

• 经验交流 •

临床念珠菌感染分布及耐药性分析

伊慧霞¹, 苏娜¹, 刘玉梅¹, 胡晓安², 张艳³, 李红^{4△}

(1. 新疆医科大学第一附属医院医学检验中心, 新疆乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学基础医学院, 新疆乌鲁木齐 830011; 3. 乌鲁木齐市中医医院,

新疆乌鲁木齐 830000; 4. 新疆医科大学第五附属医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 分析患者常见念珠菌感染分布与耐药情况, 为临床治疗提供参考。方法 各种临床标本经分离培养后, GH-ROMagar 念珠菌显色培养基和 VITEK-Compact2 鉴定, Rosco 纸片扩散法对临床分离念珠菌进行抗真菌药物敏感试验及药敏结果分析。结果 临床分离的 106 株念珠菌, 白色念珠菌占 71.7%、热带念珠菌 15.1%、光滑念珠菌 4.7%、克柔念珠菌 3.8%、近平滑念珠菌 2.8%、其他念珠菌 1.9%。抗真菌药物敏感性分别为两性霉素 B 92.1%、氟胞嘧啶 93.1%、酮康唑 90.1% 和氟康唑 96.0%。结论 白色念珠菌和热带念珠菌是引起真菌感染最常见的念珠菌, 氟康唑对念珠菌治疗效果较好, Rosco 纸片扩散法简便, 易于在临床推广使用, 临床医生可根据药敏结果合理使用抗真菌药物, 为临床诊断治疗提供正确的用药依据。

关键词: Rosco 纸片扩散法; 酵母样真菌; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.068

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2014)21-2997-02

近十年来, 随着广谱抗菌药物的大量和广泛应用、造血干细胞移植、实体器官移植的广泛开展、高强度免疫抑制剂和大剂量化疗药物的应用及各种创伤性检查手段及治疗技术的逐步开展, 临床上真菌感染的发病率急剧上升^[1], 尤其是深部真菌感染已成为威胁患者健康的重要疾病之一, 故加强真菌感染的检验及药敏试验显得十分重要^[2-3]。2002 年美国临床实验室标准化委员会(CLSI)推荐使用酵母菌微量稀释法抗真菌药物敏感试验参考方案^[4], 此方法准确度和重复性好, 但操作繁琐, 难以在临床检验工作中推广应用。丹麦 Rosco 公司生产的扩散法真菌药敏纸片操作简便、结果易于判读, 在国内外常用于临床检测。本研究对临床标本中分离的 106 株念珠菌进行菌种鉴定, 并进行药物敏感性检测, 了解临床常见真菌感染分布情况和耐药性, 为临床药敏结果前经验用药提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2012 年 1~12 月新疆医科大学第一附属医院医学检验中心和第五附属医院检验科实验室从血液、咽拭子、痰液、尿液、烧伤创面、ICU 患者呼吸道及粪便标本中分离出的 106 株念珠菌。

1.2 菌株鉴定方法 沙保弱培养基进行念珠菌分离培养, 采用 GH-ROMagar 念珠菌显色培养基进行初步鉴定, 之后采用 VITEK-Compact2 全自动细菌分析仪进行鉴定, 经鉴定后包括白色念珠菌 76 株、光滑念珠菌 5 株、热带念珠菌 16 株、克柔念珠菌 4 株、近平滑念珠菌 3 株、其他念珠菌 2 株。

1.3 药敏试验检测 采用 Rosco 纸片扩散法, 用改良 SHADOMY 琼脂对念珠菌进行药敏试验, 白色念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌接种液的浓度为 5×10^5 CFU/mL, 14 cm 改良 SHADOMY 琼脂平板加入 1.0 mL 接种菌液, 9 cm 改良 SHADOMY 琼脂平板加入 0.5 mL 接种菌液均匀涂抹, 放置 10 min 后, 贴 Rosco 真菌药敏纸片, 用 ATCC60193 白色念珠菌作为质控菌株(由卫生部质控中心提供)。药敏结果按照 Rosco 公司提供试剂盒说明进行判断。

1.4 质量控制 大多数菌株在 35℃ 培养 18~24 h 后测量抑菌圈直径, 如果某些菌株在培养过夜后未见真菌生长应再培养 24 h 后测量, 但要注意培养时间过长会导致假耐药。

1.5 统计学处理 所有数据结果采用 Excel 2003 进行数据录入和统计, 分析方法为一般频数分析。

2 结果

2.1 念珠菌的种类 106 株临床检验分离的念珠菌菌株经鉴定主要包括白色念珠菌(71.7%)、光滑念珠菌(4.7%)、热带念珠菌(15.1%)、克柔念珠菌(3.8%)、近平滑念珠菌(2.8%)、其他念珠菌(1.9%), 其中白色念珠菌最为常见。见表 1。

表 1 106 株临床检验分离的念珠菌的类别分布情况

种类	n	百分率(%)
白色念珠菌	76	71.7
光滑念珠菌	5	4.7
热带念珠菌	16	15.1
克柔念珠菌	4	3.8
近平滑念珠菌	3	2.8
其他念珠菌	2	1.9

2.2 念珠菌的药物敏感试验结果 Rosco 纸片扩散法对临床检验分离的 101 株念珠菌(白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌)进行抗真菌药物敏感试验, 抗真菌药物敏感性分别为两性霉素 B 92.1%、氟胞嘧啶 93.1%、酮康唑 90.1% 和氟康唑 96.0%; 这 4 种念珠菌对常用的抗真菌药物两性霉素 B、氟胞嘧啶、酮康唑和氟康唑都存在不同程度的耐药, 氟康唑对念珠菌治疗效果较好。结果见表 2。

表 2 101 株念珠菌的耐药结果分布情况[n(%)]

药物名称	白色念珠菌 (n=76)	热带念珠菌 (n=16)	光滑念珠菌 (n=5)	克柔念珠菌 (n=4)	合计 (n=101)
两性霉素 B	6(7.9)	2(12.5)	0(0.0)	0(0.0)	8(7.9)
氟胞嘧啶	6(7.9)	0(0.0)	1(20.0)	0(0.0)	7(6.9)
酮康唑	6(7.9)	2(12.5)	1(20.0)	1(25.0)	10(9.9)
氟康唑	0(0.0)	1(8.3)	3(60.0)	0(0.0)	4(4.0)

3 讨论

真菌广泛分布于自然界, 在健康人体皮肤, 黏膜中亦可检出, 通常为正常菌群, 但当机体免疫力降低或受外来因素影响, 常常使机体微生态平衡失调, 外源性真菌乘虚而入或内源性真菌超常繁殖引起机体真菌感染。近年来真菌感染尤其是深部真菌感染的发病率明显上升, 深部真菌感染的疗效及转归很大程度取决于早期诊断和治疗, 目前真菌感染治疗面临着严峻的

△ 通讯作者, E-mail: lihong258166@@126.com.

挑战。抗真菌药物种类相对较少,大多数药物所需疗程较长、价格昂贵,长期应用会产生严重的副作用,药物的应用不合理及对真菌感染不恰当的预防性用药等,导致耐药菌株不断出现及种类不断增多^[5-6],严重影响了真菌感染的治疗。因此积极开展真菌体外药物敏感试验,监测医院真菌感染药物敏感情况,对指导临床用药及有效控制耐药性发展有重要意义。

本研究临床分离的 106 株念珠菌,主要来自血液、咽拭子、痰液、尿液、烧伤创面及粪便标本,白色念珠菌和热带念珠菌是引起真菌感染最常见的念珠菌,国内相关研究报道比例分布相似^[7-9]。从病原菌来源统计,106 株念珠菌主要分离自痰和尿液标本,痰标本占大多数,表明呼吸道是住院患者最易发生机会感染的部位,这可能与本研究标本主要来源于 ICU 病房、感染科患者有关。痰液和尿液标本的送检率较高,各种免疫力严重低下、呼吸衰竭患者,住院时间长的患者因并发肺部真菌感染使病情进一步恶化,给临床治疗带来了很大的困难。Rosco 纸片扩散法对临床检验分离的 101 株念珠菌(白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌)进行抗真菌药物敏感试验,发现这 4 种念珠菌对常用的抗真菌药物两性霉素 B、氟胞嘧啶、酮康唑和氟康唑都存在不同程度的耐药,但氟康唑对念珠菌治疗效果较好。白色念珠菌是医院感染最主要病原真菌,也是致病性最强的念珠菌,念珠菌可广泛黏附于上皮细胞、血管内皮细胞、细胞外基质和其他组织细胞等表面,通过多种途径引起局部或播散性感染。念珠菌黏附到宿主细胞表面是其致病首要条件,通过黏附素与宿主细胞表面受体相互作用而发生黏附,特异性转录调节因子 UME6 水平升高可引起白色念珠菌形成假菌丝及分泌胞外蛋白酶,促进生物膜形成和增加组织侵袭性^[10]。由于抗真菌药物的大量使用,光滑念珠菌、克柔念珠菌等对氟康唑的低敏感性或不敏感性所产生的选择压力,致使非致病性白色念珠菌引起深、浅部真菌感染的机会增加及耐药^[11]。鉴于不同种类的真菌对抗真菌药物的耐药性不同,临床上更应重视对真菌的鉴定和体外的药物敏感试验,指导临床的合理用药,避免念珠菌耐药性的进一步上升。Rosco 纸片扩散法操作简单方便,易于在临床推广使用,临床医生可根据

药敏结果合理选择抗真菌药物,加强对抗真菌药物的耐药性监测,为临床诊断治疗提供正确的用药依据。

参考文献

- [1] 廖万清,顾菊林. 医学真菌学研究进展[J]. 自然杂志, 2011, 33(1):1-5.
- [2] 张婴元. 侵袭性真菌感染的正确诊断和合理治疗是当前值得重视的问题[J]. 中国感染与化疗杂志, 2007, 7(1):1-3.
- [3] Charles PE, Dalle F, Aube H, et al. *Candida* spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study[J]. *intensive Care Med*, 2005, 31(3):393-400.
- [4] 徐英春,王澎,谢秀丽,等. 美国临床实验室标准化委员会酵母菌纸片扩散法敏感试验 2003 年版方案介绍[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(9):579-580.
- [5] 陈红丽. 216 株深部念珠菌感染分布及耐药性分析[J]. 实用预防医学, 2012, 19(12):1861-1863.
- [6] 赵景,耿玉兰,赵帅,等. 294 株白念珠菌药物敏感试验及耐药性分析[J]. 中国真菌学杂志, 2013, 8(5):289-290.
- [7] 陈翠珠,徐英春,王澎,等. 1 557 株酵母菌的鉴定及其药敏试验分析[J]. 中国真菌学杂志, 2006, 1(3):134-138.
- [8] 方惠祥,彭泽湘. 岳阳地区 328 份阴道分泌物标本真菌培养及药敏分析[J]. 现代预防医学, 2008, 35(9):1631-1633.
- [9] 周万青,沈翰,张之烽,等. 白念珠菌临床分离调查及基因分型研究[J]. 中国真菌学杂志, 2012, 17(1):20-23.
- [10] Banerjee M, Uppuluri P, Zhao XR, et al. Expression of UME6, a key regulator of *Candida albicans* hyphal development, enhances biofilm formation via Hgc1-and Sun41-dependent mechanisms[J]. *Eukaryotic Cell*, 2013, 12(2):224-232.
- [11] Yang YL, Ho YA, Cheng HH, et al. Susceptibilities of *Candida* species to amphotericin B and fluconazole; the emergence of fluconazole resistance to *Candida tropicalis*[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2004, 25(1):60-64.

(收稿日期:2014-04-08)

• 经验交流 •

Roche Modular 速率法检测谷氨酸脱氢酶的性能验证

罗浩元,刘集鸿,邓宇伟,梁金霞

(惠州市第一人民医院检验科,广东惠州 516001)

摘要:目的 对 Roche Modular P800 全自动生化分析仪速率法检测谷氨酸脱氢酶(GLDH)进行方法学性能验证。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)系列文件和相关文献的实验方案,对速率法检测 GLDH 的精密度、准确度、线性范围、临床可报告范围、生物参考区间进行验证,将实验结果与厂家声明的性能或者公认的质量目标进行比较。结果 精密度和准确度均符合厂商所声明的性能标准,GLDH 的检测呈一次线性,线性方程为 $Y=17.738X-17.75$,线性范围为 1.2~86.6 U/L,临床可报告范围 1.2~8 668.0 U/L。结论 Roche Modular P800 全自动生化仪速率法检测 GLDH 的主要分析性能均符合质量目标要求,能满足临床需要。

关键词:谷氨酸脱氢酶; 性能验证; 全自动生化分析仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.069

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-2998-03

谷氨酸脱氢酶(GLDH)作为肝细胞损伤的诊断、鉴别诊断、疗效和预后的重要指标,已广泛应用于临床^[1-2]。为了保证患者检测结果的可靠性,向临床提供有价值的检验报告,本文参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)相关文件,对 GLDH 的精密度、准确度、线性范围、临床可报告范围(CRR)、生物参考区间进行评价,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 高、低浓度血浆标本来自本院健康体检中心健康成人,样本要求为新鲜肝素抗凝血浆,无溶血、黄疸和脂血。

1.2 仪器与试剂 德国 Roche Modular P800 全自动生化分析仪及配套试剂、校准品和质控品。