

2.5 肺炎链球菌红霉素耐药基因检测结果 33 株对红霉素耐药的肺炎链球菌中, *ermB* 基因介导的红霉素耐药菌株占 63.6%, *mefE* 基因介导的红霉素耐药菌株占 36.4%。

3 讨 论

肺炎链球菌耐红霉素的机制主要是 *ermB* 基因介导的靶位改变和 *mefE* 基因介导的药物外排。目前已知 *ermB* 基因介导的红霉素耐药, 是由于 23S rRNA 核糖体上红霉素结合靶位的改变, 使肺炎链球菌表现出对某些大环内酯类抗菌药物、克林霉素和链霉素阳菌素 B 耐药; *mefE* 基因介导的耐药, 使肺炎链球菌仅表现出对 14、15 环大环内酯类产生耐药, 而对林可霉素类等抗菌药物敏感^[5]。本组资料显示, 124 株儿科感染肺炎链球菌中, 红霉素耐药菌株为 33 株, 耐药率 22.7%, 其中 *ermB* 基因介导的红霉素耐药菌株占 63.6%; *mefE* 基因介导的红霉素耐药菌株占 36.4%。

本组呼吸道感染患者肺炎链球菌分离株中 PRSP 不多, 除对万古霉素 100.0% 敏感外, 对所测其他抗菌药物均耐药; PSSP 组中除对红霉素、克林霉素、复方磺胺甲噁唑敏感度较低外, 对阿莫西林/克拉维酸、第二、三代头孢菌素、氧氟沙星、万古霉素亦敏感; PISP 组对红霉素、克林霉素和复方磺胺甲噁唑敏感率更低, 并出现了对第二代头孢菌素耐药菌株, 对阿莫西林/克拉维酸、第三代头孢菌素、氧氟沙星、万古霉素敏感。PSSP 组与 PISP 组比较, 对红霉素、克林霉素和复方磺胺甲噁唑的耐药率虽无统计学差异 ($P > 0.05$), 但对三者的敏感性皆呈降低趋势; 对头孢呋辛、头孢克洛、头孢噻肟、头孢曲松、氧氟沙星的敏感率差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

本组 124 株细菌共发现 35 种 BOX-PCR 谱型, 其中 22 种谱型分别有 2~12 株细菌; 13 株 PNSP 分属 6 种谱型。2 株 BOX-PCR 谱型为 I 的菌株, 其血清型、耐药谱亦相同, *pbp* 基因指纹相似, 且分离自同一病区, 提示可能存在耐药菌株克隆传播; BOX-PCR 谱型为 F(3 株)、A(3 株)、J(2 株) 和 L(2 株) 的菌株, BOX-PCR 谱型相同, 血清型和耐药谱不完全相同, 且 *pbp* 基因指纹表现出多样性, 提示耐药菌株在传播过程中可能

• 调查报告 •

存在着耐药基因水平传播。儿童免疫系统尚未发育完善, 易受到病原菌的侵袭, 耐药菌引起的感染更难控制, 使用抗菌药物时应避免盲目无指征的滥用^[6]。

菌株来源与其耐药性密切相关, 不同菌种间耐药性存在差异, 不同医院同一菌种对同一抗菌药物的耐药率也存在较大差异, 从同一患者分离的同一菌株在用药前后也可发生耐药性的改变^[7]。尽管青霉素耐药率尚较低, 但随着与周边地区的交流, 其流行的程度可能更广, 并可能流入新的耐药克隆, 应警惕其耐药性上升的可能性。

参考文献

- [1] Ken W, Crystal J, Barry G, et al. Use of clindamycin disks to detect macrolide resistance mediated by *ermB* and *mefE* in streptococcus pneumoniae isolates from adults and children[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(5): 1731-1734.
- [2] CLSI. M100-S20 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement[S]. Wayne, PA: CLSI, 2010.
- [3] 王辉, 陈民钧, Huebener R, 等. 北京地区肺炎链球菌的耐药性及其分子流行病学调查[J]. 中华医学杂志, 1999, 79(4): 253-256.
- [4] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 744.
- [5] Huban DJ, Wierzbowski AK, Nichol K, et al. Macrolide-resistant streptococcus pneumoniae in Canada during 1998-1999: prevalence of *mef(A)* and *erm(B)* and susceptibilities to ketolides[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2001, 45(7): 2147-2150.
- [6] 张晓丽, 周薇薇, 王晓红, 等. 儿科下呼吸道感染菌群分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12): 1422-1423.
- [7] 李红梅, 单正清. 肺结核患者激发呼吸道感染主要病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 47-48.

(收稿日期: 2011-10-09)

生殖系统念珠菌感染的菌型及其体外药敏分析

黎小东, 宋卫忠, 李 平, 高爱莉, 黄 平, 颜景兰
(广东省广州市皮肤病防治所检验科 510095)

摘 要:目的 了解性传播疾病患者中生殖系统念珠菌感染的菌型及其对临床常用抗真菌药物的敏感性。方法 采用法国梅里埃公司的 ATB ID32C 酵母菌鉴定反应板鉴定菌种和 Rosco 纸片扩散法进行体外药敏检测, 比较不同菌型念珠菌的药敏趋势。结果 临床 112 例生殖系统念珠菌感染者中白色念珠菌 82 例(73.21%)、近平滑念珠菌 16 例(14.29%)、光滑念珠菌 4 例(3.57%)、无名念珠菌 4 例(3.57%)、其他念珠菌 6 例(5.36%), 药敏分析结果: 念珠菌属对制霉菌素(98.21%)、酮康唑(91.07%)、氟康唑(67.86%)敏感, 而对咪康唑(35.71%)、噻康唑(33.04%)、伊曲康唑(42.86%)和特比萘酚(20.54%)的中介度和耐药性较高。结论 生殖系统念珠菌感染以白色念珠菌为主, 感染的念珠菌除了对多烯类药物敏感率高外, 对唑类抗真菌药有不同程度的交叉耐药, 不同菌型其药敏谱存在差异。

关键词: 性传播疾病; 念珠菌属; 药敏试验; Rosco 纸片扩散法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.03.041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)03-0347-03

近年来, 性传播疾病 (sexually transmitted disease, STD) 的发病率逐年上升, 生殖系统念珠菌感染发生率也日趋增高^[1], 由于抗真菌药物在临床上的大量应用, 真菌对抗真菌药物的耐药性也日趋严重。有研究认为生殖系统念珠菌感染的复发与其对唑类抗真菌药物耐药有关, 对 STD 患者定期了解生殖系统念珠菌感染的菌型及其体外药敏情况, 对指导临床选择用

药, 提高疗效, 具有一定参考意义^[2]。

1 材料与方

1.1 标本来源 2010 年 1~12 月, 在本所性病门诊就诊的生殖系统念珠菌感染的患者, 共 112 例, 其中男 58 例, 女 54 例, 年龄 15~67 岁。

1.2 方法 将分泌物拭子接种于沙氏平板培养基或科马嘉显

色培养基(广州迪景微生物科技有限公司提供),30℃恒温箱培养 24~72 h,显绿色为白色念珠菌;紫色为光滑念珠菌;粉红色为克柔念珠菌;蓝灰色为热带念珠菌;白色菌落者,挑取纯化的菌落悬浮于 0.85%NaCl 溶液,分别制备 2 和 0.5McFland 浊度菌悬液。吸取 250 μL 菌悬液(2 McFland)加入安瓿瓶培养液中混匀,接种于 ATB ID 32C 鉴定板(法国梅里埃公司提供),每孔接种 135 μL,于 35℃培养 24~48 h,观察各孔生化反应,严格按照操作说明书判读鉴定结果。

1.3 药敏试验 吸取一定量的 0.5 McFland 浊度菌悬液,用生理盐水 1:1 稀释。以无菌拭子蘸取稀释后的菌悬液从 3 个方向分别均匀涂布于改良真菌药敏平板培养基(广州市迪景微生物科技有限公司提供),室温静置 5~15 min,用无菌镊子将 Rosco 纸片(广州乐通泰生物科技公司提供)贴于培养基表面。室温置 15 min 后转入 35℃恒温箱培养 18~24 h(未见生长者应培养 42~48 h),测量抑菌环直径,并记录药敏结果。

1.4 质控菌株 采用白色念珠菌 ATCC10231 和近平滑念珠菌 ATCC22019 做质控,质控结果大于 95%落在可接受抑菌范围内。

2 结 果

2.1 生殖系统念珠菌感染的菌型分析 在本所性病门诊的生殖系统感染患者中分离培养出 112 株念珠菌(不重复计数),其

中白色念珠菌检出率最高(73.21%),近平滑念珠菌(14.29%)次之,还检出其他念珠菌包括热带念珠菌和克柔念珠菌等,见表 1。

表 1 112 株念珠菌菌型分布情况

菌株	数量(株)	百分比(%)
白色念珠菌	82	73.21
近平滑念珠菌	16	14.29
光滑念珠菌	4	3.57
无名念珠菌	4	3.57
其他念珠菌	6	5.36

2.2 112 株念珠菌对抗真菌药物的敏感性结果 制霉菌素(NYS)和酮康唑(KET)敏感率最高,分别是 98.21%和 91.07%,其次是氟康唑(FL)67.86%,敏感率最低的是特比奈酚(TEB)20.54%,见表 2(Rosco 纸片法参考标准:NYS、伊曲康唑(IT)抑菌大于或等于 15 mm 为敏感,中敏 10~14 mm,耐药则无抑菌环;FL、KET、ECO、咪康唑(MIC)、TEB 抑菌环直径大于或等于 20 mm,中敏 12~19 mm,≤11 mm 为耐药)。

表 2 不同菌型念珠菌对 7 种抗真菌药物的敏感性结果[% (n)]

抗真菌药物	白色念珠菌(n=82)	近平滑念珠菌(n=16)	光滑念珠菌(n=4)	无名念珠菌(n=4)	其他念珠菌(n=6)	合计(n=112)
制霉菌素(NYS)	100.0(82)	87.5(14)	100.0(4)	100.0(4)	100.0(6)	98.2(100)
酮康唑(KET)	97.6(80)	100.0(16)	25.0(1)	100.0(4)	16.7(1)	91.1(102)
氟康唑(FL)	70.7(58)	93.5(15)	0.0(0)	50.0(2)	16.7(1)	67.9(76)
咪康唑(MIC)	29.3(24)	50.0(8)	50.0(2)	25.0(1)	83.3(5)	35.7(40)
噻康唑(ECO)	28.0(23)	43.8(7)	25.0(1)	25.0(1)	83.3(5)	33.0(37)
伊曲康唑(IT)	36.6(30)	87.5(14)	0.0(0)	50.0(2)	33.3(2)	42.9(48)
特比奈酚(TEB)	4.9(4)	87.5(14)	0.0(0)	25.0(1)	66.7(4)	20.5(23)

3 讨 论

念珠菌属是人体最常见的病原菌,广泛寄殖在人体口腔及黏膜、皮肤表面,属于条件致病菌。近年来,由于广谱抗生素、皮质激素、免疫抑制剂等药物被广泛应用,导致真菌感染率不断上升^[3]。本文结果显示,白色念珠菌仍然是生殖系统念珠菌感染的主要致病菌,占 73.21%,与文献[4-5]结果相一致,但非白色念珠菌以近平滑念珠菌、光滑念珠菌多见,与本市的相关报道稍有不同^[6],这可能与致病原因、就诊科别、患者性别、鉴定系统等有关,有待进一步探究。

真菌的临床耐药问题一直是国内外面临的重大问题之一,由于抗真菌药在临床上的大量使用或不规则应用,念珠菌耐药菌株也显著增加,为提高治疗效果,有必要对生殖系统感染的念珠菌进行药敏监测。本文用 Rosco 纸片扩散法对生殖系统感染的念珠菌进行药敏分析,总体趋势是:念珠菌对制霉菌素、酮康唑、氟康唑敏感性较高,敏感率为 98.21%、91.07%和 67.86%,而对咪康唑、噻康唑、伊曲康唑和特比奈酚敏感率只有 35.71%、33.04%、42.86%和 20.54%。近年来出现了许多对氟康唑(FL)耐药的菌株,常见的有光滑念珠菌和克柔念珠菌,在本文中敏感率为 0.0%,与天然耐药有关,对 MIC、ECO、IT 和 TEB 的敏感率也只有 0.0%~50.0%;而白色念珠菌和

近平滑念珠菌对 MIC、ECO、IT 和 TEB 敏感率也较低(4.9%~87.5%),而对 NYS、KET 和 FL 敏感率相对高(70.7%~100.0%),见表 2。以上情况表明:多烯类药物制霉菌素对念珠菌的敏感率最高,但实际上这类药物由于肾毒性大,肝损害严重,口服难吸收,价格贵,因此限制了其在临床上的广泛应用的可行性。而临床上应用较多的是唑类药物,但唑类药物间存在交叉耐药现象,KET、MIC 和 ECO 是二唑类抗真菌药,本研究中发现三唑类药物伊曲康唑出现耐药倾向,敏感率只有 42.86%,氟康唑也相对较低(67.86%),与相关报道有异^[7],这是否能用唑类药物存在交叉耐药来解释,有待进一步研究。特比奈酚敏感率最低,这可能与特比奈酚适合于镰刀霉菌菌治疗有关系^[8]。为防止交叉耐药和交叉感染,抗真菌药物敏感监测很有必要做为一项常规检查,帮助临床合理、规范用药,以防耐药菌株的出现。

参考文献

[1] Mardh PA,Rodrigues AG,Genc M. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis a review on epidemiology,clinical manifestations,diagnosis,pathogenesis and therapy[J]. Int J STD AIDS, 2002,13(8):522-539.

[2] 章强强. 100 株临床分离致病酵母菌体外药敏试验分析[J]. 中华

皮肤科杂志, 2000, 33(5): 333.

[3] 张爱红, 孙素芹, 刘阳, 等. 抗生素的应用与真菌感染[J]. 中国医药, 2006, 1(4): 219-220.

[4] 黎小东, 李平, 宋卫忠, 等. 生殖系统念珠菌感染的菌型及对 6 种抗真菌药物的体外药敏分析[J]. 中国实验诊断, 2005, 5(9): 768-769.

[5] 吴燕燕, 孙世宏, 刘正华. 复发性念珠菌性阴道炎致病菌种及耐药情况[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2010, 1(26): 63-64.

[6] 王潭枫, 席云. 阴道分泌物酵母样真菌分离培养及其药敏的临床

价值[J]. 中国微生态学杂志, 2009, 6(21): 531-532.

[7] Sobel JD, Zervos M, Reed BD, et al. Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated candida vaginitis: clinical implications[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(1): 34-38.

[8] 王新, 耿素英. 致病性镰刀菌体外药敏试验研究[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(4): 217-219.

(收稿日期: 2011-10-09)

• 调查报告 •

1 000 例妇科门诊细菌性阴道病联合检测的结果及分析

朱丽莎¹, 王凤玲¹, 冉训², 艾彪¹

(1. 湖北省荆州市第一人民医院检验科 434000; 2. 湖北省松滋市人民医院检验科 434200)

摘要:目的 通过对妇科门诊 1 000 例有阴道异常分泌物的患者进行细菌性阴道病联合测定及分析, 辅助诊断细菌性阴道病, 监测女性生殖道微生态平衡。方法 采集阴道分泌物, 涂片, 湿片检查滴虫、霉菌及清洁度; 应用 BV 反应板加热器行细菌性阴道病联合测定并监测女性生殖道微生态平衡状态。结果 BV 是生育期女性最常见的生殖道感染疾病, 其发病率(32.2%)远大于滴虫(8.3%)和霉菌(22.4%)感染。结论 细菌性阴道病对女性的危害是多方面和严重的, 希望引起妇女的普遍重视, 关爱女性健康, 从预防做起, 减少细菌性阴道病的发生率。

关键词:细菌性阴道病; 滴虫感染; 霉菌感染; 生殖道微生态平衡
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.03.042 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)03-0349-02

细菌性阴道病(bacterial vaginosis, BV)是指一类在细菌学上表现为生殖道正常菌群(产 H₂O₂ 的乳酸杆菌)数量减少, 代之以一组厌氧菌群(类杆菌属、加得纳菌属等)数量增加, 阴道液生物化学性质发生明显生态学变化而导致的临床症候群^[1]。其临床表现为白带增多、变稀、有异味而无明显阴道黏膜炎症改变。阴道感染时, 由于致病菌的入侵与大量增殖, 导致正常菌群改变, 阴道细胞坏死, 阴道分泌物的化学性质发生变化, 这种变化主要表现为“三高一低”, 即 pH 升高, 致病菌分泌的胞外酶(唾液酸酶)增高和代谢产物增高, 阴道内白细胞、吞噬细胞等阴道细胞被细菌破坏释出的白细胞酯酶增高, 以及正常菌群的酶与代谢产物(H₂O₂)减低。BV 为最常见的阴道感染疾病, 可引起盆腔炎、艾滋病、子宫内膜炎、术后感染等并发症。孕妇患者则会引起胎盘、胎膜早破、早产、宫内感染、产后宫内感染等^[2]。此病容易复发, 另外, 约 50% 的 BV 患者因无明显的临床症状而被贻误诊断和治疗。故 BV 检测应作为妇检的首选检测项目之一。随着的优生优育和产前检查日益被重视, BV 的检测具有了更重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试剂 BV 快速诊断试剂盒(珠海市丽珠试剂股份有限公司生产)

1.2 研究对象 2011 年 4~8 月来荆州市第一人民医院就诊的门诊妇科患者 1 000 例, 年龄 20~55 岁。

1.3 样本采集 由妇科主治医师用无菌棉签采集阴道分泌物直接插入洁净容器送检。

1.4 操作方法 先涂片镜检, 检查滴虫、霉菌、清洁度。再用样本抽提管吸取样本 1~2 滴分别加入到包被有酶及特异性显色底物的反应板检测孔中, 然后分别加入试剂 A、B、C 液, 再将反应板放入加热器, 指示灯闪烁后观察结果。pH≤4.4 正常; pH>4.4 异常。唾液酸酶活性检测孔变蓝色或绿色, BV(+); 检测孔不变色, BV(-), 据此可了解病原体寄居和繁殖状况。H₂O₂ 浓度检测孔变蓝色或绿色, H₂O₂ 浓度处于正常水平; 检测孔不变, H₂O₂ 浓度过低, 提示阴道微生态失衡。白

细胞酯酶活性检测孔变蓝色或绿色, LE(+), 检测孔不变色, LE(-)。据此可了解患者阴道壁有无实质性黏膜受损。

2 结果

通过对 1 000 例妇科门诊 BV 的检测发现, 在 pH>4.4 时, 唾液酸酶活性检测、H₂O₂ 浓度检测、白细胞酯酶活性检测这三项都阳性即 BV 阳性的占 32.2%(见表 1)。清洁度 II 时, BV 占的比例较高, 清洁度 III、IV 时霉菌、滴虫及混合性感染较多一些, 结果(见表 2)。

表 1 1 000 例阴道分泌物检测结果分析

pH 值	唾液酸酶	H ₂ O ₂	白细胞酯酶	<i>n</i>	百分比(%)
>4.4	+	+	+	322	32.2
>4.4	-	+	+	103	10.3
≤4.4	-	+	+	205	20.5
≤4.4	-	-	+	160	16.0
≤4.4	-	-	-	210	21.0

表 2 1 000 例阴道分泌物涂片检测结果分析(*n*)

清洁度	标本数	滴虫	霉菌	BV	滴虫+霉菌
I	204	0	13	16	0
II	347	16	24	150	0
III	117	33	89	87	2
IV	232	34	98	89	7
合计	1 000	83	224	322	9

3 讨论

BV 可以引发子宫内膜炎、盆腔炎、妇科手术后感染、流产、胎膜早破以及早产、低出生体质量儿和产褥感染等多种疾病, 并且使感染 HIV 和患宫颈癌的风险增高^[3]。越来越多的证据表明, BV 是可以导致组织性绒毛膜炎、羊水感染、剖宫产术后子宫内膜炎等^[4]。因此, 正确的诊断和及早的治疗 BV 非常重要。一般门诊妇科患者自觉有症状或不适而来就诊, 有的症状反复发作, 如下腹不适, 白带增多, 颜色、气味异常等^[5]。