

# 脑脊液动物接种确诊培养阴性的新生隐球菌性脑膜炎

Animal inoculation of cerebrospinal fluid confirmed culture-negative *Cryptococcus neoformans* meningitis

朱元杰, 温海, 徐红, 赵瑾

(第二军医大学长征医院皮肤科, 上海 200003)

[关键词] 脑膜炎, 隐球菌性; 动物接种

[中图分类号] R 519.4 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2004)06-0692-01

新生隐球菌性脑膜炎的诊断主要依据临床症状、体征、实验室检查(主要包括脑脊液墨汁涂片直接镜检、真菌培养及乳胶凝集实验)。而其确诊的标准除了脑脊液涂片发现酵母菌外, 还须真菌培养阳性, 且鉴定为新生隐球菌<sup>[1,2]</sup>。在临床中碰到涂片和乳胶凝集阳性而培养却阴性的患者时, 虽然可以作出初步诊断, 但缺乏菌种鉴定上的依据, 做出肯定诊断存在一定的困难, 有时只能进行诊断性治疗。我们利用动物接种的方法确诊了 1 例镜检阳性而长期培养阴性的病例, 现报告如下。

## 1 材料和方法

1.1 临床资料 患者女性, 54 岁, 因反复发热、头痛、呕吐 2 个月余入院。患者曾于外院脑脊液检查时发现隐球菌, 但未行培养鉴定, 予以两性霉素 B 治疗效果不佳转入我院。查体: 一般情况差, 两侧瞳孔对光反应差, 脑膜刺激征及病理反射均阴性。其他未见异常。脑脊液常规及生化检查正常, 墨汁涂片查见具有小荚膜的酵母菌, 计数 108 个/mm<sup>3</sup>, 乳胶凝集试验阳性, 滴度 1:1 280。多次脑脊液真菌培养 1 个月均未见真菌生长。

1.2 动物接种 BALB/c 小鼠(体质量 25 g, 购自第二军医大学实验动物中心)6 只, 随机分为 2 组, 每组 3 只。实验组小鼠腹腔接种患者入院时脑脊液, 接种量为 0.5 ml, 对照组接种等量的无菌生理盐水。

1.3 解剖及真菌培养鉴定 脑脊液接种组有 2 只于接种后第 3 天死亡, 另 1 只于接种后第 7 天以颈椎脱臼法处死。而对照组均存活, 同时在第 7 天以颈椎脱臼法处死。小鼠死亡后均立即进行无菌解剖, 并对肝、肾、脾、肺及心、脑组织进行真菌培养。培养阳性菌落进行酵母菌快速鉴定反应条实验(API, 生物-梅里埃公司, 法国)及生理生化鉴定, 包括尿素、咖啡酸、米粉及 37℃ 下培养。

## 2 结果

接种后第 3 天死亡的小鼠的脾及肾组织培养在 48 h 后见酵母菌生长, 经 API 鉴定为新生隐球菌, 病理切片于肾脏中找到隐球菌。第 7 天处死的脑脊液接种小鼠培养 48 h 后于脾、肾、肺、心组织中见酵母菌落形成, 经 API 鉴定为新生隐球菌。生理生化鉴定结果: 咖啡酸、尿素、米粉及 37℃ 培养结果均为阳性, 符合新生隐球菌培养特点。对照组小鼠培养

14 d 均未见菌落生长。根据动物接种后培养结果, 可以判定该患者为新生隐球菌性脑膜炎; 而且同时患者对于抗真菌治疗的反应较好, 治疗后症状消失。

## 3 讨论

新生隐球菌性脑膜炎的发病率目前正逐渐升高。目前在非艾滋病感染患者中仍然强调脑脊液体外培养的重要性, 并作为确诊的金标准。由于体外培养存在一定的假阴性率, 且在应用抗真菌治疗后假阴性率更高, 而阴性的培养结果对于感染菌种的最后鉴定造成困难, 无法肯定由哪一种酵母菌引起的感染, 同时对预后及治疗效果的判断均会带来影响<sup>[2,3]</sup>。而一些分子生物学的诊断方法还不能在临床上普遍应用。我们通过脑脊液动物接种的方法, 使培养阴性的标本转为阳性, 最终确定了感染菌种, 明确了诊断。培养阳性而动物接种阳性结果之间差异的原因, 我们认为可能是体内外营养条件的差异造成的, 一般的体外培养无法提供隐球菌生长所需要的全部物质, 所以在培养时产生假阴性。

由于隐球菌感染多为慢性感染, 一般不会产生急性死亡, 我们认为 2 例小鼠接种后死亡可能的原因有: (1) 腹腔接种脑脊液时不可避免的会将脑膜感染时脑脊液中的大量蛋白及细胞带入小鼠腹腔内, 造成不同小鼠对于异种蛋白产生超敏反应致死; (2) 不同小鼠对于隐球菌感染的敏感性不同; (3) 接种菌的量和活力可能存在差异。这些可能的原因都需要进一步的观察和实验加以证实。

## [参考文献]

- [1] 秦启贤. 临床真菌病学[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 2001. 346-364.
- [2] 吴绍熙, 郭宁如, 廖万清. 现代真菌病诊断治疗学[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997. 68-76.
- [3] Saag MS, Graybill RJ, Larsen RA, et al. Practice guideline for the management of cryptococcal disease. Infectious Disease Society of America[J]. *Clin Infect Dis*, 2000 30(4): 710-718.

[收稿日期] 2003-10-08

[修回日期] 2004-03-09

[本文编辑] 邓晓群

[作者简介] 朱元杰(1977-), 男(汉族), 博士生。

E-mail: eggshome@sohu.com