

## 甲真菌感染真菌培养鉴定与耐药性分析

何亮, 郝建华, 张健华, 罗历, 于文超, 张竞文, 曾忠铭\*

**摘要:**目的 探讨甲真菌病病原菌种类及对常用抗真菌药物的敏感度,为临床治疗提供参考依据。方法 常规培养分离真菌,并鉴定到种,采用最小抑菌浓度法进行体外药物敏感试验。结果 培养分离的28株菌中,假丝酵母菌占85.71%,皮肤癣菌占10.71%,霉菌占3.57%。24株假丝酵母菌中近平滑念珠菌检出最多占35.71%;分离菌株对两性霉素、伊曲康唑和氟康唑耐药率较高。结论 假丝酵母菌在甲真菌感染中多见,对抗真菌药物的耐药性具有种间差异,应引起重视。

**关键词:**甲真菌病;菌群分布;耐药性

中图分类号:R379 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2012)10-1232-03

Distribution and drug resistance of fungal genus among 63 Onychomycosis patients. He Liang, Hao jian hua, ZENG zhongming\* et al. (Nanshan Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, 518020, Shenzhen, China)

**Abstract:** Objective To study the prevalence, pathogenic characteristics and drug resistance of Onychomycosis to provide the reference for clinical treatment. Methods The fungi were cultured and identified conventionally. The medical susceptibility test was performed by MIC methods. Results Among 28 strains of fungi, the most common organisms were Candida (85.71%), then was pathogenic dermatophytes (10.71%) and mycetes (3.57%). Candida parapsilosis (35.71%) was the most common in 24 strains of Candida. Drug resistance to four commonly used antifungal drugs showed drug resistance to amphotericin, itraconazole and fluconazole were higher. Conclusions Candida infection is commonly in Onychomycosis. Significant difference of drug resistance occurs among different Candida infection, which should arouse great attention of physicians.

**Key words:** Onychomycosis; Genus distribution; Drug resistance

甲真菌病是由真菌引起的一种慢性、顽固性疾病,其致病真菌主要可以分三类:皮肤癣菌、酵母菌及霉菌<sup>[1]</sup>。为进一步了解深圳市甲真菌病的致病菌分布比例,我们对2008年4月~2009年11月深圳市南山人民医院及深圳市慢性病防治中心门诊63例直接镜检阳性的甲真菌感染病例真菌培养结果进行鉴定和分析,现报告如下。

### 1 材料与方法

1.1 病例选择 63例甲真菌病患者均为门诊病人且直接镜检阳性。年龄24~67岁,平均年龄32岁,病程数月或数年不等。

1.2 标本收集 取材前先用75%乙醇彻底消毒病甲,然后用一次性手术刀尽可能地刮取病变活动部位的甲屑于洁净玻片上,所得标本混合均匀。

1.3 培养方法 甲屑接种于含氯霉素和放线菌酮的沙氏培养基(广州迪景公司),每管最少接种5点,放30℃恒温箱培养,每天观察培养情况。2周以上无菌落生长判定为阴性。

1.4 菌种鉴定及药物敏感性分析 假丝酵母菌鉴定及药物敏感性实验采用Bact-IST细菌鉴定仪及配套试剂进行(珠海黑马公司);皮肤癣菌的鉴定主要依据菌落形态、颜色及小培养的镜下结构。

1.5 药物敏感实验结果判断标准 根据NCCLS的M-27-A标准进行判别<sup>[2]</sup>。

### 2 结果

2.1 菌种分布 63例甲真菌病患者经真菌培养共28例阳性,培养阳性率44.44%。分离出病原菌28株,其中皮肤癣菌3株,占10.71%;假丝酵母菌24株,占85.71%;霉菌1株,占3.57%,具体菌种分布见表1。

2.2 药物敏感性实验结果 对鉴定出的24株假丝酵母菌进行了药物敏感性实验,具体实验结果见表2。

2.3 临床分离真菌耐药率统计 24株假丝酵母菌对9种抗真菌药物的耐药率依次为:两性霉素16(66.67%),伊曲康唑11(45.83%),氟康唑10(41.67%),益康唑10(41.67%),咪康唑8(33.33%),氟胞嘧啶8(33.33%),制霉菌素8(33.33%),酮康唑7(29.17%),克霉唑7(29.17%)。

### 3 讨论

甲真菌病致病真菌主要包括皮肤癣菌、酵母菌和霉菌。通常认为这三类致病真菌中,皮肤癣菌最为常见,其次为酵母菌和霉菌。甲真菌病的发病及治病真菌的分布受年龄、季节、性别影响<sup>[3]</sup>,其易感染因素较多。甲真菌病以并发足癣为主,趾甲的发病率高于指甲,与足癣比手癣常见有关,随年龄的增长,诱发甲癣

基金项目:深圳市南山区科技局资助课题(No.2010038)

作者简介:何亮(1974~),男,汉族,云南昆明人,医学硕士,副主任医师,主要从事医学微生物学研究。

\*通讯作者: E-mail: helio2003@163.com

表 1 28例甲真菌病真菌菌株构成比  
Table 1 Ratio of onychomycosis fungal strain from 28 cases

菌种名称 Species name	菌株数(株) Strains (strain)	构成比(%) Constituent ratio(%)
近平滑念珠菌 Candida parapsilosis	10	35.71
季也蒙念珠菌 Candida guilliermondii	5	17.86
白色念珠菌 Candida albicans	3	10.71
白色念珠菌生物变种 Candida albicans biovar	2	7.14
热带念珠菌 Candida tropicalis	2	7.14
深红酵母菌 Rhodotorula rubra	1	3.57
葡萄牙念珠菌 Candia Portugal	1	3.57
红色毛癣菌 Triphophyton rubrum	1	3.57
须癣毛癣菌 Alpha fungus	1	3.57
絮状表皮癣菌 Epidermophyton floccosum	1	3.57
白地霉 White fungus	1	3.57

的因素增多,其发病率也增加。国外报道,20世纪60年代,甲真菌病病原菌40.00%为皮肤癣菌,70年代上升至70.00%,近15年来约为60.00%,酵母菌占20.00%~30.00%,真菌占5.00%~25.00%<sup>[4]</sup>。在我们的调查中,三种致病菌所占比例分别为皮肤癣菌3株,占10.71%;假丝酵母菌24株,占85.71%;霉菌1株,占3.57%。结果显示假丝酵母菌为主要感染菌,而在所有分离出的假丝酵母菌中,近平滑念珠菌居首位,占35.71%,其次是季也蒙念珠菌(17.86%)、白色念珠菌(10.71%)、白色念珠菌生物变种(7.14%)、热带念珠菌(7.14%)、深红酵母菌(3.57%)、葡萄牙念珠菌(3.57%)。目前大多数研究证实假丝酵母菌能侵犯甲引起甲真菌病,但假丝酵母菌中受一些学者的怀疑,问题是假丝酵母菌是侵犯甲实质还是仅侵犯甲床<sup>[5,6]</sup>。故有学者认为对于一次培养结果为假丝酵母菌者,建议继续做2次或2次以上的培养,若均为同一种菌,则应视为致病菌<sup>[7]</sup>。我们检测显示,在24株假丝酵母菌中,菌种分布达7个种,分布范围较广。提示假丝酵母菌可能相当部分扮演着条件致病菌的角色。分离出的条件致病菌必须根据临床表现及显微镜所见进行严格的检查<sup>[8]</sup>,同时建议继续做2次或2次以上的培养,综合直接镜检、真菌培养和临床表现进

表 2 临床分离真菌对常用抗真菌药物的药物敏感试验结果  
Table 2 Drug sensitivity test results of clinical isolation of fungi to common antifungal

真菌 Fungi	氟胞嘧啶 Flucytosine (%)		两性霉素 Amphotericin (%)		益康唑 Econazole (%)		咪康唑 Miconazole (%)		酮康唑 Ketoconazole (%)		克霉唑 Clotrimazole (%)		制霉菌素 Nystatin (%)		伊曲康唑 Itraconazole (%)		氟康唑 Fluconazol (%)	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
近平滑念珠菌 Candida parapsilosis	80	20	40	60	60	40	90	10	100	0	90	10	90	10	70	30	60	40
季也蒙念珠菌 Candida guilliermondii	60	40	20	80	60	40	40	60	60	40	40	60	80	20	40	60	60	40
白色念珠菌 Candida albicans	40	60	20	80	60	40	80	20	20	80	60	40	40	60	40	60	60	40
热带念珠菌 Candida tropicalis	100	0	50	50	50	50	50	50	50	50	100	0	50	50	50	50	50	50
深红酵母菌 Rhodotorula rubra	0	100	0	100	100	0	0	100	100	0	0	100	0	100	100	0	100	0
葡萄牙念珠菌 Candida Portugal	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	0	100	0	100

行判断。

本组资料显示,耐药率较高的药物由高到低依次是两性霉素、伊曲康唑、氟康唑、益康唑、咪康唑、氟胞嘧啶、制霉菌素、酮康唑、克霉唑。在耐药率较高的前3种药物中,两性霉素口服后基本不吸收且肾毒性不

良反应大,临床很少使用。伊曲康唑和氟康唑都是第3代咪唑类抗真菌药,伊曲康唑和氟康唑在20世纪90年代进入我国,因其疗效好、副作用小、抗真菌谱广而用于各种真菌病,其耐药率的不断增高应引起我们的重视。从各个菌种看,所检测的10株近平滑念珠菌

(下转第1260页)

- (林玫,董柏青.感染性腹泻流行病学研究现状[J].中国热带医学, 2008, 8(4): 675-677.)
- [4] Miao ZP, Lv HK, Qin SW, et al. Epidemiological characteristics of other infectious diarrheas in Zhejiang province, 2005 - 2009[J]. Disease Surveillance, 2011,26(8):614-617. (In Chinese)
- (缪梓萍,吕华坤,秦淑文,等.2005-2009年浙江省其他感染性腹泻流行特征分析[J].疾病监测, 2011,26(8):614-617.)
- [5] Ou JM, Xie ZH, Huang WL, et al. Epidemiological Characteristics of Other Infectious Diarrhea in Fujian, China (2005-2008) [J]. Strait J Prev Med, 2009,15(5):9-11. (In Chinese)
- (欧剑鸣,谢志杭,黄文龙,等.福建省2005-2008年其它感染性腹泻流行特征分析[J].海峡预防医学杂志,2009,15(5):9-11.)
- [6] Ru WP, Xie ZQ. Epidemiologic Analysis on other infectious diarrheal diseases in Henan province in 2009[J]. Modern Preventive Medicine, 2011,38(18):378-383. (In Chinese)
- (茹维平,谢志强.河南省2009年其他感染性腹泻流行病学分析[J].现代预防医学,2011,38(18):378-383.)

收稿日期 2012-03-14 编辑 谢永慧

(上接第1233页)

对酮康唑敏感率达到100%,对咪康唑、克霉唑、制霉菌素的敏感率也达到90%,季也蒙念珠菌对制霉菌素敏感率最高,达到80%,其次为氟胞嘧啶、益康唑、酮康唑和氟康唑敏感率均为60%,白色念珠菌对咪康唑敏感率为80%,其次为益康唑、克霉唑和氟康唑敏感率均为60%,而对于酮康唑敏感率仅为20%,结果显示,不同菌种对药物敏感性各有差别,对于甲真菌病的治疗,应综合多种因素,选择适合患者的最佳方式,采用联合治疗方法可缩短口服药疗程,减少不良反应,从而提高患者的治愈率。

#### 参考文献:

- [1] Li FQ, Qu SM, Li RY, et al. 2004 China onychomycosis pathogen investigation[J]. Chinese Journal of Dermatology, 2006,12(39): 720-721. (In Chinese)
- (李福秋,曲生明,李若瑜,等. 2004年中国部分地区甲真菌病致病菌调查[J]. 中华皮肤科杂志,2006,12(39): 720-721)
- [2] NCCLS. National committee for clinical laboratory standards reference method broth dilution antifungal susceptibility testing for yeast [S]. Document M-27-A, USA: Villanova, 1992, 2.
- [3] Zhan ZP, Nie ZH. Clinical Investigation on 719 Cases of Onychomycosis and Analysis of Pathogen in Fungus[J]. Chin J Derm Venereol, 2010, 24(4): 324-325 (In Chinese)

- (占志萍,聂振华. 甲真菌病719例临床及致病真菌分析[J]. 中国皮肤性病学杂志,2010,24(4): 324-325)
- [4] Ma GQ, Dai W. Isolation and culture of causative pathogens for 761 cases of onychomycosis[J]. Chin J Nosocomiol, 2011,21(3): 617-618. (In Chinese)
- (马国群,戴唯. 761例甲真菌病病原菌分离培养分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(3): 617-618.)
- [5] Evans EG. Causative pathogens in Onychomycosis and the possibility of treatment resistance: a review. [J]. J Am Acad Dermatol, 1998,38: S32-S36
- [6] Han MH, Choi JH, Sung KJ, et al. Onychomycosis and Trichosporon beigelii in Korea. [J]. Int J Dermatol, 2000,39:266-269.
- [7] Ellis DH. Diagnosis of onychomycosis made simple. [J]. J Am Acad Dermatol, 1999,40:S3-S8.
- [8] Pierard GE, Pierard-Franchimont C, Arress JE, et al. Primary pathogenic fungi and conditioned fungi induced onychomycosis. [J]. Chinese Journal of Dermatology, 1998,31:308-309. (In Chinese)
- (Pierard GE, Pierard-Franchimont C, Arress JE, 等. 原发性病原真菌和条件性真菌所致的甲真菌病 [J]. 中华皮肤科杂志, 1998,31: 308-309.)

收稿日期 2012-05-10 编辑 谢永慧