

- like element carrying the metallo beta-lactamase gene bla IMP[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(7): 1612-1615.
- [8] Rowe-Magnus DA, Guerout AM, Mazel D. Super-integron [J]. Res Microbiol, 1999, 150(9, 10): 641-651.
- [9] Stokes HW, Gorman DB, Recchia GD, et al. Structure and function of 59-base element recombine sites associated with mobile gene cassettes[J]. Mol Microbiol, 1997, 26(4): 731-745.
- [10] Recchia GD, Hall RM. Origins of the mobile gene cassettes found in integrons[J]. Trends Microbiol, 1997, 5(10): 389-394.
- [11] 顾兵, 童明庆. 整合子与细菌耐药[J]. 临床检验杂志, 2005, 23(3): 226-229.
- [12] Partidge SR, Recchia GD, Scararnuzzi C, et al. Site-specific deletion and rearrangement of integron insert genes catalyzed by the integron-DNA integrase [J]. Microbiol, 2000, 146(11): 2855-2864.
- [13] Johannes GM, Jeroen S, Madelon WV, et al. Identification of epidemic strains of Acinetobacter baumannii by integrase gene PCR[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(1): 8-12.
- [14] Gomac F, Ricco ML, Rossolin GM, et al. Molecular characterization of integrons epidemiologically unrelated clinical isolates of Acinetobacter baumannii from Italian hospitals reveals of a limited diversity of gene cassette arrays[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(11): 3665-3668.
- [15] Ruiz J, Navia MM, Casals C, et al. integron-mediated antibiotic multiresistance in Acinetobacter, baumannii clinical isolates from Spain[J]. Clin Microbiol Infect, 2003, 9(9): 907-911.
- [16] Zarrilli R, Crispine M, Bagattini M, et al. Molecular epidemiology of sequential outbreaks of Acinetobacter baumannii in an intensive care unit shows the emergence of carbapenem resistance [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(3): 946-953.
- [17] 黄支密, 陈榆, 毛培华, 等. 鲍曼不动杆菌耐药性及 β -内酰胺酶基因型研究[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(11): 683-686.
- [18] Alejandro B, Lourdes D, Anna R, et al. Molecular characterization of the gene encoding a new Amp β Lactamase in Clinical strain of Acinetobacter genomic species[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(6): 1374-1376.
- [19] Cuenca F, Martinez L, Conejo MC, et al. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of Acinetobacter baumannii [J]. J Antimicrob Chemother, 2003, 51(3): 565-574.
- [20] Jan WR, Niels H. OXA-type carbapenemases [J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(3): 373-383.
- [21] Mussi MA, Limansky AS, Viale AM. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of Acinetobacter baumannii; natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(4): 1432-1440.
- [22] 王贺, 徐英春, 王辉, 等. 不动杆菌属菌种主动外排系统的研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1303-1305.

(收稿日期: 2012-05-03)

肺炎链球菌重组蛋白 ELISA 检测方法的研究进展*

卢杰¹, 卢珍², 何颖¹, 姜世君¹, 吕文涛¹, 吕茂利¹ (1. 黑龙江省大庆医学高等专科学校药检系, 大庆 163312; 2. 黑龙江省海林市中医院妇产科 157100)

【关键词】肺炎链球菌; 疫苗; 重组蛋白; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 23. 042 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)23-2989-02

肺炎是一种常见的呼吸道疾病, 3岁以下的婴幼儿在冬、春季节患肺炎较多, 肺炎的发病可急可缓, 一般多在上呼吸道感染数天后发病^[1]。肺炎主要是由细菌和病毒引起, 其中最主要的病原菌是肺炎球菌, 也称肺炎链球菌。它是社区获得性呼吸道感染的一种重要病原微生物, 也是引起细菌感染性疾病的主要致病菌, 通过咳嗽、打喷嚏、说话时释放的飞沫传染给其他人。研究表明疫苗免疫是预防肺炎链球菌的有效方法^[2]。

1 肺炎链球菌疫苗研究进展

1.1 传统疫苗 目前使用的肺炎链球菌疫苗主要有多糖荚膜疫苗、荚膜-蛋白质结合疫苗等。因为造成侵袭性肺炎链球菌感染的病原 90% 具有荚膜多糖, 所以多糖荚膜疫苗对所覆盖血清型的肺炎链球菌感染具有一定的保护作用。但多糖疫苗覆盖的血清型有限而且不是 T 淋巴细胞依赖性, 对免疫系统发育不完善的 2 岁以下幼儿和老年人的保护性弱; 荚膜-蛋白

质结合疫苗 PCV7, 对 2 岁以下幼儿的免疫效能明显增强, 使结合疫苗覆盖血清型肺炎链球菌在鼻咽部的携带率下降, 但结合疫苗存在荚膜血清型转换和载体携带的荚膜多糖血清型数量有限, 生产成本很高, 且在肺炎高发人群中的保护作用小^[3]。

1.2 基因工程疫苗 传统的疫苗没有为抵抗链球菌导致的肺炎提供显著的保护力^[4]。基因工程疫苗是分子生物学发展的产物, 被称为是一种理想、纯净的疫苗, 与传统疫苗相比, 更安全可靠。研究人员也在积极地研制肺炎链球菌基因工程疫苗。

1.2.1 蛋白质疫苗 蛋白质疫苗又称肽疫苗, 是类似于抗原决定簇的小肽(约 20~40 个氨基酸), 将其连在一个蛋白载体上, 以增加稳定性, 同时也可提高免疫原性^[5]。一般来说单独的抗原决定簇的免疫原性较弱, 所以通常要与载体偶联, 或以融合蛋白的形式进行免疫, 还可以与细胞因子一起作用, 以提高免疫原性。蛋白质疫苗生产成本低, 能够大规模使用, 而且

* 基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目资助(编号: 12515110)。

对各年龄组的人群均能产生保护作用,并诱发免疫记忆,应用高保守的蛋白质疫苗接种,可以产生非血清型依赖的保护作用。国内外研究人员也在积极地研制肺炎链球菌基因蛋白疫苗,提高疫苗的免疫原性。马千里^[6]通过动物实验证实了肺炎链球菌毒力蛋白 PsaA、PspA 及 Ply 在经自然途径的肺炎链球菌感染作为具有良好免疫原性的肺炎链球菌菌体成分,可作为新一代肺炎链球菌疫苗的理想候选抗原。有研究发现 Ply、ClpP 和 Lpl 都可有效保护肺炎链球菌的感染这 3 种蛋白联合免疫对多种血清型的肺炎链球菌感染都有保护效应,从而为肺炎链球菌联合多肽疫苗的研制提供的新思路^[7]。

1.2.2 核酸疫苗 核酸疫苗又名基因疫苗或 DNA 疫苗,是一种或多种抗原编码基因克隆到真核表达载体上,将构建的重组质粒直接注入到体内而激活机体免疫系统,因此也有人称为 DNA 免疫。1995 年,世界卫生组织在日内瓦召开国际会议,将其统一命名为核酸疫苗。它所合成的抗原蛋白类似于亚单位疫苗,区别只在于核酸疫苗的抗原蛋白是在免疫对象体内产生的。随着肺炎链球菌蛋白疫苗的研究开发,相应的 DNA 疫苗也开始受到学者的关注。DNA 疫苗免疫应答持久,免疫效果可靠,安全性好,适于大批量生产;分子很稳定,可制成 DNA 疫苗冻干苗,便于运输和保存;使用 DNA 疫苗不用加佐剂,既降低成本又方便使用^[6]。近几年国外已针对肺炎链球菌相关毒力蛋白的 DNA 疫苗开展了试验性研究,虽然 DNA 疫苗亦存在免疫原性差,抗原呈递效率低下,所激发的体液免疫特异性抗体效价不如蛋白疫苗等不足,但是针对肺炎链球菌毒力株的攻击经实验证实其免疫保护效能与蛋白疫苗相当。

2 肺炎链球菌间接 ELISA 方法研究进展

2.1 肺炎链球菌间接 ELISA 抗原研究进展 肺炎链球菌有 3 种抗原,荚膜多糖抗原及菌体抗原(包括 C 多糖和 M 蛋白两种)^[8]。此外肺炎链球菌可产生自溶素、肺炎球菌溶血素、神经氨酸酶,以及细胞表面蛋白 A、表面黏附蛋白 A、胆碱结合蛋白等,在感染过程中均有一定的致病作用。研究表明,用肺炎链球菌蛋白作 ELISA 抗原可以获得满意的结果。

肺炎链球菌表面蛋白 A 属于 ABC 型转运蛋白复合物^[9],是肺炎链球菌重要的毒力因子,在抗肺炎链球菌侵入性感染比抗黏膜性疾病作用更强^[10];溶血素是一种含有巯基的毒素,具有直接溶解细胞和活化补体的功能,在肺炎链球菌引起炎症反应时起着重要的作用;用从肺炎链球菌表面提取的胆碱结合蛋白混合物免疫小鼠,发现其免疫血清能够被动保护小鼠免于发生脓血症^[11];肺炎链球菌表面黏附素 A 在肺炎链球菌黏附、自溶以及毒力方面都起作用;热休克蛋白对于肺炎链球菌在宿主内定植和生存是必需的,用热休克蛋白免疫小鼠能够产生保护作用,并能抵抗致死量肺炎链球菌的攻击^[10]。

2.2 肺炎链球菌 ELISA 检测方法研究进展 ELISA 的基础是抗原或抗体的固相化及抗原或抗体的酶标记^[12]。在测定时,受检标本与固相载体表面的抗原或抗体起反应。用洗涤的

方法使固相载体上形成的抗原抗体复合物与液体中的其他物质分开。再加入酶标记的抗原或抗体,也通过反应而结合在固相载体上。此时固相上的酶量与标本中受检物质的量呈一定的比例。加入酶反应的底物后,底物被酶催化成为有色产物,产物的量与标本中受检物质的量直接相关,故可根据呈色的深浅进行定性或定量分析。由于酶的催化率很高,故可极大地放大反应效果,从而使测定方法达到很高的敏感度。现在用于检测肺炎链球菌免疫效果的方法很多,ELISA 检测是现有检测体液免疫方法中灵敏度高、快速、特异、操作简便的一种诊断方法^[13-14]。

参考文献

- [1] 罗金柱,周义正,邱晓燕. 161 株肺炎链球菌的分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(20): 2515-2516.
- [2] 李迟佳,王亚亭. 侵袭性肺炎链球菌疾病的研究进展实用[J]. 儿科临床杂志, 2010, 25(10): 776-778.
- [3] 蒲江. 肺炎链球菌及其疫苗研究[J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(3): 381-382.
- [4] 李娜. 肺炎链球菌疫苗免疫效应及研究进展[J]. 儿科药理学杂志, 2009, 15(1): 49-52.
- [5] 王雨辰,董寿堂. 基因工程疫苗的研究进展[J]. 科技创新导报, 2011, 10: 3-4.
- [6] 马千里,张巧,姚伟,等. 肺炎链球菌毒力蛋白 DNA 疫苗优势抗原组合筛选及鉴定[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(10): 922-925.
- [7] 张巧,林科雄,马千里,等. 肺炎链球菌溶菌酶作为肺炎链球菌多价核酸疫苗候选抗原的保护效能评价[J]. 重庆医科大学学报, 2010, 35(5): 711-715.
- [8] 吴元元. 肺炎链球菌 C 多糖的研究现状[J]. 微生物学免疫学进展, 2011, 39(1): 66-70.
- [9] 陈炯,刘恩梅. 肺炎链球菌疫苗研究进展[J]. 儿科药理学杂志, 2007, 13(4): 68-70.
- [10] 唐玉龙. 肺炎球菌表面黏附素 A 和表面膜蛋白 A 的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(11): 1368-1372.
- [11] 章德广,王正敏,徐江红. 肺炎链球菌表面黏附素 A 的原核表达和抗原性分析[J]. 中国耳鼻咽喉科杂志, 2009, 9(1): 20-22.
- [12] 张巧. 肺炎链球菌毒力蛋白基因工程疫苗的实验研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2010.
- [13] 刘旸,葛长荣. 酶联免疫吸附法在检测中的应用[J]. 农产品加工, 2007, 6(1): 27-28.
- [14] 何斌. 肺炎链球菌性肺炎诊断方法研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2005, 33(4): 69-71.

(收稿日期:2012-04-13)

视黄醇结合蛋白 4 与相关疾病的研究进展

连 莲 综述,刘 丽 审校(内蒙古自治区乌海市人民医院检验科 016000)

【关键词】 视黄醇结合蛋白 4; 脂肪细胞因子; 研究进展

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.043 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)23-2990-03

视黄醇结合蛋白 4(RBP4)属于视黄醇结合蛋白(RBP)家族中的分泌型 RBP,主要由肝细胞和脂肪细胞分泌,在协助视

黄醇发挥生理功能中起着不可替代的作用。同时,RBP4 作为一种新型的脂肪细胞因子除了参与胰岛素抵抗及糖尿病的发