

doi:10.3969/j.issn.1673-6184.2024.02.007

• 病例分析 •

## 小型无绿藻引起的多发性皮肤感染 1 例

刘佳星<sup>1</sup>, 刘娅汀<sup>2</sup>, 孟玲宁<sup>1</sup>, 徐学静<sup>1</sup>, 郭建<sup>3</sup>, 张燕<sup>1</sup>

1. 南京大学医学院附属鼓楼医院检验科, 江苏 南京 210008; 2. 南通大学公共卫生学院, 江苏 南通 226019;  
3. 上海市东方医院南院检验科, 上海 200120

**摘要:** 本文报道了 1 例经由小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)所致的多处皮肤严重感染病例。通过对患者右手背糜烂处深部皮肤组织样本进行培养, 在 35 °C 体积分数 5% CO<sub>2</sub> 环境中培养 48 h 后于血平板上可见白色干燥菌落生长, 经革兰氏染色油镜下可见呈紫色球形或卵球形菌体。念珠菌显色平板上可见浅紫色奶油样菌落生长, 经乳酸酚棉兰和钙荧光白荧光染色后于油镜下均可见桑葚胚状的内生孢子, 最后该菌经 VITEK 2-Compact 全自动微生物鉴定分析系统及 VITEK MS 质谱仪鉴定为小型无绿藻(*P. wickerhamii*)。临床医生根据病情及药敏试验结果, 先后使用伏立康唑及伊曲康唑进行抗真菌治疗, 病人皮疹明显好转并顺利出院。

**关键词:** 小型无绿藻; 无绿藻病; 皮肤感染

中图分类号: R372

文献标识码: A

## Multiple severe skin infection caused by *Prototheca wickerhamii*: a case report

LIU Jiaying<sup>1</sup>, LIU Yating<sup>2</sup>, MENG Lingning<sup>1</sup>, XU Xuejing<sup>1</sup>, GUO Jian<sup>3</sup>, ZHANG Yan<sup>1</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China; 2. School of Public Health, Nantong University, Nantong 226019, Jiangsu Province, China; 3. Department of Laboratory Medicine, Shanghai East Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200120, China

**Abstract:** The present paper reported a case of multiple severe skin infection caused by *Prototheca wickerhamii* (*P. wickerhamii*). By culturing the deep skin tissue at the erosion site of the patient's right hand back, white dry colonies could be seen growing on the blood plate after 48 h of cultivation at 35 °C and 5% CO<sub>2</sub>. Purple spherical or oval shaped bacteria bodies could be seen under the gram staining oil microscope. Light purple creamy colonies were observed on the candida colorimetric plate. After staining with lactophenol cotton blue and calcofluor white, endogenous spores resembling mulberry embryos could be seen under the oil microscope. Finally, this strain was identified as *P. wickerhamii* by the VITEK 2-Compact fully automatic microbial identification analysis system and VITEK MS mass spectrometer. The patient was given voriconazole and itraconazole for antifungal treatment based on his condition and drug sensitivity results. The patient's rash improved significantly and was discharged smoothly.

通信作者: 张燕

Correspondence to: ZHANG Yan E-mail: qcyxtea@163.com

**Keywords:** *Prototheca wickerhamii*; Protothecosis; Skin infection

无绿藻病(Protothecosis)是由一种罕见的小球藻科无绿藻属引起的机会性感染。无绿藻(*Prototheca*)是一种酵母样、缺乏叶绿素的微藻,在土壤、河流和动物肠道中广泛存在。近年来,基于细胞色素 B (cytochrome B, CYTB)编码序列数据的系统分析建立了一套新的无绿藻分类系统,该属共有 18 种,主要包括 *Prototheca stagnora*、*Protothecabovis*、*Protothecaciferrii*、*Protothecacookei*、*Protothecazopfii*、*Prototheca wickerhamii*、*Prototheca miyajii*、*Prototheca blaschkeae*、*Prototheca cutis* 等,其中与人类关系最为密切的是小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*, *P. wickerhamii*)<sup>[1]</sup>。无绿藻由于缺乏叶绿素,是一种专性异养生物,是脊椎动物的机会性病原体。作为环境病原体,无绿藻可引起奶牛严重的乳腺炎,以及人类和动物的局部或全身感染<sup>[2]</sup>。本文报道 1 例由小型无绿藻所致的皮肤严重感染病例并作相关文献复习。

## 1 临床资料

### 1.1 病历摘要

患者,男,65 岁,2022 年 6 月右小指掌关节处出现红斑、蚕豆大小结节,局部皮温高、不痛不痒,未予以重视。同年 11 月该结节出现疼痛,无增大。12 月,结节破溃伴脓性分泌物,当地医院诊断考虑为

“冻疮”,予外用药物治疗(具体不详),无明显好转。后右手背新发数个红斑,肿胀疼痛明显,局部皮温高,当地医院予输液、外用药物治疗(具体不详),无明显疗效,且左手背出现片状紫癜样皮损,久不消退。2023 年 1 月右眉上方出现密集小水疱,患者自行戳破后渗黄色清亮液体,糜烂面逐渐增大。2 月上唇右外侧皮肤出现密集小水疱、糜烂,渗出黄色清亮液体。右手背于外院病理活检后考虑为“坏疽性脓皮症”,予“新适确得、生长因子凝胶”外用治疗,未见明显好转。3 月,右踝内侧出现密集小水疱、破溃糜烂,疼痛明显,别院予“口服醋酸泼尼松、雷公藤多苷片,外用乳酸依沙吡啶氧化锌油”,皮疹好转不明显,且发现中度贫血、低白蛋白血症。患者现为求进一步治疗,于 2023 年 3 月 15 日拟“坏疽性脓皮症”被收至我院皮肤科病房。患者有高血压病史 1 年,曾治疗,现已停药。既往有胃溃疡病史 5 年,自诉治愈。有慢性阻塞性肺疾病、支气管炎 3 年余,未予治疗。入院时,额部有直径 10 cm×8 cm 糜烂面,上唇右侧有蚕豆大小糜烂面,伴少量黄色清亮液体渗出。右手背片状红斑、多个溃疡伴边缘角质增厚,少量清亮液体渗出,局部肿胀,压痛明显,左手背片状紫癜样皮疹。右踝内侧暗红斑,表面结痂。患者全身皮肤干燥、皮下脂肪少,全身浮肿,双下肢凹陷性水肿。其面部及手部创面如图 1 所示。



A: 入院时手部创面;B: 入院时面部创面。

图 1 患者入院时创面

Fig. 1 Wound images of the patient at admission

实验室检查:白细胞计数  $9.6 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞比率 85.2%,淋巴细胞比率 8.1%,血红蛋白 89 g/L, C 反应蛋白 10.2 mg/L;白蛋白 31.4 g/L,

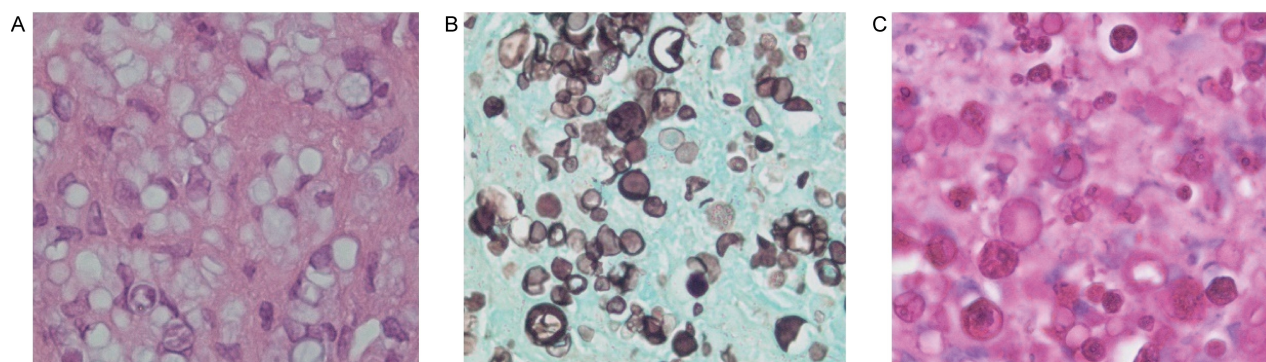
钾 3.01 mmol/L,白介素-6(interleukin-6, IL-6) 36.50 pg/mL;半乳甘露聚糖抗原检测(galactomannan antigen test, GM 试验):5.403  $\mu\text{g/L}$ ; 1, 3- $\beta$ -D 葡

聚糖抗原试验(G 试验):330.09 pg/mL;自身抗体、传染病检测等未见明显异常。右手背手术标本组织病理检查显示,皮肤组织表皮部分区基底层及棘层细胞海绵样水肿,真皮浅层见大量中性粒细胞、淋巴细胞、散在浆细胞浸润,伴细胞凋亡、核碎片增多;部分区见泡沫样组织细胞沉积、巨噬细胞吞噬疑似小球状颗粒样物,结合临床症状符合坏疽性脓皮病,特殊染色 GMS(+),PAS(+),并可见桑葚样结构的孢子囊孢子,考虑为无绿藻感染(见图 2C)。

送检患者右手背糜烂处深部皮肤组织进行培养,经鉴定为小型无绿藻。在明确诊断后,嘱病人先后口服伏立康唑及伊曲康唑进行抗真菌治疗,并根据病情及时调整用药方式及用量。经治疗,2023年5月4日复查 GM 试验:3.032  $\mu\text{g/L}$ , G 试验:123.09 pg/mL,指标值均明显降低,患者皮疹明显好转,面部、手足糜烂溃疡面较前明显缩小,未见新增皮疹(见图 3),病人于 2023 年 5 月 6 日出院。

## 1.2 微生物学鉴定

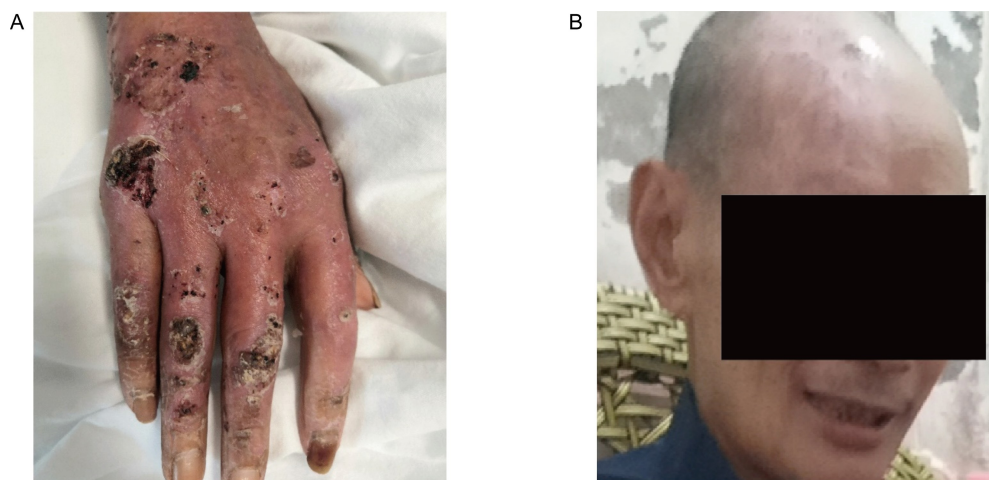
于研磨器中加入 1 mL 无菌生理盐水,研磨送检组织,将组织匀浆接种至哥伦比亚血琼脂平板(上海赛默飞世尔科技公司)和念珠菌显色平板(郑州安图生物公司),置于 35  $^{\circ}\text{C}$  体积分数 5%  $\text{CO}_2$  环境中培养 48 h 后,血平板上可见细小、白色干燥菌落生长,经革兰氏染色后油镜下可见菌体呈紫色球形或卵球形。念珠菌平板上可见浅紫色奶油样菌落生长,经乳酸酚棉兰和钙荧光白荧光染色后油镜下均可见桑葚胚状的内生孢子,平板菌落及染色涂片如图 4 所示。使用 VITEK 2-Compact(上海梅里埃公司)全自动微生物鉴定分析系统及其配套 YST 真菌鉴定卡对该菌株进行鉴定,结果为小型无绿藻(*P. wickerhamii*),鉴定率为 99.9%; VITEK MS(上海梅里埃公司)质谱仪的鉴定结果为小型无绿藻(*P. wickerhamii*),鉴定率为 99.0%,与 VITEK 2-Compact 鉴定结果一致。



A: HE 染色( $\times 1000$ );B: 吉姆萨染色( $\times 1000$ );C: PAS 染色( $\times 1000$ )。

图 2 右手背皮肤标本组织病理结果

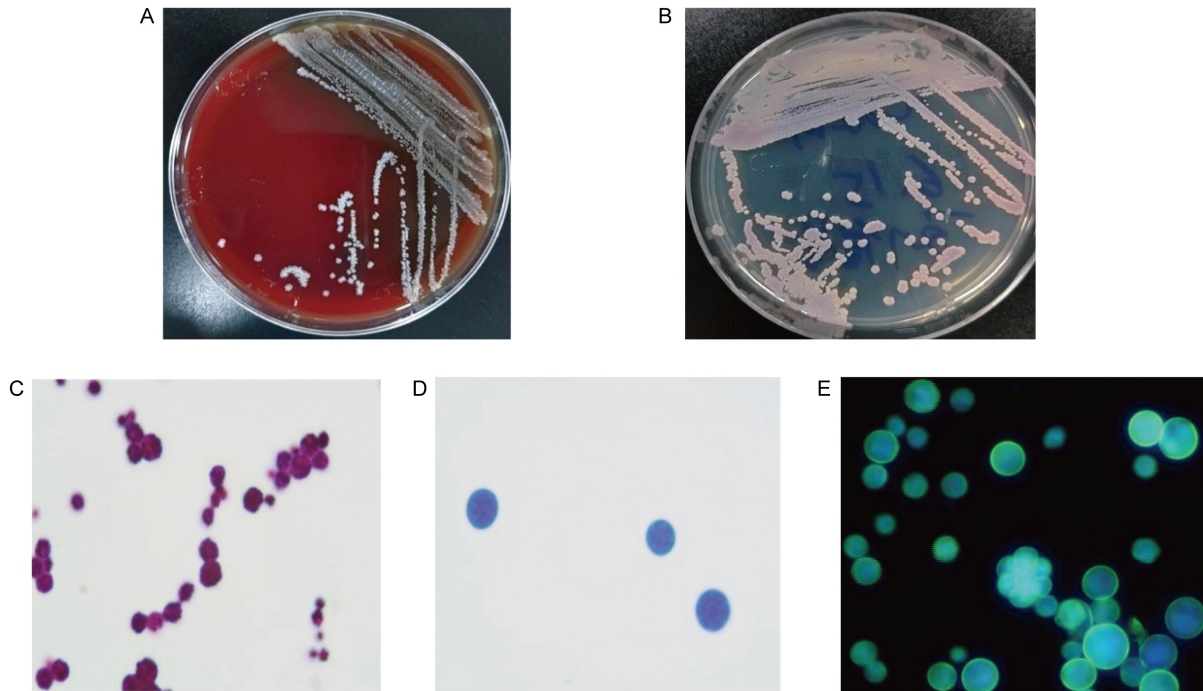
Fig. 2 Pathological results of the skin specimen on the back of the right hand



A: 出院时手部创面;B: 出院时面部创面。

图 3 患者出院时创面情况

Fig. 3 Wound images of the patient at discharge



A: 培养 48 h 后,血平板菌落形态;B: 培养 48 h 后,念珠菌显色平板菌落形态;C: 革兰氏染色( $\times 1\ 000$ );D: 乳酸酚棉兰染色( $\times 1\ 000$ );E: 钙荧光白荧光染色( $\times 1\ 000$ )。

图 4 小型无绿藻培养及其染色结果

Fig. 4 Culture and staining results of *P. wickerhamii*

### 1.3 药敏试验

使用 YeastOne 真菌药敏板(上海赛默飞世尔科技公司)进行小型无绿藻药敏试验。按照美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的 M27-Ed3 方案进行耐药性判断。抗真菌药物最小抑菌浓度结果如下:阿尼芬净、卡泊芬净、米卡芬净均 $> 8$  mg/L, 5-氟胞嘧啶、氟康唑均 $> 64$  mg/L,两性霉素 B、伊曲康唑、伏立康唑及泊沙康唑均为 0.25 mg/L。药敏试验结果提示,两性霉素 B、伊曲康唑、伏立康唑及泊沙康唑对小型无绿藻可能有较好的治疗效果。

## 2 临床治疗与转归

本次病例由于患者 GM 试验结果显著升高,不能排除真菌感染,遂使用伏立康唑首日 0.3 g/12 h,次日起 0.2 g/12 h,3 月 27 日皮肤组织真菌培养提示为小型无绿藻,继续予以伏立康唑 0.2 g/12 h 抗感染治疗,3 月 29 日检测伏立康唑血清血药浓度为 7.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,由于皮损较前明显好转根据血药浓度调整为 0.15 g/12 h,4 月 6 日由于患者感染及炎症指标较高更换为伏立康唑静脉滴注 0.15 g/12 h,4 月 13 日由于患者皮肤情况稳定,再次改为伏立康唑口服 0.2 g/d,4 月 28 日由于患者持续发热,考虑

其为新冠感染,加用奈马特韦片/利托那韦片抗病毒治疗,因与伏立康唑存在合并用药禁忌,予更换为伊曲康唑 0.2 g/d 口服。5 月 6 日,病人皮疹明显好转,面部、手足糜烂溃疡面较之前明显缩小,未见新增皮疹,病人顺利出院。

## 3 讨论

无绿藻于 20 世纪 60 年代才被认为是人类和动物的机会感染性病原体,其在土壤、泥浆以及河流中广泛存在,通常情况下可定植于人类皮肤、指甲、呼吸道和消化系统。然而,该属引起的人类感染十分罕见<sup>[3]</sup>。但近年来,世界各地有关无绿藻感染的报道日趋增多,无绿藻已成为某些国家和地区主要的牛乳腺炎病原体。此外,在狗、猫和山羊身上也发现了无绿藻病,在许多其他脊椎动物身上也有零星病例报告<sup>[4-5]</sup>。2018 年,无绿藻病在三级护理肿瘤化疗病房首次出现爆发性传播,提示此病可发生在免疫缺陷的人群中,但其具体的发病机制尚不清楚<sup>[6]</sup>。研究显示,医院获得性感染可能与外科手术或整形外科手术有关,人类若在皮肤损伤时接触到存在无绿藻的土壤或水源可发生感染,甚至可能因昆虫叮咬而感染,而具有易感因素的定植患者可能会发展为内源性感染,导致病情延误<sup>[7]</sup>。Guo 等<sup>[8]</sup>在最新

的报道中发现,引起人类疾病的小型无绿藻在体外实验中对巨噬细胞表现出较低的细胞毒性,这或许可以帮助其逃避巨噬细胞的清除,但其对人体固有免疫反应的潜在机制还有待进一步研究。

人类感染无绿藻病主要有3种表现形式,即皮肤病变、鹰嘴滑囊炎以及播散性或全身性感染<sup>[9]</sup>。与前2种感染不同,播散性无绿藻病主要与免疫功能低下的宿主有关,例如接受免疫抑制治疗或长期使用血管内导管的患者,癌症、艾滋病、糖尿病或实体器官移植的患者,这种感染类型的病人预后最差,只有33%的患者治愈或好转,死亡率高达56%<sup>[10]</sup>。目前,临床对无绿藻病尚无明确的治疗方案。两性霉素B或其脂质体是国外一线治疗无绿藻病最常使用的药物,其次为伏立康唑、伊曲康唑、氟康唑、酮康唑等<sup>[11]</sup>。据报道,静脉注射两性霉素B治疗人类无绿藻病的治愈率或改善率为72%,伊曲康唑和氟康唑的治愈率或改善率分别为71%和65%<sup>[12]</sup>。对于症状相对较轻的病例,建议从口服伊曲康唑或氟康唑开始,并对严重感染和唑类治疗失败的感染使用静脉注射两性霉素B。Joerger等<sup>[13]</sup>报道了一例小型无绿藻引起的慢性脑膜炎病例,在使用两性霉素B脂质体治疗后,其症状虽有所改善,但在治疗过程中出现了以低钾血症、贫血以及肌酐升高为表现的急性肾损伤。Lu等<sup>[14]</sup>报道了一例全身性皮肤感染的无绿藻病患者,在使用两性霉素B脂质体治疗后,因其肌酐逐渐升高,改用两性霉素B联合伏立康唑治疗,但患者仍出现了反复的低钾血症和胃肠道反应,再调整为单独使用伏立康唑后,患者预后良好。考虑到两性霉素B的副作用及病人本身的耐受能力,国内报道的皮肤无绿藻病临床治疗常采用伊曲康唑静脉滴注联合口服或伏立康唑静脉滴注继以口服,大部分获得较好的疗效<sup>[15-16]</sup>,这种治疗方案也在一些国外报道中被证实有效<sup>[17-19]</sup>。一般来说,无绿藻对5-氟胞嘧啶和氟康唑、伊曲康唑或伏立康唑表现出不同的耐药性。此外,体外测试表明,雷夫康唑较于其他针对无绿藻测试的唑类具有更好的抗菌效果。这种新型唑类药物自2018年在日本上市,亦被考虑用于治疗人类和动物的无绿藻病<sup>[20]</sup>。

本病例中患者年龄较大,有高血压、中度贫血、重度营养不良、肺气肿、慢阻肺等基础病症,患者免疫功能低下致多处皮肤小型无绿藻感染,入院前辗转多家医院,皆未行组织病原学检查,故无法准确评估病原菌的入侵时间,不排除病人接触了环境中的

无绿藻导致感染。最终,患者在我院通过对创面深部组织进行微生物培养检查得以明确诊断。病人先后经伏立康唑及伊曲康唑治疗后,患处糜烂破溃皮肤逐渐愈合,未见新增皮疹,治疗效果好,顺利出院。本病例也提示,临床微生物检验人员在平时工作中应对无绿藻的菌落及镜下形态有足够的认识 and 了解,警惕误认为是念珠菌或其他酵母样真菌,同时该病人在入院时血G试验及GM实验结果显著增高,经治疗后出现明显降低,可作为小型无绿藻感染诊断及治疗预后评估的参考。本病例报道可为基层临床医生诊疗相关病例提供一定的参考。

## 参考文献

- [1] Jagielski T, Iskra M, Bakuła Z, Rudna J, Roeske K, Nowakowska J, Bielecki J, Krukowski H. Occurrence of *Prototheca* microalgae in aquatic ecosystems with a description of three new species, *Prototheca fontanea*, *Prototheca lentescens*, and *Prototheca vistulensis* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2022, 88(22): e0109222. doi: 10.1128/aem.01092-22.
- [2] 曾炫皓, 章强强. 全球近10年无绿藻病例报道文献的回顾 [J]. *中国真菌学杂志*, 2016, 11(5): 310-315.
- [3] Nelson AM, Neafie RC, Connor DH. Cutaneous protothecosis and chlorellosis, extraordinary "aquatic-borne" algal infections [J]. *Clin Dermatol*, 1987, 5(3): 76-87.
- [4] Hofbauer WK. Toxic or otherwise harmful algae and the built environment [J]. *Toxins (Basel)*, 2021, 13(7): 465.
- [5] Libisch B, Picot C, Ceballos-Garzon A, Moravkova M, Klimesová M, Telkes G, Chuang ST, Le Pape P. *Prototheca* infections and ecology from a one health perspective [J]. *Microorganisms*, 2022, 29, 10(5): 938.
- [6] Kano R. Emergence of fungal-like organisms: *Prototheca* [J]. *Mycopathologia*, 2020, 185(5): 747-754.
- [7] Shave CD, Millyard L, May RC. Now for something completely different: *Prototheca*, pathogenic algae [J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(4): e1009362. doi: 10.1371/journal.ppat.1009362.
- [8] Guo J, Chen J, Li T, Gao L, Jiang C, Wu W. Integration of transcriptomics, proteomics, and metabolomics data for the detection of the human pathogenic *Prototheca wickerhamii* from a One Health perspective [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1152198. doi: 10.3389/fcimb.2023.1152198.
- [9] Wang X, Ran Y, Jia S, Ahmed S, Long X, Jiang Y, Jiang Y. Human disseminated *Protothecosis*: the skin is the "window"? [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 880196. doi: 10.3389/fimmu.2022.880196.
- [10] Chen F, Saab-Chalhoub M, Tao J, Harrington AT, Albarillo FS, Crone AS, Clark NM, Speiser JJ.

- Disseminated Protothecosis due to *Prototheca zopfii* and literature review [J]. *Am J Dermatopathol*, 2023, 45(4): 237-241.
- [11] Proskurnicka A, Żupnik K, Bakuła Z, Iskra M, Rösler U, Jagielski T. Drug susceptibility profiling of *Prototheca* species isolated from cases of human Protothecosis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2023, 67(4): e0162722. doi: 10.1128/aac.01627-22.
- [12] Masuda M, Jagielski T, Danesi P, Falcaro C, Bertola M, Krockenberger M, Malik R, Kano R. Protothecosis in dogs and cats-new research directions [J]. *Mycopathologia*, 2021, 186(1): 143-152.
- [13] Joerger T, Sulieman S, Carson VJ, Fox MD. Chronic meningitis due to *Prototheca zopfii* in an adolescent girl [J]. *J Pediatric Infect Dis Soc*, 2021, 10(3): 370-372.
- [14] Lu Y, Zhang X, Ni F, Xia W. Cutaneous Protothecosis with meningitis due to *Prototheca wickerhamii* in an immunocompetent Teenager: case report and literature review [J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 2787-2794.
- [15] 刘原志, 章强强. 无绿藻病的研究现状及我国大陆临床分离株体外药敏分析[J]. *皮肤科学通报*, 2017, 34(5): 622-628.
- [16] Lu S, Xi L, Qin W, Luo Y, Lu C, Li X. Cutaneous protothecosis; two new cases in China and literature review [J]. *Int J Dermatol*, 2012, 51(3): 328-331.
- [17] Góes LDM, Monteiro VDS, Souza ATO. Case for diagnosis. Ulcer and papular lesions in a patient with diabetes mellitus. Protothecosis [J]. *An Bras Dermatol*, 2021, 96(5): 613-616.
- [18] El Hoshy K, Abdel-Halim MRE, El-Nabarawy E, Shalaby S. Cutaneous Protothecosis as an unusual complication following dermal filler injection: a case report [J]. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2019, 12(12): 13-16.
- [19] Minato K, Yoshikawa M, Nakanishi H, Hasegawa K. Long term follow-up of *Prototheca* keratitis: a case report [J]. *Int Med Case Rep J*, 2020, 13: 503-506.
- [20] Todd JR, Matsumoto T, Ueno R, Murugaiyan J, Britten A, King JW, Odaka Y, Oberle A, Weise C, Roesler U, Pore RS. Medical mycology 2017 [J]. *Med Mycol*, 2018, 56: 188-204.

(收稿日期:2023-07-27)

## 评选优秀论文通知

为更快、更好地传播微生物学与感染病学领域的研究发展和成果,提高本刊刊登的论文质量,提升作者论文的撰写水平,《微生物与感染》编委会决定每年举行优秀论文年度评选活动。从本刊当年刊登的文章中选取优秀论文予以表彰,设一等奖(奖金 3 000 元)、二等奖(奖金 1 000 元),所有奖金由复旦大学上海医学院“一健康基金”提供。获奖者除获得奖金之外,还将获取相应的荣誉证书和本刊次年全年杂志。敬请广大作者积极投稿。

《微生物与感染》编委会