

**1.4 统计学处理** 采用 SPASS12.0 软件尽享数据分析,对检测值校正前后的比较采用 *t* 检验,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

共有 5 例患者的 APTT 检测值在抗凝剂校正前后差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而 PF4 检测值校正前后差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 5 例患者 APTT、PF4 检测结果校正前后的比较及 HCT

患者 编号	PF4(IU)			APTT(s)			HCT(%)
	校正前	校正后	差值	校正前	校正后	差值	
14	61.0	62.0	-1.0	75.2	70.2	5	19.2
17	57.0	56.0	1.0	84.2	78.2	6	18.3
23	59.3	58.0	1.3	94.3	81.2	13.1	15.3
31	55.2	56.1	-0.9	88.2	98.1	-10.1	88.2
51	56.3	55.2	1.1	89.3	82.3	7	17.2

3 讨 论

本研究显示 75 例患者中,有 5 例患者的 APTT 值在抗凝剂校正前后有较大差异;而 PF4 值在抗凝剂校正前及校正后差异不大,与文献报道一致<sup>[1-4]</sup>。从表 1 可见,4 例患者校正前的 APTT(s)测定值均大于校正后患者 APTT(s)值,同时 HCT 值均小于 20%;1 例患者校正前的 APTT(s)测定值小于校正后患者 APTT(s)值,同时 HCT 值大于 70%。

真空采血管的死腔可导致血小板与采血管壁或死腔气体接触激活血小板,激活血小板的血小板使 PF4 释放,同时 PF4 中和肝素,使得 APTT 出现负偏差,无死腔的真空采血管很好

• 经验交流 •

的弥补了这一不足<sup>[1,5]</sup>。然在运用枸橼酸盐真空采血管进行无死腔血凝标本采集时,因 Hct 的影响,可导致 APTT 测定值不准确。

所以在对肝素治疗心肌梗死患者的静脉血标本进行 APTT 值测定时,如果 HCT>70%或 HCT<20%,采用抗凝剂校正公式进行抗凝剂用量的校正后,再采集无死腔的标本测定 APTT 值也许更能反映 APTT 的真实值<sup>[6-7]</sup>,更有助于临床治疗时对患者肝素用量的控制。

参考文献

[1] 丛玉隆,吴丽媛,殷宗健.凝血试验真空管“死腔”所致 APTT、PF4 偏差探讨[J].临床检验杂志,2002,20(5):263-264.

[2] Nelson DE. Current considerations in the use of the APTT in monitoring unfractionated heparin[J]. Clin Lab Sci,1999,12(6):359-364.

[3] Sandrick K. Partial drawback: iffy APTTs lead to tube’s exit[J]. CAP today,2000,14(6):49-50,56.

[4] Siegel JE, Bernard DW, Swami VK, et al. Monitoring heparin therapy: APTT results from partial- vs full-draw tubes[J]. Am J Clin Pathol,1998,110(2):184-187.

[5] Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Johnston M, et al. Establishing a therapeutic range for heparin therapy[J]. Ann Intern Med,1993,119(2):104-109.

[6] 杨保君,李维红,翟灶欣.静脉采血对凝血四项结果的影响[J].白求恩军医学院学报,2007,5(1):62-63.

[7] 韩鹏飞,陈志会.静脉采血过程中对凝血四项检测结果的影响探讨[J].牡丹江医学院学报,2010,31(4):50-51.

(收稿日期:2012-09-09)

临床无菌体液标本常见念珠菌感染分布及耐药性分析

王 迁,马金群

(沧州市人民医院检验科,河北沧州 061000)

**摘 要:**目的 分析沧州市人民医院自无菌体液标本中分离到的临床常见念珠菌的临床分布情况及其对临床常用抗真菌药物的敏感性,为临床抗真菌治疗提供依据。**方法** 回顾性调查该院 2011 年 6 月至 2012 年 6 月自住院患者各种无菌体液标本中分离到的 107 株念珠菌的种类、分布及耐药性;其标本来源主要以泌尿道为主(75.7%),其次为血液(10.3%)和深静脉置管(6.5%)等。**结果** 107 株念珠菌种类主要为热带念珠菌(38.3%)、白色念珠菌(32.7%)、近平滑念珠菌(20.6%)和光滑念珠菌(8.4%);白色念珠菌对酮康唑、咪康唑、5-氟胞嘧啶及两性霉素 B 耐药性较低(0~6.7%)。**结论** 该院念珠菌感染以热带念珠菌为主,无菌体液感染部位以泌尿道感染较为多见,酮康唑、咪康唑、5-氟胞嘧啶及两性霉素 B 对白色念珠菌具有较好的抗菌活性;开展对念珠菌的耐药性监测工作有重要的临床意义。

**关键词:**念珠菌属; 体液和分泌物; 药物耐受性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.064 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2012)22-2804-02

念珠菌属于条件致病菌,在菌群失调或机体免疫功能低下时引发浅表性或深部的念珠菌感染。近年来,随着广谱抗菌药物的广泛应用、器官移植、恶性肿瘤、免疫抑制剂应用的大量增加,念珠菌感染日渐增多;同时抗真菌药物的广泛长期应用导致耐药菌株大量出现,给临床抗真菌治疗带来较大困难。为本院临床合理用药提供依据,笔者对本院 2011 年 6 月至 2012 年 6 月自临床无菌体液分离到的 107 株临床常见的念珠菌进行

临床分布和耐药性分析,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

**1.1 材料** 收集 2011 年 6 月至 2012 年 6 月自本院住院患者送检的各种临床标本中分离到临床常见的念珠菌,去除同一患者重复菌株,共 107 株。

**1.2 仪器与试剂** 萨布罗培养基、真菌鉴定药敏板条及配套试剂由珠海迪尔生物工程有限公司提供。质控菌株采用白色

念珠菌 ATCC 90028,近平滑念珠菌 ATCC22019,热带念珠菌 ATCC750,光滑念珠菌 ATCC90030,均购自卫生部临检中心。

1.3 方法 依常规方法将临床样本接种于血平板和萨布罗培养基上,按《全国临床检验操作规程》第三版方法培养、分离获得临床菌株。采用珠海迪尔生物工程有限公司提供真菌鉴定药敏板条及配套试剂(微量稀释法),按照相应操作方法将酵母菌鉴定到种并做药敏试验。

2 结 果

2.1 107 株念珠菌的分布情况 本院临床分离到的 107 株念珠菌主要来自尿液(75.7%)、其次依次为血液(10.3%)、深静脉置管(6.5%)、引流液(4.7%)等;念珠菌种类分布主要为热带念珠菌(38.3%)、白色念珠菌(32.7%)和近平滑念珠菌(20.6%)和光滑念珠菌(8.4%)。见表 1。

2.2 4 种念珠菌对 7 种抗真菌药物的耐药性 白色念珠菌对酮康唑、咪康唑、5-氟胞嘧啶及两性霉素 B 耐药性较低(0~6.7%);非白色念珠菌对 7 种抗真菌药物的耐药率为 0%~87.8%。见表 2。

表 1 107 株念珠菌在不同标本中的分布(n)

念珠菌种类	尿液	血液	深静脉置管	引流液	胸腹水	合计
白色念珠菌	23	6	2	2	2	35
热带念珠菌	35	1	1	3	1	41
近平滑念珠菌	14	4	4	—	—	22
光滑念珠菌	9	—	—	—	—	9

—:无数据。

表 2 4 种念珠菌对 7 种抗真菌药物的耐药性(%)

抗真菌药物	白色念珠菌 (n=30)	热带念珠菌 (n=41)	近平滑念珠菌 (n=22)	光滑念珠菌 (n=9)
5-氟胞嘧啶	0.0	0.0	0.0	0.0
两性霉素 B	0.0	0.0	0.0	0.0
酮康唑	6.7	21.9	22.7	11.1
咪康唑	10.0	29.3	13.6	11.1
氟康唑	16.7	87.8	59.1	11.1
伏立康唑	10.0	78.0	63.6	11.1
伊曲康唑	23.3	82.9	63.6	22.2

3 讨 论

近年来,随着广谱抗菌药物、免疫抑制剂和各种侵袭性感染的广泛应用,深部真菌的感染呈现持续增多的趋势。深部真菌感染预后差,病死率高。文献[1]报道念珠菌、曲霉菌、和隐球菌感染占造血干细胞移植、器官移植和其他免疫缺陷患者真菌感染的 80%以上。该组研究数据显示,念珠菌主要分离自尿液标本(75.7%),造成泌尿系统感染;其次念珠菌分离自血液标本(10.3%),造成血流感染;念珠菌中以热带念珠菌分离比例(38.3%)最高,其余依次为白色念珠菌 32.7%、近平滑念珠菌 20.6%、光滑念珠菌 8.4%,为本院主要的深部真菌感染菌种。因氟康唑类抗真菌药物的普遍应用,抑制白色念珠菌的生长,使其分离比例较之前有所下降;而非白色念珠菌如热带念珠菌、近平滑念珠菌和光滑念珠菌的比例有不同程度上升,

甚至分离比例反超,这与李晓哲等[2]报告资料结果一致。

该组研究数据显示,白色念珠菌对酮康唑、咪康唑、5-氟胞嘧啶及两性霉素 B 耐药性较低(0.0%~6.7%);非白色念珠菌对 7 种抗真菌药物耐药率为(0.0%~87.8%),对 5-氟胞嘧啶和两性霉素 B 均敏感,对酮康唑耐药率相对较低(11.1%~22.7%)。念珠菌对吡咯类药物的耐药机制包括多药外排转运基因上调导致抗真菌药物外排增加和基因突变导致靶酶结构及产量的改变引起耐药[3-4]。吡咯类药物的作用靶酶是麦角甾醇合成通路关键酶即 14 $\alpha$ -甾醇去甲基化酶(14-DM),由靶酶编码基因 ERG11 编码。当 ERG11 基因的不同位点核苷酸替换,引发氨基酸序列突变,造成 14-DM 空间构型改变,影响其与吡咯类药物的结合,导致对吡咯类药物耐药。Marichal 等[5]、White 等[6]发现白色念珠菌耐药株 ERG11 基因位于 467 位点的精氨酸被赖氨酸取代,这一位点处于靶酶活性中心,它改变了酶的活性从而引起耐药。另外白色念珠菌通过上调 ERG11 的表达,产生大量 14-DM,使细胞内药物浓度不能完全抑制酶活性,导致菌株对吡咯类药物的耐药。Marichal 等[7]研究发现,对吡咯类药物耐药的白色念珠菌菌株 ERG11 基因拷贝数较敏感株多 3.7 倍,ERG11 基因的 mRNA 表达水平较敏感菌株高 8 倍。氟康唑为氟代三唑类代表性抗真菌药,抗菌谱与酮康唑相似。其作用机制是抑制真菌细胞膜必要成分麦角甾醇合成酶,使麦角甾醇合成受阻,破坏真菌细胞壁的完整性,抑制其生长繁殖。其具有抗真菌谱广、对人体副作用小、口服吸收好等优点,但念珠菌对该类药物易产生耐药性,随着氟康唑在临床上的长期大量应用,其耐药性逐年增强。表中数据显示白色念珠菌对氟康唑的耐药率为 16.7%,较之酮康唑耐药率(6.7%)反而为高,可能与氟康唑在临床上的长期大量应用有密切关系,应引起关注。非白色念珠菌对氟康唑的耐药率为 11.1%~87.8%,与本院既往资料[8]及屈玲等[9]报告资料比较耐药率有明显升高,故临床在应用氟康唑时应考虑其耐药性。近年来临床应用的同为三唑类抗真菌药物的伏立康唑,对包括耐氟康唑的克柔念珠菌,光滑念珠菌和白色念珠菌耐药株及曲霉菌在内的多种致病性真菌具有良好的抗菌作用。其作用机制是抑制真菌中由细胞色素 P450 介导的 14 $\alpha$ -甾醇去甲基化,从而抑制麦角甾醇的生物合成。表中数据显示念珠菌对伏立康唑耐药率为 10.0%~78.0%,其中白色念珠菌对伏立康唑耐药率为 10.0%,与文献[10]报道结果一致,非白色念珠菌对伏立康唑的耐药率较之白色念珠菌明显升高,应引起注意。随着三唑类抗真菌药物的伊曲康唑在临床的广泛应用,其耐药率也在不断升高。试验数据显示白色念珠菌对伊曲康唑的耐药率达 23.3%,而非白色念珠菌对伊曲康唑的耐药率达到了 22.2%~82.9%。

试验数据显示,107 株念珠菌中未发现对 5-氟胞嘧啶及两性霉素 B 耐药的菌株,与相关报道[10]结果一致。两性霉素 B 为多烯类强效抗真菌药物,与真菌细胞膜上的麦角固醇、磷脂结合,造成膜通透性改变,胞内核苷酸、氨基酸、离子等重要物质外漏,影响细胞代谢,抑制菌株生长;但因其强大的毒副作用而严重限制其在临床的广泛应用。近年研发的两性霉素 B 脂质体既保持了两性霉素 B 的强效杀菌效能且较两性霉素 B 的毒副作用有所降低,在治疗临床严重的念珠菌感染中发挥重要作用。(下转插页 I)

(上接第 2806 页)

化分析仪、尿液干化学分析仪、三分群血球计数仪,能基本满足临床常规检验的需要,但普遍缺乏临床免疫检验、临床微生物基础检验、凝血功能检查等重要临床检验设备。乡镇卫生院应根据临床工作需要,加强临床实验室的能力条件建设,才能满足医疗体制改革新形势下,城乡居民对医疗卫生保障的需要。

**3.4 临床医师不重视实验诊断,造成检验业务量低** 在受调查的 16 个乡镇卫生院中,65% 以上的临床实验室月收入在 1 万元以下,一方面受患者数量的影响,但更多在于乡镇卫生院的临床医生对某些检验结果的意义不清楚,缺乏循证医学思维,长期习惯于经验性诊断,没有开检验单的习惯,导致检验标本量少,检验设备利用率低,往往造成临床实验室经济效益和社会效益陷入恶性循环。因此,临床实验室工作人员应经常与临床医生进行沟通和交流,介绍检验项目的临床意义和新的临床信息,让临床医生了解检验结果在疾病诊断和治疗中的作用,有目的地选择检验项目。

**3.5 乡镇卫生院临床实验室检验技术水平较低** 乡镇卫生院临床实验室普遍存在检验项目少,基本检验项目不全。尽管 16 个乡镇卫生院都开展了三大常规和血糖检验,但仅有少数实验室开展了部分生化、免疫检验项目,如转氨酶、血脂、肌酐、尿素氮等。由于实验室检测设备多为半自动生化仪,加之医院标本量少,在检验方法的选择上相对落后,如谷丙转氨酶检测多数实验室仍选用赖氏法;乙肝两对半检测均采用胶体金标法;血糖检测绝大部分采用便携式血糖检测仪。落后的检验方法如乙肝胶体金标法的检测灵敏度明显低于 ELISA,导致检验结果的灵敏度和特异性降低,带来一定的医疗安全隐患<sup>[4-8]</sup>。同时,乡镇卫生院临床实验室普遍缺乏检验质量管理,未建立室内质控,未参加临床检验中心的室间质量评价,也并未与其

他实验室比对,因此检验结果的可靠性无法保证。针对该问题,笔者认为乡镇卫生院在现有实验室条件下,可开展一些常规和急诊的检验项目,对于临床急需、但标本量比较少、现有条件又无法开展的检验项目,可充分依托所在区域中心医院如区县级医院临床实验室的优势检验资源,采取委托检测的模式进行。这样既满足了乡镇卫生院临床诊疗工作的需要,又做到区域检验资源的有效共享,可减轻基层医疗机构临床实验室在人员配置和设备投入方面的压力。

## 参考文献

- [1] 赖永文. 革命老区乡镇卫生院检验科现状分析与建设意见探讨[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(20): 2554-2555.
- [2] 刘培锋. 乡镇卫生院检验科设置情况调查分析[J]. 泰山卫生, 2006, 30(1): 18-19.
- [3] 邓世霞, 贺秀文, 赵燕萍. 乡镇卫生院检验工作现状及对策[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(2): 243-244.
- [4] 潘丽, 刘毅青. 胶体金标法与酶联免疫吸附法检测乙型肝炎表面抗原比较[J]. 实用医技杂志, 2007(18): 2461-2462.
- [5] 王宏法, 温涛, 赵君. 金标试剂检测 HBsAg 的探讨[J]. 中国误诊学杂志, 2008, 8(28): 6884-6885.
- [6] 王克成, 周国芳, 常秋月. 酶联免疫法和胶体金法测定 HBsAg 的比较[J]. 中国现代医生, 2010, 48(5): 94.
- [7] 高丽, 付鸿, 李慧, 等. 胶体金试纸法与酶联免疫吸附试验检测乙型肝炎病毒表面抗原的比较[J]. 中国计划免疫, 2007, 13(1): 51-53.
- [8] 李岩, 姜梅, 陈松楠, 等. 金标法与酶联免疫吸附法检测乙肝表面抗原的方法学比较[J]. 中国疗养医学, 2010, 19(4): 361-362.

(收稿日期: 2012-08-12)

(上接第 2805 页)

近年来研发并在临床应用的棘白菌素类抗真菌药物如卡泊芬净对绝大多数念珠菌和曲霉菌具有杀菌抑菌作用。其作用机制在于可以抑制许多丝状真菌和酵母菌细胞壁的  $\beta(1,3)$ -D-葡聚糖的合成。该次试验应用的试剂盒未包被此类药物,故无此类药物的药敏试验结果。

深部真菌已经成为临床感染的重要病原菌,其引发感染呈上升态势。目前在临床应用的抗真菌药物种类较少且耐药率有逐渐上升的趋势;因此开展真菌的耐药检测对指导临床合理用药具有重要意义。

## 参考文献

- [1] Pfaller MA, Pappas PG, Wingard JR. Invasive fungal pathogens: current epidemiological trends[J]. Clin Infect Dis, 2006, 43(Suppl 11): 13-14.
- [2] 李晓哲, 董海新, 高岩, 等. 尿路念珠菌感染的菌种构成及其体外对抗真菌药物耐药性的变迁分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 939-940.
- [3] De Micheli M, Bille J, Schueller C, et al. A common drug-responsive element mediates the upregulation of the *Candida albicans* ABC transporters CDR1 and CDR2, two genes involved in antifungal drug resistance[J]. Mol Microbiol, 2002, 43(5): 1197-1214.

- [4] Hiller D, Sanglard D, Morschhauser J. Overexpression of the MDR1 gene is sufficient to confer increased resistance to toxic compounds in *Candida albicans*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(4): 1365-1371.
- [5] Marichal P, Koymans L, Willemsens S, et al. Contribution of mutations in the cytochrome P450 14 $\alpha$ -demethylase (Erg11p, Cyp51p) to azole resistance in *Candida albicans* [J]. Microbiology, 1999, 145(Pt 10): 2701-2713.
- [6] White TC, Marr KA, Bowden RA. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance[J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11(2): 382-402.
- [7] Marichal P, Vanden Bossche H, Odds FC, et al. Molecular biological characterization of an azole-resistant *Candida glabrata* isolate[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1997, 41(10): 2229-2237.
- [8] 张春和, 金艳, 陈东科. 临床无菌体液标本中真菌分离及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(10): 1489-1491.
- [9] 屈玲, 李芳芹, 艾芳. 505 株念珠菌感染特点及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(16): 1830-1831.
- [10] 孟祥红, 董梅, 孙红宁, 等. 328 株念珠菌菌种分布及耐药性分析[J]. 中国真菌学杂志, 2009, 4(5): 288-290.

(收稿日期: 2012-07-09)