

• 点石成金 •

HIV、SARS-CoV-2 合并马尔尼菲篮状菌机会感染*

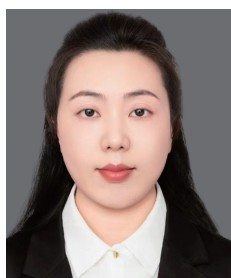
谢丽丽, 马翠萍, 吴涛[△]

宁夏回族自治区人民医院(宁夏医科大学第三临床医学院)检验科, 宁夏银川 750002

关键词:人类免疫缺陷病毒; 新型冠状病毒; 马尔尼菲篮状菌; 16S rDNA 基因测序; 内部转录间隔区测序

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.002**文章编号:**1673-4130(2024)17-2058-05**中图法分类号:**R446.5;R563.1;R512.91**文献标志码:**B

点评专家 吴文娟



第一作者 谢丽丽

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)是一种 RNA 病毒,易变异、传染性极强。多数 SARS-CoV-2 感染(COVID-19)患者愈后良好,少数患者病情危重,特别是老年人和有慢性基础疾病感染者,往往预后较差,青壮年患者病情迁延不愈的情况在临床诊疗中并不常见^[1]。本文报道的病例为 1 例青年 COVID-19 患者,因病情迁延不愈,多次治疗效果不佳入院。经本院检验科临床微生物学实验室进行涂片、培养及分子生物学技术鉴定,诊断为西北地区少见的马尔尼菲篮状菌(TM)感染。因 TM 好发于获得性免疫缺陷综合征(简称艾滋病,AIDS)患者,尤其是 CD4 细胞计数 <100 个/ μL 的患者。检验医生调阅患者病历和相关检查资料后,提醒临床为患者完善人类免疫缺陷病毒(HIV)感染相关的实验室检查,最终明确该患者为罕见的 SARS-CoV-2、TM、HIV 三种病原体同时感染。本文通过回顾该病例的诊断、治疗、转归,旨在为临床诊治及用药提供经验和依据。

1 案例经过

患者,男性,25 岁,学生,未婚。因“发热、咳嗽、咳痰 20 d”于 2023 年 1 月 30 日就诊于本院。该患者 2023 年 1 月 7 日首次出现发热,于当地医院检测鼻咽拭子 SARS-CoV-2 核酸呈阳性,自行口服四季抗病毒

合剂、布洛芬后体温恢复正常(具体剂量不详),偶有咳嗽,无痰。2023 年 1 月 22 日患者再次出现发热,体温波动在 38.5~39.2℃,并感乏力、胸闷、气短、咳嗽伴黄色浓痰,就诊当地医院,鼻咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测结果仍为阳性,胸部 CT 提示双肺感染,诊断为 COVID-19。予以左氧氟沙星、地塞米松(具体剂量不详)治疗 5 d 无好转。为求进一步诊治于 2023 年 1 月 30 日以 COVID-19 转入本院。患者自诉发病以来精神欠佳、睡眠、饮食差,体重减少 3 kg。

既往史:平素身体健康,否认高血压、糖尿病、过敏史、遗传病史、传染病史,否认冶游史。接种 SARS-CoV-2 疫苗 3 针。

入院体格检查:体温 38.2℃,脉搏 80 次/分,呼吸 20 次/分,血压 115/72 mmHg,血氧饱和度(SpO_2) 90%(鼻导管吸氧);体重 53 kg,身高 176 cm;神志清楚,精神欠佳;皮肤、黏膜无异常;淋巴结无肿大;双肺叩诊音清,呼吸音粗,未闻及干湿性啰音;心脏、腹部查体无明显异常。

影像学检查:胸部 CT 示双肺近胸膜下可见片状磨玻璃密度影,边界不清晰,局部可见细网格状改变;右肺见斑片状高密度影,其内空洞形成,空洞内壁光滑,未见气液平面形成,周围可见卫星灶。见图 1。

实验室检查:白细胞计数 8.2×10^9 个/L;中性分叶核粒细胞计数 7.79×10^9 个/L,中性分叶核粒细胞比例 90.1%;淋巴细胞计数 0.59×10^9 个/L,淋巴细胞比例 6.8%;超敏 C 反应蛋白 30.41 mg/L;转铁蛋白 624 ng/mL;白细胞介素-6 64.02 pg/mL;SARS-CoV-2 核酸检测阳性;其余实验室检查均无明显异常。

* 基金项目:宁夏回族自治区重点研发计划科技支撑专项项目(2020BEG03050)。

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、国家自然科学基金项目、上海市公共卫生重点学科项目等纵向课题 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:谢丽丽,女,主管技师,主要从事临床微生物学检验方向研究。 [△] 通信作者, E-mail: wutao@nxmu.edu.cn。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20240619.0828.002.html\(2024-06-19\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20240619.0828.002.html(2024-06-19))

初步诊断: (1) COVID-19; (2) 肺结核?

鉴别诊断及依据: 2023 年 2 月 2 日, 痰液真菌培养过程中沙堡弱平板(SDA) 28℃ 培养 3 d 后可见红色水溶性色素的绒毛样丝状菌落生长(图 2A), 乳酸酚棉兰染色呈单轮或双轮帚状分枝(图 2B), 荧光染色见图 2F; SDA 35℃ 培养 5 d 后可见湿润、白色奶油样酵母菌落生长(图 2C), 革兰染色呈腊肠样、有隔酵母样形态(图 2D)。可见该病原菌具有温度依赖性, 实验室考虑为双相真菌, 同时在痰液抗酸及荧光染色中见到少量中间分隔的不典型腊肠样孢子(图 2E、G), 结合菌落及镜下形态均符合 TM 特征。2023 年 2 月 8 日, 微生物实验室报告示, TM 生长并进行体外药敏试验(ATB 肉汤稀释法)。药敏试验最低抑菌浓度(MIC): 5-氟胞嘧啶 ≤ 4 mg/L, 两性霉素 B ≤ 0.5 mg/L, 氟康唑 ≤ 1 mg/L, 伊曲康唑 ≤ 0.125 mg/L, 伏立康唑 ≤ 0.06 mg/L。血培养、隐球菌荚膜抗原、抗酸染色、T 细胞 γ -干扰素释放试验(IGRA) 试验均为阴性。TM 感染通常见于原发和继发性免疫缺陷、AIDS

及抗 γ -干扰素自身抗体导致的获得性成人免疫缺陷综合征, 为明确诊断建议临床筛查 HIV 感染及自身免疫系统相关试验。检测结果示: HIV Ag/Ab 初筛试验阳性; T 淋巴细胞免疫分型试验中 CD4⁺ T 淋巴细胞计数 92 个/ μ L, CD8⁺ T 淋巴细胞计数 328 个/ μ L, CD4⁺/CD8⁺ 为 0.28; 其余无明显异常。2023 年 2 月 14 日确诊报告示, HIV-1 抗体阳性, WB 带型: p24. gp41. p51. p66. gp120. gp160; 将已培养出的 TM 外送北京睿博兴科生物技术有限公司进行 16S rDNA 序列测序。通过扩增内部转录间隔区(ITS) 序列, 并与 NCBI 数据库对比, MH819727.1 和 KR902349.1 相似度为 100%。同时, 在患者住院期间动态监测曲霉半乳甘露聚糖试验(GM 试验)、1,3- β -D 葡聚糖试验(G 试验)结果见表 1, SARS-CoV-2 核酸 Ct 值见表 2。至此, 依据诊断标准^[2-5], 该患者诊断为: (1) HIV-1 感染 AIDS 期; (2) COVID-19(重型); (3) 马尔尼菲篮状菌病(TSM)。

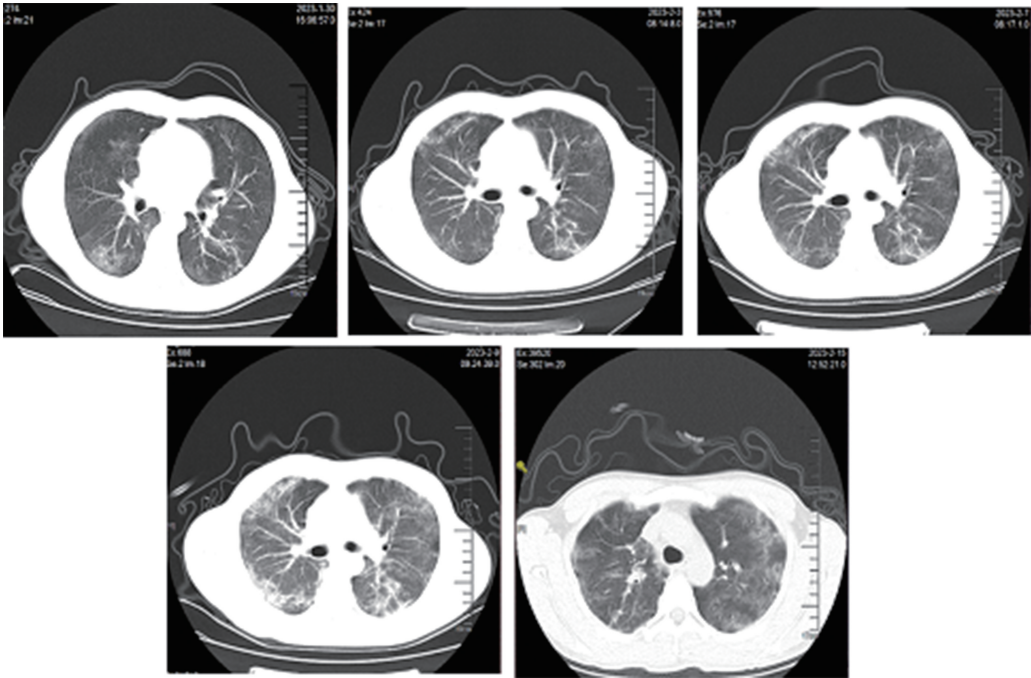
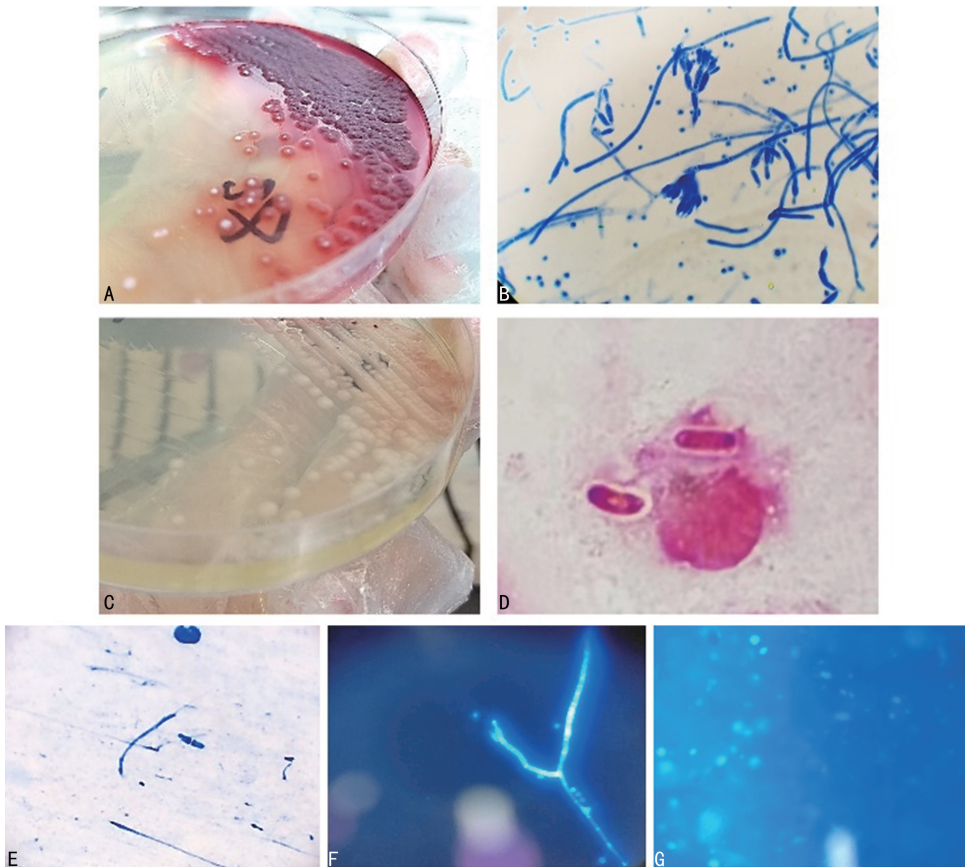


图 1 患者住院期间肺部影像学变化

临床治疗: 依据病情及药敏结果, 将用药方案最终调整为口服莫西沙星 400 mg(每日 1 次)、阿兹夫定 5.0 mg(每日 1 次)联合地塞米松, 持续予以经鼻高流量湿化氧疗进行呼吸支持(流速以 30 L/min 起始, 逐步上调至 40 L/min, 36%~45%), 并增加静脉滴注两性霉素 B 50 mg(每日 1 次)抗真菌治疗, 但该患者在输注后出现高热, 更换为静脉滴注伏立康唑 200 mg(每 12 h 1 次)。连续治疗 7 d, 其间多次送检痰培养及 SARS-CoV-2 核酸检测, 持续检出 TM 且核酸检测结果阳性(表 2), 同期 CT 检查提示肺部感染情况未见好转(图 1), 临床疗效不理想。治疗期间患者卧床,

精神状态差, 体重持续下降。2023 年 2 月 16 日应患者家属要求转至北京上级医院治疗, 药物调整为静滴盐酸莫西沙星、氟康唑、激素(剂量不详), 口服比克恩丙诺(必妥维)、复方磺胺(由 8 片逐渐减量至 2 片), 同时高流量吸氧。2 d 后患者肺水肿明显好转, 呼吸通畅, 可下床活动。2 月 18 日 CD4⁺ T 淋巴细胞计数为 120 个/ μ L, HIV-RNA 载量 3.41×10^5 IU/mL; 4 月 3 日复查 CD4⁺ T 淋巴细胞计数为 186 个/ μ L, HIV-RNA 载量 5.24×10^2 IU/mL。CT 提示肺部病灶已基本吸收, SARS-CoV-2 核酸检测结果阴性, 患者情绪、基本情况均有明显好转, 治疗有效。



注:A 为绒毛样丝状菌落;B 为乳酸酚棉兰染色(帚状分枝)×400;C 为酵母相;D 为痰涂片革兰染色(×1 000);E 为痰抗酸染色(×1 000);F 为丝状相荧光染色(×250);G 为痰荧光染色(×400)。

图 2 TM 菌落及镜下形态

表 1 住院期间血清 G 试验及 GM 试验动态监测结果

项目	2023-02-02	2023-02-07	2023-02-13	2023-02-23	2023-04-03	2023-05-22
G 试验(pg/mL)	89.4	112.3	337.0	345.3	134.6	76.5
GM 试验(S/CO)	1.213	2.598	—	2.358	1.839	—

注:—表示未检测。

表 2 住院期间 SARS-CoV-2 核酸 Ct 值变化

靶基因	2023-01-30	2023-02-03	2023-02-06	2023-02-08	2023-02-09	2023-02-11	2023-02-12	2023-02-15
ORF	27.32	30.69	35.49	34.25	39.32	28.64	30.10	29.89
N	26.98	30.22	34.58	33.00	39.51	27.32	29.30	29.11

注:ORF 基因反映病毒的数量和活跃度;N 基因反映样本中是否存在病毒。

2 案例分析与讨论

截至 2023 年 12 月 31 日,全球 COVID-19 病例达 7.7 亿,死亡人数达 700 万^[6]。SARS-CoV-2 引发的感染主要侵犯人类免疫系统,表现为淋巴细胞减少、过度炎症反应和细胞因子风暴,严重者可导致急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难以纠正的代谢性酸中毒、出凝血功能障碍及多器官功能衰竭等,同时大量的炎症细胞因子反应致使 T 细胞耗竭,导致淋巴细胞进行性减少,其中 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、B 细胞和 NK 细胞明显减少,严重影响预后^[5]。

据世界卫生组织(WHO)最新统计,全球 HIV 感染者/AIDS 存活患者约 3 800 万,2019 年死亡病例为

69 万。HIV 潜伏期较长不易早期诊断,主要侵犯人体的免疫系统,攻击最主要的靶细胞是 CD4⁺ T 淋巴细胞,导致其被大量吞噬、破坏并且出现数量减少及功能异常,最终导致人体细胞免疫功能缺陷,引起一系列机会性感染和肿瘤的发生。

HIV 及 SARS-CoV-2 的传染性、破坏力极强,都侵犯淋巴系统,并导致一系列严重的免疫缺陷综合征;不同的是,COVID-19 早期出现 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞比例同时降低,不出现 CD4⁺/CD8⁺ 倒置,感染约 4 周症状好转后 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞同时上升,CD4⁺/CD8⁺ 亦呈上升趋势^[7],而 HIV 感染机体后,体内 CD4⁺ T 淋巴细胞数量持续减低,从而引起

CD4⁺/CD8⁺ 倒置^[8]; SARS-CoV-2 的变异性极强, 而 HIV 分型较为稳定。当 HIV 和 SARS-CoV-2 同时感染人体时引发的临床特征、免疫反应及致病机制值得深入探讨和研究。TM 是 AIDS 常见的机会性致病菌, 常引发深部感染, 主要侵犯单核-巨噬细胞系统, 空气-呼吸道传播为其主要传播途径。在血清学检测中常因与曲霉的同源性而发生交叉反应。有研究表明, HIV 患者因细胞免疫应答受损极易继发感染侵袭性真菌病(IFD); 有研究显示, HIV 感染且 CD4⁺ T 细胞计数 < 200 个/μL 的患者, COVID-19 住院风险和病死率显著增高^[8-9]; CHEN 等^[10] 研究显示, SARS-CoV-2 感染会引发机体免疫力下降及对肺组织不同程度的损伤, 致使机会性真菌(例如曲霉菌、TM、肺孢子菌、隐球菌及毛霉菌等)感染发病率明显增加。然而, HIV 感染合并 COVID-19 及 TSM 的报道在我国也并不多见。关于其易感性和致病机制的探讨, 查阅的文献中也存在很大争议, 可能是 HIV 和 SARS-CoV-2 都使患者处于免疫功能低下状态, 增加了机会性致病菌感染的概率, 同时也缩短了 AIDS 的潜伏期。本例青年男性患者, AIDS 病程进展迅速, SARS-CoV-2 迁延不愈, 并同时感染呼吸道 TM, 病情复杂危重且无典型临床症状, 此时实验室检查尤为重要。真菌血清学检查中真菌 G 试验结果呈缓慢上升趋势, 真菌 GM 试验结果在早期已明显升高, 故联合 G 试验、GM 试验可缩小鉴别诊断真菌感染的菌种范围。由此可见, G 试验联合 GM 试验对于 IFD 早期的临床诊断是有较高的临床价值, 但鉴别诊断及确诊还需要涂片、培养甚至分子生物学如 PCR、宏基因组测序(mNGS)等病原检测结果, 以及临床特征的支持。

值得关注的是, 对于严重免疫缺陷患者肺曲霉病(IPA)的诊断中, GM 检测标本类型选择时血清优于肺泡灌洗液(BALF), 对于非严重免疫缺陷患者, BALF 则优于血清^[11]。然而, 对于 HIV 合并 SARS-CoV-2 感染的严重免疫缺陷患者, BALF GM 试验和血清 GM 试验对肺部 TM 感染的诊断价值仍需要进一步探索。

在治疗方面, 有研究表明, 针对 SARS-CoV-2 合并 HIV-1 感染者进行有效抗逆转录病毒疗法(cART)治疗可改善其预后, 未进行 cART 治疗的 HIV-1 感染患者, 尽管 CD4⁺ 细胞计数已极低, 但少有发展为重症且预后较好^[12], 可能的机制是 cART 药物(如洛匹那韦/利托那韦)在患者体内发挥双重作用, 同时抑制 SARS-CoV-2 和 HIV 两种病毒的复制, 可使患者的免疫功能有所改善, 从而达到治疗目的。本病例中该患者初次确诊 HIV-1 感染的历程较为曲折, 且未进行 cART 治疗, 在同时合并 SARS-CoV-2 及 TM 感染的情况下, 临床采用了分级联合治疗的方案: (1)口服比克恩丙诺抗 HIV-1 治疗; (2)首选两性霉素 B, 因患者不能耐受更改为伏立康唑 200 mg (每 12 h 1 次), 疗程后期使用氟康唑维持治疗。除临床表现和影像学检查外, 抗真菌药物(下转第 2066 页)

类免疫系统受损或缺陷的患者, 应考虑耶氏肺孢子菌、结核分枝杆菌、非结核分枝杆菌等机会致病菌的合并感染, 并结合临床使用复方磺胺甲噁唑预防治疗; (4)联合激素、抗菌药物治疗, 并未对 SARS-CoV-2 进行特殊处理, 但治疗总体效果明显, 其中药物交叉作用的机制仍需进一步研究。

基于本病例的诊疗过程, 总结 HIV、SARS-CoV-2 等引起的免疫功能严重受损合并真菌感染的治疗经验: (1)在进行有效 cART 的前提下, 明确菌种时推荐抗真菌药物敏感试验, 参照《桑德福抗微生物治疗指南(第 50 版)》进行目标治疗; (2)不能明确菌种的尽量选择广谱的抗真菌药物并对其他易感病原菌预防治疗。需要注意的是, 在整个治疗过程中对患者的肝、肾功能应密切监测。

综上所述, HIV、SARS-CoV-2 感染导致的严重免疫功能缺陷可能是引发 IFD 的高危因素。然而, 对于 HIV 合并 SARS-CoV-2 感染引发 IFD 的诊断和治疗仍然缺乏经验, 此类患者通常除发热、肺部感染等 COVID-19 症状外无其他典型症状, 故临床对 SARS-CoV-2 感染迁延不愈患者应警惕其免疫功能是否有缺陷, 同时也要警惕真菌及其他机会致病菌感染的可能性, 在早期鉴别诊断中可通过联合真菌荧光染色、墨汁染色、六胺银染色等真菌涂片检查、真菌培养及真菌血清学检测, 如 G 试验、GM 试验、GM 相关抗体、隐球菌荚膜多糖抗原检测, 必要时可通过分子生物学手段, 如 PCR、16S rDNA、mNGS 等, 实现 IFD 的快速、合理、个体化诊治, 以提高临床治愈率。

【案例点评】

该病例介绍了一名青年男性在 SARS-CoV-2 感染后期, 以社区呼吸道感染起病, 经 SARS-CoV-2 核酸检测为阳性, 其肺部影像学表现为斑片状高密度影, 其内空洞形成, 空洞内壁光滑, 未见气液平面形成, 周围可见卫星灶, 疑似合并结核或真菌感染。在鉴别诊断过程中, 发现 HIV Ag/Ab 初筛和确诊实验阳性, 并经痰真菌培养分离出 TM, 最终确诊为 HIV、SARS-CoV-2 合并 TM 机会感染。

TM 是 HIV 感染者最重要的机会致病菌之一, 在东南亚和我国广西地区也是非 HIV 感染者的地方性真菌病, 西北地区少见。该病例初诊时疑似结核病, 通过规范完善的痰涂片、培养和血清学检查等微生物学检验, 以及 CD T 细胞计数评估宿主免疫功能和 SARS-CoV-2 核酸、HIV-RNA 载量、纯培养菌落 16S rDNA 测序鉴定等分子生物学技术, 实现了免疫功能受损患者复杂感染的早期病原学诊断, 为后续治疗方案制订提供了客观依据。

该病例病程长达近 4 个月, 在治疗过程中初始为两性霉素 B, 因患者不能耐受更改为伏立康唑 200 mg (每 12 h 1 次), 疗程后期使用氟康唑维持治疗。除临床表现和影像学检查外, 抗真菌药物(下转第 2066 页)

中西医结合治疗 CMV 感染伴继发性冷凝集素综合征

贺鑫¹, 李桐¹, 庞树朝²

天津中医药大学第一附属医院/国家中医针灸临床医学研究中心; 1. 检验科; 2. 急症科, 天津 300380

关键词: 冷凝集素; 巨细胞病毒; 溶血性贫血; 急性肝炎; 中西医结合

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.003

中图法分类号: R446.5; R575.1

文章编号: 1673-4130(2024)17-2062-05

文献标志码: B



点评专家 曲林琳



第一作者 贺鑫

冷凝集素病是冷抗体型自身免疫性溶血性贫血(cAIHA)的重要类型之一,临床表现为冷凝集素介导的溶血性贫血及周围循环症状,包括原发性冷凝集素病(CAD)和继发性冷凝集素综合征(CAS)^[1]。CAS发生的首要因素是患者体内存在冷凝集素,冷凝集素由B淋巴细胞产生,多为IgM型,极少数为IgG型,在CAS中通常为多克隆型^[2]。CAS临床上较为少见或不引起注意,常继发于恶性肿瘤、自身免疫性疾病及各种感染等,临床表现较CAD轻微,可分为一过性或持续性,常随原发病的好转而改善^[3]。感染后,病原体激发机体适应性免疫系统,从而引起T细胞和B细胞的活化,直接杀伤被感染细胞的同时分泌多种细胞因子从而完成体液免疫,进而导致CAS^[4]。由于CAS会引起溶血性贫血,如果不注意鉴别会与原发性感染性疾病引起的贫血相混淆,进而误导后期治疗。本研究报道了1例中西医结合治疗巨细胞病毒(CMV)感染引起的急性肝炎伴一过性CAS的临床案例,现报道如下。

1 案例经过

1.1 临床资料 患者,男,62岁,主诉发热,伴腹痛、呕吐1d。入院症状:寒战,伴腹痛、呕吐,呕吐物为胃内容物,无鲜血及咖啡色物,伴头痛、腰痛、下肢酸痛,时测体温37.6℃。入院查体:西医方面表现为全身皮肤有黄染及出血点,腹软有压痛;中医方面表现为

面色萎黄,腹痛伴头痛、腰痛、下肢酸痛,稍喘息,大便泄泻。辅助检查:(1)胃肠道彩色多普勒超声示结肠内稀软便,胃内可见残留食物及液体,胃蠕动不佳。(2)心电图检查示窦性心动过速,ST-T心肌缺血性改变。(3)实验室检查。血气分析酸碱度7.47,二氧化碳分压23.40 mmHg,氧分压61.00 mmHg;血淀粉酶59.9 U/L;凝血四项中,凝血酶时间(TT)23.7 s,纤维蛋白原(FIB)1.54 g/L;D-二聚体>80.00 mg/L。既往史、过敏史、家族史:既往“陈旧性脑梗死”10年,未遗留后遗症,未服药。过敏史和家族史无特殊。考虑“感染性发热”,予依替米星、喜炎平、氢化可的松治疗。治疗后,患者症状较前好转,大便溏稀。

1.2 冷凝集现象判断^[5] (1)标本外观:轻摇试管,管壁上有肉眼可见的细沙样颗粒。(2)血常规结果:血红蛋白(Hb)与红细胞计数(RBC)比值增高(Hb/RBC>30:1),平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)增高(MCHC>380 g/L)。(3)血片外观:显微镜下可见红细胞凝集成不规则的片状或团块状。(4)仪器报警提示“红细胞凝集?(RBC Agglutination?)”“乳糜/Hb异常?(Turbidity/Hb Interf?)”。

1.3 病程 本例患者于2月28日下午因发热伴腹痛呕吐入院,血常规结果无明显异常,白细胞略高;生化检验结果乳酸脱氢酶(LDH)升高至665.4 U/L,胆红素升高[总胆红素(TBIL)为68.34 μmol/L,间接胆红素(IBIL)为50.97 μmol/L],尿胆原+++ ,尿蛋白+++ ,提示发生溶血现象。完善检查后初步诊断脓毒血症待查,凝血功能异常,代谢紊乱。转入重症监护病房(ICU)进一步诊治。

2月29日上午,患者症状好转体温正常,但检验结果提示感染进一步加重:铁蛋白>1 830.72 ng/mL,白细胞计数(WBC)25.51×10⁹/L(中性粒细

点评专家简介:曲林琳,医学博士,主任医师,副教授,硕士生导师,吉林大学第一医院检验科副主任,实验诊断学教研室副主任,留学生实验诊断学教学组长;主要研究方向为临床检验诊断及胃肠道肿瘤的分子诊断;近5年主持国家及省部级科研项目7项,发表SCI论文10篇,教学论文4篇;负责及参与制定行业标准、地方标准、共识及指南,主编及参编教材、论著多部。

作者简介:贺鑫,男,主管技师,主要从事外泌体及免疫特性方向研究。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240805.1102.002.html\(2024-08-05\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240805.1102.002.html(2024-08-05))