

• 临床研究 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.09.028

自身免疫性脑炎并发培养阴性抗原阳性肺隐球菌病的临床研究^{*}姚怡婷¹, 潘允琪¹, 曾 健², 徐伟红^{1△}

上海交通大学医学院附属同仁医院:1. 检验科;2. 呼吸内科, 上海 200336

摘要:目的 分析 1 例隐球菌培养阴性, 宏基因组测序检出新型隐球菌序列, 隐球菌抗原检测阳性的自身免疫性脑炎并发肺隐球菌感染病例的诊治过程, 旨在为临床诊断和治疗肺隐球菌病提供帮助。方法 分析 1 例血清隐球菌荚膜多糖抗原阳性、自身免疫性脑炎患者的临床资料, 分别采用常规检测、生化检测、微生物培养和气管镜肺泡灌洗液宏基因组二代测序(mNGS)等方法进行复查, 明确肺炎感染类型, 并结合文献对肺隐球菌病进行复习讨论。结果 该例患者 HIV 检测阴性, 痰液 Xpert MTB/RIF 结核分枝杆菌检测阴性; 痰液、肺泡灌洗液细菌培养结果为正常菌群生长, 隐球菌培养阴性; 血培养阴性。脑脊液常规检测、生化检测、微生物培养结果均正常, 隐球菌抗原阴性, 墨汁染色未检出隐球菌; 气管镜肺泡灌洗液 mNGS 结果提示新型隐球菌, 序列数 6, 相对丰度 46.15%, 覆盖度 0.001 0%。口服氟康唑治疗 3 个月后患者肺部 CT 检查结果显示右下肺下叶类圆形结节影伴空洞较之前缩小。结论 临床工作中遇到免疫功能低下、且肺部影像学检查出空洞的患者, 血清隐球菌荚膜多糖抗原和呼吸道标本 mNGS 联合检测可以有效辅助临床对肺隐球菌病的诊疗。

关键词: 肺隐球菌病; 自身免疫性脑炎; 宏基因组二代测序; 隐球菌荚膜多糖抗原

中图法分类号: R519.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)09-1317-04

Clinical study of autoimmune encephalitis complicated by culture-negative
antigen-positive pulmonary cryptococcosis^{*}

YAO Yiting¹, PAN Yunqi¹, ZENG Jian², XU Weihong^{1△}

1. Department of Laboratory Medicine; 2. Department of Respiratory Medicine, Tong Ren Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200336, China

Abstract: **Objective** To analyze the diagnosis and treatment of a case of autoimmune encephalitis complicated by pulmonary cryptococcal infection with negative cryptococcal culture, detection of cryptococcus neoformans sequences by metagenomics next-generation sequencing (mNGS), and positive detection of cryptococcal antigens. **Methods** The clinical data of a patient with positive serum cryptococcal capsular polysaccharide antigen and autoimmune encephalitis were analyzed. Routine tests, biochemical tests, microbial culture and bronchoscopic alveolar lavage fluid (BALF) by mNGS were adopted to clarify the type of pneumonia infection. Pulmonary cryptococcosis was reviewed and discussed combining with relevant literatures. **Results** The patient was negative in HIV testing and sputum Xpert MTB/RIF assay for Mycobacterium tuberculosis. Sputum and BALF bacterial culture results were normal flora growth and cryptococcal culture was negative. Blood culture result was negative. The routine tests, biochemical tests, and microbiologic cultures of cerebrospinal fluid showed normal results. Cryptococcal antigen of cerebrospinal fluid was negative and no cryptococcus was detected by ink staining. BALF by mNGS suggested cryptococcus neoformans with reads 6, relative abundance of 46.15% and coverage of 0.001 0%. After 3 months of oral fluconazole treatment, the patient's lung CT showed a classically round nodular shadow with a cavity in the lower lobe of the right lung that was smaller than before. **Conclusion** The combination of serum cryptococcal polysaccharide antigen and mNGS analysis of respiratory specimens in immunocompromised patients with cavities detected on lung imaging can be effective for clinical diagnosis and treatment of pulmonary cryptococcosis.

Key words: pulmonary cryptococcosis; autoimmune encephalitis; metagenomics next-generation sequencing; cryptococcal capsular polysaccharide antigen

^{*} 基金项目: 上海市长宁区新发感染与免疫调控博士创新人才基地(RCJD2021B01); 肠道微生物与疾病交叉科创基地; 上海交通大学同仁医院课题项目(TR2018T01)。

作者简介: 姚怡婷, 女, 主管技师, 主要从事临床微生物检验方面的研究。△ 通信作者, E-mail: XWH3066@shtrhospital.com。

肺隐球菌病是由隐球菌的多个变种引起的亚急性或慢性肺部真菌病^[1],近年来其发病率逐年升高,早期准确诊断是提高治愈率和改善预后的关键。过去临床将隐球菌培养阳性作为感染的确诊依据,但 2023 年《侵袭性真菌病真菌学检查指南》^[2]指出,痰液、肺泡灌洗液中的隐球菌可定植部位样本培养出隐球菌不可作为确诊指标;血液样本隐球菌抗原检测阳性可作为肺隐球菌病的确诊证据之一;非培养方法 PCR 等分子诊断方法可作为极似诊断的微生物学证据(强,高)。本文分析了 1 例隐球菌培养阴性、宏基因组测序检出新型隐球菌序列、隐球菌抗原检测阳性的自身免疫性脑炎并发肺隐球菌感染病例的诊治过程,旨在为临床诊断和治疗肺隐球菌病提供帮助。现报道如下。

1 临床资料

患者,男,68 岁,2023 年 4 月 14 日因“发现肺空洞 2 周”入本院,门诊呼吸科查血清隐球菌荚膜多糖抗原阳性,真菌(1-3)-β-D 葡聚糖、革兰阴性菌脂多糖、半乳甘露聚糖(血)均正常,结核感染 T 细胞结果阴性;结核杆菌抗体免疫球蛋白 M(IgM)、免疫球蛋白 G(IgG)测定阴性。既往病史:2022 年 3 月 20 日因“阵发性抽搐 1 个月,记忆力下降 1 周”至本院神经内科就诊,头颅磁共振检查结果显示右侧颞叶近外侧裂脑回处及海马体异常信号,血清抗 LGI1 抗体:1:32,阳性,CD19 细胞占 0.1%,CD19 细胞绝对计数为 1 个/μL,NK 细胞(CD56+16)占 41.8%,腰椎穿刺、脑脊液常规指标、生化指标、微生物培养无异常,隐球菌荚膜多糖抗原阴性,墨汁染色未检出隐球菌。诊断为自身免疫性脑炎,服用强尼松治疗已有 13 个月。

2023 年 4 月 24 日入院体检:患者气促,双肺呼吸音稍粗,两肺未闻及明显哮鸣音,无咳嗽咳痰,无发热,无头晕头痛,神清,无中枢神经系统阳性体征。辅助检查:复查隐球菌荚膜多糖抗原阳性。C 反应蛋白、降钙素原、红细胞沉降率未见异常。白细胞:5.79×10⁹/L,中性粒细胞:64.8%,肝素结合蛋白:50.5 ng/mL,糖化血红蛋白:6.1%,流式细胞检测 B 淋巴细胞 CD19:0.2%,CD19 绝对计数:2 个/μL,NK 细胞(CD56+16):30.3%,白细胞介素 2:22.45 pg/mL,血液和肺泡灌洗液中半乳甘露聚糖水平均<0.100 0 μg/L,肿瘤标志物、肝功能未见明显异常,HIV 检测阴性,痰液 Xpert MTB/RIF 结核分枝杆菌阴性。痰液、肺泡灌洗液细菌培养结果为正常菌群生长,隐球菌培养阴性。血培养阴性。脑脊液常规检测、生化检测、微生物培养结果均正常,隐球菌抗原阴性,墨汁染色未检出隐球菌。气管镜肺泡灌洗液宏基因组二代测序(mNGS)结果提示新型隐球菌,序列数 6,相对丰度 46.15%,覆盖度 0.001 0%。肺部 CT 检查结果显示两侧肺纹理增多,右肺下叶见类圆形结节影伴空洞形成,内壁光整,大小约 29 mm×25 mm,局

部与胸膜相连,病灶周围可见晕征,增强后未见异常强化;右肺下叶多发小斑片模糊影,见图 1。

患者隐球菌荚膜多糖抗原阳性,气管镜肺泡灌洗液 mNGS 检出新型隐球菌,结合肺部 CT 检查结果与临床体征,确诊为新型隐球菌肺炎。患者既往有抗 LGI1 抗体相关脑炎病史,入院后脑脊液实验室检测结果无异常,无感染的临床体征,排除感染性脑膜炎。痰液及血液实验室检测无结核分枝杆菌感染,胸部 X 线片检查亦无结核分枝杆菌感染表现,排除肺结核。



图 1 入院后患者胸部 CT 图像

治疗过程:患者有免疫抑制性疾病,无呼吸道症状,给予口服氟康唑(生产厂家:扬子江药业,生产批号:23011641)400 mg/d 进行抗感染治疗,带药出院,治疗 6~12 个月。2023 年 5 月 11 日到本院神经内科复诊,停用强尼松。氟康唑治疗 3 个月后肺部 CT 检查结果显示右肺下叶见类圆形结节影伴空洞,大小约 24 mm×21 mm,较治疗前缩小,见图 2。肝功能未见异常,隐球菌荚膜多糖抗原复测持续阳性。患者好转,维持目前门诊药物治疗。

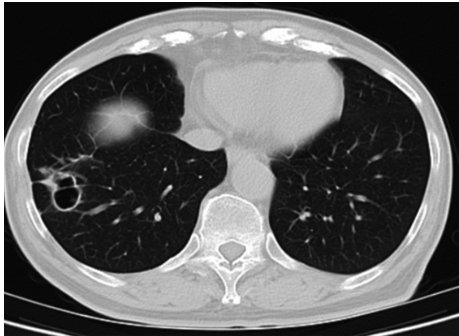


图 2 氟康唑治疗 3 个月后患者胸部 CT 图像

2 文献复习

2.1 肺隐球菌病的临床表现和影像学检查缺乏特异性 肺隐球菌感染的临床表现从无症状到严重的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)均有发现,其严重程度通常取决于机体的免疫状态^[3]。部分免疫抑制的肺隐球菌病患者表现为气促、高热和低氧血症,甚至出现难治性休克和多器官功能障碍^[4]。非 HIV 感染的免疫抑制患者中有部分患者可表现为无症状(0%~40%)^[3]。肺隐球菌病的影像学检查初诊时容易误诊为细菌性肺炎、肺结核、肺癌或转移性肿瘤。最常见

的影像学异常为单发或多发肺结节及局限的肺炎样病灶,病灶大多分布于下肺外周呈宽基底状,紧贴胸膜^[3]。相较于免疫功能正常患者,免疫功能低下患者的空洞和晕征发生率明显更高^[5]。

2.2 隐球菌感染的诱因 引起隐球菌感染的因素除了 HIV 感染、器官移植、实体恶性肿瘤、血液恶性肿瘤、糖尿病、失代偿期肝硬化之外^[6-8],自身免疫性疾病也是新型隐球菌感染的重要因素^[9]。自身免疫性疾病的患者,吞噬细胞、细胞免疫和体液免疫功能存在缺陷。有研究证实自身免疫性疾病是引发隐球菌血症的独立危险因素^[10]。接受激素或其他免疫抑制剂治疗也是新型隐球菌感染的危险因素^[9]。

2.3 诊断肺隐球菌病的传统方法与现代技术 肺隐球菌病的诊断常依赖于从肺泡灌洗液中培养出隐球菌和/或在肺活检组织病理学检查出隐球菌。真菌培养阳性率低,容易漏诊,病理活检创伤大。《侵袭性真菌病真菌学检查指南》^[2]指出,痰液、肺泡灌洗液等隐球菌可定植部位样本培养出隐球菌不可作为确诊指标,但可作为肺隐球菌病极似诊断的微生物学证据;血液样本隐球菌抗原检测阳性作为肺隐球菌病的确诊证据之一。用免疫层析法检测隐球菌荚膜多糖抗原,是一种操作简便、检测快速的诊断早期隐球菌感染的方法^[11]。Meta 分析发现,血清检测的总体灵敏度和特异度分别为 97.6% 和 98.1%^[12]。提示该检测法对诊断隐球菌感染有很高的准确度。对于肺部影像学表现符合肺隐球菌病的情况,隐球菌荚膜多糖抗原阳性结果可以作为肺隐球菌病诊断和开始抗隐球菌病治疗的重要依据^[3]。本病例治疗后病情有所好转,但是荚膜多糖抗原持续阳性,有文献提出,由于死亡的隐球菌菌体仍持续释放荚膜多糖抗原,而机体清除速度相对较慢,即使在有效治疗数月后,患者的抗原检测仍可为阳性,所以抗原转阴与否不能作为隐球菌病是否治愈的指标^[13]。

mNGS 对样本中微生物的核酸序列进行分析,单次检测几乎覆盖所有已知的细菌、真菌、病毒。自 2014 年首次报道使用二代测序用于临床病原检测以来^[14],以其灵敏度高、检测菌谱广等优点,在中枢神经系统感染、呼吸道感染、血流感染等各部位感染的临床诊断中展现出良好的应用价值。有研究指出,在使用糖皮质激素合并感染的人群中,使用 mNGS 指导抗感染治疗方案的成功率为 81.8%,显著高于经验性抗感染治疗的 52.6%^[15]。对于新发、罕见、疑难感染性疾病,以及免疫缺陷患者,二代测序能显著提高病原体的检出率,《中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识》^[16](下称《共识》)推荐作为上述疾病的一线检测手段。mNGS 技术查找病原菌覆盖面广,对临床诊断隐球菌感染有积极的指导作用。可结合抗原检测查找病原菌,提高检测能力,为临床提供有效的诊疗依据。

3 讨 论

3.1 病案的诊断难点 肺隐球菌感染的临床症状和影像学检查无特异性,很难与细菌性肺炎、肺结核等进行鉴别。本病例发现肺部感染时无呼吸道症状,仅在体检中影像学检查出肺部空洞。实验室检测结果显示 C 反应蛋白、降钙素原、红细胞沉降率、白细胞计数、中性粒细胞占比均未见异常,真菌(1-3)- β -D 葡聚糖、革兰阴性菌脂多糖、半乳甘露聚糖(血)均正常,结核感染 T 细胞结果阴性,常规的微生物培养未能检出致病菌,临床医生根据以上结果无法明确感染的病原菌,容易误诊、漏诊,还需要结合其他检测结果综合判断。

此外,由于自身免疫性疾病是隐球菌感染的危险因素^[10],本例患者患有自身免疫性脑炎,非 HIV 感染,激素治疗 1 年余,可能是由于糖皮质激素的使用掩盖了患者真实体温,导致未发热的假象,提示诊疗时应详细询问病史,重视感染隐球菌的诱因。免疫功能低下患者肺部影像学检查出现空洞、晕征,需考虑隐球菌感染。

3.2 抗原与 mNGS 联合检测,精准诊疗 对于肺部影像学表现符合肺隐球菌病,且隐球菌荚膜多糖抗原结果阳性,可作为肺隐球菌病诊断和开始抗隐球菌病治疗的重要依据。该患者在门诊和体检的检查结果符合以上两点,为临床及时给予抗真菌治疗提供了支持,隐球菌荚膜多糖抗原特异度高、检测速度快,为隐球菌感染的早期诊断提供确诊证据,避免因误诊而错过最佳治疗时间。

本病例应用 mNGS 技术检测肺泡灌洗液,检出新型隐球菌序列,与临床表现和隐球菌抗原阳性结果相符,《共识》推荐根据二代测序结果指导临床决策,mNGS 的阳性率和及时性显著高于常规病原学涂片及培养方法,但需要注意的是,对于呼吸道感染,二代测序尚不能准确判断细菌、真菌等病原体定植或感染状态,仍需依赖临床医师结合患者病情进一步进行分析。mNGS 不能完全取代常规的检测技术,尤其是在序列数较低且患者无明显感染症状和其他实验室结果支持时,不必要的治疗可能增加肝肾药物损伤的风险。

综上所述,临床工作中遇到免疫功能低下、且肺部影像学检查出空洞的患者,血清隐球菌荚膜多糖抗原和呼吸道标本 mNGS 联合检测可以有效辅助临床对肺隐球菌病的诊疗。

参考文献

- [1] SETIANINGRUM F, RAUTEMAA-RICHARDSON R, DENNING D W. Pulmonary cryptococcosis: a review of pathobiology and clinical aspects[J]. Med Mycol, 2019, 57 (2): 133-150.
- [2] 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会. 中华

医学会检验医学分会临床微生物学组,中华医学会微生物学和免疫学分会微生物学组. 侵袭性真菌病真菌学检查指南[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(6): 541-557.

[3] 浙江省医学会呼吸病学分会. 肺隐球菌病诊治浙江省专家共识[J]. 中华临床感染病杂志, 2017, 10(5): 321-326.

[4] ORSINI J, BLAAK C, TAM E, et al. Disseminated cryptococcal infection resulting in acute respiratory distress syndrome (ARDS) as the initial clinical presentation of AIDS[J]. Intern Med, 2016, 55(8): 995-998.

[5] LIU K X, DING H B, XU B, et al. Clinical analysis of non-AIDS patients pathologically diagnosed with pulmonary cryptococcosis[J]. J Thorac Dis, 2016, 8(10): 2813-2821.

[6] PAPPAS P G. Cryptococcal infections in non-HIV-infected patients[J]. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2013, 124: 61-79.

[7] WANG R Y, CHEN Y Q, WU J Q, et al. Cryptococcosis in patients with hematological diseases: a 14-year retrospective clinical analysis in a Chinese tertiary hospital[J]. BMC Infect Dis, 2017, 17(1): 463.

[8] ZHOU Q H, HU C Q, SHI Y, et al. Cryptococcosis in patients with liver cirrhosis: death risk factors and predictive value of prognostic models[J]. Hepatobil Pancreat Dis Int, 2021, 20(5): 460-468.

[9] 周廉政, 吴超杰, 黄茂, 等. 隐球菌病的危险因素[J]. 国际呼吸杂志, 2020, 40(9): 712-716.

[10] LIN Y Y, SHIAU S, FANG C T. Risk factors for invasive *Cryptococcus neoformans* diseases: a case-control study[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119090.

[11] 魏丹丹, 黄先琪, 李小菊, 等. 隐球菌抗原-胶体金免疫层析法在隐球菌性脑膜炎和隐球菌性肺炎诊断中的应用价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(9): 1281-1283.

[12] HUANG H R, FAN L C, RAJBANSHI B, et al. Evaluation of a new cryptococcal antigen lateral flow immunoassay in serum, cerebrospinal fluid and urine for the diagnosis of cryptococcosis: a Meta-analysis and systematic review[J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0127117.

[13] 中华医学会感染病学分会. 隐球菌性脑膜炎诊治专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2018, 36(4): 193-199.

[14] WILSON M R, NACCACHE S N, SAMAYOA E, et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing[J]. N Engl J Med, 2014, 370(25): 2408-2417.

[15] WANG S, AI J W, CUI P, et al. Diagnostic value and clinical application of next-generation sequencing for infections in immunosuppressed patients with corticosteroid therapy[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(5): 227.

[16] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11): 681-689.

(收稿日期: 2023-08-18 修回日期: 2023-12-12)

(上接第 1316 页)

[13] LIU J, XU Z J, BI X, et al. Characteristics of Chinese Families in which children and both parents are diagnosed with malignant tumors: a retrospective study[J]. Chin Med Sci J, 2021, 36(1): 27-34.

[14] ROSENBERG A R, BRADFORD M C, JUNKINS C C, et al. Effect of the promoting resilience in stress management intervention for parents of children with cancer (PRISM-P): a randomized clinical trial[J]. JAMA Netw Open, 2019, 2(9): e1911578.

[15] YE Z J, QIU H Z, LI P F, et al. Resilience model for parents of children with cancer in mainland China-an exploratory study[J]. Eur J Oncol Nurs, 2017, 27(1): 9-16.

[16] 夏素琴, 江秀敏, 刘桂华. PICU 重症患儿父母疾病不确定感现状及影响因素分析[J]. 中国卫生标准管理, 2022, 13(19): 185-189.

[17] PARK M, CHOI E K, LYU C J, et al. Family resilience factors affecting family adaptation of children with cancer: a cross-sectional study[J]. Eur J Oncol Nurs, 2022, 5(1): 102078.

[18] FILIBERTO T T, JOSÉ M R, YUNIER B P. The measurement scale of resilience among family caregivers of children with cancer: a psychometric evaluation[J]. BMC Public Health, 2019, 19(1): 1164.

[19] CHUNG J, LI W, CHEUNG A T, et al. Relationships among resilience, depressive symptoms, self-esteem, and quality of life in children with cancer[J]. Psychooncology, 2021, 30(2): 194-201.

[20] DOLAN J G, HILL D L, FAERBER J A, et al. Association of psychological distress and religious coping tendencies in parents of children recently diagnosed with cancer: a cross-sectional study[J]. Pediatr Blood Cancer, 2021, 68(7): e28991.

[21] LUO Y, XIA W, CHEUNG A T, et al. Effectiveness of a mobile device-based resilience training program in reducing depressive symptoms and enhancing resilience and quality of life in parents of children with cancer: randomized controlled trial[J]. J Med Internet Res, 2021, 23(11): e27639.

[22] JOUHAYNA B G, PAMELA H, KATHLEEN I, et al. Well-being, self-transcendence, and resilience of parental caregivers of children in active cancer treatment: where do we go from here[J]. Cancer Nurs, 2019, 42(5): E41-E52.

[23] HOSEINZADEH F, RADFAR M, MOGHADDAMTABRIZI F, et al. Effect of resilience-based group therapy intervention on coping in mothers of children with cancer: a randomized clinical trial[J]. Iran J Nurs Midwifery Res, 2019, 24(4): 291-295.

(收稿日期: 2023-10-27 修回日期: 2024-01-08)