

一起流脑死亡患者的密切接触者咽部带菌调查

朱琳, 张艳燕, 徐玖清, 郑慧 (江西省上饶市疾病预防控制中心, 江西 上饶 334000)

[摘 要] 目的: 对流脑死亡患者的密切接触者进行咽部带菌调查, 为做好流脑防控工作及时提供科学依据。方法: 采用常规的病原分离法和PCR法对密切接触者的咽拭标本进行检测。结果: 19例密切接触者的咽拭标本经常规的病原分离法检出3株C群脑膜炎奈瑟菌, 通过PCR方法检出4份标本含有脑膜炎奈瑟菌C群特异性核酸片段。结论: 1例流脑死亡病例系由C群脑膜炎奈瑟菌所致。PCR法在流脑实验室诊断中其阳性率比常规的病原分离方法高。

[关键词] 流行性脑脊髓膜炎; 密切接触者; 细菌培养; PCR

2010年2月22日，上饶市疾控中心接到疫情报告，在弋阳县人民医院发现1例疑似流脑患儿，该患儿2010年2月20日出现高热、全身疼痛，家长以为普通感冒，让患儿在家服药休息。2010年2月22日因高烧不退，于当天上午9：30时入院，入院时体温39.3℃，出现意识障碍，颈项强直，皮肤出血点较多。血常规结果：白血球总数 6.2×10^9 个/L，中性粒细胞82.2%，脑脊液涂片查到G-双球菌。中午12：00时患者病情加重，立即转院南昌，经抢救无效当晚死亡。临床诊断该患儿为流行性脑脊髓膜炎。上饶市疾控人员立即对本起疫情进行流行病学调查，并前往弋阳县港口潘家村采集该死亡患儿19例密切接触同学的咽拭标本，带回实验室进行微生物学检验。

1 资料与方法

1.1 一般资料: 标本来源: 用无菌“7”形棉拭子采集与死亡患儿密切接触同学的咽拭标本19份。试剂与培养基: 含抗生素卵黄双抗平板、卵黄琼脂平板、革兰染液、触酶试剂、氧化酶试纸均为青岛海博生物技术有限公司产品, PCR相关试剂盒为上海宝生科技发展有限公司产品。以上试剂均在有效期内使用。

1.2 诊断血清：脑膜炎奈瑟菌诊断血清为中国药品生物制品检定所提供。

1.3 主要仪器：PCR扩增仪（MJ）、自动凝胶成像仪（UVP）、电泳仪。

1.4 方法：依照《流行性脑脊髓膜炎诊断标准和处理原则》GB16884-1997方法进行；PCR检测按常规PCR检测方法进行。

2 病原学检测

2.1 分离培养：用无菌“7”形棉拭子采集19例密切接触者咽部分泌物，立即接种卵黄双抗琼脂平板，烛缸保温运送。到实验室后放置于含5%~10% CO₂环境中，35℃，培养24 h观察结果。在其中3块卵黄双抗琼脂平板上生长可疑菌落，菌落较大、圆形、无色、湿润。

2.2 纯培养：将3份可疑菌落接种于未加抗生素的卵黄琼脂平板上，置于含5%~10% CO₂环境中，35℃培养24 h。

2.3 氧化酶、触酶试验：挑取3份可疑标本进行氧化酶、触酶试验，结果均为阳性（+）。

2.4 糖类发酵试验：挑取3份可疑标本进行糖类发酵试验，结果为：葡萄糖、麦芽糖均产酸不产气，蔗糖、乳糖、果糖均为阴性。

2.5 革兰染色镜检：挑取3份可疑菌落进行革兰染色镜检，结果均为肾形排列，凹面相对，革兰阴性双球菌。

2.6 血清学：3份可疑标本血清学结果相同均为：多价（+）、多价（-）、多价（-）、A群（-）、B群（-）、C群（+）、盐水凝集（-）。

3 PCR方法

3.1 样本处理：咽拭、脑脊液标本处理：取咽拭标本增菌液100 μ l（脑脊液取1 ml）于EP离心管中，12 000 r/min离心5 min，弃上清液，在沉淀中加100 μ l裂解液，振荡混匀置100 $^{\circ}$ C水浴10~15 min；12 000 r/min离心10 min，保留上清液待用。

3.2 试剂配制：从试剂盒中取出PCR反应液、Taq酶，室温融化后。2 000 r/min离心10 s。设置需要的管数n（n=样本数+1管阳性对照+1管阴性对照），反应体系试剂配制：PCR反应液20 μl，Taq酶1 μl。在适当体积离心管中加入计算好的各试剂使用量，充分混匀，另取n个PCR反应管，分别加入21 μl混匀好的试剂。

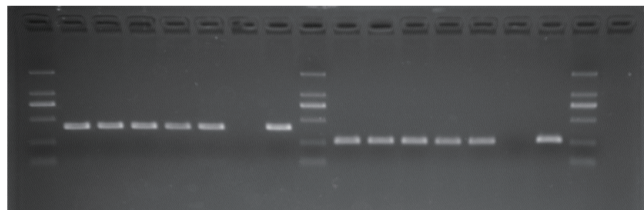
3.3 加样：在设定的n个PCR反应管中分别加入处理过的样本、阳性对照、阴性对照（去离子水）3 μ l，震荡混匀，于2 000 r/min离心5 s，将PCR反应管放入PCR仪中。

3.4 PCR扩增循环条件：首先预变性94 5 min，然后 94 35 s、55 35 s、72 70 s，循环35次，最后72 延长3 min。

3.5 配制琼脂糖进行点样：接通电源，电泳开始，电泳时间需 30 min。

3.6 结果判断：在自动凝胶成像仪中读取数据。与阳性对照同一水平线出现的条带为阳性，未出现条带则为阴性。目的片断：流脑通用410 bp，A群400 bp，B群450 bp，C群250 bp。见图1。

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17



注:1、9、17:DL2000 DNA Marker;2:死亡患者(脑脊液);3、4、5、6:密切接触者(咽拭);8:阳性对照为流脑通用(410 bp);7、15:阴性对照;10:死亡患者(脑脊液);11、12、13、14:密切接触者(咽拭);16:阳性对照为C群脑膜炎球菌SiaD(C)基因(250 bp)

图1 1份死亡患者脑脊液及4份密切接触者咽拭标本的PCR扩增结果

4 结果

19例密切接触者的咽拭标本经常规的病原分离法检出3株C

群脑膜炎奈瑟氏菌,阳性检出率为15.8%,A群、B群均未检出。19例密切接触者的咽拭标本通过PCR方法检出4份含有脑膜炎奈瑟菌C群特异性核酸片段(其中包含3份病原分离阳性的标本),阳性检出率为21.1%,A群、B群均未检出。

5 讨论

脑膜炎奈瑟菌是流行性脑脊髓膜炎的病原体,常寄居于人的鼻咽腔和口腔黏膜上,通过呼吸道分泌物而传播。流行性脑脊髓膜炎发病高峰为冬末春初,感染者多为学龄儿童,感染后多数为隐性感染,不引起任何临床症状,健康人持续带菌时间从数天到几个月,脑膜炎奈瑟菌在一般情况下有5%~30%正常人带菌,带菌者是本病流行的重要传染源。在此次疫情处理调查中,该流脑死亡患者的脑脊液,因使用大量抗生素,只能涂片查到G-双球菌,未能分离到脑膜炎球菌,这对断定该流脑死亡患者的脑膜炎球菌群型造成困难。通过对其19例密切接触者的咽拭标本进行常规病原分离,分离出3株C群脑膜炎奈瑟菌,从而确定2010年上饶市1例流脑死亡病例系由C群脑膜炎奈瑟菌所致^[1-2]。

流脑起病急、病情发展快,是危害人类的呼吸道传染病之

一,及时准确的诊断对流脑的治疗、预防至关重要。流脑的实验室常规诊断方法是从脑脊液(CSF)和血液等标本中分离病原菌,但使用抗生素治疗后,病原分离的阳性率明显下降。在该起疫情中对死亡患者培养呈阴性的脑脊液标本,进行了分子生物学检测,检出脑膜炎奈瑟菌C群特异性核酸片段,对19例密切接触者的咽拭标本进行检测,PCR法的阳性率比常规的病原分离法高。此方法可以快速检测不同标本中的极少量细菌,而且抗生素的应用对它的检出影响不大,并且在接到标本后4~5 h即可做出诊断,可以在疾病的早期辅助临床诊断,弥补传统方法检测时间长的不足。

6 参考文献

- [1] 倪语星,尚红.临床微生物学与检验[M].北京:人民卫生出版社,2007:96.
- [2] 原灵,郭维植,陈爱平,等.3例C群脑膜炎球菌引起的流脑病例报告[J].中国自然医学杂志,2008,2(1):46.

[收稿日期:2011-04-06 编校:苏建东]

侧脑室脑膜瘤46例手术治疗分析

罗家扬(广东省汕尾市海丰县彭湃纪念医院颅脑科,广东 汕尾 516400)

[摘要] 目的:结合临床实践经验,探讨侧脑室脑膜瘤的手术治疗。方法:选取收治的侧脑室脑膜瘤患者46例为研究对象,采用总结回顾分析法,将研究对象的病例资料、临床治疗资料等搜集整理,并与经治医师、责任护士共同探讨病例,探讨侧脑室脑膜瘤的手术治疗的方法以及临床应用价值。结果:患者临床症状:头痛、恶心、呕吐、肢体运动障碍、记忆力下降等;临床体征:视乳头水肿、同向偏盲、中枢性面瘫、失语等;全部患者均行头颅CT扫描,表现为侧脑室内高密度占位病变;采用显微神经外科技术对患者肿瘤进行全切除,对患者进行3个月~6年的随访,平均随访3.5年,患者均未出现肿瘤复发,CT复查见扩大的侧脑室均恢复正常,并恢复正常工作和生活,对治疗效果表示满意。结论:采用显微手术的方式进行治疗侧脑室脑膜瘤疗效显著,具有一定的优越性,值得临床推广应用。

[关键词] 显微镜手术;侧脑室脑膜瘤;治疗分析

在颅内脑膜瘤中,脑室内脑膜瘤约占0.5%~5%,多发于额、顶、枕区大脑凸面、蝶骨嵴、颅前窝嗅沟等位置,其中侧脑室脑膜瘤约占侧脑室肿瘤的20.0%~30.0%^[1-2]。对于此种疾病的治疗方法,手术为主要治疗手段。随着医学科技的发展以及显微镜技术的成熟,显微外科切除术也在不断进步,笔者选取广东省汕尾市海丰县彭湃纪念医院患者为研究对象,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料:选取2005年1月~2009年12月期间,我院收治的侧脑室脑膜瘤患者46例为研究对象,其中男27例,女19例,年龄19~73岁,平均(41.12±9.32)岁。

1.2 研究方法:采用总结回顾分析法,将研究对象的病例资料、临床治疗资料等搜集整理,并与经治医师、责任护士共同探讨病例,探讨侧脑室脑膜瘤的手术治疗的方法以及临床应用价值。采用Microsoft Excel建立数据库,运用SPSS 13.0统计软件进行统计分析。

2 结果

2.1 疾病病情:肿瘤位于侧脑室的部位为三角部40例,体部5例,左侧24例,右侧19例。患者临床症状为:头痛40例,恶心、呕吐23例,肢体运动障碍15例,记忆力下降6例,视力减退5例,精神症状3例,发作性眩晕3例,智力减退2例。临床体征:视乳头水肿35例,同向偏盲12例,中枢性面瘫7例,失语4例,感觉障碍4例,共济失调2例。

2.2 辅助检查结果:全部患者均行头颅CT扫描,结果表现为侧脑室内高密度占位病变,其中31例患者有钙化、9例患者肿瘤明显强化、6例患者瘤周脑组织有低密度水肿。14例患者行MRI检查,32例脑血管造影检查,显示脉络膜前动脉供血10例,脉络膜后动脉供血13例,脉络膜前及脉络膜后动脉供血12例,回流至大脑内静脉15例,大脑大静脉15例。

2.3 手术治疗结果:采用显微神经外科技术对患者肿瘤进行全切除,肿瘤大小(2.2 cm×2.5 cm)~(8 cm×8 cm),并在术后常规行脑室外引流3~5 d。手术入路方式,颞中回入路8例,顶枕入路29例,经胼胝体入路9例。本组所欲患者无手术死亡或