

文章编号: 1672-3384 (2004) -02-0048-03

## 用 E-test 方法监测 2003 年酵母样真菌对氟康唑的耐药性分析

【作者】 陶凤蓉<sup>1</sup> 李卫敏<sup>2</sup> 姚毅<sup>3</sup> 张秀珍<sup>1</sup>

1 北京医院 (北京 100730)

2 河南省新野县人民医院 (河南 473500)

3 贵州省铜仁地区医院 (贵州 554300)

【摘要】 目的 观察酵母样真菌对氟康唑的耐药趋势。方法 用 E-test 方法监测 2003 年酵母样真菌对氟康唑的最低抑菌浓度和耐药趋势。结果 2003 年临床常见的 1449 株酵母样真菌对氟康唑的耐药率分别为: 白色假丝酵母菌 4.1%, 热带假丝酵母菌 6.1%, 近平滑假丝酵母菌 11.2%, 光滑假丝酵母菌 45%, 克柔假丝酵母菌 66.7%<sup>[1]</sup>。结论 氟康唑对白色假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌仍保持较高的抗菌活性, 而光滑假丝酵母菌、克柔假丝酵母菌对氟康唑的耐药率较高。

【关键词】 酵母样真菌 氟康唑 耐药监测

【中图分类号】 R915

【文献标识码】 A

【Abstract】 Objectives To monitor the resistant trend of yeast to Fluconazole. Methods To monitor the susceptibility trend of yeast to Fluconazole in 2003 with E-test. Results The resistant rate of 1449 Yeast in 2003 respectively is: *Candida albicans* is 4.1%, *Candida tropicalis* is 6.1%, *Candida parapsilosis* is 11.2%, *Candida glabrata* is 45% and *Candida Krusei* is 66.7%<sup>[1]</sup>. Conclusion Fluconazole keeps high activity to *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida parapsilosis*. but Fluconazole have high resistant rate to *Candida glabrata* and *Candida Krusei*. That is the same as some report.

【Key words】 Yeast Fluconazole susceptibility trend

近年由于免疫抑制剂、广谱抗生素的广泛应用, 加之多种能使患者免疫力下降的因素的影响, 导致真菌感染的患者不断增多。临床医生常给真菌感染患者使用氟康唑, 因而可以说氟康唑成了目前临床治疗真菌感染经验用药的首选药物, 所以细菌室有必要对氟康唑进行临床监测。本文收集 2003 年卫生部北京医院全年临床常见真菌感染菌株 1449 株, 用浓度梯度法 (E-test) 测定它们对氟康唑的敏感性。试验结果报告如下:

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 标本来源 全部标本取自有明显感染现象患者的感染部位。同一病人相同标本多次分离出相同菌株者, 按 1 株计算; 相同标本分离出 2 株或 2 株以上菌株者, 或自不同部位分离出相同或不同菌株者, 按 2 株或 2 株以上计算。

1.1.2 培养基 沙氏琼脂购自中国药品生物制品检定所, 分离显色琼脂培养基购自法国科玛嘉公司。

1.1.3 E-test 药敏培养基 ①溶解葡萄糖 20g 和 Bacto 琼脂 15g、3-(吗啉代丙磺酸) (MOPS) 40g 于 900mL 去离子水中, 121℃, 灭菌 15min。②将含有 0.165M MOPS 和 L-谷酰胺胺 (PPMI1640) 1 袋溶于 100mL 去离子水。③用 0.2μm 滤器无菌抽滤。

④缓缓加热滤液至大约 45℃ 后与“①”混合均匀, 调节混合液的 pH 到 7。⑤将“④”中的培养基分别倾倒入洁净的平皿中, 使培养基厚度约 4mm。

E-test 试纸条: 氟康唑 E-test 试纸条由 AB. BioDis 生产, MIC 范围 0.125 ~ 256 μg/mL。

## 1.2 方法

1.2.1 菌株分离 按操作规程<sup>[2]</sup>, 依不同标本, 经增菌(血液、脑脊液、胸水)转种或直接接种沙氏琼脂(尿液、分泌物)及显色琼脂(痰、粪便), 35℃ 培养, 分离。

1.2.2 菌种鉴定 将酵母菌菌落接种于显色琼脂上, 经 35℃ 培养 48h 后, 根据其颜色进行鉴定。无法判定者用全自动细菌鉴定系统 VITEK-CC4 的 YBC 鉴定卡(法国生物梅里埃公司)。

1.2.3 E-test 方法按操作说明进行, 判断标准: (1997 NCCLS 推荐) MIC ≤ 8 μg/mL 为敏感; MIC 在 16 ~ 32 μg/mL 为剂量依赖型(SDD); MIC ≥ 32 μg/mL 为耐药。

1.2.4 质控标准 近平滑假丝酵母(ATCC22019) 2 ~ 8 μg/mL

白色假丝酵母(ATCC90028) 0.125 ~ 1 μg/mL

## 2 试验结果

### 2.1 标本分布

1 449 株菌分别从患者的呼吸道、泌尿道及分泌物中分离获得, 标本分布状况见表 1。

表 1 1 449 株酵母样真菌标本来源

标本部位	菌株数	构成比 (%)
痰	971	67.0
粪便	280	19.3
尿液	156	10.8
咽部	16	1.1
血液	9	0.62
胆汁	8	0.55
阴道	5	0.35
其他	4	0.28
合计	1 449	100

2.2 菌种分布 白色假丝酵母菌为主要菌种, 占酵母样真菌的 56%, 第二位为光滑假丝酵母菌, 第三位为热带假丝酵母菌(见表 2)。

表 2 1 449 株酵母样真菌菌种分布

菌株名称	菌株数	构成比 (%)
白色假丝酵母菌	811	56
光滑假丝酵母菌	335	23.1
热带假丝酵母菌	246	17
近平滑假丝酵母菌	31	2.1
克柔假丝酵母菌	23	1.6
其他	3	0.2
合计	1 449	100

### 2.3 酵母样真菌对氟康唑的耐药率

不同真菌对氟康唑的耐药率见表 3。

表 3 不同真菌对氟康唑的耐药分布

菌株名称	菌株数	SDD (%)	S (%)	R (%)
白色假丝酵母菌	222	0.9	95	4.1
光滑假丝酵母菌	75	39	16	45
热带假丝酵母菌	49	—	93.9	6.1
近平滑假丝酵母菌	9	—	88.8	11.2
克柔假丝酵母菌	9	33.5	—	66.7

### 2.4 氟康唑对不同真菌 MIC 分布

氟康唑对白色假丝酵母菌的 MIC 范围为 0.25 ~ > 256 μg/mL, MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 分别为 0.5 μg/mL 和 1.5 μg/mL, 众数 MIC 为 0.25 μg/mL, 提示氟康唑对白色假丝酵母菌仍保持较高的敏感性。但有 9 株菌株出现 > 256 μg/mL 的高 MIC 值。氟康唑对光滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌 MIC 范围分别为 0.75 ~ > 256 μg/mL 和 24 ~ > 256 μg/mL, MIC<sub>50</sub> 和 MIC<sub>90</sub> 均处于耐药范围, 提示这两种念珠菌感染用氟康唑治疗有相当一部分病例可能是无效的。结果见表 4。

表 4 氟康唑对不同类别真菌的 MIC 分布

菌株名称	菌株数	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	众数	MIC
白色假丝酵母菌	222	0.5	1.5	0.25	0.25 ~ >256 μg/ mL
光滑假丝酵母菌	75	48	64	48	0.75 ~ >256 μg/ mL
热带假丝酵母菌	49	0.75	4.0	0.25	0.25 ~ >256 μg/ mL
近平滑假丝酵母菌	9	1.0	256	0.75	0.5 ~ >256 μg/ mL
克柔假丝酵母菌	9	96	>256	96	24 ~ >256 μg/ mL

3 讨论

3.1 真菌药敏试验方法学问题

目前已获得美国国家实验室标准化委员会 (NCCLS) 认可并已在各临床实验室应用的药敏试验方法有：法国生物梅里埃 ATB 方法、美兰葡萄糖琼脂扩散法和 E - test 方法。据文献<sup>[3~5]</sup>报道，E - test 方法可与美国国家实验室标准委员会推荐的微量稀释法互相替代，并可同时报告 MIC 和敏感性结果，但 E - test 方法成本较高。

3.2 本研究结果提示真菌的种类构成在发生变化。2000 年以前的文献报道是热带假丝酵母菌的分离率占第二位，但自 2001 年后文献报道显示光滑念珠菌的分离率升至第二位，热带假丝酵母菌的分离率已经退居第三位，此结果与全球的耐药监测结果一致<sup>[6]</sup>。

3.3 白色假丝酵母菌、光滑假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌对氟康唑的耐药率分别为 4.1%、45%、6.1%、11.2%，比 PFALLER 等报道<sup>[7]</sup>氟康唑对白色假丝酵母菌 (0.6% ~ 1.1%)、光滑假丝酵母菌 (10.2%)、热带假丝酵母菌 (0%)、近平滑假丝酵母菌 (0%) 耐药率有显著升高。这种结果可能是临床广泛使用氟康唑或种族差

异所致。克柔假丝酵母菌的耐药率与文献报道基本一致<sup>[6]</sup>。

3.4 本研究结果显示，氟康唑对白色假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌仍保持很高活性；光滑假丝酵母菌、克柔假丝酵母菌耐药性较高。寻找更适合常规实验的真菌药敏方法，同时测试包括氟康唑、两性霉素 B、伊曲康唑等临床常用抗真菌药物的敏感性，对临床分离的真菌进行耐药监测，已成为临床细菌室势在必行的工作。各临床细菌室应积极创造条件开展真菌药敏试验，进行真菌的耐药监测，协助临床医生正确使用抗真菌药物。

【参考文献】

[1] 陶凤蓉, 宣天芝, 张秀珍. 用 E - test 方法监测酵母样真菌对氟康唑的耐药性. 中华医院感染学杂志, 2002, 12: 632 ~ 633

[2] 卫生部医政司 全国临床检验操作规程 (第二版) 南京: 东南大学出版社, 1997, 452 ~ 471

[3] Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA et al. Comparison of E - test and National Committee for Clinical Laboratory Standard broth macrodilution method for azole antifungal susceptibility. J Clin Microbiol. 1995, 33 (3): 535 ~ 540

[4] Warnock DW, Johnson EM, Rogers TRF, et al. Multi - centre evaluation of the E - test method for antifungal drug susceptibility testing of Candida spp. And Cryptococcus neoformans. JAC, 1998, 42: 321 ~ 331

[5] 沈定霞, 谢灵, 刘梅, 等. 酵母菌对氟康唑的敏感性及三种试验方法的比较. 中华医学检验杂志, 1998, 21: 199 ~ 201

[6] Meis, J. A global evaluation of the susceptibility of Candida species to fluconazole by disk diffusion. Dig. Micro and Inf. dis. 2000; 36: 215 ~ 223

[7] Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, et al. Bloodstream infections due to Candida species: SENTRY antimicrobial surveillance program in north America, 1997 - 1998, Antimier Agents Chemother, 2000, 44: 747 ~ 751