

北京、河南、新疆地区 HIV/AIDS 相关慢性腹泻患者隐孢子虫感染检测分析

王慧珠 焦炳欣 田敬华 李敏 郭杰 刘颖 李兴旺 王玉光

【摘要】 目的 了解北京、河南、新疆地区 HIV 感染者和艾滋病患者(HIV/AIDS)相关慢性腹泻患者中隐孢子虫感染状况。方法 收集 3 个地区 HIV/AIDS 相关慢性腹泻患者粪便,采用甲醛-乙酸乙酯沉淀法集卵,用改良抗酸染色法染色检测隐孢子虫卵囊。同时检测患者血液 CD4⁺T 淋巴细胞计数。结果 253 例 HIV/AIDS 相关慢性腹泻患者的粪便标本中有 32 例为隐孢子虫阳性,感染率为 12.6%。北京、河南、新疆地区艾滋病慢性腹泻患者隐孢子虫感染率分别为 5.97%(4/67)、16.1%(24/149)和 10.8%(4/37),地区间差异有统计学意义($\chi^2=4.431, P<0.05$)。男性和女性艾滋病慢性腹泻患者隐孢子虫感染率分别为 11.2%(16/143)和 14.5%(16/110),差异无统计学意义($\chi^2=0.634, P>0.05$);城市和农村艾滋病慢性腹泻患者隐孢子虫感染率分别为 6.5%(7/104)和 16.8%(25/149),差异有统计学意义($\chi^2=5.596, P<0.05$);夏秋季与其他季节的艾滋病慢性腹泻患者隐孢子虫感染率分别为 14.0%(30/214)和 5.1%(2/39),差异无统计学意义($P>0.05$);艾滋病慢性腹泻患者处于 HIV 感染无症状期、有症状期、艾滋病期隐孢子虫感染率分别为 0%(0/7)、21.3%(19/89)、8.3%(13/157),差异有统计学意义($\chi^2=9.822, P<0.01$);不同 CD4⁺T 淋巴细胞计数水平 (cell/ μ l) 艾滋病慢性腹泻患者隐孢子虫感染率有差异, <200 为 20.4%(20/98), 200~499 为 9.23%(12/130), ≥ 500 为 0%(0/25),差异有统计学意义($\chi^2=10.33, P<0.01$)。艾滋病中晚期慢性腹泻患者,尤其是 CD4⁺T 淋巴细胞计数 <200 cell/ μ l 的患者其感染率明显增加。结论 3 个地区艾滋病慢性腹泻患者隐孢子虫感染率与性别无关;患者来自农村地区、CD4⁺T 淋巴细胞计数水平降低、疾病为中晚期患者易发生隐孢子虫感染。

【关键词】 HIV 感染者和艾滋病患者; 隐孢子虫; 慢性腹泻

Detection of *Cryptosporidium* infection among HIV/AIDS patients with chronic diarrhea in Beijing, Henan and Xinjiang of China WANG Hui-zhu, JIAO Bing-xin, TIAN Jing-hua, LI Min, GUO Jie, LIU Ying, LI Xing-wang, WANG Yu-guang. Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China

Corresponding author: WANG Yu-guang, Email: wygzhyiaids@126.com

This work were supported by grants from the National Science and Technology Mega-projects of China (No. 2008ZX10005-003, No. 2009ZX10005-014).

【Abstract】 **Objective** To investigate the *Cryptosporidium* infection and its epidemiological characteristics in HIV/AIDS patients with chronic diarrhea. **Methods** Stool samples collected from HIV/AIDS confirmed patients with chronic diarrhea who lived in Beijing, Henan and Xinjiang. Samples were concentrated by Formalin-Ethyl Acetate Sedimentation technique and stained by modified acid-fast stain (AFS) for the identification of oocysts by microscopy. CD4⁺T cells count was performed by Flow Cytometry. **Results** The overall infection rate of *Cryptosporidium* in AIDS patients was 12.6%(32/253). The infection rates of oocysts in the area of Beijing, Henan and Xinjiang were 5.97%(4/67), 16.1%(24/149) and 10.8%(4/37) respectively. The infection rate of oocysts in the urban areas was 6.5%(7/104) while in the countryside it was 16.8%(25/149) and the difference was significantly different. However, there were no any differences discovered between the infection rates on patient's gender or on infection occurred in different seasons. The infectious rates of oocyst in patients on different stages of the disease were also significantly different ($P<0.01$). **Conclusion** AIDS patients infected by *Cryptosporidium* were not rarely seen in northern China. The rate of

infection was not associated with patient's gender but was associated with patient's living environments. Patients living in the countryside, with lower level of CD4⁺T cells counts and at the middle/late stage of the disease, *Cryptosporidium* infection appeared to be high.

【Key words】 HIV/AIDS; *Cryptosporidium*; Chronic diarrhea

隐孢子虫(*Cryptosporidium*)是一种人畜共患性寄生原虫^[1],其感染在婴幼儿、免疫缺陷患者,尤其是艾滋病患者中感染率较高且危害严重而备受重视。1976年 Nime 等^[2]在美国报道 2 例人体隐孢子虫感染病例。1987年国内韩范等^[3]首次报道南京地区 2 例人体隐孢子虫感染病例。免疫缺陷患者尤其是艾滋病患者感染后会引致致死性腹泻,是艾滋病患者的主要致死因素之一^[4]。WHO 已于 1986 年将隐孢子虫病列为艾滋病的怀疑指标之一^[5]。艾滋病相关性慢性腹泻在 HIV 感染者和艾滋病患者(HIV/AIDS)中备受关注,其诊治问题始终是该研究领域中的热点和难点。

对象与方法

1. 研究对象:

(1)入组标准:253 例 HIV 感染者(均经过 WB 确认为 HIV 抗体阳性)慢性腹泻每日次数 > 3 次,腹泻持续时间 > 1 个月,年龄 18 ~ 70 岁。排除近 1 个月内接受过影响本次试验观察的药物治疗的,排除应用 HAART 药物(主要指蛋白酶抑制剂)抗病毒药物治疗导致慢性腹泻者,电子肠镜检查排除肠道肿瘤和慢性溃疡性结肠炎患者。

(2)患者概况:入组的 253 例中,来自北京地坛医院 30 例,北京佑安医院 37 例,新疆乌鲁木齐市北郊医院 37 例,河南省上蔡县中医医院 149 例。均为 2009 年 11 月至 2010 年 12 月住院或门诊患者,其中男性 143 例,女性 110 例,年龄 20 ~ 69 岁,平均 42.9 岁 ± 10.4 岁。HIV 感染途径:有偿供血 143 例,性接触 61 例,静脉吸毒 25 例,不详 24 例。104 例患者居住在城市,149 例患者居住在农村。214 例患者是在夏秋季(6—10 月)入组检测,39 例患者是在其他季节入组检测。253 例患者中处于 HIV 感染的无症状期 7 例,有症状期 89 例,艾滋病期 157 例;CD4⁺T 淋巴细胞计数水平(cell/μl),≥500 为 25 例,200 ~ 499 为 130 例,<200 为 98 例。

2. 研究方法:

(1)标本采集与处理:4 家医院分别留取患者的粪便标本 10 g 于 50 ml 离心管中,用 10% 的甲醛防腐,置 4 ~ 8 ℃ 冰箱保存后送至北京地坛医院中心实验室集中检测。中心实验室对收集的标本采用甲

醛-乙酸乙酯沉淀法进行卵囊浓聚。

(2)染色与镜检:采用改良抗酸染色法将涂好的标本用无水甲醇固定 30 s,用石炭酸品红染色 1 min,酸乙醇(10 ml 硫酸 + 90 ml 无水乙醇)脱色 2 min,之后再用 3% 孔雀绿复染 2 min,染好的玻片 60 ℃ 烘干约 5 min 后镜检。用 40× 或更高目镜检查 200 ~ 300 个视野,应用 100× 油镜进行内部形态的观察和鉴定。

(3)质量控制:每轮染色时,均用 10% 福尔马林保存的隐孢子虫阳性标本进行平行对照(阳性标本来自中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所馈赠)。

3. 统计学分析:采用 SAS 9.2 软件统计分析,计量资料以均数(\bar{x}) ± 标准差(s)进行统计描述,定性资料以频数、构成比(%)、发生率(%)进行统计描述,组间的比较运用 χ^2 检验或 Fisher 检验, I 类误差为 0.05, 双侧概率 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 隐孢子虫感染检出情况:253 份 HIV 慢性腹泻患者的粪便标本中,共检出隐孢子虫 32 株,阳性率为 12.6%。32 例患者中男女性各 16 例;其中来自河南(上蔡县)24 例,新疆和北京各 4 例;居住在农村和城市分别为 25 例和 7 例;夏秋季检出 30 例,其他季节检出 2 例;13 例处于艾滋病期,19 例为临床有症状期;CD4⁺T 淋巴细胞计数水平(cell/μl) < 200 为 20 例,200 ~ 499 为 12 例。32 例患者在入组前 7 d 内均有腹泻症状,粪便为稀便或水样便,大部分患者每日腹泻 4 ~ 6 次,最多 20 次。大部分患者腹泻时伴有轻度腹痛。肠镜检查 26 例患者,其中 19 例为直肠炎,3 例为结肠炎,4 例未见异常。

2. 隐孢子虫感染率的地区分布:北京、河南、新疆 3 个地区艾滋病患者隐孢子虫感染率分别为 5.97% (4/67)、16.1% (24/149) 和 10.8% (4/37), 地区间差异有统计学意义($\chi^2 = 4.431, P < 0.05$)。经济发达地区隐孢子虫的感染率要低于经济发展落后地区。

3. 隐孢子虫感染率的性别分布:男女性艾滋病患者隐孢子虫感染率分别为 11.2% (16/143) 和 14.5% (16/110), 差异无统计学意义($\chi^2 = 0.634, P > 0.05$)。隐孢子虫的感染率与性别无关。

4. 隐孢子虫感染率的城乡分布:城市和农村艾

滋病患者隐孢子虫感染率分别为6.5%(7/104)和16.8%(25/149),差异有统计学意义($\chi^2=5.596, P<0.05$)。居住农村的艾滋病患者其隐孢子虫感染率要高于城市患者。

5. 隐孢子虫感染率的检出季节分布:夏秋季(6—10月)与其他季节的艾滋病患者隐孢子虫感染率分别为14.0%(30/214)和5.1%(2/39),差异无统计学意义($P>0.05$)。隐孢子虫感染率与检出季节无关。

6. 不同患病期的隐孢子虫感染率:HIV感染无症状期、有症状期和艾滋病期隐孢子虫感染率分别为0%(0/7)、21.3%(19/89)和8.3%(13/157),差异有统计学意义($\chi^2=9.822, P<0.01$)。HIV感染中晚期患者隐孢子虫感染率明显要高于无症状期患者。

7. 不同CD4⁺T淋巴细胞计数水平的隐孢子虫感染率:CD4⁺T淋巴细胞计数水平($\text{cell}/\mu\text{l}$) <200 的患者其感染率为20.4%(20/98),200~499为9.23%(12/130), ≥ 500 为0%(0/25),差异有统计学意义($\chi^2=10.33, P<0.01$)。CD4⁺T淋巴细胞计数水平越低越容易感染隐孢子虫。

讨 论

Canning^[6]报道在艾滋病患者中隐孢子虫感染很普遍,其感染的机会和危害仅次于冈地弓形虫。隐孢子虫在艾滋病患者中的感染率高达48%,腹泻是患者致死的主要因素之一。黄民主等^[7]报道男性吸毒人群隐孢子虫感染率为19.05%,是隐孢子虫感染的高危人群。本研究253份HIV慢性腹泻患者粪便标本中共检出隐孢子虫32株,阳性率为12.6%,低于国外报道,与国内的报道接近。这可能由于隐孢子虫主要是由水源污染引起,通常所用的自来水氯化处理不足以杀死包裹,而外国多饮用自来水,我国则习惯饮开水^[8]。

本研究发现不同地区、居住环境的HIV感染慢性腹泻患者隐孢子虫感染率不同。河南省上蔡县的患者其隐孢子虫感染率明显高于北京和新疆地区患者,这主要是北京和新疆地区入组的患者基本是居住在城市,而上蔡县入组的患者主要来自农村。隐孢子虫的传播途径以卵囊经粪-口、手-口途径为主^[9]。隐孢子虫卵囊随宿主粪便排出体外时即有感染性,经过人间密切接触,以粪-口为重要的传播途径。在农村,粪便处理不当、用人畜粪施肥均是污染水源的重要因素,这也是上蔡县患者隐孢子虫感染率高的主要原因。

研究发现隐孢子虫病在一年四季均有发生,感

染率与季节无关。研究还发现HIV感染的慢性腹泻患者隐孢子虫感染率与患者的性别无关。

HIV感染中晚期患者随着病情的加重,CD4⁺T淋巴细胞计数水平降低,比无症状期和CD4⁺T淋巴细胞计数水平正常患者更易引发隐孢子虫感染。病程多变且严重,常为持续性霍乱样水泻,病情持续数周至数月,甚至迁延,危及生命。本研究32例患者在入组前7d内均有稀便或水样便腹泻,且症状较重。26例患者肠镜检查,22例结果异常。目前隐孢子虫病的检测方法有多种,包括病原学、免疫学和核酸分子生物学等方法^[10]。病原学诊断目前仍是隐孢子虫病确诊的金标准,多使用分离纯化法,从粪便浓集隐孢子虫卵囊,涂片染色后检查,极大地提高了粪检阳性率。抗酸染色法和改良抗酸染色法具有灵敏度高,比其他染色法更简便实用的优点。

参 考 文 献

- [1] Xiao L, Fayer R, Ryan U, et al. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev, 2004, 17(1): 72-97.
- [2] Nime FA, Burek JD, Page DL, et al. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology, 1976, 70(4): 592-598.
- [3] Han F, Tan WX, Zhou XL. Report of 2 cases of *Cryptosporidium* in Nanjing area. Jiangsu Med, 1987, 13: 692-694. (in Chinese) 韩范, 谭渭仙, 周性兰. 南京地区人体隐孢子虫病2例报道. 江苏医药, 1987, 13: 692-694.
- [4] Guarino A, Spagnuolo MI, Russo S, et al. Etiology and risk factors of severe and protracted diarrhea. J Ped Gastroenterol Nutr, 1995, 20: 173-178.
- [5] Zhang LX, Jiang JS. Research progression of *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. Acta Parasitol Med Entomol, 2001, 8(3): 184-191. (in Chinese) 张龙现, 蒋金书. 隐孢子虫和隐孢子虫病研究进展. 寄生虫与医学昆虫学报, 2001, 8(3): 184-191.
- [6] Canning EU. Protozoan infections. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1990, 84 Suppl 1: S19-24.
- [7] Huang MZ, Guan L, Xie MZ, et al. Study on condition of *Cryptosporidium* infection among male drug users in detoxification institute in Changsha city. Chin Public Health, 2003, 19(3): 301-303. (in Chinese) 黄民主, 关岚, 谢梅芝, 等. 长沙市某戒毒所男性吸毒人员中隐孢子虫感染状况的研究. 中国公共卫生, 2003, 19(3): 301-303.
- [8] Le XH, Wang H, Gou JZ, et al. Detection of *Cryptosporidium* infection among AIDS patients in Guangdong and Yunnan. Chin J Experi Clin Virol, 2008, 22(5): 339-341. (in Chinese) 乐晓华, 王辉, 苟继周, 等. 广东和云南部分地区艾滋病患者中隐孢子虫感染的调查分析. 中华实验和临床病毒学杂志, 2008, 22(5): 339-341.
- [9] Kibbler CC, Smith A, Hamilton-Dutoit SJ, et al. Pulmonary cryptosporidiosis occurring in a bone marrow transplant patient. Scand J Infect Dis, 1987, 19(5): 581-584.
- [10] Tian LG, Zhou XN. The neglected intestinal parasite co-infection with AIDS. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(5): 376-381. (in Chinese) 田利光, 周晓农. 艾滋病患者几种易被忽视的肠道寄生虫感染. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(5): 376-381.

(收稿日期: 2011-07-07)

(本文编辑: 张林东)