

长沙地区 AIDS 合并菌血症患者病原菌分布及耐药性

易璨璐^{1,2}, 苏丽君¹, 邹海蛟¹, 王留杰¹, 左亚婵¹, 沈 晖³, 林雪迟¹

(1 长沙医学院临床微生物学与免疫学教研室, 湖南 长沙 410219; 2 黄沙坪铅锌矿医院, 湖南 郴州 424421; 3 长沙市第一医院, 湖南 长沙 410005)

[摘要] **目的** 探讨艾滋病(获得性免疫缺陷综合征, AIDS)合并菌血症患者病原菌分布及其耐药性, 为临床诊疗提供参考。**方法** 对 2009 年 1 月—2010 年 12 月某院住院患者送检标本中所有 AIDS 患者的血培养病原菌及其药敏资料进行回顾性分析, 并与同期普通患者血培养病原菌资料进行比较。**结果** 调查期间共收集 9 554 份血培养标本(其中 AIDS 患者标本 1 522 份), 普通患者血培养阳性 571 份, AIDS 患者血培养阳性 77 份。AIDS 患者血培养病原菌主要以真菌为主(81.82%), 其中马内非青霉菌占 66.23%, 其次是新生隐球菌(7.79%)、克鲁维酵母菌(5.19%), 细菌感染(18.18%)以散发病例为主; 普通患者血培养病原菌主要以细菌为主(91.42%), 真菌占 8.58%; 两组患者菌血症感染病原菌差异有统计学意义($\chi^2 = 254.55, P < 0.01$)。马内非青霉菌对两性霉素 B、氟康唑敏感性差; 而新生隐球菌、克鲁维酵母菌对抗真菌药物的敏感性较高, 无明显耐药。**结论** 加强 AIDS 合并菌血症患者机会致病菌的流行病学监测, 及早发现病原菌, 是实现感染控制的关键。

[关键词] 艾滋病; 获得性免疫缺陷综合征; 菌血症; 病原菌; 真菌感染; 抗药性; 微生物

[中图分类号] R512.91 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2012)05-0341-05

Distribution and drug-resistance of pathogens isolated from AIDS patients with bacteremia in Changsha

YI Can-jun^{1,2}, SU Li-jun¹, ZOU Hai-jiao¹, WANG Liu-jie¹, ZUO Ya-chan¹, SHEN Hui³, LIN Xue-chi¹ (1 Department of Clinical Microbiology and Immunology, Changsha Medical University, Changsha 410219, China; 2 Hunan Huangshaping Lead-zinc Mining Hospital, Chenzhou 424421, China; 3 The First Hospital of Changsha, Changsha 410005, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the distribution and drug-resistance of pathogens isolated from acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patients with bacteremia, so as to provide reference for clinical diagnosis and treatment. **Methods** The isolation and drug susceptibility of pathogens in blood culture of AIDS patients who were hospitalized between January 2009 and December 2010 were analyzed retrospectively, and compared with blood culture result of other patients during the same hospitalization period. **Results** A total of 9 554 blood specimens were collected, 1 522 of which were from AIDS patients, 77 blood specimens from AIDS patients and 571 from the other patients were positive for blood culture. The main isolated pathogens in AIDS patients were fungi(81.82%), the isolation rate of *Penicillium marneffeii*, *Cryptococcus neoformans*, and *Kluyveromyces marxianus* was 66.23%, 7.79%, and 5.19% respectively, bacterial infection was sporadic (18.18%); the major pathogens in blood culture of the other patients was bacteria (91.42%), while fungi was 8.58%; the difference in pathogens in blood culture between two groups was significant ($\chi^2 = 254.55, P < 0.01$). *Penicillium marneffeii* exhibited low sensitivity to amphotericin B and fluconazole, while *Cryptococcus neoformans* and *Kluyveromyces marxianus* were sensitive to antifungal agents. **Conclusion** The key to the control of infection in AIDS patients with bacteremia is to strengthen epidemiological survey and find pathogens as soon as possible.

[收稿日期] 2012-02-01

[作者简介] 易璨璐(1987-), 女(汉族), 湖南省郴州市人, 检验师, 主要从事临床微生物检验研究。

[通讯作者] 林雪迟 E-mail: xuechilin71@126.com

[Key words] acquired immunodeficiency syndrome; bacteremia; pathogen; fungal infection; drug resistance, microbial

[Chin Infect Control, 2012, 11(5):341-344, 331]

近年来,获得性免疫缺陷综合征(AIDS)和人免疫缺陷病毒(HIV)感染者数量不断增加。在不同地区与不同医院之间, AIDS 患者的菌血症病原菌构成比有所差异。欧美国家 AIDS 患者的菌血症以肺炎链球菌最常见,非洲地区则以沙门菌属和肺炎链球菌常见。AIDS 患者由于获得性免疫缺陷,易发生沙门菌属、志贺菌属及空肠弯曲菌等消化系统机会感染^[1]。我国广东地区 AIDS 患者机会性感染主要以白假丝酵母菌、马内菲青霉菌、结核杆菌为主;云南及广西则主要以马内菲青霉菌为主;河南、新疆地区均以结核杆菌为主^[2-3]。

为了解本地区 AIDS 患者机会致病菌感染现状及病原菌对抗菌药物的敏感性,我们回顾性地总结和分析了湖南省长沙市第一医院(长沙市公共卫生救治中心)2009年1月1日—2010年12月31日收治住院的1 522例 AIDS 患者血液培养的病原菌分布及药敏试验结果,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 2009年1月1日—2010年12月31日长沙市第一医院门诊与住院患者送检的血培养标本9 554份,其中 AIDS 患者血培养标本1 522份。

1.2 试剂 哥伦比亚血平板、嗜血杆菌巧克力平板、柯玛嘉念珠菌显色培养基(郑州贝瑞特),中国蓝(广州迪景),沙氏培养基(杭州天和),真菌药敏试剂条 ATB™ FUNGUS3、革兰阴性杆菌鉴定试剂 ID32GN、酵母菌鉴定试剂条 ID32C、非酵母菌药敏试剂条 ATB™ PSE5(法国生物梅里埃),革兰氏染色液(珠海贝索),成人中和抗生素培养瓶(美国 BD 公司)。

1.3 仪器 BD BACTE9120 全自动血液快速培养仪(美国),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 CO₂ 培养箱(上海),Olympus CX3.1 显微镜(日本)。

1.4 培养方法 将血培养瓶直接放入 BD BACTE 9120 全自动血液快速培养仪进行培养,待仪器提示阳性时,及时取出进行初步鉴定;用规格为 5 mL 的注射器吸取少量标本,并用接种环接种于血琼脂平

板和沙氏培养基上,采用分区划线法进行分离,然后分别置于 35℃ 和 25℃ 孵育箱培养。

1.5 病原菌的生物学鉴定 将标本接种于沙氏培养基,35℃ 培养 48~72 h,出现酵母样菌落,经涂片、革兰染色镜证实为酵母样真菌;对显色培养基不能鉴定的酵母样真菌,用 ATB ID32C 酵母菌生化鉴定卡上机鉴定。典型真菌鉴定特征如下^[4]。

1.5.1 马内菲青霉鉴定特征 (1)双向性:在 25℃ 培养为青霉相,在沙氏琼脂上约 3~4 d 开始生长。菌落初为浅褐色或淡黄色绒毛状,逐渐向周围扩展成淡红色绒毛状。在 37℃ 可见酵母相圆形、卵圆形、酵母样菌体,菌落呈膜状、有脑回样被褶,为淡灰褐色或奶酪色。(2)帚状枝:25℃ 培养 1 周后,透明胶带状菌落中央气生菌丝压片、甘油棉兰染色,镜下可见分隔菌丝、分生孢子梗光滑且无顶囊,帚状枝双轮生、散在稍不对称,顶端有单链分生孢子。(3)玫瑰红色素:在 25℃ 培养为青霉相菌落,2 周后背面可见似红葡萄酒色素并扩散至整个培养基呈玫瑰红色素。

1.5.2 新生隐球菌鉴定 沙氏培养基 25℃ 可见奶油色酵母样菌落,时间较长可呈黏液状,镜下可见圆形或卵圆形双层厚壁孢子,菌体可见单个出芽。脑脊液离心涂片行墨汁染色,可见厚壁孢子外有一层宽厚荚膜。法国生物梅里埃公司 ATB 细菌鉴定系统可以很好地鉴定该菌,使用 ID 32C 生化鉴定卡。

1.5.3 其他致病菌鉴定 主要采用自动化数字编码鉴定技术。先挑去单个可疑菌落于 5 mL 悬浮液,制成菌液。然后用移液器将待检测的菌液加至鉴定卡的分隔室内,培养 2~48 h。观察鉴定卡上各项反应,按判定表判定结果,所得结果按数字方式表达,输入计算机后应用相关软件,从而得出结果,包括属、种的名称。结合生物学特征、细菌生化反应特征进行鉴定。

1.6 药物敏感性分析 将抗菌药物微量稀释在条孔或条板中,加入菌悬液孵育后置于仪器或在仪器中直接孵育。通过测定细菌生长的浊度,或测定培养基中荧光指示剂的强度或荧光原性物质的水解,观察细菌的生长情况。在含有抗菌药物的培养基中,浊度的增加提示细菌生长,根据判断标准解释敏感或耐药。

主要采用法国生物梅里埃 ATB 微生物鉴定仪

及配套 ATB Fungus3 药敏板进行药敏试验,判读结果参照美国临床实验室标准化研究所 (CLSI) 2009 版抗菌药物敏感性试验标准。每批次质控菌株的最低抑菌浓度 (MIC) 均在规定的范围内。

2 结果

2.1 菌血症病原菌分布

9 554 份血培养标本中,普通患者培养阳性 571 份, AIDS 患者培养阳性 77 份。 AIDS 患者血培养病原菌以真菌为主, 主要为马内菲青霉菌, 呈显著优势分布, 其次是新生隐球菌、克鲁维酵母菌; 血培养阳性普通患者以细菌为主, 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌多见, 详见表 1。

两组患者的阳性标本中, 都存在一定程度的葡萄球菌属感染, 普通患者伴发葡萄球菌属感染的比例更高, 分别为 6.50% 与 22.23%。

表 1 AIDS 患者与普通患者血培养阳性病原菌分布

Table 1 Distribution of pathogens in positive blood culture from AIDS patients and the other patients

Pathogen from AIDS patients	No. of isolates	Constituent ratio(%)	Pathogen from other patients	No. of isolates	Constituent ratio(%)
<i>Penicillium marneffeii</i>	51	66.23	<i>Escherichia coli</i>	81	14.19
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6	7.79	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	49	8.58
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	4	5.19	<i>Staphylococcus hominis</i>	34	5.95
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	3.89	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	32	5.60
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	2.60	<i>Staphylococcus aureus</i>	31	5.43
<i>Acinetobacter spp.</i>	2	2.60	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	30	5.25
<i>Staphylococcus klossii</i>	2	2.60	<i>Enterococcus faecium</i>	21	3.68
<i>Salmonella typhi</i>	1	1.30	<i>Candida glabrata</i>	21	3.68
<i>Salmonella choleraesuis</i>	1	1.30	<i>Burkholderia cepacia</i>	20	3.50
<i>Staphylococcus warneri</i>	1	1.30	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19	3.33
<i>Escherichia coli</i>	1	1.30	<i>Enterobacter cloacae</i>	15	2.63
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1.30	<i>Staphylococcus capitis</i>	15	2.63
<i>Cryptococcus albidus</i>	1	1.30	Others*	203	35.55
<i>Cryptococcus humic</i>	1	1.30			
Total	77	100.00	Total	571	100.00

* : The top 5 pathogens in the other isolates were *Acinetobacter baumannii* (14 isolates), *Staphylococcus warneri* (7), *Staphylococcus xylosum* (7), *Candida albicans* (7), and *Candida tropicalis* (6)

2.2 AIDS 患者与普通患者菌血症主要病原菌的分布特点 AIDS 患者与普通患者菌血症病原菌的分布特点与主要病原菌的构成见表 2 与表 3。 AIDS 患者菌血症感染的病原菌主要以真菌为主 (占

81.82%), 细菌感染以散发病例为主 (占 18.18%); 普通患者感染病原菌主要以细菌为主 (占 91.42%), 真菌占 8.58%, 主要为光滑假丝酵母菌。 两组患者菌血症感染病原菌差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 2 AIDS 患者与普通患者菌血症感染病原菌类型比较 (例)

Table 2 Comparison in types of the pathogens between AIDS patients and the other patients with bacteremia(case)

Group	Blood culture		Total	χ^2	P
	Bacteria	Fungi			
AIDS patients	14	63	77	254.55	<0.01
Other patients	522	49	571		

表 3 AIDS 患者与普通患者菌血症感染的主要病原菌分布

Table 3 Distribution of the main pathogens from AIDS patients and the other patients with bacteremia

Main pathogen	AIDS patients with infection(case)	Percentage(%)	Other patients with infection(case)	Percentage(%)
<i>Penicillium marneffeii</i>	51	66.23	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6	7.79	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	0.00	81	14.19
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	0.00	49	8.58

2.3 AIDS 患者菌血症主要病原菌的药物敏感性
马内菲青霉菌对两性霉素 B、氟康唑敏感性差。

克鲁维酵母菌与新生隐球菌对抗真菌药物的敏感性
见表 4。

表 4 AIDS 患者菌血症感染的主要真菌药物敏感性(敏感率,%)

Table 4 Antifungal susceptibility of pathogens in AIDS patients with bacteremia(susceptibility rate,%)

Antifungal drug	<i>Kluyveromyces marxianus</i> (n = 4)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (n = 6)
5-Fluorocytosine	100.00	83.30
Voriconazole	100.00	-
Fluconazole	100.00	66.67
Amphotericin B	100.00	100.00
Itraconazole	100.00	-

3 讨论

由于机体免疫力低下,机会性感染已成为 AIDS 患者常见并发症之一,更是 HIV 感染者/AIDS 患者死亡的重要原因。本研究结果显示,长沙地区 AIDS 患者合并机会性感染病原菌以真菌较多见,尤其以马内菲青霉菌为主,占 66.23%,高于唐秀文等^[2]报道的广西地区 AIDS 合并马内菲青霉菌感染率 18.6%,可能与湖南地区温暖、潮湿的环境更适宜真菌的生长和传播有关。

马内菲青霉菌属于青霉菌属,可寄生于细胞内,是青霉菌属中唯一的温度依赖双相菌,具有侵犯血管的习性和潜能及在 37℃ 人体温度条件下生长繁殖的特征,该菌致病的凶险程度及病死率高于其他真菌^[5]。马内菲青霉菌适宜在气候温暖、潮湿的地区生长,流行地区主要在泰国、越南、老挝等东南亚国家及我国南部地区如云南、广东、广西、湖南一带。在东南亚,马内菲青霉菌引起的临床感染居第 3 位,仅次于结核杆菌和新生隐球菌,已成为隐球菌之后第 2 种常见的条件致病菌,被认为是 AIDS 患者特有感染病原体,泰国约有 20% AIDS 患者感染该菌^[6]。

人类感染马内菲青霉菌的确切途径尚未得到确认,一般认为是通过吸入空气中的马内菲青霉菌孢子而致病,并经血行播散至全身内脏器官。免疫缺陷及抗菌药物滥用导致菌群失调是易感因素之一^[7]。

AIDS 患者多数为社区感染,曾在基层医疗机构使用过广谱抗菌药物,极少用抗真菌药物,增加了真菌感染机会。

新生隐球菌主要感染脑和肺,20 世纪 80 年代后期,隐球菌感染是 AIDS 常见的并发症,发生率为 10%~25%,病死率为 35%;AIDS 合并隐球菌性脑膜炎治愈率极低,30% 患者在治疗中死亡^[8]。本组

AIDS 患者新生隐球菌感染率为 7.79%,与西方国家报道的 5%~10% 相近;克鲁维酵母菌感染率为 5.19%,属于肠道正常菌群,本身并不致病,对所有抗真菌药物均敏感,其控制与预防都较容易。

根据我们的研究,建议在 AIDS 患者的治疗过程中使用抗真菌药物,如 5-氟胞嘧啶、伏立康唑、氟康唑、两性霉素 B、伊曲康唑等,其中两性霉素 B 是目前公认抗真菌感染的首选药,它能选择性地与真菌细胞膜上的麦角甾醇结合,增加细胞膜的通透性,使菌体内物质外渗,导致真菌死亡^[9]。

两性霉素 B 可用于严重的马内菲青霉菌感染者,经验性治疗的常用剂量为 1 mg/(kg·d),疗程为 2 周。治疗显效后可改用伊曲康唑 200~400 mg/d,继续用 6 周。而中度感染者开始可用伊曲康唑或酮康唑,由于停药后该病易复发,一般宜口服伊曲康唑(200 mg/d)长期维持治疗。两性霉素 B 副作用大,临床上一般将氟康唑作为 AIDS 合并隐球菌脑膜炎患者的首选药。

加强 AIDS 合并菌血症患者机会致病性真菌的流行病学监测,特别是马内菲青霉菌的检测,治疗过程中及时使用抗真菌药物,对控制致病真菌医院感染的流行至关重要。

[参考文献]

[1] 朱元祺,秦萍,黄伟丽,等. 艾滋病患儿粪便中检出鼠伤寒沙门菌氏 1 例[J]. 世界华人消化杂志,2006, 14(12): 34-35.
 [2] 唐秀文,张晶. 2350 例艾滋病患者血培养病原体和药敏结果分析[J]. 广西医学,2010,32(7):782-785.
 [3] 庞秀慧,莫红梅. 新疆 100 例 HIV/AIDS 患者机体细胞免疫与合并机会性感染关系的研究[J]. 中国临床实用医学,2010,4(8):20-21.
 [4] Li X, Yang Y, Zhang X, et al. Isolation of *Penicillium marneffei* from soil and wild rodents in Guangdong, SE China[J]. Mycopathologia, 2011, 172(6): 447-451. (下转第 331 页)

IL-10,在一定程度上可以体现 CD4 + CD25 + Foxp3 + T 淋巴细胞的活性程度。耐药肺结核患者与非耐药肺结核患者外周血中的 TGF- β_1 、IL-10 明显高于健康人,且耐药肺结核患者的 TGF- β_1 、IL-10 也较非耐药肺结核患者显著增高,这与 CD4 + CD25 + Foxp3 + T 淋巴细胞的表达增高相一致。说明耐药肺结核患者在对多种抗结核药物耐药的同时,机体的细胞免疫功能同样减弱,其抑制了耐药结核病患者抵御耐药结核菌的侵袭能力,因此,能够比较充分地说明 CD4 + CD25 + Foxp3 + T 淋巴细胞对于耐药肺结核免疫抑制的重要作用。

总之,耐药肺结核患者机体抗结核免疫反应增强,增多的 CD4 + CD25 + Foxp3 + T 淋巴细胞在一定程度上抑制了抗结核菌感染的免疫力,使结核菌在体内长期生存,感染呈慢性化表现,并可能与结核菌出现多重耐药具有密切的相关性,而且 TGF- β_1 、IL-10 可能参与抑制机体细胞免疫并与耐药结核病的严重程度具有一定相关性。

[参 考 文 献]

- [1] World Health Organization. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB). 2010 global report on surveillance and response; WHO report 2010[R]. 2010.
- [2] Chiacchio T, Casetti R, Butera O, *et al.* Characterization of regulatory T cells identified as CD4(+)CD25(high)CD39(+) in

patients with active tuberculosis[J]. Clin Exp Immunol, 2009, 156(3):463-470.

- [3] 中华医学会结核病学分会. 耐药结核病规划管理指南[S]. 北京, 2008.
- [4] 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2):70-74.
- [5] Furuhashi K, Shirai T, Suda T, *et al.* Inflammatory markers in active pulmonary tuberculosis: association with Th1/Th2 and Tc1/Tc2 balance [J]. Kekkaku, 2012, 87(1):1-7.
- [6] Guyot-Revol V, Innes J A, Hackforth S, *et al.* Regulatory T cells are expanded in blood and disease sites in patients with tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 173(7):803-810.
- [7] Ribeiro-Rodrigues R, Resende Co T, Rojas R, *et al.* A role for CD4 + CD25 + T cells in regulation of the immune response during human tuberculosis[J]. Clin Exp Immunol, 2006, 144(1):25-34.
- [8] Sharma P K, Saha P K, Singh A, *et al.* Foxp3 + regulatory T cells suppress effector T-cell function at pathologic site in miliary tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(11):1061-1070.
- [9] Hougardy J M, Place S, Hildebrand M, *et al.* Regulatory T cells depress immune responses to protective antigens in active tuberculosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 176(4):409-416.
- [10] Rook G A. Th2 cytokines in susceptibility to tuberculosis[J]. Curr Mol Med, 2007, 7(3):327-337.
- [11] He X Y, Xiao L, Chen H B, *et al.* T regulatory cells and Th1/Th2 cytokines in peripheral blood from tuberculosis patients [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010, 29(6):643-650.

(上接第 344 页)

- [5] Li H, Sang J, Li R, *et al.* Disseminated *Penicillium marneffei* infection with verrucoid lesions in an AIDS patient in Beijing, a non-endemic region[J]. Eur J Dermatol, 2010, 20(3):378-380.
- [6] 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.
- [7] Sudjaritruk T, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Immune reconstitution inflammatory syndrome from *Penicillium marneffei* in an

HIV-infected child: a case report and review of literature[J]. BMC Infect Dis, 2012, 12:28.

- [8] 郭彩萍, 王景泉, 李在村, 等. 两性霉素 B 治疗 HIV/AIDS 合并新型隐球菌脑膜脑炎的疗效及不良反应[J]. 中国全科医学, 2006, 9(24):2041-2042.
- [9] Li M, Liao Y, Chen M, *et al.* Antifungal susceptibilities of *Cryptococcus* species complex isolates from AIDS and non-AIDS patients in Southeast China[J]. Braz J Infect Dis, 2012, 16(2):175-179.