

· 短篇论著 ·

两种培养基在甲真菌病诊断中的对比研究

张华丽 廉翠红 张书岭

摘要 :目的 采用含放线菌酮和氯霉素的沙氏培养基(SCCA)、皮肤癣菌培养基(DTM)检测甲真菌病临床标本,将结果作比较,选出较好培养基用于诊断甲真菌病。方法 收集临床拟诊为甲真菌病的标本,分别接种于 SCCA、DTM,记录菌株的开始生长时间、培养基开始变色时间及开始变色时菌落的直径,将结果进行对比研究。结果 ① SCCA、DTM 的培养阳性率、菌种的生长速度及形态差异无统计学意义($P>0.05$)。②所有分离的皮肤癣菌,均能使 DTM 培养基变色,非皮肤癣菌生长时 49.5%能使 DTM 培养基变色,而 SCCA 都不变色。③皮肤癣菌与非皮肤癣菌在 DTM 上生长情况的比较,其开始变色时间差异无统计学意义($P>0.05$),开始变色时菌落直径两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。皮肤癣菌开始变色时菌落直径 $\leq 5\text{mm}$ 。结论 DTM 不仅能用于诊断甲真菌病,而且能简便、快速、准确地分离鉴定皮肤癣菌,在甲真菌病诊断中有着良好的应用前景。

关键词 培养基;甲真菌病;诊断

中图分类号:R756.4 文献标识码:B 文章编号:1009-9727(2012)3-340-02

Comparison of value of two media in diagnosis of onychomycosis. ZHANG Hua-li, LIAN Cui-hong, ZHANG Shu-ling. (Shenzhen Municipal Second People's Hospital, Shenzhen 518035, Guangdong P. R. China)

Abstract :Objective To find a better medium for the diagnosis of onychomycosis. Methods Nail samples were collected from patients with suspected onychopathy and inoculated into Sabouraud dextrose agar fortified with cycloheximide and chloromycetin (SCCA) and dermatophyte test medium (DTM) respectively. The initial time of fungal growth and discoloration of medium as well as the colony diameter at the beginning of discoloration, were documented and compared. Results The fungal isolation rate, growth speed and colonial appearance showed no difference between SCCA and DTM. All isolates of dermatophyte could alter the colour of DTM, while the percentage of discoloration for isolates of nondermatophyte was 49.5%. And no discoloration was seen in SCCA. For isolates of dermatophyte and nondermatophyte the initial time of discoloration on DTM showed no difference, while the colony diameter at the beginning of discoloration of dermatophyte was $\leq 5\text{mm}$, which was of statistic difference. Conclusions DTM is not only useful in the diagnosis of onychomycosis, but also in the isolation and identification of dermatophyte, showing a very promising prospective.

Key words Culture media; Onychomycosis; Diagnosis

多项研究表明,甲真菌病可由皮肤癣菌(90%以上)、酵母菌(5%~6%)、霉菌(2%~3%)引起,1%为混合感染^[1]。不同种类的真菌引起,选择的治疗药物应不同,皮肤癣菌感染首选特比萘芬,念珠菌感染首选伊曲康唑^[2],故临床上对于甲真菌病最好区分是皮肤癣菌还是非皮肤癣菌引起。临床中较多用于甲真菌病诊断的培养基有含放线菌酮和氯霉素的沙氏培养基(SCCA)、皮肤癣菌培养基(DTM)。本研究中将上述两种培养基分别检测甲真菌病的临床标本,然后将结果进行对比研究,选出一种较好的培养基用于诊断甲真菌病。

1 材料与方法

1.1 标本来源 标本取自 2010 年 5~9 月来深圳市第二人民医院皮肤科真菌室化验的甲真菌病患者。纳入标准:①典型的临床表现;②1 个月内未外用抗真

菌制剂;③3 个月内未内服抗真菌药物。

1.2 主要试剂 1)SCCA (美国 Difco 公司) 2)DTM (QUE-BACT)。

1.3 实验方法 取符合上述纳入标准的甲屑标本 200 份。取材前先用 75%乙醇彻底清洁病甲,然后尽可能多地刮取病变活动部位的甲屑。所得标本混匀后先送镜检,余者分为 2 部分,分别接种于 SCCA、DTM,每管至少接种 3 点,25℃培养,每 24h 观察 1 次菌落生长及培养基变色等情况。4 周无菌落生长者为阴性。

1.4 致病菌的判定^[3] 根据菌落的表型特征进行菌种鉴定,鉴定标准参照《医学真菌学-实验室检验指南》^[4](念珠菌用 CHROMagar 培养基鉴定),必要时可辅以生化实验。培养结果如果为皮肤癣菌,可直接报告为致病菌。培养结果如果为其他非皮肤癣菌,则应

基金项目:深圳市科技计划项目(No.200903040)

作者单位:深圳市第二人民医院皮肤科,广东 深圳 518035

作者简介:张华丽(1977~),女,湖北红安人,硕士,主要从事真菌病研究。

结合 ①菌落数量 >40%接种点 ②重复培养 2 次为同一菌种 ③直接镜检有相应非皮肤癣菌的发现 符合上述条件者可认为有致病意义。混合感染的报告应有非皮肤癣菌镜检的阳性表现,同时培养结果有 2 种以上真菌生长且非皮肤癣菌符合上述 3 个条件。若所分离的菌株与临床表现不相符合,菌落数量 <40%接种点,重复培养并非同一菌种,且同时分离出皮肤癣菌,则将该菌视为污染菌。

1.5 统计学处理 两样本均数的比较采用 t 检验,两个样本率的比较采用 u 检验 $P < 0.05$ 差异有统计学意义 统计分析软件为 SPSS11.0。

2 结果

2.1 一般情况 共收集病甲标本 200 份,145 份标本直接镜检阳性 阳性率为 72.5%。沙氏培养基培养阳性标本数为 158 例 阳性率为 79.0%。DTM 培养阳性标本数为 155 例 阳性率为 77.5%。两组阳性率比较 $P > 0.05$ 差异无统计学意义。沙氏培养基培养所分离的致病菌经菌种鉴定,110 例为皮肤癣菌(91 例红色毛癣菌,19 例须毛癣菌),28 例酵母菌(11 例白念珠菌,9 例近平滑念珠菌,5 例克柔念珠菌,3 例热带念珠菌),18 例霉菌(9 例短帚霉,6 例曲霉,3 例青霉),2 例为红色毛癣菌和变色念珠菌的混合感染。致病菌株在 SCCA 上开始生长时间为 (6.23 ± 0.43) d,在 DTM 上开始生长的时间为 (5.96 ± 0.39) d,两者的差异无统计学意义 菌落形态亦无差别。

2.2 培养基的变色情况

2.2.1 所有分离的皮肤癣菌 无论是否与其他菌并存,均能使 DTM 培养基变色,变色从菌落及其周围开始,从橙黄→淡红→红色;非皮肤癣菌生长时 49.5%能使 DTM 培养基变色(43 例霉菌,13 例酵母菌)。而 SCCA 都不变色。

2.2.2 皮肤癣菌与非皮肤癣菌在 DTM 上生长情况的比较。两组比较,其开始变色时间差异无统计学意义($P > 0.05$);开始变色时菌落直径两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。上述结果符合判断皮肤癣菌的金标准:1)皮肤癣菌在 7d 内变色 2)皮肤癣菌开始变色时菌落直径 ≤ 5 mm。

3 讨论

目前用于甲真菌病的实验室诊断方法主要有氢氧化钾(KOH)涂片镜检、真菌培养、甲板活检 PAS 染色和 PCR 检测,一般医院应用较多的是前两种。真菌直接镜检最方便,但要明确致病真菌的属性以真菌培养最可靠。目前临床上应用较多的培养基是含放线菌酮和氯霉素的沙氏培养基(SCCA)、皮肤癣菌培养基

(DTM)。

SCCA 是传统的培养基,皮肤癣菌、酵母菌、霉菌均能在上面生长,但是根据沙氏培养基上菌落的形态学特征来鉴定菌种,通常需要 10~21d,且不能简便、快速、准确地分离鉴定皮肤癣菌。

DTM^[5]是 1969 年由 Taplin 等发明并应用于头癣致病真菌的分离和鉴定。DTM 在基础培养基中加入了抗生素(庆大霉素和氯霉素)和放线菌酮,在皮肤癣菌选择性生长的同时能够有效地防止细菌和大多数其他真菌污染。DTM 中添加了 PH 指示剂酚红,皮肤癣菌生长时产生的碱性代谢产物可以使培养基由黄色变为红色。

我们分别将 SCCA、DTM 应用于甲真菌病临床标本的检测,结果提示 DTM 和 SCCA 培养的阳性率无显著性差异。但所有分离的皮肤癣菌均能使 DTM 培养基变色,变色时间在 1 周左右,而此时菌落刚开始生长,比传统的沙氏培养基培养鉴定方法提前 1 周左右报告结果,且不需专业培训即可掌握。虽然仅根据颜色变化,不能将皮肤癣菌鉴定到种,但对治疗药物的选择已提供了足够的信息。所以 DTM 不仅能用于诊断甲真菌病,而且能简便、快速、准确地分离鉴定皮肤癣菌,在甲真菌病诊断中有着良好的应用前景,值得大力推广。

参考文献:

- [1] Yu RY. The new progress in diagnosis and treatment of onychomycosis [J]. China Prescription Drug, March 2005, 3: 60-65. (In Chinese) (虞瑞尧. 甲真菌病诊断治疗新进展 [J]. 中国处方药, 2005, 3: 60-65.)
- [2] Yu J, Li RY. The schemes of clinical drug treatment of onychomycosis [J]. Chinese Community Doctors, 2006, 22(1): 13. (In Chinese) (余进, 李若瑜. 甲癣和甲真菌病的临床药物治疗方案 [J]. 中国社区医师, 2006, 22(1): 13.)
- [3] Li XF, Lü GX, Shen YN, et al. Application of modified dermatophyte test medium in the diagnosis of onychomycosis [J]. Chin J Dermatol, August 2007, 40(8): 473-475. (In Chinese) (李筱芳, 吕贵霞, 沈永年, 等. 改良皮肤癣菌试验培养基在甲真菌病中的应用 [J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40(8): 473-475.)
- [4] Wang RL. Medical Mycology-Laboratory Examination Guidelines [M]. Beijing Republic Medical Marketing, 2005: 137-289. (In Chinese) (王瑞礼. 医学真菌学-实验室检验指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 137-289.)
- [5] Liu HB, Yu J, Li RY. Laboratory and clinical study on isolation and identification of dermatophytes in two culture media [J]. J Clin Dermatol, 2008, 37(10): 654-656. (In Chinese) (刘会彬, 余进, 李若瑜. 皮肤癣菌培养基和鉴定培养基分离鉴定皮肤癣菌的实验室和临床研究 [J]. 临床皮肤科杂志, 2008, 37(10): 654-656.)

收稿日期 2011-10-20 编辑 吴中菲