

免疫比浊法测定,试剂为原装配套试剂,严格按照说明书操作。空腹采血和胸腔穿刺术采集胸腔积液注入 109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝管,充分混匀,3 000 r/min 离心 10 min,2 h 内检测完毕。

1.3 统计学处理 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数的显著性比较采用 *t* 检验,进行统计学处理。

2 结 果

2.1 两组患者 Fib 和 D-二聚体水平 恶性组患者血浆、胸水 Fib 和 D-二聚体与良性胸水组比较均增高,且差异有非常显著性($P<0.01$),见表 1。

表 1 两组患者血浆、胸水 Fid 和 D-二聚体水平				
组别	血浆 Fib (g/L)	胸水 Fib (g/L)	血浆 D-二聚体 (mg/L)	胸水 D-二聚体 (mg/L)
良性组	2.46±0.75	3.78±0.79	0.27±0.07	12.42±2.27
恶性组	5.81±1.02	7.08±1.05	2.57±0.87	56.75±3.41

3 讨 论

肺癌是恶性胸水的首位原因,占恶性胸水的 36.3%。约有 15% 的患者在首次就诊时已出现胸腔积液、随着病情发展,约 50% 的患者也会出现^[3]。恶性肿瘤可引起机体的凝血机制、纤溶机制异常,造成肿瘤患者出现血栓性及出血性并发症,肺癌作为常见的恶性肿瘤之一,其血栓性并发症的发病率为健康人群的 20 倍^[4]。D-二聚体是交联纤维蛋白降解产物之一,为继发性纤溶的特有代谢产物,为原发性与继发性纤溶鉴别诊断的可靠指标^[5]。D-二聚体在多种疾病如:心脑血管病、肺部疾患、恶性肿瘤等均可升高^[6]。近年来,D-二聚体检测引起国内外医学专家的广泛关注,王明山等^[7]报道 75 例肺癌患者 D-二聚体水平较正常人显著升高。Fib 是凝血功能的一项重要指标,是肝脏合成的一种糖蛋白。近几年研究显示,Fib 及其降解产物在恶性肿瘤患者时增高^[8]。有研究结果表明,可凝固性纤维蛋白原在肺癌患者中显著增高,且肺癌组与肺部良性疾病相比差异也有显著性,表明晚期肺癌和肺部良性疾病患者纤

• 经验交流 •

维蛋白原水平及功能增高^[9],尤其晚期肺癌患者增高显著,存在高凝状态,有利于癌转移。

本实验结果表明,肺癌患者胸腔积液中的 Fib 和 D-二聚体水平比血浆水平高,提示胸水检查时此两项可作为其诊断的重要指标^[10]。肺癌患者 Fib 和 D-二聚体水平均升高且与肿瘤的转移、治疗密切相关。说明肺癌患者的血液流变学明显改变,易发生转移,病情重、预后差。

综上所述,对肺癌患者联合进行血浆、胸水 Fib 和 D-二聚体含量检测,对于诊断疾病及预后评估均具有十分重要的临床价值。

参考文献

[1] 潘倩雄.纤维蛋白原、vWF 及 D-二聚体与肺癌关系的临床研究[J].检验医学与临床,2010,4.

[2] 田应选,杨松盈,南岩东.血清标志物在肺癌早期诊断中的应用现状及研究发展[J].国际呼吸杂志,2007,27(20):1570-1572.

[3] 宇文玲.胸腔积液纤维蛋白原和 D 二聚体检测及其在肺癌诊治中的临床应用.第八届河北省肿瘤学术大会,2012.

[4] 陈灏珠.实用内科学.第 12 版.人民卫生出版社[M],2005,1525-1544.

[5] 谭齐贤,张数平.临床血液学和血液检验学[M],人民卫生出版社,2006,294.

[6] 张海晨,沈博,宋云霄,等.850 例脑血管病 D-二聚体、FBG 和 APTT 水平差异及临床意义.中国实用医学研究杂志[J].2005,4(2):149-151.

[7] 王明山,陈晓东,陈少贤.肺癌患者血小板功能及血浆 D-二聚体的测定[J].临床检验杂志,1997,15(4):224-226.

[8] 朱武凌,范秉琳.肝癌患者高纤维蛋白原血症及其原因分析[J].中华血液学杂志,2004,25(3):180.

[9] 李丹,曾波航.晚期肺癌和肺部良性疾病患者血浆纤维蛋白原水平与功能的研究[J].血栓与止血学,2001,7(1):25-27.

[10] 刘泽林,何石林等.血栓性疾病的诊断与治疗[M].北京:人民卫生出版社,2000,478.

(收稿日期:2012-12-19)

吐温-80 对白色念珠菌芽管形成作用的观察

陶永平

(湖北省襄阳职业技术学院医学院,湖北襄阳 441021)

摘 要:目的 观察吐温-80 在 3 种不同的白色念珠菌芽管诱导液(RPMI1640 培养基、新生牛血清、含 10% 新生牛血清的 RPMI1640 培养基)中对芽管形成率的影响,为临床进行体外芽管形成试验提供一定的参考资料。方法 采用诱导液振荡恒温培养法。结果 3 种不同的芽管诱导液分别加入 10 μL、100 μL 吐温-80 中,RPMI1640 培养基中芽管形成率分别为 41%、71%,差异有统计学意义($\chi^2=18.26,P<0.05$),两个试验组与对照组的差异均有统计学意义($\chi^2_{低}=15.34,P_{低}<0.05$; $\chi^2_{高}=61.54,P_{高}<0.05$)。新生牛血清中形成率分别为 32%、35%,差异无统计学意义($\chi^2=0.20,P>0.05$),含 10% 新生牛血清的 RPMI1640 培养基中形成率分别为 56%、82%,差异有统计学意义($\chi^2=15.80,P<0.05$);其中加入 10 μL 吐温-80 的 RPMI1640 培养基及含 10% 新生牛血清的 RPMI1640 培养基与无吐温对照组的芽管形成率差异有统计学意义($P<0.05$),新生牛血清与无吐温对照组的芽管形成率差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 在 RPMI1640 培养基、含 10% 新生牛血清的 RPMI1640 培养基中加入 1% 和 10% 的吐温-80 均可提高白色念珠菌的芽管形成率,吐温-80 浓度为 10% 时效果最为显著。

关键词:念珠菌,白色; 芽管; 吐温

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.063 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2013)14-1901-03

白色念珠菌(Candina albicans),又称白假丝酵母菌,在自然界分布广泛,是一种重要的条件致病菌,存在于人的口腔、上呼吸道、肠道和阴道等部位,当机体免疫力下降或发生菌群

失调时,可引起白色念珠菌感染。白色念珠菌种类鉴别方法颇多,芽管试验^[1]是其简便易行的鉴定方法之一,鉴定时间短且无需特殊设备。通常认为芽管可以提高白色念珠菌的组织侵

袭性和黏附力,并且该菌由酵母相转变为菌丝相的过程中形成芽管,是由定植菌向致病菌转变的标志。体外诱导白色念珠菌芽管的影响因素主要有菌种来源、培养条件、营养物质、诱导液成份等。本试验采用 3 种不同的芽管诱导液,分别观察加入适量吐温-80 后对于芽管形成率的影响,为临床开展白色念珠菌体外芽管试验提供一定的参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 白色念珠菌 (ACTT 10231)、热带念珠菌 (ATCC 750)由襄阳市中心医院提供。

1.1.2 试剂 (1)沙保弱琼脂培养基:由杭州天和微生物试剂有限公司提供。(2)YPD 液体培养基:由实验室自配。(3)RPMI1640 培养基:美国 Invitrogen 公司产品。(4)新生牛血清:杭州江滨科技生物有限公司产品,已 56 ℃ 30 min 灭活。(5)吐温-80:天津化学试剂有限公司产品。

1.2 实验方法 3 种不同的芽管诱导液分别是 RPMI1640 培养基、新生牛血清、RPMI1640 (含 10%新生牛血清)培养基。试验根据吐温-80 的加入量,设低浓度、高浓度两个试验组和一个对照组。每组先将不同种诱导液各取 1 mL 分别加入 3 支无菌试管,低浓度组的各管加入 10 μL 吐温-80,高浓度组的各管加入 100 μL 吐温-80,对照组的 3 支试管均不加入吐温-80。将白色念珠菌 (ACTT 10231)接种于沙保弱琼脂培养基,置 37 ℃ 培养 12 h 复苏后,转种于 YPD 液体培养基中 37 ℃ 孵育 48 h,3 000 r/min 离心 15 min,弃去上清,以无菌生理盐水洗涤 3 次,将沉淀以无菌去离子水重新混悬,分别接种于低浓度和高浓度试验组以及对照组的各支试管中,并利用血细胞计数板调整诱导液中孢子浓度约为 5×10⁶/mL。另取热带念珠菌 (ATCC750)同法操作。将所有试管置 37 ℃ 振荡 (200 r/min)培养 150 min 后取样滴于载玻片上,加盖玻片直接置显微镜 (x400)下观察 100 个孢子中形成芽管的孢子数,计算芽管形成率。

1.3 统计学处理 实验结果采用 SPSS 13.0 进行统计学处理,以 P<0.05 判定为差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 白色念珠菌在含有 10%吐温-80 及 10%新生牛血清的 RPMI1640 培养基诱导液中芽管形成率最高,在含有 10%吐温-80 但不含新生牛血清的 RPMI1640 培养基诱导液中芽管形成率次之,新生牛血清诱导液中芽管形成率最低。不同组别的 RPMI1640 培养基、新生牛血清、RPMI1640 (含 10%新生牛血清)培养基中芽管形成率,见表 1。

表 1 不同组别 RPMI1640 培养基、新生牛血清、RPMI1640 培养基中芽管形成率

组别	1640 培养基	新生牛血清	1640 培养基 (含 10%新生牛血清)
低浓度组 (10 μL 吐温-80)	41%	32%	56%
高浓度组 (100 μL 吐温-80)	71%	35%	82%
对照组 (无吐温-80)	16%	37%	33%

2.2 RPMI1640 (无新生牛血清)培养基中芽管形成率的比较 低浓度组与高浓度组 RPMI1640 (无新生牛血清)培养基中芽管形成率的差异有统计学意义 ($\chi^2=18.26, P<0.05$),两个试验组与对照组的差异均有统计学意义 ($\chi^2_{低}=15.34, P_{低}<0.05; \chi^2_{高}=61.54, P_{高}<0.05$)。

2.3 新生牛血清中芽管形成率的比较 低浓度组与高浓度组新生牛血清中芽管形成率的差异无统计学意义 ($\chi^2=0.20, P>0.05$),两个试验组与对照组的差异均无统计学意义 ($\chi^2_{低}=0.55, P_{低}>0.05; \chi^2_{高}=0.09, P_{高}>0.05$)。

2.4 RPMI1640 (含 10%新生牛血清)培养基中芽管形成率的比较 低浓度组与高浓度组 RPMI1640 (含 10%新生牛血清)培养基中芽管形成率的差异有统计学意义 ($\chi^2=15.80, P<0.05$),两个试验组与对照组的差异均有统计学意义 ($\chi^2_{低}=10.71, P_{低}<0.05; \chi^2_{高}=49.13, P_{高}<0.05$)。

2.5 加入吐温-80 后对芽管特异性的影响 在接种热带念珠菌的低浓度和高浓度试验组及对照组的各管中,经过 37 ℃ 振荡培养 150 min 后,各管均无芽管产生,说明在以上 3 种诱导液中加入 1%或 10%的吐温-80 不会诱导出非特异性芽管。

3 讨论

临床上进行白色念珠菌体外芽管试验时,通常使用新鲜人血清作为诱导液^[1],但人血清具有潜在传染性,可能会对频繁进行试验的医务工作者造成危害。也有报道证实白色念珠菌感染者血清中存有芽管抗体等抑制芽管生成的物质,使得人血清芽管试验的转化率偏低。因此亦有实验室使用新生牛血清、液体培养基或牛乳等替代人血清进行芽管试验。新生牛血清含有多种生长因子和激素可以促进细胞生长;所含的清蛋白、球蛋白等蛋白质,既可以作为营养物质,又可以中止胰酶的作用^[1];另外还有一些微量离子可参与辅酶作用。RPMI1640 培养基则含有丰富的氨基酸及钠、钙、钾、镁等离子,可以提供真菌的生长需要的充足氮源、碳源以及合适的 pH 值。RPMI1640 培养基中加入 10%左右的新生牛血清常用于悬浮细胞或贴壁细胞的培养。吐温-80 为非离子型表面活性剂,亲水性强,应用广泛,常被用作乳化剂及封闭剂。

芽管形成的原因复杂,目前已经发现的有血清因子诱导的 cAMP-Efg1 通路^[2-3]和微缺氧环境下的 CZFI 通路^[4]以及碳、氮源饥饿环境诱导的 MAPK-Cph1 通路^[5]等。将吐温-80 加入到 RPMI1640 培养基后,一方面作为 O/W 型乳化剂能够降低 RPMI1640 培养基的表面张力,使芽管在诱导液中更易于展伸,另一方面也可能产生封闭作用而影响缺氧环境下的 CZFI 通路,诱导白色念珠菌芽管的生长。在纯血清中,白色念珠菌主要是通过血清因子诱导的 cAMP-Efg1 通路形成芽管,因此吐温-80 的乳化和封闭作用对其并无明显影响。本次实验结果也显示,当采用 RPMI1640 培养基或含 10%新生牛血清的 RPMI1640 培养基作为诱导液时,加入适量的吐温-80 可以明显提高白色念珠菌的芽管形成率,并且加入吐温-80 亦不会诱导出非特异性芽管。因此临床上采用 RPMI1640 培养基或含 10%新生牛血清的 RPMI1640 培养基替代人血清进行体外芽管试验时,可在 RPMI1640 培养基中加入 10%的吐温-80 促进芽管形成,使得试验结果更容易观察而提高检出率,以满足临床快速诊断的需要,值得探究与推广。

参考文献

[1] 吴绍熙. 现代医学真菌检验手册[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998:154-155.
[2] 宋红英,高丽美,顾春燕,等. 牛血清蛋白含量的高低对细胞生长的影响[J]. 浙江省医学科学院学报,2005,62(9):37-38.
[3] Stoldt VR, Sonneborn A, Leuker CE, et al. Efg1p, an essential regulator of morphogenesis of the human pathogen *Candida albicans*, is a member of a conserved class of bHLH proteins regulating

morphogenetic processes in fungi[J]. EMBO, 1997, 16(8):1982-1991.

[4] Angela DG, Marcelo V, Carol AK. Invasive Filamentous Growth of Candida albicans Is Promoted by Czf1p-Dependent Relief of Efg1p-Mediated Repression[J]. Genetics, 2002, 160(4):1749-53.

[5] Csank C, Schroppel K, Leberer E, et al. Roles of the candida albicans mitogen-activated protein kinase homolog, cek1p, in hyphal development and systemic candidiasis[J]. Infect Immun, 1998, 66(6):2713-21.

(收稿日期:2012-11-11)

• 经验交流 •

高血压患者检测血浆同型半胱氨酸与颈总动脉内膜中层厚度的意义

巧力翻·阿尔斯兰¹, 林耀望²

(1. 新疆喀什地区第一人民医院干部综合内科, 新疆喀什 844000;
2. 南方医科大学广东省人民医院心研所, 广东广州 510100)

摘要:目的 探讨检测血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平与颈总动脉内膜中层厚度(intimal-medial wall thickness, IMT)指标在判别高血压患者动脉粥样硬化发生程度的意义。方法 选 100 例收缩压/舒张压大于或等于 140/90 的高血压患者为高血压组, 同期选择健康体检者 80 例为对照组, 检测所有研究对象血浆中 Hcy 水平, 应用颈动脉多普勒彩色超声检查颈动脉内膜中层厚度。结果 高血压组患者血浆 Hcy 水平, IMT 均显著高于对照组, 差异有统计学意义($t=15.345, t=9.452$, 均 $P<0.05$), 且患者的 Hcy 水平与 IMT 呈正相关($r=0.885, P<0.05$)。结论 高血压患者联合检测血浆同型半胱氨酸水平与颈总动脉内膜中层厚度可判别动脉粥样硬化发生程度。

关键词: 半胱氨酸; 内膜中层厚度; 高血压; 冠状动脉疾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.064 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2013)14-1903-02

近年来,对高血压的发病危险因素进行早期干预日益受到重视。血浆同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)水平被认为是高血压发病的敏感指标,与动脉粥样硬化的发生也有一定的联系^[1]。Hcy 水平与颈总动脉内膜中层厚度指标在判别高血压患者动脉粥样硬化发生程度的报道较少。本研究对临床相关病例做了一些观察分析,得到了比较满意的结果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1 月至 2012 年 12 月本院心脑血管病房收入院患者 100 例,男 52 例,女 48 例,平均年龄(58.9±10.09),所有病例根据 1999 年世界卫生组织/国际高血压联盟(WHO/ISH)血压鉴别标准入组^[2]。同时选择本院体检的健康者 80 例为对照组,男 42 例,女 38 例,平均年龄(58.5±9.66)岁。两组比较无显著性差别($t=0.0098, P>0.05$)。

1.2 Hcy 测定 所有研究对象均于清晨空腹抽取肘静脉血,3 500 rpm 离心获取血浆, Hcy 检测采用酶法在日立 7600 全自动生化分析仪器上进行。

1.3 颈部动脉彩超 颈动脉超声检测动脉内膜是否光滑,有无斑块存在,双侧颈总动脉内膜中层厚度(IMT),确定有无斑块及管腔狭窄,每处测定 3 次取均值,IMT<1.0 mm 为正常,1.0 mm<IMT<1.5 mm 为增厚,≥1.5 mm 并突入管腔为动脉硬化斑块形成。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计量资料采用卡方检验, $P<0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组和高血压组 Hcy 水平、IMT 和颈动脉斑块形成病例数的比较 对照组 Hcy 水平、IMT 和颈动脉斑块形成病例数,这 3 个指标均比高血压组低,两组相比差别有统计学意义($t=18.125, t=13.923, \chi^2=32.092$, 均 $P<0.05$),见表 1。

2.2 有斑块组与无斑块组 Hcy 水平和 IMT 比较 高血压患者中依据颈动脉斑块形成情况分为有斑块组和无斑块组,有斑

块组的 Hcy 水平和 IMT 均高于无斑块组,且两组比较差别有统计学意义($t=8.663, t=6.321, P<0.05$),见表 2。

表 1 组间 Hcy 水平、IMT 和颈动脉斑块形成及病例数的比较		
分组	对照组($n=80$)	高血压组($n=100$)
Hcy($\mu\text{mol/L}$)	5.12±0.55	26.32±7.09
颈动脉内膜中层厚度(IMT)mm	1.04±0.12	1.58±0.56
颈动脉斑块形成病例数(个)	0	87

表 2 有斑块组与无斑块组 Hcy 水平和 IMT 比较		
分组	斑块组($n=87$)	无斑块组($n=13$)
Hcy($\mu\text{mol/L}$)	24.56±3.23	13.12±2.77
颈动脉内膜中层厚度(IMT)mm	1.67±0.13	1.05±0.09

2.3 直线相关分析 直线相关分析显示血 Hcy 水平与 IMT 呈正相关($Y=0.0011X+0.0925, r=0.885, P<0.05$)。

3 讨论

近年来,国内外众多学者均认为血中 Hcy 含量升高已成为动脉粥样硬化等心血管疾病发生的一个独立危险因素,遂成为基础医学和临床医学研究的这点问题^[3]。有学者报道 Hcy 升高并发高血压,能让脑卒中的发生风险达到正常健康人群的 12 倍^[4]。可见 Hcy 的含量是导致高血压发生的罪魁祸首之一。动脉粥样硬化包括颈总动脉内膜中层厚度,斑块的形成和动脉的狭窄^[5]。而在其发生、发展过程中最早累及的是动脉内膜。颈动脉是颅内的主要供血血管,其病变是高血压主要的病因和病理基础。本研究发现高血压患者 Hcy 含量高低与 IMT 发生程度有一致的表型。且高血压有无斑块与 Hcy 的水平相对应,即高血压动脉粥样硬化程度高低可通过患者的 Hcy 水平反映,IMT 和 Hcy 的关联性很好。

引发 Hcy 增高的因素很多,如患者大量饮用咖啡可影响维生素及叶酸吸收,引起血浆 Hcy 的浓度升高;高动物蛋白和