

• 临床检验研究 •

临床分离 206 株念珠菌的培养鉴定及其耐药性分析

王业芳

(北京市朝阳区中小学卫生保健所检验科 100026)

摘要:目的 对引起感染的 206 株临床分离的念珠菌进行分离鉴定和药敏试验,了解念珠菌耐药现状,以指导临床合理用药。方法 收集 2010 年 1~12 月临床送检的痰液、尿液、血液及各种分泌物等标本,采用常规方法培养和分离念珠菌,用法国生物梅里埃 ATB express 系统对念珠菌进行鉴定,用 ATB fungus 药敏试条进行药敏试验。结果 206 株念珠菌中,白色念珠菌占 41.75%、热带念珠菌占 24.76%、近平滑念珠菌占 14.08%、克柔念珠菌占 9.71%、光滑念珠菌占 7.28%、其他念珠菌占 2.43%。206 株念珠菌对两性霉素 B 敏感,未出现耐药性;绝大多数菌株对 5-氟胞嘧啶、制霉菌素敏感,耐药率较低;对 3 种咪唑类药物(酮康唑、益康唑、咪康唑)耐药率较高且出现交叉耐药。结论 临床需要加强真菌送检培养,合理使用抗真菌药物,尽量避免单纯经验用药,以减少耐药菌株的出现。

关键词:念珠菌属; 微生物敏感性试验; 临床分布

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.08.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)08-0871-02

Isolation and identification of 206 strains of candida and analysis of their drug resistance

Wang Yefang

(Department of Clinical Laboratory, Chaoyang Health Care Center for Primary and Middle Schools, Beijing 100026, China)

Abstract: Objective To isolate and identify 206 strains of candida, and to test their microbial sensitivity in order to guide rational clinical administration. **Methods** Samples including sputum, urine, blood and other secretion sent for detection from Jan. to Dec. 2010, were cultured and isolated by routine methods, and identified with France Biomerieux ATB express system. A drug sensitivity test was done by ATB fungus strip. **Results** Among the 206 strains of candida, *Candida albicans* was the most frequently species (41.75%), followed by *C. tropicalis* (24.76%), *C. parapsilosis* (14.08%), *C. krusei* (9.71%), *C. glabrata* (7.28%) and others (2.43%). All the 206 strains of candida were sensitive to amphotericin B and did not express resistance, most of them were sensitive to 5 fluorocytosine and nystatinum, and the resistance rates were lower. The resistance rates of most of them to ketoconazole, econazole, miconazole were higher and cross resistance appeared. **Conclusion** Fungi are required to be sent for classification and drug resistance study so as to rationally use anti-fungal agent to reduce the development of drug resistant strains.

Key words: candida; microbial sensitivity tests; clinical distribution

随着高效广谱抗生素、免疫抑制剂的大量使用及器官移植和外科介入性治疗手段的广泛开展,由念珠菌引起的感染日益增多。而抗真菌药物的大量使用,导致真菌产生了耐药性,给临床治疗用药带来很大的困难。本研究分析了 2010 年 1~12 月临床标本念珠菌的菌种分布及耐药性,以期为临床的合理用药提供指导,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 标本来源 标本取自 2010 年 1~12 月各科住院患者中可疑真菌感染者,包括痰液、尿液、血液及各种分泌物等标本。共收集标本 206 份,其中男 115 份,女 91 份,年龄 16 d 至 88 岁,平均 51.39 岁。

1.1.2 质控菌株 近平滑念珠菌 ATCC 22019 和克柔念珠菌 ATCC 6258,均由北京大学真菌和真菌病研究中心提供。

1.1.3 主要试剂和仪器 采用法国梅里埃 ATB fungus 药敏试条进行药敏试验,用法国梅里埃 ATB express 系统进行菌株的鉴定。

1.1.4 培养基 沙氏培养基、血平板、ATB fungus 试剂盒带有 ATBF 半液体培养基(酵母氮源基础加天冬酰胺和葡萄糖培养基)。

1.1.5 药敏 ATB fungus 试剂盒成分 该试剂盒为具有 32 个孔的塑料条,含 6 种抗真菌剂,即 5-氟胞嘧啶(5-FC)、两性霉素 B(AMB)、制霉菌素(NYS)、咪康唑(MIZ)、益康唑(ECO)和酮

康唑(KET)。药物共占 22 孔,塑料条的前、中、后共有 10 孔为不含药的生长对照孔。

1.2 方法

1.2.1 真菌培养、分离及鉴定 将标本用常规方法在血平皿、沙保罗平皿上进行接种,然后置于 30 °C 温箱培养 24~48 h,挑选可疑菌落镜检见到真菌孢子后,用法国梅里埃 ATB express 系统进行菌株的鉴定。

1.2.2 药敏试验 采用法国梅里埃 ATB fungus 药敏试条进行药敏试验。按 ATB fungus 操作指南进行菌液制备及接种。将纯菌落混悬于无菌蒸馏水中使其浊度为麦氏比浊管第 2 管的浊度,取 100 μ L 加入 ATB 培养基中混匀,再以微量加样器,取此菌液于 5-FC 的 10 孔及其前后各 4 个生长对照孔中,每孔 135 μ L。取无菌缓冲液 50 μ L 加入剩余的含菌培养基中混匀。然后接种于余下各孔中,每孔为 135 μ L。盖上塑料盖,置于 30 °C 条件下孵育 24~48 h 后,以生长对照各孔生长良好而含药最高稀释孔不生长者为最小抑菌浓度的终点。

2 结果

2.1 标本来源分析 共收集 206 份标本。其中痰标本最多(134 份),占有标本的 65.05%。其次为尿标本 34 份(16.50%)。来源于阴道分泌物的标本 21 份(10.19%),来源于血液的标本 8 份(3.88%),其余(咽拭子、大便、导管分泌物、透析液、胆汁、脐分泌物、支气管肺泡冲洗液等)共 9 份(4.37%)。这些标本中,来自呼吸科有 128 份,占有标本量

的 62.14%；肿瘤科、ICU、血液科、泌尿外科、普外科分别为 38、15、9、5、5 份，各占 18.45%、7.28%、4.37%、2.43%、2.43%。其他科送检标本 6 份，占 2.91%。

2.2 念珠菌的分布 共分离出 206 株念珠菌，其中以白色念珠菌最多为 86 株 (41.75%)，热带念珠菌次之为 51 株 (24.76%)，近平滑念珠菌 29 株 (14.08%)，克柔念珠菌 20 株

(9.71%)，光滑念珠菌 15 株 (7.28%)，其他念珠菌 5 株 (2.43%)。这些菌在各科的分布情况见表 1。

2.3 药敏试验结果 206 株念珠菌药敏试验结果对 5-FC 耐药率为 4.4%、AMB 为 0、NYS 为 6.8%、MIZ 为 19.9%、ECO 为 18.9%、KET 为 15.5%；咪唑类药物 (MIZ、ECO、KET) 耐药率较高且有交叉耐药现象。具体结果见表 2。

表 1 各科分离念珠菌分布情况 (n)

科室	白色念珠菌	热带念珠菌	近平滑念珠菌	克柔念珠菌	光滑念珠菌	高里氏念珠菌	葡萄牙念珠菌	合计
呼吸科	56	38	14	10	8	2	0	128
肿瘤科	14	7	8	4	4	0	1	38
ICU	5	3	3	2	1	0	1	15
血液科	3	1	2	1	1	1	0	9
泌尿外科	3	0	1	1	0	0	0	5
普外科	2	0	1	1	1	0	0	5
其他科室	3	2	0	1	0	0	0	6
合计	86	51	29	20	15	3	2	206

表 2 206 株念珠菌对 6 种抗菌剂的耐药率 [n(%)]

菌种	n	5-FC	AMB	NYS	MIZ	ECO	KET
白色念珠菌	86	2(2.3)	0(0.0)	1(1.2)	12(14.0)	10(11.6)	13(15.1)
热带念珠菌	51	5(9.8)	0(0.0)	7(13.7)	16(31.4)	9(17.6)	11(21.6)
近平滑念珠菌	29	2(6.9)	0(0.0)	1(3.4)	10(34.5)	2(6.9)	3(10.3)
克柔念珠菌	20	0(0.0)	0(0.0)	1(5.0)	0(0.0)	10(50.0)	5(25.0)
光滑念珠菌	15	0(0.0)	0(0.0)	3(20.0)	3(20.0)	5(33.3)	0(0.0)
高里氏念珠菌	3	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(66.7)	0(0.0)
葡萄牙念珠菌	2	0(0.0)	0(0.0)	1(50.0)	0(0.0)	1(50.0)	0(0.0)
合计	206	9(4.4)	0(0.0)	14(6.8)	41(19.9)	39(18.9)	32(15.5)

3 讨 论

本研究分离了念珠菌 206 株，白色念珠菌最多，热带念珠菌次之均是导致医院内获得性念珠菌感染前两位的病原菌，与有些研究结果相似^[1-2]。白色念珠菌在本研究真菌感染标本中分离率最高 (41.75%)，但低于以往报道^[3]。非白色念珠菌中热带念珠菌最多见，其次是近平滑念珠菌和克柔念珠菌。本研究还显示，念珠菌感染中非白色念珠菌的分离率要高于白色念珠菌。可能由于所选科室往往病情较重，临床医生常选择将抗生素与抗真菌药物联合应用以预防真菌感染，其抗真菌药的选择性压力可能会造成念珠菌类型出现变迁所致。应引起临床医生和微生物检验者高度重视。

本研究分别从 3 例患者的导管分泌物中分离出念珠菌。其中 1 株来源于尿管分泌物，另 2 株来源于术后引流管分泌物。这提示临床医生在进行医疗性操作如各种导管插入、侵入性治疗手段时需注意真菌感染的发生。有研究显示，如果怀疑是导管相关性的念珠菌血症，应该在 72 h 内取出导管，以降低念珠菌血症的死亡率^[4]。

本研究念珠菌检出率最高的科室是呼吸科。呼吸科老年患者居多，这些患者多数有基础性疾病，其抵抗力低下、住院时间长且长期反复使用多种广谱抗生素及免疫抑制剂，很容易发生院内念珠菌感染。对这类患者，临床医生更要警惕真菌感染。

众所周知，耐药性是大量使用抗真菌药物后，在外部环境的诱导下，念珠菌的某些基因突变所致。近年来，真菌耐药现象日益严重，有研究报道真菌耐药率逐年增加^[5]。本研究结果

显示，念珠菌对 AMB 敏感，多烯类抗真菌药物 AMB 仍然是治疗真菌感染疗效最好的药物之一。在本研究中未发现耐药菌株的出现，可能与其有严重的不良反应如肾毒性而使临床应用受限有关。对 5-FC 耐药率为 4.4%，对 NYS 耐药率为 6.8%，而对咪唑类药物 (MIZ、ECO、KET) 耐药性较高 (15.5%~19.9%)，且大多数耐药菌对 3 种咪唑类药物同时耐药。另外热带念珠菌的耐药率较高。

总之，为预防和避免真菌感染，临床合理使用抗真菌药物迫在眉睫。这就要求临床医生加强对临床标本的真菌送检培养，并进行药物敏感试验，尽量避免单纯经验用药，以减少耐药菌株的出现。

参考文献

- [1] 毛彩萍,张毅敏. 693 株念珠菌的分离鉴定与药敏结果分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2001, 12(21): 93-94.
- [2] 周贵民,谢灵. 国内酵母菌感染和实验室诊断的现状和建议[J]. 中华医学检验杂志, 1996, 19(5): 301-303.
- [3] 李春阳,刘芳,郭淑兰,等. 医院内真菌感染的调查分析[J]. 临床皮肤科杂志, 2002, 31(2): 121-122.
- [4] Read I, Hanna H, Boktour M, et al. Management of central venous catheters in patients with cancer and candidemia[J]. Clin Infect Dis, 2004, 38(8): 1119-1127.
- [5] 李从荣,彭少华,李栋,等. 深部真菌医院感染的临床调查与耐药性现状研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 1(10): 785-786.