

# 2015-2016 年长沙地区艾滋病患者深部真菌感染分布

王斌, 郭靖敏, 沈晖

长沙市第一医院, 湖南 长沙 410005

**摘要:** **目的** 探讨长沙地区艾滋病患者中,深部真菌感染分布情况,为临床诊疗提供参考。 **方法** 对 2015-2016 年在长沙市公共卫生救治中心住院治疗的艾滋病患者分别采集血液、骨髓、脑脊液及胸腹水标本,采用 BD 9120 全自动血培养仪进行培养、VITEK2 COMPACT 60 与 ATB 进行鉴定和药敏试验。 **结果** 长沙市公共卫生救治中心 2015-2016 年共收治艾滋病患者 2 535 例,共采集标本 8 321 份。8 321 份标本中分离真菌 325 株,首位为马尔尼菲青霉 220 株,其后依次为新型隐球菌 98 株、白假丝酵母 3 株、热带假丝酵母 2 株、光滑假丝酵母 2 株;剔除同一患者多部位检出同一真菌后,长沙地区 AIDS 住院患者马尔尼菲青霉感染率为 7.89%(200 株)、新型隐球菌感染率为 2.6%(66 株),马尔尼菲青霉、新型隐球菌两年间感染率差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。 **结论** 长沙地区艾滋病住院患者中深部真菌感染以马尔尼菲青霉为主,可侵犯血液、骨髓、胸腹腔,呈播散性感染;新型隐球菌感染以脑膜炎较为多见;建议在 AIDS 病例治疗过程中,结合临床多部位采集标本送检,提高深部真菌检出率。

**关键词:** 艾滋病;真菌;新型隐球菌;马尔尼菲青霉

**中图分类号:**R512.91 **文献标识码:**B **文章编号:**1006-3110(2019)05-0603-03 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2019.05.026

近年来,由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染,造成以免疫系统损害为主要特征的艾滋病即获得性免疫缺陷综合征(acquired immune deficiency syndrome, AIDS),呈现快速增长趋势。艾滋病真菌感染是仅次于结核感染的第二大机会感染性疾病<sup>[1]</sup>。我国广东地区艾滋病患者真菌感染以白假丝酵母、马尔尼菲青霉为主;云南及广西地区则主要以马尔尼菲青霉为主<sup>[2]</sup>。为了解长沙地区艾滋病患者中深部真菌感染分布(血液、脑脊液及骨髓等无菌体液),本文分析了长沙市公共卫生救治中心 2015 年 1 月 1 日-2016 年 12 月 31 日收治的艾滋病患者深部真菌感染分布情况,现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 2015 年 1 月-2016 年 12 月长沙地区艾滋病定点收治医院(长沙市公共卫生救治中心)住院治疗的 AIDS 患者送检的血液、骨髓、脑脊液、胸水及腹水标本,剔除同一患者相同标本中分离的重复菌株。艾滋病诊断符合 2004 年中华医学会和卫生部联合颁布的《中国艾滋病诊断与治疗指南》制定的诊断标准。

**1.2 试剂** 哥伦比亚血培养基、沙保罗氏培养基、念珠菌属真菌显色培养基(江门凯林),革兰氏染色液(珠海贝索)、酵母菌鉴定卡与真菌药敏试剂条 ATB

**作者简介:**王斌(1980-),男,本科学历,主要从事临床检验工作。

FUNGUS3(法国生物梅里埃),成人中和抗生素培养瓶(美国 BD 公司)。

**1.3 仪器** BD BACTE9120 全自动血培养仪(美国 BD 公司),VITEK2 COMPACT 60 全自动微生物鉴定仪与 ATB 微生物鉴定仪(法国生物梅里埃),NUAIR 二级生物安全柜(美国),Heal force HF160W CO<sub>2</sub> 培养箱(上海),Nikon Eclipse E200 显微镜(日本)。

**1.4 培养方法** 将临床采集血液、脑脊液等标本无菌操作注入培养瓶中,将培养瓶放入 BD BACTE9120 全自动血培养仪进行培养,当仪器提示阳性时,瓶口消毒、5 ml 无菌注射器抽取少量标本及时转种哥伦比亚血平板、沙保罗氏平板上,采取分区划线法进行分离,在分别放于 37 ℃ 和 25 ℃ 恒温孵育箱培养。

**1.5 真菌鉴定** 将阳性培养物接种于沙氏培养基,37 ℃ 培养 24~48 h,出现肉眼可见菌落,经涂片、革兰氏染色确定为有隔菌丝或孢子;对念珠菌属真菌显色培养基不能鉴定的酵母样真菌,用 VITEK2 COMPACT 60 YST 鉴定卡上机鉴定。

**1.5.1 马尔尼菲青霉鉴定特征** (1)青霉相:沙氏培养基在 25 ℃ 培养 5~7 d 后菌落呈浅灰褐色至淡红色绒毛状,用透明胶带粘取菌落中央气生菌丝、滴一滴甘油棉兰于玻片中央压片镜检,可见帚状枝双轮生、顶端有单链分生孢子,可见无色透明分隔菌丝。(2)双相性生长:沙氏培养基 37 ℃ 培养生长缓慢,5~7 d 后可见酵母样菌落、有脑回样皱褶呈淡灰褐色,沙氏培养基在 25 ℃ 培养 5~7 d 后产生气中菌丝,菌落淡黄色到灰

褐色绒毛状,压片呈青霉相。(3)玫瑰红色素:沙氏培养基在 25 ℃培养 1~2 周后,菌落周围产生红葡萄酒样色素并扩散到整个培养基。

1.5.2 新型隐球菌鉴定特征 沙氏培养基 25 ℃培养 2~3 d 可见白色酵母样菌落,时间较长时呈奶油样白色、凸起菌落,用 VITEK2 COMPACT 60 真菌(YST)鉴定卡上机鉴定得到准确结果。

1.6 药物敏感性分析 采用法国生物梅里埃 ATB 系统及配套 ATB Fungus3 酵母菌药敏卡及稀释液进行药敏试验,判读为上机自动判读。结果参考 CLSI 2009 版药敏试验标准,每批次质控菌株均在规范范围内。

1.7 统计学分析 将数据录入 WHONET 5.6 软件进

行分析,计数资料采用 $\chi^2$  检验进行组间比较。检验水准  $\alpha=0.05$ (双侧)。

2 结 果

2.1 病原性真菌分布 2015-2016 年长沙市公共卫生救治中心住院治疗的艾滋病患者 2 535 例(2015 年 1 150 例,2016 年 1 385 例),采集的血液、骨髓、脑脊液和胸腹水共计 8 321 瓶培养标本中,剔除重复送检报阳培养瓶,共分离到 325 株真菌。主要为马尔尼菲青霉 220 株(67.7%)、其次为新型隐球菌 98 株(30.2%)、白假丝酵母 3 株(0.9%)、热带假丝酵母 2 株(0.6%)及光滑假丝酵母 2 株(0.6%)。见表 1。

表 1 2015-2016 年长沙地区 AIDS 患者标本来源及病原性真菌分布(n, %)

标本来源	马尔尼菲青霉		新型隐球菌		白假丝酵母		热带假丝酵母		光滑假丝酵母		2015 年 合计	2016 年 合计
	2015 年	2016 年	2015 年	2016 年	2015 年	2016 年	2015 年	2016 年	2015 年	2016 年		
血液	81(55.8)	104(57.7)	21(14.5)	14(7.8)	0(0.0)	1(0.6)	0(0.0)	1(0.6)	0(0.0)	0(0.0)	102(70.3)	120(66.7)
骨髓	8(5.5)	16(8.9)	0(0.0)	1(0.6)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	8(5.5)	17(9.4)
脑脊液	0(0.0)	0(0.0)	30(20.7)	32(17.6)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	30(20.7)	32(17.8)
胸水	1(0.7)	3(1.7)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.6)	1(0.7)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.6)	2(1.4)	5(2.8)
腹水	2(1.4)	5(2.7)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.7)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.6)	3(2.1)	6(3.3)
合计	92(63.4)	128(71.0)	51(35.2)	47(26.0)	1(0.7)	2(1.2)	1(0.7)	1(0.6)	0(0.0)	2(1.2)	145(100.0)	180(100.0)

2.2 主要真菌感染率 2015 年、2016 年长沙市公共卫生救治中心艾滋病科分别收治 AIDS 患者 1 150、1 385 例,实际感染人数为剔除同一患者多部位检出同一真菌。马尔尼菲青霉感染率为 7.89%,新型隐球菌感染率为 2.60%,马尔尼菲青霉、新型隐球菌两年间感染率差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),结果见表 2。

表 2 2015-2016 年长沙地区艾滋病患者马尔尼菲青霉与新型隐球菌实际感染率调查

年度	马尔尼菲青霉			新型隐球菌	
	检测例数	感染人数	感染率(%)	感染人数	感染率(%)
2015	1 150	86	7.48	34	2.96
2016	1 385	114	8.23	32	2.31
合计	2 535	200	7.89	66	2.60
$\chi^2$ 值	0.49			1.03	
$P$ 值	0.484			0.309	

2.3 药敏实验 新型隐球菌药敏统计,对两性霉素 B、5-氟胞嘧啶敏感率为 100%,对氟康唑敏感率为 98.9%;白假丝酵母、热带假丝酵母对两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、氟康唑、依曲康唑、伏立康唑敏感率为 100%,光滑假丝酵母对两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、伏立康唑敏感率为 100%。

3 讨 论

人类免疫缺陷病毒(HIV)感染引起的艾滋病

(AIDS)病例逐年增加,由于患者细胞免疫和体液免疫均有不同程度的受损易发生机会性感染,AIDS 患者在社区治疗中的长期大量不规则使用广谱抗生素史,也增加了真菌感染的机会<sup>[3]</sup>。常见机会性感染病原体有结核分枝杆菌、真菌等,其中国内报道常见真菌有假丝酵母、马尔尼菲青霉、新型隐球菌和曲霉等,组织胞浆菌较少见。

马尔尼菲青霉(*penicillium marneffei*, PM)属双向真菌为胞内寄生菌,感染人体后寄生在单核-吞噬细胞内,机体内被 PM 激活而致敏的 CD4<sup>+</sup> T 细胞可合成和释放多种细胞因子,并活化巨噬细胞聚集、杀伤 PM 感染灶。因此细胞免疫功能低下或者缺陷时,如 AIDS、严重感染、应用免疫抑制剂、恶性肿瘤等患者,机体 CD4<sup>+</sup> T 细胞减少、巨噬细胞不能及时杀灭入侵的 PM 孢子,致使 PM 在体内迅速繁殖并广泛播散,所以 PM 常被认为是 AIDS 患者特有病原菌<sup>[4]</sup>。PM 主要分布于东南亚及我国广东、广西、湖南、云南等南方省份,其主要中间宿主为银星竹鼠且自然带菌率高达 93.2%<sup>[5]</sup>,感染途径为竹鼠分泌排泄物经水流污染土壤,人通过皮肤、消化道和呼吸道而感染。大多数 AIDS 合并 PM 感染患者表现为广泛的播散性感染,多有脓毒血症症状且常侵犯血液、骨髓、皮肤和淋巴结等,如不治疗死亡率高达 91.3%<sup>[6]</sup>。长沙地区 AIDS