

· 论 著 ·

艾滋病伴播散型马尔尼菲青霉菌感染检测分析

吕小林, 谢福源, 万腊根

摘要:目的 评价艾滋病(AIDS)患者合并播散型马尔尼菲青霉菌感染的早期诊断方法。方法 运用淋巴结穿刺、骨髓涂片及骨髓病理三种检测方法观察马尔尼菲青霉菌在细胞内外的形态特点,抽取患者血液、骨髓进行真菌培养,分别观察 25℃和 37℃条件下马尔尼菲青霉菌在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上生长情况及菌落形态,并作乳酸酚棉兰染色于显微镜下观察菌体形态特征。结果 细胞学结果:在部分单核巨噬细胞或其它组织细胞胞浆内外可见少量呈团分布,大小不一,呈圆型、椭圆型、腊肠形,有 1-3 个紫红色小核,胞浆较丰富,呈淡兰色病原体。培养特点及显微镜下形态特征:马尔尼菲青霉菌在 25℃条件下为青霉相,菌落生长较快,产生玫瑰红色素,镜下可见无色透明分隔菌丝、帚状枝、单链分生孢子等。37℃条件下为酵母相,菌落生长非常缓慢,呈酵母样型,湿润不产色素,显微镜下特征为圆形、椭圆形或长形酵母样菌体,可见关节孢子。结论 细胞形态学检测有助于播散型马尔尼菲青霉菌感染的早期诊断。

关键词: 艾滋病; 马尔尼菲青霉菌; 感染

中图分类号: R512.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-9727(2012)8-925-03

Laboratory detection of *Penicillium mameffei* disseminated Infection in AIDS patients. LV Xiao-lin, XIE Fu-yuan, WAN La-gen. (The Clinical Laboratory of the First affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi P. R. China)

Abstract: Objective To evaluate the diagnosis method of *Penicillium mameffei* Disseminated Infection with AIDS in the early stage. Methods Lymph-node aspirate, bone marrow smear and pathologic examination were used to observe the morphology of *Penicillium Mameffei* intracellular as well as extra cellular *Penicillium mameffei*s from peripheral blood and bone marrow of patients were cultured on potato dextrose agar at 25℃ and 37℃ respectively, observing their growth and colonial morphology and analyzing their morphology characteristics under light microscopy by using lacto-phenol cotton-blue staining. Results Cytological feature: a small amount of pathogens were disseminated in some mononuclear phagocyte and other histocyte or extracellular, which were round, oval and botuliform, not of uniform size with 1-3 small amaranth nuclei, abundant light blue cytoplasm. Cultural characteristics and microscopic morphology: Cultured at 25℃ *Penicillium mameffei* looked mould-like which grew rapidly with rosy pigment and showed transparent septate hyphae, penicillus as well as conidiophores under light microscopy; cultured at 37℃ *Penicillium mameffei* looked yeast-like which grew very slowly, moistly with no pigment and showed round, oval and elongated yeast-like cells or visible arthrospore under light microscopy. Conclusion cytomorphology play a key role in early diagnosis of *Penicillium mameffei* Disseminated Infection.

Key word: AIDS; *Penicillium mameffei*; Infection

近年来随着广谱抗生素、免疫抑制剂的广泛使用,器官移植、导管技术及放化疗等治疗手段的推广,特别是 HIV 感染患者的增加,真菌感染率正逐年增加。马尔尼菲青霉菌(*Penicillium mameffei* PM)是青霉菌属中唯一的温度双向型真菌,是极少数能引起人类疾病的青霉菌之一,其具有侵入机体后侵犯血管的习性和潜能^[1]。马尔尼菲青霉病(Penicilliosis mameffei, PSM)是由马尔尼菲青霉菌引起的一种广泛播散性感染,主要侵犯人的网状内皮系统,常累及肺、肝脏、皮肤、淋巴结等组织或器官,若不及时治疗,凶险程度及死亡率很高^[2]。因此,早期诊断对治疗马尔尼菲青霉菌

病非常重要。2010 年南昌大学第一附属医院检验科收治 1 例 AIDS 合并 PSM 患者,在诊治时患者肿块穿刺物、骨髓涂片及骨髓组织切片中均发现疑似马尔尼菲青霉菌病原体,后经真菌培养鉴定为马尔尼菲青霉菌感染。现将实验室诊断结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 男性患者,江西省抚州人,25 岁,未婚,2010 年 9 月患者诉近一月来体重下降明显(约 15kg 左右),反复发热 30d 以上,发热呈规律性,一般下午发热,最高时 40℃,伴畏寒、盗汗,入院前一周,患者症状加重,发热呈持续性,呕吐、头晕、腹胀同时伴便秘,为进一步诊治转至南昌大学第一附属医院,消化

作者单位:南昌大学第一附属医院检验科,江西 南昌 330006

作者简介:吕小林(1972-)男,江西人,硕士,副主任技师,研究方向:临床检验

科门诊拟“发热待查(考虑淋巴瘤)”收治,患者自述既往身体健康,生活自律,否认吸毒史、冶游史及结核病等。

1.2 方法

1.2.1 体格检查 急性热病容,呼吸稍促,双肺呼吸音粗,神志清楚,心律齐无杂音,腹平软无压痛,中腹部左侧可触及数个边缘不清的包块,各包块移动性较差,表面光滑,质地较硬,肝脾肋下未触及。

1.2.2 辅助检查 血常规:白细胞 $6.7 \times 10^9/L$,中性粒细胞 0.82,淋巴细胞 0.06,单核细胞 0.12,红细胞 $4.67 \times 10^{12}/L$,血红蛋白 134g/L,血小板 $45 \times 10^9/L$;大小便常规未见明显异常,血沉 31mm/h;生化检查:谷草转氨酶 213U/L,谷丙转氨酶 232U/L,血糖 5.9mmol/L,尿素氮 6.3/L,AFP 0.82ng/L,CA125 6.19U/L,CA199 2.09U/L,CEA 0.94ng/L,结核抗体阴性,乙肝六项 阴性, HIV 抗体初筛试验阳性,遂送江西省疾控中心作确证试验结果为阳性(胶体晒 HIV 阳性, WB 带型 P66, P51, GP160, GP120; GP41, P31, P24, P17);影像学检查:腹部增强 CT 示脾大、腹膜后多发淋巴结,考虑淋巴瘤;B 超示脾肿大,腹膜后淋巴结肿大。

1.2.3 细胞学检查 骨髓涂片、骨髓组织病理、腹部淋巴结细针穿刺均发现,在部分组织细胞或吞噬细胞浆内、外有少量外型呈椭圆形、圆形或腊肠样病原体,考虑为马尔尼菲病原体。

1.2.4 真菌学检查 于使用抗生素前分别取患者血液、骨髓置于血培养瓶中进行培养,48h 后血培养仪报阳性,挑取少量培养物作革兰氏染色发现为霉菌后转种马铃薯葡萄糖琼脂平板(两块平板),将平板分别放置于 25℃和 37℃培养箱中进行孵育,培养期间每天观察真菌生长情况,72h 后挑取少量生长菌制片并分别作乳酸酚棉兰染色和革兰氏染色,置显微镜下观察其形态特征。

1.2.5 治疗 综合患者体症及检查结果,及时利用氟康唑治疗真菌,并持续予异甘草酸镁护肝。

2 结果

治疗一周后患者体温恢复正常,病情基本稳定。

2.1 细胞学结果 细针穿刺细胞学及骨髓细胞学示:在部分组织细胞或吞噬细胞浆内、外可见到少量散在或成团的马尔尼菲样病原体。细胞内的马尔尼菲青霉菌大多相互聚集一起呈葡萄状排列,菌体呈圆型、椭圆型,其大小形态较一致,直径约 $2\mu m$,部分菌体间可见连接体,而细胞外的马尔尼菲青霉菌则呈多形性,以长椭圆形为主,部分病原体可见明显横隔,

菌体大小差异较大,约 $2\sim 8\mu m$,核 1-3 个,呈紫红色,胞浆较丰富,淡兰色。具体特点见图 1、图 2。

2.2 培养特点及显微镜下形态特征 马尔尼菲青霉菌培养特点:在 25℃条件下为青霉相,菌体在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上生长较快,2d 后开始生长,初为浅黄白色绒毛状,并逐渐变为淡青黄色、微红灰青色,时间越长颜色越深,亦可产生玫瑰红色素并扩散到整个培养基中,具体特点见图 3。马尔尼菲青霉菌在 37℃条件下为酵母相,菌体在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上生长非常缓慢,呈酵母样型,膜状,有脑回样被褶,湿润不产色素。马尔尼菲青霉菌显微镜下特征 酵母相镜下特征,菌体呈为圆形、椭圆形,可见关节孢子。青霉相镜下特征,可见大量菌体呈扫帚枝状,散在,稍不对称,菌丝无色透明,分生孢子呈圆形或卵圆形,孢子梗光滑,无顶囊,具体特点见图 4。

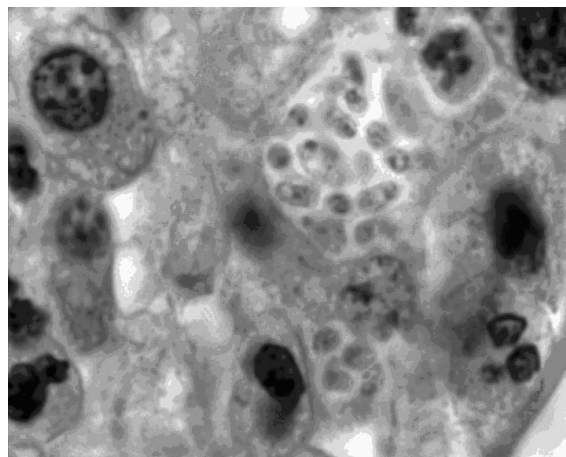


图 1 骨髓活检涂片(Bone marrow smear)HE 染色 $\times 1000$

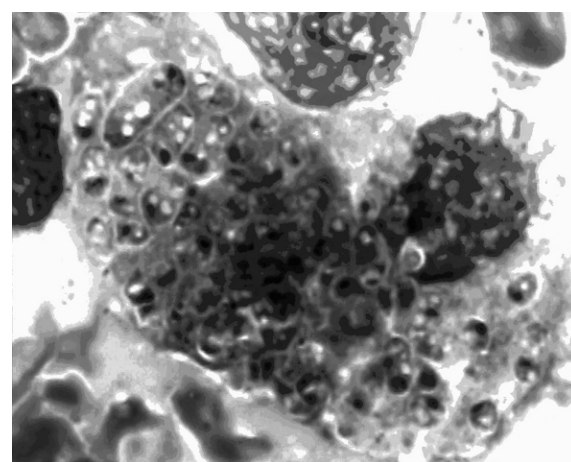


图 2 骨髓涂片(Bone marrow smear)
瑞氏染色(Wright's stain) $\times 1000$

3 讨论

PM 是一种高致病性且区域性比较明显的条件致病性真菌,自 1973 年 Disalvo^[3]首例报道人类自然感染以来,世界各地均有相继报道,但以东南亚发病率

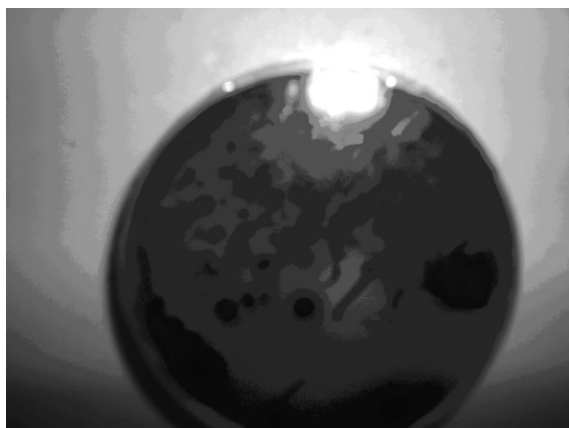


图3 马铃薯葡萄糖琼脂平板
(Potato dextrose agar plate)

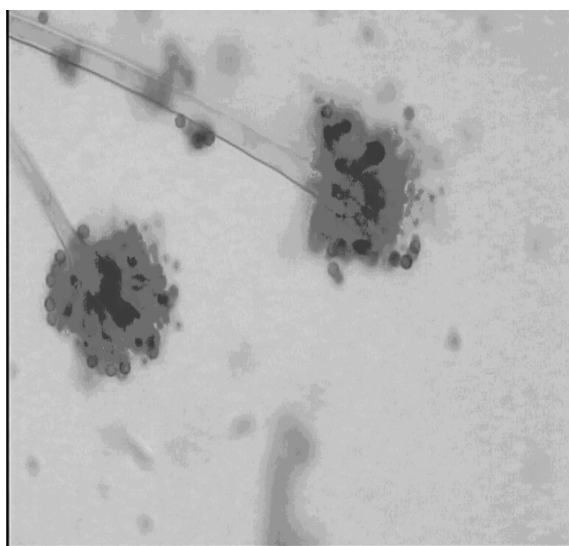


图4 乳酸酚棉兰染色×400
(Lacto-phenol cotton-blue staining)

最高,在泰国 PM 引起的临床感染高居第三位,仅次于结核杆菌和隐球菌,我国则以广东、广西和香港为主。在 20 世纪 80 年代晚期,本病只有少数报道,随着艾滋病的流行,马尔尼菲青霉菌感染发病率正逐年上升^[4]。HIV 合并马尔尼菲青霉菌感染的病例也越来越多,PM 成为 AIDS 继发感染的主要致病菌。在泰国 PM 已成为 AIDS 患者最常见的四个条件致病菌之一^[5]。

PM 主要侵犯人的网状内皮系统,主要表现为发热、咳嗽、浅表淋巴结肿大、肝脾肿大、全身多发性脓肿等,按侵犯范围分为播散型和局限型,大多数患者表现为广泛的播散感染。目前 PMS 实验室诊断主要包括显微镜检查(细针穿刺细胞学、骨髓细胞学、组织病理学)、霉菌培养、血清学及分子学等,至今培养方法仍为马尔尼菲青霉菌检测的金标准,但检测时间较长,影响患者治疗;血清学及分子学检查是近期兴起

的马尔尼菲青霉菌检测方法,其发展速度较快,有望成为早期诊断检测指标,但其检测要求相对严格,成本高,目前很难在各医院广泛开展;而细胞学检查作为马尔尼菲青霉菌检测的最传统的检测方法,具有简单、方便、经济、早期诊断等特点,目前仍为最常用检查方法之一。本研究对象 HIV 检测阳性,患者持续发热 1 月,畏寒、盗汗,并伴有头晕、乏力、咳嗽、呕吐、短期内体重下降明显,腹膜后多个淋巴结肿大。多脏器细胞学检查示(淋巴结穿刺、骨髓涂片、骨髓病理):部分吞噬细胞或组织细胞胞浆内、外见散在或成团分布,菌体呈圆形、腊肠状样病原体,考虑为马尔尼菲青霉菌。血培养、骨髓培养证实为马尔尼菲青霉菌感染。

马尔尼菲青霉菌属于条件致病菌,主要感染免疫力低下患者。艾滋病患者由于免疫力低下,常易合并各种机会性感染。而 AIDS 合并 PM 感染患者又缺乏典型临床特征,且病情发展快,若不治疗,死亡率达 91.3%^[6],而早期诊治患者,通常可收到较好疗效。因而,开展合理的实验室检查对该病的早期诊断及早期治疗显得非常重要。

参考文献:

- [1] Ou RZ, Lu XC, Li WX, et al. Advance in the research of double infection of HIV/AIDS and *Penicillium marneffei* [J]. China Trop Med. 2010, 10(8): 1027-1028. (In Chinese)
(欧汝志, 卢祥婵, 李伟新, 等. 艾滋病合并马尔尼菲青霉菌感染研究进展[J]. 中国热带医学, 2010, 10(8): 1027-1028.)
- [2] Lu ZH, Liu HR, XIE XL, et al. Infection of *Penicillium marneffei* [J]. Chin J Pathol. 2004, 33(6): 536-540. Chinese
- [3] Disalvo A, Fickling A, Ajello L. Infection caused by mameffei description of first natural infection in man [J]. Am J Clin Pathol. 1973, 60: 259-263.
- [4] Vanittanakom N, Cooper CR Jr, Fisher MC, et al. *Penicillium marneffei* infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects [J]. Clin Microbiol Rev. 2006, 19(1): 95-110.
- [5] Luo H, Liang L. Research Progress in Epidem io logy of *Penicillium marneffei* [J]. The Chin J Dermatovenereol. 20 (8): 627-629. (In Chinese)
(罗宏, 梁伶. 马尔尼菲青霉菌流行病学研究进展[J]. 中国皮肤性病学杂志, 20(8): 627-629.)
- [6] Yu JX, Xu Y, Luo Y, et al. Laboratory Detection of *Penicillium marneffei* Infection Associated with AIDS [J]. Chin J Nosocomiol. 2010, 20(11): 1636-1638. (In Chinese)
(于军校, 徐艳, 罗阳, 等. 艾滋病合并马尔尼菲青霉菌感染的实验室检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(11): 1636-1638.)

收稿日期 2012-01-16 编辑 崔宜庆