

• 临床检验研究论著 •

非 HIV 感染播散性马尔尼菲青霉病 1 例

林宇岚¹, 杨 滨¹, 金咏絮², 陈守涛^{1△}, 王 密³, 郜 峰³

(福建医科大学附属第一医院:1. 检验科;2. 呼吸科;3. 病理科 350005)

摘要:目的 探讨非 HIV 感染播散性马尔尼菲青霉病(PSM)早期诊治方法,以减少病死率。方法 收集该院收治的 1 例非 HIV 感染播散性 PSM 患者的痰、脓液、胸腔积液、胸膜、血液、支气管灌洗液标本进行微生物培养和组织病理检查。结果 脓液、支气管灌洗液和血液标本均检出马尔尼菲青霉菌,25 ℃ 呈青霉相,产生红葡萄酒色素,光镜下见典型帚状枝;37 ℃ 呈酵母相,镜下见光滑卵圆形孢子。结论 该病例提示患有白癜风、糖尿病等引起免疫功能抑制者均为 PSM 高危人群,若出现长时间发热不退、贫血、肺部感染症状和(或)伴多发性皮肤结节或溃疡、抗生素疗效欠佳时应及时采集呼吸道、皮疹、血液、骨髓标本进行相关 PSM 检查,无论其是否为 HIV 感染者对于 PSM 早期诊治、预后和降低病死率均具有重要意义。

关键词:青霉, 产黄; 早期诊断; 预后; 马尔尼菲青霉病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.10.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)10-1196-02

A case report of disseminated Penicilliosis Marneffei without HIV infection

Lin Yulan¹, Yang Bin¹, Jin Yongxu², Chen Shoutao^{1△}, Wang Mi³, Gao Feng³

(1. Department of Medical Laboratory Science; 2. Pneumology Department; 3. Department of Pathology,

The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350005, China)

Abstract: Objective To explore the early diagnosis and treatment of disseminated Penicilliosis marneffei (PSM) without human immunodeficiency virus (HIV) infection, in order to decrease the mortality. **Methods** Specimens, including sputum, liquor puris, pleural fluid, pleura, blood and bronchial lavage fluid, were collected from a case of patients with disseminated PSM without HIV infection and detected for microbiological culture and pathological biopsy. **Results** The culture of bronchial lavage fluid, liquor puris and blood were positive with Penicillium marneffei. Filamentous colonies could be cultured at 28 ℃, with classic red pigment and penicillius, and yeasty colonies could be cultured at 37 ℃, with oval, smooth and glossy spores. **Conclusion** This case might indicate that individual with immunosuppression, caused by vitiligo, diabetes mellitus and so on, could have high risk of PSM. All kinds of samples, including respiratory passages specimens, skin rashes, blood, bone marrow and so on, should be collected from patient with or without HIV infection, and with symptoms of long-term fever, anemia and pulmonary infection with or without multiple skin nodules, to detected PSM, which could be helpful for early diagnosis, prognosis and reducing mortality.

Key words: penicillium chrysogenum; early diagnosis; prognosis; penicilliosis marneffei

马尔尼菲青霉菌(penicillium mameeffei, PM)是迄今所发现的惟一能使人类致病的双相青霉菌。近年来马尔尼菲青霉病(penicilliosis mameeffei, PSM)发病率逐年增加,现将本院收治的 1 例非 HIV 感染播散性 PSM 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,男,53岁,农民,福建省福清市人。2010年10月无明显诱因出现发热,体温最高达38.1 ℃,多为下午发热,伴畏寒,阵发性咳嗽,咳白黏痰,伴左前下胸闷痛,活动后气促,在当地医院以中药治疗2周余无改善,后静滴克林霉素3 d仍无好转。于2010年11月26日入本院呼吸科治疗。入院前12 d出现胸、头部多发皮肤结节。入院前3 d当地医院肺部CT检查示左肺下叶片状密度增高影,左侧胸腔积液。入院查体:体温38.1 ℃,呼吸136次/分,心率22次/分,血压120/70 mm Hg,消瘦、贫血外观,慢性病容;头顶部2个直径约1.5 cm 结节,界清,质韧,轻压痛,局部无皮温升高,双下胸部皮肤类似5个直径约1~2 cm 结节;肝、脾、淋巴结未见肿大,左下肺触觉语颤减弱,叩浊,呼吸音弱;心律齐,各瓣膜区无杂音。患“白癜风”3年,曾在当地诊断为糖尿病(具体时间、程度

不详),吸烟20余年,每天10支。否认性病、冶游史,无其他病史,家族中无类似疾病者。初步考虑:(1)社区获得性肺炎,病原菌待查;(2)肺结核;(3)败血症;(4)肿瘤;(5)糖尿病。给予比阿培南和替考拉宁治疗和营养支持。主要检测结果:白细胞(WBC)32.74 × 10⁹/L,中性粒细胞(N)86.8%,血红蛋白(Hb)85 g/L,C反应蛋白(CRP)96.43 mg/L,降钙素原(PCT)0.36 ng/mL,钠(Na)130 mmol/L,氯(CL)94 mmol/L,钙(Ca)1.94 mmol/L,血浆清蛋白(ALB)16.8 g/L,随机血糖12.86 mmol/L,pH 7.51,动脉血氧分压(PaO₂)72 mm Hg,动脉二氧化碳分压(PaCO₂)28 mm Hg,结核菌素实验(PPD)、结核抗体阴性;人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体、快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)、梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)均阴性(2次以上),甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)等肿瘤标志物阴性。入院第3天患者症状无改善,头、胸部皮肤结节局限,变软,有囊样感;第4天患者气促加重,胸腔积液增多,在B超定位下行胸膜腔穿刺术,胸腔积液常规检查:有核细胞计数1 500 × 10⁶/L,多个核细胞20%,单个核细胞80%;胸水生化检查:葡萄糖(Glu)6.81 mmol/L,总蛋白(TP)36.5 g/L,乳酸

脱氢酶(LDH)787 U/L, 腺苷脱氨酶(ADA)8.1 U/L。第 6 天出现呼吸衰竭症状, WBC $33.21 \times 10^9/L$, N 87.0%, CRP 105.70 mg/L。抗感染治疗无明显效果。再次行胸膜腔穿刺术。第 7 天纳差改善, 但呼吸衰竭症状加重, 头、胸部结节出现破溃, 流脓, 立即于皮损处穿刺抽取脓液送检。改用抗真菌治疗。第 9 天因经济原因自动放弃治疗出院, 患者死亡。

1.2 主要试剂与仪器 Back Alert 3D 全自动血培养仪及配套中和抗生素成人血培养瓶(法国梅里埃)、培养箱(广东省医疗器械厂)、Zeiss Lab. A1 正置相差显微镜、沙氏葡萄糖蛋白胨琼脂及察氏琼脂(杭州天和微生物试剂有限公司)、哥伦比亚血琼脂(郑州贝瑞特)、乳酸酚试剂(乳酸 20 mL、石碳酸 20 g、甘油 40 mL、ddH₂O 20 mL 混匀常温保存)、亚甲蓝染液及快速革兰染液(台湾 BASO)等。

1.3 方法 标本进行亚甲蓝和革兰染色后直接镜检。接种至哥伦比亚血琼脂、沙氏葡萄糖蛋白胨琼脂、察氏琼脂, 28~37 °C 培养 3~21 d。若有真菌生长, 观察菌落生长特征, 并用生理盐水、乳酸酚试剂制片后显微镜检查, 根据菌落特征和镜下结构进行菌种鉴定。血培养标本在 Back Alert 3D 全自动血培养仪内孵育和监测(7 d)后再抽取培养液接种于培养基复核。进行组织病理检查, 并进行过碘酸雪夫染色和六胺银染色。

2 结 果

第 1 天送检的合格痰标本中草绿色链球菌、酵母样真菌生长, 未检出抗酸杆菌, 血培养阴性。第 4、6 天胸腔积液中未检出细菌、真菌、抗酸菌。胸腔积液涂片: 镜下见大量淋巴、单核细胞及少量间皮细胞, 未见明显异型细胞。胸膜活检: 纤维组织增生伴玻璃样变性, 间质少量炎细胞浸润, 未见明显恶性细胞和特殊病原体。组织化染色: 碘酸雪夫(+)、六胺银(+)。第 2 次镜下见增生纤维组织内较多淋巴细胞和少量中性粒细胞浸润, 部分纤维组织胶原化, 另查见少量渗出纤维蛋白和退变坏死组织, 符合肉芽肿性炎症表现。第 7 天送检的脓液、支气管肺泡灌洗液、血培养标本检出真菌孢子及抗酸杆菌, 有 PM 生长。经亚甲蓝和革兰染色均可见卵圆形真菌孢子散在分布, 边界清晰连续。培养 48 h 仅可见针尖样菌落。25 °C 培养呈菌丝相, 菌落初期呈淡灰色, 直径 2~4 mm, 中间凸起, 四周有灰白色绒毛状。4~7 d 菌落呈灰绿色绒毛状, 直径 1~2 cm, 菌落背面出现暗红色色素。7 d 后菌落进一步扩大, 表面呈灰绿色至黄绿色绒毛状, 整个琼脂显葡萄酒红色。37 °C 培养生长稍慢, 3~4 d 菌落呈乳白色酵母样, 直径 1~3 mm。7 d 后菌落中间凸起有脑回样皱褶, 四周呈放射状沟纹, 直径达 5 mm 以上, 但始终不产色素。挑取菌落制片后显微镜检: 25 °C 培养物见细长分隔菌丝长短不一, 无色素, 有典型的帚状枝(可不整齐), 单轮生或双轮生, 对称或不对称, 分生孢子梗自菌丝长出, 孢子光滑, 折光明显, 呈圆形或椭圆形。37 °C 菌落镜检见光滑卵圆形酵母样孢子。脓液、支气管肺泡灌洗液、血培养标本均培养出同一种真菌, 其菌落特征与显微镜镜下形态完全符合 PM 特征, 诊断为播散性 PSM。同时排除肺结核、肺部肿瘤的诊断。

3 讨 论

PSM 是由 PM 感染所致的一种少见的侵袭性真菌病, 中国大陆地区 1985~2006 年公开报道的 138 例 PSM 主要分布于广东、广西、福建等地, 多数省份无或散发病例报道^[1-2]。其中 HIV 感染者占 71%, 平均发病年龄 35.4 岁, 但死亡率高达

47.8%^[3]。由于 PSM 临床表现无特异性, 且多数医务人员未接触过该病, 因而对其认识和警惕性不足, 常造成误、漏诊。除 HIV 感染者外各种癌症患者, 患有糖尿病等基础病, 移植接受者, 应用广谱抗生素、激素和免疫抑制药者, 接受侵害性治疗方法者也被认为是 PSM 高危易感人群^[4]。

PSM 主要引起 3 种病理变化: 肉芽肿、化脓性炎症、无反应性坏死性炎症; 具有 2 种临床表现: 局限性和播散性^[4]。局限性 PSM 即病原菌仅局限在入侵部位, 以肺部感染最常见。播散性 PSM 则往往全身多脏器受损害, 患者主要表现为发热(95.7%), 贫血(75.3%), 肝、脾、淋巴结肿大(80.4%), 皮疹(72.5%), 肺部病变(95.7%)^[3]等。皮肤损害在 HIV 感染者更为常见, 以传染性软疣样中央具坏死性脐窝状凹陷损害为特征。

本文患者无明显流行病学特征, 具体感染途径不明。福建省福清市曾有过数例 PSM 的报道^[5-6], 所以本文患者非个例, 但其起病突然, 进展快, 病情凶险, 从患病到死亡仅 2 个月余, 明显短于已报道病例(20、30 个月), 属于播散性 PSM。首发症状为长时间午后发热、肺部感染和贫血, 但未见淋巴结肿大, 非 HIV 感染, 入院前 12 d 才出现皮肤结节, 缺乏 PSM 诊疗经验的临床医生未在第一时间考虑到 PM 感染的可能而失去了有利的治疗时机。患者有白癜风和糖尿病史, 糖尿病会引起免疫功能紊乱, 而近年来发现白癜风与自身免疫密切相关, 会引起免疫调节异常^[7-8], 可能患者一开始仅为局限性肺部 PSM, 随着病情进展其免疫功能、营养状况不断下降, 使得体内巨噬细胞所吞噬的 PM 孢子不能再被清除而通过血循环向全身播散^[9]。表现为入院初期呼吸道、血培养标本并未检出 PM, 而 7 d 后检出。胸腔积液标本始终未曾检出, 但组织病理有肉芽肿炎性改变。

PM 是惟一致病的双相型青霉菌, 本文病例标本 25 °C 培养产生绒毛状菌落并有特征性的红色素溶解于培养基, 镜下见特异帚状枝。标本直接镜检和 37 °C 培养见卵圆形真菌孢子均符合 PM 的鉴定要点, 但未见典型带有横隔的腊肠样细胞(碘酸雪夫染色菌壁染成红色为阳性、六胺银染色菌壁染成黑色为阳性)和桑葚样堆积的含菌巨噬细胞^[4]。虽然比较耗时, 但仍是目前诊断 PSM 最常用的方法和“金标准”。

播散性 PSM 死亡率很高, 但早期正确治疗仍有希望将其治愈, 目前国际上尚无双相型真菌的药敏试验标准, 有研究表明伊曲康唑和酮康唑对 PM 最低抑菌浓度(MIC)最低, 两性霉素 B、5-氟胞嘧啶次之, 氟康唑最高。因此, 对 HIV 感染合并 PSM, 以前一般首选伊曲康唑长期维持治疗^[10], 还可以给予米卡芬净钠协同用药。本文患者在治疗初期一直按照抗细菌感染治疗, 克林霉素、比阿培南和替考拉宁对 PM 无作用, 致使病情持续进展。虽然在皮肤标本镜检出真菌孢子后立即改用伏立康唑(治疗 PSM 总有效率可达到 88% 左右^[11]), 但由于患者呼吸衰竭, 基础状况差, 用药 3 d 仍无明显改善, 终因放弃治疗而死亡。

总之, 患有白癜风、糖尿病等引起免疫功能抑制疾病者均为 PM 高危人群, 若出现长时间发热不退、贫血、肺部感染和(或)伴多发性皮肤结节或溃疡、抗生素疗效欠佳时应及时采集呼吸道、皮疹、血液、骨髓等各种标本进行相关 PSM 检查, 无论其是否为 HIV 感染对于 PSM 早期诊治和预(下转第 1199 页)

2.2 各组受检者血浆 ChE 活性比较 健康对照组 ChE 活性为 (9483.92 ± 1534.47) U/L, DM/DL 组为 (11103.31 ± 2638.77) U/L, DM 组为 (7975.64 ± 2439.03) U/L。DM/DL 组 ChE 活性比 DM、健康对照组高 ($P < 0.05$)。DM 组 ChE 活性比 DM/DL、健康对照组低 ($P < 0.05$)。

3 讨 论

本研究 DM 合并 HL 患者与健康对照组的血脂水平相比, TC、TG、LDL-C 均显著升高, HDL-C 水平则显著降低, 符合 DM 合并 HL 的诊断标准。单纯 DM 患者与健康对照组血脂水平相比, TC、HDL-C 水平降低, 并有显著差异。

本研究结果显示, 患有 HL 的 DM 患者 ChE 活性明显升高, 与文献报道的 HL 患者同时伴 ChE 活性升高相一致^[1], 表明 DM 并不改变 HL 患者 ChE 活性升高的现象。

ChE 可分为真 ChE, 即乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和拟胆碱酯酶 (PChE) 两类。血浆中 ChE 以来源于肝脏的 PChE 为主^[2-3]。比较而言, 高脂诱导的 ChE 合成比 LDL-C 的合成更明显, 因而通常血浆 ChE 活性可作为衡量肝脏蛋白合成水平的指标^[4]。此外, 由于 ChE 半衰期较短, 合成后立即释放入血, 其活性可以更直接地反映肝脏对脂类的代谢功能。因此, 相比较而言, LDL-C 的参考范围较窄, 而 ChE 活性的参考范围较宽, 表明以 ChE 活性来表征肝脏对脂类的代谢功能, 临床价值更大。

本研究 DM 组 ChE 活性比健康对照组低, 与文献报道的趋势是一致的, 尽管该文献未发现这一降低有显著差异^[5]。一般认为高胰岛素浓度或胰岛素抵抗是导致一系列并发症发生、发展的基础^[6]。在未并发 HL 时高胰岛素水平有可能通过反馈调节, 抑制机体内分泌功能, 从而降低 ChE 活性^[7]。动物实验也表明, 对 DM 家兔给予 ChE 抑制药物处理后, 在降低 ChE 活性的同时, 空腹血糖及糖化血红蛋白水平也明显降低。因此, DM 患者 ChE 活性的降低有可能是机体的反馈调节作用。

本研究发现 DM 合并 HL 患者 ChE 活性、LDL-C 明显高于单纯 DM 患者, 二者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 HDL-C 则无明显差异。其原因可能: (1)当脂类代谢发生异常时肝细胞受到刺激, 脂肪酸合成和转移增加, 导致酰基辅酶 A 积累, 继而产生酰基胆碱如乙酰胆碱、丁酰胆碱等 ChE 的主要

水解底物, 因反馈调节导致 ChE 活性增高。(2)脂类是通过脂蛋白的方式在血液中运送的, LDL-C 将脂类从肝脏运送到全身组织, HDL-C 则将各组织的脂类送回肝脏代谢^[8]。DM 合并 HL 患者由于体内血脂升高, 导致 LDL-C 代偿性增高。

综上所述, 血脂 4 项及 ChE 活性的联合检测对 HL 有一定的辅助诊断作用, 特别是 ChE 活性的检测。DM 患者并发 HL 时, 不仅血脂水平发生改变, 同时伴 ChE 活性升高, 而单纯 DM 患者血浆 ChE 活性比健康者低。因此, 测定 ChE 活性对于 DM 合并 HL 患者的诊断具有一定的临床意义, 对于疾病的发生、转归, 以及治疗、预后也具有指导意义^[9]。

参考文献:

- 谢万红. 血清胆碱酯酶在高脂血症患者中的变化[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(22): 1393-1394.
- Iwasaki T, Yoneda M, Nakajima A, et al. Serum butyrylcholinesterase is strongly associated with adiposity, the serum lipid profile and insulin resistance[J]. Intern Med, 2007, 46(19): 1633-1639.
- 辜淑英, 李中琴, 贺成彪. 血清总胆汁酸与胆碱酯酶测定对肝病的临床应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1321-1322.
- Ogunkeye OO, Roluga AI. Serum cholinesterase activity helps to distinguish between liver disease and non-liver disease aberration in liver function tests[J]. Pathophysiology, 2006, 13(2): 91-93.
- Ogunkeye OO, Chuhwak EK, Otokwula AA. Serum cholinesterase activity in the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients[J]. Pathophysiology, 2010, 17(1): 29-32.
- 耿明霞, 王开富, 陈卫红. II 型糖尿病患者血清胆碱酯酶检测的临床价值[J]. 公共卫生与预防医学, 2005, 16(5): 70-71.
- 王开富, 陆付耳, 徐丽君, 等. 胆碱酯酶抑制剂对化学性糖尿病影响的实验研究[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(9): 1586, 1596.
- 王瑜, 卢丹. 2 型糖尿病肾病患者血清脂蛋白(a)水平的试验观察[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7): 721-722.
- 王岚, 卢明瑜, 任景怡, 等. 高脂血症患者不同血脂异常分型与糖代谢的相关性研究[J]. 北京大学学报: 医学版, 2011, 43(3): 427-430.

(收稿日期: 2011-10-08)

(上接第 1197 页)

后均具有重要意义。

参考文献

- 程文德, 孙敏, 黄观丽, 等. 播散性马尼尔菲青霉病 2 例[J]. 临床与实验病理学杂志, 2005, 21(3): 370-371.
- 黄建荣, 欧萌萌. 艾滋病合并马尼尔菲青霉病临床分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(23): 4989-4990.
- 赵国庆, 冉玉平, 向耘. 中国大陆马尼尔菲青霉病的临床表现及流行病学特征的系统评价[J]. 中国真菌学杂志, 2007, 2(2): 68-72.
- 刘博, 付萍. 马尼尔菲青霉菌病的研究进展[J]. 皮肤病与性病, 2010, 3(1): 26-28.
- 虞胜镭, 施光峰, 翁心华, 等. 广泛播散型马尼尔菲青霉病一例[J]. 中华内科杂志, 2008, 47(10): 847-848.
- 蔡仁慧, 计雄飞, 程波. 顽固性马尼尔菲青霉致皮肤肉芽肿一例[J]. 中华皮肤科杂志, 2009, 42(4): 281-282.

- 程军民, 周秀娟, 张玉. 白癜风患者治疗前后血清 IL-2、IL-4 和 IFN-γ 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23(5): 505-506.
- 杨伟国, 居军. 糖尿病患者免疫功能状态研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 768-769.
- 罗秋红. 马尼尔菲青霉菌致病机制及相关超微结构特征研究进展[J]. 中国现代医药杂志, 2010, 12(7): 125-127.
- Romance C, Noppawan C, Thira Sirisanthana, et al. Discontinuation of secondary prophylaxis against penicilliosis marneffei in AIDS patients after HAART[J]. AIDS, 2007, 21(3): 365-379.
- Khuanchai S, Haran T. Sehlamm Voriconazole as Therapy for Systemic Penicillium marneffei Infections in AIDS Patients[J]. Am J Trop Med Hyg, 2007, 77(2): 350-353.

(收稿日期: 2011-10-09)