

• 临床研究 •

寡克隆条带与脑脊液细胞学检测对神经梅毒疾病的临床诊断意义

程莎莎, 许绍强, 陈玲玲

(广东三九脑科医院医学检验中心, 广州 510510)

摘要: 目的 探讨脑脊液寡克隆条带与脑脊液细胞学对神经梅毒疾病的临床诊断意义。方法 收集 34 例神经梅毒疾病患者血清及脑脊液, 应用等电聚焦电泳技术(IEF)检测寡克隆条带, 同时利用玻片离心及瑞姬染色法进行脑脊液细胞学检测, 对其寡克隆阳性条带检出率及脑脊液细胞学结果进行分析。结果 34 例神经梅毒疾病患者中 28 例寡克隆条带阳性, 阳性率检出率为 82.4%(28/32), 脑脊液细胞学呈淋巴细胞为主的反应型(>70%), 伴少量激活淋巴细胞及单核细胞, 偶见中性粒细胞。结论 神经梅毒疾病患者脑脊液寡克隆条带检测方法较灵敏, 同时脑脊液细胞学具有特征性表现, 两者检测方法能够为临床诊断神经梅毒疾病提供依据, 具有一定的临床价值。

关键词: 神经梅毒; 脑脊液寡克隆条带; 脑脊液细胞学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.047

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)13-1857-02

神经梅毒是由苍白密螺旋体侵犯神经系统出现脑膜、大脑、血管或脊髓等损害的一组临床综合征。可发生于梅毒病程的各个阶段, 往往是因为早期梅毒未经彻底治疗, 常为晚期(Ⅲ期)梅毒全身性损害的重要表现^[1]。它常常发生于初次感染之后 10~20 年慢性或未经治疗患者^[2], 且 25%~40% 未经治疗神经梅毒患者病情会不断恶化^[3]。随着青霉素的使用, 梅毒的发生率一度下降。而自 20 世纪 70 年代后发病率有呈上升趋势, 特别是随着艾滋病和免疫力低下患者的增多, 神经梅毒患者逐渐增加。除了评估患者症状及体征, 神经梅毒的诊断方法包括: 性病研究实验室测试(VDRL)、荧光密螺旋体抗体吸收实验(FTA-ABS)、梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)、快速血浆反应素试验(RPR)以及影像学检测。虽然 VDRL 是诊断的金标准, 但其检测敏感性不够, 特别是对同时携带人类免疫缺陷病毒病毒患者会出现假阴性。目前, 虽有相关文献提到脑脊液寡克隆条带(OCB)及脑脊液细胞学在神经梅毒疾病方面存在一定特征^[4-5], 但具体对神经梅毒临床诊断的意义却未曾有关实验报道, 因此本研究将对此展开具体研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1 月至 2015 年 1 月在本院治疗的 34 例神经梅毒患者, 其中男 26 例, 女 8 例, 病程 3~20 年, 中位病程 11.5 年。所有患者符合美国 1996 年神经梅毒诊断标准:(1)有梅毒螺旋体引起的感染证据;(2)1 项梅毒血清学试验阳性, 和脑脊液 VDRL 阳性;(3)可能的病例:任何阶段的梅毒, 脑脊液 VDRL 试验阴性, 并具有下列 2 条:无其他已知原因引起的脑脊液蛋白和白细胞水平升高, 无其他已知原因所致的符合神经梅毒的临床症状和体征;(4)确诊病例:任何阶段的梅毒, 符合神经梅毒的实验室诊断标准。

1.2 方法 34 例确诊神经梅毒患者在发病期间行腰椎穿刺术, 留取脑脊液约 2~3 mL, 收集患者血清 1 mL, 进行寡克隆电泳及细胞学检测。

1.2.1 脑脊液寡克隆电泳 该检测主要采用美国 Helena 公司生产的试剂盒。先将患者血清以 300 倍的预稀释, 血清及脑脊液各 5 μ L 上样, 进行等电聚焦电泳(IEF)45 min。电泳分离蛋白之后, 进行免疫印迹法转膜 30 min。之后用 5% 的脱脂牛奶封闭膜, 轻摇 30 min。蒸馏水洗膜 3 次后, 加入 1:1 000 的过氧化氢酶标记羊抗人抗体 IgG 进行抗体孵育 30 min。接着

蒸馏水洗膜 3 次, 生理盐水洗膜 1 次, 5 min, 最后蒸馏水洗 3 次。将 25 mL 稀释后的醋酸盐缓冲液倒入盒子中, 加 5 mL 发光液和 25 μ L 30% 过氧化氢, 并立即摇匀。将膜放入此混合液中并轻轻摇匀盒子, 染色时间约 20 min。蒸馏水洗膜 3 次, 然后将膜晾干后扫描。

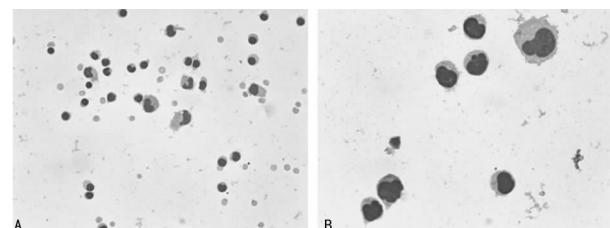
1.2.2 脑脊液细胞学 所有患者均在无菌条件下行腰椎穿刺术, 留取脑脊液 2~3 mL, 先观察颜色、透明度, 再进行脑脊液一般项目检查:脑脊液白细胞总数、pandy's 蛋白定性、蛋白定量、糖及氯化物检测。标本制片:将 0.5 mL 脑脊液滴加到黏附性玻片上, 玻片离心机 800 r/min 离心后取出玻片晾干, 进行 May-Grunwald-Giemsa (MGG) 染色。其具体方法:滴加 MGG 染色液 A 两滴, B 液 4 滴于用蜡笔圈出的标本所在圈, 用吸耳球吹匀, 静置 10 min 后, 弃染液, 蒸馏水清洗, 待完全晾干后用中性封固剂封片。最后显微镜下对标本进行分类。

1.3 OCB 判断标准 出现以下情况之一为 OCB 阳性:(1)脑脊液中 γ 球蛋白区出现 2 个或 2 个以上不连续条带而血清中不出现相应条带;(2)脑脊液与血清中均出现条带, 但脑脊液中条带数多于血清中条带数。

2 结 果

2.1 34 例患者脑脊液 OCB 检测结果 34 例神经梅毒疾病患者中 28 例 OCB 阳性, 阳性率检出率为 82.4%(28/32)。

2.2 34 例患者脑脊液细胞学结果 对患者脑脊液进行玻片离心制片并染色, 镜下观察到神经梅毒疾病脑脊液呈淋巴细胞为主的反应型, 见图 1。



注: A 为 400 倍油镜; B 为 1 000 倍油镜。

图 1 神经梅毒患者脑脊液 MGG 染色镜下细胞形态

在 34 例神经梅毒患者主要发病期观察脑脊液细胞学情况。患者脑脊液颜色、透明度分别为无色、透明占 94.1%(31/34), pandy's 蛋白定性结果为 1+, 占 76.5%(26/34), 总细胞

数在(4~912)/ μ L(平均 110/ μ L),白细胞(0~96)/ μ L(平均 27/ μ L),蛋白定量值 0.45~1.87 g/L(平均 1.00 g/L),葡萄糖为 2.49~4.38 g/L(平均 3.58 g/L),脑脊液细胞学分类呈以淋巴细胞为主反应型(>70%),伴少量激活淋巴细胞及单核细胞,偶见中性粒细胞。

3 讨 论

OCB 是指在病理情况下,电泳时于脑脊液 γ 球蛋白区域内出现 2 条以上不均匀的狭窄的不连续条带,是脑脊液内存在抗原的一种特异反应,脑脊液中 OCB 的出现往往高度提示有免疫球蛋白的鞘内合成,提示机体存在免疫功能异常^[5]。有国外学者报道,OCB 对多发性硬化症和中枢感染性疾病(包括神经梅毒)检测的阳性率比较接近。为此,本研究采用此法检测梅毒神经脑脊液中 OCB。结果显示,神经梅毒患者的脑脊液中出现多条 OCB(>4 条),且阳性率高,证实该检测方法对神经梅毒脑脊液的敏感性强。目前,对神经梅毒出现阳性条带的机制尚不明确,推测可能是因对中枢神经系统内部特殊抗原或者组织碎片的免疫反应所致。

统计数据显示,神梅毒患者脑脊液白细胞计数约为 20/ μ L,数量不高,提示患者机体对神经梅毒疾病免疫反应不明显。通过玻片离心方法,对收集得到的脑脊液细胞进行分类,呈淋巴细胞为主的反应型(>70%),伴少量激活淋巴细胞及单核细胞,偶见中性粒细胞,与细菌性脑膜炎感染脑脊液细胞学表现特征(以中性粒细胞为主)有明显差异;结合脑脊液外观无色透明,潘氏蛋白测定一般在+,总蛋白定量平均值为 1.00 g/L,糖正常等结果,可以快速帮助临床排除细菌性感染

• 临床研究 •

两台生化分析仪的可比性研究

赵颖慧

(北京市密云区疾病预防控制中心 101500)

摘要:目的 通过对比验证同一临床血清学检验室的两台生化分析系统的一致性,以确保检测结果的准确、稳定,同时对这两台生化分析仪的操作特点进行分析评估,以供使用参考。**方法** 依据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP9-A2 文件要求,以 Olympus 公司生产的 AU-400 生化分析仪作为参比系统,以日立公司生产的 7180 生化分析仪作为试验系统,同时检测 40 例患者新鲜血清的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、血糖(GLU),筛查离群值,计算相关系数(r)、决定系数(r^2)和线性回归方程,并对两生化分析系统之间的预期偏倚进行评估。**结果** 对比的所有项目在医学决定水平处的预期偏倚均可被临床接受。**结论** 通过比对两台全自动生化分析仪测定结果的一致性以及操作方法的可比性,二者都能满足临床的需要。

关键词:生化分析仪; 比对; 预期偏倚

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.048

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)13-1858-03

随着生化检测技术的成熟与发展,临床实验室常拥有多个生化检测分析系统。对本疾病预防控制机构而言,伴随着健康体检人群数量的增多,一台生化分析仪(Olympus 的 AU-400)已不能满足检测需求,所以本院又引进 1 台新型生化分析仪(日立公司生产的 7180)。为了更深入了解两种生化分析系统的操作特点及检测结果的一致性,依据美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)的 EP9-A2 文件要求,同时检测 40 例健康体检人群新鲜血清的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、血糖(GLU),并对两生化分析系统之间的预期偏倚进行评估,探讨结果的可比性和临床可接受性,现报道如下。

1 材料与方法

脑膜炎。

综上所述,脑脊液 OBC 及脑脊液细胞学在神经梅毒疾病方面有一定的特异性表现,能够弥补其他诊断方法(VDRL)的假阴性不足,可以作为临床诊断神经梅毒疾病辅助手段,值得推广应用。

参考文献

- 王维治. 神经病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 681-683.
- Bourahoui A, Seze J D, Gutierrez R, et al. CSF isoelectro-focusing in a large cohort of MS and other neurological diseases[J]. Eur J Neurol, 2004, 11(8): 525-529.
- Mehrabian S, Raycheva M, Traykova M, et al. Neurosyphilis with dementia and bilateral hippocampal atrophy on brain magnetic resonance imaging[J]. BMC Neurol, 2012, 12(1): 96.
- 连丽丽. 寡克隆区带检测在中枢神经系统疾病中的临床价值[D]. 吉林: 吉林大学, 2010.
- Olsson T, Kostulas VK, Link H. Improved detection of oligoclonal IgG in CSF by isoelectric focusing in agarose, double antibody peroxidase staining and avidin-biotin amplification[J]. Clin Chem, 1984, 30(7): 1246-1249.

(收稿日期:2016-02-09 修回日期:2016-04-17)

1.1 材料来源 采集标本为本疾控中心常规健康体检人群当日新鲜血清,其浓度选择按照 EP9-A2 文件中方法对比实验数据分布建议表要求,控制在分析方法线性范围内,包括高、中、低值标本。

1.2 仪器与试剂 两台仪器分别是 Olympus 公司的 AU-400 全自动生化分析仪和日立公司生产的 7180 生化分析仪,试剂均是上海科华生物工程有限公司生产。

1.3 质量控制 对实验室检测结果均进行质量控制,检测仪器为计量认证的全自动生化分析仪,检测试剂统一提供,室内质控品由北京利德曼生物技术公司生产,所有检测项目均参加北京市临床检验中心的生化室间质评且结果合格。