

• 神经病学多模态诊疗专题 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.12.005
网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250814.1726.017\(2025-08-14\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250814.1726.017(2025-08-14))

69 例隐球菌性脑膜炎感染的临床特点及耐药性分析 *

侯蓓蕾, 贺月园, 黄春兰[△]

(柳州市人民医院检验科/柳州市病毒性疾病精准医学重点实验室/广西壮族自治区卫生健康委员会
广西临床疾病生物技术研究重点实验室, 广西柳州 545001)

[摘要] **目的** 分析隐球菌性脑膜炎患者的临床特征及体外耐药情况。**方法** 回顾性分析 2018 年 1 月至 2024 年 9 月于该院确诊为隐球菌性脑膜炎的 69 例患者临床资料, 分析患者临床特征、各项实验室检查及体外药敏试验结果。**结果** 69 例隐球菌性脑膜炎患者中人免疫缺陷病毒(HIV)阳性 39 例, HIV 阴性 30 例。41 例(59.4%)患者以头痛和头晕作为首发症状, 24 例(34.7%)伴有中低度发热。37 例(53.6%)脑脊液压力在 180~400 mmH₂O, 其中 16 例(43.2%)>300 mmH₂O。墨汁染色阳性率 79.7%(55/69), 血清或脑脊液隐球菌抗原检测阳性率为 100.0%(69/69)。11 469 例脑脊液培养阳性 344 例(3.0%), 其中细菌 219 例、真菌 125 例, 细菌中检出最多的是凝固酶阴性葡萄球菌, 真菌中检出最多的是隐球菌。体外药敏试验结果显示, 伊曲康唑、伏立康唑和泊沙康唑最低抑菌浓度(MIC)≤0.250 μg/mL, 5-氟胞嘧啶 MIC≤8.000 μg/mL, 未发现获得性耐药菌株, 均为野生型。氟康唑 MIC≤8.000 μg/mL, 绝大多数为野生型, 56.5%(39/69)的两性霉素 B 的 MIC≥0.500 μg/mL, 提示可能存在获得性耐药。此外, 艾沙康唑 MIC₅₀ 为 0.030 μg/mL, MIC 在较低水平。**结论** 隐球菌性脑膜炎的临床表现通常缺乏特异性, 使用相应的抗真菌药物可提高治疗效果、改善预后。

[关键词] 隐球菌性脑膜炎; 隐球菌; 真菌; 药敏试验; 临床特征

[中图分类号] R519.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)12-2743-04

Clinical characteristics and drug resistance analysis in 69 cases of Cryptococcal meningitis infection *

HOU Beilei, HE Yueyuan, HUANG Chunlan[△]

(Department of Clinical Laboratory, Liuzhou Municipal People's Hospital/Liuzhou
Municipal Key Laboratory of Precision Medicine for Viral Diseases/Guangxi
Zhuang Autonomous Region Health Commission Key Laboratory of Clinical
Biotechnology, Liuzhou, Guangxi 545001, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the clinical characteristics of the patients with Cryptococcal meningitis and drug resistance situation. **Methods** The clinical data of 69 cases of Cryptococcal meningitis definitely diagnosed in this hospital between from January 2018 to September 2024 were retrospectively analyzed, including clinical features and the results of laboratory detection and drug susceptible test. **Results** Among 69 Cryptococcal meningitis patients, 39 cases were human immunodeficiency virus (HIV) positive and 30 cases were HIV negative. 41 cases (59.4%) presented with headache and dizziness as initial symptoms, 24 cases (34.7%) were accompanied by moderate to low grade fever. The cerebrospinal fluid pressures in 37 cases (53.6%) were 180—400 mmH₂O, among them which in 16 cases (43.2%) was >300 mmH₂O. The ink staining positivity rate was 79.7% (55/69). Serum or cerebrospinal fluid Cryptococcal antigen testing showed 100.0% (69/69) positivity. In 11 469 cases of cerebrospinal fluid cultures, 344 cases (3.0%) were positive, in which bacteria were 219 cases and fungus were 125 cases. Among bacteria, coagulase-negative Staphylococcus was the most frequently detected, and among fungi, Cryptococcus was the most frequently detected. Drug susceptible test revealed the minimum inhibitory concentrations (MIC) for itraconazole, voriconazole and posaconazole all were ≤0.250 μg/mL and 5-fluorocytosine MIC≤8.000 μg/mL, no acquired resistance strains were found, all were wild-type. Fluconazole MIC≤8.000 μg/mL, its vast majority was wild-type, while 56.5% (39/69) of amphotericin B MIC≥0.500 μg/mL, suggesting that there might be acquired drug resistance. In

* 基金项目: 广西壮族自治区柳州市科技局计划项目(2022CAC0215)。 [△] 通信作者, E-mail: 116845614@qq.com。

addition, MIC₅₀ for isavuconazole was 0.030 μg/mL, MIC was at a lower level. **Conclusion** Clinical manifestations of Cryptococcal meningitis often lack specificity. Using corresponding antifungal drugs may increase the treatment effect and improve the prognosis.

[Key words] Cryptococcal meningitis; Cryptococcus; fungus; drug susceptibility test; clinical feature

隐球菌性脑膜炎是一种严重的侵袭性真菌感染性疾病,常见于免疫系统功能较差的患者群体,该病的死亡率高达 75.8%^[1]。人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染被广泛认为是隐球菌性脑膜炎的主要危险因素,每年新增病例约 2 万例,其中有 20% 的死亡病例与 HIV 感染密切相关^[2]。除了 HIV 感染之外,某些血液系统疾病、器官移植、生物制剂治疗及恶性肿瘤等也会导致机体免疫力下降,从而增加隐球菌性脑膜炎的发生风险^[3-4]。该感染主要通过吸入含有病原体或孢子的空气而引发,随后这些病原体通过肺部进入血液,最终穿越血脑屏障导致脑膜炎。目前,诊断隐球菌性脑膜炎的金标准是脑脊液培养,但随着抗真菌药物的广泛使用,隐球菌可能会产生耐药性,从而导致治疗失败。此外,不同患者的药物敏感性不同^[5]。因此,本研究旨在分析隐球菌性脑膜炎患者的临床特征及体外常见抗真菌药物的耐药情况,以提高隐球菌性脑膜炎的诊疗水平,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析 2018 年 1 月至 2024 年 9 月于本院确诊为隐球菌性脑膜炎的 69 例患者临床资料。纳入标准:(1)经脑脊液培养、墨汁染色或脑组织病理学检查确诊为隐球菌性脑膜炎,或临床症状支持脑膜炎诊断且脑脊液隐球菌荚膜抗原检测(胶体金法,美国 IM-MY 公司)呈阳性(适用于脑脊液涂片与培养阴性者);(2)临床资料完整。排除标准:(1)既往已确诊而此次入院目的仅为复查或巩固治疗;(2)合并存在肺、皮肤等其他部位隐球菌感染者。本研究已通过本院伦理委员会批准(审批号:KY2025-159-01),免除患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 资料收集

收集患者相关临床信息,如性别、年龄、既往病史、症状及体征、脑脊液检查结果(包括细胞计数和生化指标)、体外药敏试验结果、治疗方法及疾病转归情况。

1.2.2 脑脊液培养

将离心后的脑脊液沉淀物分别接种于哥伦比亚血琼脂平板和沙保弱琼脂平板,并置于 35℃ 培养箱中培养。其中,哥伦比亚血琼脂平板需在 5% CO₂ 环境下培养,而沙保弱琼脂平板则在无 CO₂ 环境下培养。培养时间通常为 3~7 d。

1.2.3 脑脊液墨汁染色

将脑脊液以 3 500 r/min 离心 10 min,弃上清液,取 5 μL 沉淀物与 1 滴印度墨汁混合,盖上盖玻片后镜检,观察有无带有宽厚透亮荚膜的隐球菌酵母细胞。

1.2.4 隐球菌荚膜抗原检测

取 40 μL 经离心处理的血清或脑脊液标本,与 1 滴稀释液在试管中混合。随后插入隐球菌抗原检测试剂条(美国 IMMY 公司),室温静置 15 min 后判读结果,若检测带出现条带为阳性,反之为阴性。

1.2.5 隐球菌的菌种鉴定

采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS, 安图 1000I)对可疑隐球菌进行鉴定。标本前处理参照酵母样真菌流程:首先将少量菌落涂布于已加有 1 μL 甲酸的靶板上,室温晾干;随后向每个标本点分别加入 1 μL 甲酸,晾干后再覆盖 1 μL CHCA 基质液,室温晾干;最后将处理好的靶板置于质谱仪中进行分析,采集相关质谱图用于鉴定。

1.2.6 体外药敏试验

对隐球菌进行药敏试验时,首先将其于 35℃ 培养 48 h 并传代,继续培养 24 h 后,挑取菌落制备成 0.5 麦氏浊度的菌悬液。随后,依照临床实验室标准化委员会(clinical and laboratory standards institute, CLSI)-M27-A4 标准^[6],采用微量肉汤稀释法(Sensititre Yeast One CMC1 JHY 药敏板,美国赛默飞世尔有限公司)进行试验。具体而言,将 20 μL 菌悬液加入 11 mL 肉汤中,混匀后以 100 μL/孔接种至药敏板。所有孔板以黏性封膜密封,并于 37℃ 空气孵育箱中孵育。为保证试验质量,以近平滑念珠菌美国标准菌种库(American type culture collection, ATCC)22019 和克柔念珠菌 ATCC 6258 为质控菌株,并取 10 μL 阳性对照孔菌液于沙保弱琼脂平板进行菌落计数,待 48 h 生长于对数期时读取结果。由于 CLSI 并未设定隐球菌的具体临床折点,仅提供了流行病学折点,因此将隐球菌分为野生型和非野生型。野生型菌株被认为不存在获得耐药性,而非野生型则存在获得耐药性。本研究中将抑制 50% 与 90% 真菌生长的最低药物浓度分别定义为最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)₅₀ 与 MIC₉₀。

1.3 统计学处理

计数资料以例数或百分比表示。

2 结果

2.1 人群和科室分布

69 例患者中男 47 例,女 22 例,年龄 17~88 岁,中位年龄 53 岁;科室主要分布在感染科、重症监护室、肿瘤科 3 个科室;HIV 阳性 39 例(56.5%),HIV 阴性 30 例(43.5%)。

2.2 临床表现

临床表现分为急性、亚急性和慢性起病,其中 41 例(59.4%)患者以头痛和头晕为首发症状,这些症状通常呈现为阵发性或持续性的胀痛,且随着时间的推移,疼痛程度逐渐加重,常表现为剧烈的胀痛,部分患者甚至感到疼痛如同爆炸一般,难以忍受。此外,部分患者伴随明显的呕吐、烦躁及胡言乱语。在并发症方面,24 例(34.7%)出现发热,以中低热为主,6 例(8.6%)出现意识障碍和精神异常。同时,9 例(13.0%)出现咳嗽和咳痰,1 例(1.4%)听力下降和右耳鸣响。此外,2 例(2.9%)出现肾功能不全和尿不畅,1 例(1.4%)出现大便性状改变,表现为稀烂便并伴随腹胀。

2.3 脑脊液墨汁染色、隐球菌荚膜抗原和细胞计数结果

脑脊液墨汁染色阳性率为 79.7%(55/69),隐球菌抗原检测阳性率为 100.0%。37 例(53.6%)脑脊液压力为 180~400 mmH₂O,均高于正常值,其中 16 例(43.2%)>300 mmH₂O。此外,50 例(72.5%)脑

脊液呈无色透明状态,16 例(23.2%)呈现浅黄色清亮,3 例(4.3%)呈现血色混浊。45 例(65.2%)脑脊液 WBC 升高,44 例(63.7%)脑脊液蛋白升高,64 例(92.7%)脑脊液葡萄糖降低,31 例(44.9%)脑脊液氯化物水平降低。

2.4 脑脊液培养的菌种分布

11 469 例脑脊液标本培养阳性 344 例(3.0%),其中细菌 219 例、真菌 125 例。细菌中检出最多的是凝固酶阴性葡萄球菌;真菌中检出最多的是隐球菌,剔除同一患者重复送检标本,共 69 株隐球菌,其中新型隐球菌 68 株,格特隐球菌 1 株。

2.5 隐球菌体外药敏试验结果

药敏试验结果表明,所有菌株对伊曲康唑、伏立康唑和泊沙康唑的 MIC≤0.250 μg/mL,对 5-氟胞嘧啶的 MIC≤8.000 μg/mL,显示这些菌株均未获得耐药,归类为野生型。但在氟康唑的检测中,有 2 株菌的 MIC>8.000 μg/mL,为非野生型,其余均为野生型,56.5%(39/69)两性霉素 B 的 MIC≥0.500 μg/mL,被认定为非野生型。由于艾沙康唑缺乏临床和流行病学的折点,目前尚无法确定其是否耐药,其 MIC₅₀ 为 0.030 μg/mL, MIC₉₀ 为 0.060 μg/mL,艾沙康唑 MIC 整体与伊曲康唑、伏立康唑和泊沙康唑的 MIC 一致性较好,见表 1。

表 1 69 株隐球菌 7 种抗真菌药物的体外 MIC 结果

抗菌药物	MIC(<i>n</i>)												MIC ₅₀ (μg/mL)	MIC ₉₀ (μg/mL)
	0.008 μg/mL	0.015 μg/mL	0.030 μg/mL	0.060 μg/mL	0.120 μg/mL	0.250 μg/mL	0.500 μg/mL	1.000 μg/mL	2.000 μg/mL	4.000 μg/mL	8.000 μg/mL	16.000 μg/mL		
伊曲康唑	—	2	12	16	33	6	—	—	—	—	—	—	0.060	0.120
伏立康唑	—	6	20	33	10	—	—	—	—	—	—	—	0.030	0.060
泊沙康唑	—	3	5	20	22	19	—	—	1	—	—	—	0.120	0.250
艾沙康唑	9	12	23	22	3	—	—	—	—	—	—	—	0.030	0.060
氟康唑	—	—	—	—	—	—	—	6	18	20	23	2	4.000	8.000
5-氟胞嘧啶	—	—	—	—	—	—	—	6	8	48	9	—	4.000	8.000
两性霉素 B	—	—	—	—	—	—	30	39	—	—	—	—	0.500	1.000

—:未检出。

2.6 治疗及转归

69 例患者中使用两性霉素 B 联合 5-氟胞嘧啶治疗 30 例,两性霉素 B 联合 5-氟胞嘧啶、氟康唑治疗 2 例,两性霉素 B 联合地塞米松治疗 8 例,两性霉素 B 联合 5-氟康唑 7 例,未使用抗真菌药治疗 8 例。以上治疗配合抗病毒、脱水降颅压、补液等对症治疗,好转 60 例,无好转 3 例,死亡 6 例。

3 讨 论

隐球菌属是一种具有厚荚膜的酵母样真菌,广泛存在于自然环境,其主要病原种为新型隐球菌和格特隐球菌。病原体常存在于鸽子等鸟类的粪便中,经呼吸道吸入感染人类。据统计,全球每年约有 100 万人死于隐球菌病,疾病负担沉重。在中国,该病的流行

主要由新型隐球菌引起^[7-8]。近年来,随着抗逆转录病毒治疗的有效推广,艾滋病相关的隐球菌性脑膜炎发生率明显降低。但多项研究显示,中国 HIV 阴性患者中隐球菌性脑膜炎的发生率却有所上升^[9-10]。本研究结果显示,隐球菌性脑膜炎中 HIV 阴性感染达 43.5%,这一结果与既往研究^[11]报道一致。

本研究发现,头痛是隐球菌性脑膜炎患者中最为常见的症状,发生率为 59.4%,且呈进行性加重。其次为发热(34.7%)和意识障碍(8.6%),这与相关文献^[12-13]报道一致。隐球菌性脑膜炎的临床表现多种多样,常常以隐匿的方式发病,且缺乏特征,容易与其他中枢神经系统感染混淆。本研究脑脊液中颅内压升高的病例占 53.6%,WBC 升高占 65.2%,蛋白升

高占 63.7%,而葡萄糖降低占 92.7%,氯化物降低占 44.9%,此结果亦与国内既往研究^[14-16]一致。

隐球菌性脑膜炎的确诊依赖于脑脊液病原学证据。脑脊液墨汁染色快速简便,然阳性率低,需重复检测;脑脊液培养作为“金标准”则耗时较长且易受用药干扰。隐球菌荚膜抗原检测作为一种高效手段,其灵敏度与特异度明显高于前述方法,但仍存在一定的假性结果^[17]。因此,对疑似患者,应强调反复送检脑脊液进行真菌培养,并同步进行荚膜抗原检测,二者结合对早期明确诊断至关重要。

本研究隐球菌是最主要的病原菌,这一特征与国内多数报道^[18-20]存在差异,可能与本地区的气候环境、流行病学背景及本院收治患者类型有关:柳州地处亚热带,气候温暖潮湿,且本院长期收治大量 HIV 感染者与危重症患者,从而导致隐球菌感染的构成比相对较高。

在鉴定方面,MALDI-TOF MS 技术具有快速、准确、经济等优势,已基本可替代传统方法。文献报道其能 100%准确鉴定隐球菌至属水平^[21],本研究亦成功实现属水平鉴定,进一步验证了其可靠性。药敏试验结果显示,所有菌株对伊曲康唑、伏立康唑、泊沙康唑及 5-氟胞嘧啶的 MIC 值均处于野生型范围,未检测到获得性耐药;艾沙康唑的 MIC 值较低,与上述唑类药物敏感性相当,提示其具有良好的体外抗隐球菌活性;两性霉素 B 的 MIC 范围为 0.250~1.000 $\mu\text{g/mL}$,这与国内外研究^[22-23]结果基本一致。根据《中国艾滋病诊疗指南(2024 版)》^[24],隐球菌性脑膜炎的首选治疗方案为低剂量两性霉素 B 联合 5-氟胞嘧啶,该方案在保障疗效的同时兼具良好安全性,亦可联合氟康唑治疗。值得注意的是,氟康唑耐药是导致复发的主要因素之一,常与耐药性上升及患者治疗依从性不佳有关。因此,加强隐球菌体外药物敏感性监测,对指导临床用药、改善预后具有重要意义。

本研究结果还显示,37 例患者脑脊液压力增高(180~400 mmH₂O),其中 43.2%的患者超过 300 mmH₂O。有效控制颅内压被指南公认为影响隐球菌性脑膜炎预后的关键因素。若未能及时干预,患者在确诊后 2~4 周内的死亡风险将明显升高。因此,迅速且有效地降低颅内压、缓解临床症状,为抗真菌治疗创造有利时间窗,是降低早期死亡率的核心措施^[25]。

综上所述,隐球菌性脑膜炎的临床表现缺乏特异性,临床应结合流行病学史、早期诊断及药敏结果制定个体化抗真菌方案,并重视颅内压管理,以改善患者预后。

参考文献

[1] DENNING D W. Global incidence and mortality of severe fungal disease[J]. *Lancet Infect Dis*,

2024,24(7):e428-438.

- [2] MCHALE T C,BOULWARE D R,KASIBANTE J,et al. Diagnosis and management of cryptococcal meningitis in HIV-infected adults[J]. *Clin Microbiol Rev*,2023,36(4):e0015622.
- [3] LIU M Z,DAI X H,ZENG M T,et al. Clinical treatment of cryptococcal meningitis: an evidence-based review on the emerging clinical data[J]. *J Neurol*,2024,271(6):2960-2979.
- [4] 黎坤源,张婕,王义东,等. 非 HIV 相关新型隐球菌脑膜脑炎供体捐献器官 1 例的多中心讨论[J]. *中华器官移植杂志*,2023,44(1):40-42.
- [5] SU Z,WEI H,LIU J,et al. Analysis of the relationship between drug susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolates and mortality in HIV-negative cryptococcal meningitis [J]. *J Glob Antimicrob Resist*,2024,36:167-174.
- [6] CLSI. Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts: M27-A4 [S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute,2017.
- [7] ZHAOI Y,YE L,ZHAO F,et al. *Cryptococcus neoformans*, a global threat to human health [J]. *Infect Dis Poverty*,2023,12(1):20.
- [8] 林慧珍,张蝶,刘曾晶,等. 非人类免疫缺陷病毒相关隐球菌性脑膜炎患者 55 例临床特征分析[J]. *数理医药学杂志*,2024,37(6):462-469.
- [9] ZHOU L H,ZHAO H Z,WANG X,et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome in non-HIV cryptococcal meningitis: cross-talk between pathogen and host[J]. *Mycoses*,2021,64(11):1402-1411.
- [10] 陶燕萍,许序云,尹正元,等. 人类免疫缺陷病毒感染、非人类免疫缺陷病毒感染合并隐球菌性脑膜炎临床特征对比分析[J]. *传染病信息*,2025,38(2):128-133.
- [11] WU S Y,KANG M,LIU Y,et al. Molecular epidemiology and antifungal susceptibilities of *Cryptococcus* species isolates from HIV and non-HIV patients in Southwest China[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*,2021,40(2):287-295.
- [12] 管湘玉,朱均昊,严丽,等. 75 株临床分离新型隐球菌药物敏感性及其临床分析[J]. *中国感染与化疗杂志*,2025,25(1):20-23.
- [13] 孙建军,田波,景亮,等. 艾滋病合并新型隐球菌血症患者的临床特征及预后危险因素分析[J]. *中国艾滋病性病*,2023,29(2):142-145.
- [14] 王奇,卢润禹,肖珂,等. 138 例非 HIV 隐球菌性脑膜炎患者临床特征及药敏结果分析[J]. *中国抗生素杂志*,2024,49(2):227-231. (下转第 2754 页)