

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.16.003
文章编号: 1005-8982 (2022) 16-0014-05

肺部感染性疾病·论著

胶体金免疫层析法检测 CrAg 对非 HIV 感染肺隐球菌病患者疗效的评估价值*

李娜娜¹, 施婷¹, 蔡明豪¹, 李艳娟², 贺勇¹

(1. 重庆医科大学附属永川医院 检验科, 重庆 402160; 2. 郑州大学第一附属医院 呼吸科, 河南 郑州 450052)

摘要: 目的 探究非人类免疫缺陷病毒(HIV)感染肺隐球菌病患者临床特点及胶体金免疫层析法(LFA)检测隐球菌荚膜多糖抗原(CrAg)对其疗效的评估价值。**方法** 选取2019年1月—2020年12月在重庆医科大学附属永川医院就诊的114例非HIV感染肺隐球菌病患者。所有患者行CrAg-LFA检测,以组织病理检查结果为金标准,记录患者治疗后不同时间点(1个月、3个月、6个月、1年)的CrAg滴度和疗效,比较不同CrAg-LFA检测结果患者的临床资料及不同CrAg滴度患者的疗效。**结果** 不同性别、年龄、C反应蛋白、白细胞计数患者的CrAg阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);不同临床症状患者的CrAg阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同胸部CT表现、病灶分布、累及肺叶、病变范围患者的CrAg阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。LFA的敏感性为95%(95% CI: 0.818, 0.991),特异性为100%(95% CI: 0.939, 1.000),阳性预测值为100%(95% CI: 0.886, 1.000),阴性预测值为97.37%(95% CI: 0.900, 0.995)。随着治疗时间推移,CrAg的滴度呈下降趋势($P < 0.05$)。CrAg阳性患者不同时间点的疗效比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),11例患者治疗过程中CrAg检测逐渐转阴,其余患者治愈或好转。治疗1年后,CrAg低滴度患者疗效好于高滴度患者($P < 0.05$)。**结论** 非HIV感染肺隐球菌病患者影像学表征缺乏特异性,CrAg-LFA检测可有效评估非HIV感染肺隐球菌病患者疗效及预后,具有较好的临床指导意义。

关键词: 胶体金免疫层析法; 隐球菌荚膜多糖抗原; 非人类免疫缺陷病毒; 肺隐球菌病
中图分类号: R379.5 **文献标识码:** A

The value of CrAg detection via LFA in assessing the treatment outcome of pulmonary cryptococcosis in patients without HIV infection*

Na-na Li¹, Ting Shi¹, Ming-hao Cai¹, Yan-juan Li², Yong He¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University, Chongqing, 402160, China; 2. Department of Respiratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China)

Abstract: Objective To study the clinical characteristics of pulmonary cryptococcosis in patients without HIV infection and to determine the value of cryptococcal capsular polysaccharide antigen (CrAg) detected via lateral flow assay (LFA) in assessing the treatment outcome of pulmonary cryptococcosis in these patients. **Methods** A total of 114 patients with pulmonary cryptococcosis and without HIV infection who were treated in Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University between January 2019 and December 2020 were included. All

收稿日期: 2022-03-18

* 基金项目: 重庆市自然科学基金(No: cstc2020jcyj-msxmX0237)

[通信作者] 贺勇, E-mail: yonghe1968@sina.com; Tel: 13509421293

the patients underwent CrAg-LFA screening, while the histopathology was considered as the golden standard. The CrAg titer and the treatment outcome at different time points (1 month, 3 months, 6 months, and 1 year after treatment) were recorded. The clinical characteristics of patients with different CrAg-LFA results and the outcomes in patients with different CrAg titers were compared. **Results** There was no difference in the positivity of CrAg among patients with different gender, age, levels of C-reactive protein, and white blood cell count ($P > 0.05$). The positive rate of CrAg was different among patients with distinct clinical symptoms ($P < 0.05$), but not among patients with distinct imaging characteristics including the morphologic features, the distribution of lesions, the affected pulmonary lobes, and the extent of the lesions ($P > 0.05$). The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of LFA in determining the positivity of CrAg were 95% (95% CI: 0.818, 0.991), 100% (95% CI: 0.939, 1.000), 100% (95% CI: 0.886, 1.000), and 97.37% (95% CI: 0.900, 0.995), respectively. The CrAg titer decreased as the time from treatment increased ($P < 0.05$), and the treatment outcome was different among the time points ($P < 0.05$). The CrAg-LFA of 11 cases converted to negative results during the treatment, and the rest patients were either cured or improved. After 1 year of treatment, the treatment outcome in patients with low titers of CrAg was greater than those with high titers of CrAg ($P < 0.05$). **Conclusions** The imaging features are not specific in patients with pulmonary cryptococcosis and without HIV infection. In contrast, CrAg-LFA can effectively evaluate the treatment outcome of these patients, and is of great significance for clinical practice.

Keywords: lateral flow assay; cryptococcal capsular polysaccharide antigen; non-human immunodeficiency virus; pulmonary cryptococcosis

肺隐球菌病是指隐球菌导致的急性肺部感染, 目前感染该症的主要病原体为隐球菌^[1]。隐球菌作为机会性病原体, 主要成分为荚膜多糖, 其不仅是主要毒性因子, 同时也是特异性的抗原基础^[2-3]。目前, 人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染的诊疗水平不断发展, HIV 患者合并肺隐球菌病的情况有所控制, 发病率上升放缓^[4]; 然而随着免疫抑制剂的高频率使用, 非 HIV 感染患者肺隐球菌病的发病率逐渐上升^[5-6]。目前对隐球菌荚膜多糖抗原(cryptococcal capsular polysaccharide antigen, CrAg)的检测大多集中在 HIV 患者, 在非 HIV 感染患者中应用较少^[7-8]; 并且临床呼吸道检出率不高, 培养时间长, 无法满足临床诊断的实际需要, 因此当前的诊断还是依靠血清学检测^[9]。胶体金免疫层析法(lateral flow assay, LFA)是近年来诊断隐球菌病的新方法^[10], 敏感性高、操作便捷、经济实用, 属于检测血清 CrAg 的首选方式。因此, 本研究就 LFA 检测 CrAg 对非 HIV 感染肺隐球菌病患者的疗效评估价值进行分析。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2019 年 1 月—2020 年 12 月在重庆医科大学附属永川医院就诊的 114 例非 HIV 感染肺隐球菌

病患者。患者年龄 40~75 岁, 平均(51.89±9.37)岁。为避免抗真菌治疗对结果造成影响, 本研究剔除接受抗真菌治疗和失访的患者。纳入标准: 临床诊断为肺隐球菌感染^[11]; 行组织病理检查和 CrAg-LFA 检测; 患者均知情同意。排除标准: HIV 患者; 恶性肿瘤; 肝肾功能不全; 自身免疫性疾病; 经皮肺活检禁忌证; 糖尿病、肺结核或糖皮质激素使用史; 临床资料不全。

1.2 资料收集

根据 CrAg 抗原检测结果将患者分为阳性组和阴性组, 利用医院信息系统查询患者年龄、性别、基础疾病等一般临床特征, 记录患者临床症状(咳嗽、咯痰、发热及胸闷、气短)、实验室指标[C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞计数(white blood cell, WBC)]、影像学特征(胸部 CT 表现、病灶部位、累及肺叶、病变范围)。

1.3 LFA 检测 CrAg

抽取患者静脉血 4 mL 于无菌采血管中, 1 500 r/min 离心 10 min, 取上层血清, 将样本稀释液加入无菌试管, 与 40 μ L 血清混合, 再将隐球菌抗原检测试纸浸入混合液中, 10 min 后读取结果, 检测线 and 对照线均出现, 表示检测结果为阳性; 若仅对照线出现为阴性; 对照线未出现则重新检测, 检测试剂盒购自美国 Immuno Mycologics 公司。

1.4 治疗及疗效评估

根据美国感染性疾病协会隐球菌治疗指南(2010)^[12]对肺隐球菌病患者进行诊治,重症患者采用两性霉素注射液联合氟胞嘧啶片治疗,播散性患者予以氟康唑治疗。疗效标准^[13]:①治愈,肺部病灶吸收面积>75%,临床症状消失;②好转,肺部病灶吸收面积50%~75%,临床症状明显缓解;③进步,肺部病灶吸收面积<50%,临床症状稍缓解;④无效,病灶无吸收,临床症状基本无变化。

1.5 统计学方法

数据分析采用SPSS 24.0统计软件,非正态分布的计量资料以中位数和四分位数[M(P₂₅, P₇₅)]表示,比较用秩和检验;正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用独立t检验;计数资料以率(%)表示,比较用 χ^2 检验;等级资料以频数表示,比较用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同临床特征患者的CrAg阳性率比较

不同性别、年龄、CRP、WBC非HIV感染肺隐球菌病患者的CrAg阳性率比较,经 χ^2 检验,差异无统计学意义($P > 0.05$);不同临床症状非HIV感染肺隐球菌病患者的CrAg阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 不同影像学特征患者的CrAg阳性率比较

不同胸部CT表现、病灶分布、累及肺叶、病变范围非HIV感染肺隐球菌病患者的CrAg阳性率比较,经 χ^2 检验,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 LFA与组织病理检查结果比较

以组织病理检查结果为金标准。114例患者中,组织病理检查CrAg抗原阳性40例,其中CrAg-LFA检测38例阳性,2例阴性;组织病理检查CrAg抗原阴性74例,且CrAg-LFA检测均为阴性。LFA的敏感性为95%(95%CI:0.818, 0.991),特异性为100%(95%CI:0.939, 1.000),阳性预测值为100%(95%CI:0.886, 1.000),阴性预测值为97.37%(95%CI:0.900, 0.995)。

2.4 CrAg阳性患者不同时间点的CrAg滴度和疗效比较

CrAg阳性患者不同时间点的CrAg滴度比较,

表1 不同临床特征非HIV感染肺隐球菌病患者的CrAg阳性率比较 例(%)

临床特征	n	CrAg阳性	χ^2 值	P值
性别				
男	73	24(63.16)	0.019	0.890
女	41	14(36.84)		
年龄				
<52岁	55	16(42.11)	0.861	0.354
≥52岁	59	22(57.89)		
CRP升高				
有	56	21(55.26)	0.860	0.354
无	58	17(44.74)		
WBC升高				
有	63	25(65.79)	2.555	0.110
无	51	13(34.21)		
临床症状				
咳嗽咯痰	46	21(55.26)	6.138	0.046
胸闷气短	43	9(23.68)		
发热	25	8(21.05)		

表2 不同影像学特征非HIV感染肺隐球菌病患者的CrAg阳性率比较 例(%)

影像学特征	n	CrAg阳性	χ^2 值	P值
胸部CT表现				
肿块、结节	30	11(28.95)	0.880	0.644
浸润实变	58	17(44.73)		
空洞	26	10(26.32)		
病灶分布				
单侧	79	26(68.42)	0.021	0.886
双侧	35	12(31.58)		
累及肺叶				
单叶	73	24(63.16)	0.019	0.890
多叶	41	14(36.84)		
病变范围				
单发	35	10(26.32)	0.515	0.473
多发	79	28(73.68)		

经秩和检验,差异有统计学意义($H=11.684$, $P=0.009$),随着治疗时间推移, CrAg的滴度呈下降趋势。CrAg阳性患者不同时间点的疗效比较,经秩和检验,差异有统计学意义($H=16.936$, $P=0.001$),无效1例,11例患者治疗过程中CrAg检测逐渐转阴,其余患者治愈或好转。见表3。

表 3 CrAg 阳性患者不同时间的 CrAg 滴度和疗效比较 (n=114)

时间	CrAg 滴度 M(P ₂₅ ,P ₇₅)	治愈 例(%)	好转 例(%)	进步 例(%)	无效 例(%)
治疗后 1 个月	1:50(1:10,1:140)	1(2.63)	11(28.95)	25(65.79)	1(2.63)
治疗后 3 个月	1:25(1:9,1:80)	2(5.26)	17(44.74)	18(47.37)	1(2.63)
治疗后 6 个月	1:25(1:5,1:60)	6(15.79)	18(47.37)	13(34.21)	1(2.63)
治疗后 1 年	1:10(1:5,1:40)	11(28.95)	16(42.11)	10(26.32)	1(2.63)

2.5 不同滴度 CrAg 阳性患者治疗 1 年后的疗效比较

取治疗前 CrAg 滴度的中位数 1:140 为截断值,分为高滴度组(CrAg 滴度 > 1:140)和低滴度组(CrAg 滴度 ≤ 1:140)。治疗 1 年后,高滴度组与低滴度组的疗效比较,经秩和检验,差异有统计学意义($H=9.024, P=0.003$),低滴度组疗效较好。见表 4。

表 4 不同滴度 CrAg 阳性患者治疗 1 年后的疗效比较 例(%)

CrAg 滴度	n	治愈	好转	进步	无效
高滴度组	16	2(12.50)	5(31.25)	8(50.00)	1(6.25)
低滴度组	22	9(40.91)	11(50.00)	2(9.09)	0(0.00)

3 讨论

肺隐球菌病属于新生隐球菌及其变种引起的一种肺部真菌疾病,发病率位于肺部真菌疾病前列^[14-15],多表现为慢性疾病,发病较隐匿,增加了临床检测的难度。尽管检测手段不断改进,但由于肺隐球菌病的影像学、实验室检查及临床特征特异性不强,易导致误诊、漏诊,因此有延误患者治疗的风险^[16]。肺穿刺病理活检为常用诊治肺隐球菌病的手段,成功率较高,但由于肺隐球菌病结节和肿块影像学表现与肺结核、肺癌相似,难以区分^[17]。LFA 检测 CrAg 是近些年比较流行的诊断隐球菌病的首选方法,因其硬件要求不高、快速简单、经济实用,兼具不错的特异性和敏感性,在临床检测中广泛应用。

本研究结果显示,不同性别、年龄、CRP、WBC 患者的 CrAg 阳性率无差异;而在临床症状方面有差异,且咳嗽咯痰、浸润实变的患者阳性率相对较高,影像学表现结节、肿块的患者阳性率偏低,这一结论在黄进宝等^[3]、袁成等^[18]的研究中亦得到验证。而不同影像学表现,如胸部 CT 表现、病灶分布、累及肺叶、病变范围患者的 CrAg 阳性率均无差异。一方面说明非 HIV 感染肺隐球菌病患者影像学表征特异性不强;另一方面可能与本研究纳入患者免疫功能抑制有关,通常免疫功能明显缺陷患者的 LFA 检测敏感性高于

免疫功能正常人群,也与李晓平等^[19]研究结果一致。

曾惠清等^[20]对 308 例患者进行研究,结果显示,LFA 检测 CrAg 敏感性为 75.0%、特异性为 99.6%,阳性预测值为 98.2%,阴性预测值为 92.9%;而本研究结果显示,非 HIV 感染患者的 CrAg-LFA 检测敏感性和特异性分别为 95% 和 100%,阳性预测值和阴性预测值分别为 100% 和 97.37%,与上述研究大体上一致,可以看出 LFA 检测非 HIV 感染肺隐球菌病患者 CrAg 敏感性较高。HUANG 等^[21]的研究发现 HIV 感染患者 CrAg-LFA 检测敏感性可高达 95%,推测非 HIV 感染患者较 HIV 感染患者的免疫状态和机体免疫受损情况好,导致肺隐球菌感染后,患者病情发展相对缓慢,抗原入血不如 HIV 感染患者快,因此检测阳性率更高。

另一方面,本研究结果表明,随着治疗时间延长,CrAg 阳性患者的滴度水平与阳性结果呈持续下降趋势,治疗 1 个月与治疗 1 年的滴度水平由 1:50 下降至 1:5,同时阳性结果也有明显变化,部分患者治疗 3 个月后逐渐转阴,阳性患者的滴度也处于较低值,提示 CrAg-LFA 检测可以有效监测非 HIV 感染肺隐球菌病患者的病情变化,并评估疗效,具有重要的临床价值。严群锋等^[22]在 LFA 监测肺隐球菌病患者 CrAg 滴度的研究中发现,CrAg 滴度水平与肺部病灶的吸收、病情的良性发展呈正相关。林鹏程等^[23]的报道表明,阳性隐球菌性脑膜炎患者治疗前后的 CrAg 滴度水平存在明显差异。上述研究均证明 LFA 检测 CrAg 不但能有效评估肺隐球菌病患者的疗效,而且对其预后具有预测价值。其原因可能为机体的隐球菌被抗真菌药物消灭,杀灭的真菌细胞壁碎片随代谢排出体外,入血的 CrAg 减少,CrAg 滴度低,患者转阴增多,病情逐渐好转。

本研究结果表明,CrAg 低滴度患者治疗 1 年后疗效更好。DIZON 等^[24]的研究指出,肺隐球菌病患者的疗效也受抗原滴度的影响,且 CrAg 滴度 > 1:1 280 时患者致死率可达 94%,< 1:640 时致死率为 38%,进一步证明 CrAg 滴度在非 HIV 感染肺隐球菌病患者预后评估中有较强的预测价值。方素芳等^[25]认为,

CrAg-LFA 检测能有效评估非 HIV 感染肺隐球菌病患者病情发展,但无法指导临床停药。

综上所述,非 HIV 感染肺隐球菌病患者的影像学特征缺乏特异性,CrAg-LFA 检测作为该类患者临床诊疗的一项有效检测手段,可较好地评估患者疗效和预后。本研究未对非 HIV 感染与 HIV 感染的差异、非 HIV 感染与 CrAg 抗原的相关研究进行深入分析,且研究的病例数有限,无较长时间的随访,这些都是本研究的局限性。

参 考 文 献 :

- [1] HUANG J B, LAN C Q, LI H Y, et al. Concomitant lung adenocarcinoma and pulmonary cryptococcosis confirmed by pathologic examinations[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(50): e18316.
- [2] XUE X Y, ZANG X L, WANG L F, et al. Comparison of clinical features of pulmonary cryptococcosis with and without central nervous system involvement in China[J]. *J Int Med Res*, 2021, 49(2): 1-8.
- [3] 黄进宝,李红艳,兰长青,等.两种血清隐球菌荚膜多糖抗原检测方法在肺隐球菌病中的应用研究[J].*中国真菌学杂志*, 2019, 14(5): 264-269.
- [4] 陈先梦,章俊强,王东升,等. HIV 感染与非 HIV 感染患者肺隐球菌病的临床特点比较[J].*安徽预防医学杂志*, 2020, 26(4): 284-287.
- [5] 程丹,陈雪芹,赵杨,等.免疫功能正常的原发性肺隐球菌病的临床诊治分析并文献复习[J].*内科急危重症杂志*, 2019, 25(5): 426-428.
- [6] SETIANINGRUM F, RAUTEMAA-RICHARDSON R, DENNING D W. Pulmonary cryptococcosis: a review of pathobiology and clinical aspects[J]. *Med Mycol*, 2019, 57(2): 133-150.
- [7] HOU X M, KOU L, HAN X Z, et al. Pulmonary cryptococcosis characteristics in immunocompetent patients—a 20-year clinical retrospective analysis in China[J]. *Mycoses*, 2019, 62(10): 937-944.
- [8] WU H H, CHEN Y X, FANG S Y. Clinicopathological features of isolated pulmonary cryptococcosis in HIV-negative patients[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(6): 300060520927877.
- [9] MIN J Q, HUANG K L, SHI C M, et al. Pulmonary cryptococcosis: comparison of cryptococcal antigen detection and radiography in immunocompetent and immunocompromised patients[J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 91.
- [10] ZENG H Q, ZHANG X B, CAI X Y, et al. Diagnostic value of bronchoalveolar lavage fluid cryptococcal antigen-lateral flow immunochromatographic assay for pulmonary cryptococcosis in non-HIV patients[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2021, 99(3): 115276.
- [11] 中华医学会呼吸病学分会感染学组,中华结核和呼吸杂志编辑委员会.肺真菌病诊断和治疗专家共识[J].*中华结核和呼吸杂志*, 2007, 30(11): 821-834.
- [12] PERFECT J R, DISMUKES W E, DROMER F, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America[J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(3): 291-322.
- [13] 郭晓雪,叶蕊,舒红,等.辽宁省肺隐球菌病 51 例临床诊疗分析[J].*中国医科大学学报*, 2022, 51(2): 183-186.
- [14] 雷莉莉,张宇,邹珏,等. 57 例免疫功能正常肺隐球菌病临床特征[J].*中华医院感染学杂志*, 2021, 31(13): 1941-1945.
- [15] 谷雷,文文,赖国祥.肺隐球菌病诊治进展[J].*中华医学杂志*, 2020, 100(4): 317-320.
- [16] 陈磊,杨婧,胡丽庆,等.误诊为肺癌的孤立结节型肺隐球菌病与肺癌的 CT 影像特征对比研究[J].*浙江医学*, 2020, 42(22): 2467-2469.
- [17] 韦芳菲,邓莉平,熊勇,等.获得性免疫缺陷综合征合并肺隐球菌病患者胸部 CT 表现的分析[J].*中华全科医师杂志*, 2019, 18(9): 856-860.
- [18] 袁成,丁明.血清隐球菌荚膜多糖抗原检测和呼吸介入方法在肺隐球菌病中的诊断价值[J].*中国真菌学杂志*, 2021, 16(6): 379-383.
- [19] 李晓平,余南丁.非人类免疫缺陷病毒感染肺隐球菌病 121 例临床分析[J].*福建医科大学学报*, 2020, 54(5): 313-317.
- [20] 曾惠清,蔡雪莹,张孝斌,等.支气管肺泡灌洗液隐球菌荚膜多糖抗原胶体金法对肺隐球菌病的诊断价值[J].*中国呼吸与危重监护杂志*, 2020, 19(3): 258-263.
- [21] HUANG H R, FAN L C, RAJBANSHI B, et al. Evaluation of a new cryptococcal antigen lateral flow immunoassay in serum, cerebrospinal fluid and urine for the diagnosis of cryptococcosis: a meta-analysis and systematic review[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127117.
- [22] 严群锋,孙正林,高银,等.支气管肺泡灌洗液隐球菌涂片及培养联合抗原检测对肺隐球菌病的诊断价值[J].*中华结核和呼吸杂志*, 2021, 44(8): 711-716.
- [23] 林鹏程,叶君如,周颖,等.接受抗真菌药物治疗肺隐球菌病患者胸部 CT 和隐球菌荚膜抗原滴度的动态观察[J].*中华医学杂志*, 2019, 99(26): 2036-2041.
- [24] DIZON E, SEO W, BUTLER-WU S M, et al. Clinical significance of low serum cryptococcal antigen titers by lateral flow assay in immunocompromised patients: a retrospective case-control study[J]. *J Clin Microbiol*, 2020, 58(2): e01648-19.
- [25] 方素芳,张宏英,黄明翔.胶体金免疫层析法对非 HIV 感染肺隐球菌病患者疗效的评估价值[J].*结核病与肺部健康杂志*, 2019, 8(3): 218-224.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式:李娜娜,施婷,蔡明豪,等.胶体金免疫层析法检测 CrAg 对非 HIV 感染肺隐球菌病患者疗效的评估价值[J].*中国现代医学杂志*, 2022, 32(16): 14-18.

Cite this article as: LI N N, SHI T, CAI M H, et al. The value of CrAg detection via LFA in assessing the treatment outcome of pulmonary cryptococcosis in patients without HIV infection[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(16): 14-18.