

## · 短篇论著 ·

# 获得性免疫缺陷综合征合并马尔尼菲青霉菌 感染骨髓菌体形态特征及鉴别诊断

杨佳 李建兰 张润梅 杨波

马尔尼菲青霉菌病 (*penicilliosis marneffei*, PSM) 是由马尔尼菲青霉菌 (*Penicillium marneffei*, PM) 感染引起的一种少见的深部真菌感染性疾病。马尔尼菲青霉菌病于 1956 年在越南竹鼠中首先发现<sup>[1]</sup>。1973 年, DiSalvo 等<sup>[2]</sup>首次报道了人类感染的马尔尼菲青霉菌病, 本病可发生于健康者, 但更多见于免疫抑制、免疫功能低下或缺陷者。1988 年, Piehl 等<sup>[3]</sup>首次报道了首例艾滋病合并马尔尼菲青霉菌感染患者。之后该真菌被认为是东南亚地区艾滋病患者最常见的机会性感染之一<sup>[4]</sup>, 其误诊率及病死率极高。我国主要发生在广东、广西、云南和台湾。本文回顾分析了 1 例艾滋病合并马尔尼菲青霉菌感染病例的临床诊疗过程, 报道如下。

## 一、临床资料

患者, 男性, 44 岁, 2012 年 7 月无明显诱因出现外阴部散在溃疡, 伴疼痛, 无发热、皮疹, 未经诊断治疗上述症状自行缓解。随后因受凉出现发热, 午后明显, 最高体温达 39 °C, 就诊当地医院, 给予林可霉素静脉滴注 3 d。抗菌药物治疗未见明显疗效, 出现口周及鼻尖部多发溃疡, 发热症状无缓解, 体温波动于 37 ~ 38 °C。15 d 后, 出现全身弥漫硬币大小丘疹样红色皮疹, 伴瘙痒, 就诊于广西某医院, 考虑为荨麻疹。给予抗过敏治疗以后, 皮疹逐渐消退, 但仍间断发热, 体温波动于 37 ~ 38 °C, 伴头晕、头痛, 未给予特殊治疗。2013 年 4 月出现全身皮疹, 呈红色斑片状, 伴瘙痒、无疼痛, 伴发热、外阴溃疡。求进一步诊治, 入住本院风湿科。患者自发病以来, 精神、食欲差, 睡眠可, 大小便正常, 2 个月内体重减轻 10 kg。入院查体: 体温 35.7 °C; 脉搏 96 次/min; 呼吸 20 次/min; 血压 90/60 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa)。口腔黏膜可见多处白膜, 拭去后遗留光滑黏膜, 针刺后出现红晕, 全身浅表淋巴结未触及肿大, 皮肤无黄染, 腹部及双下肢散在红色斑片状皮疹, 部分压之不褪色, 外阴部可见两处溃疡, 大小约 1 cm × 1 cm, 伴有少量脓性分泌物, 腹切, 压痛、拒按, 肝下界触诊不良, 脾肋下约 3 cm。实验室检查结果显示, 血常规: WBC:  $7.31 \times 10^9/L$ , RBC:  $3.64 \times 10^{12}/L$ , Hb: 94 g/L, PLT:  $63.0 \times 10^9/L$ ; 凝血实验: 凝血酶原时间 (prothrombin time, PT): 17.5 s; 活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin

time, APTT): 38.9 s; 国际标准化比率 (international normalized ratio, INR): 1.42R; 抗-HIV (+)。患者 HIV 初筛试验阳性血清送山西省 CDC 做进一步蛋白印迹确证实验, 确诊为 AIDS。骨髓穿刺检查, 涂片中组织细胞内和细胞间隙中散在或成簇分布大量菌体, 大小不均, 形态各异, 有类圆形, 长圆形, 腊肠形, 浆染淡蓝色, 约占菌体的 1/3 左右, 核偏位, 有 1 ~ 3 个紫红色小体。结合患者 HIV 感染病史及骨髓中菌体形态特征, 考虑为 AIDS 合并马尔尼菲青霉菌感染。后经本院微生物科进行真菌培养及鉴定证实骨髓中观察到的菌体确实为马尔尼菲青霉菌。

## 二、鉴别诊断

马尔尼菲青霉菌病、荚膜组织胞浆菌病均见于免疫功能低下的人群如 AIDS、恶性血液病及恶性肿瘤晚期等<sup>[5]</sup>。黑热病则属杜利什曼原虫引起的慢性地方性传染病。

上述三种疾病的共同特征是发病率低, 临床以不规则发热、消瘦, 肝、脾及淋巴结肿大, 血细胞减少等为特征。骨髓涂片观察时形态相似, 易混淆。主要鉴别诊断要点如下。

1. 马尔尼菲青霉菌病与荚膜组织胞浆菌病: 马尔尼菲青霉菌病与组织胞浆菌病二者均属于真菌感染, 临床表现十分相似, 累及单核巨噬细胞系统, 病原菌主要定位于吞噬细胞内, 故两种疾病极易混淆。

微生物学鉴定是二者诊断鉴别的金标准。马尔尼菲青霉菌与组织胞浆菌体外培养都是温度双相性真菌, 25 °C 培养均为菌丝相, 依据两者生长速度、菌落形态、是否产生色素等特性, 可初步鉴别。马尔尼菲青霉菌生长快, 2 ~ 3 d 即产生特征性的可溶性红色色素, 有典型的帚状枝及孢子链, 见图 1 ~ 2; 而组织胞浆菌生长较慢, 无色素产生, 2 ~ 3 周可见大小各异的多分生孢子。两者在 37 °C 培养均为酵母相, 马尔尼菲青霉菌呈腊肠形, 有明显横隔, 且无出芽生长, 而组织胞浆菌则无横隔, 可见窄颈的芽胞。真菌培养鉴定耗时间长, 晚期艾滋病患者常合并有多种感染, 在无专用真菌培养基的情况下可能因其他细菌先生长掩盖真菌生长的特征, 致马尔尼菲青霉菌培养阴性<sup>[6]</sup>。

两者骨髓涂片形态特征十分相似, 特征如下: 马尔尼菲青霉菌直径为 2 ~ 8  $\mu\text{m}$ , 形态大小不一致。圆形及卵圆多形性, 有腊肠状细胞、桑葚状细胞团, 横径与长径比 1 : 3 ~ 1 : 4, 有单个或两个以上核。组织胞浆菌直径为 2 ~ 5  $\mu\text{m}$ , 大小一致的圆形或卵圆形孢子, 横

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.01.021

作者单位: 030001 太原市, 山西医科大学第二医院内基实验室 (杨波、杨佳、李建兰), 微生物实验室 (张润梅)

通讯作者: 杨波, Email: ty-yb@sohu.com

表 1 三种病原体在骨髓涂片形态学特征

形态学特征	马尔尼菲青霉菌 (PM)	黑热病杜利小体	组织胞浆菌 (HC)
大小	2 ~ 8 μm (大小不一致)	卵圆形: (2.9 ~ 5.7) × (1.8 ~ 4.0) μm; 圆形: 2.4 ~ 5.2 μm	2 ~ 5 μm (大小一致)
形态	类圆形、长圆形、腊肠形	圆形或卵圆形	圆形或卵圆形
胞壁	着色不清楚	—	胞壁较厚, 周围形成不着色空晕, 形似荚膜
胞浆	蓝色	淡蓝色或略带紫色	浅蓝色至蓝色
核	单个或 2 个以上核	单色核, 位于虫体的一侧	单个核
横隔	有	无	无
动基体	无	有, 短杆状或点状	无
PAS 染色	可见明显横隔, 胞壁红色且清楚连续	胞壁不着色或着色浅而不连续	胞壁红色且连续, 无横隔

注: “—”: 参阅相关文献, 未找骨髓涂片中关于杜利小体胞壁染色的描述



图 1 马尔尼菲青霉菌在 SDA 上菌落特征

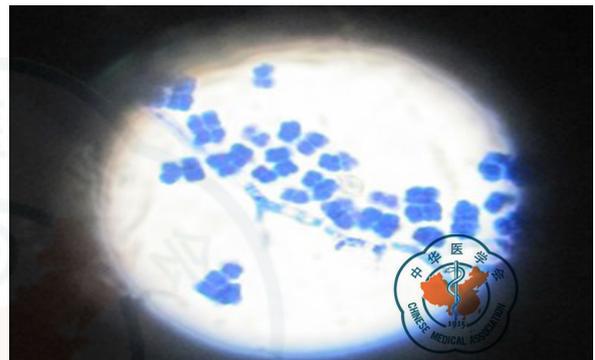


图 2 马尔尼菲青霉菌纯培养的镜下形态 (乳酸酚棉兰染色)

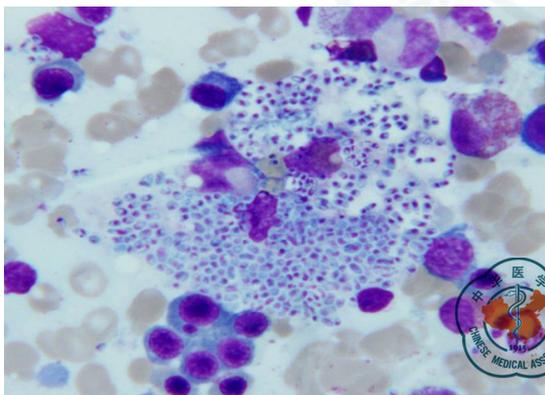


图 3 马尔尼菲青霉菌骨髓涂片标本 (400 ×, 瑞氏 - 吉姆萨染色)

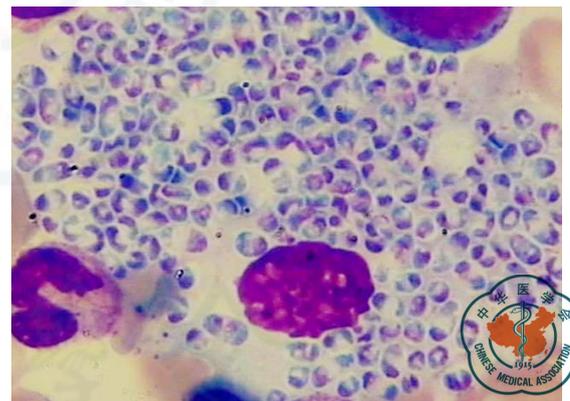


图 4 马尔尼菲青霉菌骨髓涂片标本 (1000 ×, 瑞氏 - 吉姆萨染色)

径与长径比不超过 1 : 2, 为单个核<sup>[7]</sup>, 见图 3 ~ 4。

糖原染色 (periodic acid-schiff stain, PAS) 有助于二者的鉴别<sup>[8]</sup>, 马尔尼菲青霉菌和荚膜组织胞浆菌为深部真菌病, 其菌体胞壁含有 β 链多糖, PAS 染色可使胞壁染红色且清楚, 胞内容物不着色轮廓明显而清楚, 马尔尼菲青霉菌分裂繁殖, 故可找到分裂期的横隔细胞, 横隔染成深红色。而荚膜组织胞浆菌为芽胞繁殖, 不会出现腊肠状的细胞和横隔, 镜检可见窄颈单芽胞繁殖。

2. 马尔尼菲青霉菌病与黑热病: 黑热病属人兽共患疾病, 由杜利什曼原虫引起, 通过白蛉叮咬传播的慢性地方性传染病。临床以长期不规则发热、进行性脾脏肿

大、消瘦、贫血、全血细胞减少及血浆球蛋白增高为特征。呈明显的地区局限性分布, 感染者多为流行地区居民或到过流行地区的旅行者。我国流行病学资料表明, 黑热病在我国主要见于山东、河北、江苏北部及新疆南部。杜利什曼原虫在人、犬或野生动物体内生长繁殖。骨髓涂片中黑热病原虫体 (杜利小体) 大小稍显不一致, 周围无不着色区, 胞体内除紫红色细胞核, 并有一和核成“F”形的动基体, 三种病原体在骨髓涂片形态学特征见表 1。

血清免疫学及分子生物学检测敏感性高特异性好, 亦是本病诊断的重要实验依据。糖原染色 (PAS) 可见

胞壁不着色或着色浅呈细颗粒状而不连续,其内容物染红色明显。

**讨论** 马尔尼菲青霉菌是一种少见的深部条件致病菌,主要侵犯肺、肝、脾、骨髓及淋巴结等单核巨噬细胞系统,并可以在单核吞噬细胞中繁殖蔓延,造成全身多器官功能损害。健康人感染常局限于某一器官,也可全身播散,而 AIDS 患者感染则多器官受累及全身播散,且病程进展快,病死率极高<sup>[10]</sup>。

AIDS 合并马尔尼菲青霉菌感染时,因患者表现 AIDS 的症状,或合并其他机会感染菌感染,致使临床表现更复杂多样。因此,早期诊断,避免漏诊与患者的预后密切相关。由于该菌常侵入血管导致血行播散和侵蚀骨组织,故骨髓及血涂片发现具有诊断价值的病原菌,可以作为本病早期诊断的依据,这对及时治疗马尔尼菲青霉菌,提高马尔尼菲青霉菌的治愈率有实用性价值。

马尔尼菲青霉菌可引起一系、两系甚至三系血细胞减少<sup>[11]</sup>,而误诊为血液病等恶性疾病。因此,对于不明原因发热、皮疹、肝、脾、淋巴结肿大,尤其有免疫功能减低等患者,骨髓涂片观察时除应注意有无分化差的组织细胞、吞噬细胞外,还要仔细寻找辨认有无可疑病原菌。当骨髓涂片中组织细胞及噬血细胞比例增高时,应引起高度警惕,做仔细的形态学观察。本文回顾总结分析 1 例 HIV 感染合并马尔尼菲青霉菌感染病例,患者接受骨髓涂片检查时已经明确为 AIDS 患者,骨髓涂片观察到吞噬细胞和细胞间隙中大量马尔尼菲青霉菌菌体,结合真菌培养鉴定结果,最终诊断为 AIDS 合并马尔尼菲青霉菌感染,为本院 30 余年来首次发现和报道。

PSM 和组织胞浆菌不但临床表现相似,且两种治病真菌的形态、大小及在体内的分布非常相像,均主要位于巨噬细胞内,因而诊断时必须与组织胞浆菌进行仔细鉴别。此外,因马尔尼菲青霉菌、荚膜组织胞浆菌及杜利小体三种病原体形态相似,这就要求医者仔细掌握这三种病原体各自的特征,并结合患者详尽的临床及流行

病学资料分析,更准确的在骨髓涂片中将三者区别开来,结合 PAS 染色更有益于三者的鉴别。然而,微生物分离检测出病原体仍是本病诊断的“金标准”。

志谢:感谢李斗、戎建荣等老师给予的指导和帮助!

#### 参考文献

- 1 Capponi M, Sureau P, Segretain G, et al. Penicilliosis from rhizomys sinensis[J]. Bull Soc Pathol Exot Filiales, 1956, 49(3):418-421.
- 2 DiSalvo AF, Fickling AM, Ajello L, et al. Infection caused by *Penicillium manneffei*: description of first natural infection in man[J]. AM J Clin Pathol, 1973, 59(2):259-263.
- 3 Piehl MR, Kaplan RL, Haber MH. Disseminated penicilliosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome[J]. Arch Pathol Lab Med, 1988, 112(10):1262-1264.
- 4 廖小梅, 冉玉平, 陈卉娇. 艾滋病合并播散性马尔尼菲青霉菌感染一例[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(5):325-329.
- 5 邓卓霖. 巨噬细胞内真菌的诊断问题[J]. 临床与实验病理学杂志, 2000, 16(3):249-250.
- 6 黄绍标, 张联庆, 姜春, 等. 38例晚期艾滋病合并马尔尼菲青霉菌病临床分析. 中华医学会第二次全国艾滋病、丙型肝炎学术会议论文集[C]. 厦门: 中华医学会, 2005:85-87.
- 7 莫武宁, 甘宝文, 农少云. 骨髓中马尔尼菲青霉菌及荚膜组织胞浆菌的形态鉴别[J]. 上海医学检验杂志, 2001, 16(6):349-360.
- 8 莫武宁, 邓卓霖, 甘宝文, 等. 用糖原染色鉴别骨髓涂片中马尔尼菲青霉菌、荚膜组织胞浆菌及黑热病杜利小体[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(4):228-229.
- 9 税国顺, 何代莉, 毛翠. 马尔尼菲青霉菌、荚膜组织胞浆菌和黑热病杜利小体的实验诊断与鉴别[J]. 中国基层医药, 2005, 12(4):499-500.
- 10 杨斌, 陈红涛, 郭兆旺. 马尔尼菲青霉菌感染2例骨髓中的形态特征分析并文献复习[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(13):3250-3251.
- 11 王伟鑫, 修宁宁, 俞亚琴, 等. 艾滋病伴马尔尼菲青霉菌感染患者骨髓细胞学检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(18):2282-2283.

(收稿日期: 2012-12-27)

(本文编辑: 孙荣华)

杨佳, 李建兰, 张润梅, 等. 获得性免疫缺陷综合征合并马尔尼菲青霉菌感染骨髓菌体形态特征及鉴别诊断[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8(1): 86-88.