

• 点石成金 •

少见暗色真菌 *Pleurostomophora richardsiae* 引起脚部真菌感染 1 例

仲超然,关 明,刘 红[△]

复旦大学附属华山医院检验科,上海 201907

关键词:暗色真菌; 暗色丝孢霉病; ITS 测序;

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.07.001

文章编号:1673-4130(2024)07-0769-03

18S rDNA 基因测序

中图法分类号:R519;R446.5

文献标志码:C



点评专家 吴文娟



仲超然

暗色真菌是一类菌丝和(或)孢子含有黑褐色色素的真菌,普遍存在于自然环境中,以往常常被认为是污染菌,严重者可引起免疫缺陷或免疫健全的宿主中的侵袭性、致命性感染,故其临床意义不容忽视。近年来,少见致病暗色真菌引起的感染也日益增多。下面报道 1 例老年男性患者的诊疗经过,以期为同行提供参考。该例患者以“反复右下肢皮肤结节 4 年”入院,外院多次诊治无效,经本院检验科微生物室结合涂片、培养,以及组织病理学、分子生物学技术鉴定,最终诊断为由暗色真菌 *Pleurostomophora richardsiae*(*P. richardsiae*,原名烂木瓶霉)引起的暗色丝孢霉病。该案例邀请到了同济大学附属东方医院南院医学检验科的吴文娟教授进行点评。

1 案例经过

患者,男,67岁,农民,江西上饶市人。因“反复右下肢皮肤结节 4 年”入院。现病史:患者于 2017 年下半年无明显诱因出现右下肢皮肤结节,大小为花生米粒样,无明显红肿疼痛,无化脓破溃;2018 年初开始,患者右下肢皮肤反复出现结节,并逐渐增多,部分伴破溃流脓;2021 年 1 月至上海市某医院就诊,右小腿穿刺活检可见肉芽肿性炎,伴小脓肿形成,局部肉芽组织增生伴间质胶原化及含铁血黄素沉积,给予头孢类抗菌药物(具体不详)治疗无明显好转;2021 年 7 月为求进一步诊治至本院感染科就诊。既往史:高血压史 1 年,平日每日服用苯磺酸氨氯地平 10 mg 降血

压,血压控制良好;有赤足在田地里走路,以及在河水中捞鱼等情况;患者否认原虫流行区居住和旅行史,否认蚊虫叮咬史,右足既往有狗咬伤史;家族史无特殊。

入院体格检查可见右下肢皮肤色素沉着,皮下可触及多个结节,其中 1 个结节红肿,触之轻压痛,无明显皮肤温度升高,双下肢无明显水肿。实验室检查(包括血常规检查、尿常规检查、粪便分析、肝功能、肾功能、电解质、心肌酶谱)结果未见异常,红细胞沉降率略有增加(22 mm/h),部分凝血活酶时间偏高(38.9 s),铁蛋白 550.00 ng/mL ↑,葡萄糖 15.4 mmol/L ↑,糖化血红蛋白 7.4% ↑;1,3-β-D 葡聚糖(G)试验/半乳甘露聚糖(GM)试验、隐球菌抗原乳胶凝集试验、结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT 试验)均为阴性;血清降钙素原及全血 C 反应蛋白水平均正常。影像学检查可见右小腿中段外侧皮下深筋膜侵袭性病变。临床结合各项检查结果初步诊断为右下肢皮肤软组织感染可能。患者完善各项检查后出院。

患者出院 7 d 后,皮肤标本病理活检结果显示:表皮角化过度,真皮内纤维组织瘢痕样增生,弥漫性中性粒细胞浸润及少数嗜酸粒细胞,局部形成中性粒细胞脓肿,局部病灶可见放射状菌团,大量红细胞漏出及含铁血黄素沉积。过碘酸-雪夫(PAS)染色显示:真皮内可见染色阳性菌团。取腿部组织标本进行真菌涂片和培养。真菌培养选择碾磨前处理,半埋半种于沙氏葡萄糖琼脂(SDA)培养基和马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基。经革兰染色,镜下可见有隔菌丝和孢子(图 1A)。于 28 ℃ 条件下,在 SDA 培养基上培养 8 d,可见菌落呈黑褐色,表面有深灰色绒毛(图 1B)。菌落荧光染色可见:瓶梗呈柱状或筒状,领口呈平碟状,尖端变细,具有囊领外展,瓶梗产孢,椭圆形或卵圆形孢子(图 1C)。

将患者腿部组织标本切片进行病理染色,镜下可见有隔菌丝和孢子,见图 2。此外,组织标本经宏基因

点评专家简介:吴文娟,教授,主任技师,博士研究生导师,同济大学附属东方医院南院医学检验科主任;研究方向为病原微生物快速检测及耐药机制研究、医院感染控制等;主持国家科技重大专项、国家自然科学基金、上海市公共卫生重点学科等纵向课题 20 余项,入选上海市优秀技术带头人、上海市卫生系统优秀学科带头人,发表 SCI 和核心期刊论文 120 余篇,主编专著 4 部,申请专利 8 项。

作者简介:仲超然,女,硕士研究生在读,主要从事微生物检验方向的研究。 [△] 通信作者,E-mail:gqwang17@163.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240320.0852.002.html>(2024-03-21)

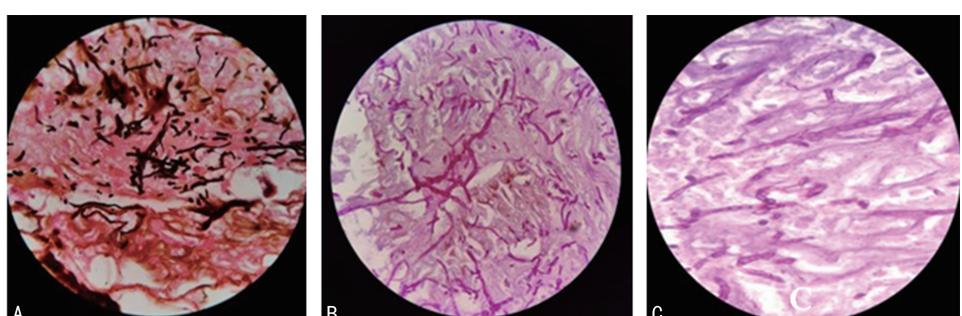
组测序(mNGS)检测未发现任何致病菌,基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)法检测结果显示,现有数据库未能找到。本实验室利用培养

出的菌落进一步做真菌 18S rDNA 基因测序和内部转录间隔(ITS)测序,最终鉴定为 *P. richardsiae*(原名烂木瓶霉)。



注:A 为革兰染色结果,查见菌丝和孢子(直接涂片法,×1 000);B 为于 28℃、SDA 培养基中培养 8 d,可见黑褐色菌落,菌落表面有绒毛;C 为菌落荧光染色结果(×400)。

图 1 直接涂片、菌落培养及荧光染色结果



注:A 为六胺银染色(GMS)染色;B 为 PAS 染色;C 为苏木精-伊红(HE)染色。

图 2 腿部组织标本染色结果(×400)

因此,临床最终诊断为由 *P. richardsiae* 引起皮下软组织感染。由于鉴定结果是较为罕见的暗色真菌,根据《执病》用药治疗指南及患者药物耐受情况将治疗方案定为:伊曲康唑胶囊口服,每天 2 次,每次 2 粒(200 mg)。嘱患者行肝、肾功能检查并定期复查。经半年治疗后,患者皮损部位感染情况逐步好转。见图 3。



注:A 为入院时患者腿部照片,可见多发暗褐色结节,隆起伴皮下脓肿;B 为抗真菌治疗半年患者腿部照片,可见结节变小,结痂,基本治愈。

图 3 患者治疗前后的腿部照片

2 案例分析及讨论

这种由暗色真菌 *P. richardsiae* 引起的疾病即为暗色丝孢霉病。暗色丝孢霉病的常见病原体有外瓶霉、枝孢瓶霉、链格孢、瓶霉和喙枝孢等^[1]。暗色丝孢霉病在热带和亚热带比较常见,温带地区也有发现^[2]。据报道,在免疫抑制患者(如人类免疫缺陷病毒感染者、皮质激素治疗者、器官移植者)中,暗色丝孢霉病多为机会性感染,或者与患者糖尿病等慢性疾病有关;免疫功能正常的患者也可能被感染,但情况非常罕见^[3]。有研究发现,暗色丝孢霉病与一些免疫缺陷密切相关,这些免疫缺陷可能是先天的,尤其是胱天蛋白酶募集域蛋白 9(CARD9)基因缺陷者^[4]。我国很少有暗色丝孢霉病的临床病例报道,这可能是由于缺乏足够的认识和缺乏先进的分子方法来帮助识别暗色丝孢霉病的病原体^[5]。

P. richardsiae 为条件致病性真菌,通常是在自然界的软而腐烂的木头上生长^[6],临床中由 *P. richardsiae* 引起的暗色丝孢霉病很少见^[7]。暗色丝孢霉病有多种临床表现,如浅表病变、皮下结节、中枢神经系统感染等。浅表感染通常表现为炎性肿块,而皮下暗色丝孢霉病表现为无症状的孤立结节或脓肿,通常累及四肢^[8]。该例患者的临床表现为脚部皮肤单个明显的皮下结节。这种真菌感染缺乏显著的临床表现,可

能导致许多病例在非流行地区被误诊^[9]。病变部位的组织病理学检查通常可见肉芽肿性炎症和菌丝成分的存在。临床表现、组织病理学和微生物学鉴定及培养是暗色丝孢霉病确诊的必要条件。该例患者有赤脚在田野里走、在当地河里捕鱼经历,以及患有糖尿病等,这可能是导致感染的原因。

丝状真菌的生长速度慢,形态每天会发生变化,使得药敏折点难以判断。目前,美国临床和实验室标准化协会(CLSI)尚未提供暗色丝孢霉菌抗真菌药物的敏感性折点,临床治疗主要以系统抗真菌治疗为主,伊曲康唑是最常用的药物^[10]。伊曲康唑是一种广谱抗真菌药物,大多数真菌对其敏感。对几种罕见致病性黑色真菌有较好的治疗效果,是一种相对安全的治疗方法^[6]。同时,对于皮肤和皮下暗色丝孢霉病,手术切除与抗真菌药物联合治疗是较好的选择。本例患者口服伊曲康唑胶囊 200 mg,每天 2 次,治疗半年后右下肢皮肤结节变小,结痂,基本治愈。

P. richardsiae 在人类中的感染是少见的,受感染的患者往往意识不到皮肤发生的轻微病变,通常在几个月甚至几年之后才寻求治疗。因此,*P. richardsiae* 感染的致病病原体需要结合临床症状、真菌学培养、组织病理学、分子生物学技术来最终确定^[11]。临幊上应尽早开始干预治疗,否则可能会使治疗疗程延长。

【案例点评】

暗色真菌种类繁多、广泛分布,具有潜在致病性的种类包括疣状瓶霉、裴氏着色菌、皮炎外瓶霉等,可侵犯免疫正常及免疫缺陷的宿主,引起多种皮下或播散性感染。作者报道了由 *P. richardsiae*(原名烂木瓶霉)引起的暗色丝孢霉病病例,为临幊诊疗提供依据。

该病例呈慢性病程,经验性抗细菌治疗无效。作者从病史、临床特征和实验诊断技术整合分析,使长达 4 年的暗色真菌感染得以明确诊断。值得注意的是,形态学检查是最为直接的关键证据并为后续检测提供思路:皮肤活检病理见放射状菌团,组织标本进行真菌涂片见清晰真菌菌丝和孢子,结合直接涂片结果,真菌培养选择碾磨前处理,半埋半种于 SDA 和 PDA 培养基,为菌落生长、产孢观察提供必要条件。针对培养出的真菌在该实验室质谱鉴定数据库里缺如的情况,可通过分子生物学方法(如靶向扩增一代测序)鉴定其所属物种。

由于真菌生长特征和生化鉴定的特殊性,当前国际上对真菌鉴定和分类进化研究方法以分子生物学技术为主。该病例报道反映出在临幊实验室应用的分子生物学技术中,需要关注真菌质谱鉴定的菌株前处理和本地数据库自建扩充,完善菌种鉴定能力。直接检测临幊标本的 mNGS 技术,在特殊标本类型和

特殊病原体(疑似厚壁真菌)等情况下,需进行针对性的标本前处理以释放病原体核酸和去除宿主背景,建议对此类标本送检时提供直接镜检结果,以便进行目标菌种检测。

总体上,该病例结合实验室检测和文献复习,描述了 1 例疑难罕见真菌感染的诊治过程,希望能为实验室人员构建临幊思维提供良好的学习范例。

点评专家:吴文娟教授(同济大学附属东方医院南院医学检验科)

参考文献

- [1] 贺赟,郑海林,李筱芳,等.中国大陆地区暗色丝孢霉病(1987~2017年)回顾性分析[J].中国真菌学杂志,2018,13(5):272-276.
- [2] ALJUNDI M, BRUN S, AKHOUNDI M, et al. Recurrent subcutaneous phaeohyphomycosis due to Medicopsis romeroi: a case report in a dermatomyositis patient and review of the literature[J]. Microorganisms, 2022, 11(1): 3.
- [3] PARENTE J N, TALHARI C, GINTER-HANSELMA-
YER G, et al. Subcutaneous phaeohyphomycosis in im-
munocompetent patients: two new cases caused by Ex-
ophiala jeanselmei and Cladophialophora carrionii [J].
Mycoses, 2011, 54(3): 265-269.
- [4] REVANKAR S G, SUTTON D A. Melanized fungi in hu-
man disease[J]. Clin Microbiol Rev, 2010, 23(4): 884-
928.
- [5] HE Y, ZHENG H L, MEI H, et al. Phaeohyphomycosis in
China[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 895329.
- [6] PANAHANDEH S, MOHAMMADI H, GRAMAJE D. Trunk disease fungi associated with Syzygium cumini in
Iran[J]. Plant Dis, 20419, 103(4): 711-720.
- [7] IKAI K, TOMONO H, WATANABE S. Phaeohyphomycosis caused by Phialophora richardsiae[J]. J Am Acad
Dermatol, 1988, 19(3): 478-481.
- [8] 桑红,邓德权,谢其美,等.暗色丝孢霉病的临幊及研究现
况[J].中国真菌学杂志,2008,3(4):242-246.
- [9] CHOWDHARY A, MEIS J F, GUARRO J, et al. ESC-
MID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis
and management of systemic phaeohyphomycosis: dis-
eases caused by black fungi[J]. Clin Microbiol Infect, 2014,
20 Suppl 3: S5-S26.
- [10] NOGUCHI H, MATSUMOTO T, KIMURA U, et al.
Empiric antifungal therapy in patients with cutaneous
and subcutaneous phaeohyphomycosis[J]. J Dermatol,
2022, 49(5): 564-571.
- [11] FERRÁNDIZ-PULIDO C, MARTÍN-GOMEZ M T, REPI-
SO T, et al. Cutaneous infections by dematiaceous opportun-
istic fungi: diagnosis and management in 11 solid organ
transplant recipients[J]. Mycoses, 2019, 62(2): 121-127.