

3 讨 论

探讨适合我国结核病疫情的细菌学检查方法,早期发现传染源,规范治疗避免耐药性和减少疫情传播极为重要。

结核分枝杆菌培养法作为结核病诊断的“金标准”,传统罗氏培养法 3~8 周才能得到结果,Bactec 960 培养法等液体培养基营养丰富,可使用仪器进行连续监测,平均报告阳性时间为 13 d,具有自动化和高灵敏度优点^[4]。

本研究结果表明,涂片抗酸染色法阳性率为 14.8%,改良罗氏培养法 24.0%,固液双相培养法为 35.7%,Bactec 960 培养法为 40.3%。固液双相培养法与涂片抗酸染色法、改良罗氏培养法比较,差异有统计意义($P<0.05$),与 Bactec 960 培养法比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。固液双相培养基采用固液双相一体化统计,其营养丰富,可减少污染,提高阳性率,孔雀绿可进一步避免杂菌污染,分离纯化获得单个菌落,对结核分枝杆菌有促进生长的作用。培养阳性菌落直观明白,省去抗酸染色步骤,减少工作量,为结核分枝杆菌药敏试验奠定基础,Bactec 960 培养阳性管中结核分枝杆菌形成条索状^[5]。7H9 培养管培养基对菌液浓度配制时浊度影响,使细菌浓度较难控制,影响药敏试验中细菌接种量,造成药物敏感试验结果不准确。

改良罗氏培养法平均报告阳性时间 21.5 d,固液双相培养法液相平均时间 13.2 d,固相平均时间 16.4 d,Bactec 960 培养法 11.8 d。结核分枝杆菌生长缓慢:(1)标本经酸或碱处理后直接接种至培养基,至少需 2~3 d 培养基才能缓冲酸碱,达到 pH 7.2 左右,而本组固液双相培养基接种 pH 6.8 PBS 消化混合液后,减少培养基缓冲时间^[6]。(2)细菌在固体培养基不能有效吸收营养成分而导致细菌对数生长期延长,改良罗氏培养基接种后需倾斜,平放斜面 24 h 以便细菌充分接触培养基,细菌在双相培养基内可使细菌浸泡在营养成分中以利于新陈代谢,对数生长期提前,省去改良罗氏培养基平卧放置斜面的操作,操作简便快捷。液体培养基阳性标本呈絮状沉淀生成,难以鉴别杂菌污染,而固液双相培养基生长的菌落则呈典型菜花状,易于判断。刃天青是一种氧化还原指示剂,在氧化状态呈紫蓝色,且在还原状态下呈粉红色或红色还原产物。通过培养结核分枝杆菌还原刃天青盐从而判断细菌是否生长^[7]。

• 临床研究 •

冠心病患者血清脂蛋白相关磷脂酶 A2、超敏 C 反应蛋白等指标变化分析

李玉艳,梁琳琳,张照亮,高 卉
(天津医科大学总医院滨海医院检验科 300480)

摘要:目的 探讨冠心病(CHD)患者血清脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)等炎症指标变化的评估价值。**方法** 选取该院心内科 CHD 患者 124 例,其中心肌梗死(AMI)组患者 42 例,稳定型心绞痛(SAP)组患者 36 例,不稳定型心绞痛(UA)组患者 46 例,同时收集 120 例健康体检者作为健康对照组。采用酶动力学法对全部研究对象的血清 Lp-PLA2 进行检测,并检测外周血白细胞计数(WBC),白细胞介素-18(IL-18)、hs-CRP。**结果** CHD 患者血清 Lp-PLA2、IL-18、hs-CRP 水平明显高于健康对照者,差异有统计学意义($P<0.05$);且 Lp-PLA2、IL-18 及 WBC 之间呈正相关。**结论** Lp-PLA2 可能会协同其他炎症因子在动脉粥样硬化的炎症反应中产生协调作用,是 CHD 新型炎症标志物。

关键词:冠心病; 脂蛋白相关磷脂酶 A2; 白细胞介素-18; 超敏 C 反应蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.043 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)19-2757-03

多种危险因素的多重作用引起动脉粥样硬化产生。通常情况下冠心病(CHD)患者存在 1 个或多个危险因素,其中炎

该方法显色剂用量少,不需仪器,比较方便,可快速检测液相中是否有结核菌生长。实际应用中加入刃天青试剂后一般需要过夜培养。张朝宝等^[8]研究 XTT/mpms 试剂只需继续培养 4 h,且 XTT/mpms 和 TH9 培养基 37℃恒温培养时间至少在 7 d 内保持相对稳定,其工作浓度对分枝杆菌具有低细胞毒性。

综上所述,固液双相培养法操作简便,试剂成本低,阳性率高,不需特殊仪器,阳性平均时间比改良罗氏培养法提前 1 周,便于综合医院和基层医院检测结核分枝杆菌,具有一定的临床价值。

参考文献

- [1] 王宇. 全国第五次结核病流行病学抽样调查资料汇编[M]. 北京:军事医学科学出版社,2011:17-47.
- [2] 赵雁井,王黎霞,成诗明,等. 分枝杆菌分离培养标准化操作程序及质量保证手册[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:31-32.
- [3] 赵雁林,绛宇. 结核病实验室检验规程[M]. 北京:人民卫生出版社,2015:32-39.
- [4] Li HM, Xue QW, Wang W, et al. New BACTEC MGIT960 automatic rapid mycobacterial culture and identification instrument and its application[J]. Mod Sci Instr, 2000, 28(2): 61-62.
- [5] 黄明翔,张丽水,陈新朝,等. 胶体金法结合涂片形态学特征快速鉴别结核分枝杆菌复合群的应用评价[J]. 中国防痨杂志,2012,34(12):830-834.
- [6] 赵大力,韩中波,周亚丽. 结核分枝杆菌固液双相培养基的研究[J]. 中国实验诊断学,2011,12(8):2088-2089.
- [7] 王敏,付光宇,罗江卫. 刃天青显色法检测结核分枝杆菌的耐药性[J]. 检验医学与临床,2012,9(13):1587-1590.
- [8] 张朝宝,马俊,温子禄,等. XTT/mcpMS 混合先色素应用于检验分枝杆菌药物筛选的性能评估[J]. 临床检验杂志,2013,31(5):344-348.

(收稿日期:2016-03-12 修回日期:2016-05-17)

性已被认为是导致动脉粥样硬化发生、发展的关键因素,多种炎症因子参与造成斑块的产生、发展和最终破裂^[1]。有研究发

现脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)是一种和 CHD 密切相关的新炎性标志物,且在动脉粥样硬化中直接参与,可对冠状动脉事件进行独立预测^[2-3]。现探讨 Lp-PLA2、白细胞介素-18(IL-18)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)与炎性指标的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取该院 2013 年 5 月至 2014 年 5 月心内科接收并治疗的 CHD 住院患者(观察组),男 65 例,女 59 例,年龄 35~78 岁,平均年龄(61.2±12.5)岁;其中心肌梗死(AMI)组患者 42 例,稳定型心绞痛(SAP)组患者 36 例,不稳定型心绞痛(UAP)组患者 46 例。收集同一时期该院健康体检者 120 例作为健康对照组,2 组研究对象的年龄、性别等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。均接受心电图、超声心动图、胸片和肝肾功能等检查。排除标准:瓣膜性心脏病、心房纤颤、肿瘤、血液、急性及慢性疾病;经期、发热、免疫接种、妊娠、长期饮酒等;在抽血之前接受他汀类药物、血管紧张素转换酶抑制素、阿司匹林和肝素等药物。所有研究对象均在知情自愿条件下接受研究。

1.2 方法 所有研究对象清晨空腹抽取外周静脉血液 5 mL,1 h 内送实验室检测,3 500 r/min 离心 10 min,抽取上层血清并注入 EP 管,-40℃ 储存,待检。

1.3 检测指标 采用 ELISA 方法对 Lp-PLA2 和 IL-18 进行检测,试剂盒的生产厂家来自美国,测定步骤严格按试剂盒说明进行操作,使用 Thermo Multiskan MK3 酶标仪进行定量;应用 OlympusAU2700 全自动生化分析仪及产自芬兰公司的 hs-CRP 试剂盒进行检测,采用乳胶增强免疫投射比浊方法,操作需严格按说明书步骤进行,血细胞自动计数仪检测白细胞计数(WBC)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析,计数资料使用例数或百分率表示,组间比较应用 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较应用 F 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义;相关性分析使用 Pearson 直线分析。

2 结果

2.1 各组研究对象检测指标结果比较 CHD 各组患者 Lp-PLA2、IL-18 与健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 血清 Lp-PLA2 与其他炎性指标的相关性 双重变量直线相关性分析显示,所有研究对象血清 Lp-PLA2 与 IL-18、WBC 呈正相关关系($P<0.01$),与 hs-CRP 无相关性($P>0.05$)。见表 2。

表 1 各组研究对象检测指标结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9/L$)	hs-CRP(mg/L)	IL-18($\mu g/L$)	Lp-PLA2(mg/mL)
健康对照组	120	5.49±1.20	1.83±1.30	52.18±6.70	47.22±8.70
AMI 组	42	7.23±1.70 ^{abc}	5.14±4.20 ^{abc}	78.17±35.60 ^{ab}	72.14±9.50 ^{ab}
SAP 组	36	5.62±1.20	2.01±1.30	60.39±17.60 ^a	63.86±10.50 ^a
UA 组	46	6.20±1.50 ^{ab}	3.39±2.20 ^{ab}	77.32±34.80 ^{ab}	69.52±9.80 ^{ab}

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$;与 SAP 组比较,^b $P<0.05$;与 UA 组比较,^c $P<0.05$ 。

表 2 血清 Lp-PLA2 与其他炎性指标的相关性

项目	全部对象(<i>n</i> =164)		健康对照组(<i>n</i> =120)		SAP 组(<i>n</i> =36)		UA 组(<i>n</i> =46)		AMI 组(<i>n</i> =42)	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
WBC	0.266	<0.01	0.127	0.037	0.133	0.456	0.287	0.037	0.321	0.020
hs-CRP	0.031	0.659	0.028	0.727	0.318	0.053	0.213	0.074	0.097	0.498
IL-18	0.735	<0.01	0.216	0.005	0.243	0.057	0.645	<0.01	0.841	<0.01

3 讨论

血清 Lp-PLA2 又叫做血小板活化因子乙酰水解酶,是一种可以催化脂蛋白及细胞膜上的甘油磷脂二位酰基酯键水解后形成的非酯化脂肪酸,以及溶血磷脂的酶类,是水解磷脂酶家族中的 PLA2 的一种,相对分子质量为 50×10^3 ,是一种非 Ca^{2+} 依赖性活性磷脂酶^[4-5]。血清 Lp-PLA2 活性与血清 Lp-PLA2 浓度呈正相关关系。血小板活化因子可有效促进血小板聚集,促中性粒细胞和单核细胞的趋向化^[6]。血清 Lp-PLA2 可将炎性部位产生的促炎介质 PAF 和其产生的类脂质水解成无活性的溶血血小板活化因子,缓解炎性和血栓形成,产生抗炎及抗动脉粥样硬化的作用^[7]。同时 Lp-PLA2 可对血管内膜中的氧化卵磷脂产生水解作用,进而生成溶血卵磷脂及氧化的游离脂肪酸,后 2 种可以促进炎性发生,进而产生黏附分子和细胞因子,促进单核细胞在血管腔聚集^[8]。单核细胞在内膜中的聚集最终会衍生成为巨噬细胞,巨噬氧化型的低密度脂蛋白变为泡沫细胞,最终聚集成动脉粥样硬化斑块,将细胞因子和蛋白酶进行释放,降解纤维帽的平滑肌细胞及胶原基

质,造成斑块的脆弱和破裂,引起血栓形成和心血管疾病发生^[9]。较多研究表明血清 Lp-PLA2 可以促进 AS、CHD 患者较健康者血清 Lp-PLA2 浓度和活性均显著升高,且独立于传统危险因素和 hs-CRP,是 CHD 新的独立危险因子^[10]。但国外研究主要针对白种人,黄种人研究不多,Yang 等研究报道,无症状 CHD 早期内皮细胞的功能失调过程中 Lp-PLA2 浓度已经出现明显升高。

本研究结果表明,Lp-PLA2 浓度在 CHD 明显升高,且同健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),但 AMI 组和 UA 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示 Lp-PLA2 有可能直接参与动脉粥样化形成,是造成不稳定斑块和破裂现象引发的急性冠状动脉事件新的炎性因子,Lp-PLA2 浓度和 WBC 相关,和 IL-18 也相关,说明在协同 WBC 和 IL-18 等炎性因子作用中,Lp-PLA2 可能发挥了一定的作用。IL-18 是近年来发现的一种新的炎性因子,其与动脉粥样硬化的发生与发展存在紧密联系。CHD 患者 IL-18 和 Lp-PLA2 存在明显升高现象,证实两者在 CHD 的发生起十分关键的作用。

虽然目前对于 Lp-PLA2 作用机制还存在不同的意见,但本研究进一步证实了 Lp-PLA2 的临床作用。关于 Lp-PLA2 的具体机制还需进一步研究和证实,这对其发生和防治具有重要的临床意义,预测高风险人群更有十分重要的参考价值。

参考文献

[1] 郝丽娟,李保. 冠心病患者脂蛋白相关磷脂酶 A2 的变化及其与炎症标记物的相关性[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2010,7(4):776-778.

[2] 李明. 血清 Lp-PLA2、hs-CRP 和 D-二聚体在冠心病患者冠脉病变程度中的评估价值[J]. 重庆医学,2015,31(9):1215-1217.

[3] Jellinger PS, Smith DA, Mehta AE, et al. American Association of Clinical Endocrinologists' guide lines for management of dyslipidemia and prevention of atherosclerosis [J]. Endocr Pract, 2012, 18(Suppl 1):1-78.

[4] 谢荣章,叶伙梅. 冠心病患者血清胆固醇对脂蛋白相关磷脂酶 A2 活性水平的影响[J]. 检验医学与临床,2015,12(8):2875-2877.

[5] 熊卿圆,曾赤佳,岑锦明,等. 不同类型冠状动脉粥样硬化

• 临床研究 •

性心脏病患者血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 水平变化的临床意义[J]. 中国现代医学杂志,2015,29(2):78-82.

[6] 齐宏,黄珊,马祥生,等. 同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白及胱抑素 C 和脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性[J]. 广东医学,2014,35(14):2253-2256.

[7] 张清平,邹长进,彭焦武,等. 急性脑梗死患者血清脂蛋白相关磷脂酶 A2、超敏 C 反应蛋白及 D-二聚体水平[J]. 微循环学杂志,2013,18(1):31-32.

[8] Xu RX, Zhang Y, Li XL, et al. RelationshIL between plasma phosphol ILaseA2 concentrations and lipoprotein subfractions in patients with stable coronary artery disease [J]. Clin Chim Acta, 2015, 446(10):15-20.

[9] 黄少兴,李雪华,邱双成. 脂蛋白磷脂酶 A2 检测在心脑血管疾病中的诊断价值[J]. 赣南医学院学报,2015,35(2):287-288.

[10] 程清. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 和同型半胱氨酸水平与动脉粥样硬化性心脑血管疾病关系的研究[J]. 检验医学, 2015,20(1):40-43.

(收稿日期:2016-04-17 修回日期:2016-06-15)

弱精子症患者与正常生育者精浆差异蛋白的研究

李旺胜¹, 余 蕾²

(1. 贵州省六盘水市人民医院检验科 553401; 2. 贵州医科大学附属医院/贵州省产前诊断中心, 贵阳 553001)

摘要:目的 研究弱精子症患者精浆差异蛋白的特征。方法 选取六盘水市人民医院 2015 年 1~12 月就诊的 200 例弱精子症患者(研究组),同时收集同期已婚生育健康男性 200 例(对照组),采集所有研究对象的精液标本,采用 Percoll 技术获得精浆,酶解获得肽段,Shotgun 技术检测蛋白质成分。比较 2 组标本唯一肽段数等于 1 但肽段总数大于或等于 4、唯一肽段数大于或等于 2 的结果。结果 2 组标本唯一肽段数等于 1 但肽段总数大于或等于 4、唯一肽段数大于或等于 2 情况下,有 172 种差异蛋白,其中研究组 89 种,对照组 83 种。研究组 89 种差异蛋白有 3 种与运动相关蛋白、3 种细胞凋亡关联蛋白,分别为磷脂磷酸水解酶 1 同工型 1、凝血酶敏感素 1 前体、相对分子质量为 400×10^3 的蛋白质,另有信号转导蛋白 10 种、细胞周期蛋白 4 种、结构分子 7 种、催化活性蛋白 27 种、分子功能未知蛋白 19 种、生物进程未知蛋白 29 种、细胞成分未知蛋白 27 种。酶催化活性、信号转导蛋白是常见差异蛋白。结论 10 种差异蛋白与弱精子症紧密相关,分别为膜联蛋白 A4、蛋白 S100-A9、蛋白 S100-A11、维生素 D 结合蛋白前体、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶 η 前体、 α 辅肌动蛋白、胞质动力蛋白、相对分子质量 400×10^3 的蛋白质、白细胞介素-6 受体 β 亚单位同工型 1 前体、联蛋白 VI 同工型 2。

关键词:弱精子症; 精浆; 差异蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.044 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)19-2759-03

Shotgun 蛋白质检测技术又叫鸟枪蛋白质组学策略,该技术无需蛋白纯化步骤,可直接迅速鉴定蛋白混合标本中的蛋白质,消化作用将蛋白质处理成为多肽后,对多肽进行串联质谱测序分析,利用所得多肽波谱数据对数据进行搜索,特别算法得出肽段结构特征,从而区分蛋白质^[1]。为了解弱精子症者精液蛋白差异,现对其与健康体检者进行检测对比。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取六盘水市人民医院 2015 年 1~12 月就诊的 200 例弱精子症患者(研究组),年龄 22~39 岁,平均年龄 (29.4 ± 3.2) 岁。另选同期已婚生育健康男性 200 例(对照组),均经过全面检测显示正常,年龄 23~31 岁,平均年龄 (30.3 ± 2.3) 岁。2 组研究对象均符合入选标准:研究组精子密度大于或等于 50×10^6 /mL, a 级精子(快速前向运动)比例小

于 25%,且 a+b 级精子(前向运动)小于 50%,其余指标符合 WHO 标准。对照组精液液化时间在 30 min 内,精子计数大于或等于 20×10^6 /mL, a 级精子大于或等于 25%,或 a+b 级精子大于或等于 50%;正常形态精子比例大于或等于 15%。2 组研究对象的年龄、体质量等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法 2 组研究对象均禁欲 1 周,采集精液标本。根据 WHO 相关标准对标本黏稠度、凝集度、精子密度、液化时间、畸形率、存活率、活动度及白细胞水平、酸性磷酸酶、果糖进行检测。所有标本定量分装至 100 微克/管,混合后使用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离处理,考马斯亮蓝染色胶体标本。获得分离图谱后,将泳道以手术刀切割分为 4 段,分置于试管内,采用 100 mmol/L 的 NH_4HCO_3 /30% 的 ACN 脱色处理,清洗去除