

## 参考文献

- [1] 吕春兰,李沛,郝爱军. 阴沟肠杆菌感染的临床分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(7):1494-1496.
- [2] 李智伟,向阳,赵辉,等. 1 175 株阴沟肠杆菌耐药性变迁特点[J]. 新疆医科大学学报,2012,(10):1379-1382.
- [3] 周青雪,程东庆. 阴沟肠杆菌产  $\beta$ -内酰胺酶的研究进展[J]. 中国抗菌药物杂志,2011,36(12):881-884.
- [4] 凌步致. 阴沟肠杆菌的药物敏感性分析[J]. 现代医药卫生,2011,27(6):816-818.
- [5] 杜蓉,冯萍,陈慧莉,等. 三维试验的改良及对鲍曼不动杆菌的产酶现状和耐药性分析[J]. 中国抗菌药物杂志,2009,34(5):309-312.
- [6] Jacoby GA. AmpC beta-lactamases[J]. Clin Microbiol Rev,2009,22(1):161-182.
- [7] Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria;Enterobacteriaceae[J]. Am J Med,2006,119(6 Suppl 1):S20-28.
- [8] Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S. Enterobacter cloacae complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance[J]. Future Microbiol,2012,7(7):887-902.
- [9] Stock I,Grüger T, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of strains of the Enterobacter cloacae complex[J]. Int J Antimicrob Agents,2001,18(6):537-545.
- [10] Zhou Z,Li L,Yu Y,et al. The status of drug resistance and ampC gene expression in Enterobacter cloacae[J]. Chin Med J(Engl),2003,116(8):1244-1247.
- [11] Su PA,Wu LT,Cheng KC,et al. Screening extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacter cloacae and Serratia marcescens using antibiogram-based methods[J]. J Microbiol Immunol Infect,2010,43(1):26-34.
- [12] Thomson KS. Detection of gram-negative  $\beta$ -lactamase producing pathogens in the clinical lab[J]. Curr Pharm Des,2013,19(2):250-256.

(收稿日期:2013-12-18)

## • 经验交流 •

## 隐球菌性脑膜炎的脑脊液检查结果分析

许绍强,陈玲玲,姜楠,肖海华,周小坚

(广东三九脑科医院检验医学中心,广东广州 510510)

**摘要:**目的 分析隐球菌性脑膜炎脑脊液检查结果特点,提高对疾病的实验诊断水平。方法 回顾分析广东三九脑科医院 2008 年 8 月至 2013 年 3 月期间明确诊断为隐球菌性脑膜炎的 46 例患者的脑脊液检查结果,包括脑脊液常规+细胞学、脑脊液生化、隐球菌二项(墨汁染色+荚膜多糖抗原乳胶凝集试验)及隐球菌培养等。结果 首次脑脊液常规:80%以上呈无色透明,96%的病例蛋白定性不超过(2+),白细胞计数 72%呈轻中度增高,白细胞分类单个核比例 20%~96%不等,中位数为 68%。墨汁染色:37 例(占 80%)第 1 次送检即找到隐球菌。13 例做了隐球菌荚膜多糖抗原乳胶凝集试验,其中 12 例第 1 次送检即阳性,1 例第 3 次才出现阳性(同时第 3 次镜下才发现隐球菌)。24 例做了细胞学检查,18 例呈混合细胞反应型,6 例呈淋巴-单核细胞反应型,21 例镜下发现隐球菌。脑脊液生化:总蛋白(TP)均值( $1.29 \pm 0.79$ ) g/L;葡萄糖(GLU)均值( $1.81 \pm 1.12$ ) mmol/L;氯化物( $\text{Cl}^-$ )均值( $116 \pm 7$ ) mmol/L;乳酸(LAC)均值( $44 \pm 18$ ) mg/dL;腺苷脱氨酶(ADA)均值( $3.9 \pm 1.9$ ) U/L。16 例做了隐球菌培养,7 例阳性。结论 隐球菌性脑膜炎患者脑脊液检查有一定的特征性,常规、生化、细胞学、墨汁染色、隐球菌荚膜多糖抗原及隐球菌培养等多项同时检测可提高隐球菌的阳性检出率。

**关键词:**隐球菌性脑膜炎; 脑脊液; 实验室技术和方法**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.060**文献标识码:**B**文章编号:**1673-4130(2014)05-0632-03

隐球菌性脑膜炎是由新型隐球菌感染脑膜和(或)脑实质所致。我国发病率低,由于其症状的不典型性,临床上容易误诊有报告可误诊为结核脑、病毒脑、神经症、脊髓肿瘤等,误诊率可高<sup>[1]</sup>,病死率高达 10%~40%<sup>[2]</sup>。早期诊断,采取规范的抗真菌治疗是治疗本病的关键。本研究对 46 例隐球菌性脑膜炎患者的脑脊液检测结果进行分析,旨在提高对本病实验室诊断的认识和临床诊断水平。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 广东三九脑科医院 2008 年 8 月至 2013 年 3 月明确诊断为隐球菌性脑膜炎的 46 例患者,男性 28 例(占 61%),女性 18 例(占 39%),年龄 8~69 岁,平均年龄( $40 \pm 15$ )岁,中位年龄 42 岁。纳入的诊断标准:亚急性或慢性起病,患者头痛,伴有低热、恶心、呕吐和脑膜刺激征表现;腰椎穿刺检查提示颅内压高、细胞数高、蛋白高、糖低;病原学检查脑脊液涂片发现隐球菌或培养见隐球菌生长。脑脊液监测指标:包括脑脊液常规、脑脊液细胞学、脑脊液生化、隐球菌二项(墨汁染

色+荚膜多糖抗原乳胶凝集试验)等。

**1.2 仪器与试剂** 总蛋白、葡萄糖、乳酸、ADA 生化检测试剂盒(北京柏定生物工程有限公司),隐球菌荚膜多糖抗原乳胶凝集检测试剂(美国 IMMY 公司),印度墨汁及瑞-姬氏复合染色液(珠海贝索生物技术有限公司),沙氏真菌肉汤(广州市迪景微生物科技有限公司),一次性尿沉渣细胞计数板,奥林巴斯显微镜,奥林巴斯 AU640 全自动生化分析仪,FMU-6 细胞玻片离心机等。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 脑脊液标本均经腰穿获得,用一次性无菌带盖试管送检,每管约 1~2 mL。第 1 管用作隐球菌培养,第 2 管用作隐球菌二项检测,第 3 管用作生化检测,第 4 管用作常规及细胞学检测,半小时内送检。

**1.3.2 检测方法** 脑脊液常规按全国检验操作规程要求进行检测;隐球菌荚膜抗原试验严格按照说明书要求进行操作;脑脊液生化在奥林巴斯 AU640 全自动生化分析仪上进行检测;

脑脊液隐球菌培养用沙氏肉汤进行增菌,放 35℃ 温箱培养,阴性标本 2 周后发报告;脑脊液细胞学采用 FMU-6 细胞玻片离心机进行细胞收集,用瑞-姬氏复合染料进行常规染色,按粟氏标准进行细胞学分析。

2 结 果

2.1 脑脊液常规检测结果 隐球菌性脑膜炎脑脊液常规多表现为无色、透明,96% 病例蛋白定性在(2+)以内,白细胞计数轻中度升高为主,平均值为  $(145.3 \pm 175.5) \times 10^6/L$ ,中值  $67.9 \times 10^6/L$  多在  $400 \times 10^6/L$  以内,白细胞分类以单个核为主,均值为  $(61 \pm 25)\%$ ,中值为 68%,结果见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.2 墨汁染色乳胶凝集试验结果及诊断性能 80% 病例首次墨汁染色可发现隐球菌,92% 病例首次荚膜多糖抗原乳胶凝集试验阳性,两者联合检测可提高阳性检出率,避免漏诊,见表 2~4。当怀疑隐球菌感染时,应多次送检。

表 2 首发阳性送检次数[n(%)]

送检次数	墨汁染色(n=46)	乳胶凝集试验(n=13)
第 1 次	37(80)	12(92)
第 2 次	4(9)	0
第 3 次	4(9)	1(8)
第 4 次	1(2)	0
合计	46(100)	13(100)

表 3 墨汁染色法诊断性能评价(n=46)

送检次数	真阳性(n)	假阴性(n)	灵敏度(%)	特异度(%)	误诊率(%)	漏诊率(%)
1 次	37	9	80	100	0	20
2 次	41	5	89	100	0	11
3 次	45	1	98	100	0	2
4 次	46	0	100	100	0	0

表 4 乳胶凝集试验法诊断性能评价(n=13)

送检次数	真阳性(n)	假阴性(n)	灵敏度(%)	特异度(%)	误诊率(%)	漏诊率(%)
1 次	12	1	92	100	0	8
2 次	12	1	92	100	0	8
3 次	13	0	100	100	0	0

2.3 脑脊液生化检测结果 脑脊液生化表现为蛋白高、糖低、氯低、乳酸高、ADA 正常,见表 5。

表 5 脑脊液生化检测结果

项目	TP(g/L)	GLU(mmol/L)	Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	LAC(mg/dL)	ADA(U/L)
结果范围	0.20~3.27	0.01~4.21	100.0~129.6	18.1~80.1	0.39~6.55
均值	1.29±0.79	1.81±1.12	115.9±7.4	44.4±18.0	3.3±1.9
中值	1.10	1.88	115.0	46.2	3.0

2.4 细胞学、隐球菌培养结果 24 例做了细胞学检查,其中

18 例(75%)呈混合细胞反应型,6 例(25%)呈淋巴-单核细胞反应型,21 例(88%)镜下发现隐球菌。16 例做了隐球菌培养,7 例阳性(44%)。

3 讨 论

结核性脑膜炎与隐球菌性脑膜炎在临床表现、症状、体征、影像学检查、脑脊液生化等方面极为相似,两者常相互误诊<sup>[1]</sup>。临床医生除掌握隐球菌性脑膜炎的临床表现及诊治原则外,应熟知其实验室诊检查项目种类及优缺点,以提高临床诊断水平。

脑脊液或脑组织病原学检查发现隐球菌是隐脑诊断的金标准。目前病原检测的主要方法有<sup>[3]</sup>:(1)染色诊断,包括脑脊液墨汁染色、脑脊液细胞玻片离心沉淀 MGG 染色、阿利新兰染色、PAS 染色等;(2)脑脊液隐球菌培养;(3)免疫学方法诊断,包括抗原检查、抗体检测;(4)PCR 基因检测等。其中临床常用的检测方法有墨汁染色、真菌培养及抗原检测等。有研究显示,脑脊液离心沉淀后墨汁染色阳性率为 29%~85%不等<sup>[4-6]</sup>。本研究显示,首次送检阳性检出率为 80%(见表 1),墨汁染色从 1~4 次送检,检出灵敏度可从 80%增加到 100%(见表 3)。研究者认为墨汁染色是经典的隐球菌形态学检测方法,简便易行,利于早期诊断,造成部分首次阳性检出率低的主要原因可能与菌量少,标本量不足,离心速度慢和离心时间短有关,另外也与检验人员的责任心不强,形态学认识不足有关。因此,当临床怀疑隐球菌感染时,应多次送检。脑脊液隐球菌培养虽是诊断隐脑的“金标准”,但培养时间长,需 2~10 d 才能做出判断,不利于早期、快速作出诊断。班立芳等<sup>[7]</sup>研究显示隐球菌培养阳性率可达 89%。本研究显示,阳性率只有 44%,分析可能原因是部分病例先前被误诊而接受了大量抗菌药物治疗,隐球菌生长受抑所致,不排除部分操作人员经验不足而漏诊(采用沙氏肉汤增菌方式进行培养,部分人员不清楚隐球菌在肉汤中是呈沉淀生长的)。乳胶凝集试验检测脑脊液新生隐球菌荚膜多糖抗原,是一种简便、快速、有效诊断隐球菌性脑膜炎的实验室方法。国外报道,乳胶凝集试验灵敏度为 76%<sup>[8]</sup>,而国内王露露等<sup>[9]</sup>研究显示,乳胶凝集试验灵敏度为 96.2%,特异度为 99.4%。本研究显示首次送检,胶乳凝集试验灵敏度为 92%,连续 3 次送检,灵敏度可从 92%增加到 100%。在日常检测中暂未发现假阳性病例,特异度为 100%。研究者认为乳胶凝集试验可作为隐球菌的初筛试验,多次送检阴性可以帮助排除诊断。

吴海峰等<sup>[10]</sup>研究认为,隐球菌性脑膜炎与结核性脑膜炎的脑脊液常规、生化结果表现相似,尚不足以鉴别两种脑膜炎,还需充足的病原学依据。郭章宝等<sup>[11]</sup>研究显示,结核性脑膜炎患者脑脊液蛋白含量、有核细胞数较隐脑高,氯化物较隐脑下降更明显( $P<0.01$ ),具有一定的鉴别意义。王霞等<sup>[12]</sup>研究发现,结脑患者脑脊液 ADA 活性较非结脑患者高( $P<0.01$ ),具有辅助诊断价值。易芳等<sup>[13]</sup>研究发现隐脑患者首次细胞学呈混合细胞反应型,71% 细胞学镜下可发现隐球菌。本研究显示,隐脑患者首次脑脊液常规、生化、细胞学有一定的特征性。当脑脊液常规表现为无色、透明,蛋白定性在(2+)以内,白细胞计数轻中度增高(不超过  $400 \times 10^6/L$ ),脑脊液生化表现为蛋白高、糖低、氯低、乳酸高、ADA 正常,细胞学呈混合细胞反应型时,临床应考虑到患者隐球菌感染的可能性大,如细胞学镜下同时发现隐球菌可确诊。

综上所述,隐脑患者脑脊液常规、生化有一定的特征性,当脑脊液常规、细胞学、生化等符合上述表现时,临床医生应考虑患者隐球菌感染的可能性,并进一步加强隐球菌的病原检测。墨汁染色、隐球菌荚膜多糖抗原乳胶凝集试验同时检测可作为隐脑的筛查试验;脑脊液细胞学、培养、涂片找到隐球菌可确诊;脑脊液常规、生化、细胞学、乳胶凝集试验及隐球菌培养等多项同时检测,多次送检可提高隐球菌的阳性检出率。本研究只对隐球菌病例资料进行分析,未作对照研究,有待进一步完善。

参考文献

[1] 姚集鲁. 传染病学临床专论[M]. 广州:广东高等教育出版社,2000: 279.  
[2] 王新德. 神经病学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:204-210.  
[3] 刘晓凤,赵钢. 隐球菌性脑膜炎的诊断与治疗新进展[J]. 陕西医学杂志,2010,39(4):492-493.  
[4] 郭爱华,胡学强. 隐球菌性脑膜炎的诊断与治疗进展[J]. 中国实用内科杂志,2005,25(5):478-480.  
[5] 杜建红,张正春,孔岩,等. 46 例新型隐球菌性脑膜炎临床诊治分析[J]. 浙江临床医学,2013,15(3):306-309.  
[6] 杨明秀,龙小艳. 隐球菌性脑膜炎 48 例临床分析. 医学临床研究

[J],2006,23(3):400-402.  
[7] 班立芳,孔庆飞,王勇鸣,等. 新生隐球菌性脑膜炎的脑脊液标本检验方法分析[J]. 中国医药科学,2012,2(8):83-84.  
[8] Bicanic T, Harrison TS. Cryptococcal meningitis[J]. BrMed Bull, 2005,72(1):99-118.  
[9] 王露露,石凌波,陈万山,等. 乳胶凝集法检测隐球菌荚膜多糖抗原在隐球菌性脑膜炎和隐球菌肺炎中的早期诊断价值[J]. 检验医学,2008,23(1):55-57.  
[10] 吴海峰,乜照燕,吕翠环,等. 结核性脑膜炎与新型隐球菌性脑膜炎的鉴别[J]. 河北医药,2012,34(7):1030.  
[11] 郭章宝,于森,付佩彩,等. 新型隐球菌性脑膜炎与结核性脑膜炎患者的脑脊液比较分析[J]. 神经损伤与功能重建,2012,7(6): 457-458.  
[12] 王霞,刘晓潭,张冬杰. 脑脊液中腺苷酸脱氢酶活性检测在结核性脑膜炎临床诊断和预后判断中的价值[J]. 新乡医学院学报, 2012,29(12):914-915,918.  
[13] 易芳,谭利民,肖波,等. 隐球菌性脑膜炎 78 例脑脊液细胞学改变 [J]. 脑与神经疾病杂志,2010,18(2):135-136.

(收稿日期:2013-11-24)

• 经验交流 •

类风湿性关节炎实验室联合检测的临床应用价值

汪 薇<sup>1</sup>,张利方<sup>1</sup>,石丽萍<sup>1</sup>,胡 鹏<sup>2</sup>

(1. 广州军区武汉总医院检验科,湖北武汉 430070;2. 武汉市第十一医院检验科,湖北武汉 430015)

**摘要:**目的 探讨类风湿因子(RF)抗体、抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)、抗角蛋白抗体(抗 AKA 抗体)与 RF 实验室联合检测对类风湿性关节炎(RA)诊断的临床应用价值。**方法** 该院就诊的 RA 患者 324 例,非 RA 患者 142 例,健康体检人员 159 例,共 625 份血清标本。采用比浊法检测 RF;酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测 RF 抗体和抗 CCP 抗体,间接免疫荧光法检测抗 AKA 抗体。**结果** 324 例 RA 患者中 IgM-RF 抗体、IgG-RF 抗体、IgA-RF 抗体,抗 CCP 抗体,抗 AKA 抗体和 RF 的阳性率分别为 80.9%、70.1%、48.1%、76.1%、40.7%和 73.8%;RF 抗体与抗 CCP 抗体二项联合检测敏感度为 61.1%,特异度为 95.1%;RF 抗体、抗 CCP 抗体与抗 AKA 抗体三项联合检测敏感度为 35.8%,但特异度高达 100%。**结论** RF 抗体检测敏感度最高,可作为筛查 RA 的理想首选方法。联合检测 RF 抗体、抗 CCP 抗体、抗 AKA 抗体,可作为确诊 RA 的重要依据。

**关键词:**关节炎,类风湿; 类风湿因子; 酶联免疫吸附测定

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.061 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)05-0634-02

类风湿关节炎(RA)是常见的以关节滑膜慢性炎症病变为主要表现的自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>。主要表现为对称性多关节炎,如果治疗不及时或治疗不当,可导致丧失劳动力甚至终生残疾<sup>[2]</sup>。实验室检查 RA 最常用的指标是比浊法类风湿因子(RF)的测定,传统的 RF 测定不分型且方法简单,但敏感度、特异度均不理想。若能运用合适的实验室检测组合对该病进行早期检测,将大大提高患者的生活质量。本实验对 RF、IgM-RF、IgG-RF、IgA-RF 抗体分型、抗环瓜氨酸肽抗体(抗 CCP 抗体)及抗角蛋白抗体(抗 AKA 抗体)6 项检测结果进行评价,讨论其指标在 RA 诊断中的临床应用价值。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2012 年 5 月至 2013 年 5 月广州军区武汉总医院就诊 RA 患者 324 例(RA 组),其中男性 112 例,女性 112 例,年龄 30~70 岁,所有病例均符合 2010 年美国风湿病学会联合欧洲抗风湿病联盟共同提出的 RA 新的分类标准<sup>[3]</sup>。非 RA 患者共 142 例(非 RA 组),包括系统性红斑狼疮 72 例、

干燥综合症 38 例、强直性脊柱炎 8 例、骨关节炎 10 例、银屑病性关节炎 7 例。其中男性 49 例,女性 93 例,年龄 19~66 岁,其患者符合国际相应的诊断标准。159 例健康体检者(对照组)均来自本院体检中心。

1.2 方法

**1.2.1 RF 检测** 采用美国 Beckman 公司提供的 IMMAGE 特种蛋白分析系统,RF 试剂盒由美国 Beckman 公司提供原装试剂盒。操作严格按试剂盒说明进行。RF>30 IU/ mL 判为阳性。

**1.2.2 RF 抗体分型检测** 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)定量检测试剂盒,试剂由德国 AESKULISA 公司提供,操作严格按试剂盒说明进行。IgG-RF>85 U/mL 判为阳性;IgA-RF>24 U/mL 判为阳性;IgM-RF>30 U/mL 判为阳性。

**1.2.3 抗 CCP 抗体检测** 采用 ELISA 定量检测试剂盒,试剂由德国 EUROIMMUN 医学实验诊断有限公司提供,操作严格按试剂盒说明进行。血清样本为 1:100 倍稀释。如抗体浓