

新生隐球菌感染 12 例临床特点及实验室检测的回顾性分析

孙继梅 王艳玲 周秀珍 郑伟 张智洁 刘勇
(中国医科大学附属盛京医院, 沈阳 110004)

【摘要】 目的 了解新生隐球菌深部感染的临床特点及实验室检测,分析其耐药性。方法 对 12 例新生隐球菌感染患者的临床资料进行回顾性分析;应用美国 BD9240 全自动血液分析仪进行细菌培养和真菌培养,阳性酵母样真菌经 API 20C 鉴定到种;FUNGUS 3 进行真菌药敏试验。结果 12 例患者均经病原学确诊;其中中枢神经系统感染 6 例,血液感染 5 例,腹腔感染 1 例;新生隐球菌对临床常用 5 种抗真菌药物除 2 例氟康唑中介外,其余均敏感。结论 新生隐球菌不仅引起中枢神经系统感染,也可引起身体多部位感染,死亡率较高;早期病原学检测对疾病的诊断和治疗十分重要,联合用药预后较好。

【关键词】 新生隐球菌;临床感染;实验室检测;真菌药敏

【中图分类号】 R 379.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-3827(2011)03-0154-04

A retrospective analysis on clinical characteristics and laboratory detection of *Cryptococcus neoformans* infections

SUN Ji-mei, WANG Yan-ling, ZHOU Xiu-zhen, ZHENG Wei, ZHANG Zhi-jie, LIU Yong
(Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical characteristics and laboratory detection of *Cryptococcus neoformans* infections and to analyse its drug resistance. **Methods** Retrospective analysis was made on the clinical data of 12 patients infected by *Cryptococcus neoformans*. Germiculture and fungi culture were performed and the yeast was identified by API20C. Susceptibility test was made on FUNGUS3 micro dilution plate. **Results** Of all the 12 patients diagnosed by etiology, there were 6 cases of CNS infection, 5 cases in blood system, 1 case in abdominalcavity. *Cryptococcus neoformans* was sensitive to 5 kinds of antifungal drugs, but intermediate to fluconazole in 2 cases. **Conclusions** Early etiological examinations are essential to the diagnosis of *Cryptococcus neoformans* infection and combined antifungal therapy has good therapeutic effects.

【Key words】 *Cryptococcus neoformans*; clinical infection; laboratory detection; drug sensitiveness of fungi

[Chin J Mycol, 2011, 6(3):154-157]

新生隐球菌常引起中枢神经系统感染,血、腹水中少见。随着对该菌警惕性及新生隐球菌病原学和血清学检测方法的提高,近年来检出率日见增多,且误诊率及死亡率仍然很高。本文就我院 2009~2010 年分离的 12 株新生隐球菌患者的临床特征、病原菌分离鉴定和耐药性及治疗方法进行分析,现报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

2009 年 1 月~2010 年 12 月共分离隐球菌 12 株,10 例住院患者,1 例门诊患者,1 例外院患者;男性 8 例,女性 4 例;除 1 例 7 岁儿童外,其余均为成年患者,年龄 36~94 岁,平均 61.5 岁;其中中枢神经系统感染 6 例,血液感染 5 例,腹腔感染 1 例。

1.2 基础疾病

10 例住院患者中 2 例没查到明显基础疾病,其中 1 例以感冒为诱因,以头痛伴恶心、呕吐 10 d,发热 2 d 为主诉,于脑脊液中找到新生隐球菌

作者简介:孙继梅,女(汉族),副主任技师. E-mail: sunjm@sj-hospital.org

通讯作者:刘勇, E-mail: liuy@sj-hospital.org

并培养获得病原学确定;另 1 例头痛 40 余 d,近 5 d 加重,伴恶心、呕吐、颅压增高,以结核性脑膜炎收入结核病医院,于脑脊液中找到新生隐球菌并培养获得病原学确定后转入我院。其余均有不同程度基础疾病;如年龄偏大、吸入性肺炎、肺部感染、急性心功能不全、脑梗死后遗症、大疱性类天疱疮、冠心病、慢性重度丙型肝炎、慢性乙型肝炎、高脂血症、呼吸衰竭、血小板减少症激素治疗、慢性肾功能不全尿毒症长期透析、低增生性淋巴细胞白血病并冠心病、不稳定心绞痛等;大多数

患者合并多种疾病,长期应用抗生素和其他药物,并有长期激素应用史。

1.3 临床表现

中枢神经系统感染首发症状:头痛伴恶心、呕吐,体温正常或稍高,白细胞正常或偏高,脑膜刺激症阳性,并伴有基础疾病可能出现的各种临床表现;血液感染和腹水感染者均有 2~6 种基础疾病,没有特异性临床表现。可有发热,白细胞增高及其基础疾病可能出现的各种临床表现和检验指标的改变。12 例患者基本情况见表 1。

表 1 患者基本情况
Tab. 1 Basic conditions of patients

样本号	性别	年龄	标本类型	首发症状	初诊	基础疾病	确诊检测次数	治疗缓解时间
病例 1	男	94	血	发热 (38.3℃) 伴咳嗽、咳痰 2 周,加重 3 d	吸入性肺炎	冠心病、脑梗死后遗症、高血压、大疱性类天疱疮、长期卧床	单次双侧双份血培养新生隐球菌生长	住院 5 d 死亡 (培养结果汇报时患者已死亡)
病例 2	男	75	血	发热 (39.2℃) 伴乏力,CT 示双肺炎症	重症肺炎	丙型肝炎 5 a、黄疸、双下肢水肿、血小板减少症、长期激素治疗	单次双侧双份血培养新生隐球菌生长	两性霉素 B、氟康唑静滴 10 d,病情稳定,继续氟康唑口服治疗
病例 3	男	64	腹水	腹痛伴双下肢水肿 40 d	腹痛待查	慢性肾功能不全、尿毒症期、马兜铃酸肾病、长期腹透	2 次腹水培养新生隐球菌生长	口服氟康唑并在腹透液中加入氟康唑 200 mg,6 d 腹痛缓解,继续治疗
病例 4	男	82	血	咳嗽咳痰 4 d,精神萎靡 5 d,喘息伴发热 1 d (38.6℃)	吸入性肺炎、低蛋白血症	脑梗死后遗症、侵袭性肺曲霉病、慢性肾功能不全、泌尿系统感染	单次双侧双份血培养新生隐球菌生长	医嘱两性霉素 B、氟康唑静滴,丙球支持;但家属仅同意氟康唑治疗,2 d 后死亡
病例 5	男	36	脑脊液	门诊病历,资料不详	颅内感染?	不详	脑脊液涂片培养均为新生隐球菌	具体治疗过程不详,病情缓解
病例 6	男	55	脑脊液	头痛 1 个月,加重 4 d	头痛原因待查	乙型肝炎 5 a,甲亢 3 a,20 a 前因车祸行颅脑减压术,椎间盘突出症,肺内感染	脑脊液涂片培养均为新生隐球菌	建议卡泊芬净治疗,但患者拒绝,自动出院
病例 7	男	7	血	发热 2 周 (40.0℃)	发热原因待查	长期皮肤及指甲念珠菌病,双手指甲呈菜花样黑黄色	3 次血培养新生隐球菌生长;血清隐球菌荚膜抗原试验阳性,抗原滴度 1:8 192 倍	两性霉素 B 联合氟康唑抗真菌治疗 20 d 后病情稳定,血清抗原滴度下降为 1:2 048 倍。由于经济原因,单用氟康唑口服维持治疗
病例 8	女	65	血	发热		增生性淋巴细胞白血病,伴冠心病、不稳定心绞痛 3 a,白血病性脑病	单次双侧双份血培养新生隐球菌生长	病情危重,家属拒绝用药,放弃治疗死亡
病例 9	女	48	脑脊液	头痛 40 d,加重 5 d,恶心、呕吐	结核性脑膜炎	长期大量饮酒史 (0.25~0.5 kg),2008 年 5 月曾被外院诊断为隐脑	脑脊液涂片培养均为新生隐球菌	氟康唑治疗 4 d 后改用两性霉素 B 联合氟胞嘧啶抗真菌治疗 17 d 并腰大池置管引流术病情稳定继续治疗
病例 10	女	69	脑脊液	外院送检,资料不详	不详	不详	脑脊液涂片培养均为新生隐球菌	具体治疗过程不详,病情缓解
病例 11	男	38	脑脊液	头痛伴恶心、呕吐 10 d,发热 2 d (37.5℃)	头痛原因待查,颅内感染?	感冒	脑脊液涂片培养均为新生隐球菌	两性霉素 B 联合氟康唑抗真菌治疗 30 d 并腰大池置管引流术病情稳定,要求出院继续口服氟康唑
病例 12	女	54	脑脊液	头痛伴恶心、呕吐 5 d,发热 1 d (38.5℃)	颅内感染? 病毒性脑膜炎?	无明确基础疾病	脑脊液涂片培养均为新生隐球菌	两性霉素 B 联合氟胞嘧啶抗真菌治疗 22 d 病情稳定,要求出院继续口服氟康唑

2 实验室检测

2.1 真菌培养

注意无菌操作,将血标本注入血液细菌或真菌培养瓶中,BD9240 全自动血培养仪内监测,阳性报警 (30 ~ 70 h 之间)后立即涂片和分离培养,转种血平板、沙氏培养基 35℃ 培养 24 ~ 48 h;抽取脑脊液直接接种血平板和沙氏培养基或注入血液增菌培养瓶于 BD9240 全自动血培养仪内监测,其他同血培养。

2.2 真菌鉴定

血平板生长酵母样菌落,直接采用法国生物梅里埃 API 20C 酵母菌鉴定板鉴定到种,操作按照试

剂盒说明书进行。

2.3 真菌药敏

法国生物梅里埃 ATB FUNGUS3 真菌药敏微量稀释法,对 12 株分离菌进行药敏试验。抗菌药物:5-氟胞嘧啶 (5-fluorocytosine, 5-FC)、两性霉素 B (amphotericin B, AMB)、氟康唑 (fluconazole, FCA)、伊曲康唑 (itraconazole, ITR)、伏立康唑 (voriconazole, VRC)。质控株:白念珠菌 ATCC90028,近平滑念珠菌 ATCC22019。操作按照试剂盒说明书进行,结果按美国临床与实验室标准化研究所 (CLSI) M27-A3 判读^[1]。12 株新生隐球菌对 5 种抗真菌药物最小抑菌浓度结果见表 2。

表 2 12 株新生隐球菌对 5 种抗真菌药物最小抑菌浓度 (MIC, μg/mL)
Tab.2 Minimum inhibitory concentration of 5 kinds of antibiotics against 12 isolates of *Cryptococcus neoformans*

样本号	性别	年龄	标本类型	5-氟胞嘧啶	两性霉素 B	氟康唑	伊曲康唑	伏立康唑
病例 1	男	94	血	≤4	≤0.5	2	0.125	0.06
病例 2	男	75	血	≤4	≤0.5	4	0.25	0.25
病例 3	男	64	腹水	≤4	≤0.5	2	0.25	0.125
病例 4	男	82	血	≤4	1	8	0.25	0.25
病例 5	男	36	脑脊液	≤4	≤0.5	2	0.25	0.125*
病例 6	男	55	脑脊液	16	≤0.5	8	0.25	0.25
病例 7	男	7	血	≤4	≤0.5	4	0.25	0.25
病例 8	女	65	血	≤4	≤0.5	2	0.25	0.125
病例 9	女	48	脑脊液	≤4	≤0.5	2	0.25	0.125
病例 10	女	69	脑脊液	≤4	≤0.5	2	0.25	0.125*
病例 11	男	38	脑脊液	≤4	≤0.5	2	0.25	0.06*
病例 12	女	54	脑脊液	≤4	≤0.5	2	0.25	0.125*

注:5-氟胞嘧啶:≤4 敏感,8 ~ 16 中介,≥32 耐药;两性霉素 B:没有定义 (ND),但 ≥2 建议判断为耐药 (新生隐球菌通常为 0.5 和 1);氟康唑:≤4 敏感,8 中介,≥16 耐药;伊曲康唑:ND;伏立康唑:ND

3 讨论

隐球菌属在真菌分类学上归入半知菌亚门、芽孢菌纲、隐球酵母目、隐球酵母科。引起人类感染的隐球菌主要是新生隐球菌,偶有格特隐球菌感染的报道^[2]。隐球菌可以感染人体的任何组织和脏器,最常见的部位是中枢神经系统^[3],其次为肺部和皮肤。目前,在免疫抑制患者中,隐球菌感染的发病率约为 5% ~ 10%,在 AIDS 患者中,隐球菌的感染率可以高达 30%,而在免疫功能正常的人群中,隐球菌的感染率约为十万分之一左右^[4]。新生

隐球菌常引起中枢神经系统感染^[5-7],血液感染少见报道^[8,9],腹水感染国内未见报道。本组病例中枢神经系统感染 6 例,临床表现多为头痛、恶心、呕吐,急性起病;2 例无明确基础疾病,为青壮年患者,发病初期拟诊为结核性脑膜炎或病毒性脑膜炎,后脑脊液中找到并培养出新生隐球菌而确诊为新生隐球菌性脑膜炎;4 例有不同程度基础疾病合并新生隐球菌性脑膜炎,脑脊液找到和培养出新生隐球菌。临床除给予抗真菌治疗外,腰大池引流术减轻颅内压,鞘内注射抗真菌药物,对症抗炎补液

补钾保肝,除 1 例严重基础疾病合并新生隐球菌性脑膜炎治疗无效死亡外,其余 5 例均病情好转后出院继续抗真菌治疗。

5 例血液中培养出新生隐球菌,1 例腹水中培养出新生隐球菌。这些患者均有 2~6 种基础疾病,免疫功能低下或长期抗生素治疗,糖皮质激素应用等。6 例均经血液或腹水分离出新生隐球菌确诊为合并真菌感染。其中病例 3 男性老年患者,慢性肾功能不全、尿毒症期,腹膜置管透析治疗 6 a,冠心病 10 a,近期腹痛,腹水培养新生隐球菌生长,口服氟康唑,并氟康唑 200 mg 加入腹透液中抗真菌治疗,6 d 后腹痛缓解,继续氟康唑抗真菌治疗并对症基础疾病治疗,病情好转后出院。病例 7 为患儿,长期皮肤及指甲念珠菌病(外院诊断)。近期高热,双手指甲呈菜花样黑黄色,临床怀疑败血症多次行血培养,生长新生隐球菌,患儿血清隐球菌荚膜抗原乳胶凝集试验阳性,抗原滴度 1: 8 192 倍;脑脊液培养未见新生隐球菌生长,脑脊液隐球菌荚膜抗原乳胶凝集试验阳性,抗原滴度 1: 2 倍阴性;两性霉素 B 联合氟康唑抗真菌治疗 20 d 后病情稳定,血清抗原滴度下降为 1: 2 048 倍。由于经济原因,单用氟康唑口服维持治疗。病例 8 为增生性淋巴细胞白血病患者,并伴有冠心病、不稳定心绞痛 3 a,该患者入院后脑脊液查到幼稚细胞,确诊白血病毒性脑病。患者头痛、恶心、呕吐、颅内压增高,一切神经系统症状都被白血病毒性脑病所解释,临床并未怀疑真菌感染,4 次腰穿脑脊液均未做相关病原学检测,而后在血液培养中生长新生隐球菌,确诊新生隐球菌败血症,是否合并新生隐球菌脑膜炎无从考证,因患者病情危重,家属拒绝用药,放弃治疗死亡。

新生隐球菌诊断的金标准是找到病原学依据,墨汁涂片的阳性率较低,建议对可疑病例反复做腰穿、墨汁涂片、真菌培养、血培养、隐球菌荚膜抗原测定等,不要因为 1 次检查阴性就轻易排除隐球菌感染,有的患者第 6 次脑脊液检查才发现隐球菌^[10]。本组 12 例患者就有 10 例误诊,尤其有多种基础疾病患者,延误疾病诊断和治疗,增加病死率。本组病例死亡 4 例(33.3%),其中血液感染 3 例,中枢系统感染 1 例,均未经抗真菌治疗而死于基础疾病合并隐球菌感染。随着临床对本病警惕性的增高,实验室检测手段的增多,特异性检测方法^[11](新生隐球菌荚膜抗原乳胶凝集试验)的临床

应用,血培养的普遍开展,会使新生隐球菌的检出率不断增加。加强临床与实验室联系有助于疾病早期诊断,早期治疗,降低死亡率,改善预后。

本组 12 株新生隐球菌药敏试验显示,新生隐球菌对临床常用抗真菌药物 MIC 值均较低,两性霉素 B 联合 5 氟胞嘧啶或氟康唑为治疗新生隐球菌感染首选,本组治疗好转患者多依赖于两性霉素 B 联合 1 种或 2 种其他抗真菌药物^[4,12]。

隐球菌感染缺乏特异性临床表现,易误诊而延误正确的诊断和治疗,尤其有多种基础疾病并发隐球菌败血症或隐球菌中枢系统感染,临床表现极易被基础疾病或其他疾病掩盖,而致漏诊、误诊;早期的病原学检测对疾病的诊断和治疗十分重要;抗真菌治疗周期长,费用高,致使有些患者难以承受。

参考文献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution for antimicrobial susceptibility testing of yeasts[S]. Approved Standard-Third Edition. M27-A3.
- [2] Fraser JA, Giles SS, Wenink EC, et al. Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak[J]. Nature, 2005, 437(7063): 1360-1364.
- [3] 张俊勇,温海. 新生隐球菌通过血脑屏障的研究进展[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(1): 61-63.
- [4] 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.
- [5] 汤其强,任明山,李淮玉,等. 14 例新型隐球菌性脑膜炎临床分析[J]. 安徽医学, 2010, 31(9): 1021-1023.
- [6] 黄晨,朱元杰,顾菊林,等. 系统性红斑狼疮并发隐球菌性脑膜炎 1 例报告并文献复习[J]. 中国真菌学杂志, 2010, 5(4): 223-226.
- [7] 刘铮,曾繁银,肖祖峰,等. 中枢神经系新型隐球菌感染 10 例分析[J]. 赣南医学院学报, 2001, 21(3): 306-307.
- [8] 袁劲松,盛裕芬. 脑脊液和血液中同时检出新型隐球菌 1 例报告[J]. 江西医学检验, 2003, 21(4): 317.
- [9] 胡发云,汪建,叶飞,等. 血液真菌培养阳性的新型隐球菌性脑膜炎 1 例报告[J]. 临床神经病学杂志, 2009, 22(2): 50.
- [10] 黄中坚,李育英. 16 例隐球菌脑膜炎误诊分析[J]. 海南医学, 2010, 21(13): 65-66.
- [11] 王鑫,刘瑞春,何俊英,等. 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] Perfect JR, Dismukes WE, 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.

[收稿日期] 2011-03-03

[本文编辑] 卫凤莲