论著

文章编号:1000-5404(2007)11-1110-03

由咽拭子发现的非HIV感染的播散性马尔尼菲青霉病的诊断与治疗

蒋 彤,周村建,钟白玉,李芹阶,叶庆俏,王 莉,葛 兰,郝 飞 (第三军医大学西南医院皮肤科,重庆市皮肤性病研究所,重庆 400038)

提 要:目的 明确诊断并治疗1例由咽拭子发现的非HIV感染的播散性马尔尼菲青霉病的罕见病例。**方法** 收集患者咽拭子及痰液行真菌培养,采集患者肿大淋巴结行组织病理学检查,对真菌孢子DNA进行分子鉴定,同时给予两性霉素B及伊曲康唑治疗。**结果** 咽拭子及痰液双相真菌培养均有菌落生长: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,光镜下见椭圆形及腊肠形酵母样菌体。淋巴结组织PAS染色示腊肠状的菌体相互黏集呈葡萄状外观,中间有横隔。菌种分子鉴定与GenBank中马尔尼菲青霉基因完全一致。确诊为"播散性马尔尼菲青霉病"。给予两性霉素B以及伊曲康唑联合抗真菌治疗效果显著。**结论** 对于某些原因不明发热、伴广泛肺部炎性浸润和全身淋巴结肿大的患者,在使用广谱抗生素或者正规抗结核治疗无效时,应注意作真菌学的相关检查。

关键词:咽拭子;马尔尼菲青霉病;播散性

中图法分类号:R446.5;R519.04 **文献标识码**:A

Diagnosis and treatment for disseminated *Penicillium marneffei* infection discovered by oropharynx swab in a non-HIV patient

JIANG Tong, ZHOU Cun-jian, ZHONG Bai-yu, LI Qin-jie, YE Qing-yi, WANG Li, GE Lan, HAO Fei (Department of Dermatology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To diagnose and treat a rare case of disseminated *Penicillium marneffei* infection discovered by oropharynx swab in a non-HIV patient. **Methods** The patient's oropharynx swab and sputum were collected for culture respectively. The lymph node was examined by histopathologic technology. Subsequently, we identified *Penicillium marneffei* from the culture and the tissue by polymerase chain reaction (PCR). Finally, the patient was treated by amphotericin B and itraconazole. **Results** The mycological culture of the patient's oropharynx swab and sputum showed that the fungus had grown in a mycelial phase at 25 ℃, and mold-to-yeast conversion was achieved by incubating at 37 ℃. Periodic acid-Schiff stains of lymph node revealed that there were numerous round to oval thinwalled yeastlike organisms with transverse septum which had collected just like grape. *Penicillium marneffei* DNA was amplified by PCR technique. The patient was diagnosed as disseminated *Penicillium marneffei* infection. Both amphotericin B and itraconazole were given with a definitive therapeutic effect. **Conclusion** As far as those patients suffer from an unknown origin fever, diffuse pulmonary inflammatory infiltration and systemic lymphadenectasis, the relative examinations of mycology should be emphasized especially under the circumstance of the failure in broad-spectrum antibiotic and regular anti-tuberculosis treatment.

Key words: oropharynx swab; *Penicillium marneffei* infection; dissemination

马尔尼菲青霉病(*Penicilliposis marneffei*,PsM)是由马尔尼菲青霉(*Penicillium marneffei*,PM)引起的皮肤、淋巴结及内脏等系统的感染,是一种少见的系统性真菌病,多为播散性马尔尼菲青霉病(disseminated *Penicillium marneffei* disease)。PsM呈地方性流行,多见于东南亚及我国南部地区,其临床表现及组织病理与组织胞浆菌病、隐球菌病及卡氏肺囊虫病等相似,临床工作中极易误诊[1]。近来,本科由咽拭子发现并确诊了1例非HIV感染的播散性马尔尼菲青霉病患者,这在以往的研究报道中实属罕见。为强化对系统性真菌感染的临床认识,现就有关临床资料及相关研究报告如下。

作者简介:蒋 彤(1978-),女,辽宁省沈阳市人,硕士研究生,主要从事真菌感染方面的研究。电话:(023)68772765

通讯作者:郝 飞,电话:(023)68754416,E-mail:haofei@mail.tmmu.com.cn

收稿日期:2006-10-17;修回日期:2006-12-11

1　临床资料

患者，男性，25 岁，因发热、咳嗽、咳痰、乏力消瘦 2 个月余入院。患者于 2006 年 4 月因劳累受凉后出现发热（体温最高达 39.5 ℃），伴咽痛、咳嗽、咳痰（痰液为白色黏痰，量 20 ~ 30 ml/d），遂就诊于广州市某医院，行胸部 CT 示：双肺间质性病变，见左上肺肺大泡形成及纵隔数个淋巴结。为进一步诊治，患者于 2006 年 5 月 11 日至我院就诊，行纤维支气管镜检查：肺泡灌洗液 PCR-TB（－）、真菌培养（－），支气管刷检未见癌细胞及抗酸杆菌；淋巴结活检提示淋巴结结核；临床诊断为“肺结核”并给予抗结核治疗。1 个月后患者病情无好转、高热不退、咳嗽、咳痰症状加重，遂于 2006 年 6 月 12 日再次至我院就诊并收入院。患者发病前已在广东省从事缝纫工作 6 年，否认非婚性生活史及吸毒史，家族中无类似疾病患者。

体格检查：体温 39 ℃，脉搏 125 次/min，呼吸 20 次/min，血压 117/63 mmHg。急性病容，形体消瘦。全身皮肤黏膜无淤点、淤斑、丘疹、结节、溃疡等皮疹。双侧颌下及颈部可扪及数个黄豆至蚕豆大小肿大淋巴结，质硬，无压痛，边界光滑，活动度好。无口腔溃疡，双侧扁桃体无肿大及异常分泌物，咽部充血。双侧呼吸动度及触觉语颤减弱，双肺呼吸音减低，未闻及干湿性啰音。余系统查体未见异常。

常规血液学检查：血常规：RBC 3.93×10^{12}/L、HGB 104 g/L、PLT 327×10^{9}/L，肝功：ALT 68 IU/L、AST 73 IU/L、ALB 30.1 g/L，血[K^+] 3.37 mmol/L，尿蛋白定量：897.0 mg/24 h，人免疫缺陷病毒（HIV）抗体初筛试验（ELISA 法）及确证试验（Western blot）均阴性，T 细胞亚群等其他指标均正常。

影像学检查：胸部 CT 示双肺散在片絮状混杂密度影及结节影，边界不清，部分融合，其内见数个后壁囊状影，左上肺多个薄壁空腔，气管前腔静脉后见肿大淋巴结影，腹部 B 超提示脾脏稍增大。

真菌鉴定：①真菌培养：将咽拭子、鼻拭子、痰液、肺泡灌洗液及血液标本分别接种于马铃薯葡萄糖琼脂和脑心浸汁琼脂，在 25 ℃和 37 ℃条件下培养，观察菌落的形态特点。②组织病理学检查：左锁骨上淋巴结的病理切片行 PAS 染色，观察菌体镜下特征。③分子鉴定：分别从培养的菌落及组织切片中提取真菌 DNA，采用 PM 特异性引物（5′-GATGGACTGTCTGAGTACC-3′和 5′-ATGGTGGTGACCAACCCCCGCA-3′）进行 PCR 扩增，并将 PCR 产物的测序结果与 GenBank 中 PM 的 DNA 序列相比较。

治疗经过：入院后，给予静脉滴注两性霉素 B 50 mg，1 次/d、口服斯皮仁诺胶囊 0.2 g，2 次/d 以及缓解胃肠道症状、保护肝肾功能、补充营养及对症支持治疗 2 周后，患者病情明显缓解，体温正常，体质量增加，复查胸部 CT 与治疗前比较，片状阴影明显吸收，遂准予带药出院。目前正进一步随访中。

2　结果

2.1　真菌培养

咽拭子及痰液有菌落生长，25 ℃条件下呈青霉相，菌落呈青黄色绒毛状，菌落周围及背面产生红葡萄酒色素，光镜下见无色透明分隔菌丝，典型帚状枝，顶端有单链分生孢子（图 1、2）；37 ℃条件下呈酵母相，菌落呈淡灰色酵母样，湿润，有脑回样皱褶，无色素，光镜下见椭圆形及腊肠形菌体。鼻拭子、肺泡灌洗液及血液真菌培养均为阴性。



图 1　25 ℃条件下培养 PM 的菌落形态

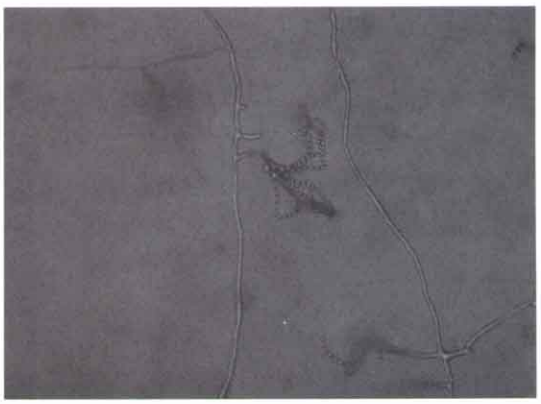
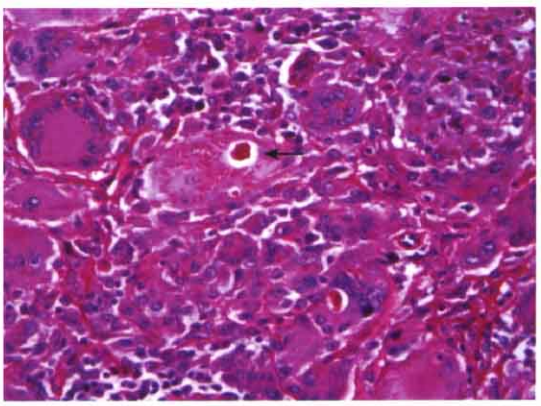


图 2　25 ℃条件下培养 PM 的镜下形态特征　（LM × 400）

2.2　组织病理学检查

光镜下见弥漫分布的淋巴细胞、组织细胞，菌体为粗细均匀、两头钝圆、中间有横隔的腊肠状细胞，散布于组织细胞内外，相互黏集呈葡萄状外观（图 3）。

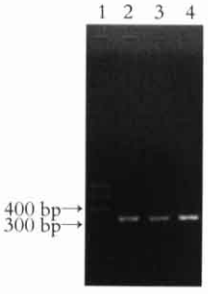


↑：巨噬细胞内散在分布及相互黏集呈葡萄状外观的菌体

图 3　左锁骨上淋巴结组织病理学观察　（PAS × 400）

2.3 分子鉴定

PCR 扩增产物的片段大小约为 324 bp(图 4),测序结果于 GenBank 中马尔尼菲青霉(L37406)DNA ITS 区保守序列(5′-CTGAGTACCATGAAAATTGT……GGGGGTTGGTCACCACCATA-3′)完全一致。



1:DNA 标准;2:咽拭子真菌培养出 PM 孢子 DNA 的 PCR 扩增产物;3:淋巴结组织中提取的 PM 孢子 DNA 的 PCR 扩增产物;4:痰液真菌培养出 PM 孢子 DNA 的 PCR 扩增产物

图 4 PM 特异性引物的 PCR 产物电泳图

根据临床表现、实验室检查、组织病理变化、真菌培养结果及分子鉴定,该患者确诊为"播散性马尔尼菲青霉病",给予两性霉素 B 以及伊曲康唑联合抗真菌治疗效果显著。

3 讨论

PsM 患者是由 Di Salvo 等于 1973 年首次报道,随后在曼谷、泰国等地先后有相关报道。PM 是青霉属中唯一的双相型致病菌,主要分布于东南亚及我国南方地区,呈地方性流行,本例患者发病前居住在广东省,正处 PM 的流行疫区,具有明显的流行病学特征。

PsM 的临床表现无特异性,经典的 PsM 主要表现为发热、体质量减轻、皮肤损害、全身淋巴结肿大及肝肿大,多数合并 HIV 感染。对我科诊治的 4 例 PsM 患者的临床资料进行整理分析,发现合并 HIV 感染的 PsM 临床症状较重,均有广泛的脐凹状皮肤损害[2];而无 HIV 感染的,均无皮损;主要以肺部损害为主,同时伴有发热、体质量减轻及全身淋巴结肿大等肺外表现,此时 PsM 患者极易被误诊,而失去有利的治疗时机。

目前诊断 PsM 的常用方法仍是真菌培养及组织病理学检查。然而,随着分子生物学技术的发展,用特异性引物对真菌培养失败的组织行 PCR 扩增,可以有效的将 PM 与其他致病菌鉴别,从而明确诊断 PM[3]。

本例患者在治疗初期,因为临床症状不典型,曾被误诊为"肺结核",经过正规抗结核治疗后病情无好转时,行咽拭子、痰液真菌培养发现 PM 感染,追溯组织病理 PAS 染色呈阳性,行菌种分子鉴定进一步证实了"播散性马尔尼菲青霉病"的临床诊断。我们的研究证实,由咽拭子、痰液真菌培养以及淋巴结中分离得到的 PM 经分子生物学鉴定,均来源于同一种属。

虽然 PsM 的病死率极高,但早期诊断与治疗是可以将其治愈的。目前推荐治疗方案为初期静脉使用两性霉素 B,2 周后以口服伊曲康唑或酮康唑维持,10 周后停药[4]。相关的体外药敏试验研究表明,PM 对咪康唑、伊曲康唑、酮康唑以及氟胞嘧啶高度敏感,对两性霉素 B 中度敏感,对氟康唑耐药。使用两性霉素 B 以及伊曲康唑进行初期治疗及次级预防是防止耐药以及预防复发的有效途径[5]。针对患者的实际病情,我们联合使用两性霉素 B 及伊曲康唑,2 周后改用口服伊曲康唑维持治疗,疗效显著。

查阅国内外相关文献,尚无由咽拭子真菌培养发现"播散性马尔尼菲青霉病"的相关报道。由本例 PsM 的发现过程可以推测,PM 的真菌孢子由环境进入人体,经过口咽部进入肺组织,随后播散至全身各个组织和器官。同时进一步证实了 PM 感染也可见于正常人群,可能与患者的职业及所处的 PM 流行地区有关。

综上所述,PsM 临床表现复杂多变,无特异性,诊断十分困难,在临床工作中,对于某些原因不明发热、伴广泛肺部炎性浸润和全身淋巴结肿大的患者,在使用广谱抗生素或者正规抗结核治疗无效时,应注意进行真菌学的相关检查,从而达到对 PsM 的早期诊断及早期治疗,减低病死率,改善患者生活质量的目的。

参考文献:

[1] Vanittanakom N, Cooper C R, Jr., Fisher M C, *et al*. *Penicillium marneffei* infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(1): 95-110.

[2] 郝 进,叶庆佾,阎 衡,等. 艾滋病合并播散性马内菲青霉病 1 例[J]. 临床皮肤科杂志, 2005, 34(5): 302-304.

[3] Tsunemi Y, Takahashi T, Tamaki T. *Penicillium marneffei* infection diagnosed by polymerase chain reaction from the skin specimen[J]. J Am Acad Dermatol, 2003, 49(2): 344-346.

[4] Sirisanthana T, Supparatpinyo K, Perriens J, *et al*. Amphotericin B and itraconazole for treatment of disseminated *Penicillium marneffei* infection in human immunodeficiency virus-infected patients[J]. Clin Infect Dis, 1998, 26(5): 1107-1110.

[5] Supparatpinyo K, Nelson K E, Merz W G, *et al*. Response to antifungal therapy by human immunodeficiency virus-infected patients with disseminated *Penicillium marneffei* infections and *in vitro* susceptibilities of isolates from clinical specimens[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1993, 37(11): 2407-2411.

(编辑 邓强庭)