

• 论 著 •

疟疾患者体内疟原虫滴度与体温及预后之间的相关性研究

罗慧琴¹, 李 玲², 刘付芹², 赵亚朴¹

(1. 解放军第 254 医院检验科, 天津 300142; 2. 解放军第 264 医院检验科, 太原 030001)

摘 要:目的 探讨疟疾患者体内疟原虫滴度与体温及预后之间的关系, 为疟疾漏诊和误诊提供理论依据。方法 收集疟疾检测阳性标本 93 例, 利用胶体金免疫层析法和厚薄血片同时对标本进行疟原虫检测, 同时记录他们体温, 体温每升高 1 ℃ 进行 1 次疟疾检测, 直到疟疾检测阳性为止。结果 在受检的 93 例标本中, 中国人感染率为 56.98% (53/93), 外国人感染率为 43.01% (40/93), 中国人和外国人疟疾感染组间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 说明疟疾感染与人种无关; 在 93 例标本中, 初次感染疟疾的 48 人, 包括 47 个中国人, 1 个外国人。45 人为 2 次或多次感染疟疾, 其中滴度为 1:10 的人数为 33 人, 复发率为 0.09% (3/33), 再燃率为 0.27% (9/33), 滴度为 1:20 的人数为 28 人, 复发率为 0.04% (1/28), 再燃率为 0.21% (6/28), 滴度为 1:30 的人数为 19 人, 复发率为 0.16% (3/19), 再燃率为 0.37% (7/19), 滴度为 1:40 的人数为 13 人, 复发率为 0.15% (2/13), 再燃率为 0.38% (5/13), 复发人数与再燃人数与滴度之间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=2.5, P>0.05$; $\chi^2=1.96, P>0.05$)。结论 疟疾和滴度、温度呈正相关, 滴度升高, 发生复发和再燃的概率增大。

关键词: 国际维和; 体温; 疟原虫; 滴度
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.018 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2017)04-0478-03

Study on correlation between plasmodium titre with body temperature and prognosis in malaria patients LUO Huiqin¹, LI Ling², LIU Fuqin², ZHAO Yapu¹

(1. Department of Clinical Laboratory, 254 Hospital of PLA, Tianjin 300142, China; 2. Department of Clinical Laboratory, 264 Hospital of PLA, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the Plasmodium malaria titre with the body temperature and prognosis to provide a theoretical basis for malaria diagnosis and missed diagnosis. Methods Ninety-three malaria test positive specimens were collected and simultaneously performed the plasmodium test by using the colloidal gold immune chromatography assay and thick film blood slide. The body temperature of malaria patients was recorded, and the malaria test was conducted once when the body temperature was increased by 1 ℃ until positive for malaria detection. Results In 93 tested specimens, the infection rate of Chinese was 56.98% (53/93), and which of foreigners was 43.01% (40/93), the difference between Chinese and foreigners malaria infection groups had no statistical significance, showing that malaria infection had no relationship with race. Among 93 specimens, the initial malaria infection was in 48 cases, including 47 Chinese and 1 foreigner, and 45 cases had twice or more malaria infection, in which 33 cases had the titers of 1:10, with the recurrence rate of 0.09% (3/33) and the re-burning rate was 0.27% (9/33). The titer of 1:20 had 28 cases, with the recurrence rate 0.04% (1/28), and the burning rate 0.21% (6/28). Titer of 1:30 was 19 people, with the recurrence rate 0.16% (3/19) and the burning rate 0.37% (7/19). The titer of 1:40 was 13 people, with the recurrence rate 0.15% (2/13), and the re-burning rate of 0.38% (5/13), there was no statistically significant difference between the number of recurrent and re-burning patients with the titre ($\chi^2=2.5, P>0.05$; $\chi^2=1.96, P>0.05$). Conclusion There is a positive correlation between malaria with the titer and temperature. The titer is elevated, and the probability of recurrence and re-buring is increased.

Key words: international peacekeeping; body temperature; plasmodium; titer

疟疾是严重危害人类生命和健康的全球性虫媒传染病之一, 利比里亚共和国位于非洲大陆西部, 临近赤道, 气候炎热、多雨、潮湿, 年平均湿度为 70%~80%。维和任务是疟疾的高发病地区, 人群中普遍易感, 患者以少年居多, 95% 以上为恶性疟疾, 恶性疟疾占患者数的 90.5%^[1-2], 病死率高达 30.6%。罹患疟疾是维和分队赴非洲执行维和任务的主要危险之一, 本研究采用胶体免疫层析方法, 对 2014 年 3—12 月对疟疾检测阳性的标本进行滴度分析, 现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 3—12 月到中国二级医院进行疟疾检测阳性的驻利比里亚联利团的中国人与其他国家的工作人员共计 93 人, 其中有 45 人进行住院治疗。其中年龄最小 6

岁, 最大 59 岁, 平均 (31±2) 岁, 男 89 例, 女 4 例。
1.2 方法 用标准的静脉血采集程序采集静脉血 2 mL, 注入 EDTA 抗凝管中, 全血样品采集后要尽快测试, 如果不能马上进行操作, 可将血液在 2~30 ℃ 保存 3 d, 如果血液被冷藏, 测试前将之平衡到室温 (15~30 ℃), 并轻轻混匀, 同时用抗凝血进行厚薄血片各 2 张, 1 张用于当时染色进行镜检, 1 张用于后期对照。
1.3 仪器与试剂 疟原虫胶体金检测卡由美国 Binax 公司生产, 瑞氏-吉姆萨染液由珠海贝索生物技术有限公司提供, 显微镜为日本 OLMPLUS 公司产品。
1.4 检测步骤及结果判定 检测步骤: (1) 检测前从包装袋中取出检测板, 打开包装把它平放在工作台上。(2) 用加样吸

头在抗凝血中吸排几次,然后慢慢加入 15 μ L 血液到紫色样品垫上。(3)紧靠紫色样品垫的下边有一个白色垫,垂直加 2 滴 A 试剂到白色垫上,第 2 滴须在第一滴被垫吸收后方可加入。(4)让血标本流经整个检测条,但不要使血液溢出或低于检测条上部的吸收垫。(5)在血标本到达检测条上部的白色吸收垫底部前,慢慢向检测板左 方的冲洗垫中加入 4 滴 A 试剂,当前一滴吸收后才能加下一滴。(6)当标本到达检测条上部白色吸收垫底部的时候,从检测板右边将黏附剂揭去,闭合检测板。(7)闭合检测板 15 min 后读取结果,不足 15 min 或 $\geq$ 15 min 读取的结果可能不正确。结果判定:对照线出现,同时出现检测线 T1 阳性说明是恶性疟原虫感染,出现检测线 T2 说明是间日疟原虫感染,同时出现 T1 和 T2 说明存在恶性疟原虫和间日疟原虫的混合感染,仅有对照线无检测线则是阴性结果,无对照线出现,出现其他检测线也是无效结果。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据处理和统计学分析,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义,对于疟疾阳性,多次检测不计在内。

2 结 果

2.1 不同国籍不同类型疟疾的感染情况 在受检的 93 例标本中,中国人感染率为 56.98% (53/93),外国人感染率为 43.01% (40/93),中国人和外国人疟疾感染组间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),说明疟疾感染与人种无关;93 例标本中恶性疟占 66 例,阳性率 70.97%;混合疟 27 例,阳性率为 29.03%,其中中国人感染率为 15.09% (14/93),外国人感染率为 13.98% (13/93),无论是中国人还是外国人恶性疟和混合疟感染组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=23.58, P<0.01$; $\chi^2=9.8, P<0.01$),说明非洲疟疾感染还是以恶性疟为主。见表 1。

表 1 不同国籍不同种类疟疾感染感染率[n(%)]					
国籍	恶性疟人数	混合疟人数	合计	χ^2	P
中国人	39(41.94)	14(15.09)	53(56.98)	23.58	<0.01
外国人	27(29.03)	13(13.98)	40(43.01)	9.8	<0.01

2.2 不同滴度疟疾感染人数与复发与再燃之间的关系 在 93 例标本中,初次感染疟疾的 48 人,其中 47 个中国人,1 个外国人。45 人为两次或多次感染疟疾,其中滴度为 1:10 的人数为 33 人,复发人数为 3 人,再燃人数为 9 人,滴度为 1:20 的人数为 28 人,复发人数为 1 人,再燃人数为 6 人,滴度为 1:30 的人数为 19 人,复发人数为 3 人,再燃人数为 7 人,滴度为 1:40 的人数为 13 人,复发人数为 2 人,再燃人数为 5 人,从表 2 可以看出,感染人数与滴度之间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=13.81, P<0.01$),复发人数与再燃人数与滴度间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=2.5, P>0.05$; $\chi^2=1.96, P>0.05$)。疟疾转阴时间最短时间是 6 d,最长时间 52 d。见表 2。再燃为体内原虫未完全杀灭,治疗不彻底使症状再现,恶性疟治疗易出现再燃。复发主要针对间日疟而言,迟发性子孢子经一段时间于肝内发展为裂殖体而释放入血引起症状称为复发^[3-4]。

2.3 体温与疟疾感染之间的关系 在 53 例中国人感染疟疾患者中,体温在 37.5 $^{\circ}$ C 以下时检测到疟原虫的仅有 1 例,体温在 37.6~38.5 $^{\circ}$ C 检测到疟原虫的有 10 例,体温在 38.6 $^{\circ}$ C 以上的则全部检测到疟原虫,组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=121.19, P<0.01$),说明国人体温与疟疾感染呈正相关,温度

越高,体内疟原虫检出人数越多。40 例外国人病例中,体温正常而检出疟原虫的有 10 例。

表 2 不同滴度疟疾感染人数与复发再燃人数之间的关系

滴度	n	复发人数 [n(%)]	体温 $>38.5^{\circ}$ C 人数[n(%)]	再燃人数 [n(%)]
1:10	33	3(0.09)	25(0.76)	9(0.27)
1:20	28	1(0.04)	26(0.93)	6(0.21)
1:30	19	3(0.16)	19(100)	7(0.37)
1:40	13	2(0.15)	13(100)	5(0.38)
合计	93	9(0.10)	83(89.25)	27(0.29)
χ^2	13.81	2.5	10.49	1.96
P	<0.01	>0.05	<0.05	>0.05

3 讨 论

疟疾是由按蚊叮咬传播的寄生虫病,是全世界最为严重的传染病之一。全球有 25 亿人生活在疟疾流行区,每年新感染人数为 3~5 亿,临床病例达到 1.03 亿。其中死亡病例 50 万人,非洲占 90%。由于联合国维和行动绝大多数部署在撒哈拉沙漠以南的非洲地区,疟疾对维和行动人员的健康存在很大威胁^[3-5]。利比里亚是疟疾的流行区,恶性疟占 95% 以上。疟疾通常表现为间歇热,部分患者就诊时体温正常,不能因其无发热症状就否定疟疾诊断,疟疾临床表现如头痛、关节痛、背痛等中毒症状均无特异性,低热患者应与普通感冒相鉴别,结合流行季节、查体(无原因的腹痛、腹部压痛、肝区叩击痛等阳性体征),积极行实验室确诊。

胶体金免疫层析法虽然只是定性实验,大量文献报道^[6-10],胶体免疫层析方法与显微镜检查、荧光定量 PCR 方法检测结果基本一致,因此可以用胶体金方法用于疟疾疾病的诊断,滴度检测虽为一种半定量实验,在没有 PCR 等定量设备的前提下,滴度分析可以作为评价疟疾治疗和预后监测的一个指标。

93 例疟疾阳性患者中,第 1 次发病的体温都比较高,且体温低于 38 $^{\circ}$ C 时胶体金免疫层析法检测不到,随着体温的升高,胶体金不仅能检测疟疾阳性,且滴度也随着体温的升高而上升,高热持续时间较长(3~5 d),病情相对较重,恢复较慢,且疟原虫检测转阴时间相对较长,体温升高很快可能与疟疾感染者初次被疟原虫致敏所发生的变态反应所致,且感染者大多为年轻人体内代谢旺盛,高热时间长合并其他并发症的概率就增大,所以在治疗时应结合滴度来确定治疗方案,根据患者情况尽量采用联合用药,避免复发和再燃。外国人大多在疫区生活时间较长,感染时大多无体温升高或体温在 39 $^{\circ}$ C 以下,39 $^{\circ}$ C 以上的相对较少,发生复发和再燃主要集中在这部分人当中,这可能与他们在当地生活时间长,已经耐受疟原虫的致敏原,且大多是多次用药,也没有经过系统的合理用药彻底杀灭疟原虫,导致耐药株的产生,且这部分人转阴时间相对较快,很可能是疟疾变异或机体启动了免疫逃避机制导致检测不到,表 2 虽然复发和再燃与滴度之间差异无统计学意义 ($P>0.05$),但随着滴度的增高出现复发和再燃的概率还是比较大的。

目前疟疾尚无疫苗可供预防使用,药物预防又因盲目性大,可引起头昏、乏力、视网膜损害、急性溶血等副作用,且可诱导疟原虫耐药株的产生,不宜长期、广泛应用,(下转第 482 页)

180), $Kappa=0.824$, 因为耐药菌株样本较小(共 36 例, 涂阳中 10 例), 其比率受单个结果影响较大, 真实比率还需要加大样本量进行验证。

在检测阳性结果分级的比较中, Xpert MTB/RIF 高、中、低、极低这 4 个水平与固体培养法的相对应, 观察结果发现, 分级结果相似性基本让人满意, 个别标本会被分在不同等级, 但也基本在左右相差一个等级, 不影响临床决策, 处于可接受范围内。高浓度菌种检测相似性更好, 在极低分类中, 改良罗氏有部分将其分类为阴性(7/37), 这有可能与技术员肉眼观察培养基斜面相关, 若 MTB 极低, 形成菌落不在中心, 很容易被忽视。

Xpert MTB/RIF 检测较少地依赖实验者的操作技能, 只需要简单的培训即可以应用相关软件和试剂盒进行检测操作并对结果进行判读, 这是 Xpert MTB/RIF 检测的一大优势, 其对于实验室人员专业技术要求较低, 对实验室安全也有更好的保障。另外, 它具有更短的周转时间(TAT), 同时检测 MTB 及利福平耐药性, 不到 3 h 即可得出结果。快速的分析检测, 也有利于医生更快做出决策, 减少患者可能的隔离时间, 预防医院潜在感染, 故 Xpert MTB/RIF 试验可作为 MTB 检测和利福平耐药检测的快速鉴定工具, 对于极低等级的结果, 可以通过培养和药敏实验进一步证实。

综上所述, Xpert MTB/RIF 虽然在耐药性检测上只能检测利福平, MTB 检测结果与培养法还是有一些差别, 但鉴于该方法与罗氏培养法良好的一致性、快捷性、更好的生物安全性和较低的成本, 在及时的患者干预方面有着重要的意义, 有助于患者病情控制和预防潜在的医院感染与结核病的传播, 可将其作为结核病疑似患者早期的主要筛查手段。从本次研究来看, Xpert MTB/RIF 展示出了良好的应用前景, 严格的临床应用还需要有更多的研究支持^[9]。

参考文献

[1] 张翊, 卢建平, 叶森. 四种结核分枝杆菌检测方法的临床

(上接第 479 页)

报道^[11]称目前在非洲疟疾已经出现了耐药性, 现今, 在全球范围内疟原虫肆虐的局势不但没有得到改善, 在某些地区反而有加重的趋势^[12]。因此对于初次感染的患者要及时根据温度和滴度的变化调整用药方案, 避免耐药株的产生。

参考文献

[1] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 联合国维和行动利比里亚概况与主要痢疾防治[M]. 北京: 人民军医出版社, 2003: 3.

[2] 谭伟龙, 王忠灿, 郁兴明, 等. 热区维和部队卫生防疫保障工作的做法与体会[J]. 东南国防医药, 2006, 8(3): 231-232.

[3] Lowy DR, Schiller JT. ProPhlactic human PaPillomavacines[J]. J Clin Invest, 2006, 116(5): 1167-1173.

[4] 张海谱, 梁霞, 李立青, 等. 利比里亚维和医疗队 4 例疟疾防控失败原因分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2016, 34(2): 266.

[5] 张长青. 某部赴苏丹达尔富尔维和部队防治疟疾的措施[J]. 解放军预防医学杂志, 2014, 32(1): 71-72.

应用评价[J]. 中国防痨杂志, 2006, 20(1): 14-17.

[2] 杨慧娟, 马利, 陈连勇, 等. Xpert MTB/RIF 技术对结核分枝杆菌检测和耐多药结核快速筛查的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 23(3): 4056-4059.

[3] Luetkemeyer AF, Firnhaber C, Kendall MA, et al. Evaluation of xpert MTB/RIF versus AFB smear and culture to identify pulmonary tuberculosis in patients with suspected tuberculosis from low and higher prevalence settings[J]. Clin Infect Dis, 2016, 62(9): 1081-1088.

[4] 曾松芳, 郭美丽, 赵珊珊, 等. 结核分枝杆菌/利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术在肺结核快速诊断中的应用价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 30(5): 683-685.

[5] 李妍, 张天华, 鲜小萍, 等. 利用 Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌及利福平耐药性的研究[J]. 临床肺科杂志, 2016, 21(10): 1762-1765.

[6] Metcalfe JZ, Makumbirofa S, Makamure B, et al. Xpert (R) MTB/RIF detection of rifampin resistance and time to treatment initiation in Harare, Zimbabwe[J]. Inter J Tube Dis, 2016, 20(7): 882-889.

[7] 田斌, 王孝君, 文岚. Xpert MTB/RIF 检测系统对肺结核临床诊断病例的应用价值[J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 20(9): 798-801.

[8] 路晓红, 付玉荣, 伊正君. 基于核酸检测诊断结核分枝杆菌感染的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 10(10): 967-971.

[9] 陈钰, 罗力涵, 张波. 新型结核分枝杆菌快速检测技术研究进展[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2016, 25(4): 373-375.

(收稿日期: 2016-09-28 修回日期: 2016-11-19)

[6] 方向明, 赵玉农, 王庆明, 等. 驻利比里亚维和医疗分队诊治疟疾情况分析[J]. 白求恩军医学院学报, 2011, 9(1): 31-33.

[7] 焦炳欣, 郭杰, 陈志海, 等. 荧光定量 PCR 技术在疟疾诊断中的应用[J]. 中华实验和临床感染病杂志, 2012, 6(4): 308-311.

[8] 江海龙, 田利源, 王光辉, 等. 快速诊断试剂盒在援非人员疟疾诊断中的应用研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(1): 107-108.

[9] 营雅茹, 李卫东, 张滔, 等. 快速检测试剂条、镜检和 PCR 在疟疾诊断中的应用研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2014, 18(2): 163-165.

[10] 杨荣助, 尹正留. 疟原虫 Malaria PLDH 快速检测技术的临床应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2009, 16(1): 56-57.

[11] 韩韬, 代勇. 简述使用青蒿素联合西药治疗疟疾的研究进展[J]. 当代医药论丛, 2015, 13(6): 10-11.

[12] 张楠. 青蒿素类药物的主要研究进展[J]. 中国药物评价, 2013, 30(1): 13-16.

(收稿日期: 2016-10-11 修回日期: 2016-12-02)