

医学参考报

微生物学与免疫学专刊

Microbiology and Immunology

第六期 NO.06

新型厌氧碳青霉烯灭活法 (Ana-CIM) 可检测脆弱拟杆菌中的碳青霉烯酶

【据《Journal of Clinical Microbiology》2022年4月报道】
题：新型厌氧碳青霉烯灭活法 (Ana-CIM) 的开发和验证，用于检测脆弱拟杆菌中碳青霉烯酶的产生 (美国梅奥诊所作者Allison R. Eberly等)

脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*, *B. fragilis*) 是目前文献报道中临床分离率最高的一种革兰阴性无芽胞厌氧菌，其引起的感染占全部厌氧菌感染的60%~90%。而碳青霉烯类抗菌药物是目前治疗多重耐药 (MDR) 拟杆菌的有效选择，然而全球范围内拟杆菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率不断上升，因此鉴定产碳青霉烯酶的脆弱拟杆菌分离株对评估碳青霉烯类抗菌药物的治疗潜力很重要。但目前常用的检测方法如基因检测法、纸片协同法、改良碳青霉烯灭活法 (mCIM)、改良Hodge试验等存在灵敏度低、时效性差等缺点。

美国梅奥诊所Allison R. Eberly等开发和验证了新型厌氧碳青霉烯灭活法 (Ana-

CIM)，用于检测脆弱拟杆菌中碳青霉烯酶的产生。

首先将脆弱拟杆菌分离株传代培养到含有血红素和维生素K的布鲁琼脂培养基中，放入含有10 mg美罗培南的纸片以维持选择压力，在35℃厌氧条件下孵育24~48 h。孵育后，将新的10 mg美罗培南纸片放入5 ml布鲁琼脂试管中，在室温下孵育15 min使其充分扩散。取固体培养基中最接近美罗培南纸片的分离株悬浮在含有美罗培南纸片的布鲁琼脂中，以获得1麦氏浊度的标准悬浮液，将悬浮液在35℃厌氧培养6 h。培养后，使用无菌10 μl接种环，将美罗培南纸片从布鲁琼脂肉汤试管中取出，放置在15 mm × 150 mm的Mueller-Hinton (MH) 板上，平板预先接种0.5麦氏浊度大肠埃希菌

ATCC 25922的标准悬浮液。每个平板上最多放置8个纸片 (5个测试菌株和3个质控菌株)。MH板在35℃有氧培养箱中培养18 h。测量每个美罗培南纸片周围抑菌圈。Ana-CIM结果根据CLSI M100 Ed30 mCIM肠杆菌的质控标准和实验室开发的Ana-CIM解释标准进行解释 (表1)。为了与CLSI对mCIMs的指南一致，抑菌圈内出现微菌落或菌落即被认为是生长。每天进行Ana-CIM质控检测，在8个纸片中，有3个是质控分离株。2个阳性对照菌株分别用于控制碳青霉烯灭活和充分的厌氧条件：①肺炎克雷伯菌ATCC BAA-1705，产碳青霉烯酶 (KPC) 的肺炎克雷伯菌，是CLSI推荐的mCIM阳性对照。②脆弱拟杆菌WIS-ImiR-001，碳青霉烯类耐药

(对厄他培南、亚胺培南和美罗培南的MIC为≥32 μg/ml)，*efiA*检测呈阳性。两株阳性对照菌株的mCIM/Ana-CIM结果均为≤8 mm。脆弱拟杆菌ATCC 25285作为阴性质控菌株，预期的Ana-CIM结果为≥15 mm (图1)。

与CLSI中厄他培南敏感性Etest结果相比，Ana-CIM可准确检测到脆弱拟杆菌对碳青霉烯的耐药性，其分类一致率 (CA) 为87% (52/60)，非常重大误差 (VME) 为0% (0/21)，重大误差 (ME) 为11% (4/36)，小误差 (mE)

为7% (4/60)。使用三种商用HM培养基进行重复试验，结果显示93% (603/648) 的结果维持在判读结果的2 mm范围内，证明Ana-CIM具有高重复性。

作者经过多中心和重复性的验证研究，证明Ana-CIM法可靠性、灵敏性高。综上，Ana-CIM法以mCIM法为原理，利用临床实验室中分离厌氧菌的现成材料，无需特定试剂或仪器，具有良好的性能特征并提高了检测时效性。

(温州医科大学附属第一医院 张奕 姚卓成 周铁丽 编译)

表1 CLSI mCIM 解释标准和实验室制定的 Ana-CIM 解释标准

结果	CLSI mCIM ^a (区域大小, mm)	Ana-CIM (区域大小, mm)
阳性	≤ 15	≤ 8
阴性	≥ 19	≥ 15
中介	16 ~ 18	9 ~ 14

注：^a 参照 CLSI M100 Ed30 对肠杆菌科的质控标准。

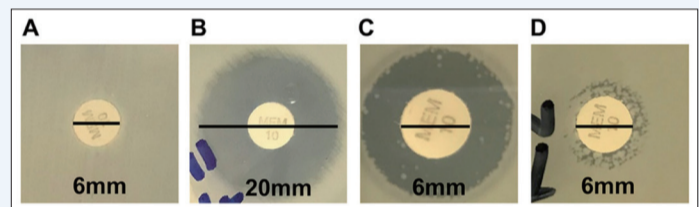


图1 Ana-CIM 区域大小解读指南

图中显示具有代表性的碳青霉烯酶阳性 (A、C和D) 和阴性 (B) 临床分离株结果：A. 汇合生长至纸片；B. 抑菌圈内无菌落；(C. 和D. 抑菌圈内有微菌落。区域内有菌落被解读为生长 (6 mm)，与CLSI M100 Ed30一致。黑色实线表示测量长度，区域大小以毫米 (mm) 为单位列在每个面板底部

导读

肠杆菌科选择性培养基筛选磷霉素耐药菌株

3版

利用超声波降低水中大肠弯曲菌数量

4版

缬氨酸-甘氨酸重复蛋白G的免疫保护性可有效调节鲍曼不动杆菌的致病性

5版

多中心实施后评估SARS-CoV-2抗原即时检测在无症状持续护理人员筛查中的阳性预测值

6版

gPSA可辅助诊断早期前列腺癌

7版

ABO血型与肾综合征出血热宿主易感性的相关性

8版

阿斯加德古菌与真核生物起源的关系

【据《Nature》2021年4月报道】
题：一项关于真核生物起源的创新性研究：阿斯加德古菌多样性及其与真核生物的关系 (深圳大学高等研究院作者Yang Liu等)

阿斯加德古菌 (Asgard Archaea) 是最近发现的一个古菌超门，被认为最接近真核生物的一类原核生物，有学者提出真核生物可能起源于阿斯加德古菌。然而，关于真核生物的古菌祖先是否来自阿斯加德古菌超门，或者这个古菌祖先是否是所有其他古菌的姐妹群 (即二域或三域的生命之树) 的争论仍在继续。

深圳大学高等研究院李猛教授课题组与美国国立卫生研究院等单位合作对我国滨海湿地、近海沉积物到西太平洋深渊等样品进行总核酸提取，通过宏基因组测序和DNA序列组装，获得了75个之前未被报道的阿斯加德古菌基因组 (metagenome-assembled genomes, MAGs)。然后针对162个 (包括本研究新发现的75个和已经公开发表

的87个) 阿斯加德古菌基因组进行比较基因组分析。通过构建同源基因簇 (cluster of orthologous genes, COGs)，使用全面的序列比对计算方法对尽可能多的阿斯加德古菌蛋白质进行注释，尤其是针对阿斯加德古菌的真核特征蛋白 (ESPs)，从而改进了阿斯加德古菌基因组的注释准确性。分析的阿斯加德古菌基因组中89%的蛋白质被asCOGs (asCOGs) 所覆盖。阿斯加德古菌的保守核心基因集包括378个asCOGs，其中293个 (77%) 是广泛存在于细菌、其他古菌和真核生物中；62个 (16%) 则仅在其他古菌和细菌中有发现，在真核生物中没有；7个 (2%) 是古菌中特有的，只有1个 (0.003%) 是只发现于真核生物中。

研究把在阿斯加德古菌中保守的209个核心同源基因串联起来，对阿斯加德古菌进行了系统发育分析，揭示了阿斯加德古菌与真核生物的关系。

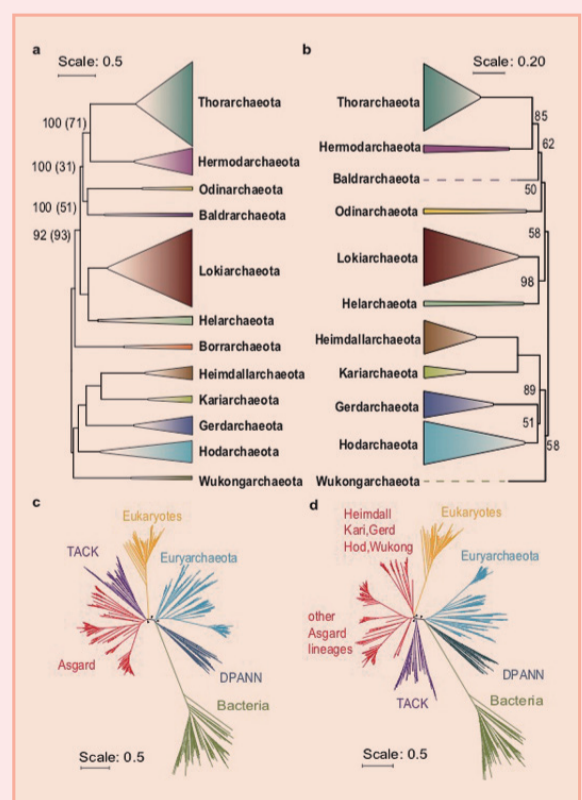


图1 阿斯加德古菌的系统发育分析及其与真核生物的关系

上接第1版

发育分析，确立了6个阿斯加德古菌新门（图1a, b），对以As_085和As_075（“*Candidatus Wukongarchaeum yapensis*”）为代表的阿斯加德古菌新门命名为悟空古菌门（Wukongarchaeota，源自中国神话中的人物孙悟空），其他五个新门以北欧神话中的神祇命名：①霍德尔古菌门（Hodarchaeota，代表菌株为As_027 “*Candidatus Hodarchaeum mangrove*”）；②卡瑞古菌门（Kariarchaeota，代表菌株为As_030 “*Candidatus Kariarchaeum Pelagius*”）；③包尔古菌门（Borarchaeota，代表菌株为As_133 “*Candidatus Borarchaeum yapensis*”）；④巴德尔古菌门（Baldrarchaeota，代表菌株为As_130 “*Candidatus Baldrarchaeum yapensis*”）；⑤赫尔莫德古菌门（Hermodarchaeota，代表菌株为As_086 “*Candidatus Hermodarchaeum yapensis*”）。

另外，该研究利用162个阿斯加德古菌、286个其他古菌、98个细菌和72个真核生物的30个普遍保守的同源蛋白家族串联起来，包括7 411个位点，使用IQ-tree构建了一个物种覆盖度超高的生命之树，涵盖三个域（古菌、细菌和真核生物）的代表性物种，并通过以下方法评估所选用的保守标记基因的选择对系统发育树的拓扑结构的影响：①通过从原始的30个保守标记基因中每次删除一个保守标记基因，生成30套保守标记基因集，每套基因集含有29个保守标记基因；②生成100个类似自举的随机独立保守标记基因集。然后用IQ-tree和自动选择的进化模型对每个保守标记基因集进行分析。结果显示，三域拓扑结构的出现取决于单一保守标记基因COG0012（核糖体结合ATP酶YchF）的存在。所有含有COG0012的保守标记基因集的系统发育树都支持三域拓扑结构。相比之下，不含COG0012的29个保守标记基因集（图1c）和所有不含COG0012的32个自举保守标记基因集则支持二域拓扑结构，且真核生物在古菌中的进化位置不同。100个自举的保守标记基因集和29个保守标记基因集的合意树显示真核生物起源于阿斯加德古菌内部，属于海姆达尔-卡瑞-霍德尔-悟空古菌门的姐妹群（图1d）。因此，本研究系统发育分析结果支持生命之树的二域拓扑结构。真

核生物起源于阿斯加德古菌内部的海姆达尔古菌-悟空古菌分支（图1d）似乎是最可能的拓扑结构。然而，也有一些支持真核生物起源于古菌域更古老分支的证据（图1c）。

阿斯加德古菌基因组中富含真核特征蛋白（ESP）的同源基因，如内体分选转运复合体（ESCRTs）、泛素系统、肌动蛋白和肌动蛋白结合蛋白等，这可能是真核生物起源于阿斯加德古菌的最有力论据之一。该研究设计了一个广泛而稳健的ESP集的计算策略，共识别到505个阿斯加德古菌真核特征蛋白（asCOGs中的ESP），其中包括238个与以前描述的COG不密切相似的COG。这些ESP的大部分（505个中的329个）属于“细胞内转运、分泌和囊泡运输”功能类（U类），其次是“翻译后修饰、蛋白质周转和伴侣”（O类，有101个asCOGs）。在U类的asCOGs中，有130个包括roadblock蛋白家族，例如longins、sybindin和profilins；94个asCOGs是小GTP酶（如RagA-like、Arf-like和Rab-like的小GTP酶），与以前的结果一致。从特征上看，许多ESP是多结构域的蛋白，且这些多结构域在真核生物的同源物中没有发现，这表明在阿斯加德古菌进化过程中存在着广泛的结构域洗牌

过程。值得注意的是，研究人员发现许多ESP含有“在正常细胞和肿瘤细胞中差异表达”（DENN）结构域（以前只在真核生物中发现），它是保守的、必需的folliculin和Ragulator复合体的一个组成部分，以及一个longin结构域，它是GATOR1复合体（一个关键的氨基酸饥饿传感器）的一个组成部分。

此外，该研究还利用asCOG数据库，重构了阿斯加德古菌12个不同门类的代谢通路。结果发现，现有阿斯加德古菌的代谢方式可分为三大类，分别是厌氧异养、兼性好氧异养和化能自养（图2）。有意思的是，在位于阿斯加德古菌系统发育树根部的悟空古菌门中，鉴定出了第1类型的镍铁氢酶[group 1 (NiFe) hydrogenase]。前人研究已发现，含有该类型的氢酶的微生物可以氧化氢气获得能量，从而完成化能自养代谢生长。此外，悟空古菌还具备完整的还原乙酰辅酶A途径（WLP）用于固定二氧化碳和利用ADP依赖性乙酰辅酶A合成酶（ADP-dependent Acetyl-CoA synthetase）产乙酸的代谢潜能；同时悟空古菌缺乏执行柠檬酸盐循环和β-氧化等代谢过程的关键基因。这些结果表明悟空古菌具备氢氧化化的自养代谢潜能，显著区别于其他阿斯加德古菌门的混合营

养代谢模式。此前，基于洛基古菌的异养氢代谢潜能和海拉古菌的异养短链烷烃代谢潜能，研究人员已提出了一些关于真核生物起源的“古菌-细菌代谢共生假说”的新模式，如“缠绕-包裹-奴役（entangle-engage-enslave）的E3模型”和“逆流模型（reverse flow model）”等。在此基础上，本研究重构了各类阿斯加德古菌关键代谢途径的演化过程，结合新发现的悟空古菌的氢氧化化的自养代谢潜能，进一步提出了真核生物可能起源于“自养型阿斯加德古菌与发酵型细菌”的代谢共生模式，为真核生物起源的“代谢共生假说”提供了新的见解。

综上所述，该研究从我国滨海湿地、近海沉积物到西太平洋深渊等样品中发现了六个阿斯加德古菌新门类，并建立首个阿斯加德古菌功能基因库（AsCOG），深入分析了阿斯加德古菌的基因组和代谢潜能，重构了由原核生物（细菌、古菌）和真核生物组成的生命之树，从系统发育关系、真核特征蛋白及代谢互作等方面详细阐释了阿斯加德古菌与真核生物的关系，为认识真核生物起源提供了新见解。

（深圳市疾病预防控制中心
张晓敏 张仁利 编译）

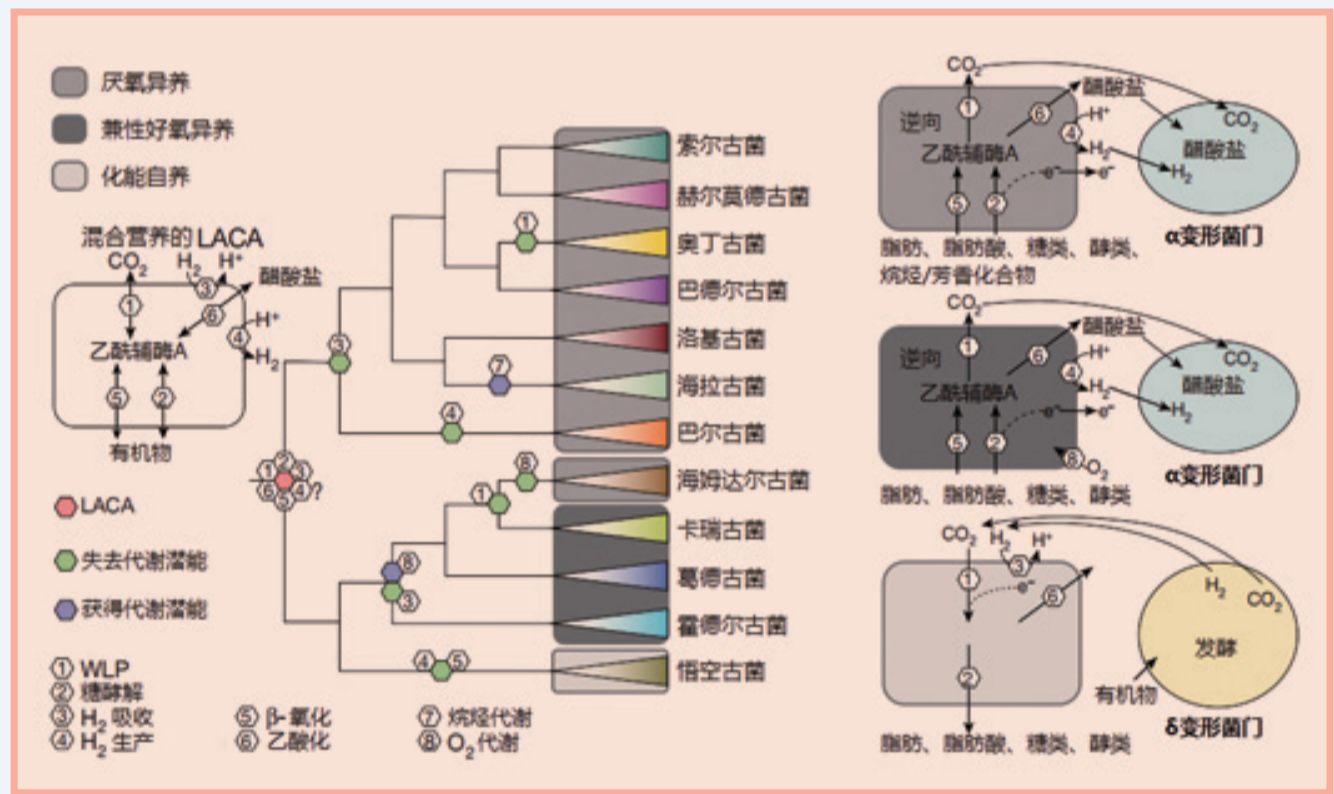


图2 阿斯加德古菌关键代谢过程的重构与演化

医学参考报

微生物学与免疫学专刊

理事长兼总编辑：巴德年 社长：魏海明
副理事长兼副总编辑：曹雪涛等 副社长：吕春雷
理事会秘书长：周赞 副社长：周赞
社址：北京市西城区红莲南路30号红莲大厦B0403
邮编：100055 总机：010-63265066
网址：www.yxckb.com

主编：谷海瀛
副主编：陈海 关秀茹 王谦 徐小平
于波海 张仁利 张展 赵虎 赵林清
常务编委：（按姓氏笔画排序）
邓少丽 伍严安 刘辉 刘新波 许颖
何成彦 罗光华 周铁丽 赵雅 赵明才
胡继红 黄芳 鲁颖
编委：（按姓氏笔画排序）
王丽 方莹 叶嗣颖 刘卫平 刘庆中
闫东辉 邹翠美 张芳琳 陈宇宁 罗振华
金炎 金凤玲 孟冬娅 赵建平 胡晓梅
宫殿军 姚立琼 崔建娇 梁红萍 魏取好
魏殿军

青年编委会
副主任编委：雷迎峰 秦琴 石瑛 张艳梅
编委：（按姓氏笔画排序）
于晓丽 王月玲 韦传东 申艳娜 冯永辉 吕欣
朱雄 朱晓彤 刘燕 麦文慧 李卓 李昕
李寅雁 时景伟 何英 宋江勤 张利军 张昭勇
邵春红 武有聪 罗亮 罗春玉 金大智 周柯
周爱萍 赵广会 胡斌 胡同平 俞娟 徐和平
高冬梅 郭大文 黄宇 黄轶 黄筱钧 惠燕霞
傅锦坚 穆廷杰
编辑部主任：谷海瀛
编辑：吕宝霞 励媛如
投稿邮箱：mnmj@vip.sina.com

肠杆菌科选择性培养基筛选磷霉素耐药菌株

【据《Journal of Clinical Microbiology》2022年1月报道】题：肠杆菌科选择性培养基筛选磷霉素耐药菌株（瑞士弗里堡大学 作者Patrice Nordmann等）

磷霉素（FOS）是从链霉菌中分离的一种磷酸衍生物，具有独特的化学结构与抗菌作用机制，通过抑制细菌细胞壁的合成导致细菌死亡，从而发挥抗菌作用。FOS 主要被用于治疗无并发症的尿路感染，而近年来，FOS 的过量使用使 FOS 耐药率增加。目前已有研究提出多种 FOS 耐药机制：如营养运输系统基因的突变，*murA* 基因的过表达，存在编码磷霉素修饰酶的 *fos* 基因等。这些因素都是导致磷霉素耐药的原因。此外，在肠杆菌科中，获得性 FOS 抗性基因常位于质粒、转座子或整合子内，这意味着它们很容易传播。因此，为了对全球范围内出现的 FOS 耐药肠杆菌群实施控制措施，有必要开发快速准确检测方法。基于以上背景，瑞士弗里堡

大学 Patrice Nordmann 等开发了一种筛选 FOS 耐药肠杆菌科细菌的选择性培养基，即 SuperFOS 培养基，并对该培养基性能进行了验证。

SuperFOS 培养基是一种在 CHROMagar 定位显色培养基基础上加入了抗菌药物的筛选培养基：在高温灭菌的 CHROMagar 定位显色培养基中加入 16 $\mu\text{g/ml}$ 的 FOS 和 25 $\mu\text{g/ml}$ 的葡萄糖-6-磷酸（G-6-P）。同时考虑革兰阳性菌的可能性，在培养基中添加 20 $\mu\text{g/ml}$ 万古霉素，以防止肠球菌、链球菌、和葡萄球菌等革兰阳性菌的生长。此外，还添加了 5 $\mu\text{g/ml}$ 两性霉素 B 作

为抗真菌药物以防止真菌污染。表 1 为 FOS、G-6-P、万古霉素和两性霉素 B 的原液配制方法。准备好的 SuperFOS 培养基在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存，使用前避免阳光直接照射，保存时间可达 1 周。

研究人员选取了来自世界各地的 84 株分离株进行 SuperFOS 培养基性能评估试验。根据 MIC 结果，收集的 FOS 敏感分离株有 42 株（肺炎克雷伯菌 21 株、大肠埃希菌 21 株），FOS 耐药分离株 42 株（肺炎克雷伯菌 21 株、大肠埃希菌 21 株），并且通过 PCR 方法验证 42 株耐药菌株存在的 *fos* 基因。检测 FOS 耐药肠杆菌的灵敏度和特异性截止值设定为 1×10^3

CFU/ml，在 SuperFOS 培养基上接种菌量低于 1×10^3 CFU/ml 时，所有的 FOS 耐药菌株均可在 24 h 内恢复生长，而所有的 FOS 敏感菌株在这些条件下则不生长，灵敏度和特异度达到 100%。此外，将接种量增加到 10^3 CFU/ml 和 10^4 CFU/ml 时，所有 FOS 敏感菌株均未生长，因此在较高接种量下的敏感性和特异性均达到 100%。

此外，研究人员还使用了临床标本（尿液和粪便标本）对 SuperFOS 选择性培养基进行临床评估。11 份被分析尿液样本中，有 4 份样本在 SuperFOS 培养基上培养出耐药菌落，均为 FOS 耐药革兰阴性菌株（大

肠埃希菌 1 株，铜绿假单胞菌 1 株，奇异变形杆菌 2 株），用琼脂稀释法进一步证实其 FOS 耐药表型，MIC 范围为 64~ > 256 $\mu\text{g/ml}$ 。而 10 份粪便样本中有 6 份培养出 FOS 耐药菌，MIC 范围为 64~128 $\mu\text{g/ml}$ ，包括蜂房哈夫尼亚菌（ $n=1$ ）、摩氏摩根菌（ $n=1$ ）、肺炎克雷伯菌（ $n=1$ ）、液化沙雷菌（ $n=1$ ）、阴沟肠杆菌（ $n=2$ ）。这与标准琼脂稀释法的 MIC 结果非常一致。培养 24 h 后，在 SuperFOS 培养基上无竞争性菌群生长，这表明了选择性培养基对 FOS 耐药菌具有较高特异性。

总之，SuperFOS 选择性培养基是第一个可以筛选 FOS 耐药肠杆菌科细菌的培养基，具有高度灵敏度和特异性，而且不受 FOS 耐药机制和临床标本中混合菌群的影响。此外，这种培养基易于制备、价格低廉、性能优异，对抗菌药物耐药性快速检测具有重大意义。

（温州医科大学附属第一医院 赵一凝 刘燕 周铁丽 编译）

表 1 SuperFOS 培养基的制备

成分	母液	添加的数量或体积 ^a	最终浓度
CHROMagar TM Orientation	-	13.2 g	3.3%
纯净水	-	400 ml	-
磷霉素	50 mg/ml，溶于 1M HCl	128 μl	16 $\mu\text{g/ml}$
葡萄糖-6-磷酸（G-6-P）	50 mg/ml，溶于水	200 μl	25 $\mu\text{g/ml}$
万古霉素	50 mg/ml，溶于水	160 μl	20 $\mu\text{g/ml}$
两性霉素 B	10 mg/ml，溶于 DMSO	200 μl	5 $\mu\text{g/ml}$

注：^a400 ml SuperFOS 培养基是 20 个平板的量。

TLR 单核苷酸多态性影响幽门螺杆菌感染的易感性及其转归

【据《Indian Journal of Medical Microbiology》2020年12月报道】题：沙特患者中 Toll 样受体 2、4、9 和 10 基因多态性与幽门螺杆菌相关胃病存在关联（沙特塔伊夫大学 作者 Emad M. Eed 等）

幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*, *H. pylori*）是一种革兰阴性螺旋微需氧细菌，它被认为是许多病理疾病的主要病因，包括胃炎、消化性溃疡、胃癌（GC）和黏膜相关淋巴组织淋巴瘤（MALT）。*H. pylori* 感染后，中性粒细胞和单核细胞被激活，同时产生促炎和抗炎细胞因子。它通过影响免疫细胞激活和（或）细胞因子产生的基因之间的多态性可能会导致宿主黏膜中作用的攻击性和保护性因子之间的不平衡，从而影响个人的临床结局。

Toll 样受体（Toll-like receptor, TLR）属于模式识别受体（pattern recognition receptor, PRR）大家族。已有 10 种 TLR 在人类免疫活性细胞及包括胃上皮细胞在内的其他细胞表面被鉴定出来。TLRs 以 I 型跨膜蛋白模式表达，其识别可激活核因子- κ B（NF- κ B），诱导细胞因子的产生和抗原呈递分子的表达。TLRs

能识别不同的微生物成分，TLR1、2、4、5 和 6 能识别脂多糖（LPS）和脂蛋白等表面成分，TLR1、7、8 和 9 能识别微生物的核酸。此外，TLR10 表达于胃上皮细胞表面，参与识别多种不同模式的 *H. pylori* 脂多糖。

以往研究表明，TLRs 与白细胞介素（ILs）、趋化因子和黏附分子一起在 *H. pylori* 感染的黏膜免疫应答中发挥作用，感染 *H. pylori* 的胃黏膜上皮细胞 TLRs 的表达高于未感染的胃黏膜。此外，在 *H. pylori* 感染晚期，TLRs 的强烈表达可能激活原癌基因，导致上皮不典型增生和腺癌。先前欧洲的一项研究揭示了 TLRs 基因变异与 *H. pylori* 感染率之间的关系，表明这些多态性可能在调节宿主免疫反应和对 *H. pylori* 感染的易感性方面发挥作用。此外，最近的研究显示，TLRs 的单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism, SNP）的存在与胃癌的发生密切相关。这些 SNPs 可能导致 *H. pylori* 的长期感染，随后可能导致慢性炎症和癌变。然而，在不同种族人群中，TLRs 的 SNPs 与 *H. pylori* 感染结局之间的关系仍存在争议。

沙特塔伊夫大学 Emad M. Eed 等人调查沙特患者 TLR2、4、9 和 10 中常见的 SNPs 与 *H. pylori* 相关性胃病的关系。他们选取了 290 例患者作为研究对象，根据胃镜检查结果和组织病理学诊断，将患者分为三组：第一组（90 例）为慢性胃炎，第二组（75 例）为消化性溃疡病（PUD），第三组（45 例）为胃溃疡（GC），另设 *H. pylori* 阴性对照组（80 例）。从福尔马林固定石蜡包埋的胃活检组织中提取基因组 DNA 并保存，用于对 TLR2、TLR4、TLR9 和 TLR10 中已知与功能效应或与 *H. pylori* 感染结局相关的 6 个常见 SNPs 进行基因分型。TLR2（*rs3804099* 和 *rs3804100*）和 TLR10-*rs10004195* 这三个 SNPs 采用 TaqMan 等位基因鉴别分析进行检测。采用限制性片段长度多态性技术检测 TLR4（*rs4986790* 和 *rs4986791*）和 TLR9-*rs352140* 的 SNPs。

结果发现两个常见的 TLR2 SNP：TLR2-*rs3804099* 和 TLR2-*rs3804100* 与 *H. pylori* 感染或 *H. pylori* 相关性胃病之间无任何显著的关联；TLR4-*rs4986790* 和 TLR4-*rs4986791* 两个 TLR4 SNP 与 *H. pylori* 感染显著相关。但与对照组相

比，这种相关性在 PUD 组中并不显著；TLR9-*rs352140* SNP 与 *H. pylori* 相关性慢性胃炎有显著相关性，提示 TLR9-*rs352140* SNP 的发生可能增强了 *H. pylori* 相关性慢性胃炎的抗炎反应，增加了慢性胃炎的发病率，这一结论与许多早期的研究一致；TLR10-*rs10004195* 与 *H. pylori* 易感性显著相关，在慢性 *H. pylori* 感染组和 PUD 组中，TT 基因型和 T 等位基因变异率均明显低于对照组。此外，有研究表明，*rs10004195* T 等位基因与中国人人群中 *H. pylori* 感染和萎缩性胃炎的风险降低显著相关。炎症反应和结果的这种差异可能是通过信号通路的调



节而介导的，该信号通路导致炎症细胞因子如 IL-1 β 、IL-1 α 、IL-6、IL-8、IL-10 和肿瘤坏死因子 α 的下游表达。统计分析 TLR SNPs 在不同 *H. pylori* 感染结局中分布情况，发现 TLR4 SNPs 在 PUD 和 GC 患者中的分布与慢性胃炎组相比无显著性差异（ $P > 0.05$ ），而 TLR9 TT 基因型在胃溃疡和胃癌患者中的分布明显低于慢性胃炎组（ P 分别为 0.007 和 0.018）。此外，TLR10 TT 基因型在胃癌患者中的分布明显高于慢性胃炎组（ $P=0.003$ ）。无论是增加其风险（TLR4 和 TLR9）还是提供保护作用（TLR10），PUD 与这些 SNPs 的关联性最低。TLR SNPs 可能影响 *H. pylori* 感染的易感性及其转归。然而，还需要考虑许多其他因素，特别是可能改变这种效果的民族因素。此外，研究者需要进行更大规模的进一步研究，以确认这些 TLR SNPs 与 *H. pylori* 感染易感性及其长期后果的关系。了解某一地区主要宿主的 TLR 基因型可能会更好地预测这些人群中 *H. pylori* 的感染结果，为改善人群中 *H. pylori* 相关胃病的治疗提供新的见解。

（宁波大学医学院附属医院 马郁荃 谷海斌 编译）

利用超声波降低水中大肠弯曲菌数量

【据《Polish Journal of Microbiology》2021年9月报道】题：利用超声波降低水中大肠弯曲菌数量的研究（波兰波兹南生命科学大学 作者Marek Selwet）

水是传染病传播的重要途径，最常通过家庭、农场、医院废水，以及雨水、融雪传播。受污染的水域常存在大量致病病毒、细菌和寄生虫，可表现出极大生物多样性，可能对人和动物构成直接的流行病学威胁。受污染水中可能含有弯曲菌，这种细菌可对人胃肠道造成严重感染。近年来，人类弯曲菌病发病率增加，据2021年欧洲食品安全局（EFSA）和欧洲疾病预防控制中心（ECDC）统计，欧盟2019年共22 682例确诊感染病例，并将弯曲菌病列为人畜共患病，必须对所有病例进行强制登记并进行常规检测，减少生活和农业废水对地表水的污染。研究表明应用频率高于20 kHz的超声波可以破坏细菌的细胞结构，导致其死亡，到目前为止，关于超声波对细菌细胞分解作用的研究主要集中在大肠埃希菌、肠炎沙门菌、枯草芽胞杆菌、粪肠球菌和链球菌。波兰波兹南生命科学大学Marek Selwet研究了低频超声波杀灭水中分离的弯曲菌的有效性，并将结果与参考菌株的结果进行了比较。

通常认为大肠埃希菌是水卫生质量的主要指标，在该研究中，Selwet有意

选择弯曲菌来指示水质，这种细菌是属于弯曲菌科的革兰阴性、微需氧的有动力杆菌，可引起一种人畜共患病：弯曲菌病。大肠弯曲菌也是从消化系统疾病患者中分离出来的最常见的细菌之一。长期以来，人们普遍认为水源不是弯曲菌的主要传播媒介，弯曲菌在这种环境中处于休眠状态。

从水中分离的弯曲菌属的多样性在很大程度上取决于其污染源，该研究从50份被污染水样中分离出大肠弯曲菌21份，检出率为42%，另外使用参考菌株大肠弯曲菌ATCC 33559进行实验对比（实验流程见图1）。在超纯水操作装置中，将菌株暴露于频率为37 kHz和80 kHz的超声波中（表1），37 kHz频率处理5 min后，大肠弯曲菌数量下降5.78%，温度升高了3℃；10 min时细菌数量下降22.22%；30 min时细菌数量减少了40.15%，整个测量期间，

最高温度达到36℃，初始温度为20℃。参考菌株在细菌数量和温度值方面表现出类似的变化。80 kHz频率处理结果表明，超声作用5 min后，大肠弯曲菌数量下降6.27%，温度升高6℃；10 min时细菌数量下降30.07%；作用30 min后，大肠弯曲菌数量下降了55.10%，整个过程中，温度最高到39℃，初始温度为21℃。参考菌株的细菌数量和温度的变化值相似。该结果证实超声频率和时间均显著降低了弯曲菌的数量，37 kHz和80 kHz两个频率的超声波使大肠弯曲菌分离菌株和参照菌株的计数在操作10 min时发生了显著变化，更重要的是，80 kHz的频率使细菌计数从6.86 log CFU/ml降至3.08 log CFU/ml，而37 kHz的频率使细菌计数从6.75 log CFU/ml降至4.04 log CFU/ml，这表明，80 kHz频率对这些细菌的生长有更强的抑制作用。

超声空化作用会导致细菌细胞壁破

裂、细胞膜不完整性增加，弯曲菌是革兰阴性菌，外膜由磷脂组成，因此要注意温度的作用，较高的水温会改变膜的通透性，扰乱营养物质的运输，并改变其细胞成分。此外，超声波抑制细菌生长的时间长短可能取决于水环境中生物膜的形成，超声波处理过程中产生的羟基离子和自由基氧化细菌的基本化学成分（脂质、蛋白质和核酸）并产生过氧化氢，由于被污染的水可能含有来自各种聚集体和絮体的溶解有机化合物，建议延长超声波时间。

研究表明，高频（80 kHz）超声波在较短时间内灭活弯曲菌的百分率较高，除细菌灭活率外，污水消毒的目的亦是保障公众健康。经过处理的废水中没有大肠杆菌，这表明它可以安全地用于绿色地区的灌溉。超声波的使用将明显减少使用饮用水进行灌溉的需求，对弯曲菌的研究结果可能有助于实现超声波成为废水消毒的一种技术。除此之外，还应该注意到这种方法的局限性，虽然超声波抑制了大肠弯曲菌细胞的生长，但其数量仍然很高，目前的研究是在纯净水中进行浮游单一培养，然而，实际的污染水中将包含多种聚集体、生物膜和能够保护细胞免受超声波伤害的化合物。

（辽宁省人民医院
迪娜·海沙尔 赵鸿梅 编译）

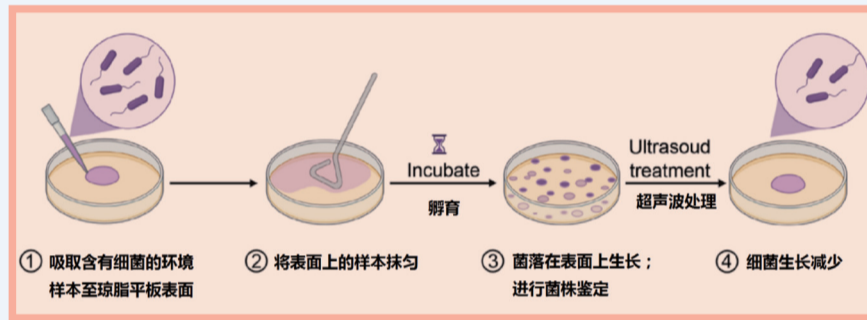


图1 超声波杀灭水中弯曲菌的实验流程

表1 频率为37 kHz和80 kHz的超声处理对温度变化和大肠弯曲菌数量(log CFU/ml)的影响

时间 (min)	37 kHz			80 kHz		
	大肠弯曲菌	SD	温度 (°C)	大肠弯曲菌 ATCC 33599	SD	温度 (°C)
0	6.75	±0.7	20	6.86	±0.9	21
5	6.36	±0.5	23	6.43	±0.6	27
10	5.25	±0.5	24	4.18	±0.5	31
15	5.00	±0.4	28	3.95	±0.7	33
20	4.90	±0.6	30	3.84	±0.7	36
25	4.48	±0.4	34	3.48	±0.4	37
30	4.04	±0.3	36	3.08	±0.5	39

意大利本土和移民人群中惠普尔养障体、幽门螺杆菌和肠道原虫合并感染

【据《Microorganisms》2022年4月报道】题：意大利本土和移民人群中的惠普尔养障体、幽门螺杆菌和肠道原虫的合并感染：一项横断面研究（意大利IRCCS Sacro Cuore Don Calabria医院 作者Lucia Moro等）

惠普尔养障体（TW）、幽门螺杆菌（HP）和肠道原虫（IP）是广泛传播的病原体，具有相似的传播途径和流行病学危险因素，因此它们之间的合并感染成为一种合理的可能性。有研究表明36%的胃肠炎患儿的TW肠道定植与引起腹泻的其他病原体相关，包括十二指肠贾第鞭毛虫（GD）。Lucia Moro等之前的研究中也得到了证实，其中72.9%的TW定植受试者中存在由GD或溶组织内阿米巴（EH）引起的感染。同时在以由移民组成的成年人人群中，

74%的HP感染患者伴有原虫合并感染。以B型和结肠内阿米巴（EC）最为常见。

关于TW和HP合并感染的流行病学数据较少，意大利IRCCS Sacro Cuore Don Calabria医院Lucia Moro等基于实时荧光定量PCR（rt-PCR）原理检测TW、HP和原虫感染的人群，更深入调查这些病原体的合并感染率，评估其危险因素和症状。本研究纳入了该医院通过rt-PCR检测TW DNA的143名受试者，对患者的存储粪便样本进行幽门螺杆菌、溶组织内阿米巴、迪斯帕内阿米巴（ED）、隐孢子虫（C）、脆弱双核阿米巴（DF）、十二指肠贾第鞭毛虫和芽囊原虫（B）DNA检测，同时检测HP DNA阳性粪便样本中的cagA毒力因子。研究人员从250 mg

粪便中提取总DNA，在每个样品中加入海豹疱疹病毒1型（PhHV-1）作为分离和扩增步骤的内部对照。rt-PCR所有扩增反应均使用5 μl DNA和SsoAdvanced通用探针超级混合液进行。检测TW时，首次rt-PCR检测（使用引物对TW27-F和TW182-R及探针27F-182R）靶向TW的105 bp重复序列。若第一次测定结果为阳性，则通过靶向不同DNA序列的第二次rt-PCR测定（使用引物对TW13-F和TW163-R及探针13F-163R）进行系统的确认。测定程序包括95℃ 3 min的初始步骤，然后95℃、15 s、60℃、60 s进行40次循环。HP检测采用rt-PCR检测ureC（glmM）和cagA。该测定程序包括95℃、3 min的初始步骤，随后95℃、15 s、58℃、30 s、72℃、30 s进行50次循

环。肠道原虫的分子诊断筛查由两个独立的多重rt-PCR（分别检测EH-ED-C和GD-DF-B）进行，该测定程序包括95℃、3min的初始步骤，然后95℃、15 s、60℃、30 s、72℃、30 s进行40次循环。

该研究共分析了143个粪便样本，结果显示TW阳性30.8%（44/143），至少一种肠道原虫感染为30%（43/143），HP阳性15.4%（22/143），而HP阳性患者中cagA阳性占63.6%（14/22）。TW阳性患者迁移史明显多于TW阴性患者（34.1% vs 9.1%，P=0.001），HP感染患者的迁移史也明显多于非感染患者（59.1% vs 9.1%，P<0.001）。TW感染组与未感染组之间HP感染率差异有统计学意义（31.8% vs 8.1%，P=0.001），而IP感染

组与非感染组之间HP感染无差异。HP感染患者TW肠道定植率明显高于非感染患者（63.6% vs 24.8%，P<0.001），HP感染患者中芽囊原虫阳性率也显著高于非感染患者（40.9% vs 17.4%，P=0.018）。

综上所述，TW和HP合并感染率较高，为了降低两种病原体慢性感染的发病风险，临床医生可以考虑对所有疑似HP感染或惠普尔病患者的同一份粪便样本通过分子检测进行TW-HP筛查，尤其是当患者报告有旅行史时。该研究仍具有一定局限性，需要更大规模的前瞻性研究来更好地阐明合并感染的流行情况，以及在粪便样本中使用分子生物学来早期诊断两种感染的有效性。

（宁波大学医学院附属医院
王维洁 谷海瀛 编译）

缬氨酸-甘氨酸重复蛋白 G 的免疫保护性可有效调节鲍曼不动杆菌的致病性

【据《Molecular Immunology》2021年4月报道】题：缬氨酸-甘氨酸重复蛋白G的免疫保护性可有效调节鲍曼不动杆菌的致病性（伊朗扎伊尔德大学作者Mahdiah Pazoki等）

鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 是导致严重医院感染的重要原因，对人类健康构成严重威胁。由于其对抗菌药物的耐药性，感染变得越来越难以治疗。基于鲍曼不动杆菌的广泛耐药性及对未来新型抗菌药物可能失败的担忧，有必要制定抗鲍曼不动杆菌的其他策略。尽管进行了许多关于感染控制，非特异性免疫治疗，被动免疫和主动免疫的研究，但目前还没有针对鲍曼不动杆菌感染的疫苗治疗。

新发现的 VI 型分泌系统 (T6SS) 是广泛存在于革兰阴性菌中的一种蛋白分泌系统，是致病性的有效介质，负责多种毒性效应因子的分泌。缬氨酸-甘氨酸重复蛋白 G (VgrG) 是 T6SS 的重要结构组成部分，存在于许多细菌病原体中，对鲍曼不动杆菌功能性 T6SS 至关重要。鲍曼不动杆菌中的 T6SS 效应器极其多样化，许多具有未知功能。VgrG 由 798 个氨基酸组成，因此，监测 VgrG 表位的免疫调节潜能并与完整的 VgrG 蛋白进行比较是很有意义的。伊朗扎伊尔德大学 Mahdiah Pazoki 等计划诱导抗 VgrG 抗体来确认 T6SS 的这个成分的关键

作用，同时利用抗血清来预防鲍曼不动杆菌感染。

vgrG 1263-2295 和 vgrG 1263-1608 这两个保守序列在鲍曼不动杆菌中具有抗原性。研究者将 vgrG 1263-1608 序列植入来自脑膜炎奈瑟菌的无环 C 叶 (LCL) 中形成 LCL-VgrG，表达并纯化 VgrG 和 LCL-VgrG。研究者选择鲍曼不动杆菌 VgrG 蛋白两个区域 421-765 和 421-536 作为对照候选疫苗。VgrG 421-765 包含不动杆菌属的五个保守结构域，VgrG 421-536 是名为 VI_Rhs_Vgr 的保守结构域的一部分。421-765 和 421-536 区域分别包含 203 和 61 个亲水残基。

VgrG 和 LCL-VgrG 两种抗原的免疫原性通过测量第 14 天、

第 28 天和第 42 天血清中的总 IgG 滴度进行评估。结果显示第二次增强剂量后抗体滴度增加，抗 VgrG 和抗 LCL VgrG 特异性 IgG 水平显著增加 ($P < 0.0001$) (图 1a, b)。免疫小鼠血清的全细胞 ELISA 中记录的吸光度高于对照组。ELISA 结果表明，抗 VgrG 和抗 LCL-VgrG 抗体能识别鲍曼不动杆菌 ATCC 19606 上表达的天然蛋白。对照组和 VgrG 组 ($P < 0.0001$)、对照组和 LCL VgrG 组 ($P < 0.001$) 之间存在显著差异，而 VgrG 组和 LCL VgrG 组之间的差异不显著 (图 1c)。

ATCC 19606 鲍曼不动杆菌与 10% 猪黏蛋白混合后经腹腔注射给小鼠，建立脓毒症模

型，感染后 24 h，对照组和免疫组小鼠的肺、肝和脾脏中的细菌载量见图 2。对照组和试验组之间存在显著差异 ($P < 0.0001$)，两个免疫组各组织中细菌数量的差异也非常显著 ($P < 0.0001$)。

用 MTT 法测定 A549 人肺泡上皮细胞和健康单个核细胞的细胞毒性，这些细胞可能是在鲍曼不动杆菌引起的呼吸道或全身感染的细菌宿主标。A549 细胞 VgrG 和 LCL-VgrG 蛋白的 50% 抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 $29.6 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ 和 $61.6 \pm 0.512 \mu\text{g/ml}$ ，单核细胞上分别为 $43.7 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ 和 $76.0 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ ($P < 0.05$)。为探讨抗 VgrG 和抗 LCL-VgrG 抗体对鲍曼不动杆菌是否具有杀菌活性，分别对 ATCC 19606 鲍曼不动杆菌标准菌株和一株临床分离株进行了杀菌试验。抗体对两种菌株均表现出中等的杀菌活性。用 VgrG 抗血清对鲍曼不动

杆菌 ATCC 19606 和临床分离株的杀灭率分别为 18% 和 23%，LCL-VgrG 抗血清的杀灭率分别为 37% 和 22%。

T6SS 通过向细菌靶细胞传递毒性效应物在细菌毒力中发挥关键作用，尽管 VgrG 在鲍曼不动杆菌中非常保守，但确定具有高抗原表位的最保守的区域将进一步揭示针对大多数鲍曼不动杆菌的保护性免疫。这可能导致表位拼接制成的肽疫苗的问世，该疫苗也可用于诱导针对具有 T6SS 的共感染革兰阴性病原体的免疫。该研究表明，相比 VgrG 免疫，LCL-VgrG 免疫对鲍曼不动杆菌感染能提供更好的保护。VgrG 的保守区可能是有效疫苗开发的安全免疫原或控制鲍曼不动杆菌感染的抗血清。

(西安医学院第一附属医院检验科 辛娜 李卓 编译)

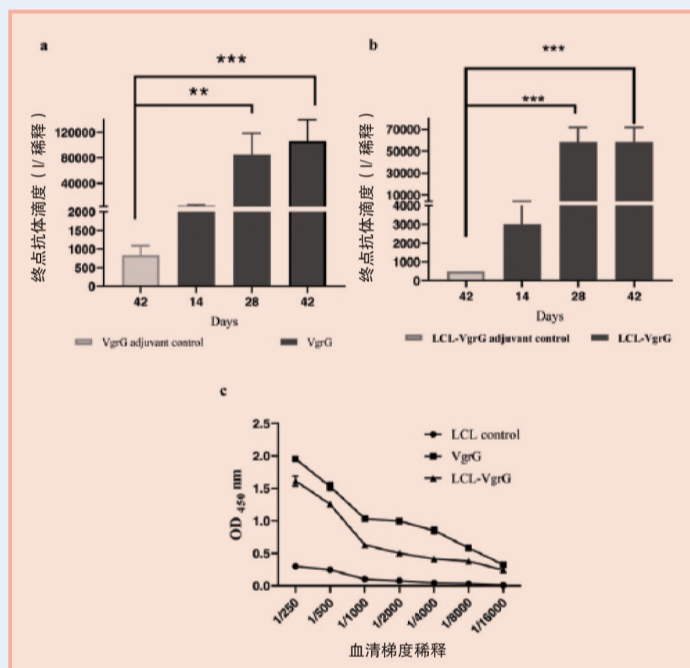


图 1 间接 ELISA 法测定免疫蛋白的 IgG 滴度

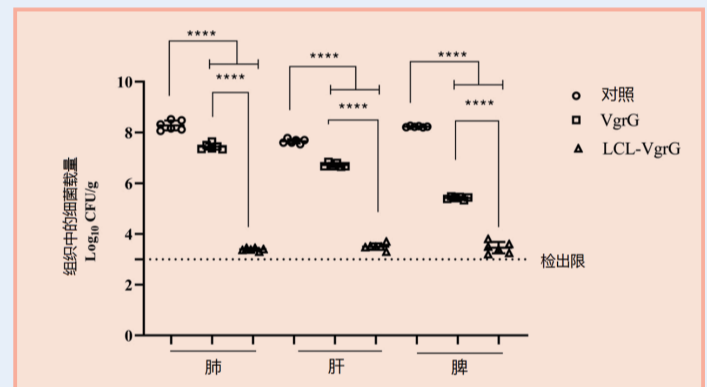


图 2 感染后 24 h，对照组和免疫组小鼠的肺、肝和脾脏中的细菌载量

阿尔茨海默病临床综合征患者脑脊液 CD4⁺ T 细胞多样性降低

【据《Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.》2021 年 11 月报道】题：阿尔茨海默病临床综合征患者脑脊液 CD4⁺ T 细胞多样性降低（美国得克萨斯大学西南医学中心作者 Chaitanya Joshi 等）

阿尔茨海默病 (AD) 是最常见的痴呆诊断。《世界阿尔茨海默病报告》估计，到 2030 年，痴呆症护理的成本将达到 2 万亿美元，痴呆症将影响近 7 500 万人。阿尔茨海默病性痴呆症患者表现出与淀粉样蛋白相关的神经退行性变的证据。大脑中 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 斑块的积累和过度磷酸化的 tau 混乱被认为是导致神经元丢失和认知功能障碍的原因。最新指南指出，AD 生物学诊断方法包括检测 $A\beta$ 和 tau 体液脑脊液水平和测量神经退行性变成像分

类方法。尽管诊断方法已有进展，但对 AD 仍无有效治疗方法。

阿尔茨海默病患者会发生淀粉样蛋白相关神经变性。美

国德克萨斯大学西南医学中心 Chaitanya Joshi 等对这些患者

是否也明确出现 CD4⁺ T 细胞介

下转第 6 版

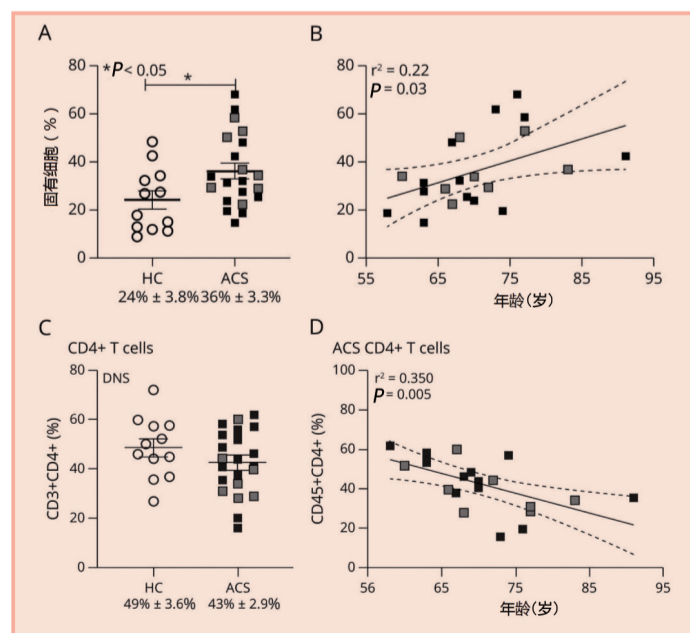


图 1 ACS 患者脑脊液中的固有细胞增殖 (A) 并与年龄呈正相关 (B)，CD4⁺ T 细胞减少 (C) 并与年龄呈负相关 (D)

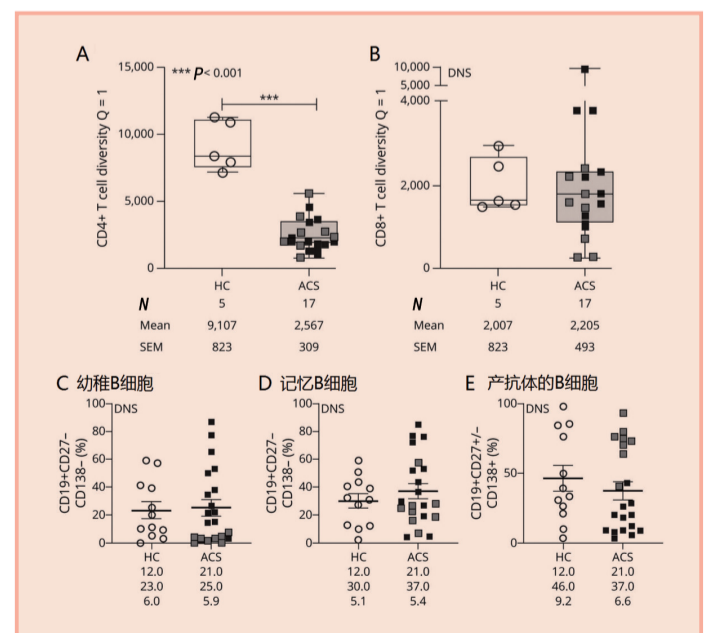


图 2 与健康对照相比，ACS 患者脑脊液中的 CD4⁺ T 细胞多样性下降，B 细胞亚群无明显变化

多中心实施后评估 SARS-CoV-2 抗原即时检测

在无症状持续护理人员筛查中的阳性预测值

【据《Journal of Clinical Microbiology》2021年11月报道】题：多中心实施后评估 SARS-CoV-2 抗原即时检测在无症状持续护理人员筛查中的阳性预测值（加拿大卡尔加里大学医学院 作者Jamil N. Kanji等）

在临床表现数据有限的情况下，全球范围内正在通过基于抗原的即时检测（antigen-based point-of-care tests, APOCT）在无症状人群中频繁筛查 SARS-CoV-2。即时检测（point-of-care tests, POCT），特别是 APOCT，是管理 SARS-CoV-2 传播的一项重要重要的公共卫生措施，利于早期发现病例。APOCT 特别适用于识别和隔离高危环境中无症状人群中的 SARS-CoV-2 阳性病例，例如集合住宅和护理机构，或者在因敏感的核酸检测周期较长可能危及传播控制的地区。尽管有关 APOCT 在各种使用环境中的分析和临床性能的数据有限，各国政府仍纷纷支持 APOCT 计划的广泛实施，APOCT 大规模部署得到了快速推动。据一些专家估计，30%~40% 的感染个体是无症状的，无症状感染者的快速识别和隔离对打断传播链方面非常有效，因此从公共卫生角度，人们对无症状个体进行检测产生了浓厚的兴趣。然而，

APOCT 假阳性率高，检测敏感性较差，有人担心在无症状群体的检测时可能显示出较差的特异性。

加拿大卡尔加里大学医学院Jamil N. Kanji等的研究是为了评估两种APOCT，即Abbott Panbio和BD Veritor对持续护理人员中的医护人员进行大规模多中心的无症状SARS-CoV-2检测的阳性预测值（PPV）。2021年2月22日至5月2日期间，在加拿大阿尔伯塔地区的持续护理点对其无症状医护人员实施SARS-CoV-2自愿筛查，每周或每2周进行一次Abbott Panbio或BD Veritor的现场检测，并通过实时逆转录PCR（real-time reverse transcriptase PCR, rRT-PCR）参考方法验证APOCT结果。

在10周的时间里，369/466（79.18%）的省级持续护理点参与了无症状筛查计划。在此期间，共进行了71 847次APOCT（Veritor 17 689次，Abbott Panbio 54 158次）（表1），共有87例（0.12%）APOCT阳性，其中39例（44.83%）经rRT-PCR证实为真阳性。APOCT阳性率在10周期间没有显著差异（ $P=0.35$ ）。与Panbio相比，Veritor的错误检出率明显更高[76.6%（95%CI 62.8%~86.4%）比30.0%（95%CI 18.1%~4.4%）； $P<$

0.0001]（表1）。Panbio的PPV明显高于Veritor[70%（95%CI 54.6%~81.9%）比23.4%（95%CI 13.6%~37.2%）； $P<0.0001$]。

在此研究期间，阿尔伯塔省的持续护理机构共宣布了32起疫情（1起发生在2021年3月，29起在4月，2起在5月），共诊断出66 338例新冠肺炎病例（患病率为1.5%），平均rRT-PCR阳性率为7.2%（ $M=6.3%$ ；范围为3.8%~13.6%）。从2020年12月16日开始，该省持续护理机构中的医务人员与机构中的居住者一起接种新冠肺炎疫苗，截至2021年2月1日和5月2日，在该省持续护理机构的医务人员接种一针新冠疫苗的比例分别为1.1%和69.9%，接种过两针疫苗的比例分别为16.0%和83.6%。

虽然APOCT可能是限制聚集环境中传播的一个重要工具，但数据证实，在大量无症状人群中，APOCT具有较低的PPV。POCT与PCR检测相比敏感性较差，特别是在无症状群体中，在实施之前，需要仔细评估APOCT计划的风险、成本和益处，以及该人群中的感染流行率，并考虑假阳性结果对工作人员和现场的负面影响。

假阳性结果可能会给个人和医疗保健系统带来相当

大的负担和痛苦，会因为需要隔离而导致收入损失、对密切接触者产生附带影响，以及由于误诊、耻辱和害怕感染他人而造成的心理损害。在医疗机构中，对假阳性结果进行隔离可能会导致人员短缺，从而进一步增加其他员工的压力。急诊环境中的假阳性结果可能导致不必要的治疗或程序，若根据APOCT结果转入新冠肺炎治疗单元，还可能使个体接触到SARS-CoV-2。因此，研究者强烈建议对APOCT结果进行适当校正，并确保在实施APOCT的情况下及时通过rRT-PCR进行确认。使用APOCT建立无症状检测计划需要大量的资源投入和后勤组织，为确保高质量的测试，APOCT应接受适当的测试验证，并制定标准操作程序和培训计

划，并且在实施相关计划时，应通过认可的实验室进行医疗和操作监督。通常需要信息技术专家建立报告系统，以便准确捕获结果，以促进公共卫生报告、疾病通知和接触者追踪。此外，必须将处理报告错误和测试验证的监督系统构建到APOCT基础设施中。

随着广泛的疫苗接种和疾病流行率的下降，未来几个月，在无症状人群中可能会发现更少的阳性检测结果，从物力、人力资源的角度来看，这种努力对大多数医疗保健系统来说都是相当昂贵的。因此，从长远来看，特别是在提高人群免疫力的背景下，重新考虑无症状APOCT新冠肺炎计划的价值和有效性是很重要的。

（辽宁省人民医院 迪娜·海沙尔 赵鸿梅 编译）

表1 加拿大阿尔伯塔省无症状持续护理医护人员的 APOCT 和 rRT PCR 验证结果

参数	结果		总计 (%)
	BD Veritor	Panbio	
APOCT 数量 (%)			
总数	17 689	54 158	71 847
阳性	47 (0.27)	40 (0.07)	87 (0.12)
阴性	NA ^a	NA	71 673 (99.76)
无效	NA	NA	87 (0.12)
rRT-PCR 确认阳性			
总数	11 (0.06)	28 (0.05)	39 (0.05)
假阳性数量 (%)	36/47 (76.6) ^b	12/40 (30.0) ^b	48/87 (55.17)
阳性预测值 (%)	11/47 (23.40) ^b	28/40 (70.00) ^b	39/87 (44.83)

注：^a.NA，无数据；^b.BD Veritor 和 Abbott Panbio 之间进行比较， $P < 0.0001$ 。

公益广告



接种新冠疫苗
利己利家利国



中宣部宣教局 国家卫生健康委员会宣传司 中国疾病预防控制中心 中国健康教育中心

上接第6版

导适应性免疫反应进行了重点研究。为验证这一假设，他们评估了有明显痴呆症表现的阿尔茨海默病临床综合征（ACS）患者的脑脊液免疫特征。

研究采用多色流式细胞

术检测 ACS 患者的先天免疫和获得性免疫水平；采用二代测序法测定脑脊液 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞受体基因；采用阵列技术或 ELISA 检测脊液特异性自身抗体。对照队列为同龄健康对照（HCs）。

与健康对照组比较，ACS 患者脑脊液中固有细胞明显增殖，且 ACS 患者固有细胞增殖随年龄增长而增加（图 1A 和 B），而健康对照组无增加。尽管脑脊液中固有细胞有所增加，但 ACS 患者

的 CD4⁺ T 细胞总数随着年龄的增长而降低（图 1C 和 D）。ACS 患者的 T 细胞克隆扩增增强，但多样性降低，而 B 细胞亚群占比无显著变化（图 2）。

脑脊液检查显示 ACS 患

者 CD4⁺ T 细胞介导的适应性免疫反应发生改变。了解影响适应性免疫的潜在机制将有助于推进研究，减缓认知衰退进展。

（辽宁省丹东市中心医院 刘一廷 闫高波 编译）

gPSA 可辅助诊断早期前列腺癌

【据《Bioorganic & Medicinal Chemistry》2021 年 4 月报道】题：游离前列腺特异性抗原的 N,N-二乙酰乳糖胺 (LacdiNAc) 检测用于早期前列腺癌诊断和去势抵抗性前列腺癌患者的鉴定 (斯洛伐克科学院化学研究所 作者 Aniko Bertokova 等)

前列腺癌 (PCa) 是男性第二常见的癌症类型,也是全球第五大死因。2018 年全球新增病例 1 276 106 例,死亡 358 989 例,而预计到 2035 年,前列腺癌的发病率将进一步增加到 210 万。因此在患者样本中发现非侵入性的、可靠的、低成本的早期诊断生物标志物非常重要。前列腺特异性抗原 (PSA) 是一种 FDA 批准的前列腺组织特异性生物标志物,不同癌症进展与不同的 PSA 糖型及表达水平相关。有研究表明,前列腺炎患者尿中 N,N-二乙酰乳糖胺 (LacdiNAc) 与健康个体相比有显著变化,N-糖链双分支含量升高,而健康个体中三、四

分支含量显著升高。当双分支与三、四分支之和的比值作为生物标志物时,前列腺炎患者与健康个体的鉴别能力显著增强。并且与非去势抵抗性前列腺癌 (非 CRPCa),即前列腺增生 (BPH)、新诊断的 PCa 患者、PCa 经雄激素剥夺治疗 (ADT)

无疾病进展的患者相比,CRPCa 患者血清中存在高分支化聚糖。

在此背景下,来自斯洛伐克科学院化学研究所的 Aniko Bertokova 等在布拉迪斯拉发大学医院泌尿科采集了 105 例有泌尿系统症状的患者血清样本和前列腺活检样本,将患者分

为 BPH 对照组 (包括所有非恶性前列腺疾病) 和 PCa 阳性组 (诊断为 PCa 的患者)。分析样品中总前列腺特异性抗原 (tPSA)、含 LacdiNAc 的游离 PSA 糖型 (gPSA)、前列腺体积 (PV)、gPSA/tPSA (gPSA%)、tPSA/PV (PSAd) 和 gPSA/PV

(gPSAd),作为单个参数或使用两个参数的组合对患者进行评估。分析数据显示,最佳的生物标志物为 gPSA 与 PSAd 联合应用组,AUC 为 0.896,准确率为 0.925,灵敏度为 0.941,特异性为 0.750,能够准确地与 BPH 进行鉴别,诊断早期 PCa。用主成分分析法 (PCA) 分析 BPH 组患者 (图 1A),在主群之外有 2 名可疑患者,其中 PCa #1 定为高风险患者,PCa #2 为慢性前列腺炎患者。用 PCA 法分析 PCa 组患者 (图 1B),在集群外的 PCa #4 被诊断为 CRPCa,PCa #3 和 PCa #5 已经在接受 ADT 治疗,虽未确诊 CRPCa 但他们的糖基化模式与主群有明显差别。

综上所述,gPSA 可以辅助诊断早期 PCa,gPSA 与 PSAd 联合使用显著提高了 BPH 与 PCa 的鉴别能力,可以用于识别前列腺炎及 CRPCa 患者。

[广州中医药大学深圳医院 (福田) 邵立群 编译]

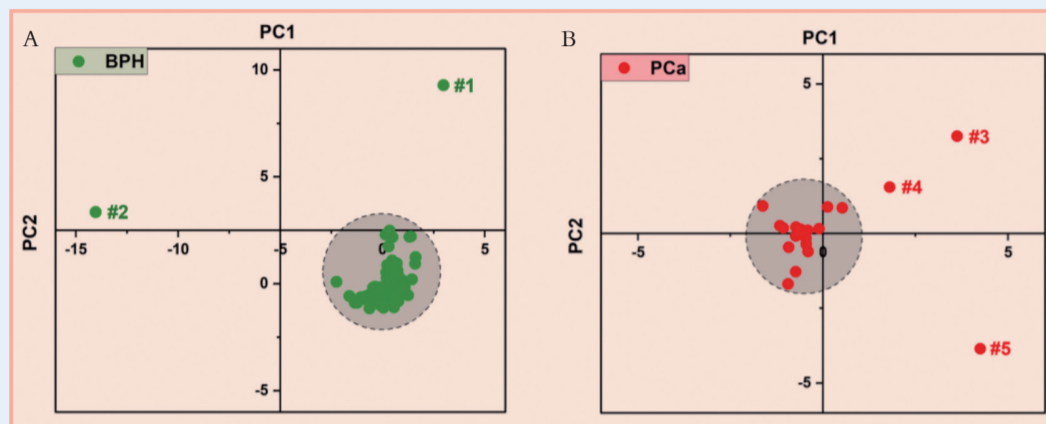


图 1 主成分分析显示良性 (A. 绿色) 和 PCa (B. 红色) 混合病例群,有几例患者明显远离主群 (灰色圆圈): #1 为 BPH 患者,tPSA=30.9 ng/ml,PV=63 ml; #2 为慢性前列腺炎患者,tPSA=0.62 ng/ml,PV=32 ml; #3 为 PCa 患者,tPSA=77.0 ng/ml,PV=31 ml,正在使用 ADT+RAT; #4 为 PCa 患者,tPSA=44.0 ng/ml;PV=35 ml,正在使用 RAT+ADT,诊断为去势抵抗性前列腺癌; #5 为 PCa 患者,tPSA=26.2 ng/ml,PV=35 ml,正在使用 ADT

敲低叉头框蛋白 A1 通过调节磷酸酶和张力蛋白同源物 /Akt 通路抑制人结肠癌的发生和进展

【据《Journal of International Medical Research》2021 年 9 月报道】题：敲低叉头框蛋白 A1 通过调节磷酸酶和张力蛋白同源物 /Akt 通路抑制人结肠癌细胞的肿瘤发生和进展 (福建医科大学附属协和医院 作者 Jie Pan 等)

结肠癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一。目前,每年报告的新病例超过 100 万,估计每年有 700 000 人死于结肠癌。肿瘤侵袭和转移是主要的治疗挑战和结肠癌死亡的主要原因。结肠癌的发生和发展是一个复杂但知之甚少的过程,涉及多种因素,如癌基因的激活和抑癌基因的失活。更好地了解结肠癌的发展、侵袭和转移的发病机制对于其早期诊断和治疗具有重要意义。

叉头框蛋白 A1 (forkhead box A1) 由 *FOXO1* 基因编码,也称为肝核因子 3 α ,是人类叉头框蛋白转录因子家族的成员,对早期胚胎发育和晚期或未期上皮分化都至关重要。越来越多的证据表明,*FOXO1* 参与了癌症的发生和发展,因为它调节了一系列生物学过程,包括细胞增殖、凋亡、分化、迁移和侵袭。最近的研究检测到 *FOXO1* 在各种类型的癌症中扩增,例如前列腺癌、卵巢癌、和子宫内膜癌,表明 *FOXO1* 可

能是癌症诊断和预后的新型生物标志物。

根据肿瘤的类型,*FOXO1*

可以作为致癌基因或肿瘤抑制基因。在胰腺癌中,*FOXO1* 在癌组织中的表达显著低于健康

上皮和癌前病变,并且在上皮-间质转化 (EMT) 期间观察到 *FOXO1/2* 的丢失。总之,这

些发现表明 *FOXO1* 在癌症进展中存在潜在的动态扰动。然而,只有两项研究报告了 *FOXO1* 在人类结肠癌 (CRC) 中的作用。因此,福建医科大学附属协和医院 Jie Pan 等旨在阐明 *FOXO1* 在人类结肠癌中的潜在生物学功能和潜在机制。

Western blotting 和 RT-qPCR 分析显示,与健康组织和正常结肠上皮细胞系相比,*FOXO1* 在人结肠癌组织和细胞系中的表达增加。随后,研究者使用 TCGA 数据集 GEPIA 检查了 *FOXO1* 在不同类型肿瘤中的表达。同样,在结肠癌和直肠癌中,*FOXO1* 在癌组织中的表达高于在邻近健康组织中的表达。这些结果表明 *FOXO1* 表达是结肠癌肿瘤发生和进展的临床相关标志物。

为了进一步评估 *FOXO1* 表达在结肠癌中的预后价值,研究者使用 R2: 基因组学分析和可视化平台,使用数据集“肿瘤结肠 (核心外显子)-Svein-333”“混合结肠腺癌-TCGA-174”“肿瘤结肠 (核心转录本)-Svein-333”和“肿瘤结肠 MSI 状态 (核心外显子)-Svein-95”生成 Kaplan-Meier 总生存曲线。如图 1 所示,*FOXO1* 高表达与较差的无事件生存率显著相关。同样,

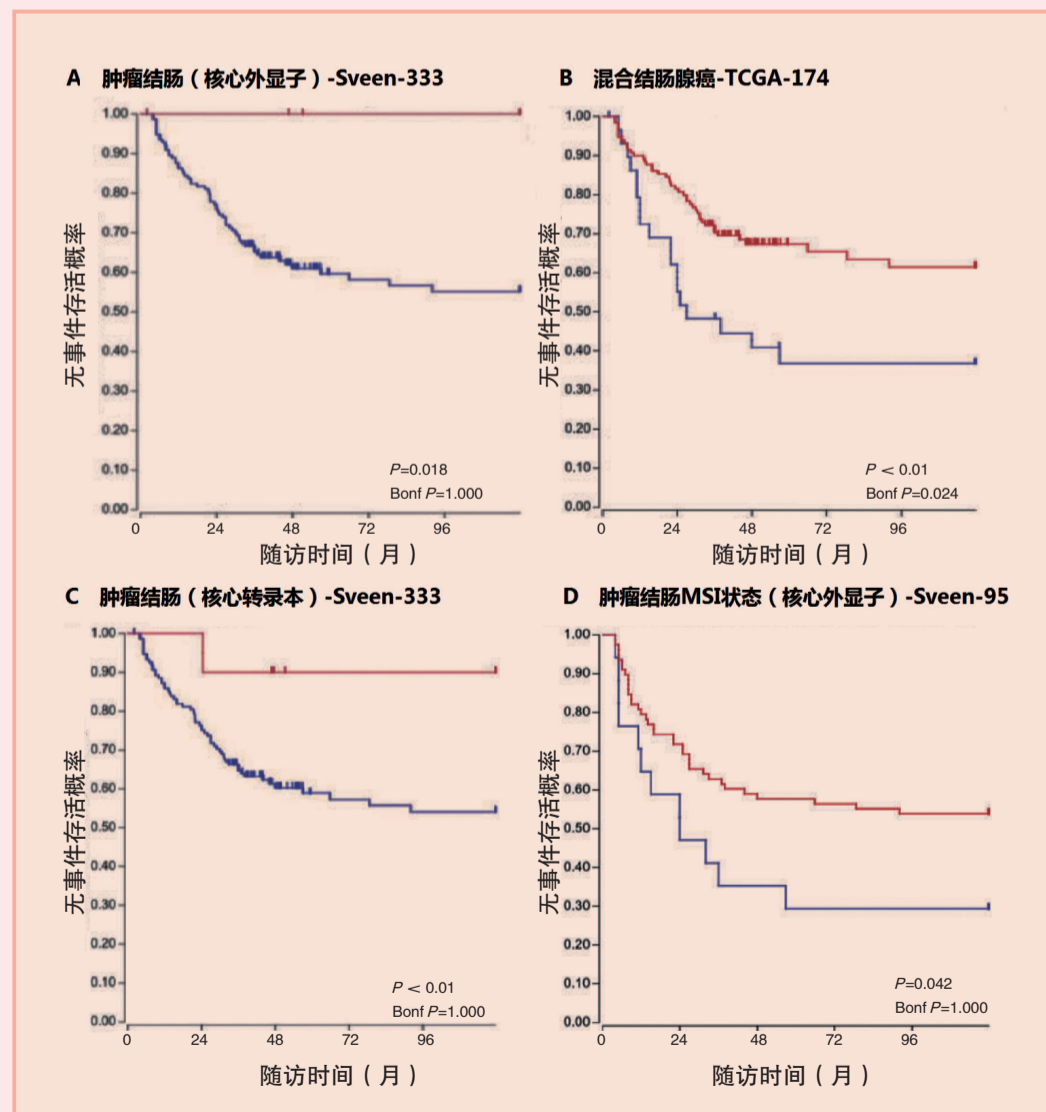


图 1 *FOXO1* 高表达与明显较差的无事件生存率相关 (所有 $P < 0.05$)

下转第 8 版

ABO血型与肾综合征出血热宿主易感性的相关性

【据《Epidemiology and Infection》2021年9月报道】题：ABO血型与肾综合征出血热宿主易感性的相关性（青岛大学附属妇女儿童医院 作者Jing Li等）

自从发现ABO血型以来，越来越多的证据表明血型与传染病之间存在关联。然而，到目前为止，关于ABO血型在肾综合征出血热（HFRS）感染中的潜在作用的研究很少。肾综合征出血热是由汉坦病毒感染引起的两种新出现的人畜共患疾病之一，以发热、出血表现和肾功能障碍为特征。它主要在欧洲和亚洲流行，中国占全球所有HFRS病例的90%。2004—2016年间，我国31个省市及自治区共报告166 975例HFRS病例和1 689例HFRS相关死亡。尽管环境管理、宿主监测和HFRS疫苗实施在控制HFRS方面发挥了重要作用，但它在大陆仍然是一种严重的疾病。

基于以上研究背景，青岛大学附属妇女儿童医院Jing Li等调查了青岛地区ABO血型与HFRS感染发展的关系。该研

究纳入116例HFRS患者作为病例组，373名健康受试者作为对照组。通过对116例HFRS患者的性别和年龄分布进行分析，研究者发现大多数HFRS病例是中老年男性农民；男性患病人数是女性的3倍多，其中中老年人占大多数，这与中国2004—2016年的监测报告一致。农民更有可能在田地和谷仓等啮齿动物出没的地区工作，接触到啮齿动物的尿液、粪便和唾液。此外，中老年男性是中国农民的主要组成部分，这可能解释了他们最容易感染HFRS的原因。

随后，研究者调查了HFRS患者和健康受试者的ABO血型和RhD血型分布。病例组ABO血型分布：A型（33.62%）、B型（17.24%）、O型（29.31%）和AB型（19.83%）；对照组的ABO血型分布为A型（30.83%）、B型（34.05%）、O型（26.27%）和AB型（8.85%），与当地人群报道的一致。两组ABO血型分布有显著差异（ $\chi^2=18.151$, $P<0.05$ ）。至于RhD血型，据报道，RhD阴性在人群中的

占比仅有1.02%。而在本研究中，病例组和对照组的所有个体均为RhD阳性，因此研究者无法就RhD状态是否会影响HFRS感染做出任何结论，这是被研究人群所固有的。对RhD阴性个体比例较高的人群进行的进一步研究可能会更明确地解决这个疑问。

在这项研究中，为了评估ABO血型在HFRS感染可能性中的作用，研究者进行了逻辑回归分析（表1）。结果显示，与对照组相比，病例组B型血发生率较低（ $OR=0.404$, $95\%CI$ 0.238~0.684, $P<0.01$ ）。相反，AB型血在病例组中更常见（ $OR=2.548$, $95\%CI$ 1.427~4.549, $P<0.01$ ）。两组之间A型和O型血无显著差异。该研究结果表明，AB型血人群可能更容易感染HFRS，而B型血的人可能不太容易感染HFRS。由于受到影响的男性多于女性，因此研究者进一步按性别和血型分析了数据。分析发现相同的结果，即对于男性而言，B型血的发病率较低（ $OR=0.448$, $95\%CI$ 0.243~0.825,

$P<0.01$ ），而在病例组中观察到的AB型血更为频繁（ $OR=2.339$, $95\%CI$ 1.196~4.574, $P<0.05$ ）。对于女性，虽然病例组B型血分布较低，AB型血分布较高，但未发现显著差异，可能是样本量不足所致。该研究是关于ABO血型与宿主对HFRS感染的易感性之间关系的第一份报告，尽管这些结果应被视为初步结果。

该研究结果表明，AB型血人群可能更容易感染HFRS，而B型血人群可能不太容易感染HFRS，这将有助于在感染控制中进行风险分层。当然，该研究有一些局限性。这是一项单中心、回顾性、观察性研究，样本量相对较小。由于样本量小，研究者无法根据RhD阳性对血型进行细分，也没有分析不同ABO血型的临床结果。有必要进一步研究ABO抗原、抗体与HFRS感染和严重程度之间的机制联系，及其对控制当前流行病的影响。

（西安医学院第一附属医院检验科 徐璞 李卓 编译）

表1 不同性别和ABO血型的HFRS感染概率

	男性				女性				合计			
	A	B ⁺	O	AB ⁺	A	B	O	AB	A	B ⁺	O	AB ⁺
对照组	60 (27.65%)	70 (32.26%)	65 (29.95%)	22 (10.14%)	55 (35.26%)	57 (36.54%)	33 (21.15%)	11 (7.05%)	115 (30.83%)	127 (34.5%)	98 (26.27%)	33 (8.85%)
病例组	28 (30.77%)	16 (17.58%)	28 (30.77%)	19 (20.88%)	11 (44.0%)	4 (16.00%)	6 (24.00%)	4 (16.00%)	39 (33.62%)	20 (17.24%)	34 (29.31%)	23 (19.83%)
OR	1.163	0.448	1.039	2.339	1.443	0.331	1.177	2.511	1.136	0.404	1.164	2.548
95% CI	0.681~1.987	0.243~0.825	0.611~1.768	1.196~4.574	0.613~3.394	0.108~1.012	0.435~3.184	0.732~8.611	0.729~1.771	0.238~0.684	0.733~1.846	1.427~4.549
P值	0.580	0.009	0.887	0.011	0.399	0.044	0.748	0.132	0.572	0.001	0.520	0.001

注：OR，优势比；CI，置信区间；* $P<0.05$ 被认为具有显著性差异。

上接第7版

FOXA1 高表达与较差的总体生存率显著相关（ $P=0.043$, Bonf $P=1.000$ ）。

为了研究 *FOXA1* 对人结肠癌细胞的影响，用 sh-FoxA1 或 sh-NC 载体转染具有较高 *FOXA1* 内源性表达的 SW480 和 HCT116。MTT 测定所示，*FOXA1* 敲低显著降低了 SW480 和 HCT116 细胞的增殖，两种细胞系的增殖率均降低了 50%（ $P<0.01$, 图 2A）。此外，*FOXA1* 敲低显著降低了 SW480 和 HCT116 细胞的克隆形成能力（ $P<0.01$, 图 2B）。通过流式细胞术检查和量化细胞周期分布，研究者发现，*FOXA1* 敲低后，HCT116 和 SW480 细胞中的 G2/M 期细胞比例显著增加，S 期细胞数量显著减少（ $P<0.05$, 图 2C）。

研究者接下来使用 Transwell 测定研究了 *FOXA1* 对人结肠癌细胞迁移和侵袭的调节作用。结果显示，*FOXA1* 敲低显著抑制 HCT116 和 SW480 细胞迁移（ $P<0.01$, 图 2D），HCT116 细胞中的抑制率超过 50%。*FOXA1* 敲低也显著抑制

了 HCT116 和 SW480 细胞的侵袭能力（ $P<0.01$, 图 2E），其对 HCT116 细胞迁移和侵袭的抑制率高于 SW480 细胞。

为了评估 *FOXA1* 表达是否可以通过甲基化调节，研究者使用 MethHC 数据库检查了 CRC 组织和配对健康组织之间 *FOXA1* 的表达和甲基化数

据。与配对的健康组织相比，*FOXA1* 在结肠癌组织和直肠癌组织中均显著下调（ P 均 <0.01 ）。此外，*FOXA1* 甲基化的程度与结肠癌中 *FOXA1* 的表达呈负相关（ $P=0.03$ ）。研究者还证明，与 CD133⁺ 结肠癌干细胞相比，CD133⁻ 结肠癌细胞中的 *FOXA1* 显著下调

（ $P=0.04$ ）。

为了阐明 *FOXA1* 的基本机制，研究者使用了 TCGA 数据集探索基因共表达，发现 Akt 与 *FOXA1* 共表达。因此，研究者通过 RT-qPCR 和 Western blotting 研究了磷酸酶和张力蛋白同源物（PTEN）/Akt 通路。结果显示 sh-FoxA1

转染的 HCT116 和 SW480 细胞中的 PTEN mRNA 和蛋白质表达明显高于 sh-NC 组（ $P<0.05$ vs sh-NC）。同时，与 sh-NC 组相比，*FOXA1* 敲低显著降低了 HCT116 和 SW480 细胞中 Akt mRNA 的表达和 Akt 磷酸化。

EMT 在结肠癌的进展中起着至关重要的作用。为了评估 *FOXA1* 敲低对 EMT 的影响，研究者使用 RT-qPCR 和 Western blotting 检测上皮和间充质标志物的表达。与 sh-NC 组相比，HCT116 和 SW480 细胞中 E-cadherin 的表达显著上调，而 *FOXA1* 敲低后，N-cadherin 和波形蛋白的表达显著降低（ $P<0.01$ vs. sh-NC）。这些发现表明敲低 *FOXA1* 对结肠癌细胞中的 EMT 具有抑制作用。

综上所述，该研究结果表明，*FOXA1* 在结肠癌的肿瘤发生和发展中起致癌基因的作用。需要进一步的实验来阐明其在结肠癌进展中的作用，并阐明其在体内外的潜在机制。

（西安医学院第一附属医院检验科 张娜 李卓 编译）

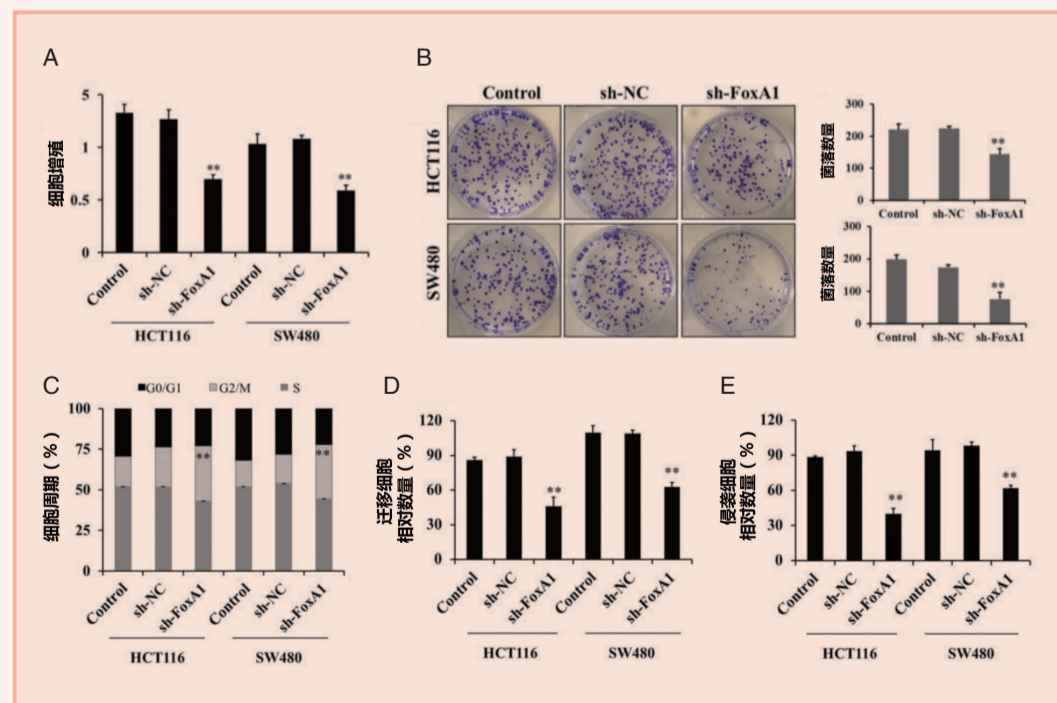


图2 *FOXA1* 对 HCT116 和 SW480 增殖和细胞周期、侵袭和迁移能力的影响