

288 株假丝酵母菌菌种鉴定及耐药性分析

柴琳,唐芸,李云芬(云南省昆明市中医医院检验科 650011)

【摘要】 目的 了解患者临床感染假丝酵母菌属的菌种分布及对 7 种抗真菌药的耐药性,为临床抗真菌药物治疗提供参考依据。**方法** 回顾性调查分析 288 株酵母菌对两性霉素 B、制菌霉素、益康唑、咪康唑、酮康唑、氟康唑、伊曲康唑的药敏试验结果。**结果** 共检出 288 株酵母菌,分离出白色假丝酵母菌 187 株,占 64.9%,排第 1 位;光滑假丝酵母菌 65 株,占 22.6%,排第 2 位。在各种标本中呼吸道感染检出率最高,其次尿液、分泌物、粪便,呼吸道分泌物酵母菌的分离率显著高于其他临床标本($P<0.01$)。白色假丝酵母菌对酮康唑、咪康唑、氟康唑的敏感性高,敏感率分别为 95.8%、86.1%、87.0%。光滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌对酮康唑敏感性最高,分别为 91.7%、80.0%。热带假丝酵母菌对氟康唑的敏感率为 100.0%。**结论** 近年来由酵母菌引起的感染性疾病及其对抗真菌药物的耐药率都明显增加,检出酵母菌和其药敏试验有必要作为常规检查,以期提高感染性疾病诊断的准确性。

【关键词】 酵母菌; 抗真菌药; 耐药性
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.17.041 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)17-2185-02

由于抗生素、抗肿瘤药物及免疫抑制剂的广泛应用,以及艾滋病(AIDS)患者的增多,免疫功能低下人群扩大,真菌感染不断上升;抗真菌药物的广泛使用,又使真菌的耐药现象更加严重。真菌药物敏感性试验已成为当前突出问题。因此临床微生物实验室加强对假丝酵母菌培养分离鉴定及药敏分析,对临床感染性疾病病原学诊断和合理使用抗真菌药物有重要作用。回顾性分析了 288 株酵母菌对 7 种抗真菌药物的药敏试验结果,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2010 年 1 月至 2011 年 12 月住院及门诊患者 288 例,其中男 177 例,女 111 例,年龄 53~94 岁,血、痰、中段尿、咽拭子及其他体液标本,常规分离临床标本中的酵母样真菌,对同一患者相同标本多次分离出同一菌种按一株统计,同一患者同一标本分离出不同菌种和(或)同一患者不同标本分离出同一菌种按两株或多株统计。质控菌株:白色假丝酵母菌 ATCC14053 和热带假丝酵母菌 ATCC14058。

1.2 真菌液体培养基主要成分 酵母浸出液 6.7 g/L,葡萄糖 40 g/L,天门冬素 1.5 g/L,中性红 60 mg/L,溴甲酚紫 32 mg/L。药敏测试板主要成分:两性霉素 B 16 mg/L,制菌霉素 8 mg/L,益康唑 4 mg/L,咪康唑 4 mg/L,酮康唑 4 mg/L,氟康唑 128 mg/L,伊曲康唑 8 mg/L。

1.3 方法 将标本接种于血平板和巧克力培养基,放于 35℃ 培养箱中培养 24~48 h,见酵母样真菌菌落生展,经涂片染色证实为酵母菌;再用郑州博赛科技有限责任公司生产念珠菌显色培养基沙保罗鉴定菌种,按使用说明书操作。真菌药敏测定酵母菌鉴定板条(培养法)试剂盒由珠海市银科医学工程有限公司提供。

1.4 检测原理 当真菌在培养基中生长时发酵其中的葡萄糖,代谢产酸,引起培养基 pH 下降,培养基中的指示剂由紫色变成黄色,并根据各药敏孔颜色变化情况,分别判断相应药物为敏感(S)、中介(I)、耐药(R)。结果判读见说明书。

2 结果

在各种标本中呼吸道感染检出率最高,其次尿液、分泌物、粪便,呼吸道分泌物酵母菌的分离率显著高于其他临床标本($P<0.01$)。

2.1 288 株假丝酵母菌菌型分布 白色假丝酵母菌 187 株,占 64.9%;光滑假丝酵母菌 65 株,占 22.6%;热带假丝酵母菌 21 株,占 7.3%;克柔假丝酵母菌 15 株,占 5.2%。

2.2 288 株假丝酵母菌药物敏感试验 克柔假丝酵母菌对氟康唑天然耐药,尽管试验敏感,也应报告耐药;光滑假丝酵母菌对氟康唑或伊曲康唑存在固有的低敏感性现象,故应将敏感的结果改为中介,中介的结果改为耐药。见表 1。

表 1 288 株酵母菌对 7 种抗真菌药物的敏感率(%)

药物	白色假丝 酵母菌	光滑假丝 酵母菌	热带假丝 酵母菌	克柔假丝 酵母菌
两性霉素 B	79.2	64.0	73.0	52.0
制菌霉素	43.1	20.0	30.0	26.0
益康唑	41.0	25.0	26.0	31.0
咪康唑	86.1	47.0	57.0	52.0
酮康唑	95.8	91.7	84.0	80.0
氟康唑	87.0	0.0	100.0	0.0
伊曲康唑	55.6	0.0	30.0	31.0

3 讨论

近年来,临床深部真菌感染呈日渐增多趋势,酵母菌等条件致病菌的感染明显增多是现代临床感染的主要特征之一。孔繁林等^[1]报道酵母菌在医院分离菌中的排序已由 2003 年的第 7 位上升至 2007 年的第 1 位。

3.1 临床应用的抗真菌药物主要是多烯类和咪唑类等,多烯类抗真菌药如两性霉素抗菌机制在于其与真菌细胞膜的麦角固醇结合,从而破坏细胞膜功能。真菌的野生株对多烯类抗真菌药物是敏感的,但长期应用可导致真菌的耐药^[2]。氟康唑对光滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌耐药性较强,存在天然耐药株。酵母菌对咪唑类抗真菌药耐药的机制是:(1)靶位改变。羊毛甾醇(ERG11)基因突变降低吡咯类的亲和力,使克柔假丝酵母菌对氟康唑天然耐药,而光滑假丝酵母菌的羊毛甾醇脱甲基酶过量表达是氟康唑和伊曲康唑耐药的原因。(2)泵出机制。泵出机制导致吡咯类胞内浓度降低发生耐药。(3)细胞膜改变。细胞膜的类固醇改变降低通透性,为不常见的耐药机

制^[3]。对氟康唑易产生耐药性的克柔假丝酵母菌在本院分离较少。

3.2 分析表明,白假丝酵母菌感染是医院内最常见的真菌感染。一般认为,白假丝酵母菌是酵母样真菌中最主要的机会致病菌^[4]。假丝酵母菌对 7 种药物的敏感率,4 种均对酮康唑较敏感,对制菌霉素和益康唑较耐药,其他 4 种药有明显差别,说明各种假丝酵母菌的敏感性之间存在较大差异。另有研究认为,白色假丝酵母菌大都对氟康唑敏感,由于氟康唑的大量使用,由白色假丝酵母菌引起的感染减少,而对氟康唑敏感度低的菌种可能增加,如光滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌。本院所分离的白色假丝酵母菌(187 株)对氟康唑耐药率为 4.8%,与 2003 年胡建云等^[5]报道白假丝酵母菌对氟康唑耐药率仅 1.5%,2005 年陈红霞^[6]报道白假丝酵母菌对氟康唑耐药率达 3.8%比较,有明显上升趋势。

3.3 酵母菌是引起临床真菌感染的主要内源性条件致病菌^[7],抗真菌药物的使用对抑制真菌感染起到积极作用。但在我国国内医院酵母菌药敏试验未得到普遍开展,因此临床医生抗真菌药几乎都是经验性选药。近年来由酵母菌引起的感染性疾病及其对常用抗真菌药的耐药性都明显增加。本调查表明,白色假丝酵母菌对酮康唑、咪康唑、氟康唑的敏感性高,敏感率分别为 95.8%、86.1%、87.0%。光滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌对酮康唑敏感性较高,分别为 91.7%、80.0%。热带假丝酵母菌对氟康唑的敏感率为 100.0%。氟康唑对白色假丝酵母菌、热带假丝酵母菌有较好的活性。假丝酵母菌对 7 种抗真菌药存在不同程度的耐药菌株。

3.4 近年来随着大量广谱抗生素、激素、免疫抑制剂的应用及各种介入性治疗技术的开展,免疫功能低下人群不断扩大,继发性真菌感染日益增多^[8-9];因此,合理的使用抗真菌药,避免

其耐药性的进一步发展,就要求减少经验用药,建立完善的真菌实验室,积极开展真菌的分离培养、鉴定、药敏试验,及时进行真菌耐药情况的监测,对临床掌握真菌感染的情况、有针对性选用抗真菌药物、提高治疗效果有重要意义。

参考文献

- [1] 孔繁林,储从家,管新龙,等. 临床分离 508 株酵母菌的菌种分布及耐药性分析[J]. 中国医院感染杂志,2008,79(5):310-313.
- [2] 贺爱民,陈文萍,黄荣平,等. 深部真菌的药敏分析[J]. 实验与检验医学杂志,2008,26(2):191.
- [3] 施金玲,蔡璇,孙端阳. 酵母菌医院感染的危险因素与耐药性分析[J]. 医药导报,2006,25(1):68-70.
- [4] 李翠,张代民,陈国敏. 假丝酵母菌分离鉴定及药敏试验分析[J]. 临床军医杂志,2009,37(2):279-281
- [5] 胡建云,管新农,张秀珍,等. 深部感染真菌对常用抗真菌药物的耐药性[J]. 中国药物应用监测,2005,3(1):3-5.
- [6] 陈红霞. 355 株酵母样真菌的分布及药敏试验分析[J]. 浙江预防医学,2007,19(8):31-33.
- [7] 张春容,徐泽强. 酵母菌对抗真菌药耐药性调查分析[J]. 中国药物滥用防治杂志,2001,9(5):35-36
- [8] 汤丽霞,兰素芬,黄燕. 医院真菌感染 112 例临床分析[J]. 广西医学,2004,26(6):867-868.
- [9] 董晓贤,翟瑞杰,张爱平. ICU 危重症患者侵袭性真菌感染 45 例临床分析[J]. 临床军医杂志,2008,36(5):830-831.

(收稿日期:2012-03-01)

• 临床研究 •

循环酶法测定乙醇依赖患者血清同型半胱氨酸水平探讨

张云飞,李桂民,张 媛,于 奇(江苏省徐州市东方人民医院检验科 221004)

【摘要】 目的 探讨乙醇依赖患者与血清同型半胱氨酸(Hcy)水平的相关性及其临床意义。**方法** 采用循环酶法分别测定 50 例乙醇依赖患者与 50 例健康体检人群的血清 Hcy 值,计算出两组的均值,分析血清 Hcy 浓度与乙醇依赖的相关性。**结果** 患病组血清 Hcy 均值为 $(22.26 \pm 10.19) \mu\text{mol/L}$,显著高于健康对照组 $(12.36 \pm 5.8) \mu\text{mol/L}$,二者差异具有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 乙醇依赖患者血清 Hcy 水平在检测中有显著性升高,乙醇依赖患者可能存在 Hcy 代谢障碍,对诊断乙醇依赖有一定的指导意义。

【关键词】 循环酶法; 乙醇依赖; 同型半胱氨酸

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.17.042 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)17-2186-02

正常情况下,同型半胱氨酸(Hcy)在人体血液中的含量不超过 $15 \mu\text{mol/L}$,高 Hcy 血症可直接损害血管和神经。近年来研究发现,高 Hcy 血症与冠状动脉疾病、脑血管疾病、外周血管疾病高度相关,但乙醇依赖患者的 Hcy 水平研究甚少。本文对乙醇依赖患者血清 Hcy 水平进行了检测,探讨循环酶法测定乙醇依赖患者血清 Hcy 水平对诊断乙醇依赖患者的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 (1)患病组:为 2010 年 1 月至 2011 年 4 月在本院首次就诊的乙醇依赖患者,其诊断符合 CCMD-3《中国精

神障碍诊断标准》,合并冠状动脉疾病、脑血管疾病、外周血管疾病的未入组,共 50 例,均为男性,年龄 20~65 岁,平均年龄 (44.6 ± 9.1) 岁,患者对本研究过程知情并同意参加。(2)健康对照组:为 50 例健康体检人群,均为男性,已排除冠状动脉疾病、脑血管疾病、外周血管疾病,均无长期大量饮酒史,年龄 20~65 岁,平均 (41.6 ± 9.6) 岁,与患者组在年龄、性别方面的比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 试剂 Hcy 测定试剂购自北京九强,试剂批号 09-125。试剂主要成分:(1)试剂 1 为 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)0.1 mmol/L,还原型辅酶 I (NADH)0.2 mmol/L,三磷氯化氢