

待后续进一步研究。

参考文献

[1] BARRATT C L. Semen analysis is the cornerstone of investigation for male infertility[J]. Practitioner, 2007, 251 (1690):8-10.

[2] EVGENI E, CHARALABOPOULOS K, ASIMAKOPOULOS B, et al. Human sperm DNA fragmentation and its correlation with conventional semen parameters[J]. J Reprod Infertil, 2014, 15(1):2-14.

[3] SMIT M, DOHLE G R, HOP W C, et al. Clinical correlates of the biological variation of sperm DNA fragmentation in infertile men at tending an andrology outpatient clinic[J]. Int J Androl, 2007, 30(1):48-55.

[4] LU J C. Clinical application values and existed issues in the determination of sperm DNA damage[J]. Chin Med J, 2015, 95(1):2989-2993.

[5] AGARWAL A, SAID T M. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility[J]. Hum Reprod Update, 2003, 9(4):331-345.

[6] EVENSON D, DARZYNKIEWICZ Z, JOST L, et al. Changes in accessibility of DNA to various fluoro- chromes during spermatogenesis[J]. Cytometry, 1986, 7(1):45-53.

[7] MANESH K, PANNER S, ASHOK A. A systemic review on sperm DNA fragmentation in male factor infertility: laboratory assessment[J]. Arab J Urol, 2018, 16 (1):65-76.

[8] 谷翊群, 陈振文, 卢文红, 等. 世界卫生组织人类精液检查 • 短篇论著 •

与处理实验室手册第 5 版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010:49-54.

[9] AGARWAL A, PANNER SELVAM M K, BASKARAN S, et al. Sperm DNA damage and its impact on male reproductive health: a critical review for clinicians, reproductive professionals and researchers[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(6):443-457.

[10] 熊承良, 商学军, 刘继红. 人类精子学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013:986.

[11] 李清琴, 董荔红, 吴丹梅, 等. 1 203 例不育患者的精子 DFI 与精液质量参数的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(21):2673-2676.

[12] CROSNOEL L E, KIM E D. Impact of age on male fertility[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2013, 25(1):181-185.

[13] PETERSEN C G, MAURI A L, VAGNINI L D, et al. The effects of male age on sperm DNA damage: an evaluation of 2178 semen samples[J]. JBRA Assist Reprod, 2018, 22(4):323-330.

[14] EVENSON D, WIXON R. Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay [J]. Reprod Biomed Online, 2006, 12(4):466-472.

[15] ZINI A, BOMAN J M, BELZILE E, et al. Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: Systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod, 2008, 23(12):2663-2668.

(收稿日期:2020-04-10 修回日期:2021-01-12)

脑脊液寡克隆区带分析中镜像对称条带的临床意义*

王金玲, 王培昌[△]

首都医科大学宣武医院检验科, 北京 100053

摘要:目的 探讨寡克隆区带(OCB)电泳分析中镜像对称条带类型的临床意义。方法 选取 2015 年 1 月至 2018 年 12 月以各类神经系统疾病入住该院神经内科并且腰椎穿刺送检的脑脊液与血液样本 OCB 分析呈现镜像对称模式的 12 例患者作为研究对象, 每例患者均行血清免疫固定电泳分析 M 蛋白情况。结果 12 例覆盖 3 种不同类型的镜像对称条带。所有类型的镜像对称模式均与 M 蛋白密切相关。12 例最初以神经系统疾病收入院的患者中有 7 例被确诊为血液系统相关疾病, 且 12 例患者中无一人被诊断为多发性硬化。结论 无论何种类型的镜像对称条带的出现均提示患者血清中存在 M 蛋白的可能, 且基本可排除多发性硬化的诊断。

关键词:寡克隆区带电泳; 免疫固定电泳; M 蛋白; 镜像对称条带

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.05.025

中图法分类号:R744.52

文章编号:1673-4130(2021)05-0623-05

文献标志码:A

脑脊液寡克隆区带(OCB)是神经系统脱髓鞘性疾病, 是多发性硬化最具特征的诊断指标之一, 90%

的多发性硬化患者脑脊液可检测到 OCB 的合成^[1-2]。OCB 在神经系统脱髓鞘性疾病的诊断、鉴别诊断及其

* 基金项目:北京市医管局人才培养计划“登峰”项目(DFL20180803)。

[△] 通信作者, E-mail:pcw1905@126.com。

本文引用格式:王金玲, 王培昌. 脑脊液寡克隆区带分析中镜像对称条带的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(5):623-627.

预后、转归方面具有重要临床意义^[3]。等电聚焦联合免疫固定电泳是目前国际上公认的检测 OCB 的金标准,基于临床意义的不同,电泳结果具有不同类型的条带模式^[4-6]。其中Ⅲ型、Ⅳ型、Ⅴ型条带均呈不同类型的镜像对称条带^[7-8],然而,由于等电聚焦电泳本身的高分辨率及过度合成的蛋白质及其后期修饰的复杂性,Ⅳ型与Ⅴ型并不容易通过肉眼区分^[9-10];且在实际应用中,由于镜像对称条带模式并不常见,在解释其发生机制及临床意义方面仍存在很多差异,因此对于回报的异常条带对临床医师的指导意义并未完全发挥。在本院检验科,OCB 分析已经成为一项常规的实验室神经系统疾病诊治的筛查项目。在过去的 4 年内,本院共有 5 892 例不同病因的神经系统疾病患者做了 OCB 分析,结果仅有 12 例患者条带呈现镜像对称模式。考虑到镜像对称条带可能与 M 蛋白有关,且血清免疫固定电泳常用于 M 蛋白的定性及分型,因此,本研究收集了该 12 例患者的临床信息和实验室各指标的数据,探索 OCB 分析中镜像对称条带发生的蛋白来源、潜在的临床意义及对疾病最终诊断的影响程度。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2018 年 12 月以各类神经系统疾病入住本院神经内科并且腰穿送检的脑脊液与血液样本 OCB 分析呈现镜像对称模式的 12 例患者作为研究对象。其中男 7 例、女 5 例,平均年龄(59.5±5.0)岁。

1.2 方法

1.2.1 血清/脑脊液清蛋白、总蛋白、IgG 定量检测 采用散射比浊法检测 12 例患者的血清/脑脊液清蛋白、总蛋白、IgG 水平。使用的仪器为美国贝克曼 Immage-800 全自动免疫分析仪。清蛋白商值

(QALB)=脑脊液清蛋白/血清清蛋白,用于评估血脑屏障的完整性,对于超过 40 岁的成年人,QALB×10³>8 代表血脑屏障通透性增高,数值越高,损伤程度越重;24 h 鞘内合成率检测参照文献^[11-12]的方法,24 h 鞘内合成率>9 提示中枢神经系统内免疫反应的发生。

1.2.2 脑脊液 OCB 电泳 采用等电聚焦电泳结合免疫固定电泳的方法检测患者配对的血清与脑脊液样本,采用法国 Sebia HYDRASYS 电泳仪进行 OCB 分析,试剂盒采用 Sebia 配套的脑脊液电泳试剂盒,实验操作步骤完全依照试剂盒的说明进行,泳道上出现了 2 条或者 2 条以上的条带被认为是 OCB 阳性^[7]。

1.2.3 血清免疫固定电泳 采用法国 Sebia HYDRASYS 全自动电泳系统进行分析,应用 5 种抗血清,在 IgA、IgG、IgM 重链与 κ 和 λ 轻链完成免疫电泳后,单克隆免疫球蛋白即 M 蛋白可被检出,正常免疫球蛋白形成弥散条带,单克隆免疫球蛋白出现“致密且狭窄”的条带。

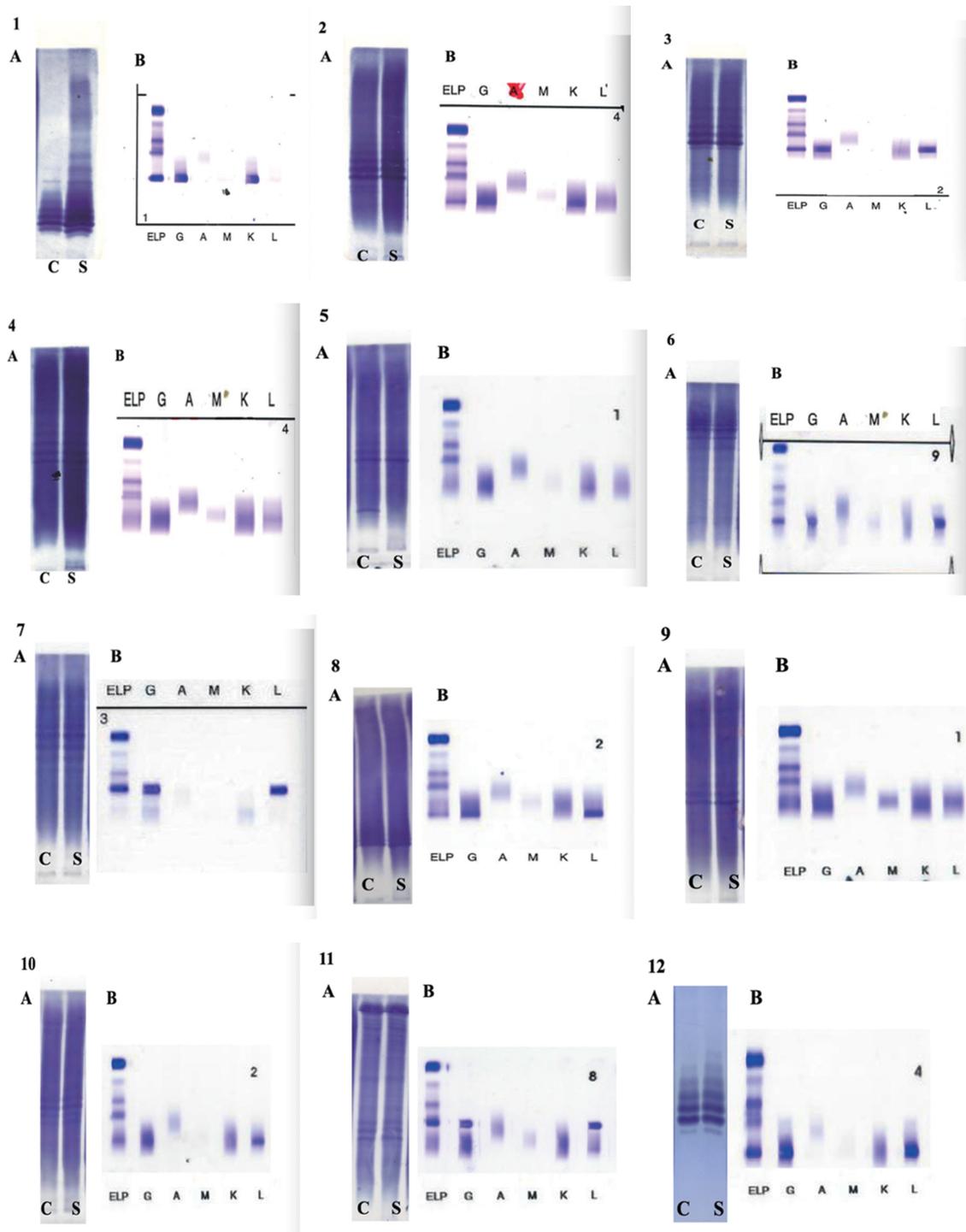
2 结果

2.1 12 例呈镜像对称条带患者的各项检测数据比较 12 例患者中 5 例(1、3、5、11、12 号)表现为 24 h 鞘内合成率的增加,同时伴随有 QALB 的增高,提示该 5 位患者血脑屏障不同程度的受损,导致免疫球蛋白从外周血液进入中枢,或合并中枢神经系统的免疫系统被激活而自身合成免疫球蛋白。见表 1。

2.2 12 例患者的脑脊液 OCB 电泳及血清免疫固定电泳结果 12 例患者中 5 号患者为条带Ⅲ型,6 号与 11 号样本呈条带Ⅳ型,其余 9 例样本呈Ⅴ型条带。12 例患者中除 3 例(4、5、9 号)患者外,其余患者的 M 蛋白均为阳性。见图 1。

表 1 12 例呈镜像对称条带患者的各项检测数据比较

项目号	性别	年龄(岁)	脑脊液总蛋白 (mg/dL)	QALB(×10 ³)	脑脊液 IgG (mg/dL)	血清 IgG (mg/dL)	OCB 条带类型	24 h 鞘内合成率	固定电泳结果
1	女	62	141	20.9	37.90	3 160	V 型	45.60	+IgG-κ
2	男	53	56	9.1	4.95	1 040	V 型	5.00	+IgG-κ
3	女	62	181	37.0	35.20	1 200	V 型	84.70	+IgG-λ
4	男	55	39	7.0	7.53	1 260	V 型	7.90	阴性
5	男	68	123	24.0	13.90	1 040	Ⅲ型	14.22	阴性
6	女	53	64	9.8	7.06	1 860	Ⅳ型	0.00	+IgG-λ
7	女	42	21	3.3	2.66	1 160	V 型	2.85	+IgG-λ
8	男	69	30	4.2	2.78	1 300	Ⅳ型	1.55	+IgG-λ
9	男	72	41	6.4	4.33	1 280	V 型	3.37	阴性
10	男	65	49	6.5	4.46	1 450	V 型	1.18	+IgG-λ
11	男	59	173	38.0	45.10	1 990	Ⅳ型	61.50	+IgG-λ
12	女	54	94	12.6	18.30	2 130	V 型	32.50	+IgG-λ



注: A 均为每位患者脑脊液 OCB 电泳,其中 C 均为脑脊液样本泳道、S 均为血清样本泳道;B 均为每位患者血清免疫固定电泳,其中 ELP 为加用固定剂的对照泳道,G、A、M、K、L 分别代表加入抗 IgG、IgA、IgM、总 κ 、总 λ 抗体的泳道。

图 1 12 例患者的脑脊液 OCB 电泳及血清免疫固定电泳结果

2.3 12 例患者的临床首发症状及最终确诊的疾病信息 8 例患者(分别是 1~5、7、8、11 号)均以外周神经系统典型的脱髓鞘病起病(症状包括双下肢麻木无力、走路不稳、双足灼烧感等);另有 4 例患者(分别是 6、9、10、12 号)症状不典型(包括发作性意识障碍伴肢体僵硬、记忆力降低、发作性嗜睡伴跌倒、发热、意识模糊等)。7 例患者(1~3、7、8、11、12 号)最终被确诊为血液系统相关疾病(包括多发性骨髓瘤、POEMS 综合征、意义未明的单克隆免疫球蛋白血症 MGUS);5

例患者(4、5、6、9、10 号)被诊断为神经系统疾病(包括肌萎缩侧索硬化、炎性介导脱髓鞘、病毒性脑炎、路易体痴呆、发作性睡眠障碍)。

3 讨论

根据 McDonald 多发性硬化的诊断标准,脑脊液 OCB 检测是包括早期多发性硬化在内的中枢神经系统感染性疾病重要的辅助诊断依据^[13-14],其中镜像对称条带的出现常常是脑脊液 OCB 检测过程中罕见且偶然发生的条带模式。本研究对 OCB 分析呈现镜像

对称模式的 12 例患者的实验室检查数据及临床特征进行了全面分析,旨在寻找其形成镜像对称条带蛋白质的可能来源及临床意义。

12 例样本涵盖了 3 种镜像条带模式。为探索形成此类条带的蛋白质来源,本研究采用免疫固定电泳技术分析了每例患者的血清样本,结果证实,所有类型的条带模式均与 M 蛋白有关。2 例呈模式 IV 的样本均为 M 蛋白阳性;9 例呈模式 V 的样本中有 7 例 M 蛋白阳性;纳入本研究中仅有 1 例样本呈模式 III,此次检测结果为 M 蛋白阴性。但仅此 1 例并不能排除模式 III 与 M 蛋白的关系。CHEN^[15]报道结果显示,呈模式 III 的样本同时合并 M 蛋白 IgG- κ 阳性。而本研究的发现证明了 3 种类型的镜像对称条带均与 M 蛋白有关。这主要归因于等电聚焦电泳方法学的高分辨率,它能够将即使经过细微修饰过的单克隆蛋白区分开来。

12 例患者最初均以神经系统的各种临床症状收治入院,其中 8 例是以典型的周围神经脱髓鞘损伤为临床表现,这种表现与许多神经系统疾病包括多发性硬化、脊髓炎等相似,极易造成误诊。8 例中有 6 例为 M 蛋白阳性,所有 6 例患者均被最终确诊为血液系统相关疾病。单克隆免疫球蛋白相关的外周神经病其病理机制被认为是 M 蛋白对周围神经的直接损伤,从而引起一系列临床表现。除此之外,在本研究中,有 3 例样本(4、5、9 号)表现为 M 蛋白阴性的镜像对称条带,M 蛋白阴性的镜像对称条带主要提示外周体液免疫反应,原因如下:(1)它是一过性的免疫反应,本身并无特殊意义;(2)严重的感染和炎症,或者经过免疫抑制剂治疗后的自身免疫性疾病;(3)可能存在于某些先天或者后天的免疫缺陷性疾病。这 3 例样本被诊断为肌萎缩侧索硬化、路易体痴呆和炎性介导的脱髓鞘。然而,对于这种 M 蛋白阴性的镜像对称条带的蛋白来源依然不明确,它的临床意义目前依然不明确。

12 例患者中,7 例患者被诊断为血液系统相关疾病,两例为 POEMS 综合征,3 例为意义未明的单克隆免疫球蛋白血症,2 例多发性骨髓瘤。镜像条带的出现在很大程度上排除了多发性硬化的诊断,却能够为血液系统疾患提供非常有力的诊断切入点。在血液系统疾患中,意义未明的单克隆免疫球蛋白血症是目前的一个研究热点,意义未明的单克隆免疫球蛋白血症是血清中出现单克隆免疫球蛋白,但尚缺乏诊断多发性骨髓瘤、原发性巨球蛋白血症、淀粉样变性或其他相关疾病的依据或特征。意义未明的单克隆免疫球蛋白血症在 50 岁以上白人人群的发病率为 3%~4%,其中每年约有 1% 的意义未明的单克隆免疫球蛋白血症患者进展为多发性骨髓瘤或其他恶性肿瘤,被认为是恶性浆细胞疾病的前期^[16-18]。目前认为所有多发性骨髓瘤患者均存在意义未明的单克隆免疫球

蛋白血症阶段,也称为骨髓瘤前期状态。一些骨髓瘤患者的意义未明的单克隆免疫球蛋白血症阶段持续时间较长,使得这一前期状态能够被临床医师观察到,而对于意义未明的单克隆免疫球蛋白血症阶段持续时间较短的患者,临床上往往无法及时发现。因此,基于上述研究,对于电泳检测到镜像对称条带及 M 蛋白阳性患者但短期内并未诊断为血液系统疾病患者(例如本研究中的 6 号和 10 号患者)都应有规律地进行随访。本研究结果并不是为了解决多发性硬化、意义未明的单克隆免疫球蛋白血症、多发性骨髓瘤及其他外周神经病的鉴别诊断上的困难,而是为临床医师在相关疾病诊断上提供及时的、正确的诊疗思路。

参考文献

- [1] ANDLOVIC A, BABIC M, ACCETTO S, et al. Comparison of two methods for the detection of oligoclonal bands in a large number of clinically isolated syndrome and multiple sclerosis patients[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2012, 114(6):659-662.
- [2] DAVIES G, KEIR G, THOMPSON E J, et al. The clinical significance of an intrathecal monoclonal immunoglobulin band: a follow-up study[J]. *Neurology*, 2003, 60(7):1163-1166.
- [3] LECHNER-SCOTT J, SPENCER B, DE MALMANCHE T, et al. The frequency of CSF oligoclonal banding in multiple sclerosis increases with latitude[J]. *Mult Scler*, 2012, 18(7):974-982.
- [4] MASJUAN J, ALVAREZ-CERMENO J C, GARCIA-BARRAGAN N, et al. Clinically isolated syndromes: a new oligoclonal band test accurately predicts conversion to MS[J]. *Neurology*, 2006, 66(4):576-578.
- [5] VILLAR L M, MASTERMAN T, CASANOVA B, et al. CSF oligoclonal band patterns reveal disease heterogeneity in multiple sclerosis[J]. *J Neuroimmunol*, 2009, 211(1/2):101-104.
- [6] VON GLEHN F, FARIAS A S, DE OLIVEIRA A C, et al. Disappearance of cerebrospinal fluid oligoclonal bands after natalizumab treatment of multiple sclerosis patients[J]. *Mult Scler*, 2012, 18(7):1038-1041.
- [7] FREEDMAN M S, THOMPSON E J, DEISENHAMMER F, et al. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement[J]. *Arch Neurol*, 2005, 62(6):865-870.
- [8] PETZOLD A. Intrathecal oligoclonal IgG synthesis in multiple sclerosis[J]. *J Neuroimmunol*, 2013, 262(1/2):1-10.
- [9] FRANCIOTTA D, ZARDINI E, LOLLI F. The clinical significance of an intrathecal monoclonal immunoglobulin band: a follow-up study[J]. *Neurology*, 2004, 62(4):675-676.
- [10] HAERTLE M, KALLWEIT U, WELLER M, et al. The presence of oligoclonal IgG bands in human CSF during

- the course of neurological diseases[J]. J Neurol, 2014, 261(3):554-560.
- [11] REIBER H. Cerebrospinal fluid—physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases[J]. Mult Scler, 1998, 4(3):99-107.
- [12] 马瑞敏, 马森, 邵春青, 等. 两种判定鞘内合成方法的应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(23):2861-2864.
- [13] POLMAN C H, REINGOLD S C, BANWELL B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria[J]. Ann Neurol, 2011, 69(2):292-302.
- [14] 李海峰. 多发性硬化 2017 版 McDonald 诊断标准的修订背景、内容及意义[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2018, 44(6):321-330.
- [15] CHEN Y. Multiple cerebrospinal fluid bands with accompanying serum bands[J]. Clin Chem, 2014, 60(12):1582-1583.
- [16] GO R S, SWANSON K M, SANGARALINGHAM L R, et al. Clinical prevalence (diagnosed cases) of monoclonal gammopathy of undetermined significance in the US: estimating the burden on health care[J]. Leukemia, 2016, 30(6):1443-1446.
- [17] WILLRICH M A V, MURRAY D L, KYLE R A. Laboratory testing for monoclonal gammopathies; focus on monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma [J]. Clin Biochem, 2018, 51(1):38-47.
- [18] CHAUDHRY H M, MAUERMANN M L, RAJKUMAR S V. Monoclonal gammopathy-associated peripheral neuropathy: diagnosis and management[J]. Mayo Clin Proc, 2017, 92(5):838-850.

(收稿日期:2020-09-04 修回日期:2021-02-09)

• 短篇论著 •

重症急性胰腺炎合并感染耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌的危险因素分析

陈 嵌, 牛司强, 邱 菊, 夏吉荣[△]

重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016

摘要:目的 分析重症急性胰腺炎(SAP)合并感染耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)的危险因素。方法 选取该院 2011 年 4 月至 2019 年 12 月收治的 105 例 SAP 患者为研究对象。按照是否合并感染 CRE, 分为试验组(35 例)和对照组(70 例), 结合患者感染的临床特点, 采用单因素和多因素 Logistic 回归分析 SAP 合并感染 CRE 的危险因素。结果 试验组的病原菌包括肺炎克雷伯菌(42.86%)、大肠埃希菌(31.43%)、阴沟肠杆菌(20.00%)、弗氏柠檬酸杆菌(5.71%)。单因素分析结果显示, SAP 合并感染 CRE 与患者检出 CRE 前的住院天数, 合并胃肠、肾脏等基础疾病, 以及进行气管切开、血液滤过、穿刺引流术等治疗措施和并发休克、腹腔积液、腹腔内感染、皮肤及软组织感染有关($P < 0.05$)。多因素分析结果显示, 腹腔内感染、皮肤及软组织感染和血液滤过是 SAP 合并感染 CRE 的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 SAP 合并感染 CRE 受多种危险因素的影响, 临床治疗时应针对合并腹腔内感染和皮肤及软组织感染患者采取积极预防治疗措施, 尽量减少血液滤过等侵入性操作, 降低其感染发生率。

关键词:重症急性胰腺炎; 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌; 感染; 危险因素

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.05.026

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2021)05-0627-04

文献标志码:A

近年来,随着人们生活水平提高,伴随一些不健康的饮食和生活习惯,急性胰腺炎发病率呈逐年上升的态势^[1],而此疾病又常伴随较多并发症和严重感染,临床转归效果较差,特别是重症急性胰腺炎(SAP)病情发展迅速,病死率较高,尤其在病程晚期合并感染,其病死率可达 30%^[2-3],因此寻找具有针对性的临床干预措施来降低 SAP 病死率已是急待解决的问题。据研究报道 SAP 死亡大多由并发感染引起的,感染的病原菌主要是革兰阴性菌,其中主要是肠

杆菌科细菌^[4-5]。目前全球耐药菌泛滥, SAP 合并感染的耐药菌中又以多重耐药革兰阴性菌感染为主。耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)因其对大多数抗菌药物耐药率高而备受关注^[6-7]。CRE 是一类对碳青霉烯类抗菌药物耐药的肠杆菌科细菌^[8-9]。近年来,随着 CRE 感染率逐年增长,给临床治疗带来了巨大挑战,但目前对 SAP 合并感染 CRE 的临床特点和危险因素分析的报道较少。因此,本文对此问题进行了流行病学相关分析和探讨,以期预防 and 减少 SAP 合并感染 CRE,降低其病死率提供临床循证依据。

[△] 通信作者, E-mail: xjr196352@163.com。