

技术方法

DOI: 10.11699/cyxb20130622

微量脑脊液漏快捷定性的可行性研究

柳庆君¹, 张 芸², 张玲燕³, 董 钊¹, 王 杰¹, 张任飞⁴, 任红梅¹, 陈莉凌¹, 雷小燕¹

(1. 绵阳市中心医院耳鼻喉科, 绵阳 621000; 2. 绵阳市中心医院神经内科, 绵阳 621000;

3. 绵阳市中心医院预防保健科, 绵阳 621000; 4. 绵阳市第三人民医院检验科, 绵阳 621000)

【摘要】目的:通过自身配对研究,探讨对极微量脑脊液快捷定性的可行性。**方法:**收集 44 例脑脊液标本,分别运用 Olympus au2700 全自动生化仪和 Johnson onetouch ultral 血糖仪试纸法检测其葡萄糖含量,分析两者之间的关系。**结果:**44 例标本通过 Johnson onetouch ultral 血糖仪试纸法测得的值均显著高于 Olympus au2700 全自动生化仪检测的糖含量,组间差异具有统计学意义($t=14.14, P<0.05$),两者呈正相关($r=0.97$),且经一元线性回归方程校正后,简易血糖仪与全自动生化仪检测的数据结果之间的差距无显著性($t=0.01, P>0.05$)。Johnson onetouch ultral 检测脑脊液葡萄糖含量的精确度为 95.7%,平均误差 0.12 mmol/L。**结论:**正确运用 Johnson onetouch ultral 简易血糖仪,配合现有的血糖试纸,在掌握校正读数值公式与方法前提下,可以准确检测脑脊液中的葡萄糖含量,藉此对标本进行快捷定性,开发专用检测脑脊液的脑糖仪及脑糖试纸条是切实可行的。

【关键词】脑脊液;脑脊液漏;定性;血糖仪**【中国图书分类法分类号】**R762**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2011-05-28

Research on the feasibility of easy identification of cerebral spinal fluid leakage with micro sample

LIU Qingjun¹, ZHANG Yun², ZHANG Lingyan³, DONG Chuan¹, WANG Jie¹, ZHANG Renfei⁴, REN Hongmei¹, CHEN Liling¹, LEI Xiaoyan¹

(1. Department of Otorhinolaryngology, Mianyang Central Hospital; 2. Department of Neuology, Mianyang Central Hospital; 3. Department of Prevention and Healthcare, Mianyang Central Hospital; 4. Department of Laboratory, the Third People's Hospital of Mianyang)

【Abstract】Objective: To discuss the feasibility of easy identification of cerebral spinal fluid leak with micro sample through self control study. **Methods:** Totally 44 cerebral spinal fluid samples were collected. Olympus au2700 automatic biochemical analyzer and

作者介绍: 柳庆君, Email: 54zly@163.com,

研究方向: 小儿耳鼻喉基础与临床。

- [3] Najar M, Raicevic G, Jebbawi F, et al. Characterization and functionality of the CD200-CD200R system during mesenchymal stromal cell interactions with T-lymphocytes[J]. Immunol Lett, 2012, 146(1-2): 50-56.
- [4] Dentesano G, Straccia M, Ejarque-Ortiz A, et al. Inhibition of CD200R1 expression by C/EBP beta in reactive microglial cells[J]. J Neuroinflammation, 2012, 9: 165.
- [5] Chakera A, Bennett S C, Morteau O, et al. The phenotype of circulating follicular-helper T cells in patients with rheumatoid arthritis defines CD200 as a potential therapeutic target[J]. Clin Dev Immunol, 2012. doi: 10.1155/2012/948218 [Epub ahead of time].
- [6] Rosenblum M D, Yancey K B, Olasz E B, et al. CD200, a 'no danger' signal for hair follicles[J]. J Dermatol Sci, 2006, 41(3): 165-174.
- [7] Li Y, Zhao L D, Tong L S, et al. Aberrant CD200/CD200R1 expression and function in systemic lupus erythematosus contributes to abnormal T-cell responsiveness and dendritic cell activity[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(3): R123.
- [8] Binet I, Wood K J. In vivo models of inflammation: immune rejection

- and skin transplantation in vivo[J]. Methods Mol Biol, 2003, 225: 239-248.
- [9] Hoek R M, Ruuls S R, Murphy C A, et al. Down-regulation of the macrophage lineage through interaction with OX2 (CD200)[J]. Science, 2000, 290(5497): 1768-1771.
- [10] Ballay A, Levrero M, Buendia M A, et al. In vitro and in vivo synthesis of the hepatitis B virus surface antigen and of the receptor for polymerized human serum albumin from recombinant human adenoviruses[J]. EMBO J, 1985, 4(13B): 3861-3865.
- [11] Jager L, Ehrhardt A. Emerging adenoviral vectors for stable correction of genetic disorders[J]. Curr Gene Ther, 2007, 7(4): 272-283.
- [12] Treacy O, Ryan A E, Heinzl T, et al. Adenoviral transduction of mesenchymal stem cells: in vitro responses and in vivo immune responses after cell transplantation[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e42662.
- [13] Zhang Y, Li W, Ou L, et al. Targeted delivery of human VEGF gene via complexes of magnetic nanoparticle-adenoviral vectors enhanced cardiac regeneration[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e39490.

(责任编辑: 关蕴良)

Johnson onetouch ultral blood glucose monitoring system were used to detect their glucose content respectively and to analyze their relationship. **Results:** There was a positive linear correlation between the outcomes of Olympus au2700 automatic biochemical analyzer and Johnson onetouch ultral glucose monitoring system ($r=0.97, P<0.05$). Whereas the mean value of the Johnson onetouch ultral group was significantly higher than that of Olympus au2700 group ($t=14.14, P<0.05$). After a proper calibration of linear regression square ($GJP=0.65GJ+0.21$), there was no significant statistical discrepancy between the two groups ($t=0.01, P>0.05$). The average error of using Johnson onetouch ultral blood glucose monitoring system to detect the glucose content of cerebral spinal fluid was 0.12 mmol/L, with an accuracy of 95.7%. **Conclusions:** Johnson onetouch ultral blood glucose monitoring system, when used properly and followed with correct adjustment, can detect the glucose content of cerebral spinal fluid accurately in less than five seconds with just 0.05 ml sample, making the qualitative diagnosis of cerebral spinal fluid fast and easy and providing a new method in the diagnosis of cerebral spinal fluid leakage.

【Key words】cerebral spinal fluid; cerebral spinal fluid leakage; identification; blood glucose monitoring system

如何快捷准确的判定鼻腔以及耳道流出物是否为脑脊液,一直是困扰耳鼻咽喉科、神经科、急诊外科界的难题。曾经有人提出过简易纱布直观试验,蛋白定量分析,特殊蛋白检测,生化仪检测糖含量等,但均尚存诸多不足,影响了临床应用^[1]。不能及时快捷的定性脑脊液往往可能造成第一时间病情误判,延误治疗时机,后果严重。笔者从简易血糖仪快速测量血糖的实践中得到启发,试图探寻一种类似的简便快捷方法来准确的定性脑脊液。该方法可期大大提高脑脊液漏出的诊断水平和效率。为此,必须首先了解简易血糖仪配合血糖试纸条是否能准确测定脑脊液标本中的葡萄糖含量,本文即探讨此问题。

1 资料与方法

1.1 研究对象

神经内科及耳鼻喉科腰椎穿刺患者 44 例,其中男性 24 例,女性 20 例,年龄 9~59 岁,平均年龄 (32.2 ± 10.4) 岁,基础疾病中分别为不明原因高热,意识障碍或颅内高压表现疑诊脑膜炎,脑膜脑炎等颅内感染等。为排除血液因素影响,蛛网膜下腔出血等血性脑脊液标本予以剔除。腰椎穿刺取得足够脑脊液标本后,完成自身配对。

1.2 研究方法

1.2.1 标本收集 44 例患者行腰穿 47 次,其中 3 次因标本量不足或标本性状显著不合格未予收集,有效标本 44 例。其中男性 24 例,女性 20 例。

1.2.2 检测方法 采用自身配对设计,每例脑脊液标本均同时完成 Olympus au2700(奥林巴斯全自动生化仪,型号 au2700)脑脊液生化检查和 Johnson onetouch ultral(强生简易血糖仪,型号 Johnson onetouch ultral)脑脊液糖含量血糖仪检测,其中生化仪检测由我院检验科完成,血糖仪检测由作者亲自完成。

1.2.3 血糖仪法脑脊液糖测定 腰椎穿刺按照卫生部临床操作规程完成,在常规送脑脊液生化检查,脑脊液常规检查,

脑脊液培养检查的同时,留置 1 ml 标本。即刻运用 Johnson onetouch ultral 按照检测血糖的方法,将显示屏背景调为 25,运用 1 ml 空针抽取少许标本,其针尖在血糖试纸条(统一运用标号为 25 test strips 的强生专用适配血糖试纸)前端接样缝隙处加样 1 滴(约 0.05 ml),该型血糖仪本身设计读数为小数点后 1 位,即精确到 0.1 mmol/L 水平。测出有效读数后做好记录。

1.2.4 生化仪法脑脊液糖测定 即日追踪检验科关于脑脊液生化检查中运用 Olympus au2700 检测出的葡萄糖含量。该型全自动生化仪对脑脊液中糖含量检测报告本为小数点后 2 位,即精确到 0.01 mmol/L,为统一标准,按照四舍五入法,取其小数点后 1 位即精确到 0.1 mmol/L 水平记录数据以备分析研究。

1.2.5 比较两种测定方法的结果 将 Johnson onetouch ultral 血糖仪测得的脑脊液葡萄糖含量与 Olympus au2700 全自动生化仪所测得葡萄糖含量进行比较,分析其两者之间的关系。

1.3 统计分析与绘图

运用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,绘图采用 Microsoft Office Excel 2003 软件。文中数据均为定量资料,采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。2 种测量方式测量脑脊液糖含量采用配对 t 检验;并对 2 种测量方式进行相关和回归分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 统计检验

Johnson onetouch ultral 血糖仪测量组的脑脊液糖含量(记录为 GJ)平均为 (4.23 ± 1.63) mmol/L, Olympus au2700 全自动生化仪测量组脑脊液糖含量(记录为 GO)平均为 (2.96 ± 1.07) mmol/L,前者高于后者,运用配对 t 检验,组间差异具有统计学意义 ($t=14.14, P<0.05$) (表 1)。

2.2 散点图

试验为自身配对设计,每一标本均有 2 个测量值(单位 mmol/L),本研究以 Olympus au2700 全自动生化仪测得值 GO 为纵坐标,Johnson onetouch ultral 血糖仪检测值 GJ 为横坐标描直制散点图,得到结果见图 1。

表 1 3 种方法测量脑脊液糖含量的结果

Tab.1 Determination of glucose content in cerebral spinal fluid by three detecting methods

测量方法	脑脊液血糖含量 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)
GJ (血糖仪)	4.23 ± 1.63
GO (生化仪)	2.96 ± 1.07
GJP (回归校正)	2.96 ± 1.06

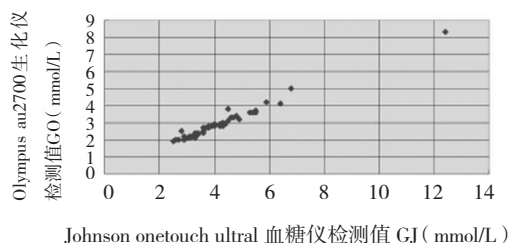


图 1 2 种检测结果的关系

Fig.1 Relationship between the two detection results

2.3 2 种测量结果相关分析

从图 1 散点趋势可以看出,2 种测量方式的结果虽然不等,但存在明显的线性相关趋势,进一步分析 GO 与 GJ 的关系,行相关系数假设检验,其相关系数为 0.97,相关性良好 ($r=0.97, P=0.008\ 8$)。

2.4 回归分析

在图 1 中出现了 1 例极端值,2 种方法检测均证实其葡萄糖含量高,但观察发现,其与整体数据拟合良好,故未剔除。一种检验方法常要求在特定区间具有稳定的线性关系,同时因不能排除背景因素影响,故拟合回归方程时,未要求通过原点。计算两者的一元线性回归关系提示,其回归系数为 0.650 56,截距为 0.209,保留小数点后 2 位,得到如下直线回归方程: $\hat{GO}=0.65GJ+0.21$ (单位: mmol/L)。

2.5 校正读数

以生化仪检测值为金标准,按照该直线回归方程,对 Johnson onetouch ultral 血糖测量值进行校正,得到血糖预测值为 GJP ($GJP=0.65GJ+0.21$)。运用自身配对 t 检验,比较 GJP 与 GO,组间差异无统计学意义 ($t=0.01, P=0.995\ 2$)。

2.6 精确度与误差及线性区间

目前,全自动生化仪检测脑脊液葡萄糖含量被认为是最准确的方法之一,常作为临床运用的金标准^[9],并以此评价 Johnson onetouch ultral 检测脑脊液糖含量的误差与精确度。校正预期值 GJP 与生化仪检测值 GO (金标准)比较,其平均误差为 0.12 mmol/L,精确度达 95.7%且在 1.90 mmol/L 到 8.40 mmol/L 区间线性关系良好。

3 讨论

严重鼻面部外伤,侧颅底骨折,有无脑脊液鼻漏或耳漏,处理原则大不相同。第一时间对于脑脊液漏的漏诊,往往导致不当的填塞,有引起致命性

逆行感染之虞。细微的脑脊液漏出,甚至通过薄层 CT、磁共振、核素显像脑室造影都难以检测^[3]。针对这一难题,有人提出,可以通过将漏出液体滴在纱布上,如中央为血色半点,周围形成透明的晕,可考虑为脑脊液。但此种方法太过粗略,缺乏严格的标准,且血液与唾液、泪液等混合也极易形成该现象造成假阳性故临床应用价值甚微^[3]。潘氏试验也曾被用以定性脑脊液,但显然,鼻腔分泌物以及中耳分泌物同样蛋白含量不稳定,同样可以导致潘氏试验假阳性或假阴性,因而准确度很低^[3]。 β_2 转铁蛋白存在脑脊液中,而眼泪,唾液,鼻腔分泌物中没有该蛋白存在,故 β_2 转铁蛋白具有高度特异性^[4],但是该检查需要免疫色谱,气相色谱仪,银染色等装置,设备昂贵,耗时费力,尤其是在广大基层医院中难以普及。目前,临床上在甄别脑脊液漏出时,仍主要依靠葡萄糖定量分析,鼻腔分泌物,泪液,中耳分泌物则极少含糖,而脑脊液中的糖含量一般大于 1.65 mmol/L,故能在标本中较为准确的检测糖含量即可对脑脊液进行定性。通过生化仪测定标本中的糖含量也是目前最常用的定性漏出物为脑脊液的方法^[9]。此法在运用中缺点也很明显。首先,该项检查往往需要令患者收集数毫升漏出液标本,但脑脊液漏缺乏规律,收集足够的标本并非容易,尤其在瘘口细小时,更难以实施。其次,并非所有机构均有条件配置先进的全自动生化仪,在一些基层医疗机构及急诊救治现场,需要有更简单实用的设备来完成此项任务。再次,标本收集,送检,到检验科出生化报告,耗时较多,可能延误治疗时机。目前仍缺乏一种能快速检测脑脊液标本糖含量从而进行定性的有效手段。笔者从简易血糖仪检测血糖的实践中得到启发,通过氧化还原,脑脊液中的葡萄糖同样可以与血糖试纸条中相应物质发生化学反应,从而得出一个粗测值,将其与目前的全自动生化仪检测结果比较和校正,剔除背景等干扰因素的影响,也可以测出脑脊液中的葡萄糖含量,并能通过与金标准的比较中,评价这种检测方法的准确度,平均误差和线性区间。

为掌握基础数据,本研究在进行漏出脑脊液检测前,首先运用腰穿所得的脑脊液标本作为研究对象,并运用自身配对的设计减小抽样误差。笔者前期曾乐观预计,因检测葡萄糖的原理雷同,生化仪和血糖仪 2 种检测方法的结果会高度吻合,然而数据结果却表明,两者之间读数并不一致,Johnson onetouch ultral 血糖试纸法测得的值,无一例外均高

于 Olympus au2700 生化仪检测值,组间比较也发现二者之间的差异具有统计学意义。该结果超出了笔者的预期,其原因仍不完全清楚,但分析可能与以下几个因素有关:(1)新型血糖仪的设计本身有关。目前临床关于血糖的标准有全血血糖和血浆血糖两种,且由于血浆血糖更具有代表性,在临床上更为通用,且生化仪检测的结果也是以血浆血糖为准,为适应这一变化,新型的血糖仪也在设计上做出了修改。即虽然其检测的标本为全血,但设计程序时,会将粗测的结果进行换算,校正为血浆血糖并最后显示在屏幕上。由于血浆中糖含量高,细胞中糖含量低,故而校正后,实际会将粗测的结果乘以 1 个大于 1 的系数。目前市售血糖仪尚且不能检测每份标本中的细胞压积,因而在校正时,主要参考因素是人群的平均细胞压积,该校正方法的缺点就是,对于细胞含量高于平均的标本,其显示的读数低于实际血浆血糖,对于细胞含量低于平均的标本,其显示读数高于实际血浆血糖。脑脊液中细胞含量大大低于全血,类似“极度贫血”,血糖仪仍按照平均细胞压积进行校正,导致读数高于真实值。该理论可以解释回归方程中的回归系数小于 1 的问题,但为何方程中出现一个为 0.21 的较大的截距却无法很好解释。(2)可能与缺乏专业的试纸有关。目前的试纸,针对血糖设计,缺乏脑脊液标本检测的标准化试纸,可能存在基线调整的问题,如我们在研究中所用的试纸条,在检测时背景调整为 25,为检测血标本所设置,检测脑脊液标本时,背景调整为多少合适,不得而知。(3)其他未知因素。如脑脊液中蛋白成分与血液也有不同,可能导致对读数的影响。

本研究发现,虽然 2 组测量值均数差别很大,但其线性关系良好,相关分析表明,二者相关系数 $r=0.97$ 。在散点图上,对应区间二者为线性相关。对此笔者发现并总结了二者的直线回归方程 $\hat{G}O=0.65GJ+0.21$ (单位 mmol/L)。运用该回归方程,即可将 Johnson onetouch ultral 脑脊液糖的粗测读数 GJ 校正为 GJP。比较 GO 与 GJP 发现两组数据的差别无显著性。用 GJP 预测 GO 精确度达到 95.7%,平均误差为 0.12 mmol/L,已完全能够满足临床定性的需要,即便是在定量上也很有价值。试纸法在检测脑脊液糖含量的时候,其精确度达到甚至超过了检测血糖的精确度,此结果可能与不同个体的血液标本细胞压积差别大(如前述,血糖仪在将全血血糖换

算为血浆血糖时,主要参照平均红细胞白细胞压积而设定,由于无法个性化,故而其存在偏移,具体表现为,标本中红细胞越多,实际血浆糖将被低估,标本中细胞成分越少,糖含量将被高估),而脑脊液中细胞含量相对较少且变化不大有关。

该研究结果表明,即便是在没有专门为脑脊液糖含量检测的试纸的情况下,运用现有的血糖仪及血糖试纸,利用极微量的脑脊液标本检测其中的糖含量也是切实可行的。只要掌握了相应试纸条在检测中的读数值与真实值之间的回归方程,对数据进行简单的校正,就可准确的得到标本中的糖含量。该技术可对疑似脑脊液的标本进行糖含量的检测,具有硬件要求低,操作简便无创,瞬间读数,且可在不需要复杂标本前期处理的情况下,针对微量标本(0.05 ml)也可完成定量检测糖含量而定性的极大优势。该技术尤其适合于对脑脊液漏出的快速诊断,克服了生化仪检查法和 $\beta 2$ 转铁蛋白检查法价格高,费标本,硬件要求高的缺点,还弥补了高分辨 CT 以及核素显影假阴性的缺点。即便是在野外或者最基层的医疗单位,也可藉此快速发现并诊断脑脊液漏出,值得在临床推广运用。该研究还表明,设计一种更为直观读数的专门用以检测脑脊液糖含量的试纸条是切实可行的,该产品的问世将省去校正这一步骤,更为直观,值得期待。

参 考 文 献

- [1] Vanopdenbosch L J, Dedeken P, Casselman J W, et al. MRI with intrathecal gadolinium to detect a CSF leak: a prospective open-label cohort study[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2011, 82(4): 456-458.
- [2] Chan D T, Poon W S, IP C P, et al. How useful is glucose detection in diagnosing cerebrospinal fluid leak? the rational use of CT and Beta-2 transferrin assay in detection of cerebrospinal fluid fistula[J]. Asian J Surg, 2004, 27(1): 39-42.
- [3] Meurman O H, Irjala K, Suonpää J, et al. A new method for the identification of cerebrospinal fluid leakage[J]. Acta Otolaryngol, 1979, 87(3-4): 366-369.
- [4] Baker E H, Wood D M, Brennan A L, et al. New insights into the glucose oxidase stick test for cerebrospinal fluid rhinorrhoea[J]. Emerg Med J, 2005, 22(8): 556-557.
- [5] Mandal R, Guo A C, Chaudhary K K, et al. Multi-platform characterization of the human cerebrospinal fluid metabolism: a comprehensive and quantitative update[J]. Genome Med, 2012, 4(4): 38.

(责任编辑:唐秋姗)