

乳腺癌和 20 例健康对照的血清标本进行验证,发现该模型的灵敏度为 95.7%,特异度为 95.0%,有望将来用于乳腺癌的实验室诊断。本研究的局限性主要是样本量比较少而且缺乏动态检测,因此未来将收集更多的系列标本以进一步验证该模型的诊断效能。此外,应用生物信息学预测的蛋白也有待用测序方法进行最终鉴定。

参考文献

[1] Gøtzsche PC, Nielsen M. Screening for breast cancer with mammography[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006 (4):CD001877.

[2] Chandler KB, Brnakova Z, Sanda M, et al. Site-specific glycan microheterogeneity of inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4[J]. *J Proteome Res*, 2014, 13(7):3314-3329.

[3] Mathelin C, Cromer A, Wendling C, et al. Serum biomarkers for detection of breast cancers; A prospective study [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 96(1):83-90.

[4] Gast MC, Van Gils CH, Wessels LF, et al. Serum protein profiling for diagnosis of breast cancer using SELDI-TOF MS[J]. *Oncol Rep*, 2009, 22(1):205-213.

[5] Mohamed E, Abdul-Rahman PS, Doustjalali SR, et al. Lectin-based electrophoretic analysis of the expression of the 35 kDa inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 fragment in sera of patients with five different malignancies[J]. *Electrophoresis*, 2008, 29(12):2645-2650.

[6] van den Broek I, Sparidans RW, van Winden AW, et al. The absolute quantification of eight inter- $\alpha$ -trypsin inhibitor heavy chain 4 (ITI4)-derived peptides in serum from breast cancer patients[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2010, 4(12):931-939.

[7] Opstal-van Winden AW, Krop EJ, Kåredal MH, et al. Searching for early breast cancer biomarkers by serum protein profiling of pre-diagnostic serum; a nested case-control study[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:381.

[8] Pichler M, Hutterer GC, Stojakovic T, et al. High plasma fibrinogen level represents an independent negative prognostic factor regarding cancer-specific, metastasis-free, as well as overall survival in a European cohort of non-metastatic renal cell carcinoma patients[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(5):1123-1129.

[9] Seebacher V, Polterauer S, Grimm C, et al. The prognostic value of plasma fibrinogen levels in patients with endometrial cancer; a multi-centre trial[J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(6):952-956.

[10] Sun ZQ, Han XN, Wang HJ, et al. Prognostic significance of preoperative fibrinogen in patients with colon cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(26):8583-8591.

[11] Krenn-Pilko S, Langsenlehner U, Stojakovic T, et al. An elevated preoperative plasma fibrinogen level is associated with poor disease-specific and overall survival in breast cancer patients[J]. *Breast*, 2015, 24(5):667-672.

[12] Shi Q, Harris LN, Lu X, et al. Declining plasma fibrinogen alpha fragment identifies HER2-positive breast cancer patients and reverts to normal levels after surgery[J]. *J Proteome Res*, 2006, 5(11):2947-2955.

[13] Di Matteo A, Franceschini M, Chiarella S, et al. Molecules that target nucleophosmin for cancer treatment; an update [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(28):44821-44840.

[14] Vydra J, Selicharová I, Smutná K, et al. Two-dimensional electrophoretic comparison of metastatic and non-metastatic human breast tumors using in vitro cultured epithelial cells derived from the cancer tissues[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8:107.

[15] Karhemo PR, Rivinoja A, Lundin J, et al. An extensive tumor array analysis supports tumor suppressive role for nucleophosmin in breast cancer[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(2):1004-1014.

(收稿日期:2017-01-03 修回日期:2017-03-19)

• 临床探讨 •

## 多重 PCR 检测鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因及其临床意义\*

王江元, 卢念红, 王子浔, 艾清<sup>△</sup>

(吉林大学第一医院二部检验科, 长春 130031)

**摘要:**目的 探索多重聚合酶链反应(PCR)检测鲍曼不动杆菌多种耐药基因的方法,并指导临床用药。方法 用多重 PCR 检测鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因,并统计分析 82 例鲍曼不动杆菌耐药基因与相应抗生素的关联,比对耐药基因检出率及抗生素耐药率对应情况。结果 多重 PCR 检测鲍曼不动杆菌灵敏性高、稳定性强;可尽早、快速、高效地指导临床用药。结论 多重 PCR 可以同时检测鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因,并及时、高效地指导临床用药,有效治疗感染,控制医院内感染。

**关键词:**鲍曼不动杆菌; 多重聚合酶链反应; 院内感染; 耐药基因; 药敏试验

**DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.12.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)12-1779-04**

鲍曼不动杆菌是不动杆菌中最常见的临床感染菌,属于条件致病菌,不仅广泛存在于自然界的水、土壤和医院环境,还存在于人体皮肤、呼吸道、消化道和泌尿生殖道中。近年来该菌

感染率在上升及耐药性日益严重,已成为是全球重要的医院获得性病原菌,引起医疗工作者的高度重视<sup>[1]</sup>。鲍曼不动杆菌主要引起呼吸道感染,但也可引发继发性脑膜炎、败血症、泌尿系

\* 基金项目:吉林大学第一医院二部科研专项基金(A10)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: aiqing@jlu.edu.cn.

感染等,发病科室以重症监护病房(ICU)最高<sup>[2]</sup>,呼吸科次之。临床治疗中普遍的不规范或滥用抗生素,致使鲍曼不动杆菌极易对抗菌药物耐药,从而导致鲍曼不动杆菌临床耐药性明显增加。多重耐药鲍曼不动杆菌(MDRAB)已在全球多地暴发流行,对卫生健康体系造成极大的威胁,且鲍曼不动杆菌极易对各种消毒剂和抗菌药物产生多重耐药和泛耐药。因此,鲍曼不动杆菌的治疗一直是临床上的难题,对重症患者、ICU 患者等威胁更大,严重影响患者的身体健康和预后效果。

本文主要研究多重聚合酶链反应(PCR)同时检测鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因的实验条件、灵敏性及其与相应抗生素的关联。最终达到尽早、快速、高效地指导临床使用抗生素,有效治疗感染,控制院内感染。

## 1 材料与与方法

### 1.1 菌株与试剂

**1.1.1 菌株** 实验菌株均为于 2012—2014 年吉林大学第一医院二部临床分离的鲍曼不动杆菌。标本分离自血液、尿液、脓液、分泌物、脑脊液等无菌体液,且排除同一患者感染。标本由传统微生物鉴定与自动仪器鉴定均明确为鲍曼不动杆菌。

**1.1.2 试剂与仪器** 2×Multiplex PCR 扩增试剂盒(生工生物工程股份有限公司),细菌基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司),引物(生工生物工程股份有限公司),梯度 PCR 仪 T 100(美国 Bio-Rad 公司),紫外凝胶成像系统(英国 UVITEC 公司),立式超低温保存箱(DW-86L388A)(青岛海尔特种电器有限公司),HDL 生物安全柜(BSC-1360II B2)(北京华联哈尔滨公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 鲍曼不动杆菌 DNA 提取** 将-80℃保存的菌株取出,接种到哥伦比亚血平板内,复苏 24 h 后,传代于麦康凯培养基,隔夜培养后取 2~3 个纯菌落,根据细菌基因组 DNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司)使用说明书,提取鲍曼不动杆菌基因组,并于-20℃保存,备用。

### 1.2.2 单一 PCR 检测鲍曼不动杆菌耐药基因

**1.2.2.1 单一 PCR 检测耐药基因反应体系** DNA 模板 2 μL,上游引物(10 μmol/L)1 μL,下游引物(10 μmol/L)1 μL,2×PCR Master Mix 25 μL(生工生物工程股份有限公司),无菌双蒸水加至 50 μL。

**1.2.2.2 PCR 反应循环参数** PCR 反应循环参数:95℃预变性 5 min,95℃变性,退火,72℃延伸,30 个循环后 72℃延伸 7 min,4℃停止。将扩增产物加于 1.5%琼脂糖凝胶,100 V 恒定电压,电泳 30 min,用 UVITEC 紫外凝胶成像系统观察条带。

### 1.2.3 多重 PCR 检测鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因

**1.2.3.1 多重 PCR 引物复合物配制** 本研究多重 PCR 检测鲍曼不动杆菌的 6 种耐药基因分别为与碳青霉烯类抗生素相关的 blaOXA-23 和 blaOXA-51,与氨基糖苷类抗生素相关的 aac(6′)-I、ant(3′′)-I;与耐药基因扩散相关的 int11,以及外膜孔蛋白 CarO。引物复合物配制方法为从 6 对引物的母液(100 μmol/L)内分别取 1 μL 的 blaOXA-23、CarO 和 int11;0.8 μL 的 aac(6′)-I 和 ant(3′′)-I;0.5 μL 的 blaOXA-51,加入到 38 μL 的无菌双蒸水内,配制成 blaOXA-23、CarO 和 int11 为 2 μmol/L;aac(6′)-I 和 ant(3′′)-I 为 1.6 μmol/L;blaOXA-51 为 1 μmol/L 的引物复合物。

**1.2.3.2 多重 PCR 反应体系** 用 2×Multiplex PCR 扩增试剂盒(生工生物工程股份有限公司)对提取的模板 DNA 进行多重 PCR。其反应体系:2×Multiplex PCR Master Mix 12.5

μL,引物复合物 1.25 μL,模板 0.5 μL(100~500 ng),HS Taq DNA 聚合酶 5 U/μL 0.5 μL,无菌双蒸水加至 25 μL。

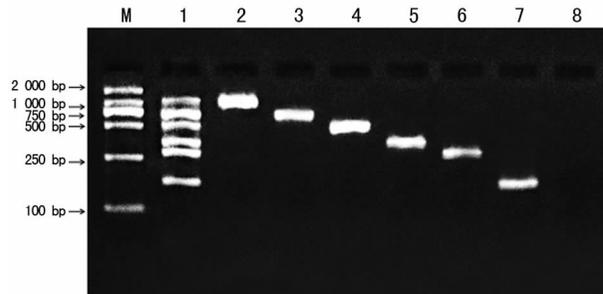
**1.2.3.3 多重 PCR 反应循环参数** 95℃预变性 10 min,95℃变性 30 s,58℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,30 个循环后,72℃延伸 10 min,4℃停止。将扩增产物加于 3%琼脂糖凝胶,100 V 恒定电压,电泳 30 min,用 UVITEC 紫外凝胶成像系统观察条带。

**1.2.4 鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因与抗生素的关联** 由凤凰鉴定/药敏仪器(phoenix™ 100)(美国 BD 公司)对试验菌株做药敏试验,头孢哌酮/舒巴坦(SCF)用 K-B 法。本文主要研究亚胺培南(IPM)、美罗培南(MEM)、阿米卡星(AN)、庆大霉素(GM)4 种抗生素耐药情况与相应的耐药基因比对,为指导临床用药提供参考。

## 2 结果

### 2.1 多重 PCR 检测耐药基因结果

**2.1.1 多重 PCR 与单一 PCR 检测耐药基因** 用多重 PCR 检测 6 种耐药基因均包含的菌株,并用单一 PCR 分别检测同一菌株 6 种耐药基因,将 7 种扩增产物置于同一组电泳(3%琼脂糖凝胶)内。6 种耐药基因的多重 PCR 与其单重 PCR 扩增产物条带一一对应,见图 1。



注:M 为 Marker;1 泳道为多重 PCR 同时检测 6 种耐药基因,自上而下为 blaOXA-23(1058bp)、CarO(683)、aac(6′)-I(490)、blaOXA-51(353)、ant(3′′)-I(284)、int11(160);2~7 泳道为 6 种耐药基因的单重 PCR 扩增产物,依次为 blaOXA-23(1 058 bp)、CarO(683)、aac(6′)-I(490)、blaOXA-51(353)、ant(3′′)-I(284)、int11(160)。

图 1 多重 PCR 与单一 PCR 检测 6 种耐药基因结果

**2.1.2 多重 PCR 检测 47 株鲍曼不动杆菌耐药基因** 用多重 PCR 检测包含不同数量耐药基因的鲍曼不动杆菌 47 株,并与 47 株鲍曼不动杆菌的 6 种耐药基因的单重 PCR 对比,两种 PCR 方式检测 6 种耐药基因耐药结果均相符,部分菌株的多重 PCR 电泳图见图 2。

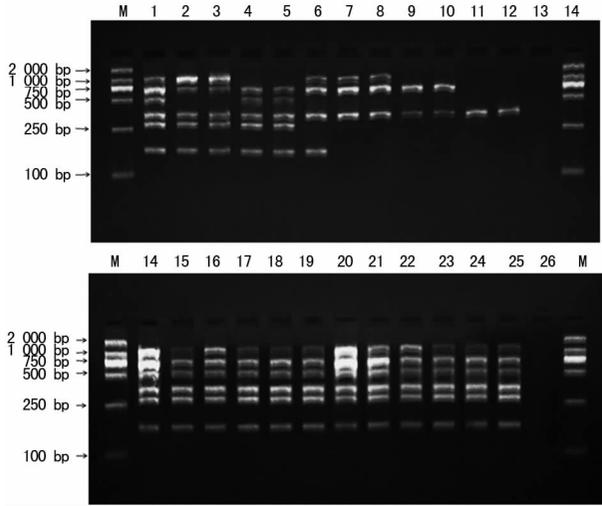
### 2.2 耐药基因与抗生素的关联 统计分析本院 82 例鲍曼不动杆菌药敏及与 6 种耐药基因的关系。

**2.2.1 碳青霉烯类相关的耐药基因与抗生素关联情况** blaOXA-51 检出率为 100.0%,blaOXA-23 检出率为 52.4%,与 IPM 的 58.5%和 MEM 的 59.8%相近;且 blaOXA-23 阳性菌株中 IPM、MEM 耐药率都达 97.7%,见表 1。在 47 株对 IPM 和 MEM 均耐药的菌株中,耐药基因 blaOXA-23 阳性为 42 株,以药敏为判断标准则基因诊断诊断率为 89.4%;且有 1 株 blaOXA-23 阳性菌株对 IPM 和 MEM 均敏感。

**2.2.2 氨基糖苷类相关的耐药基因与抗生素关联情况** GM 的耐药率为 82.9%,高于 AN 耐药率(67.0%);ant(3′′)-I(阳性率 65.9%)的检出率与 AN 耐药率(67.0%)相近;且 aac(6′)-I 和 ant(3′′)-I 双阳性的菌株中 AN 与 GM 均耐药率达 93.5%;只 ant(3′′)-I 阳性时,AN 与 GM 都耐药率达 90.7%,见表 2。在 55 株对 AN 和 GM 均耐药的菌株中,aac(6′)-I 和

ant(3'')-I 阳性菌株为 49 株,以药敏为判断标准则基因诊断诊断率为 89.1%;4 株含耐药基因,对 AN 敏感;1 株含耐药基因,对 AN 和 GM 均敏感。

**2.2.3 CarO 为外膜蛋白可增加抗生素耐药性** intI1 为整合子,阳性率为 73.2%,可参与耐药基因获得、播散。



注: M 为 Marker;1、14~25 泳道为 6 种基因均含的菌株检测结果;2~3 泳道为含有 blaOXA-23,CarO,blaOXA-51,ant(3'')-I 和 intI1 的菌株检测结果;4~5 泳道为含有 CarO,aac(6')-I,blaOXA-51,ant(3'')-I 和 intI1 的菌株检测结果;6 泳道为含有 blaOXA-23,CarO,blaOXA-51 和 intI1 的菌株检测结果;7~8 泳道为含有 blaOXA-23,CarO 和 blaOXA-51 的菌株检测结果;9~10 泳道为含有 CarO 和 blaOXA-51 的菌株检测结果;11~12 泳道为含 blaOXA-51 的菌株检测结果;13、26 泳道为阴性对照,没加模板的多重 PCR 反应产物。

**图 2 多重 PCR 检测含不同数量耐药基因的鲍曼不动杆菌**

**表 1 blaOXA-23 与 IPM 和 MEM 耐药的关联[n(%)]**

blaOXA-23	n	IPM 耐药	MEM 耐药	IPM 和 MEM 均耐药
+	43	42(97.67)	42(97.67)	42(97.67)
-	39	6(15.38)	7(17.94)	5(12.82)

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

**表 2 aac(6')-I,ant(3'')-I 与 AN 和 GM 耐药的关联[n(%)]**

基因	n	AN 耐药	GM 耐药	AN 和 GM 均耐药
ant(3'')-I+	54	49(90.74)	53(98.14)	49(90.74)
aac(6')-I+	46	43(93.48)	45(97.83)	43(93.48)
aac(6')-I,ant(3'')-I+	46	43(93.48)	45(97.83)	43(93.48)

注: + 表示阳性。

### 3 讨论

#### 3.1 鲍曼不动杆菌 6 种耐药基因临床意义

**3.1.1 碳青霉烯 D 类酶耐药基因** β-内酰胺酶 D 类酶对碳青霉烯类抗生素耐药作用明显,其对鲍曼不动杆菌的治疗方案有很大影响。在本试验中选择的 blaOXA-51 和 blaOXA-23 两种 D 类耐药基因,其中 blaOXA-51 检出率为 100.0%,与 Khorsi 等<sup>[3]</sup>的研究一致。blaOXA-23 在世界多地的耐药基因检测中均为主要耐药基因,许多亚洲的国家已有相似的报道<sup>[4]</sup>;而且,中国很多地区在对鲍曼不动杆菌耐药基因分布的研究中,报道 blaOXA-23 是最流行的碳青霉烯 D 类酶<sup>[3,5-6]</sup>。在本文中,blaOXA-23 检出率为 52.4%,与 IPM 的 58.5% 和 MEM 的

59.8% 相近(表 2),且 blaOXA-23 阳性菌株中 IPM、MEM 耐药率都达 97.7%,可推测 blaOXA-23 是 IPM 和 MEM 耐药的主要相关基因,即如果 blaOXA-23 的基因检测为阳性,则在临床用药时则更倾向于选择敏感性更好的治疗方案,如:替加环素或抗生素联合治疗。而在 47 株对 IPM 和 MEM 均耐药的菌株中,耐药基因 blaOXA-23 阴性为 5 株,推测此 5 株菌株可能含其他碳青霉烯类耐药基因,或含有外排系统,或缺失相应的外膜通道蛋白而引起 IMP 和 MEM 耐药。

**3.1.2 氨基糖苷类耐药基因** 氨基糖苷类抗生素主要用于需氧革兰阴性杆菌所致的感染性疾病、败血症及其他类型的化脓性感染,对革兰阴性菌有很好的杀菌作用,是革兰阴性菌感染的常用药<sup>[7]</sup>。其耐药主要为产生糖苷修饰酶,尤其是两种耐药基因同时存在时,耐药性更明显;与之相比,由 16s rRNA 甲基化酶引起的耐药程度较低<sup>[8]</sup>。因此,本试验选择了两种氨基糖苷类抗生素耐药基因,它们分别为属于氨基糖苷类乙酰基转移酶(AACs)的 aac(6')-I 和属于氨基糖苷类核苷转移酶(ANTs)的 ant(3'')-I 基因。在本实验中 GM 的耐药率为 82.9%,高于 AN 耐药率(67.0%),ant(3'')-I (阳性率 65.9%)的检出率与 AN 耐药率(67.0%)相近,且 aac(6')-I 和 ant(3'')-I 双阳性的菌株中 AN 与 GM 均耐药率达 93.5%;只 ant(3'')-I 阳性时,AN 与 GM 都耐药率达 90.7%。可推测,当 ant(3'')-I 和(或) aac(6')-I 阳性时,为了临床可以有效地治疗,可以排除性使用 AN、GM 等氨基糖苷类抗生素。在 55 株对 AN 和 GM 均耐药的菌株中,aac(6')-I 和 ant(3'')-I 阴性菌株为 6 株,其中含其他氨基糖苷类抗生素耐药基因,含有外排系统,缺失相应的外膜通道蛋白均可引起 AN 和 GM 的耐药。4 株含耐药基因,对 AN 敏感,对 GM 耐药,其原因可能为 AN 对许多肠道革兰阴性杆菌所产生的氨基糖苷类钝化酶稳定,不会为此类酶钝化而失去抗菌活性;1 株含耐药基因,对 AN 和 GM 均敏感,推测为耐药基因未有效表达,不能使抗生素失活。

**3.1.3 整合子与外膜孔蛋白** 整合子对鲍曼不动杆菌变为多重耐药细菌有很大的促成作用<sup>[9]</sup>,B 类碳青霉烯酶类耐药基因也可有整合子携带<sup>[10]</sup>。在本文中 intI1 阳性率为 73.2%,仅仅低于 OXA51(100.0%),可以推测,intI1 可能参与耐药基因的播散,为鲍曼不动杆菌变为多重耐药或泛耐药提供基因条件,可辅助判断耐药基因的流行情况,预测耐药基因的播散情况,进而控制院内感染。外膜孔蛋白是存在于革兰阴性菌外膜脂质双层结构上通道的跨膜蛋白,是一种外膜蛋白。CarO 蛋白是 carbapenem-associated resistance Omp 的简称,是与碳青霉烯类抗生素耐药相关的外膜孔蛋白。CarO 的丢失与变异与鲍曼不动杆菌的多重耐药有密切联系,尤其与 IPM 与 MEM 的耐药性有关<sup>[11]</sup>。

**3.2 多重 PCR 评价** 本实验中多重 PCR 用于检测鲍曼不动杆菌的 blaOXA-23,CarO,aac(6')-I,blaOXA-51,ant(3'')-I 和 intI1 耐药基因。多重 PCR 试剂中的 DNA 聚合酶,为热启动 DNA 聚合酶,在 94 ℃ 环境中持续 4 min 时才可以被激活,恢复聚合酶的活性,开启聚合酶链式反应。多重 PCR 引物复合物的设计应遵循以下原则:引物应具有特异性,与核酸序列数据库的其他序列无明显同源性,碱基要随机分布;引物自身不应存在互补结构,不能有连续 4 个碱基的互补,减少发夹结构的形成;引物间亦不应有互补性,尤其要避免 3' 端的互补重叠,最后 5 个碱基内不能有多于 2 个的 G 或 C;各个引物间 Tm 值越相近越好。此外,为了减少引物的错配和引物二聚体形成,在操作多重 PCR 试验过程中应注意:(1)引物复合物配置时间不宜过久,应现配现用;(2)多重 PCR 反应体系的配制应在冰

上进行,且最后加 Taq 酶;(3)PCR 结束后,产物不能在室温条件下放置时间过长;(4)也可通过适当增加 PCR 循环次数减少引物错配。因此,可保证多重 PCR 的稳定性,减少非特异性配对,减少二聚体发生。引物在本试验中,多重 PCR 可以扩增出与传统单重 PCR 一致的特异条带(图 1);47 株鲍曼不动杆菌通过用多重 PCR 检测,亦与传统单独的 PCR 扩增产物结果一致(图 2)。

此外,多重 PCR 除了上述的稳定性和灵敏性外,还具有一定的灵活性。其表现在随着研究的推进,此方法可以根据引物的退火温度、目的基因的长度及目的基因的临床意义,向引物复合物内加入检出率更高、与药敏关联更清晰的目的基因引物,也可以去除鲍曼不动杆菌中检出率低或临床意义不明确的耐药基因。

综上所述,可同时检测 blaOXA-23, CarO, aac(6′)-I, blaOXA-51, ant(3′)-I 和 int11 的多重 PCR 不仅灵敏度高、稳定性强还有较好的灵活性。此外,6 种耐药基因与细菌耐药有清晰的对应关系,可及早、高效地据此指导临床用药,控制医院内感染。

参考文献

[1] Munoz-Price LS, Weinstein RA. acinetobacter infection [J]. N Engl J Med, 2008, 358(12): 1271-1281.  
 [2] Maragakis LL, Perl TM. Acinetobacter baumannii: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options [J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(8): 1254-1263.  
 [3] Khorsi K, Messai Y, Hamidi M, et al. High prevalence of multidrug-resistance in Acinetobacter baumannii and dissemination of carbapenemase-encoding genes blaOXA-23-like, blaOXA-24-like and blaNDM-1 in Algiers hospitals [J]. Asian Pac J Trop Med, 2015, 8(6): 438-446.  
 [4] Azimi L, Lari AR, Talebi M, et al. Comparison between phenotypic and PCR for detection of OXA-23 type and

metallo-beta-lactamases producer Acinetobacter spp [J]. GMS Hyg Infect Control, 2013, 8(2): Doc16.

[5] Hou C, Yang F. Drug-resistant gene of blaOXA-23, blaOXA-24, blaOXA-51 and blaOXA-58 in Acinetobacter baumannii [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(8): 13859-13863.  
 [6] Ji S, Chen Y, Ruan Z, et al. Prevalence of carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase genes in Acinetobacter spp. isolates in China [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2014, 33(6): 989-997.  
 [7] Solomennyi A, Goncharov A, Zueva L. Extensively drug-resistant Acinetobacter baumannii belonging to the international clonal lineage I in a Russian burn intensive care unit [J]. Int J Antimicrob Agents, 2015, 45(5): 525-528.  
 [8] Wen JT, Zhou Y, Yang L, et al. Multidrug-resistant genes of aminoglycoside-modifying enzymes and 16S rRNA methylases in Acinetobacter baumannii strains [J]. Genet Mol Res, 2014, 13(2): 3842-3849.  
 [9] Chang-Tai Z, Yang L, Zhong-Yi H, et al. High frequency of integrons related to drug-resistance in clinical isolates of Acinetobacter baumannii [J]. Indian J Med Microbiol, 2011, 29(2): 118-123.  
 [10] Bedenic B, Plecko V, Sardelic S, et al. Carbapenemases in gram-negative bacteria: laboratory detection and clinical significance [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 841951.  
 [11] Yang H, Huang L, Barnie PA, et al. Characterization and distribution of drug resistance associated beta-lactamase, membrane porin and efflux pump genes in MDR A. baumannii isolated from Zhenjiang, China [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(9): 15393-15402.

(收稿日期:2017-02-02 修回日期:2017-04-18)

• 临床探讨 •

职业性慢性苯中毒患者血小板线粒体基因组 9bp 序列基因多态性研究\*

王佃鹏, 杨祥丽, 曾亚楠, 李培茂, 张志敏, 林大枫, 杜晓倩, 张艳芳<sup>△</sup>, 黄先青

(广东省深圳市职业病防治院 518001)

**摘要:**目的 探索轻度苯中毒者血小板线粒体基因 9 个碱基(9bp)序列基因多态性变化规律。方法 选取 27 例轻度苯中毒者作为病例组, 40 例健康检验者作为对照组。抽取其肘部静脉血, 乙二胺四乙酸抗凝, 分离纯化血小板然后进行血小板计数并提取脱氧核糖核酸, 聚合酶链式反应扩增线粒体基因, 测序并分析其基因 9bp 基因多态性频率。结果 轻度苯中毒者血小板线粒体基因 9bp 的删除基因型频率(33.3%)高于对照组(10.0%), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.090, P = 0.024$ ), OR 值(95%CI)为 4.5 (1.21~16.62)。结论 说明线粒体基因组 9bp 序列删除基因型可能是苯中毒的风险基因之一, 携带删除基因型的个体苯中毒发生风险增高。

**关键词:** 苯中毒; 线粒体; 基因多态性

**DOI:** 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.12.037 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)12-1782-03

近年来, 苯及苯系物中毒病例报道逐年上升, 苯中毒后致白血病死亡病例也逐年上升, 危害非常严重。苯主要致病机制

存在争论, 之前大量的研究发现苯中毒主要是中间活性代谢产物作用于线粒体通过氧化损伤引起的<sup>[1]</sup>。有研究表明慢性苯

\* 基金项目: 广东省深圳市卫生计生系统科研项目(201607059); 广东省深圳市科技计划项目(JCYJ20160429090813380)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 1392343151139@139.com。