

• 论 著 •

隐球菌荚膜多糖抗原检测对人类免疫缺陷病毒感染 继发隐球菌脑膜炎患者的临床价值

尚鹏程, 许 娇, 裴晓芳[△]

(四川大学华西公共卫生学院, 四川成都 610000)

摘 要:目的 探讨隐球菌荚膜多糖抗原检测对 HIV 感染继发隐球菌脑膜炎患者诊断及治疗观察的意义。方法 2012 年 1 月至 2013 年 5 月华西医院 HIV 感染继发隐球菌脑膜炎患者 23 例。采集隐球菌脑膜炎治疗前后的脑脊液和血清标本, 作墨汁染色并用 API20CAUX 真菌鉴定试剂条鉴定到种, 行隐球菌荚膜抗原检测, 并对其中 13 例患者治疗前后脑脊液和血清标本中荚膜抗原滴度变化进行配对 *t* 检验。结果 治疗后脑脊液和血清标本中隐球菌荚膜抗原滴度下降, 与治疗前比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 13 例患者隐球菌脑膜炎治疗有效, 但真菌培养及涂片均显示阴性后, 部分患者隐球菌荚膜抗原仍为阳性。结论 隐球菌荚膜抗原检测有利于提高 HIV 感染继发隐球菌脑膜炎患者的早期诊断; 抗原滴度能用来判断疗效, 但不能作为治愈指标。

关键词: 人类免疫缺陷病毒; 隐球菌荚膜多糖抗原; 隐球菌性脑膜炎; 乳胶凝集

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)19-2836-03

The significance and therapy monitoring of detection cryptococcal capsular polysaccharide antigen in HIV-positive patients with secondary cryptococcal meningitis

Shang Pengcheng, Xu Jiao, Pei Xiaofang[△]

(School of Public Health, the West China Medical School of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610000, China)

Abstract: Objective To discuss the significance and therapy monitoring of detection cryptococcal capsular polysaccharide antigen in HIV-positive patients with secondary cryptococcal meningitis. **Methods** Cerebrospinal fluid and serum samples of 23 HIV-positive patients with secondary cryptococcal meningitis were collected, retrospective analysis was conducted in the capsular antigen titer changes data which from 23 patients with the cerebrospinal fluid (CSF) and serum samples before and after treatment. And the capsular antigen in 13 patients before and after treatment of CSF and serum specimens were compared in matching *t* test. **Results** The CSF and serum samples before and after treatment of cryptococcal capsular antigen titer decreased both with statistical significance ($P < 0.01$), but by effective treatment and fungal culture and smears were negative in the 13 patients, the cryptococcal capsular antigen was still positive. **Conclusion** Cryptococcal capsular antigen test could help improve HIV-infected patients with cryptococcal meningitis secondary to early diagnosis, it could be used to determine the efficacy of antigen titer, but not as a cure indicator.

Key words: human immunodeficiency virus; cryptococcal capsular polysaccharide antigen; cryptococcal meningitis; latex agglutination

隐球菌脑膜炎是 HIV 感染患者最为常见的中枢神经系统机会性感染。该疾病发病隐匿、病死率高, 临床症状和体征不具有特异性, 较难与其他中枢神经系统疾病, 如结核性脑膜炎等相鉴别。隐球菌荚膜多糖抗原检测是近年来用于隐球菌脑膜炎早期诊断和治疗监测的新指标, 与传统的墨汁染色、真菌培养及隐球菌抗体检测相比, 有更高的灵敏度和良好的病程相关性。但隐球菌荚膜抗原检测在 HIV 感染患者中的应用评价报道目前较少见, 本研究旨在探讨隐球菌荚膜抗原检测在 HIV 感染继发隐球菌脑膜炎患者诊断及治疗中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择华西医院 HIV 感染继发隐球菌脑膜炎患者 23 例纳入研究组, 其中男 14 例, 女 9 例, 年龄 23~69 岁。隐球菌脑膜炎均经真菌培养阳性确诊, 脑脊液涂片墨汁染色阳性或细胞学诊断明确。对其中 13 例患者进行治疗监测, 男 8 例, 女 5 例, 年龄 23~48 岁。另选择同期 20 例 HIV 感染但无隐球菌脑膜炎患者纳入对照组。

1.2 仪器与试剂 真菌鉴定试剂条 API20CAUX 由法国梅

里埃生物有限公司提供; 隐球菌抗原乳胶凝集试剂由美国 Immuno-Mycologics Inc 公司提供。

1.3 方法

1.3.1 新型隐球菌检测 留取受试者治疗前、后脑脊液和血液标本。血培养瓶置于全自动培养仪内, 报告阳性后转种至血平板, 分离单个菌落作墨汁染色并用 API20CAUX 真菌鉴定试剂条鉴定到种。脑脊液离心后取沉淀作墨汁染色并接种血平板, 取单个菌落用 API20CAUX 真菌鉴定试剂条鉴定到种。

1.3.2 隐球菌荚膜抗原检测 (1) 初筛。取原倍与 1:100 倍稀释后脑脊液 (或血清) 各 25 μ L 于反应板上, 同时设阴、阳性对照及蛋白酶质控各 25 μ L, 加乳胶试剂 25 μ L 摇匀 5 min 观察结果。(2) 效价测定。取脑脊液或血清倍比稀释 1:2~1:1024, 取稀释标本 25 μ L 于反应板上, 同时设阴、阳性对照及蛋白酶质控各 25 μ L, 摇匀 5 min 观察结果。

1.4 结果判读 判读标准: (一) 无颗粒均匀的乳浊液; (+) 乳状背景下细小颗粒; (++) 轻微团块背景下小但明显块状; (+++) 清晰背景下大和小的团块; (++++) 非常

清晰背景下大的团块。当隐球菌荚膜抗原凝集试验出现(++)及以上时判为阳性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理及统计学分析,13 例患者标本治疗前、后隐球菌荚膜抗原滴度取常用对数(lgX 滴度)后采用配对 *t* 检验进行比较,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 隐球菌荚膜抗原检测的诊断时效性及灵敏度 研究组 23 例患者隐球菌荚膜抗原检测结果中,血清检测阳性时间为入院后 1 d 内;脑脊液检测阳性时间为入院后 0~5 d,中位数为 2 d;脑脊液墨汁染色阳性时间为 0~14 d,中位数为 9 d;脑脊液培养并鉴定到种的时间为入院后 5~21 d,中位数为 16 d。在 23 例患者的脑脊液墨汁染色结果中,8 例经过 2 次采集脑脊液标本后查见隐球菌,2 例经过 3 次及以上采集脑脊液标本后查见隐球菌。23 例患者脑脊液标本经培养后,12 例患者标本第 1 次培养后有隐球菌菌落,3 例患者标本经 2 次培养后有隐球菌菌落,8 例患者标本未培养出隐球菌菌落。对照组 20 例 HIV 感染患者的血清标本中有 8 例隐球菌荚膜抗原检测阳性,脑脊液标本检测均为阴性。

2.2 隐球菌荚膜抗原检测对治疗效果的评估价值 研究组 13 例进行治疗监测患者治疗前脑脊液和血清中隐球菌荚膜抗原均为阳性,平均滴度分别为 2.825±0.196、2.964±0.113,且脑脊液荚膜抗原滴度低于血清荚膜抗原滴度。经抗真菌治疗后患者脑脊液和血清中隐球菌荚膜抗原滴度均明显降低,平均滴度分别为 2.764±0.113、2.362±0.167,治疗前后脑脊液和血清中荚膜抗原滴度差异均有统计学意义(*t*=14.049、*t*=17.664,*P*<0.05)。

2.3 治疗监测结果 13 例进行治疗监测患者中,有 2 例患者在开展抗真菌治疗后出现神经系统症状无缓解或加重,脑脊液生化指标(包括脑脊液蛋白、葡萄糖、氯)继续升高,监测荚膜抗原发现血清和脑脊液的滴度都增加;在改变治疗方案后,患者症状减轻,脑脊液生化指标趋于正常,脑脊液和血清中的隐球菌荚膜抗原滴度均降低;11 例患者在治疗有效后脑脊液生化指标好转,血清和脑脊液中的隐球菌荚膜抗原滴度迅速降低。在其真菌培养及涂片均阴性后,对部分(6 例)患者脑脊液和血清中的隐球菌荚膜抗原继续监测,发现患者血清和脑脊液中的隐球菌荚膜抗原滴度维持在一个较低水平,持续较长时间不变,见表 1。

表 1 真菌培养及涂片阴性后患者治疗前后血清或脑脊液荚膜抗原滴度变化

患者	治疗前	治疗后						
		1 周	2 周	3 周	4 周	6 周	8 周	12 周
1	1 024 (512)	128 (128)	128 (128)	64 (32)	64	64	64	64
2	1 024(512)	256(128)	256(128)	128(64)	128	128	128	128
3	1 024(1 024)	256(256)	128(256)	128(128)	64	64	64	—
4	1 024	256	64	64	64	64	64	64
5	1 024	512	256	128	128	64	64	64
6	512	128	32	32	32	—	—	—

括号内数据为脑脊液荚膜抗原滴度;—:无数据。

3 讨 论

隐球菌脑膜炎是由新型隐球菌引起的最为常见的中枢神经系统隐球菌病,其相对分子质量大,不能自由通过血脑屏障,因此脑脊液与血清中抗原不能相互扩散造成干扰^[1-2]。目前隐球菌脑膜脑炎诊断多依赖墨汁染色、细胞学或培养的方法,阳性率低,耗时长。据报道,隐球菌荚膜抗原乳胶凝集实验方法的灵敏度可达 98%,特异度达 99%^[3]。隐球菌荚膜抗原检测有利于提高 HIV 感染患者继发隐球菌脑膜炎的早期诊断率,特别是对传统诊断技术无法检测到隐球菌的病例有更大的价值。隐球菌荚膜抗原滴度能用来判断治疗效果,但不能作为治愈指标。对于隐球菌脑膜脑炎患者,脑脊液隐球菌荚膜抗原检测较血清隐球菌荚膜抗原检测更具有诊断价值。本研究结果显示在确诊的患者血清和脑脊液标本中均可检出荚膜多糖抗原。传统方法同时结合乳胶凝集试验将大大提高诊断准确率,减少不必要的漏诊^[4]。尤其对反复培养阴性而临床症状相符的患者更有意义。

13 例患者中 3 例患者同时采集了治疗前后的脑脊液和血清标本。治疗前脑脊液中抗原滴度明显低于血清标本。这与 HIV 阴性感染者的结果恰恰相反,可能与 HIV 阳性感染者的细胞免疫缺陷有关,使血液循环中荚膜抗原清除减缓^[2]。对

13 例患者进行治疗监测发现,发病初期脑脊液中抗原滴度都很高,当病情进展时,抗原滴度常常会增加,而临床表现改善时,抗原滴度会有所下降,所以隐球菌抗原乳胶试验有诊断和估计预后的价值。治疗不彻底或无效及病情反复者,抗原滴度会反弹升高^[5]。经有效治疗后,真菌脑脊液墨汁染色或真菌培养均转阴,抗原滴度会下降但不会转阴。本研究结果显示治疗前后血清荚膜抗原滴度较脑脊液抗原滴度差异更明显,这与许多国外报道结果一致^[6-11]。

综上所述,对于 HIV 感染继发隐球菌脑膜脑炎者,检测脑脊液中的抗原效价,无论是用于隐球菌脑膜脑炎的诊断还是进行治疗疗效的评价,都不失为一种高效、快速的诊断方法。使继发隐球菌脑膜脑炎的 HIV 感染者得到早期诊断、早期用药,大大降低病死率。由于 HIV 感染患者的细胞免疫功能受损,使外周血中隐球菌荚膜抗原清除速度减慢,不能及时反映隐球菌感染的治疗状况,血清中多糖荚膜抗原检测有助于辅助诊断,对于疗效监测作用不大。

参考文献

[1] 王露霞,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(下转第 2839 页)

性 ALT 异常率高于女性,差异有统计学意义($P<0.05$)。女性 TG、TC 异常率高于男性,差异有统计学意义($P<0.05$)。GLU 水平男性与女性差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

2.3 不同年龄段检测指标均值比较 男性 ALT 均值最高在 20~<40 岁年龄段,TG 均值最高在 40~<60 岁年龄段,TC

均值最高在 60~<80 岁年龄段,GLU 均值最高在大于或等于 80 岁年龄段,女性 ALT 均值最高在 0~<20 岁年龄段,TG 均值最高在 60~<80 岁年龄段,TC 均值最高在大于或等于 80 岁年龄段,GLU 均值最高在年龄段大于或等于 80 岁年龄段。

表 3 同年龄段检测指标均值比较

年龄段 (岁)	男性					女性				
	<i>n</i>	ALT(U/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	GLU(mmol/L)	<i>n</i>	ALT(U/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	GLU(mmol/L)
0~<20	7	20.09	1.00	3.39	5.0	9	25.37	1.34	3.34	5.26
20~<40	76	37.93	1.70	3.75	5.0	217	17.09	1.11	3.64	4.65
40~<60	662	27.51	1.76	4.13	5.3	923	21.44	1.57	4.11	5.21
60~<80	1 015	21.09	1.33	4.21	5.3	1 048	19.92	1.66	4.39	5.53
≥80	74	15.89	1.10	4.14	5.5	50	14.22	1.45	4.50	5.54

3 讨 论

随着生活水平的不断提高,与生活方式有关的慢性病已成为世界上最首要的死亡与致残原因,已成为威胁社区居民健康的主要危险因素。本研究通过对辖区居民 4 042 例体检者的体检资料进行分析,结果显示本辖区内居民 ALT、TG、TC、GLU 水平有如下特点:(1)GLU 异常检出率和脂类异常检出率均有随年龄增长而逐渐升高的趋势,这一点与国内文献报道一致^[1-3];国内徐杰伟等^[4]报道 GLU 水平与年龄呈直线正相关。随着年龄增大,人的器官会发生退行性变化,胰岛素的受体数量下降,加之生活节奏快,缺乏锻炼,使血糖浓度随年龄增长而呈上升趋势。男性 TC、TG 水平 20~<40 岁为高峰,60 岁及以后,血脂开始随着年龄的增长而降低,女性仍维持较高水平,与王翠兰^[5]报道一致。TG、TC 异常率女性高于男性^[6]。(2)ALT 水平在 20~<40 岁、40~<60 岁年龄段水平较高,并且男性水平及异常率明显高于女性。反映了这两个年龄段的人生活节奏快,应酬多,饮酒多等不良的生活方式,加上不规律的生活习惯,休息不足,身体处于长期疲劳、亚健康状态,使肝细胞受损严重,血清 ALT 升高。因此有必要加强健康教育,提高保健意识,防止疾病的发生。

社区卫生服务机构是医疗保健的基层单位,应制定合理的

干预方案,降低慢性病的发病率,提高城乡居民的生活质量。同时发动社会力量,通过多种形式的健康教育宣传活动加强城乡居民的自我保健意识。社区卫生服务机构还应加强对高危人群健康管理,有计划地早期监测、定期随诊,从而避免血糖、血脂、肝功能异常带来的危害,减少疾病的发生。

参考文献

[1] 周厚成,韩丽君,黄宇泽,等.汕头市正常人群空腹血糖水平的调查分析[J].医学文选,2005,24(1):13-15.

[2] 陈永宏,周建中,龚涛,等.16 367 例健康体检人群空腹血糖状况分析[J].四川医学,2009,30(6):818-820.

[3] 刘运双,张丽萍,李风华,等.10 502 例体检者空腹血糖分析[J].国外医学:临床生物化学与检验学分册,2005,26(3):181-182.

[4] 徐杰伟,蔡早育,温少磊.佛山地区 3 394 例健康体检人员空腹血糖分析[J].江西医学检验,2004,22(2):149.

[5] 王翠兰.山西大同地区健康人群血脂水平调查与分析[J].实用医技杂志,2010,17(3):220-222.

[6] 张科英.宁波地区 8 445 名健康体检人群血脂异常率分析[J].检验医学,2012,27(2):151-152.

(收稿日期:2015-07-12)

(上接第 2837 页)

断价值[J].检验医学,2008,23(1):55-57.

[2] 陈灏珠,林果为,王吉耀.实用内科学[M].12 版.北京:人民卫生出版社,2005.

[3] Banerjee U,Datta K,Majumdar T,et al. Cryptococcosis in India: the awakening of a giant[J]. Med Mycol,2011,39(1):51-67.

[4] 王鑫,刘瑞春,何俊英,等.隐球菌性脑膜炎患者抗原抗体检测的临床评价[J].脑与神经疾病杂志,2008,16(4):409-411.

[5] 卢洪洲,曹天高,周颖杰,等.乳胶凝集试验对新生隐球菌性脑膜炎诊断及治疗的意义[J].中华传染病杂志,2005,24 (3):209-211.

[6] Cherniak R,Sundstrom JB. Polysaccharide antigens of the capsule of Cryptococcus neoformans[J]. InfectImmun,1994,62(5):1507-1512.

[7] Garro S,Bava AJ. Cryptococcus neoformans in the gastric contents of an AIDS patient[J]. Rev Argent Microbiol,2012,38(4):

206-208.

[8] Collazos J. Opportunistic infections of the CNS in patients with AIDS[J]. Dia Manag:CNS Drugs,2013,17(12):869-887.

[9] Graybill JR,Sobel J,Saag M,et al. Diagnosis and management of increased intracranial pressure in patients with AIDS and cryptococcal meningitis[J]. Clin Infect Dis,2010,30(1):47-54.

[10] Negroni R,Cendoya C,Arechavala AI,et al. Detection of Cryptococcus neoformans capsular polysaccharide antigen in asymptomatic HIV-infected patients[J]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2011,37(5):385-389.

[11] Pettoello-Mantovani M,Casadevall A,Goldstein H. The presence of cryptococcal capsular polysaccharide increases the sensitivity of HIV-1 coculture in children[J]. Ann Acad Sci. 1993,29 (693): 281-283.

(收稿日期:2015-06-24)