

氟康唑体外不敏感隐球菌感染 1 例并耐药相关研究现状

华中科技大学同济医学院附属同济医院 苏玉莹 赵建平 王坚苗*, 武汉 430030

关键词 隐球菌; 氟康唑; 耐药

中图分类号 R519.4

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzzz20190323

隐球菌是一种有荚膜包绕的酵母菌,常存在于鸟粪(尤其是鸽粪)、鼠粪、土壤、空气、水果、蔬菜中。引起人类感染的隐球菌主要是新型隐球菌和格特隐球菌,其中新型隐球菌可分为 3 个变种:格鲁比变种、新生变种和混合变种。隐球菌感染常见于免疫受损或免疫缺陷的患者,如艾滋病、恶性肿瘤、长期服用激素或免疫抑制剂的患者,但也可感染免疫功能正常的人^[1]。肺隐球菌病多由吸入环境中的新型隐球菌引起。本文报道 1 例氟康唑体外不敏感肺隐球菌病,并复习新型隐球菌耐药的相关文献。

临床资料

患者男,41 岁,因“咳嗽、痰中带血 2 月”于 2017 年 12 月 20 日入住华中科技大学同济医学院附属同济医院。患者于 2 个月前受凉后出现咳嗽,咳少量白痰,自行口服止咳药后咳嗽症状稍好转,但出现痰中带血,无明显发热、畏寒、头痛、胸闷、胸痛等不适,在当地诊所给予抗感染及止咳治疗后,症状有所好转,于 2017 年 11 月 25 日行胸片检查:左肺病灶,不排除占位性病变可能。胸部 CT 检查:左肺下叶感染可能。当地医院给予抗感染(哌拉西林钠他唑巴坦和莫西沙星)和化痰及对症治疗,半月前复查胸部 CT:左肺下叶致密实变影,病变大小同前,其内新见小空洞影,考虑肉芽肿性病变,肿瘤性病变待排。门诊以“左下肺病变性质待查”收入院。起病以来,患者精神、食欲尚可,睡眠欠佳,体力、体重无明显下降,大小便正常。既往有吸烟史 20 年(30 支/d),否认糖尿病、高血压等基础疾病史。入院后体格检查: T 36.0℃,脉搏 90 次/min,呼吸 20 次/min, BP 130/81 mmHg,神志清楚,精神尚可,全身浅表淋巴结未及肿大,双肺呼吸音清,未闻及干湿性啰音,心律齐,各瓣膜区未闻及病理性杂音,腹平软,无压痛反跳痛,肝脾肋下未及,肾区无叩痛,双下

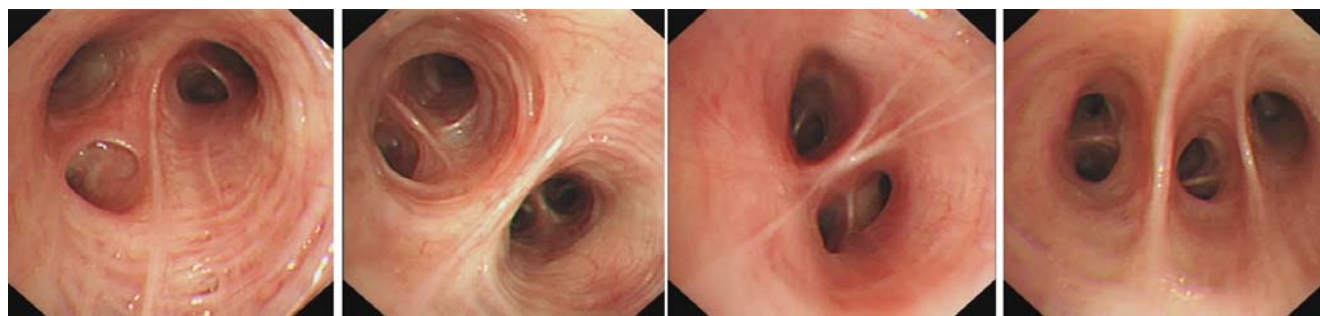
肢无水肿。入院初步诊断:左下肺病变性质待查。

入院后相关辅助检查:血 WBC $6.16 \times 10^9/L$, N 79.8%, L 13.3%, Hb 108.0 g/L, PLT $209.0 \times 10^9/L$ 。尿常规和大便常规正常,大便隐血试验阴性。肝肾功能、电解质、血糖、超敏 C 反应蛋白、降钙素原、免疫全套、凝血常规和 D-二聚体均正常范围。风湿全套:抗核抗体胞浆颗粒型 1:100,核颗粒型 1:100,其余项目均阴性,类风湿全套、抗中性粒细胞胞浆抗体、抗肾小球基底膜抗体均阴性,血肿瘤标志物全套均正常范围, T-SPOT 结果无反应性。痰涂片未找到抗酸杆菌,痰培养提示口腔正常菌群,痰结核分枝杆菌核酸检测(GeneXpert)阴性。血曲霉菌抗原检测(GM 试验)阴性,血新型隐球菌抗原检测阴性。2017 年 12 月 25 日复查胸部 CT:左肺下叶结片灶,考虑感染可能,建议治疗后复查,见图 1。支气管镜检查:双侧支气管可见范围(段及亚段)未见明显异常,见图 2。根据胸部 CT 于左下叶背段支气管灌洗送检,灌洗液涂片未找到抗酸杆菌, GeneXpert 阴性, GM 试验阴性。灌洗液细胞学检查:镜下见大量纤毛柱状上皮细胞,中性粒细胞,未见其他。灌洗液培养 48 h 无细菌生长,未培养出真菌。



图 1 胸部 CT 检查

* 通信作者:王坚苗, E-mail: wangjianmiao2010@126.com



左固有上叶

左舌叶

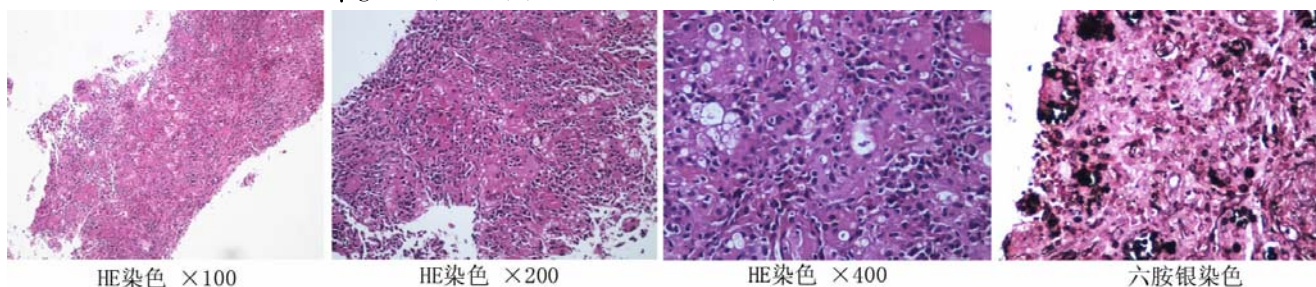
左下叶背段

左下叶基底段

图2 支气管镜检查

征得患者及家属同意后,于 CT 引导下经皮肺穿刺活检术。肺组织涂片未找到抗酸杆菌、真菌以及细菌。脱落细胞学检查:镜下见中性粒细胞、组织细胞、巨噬细胞、多核巨细胞。肺穿刺组织病理结果:镜下见肉芽肿形成,多核巨细胞内见圆形菌体,周围有夹膜包绕,特殊染色显示: PAS 及六胺银染色(+),抗酸染色(-),见图3,符合真菌病伴肉芽肿形成,考虑新型隐球菌感染可能。免疫组化: VIM(+)、CD68(+)、CK5/6(-)、P63(-)、P40(-)、CK7(-)、TTF-1(-)、Napsin A(-)、CD34(-)、Ki-67(LI 约3%~5%)。肺穿刺组织培养加药敏结果:检出新型隐球菌,伊曲康唑最低抑菌浓度0.125 $\mu\text{g/mL}$ (敏感),两性霉素 B 最低抑菌浓度0.5 $\mu\text{g/mL}$ (敏感),氟康唑

最低抑菌浓度4 $\mu\text{g/mL}$ (中介),伏立康唑最低抑菌浓度0.125 $\mu\text{g/mL}$ (敏感),5-氟胞嘧啶最低抑菌浓度4 $\mu\text{g/mL}$ (敏感)。再次抽血行新型隐球菌抗原检测,结果为阳性。根据肺组织病理学检查和组织培养结果,该患者诊断符合肺隐球菌病,药敏结果进一步提示该患者感染的新隐球菌对氟康唑不敏感,给予口服伏立康唑胶囊0.2 g, 2次/d。尽管患者无头痛等颅内感染的临床表现,仍建议其行腰穿完善脑脊液检查,以排除中枢神经系统隐球菌感染,但患者及家属不同意,遂带药出院。嘱其院外继续药物治疗,并定期复查血常规、肝肾功能以及胸部 CT 等。3 个月复查胸部 CT 提示肺部病变较前明显吸收,见图4。

HE染色 $\times 100$ HE染色 $\times 200$ HE染色 $\times 400$

六胺银染色

图3 肺穿刺组织病理(HE 染色和六胺银染色)

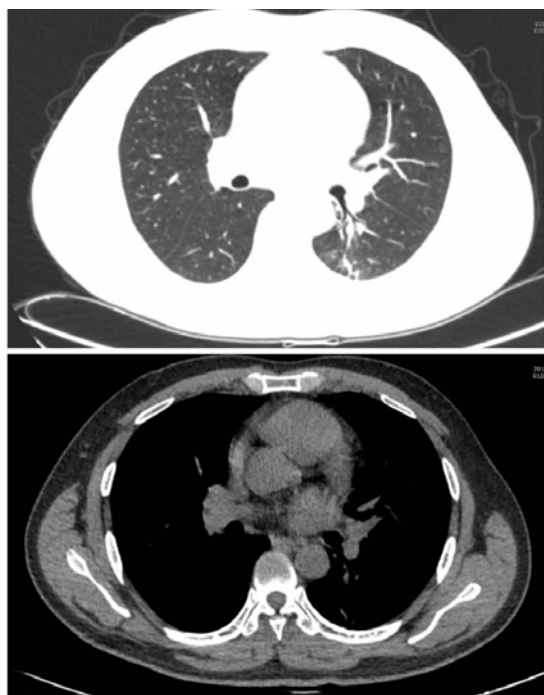


图4 胸部 CT 检查

讨论

流行病学调查发现,我国隐球菌感染的大部分患者 HIV 阴性,以新型隐球菌格鲁比变种为主^[2,3]。格特隐球菌感染多见于热带及亚热带地区^[4]。有研究指出,除了鸽粪外,桉树和杏仁树为新型隐球菌重要传染源^[5]。隐球菌的主要感染途径是呼吸道,人体通过吸入环境中的孢子感染引起肺隐球菌病。隐球菌可播散至中枢神经系统,引起严重的隐球菌性脑膜炎,致死率高,预后差。

肺隐球菌病的临床表现多种多样,无特异性,与患者的免疫状态有关,常表现为咳嗽、咳痰、发热、胸痛等。部分患者无症状,仅在体检行胸片或胸部 CT 时发现。肺隐球菌病影像学表现呈多样化,与宿主的免疫状态密切相关,CT 上可表现为结节或团块影、肺实质或间质病变、胸腔积液等,其中临床上以

结节肿块型最为多见。血清乳胶凝集试验法检测新型隐球菌荚膜多糖抗原的灵敏度及特异度较高,可用于早期诊断新型隐球菌感染,而本例患者入院时行该检测结果呈阴性,但之后再次检测时结果阳性,说明抗原检测阴性并不能排除隐球菌感染,有时需重复检测,并通过有创检查才能明确诊断,CT 引导下经皮肺穿刺活检术是比较好的选择。病原学及病理学证据是确诊新型隐球菌感染的主要方法,本例患者就是通过穿刺活检最终得以确诊。

目前治疗隐球菌感染的药物主要有三大类:多烯类、氟胞嘧啶类和吡咯类。两性霉素 B 为多烯类抗真菌药,因有发热、肾损害、低血钾等不良反应,临床应用相对较少,但其耐药较少见。氟胞嘧啶进入真菌细胞内可转化为氟尿嘧啶,替代尿嘧啶进入真菌的脱氧核糖核酸中,从而阻断其核酸合成,产生抑菌作用。伊曲康唑是具有三唑环的合成唑类广谱抗真菌药,通过抑制真菌细胞膜的主要成份之一麦角甾醇的合成而发挥抗真菌效应,但伊曲康唑很难通过血脑屏障^[6],故其对隐球菌性脑膜炎的治疗存在争议。氟康唑可通过脑脊液,对新型隐球菌感染有确切疗效,但近年来,其耐药率有上升趋势^[7,8]。在英国和美国,隐球菌对氟康唑耐药较少见,而在非洲和西班牙,氟康唑的耐药率增加^[8~10]。伏立康唑也是一种广谱唑类抗真菌药,通过抑制隐球菌麦角甾醇的生物合成,产生有效杀菌作用,临床耐药少见。因此,伏立康唑可用于氟康唑耐药的隐球菌感染^[11],有研究提示唑类药物之间在隐球菌中存在交叉耐药现象,需结合药敏试验选择治疗药物。Pfaller 等^[8]通过对全球 3 000 株新型隐球菌耐药性分析发现,氟康唑总的耐药率为 11.2%,伏立康唑为 1.7%,两者耐药率均有上升趋势。而对 69 例艾滋病患者新型隐球菌感染的耐药分析发现,两性霉素 B 的耐药率为 5.8%,伊曲康唑为 7.46%,氟康唑的耐药率为 24.6%^[12]。李莉等^[13]报告,在 77 株新型隐球菌中,对氟康唑耐药的菌株有 1 例,中介的有 13 株,占 16.99%,所有菌株对伏立康唑均敏感,最低抑菌浓度值范围分别为:氟康唑 2.0 ~ 128 $\mu\text{g/mL}$,伏立康唑 0.008 ~ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。本例患者药敏结果提示氟康唑中介,伏立康唑敏感。根据该结果选择伏立康唑治疗患者,临床疗效比较满意。

隐球菌耐药是目前临床治疗隐球菌感染失败的一个重要原因。在氟康唑治疗过程中,患者出现耐药的可能原因包括剂量不足以及依从性较差等。这些因素都可能引起最低抑菌浓度值提高。隐球菌耐

药的可能机制有:①麦角固醇合成酶基因 ERG11 的改变,包括 ERG11 高表达及其基因突变。麦角固醇由真菌合成,是唑类抗真菌药物的作用靶点。细胞色素 P450 羊毛甾醇 14 α -去甲基化酶是麦角固醇合成的关键酶,该酶在酵母中由 ERG11 编码。唑类药物可抑制真菌细胞从羊毛甾醇到麦角固醇的合成,通过作用 ERG11 影响羊毛甾醇的去甲基作用,从而实现抗真菌作用。ERG11 基因突变使酶与药物的亲和力减低,药物不能有效抑制 14 α -去甲基化酶,导致临床耐药性的增加^[14]。同时 ERG11 的高表达也会引起唑类药物的临床耐药^[15]。②隐球菌生物被膜的形成。这是导致患者出现反复感染和临床耐药的主要原因。真菌可在各种医疗器械及导管上形成生物被膜,将自身包裹在其中,对抗生素和宿主免疫系统具有很强的抵抗力。细胞外聚合物基质形成物理屏障,可阻止或延缓抗真菌药物进入细胞内^[16]。③药物外排的增加。药物外排泵可减少细胞内药物浓度,从而产生对抗真菌药物的耐药。其主要由 ATP 结合盒式(ATP Binding Cassette, ABC)超家族或主要易化子超家族基因编码。抗真菌药耐药基因 1(Antifungal Resistance 1, AFR1)编码 ABC 转运蛋白,在唑类药物耐药菌株中高表达^[17]。④新型隐球菌基因组可塑性^[18]。这种可塑性会导致染色体杂合性的缺失、非整倍体或等臂染色体的形成、染色体拷贝数的增加,从而影响药物作用靶点或外排泵的表达并最终产生对唑类药物的耐药。

隐球菌感染在免疫功能受损患者中的发病率更高,致死率也更高,临床医师更应高度重视以免误诊或漏诊。随着新型抗真菌药物在临床上的广泛使用^[19],真菌的耐药情况也发生了较大的改变,隐球菌对抗真菌药物的临床耐药,给隐球菌感染的治疗带来了极大的挑战。氟康唑可有效进入脑脊液,对临床症状较轻而有隐球菌感染的患者可采用口服氟康唑治疗,但应警惕耐药发生。伏立康唑具有相对较低的耐药率,对隐球菌感染的疗效确切。培养及药敏结果可以用于指导临床用药选择。鉴于隐球菌的耐药情况日益明显,临床医师需提高对隐球菌感染的认识,早诊断早治疗,合理选择有效的抗真菌药物。

参考文献

- 1 施毅,丁媛,苏欣.免疫功能正常患者肺隐球菌病临床诊治进展[J].中华内科杂志,2015,54(2):154.
- 2 Feng X, Yao Z, Ren D, et al. Simultaneous identification of molecular and mating types within the *Cryptococcus* species complex by PCR-RFLP analysis[J]. J Med Microbiol, 2008, 57(Pt 12):1481-1490.

- 3 Chan M, Lye D, Win MK, et al. Clinical and microbiological characteristics of cryptococcosis in Singapore: predominance of *Cryptococcus neoformans* compared with *Cryptococcus gattii* [J]. *Int J Infect Dis*, 2014, 26: 110-115.
- 4 Smith RM, Mba-Jonas A, Tourdjman M, et al. Treatment and outcomes among patients with *cryptococcus gattii* infections in the United States Pacific Northwest [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88875.
- 5 Quintero E, Castañeda E, Ruiz A. Environmental distribution of *Cryptococcus neoformans* in the department of Cundinamarca-Colombia [J]. *Rev Iberoam Micol*, 2005, 22(2): 93-98.
- 6 王辉. 念珠菌新型隐球菌和曲霉菌属对伊曲康唑体外敏感性的研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2006, 26: 861-862.
- 7 Sar B, Monchy D, Vann M, et al. Increasing in vitro resistance to fluconazole in *cryptococcus neoformans* cambodian isolates: April 2000 to March 2002 [J]. *J Antimicrob Chemother*. 2004, 54(2): 563-565.
- 8 Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, et al. Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study, 1997 to 2007: 10. 5-year analysis of susceptibilities of noncandidal yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing [J]. *J Clin Microbiol*, 2009; 47(1): 117-123.
- 9 Chen YC, Chang TY, Liu JW, et al. Increasing trend of fluconazole-non-susceptible *Cryptococcus neoformans* in patients with invasive cryptococcosis: a 12-year longitudinal study [J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15: 277.
- 10 Smith KD, Achan B, Hullsiek KH, et al. Increased antifungal drug resistance in clinical isolates of *cryptococcus neoformans* in uganda [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(12): 7197-7204.
- 11 Yamazumi T, Pfaller MA, Messer SA, et al. In vitro activities of ravuconazole (BMS-207147) against 541 clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(10): 2883-2886.
- 12 苏汉珍, 韦善求. AIDS 患者新型隐球菌感染的细菌分布特点及其耐药分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(4): 470-471.
- 13 李莉, 朱利平, 章强强, 等. 新生隐球菌对立福康唑和氟康唑的体外敏感性实验 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2004, 37(8): 461-462.
- 14 Sionov E, Chang YC, Garraffo HM, et al. Identification of a *Cryptococcus neoformans* cytochrome P450 lanosterol 14 α -demethylase (Erg11) residue critical for differential susceptibility between fluconazole/voriconazole and itraconazole/posaconazole [J]. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012, 56(3): 1162-1169.
- 15 Gast CE, Basso LR Jr, Bruzual I, et al. Azole resistance in *cryptococcus gattii* from the pacific northwest: investigation of the role of ERG11 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013; 57(11): 5478-5485.
- 16 Ramage G, Mowat E, Jones B, et al. Our current understanding of fungal biofilms [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2009, 35(4): 340-355.
- 17 Posteraro B, Sanguinetti M, Sanglard D, et al. Identification and characterization of a *cryptococcus neoformans* ATP binding cassette (ABC) transporter-encoding gene, CnAFR1, involved in the resistance to fluconazole [J]. *Mol Microbiol*, 2003, 47(2): 357-371.
- 18 Perlin DS, Rautemaa-Richardson R, Alastruey-Izquierdo A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management [J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(12): e383-e392.
- 19 杨艳梅, 史克倩, 杨同华, 等. 泊沙康唑对造血干细胞移植患者侵袭性真菌病的预防作用 [J]. *内科急危重症杂志*, 2016, 22(5): 384-385.

(2018-05-14 收稿 2019-03-23 修回)

(上接第 239 页)

- 11 林崇亭, 张惠芳, 方展. 尿毒症持续血液透析患者医院感染血清炎症指标的变化研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2013, 23(15): 3634-3636.
- 12 M. Freundlich, E. Bellorin, R. C. Pereira, et al. The vitamin D analog paricalcitol (Pc) upregulates osteocyte fibroblast growth factor 23 (FGF23) and improves the mineralization defect in experimental uremia [J]. *Bone*, 2011, 48(supplement 2), 241-242.
- 13 李柱宏, 李开龙, 杨聚荣等. 血液透析联合血液滤过清除尿毒症患者血清成纤维细胞因子 23 的效果观察 [J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2012, 6(4): 78-81.
- 14 李翔, 徐岩玉, 正滨. 高频超声对透析患者肱动脉与腘动脉血管内皮舒张功能的对比研究 [J]. *中国超声医学杂志*, 2015, 31(3): 280-283.
- 15 Lundberg S, Qureshi AR, Olivecrona S, et al. FGF23, albuminuria, and disease progression in patients with chronic Ig A nephropathy [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(5): 727-734.

(2017-06-23 收稿 2019-03-01 修回)