

• 临床检验研究论著 •

白色念珠菌引起抗菌药物相关性腹泻的临床检验特点分析^{*}

邹前芽, 刘国忠, 周遇秀

(江西省吉安市中心人民医院检验科, 江西吉安 343000)

摘要:目的 分析白色念珠菌引起抗菌药物相关性腹泻(AAD)的临床检验特点。方法 对 100 例 AAD 患者粪便标本进行细菌培养, 根据所得结果分为白色念珠菌感染组和非白色念珠菌感染组, 对比 2 组患者血钠、血钾、空腹血糖和清蛋白水平, 以及抗菌药物使用情况和药物敏感试验结果。结果 细菌培养检出白色念珠菌 42 例。白色念珠菌感染组血钠、血钾和空腹血糖水平明显高于非白色念珠菌感染组($P<0.01$), 而清蛋白水平明显低于非白色念珠菌感染组($P<0.01$)。白色念珠菌感染组的二联及以上抗菌药物使用率明显高于非白色念珠菌感染组($P<0.05$)。白色念珠菌感染组对氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑、两性霉素 B 和氟胞嘧啶的耐药率明显低于非白色念珠菌感染组($P<0.05$), 而敏感率明显高于非白色念珠菌感染组($P<0.05$); 白色念珠菌感染组对万古霉素、呋喃妥因的耐药率明显高于非白色念珠菌感染组($P<0.01$), 而敏感率明显低于非白色念珠菌感染组($P<0.01$)。结论 对于 AAD 患者, 进行粪便培养可以为临床治疗提供诊断依据, 避免抗菌药物滥用。

关键词: 抗菌药物相关性腹泻; 临床检验; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.19.005

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)19-2586-03

The clinical laboratory characteristic of *Candida albicans* caused antibiotic-associated diarrhea^{*}

Zou Qianya, Liu Guozhong, Zhou Yuxiu

(Department of Clinical Laboratory, the Central People's Hospital of Ji'an City, Ji'an, Jiangxi 343000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the clinical laboratory characteristic of *Candida albicans* caused antibiotic-associated diarrhea (AAD). **Methods** 100 cases of AAD were selected. Based on the results, they were divided into *Candida albicans* group and non-*Candida albicans* group. The levels of sodium, potassium, fasting blood-glucose and albumin, investigation of antimicrobial usage were compared in two groups. **Results** *Candida albicans* were detected in 42 cases. The levels of sodium, potassium and fasting blood-glucose in the *Candida albicans* group were significantly higher than those in non-*Candida albicans* group ($P<0.01$), and albumin were significantly lower than that in non-*Candida albicans* group ($P<0.01$). The rate of two or more antibiotic usage in *Candida albicans* group was significantly higher than that in non-*Candida albicans* group ($P<0.05$). The drug resistance rates of fluconazole, itraconazole, voriconazole, amphotericin B and flucytosine in *Candida albicans* group were significantly lower than those in non-*Candida albicans* group ($P<0.05$), and the antibiotic sensitive rates of fluconazole, itraconazole, voriconazole, amphotericin B and flucytosine in *Candida albicans* group were significantly higher than those in non-*Candida albicans* group ($P<0.05$). The drug resistance rates of vancomycin and macrodantin in *Candida albicans* group were significantly higher than those in non-*Candida albicans* group ($P<0.01$), and the antibiotic sensitive rates of vancomycin and macrodantin in *Candida albicans* group were significantly lower than those in non-*Candida albicans* group ($P<0.01$). **Conclusion** For AAD cases, the fecal culture can provide experimental basis for clinical treatment and avoid the abuse of antibiotics.

Key words: antibiotic-associated diarrhea; clinical laboratory; resistance

白色念珠菌是存在于人体口腔、上呼吸道、肠道及阴道中的一种真菌, 该真菌在正常机体器官中不引起相关疾病, 但是当患者机体免疫功能损伤、防御能力下降或正常菌群生态平衡失调后, 该真菌将大量增殖, 进而诱发相关疾病^[1-2]。有临床研究认为, 人体肠道菌群存在相互制约和共生的关系, 但是当人体免疫系统损伤或者抗菌药物过量时, 肠道菌群平衡将被打破, 患者将出现肠道菌群异常, 进而诱发肠道功能紊乱, 患者出现腹泻等症状^[3]。笔者采集本院 100 例抗菌药物相关性腹泻(AAD)患者的粪便, 进行检验分析, 旨在探讨白色念珠菌与 AAD 的相互关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 10 月至 2013 年 10 月本院确诊为 AAD 的患者 100 例。所有患者均长期使用抗菌药物, 腹泻超过 3 个月, 大便泡沫较多, 呈黄稀黏液状。

1.2 培养方法 参照《全国临床检验操作规程》第 3 版对所有患者粪便样本进行培养。取患者粪便中黏液或脓血最严重的部分粪便, 接种在中国兰平板、SS 平板、沙保平板和血平板上。接种后的平板置于恒温培养箱, 35℃ 下进行培养, 3 d 后观察菌落生长情况。选取可疑细菌进行镜下鉴定, 同时进行药物敏感试验。其中怀疑为白色念珠菌的菌落接种在玉米琼脂培养基上, 28℃ 培养 72 h 后, 若在高倍显微镜下见典型的厚膜孢子生长于假菌丝顶端, 则确诊为白色念珠菌感染。

1.3 观察指标

1.3.1 菌落生长情况 培养 3 d 后, 肉眼及镜下观察菌落生长情况。白色念珠菌菌落肉眼下表现为酵母样菌落, 有酵母气味。显微镜下表现为卵圆形出芽细胞, 可见假菌丝。22~28℃ 下接种在玉米琼脂培养基中; 72 h 后, 高倍显微镜下显示为典型的厚膜孢子生长于假菌丝顶端的为白色念珠菌。糖发酵

^{*} 基金项目: 江西省卫生厅科技项目(20122030)。 作者简介: 邹前芽, 男, 主管检验医师, 主要从事临床检验工作。

试验表现为葡萄糖(+)、乳糖(-)、半乳糖(+)、麦芽糖(+),进一步确诊为白色念珠菌感染。

1.3.2 药物敏感试验 采取氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑、两性霉素 B、氟胞嘧啶、青霉素 G、左氧氟沙星、万古霉素和呋喃妥因进行药物敏感试验。仪器采用 VITEK-C32 全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃公司),细菌耐药性分析软件采用 WHONET5.4 软件。

1.4 患者的血钠、血钾、空腹血糖和清蛋白水平检测方法 检测所有患者的血钠、血钾、空腹血糖和清蛋白水平。其中,血钠、血钾采取干化学法检测,清蛋白、空腹血糖采用 GF-2245 全自动生化分析仪检测,所有仪器均购自上海佳和生物科技有限公司。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 实验室培养结果 在 100 例 AAD 患者的粪便标本中,检出白色念珠菌 42 例(42.00%),肠球菌 36 例(36.00%),奇异变形杆菌 9 例(9.00%),葡萄球菌 8 例(8.00%),铜绿假单胞菌 5 例(5.00%)。其中,白色念珠菌在 37℃沙氏培养基中培养 3 d 后可见白色、不透明菌落生长,有酵母气味;镜下表现为单细胞真菌孢子生长,深层可见假菌丝。生化反应:葡萄糖(+)、乳糖(-)、半乳糖(+)、麦芽糖(+).

2.2 白色念珠菌感染组和非白色念珠菌感染组血钠、血钾、空腹血糖和清蛋白水平比较 白色念珠菌感染组血钠、血钾和空腹血糖水平明显高于非白色念珠菌感染组($P < 0.01$),而清蛋白水平明显低于非白色念珠菌感染组($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 白色念珠菌感染组和非白色念珠菌感染组血钠、血钾、空腹血糖和清蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	血钠 (mmol/L)	血钾 (mmol/L)	空腹血糖 (mmol/L)	清蛋白 (g/L)
白色念珠菌感染组($n=42$)	148.52±2.58	4.29±0.13	7.69±0.97	31.13±1.24
非白色念珠菌感染组($n=58$)	142.35±2.42	3.84±0.27	5.78±0.85	34.57±1.09
t	6.854 0	3.750 0	10.491 5	5.433 8
P	0.000 0	0.000 1	0.000 0	0.000 0

表 2 白色念珠菌感染组和非白色念珠菌感染组药物敏感试验结果[$n(\%)$]

抗菌药物	白色念珠菌感染组($n=42$)		非白色念珠菌感染组($n=58$)	
	耐药率	敏感率	耐药率	敏感率
氟康唑	2(4.76)	40(95.24)	33(56.90)	25(43.10)
伊曲康唑	3(7.14)	39(92.86)	24(41.38)	34(58.62)
伏立康唑	1(2.38)	41(97.62)	16(27.59)	42(72.41)
两性霉素 B	0(0.00)	42(100.00)	8(13.79)	50(86.21)
氟胞嘧啶	7(16.67)	35(83.33)	23(39.66)	35(60.34)
万古霉素	33(78.57)	9(21.43)	10(17.24)	48(82.76)
青霉素 G	35(83.33)	7(16.64)	53(91.38)	5(8.62)
左氧氟沙星	40(95.24)	2(4.76)	56(96.55)	2(3.45)
呋喃妥因	37(88.10)	5(11.90)	3(5.17)	58(94.83)

2.3 白色念珠菌感染组和非白色念珠菌感染组抗菌药物使用

情况比较 白色念珠菌感染组的二联及以上抗菌药物使用率(64.29%)明显高于非白色念珠菌感染组(36.21%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 白色念珠菌感染组和非白色念珠菌感染组药物敏感试验结果 白色念珠菌感染组对氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑、两性霉素 B 和氟胞嘧啶的耐药率明显低于非白色念珠菌感染组($P < 0.05$),而敏感率明显高于非白色念珠菌感染组($P < 0.05$)。白色念珠菌感染组对万古霉素、呋喃妥因的耐药率明显高于非白色念珠菌感染组($P < 0.01$),而敏感率明显低于非白色念珠菌感染组($P < 0.01$)。见表 2。

3 讨 论

白色念珠菌又被称为白假丝酵母菌,是一种广泛存在于自然环境中的微生物,多呈圆形或卵形外观,直径在 3~6 μm ^[4]。正常情况下白色念珠菌呈稳定的圆形或卵形,此时不致病^[5]。当患者出现机体免疫系统损伤或者其他因素导致菌群生态平衡失调后,白色念珠菌将由圆形或卵形转化为菌丝相,并急剧增殖,诱发皮肤、黏膜甚至全身性疾病。临床研究认为,白色念珠菌为双相菌,一般情况下其表现为酵母相,而致病时则转化为菌丝相,这也是临床检测时患者感染的白色念珠菌多表现为菌丝状态的重要原因^[6]。现代微生物学研究显示,白色念珠菌致病机制可能与病菌附着、发芽、蛋白酶生成、菌落转换等相关。附着是白色念珠菌介入和侵入人体的重要能力之一,当病菌附着成功后,开始发芽或形成假菌丝,这些菌丝一方面为其获取生存的营养;另一方面进一步侵入人体细胞,危害黏膜或表皮组织。此外,白色念珠菌还可分泌多种蛋白水解酶,如磷脂酶和分泌性门冬酰蛋白酶,这些水解酶可帮助长芽管穿透黏膜细胞,加剧患者症状^[7]。菌落转换则是白色念珠菌耐药的重要因素之一,白色念珠菌可通过某些特定条件转换出不同的菌落形态,这些转换出的新型不透明菌落的细胞结构与原有菌落细胞存在表型差异,这使得新生菌落耐药能力显著提高^[8]。有研究发现,白色念珠菌诱发人体腹泻的作用机制为白色念珠菌附着人体肠道后,于肠道黏膜上大量增殖,同时释放多种水解酶,导致肠道黏蛋白质层逐步溶解,肠绒毛及肠微绒毛逐步损伤,最终诱使肠道功能紊乱,导致患者出现腹泻症状^[9]。有学者发现,AAD 患者主要致病菌表现为白色念珠菌、肠球菌、铜绿假单胞菌、奇异变形杆菌等^[10];该学者还发现,AAD 患者发病原因在于抗菌药物滥用,诱使患者肠道菌群紊乱,最终影响肠道功能而发病。

本研究显示,100 例 AAD 患者的粪便标本中,检出白色念珠菌 42 例(42.00%),肠球菌 36 例(36.00%),奇异变形杆菌 9 例(9.00%),葡萄球菌 8 例(8.00%),铜绿假单胞菌 5 例(5.00%)。其中白色念珠菌在 37℃沙氏培养基中培养 3 d 后可见白色、不透明菌落生长,有显著酵母气味;镜下表现为单细胞真菌孢子生长,深层可见假菌丝。本研究发现白色念珠菌是主要的 AAD 致病菌,其致病机制与细菌的附着、发芽、蛋白酶生成、菌落转换相关。

本研究还发现,白色念珠菌感染组血钠、血钾和空腹血糖水平明显高于非白色念珠菌感染组($P < 0.01$),而清蛋白水平明显低于非白色念珠菌感染组($P < 0.01$)。白色念珠菌感染组的二联及以上抗菌药物使用率(64.29%)明显高于非白色念珠菌感染组(36.21%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。这可能与白色念珠菌蛋白水解酶生成能力有关。本研究中药物敏感试验结果显示,白色念珠菌感染组对氟康唑、伊曲康唑、伏立

康唑、两性霉素 B 和氟胞嘧啶的耐药率明显低于非白色念珠菌感染组($P<0.05$),而敏感率明显高于非白色念珠菌感染组($P<0.05$)。白色念珠菌感染组对万古霉素、呋喃妥因的耐药率明显高于非白色念珠菌感染组($P<0.01$),而敏感率明显低于非白色念珠菌感染组($P<0.01$)。提示临床可根据患者粪便培养结果来合理应用抗菌药物。

综上所述,对于临床上长期使用抗菌药物而产生腹泻的患者,进行粪便培养可以为临床治疗提供诊断依据,避免抗菌药物滥用。

参考文献

[1] 于国慧,董方,甄景慧,等.北京地区儿童感染性腹泻病原学和耐药性分析[J].临床儿科杂志,2010,28(6):535-538.

[2] 张华玲,周赛男,蔡莹,等.超微七味白术散对菌群失调腹泻小鼠小肠黏膜的影响[J].中国微生态学杂志,2013,25(1):9-13.

[3] 王飞玲,陈楠,董月娇,等. SCID 小鼠肠道菌群失调对深部白色念珠菌感染的影响研究[J].中国微生态学杂志,2012,24(3):211-214.

[4] Bachofen C,Stalder H,Braun U,et al. Co-existence of genetically and antigenically diverse bovine viral diarrhoea viruses in an en-

demic situation[J]. Vet Microbiol,2008,131(1/2):93-102.

[5] 陶永平.吐温-80 对白色念珠菌芽管形成作用的观察[J].国际检验医学杂志,2013,34(14):1901-1903.

[6] Yilmaz H,Altan E,Ridpath J,et al. Genetic diversity and frequency of bovine viral diarrhoea virus(BVDV) detected in cattle in Turkey[J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis,2012,35(5):411-416.

[7] 何凡,何丁,邵英.金昌地区小儿腹泻病原学和耐药性分析[J].中国微生态学杂志,2013,25(5):583-585.

[8] 李建婷,邝枣园,宋珊珊,等.王氏保赤丸对抗生素诱导肠道菌群失调小鼠肠道保护作用及肝脏毒性的影响研究[J].吉林医学,2010,31(7):867-869.

[9] 罗振华,吴建伟,付萍,等.人工合成家蝇抗真菌肽 MAF-1A 对白色念珠菌致病性的影响[J].第三军医大学学报,2013,35(20):2203-2207.

[10] 李代昆,黄勇,府伟灵,等.小儿细菌性腹泻的病原菌分布特点及耐药性分析[J].国际检验医学杂志,2010,31(4):322-324.

(收稿日期:2014-04-16)

(上接第 2585 页)

with lactational infectious mastitis[J]. BMC Infect Dis,2008,8:51.

[6] Svensson K, Hellmark B, Söderquist B. Characterization of SCC-mec elements in methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis isolated from blood cultures from neonates during three decades [J]. APMIS,2011,119(12):885-893.

[7] 张曼,陈显秋,刘民.452 例革兰阳性葡萄球菌耐药分析[J].中国

实验诊断学,2011,15(3):438-440.

[8] 孙宏莉,王辉,陈民钧. 甲氧西林耐药的金黄色葡萄球菌耐药性及分子流行病学调查[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2005,25(2):137-141.

[9] 胡同平,张文兰,张永梅,等. 2008 年某院临床分离的常见细菌耐药性监测[J]. 检验医学与临床,2010,7(9):785-787.

(收稿日期:2014-04-28)

血清肿瘤标志物改善甲状腺癌的管理

2014 年 4 月 25 日,血清肿瘤标志物改善甲状腺癌管理的多学科诊治论坛在武汉召开,中华医学会内分泌学会主任委员滕卫平教授与中国抗癌协会头颈肿瘤外科专业委员会常委吴毅教授担任大会主席。来自临床外科、内分泌科、核医学科和检验科的专家深入探讨了甲状腺癌血清标志物,尤其是甲状腺球蛋白(Tg)与降钙素(calcitonin)在甲状腺癌诊断应用中的临床价值。

90%以上的甲状腺癌为分化型甲状腺癌(DTC),而 Tg 是一线指标,是 DTC 患者术后评估和监测的重要组成部分。根据 2012 年美国国立综合癌症网络 DTC 诊治指南,DTC 术后 6 个月和 12 个月进行随访,必查内容包括体格检查、Tg 及 Tg 抗体(TgAb)测定。

南瑞士肿瘤研究所核医学及 PET-CT 中心主任 Luca Giovanella 教授表示,Tg 测定方法应该高度敏感、结果可靠,厂家还应提供 Tg 测定试剂信息。此外,测定 Tg 时要排除 TgAb 干扰,选择高灵敏度的 Tg 免疫分析法。当 Tg 与 TgAb 的检测方法改变时,要在新方法下对患者重新评估,以保证动态监测评估的准确性。

一项对 DTC 患者随访 Tg 的荟萃分析结果显示,使用检测下限小于 0.1 ng/mL 的高灵敏性 Tg 检测试剂测定基础状态下的血清 Tg 水平有极高的阴性预测值。Elecsys TgⅡ已于 2013 年 12 月 9 日正式获国家食品药品监督管理总局批准,其灵敏度达 0.09 ng/mL,基础状态下检测 Tg 水平可部分替代促甲状腺激素(TSH)刺激后检测 Tg 水平。因我国尚无人重组 TSH,TSH 刺激需患者停止服用甲状腺素,人为的甲状腺功能减退使患者承受较多痛苦。使用 Elecsys TgⅡ则能尽量减少 TSH 刺激,极大地减轻了患者的负担。

作为一种神经内分泌肿瘤,甲状腺髓样癌(MTC)与 calcitonin 水平有密切联系。Luca Giovanella 教授认为,calcitonin 用于甲状腺结节患者髓样癌筛查,敏感性非常好,甚至优于超声和细针活检。此外,有研究证实,检测 MTC 患者穿刺针冲洗液中的 calcitonin 水平比细胞学检测灵敏度更高。

Elecsys calcitonin 已在 2014 年 3 月 28 日获国家食品药品监督管理总局批准,现已正式在中国上市。其具有较高的灵敏度,在体内仅有低水平 calcitonin 时仍能提供检测结果,使检测和随访更可靠。该试剂通用于所有 cobas 平台,具有高度批间稳定性,更利于长期监测 MTC 患者。