

## • 经验交流 •

## 特发性血小板减少性紫癜合并侵袭性真菌病的菌群分布及药敏分析

陈卫布<sup>1</sup>, 孙雄飞<sup>2</sup>, 吴伟元<sup>1</sup>

(暨南大学第二临床医学院附属深圳市人民医院: 1. 检验科; 2. 血液科, 广东深圳 518020)

**摘要:**目的 分析特发性血小板减少性紫癜合并侵袭性真菌病的菌群分布特点及药敏情况, 为合理用药提供参考。方法 回顾性分析 126 例 ITP 疑合并 IFD 的患者, 所有患者在确诊 IPT 并实施治疗前均无真菌感染的证据, 送检患者痰、尿、血、引流物、分泌物及穿刺液等。采用直接涂片显微镜检查法检查真菌菌丝或孢子, 有菌丝则判断为真菌增殖致病状态。将所有标本分别接种于萨布罗培养基上培养, 应用 VITEK32 全自动微生物分析仪酵母菌鉴定卡进行鉴定, 对鉴定为假丝酵母菌属的菌株再次接种于科玛嘉假丝酵母菌属显色培养基上培养。采用 ATB 真菌药敏试剂条 2 进行微生物敏感性试验, 药物有两性霉素 B、伊曲康唑、氟康唑、伏立康唑及卡泊芬净等。**结果** 126 例 ITP 疑合并 IFD 患者中, 确诊 16 例(12.7%), 临床诊断 48 例(38.1%), 拟诊 62 例(49.2%)。从确诊和临床诊断的 64 例患者中共分离出致病真菌 84 株, 阳性检出率 66.7% (84/126)。分离的菌株分别为念珠菌属、曲霉菌属、毛霉菌、隐球菌、卡式肺孢子菌及其他。念珠菌属占第 1 位, 占分离菌群的 59.5%; 念珠菌属中又以白色假丝酵母菌为主, 占念珠菌属的 32.1% (27/84), 其次为曲霉菌属[19.0% (16/84)], 第 3 位为毛霉菌属[10.7% (9/84)]。氟康唑天然对克柔假丝酵母菌及曲霉菌无效; 毛霉菌仅对两性霉素 B 及氟康唑敏感; 卡式肺孢子菌除卡泊芬净外对其余抗真菌药均不敏感, 甲氧苄啶-磺胺甲恶唑为其首选。**结论** 特发性血小板减少性紫癜患者疑合并侵袭性真菌病菌株以念珠菌属为主, 念珠菌对两性霉素 B 及卡泊芬净敏感性高。

**关键词:** 紫癜, 血小板减少性, 特发性; 真菌病; 微生物敏感性试验; 回顾性研究

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.051

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2014)10-1345-02

特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)是血液系统较常见的出血性疾病, 为非恶性疾病, 是因免疫机制引起的小血小板破坏增加, 从而导致外周血血小板减少的自身免疫性疾病, 临床上分为急性型和慢性型, 治疗上常选用肾上腺糖皮质激素和(或)免疫抑制剂, 在治疗过程中常继发细菌、病毒及真菌感染, 对于 ITP 患者的治疗及预后影响较大, 严重者可危及生命<sup>[1]</sup>。侵袭性真菌病(invasive fungal disease, IFD)是指真菌侵犯皮下组织、黏膜和内脏所引起的感染性疾病。研究表明, IFD 患病率与致死率逐年增加, 日益成为免疫抑制患者及其他危重患者的主要死亡原因之一<sup>[2]</sup>。相对于其他血液系统疾病, ITP 预后良好, 但由于不可避免地应用激素和(或)免疫抑制剂治疗, 导致侵袭性真菌感染日渐增多, 为指导临床合理使用抗菌药物, 笔者对 2010 年 6 月至 2013 年 6 月本院血液科收治的 ITP 疑合并 IFD 的 126 例患者进行回顾性分析, 总结其菌株分布特点及微生物敏感性情况, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 6 月至 2013 年 6 月本院血液科收治的 ITP 疑合并 IFD 的患者 126 例, 所有患者在确诊 IPT 并实施治疗前均无真菌感染的证据, 在患者出现可疑 IFD 的临床症状后, 对痰、尿、血、引流物、分泌物及穿刺液等立即送检。

**1.2 诊断标准** 参照 2010 年中国侵袭性真菌感染工作组关于《血液病、恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则(第 3 次修正)》的诊断标准<sup>[3]</sup>, 将患者分为确诊、临床诊断和拟诊三级。真菌检测以真菌病理学检查为依据, 即体液或组织学涂片找到菌丝或标本中培养到真菌。

**1.3 主要试剂与仪器** 主要仪器为 BD BACTEC9120 全自动血培养仪及配套血培养瓶(美国 BD 公司)、VITEK32 全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃股份有限公司)。主要试剂: 血琼脂和沙保琼脂等培养基购于广州市迪景微生物科技有限公

司, 科玛嘉念珠菌属显色培养基、ATB 真菌药敏试剂条 2 购于法国生物梅里埃股份有限公司。

## 1.4 真菌直接显微镜检查、培养、分离鉴定及微生物敏感性试验

**1.4.1 直接涂片显微镜检查** 将采集的标本置于玻片上, 加一滴 10% KOH 溶液, 盖上盖玻片, 待标本溶解, 加盖盖玻片, 显微镜检查菌丝或孢子, 有菌丝则判断为真菌增殖致病状态。

**1.4.2 培养与分离鉴定** 将所有标本分别接种于萨布罗培养基上, 置室温或 37℃ 培养 24~48 h, 应用 VITEK32 全自动微生物分析仪酵母菌鉴定卡进行鉴定, 对鉴定为假丝酵母菌属的菌株再次接种于科玛嘉假丝酵母菌属显色培养基上, 置 35℃ 培养 72 h, 每 24~48 h 观察菌落色彩, 按照说明书规定的标准, 根据颜色进一步判断菌种。同一患者同样标本多次分离出同样菌株者, 按一株计算; 尿液标本菌落记数大于 5 000 CFU/mL 时计入统计。

**1.4.3 微生物敏感性试验** 采用 ATB 真菌药敏试剂条 2 进行微生物敏感性试验, 药物有两性霉素 B、伊曲康唑、氟康唑、伏立康唑及卡泊芬净等, 严格按操作说明书进行, 质控菌株由美国辉瑞公司提供。

**1.5 统计学处理** 将原始数据应用 Excel 软件录入, 建立数据库, 采用世界卫生组织耐药性检测中心推荐的 WHONET 5.4 软件进行描述性分析。

## 2 结果

**2.1 侵袭性真菌感染菌群的分布** 126 例 ITP 疑合并 IFD 患者中, 确诊 16 例(12.7%), 临床诊断 48 例(38.1%), 拟诊 62 例(49.2%)。本院细菌药敏实验室从确诊和临床诊断的 64 例患者中共分离出致病真菌 84 株, 阳性检出率 66.7% (84/126)。分离的菌株分别为念珠菌属、曲霉菌属、毛霉菌、隐球菌、卡式肺孢子菌及其他。念珠菌属占第 1 位, 占分离菌群的 59.5%; 念珠菌属中又以白色假丝酵母菌为主, 占念珠菌属的 32.1% (27/84), 其次为曲霉菌属[19.0% (16/84)], 第 3 位为

毛霉菌属[10.7%(9/84)],见表 1。

表 1 84 株侵袭性真菌的菌群分布及比例(%)

菌属	株数(n)	构成比(%)
念珠菌属	50	59.5
白色假丝酵母菌	27	32.1
热带假丝酵母菌	10	11.9
克柔假丝酵母菌	8	9.5
光滑假丝酵母菌	5	5.9
曲霉菌属	16	19.0
毛霉菌属	9	10.7
隐球菌属	4	4.8
卡式肺孢子菌	2	2.4
其他	3	3.6

表 2 84 株真菌对 5 种抗真菌药物的敏感率(%)

真菌名称	株数 (n)	两性霉素 B(%)	伊曲康唑 (%)	氟康唑 (%)	伏立康唑 (%)	卡泊芬净 (%)
白色假丝酵母菌	27	96.3	85.2	96.3	85.2	100.0
热带假丝酵母菌	10	90.0	50.0	90.0	90.0	90.0
克柔假丝酵母菌	8	100.0	62.5	0.0	100.0	100.0
光滑假丝酵母菌	5	100.0	60.0	40.0	100.0	100.0
曲霉菌属	16	100.0	62.5	0.0	87.5	93.8
毛霉菌属	9	88.9	0.0	66.7	0.0	0.0
隐球菌属	4	100.0	75.0	75.0	75.0	100.0
卡式肺孢子菌	2	0.0	0.0	0.0	0.0	50.0
其他	3	100.0	66.7	33.3	66.7	66.7

3 讨 论

近年来,随着高强度免疫抑制剂、大剂量化疗药物的应用以及临床上各种侵袭性操作的实施,IFD 的发病率明显升高,已成为日益严重的治疗难题<sup>[4]</sup>。有研究显示,在血液科 IFD 患者的病死率仅次于血液系统肿瘤患者<sup>[5]</sup>。特发性血小板减少症是一组以外周血血小板减少、自发性皮肤黏膜出血、血块退缩不良等为主要表现的自身免疫性疾病,大多 ITP 患者病情多呈自限性,预后良好<sup>[6]</sup>。但仍有 10%~20% 的患者对一线药物治疗的反应差、疗效低,呈持续性或慢性病程<sup>[7]</sup>,往往需应用大剂量激素和(或)免疫抑制剂,在治疗期间由于免疫功能抑制,容易发生侵袭性真菌感染,导致 IFD。IPT 为血液系统非恶性常见的出血性疾病,积极治疗,预后良好;如合并侵袭性真菌,则治疗难度明显增加,严重可危及患者生命。因此,笔者对 2010 年 6 月至 2013 年 6 月本院血液科 ITP 疑合并 IFD 的 126 例患者进行回顾性分析,结果显示,确诊 16 例(12.7%),临床诊断 48 例(38.1%),拟诊 62 例(49.2%)。从确诊和临床诊断的 64 例患者中共分离出致病真菌 84 株,阳性检出率 66.7%。感染菌株以念珠菌属为主,占分离菌群 59.5%,其次为曲霉菌属(19.0%),第 3 位为毛霉菌属(10.7%)。两性霉素 B 及卡泊芬净对念珠菌属的敏感性高,均在 90.0% 以上;氟康

唑为窄谱抗真菌药,对克柔假丝酵母菌及曲霉菌无效;毛霉菌仅对两性霉素 B 及氟康唑敏感;卡式肺孢子菌除卡泊芬净外对其余抗真菌药均不不敏感;隐球菌属对卡泊芬净耐药外,对其他抗真菌药有不同程度的敏感性。

近年来,由于三唑类药物,如氟康唑、伊曲康唑等的广泛应用,侵袭性真菌感染的病原谱发生了很大变化,表现在菌株构成比的改变上<sup>[8]</sup>。本研究显示,念珠菌属的比例明显下降,而曲霉菌属、毛霉菌属及其他真菌的比例明显增多,但念珠菌属仍为最常见的菌株,与文献基本类似<sup>[9]</sup>。随着抗真菌药物的广泛的应用,药物的敏感性也有不同的改变。两性霉素 B 是侵袭性真菌感染的标准治疗药物,对深部真菌感染有确切疗效,但由于两性霉素 B 具有患者难以耐受的不良反应及生物利用度的不稳定等缺点,限制了其临床应用。虽然伏立康唑及卡泊芬净具有抗菌谱广、药代动力学特性良好及不良反应少等特点,且对所有曲霉、隐球菌、念珠菌属、包括对氟康唑耐药的克柔念珠菌和光滑念珠菌均有杀菌活性<sup>[10]</sup>,但是,近年来 IFD 发生率持续上升,临床可供选择的药物相对缺乏,目前及今后相当长时间内,抗真菌药耐药及缺乏有力抗真菌药物将成为抗真菌治疗的重大挑战<sup>[11]</sup>。IPT 的治疗方案相对成熟,如无合并症,患者预后相对良好;如合并 IFD,则治疗难度加大,患者病死率极高,因此,一旦疑诊合并 IFD,应做到早识别、早诊断,并根据微生物敏感性试验合理选用抗真菌药物,争取早期施治,提高治愈率,以最大程度改善患者的预后。

参考文献

[1] 许燕燕,吴俊庆,刘超群. ITP 患者临床特点及血液检验结果分析[J]. 中国初级卫生保健,2010,24(8):118-119.

[2] 李梦,廖万清. 侵袭性真菌感染治疗新进展[J]. 中国真菌学杂志,2012,7(1):47-51.

[3] 中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则(修订版)[J]. 中华内科杂志,2007,49(7):607-610.

[4] 庚慧,许峰. 侵袭性真菌感染的流行病学及早期诊断方法[J]. 西部医学,2010,22(12):2343-2345.

[5] 詹伟锋,张一臣,陈纯波,等. 卡泊芬净治疗重症患者侵袭性真菌感染的疗效与安全性[J]. 广东医学,2011,32(22):2993-2995.

[6] 戴蕾莲,宪莹,苏庸春,等. 持续性和慢性免疫性血小板减少症的临床研究[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2012,17(6):271-274.

[7] Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group[J]. Blood, 2009, 113(11): 2386-2393.

[8] 周新. 侵袭性真菌感染的新动向和治疗新策略[J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14(7): 1-2.

[9] 周兴梅, 花天放, 俞宙, 等. 重症患者侵袭性真菌感染危险因素研究现状[J]. 中华现代护理杂志, 2012, 18(8): 978-981.

[10] 刘双. 重视侵袭性真菌病的诊断与治疗[J]. 心脑血管病杂志, 2012, 31(2): 133-136.

[11] 熊艳林. 肺部真菌感染的治疗现状及进展[J]. 中国综合临床, 2012, 28(2): 140-142.