

# 国内三家医院 33 例临床隐球菌病病原菌分离、药敏试验和临床分析

李 晨<sup>1</sup>, 陈杏春<sup>2</sup>, 张小团<sup>3</sup>

(1. 浏阳市中医医院, 湖南浏阳 410300; 2. 广西壮族自治区人民医院, 南宁 530000; 3. 南华大学附属第二医院, 湖南衡阳 421000)

**摘要:** 目的 了解国内三家医院临床确诊隐球菌病的分布、药敏试验、临床特点以及抗生素治疗等, 提高临床对隐球菌病临床特征的认识。方法 回顾性分析 2018 ~ 2019 年国内三家医疗机构 33 例确诊隐球菌病患者的临床表现、治疗、预后及实验室检查和药敏结果。结果 33 例隐球菌病患者 (男性 25 例, 女性 8 例) 平均年龄  $50.4 \pm 12.6$  岁, 10 例无基础疾病。33 株隐球菌中新隐球菌 31 株, 格特隐球菌 2 株, 其中 16 株 (48.5%) 来自脑脊液, 7 株 (21.2%) 来自肺穿组织。常见的中枢神经系统的临床症状有发热 18 例, 头痛 14 例, 恶心呕吐 9 例。药敏结果显示, 所有菌株对两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑均没有获得耐药; 1 株对氟胞嘧啶有获得性耐药。脑隐球菌病主要选择两性霉素 B 进行治疗, 肺隐球菌病选择氟康唑, 好转 15 例, 死亡 3 例, 转院 8 例, 另有 7 例未经治疗转院。结论 隐球菌对人类致病的主要是新生隐球菌和格特隐球菌。中枢神经系统症状以发热、头痛和恶心呕吐最常见, 单纯肺隐球菌病无典型的中枢神经系统的症状; 绝大多数菌株均没有获得耐药; 临床应重视病原学检测, 及时使用抗真菌治疗, 对疾病的诊治和预后十分重要。

**关键词:** 隐球菌; 新生隐球菌; 脑隐球菌病; 肺隐球菌病

中图分类号: R379.5; R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 04-113-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.028

## Identification, Antifungal Sensitivity Profiles and Clinical Features of 33 *Cryptococcosis* Cases in Three Hospitals in China

LI Chen<sup>1</sup>, CHEN Xing-chun<sup>2</sup>, ZHANG Xiao-tuan<sup>3</sup>

(1. Liuyang Traditional Chinese Medicine Hospital, Hunan Liuyang 410300, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Region People's Hospital, Nanning 530000, China; 3. the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hunan Hengyang 42100, China)

**Abstract: Objective** To understand the distribution, antifungal susceptibility profile, clinical characteristics and antibiotic treatment of *Cryptococcosis* in three hospitals in China, so as to improve the clinical understanding of *Cryptococcosis*. **Methods** The clinical manifestations, treatment, outcomes, laboratory examination and antifungal susceptibility testing results of *Cryptococcosis* patients diagnosed in three healthcare-centers in China from 2018 to 2019 were analyzed retrospectively. **Results** Collected 33 *Cryptococcosis* cases, including 25 males and 8 females, aged  $50.4 \pm 12.6$  years, and 10 patients had no underlying diseases. Among 33 *Cryptococcosis*, 31 *Cryptococcus neoformans* and 2 *C. gattii*, of which 16 (48.5%) were isolated from cerebrospinal fluid and 7 (21.2%) from lung tissue. The common clinical symptoms of cryptococcal meningitis were fever (18 cases), headache (14), nausea (9) and vomiting (9). The antifungal results revealed that all strains were susceptible to Amphotericin B, Fluconazole, Itraconazole and Voriconazole, and one strain resistant to Flucytosine. Amphotericin B was the mainstay in the treatment for cryptococcal meningitis, while Fluconazole for cryptococcal pneumoniae. After treatment, 15 cases improved, 3 were dead, 8 were transferred to other hospitals after some treatment, and 7 were transferred without treatment. **Conclusion** *Cryptococcus* and *Cryptococcus gattii* are the main pathogens of *Cryptococcus neoformans*. Fever, headache, nausea and vomiting are the most common symptoms of the central nervous system. Most *Cryptococcus* strains had no acquired antifungal mechanism. Should pay attention to pathogenic identification and timely antifungal treatment, which is very important for the diagnosis, treatment and prognosis of *Cryptococcosis*.

**Keywords:** *Cryptococcus*; *Cryptococcus neoformans*; cryptococcal meningitis; cryptococcal pneumoniae

作者简介: 李晨 (1988-), 女, 本科, 主管检验师, 主要从事微生物检验工作, E-mail: 554502366@qq.com。

通讯作者: 陈杏春, 女, 主任技师, E-mail: 369609020@qq.com。

20世纪80年代以来,隐球菌感染的发病率随着艾滋病的流行而上升,目前已成为艾滋病患者最常见的机会感染之一,但在国内易感人群仍以免疫缺陷者、长期应用广谱抗生素、肾上腺皮质激素、免疫抑制剂的患者为主<sup>[1]</sup>。但无基础疾病和免疫功能抑制人群也可发生隐球菌病<sup>[2]</sup>。全球每年约有100万人感染隐球菌,并且造成约63万人死亡<sup>[3]</sup>。由于该菌引起的隐球菌病病情复杂多变,早期临床表现不典型,常导致误诊、漏诊,晚期药物治疗效果欠佳。本文回顾性分析33例确诊的隐球菌病患者的临床特点、药敏分析、抗生素治疗及预后等资料,提高临床医务人员对隐球菌病的认识,降低患者的误诊、漏诊及死亡率。现报道如下:

## 1 材料与方法

1.1 菌株来源 2018年1月~2019年12月临床送检标本分离出的隐球菌,共33株,其中广西壮族自治区人民医院24株,南华大学附属第二医院7株,浏阳市中医医院2株。

1.2 培养与鉴定 严格参照《全国临床检验操作规程》第四版规定分离培养病原菌,分别于24, 48, 72 h观察,若无真菌生长继续培养5~7天;鉴定仪器为法国生物梅里埃全自动Vitek2 compact仪器和德国Bruker MALDI Biotyper 2.3质谱仪。

1.3 药敏试验 采用ATB FUNGUS 3试剂条(法国生物梅里埃公司)以标准化微量肉汤稀释法,所有的操作均严格按说明书规定进行。结果解释与判定标准参照2018年美国临床和实验室标准化协会(CLSI) M59-ED2文件:抗真菌药物敏感性流行病学折点(epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing)。

## 2 结果

2.1 患者一般资料 33例患者中,男性25例,女性8例,年龄11~71岁,平均年龄 $50.4 \pm 12.6$ 岁。23例有基础疾病,其中肾病综合征5例,糖尿病4例,肿瘤和高血压各2例,艾滋病、病毒性心肌炎、脑梗死、慢性乙型肝炎、慢性粒细胞白血病、类风

湿关节炎、肠易激综合征、慢性肾功能不全、肺结核和淋巴瘤各1例,10例无基础疾病和并发症。

2.2 临床表现 16例隐球菌脑膜炎中头痛13例,发热12例,恶心呕吐9例,行走不稳6例,意识障碍5例,语言障碍5例,颈抵抗4例;9例肺隐球菌病中,均有肺部结节或阴影等影像学改变,咳嗽6例,发热1例,2例无临床症状;5例血培养阳性患者均有发热,3例有意识障碍或颈抵抗,考虑并发中枢系统感染,但因患者病情严重未能抽取脑脊液进行检查;1例膝组织和胫血肿患者仅有局部组织红肿表现,1例尿隐球菌为肾脏肿瘤患者,发热。

2.3 菌株鉴定及标本来源 见表1。33株隐球菌经鉴定31株为新生隐球菌,2株为格特隐球菌,经进一步分子生物学鉴定均为VG I。16株来自脑脊液,占48.5%,7株来自肺穿组织,占21.2%。

表1 不同标本的隐球菌分布(n=33)

标本类别	株数(n)		比例(%)
	新生隐球菌	格特隐球菌	
脑脊液	14	2	48.5
肺穿组织	7	0	21.2
全血	5	0	15.2
痰液	2	0	6.1
左膝组织	1	0	3.0
尿液	1	0	3.0
右胫血肿	1	0	3.0

2.4 药敏试验 见表2。因目前CLSI没有隐球菌临床折点判断标准,只有流行病学折点(epidemiologic cutoff value, ECV),根据ECV将菌株分为野生型(wild-type WT)和非野生型(non-wild-type, NWT),野生型被认为没有获得耐药,非野生型有获得性耐药。药敏结果显示,所有菌株对两性霉素B、氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑均没有获得耐药,为野生型;1株对氟胞嘧啶有获得性耐药,为非野生型。

表2 33株隐球菌药敏结果[n(%)]

抗生素	新生隐球菌(n=31)				格特隐球菌(n=2)			
	WT	NWT	MIC范围 ( $\mu$ g/ml)	ECV ( $\mu$ g/ml)	WT	NWT	MIC范围 ( $\mu$ g/ml)	ECV ( $\mu$ g/ml)
两性霉素B	31(100)	0	<0.5	0.5	2(100)	0	<0.5	0.5
5-氟胞嘧啶	30(96.8)	1(3.2)	<4~>16	8	2(100)	0	<4	16
氟康唑	31(100)	0	<1~8	8	2(100)	0	<1	4
伊曲康唑	31(100)	0	<0.125~0.5	0.25	2(100)	0	<0.125	0.5
伏立康唑	31(100)	0	<0.06~0.5	0.25	2(100)	0	<0.06	0.5

注: MIC: 最低抑菌浓度, WT: 野生型, NWT: 非野生型, ECV: 流行病学折点。

2.5 治疗及转归 16例脑隐球菌患者中6例用两性霉素B进行治疗,4例两性霉素B联合氟胞嘧啶,另有6例未经治疗转院;11例肺隐球菌及局部感染患者均用氟康唑进行治疗;总体好转15例,无效出院2例,死亡3例。

### 3 讨论

对人类致病的隐球菌主要是新生隐球菌和格特隐球菌,新生隐球菌多见于撒哈拉以南的非洲,主要感染免疫功能低下者,如获得性免疫缺陷综合征(AIDS)和器官移植者,而格特隐球菌多见于热带和亚热带地区,常感染免疫功能正常者<sup>[4]</sup>。本研究33例患者中,21例新生隐球菌感染患者有基础疾病,8例新生隐球菌及2例格特隐球菌感染患者均未发现传统意义上基础疾病,说明该菌有一定强度的毒力,临床医师发现健康人群肺部或中枢神经系统感染时应考虑到隐球菌病存在。

中枢神经系统隐球菌感染在中枢神经系统真菌感染中最为常见,且病死率长期以来居高不下,目前其发病机制尚不十分明确。研究发现隐球菌的跨细胞膜转运机制、“特洛伊木马”机制及细胞旁扩散转运机制,脑脊液中缺少可溶性抗隐球菌因子和补体激活系统等被认为是中枢神经系统易累及的主要原因<sup>[5-6]</sup>。本组资料显示16例脑隐球菌病其症状具有非特异性,头痛、发热、恶心呕吐主要临床症状,与国内研究报道相似<sup>[7]</sup>。另有5例血培养阳性患者均有发热,3例有意识障碍或颈抵抗,应考虑并发中枢系统感染,但因患者病情严重未能抽取脑脊液。不典型的临床表现往往误导临床医生,发病初期易将脑隐球菌病误诊为上呼吸道感染,症状迁延未愈时才考虑为颅内感染,因此,早期诊断首先在于提高临床医生颅内感染发生意识,及早行腰穿检查<sup>[8]</sup>。

自然界中的隐球菌广泛存在于土壤、鸟类粪便、室内灰尘、树林等环境中,可形成气溶胶,经呼吸道进入肺泡,引起肺隐球菌病。肺隐球菌病通常临床症状较轻,主要为咳嗽和咯痰,影像学上缺乏特异性,易被误诊为肺癌、肺转移癌、肺结核和肺炎等疾病<sup>[9]</sup>。目前对肺隐球菌病的诊断主要依赖于病原学和组织学检查。本研究肺隐球菌7株来自肺穿组织,仅2株来自痰液,说明肺穿组织阳性率远高于痰液。陈栎江等<sup>[10]</sup>的研究显示,在确诊的53例肺隐球菌病中,痰液、肺泡灌洗液、肺穿组织培养阳性率分别为3.0%(1/33),36.4%(8/22),69.6%(16/23),而隐球菌荚膜多糖抗原试验阳性52例,敏感度高达98.1%。由此可见,肺隐球菌病因临床症状、影像学的无特异性及无创性培养的低敏感度被严重低估。肺组织取样作为一种有创检查,相比痰液和肺泡灌洗液检出率要高,但风险高,不

适合普查。血、脑脊液标本中隐球菌荚膜多糖抗原敏感度及特异度非常高,被国际共识<sup>[11]</sup>推荐作为隐球菌病确诊试验<sup>[6]</sup>。

本研究药敏结果显示,33株隐球菌对两性霉素B、氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑均没有获得耐药,仅1株对氟胞嘧啶有获得性耐药。根据本研究结果,结合文献报道<sup>[12]</sup>,目前隐球菌对此5种抗真菌药物仍极少获得性耐药,因此,没有条件做隐球菌药敏的实验室,可以推荐临床根据指南经验用药<sup>[13]</sup>。CLSI规定,对于已确定ECV值的菌株,抑菌圈直径(纸片扩散法)和MIC值不能被解释或报告为敏感、中介或耐药,而是WT或NWT。ECV值不应作为临床折点使用。国内很多实验室未遵循CLSI相关规定,只根据试剂商家提供的折点,进行敏感、中介或耐药报告,这是不适用的。

氟康唑、两性霉素B、氟胞嘧啶是目前治疗隐球菌感染最常用的有效药物。尤其在隐球菌性脑膜炎的治疗上,常采用两性霉素B或两性霉素B联合氟胞嘧啶一期诱导治疗后,再使用氟康唑进行巩固维持治疗<sup>[13]</sup>。本研究中16例脑隐球菌病患者中6例单用两性霉素B进行治疗,4例两性霉素B联合氟胞嘧啶,除1例死亡,其余均好转;11例肺隐球菌病患者均用氟康唑进行初始治疗,均有好转;血培养阳性患者临床应根据患者症状考虑是否并发中枢系统感染,治疗方案应按照脑隐球菌病进行。

综上所述,隐球菌可感染几乎所有的人类器官及组织,临床症状缺乏特异性,临床对该病引起的感染认识不足,尤其并发多系统混合感染时,常掩盖病情,造成误诊、漏诊。本研究病例量少,对于隐球菌病的临床表现以及药敏试验需进一步扩大数量,并深入研究。对疑似隐球菌感染时,应及时送检脑脊液、全血、肺穿组织或者局部感染组织等标本进行检查,有条件的开展隐球菌荚膜抗原检测,或者CD分子的检测<sup>[14-15]</sup>,做到早发现、早诊断、早治疗。

### 参考文献:

- [1] 汪复,张婴元.实用抗感染治疗性[M].2版.北京:人民卫生出版社,2013:663-667.  
WANG Fu, ZHANG Yingyuan. Practical anti infection therapeutics[M]. 2nd Ed. Beijing: People's Health Press, 2013:663-667.
- [2] CLAUSTRE J, BRION J P, QUETANT S, et al. Favorable evolution of *Cryptococcal* meningitis in the context of flucytosine resistance[J]. Experimental and Clinical Transplantation, 2018, 16(1): 110-113.
- [3] LIMPER A H, ADENIS A, LE T, et al. Fungal infections in HIV/AIDS[J]. Lancet Infectious Diseases, 2017, 17(11): e334-e343.

(下转138页)