

艾滋病合并马尔尼菲青霉病 16 例临床回顾分析

于艳华,陈铭,丁秀荣,赵艳,娄金丽

(首都医科大学附属北京佑安医院临床检验中心,北京 100069)

摘要:目的 分析该院确诊的艾滋病(AIDS)合并马尔尼菲青霉病(PSM)患者临床资料,提高对该病的认识。**方法** 回顾性分析 16 例 AIDS 合并 PSM 住院患者临床资料。**结果** 患者常见的临床表现包括:发热,咳嗽,咳痰,腹痛伴腹泻,肝脾肿大,腹水,淋巴结肿大,皮肤损害主要表现为颜面及躯干散在丘疹;CD4⁺ T 淋巴细胞计数 2~32 mm⁻³;13 例患者中 5 例患者 1,3-β-D 葡聚糖检测(G 实验)与半乳甘露聚糖抗原检测(GM 实验)均为阳性,7 例上述检查中有一项为阳性,1 例上述检查均为阴性;16 例患者均行抗真菌治疗,其中 4 例患者同时给予联合抗逆转录病毒(cART)治疗。2 例患者因其它机会性感染死亡,其余 14 例好转出院。**结论** PSM 是 AIDS 常见的机会性感染,G 实验与 GM 实验可能有助于 PSM 的早期诊断。

关键词:马尔尼菲青霉病;艾滋病;1,3-β-D 葡聚糖检测;半乳甘露聚糖抗原检测

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.04.021

A retrospective analysis of the clinical characteristics of AIDS patients with penicilliosis marneffeii

YU Yanhua, CHEN Ming, DING Xiurong, ZHAO Yan, LOU Jinli

(Clinical Laboratory Center, Beijing You'an Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Objective To analyze the clinical characteristics of AIDS patients diagnosed with penicilliosis marneffeii (PSM) in our hospital to improve the recognition of the disease. **Methods** We performed a retrospective analysis of the medical records of 16 AIDS patients diagnosed with PSM in Beijing You'an Hospital between January 2011 and May 2016. **Results** Common clinical manifestations included fever, cough, sputum, abdominal pain with diarrhea, liver splenomegaly, ascites, lymphadenopathy, skin lesions with rashes mainly distributed on the face and over the trunk, extremely low CD4⁺ T cell count (2-32 mm⁻³), and high viral load. Of all 16 cases studied, 5 cases were positive for both G and GM tests and 7 cases were positive for either G or GM test. All 16 AIDS patients received antifungal therapy. However, only 4 patients also received combination antiretroviral therapy (cART) together with antifungal therapy. Fourteen patients were responsive to the treatments as their clinical symptoms were improved, and 2 patients died of opportunistic infections with other pathogens. **Conclusions** PSM is one of the most common opportunistic infections in AIDS patients in China, and G and GM tests may be useful for PSM early diagnosis.

Keywords: penicilliosis marneffeii; AIDS; G assay; GM assay

通信作者:娄金丽,女,研究员,硕士生导师,研究方向:肝病的基础研究及临床检验诊断,E-mail:13718641405@163.com

- [11] AZIZI G, KELLER J, LEWIS M, et al. Performance of elastography for the evaluation of thyroid nodules: a prospective study [J]. *Thyroid*, 2013, 23(6): 734-740.
- [12] MOREAU B, VERGARI C, GAD H, et al. Non-invasive assessment of human multifidus muscle stiffness using ultrasound shear wave elastography: A feasibility study [J]. *Proc Inst Mech Eng H*, 2016, 230(8): 809-814.
- [13] HOSKINS P, KENWRIGHT D. Recent developments in vascular ultrasound technology [J]. *Ultrasound*, 2015, 23(3): 158-165.
- [14] MAGRI F, CHYTIRIS S, CHIOVATO L. The role of elastography in thyroid ultrasonography [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2016, 23(5): 416-422.

- [15] WILDEBOER RR, PANFILOVA AP, MISCHI M, et al. Imaging modalities in focal therapy: multiparametric ultrasound [J]. *Arch Esp Urol*, 2016, 69(6): 281-290.
- [16] PENG B, WANG Y, YANG W, et al. Relative elastic modulus imaging using sector ultrasound data for abdominal applications: an evaluation of strategies and feasibility [J]. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2016, 63(9): 1432-1440.
- [17] HA EJ, BAEK JH, LEE JH, et al. A focal marked hypoechogenicity within an isoechoic thyroid nodule: is it a focal malignancy or not [J]. *Acta Radiol*, 2015, 56(7): 814-819.

(收稿日期:2017-05-09,修回日期:2017-06-09)

马尔尼菲青霉(PM)是青霉菌属中唯一的双相真菌,一种可寄生于细胞内的条件致病菌^[1]。由其引起的马尔尼菲青霉病(PSM)是一种常见的与人类免疫缺陷病毒(HIV)相关的机会性感染性疾病之一,在东南亚、泰国及中国南方的艾滋病(AIDS)患者中,该病的发病率较高^[2-3]。因其无特异的临床表现,尤其在 AIDS 患者中,不易与其他机会性感染相鉴别,误诊率高。现将首都医科大学附属北京佑安医院收治的 16 例 AIDS 合并 PSM 患者的病历资料分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 1 月—2016 年 5 月首都医科大学附属北京佑安医院收治的 16 例住院 AIDS 患者经培养证实为 PSM,其中血培养阳性 9 例,骨髓培养阳性 3 例,痰培养及皮损分泌物培养阳性各 2 例。均为男性,年龄 21 ~ 53 岁,平均(35.1 ± 3.54)岁。

1.2 诊断标准 AIDS 诊断:依据中华医学会儿科学分会艾滋病学组发布的 2011 版《艾滋病诊疗指南》^[3]。PM 诊断:以血液、骨髓液、痰液、皮损标本培养发现 PM 为金标准。取患者血液、骨髓液、痰液、皮损标本接种于血培养瓶(需氧瓶或真菌培养瓶)置于血培养仪(Bect/ALERT 3D)中培养,仪器阳性报警后转种哥伦比亚血平板和 2 份沙堡弱培养基(OXOID)上,并将 2 份沙堡弱培养基分别置 25 °C 和 37 °C 孵育,连续观察 2 ~ 7 d。

PM 在 25 °C 条件下为青霉相,菌落生长较快,约 72 h 后产生玫瑰红色素,镜下可见无色透明分隔菌丝、帚状枝、椭圆或球形的分生孢子等;在 37 °C 条件下 PM 为酵母相,菌落生长缓慢,不产色素,镜下可见酵母样菌体和关节孢子。

1.3 T 淋巴细胞亚群检测 采用 Beckman Coulter 公司的 CytomicsFC 500 流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群 CD3、CD4、CD8、CD45。

1.4 1,3-β-D 葡聚糖检测(G 实验) 专用无热原真空采血管抽取静脉血 4 mL 轻轻混匀,转速 3 000 r · min⁻¹离心 10 min。取上层血清 100 μL,加入样品处理液中摇匀,插入恒温仪中 70 °C 干热 10 min。冷却至室温后取出。取中上层 100 μL 加入到无热原平底试管中,主剂溶解液 0.6 mL 溶解反应主剂,混匀,然后再加入 0.1 mL 反应主剂溶液到无热原平底试管中(溶解后的主剂 30 min 内使用),混匀后,插入 MB-80 微生物快速动态检测系统自动计算结果并保存。

检测值 < 60 ng · L⁻¹ 为阴性;检测值介于 60 ~

100 ng · L⁻¹ 之间为临床观察期,建议动态采血复检;检测值 > 100 ng · L⁻¹ 为阳性,结合临床症状综合诊断。

1.5 半乳甘露聚糖抗原检测(GM 实验) 取 300 μL 待测血清与 100 μL 样本处理液加入离心管中混匀,100 °C 加热 3 min 后离心 10 min(4 °C, 10 000 g)。取上清液 50 μL 备用。酶标板洗涤 3 次后。加入上清液 50 μL,半乳甘露聚糖抗体 50 μL,37 °C 下孵育 60 min,洗涤酶标板 3 次。加入酶标抗体 100 μL。37 °C 下孵育 40 min。洗涤 3 次,洗涤结束后,每孔加入底物溶液 100 μL,在 37 °C 下孵育 20 min,避光。每孔加入 50 μL 终止液,混匀后,在 OD450 nm 处读数。

检测值 ≥ 0.95 μg · L⁻¹ 为阳性;检测值介于 0.75 ~ < 0.95 μg · L⁻¹ 之间,应结合临床和影像学综合评价,建议连续检测观察。检测值 < 0.75 μg · L⁻¹ 为阴性。

2 结果

2.1 临床表现 胸部症状体征:16 例患者中,有 14 例患者发热伴有咳嗽、咳痰,体温在 38 ~ 41 °C 之间,肺部听诊双肺呼吸音增粗,未闻及干湿啰音;腹部症状体征:4 例患者腹痛伴腹泻,均为黄色稀水样便,2 例患者存在肝脾肿大,3 例患者有腹水;淋巴结:7 例患者有淋巴结肿大,以颈部及颌下多见;皮肤损害:10 例患者存在皮肤损害,主要表现为颜面及躯干散在丘疹,中心可见凹陷,1 例患者咽喉壁可见片状白斑。见表 1。

2.2 实验室检查结果 血常规:16 例患者中 10 例白细胞计数低于 4.0 × 10⁹ L⁻¹,所有患者淋巴细胞计数均低于 1.0 × 10⁹ L⁻¹,9 例血小板低于 100 × 10⁹ L⁻¹;7 例血红蛋白低于 9 g · L⁻¹,3 例患者血红蛋白低于 6 g · L⁻¹。见表 2。

血生化:9 例患者中 8 例患者丙氨酸氨基转移酶高于正常(最高 181.6 U · L⁻¹);6 例患者天冬氨酸氨基转移酶升高(最高 365.8 U · L⁻¹);4 例患者谷氨酰转氨酶升高(最高 579.4 U · L⁻¹)。见表 2。

外周血 T 淋巴细胞亚群检测:CD4⁺ T 淋巴细胞 2 ~ 32 mm⁻³,CD8⁺ T 淋巴细胞 35 ~ 233 mm⁻³,CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比率为(0.03 ~ 0.18):1。见表 2。

2.3 G 实验与 GM 实验结果 16 例患者中 13 例行 G 实验与 GM 实验,结果表明 13 例患者中 5 例患者 G 实验与 GM 实验均为阳性,7 例上述检查中有一项为阳性,1 例上述检查均为阴性。见表 1。

2.4 影像学检查结果 16例患者中胸部CT扫描9例异常,主要异常表现:双肺纹理增粗,纵膈及肺门淋巴结肿大,磨砂玻璃样改变,胸腔积液。见表2。

2.5 治疗与转归 16例患者均行抗真菌治疗,采

用两性霉素B及伊曲康唑序贯治疗,其中4例患者同时给予抗逆转录病毒(cART)治疗,cART的组成拉米夫定联合替诺福韦、依非韦仑^[5]。

16例患者中2例患者死亡,其余14例好转出院。见表2。

表1 16例AIDS患者并发PSM的临床特征及G和GM实验

编号	性别	年龄/岁	咳嗽	发热	腹痛	腹泻	肝脾肿大	腹水	淋巴结肿大	皮肤损害	血常规异常	生化异常	影像学异常	G实验	GM实验
1	男	21	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	男	37	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
3	男	53	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+
4	男	21	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	未查	未查
5	男	41	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
6	男	33	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	未查	未查
7	男	36	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
8	男	39	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
9	男	34	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	未查	未查
10	男	21	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
11	男	38	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
12	男	22	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
13	男	25	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
14	男	33	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
15	男	37	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-
16	男	26	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-

注: +代表症状存在, -代表无症状。

表2 16例AIDS患者并发PSM的临床特征

编号	WBC/ $\times 10^9 L^{-1}$	RBC/ $\times 10^{12} L^{-1}$	Hb/ $g \cdot L^{-1}$	PLT/ $\times 10^9 L^{-1}$	ALT/ $U \cdot L^{-1}$	AST/ $U \cdot L^{-1}$	GGT/ $U \cdot L^{-1}$	CD4 ⁺ / mm^{-3}	CD8 ⁺ / mm^{-3}	CD4 ⁺ / $CD8^+$	CT主要异常	转归
1	7.78	3.52	90	88	70.5	87.7	183.1	4	142	0.03	双肺纹理增粗	好转
2	4.84	2.77	84	94	67	187.8	374.9	32	218	0.15	纵膈肿大淋巴结;胸腔积液	好转
3	3.36	3.93	111	159	13.8	30.3	36.1	10	211	0.05	无异常	好转
4	2.33	3.79	109	23	181.6	898.9	52.1	12	233	0.05	双肺纹理增粗	死亡
5	0.93	2.26	58	58	63.6	131.5	579.5	15	197	0.08	双肺纹理增粗	好转
6	0.25	1.54	42	68	100.1	60.4	46.3	18	127	0.14	无异常	好转
7	2.92	1.86	72	22	72.1	365.8	92.5	2	35	0.06	胸腔积液	好转
8	3.97	2.58	78	260	25.6	34.9	189.1	16	87	0.18	无异常	好转
9	1.42	3.7	94	174	99.2	100	270	8	149	0.05	肺纹理增粗纵膈淋巴结肿大	好转
10	4.69	3.57	98	153	85.5	94.1	48.5	10	144	0.07	无异常	好转
11	4.5	2.95	85	100	36.8	48.6	81	22	223	0.10	肺纹理增粗胸腔积液	好转
12	3.69	3.35	90	51	58.1	144.8	147.9	30	208	0.14	纹理增粗肺胸腔积液	好转
13	8.75	3.43	114	296	145.6	174.4	5.9	25	202	0.12	无异常	好转
14	1.95	3.43	92	85	42.6	90.9	37.7	4.15	49	0.08	磨砂玻璃改变	好转
15	3.58	1.36	46	58	16.6	75.6	47.2	4	154	0.03	无异常	好转
16	4.67	3.3	94	135	72	68.4	176.5	6	164	0.04	无异常	死亡

注:WBC:白细胞数;RBC:红细胞数;Hb:血红蛋白量;PLT:血小板数;ALT:丙氨酸氨基转移酶;AST:天冬氨酸氨基转移酶;GGT:谷氨酰转肽酶;CD4⁺:CD4⁺T淋巴细胞;CD8⁺:CD8⁺T淋巴细胞;CD4⁺/CD8⁺:CD4⁺与CD8⁺T淋巴细胞比值。

3 讨论

PSM 主要分布在东南亚、印度以及中国南部的部分省份,但是在其他地区也不断有散发病例出现。甚至有非流行区 1 例患者 11 年前曾去过流行区的香港而发病的报道^[6]。因此,随着现代交通工具的发展和人口流动的加速,国内外任何地方都有发现 PSM 患者的可能。

人类感染 PM 的途径尚未完全明确,一般认为暴露于雨季疫源地的土壤,吸入 PM 的分生孢子可能是最主要的传播途径。PM 进入身体后可激活 CD4⁺T 淋巴细胞和巨噬细胞,对于 AIDS 患者由于 CD4⁺T 淋巴细胞不足或减少,引起细胞免疫缺陷^[7]。巨噬细胞无法杀死 PM,相反,成为他们的繁殖地,引发全身传播最终导致 PSM。我们分析了所有患者 CD4⁺T 细胞数量和 CD8⁺T 淋巴细胞数量,结果显示 CD4⁺T 淋巴细胞计数均低于 50 mm⁻³, CD4⁺T 淋巴细胞/CD8⁺T 淋巴细胞比值倒置,这表明 AIDS 患者的免疫功能缺陷,是其易发 PM 感染的重要原因。AIDS 合并 PSM 患者,CD4⁺T 细胞计数是评判患者免疫情况的指标,病毒载量并不是必须指标,因此本研究只有 CD4⁺T 细胞计数。

AIDS 合并 PSM 患者病情发展快,病死率高,但若能及早诊断并应用有效抗真菌药物,通常可收到较好的疗效^[8]。PSM 的实验室诊断方法^[9]包括细胞学和组织病理检查、真菌培养、血清特异性 PM 抗原或抗体检测等。其中 PM 培养阳性无疑是诊断 PSM 的金标准。但是 PM 培养生长缓慢,培养周期较长,很难早期诊断。ELISA 方法可用于检测马尔尼菲青霉抗原,较传统的培养方法可能更为快速、简便,但灵敏度和特异性不高,适用于临床大量标本的检测,可在基层医院推广使用。分子检测方法如聚合酶链式反应(PCR)、基因芯片等又由于试剂批号、人员资质等原因尚不能在临床上推广使用。在我们的研究中应用 G 实验和 GM 实验检测 PM,结果表明,两种方法联合检测与最终培养结果一致性达到(92.3%),提示我们对疑似 PSM 的患者早期应用 G 实验和 GM 实验进行 PM 诊断,将来可能成为一种较好的选择。

迄今对于 PSM 的治疗方案还未达成一致意见。美国 CDC 推荐的 HIV 阳性的患者起始治疗是两性

霉素 B(0.6 mg · kg⁻¹),2 周后改为口服伊曲康唑 400 mg · d⁻¹继续治疗 10 周^[10],本组病例均采用该方法进行治疗。除 2 例由于伴有其他机会感染死亡外,其余均好转出院,证实该治疗方法有较好的临床效果。对于 CD4⁺T 细胞数量低于 50 mm⁻³抗真菌治疗 2 周应尽快启动抗病毒治疗。本研究中患者 2 例短期内死亡,其余患者根据条件 4 例联合了 cART 抗逆转录病毒治疗。

总之,随着 AIDS 在我国发生率的提高,PSM 也将迅速增多,提高医务工作者,特别是中国北方地区的医务工作者,对本病的认识水平已经刻不容缓。

参考文献

- [1] 唐旭华,庄娘桥,周晖,等. 马尔尼菲青霉病 12 例临床回顾性分析[J]. 中国真菌学杂志,2013,8(6):348-351.
- [2] ZHOU F, BI X, ZOU X, et al. Retrospective analysis of 15 cases of penicilliosis marneffei in a southern China hospital[J]. Mycopathologia,2014,177(5/6):271-279.
- [3] 李静虹. 艾滋病合并马尔尼菲青霉病 26 例临床分析[J]. 南昌大学学报(医学版),2013,53(6):70-71,106.
- [4] 王爱霞,王福祥,毛青,等. 艾滋病诊疗指南[C]//中华医学会第五次全国艾滋病、病毒性丙型肝炎暨全国热带病学术会议,武汉,2011.
- [5] 王蕾. 中国 517 例 HIV/AIDS 患者 48 周 cART 病毒和免疫学疗效及其影响因素分析[D]. 北京:北京协和医学院中国医学科学院清华大学医学部,2012.
- [6] HU Y, ZHANG J, LI X, et al. Penicillium marneffei infection: an emerging disease in mainland China[J]. Mycopathologia,2013,175(1/2):57-67.
- [7] LE T, WOLBERS M, CHI NH, et al. Epidemiology, seasonality, and predictors of outcome of AIDS-associated Penicillium marneffei infection in Ho Chi Minh City, Viet Nam[J]. Clin Infect Dis, 2011,52(7):945-952.
- [8] 莫荣容,周明钊,何业球,等. 艾滋病并发马尔尼菲青霉病 215 例诊断分析[J]. 中国医药科学,2013,3(11):192-193,195.
- [9] 韦善求,苏国生,兰江,等. 免疫缺陷综合征合并马尔尼菲青霉病的实验室诊断研究[J]. 检验医学,2014,29(4):339-341.
- [10] NOR-HAYATI S, SAHLAWATI M, SURESH-KUMAR C, et al. A retrospective review on successful management of Penicillium marneffei infections in patients with advanced HIV in Hospital Sungai Buloh[J]. Med J Malaysia,2012,67(1):66-70.

(收稿日期:2017-07-21,修回日期:2017-09-21)