

· 论著摘要 ·

随机扩增多态性 DNA 在院内感染性肺炎
逆行感染途径研究中的应用

代芊 邓宏 黄汉朝

关于院内感染性肺炎(NP)是否存在胃→咽→下呼吸道的逆行感染途径尚缺乏基因组 DNA 水平上的确凿证据。1998年6月至1999年3月选择三所教学医院脑外科、神经内科行气管切开或插管的患者,按全国医院感染监控中心制订的诊断标准确诊 NP, 年龄 ≤ 15 岁, 确诊为肺部感染时间 ≤ 48 小时者除外。发生 NP 的归为病例组, 未发生 NP 的归为对照组。二组均衡性检验具有良好的可比性。用 PSB 采集下呼吸道分泌物, 同时采集空腹胃液作细菌定量培养并测定 pH 值, 每 1~2 天一次。对上述来自胃和下呼吸道细菌表型鉴定结果相同者, 作质粒 DNA、酶切图谱分型及随机扩增多态性 DNA(RAPD) 技术分析。

纳入研究的 108 例患者中, 男 84 例, 女 24 例, 年龄 16~83 岁, 平均年龄(47.7 \pm 14.6)岁, 将确诊为肺部感染的 50 例归为病例组, NP 的发生率为 46.3% (50/108)。PSB 采样有 76 例次出现有诊断意义($> 10^3$ cfu/ml)的结果, 分离到 76 株细菌, 包括革兰氏阳性菌 23 株, 阴性菌 45 株, 真菌 8 株。胃液细菌培养分离到 68 株菌, 包括革兰氏阳性菌 11 株, 阴性菌 50 株, 真菌 7 株。有 22 株菌(11 对, 分别来自 11 例患者的胃部和肺部)在胃液分离鉴定出 1~2

天后, 在肺 PSB 也分离到相同的细菌, 且连续 2~3 次采样均得到一致的结果。对其中 6 名患者将美蓝经胃管注入胃内, 第 2 天在患者咽部用咽拭子可检出蓝色分泌物, PSB 在下呼吸道也有蓝色分泌物检出, 初步证明有逆行途径存在。逆行感染发生率为 10.2% (11/108), 占感染病例的 22% (11/50)。来源于同一病人的胃、肺部表型鉴定结果相同的菌株, 其质粒 DNA 图谱、Hind III 酶切电泳图谱完全相同, 提示它们在质粒 DNA 水平具有很高的同源性。更有意义的是, RAPD 在各对应菌株之间得到完全相同的扩增带, MINTS 聚类分析相似系数为 100%, 进一步在基因组 DNA 水平说明它们很可能为同源菌株。至此, 由细菌表型特征到基因组 DNA 水平均证明存在胃→咽→下呼吸道逆行感染途径。

在测定胃液 pH 值的同时, 计数该 pH 环境下胃内细菌总数。结果表明随着胃液 pH 值的升高, 胃内定植细菌总数明显增加, 两者呈显著相关 ($P < 0.01$)。病例组 pH 均值 4.89 \pm 1.48, 对照组 pH 均值 3.27 \pm 1.19, $P < 0.01$ 。按 pH ≥ 4 及 pH < 4 将病例组分为二组, 当 pH < 4 时, NP 的发生占 26%, pH ≥ 4 时, NP 的发生占 74%, $\chi^2 = 32.94$, $P < 0.01$, 即随着胃液 pH 值的升高, NP 的发生率显著增大。

(收稿: 1999-06-15)

作者单位: 132013 吉林, 第四军医大学吉林军医学院

聚合酶链反应斑点杂交技术在临床乙型肝炎病毒检测中的应用

孙嵘嵘 郑志红 刘桂荣 胥婧 鲁润铭 刘兵 王桂珍

利用半抗原地高辛配基(digoxigenin)制备非同位素标记探针技术, 分别标记乙型肝炎病毒全基因

探针(DIG-HBV DNA)及乙型肝炎病毒 PCR 产物 C 区探针[DIG-HBV(C/prc)], 经斑点杂交检测血清 HBV DNA 及血清聚合酶链反应(PCR)产物, 与 PCR 平行检测 122 份血清标本。实验中以 DIG-HBV(C/prc)为探针, 即 PCR-斑点杂交方法直接标记纯化的 HBV PCR 产物经斑点杂交实验检测 HBV DNA。结

作者单位: 110006 沈阳市传染病院中心研究室(孙嵘嵘、郑志红、刘桂荣、胥婧、鲁润铭); 中国医科大学微生物教研室(刘兵、王桂珍)