

隐球菌荚膜抗原检测在隐球菌病中的诊断价值

陈力¹, 何小庆², 陈耀凯² (1. 重庆市公共卫生医疗救治中心急诊科, 重庆 400036; 2. 重庆市公共卫生医疗救治中心感染科, 重庆 400036)

【摘要】 隐球菌病是由隐球菌感染人体引起的一种侵袭性真菌病, 是艾滋病患者及实体器官移植者中常见的感染和致死原因。10年来, 隐球菌病的诊断方法已从真菌培养、墨汁染色, 到目前的隐球菌荚膜抗原 (cryptococcal capsular antigen, CrAg) 检测。CrAg检测操作简便快速, 花费少, 敏感性及特异性高, 因此在世界范围内得到广泛应用。世界卫生组织推荐对高危人群进行CrAg筛查, 对CrAg阳性患者进行抢先治疗, 从而降低病死率。本文就CrAg检测在隐球菌病中的诊断价值展开综述。

【关键词】 隐球菌荚膜抗原; 隐球菌病; 诊断价值

DOI: 10.19871/j.cnki.xfcrbz.2021.01.013

The value of detecting cryptococcal antigen in the diagnosis of cryptococcosis

Chen Li¹, He Xiaoqing², Chen Yaokai² (1. Department of Emergency, Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China; 2. Department of Infectious Diseases, Chongqing Public Health Medical Center, Chongqing 400036, China)

【Abstract】 Cryptococcosis is an invasive fungal disease caused by cryptococcosis, it is a common cause of infection and death among AIDS patients and solid organ transplant recipients. In the past ten years, the diagnostic methods for cryptococcosis have ranged from fungal culture and ink staining to the current detection of cryptococcal capsular antigen (CrAg). CrAg detection is simple and fast, inexpensive, high sensitivity and specificity, so it is widely used worldwide. The World Health Organization recommends CrAg screening for high-risk groups and preemptive treatment of CrAg-positive patients to reduce the mortality rate. This article reviews the value of cryptococcal capsular antigen detecting in the diagnosis of cryptococcosis.

【Key words】 Cryptococcal capsular antigen; Cryptococcosis; Diagnosis

隐球菌是一种溶组织酵母菌, 为条件致病菌, 主要通过呼吸道传播, 人因吸入鸽粪污染的空气而感染。隐球菌病 (cryptococcosis) 是由隐球菌 (cryptococcus) 感染人体引起的一种侵袭性真菌病 (invasive fungal disease, IFD), 最常见的部位是中枢神经系统, 其次为肺部和皮肤。在资源有限国家, 隐球菌性脑膜炎 (cryptococcal meningitis, CM) 是主要的致死性机会性感染之一, 在欧美发达国家, 隐球菌病已成为实体器官移植者中IFD的主要原因。该病起病隐匿, 临床表现多样, 易导致误诊和漏诊, 病死率高, 早期诊断及治疗显得尤为重要。隐球菌病的实验室诊断主要包括真菌培养、墨汁染色及隐球菌荚膜抗原检测 (cryptococcal

capsular antigen, CrAg)。由于真菌培养敏感性低 (55%~80%), 耗时较长 (3~7d), 不利于快速诊断; 传统墨汁染色需用较大体积的标本量经离心处理后收集沉淀, 并进行涂片和墨汁染色后进行镜下检测, 标本处理烦琐、耗时, 结果判断主观性较大^[1]; 隐球菌主要的毒力因子是荚膜多糖, 检测血清或体液中的荚膜多糖抗原是目前较常用的免疫学方法, 该方法简单、易行、不受实验室及温度限制, 敏感性及特异性高^[2]。本文就CrAg检测在隐球菌病中的诊断价值展开综述。

1 CrAg检测主要方法

CrAg检测主要包括乳胶凝集法 (latex agglutination test, LA)、酶联免疫法 (enzyme

基金项目: “十三五”国家科技重大专项 (2018ZX10302104); 重庆市医学科研重点项目 (2019ZDXM012)

通信作者: 陈耀凯, E-mail: yaokaichen@hotmail.com

引用格式: 陈力, 何小庆, 陈耀凯. 隐球菌荚膜抗原检测在隐球菌病中的诊断价值[J]. 新发传染病电子杂志, 2021, 6(1): 58-61. Chen Li, He Xiaoqing, Chen Yaokai. The value of detecting cryptococcal antigen in the diagnosis of cryptococcosis[J]. Electronic Journal of Emerging Infectious Diseases, 2021, 6(1): 58-61.

immunoassay, EIA)、胶体金免疫层析法(lateral flow assay, LFA)等。其中LFA因其简单、快速已是目前国内临床诊断隐球菌病最常用的方法之一。

1.1 乳胶凝集法 原理是以乳胶颗粒为载体, 吸附高效价的抗隐球菌荚膜多糖抗体, 再与样本中CrAg反应引起肉眼可见的凝集现象, 与正常蛋白则不引起凝集。LA方法可以定性或半定量检测血清、脑脊液、胸腔积液及肺泡灌洗液等其他体液标本中的CrAg, 其敏感性和特异性均高于墨汁染色和真菌培养^[3]。但LA方法仍可存在假阳性及假阴性, LA假阳性可见于类风湿因子阳性者、HIV感染者、结核性脑膜炎、系统性红斑狼疮及毛孢子菌感染患者, LA假阴性可见于感染早期或者隐球菌抗原滴度高, 脑脊液标本中可出现由于高浓度的荚膜多糖抗原所导致的“前带现象”(假阴性), 此时应对标本稀释后重新测定^[4]。

1.2 酶联免疫法 需要配制工作洗涤液对样本进行离心处理, 并将样本与酶标抗体混合、洗涤、显色、终止等系列操作后对结果进行判读。该方法优点是灵敏度高、可作定量分析, 并且不受类风湿因子干扰。但操作烦琐、耗时, 不适合快速检测, 临床应用较少。

1.3 胶体金免疫层析法 LFA原理是免疫层析, 该方法是运用能和CrAg反应的单克隆抗体, 在15min内提取结果, 其可用于定性、半定量检测血清、脑脊液、中段尿中CrAg。与LA、EIA检测方法相比, LFA具有以下优点: ①敏感性增加; ②检测时间短(约15min); ③室温下稳定; ④无需额外设备, 无需标本预处理, 结果客观, 操作简便快速^[5]。LFA检测血清和脑脊液标本的敏感性和特异性均大于98%, 检测尿液标本的敏感性也可达85%, 是目前WHO推荐的筛查方法^[6]。

2 CrAg检测在隐球菌性脑膜炎诊治中的价值体现

由于隐球菌对中枢神经系统的亲嗜性, 隐球菌性脑膜炎(cryptococcal meningitis, CM)是艾滋病(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)患者和/或其他免疫功能低下患者中最常见的感染类型。早期隐球菌感染临床表现缺乏特异性, 当发展为CM后病情可迅速加重, 死亡率高达20%, 早期快速诊治CM可降低病死率^[7]。对于任何伴有发热、头痛以及脑膜炎相关症状或体征的患者, 结合头颅影像学异常改变, 加上隐球菌病原学检查出现以下阳性结果之一者, 即可诊断CM: ①脑脊液墨汁染色镜检发现隐球菌; ②血或脑脊液隐球菌培养阳性; ③血或脑脊液CrAg阳性; ④血或脑脊液隐球菌抗体或核酸检查阳性; ⑤组织病理学检查发现隐球菌。而在2018年WHO

关于隐球菌病指南中指出, 对于疑似患有CM的艾滋病患者, 建议首选诊断方法为腰椎穿刺测量脑脊液压力和进行CrAg检测, 将CrAg检测阳性作为快速确诊CM的方法之一^[8]。

McMullan等^[9]采集92例确诊或疑似隐球菌病患者样本(其中106份血清、42份脑脊液), 采用LA和LFA两种方法进行检测。结果显示血清标本LFA方法的敏感性为100%, 血清标本LA方法的敏感性为91.1%, 两种检测方法的特异性均为92.9%~100%; 脑脊液标本(LA、LFA方法)敏感性及特异性均为100%。提示LFA、LA检测方法在脑脊液中敏感性及特异性高, 提高了诊断CM的准确性。

倪玲红等^[10]采用3种方法(LA、EIA、LFA)对57例初治CM患者的脑脊液标本进行CrAg检测, 评估其对CM的诊断价值, 采用LA、EIA分别对10例初治CM患者脑脊液CrAg进行动态监测, 评估治疗期间脑脊液CrAg水平与疗效相关性, 结果显示: LA、LFA敏感性都是95%, 特异性100%, EIA敏感性及特异性都是100%; LA与EIA测得的脑脊液CrAg水平随患者疾病好转逐渐下降, 两者下降过程大致相仿, 部分患者在随访治疗后出现阴性结果, 在墨汁染色及培养转阴后, CrAg效价在一段时间内仍可低水平保持。提示LFA适用于疑似病例的初筛, LA及EIA具有监测CM患者病情、观察疗效、评估预后的应用价值。

有国外研究显示, 无症状的血清CrAg阳性患者中多达40%患者脑脊液CrAg阳性, 提示合并CM可能^[11]。在静脉血中检测到CrAg, 发展至中枢神经系统, 中位时间为22d^[12]。血清CrAg滴度1:80发生脑膜炎概率极低, 随着血清CrAg滴度从1:160升至1:320或1:640, 脑脊液受累的概率增加, 高于1:1280的CrAg滴度几乎都有中枢神经系统受累^[13]。脑脊液和血清中的高CrAg滴度与预后关系密切, 高滴度更易发生治疗失败、复发、免疫重建炎症反应及死亡^[14]。

综上, CM患者腰椎穿刺快速检测脑脊液CrAg是优选的诊断方法, 高危患者通过筛查血清CrAg, 早期预防性治疗, 可防止发展成CM的机会。在资源有限国家和地区进行腰椎穿刺有困难或存在腰椎穿刺禁忌证, 可通过血清CrAg滴度检测结合相应临床及影像学表现, 早期诊治CM, 降低病死率。

3 CrAg检测在肺隐球菌病诊治中的价值体现

肺隐球菌病(pulmonary cryptococcosis, PC)是由隐球菌及其变种感染所引起的一种亚急性或慢性肺部IFD。其临床表现无特异性, 容易与肺炎、肺结核、肺癌等病相混淆, 造成误诊。PC的诊断标准是

组织病理（包括经支气管镜肺活检、经皮肺穿刺活检和手术活检）发现隐球菌；血液或者痰液、肺泡灌洗液镜检或培养发现隐球菌。上述诊断方法耗时长，花费高，且阳性率较低，不利于早期诊断及治疗。血清CrAg检测可为PC的诊断提供早期高效的证据。

傅顺金等^[15]回顾性分析2012—2017年浙江大学医学院附属第一医院病理确诊的52例非HIV感染非器官移植PC患者的临床资料，血清CrAg检测阳性患者占63.46%（33/52），提示血清CrAg在PC早期诊断中具有很高的价值。陈栎江等^[16]选取影像学检查示肺部阴影或结节患者3130例，确诊肺隐球菌病53例，血清CrAg检测阳性52例，敏感性98.1%，非隐球菌病患者CrAg检测均阴性，特异度为100%，提示血清CrAg检测相比肺组织病理检查以及传统的镜检、培养法敏感性及特异性均要高。黄佳斯等^[17]回顾性分析肺隐球菌病及非肺隐球菌病患者共547例，研究结果显示血清CrAg检测敏感性72.7%，特异性99.6%。法国一项研究回顾性分析2007—2013年在支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid, BALF）中常规进行CrAg检测，4650例BALF中CrAg检测阳性12例，确诊PC患者仅有5例，该研究显示BALF-CrAg检测特异高（99%）、敏感性低（36%），提示不支持在BALF中常规进行CrAg检测，确诊PC需结合临床及影像学进一步判断^[18]。

综上，血清CrAg阳性结合临床表现和典型的影像学特征，可以临床诊断PC。CrAg检测无论是用于PC的诊断还是进行疗效的评价，都不失为一种高效、快速、无创、敏感性和特异性高的诊断方法。值得注意的是，BALF中CrAg检测敏感性较低，不推荐常规进行BALF-CrAg检测。

4 CrAg检测在其他隐球菌病诊治中的价值体现

其他隐球菌病包括皮肤黏膜隐球菌病、骨隐球菌病及内脏隐球菌病，多数情况下作为播散型隐球菌病的一种表现，与脑、肺等部位隐球菌病同时存在，一般不作为独立疾病进行诊断。日本一项研究显示，在HIV患者中，皮肤隐球菌病患病率约为播散性隐球菌病的6%^[19]，皮肤隐球菌病主要发生在头颈部，临床表现多样：水疱、脓疱、结节、肉芽肿、溃疡、皮下肿胀、脓肿、湿疹等，这些病变常与传染性软疣和卡波西肉瘤相似。而在实体器官移植患者中，皮肤表现为弥散性疾病，下肢受累多见^[20]，下肢蜂窝织炎是一个特征性的临床表现。有类似坏疽脓皮病的皮肤隐球菌病的报道^[21]。当怀疑有隐球菌病时，血清CrAg检测阳性被列为隐球菌病的重要免疫学证据，最后确诊

依赖于真菌培养和/或病理发现隐球菌荚膜孢子^[22]。

5 结论与展望

CrAg检测在血清和脑脊液中敏感性、特异性高，且高效、快速、无创，不受实验室及温度限制，是目前最成熟真菌感染血清学诊断方法^[23]。指南推荐对CD4⁺T淋巴细胞计数<200个/ μ l的HIV感染者进行常规CrAg筛查，临床工作中考虑隐球菌病患者应优先进行血清CrAg检测，结合常规方法（墨汁染色和培养）及影像学表现可快速诊断隐球菌病^[3,5]。但CrAg滴度高低与隐球菌阳性持续时间的关系，CrAg滴度高低与治疗效果、停药时机的关系，有待下一步扩大临床病例的临床多中心研究。尿液及全血标本检测CrAg显示出巨大前景，可以在资源有限国家和地区推广，但尿液检测问题包括一天中最佳采样时间，浓缩尿液是否可以提高敏感性等有待下一步研究。

参考文献

- [1] 关家龙, 李粤平, 蔡卫平. 艾滋病合并新型隐球菌性脑膜炎100例临床分析[J]. 国际医药卫生导报, 2014, 20(9):1185-1187.
- [2] AIVIS JN, PERCIVAL A, BAUMAN S, et al. Evaluation of a novel point-of-care cryptococcal antigen test on serum, plasma, and urine from patients with HIV-associated cryptococcal meningitis[J]. Clin Infect Dis, 2011, 53(10):1019-1023.
- [3] 中华医学会感染病学分会. 隐球菌性脑膜炎诊治专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2018, 36(4):193-199.
- [4] 王露霞, 刘海英, 石凌波, 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.
- [5] “十三五”国家科技重大专项艾滋病机会性感染课题组. 艾滋病合并隐球菌病临床诊疗的专家共识[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2020, 42(7):1-19.
- [6] BOULWARE DR, MEYA DB, BERGEMANN TL, et al. Clinical features and serum biomarkers in HIV immune reconstitution inflammatory syndrome after cryptococcal meningitis: a prospective cohort study[J]. PLOS Med, 2010, 7(12):e1000384.
- [7] 陶然, 师金川, 郭永征, 等. 两性霉素B去氧胆酸盐、两性霉素B脂质体和伏立康唑诱导治疗HIV相关性隐球菌脑膜炎的效果比较[J/CD]. 新发传染病电子杂志, 2019, 4(1): 97-102.
- [8] Guidelines for The Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-Infected Adults, Adolescents and Children: Supplement to the 2016 Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection. Geneva: World Health Organization, March 2018.
- [9] MCMULLAN BJ, HALLIDAY C, SORRELL TC, et al. Clinical utility of the cryptococcal antigen lateral flow assay in a diagnostic mycology laboratory[J]. PLoS One, 2012, 7(11):e49541.
- [10] 季淑娟, 倪玲红, 张俊丽, 等. 不同荚膜抗原检测方法对隐球菌脑膜炎诊断和疗效评估的价值[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(46):3733-3736.

- [11] LONGLEY N, JARVIS JN, MEINTJES G, et al. Cryptococcal antigen screening in patients initiating ART in South Africa: a prospective cohort study[J]. Clin Infect Dis, 2016, 62(5):581-587.
- [12] JARVIS JN, HARRISON TS, LAWN SD, et al. Cost effectiveness of cryptococcal antigen screening as a strategy to prevent HIV-associated cryptococcal meningitis in South Africa[J]. PLoS One, 2013, 8(7):e69288.
- [13] RADHA R, RACHEL MW, TAFESE B, et al. Cryptococcal Meningitis Diagnostics and Screening in the Era of Point-of-Care Laboratory Testing[J]. J Clin Microbiol, 2019, 1(57):e01238-18.
- [14] WILLIAMSON PR, JARVIS JN, PANACKAL AA, et al. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy[J]. Nat Rev Neurol, 2017, 13(1):13-24.
- [15] 傅顺金, 许攀峰, 周华, 等. 52例肺隐球菌病的临床及影像特点与隐球菌荚膜抗原检测结果的关系[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(22):3397-3400, 3409.
- [16] 陈栋江, 吴庆, 徐春泉, 等. 血清隐球菌荚膜多糖抗原检测在肺隐球菌病中的早期诊断价值[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(10):1248-1251.
- [17] 黄佳斯, 石磊, 唐爱国, 等. 胶体金免疫层析法检测血清隐球菌抗原在肺隐球菌病诊断中的应用价值[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(7):518-519.
- [18] SENGHOR Y, GUITARD J, ANGOULVANT A, et al. Cryptococcal antigen detection in broncho-alveolar lavage fluid[J]. Med Mycol, 2018, 56(6):774-777.
- [19] NOGUCHI H, MATSUMOTO T, KIMURA U, et al. Cutaneous Cryptococcosis[J]. Med Mycol J, 2019, 60(4):101-107.
- [20] KOTHIWALA SK, PRAJAPAT M, KULDEEP CM, et al. Cryptococcal panniculitis in a renal transplant recipient: case report and review of literature[J]. J Dermatol Case Rep, 2015, 9(3):76-80.
- [21] KIKUCHI N, HIRAIWA T, ISHIKAWA M, et al. Cutaneous cryptococcosis mimicking pyoderma gangrenosum: A report of four cases[J]. Acta Derm Venereol, 2016, 96(1):116-117.
- [22] 《中国真菌学杂志》编辑委员会. 隐球菌感染诊治专家共识[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(2):65-68, 86.
- [23] 廖万清, 陈敏, 方文捷. 医学真菌研究的前沿及热点[J/CD]. 新发传染病电子杂志, 2018, 3(3):129-133.

【收稿日期】 2020-08-25