

# AIDS 患者血液与脑脊液中真菌检测及药敏分析

欧紫娟<sup>1,2</sup>, 陈胜华<sup>3</sup>, 蔡恒玲<sup>3</sup>, 杨 赟<sup>1</sup>, 柏琴琴<sup>1</sup>, 陈丽丽<sup>1\*</sup>

(1. 南华大学公共卫生学院卫生检验系, 湖南 衡阳 421001;

2. 岳阳县水务局农村饮用水安全水质检测中心; 3. 南华大学医学院)

**摘要:** **目的** 分析艾滋病(AIDS)患者血液及脑脊液中真菌种类及其耐药性,为临床诊疗 AIDS 患者机会性感染提供参考。**方法** 收集 2011~2014 年某传染病医院接诊 AIDS 患者的血液和脑脊液标本,对其中病原性真菌进行分离、鉴定,并对新生隐球菌进行药敏分析。**结果** 共分析 AIDS 患者血液培养阳性标本 477 份、脑脊液培养阳性标本 109 份,真菌检出率分别为 66.88% (319/477) 和 66.97% (73/109),其中血液中以马内菲青霉菌检出率最高,为 53.04% (253/477),脑脊液中以新生隐球菌检出率最高,占 66.06% (72/109)。新生隐球菌对两性霉素 B、氟康唑、5-氟胞嘧啶均高度敏感。**结论** AIDS 患者合并真菌感染率较高,其中常见的是马内菲青霉菌和新生隐球菌。

**关键词:** 艾滋病; 马内菲青霉菌; 新生隐球菌; 药物敏感性

中图分类号:R512.91 文献标识码:A

## Analysis of Pathogenic Fungus Isolated from Blood and Cerebrospinal Fluid of AIDS Patients

OU Zijuan, CHEN Shenghua, CAI Hengling, et al

(Department of Sanitary Inspection, School of Public Health, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the species and drug-resistance of pathogenic fungus isolated from blood and cerebrospinal fluid (CSF) of AIDS patients, so as to provide reference for clinical diagnosis and treatment. **Methods** The blood and CSF samples were collected from AIDS patients from a hospital for infectious diseases during 2011 to 2014. The pathogenic fungus were isolated and identified, then the drug sensitivity was analyzed. **Results** Totally 477 blood and 109 CSF specimens were analyzed, and the fungi positive rate were 66.88% (319/477) and 66.97% (73/109). Among the 477 blood samples, 319 fungi strains were isolated and *Penicillium marneffei* was the main pathogens which positive rate was 53.04% (253/477). In the 109 CSF samples, 73 fungi strains were isolated and the most common member was *Cryptococcus neoformans* whose positive rate was 66.06% (72/109). *Cryptococcus neoformans* exhibited high sensitive to Amphotericin B, Fluconazole and 5-flucytosine. **Conclusion** AIDS patients have a high opportunity to co-infect with fungus, and the most isolates are *P. marneffei* and *C. neoformans*.

**Key words:** AIDS; *Penicillium marneffei*; *Cryptococcus neoformans*; drug sensitive

艾滋病(Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS),又称为获得性免疫缺陷综合征,是因 HIV 侵入机体,破坏 CD4<sup>+</sup> 淋巴细胞,引起细胞免疫严重缺陷,导致以机会性感染、恶性肿瘤和神经系统病变为

特征的临床综合征<sup>[1]</sup>。自 1981 年 6 月发现首例艾滋病以来,该疾病迅速蔓延。在全世界死因顺位中因 AIDS 死亡居第四位,败血症、菌血症是艾滋病患者病情加重乃至死亡的重要原因<sup>[2-5]</sup>。AIDS 患者合并感染的病原微生物包括各种细菌和真菌,而其种类在不同国家和地区有所差异<sup>[6-8]</sup>。由于抗细菌抗生素的广泛使用,真菌引起 AIDS 患者机会性感染

的地位更为突出,常见的机会性感染真菌有白假丝酵母菌、马内菲青霉菌、新生隐球菌等<sup>[9-12]</sup>。因此,研究 AIDS 患者血液及脑脊液中病原性真菌的种类及其对抗生素的敏感性,对临床治疗 AIDS 合并菌血症患者有重要意义。

本文拟以某传染病医院 2011 ~ 2014 年收治住院的 AIDS 确诊患者(由疾病预防控制中心确诊)为研究对象,检测其血液和脑脊液标本中的真菌种类,并进行药敏试验,为临床合理治疗 AIDS 合并机会性感染患者提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 标本来源于某传染病医院 2011 年 1 月 ~ 2014 年 12 月住院及门诊的已确诊的艾滋病患者,其中血液培养阳性标本 477 份、脑脊液培养阳性标本 109 份。

**1.2 主要试剂** ATB™ FUNGUS3 真菌药敏试剂条、ID32GN 革兰阴性杆菌鉴定卡、ID32C 酵母菌鉴定卡、ATB™ PSE5 非酵母菌药敏试剂条,均购自法国梅里埃生物公司。成人中和抗生素培养瓶,购自美国 BD 公司。血琼脂平板、沙氏培养基、柯玛嘉念珠菌显色培养基,购自杭州微生物试剂有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 微生物分离培养** (1) 血液标本:取患者血液标本 8 ~ 10 mL 于血培养瓶中,置于 BD BACTE 9120 全自动血液快速培养仪进行培养,待仪器报警显示阳性时,取出标本,用注射器吸取少量标本,分区划线接种于血琼脂平板和沙氏培养基,分别置于 35 ℃ 和 25 ℃ 孵育箱中培养。(2) 脑脊液标本:将收集的脑脊液高速离心,去上清,取少量沉淀涂片,染色镜检。临床疑似流行性脑脊髓膜炎或化脓性脑脊髓膜炎时,进行革兰染色镜检;疑为结核性脑脊髓膜炎时,作抗酸染色;疑为真菌性脑膜炎时,进行墨汁负染色。

**1.3.2 微生物鉴定** 血琼脂平板 35 ℃ 培养 24 ~ 36 h,沙氏培养基 25 ℃ 培养 48 ~ 72 h 后,取典型菌落,涂片、染色镜检进行初步鉴定。疑似念珠菌的菌株转种至柯玛嘉念珠菌显色培养基培养,根据所显示的颜色进行辨别;若有用柯玛嘉念珠菌显色培养基不能鉴定的酵母样真菌,则用 ATB ID32C 酵母菌生化鉴定卡对其进行鉴定。

(1) 马内菲青霉菌鉴定。培养特征:25 ℃ 培养,生长较快。菌落由最初的淡黄白绒毛状变为棕红色,有皱褶,可产生玫瑰红色色素。35 ℃ 培养时为酵母相,光滑、圆形或卵圆形菌落,菌落呈膜状、有细小褶皱,淡灰白色或奶酪色。镜检特征:25 ℃ 培养物,镜下可见分隔菌丝,分生孢子梗光滑,分散帚状枝,双轮生,稍不对称,瓶梗顶端变窄,球形分生孢子,呈链状排列。35 ℃ 培养物,可见圆形或长方形的关节孢子。(2) 新生隐球菌的鉴定。在沙氏或血琼脂培养基上,25 ℃ 或 35 ℃ 下均生长良好。数天后形成酵母型菌落,初为乳白色细小菌落,增大后表面黏稠、光滑,后转变为橘黄色,最后变成棕褐色。在麦芽汁液体培养基中,25 ℃ 孵育 3 天后浑浊生长,可有少量沉淀或菌膜。菌体为圆形酵母样细胞,菌体外围有一层肥厚的胶质样荚膜。用墨汁负染色后镜检,可在黑色背景中见到圆形或卵圆形的透亮菌体。(3) 其他病原菌的鉴定:挑取单个菌落制成 0.5 麦氏单位浓度的病原菌悬液,然后将制备的悬液加入鉴定卡的杯型器中培养 24 h 以上,用 ATB Expression™ 微生物鉴定仪自动判读或根据说明书提供的结果判读表进行人工判读。

**1.3.3 新生隐球菌药物敏感性分析** 将新生隐球菌菌液无菌加入药敏板中,抗菌药物为:5-氟胞嘧啶、氟康唑、两性霉素 B,将药敏板置于温箱中 35 ℃ 孵育 24 ~ 48 h,再用 1525 型梅里埃微生物鉴定系统检测,并统计结果。在含有抗菌药物的培养基中,浊度的增加提示细菌生长,按照美国临床实验室标准协会(CLSI)2010 ~ 2013 版判断标准,以敏感或耐药报告结果。

## 2 结 果

**2.1 AIDS 患者血液及脑脊液标本中病原菌检出情况** 本文检测 2011 ~ 2014 年该医院收治的艾滋病患者血液阳性标本和脑脊液阳性标本合计 586 份,其中血液标本 477 份、脑脊液标本 109 份,培养发现均为单一菌种。结果显示,血液和脑脊液标本中真菌检出率高于细菌( $P < 0.01$ )。2011 ~ 2014 年间,血液标本中,真菌所占比率依次为 72.41%、66.38%、72.17%、60.38%,平均为 66.88%;脑脊液标本中,真菌所占比率依次为 60.00%、77.27%、75.00%、57.89%,平均为 66.97% (表 1)。

表 1 2011 ~ 2014 年 AIDS 患者血液和脑脊液标本中病原菌检出情况

| 年份   | 血液(例,%)     |             |     | 脑脊液(例,%)   |            |     |
|------|-------------|-------------|-----|------------|------------|-----|
|      | 真菌          | 细菌          | 合计  | 真菌         | 细菌         | 合计  |
| 2011 | 63(72.41%)  | 24(27.59%)  | 87  | 16(60.00%) | 9(40.00%)  | 25  |
| 2012 | 77(66.38%)  | 39(33.62%)  | 116 | 17(77.27%) | 5(22.73%)  | 22  |
| 2013 | 83(72.17%)  | 32(27.83%)  | 115 | 18(75.00%) | 6(25.00%)  | 24  |
| 2014 | 96(60.38%)  | 63(39.62%)  | 159 | 22(57.89%) | 16(42.11%) | 38  |
| 合计   | 319(66.88%) | 158(33.12%) | 477 | 73(66.97%) | 36(33.03%) | 109 |

$\chi^2 = 131.089, P = 0.000$        $\chi^2 = 23.564, P = 0.000$

## 2.2 AIDS 患者血液及脑脊液标本中真菌种类的构成

2.2.1 血液中真菌种类的构成情况 477 份血液培养阳性标本中,共检出真菌 319 株,真菌检出率为 66.88%,其中马内非青霉菌检出率最高,共检出 253 株,占 79.31%,其次为新生隐球菌,共检出 63 株,占 19.75%,其它真菌 3 株,占 0.94%(表 2)。

2.2.2 脑脊液中真菌种类的构成情况 109 份脑脊液培养阳性标本中,共检出真菌 73 株,真菌检出率为 66.97%(73/109),其中新生隐球菌 72 株,占 98.63%,腐殖隐球菌 1 株,占 1.37%。

表 2 2011 年 ~ 2014 年 AIDS 患者血液标本中病原性真菌检出情况

| 菌种     | 株数  | 构成比(%) |
|--------|-----|--------|
| 马内非青霉菌 | 253 | 79.31  |
| 新生隐球菌  | 63  | 19.75  |
| 其他真菌   | 3   | 0.94   |
| 合计     | 319 | 100.00 |

2.3 新生隐球菌药敏分析 检测新生隐球菌对 3 种常用抗真菌药物的敏感性,发现新生隐球菌对两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、氟康唑均高度敏感,敏感度达 100%,只有氟康唑检出少数耐药菌株(表 3)。

表 3 新生隐球菌的药物敏感性(株,%)

| 年份   | 菌株数 | 5-氟胞嘧啶     | 氟康唑        | 两性霉素 B     |
|------|-----|------------|------------|------------|
| 2011 | 15  | 15(100.00) | 15(100.00) | 15(100.00) |
| 2012 | 17  | 17(100.00) | 16(94.12)  | 17(100.00) |
| 2013 | 18  | 18(100.00) | 18(100.00) | 18(100.00) |
| 2014 | 22  | 22(100.00) | 21(95.45)  | 22(100.00) |
| 合计   | 72  | 72(100.00) | 70(97.22)  | 72(100.00) |

## 3 讨 论

目前我国面临艾滋病发病和死亡的高峰期,合并感染病原菌是艾滋病患者病情加重乃至死亡的重

要原因。真菌也是 AIDS 合并感染的常见病原体,了解 AIDS 患者机会性感染病原性真菌的种类分布及其对抗菌药物的敏感性,能为临床合理用药提供依据,进而提高 AIDS 合并感染患者的生存质量。

本文针对某传染病医院 2011 年 1 月 ~ 2014 年 12 月收治的 AIDS 确诊患者,收集血液培养阳性及脑脊液培养阳性标本,对真菌分布及药物敏感性特点进行分析。血液和脑脊液标本中真菌检出率均较高,检出率最高的分别为马内非青霉菌和新生隐球菌,与国内其他学者报道一致<sup>[12-14]</sup>。

马内非青霉菌最初通过吸入而致肺部感染,随后入血引起菌血症,并随血流播散引起其他部位感染,通常侵犯淋巴系统、肝脏、脾和骨骼。马内非青霉菌在 AIDS 患者血液中的检出率远远高于其他病原菌,说明马内非青霉菌是引起艾滋病患者感染的常见机会性致病菌之一,国内外均有类似报道,并且马内非青霉菌感染被确认为是艾滋病指征之一,为艾滋病患者特有的感染病原体<sup>[15-18]</sup>。

新生隐球菌性脑膜炎是艾滋病患者常见的中枢神经系统感染病原体之一,在发展中国家,新生隐球菌具有较高的流行率。本研究中,艾滋病患者的脑脊液培养阳性标本中,新生隐球菌检出率达 66.06%(72/109)。

由于马内非青霉菌很少产生耐药性变异,临床上一般做经验治疗。因此,本实验主要针对检出的新生隐球菌进行了药物敏感性实验。结果显示,新生隐球菌对临床常用的抗真菌药物 5-氟胞嘧啶和两性霉素 B 的敏感性达 100%,72 株中有 2 株对氟康唑耐药,这与易璨珺等报道一致<sup>[19]</sup>。目前公认抗真菌感染的最佳药物是两性霉素 B,因其能选择性地与真菌细胞膜的麦角甾醇结合,破坏细胞膜的通透性,使细胞质往外渗出,从而使真菌死亡,对绝大多数致病真菌有抗菌活性。

综上所述,本文分析了某传染病医院 AIDS 并发感染的患者血液和脑脊液中的主要真菌种类,并

检测了新生隐球菌的药物敏感性,对 AIDS 病人的预见性护理及并发感染的治疗具有参考意义。

#### 参考文献:

- [1] 李兰娟. 感染微生物学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2012:524-557.
- [2] 石学峰,边学峰,王伟庆,等. 艾滋病中医药防治现状及相关政策[J]. 中国全科医学,2015,18(2):127-131.
- [3] 李红星,李东东,陈颖,等. 艾滋病合并肺部感染病例实验室结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(8):1985-1986.
- [4] 卢祥婵,黄爱春,欧汝志,等. 艾滋病住院患者 137 例死亡原因分析[J]. 中国临床新医学,2012,5(3):204-206.
- [5] 廖清华,邓爱花,周小军,等. 江西省艾滋病治疗患者死亡现状及其影响因素分析[J]. 现代预防医学,2015,42(2):335-338.
- [6] Huang L, Quartin A, Jones D, et al. Intensive care of patients with HIV infection[J]. N Engl J Med, 2006, 355(2):173-181.
- [7] Leek H, Chang UI, Kim HW, et al. Acute respiratory failure associated with cryptococcal pneumonia and disseminated cryptococcosis in an AIDS patient[J]. Korean J Intern Med, 2006, 21(1):39-42.
- [8] Li H, Sang J, Li R, et al. Disseminated penicillium marneffeii infection with verrucoid lesions in an AIDS patient in Beijing, a non-endemic region[J]. Eur J Dermatol, 2010, 20(3):378-380.
- [9] 魏寿忠,刘光惠,郑新兰,等. 艾滋病合并马尔尼菲青霉菌败血症的实验室诊断[J]. 国际检验医学,2009,30(11):1102-1103.
- [10] 郭靓,康梅,谢轶. 华西医院近年血液及脑脊液中真菌培养结果回顾性分析[J]. 现代预防医学,2013,40(8):1510-1513.
- [11] 樊萍. 50 例艾滋病并发真菌感染的药物治疗[J]. 中国医学工程,2014,22(4):108-109.
- [12] 韦小凤. AIDS 合并新生隐球菌感染的检测及药敏分析[J]. 中国医药指南,2013,11(9):14-15.
- [13] 唐秀文,张晶. 2350 例艾滋病患者血液培养病原体 and 药敏结果分析[J]. 广西医学,2010,32(7):782-785.
- [14] 华文浩,赵辉,王慧珠,等. 58 例艾滋病合并新型隐球菌脑膜炎病原学分析[J]. 中国卫生检验杂志,2011,21(3):630-632.
- [15] 谢宁. 马尔尼菲青霉菌的分离鉴定和在临床标本中的分布[J]. 检验医学与临床,2011,8(14):1777-1778.
- [16] Sudjaritruk T, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Immune reconstitution inflammatory syndrome from *Penicillium marneffeii* in an HIV-infected child: a case report and review of literature[J]. BMC Infect Dis, 2012, 12(1):28.
- [17] Santiso G, Chedlak V, Maiolo E, et al. Disseminated infection due to *Penicillium marneffeii* related to HIV infection: first observation in Argentina[J]. Rev Argent Microbiol, 2011, 43(4):268-272.
- [18] Han J, Lun WH, Meng ZH, et al. Mucocutaneous manifestations of HIV-infected patients in the era of HAART in Guangxi Zhuang Autonomous Region, China[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2013, 27(3):376-382.
- [19] 易璨璐,苏丽君,邹海蛟,等. 长沙地区 AIDS 合并菌血症患者病原菌分布及耐药性[J]. 中国感染控制杂志,2012,11(5):331,341-344,331.

(本文编辑:蒋湘莲)