

• 调查报告 •

广州地区妇女外阴阴道念珠菌病的病原分类及其体外药敏分析

黎小东, 宋卫忠, 李 平, 王焕丽, 高爱莉, 吴德标, 李椅云, 王永康
(广州市皮肤病防治所, 广东广州 510095)

摘要:目的 了解性传播疾病门诊妇女外阴阴道念珠菌病(VVC)的病原分类及其体外对 7 种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, 比较不同年度不同菌型念珠菌的药敏趋势。结果 2007~2012 年 STD 门诊 269 例妇女外阴阴道念珠菌病感染例数逐年增加 58~131 例(25.66%~75.29%), 年龄构成以育龄妇女 20~<40 岁(74.14%~83.97%)为主, 其次是中老年患者 40~<60 岁(14.50%~20.69%)。菌珠以白念珠菌为主 43~118 例(74.14%~90.08%逐年上升), 光滑念珠菌 6~9 例(4.58%~13.80%), 其余清酒念珠、近平滑念珠菌、热带念珠菌和克柔念珠菌各 1~4 例(0.76%~6.90%); 药敏检测结果: 外阴阴道念珠菌对制霉菌素(99.24%~100%)、酮康唑(89.31%~94.83%)、氟康唑(66.25%~82.76%)敏感, 而对咪康唑(31.30%~55.17%)、噻康唑(32.82%~65.52%)、伊曲康唑(45.00%~67.24%)和特比奈酚(3.82%~22.41%)的中介度和耐药性高。结论 VVC 的主要致病菌是白念珠菌, 有逐年回升趋势, 其余病原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:念珠菌病, 外阴阴道; 念珠菌属; 微生物敏感性试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)17-2281-02

Detection of bacterial types and antibiotic susceptibility for vulvovaginal candidiasis from STD patients in Guangzhou

Li Xiaodong, Song Weizhong, Li Ping, Wang Huanli, Gao Aili, Wu Debiao, Li Yiyun, Wang Yongkang
(Guangzhou Institute of Dermatology, Guangzhou, Guangdong 510095, China)

Abstract: **Objective** To investigate the bacterial types and seven antibiotic susceptibility of vulvovaginal candidiasis in sexually transmitted disease woman patients. **Methods** ATB ID 32 C bioMerieux France and Rosco Disk diffusion method was be used to do typing and drug sensitivity test of candida. Comparing the susceptibility for all kinds types of candida from different year. **Results** 269 strains genital vulvovaginal candidiasis were isolated from STD women. VVC infection cases increase year by year, 58—131 cases(25.66%—75.29%), age composition in women of childbearing age 20—<40 years(74.14%—83.97%), followed by the middle-aged and old patients with 40—<60 years(14.50%—20.69%), Candida including 43—118 strains(74.14%—90.08%) of candida albicans, 6—9 strains(4.58%—13.80%) of candida glabrata, other 1—4 strains(0.76%—6.90%) of candida parapsilosis, candida tropicalis and candida krusei. The higher susceptibilities to genital candida were nystatin(NYS) 99.24%—100%, ketoconazole(KET) 89.31%—94.83%, fluconazole(FL) 66.25%—82.76%, the higher resistances to genital candida were miconazole(MIC) 31.30%—55.17%, econazole(ECO) 32.82%—65.52%, itraconazole(IT) 45.00%—67.24% and terbinafine(TEB) 3.82%—22.41%. **Conclusion** The infection of vulvovaginal candidiasis from STD patients is mainly by candida albicans and increase year by year. more attention should be paid to the fact that while candida has high drug-susceptibility rate to polyene antibiotics, resistant candida strains will, however, probably exist in imidazole yeast-antifungal combination; there are differences of antibiotic sensitivity spectrum between all kinds types of candida.

Key words: candidiasis, vulvovaginal; Candida; microbial sensitivity tests

随着性传播疾病(STD)的发病率逐年上升, 加上广谱抗菌药的广泛及不规则使用, 性病门诊外阴阴道念珠菌病(VVC)的发生率也日趋增高。近年来的研究表明 VVC 的致病菌种分类不断变化, 但仍以白念珠菌为主要致病菌, 念珠菌对抗菌药物的耐药性也日益严峻, 而且不同病原类型出现不同耐药性, 也有天然不敏感药物, 为此对 STD 患者定期了解 VVC 的病原分类及其体外药敏情况, 对指导临床选择用药, 提高疗效, 具有重要临床参考价值^[1]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2007 年 1 月至 2012 年 12 月, 在本所性病门诊就诊妇女的 VVC 患者, 共 269 例, 其中 2007~2008 年 58 例, 2009~2010 年 80 例, 2011~2012 年 131 例, 年龄为 4~76 岁。

1.2 标本采集 用一次性无菌阴道窥器, 扩张阴道, 用消毒棉签取后穹窿分泌物。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(由广州市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 2McFland 和 0.5McFland 浊度菌悬液。吸取 250 μL 菌悬液(2McFland)加入安培瓶培养液中混匀, 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 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有限公司提供)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

应培养至 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 2007~2012 年 VVC 的感染数量比较 2007~2008 年 VVC 百分比为 25.66%(58/226);2009~2010 年 VVC 百分比为 39.60%(80/202);2011~2012 年 VVC 百分比为 75.29%(131/174)。

2.2 3 个年度的 VVC 的年龄分布 见表 1。

2.3 VVC 的病原分类 2007~2012 年,在本所 STD 门诊的 VVC 患者中分离培养出 269 株念珠菌(不重复计数),其中以白念珠菌为主,2007~2008 年 43 株 74.14%,2009~2010 年 66 株 82.50%,2011~2012 年 118 株 90.08%,有逐年上升趋势;光滑念珠菌次之,分别是 8 株 13.8%、9 株 11.25%和 6 株 4.58%,逐年下降;其余念珠菌包括清酒念珠菌(0.00%~6.90%)、近平滑念珠菌(0.00%~3.75%)、热带念珠菌

(0.76%~1.72%)、克柔念珠菌(0.76%~1.25%)和季也蒙念珠菌(0.00%~0.76%)等。

2.4 不同年度 269 株念珠菌对抗真菌药物的敏感性比较 NYS、KET 和 FL 敏感率最高,分别是 99.24%~100.00%、89.31%~94.83%和 66.25%~82.76%,而 MIC、ECO、IT 和 TEB 敏感率为 31.30%~55.17%、32.82%~65.52%、45.00%~67.24%和 3.82%~22.41%,光滑念珠菌和克柔念珠菌对 FL 耐药(0.0%~37.5%),其余见表 2。

表 1 3 个年度的 VVC 的年龄分布[n(%)]

年龄(岁)	2007~2008 年	2009~2010 年	2011~2012 年
0~<20	3(5.17)	2(2.50)	2(1.53)
20~<40	43(74.14)	63(78.75)	110(83.97)
40~<60	12(20.69)	13(16.25)	19(14.50)
≥60	0(0.00)	2(2.50)	0(0.00)
合计	58(100.00)	80(100.00)	131(100.00)

表 2 不同年度不同菌型念珠菌抗真菌药物敏感性比较[n(%)]

抗真菌药物	2007~2008 年			2009~2010 年			2011~2012 年		
	白念珠菌 (n=43)	光滑念珠菌 (n=8)	清酒念珠菌 (n=4)	白念珠菌 (n=66)	光滑念珠菌 (n=9)	近平滑念珠菌 (n=3)	白念珠菌 (n=118)	光滑念珠菌 (n=6)	近平滑念珠菌 (n=3)
制霉菌素(NYS)	43(100.00)	8(100.00)	4(100.00)	66(100.00)	9(100.00)	3(100.00)	118(100.00)	6(100.00)	3(100.00)
酮康唑(KET)	42(97.67)	6(75.00)	4(100.00)	63(95.45)	5(55.56)	3(100.00)	110(93.22)	2(33.33)	3(100.00)
氟康唑(FL)	38(65.52)	3(37.50)	4(100.00)	47(71.21)	2(22.22)	3(100.00)	85(72.03)	1(16.67)	3(100.00)
咪康唑(MIC)	22(37.93)	8(100.00)	1(25.00)	21(31.82)	5(55.56)	2(66.67)	37(31.36)	1(16.67)	1(33.33)
噻康唑(ECO)	28(48.28)	7(87.50)	1(25.00)	21(31.82)	4(44.44)	2(66.67)	39(33.05)	1(16.67)	1(33.33)
伊曲康唑(IT)	30(51.72)	5(62.50)	1(25.00)	30(45.45)	3(33.33)	3(100.00)	56(47.46)	2(66.67)	2(66.67)
特比奈酚(TEB)	12(20.69)	0(0.00)	0(0.00)	2(3.03)	0(0.00)	2(66.67)	2(1.69)	0(0.00)	2(66.67)

3 讨 论

念珠菌属是人体最常见的病原菌,广泛寄植在人体口腔、黏膜、皮肤表面和生殖系统,属于条件致病菌。VVC 是一种常见的女性生殖道疾病,在机体抵抗力下降、阴道酸碱度改变、激素水平上升致阴道上皮糖原增加、不健康生活习惯、滥用广谱抗菌药物、皮质激素、免疫抑制剂等药物,导致念珠菌优势繁殖而致病^[2]。本 STD 门诊酵母菌感染的总量在 2007~2008 年 226 例到 2011~2012 年 174 例,逐步下降,但妇女 VVC 的数量却逐年上升(25.66%升到 75.29%),这可能与来诊疗的女性患者逐年增多有关系。VVC 的年龄构成还是以育龄妇女(20~<40 岁)为主 74.14~83.97%,这与妇女性生活活跃的年龄阶段有关,且有逐年上升趋势,其次是中老年人(40~<60 岁),逐年下降,其临床症状主要为不同程度外阴瘙痒、灼痛、白带增多等^[3]。

抗真菌的临床治疗需要考虑感染菌株的种类,结合抗真菌药物的药代动力学特点,关注组织浓度、血药浓度、给药剂量等^[4]。因此,也需要监测 VVC 的病原分类,本文结果显示白念珠菌仍然是 VVC 的主要致病菌,从 2007~2008 年 74.14%到 2011~2012 年 90.08%,显示白念珠菌在广州地区有上升趋势,与文献^[3,5]报道有差异,这可能与区域、患者性别、致病原因、就诊科别、患者来源、鉴定系统等有关系,都有待进一步探索。非白念珠菌以光滑念珠菌、近平滑念珠菌、清酒念珠菌多见,与相关报道^[6]有相似。

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,有必要对外阴阴道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(NYS)、酮康唑(KET)、氟康唑(FL)敏感性较高,敏感率为 99.24%~100.00%、89.31%~94.83%和 66.25%~82.76%,而对咪康唑(MIC)、噻康唑(ECO)、伊曲康唑(IT)和特比奈酚(TEB)敏感率只有 31.30%~55.17%、32.82%~65.52%、45.00%~67.24%和 3.82%~22.41%。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%~37.5%,与天然耐药有关^[7],对 MIC、ECO、IT 和 TEB 的敏感率也不高;而白念珠菌和近平滑念珠菌对 MIC、ECO、IT 和 TEB 敏感率也较低(0.00%~66.67%),但近平滑念珠菌对 IT 敏感度很高(66.67%~100.00%),两者对 NYS、KET 和 FL 敏感率也相对较高(65.52%~100.00%)。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。临床上应用较多的是唑类药物^[8],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(IT)在本文出现耐药倾向,敏感率只有 45.00%~67.24%,氟康唑(FL)也相对较低 66.25%~82.76%,与相关报道^[9-10]有异,这是否提示用唑类药物存在交叉耐药来解释或是体外药敏与体(下转第 2284 页)

2.3 与国内其他地区微量元素参考区间比较 见表 3。

表 3 与国内其他部分地区参考区间比较(μg/mL)				
地区	锌	铁	钙	铅
广东 ^[1]	3.00~7.21	354.8~513.6	—	<0.100
徐州 ^[2]	5.41~7.99	452.43~577.05	49.63~67.89	—
阳江 ^[3]	2.95~7.79	332.00~578.00	45.20~103.9	0.030~0.150
番禺区	4.00~8.83	252.01~479.30	53.30~89.30	0.030~0.135

—:无数据。

3 讨 论

人体内微量元素含量容易受到地域、环境及生活条件所影响,在我国地域辽阔,实行统一的参考区间并不能反映当地的真实水平。儿童在生长发育过程中,微量元素含量多或少都会引起不同的生理现象,因此,建立本地区微量元素参考区间能较好地反映出本地区人群的实际微量元素含量,为临床指导健康饮食提供更加准确的依据。由于微量元素由于含量较低,通常采用原子吸收光度计进行测定,在测定过程应严格控制各种影响因素,使检测结果能如实反映健康儿童体内含量,然后使用适当的参考区间分析方法,得出客观可靠的参考区间。

曾有相邻地区报道^[4]婴幼儿锌、铁、钙、铅元素缺乏率分别高达 4.47%、19.9%、5.97%,因此,对本地区健康儿童建立更加敏感、准确的参考区间,显得尤为重要。调查发现,本地区男、女性健康儿童锌、铁、钙、铅元素含量参考区间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。因此,男、女性健康儿童之间锌、铁、钙、铅元素参考区间无需分开可同用一个标准,这与较早之前报道^[5]相一致。6 178 例健康儿童锌、铁、钙、铅元素含量进行是否呈正态分布发现,锌、钙、铅元素含量呈偏态分布,铁元素呈正态分布,这与陈建波等^[1]报道相一致。呈偏态分布元素含量按百分位数 $P_{2.5}$ 及 $P_{97.5}$ 确定 95% 参考区间;呈正态分布按 $\bar{x} \pm 1.96s$ 确定 95% 参考区间。结果显示,本地区锌、钙、铅元素参考区间分别为 4.00~8.83 μg/mL、53.3~89.3 μg/mL、0.030~0.135 μg/mL;而铁元素参考区间为 252.01~479.30 μg/mL。

与国内其他地区相比较,本地区参考区间锌元素含量略高于广东、徐州、阳江等地区;铁元素含量低于广东、徐州、阳江等地区;钙元素含量高于徐州,低于阳江地区。铅元素含量虽然低于阳江地区,但仍高于广东地区。因此,制定本地区铅元素

参考区间对于诊断儿童铅元素是否处于铅中毒状态具有深远的意义。

健康儿童锌、铁、钙、铅元素含量生长发育起着非常重要的作用,对儿童进行微量元素的检测是十分必要的^[6]。报道称锌、钙元素含量与身高成正相关^[7],锌、铁、钙元素在促进血铅排泄过程中起着积极作用,起着解铅毒的作用^[8]。锌、铁、钙元素缺乏还可引起反复性呼吸道感染^[9]及营养不良^[10]等疾病;而铅元素中毒可引起智力低下、多动、反应迟钝等症状。本次调查使用健康儿童血浆进行微量元素参考区间调查,与血清、全血或头发等参考区间不尽相同,临床实际应用中注意有所区别。综上所述,制定本地区健康儿童微量元素参考区间,为临床医生在分析和治疗本地区健康儿童微量元素含量更加准确的依据。

参考文献

[1] 陈建波,程雅婷,史林飞,等. 广东地区儿童全血铅、锰、锌、铜、铁参考区间的调查分析[J]. 广东微量元素科学,2009,16(3):27-30.

[2] 罗小虎,吴秀娟,段果雨,等. 徐州市儿童微量元素检测结果分析[J]. 徐州医学院学报,2013,35(2):100-102.

[3] 秦俊法,李增禧,楼蔓藤. 人体头发和血液微量元素正常参考值的确定原则和方法[J]. 广东微量元素科学,2005,12(10):2-11.

[4] 郭艳,马美美,杨春芹,等. 630 例血液微量元素调查分析[J]. 临床和实验医学杂志,2012,9(7):521-523.

[5] 王克,陈霞,崔永凯. 李沧区健康成人血中 7 种金属元素参考值调查[J]. 微量元素与健康研究,2008,25(6):5-8.

[6] 倪亚明. 微量元素与健康[M]. 北京:同济大学出版社,2009:8-10.

[7] 岑赛宁,区腾飞,官大伙. 学龄前儿童血铅水平与 5 种微量元素相互关系的研究[J]. 中国实用儿科杂志,2004,19(5):288-290.

[8] 陈社安,吕婉娟,黄丽萍. 儿童血铅水平与其他微量元素的相关性研究[J]. 实用医技杂志,2005,12(11):3239-3240.

[9] 张瑞珍. 小儿反复呼吸道感染与微量元素锌铁钙缺乏的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2010,18(10):1490-1491.

[10] 谢存芝,王淑娥,郭冬梅,等. 儿童营养不良与微量元素含量相关性分析[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(12):2516-2517.

(收稿日期:2013-04-08)

(上接第 2282 页)

内药敏有差异^[11],有待研究。特比奈酚(TEB)敏感率最低 3.82%~22.41%,这可能与 TEB 适合于镰刀霉属菌治疗^[12]有关系。本研究药敏结果趋势是敏感率逐年度在下降,为防止交叉耐药、交叉感染和避免天然不敏感药物,外阴阴道念珠菌菌型及其抗真菌药物敏感监测很有必要长期常规监测,帮助临床合理、规范用药,以防耐药菌株的出现,提高临床治疗效果。

参考文献

[1] 李红宾,刘静媛,祈文瑾,等. 复发性外阴阴道念珠菌病病原学及药敏的研究[J]. 皮肤病与性病,2010,32(1):9-10.

[2] 张贤华,浦文彧,万雄萍,等. 外阴阴道念珠菌感染与耐药性的研究[J]. 检验医学,2009,24(5):349.

[3] 鄢远野. 外阴阴道念珠菌病的临床特征和抗真菌药物敏感性研究[J]. 中国现代医生,2011,49(29):45-46.

[4] 刘伟,李若瑜. 抗真菌药物敏感性试验在真菌感染防治中的作用[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(4):349-351.

[5] 周晓维,张振国,乐宏元,等. 外阴阴道念珠菌病的病原检测及体外药敏试验[J]. 中国微生态学杂志,2009,21(8):759/764.

[6] 黄峰,秦淑国,边其侠. 念珠菌性外阴阴道炎的病因分类和药敏分

析[J]. 中华全科医学,2010,8(1):101-102.

[7] 徐英春,李若瑜,倪语星. 如何正确理解抗真菌药物体外敏感试验结果对临床用药的指导价值[J]. 中华检验医学杂志,2008,2(31):128-132.

[8] 范世珍,王竹. 阴道念珠菌病的致病菌及抗真菌药物疗效观察[J]. 中国热带医学,2009,9(3):474-475.

[9] 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,2010,26(1):63-64.

[10] 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.

[11] Pfaller MA, Diekema DJ, Sheehan DJ. Interpretive breakpoints for fluconazole and Candida revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(2):435-447.

[12] 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:2013-03-28)