

深圳地区 500 例 HIV/AIDS 患者 口腔真菌定植状况及药敏研究

张路坤 曹廷智 孙丽琴 葛风华 王辉

【摘要】 目的 探索 HIV/AIDS 患者口腔真菌定植情况、菌种分布以及耐药性,为艾滋病患者真菌感染的防治提供理论依据。**方法** 采用咽拭子法收集 500 例 HIV/AIDS 患者的口腔分泌物做真菌培养和药敏测试,同时计数外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞个数,收集患者高效抗逆转录病毒治疗(HAART)情况。**结果** 500 例 HIV/AIDS 患者中,存在 116 例阳性带菌者,阳性率为 23.2%,其中白色念珠菌 87 例(75.0%)。CD4⁺ T ≤ 350 个/μl 患者口腔真菌的检出率高于 CD4⁺ T > 350 个/μl 患者(85.34% vs 90.89%, $P < 0.0001$)。HIV RNA > 500 拷贝/ml 患者口腔真菌的检出率高于 HIV RNA < 500 拷贝/ml 的患者(37.07% vs 9.64%, $P < 0.0001$)。接受 HAART 治疗 > 2 年患者的口腔真菌阳性检出率较 HAART 治疗 < 2 年患者的口腔真菌阳性检出率低(45.56% vs 68.69%, $P < 0.0001$)。从耐药情况看,白色念珠菌、克柔念珠菌、光滑念珠菌和热带念珠菌对多数药物均有较高的耐药性。抗菌效果最好的药物为 5-氟胞嘧啶,其次为两性霉素 B。**结论** 白色念珠菌为 HIV/AIDS 患者口腔真菌定植的主要菌种。口腔真菌的定植情况和患者的免疫状态、是否接受 HAART 治疗有密切关联。5-氟胞嘧啶和两性霉素 B 的抗菌效果较好。

【关键词】 获得性免疫缺陷综合征;口腔真菌;定植;药敏

Oral fungal colonization and drug sensitivity of 500 patients with HIV/AIDS in Shenzhen ZHANG Lu-kun, CAO Ting-zhi, SUN Li-qin, GE Feng-hua, WANG Hui. Department of Infectious Diseases, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China
Corresponding author: WANG Hui, Email: huiwang98@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective Oral fungal colonization, species distribution and resistance in AIDS patients were detected to provide theoretical evidence for the prevention and treatment of fungal infections during AIDS prossing. **Methods** The fungal colonization and drug sensitivity status were determined by throat swabs. The oral secretion was isolated from 500 patients with AIDS and the number of CD4⁺ T lymphocyte cells in peripheral blood was simultaneously counted. **Results** There were 116 (23.2%) cases with positive fungi infection among the 500 cases with HIV/AIDS. There were 87 cases (75%) with *Candida albicans* infection in the positive carriers. The oral fungal detection rate in the patients with CD4⁺ T ≤ 350/μl was significantly higher than that in those with CD4⁺ T > 350/μl (85.34% vs 90.89%, $P < 0.0001$). The oral fungal detection rate of individuals with HIV RNA > 500 copies/ml was significantly higher than that in those with HIV RNA < 500 copies/ml (37.07% vs 9.64%, $P < 0.0001$). The oral fungal positive rate of patients received HAART for longer than 2 years was also higher than that of those received HAART for shorter than two years (45.56% vs 68.69%, $P < 0.0001$). *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* and *Candida tropicalis* were resistant to most anti-fungi drugs. The 5-fluorocytosine and amphotericin B were anti-fungi drugs with the best efficiency. **Conclusions** *Candida albicans* is the major strain of oral fungal colonization in HIV/AIDS patients. Oral fungal colonization status is significantly related to patient's immune status and dependent on HAART treatment. The 5-fluorocytosine and amphotericin B have better antibacterial effect than other drugs in this experiment.

【Key words】 HIV/AIDS; Oral fungal; Colonization; Drug sensitivity

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.01.022

基金项目:深圳市新发传染病重点专科项目(No.2011-61)

作者单位:518000 深圳市,深圳市第三人民医院感染科(张路坤、曹廷智、孙丽琴、王辉);深圳市宝安区中医院口腔科(葛风华)

通讯作者:王辉,Email:huiwang98@yahoo.com.cn

机会性感染和各种并发性肿瘤是导致艾滋病患者死亡的主要原因。其中,真菌感染具有较高发病率及病死率,而口腔是人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者/艾滋病(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)患者最常见的机会性真菌感染发病部位。口腔念珠菌是最常见的发病菌种,其发病率为 37%~52%^[1]。临床上往往将口腔念珠菌的感染作为 HIV/AIDS 感染者的首发症状及诊断依据。此外, HIV/AIDS 患者口腔念珠菌感染率在接受高效抗逆转录病毒治疗(highly active anti-retroviral treatment, HAART)治疗后会有一定程度的下降,在 HAART 治疗失败后则发病率上升,也是临床判断 HAART 治疗是否有效的指标之一^[2]。因此,了解 HIV/AIDS 患者口腔真菌感染、耐药状况及其与抗病毒(HIV)治疗之间的关系,对降低艾滋病临床漏诊率,间接评估 HAART 效果,提高临床合理用药水平均具有重要意义。鉴于上述目的,本研究收集了 2011 年 7 月~2011 年 9 月于本院艾滋病门诊确诊的 AIDS 患者口腔分泌物和血液样本,对艾滋病患者口腔真菌定植情况、菌种分布以及耐药性展开探讨,为艾滋病深部真菌感染的防治提供一定的理论依据。

资料与方法

一、研究对象以及入选标准

选取 2011 年 7 月~2011 年 9 月就诊于深圳市第三人民医院艾滋病门诊的 HIV/AIDS 患者,共 500 例。病例的诊断标准采用 1993 年美国疾病控制与预防控制中心制定的 HIV/AIDS 诊断标准。所有患者在采样前 2 周内均未接受过抗真菌治疗,排除非首次采样、严重肝肾功能受损、心肺功能障碍者、近期使用抗菌药物治疗者。所有患者知情同意后均签署了知情同意书,并经过医学伦理学委员会的同意。

二、方法

1. CD4⁺ T 淋巴细胞计数:外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞计数采用流式细胞仪进行荧光标记抗体检测。

2. 真菌的培养和鉴定:采用咽拭子法取患者的口腔分泌物作为研究标本,接种于氯霉素沙氏琼脂平板上,30℃培养 24~72 h,若未见真菌菌落生长则继续培养至 7 d。菌落长成后制成浓度为 2 McFarland 的混悬液,用 VITEK 自动微生物检测仪进行真菌鉴定。

3. 药敏试验:采用法国梅里埃公司提供的 ATB fungus 试剂盒(含 5 种抗真菌剂:5-氟胞嘧啶、两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑)进行药敏测试。标准质控的菌株为近平滑念珠菌 ATCC22019,

对所测试的 5 种抗真菌药物敏感性均佳。以形成的抑菌圈大小作为是否耐药的判读标准。5-氟胞嘧啶、氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑抑菌圈判读标准为:敏感(S)≥20 mm,中介(I)12~19 mm,耐药≤11 mm;两性霉素 B 抑菌圈判读标准为:敏感(S)≥15 mm,中介(I)10~14 mm,耐药情况下则不形成抑菌圈。

三、统计学处理

数据采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,连续变量采用独立样本 *t* 检验,分类变量采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、基本资料

本次研究共纳入 500 例艾滋病患者,平均年龄为(36.11 ± 10.10)岁,其中男性 420 例,女性 80 例。感染途径为:性途径感染者 212 例(42.40%),其中男男同性恋感染为 196 例(39.2%),异性接触感染为 16 例(3.20%);静脉吸毒感染者 148 例(29.60%);与血液制品相关感染例 32 例(6.40%);母婴传播例 6 例(1.20%);感染途径不详者 134 例(26.80%)。

二、口腔真菌的定植情况

1. 入组 500 例 HIV/AIDS 患者中,共分离到 116 例阳性带菌者,阳性率为 23.2%。从菌种分布情况来看,以白色念珠菌为主,占 75.0%(87/116);其次为克柔念珠菌 12 例(10.3%);其余菌种检出例数相对较少,分别为光滑念珠菌 5 例,近平滑念珠菌 4 例,热带念珠菌 4 例,新型隐球菌 1 例,其他念珠菌 3 例。

2. 口腔真菌定植与实验室指标间的相关性:116 例阳性带菌者中,93 例(80.17%)患者 CD4⁺ T 计数 ≤ 350 个/μl,高于阴性组(29.95%),差异具有显著统计学意义($P < 0.0001$)。HIV RNA > 500 拷贝/ml 的患者在阳性带菌者中的比率显著高于在阴性组中的分布频率(37.07% vs 9.64%),差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

85.34% 的阳性带菌者接受了 HAART 治疗,略低于真菌阴性组(90.89%),差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有接受 HAART 治疗的患者中,已治疗 2 年者口腔真菌检出率显著低于治疗不足 2 年者(31.31% vs 54.44%),差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。阳性带菌者和真菌阴性患者中分别有 19.15% 和 22.88% 接受了蛋白抑制剂的治疗,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

三、口腔真菌的耐药情况

本研究中白色念珠菌、克柔念珠菌、光滑念珠菌和热带念珠菌对氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑均具有较高的耐药性,而近平滑念珠菌、新型隐球菌则对 5 种药物均敏感。抗菌效果最好的药物为 5-氟胞嘧啶,仅 1 例发生耐药,耐药率为 0.9%;其次为两性霉素 B,耐药率为 5.2%;氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑的耐药率均较高,分别为 47.4%、63.8% 和 57.8%,见表 2。

讨 论

HIV 感染导致人体细胞免疫及体液免疫功能低下,是发生口腔真菌感染的主要原因。且从 HIV 感染到 AIDS 发病是一个慢性过程。在此期间,患者的免疫状况随病毒复制逐渐下降,非特异性感染机会增加,疱疹性口炎、口腔溃疡等疾病发生率增加,使得口腔黏膜的完整性遭到破坏,为真菌的繁殖创造了良好的条件。另外,广谱抗菌药物的应用也会导致口腔菌群失调,二重感染的机会增加^[3]。

研究表明,在 HIV 感染的各个阶段,无论患者是否进行 HAART 均有可能发生口咽部念珠菌感染。但是 CD4⁺ T 计数越低,口咽部念珠菌病的发生频率越高,发病程度也越重。口咽部念珠菌感染甚至可以是艾滋病患者早期的唯一表现,因此可以作为艾滋病诊断的重要指征^[4-5]。本研究在 500 例 HIV/AIDS 患者中分离到 116 例阳性带菌者,阳性率为 23.2%,高于国外文献报道的 5.8%~9.8%,可能与地区、人群或不同的感染阶段有关^[6]。值得注意的是,对于 HIV/AIDS 患者,口腔真菌感染往往为

深部真菌感染的前期表现,应该警惕同时存在其他部位的深部真菌感染的可能,如肺部、消化道以及中枢神经系统等。Shen 等^[7]研究发现,在我国住院艾滋病患者中,侵袭性真菌感染的发生率为 41.2%,侵袭性真菌感染的病死率高达 22.9%。但在临床上,多种原因造成深部真菌感染的早期诊断较为困难,而患者一旦出现深部真菌感染,临床症状重、预后差,且病死率高。另外,部分抗真菌药还可能会影响 HAART 疗效^[8]。因此,早期经验性抗真菌治疗十分重要。

在 CD4⁺ T < 350 个/ μ l 或 HIV RNA > 500 拷贝/ml 患者中,口腔真菌的检出率均高于 CD4⁺ T > 350 个/ μ l 或 HIV RNA < 500 拷贝/ml 者,提示口腔真菌病的发生与患者的免疫功能密切相关。虽然未观测到接受 HAART 治疗与否和口腔真菌检出率之间的相关性,但是接受 HAART 治疗的时间长度与口腔真菌检出率显著相关,已经进行 HAART 治疗 2 年的患者较 HAART 治疗不足 2 年的患者,其口腔真菌检出率显著降低。HAART 治疗的目的是最大程度地抑制 HIV 复制,一定程度上使患者的免疫功能得到恢复。研究资料显示 HIV 感染者在首次接受 HAART 后的 6 个月内多数可获得病毒应答,但其获得免疫学效应需要较长的时间。这也说明,只有通过有效地 HAART 治疗,使患者最终达到免疫功能恢复或部分恢复,才能真正降低口腔真菌感染机率。在资源欠发达地区,监测 HIV/AIDS 患者的口腔真菌状况可有助于评判 HAART 的效应。

表 1 HIV/AIDS 患者的实验室指标检测和 HAART 治疗情况 [(例)%]

组别	口腔真菌定植情况		χ^2	P
	阳性(n = 116)	阴性(n = 384)		
CD4 ⁺ T 计数				
> 350 个/ μ l	23(19.83)	269(70.05)	92.500	< 0.0001
\leq 350 个/ μ l	93(80.17)	115(29.95)		
HIV RNA				
> 500 拷贝/ml	43(37.07)	37(9.64)	49.887	< 0.0001
\leq 500 拷贝/ml	73(62.93)	347(90.36)		
接受 HAART 治疗				
否	17(14.66)	35(9.11)	2.935	0.087
是	99(85.34)	349(90.89)		
HAART 治疗年限				
> 2 年	31(31.31)	190(54.44)	16.505	< 0.0001
\leq 2 年	68(68.69)	159(45.56)		
是否使用蛋白酶抑制剂				
否	81(80.85)	273(77.12)	0.601	0.438
是	18(19.15)	76(22.88)		

表 2 所检出真菌的耐药率 [株(%)]

抗菌药物	白色念珠菌 (n = 87)	克柔念珠菌 (n = 12)	光滑念珠菌 (n = 87)	热带念珠菌 (n = 4)	近平滑念珠菌 (n = 4)	新型隐球菌 (n = 1)	其他念珠菌 (n = 3)
5-氟胞嘧啶	0(0)	0(0)	1(20.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
两性霉素 B	2(2.3)	2(16.7)	0(0)	2(50.0)	0(0)	0(0)	0(0)
氟康唑	48(55.2)	2(16.7)	1(20.0)	3(75.0)	0(0)	0(0)	1(33.3)
伊曲康唑	65(74.7)	3(25.0)	1(20.0)	3(75.0)	0(0)	0(0)	2(66.6)
伏立康唑	61(70.1)	1(8.3)	1(20.0)	3(75.0)	0(0)	0(0)	1(33.3)

在白色念珠菌的数种毒力因子中,分泌型天冬氨酸蛋白酶(secreted aspartyl proteinase,SAP)是至关重要的一种。SAP 不仅促进疾病播散,还会降低宿主抗微生物的防御能力^[9]。白色念珠菌 SAP 为天门冬氨酸蛋白酶。研究证实,蛋白酶抑制剂(protease inhibitor,PI)能抑制白色念珠菌从非致病态的酵母相转变成致病态的菌丝相^[10]。但本研究结果未发现使用 PI 与否和口腔真菌检出率相关,与之前的研究不一致。可能与本研究样本量较少,研究人群中 PI 使用率较低有关。

本研究表明,HIV 感染者的口腔真菌感染的种类和耐药性间存在差异^[11]。念珠菌群对 5-氟胞嘧啶与两性霉素 B 具有较低的耐药率,对氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑均有不同程度的耐药。因此,建议联合使用 5-氟胞嘧啶与氟康唑、或者在无禁忌证时使用两性霉素 B 进行抗真菌治疗。

参 考 文 献

- 汪习成,黄晓婕,张彤,等. HIV/AIDS 患者机会性感染特点分析. 中华内科杂志,2007,46(5):379-382.
- Baccaglioni L, Atkinson JC, Patton LL, et al. Management of oral lesions in HIV-positive patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,2007,103(Suppl 50):e1-e23.
- 吴小燕,王望梅,汤爱明,等. HIV/AIDS 患者的白色念珠菌感

染(附 13 例报道). 临床口腔医学杂志,2001,17(4):291.

- Greenspan D, Komaroff E, Redford M, et al. Oral mucosal lesions and HIV viral load in the Women's Interagency HIV Study (WIHS). Acquired Immune Defic Syndr,2000,25(1):44-50.
- Robinson PG, Challacombe SJ, Sheiham A, et al. Is erythematous candidiasis associated with advanced HIV disease? Oral Dis,1997,3(Suppl 1):S116-S118.
- Egusa H, Soysa NS, Ellepola AN, et al. Oral candidiasis in HIV-infected patients. Current HIV Research,2008,6(2):485-499.
- Shen YZ, QiTK, Ma JX, et al. Invasive fungal infections among patients with acquired immunodeficiency syndrome at a Chinese university hospital. Mycoses,2007,50(6):475-480.
- 卢洪洲,沈银忠. 艾滋病患者侵袭性真菌感染的治疗. 中国真菌学杂志,2011,6(2):65-69.
- Munro CA, Hube B. Anti-fungal therapy at the HAART of viral therapy. Trends Microbiol,2002,10(4):173-177.
- Gruber A, Speth C, Lukasser-Vogl E, et al. Human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor Candida albicans virulence properties in vitro. Immunopharmacology,1999,41(3):227-234.
- Vandenbossche I, Vaneechoutte M, Vendevenne M, et al. Susceptibility testing of fluconazole by the NCCLS broth microdilution method, E-test, and disk diffusion for application in the routine laboratory. Clin Microbiol,2002,40(3):211-214.

(收稿日期:2012-08-22)

(本文编辑:孙荣华)

张路坤,曹廷智,孙丽琴,等. 深圳地区 500 例 HIV/AIDS 患者口腔真菌定植状况及药敏研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2013,7(1):100-103.