

用[J]. 中华护理杂志, 2000, 35(5): 16.

(14): 47-48.

[5] 张建仪, 李艳红. 预见性护理对老年髋部骨折合并代谢综合征患者并发症的影响[J]. 齐鲁护理杂志, 2008, 14

(收稿日期: 2014-05-20 修回日期: 2014-09-22)

基因芯片法诊断溃疡性皮肤结核 1 例报道

白洁¹, 张全华¹, 喻素敏¹, 颌玉胜² (兰州军区总医院安宁分院: 1. 检验科; 2. 皮肤科, 兰州 730070)

【关键词】 皮肤结核; 基因芯片; 病例报道

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 02. 067 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2015)02-0283-02

结核病是一种威胁人类健康的传染病, WHO 的最新报告, 2010 年大约有 880 万例新发结核病, 145 万例死于结核病。随着结核病呈流行性趋势, 皮肤结核(非肺性结核)也有上升趋势。有报道称, 皮肤结核在肺外结核中不多见, 但呈上升趋势^[1]。本院曾用基因芯片法诊断溃疡性皮肤结核 1 例, 现报道如下。

1 病例资料

患者, 男, 40 岁, 务农, 居住地农村, 2010 年胸部出现红褐色丘疹, 呈红色或紫色, 并且结痂。去痂后, 可以见到溃疡面, 而且溃疡创面有浓性黄色的分泌物流出。经其他医院诊治, 使用各种软膏、乳膏还有水剂药品涂抹创面, 另外还口服多种治疗皮炎的药物(药名不详), 均疗效不佳, 时好时坏, 春秋季节较重。因溃疡面加重, 于 2012 年到兰州军区总医院安宁分院皮肤科就诊, 其临床表现为手部皮肤表现为慢性溃疡, 面积约 2 cm×3 cm, 局部痒、隐痛, 病程长伴有局部肉芽肿生长, 弹性差, 无指凹征出现, 无结核病史, 无结核病密切接触史, 胸部 X 线片检查示双肺无异常。无低热、咳嗽、消瘦及乏力, 精神及二便正常。体格检查: 身体状态良好, 未见明显异常。实验室检查: 红细胞沉降率 48 mm/h, 皮肤溃疡表面分泌物涂片未找到短棒状抗酸杆菌; 用无菌咽拭子蘸取患者创面分泌物, 进行分枝杆菌菌种鉴定(基因芯片法), 结果显示结核分枝杆菌复合群测定值为 20 500, 呈阳性, 见图 1。

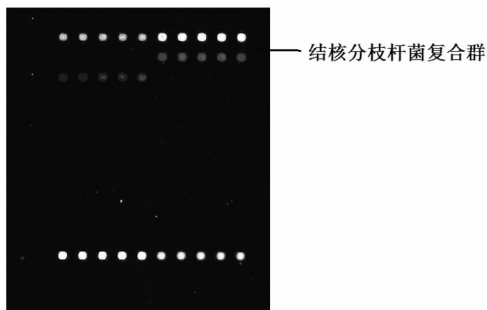


图 1 分枝杆菌菌种鉴定

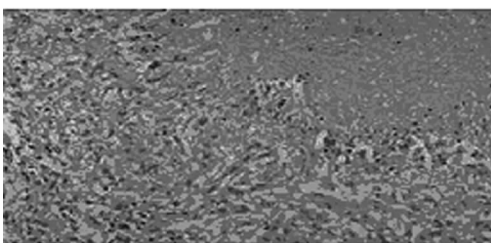


图 2 皮肤病理切片

皮肤病理诊断报告: 病理切片中明显可见朗罕斯巨细胞,

淋巴细胞所形成的结核结节, 中央可见干酪样坏死区域, 外周有淋巴细胞浸润。见图 2。被确诊为手背部溃疡性皮肤结核。治疗: 给予口服利福平 0. 45 g, 雷米封片 0. 3 g, 乙胺丁醇片 0. 75 g, 异烟肼 0. 3 g, 每月复查肝肾功能, 经 1 个月治疗后, 左手手背部结痂大部分脱落, 皮疹变薄, 无新发皮损。4 个月后复诊, 左手背部溃疡处明显缩小, 长出新肉芽组织, 浸润感明显减轻, 目前仍在随访中。

2 讨论

该患者是一名男性, 务农, 其发病有 3 年余, 长期从事农业劳动, 无结核病史, 临床表现主要是胸部皮肤表现为红褐色丘疹, 呈红色或紫色, 并且结痂。去痂后, 可以见到溃疡面, 取患者溃疡处分泌物检测, 传统的细菌学抗酸染色鉴定结果为阴性(一), 分枝杆菌菌种鉴定检测基因芯片法(17 个菌种)检测证明结核分枝杆菌复合群测定呈阳性。

结核病是我国重点控制的重大传染病之一, 早期发现, 早期治疗结核病患者是减少传播, 控制结核病疫情的关键环节^[2]。皮肤结核是由结核杆菌或非结核杆菌所引起一种皮肤病, 大部分是人型结核菌(75%)所感染的, 少部分为牛型结核菌(25%)感染。其致病的主要原因是人体自身免疫力下降时结核杆菌通过血流和淋巴回流感染皮肤所引起。发病过程缓慢, 往往一年到数年之久。皮肤结核早期症状一般自我不易发现, 有些患者仅仅在感染后才伴有轻微疼痛、搔痒感觉等临床表现, 因此, 容易误诊为一般的皮肤病。皮肤结核类型多样, 发病后临床主要的表现症状为丘疹、斑块、脓疱、伴感染的结节、溃疡或孢子丝菌病样皮损, 可波及大片皮肤损坏, 鼻、耳、口、唇、眼睑等处形成瘢痕甚至毁容等^[3]。

长期以来, 结核病的实验室诊断主要依赖抗酸染色镜检方法。抗酸染色涂片法具有简便、价格低廉的优点, 但其敏感性太低。1989 年基因芯片技术被引入临床一些常见疾病(结核)的实验室诊断后, 逐步成为结核病诊断领域中的一项新技术, 广泛应用于临床。近年来, 随着分子生物学技术的飞速发展, 基因芯片技术已初步应用于结核病的实验室诊断^[4]。它根据反向斑点分子杂交法的原理, 使 PCR 技术与探针技术相结合互补, 具有快速、敏感、高效等特点, 在医学上具有十分广阔的前景^[5]。整个基因芯片检测从标本制备到检测报告发出不同于传统的细菌培养, 在一定程度缩短了检出时间, 可以作为患者早期诊断和鉴别诊断的手段。其灵敏度高, 可直接从临床患者标本中提取核酸进行扩增后检测, 其结果通过扫描软件自动判读, 能减少人为误差, 便于临床实验室检测。

本实验所采用的试剂盒是博奥公司所生产的基因芯片分枝杆菌菌种鉴定试剂盒, 可以快速检测结核、鸟、胞内、戈登、堪萨斯、偶然、瘰癧等 17 种临床常见分枝杆菌, 将常规的检测时

间由 6~8 周缩短为 6 h。基因芯片技术进行分枝杆菌菌种鉴定为皮肤结核的诊断建立了一种敏感、特异、简单的鉴定方法,对临床具有很好的辅助意义。本试验中,此患者先用细菌涂片法检测,但未检测出抗酸,说明涂片抗酸染色容易受到各种人为因素的影响,易出现错报、漏报,造成误诊、漏诊,而基因芯片则能够减少这方面的误差。因此,皮肤结核病的实验诊断已经由传统的实验室诊断方法发展到传统方法与分子生物学技术相结合。根据临床表现,提供有效、及时的结果,在很大程度上可减少患者延误治疗的概率。

参考文献

[1] 王小国. 5 例皮肤结核回顾性分析[J]. 江西医药, 2011, 46 (9): 848-849.
[2] 朱学骏, 王宝玺, 孙建方, 等. 皮肤病学[M]. 北京: 北京大

学医学出版社, 2010: 1383-1388.
[3] 李萍. 皮肤结核临床观察分析[J]. 医学信息, 2011, 24 (2): 1093-1094.
[4] Gordon SV, Brosch R, Billault A, et al. Identification of variable regions in the genomes of t ubercle bacilli using bacterial artificial chromosome arrays[J]. Mol Microbiol, 2009, 32(3): 643-55.
[5] Guo Y, Zhou Y, Wang C, et al. Rapid, accurate determinat-ion of multidmg resistance in Mycob acterium tubercul- osis isolates and sput-um using a biochip system[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2009, 13(7): 914-920.

(收稿日期: 2014-04-27 修回日期: 2014-08-22)

1 例易漏检的 CisAB01/A 血清学鉴定和基因分型

黄 娴¹, 吕丽霞², 安仕萍^{1△} (1. 天津市血液中心 300110; 2. 天津市环湖医院 300060)

【关键词】 CisAB; ABO 亚型; 血清学; 基因分型
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 02. 068 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2015)02-0284-02

CisAB 血型为 ABO 血型中罕见的亚型, 初检时常表现为正反定型不符^[1]。但在医院送检的 ABO 正反定型不符的标本中, 作者发现 1 例患者血样在室温下初检时正反定型均为 A 型, 经过进一步血清学鉴定和基因分型检测后判定为 Cis-AB01/A 型, 从而避免了血型的误判, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 标本来自天津市某医院 2013 年 7 月就诊的肿瘤患者, 女, 52 岁, 临床诊断为右乳肿物。无输血史和妊娠史。
1.2 试剂 抗-A、抗-B、抗-A1 和反定型试剂红细胞均由上海血液生物有限公司提供。抗-H 血清来自 Bio-Rad 公司。人源抗-A、抗-B 和抗-AB 血清由天津市血液中心免疫血液学研究室自行配制。基因组 DNA 提取试剂盒为北京天根生化科技有限公司产品; 基因分型试剂盒来自天津市秀鹏生物技术开发有限公司, 包括人类 ABO 血型-B 亚型检测和人类 ABO 血型-CisAB、B(A) 检测两种试剂盒; DNA Marker DL2000 购自 TaKaRa 大连宝生物公司。
1.3 血型血清学检测 使用外周静脉血, 乙二胺四乙酸 (ED-TA) 抗凝。试管法进行 ABO 正反定型, 先在室温下离心看结果, 然后置于 4 ℃ 冰箱 10 min 后, 再次离心判读结果。用抗-

A1、抗-H 血清检测血型抗原。采用吸收放散试验检测弱的抗原, 步骤参见文献[2]。
1.4 基因分型检测 采用聚合酶链反应-序列特异性引物 (PCR-SSP) 法。按照说明书进行基因组 DNA 的提取。在 ABO 分型 PCR 反应板中, 每孔反应体系为 20 μL。反应条件均遵守说明书: 96 ℃ 预温 2 min; 96 ℃ 20 s, 68 ℃ 60 s, 5 个循环; 96 ℃ 20 s, 65 ℃ 45 s, 72 ℃ 30 s, 10 个循环; 96 ℃ 20 s, 62 ℃ 45 s, 72 ℃ 30 s, 15 个循环; 72 ℃ 延伸, 其中人类 ABO 血型-B 亚型检测为延伸 1 min, CisAB、B(A) 检测为延伸 3 min。220 V 稳压电泳 30 min, 采用凝胶成像系统观察。

2 结 果

2.1 血清学鉴定 在室温反应条件下, 标本的正反定型均为 A 型, 但置于 4 ℃ 10 min 后, 标本红细胞与单克隆抗 B 和人源抗 B 血清均出现弱凝集, 如表 1 所示。标本红细胞与抗 H 血清凝集强度为 w+ (Oc 对照: +++; Bc 对照: w+)。将标本红细胞与 O 型对照红细胞分别使用人源抗 B 血清于 4 ℃ 进行吸收试验, 然后进行 56 ℃ 热放散, 放散液与 B 细胞作凝集实验, 标本红细胞的放散液凝集强度为++++, O 型对照红细胞的放散液凝集强度为 0。血清学分析, 标本红细胞含正常 A1 抗原, B 抗原弱, 血清含抗-B 抗体, 为 ABx 亚型。

表 1 标本正反定型结果

温度	正定型						反定型		
	抗-A(单克隆)	抗-B(单克隆)	抗-A(人源)	抗-B(人源)	抗-A1	抗-AB	Ac	Bc	Oc
室温	++++	0	++++	0	++++	++++	0	+++	0
4 ℃	++++	+	++++	w+	++++	++++	0	+++	0

2.2 基因分型 图 1 为 CisAB、B(A) 检测, 显示 1、2 孔为阳性, 1、2 孔为 CisAB01 的特异性扩增孔, 根据试剂盒提供的读

板纸判断含有 CisAB01 基因。图 2 为 B 亚型检测, 仅第 36 孔阳性, 显示含有 A 基因。标本基因分型结果为 CisAB01/A。

△ 通讯作者, E-mail: x-huang04@163. com.