

论著·临床研究

脑脊液乳胶凝集试验在儿童新型隐球菌性 脑膜炎诊断和治疗中的应用

常杏芝¹ 李若瑜² 王欲琦³ 王爽¹ 熊晖¹ 吴晔¹ 包新华¹ 张月华¹ 秦炯¹

(1. 北京大学第一医院儿科, 北京 100034; 2. 北京大学第一医院皮肤科, 北京 100034;
3. 保定市妇幼保健院儿科, 河北 保定 071000)

[摘要] **目的** 探讨脑脊液乳胶凝集试验在隐球菌性脑膜炎诊断和治疗中的应用价值。**方法** 回顾性分析10例新型隐球菌性脑膜炎患儿的临床资料。通过临床表现,结合脑脊液墨汁染色、乳胶凝集试验与真菌培养,确诊新型隐球菌脑膜炎。随访2~4年抗真菌治疗的效果和乳胶凝集试验滴度变化。**结果** 10例患儿中,首次脑脊液检查乳胶凝集试验和/或墨汁染色阳性者8例(乳胶凝集试验滴度1:64~1:1024);另2例中1例在第4次检查时始出现乳胶凝集试验阳性(滴度1:256),1例在第11次检查时墨汁染色阳性而确诊。经正规抗真菌治疗后,6例痊愈,2例死亡,2例失访。治疗后6个月、1年、2年和4年脑脊液乳胶凝集试验仍阳性(滴度1:2~1:16)者分别有6例、3例、2例和1例。**结论** 脑脊液乳胶凝集试验对于新型隐球菌性脑膜炎的快速诊断具有重要价值,但不宜作为停止抗真菌治疗的依据。

[中国当代儿科杂志, 2011, 13(2): 115-118]

[关键词] 乳胶凝集试验; 隐球菌脑膜炎; 儿童

[中图分类号] R742 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)02-0115-04

Value of latex agglutination test in the diagnosis and treatment of cryptococcal meningitis in children

CHANG Xing-Zhi, LI Ruo-Yu, WANG Yu-Qi, WANG Shuang, XIONG Hui, WU Ye, BAO Xin-Hua, ZHANG Yue-Hua, QIN Jiong. Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China (Qin J, Email: qinjiong@263.net)

Abstract: Objective To evaluate the value of cryptococcal latex agglutination test in the diagnosis and treatment of cryptococcal meningitis in children. **Methods** The clinical data of 10 children with cryptococcal meningitis were retrospectively studied. Cryptococcal meningitis was confirmed based on clinical manifestations, India ink stain, cryptococcal latex agglutination test or cryptococcal culture. The outcome of antifungal treatment and the changes of latex agglutination test titer were followed up for 2 to 4 years. **Results** Latex agglutination test and/or India ink stain were positive (titer 1:64-1:1024) in 8 patients in the first examination of cerebrospinal fluid. In the other 2 patients, latex agglutination test was positive (titer 1:256) in the fourth examination of cerebrospinal fluid in one, and India ink stain was positive in the eleventh examination in the other. After antifungal treatment, six patients were cured, two patients died, and two patients were lost to follow-up. The positive cryptococcal latex agglutination test (titer 1:2-1:16) was seen respectively in six, three, two and one cured patients 6 months, 1 year, 2 years and 4 years later. **Conclusions** The cryptococcal latex agglutination test of cerebrospinal fluid is valuable for the quick and early diagnosis of cryptococcal meningitis; however, the decision of withdrawal of antifungal treatment should not rely on the results of the test.

[Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13(2): 115-118]

Key words: Latex agglutination test; Cryptococcal meningitis; Child

儿童新型隐球菌性脑膜炎是临床较常见、预后最严重的深部真菌感染类型之一。该病诊断困难,需依赖于脑脊液的病原学检查。脑脊液墨汁染色与真菌培养是常用的新型隐球菌性脑膜炎诊断手段,但墨汁染色的阳性率较低,而真菌培养又需时较长。

采用乳胶凝集试验检测新型隐球菌荚膜多糖抗原是一种简便、快速、特异的实验诊断方法,在国内外得到广泛应用^[1]。在国外,该方法不仅常规用于新型隐球菌感染性疾病的诊断^[2],还用于艾滋病高发地区新型隐球菌感染的筛查^[3]。国内有报道采用血

[收稿日期] 2010-06-15; [修回日期] 2010-08-19

[作者简介] 常杏芝,女,博士,副主任医师。

[通信作者] 秦炯,教授。

清乳胶凝集试验诊断肺隐球菌病^[4],以及采用脑脊液乳胶凝集试验诊断新型隐球菌性脑膜炎者^[5]。但由于其试剂盒价格昂贵,国内实验室常规开展仍较少。本研究通过对10例患儿的回顾性分析,探讨乳胶凝集试验在儿童新型隐球菌性脑膜炎诊断和治疗中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1998~2008年我院儿科诊断和治疗的新型隐球菌性脑膜炎患儿10例。新型隐球菌性脑膜炎诊断依据^[6]:①临床表现符合中枢神经系统感染;②脑脊液常规、生化检查异常;③病原学检查阳性,脑脊液乳胶凝集试验阳性 and/或墨汁染色找到或脑脊液内培养出新型隐球菌。其中男性6例,女性4例。其中8例来自农村,2例来自城市。起病年龄为2岁9个月至10岁,病程为26d至1年3个月。1例有明确鸽粪接触史。

1.2 乳胶凝集试验

乳胶凝集试验采用美国 Immuno-Mycologics 有限公司生产的隐球菌抗原乳胶检测系统。取患儿脑脊液标本、阳性及阴性对照标本,分别与含高效价抗隐球菌荚膜多糖抗体的乳胶试剂混匀,出现凝集颗粒即为阳性。将脑脊液倍比稀释后重复上述试验,稀释的比例即为乳胶凝集试验的滴度。

1.3 治疗与随访

确诊新型隐球菌性脑膜炎后立即给予抗真菌治疗,并根据真菌培养药敏检测结果调整治疗。所有患儿均给予两性霉素B静脉注射(累积剂量为50~100 mg/kg,最大量3 g),并同时口服氟康唑和5-氟胞嘧啶,2例口服了伊曲康唑;1例在两性霉素B达最大累积剂量后因疗效欠佳而换用伊曲康唑静脉注射2个月。其中8例同时给予两性霉素B鞘内注射20~30次(两性霉素B鞘注累积剂量15~20 mg)。抗真菌治疗总疗程为1~1.5年。监测患儿临床表现、脑脊液压力、常规与生化的变化,同时监测脑脊液墨汁染色、乳胶凝集试验滴度。在治疗后2~4年随访患者临床表现,6例患者随访脑脊液乳胶凝集试验和墨汁染色,其中1例随访了血清乳胶凝集试验。

2 结果

2.1 症状与体征

所有患儿的首发症状均为发热和头痛。其中6

例急性起病,4例为亚急性或慢性起病。8例患儿发热为不规则的中低度热,2例为高热。头痛早期为间断性,以额、颞、顶部为著,逐渐加重并呈持续性,可伴有眼痛,2例伴随复视和斜视;8例伴呕吐;4例伴意识障碍,其中3例表现为嗜睡,1例为烦躁不安;3例出现抽搐,其中部分运动性发作1例,全身强直阵挛发作2例;3例患儿病后体重下降,其中1例显著消瘦。体检:所有患儿均存在颈抵抗,1例偏瘫,2例腱反射亢进,3例外展神经麻痹,6例眼底检查发现视乳头水肿,1例全身多处浅表淋巴结轻中度肿大,直径0.2~0.5 cm。

2.2 辅助检查

入院后首次血常规检查,6例白细胞升高($13.3 \sim 34.3 \times 10^9/L$),其中5例分类以中性粒细胞为主(69%~85%);1例伴贫血(Hb 85 g/L);3例血沉增快(45~66 mm/h)。所有患儿免疫球蛋白均正常,T、B淋巴细胞亚群比例和计数均在正常范围。入院后所有患儿脑脊液压力显著升高,1例颅内压为230 mmH₂O,其余9例均>290 mmH₂O,其中5例>350 mmH₂O,1例因病情危急行侧脑室穿刺引流术,在第1个24 h内引流脑脊液180 mL。首次脑脊液检查有核细胞数5~419/mm³,其中9例以单核细胞为主,1例以多核细胞为主;脑脊液糖均显著降低,最低为0.04 mmol/L;所有患儿脑脊液内蛋白均升高,最高达3.3 g/L;3例氯化物轻度下降,最低为100.5 mmol/L。10例患儿均接受了脑脊液墨汁染色和真菌培养,其中8例接受了脑脊液乳胶凝集试验检查。首次脑脊液病原学检查阳性者有8例,其中6例为培养见新型隐球菌生长。见表1。需要注意的是首次病原学检查阴性的2例患儿,其中1例在第11次脑脊液检查时出现墨汁染色阳性,在之后的脑脊液检查中又有4次墨汁染色阳性;另1例患儿在第4次脑脊液检查时出现乳胶凝集试验阳性,滴度为1:256,而且患儿同期的血清乳胶凝集试验也为阳性,滴度为1:64,此后的脑脊液检查中又有5次乳胶凝集试验均为阳性,滴度为1:8~256。在6例真菌培养阳性的患儿中,4例对两性霉素B敏感,1例处于临界状态,1例耐药;6例对5-氟胞嘧啶均敏感,5例对氟康唑敏感,1例对伊曲康唑敏感。所有患儿均在起病后15d至1个月时接受了头颅CT检查,其中4例表现为脑室扩大,脑沟增宽;6例正常。有6例患儿在起病后1~3个月接受了头颅增强MRI扫描,提示脑膜强化,其中2例可见双侧基底节区点状异常信号。所有患儿在入院后均接受了脑电图检查,结果均提示背景慢波增多。伴全身

多处淋巴结肿大的1例,入院后血培养见新型隐球菌生长,同时该患儿腹部B超见大量肿大淋巴结,淋巴结活检提示为新型隐球菌肉芽肿。

2.3 治疗与随访

经抗真菌治疗半个月左右,所有患儿全身情况均逐步改善。治疗后1个月左右,患儿体温均降至正常,头痛、呕吐症状消失。脑脊液常规和生化恢复正常的时间不一,1例患儿为治疗后2周,8例在治疗后1~2个月,1例为治疗后3个月。有2例患儿(例1、例2)在治疗过程中再次出现头痛、呕吐,复查头颅CT提示梗阻性脑积水,患儿自动出院后死亡。2例(例4、例5)临床症状改善后,因经济原因自动出院后失访。痊愈6例,在发病后2~4年随访,临床无症状,脑脊液压力、常规、生化检查正常;墨汁染色和真菌培养在治疗后3个月至2年的随访中始终阴性(表2);脑脊液乳胶凝集试验在治疗后6个月仍均为阳性(滴度1:4~16),在治疗后1年和2年时仍持续阳性的分别有3例(滴度1:2~8)

和2例(滴度1:2),其中1例(例7)在发病4年后仍呈阳性(滴度1:2),此例患者同时随访了血清乳胶凝集试验,在治疗后3个月、6个月、1年、2年与4年时的滴度分别为1:64、1:16、1:32、1:32和1:16。

表1 首次脑脊液病原学检查结果

病例	墨汁染色	乳胶凝集	真菌培养
1	+	未做	+
2	+	未做	-
3	-	1:256	-
4	+	1:64	-
5	+	1:256	+
6	+	1:64	+
7	+	1:1024	+
8	+	1:128	+
9	+	1:256	+
10	+	1:128	-

注:病例2在第11次检查时始出现墨汁染色阳性;病例3在第4次检查时始出现乳胶凝集阳性。

表2 脑脊液病原学随访结果

病例	治疗后3个月			治疗后6个月			治疗后1年			治疗后2年		
	墨汁染色	乳胶凝集	培养	墨汁染色	乳胶凝集	培养	墨汁染色	乳胶凝集	培养	墨汁染色	乳胶凝集	培养
3	-	1:8	-	-	1:8	-	-	1:2	-	-	-	-
6	-	1:8	-	-	1:4	-	-	-	-	-	-	-
7	-	1:16	-	-	1:8	-	-	1:8	-	-	1:2	-
8	-	1:4	-	-	1:2	-	-	-	-	-	-	-
9	-	1:32	-	-	1:16	-	-	1:8	-	-	1:2	-
10	-	1:8	-	-	1:4	-	-	-	-	-	-	-

3 讨论

新型隐球菌性脑膜炎是临床常见的深部真菌感染。该病的临床表现以及脑脊液常规和生化的改变与其他病原所致中枢神经系统感染时的变化相似。因此,该病临床常被误诊^[7-8]。

脑脊液的病原学检查是确诊新型隐球菌性脑膜炎的关键。脑脊液直接涂片墨汁染色是最常用的快速诊断方法,虽然脑脊液离心后涂片可以提高阳性率^[9],但阳性率仍低,需要多次重复检查。本组患儿中有1例是在第11次脑脊液检查时才得以明确诊断的。该患儿由于病原学迟迟未能明确,在接受诊断性抗结核治疗的过程中不仅临床症状未能改善,还要承受抗结核药物的毒副反应和多次腰椎穿刺的痛苦。但在真菌培养阴性,又没有其他诊断方法的情况下,重复脑脊液墨汁染色也是非常必要的。

国内有报道在第19次脑脊液检查才找到隐球菌的^[10]。真菌培养是病原学检查的另一重要方法。缺点是培养周期比较长,容易延误诊断,且阳性率受不同实验室培养条件影响^[9-10]。抗原抗体检测是间接证实病原体存在的有效方法,缺点是存在一定的假阴性和假阳性。王鑫等^[11]对已确诊的28例隐球菌性脑膜炎患者用乳胶凝集试验和试管凝集法分别检测新型隐球菌的抗原和抗体,认为乳胶凝集试验对新型隐球菌性脑膜炎的早期诊断更具诊断意义。此外,由于人群对隐球菌普遍易感,很多健康人可能隐性感染,使得隐球菌抗体在人群中普遍存在。因此,与抗体检测相比,乳胶凝集试验检测新型隐球菌抗原对疾病的诊断更具有价值。Bloomfield等1963年首先描述了利用乳胶凝集试验检测血和脑脊液内的隐球菌荚膜多糖抗原^[12]。有报道在隐球菌性脑膜炎患者中,脑脊液的抗原检测阳性率为99%,血清中抗原检测阳性率为86%^[11]。目前,国内外报

道该方法的敏感性为93%~100%，特异性为93%~98%^[1,5,11]。与传统的墨汁染色和真菌培养方法比较，脑脊液乳胶凝集试验具有更高的阳性检测率和敏感性，更适于隐球菌性脑膜炎的早期快速诊断^[13]。在开展本项检查前，本组有1例患儿在第11次脑脊液检查时才找到隐球菌而确诊；而另1例墨汁染色阴性的患儿，在第4次脑脊液检查时就因乳胶凝集试验阳性而确诊。本研究结果再次证实乳胶凝集试验较墨汁染色法更敏感，更有助于隐球菌性脑膜炎的快速诊断。

不仅如此，乳胶凝集试验滴度的变化还可以反映治疗的疗效，有助于预后评估^[14]。有研究报道抗真菌治疗后，伴随临床症状的改善，脑脊液内乳胶凝集试验的滴度较治疗前是逐渐降低的；而治疗不彻底或症状复发的患者，通常伴随连续几次滴度不降低或升高^[15]。本研究结果与文献报道相符，本组乳胶凝集试验阳性的患儿，在接受抗真菌治疗3~4周后，乳胶凝集试验的滴度较治疗前均明显降低。因此，本研究认为，乳胶凝集试验与墨汁染色联合应用，既能相互印证又能提高阳性率，不但能有效防止临床漏诊，还可监测药物治疗效果。

隐球菌性脑膜炎治疗困难，容易复发。对于抗真菌治疗的疗程，虽然有指南，但停药的具体时机一直困扰着临床医师。如何能最大限度减少疾病复发，还能尽早停药以最大程度减少药物毒副作用？既然乳胶凝集试验滴度的升降变化反映了治疗疗效^[14-15]，那么，可否依据乳胶凝集试验结果决定是否停止治疗呢？本研究随访发现，在有效抗真菌治疗后，在脑脊液墨汁染色和真菌培养阴性的情况下，脑脊液内乳胶凝集试验可以持续阳性（滴度1:2）达2年之久，甚至达4年（1例患儿在痊愈后4年复查脑脊液乳胶凝集试验仍为阳性）。对乳胶凝集试验持续阳性的患儿，在抗真菌治疗1~1.5年后乳胶凝集试验滴度 \leq 1:8的情况下停用了抗真菌药物，之后的临床随访并未见疾病复发征象。既往有报道成年患者在治疗后3个月，脑脊液乳胶凝集试验仍为阳性，推测可能与死亡的新型隐球菌仍持续释放荚膜多糖抗原有关^[15]。但乳胶凝集试验阳性持续存在1年至数年的尚未见报道，是否因为儿童体内清除此类抗原更缓慢所致尚有待进一步研究。此外，有多种因素如类风湿因子、抗核抗体等均可导致乳胶凝集试验出现假阳性^[16]。本研究中患儿随访后期

（治疗1年后）乳胶凝集试验阳性的滴度均非常低（1:2~1:8），不能排除假阳性的可能性，有待于积累更多的病例进行观察。因此，本研究认为，脑脊液乳胶凝集试验滴度的升降可以反映疗效，但不宜作为决定是否停药的唯一依据。

【参 考 文 献】

- [1] Saha DC, Xess I, Jain N. Evaluation of conventional & serological methods for rapid diagnosis of cryptococcosis[J]. Indian J Med Res, 2008, 127(5):483-488.
- [2] Lin TY, Yeh KM, Lin JC, Wang NC, Peng MY, Chang FY. Cryptococcal disease in patients with or without human immunodeficiency virus: clinical presentation and monitoring of serum cryptococcal antigen titers[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2009, 42(3): 220-226.
- [3] McCarthy KM, Morgan J, Wannermuehler KA, Mirza SA, Gould AM, Mhlongo N, et al. Population-based surveillance for cryptococcosis in an antiretroviral-naïve South African province with a high HIV seroprevalence[J]. AIDS, 2006, 20(17): 2199-2206.
- [4] 牟向东, 李若瑜, 万茜, 王广发, 柳平, 王仁贵, 等. 血清乳胶凝集试验诊断肺隐球菌病的临床对照研究[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2008, 31(5): 360-363.
- [5] 李京红, 张国俊. 新型隐球菌脑膜炎脑脊液的检测方法探讨[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2009, 12(15): 85-87.
- [6] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002;1054-1056.
- [7] 葛朝莉, 白涛涛, 韩漫夫. 影响隐球菌性脑膜炎确诊的因素分析[J]. 疑难病杂志, 2005, 4(2): 74-76.
- [8] 江磊, 张伦理. 新型隐球菌脑膜炎38例[J]. 中华传染病杂志, 2007, 25(4): 203-205.
- [9] 李雯, 林洁. 脑脊液玻片离心染色法在新型隐球菌检测中的应用[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20(12): 1100.
- [10] 郭爱华. 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.
- [11] 王鑫, 刘瑞春, 何俊英, 何红彦, 张静, 时东彦. 隐球菌性脑膜炎患者抗原及抗体检测的临床评价[J]. 脑与神经疾病杂志, 2008, 16(4): 409-411.
- [12] 旷寿金, 殷萍, 黑明燕, 易靖. 儿童新型隐球菌脑膜炎治疗体会(附4例报告)[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 13(9): 147-148.
- [13] 王露霞, 石凌波, 陈万山, 肖增璜, 成德. 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.
- [14] 朱元杰, 张俊勇, 顾菊林, 陈江汉, 徐红, 赵瑾, 等. 非爱滋病患者隐球菌脑膜炎治疗与随访过程中真菌学指标分析[J]. 中华传染病杂志, 2009, 27(9): 540-542.
- [15] 卢洪洲, 曹天高, 周颖杰, 尹有宽, 潘孝彰, 翁心华. 乳胶凝集试验对新型隐球菌性脑膜炎诊断及治疗的意义[J]. 中华传染病杂志, 2005, 23(3): 209-211.
- [16] 王露霞, 刘海英, 石凌波, 邓婉梨, 林碎玲, 李志斌, 等. 隐球菌荚膜多糖抗原乳胶凝集试验干扰因素的探讨[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(2): 159.

（本文编辑：俞 燕）