危型感染以 16 型为主,与湖北宜昌和马杰等^[10]人对武汉的报道一致。其次是 52、58、18 型等。高危型的 HPV 持续感染是宫颈癌的主要危险因素^[15]。低危型感染以 11 型为主,其次为 81、6 型等。除 30~<40 岁年龄段高危型以 52 型为主,其他三个年龄段与总体一致。无锡市的报道高危型以 52 型为主,其次为 16、58、68、18、31 型。除了最高危型不一致,基本相符。北京市的报道与本研究结果相似^[11]。低危型的检出一致,都是以 11 型为主。不同地区高危型检出率分布基本一致,毛滴虫感染人群的 HPV 感染型别没有明显差异。

本文特意研究感染毛滴虫的女性的 HPV 感染情况,发现该人群的 HPV 阳性检出率高于一般人群筛查阳性率。但是该人群感染的 HPV 高危和低危基因亚型没有改变。本文提示阴道分泌物常规检查发现滴虫的女性 HPV 感染的阳性率较一般人群高,应尽早做 HPV 筛查,预防宫颈癌的发生。

参考文献

[1] Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical Cancer[J]. Lancet, 2007, 370(9590): 890-907.
[2] Harriet C, Groom T, Anne Y, et al. No evidence for infection of UK prostate cancer patients with XMRV, BK virus, trichomonas vaginalis or human papilloma viruses[J]. J Pone, 2012, 28(40): 211-215.
[3] Gweneth BL, Peyton TT, Barbara SB, et al. An association between trichomonas vaginalis and high-risk human papillomavirus in rural tanzanian women undergoing cervical cancer screening [J]. Clin Ther, 2014, 36(1): 38-45.
[4] Smith JS, Lindsay L, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical Cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update[J]. Int J Cancer, 2007, 121(3): 621-

632.

[5] Rosiat V, Allesandra P, Emanuela M, et al. Human papillomaviruses and genital co-infectional outpus in gynaecologiatients[J]. BMC Inf Dis, 2009, 9(1): 16.

[6] Jean CN, Isabelle F, Maria RR, et al. High prevalence of high-risk human papillomavirus infection among women with trichomonas vaginalis infection on monolayer cytology[J]. Arch Gyne Obst, 2010, 282(5): 503-505.

[7] Oliver H, Norbert B. Origin of XMRV and its demise as a human pathogen associated with chronic fatigue syndrome[J]. Viruses, 2011; 3(8): 1312-1319.

[8] Hernandez-Flores JL, Rodriguez MC, Gastelum AA, et al. Effect of recombinant prophenin 2 on the integrity and viability of Trichomonas vaginalis [J]. Biomed Res Int, 2015, 222 (22): 430436.

[9] Depuydt CE, Leuridan E, van Damme P, et al. Epidemiology of Trichomonas vaginalis and Human Papillomavirus Infection Detected by Real-Time PCR in Flanders[J]. Gyn Obst Inv, 2010; 70

(4): 273.

[10] 马杰, 杜美玲, 王丽, 等. 武汉地区妇女人乳头瘤病毒感染基因分型状况调查[J]. 临床血液学杂志: 输血与检验, 2010(4): 395-493.

[11] 卢建明, 杨晓菊, 肖长义, 等. 湖北省宜昌地区 1038 例妇女宫颈人乳头瘤病毒感染情况调查[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(29): 4845-4849.

[12] 蔡静芬, 杨幼易. 无锡市 113207 名妇女宫颈人乳头瘤病毒感染状况分析[J]. 中国医药导报, 2014, 11(7): 104-107.

[13] 孙晓慧, 赵敏英, 蒯惠兰, 等. 石家庄市女性 HPV 感染情况分析[J]. 河北医药, 2014, 36(6): 913-915.

[14] 冯金鸽, 陈新, 朱芸, 等. 北京地区女性宫颈感染人乳头瘤病毒基因型分布特征研究[J]. 实用皮肤病学杂志, 2014, 7(2): 81-84.

[15] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical Cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.

(收稿日期: 2015-07-15)

• 临床研究 •

Sysmex XN-9000 全自动血细胞分析仪性能验证

魏园园, 岳婵娟

(徐州市中心医院检验科, 江苏徐州 221009)

摘要:目的 对 Sysmex XN-9000 全自动血细胞分析仪性能做初步评价。方法 按照《医疗机构临床实验室管理办法》、美国临床和实验室标准化委员会(CLSI)、《医院检验科建设管理规范》等制定的有关文件对其各方面的性能包括正确度、精密度、线性、空白试验、携带污染率等各指标进行验证。正确度验证分别取 10 份检测结果在参考范围内的新鲜全血标本, 每份标本检测 2 次, 计算 20 次结果的均值, 与靶机(Sysmex XE-2100D 血液分析仪)分析结果比对, 计算偏倚。线性范围验证: 分别选取 1 份白细胞(WBC)、血小板(PLT)、红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、红细胞比容(HCT)接近预期上限的高值血标本, 按 100%、80%、60%、40%、20%、10%、0%的比例进行稀释, 将实测值与理论值作比较, 计算相关系数(r)。结果 Sysmex XN-9000 血细胞分析仪空白试验良好, 批内、批间精密度检测结果均小于参考值, 仪器重复性好、精密度高。Sysmex XN-9000 与 Sysmex XE-2100D 全自动血球仪正确度分析结果比对显示, 二者 WBC、RBC、Hb、HCT、平均红细胞体积(MCV)及 PLT 的偏差分别为 0.88%、1.84%、1.26%、0.04%、1.39%、3.76%, 均低于要求值, 两台仪器检测结果具有良好相关性。携带污染率最高为 0.36%, 远低于厂家要求的小于或等于 1%, 不同标本间交叉污染小。该仪器具有较宽的线性范围, 各检测指标 a 值均在 1.00±0.05 范围之内, r 均大于 0.975。结论 Sysmex XN-9000 各项指标性能良好, 基本符合其技术指标, 是一款较理想的全自动血细胞分析仪, 满足各大中型医院需要。

关键词:血细胞; Sysmex XN-9000; 性能验证

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.22.045

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)22-3320-03

《医疗机构临床实验室管理办法》及等级医院评审标准中均明确提出实验室应进行恰当的方法学性能验证以保证各项性能参数符合临床使用要求^[1]。本研究对本院检验科 Sysmex XN-9000 血液分析仪的白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血小板(PLT)、血红蛋白(Hb)、红细胞比容(HCT)、平均红细胞体积(MCV)等 6 项指标的精密密度、正确度、线性范围、空白试验、携带污染率进行验证^[2]。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 35 份血液标本均来自本院患者及健康体检者。抽取受检者晨起空腹肘静脉血 2 mL 于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝真空试管中, 轻轻颠倒混匀 10 次, 置 20~25℃下, 4 h 内按仪器说明书操作完成。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XN-9000 血液分析仪及日本原装配套试剂、校准品和全血质量控制物, 靶机 Sysmex XE-2100D 血液分析仪及配套试剂、校准品和全血质控物。Sysmex XE-

2100D 血液分析仪为实验室内部规范操作检测系统, 仪器性能良好、全面开展室内质控、参加原卫生部及省室内质量评价成绩优良、为本次试验的靶机。本次试验的试剂、校准品和控制物均由日本希森美康公司提供。EDTA-K₂ 抗凝管由阳普公司提供。

1.3 方法

1.3.1 精密密度验证 (1)批内精密密度: 参照美国临床和实验室标准化委员会(CLSI)EP15A 文件, 采用低、中、高 3 个水平的新鲜血^[3], 连续重复检测 11 次, 计算后 10 次检测结果的算术平均值($\bar{x}$)、标准差(s)及变异系数(CV)。参照厂家说明书, 要求 CV 标准: WBC≤3.0%、RBC≤1.5%、Hb≤1.0%、HCT≤1.5%、PLT≤4.0%、MCV≤1.0%。(2)批间精密密度: 参照 CLSI EP15A 文件, 至少使用 2 个浓度水平的质控品(中值批号为 41660811, 高值批号为 41650812), 每天至少进行 1 次室内质量控制物的测定, 剔除失控数据后, 按批号或者月份计算