·病例报道·

二代测序协助诊断 AIDS 合并马尔尼菲篮状菌脑膜炎 1 例

王银玲，顾赛红，肖 丹，许炜璐，黄金龙，钱 峰

[摘要] 马尔尼菲篮状菌感染的确诊依赖真菌培养和组织病理学检查，但耗时较长且阳性率不高。马尔尼菲篮状菌侵犯中枢神经系统的报道极为罕见。本文对 1 例经二代测序检查后诊断为 AIDS 合并马尔尼菲篮状菌脑膜炎的患者进行报道，为临床医生拓宽对马尔尼菲篮状菌脑膜炎的病原学诊断思路提供帮助。

[关键词] 二代测序；马尔尼菲篮状菌；人类免疫缺陷病毒

[中国图书资料分类号] R512.91；R446；R519 [文献标志码] A [文章编号] 1007-8134(2021)06-0569-03

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.06.022

Second-generation sequencing assisted diagnosis of AIDS complicated with *Talaromyces marneffei* meningitis in one case

WANG Yin-ling, GU Sai-hong, XIAO Dan, XU Wei-lu, HUANG Jin-long, QIAN Feng*

Department of Infection, the Fifth People's Hospital of Suzhou, 215000, China

*Corresponding author, E-mail: fengqian70@126.com

[Abstract] The diagnosis of *Talaromyces marneffei* infection depends on fugal culture and histopathological test, but it takes a long time and the positive rate is not high. *Talaromyces marneffei* involvement in the central nervous system is rarely reported. This paper reports one case of AIDS complicated with *Talaromyces marneffei* meningitis diagnosed by second-generation sequencing, which can help clinicians broaden their etiological diagnosis of *Talaromyces marneffei* meningitis.

[Key words] second-generation sequencing; *Talaromyces marneffei*; human immunodeficiency virus

马尔尼菲篮状菌病是由马尔尼菲篮状菌（*Talaromyces marneffei*, TM）感染引起的一种侵袭性真菌病[1]。该病主要好发于免疫功能低下的人群，如肿瘤免疫化疗者、免疫抑制剂使用者及 AIDS 患者，误诊率和病死率高[2]，即使经过抗真菌治疗，该病的病死率仍较高[3]。马尔尼菲篮状菌病临床表现、常规实验室检查及影像学检查等缺乏特异性，容易漏诊、误诊。另外，马尔尼菲篮状菌侵犯中枢神经系统的报道极为罕见。现将我院收治的 1 例 AIDS 合并马尔尼菲篮状菌脑膜炎患者的临床资料总结如下，并结合国内外文献进行分析，以提高临床医生对 AIDS 合并马尔尼菲篮状菌脑膜炎的认识及诊断水平，避免漏诊及误诊。

1 病例报告

1.1 病史 患者孙某，男，30 岁，苏州籍，因“抗 HIV-1 阳性 6 年，头痛 1 周”于 2020 年 12 月 4 日收住苏州市第五人民医院。患者 2014 年经苏州市疾病预防控制中心确证抗 HIV-1 阳性，$CD4^+$ T 细胞计数不详，HIV RNA 定量不详，开始行“奈韦拉平＋拉米夫定＋齐多夫定”抗病毒治疗。2017 年自行停药半年。2018 年 8 月复查 $CD4^+$ T 细胞计数 7 个 /μl，HIV RNA 定量 2.53×10^3 IU/ml，考虑 HIV 耐药，调整采用“多替拉韦＋拉米夫定＋替诺福韦”进行抗病毒治疗。2018 年 10 月，复查 $CD4^+$ T 细胞计数 136 个 /μl，HIV RNA 定量＜500 IU/ml。此次入院前 1 周出现无明显诱因的头痛症状，以持续性胀痛为主，夜间明显，无发热、咳嗽、咳痰，无喷射性呕吐，无意识障碍。2020 年 12 月 1 日在外院查头颅 CT 提示未见明显异常，予止痛等治疗后症状无缓解。为进一步治疗来我院门诊就诊并收治入院。患者否认有高血压、糖尿病、心脏病等病史，否认有外伤手术史及食物、药物过敏史。

1.2 入院查体 体温 36.5 ℃，脉搏 79 次 /min，呼吸 18 次 /min，血压 121/74 mmHg（1 mmHg=0.133 kPa），神志清，精神软，体型消瘦，口腔黏膜光滑，全身皮肤未见明显皮疹，颈软，无明显抵抗，双侧瞳孔等大等圆，双肺呼吸音清，未及干湿啰音。心率 79 次 /min，律齐，未及病理性杂音。病理征阴性。

[基金项目] 江苏省科技厅自然基金项目（BK20181178）；苏州市临床重点专项目（LCZX201717）

[作者单位] 215000，苏州市第五人民医院感染科（王银玲、顾赛红、肖丹、许炜璐、黄金龙、钱峰）

[通信作者] 钱峰，E-mail: fengqian70@126.com

1.3 实验室及影像学检查　血常规检测：白细胞计数 4.18×10^9/L、血红蛋白 142 g/L、血小板计数 190×10^9/L、中性粒细胞计数 2.26×10^9/L、淋巴细胞计数 1.08×10^9/L；C- 反应蛋白 4.4 mg/L；降钙素原 < 0.02 ng/ml；$CD4^+$ T 细胞计数 37 个 /μl；HIV RNA 定量 1.33×10^4 IU/ml；梅毒抗体阴性；HBsAg 阴性；HCV 抗体阴性；消化道肿瘤标志物阴性；结核感染 T 细胞检测阴性；外周血隐球菌抗原检测阴性；凝血功能正常；肝肾功能正常，腹部 B 超示肝脾无明显肿大；胸部 CT 示两肺纹理粗，纵隔未见肿大淋巴结。

1.4 腰椎穿刺检查　脑脊液压力 110 mmH_2O（1 mmH_2O=9.81 Pa）。脑脊液常规：潘氏试验阳性，白细胞计数 0.55×10^9/L，单核细胞比例 90%，多核细胞比例 10%。脑脊液生化：腺苷脱氢酶 9 U/L，葡萄糖 1.53 mmol/L，氯 114.6 mmol/L，微量蛋白 3127 mg/L。脑脊液找隐球菌阴性，脑脊液隐球菌抗原阴性，脑脊液 X-PERT 阴性，脑脊液结核分枝杆菌 DNA 检测阴性，脑脊液找抗酸杆菌阴性，脑脊液细菌培养阴性。

1.5 诊疗经过　因患者头痛症状明显，虽无活动性结核分枝杆菌感染依据，但其 $CD4^+$ T 细胞计数极低（37 个 /μl），脑脊液生化检查符合结核性脑膜炎特点，故入院后临床诊断为结核性脑膜炎，予“利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺、莫西沙星”诊断性抗结核治疗及甘露醇脱水等对症支持治疗，临床症状稍有改善。2020 年 12 月 21 日，复查腰椎穿刺并完善脑脊液二代测序（next generation sequencing, NGS）检查（外送第三方公司检测）。脑脊液压力 230 mmH_2O。脑脊液常规：潘氏试验阳性，白细胞计数 0.19×10^9/L，单核细胞比例 89%，多核细胞比例 11%。脑脊液生化：腺苷脱氢酶 7 U/L，葡萄糖 1.09 mmol/L，氯 115.0 mmol/L，微量蛋白 2175 mg/L。脑脊液结核杆菌 DNA 检测阴性，脑脊液抗酸杆菌阴性，脑脊液 X-PERT 阴性，脑脊液细菌培养阴性。3 d 后脑脊液 NGS 结果回报：马尔尼菲篮状菌生长，特异序列数 19。鉴于脑脊液二代测序检查未检测到结核杆菌，结核性脑膜炎诊断依据不足，停用抗结核药物。临床症状经脱水等治疗逐渐改善，且全身查体未见皮疹，无发热，肝脾无明显肿大，肺部未见空洞，未见纵隔淋巴结肿大，反复追溯病史，患者均否认有境外、中国云南、广西等地旅游生活史，脑脊液 NGS 提示马尔尼菲蓝状菌序列数较低，故考虑马尔尼菲篮状菌脑膜炎诊断依据不充分。2020 年 12 月 28 日再次与患者沟通，复查腰椎穿刺及脑脊液 NGS 检查，脑脊液 NGS 回报：马尔尼菲篮状菌生长，特异序列数 69。结合病史、体征及脑脊液 NGS 结果，修正诊断为马尔尼菲篮状菌脑膜炎，根据《中国艾滋病诊疗指南（2018 版）》[4] 推荐的马尔尼菲篮状菌病的治疗方案，予以两性霉素 B 0.5 mg/kg，静脉滴注，疗程 2 周；序贯伊曲康唑 200 mg，2 次 /d，口服，疗程 10 周。患者症状明显改善后出院，维持伊曲康唑口服治疗。

2 讨　论

马尔尼菲篮状菌曾经被称为马尔尼菲青霉菌，2011 年 Samson 等 [5] 运用分子生物学技术鉴定发现，其不属于青霉菌属，而属于篮状菌属，故现称为马尔尼菲篮状菌，该菌为机会性致病菌，致病性强，好发于免疫功能严重低下的人群，是 AIDS 患者常见的机会性感染菌之一 [6]。马尔尼菲篮状菌病属地方流行病，主要见于东南亚、印度东部和我国南部等地区 [7]，随着人群的迁徙、流动，我国多个省份均有病例报道。

马尔尼菲篮状菌病发病隐匿，临床表现复杂、多样，主要为发热、贫血、脐窝样皮疹、体质量减轻等 [8]，临床症状、体征缺乏特异性 [9]，临床表现及影像学检查不典型 [10]，误诊率和漏诊率较高，若不及时诊治，病死率较高。在 AIDS 患者中该病的发病率为 4% ～ 14%[1]。李英等 [11] 对 861 例 AIDS 合并马尔尼菲篮状菌病患者的临床资料分析显示，合并马尔尼菲篮状菌感染者病死率达 14.98%。陶鹏飞等 [12] 通过对 46 例 AIDS 合并脓毒症患者的临床特点分析发现，其中 30% 的患者感染的病原体为马尔尼菲蓝状菌，病死率达 21.74%。该病发病隐匿，病程进展快，病死率高，及时诊断和治疗对患者的预后转归非常重要。

关于 AIDS 合并马尔菲篮状菌病患者累及神经系统的报道极少。一项对 21 例合并精神系统症状 AIDS 患者的研究中发现，患者的脑脊液中均分离出马尔尼菲篮状菌，总体病死率为 81%[13]。覃江龙等 [14]2018 年曾报道了 1 例 AIDS 合并马尔尼菲蓝状菌脑膜炎病例，该病例以头痛为主要临床症状，临床诊断为结核性脑膜炎，经抗结核治疗效果不佳，患者出院后脑脊液培养结果提示马尔尼菲蓝状菌感染，因未及时进行抗真菌治疗，该患者最终死亡。根据 2020 年《艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病临床诊疗的专家共识》[3]，目前针对该病的治疗方案主要为两性霉素 B 诱导治疗，伊曲康唑巩固治疗的序贯疗法。伊曲康唑不建议用于诱导期治疗。推荐用法：两性霉素 B [0.5 ～ 0.7 mg/（kg·d），静脉滴注，

2 周] 诱导治疗，序贯伊曲康唑（200 mg，口服，2 次 /d）巩固治疗，10 周。累及神经系统的诱导期疗程可适当延长至 4 ～ 6 周。因两性霉素 B 有肝肾损害等不良反应，部分患者无法耐受，可用伏立康唑替代治疗。即使复查骨髓培养或血培养提示马尔菲篮状菌生长转阴，仍须完成相应疗程，以防复发。患者在完成相应疗程后应进行二级预防，予以伊曲康唑 200 mg/d，维持至 $CD4^+$ T 细胞计数＞ 100 个 /μl，可停止二级预防。

马尔尼菲篮状菌感染诊断的金标准是真菌培养和组织病理检查，但耗时较长；分子诊断及血清学诊断相对较快，但敏感度和特异度较差 [15]。随着免疫抑制剂的使用、肿瘤化疗及 AIDS 患者的增加，马尔尼菲篮状菌病的流行区域在不断扩大，病死率高，给人类健康带来了极大的危害，因此需要一种简单、快捷的检测手段。

NGS 技术，即高通量测序技术，在短时间内可检测上千种病原体，对多种病原体感染均具有诊断价值，被越来越多地应用于感染性疾病的诊断 [16]。《宏基因组学测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识（第一版）》[17] 指出，不同类型的临床样本中人宿主核酸的含量是不同的，单位体积的人宿主核酸含量排序为脑脊液＜支气管肺泡灌洗液＜血浆＜痰液＜胸腹腔积液。因此不同临床样本的送检量要求不同，不同样本的阳性率不同，宿主核酸含量高的样本要求的送检量少，阳性率高。NGS 检测结果无论阴性还是阳性，均须结合临床病史、常规实验室检查、影像学检查等相关情况综合评价。如果 NGS 检测微生物的结果与临床检测结果不一致，应作为怀疑的依据，可再次送 NGS 检测；如果 NGS 检测的病原体序列较前升高，则提示结果有临床意义，应选择相应的针对性的药物治疗。目前 NGS 的单次检测费用较先前已明显下降，且该技术已在多种疾病诊断中应用，尤其对于疑难及重症患者，快速鉴别病原体，减少其他经验性药物的使用，综合治疗费用可能更低。

本例患者有明确的 AIDS 病史，行抗病毒治疗，但机体免疫重建不佳，此次住院期间完善 HIV 耐药检查提示无耐药发生，追溯患者病史，有长期的不规律服用抗 HIV 药物史，故免疫重建不全，导致发生机会性感染。患者入院后的常规实验室及影像学检查未提示明确的感染病原体，予诊断性的抗结核治疗及脱水治疗，颅内压在逐渐升高，完善脑脊液 NGS 提示马尔尼菲篮状菌生长，序列数较低，仔细查体及反复追问流行病学史，均无马尔尼菲篮状菌感染诊断依据，再次复查脑脊液 NGS，仍提示马尔尼菲篮状菌生长，序列数较前增多，故明确诊断为马尔尼菲篮状菌脑膜炎，经两性霉素 B 抗真菌治疗，临床症状逐渐改善。

综上所述，临床医生应该加强对马尔尼菲篮状菌病的认识，熟悉其流行病学特点及临床表现。尤其对 AIDS 患者，要仔细询问病史、细致查体，拓宽病原学诊断思路。经常规治疗效果不明显时，或疑难及重症患者，应及时考虑 NGS 检测，协助明确病原学，避免漏诊和误诊。

【参考文献】

[1] Son VT, Khue PM, Strobel M. Penicilliosis and AIDS in Haiphong, Vietnam: evolution and predictive factors of death［J］. Med Mal Infect, 2014, 44(11–12):495–501.

[2] 周怡宏，鲁雁秋，陈耀凯. 艾滋病合并马尔尼菲蓝状菌的诊治现状及研究进展［J］. 中国真菌学杂志，2019，14(5):308–312.

[3] 十三五国家科技重大专项艾滋病机会性感染课题组. 艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病临床诊疗的专家共识［J］. 西南大学学报（自然科学版），2020，42(7):1–16.

[4] 中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组，中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南(2018 版)[J]. 传染病信息，2018，31(6):481–499，504.

[5] Samson RA, Yilmaz N, Varga J, *et al*. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*［J］. Stud Mycol, 2011, 70(1):159–183.

[6] Yilmaz N, Visagie CM, Frisvad JC, *et al*. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*［J］. Stud Mycol, 2014, 78:175–341.

[7] Chakrabarti A, Slavin MA. Endemic fungal infections in the Asia–Pacific region［J］. Med Mycol, 2011, 49(4):337–344.

[8] Ouyang Y, Cai S, Liang H, *et al*. Administration of voriconazole in disseminated *Talaromyces* (*Penicillium*) *Marneffei* infection: a retrospective study[J]. Mycopathologia, 2017, 182 (5–6):569–575.

[9] Supparatpinyo K, Khamwan C, Baosoung V, *et al*. Disseminated *Penicillium marneffei* infection in Southeast Asia［J］. Lancet, 1994, 344(8915):110–113.

[10] 张国丽，苏慧勇，杨磊，等. 36 例 AIDS 合并播散性马尔尼菲青霉菌病临床分析［J］. 传染病信息，2018，28(6):369–371.

[11] 李英，卢斯汉，胡荣欣，等. 861 例艾滋病合并马尔尼菲蓝状菌病的临床分析［J］. 热带医学杂志，2018，18(7):939–942.

[12] 陶鹏飞，汪习成，李惠琴，等. 46 例 AIDS 合并脓毒症患者临床特征分析［J］. 传染病信息，2020，33(6):521–522.

[13] Le T, Hong Chau TT, Kim Cuc NT, *et al*. AIDS–associated *Cryptococcus neoformans* and *Penicillium marneffei* coinfection: a therapeutic dilemma in resource–limited settings［J］. Clin Infect Dis, 2010, 51(9):65–68.

[14] 覃江龙，吴念宁，梁纲. 艾滋病合并马尔尼菲青霉菌感染中枢神经系统 1 例［J］. 中国热带医学，2021，18(4):410–412.

[15] Hien HTA, Thanh TT, Thu NTM, *et al*. Development and evaluation of a real–time polymerase chain reaction assay for the rapid detection of *Talaromyces marneffei* MP1 gene in human plasma[J]. Mycoses, 2016, 59(12):773–780.

[16] Miller MB, Tang YW. Basic concepts of microarrays and potential applications in clinical microbiology［J］. Clin Microbiol Rev, 2009, 22(4):611–633.

[17] 宏基因组学测序技术在中重症感染中的临床应用共识专家组. 宏基因组学测序技术在中重症感染中的临床应用专家共识（第一版）［J］. 中华危重症急救医学，2020，32(5):531–536.

（2021–05–26 收稿 2021–08–23 修回）

（本文编辑 闫晶晶）