

真菌性角膜炎真菌鉴定及药物敏感实验分析

马文江, 赵少贞, 侯光华, 孙 鹏

作者单位: (300070) 中国天津市, 天津医科大学眼科中心
作者简介: 马文江, 男, 主管技师, 在读博士研究生, 研究方向: 角膜病。
通讯作者: 赵少贞, 女, 医学博士, 教授, 主任医师, 研究方向: 屈光与角膜病. zhaoszl1997@sina. com
收稿日期: 2009-01-05 修回日期: 2009-04-15

Pathogenic classification and antifungal susceptibility of fungal keratitis

Wen-Jiang Ma, Shao-Zhen Zhao, Guang-Hua Hou, Peng Sun

Eye Center, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Correspondence to: Shao-Zhen Zhao. Eye Center, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China. zhaoszl1997@sina. com
Received: 2009-01-05 Accepted: 2009-04-15

Abstract

• AIM: To study the pathogenic characteristics and antifungal susceptibility of fungal keratitis.
• METHODS: The pathogen of fungal keratitis was isolated and classified. Antifungal susceptibility test *in vitro* (NCCLS, M38-A) were used to evaluate susceptibility (MIC) of these fungal pathogens against amphotericin B, terbinafine, tonconazole, itraconazole, miconazole and 5-flucytosine.
• RESULTS: Fifty-four cultures were positive. *Fusarium* species was the most frequent corneal fungal pathogen (37/54), followed by *Aspergillus* species (14/54). The sensitivity of *Fusarium* species to amphotericin B, terbinafine, tonconazole, itraconazole, miconazole and 5-flucytosine was (31/37), (27/37), (23/37), (24/37), (23/37) and (18/37) respectively. The sensitivity of *Aspergillus* species to amphotericin B, terbinafine, tonconazole, itraconazole, miconazole and 5-flucytosine was (12/14), (11/14), (10/14), (10/14), (9/14) and (7/14) respectively. The sensitivity of all species to amphotericin B, terbinafine, tonconazole, itraconazole, miconazole and 5-flucytosine was (46/54), (40/54), (35/54), (36/54), (34/54) and (28/54) respectively.
• CONCLUSION: *Fusarium* species may be the main corneal fungal pathogen. Amphotericin B seem to have a high antifungal activity *in vitro* and may be used as first medication for fungal keratitis.
• KEYWORDS: fungal infection; classification; drug sensitivity test

Ma WJ, Zhao SZ, Hou GH, et al. Pathogenic classification and antifungal susceptibility of fungal keratitis. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2009;9(6):1157-1158

摘要

目的: 分析真菌性角膜炎致病菌的种类和常用抗真菌药物

敏感性。

方法: 分离鉴定 54 株真菌性角膜炎致病菌, 采用 NCCLS M38-A 文件的实验条件进行常用抗真菌药物敏感试验。

结果: 54 株真菌经培养证实均为丝状真菌, 其中镰刀菌属 37 株 (37/54)、曲霉菌属 14 株 (14/54), 未定型 3 株 (3/54)。镰刀菌属中对二性霉素 B 敏感 31 株 (31/37), 对特比奈芬敏感 27 株 (27/37), 对酮康唑敏感 23 株 (23/37), 对伊曲康唑敏感 24 株 (24/37), 对咪康唑敏感 23 株 (23/37), 对 5-氟胞嘧啶敏感 18 株 (18/37)。曲霉菌属对二性霉素 B 敏感 12 株 (12/14), 对特比奈芬敏感 11 株 (11/14), 对酮康唑敏感 10 株 (10/14), 对伊曲康唑敏感 10 株 (10/14), 对咪康唑敏感 9 株 (9/14), 对 5-氟胞嘧啶敏感 7 株 (7/14)。全部 54 株真菌对二性霉素 B 敏感 46 株 (46/54), 对特比奈芬敏感 40 株 (40/54), 对酮康唑敏感 35 株 (35/54), 对伊曲康唑敏感 36 株 (36/54), 对咪康唑敏感 34 株 (34/54), 对 5-氟胞嘧啶敏感 28 株 (28/54)。

结论: 真菌性角膜炎以镰刀菌感染为主; 二性霉素 B 敏感性较高, 可作为真菌性角膜炎一线用药。

关键词: 真菌感染; 分离鉴定; 药敏实验

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2009.06.053

马文江, 赵少贞, 侯光华, 等. 真菌性角膜炎真菌鉴定及药物敏感实验分析. *国际眼科杂志* 2009;9(6):1157-1158

0 引言

真菌性角膜炎是一种严重的眼部感染性疾病。近年来由于抗生素、激素的广泛应用、植物性外伤的增多及各种眼部手术的开展等因素的影响, 眼部真菌感染的发病率有明显增多的趋势, 已成为眼科临床常见的治疗棘手的致盲性眼病, 正日益引起眼科界和医学真菌界的关注。我们采集真菌性角膜炎患者标本进行真菌分离鉴定并进行药物敏感试验。现报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 采集 2003-09/2008-02 期间就诊的真菌性角膜炎患者标本分离鉴定真菌。由专业人员取材, 微生物实验室进行常规真菌培养。

1.2 方法 真菌培养与鉴定: 采用沙保弱培养基和马铃薯葡萄糖培养基, 培养温度为 28℃, 湿度 40%, 培养 3~10d。根据真菌菌落外观、菌丝、孢子及菌细胞形态进行菌种鉴定。药敏试验: 采用美国国家临床实验室标准委员会 (national committee for clinical laboratory stand, NCCLS) 提出的液基稀释法 (M38-A)。

2 结果

2.1 真菌培养鉴定 真菌培养阳性菌株 54 株。镰刀菌属 37 株, 其中茄病镰刀菌 24 株, 禾病镰刀菌 11 株, 尖孢镰刀菌 2 株; 曲霉菌属 14 株, 其中烟曲霉菌属 6 株, 黄曲霉菌属 6 株, 谢瓦曲霉菌属 1 株, 链格孢霉 1 株; 未定型 3 株。

2.2 药物敏感实验 分析镰刀菌属、曲霉菌属以及 3 株未定型菌属对二性霉素 B、特比奈芬、酮康唑、伊曲康唑、咪康唑、5-氟胞嘧啶的药物敏感性 (表 1)。

表1 菌属药敏分析

分组	株数	二性霉素 B		特比奈芬		酮康唑		伊曲康唑		咪康唑		5-氟胞嘧啶	
		敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药	敏感	耐药
镰刀菌属	37	31	6	27	10	23	14	24	13	23	14	18	19
曲霉菌属	14	12	2	11	3	10	4	10	4	9	5	7	7
未定型	3	3	0	2	1	2	1	2	1	2	1	3	0
总计	54	46	8	40	14	35	19	36	18	34	20	28	26

3 讨论

真菌是眼部感染重要致病原,尤以丝状真菌多见。角膜是真菌感染的主要部位^[1]。本研究中眼部真菌感染菌属分布主要为镰刀菌属和曲霉菌属,镰刀菌较曲霉菌更常见,同国内外报道一致^[2,3]。药物治疗是眼部真菌性感染的重要治疗手段,早期感染治疗效果肯定。目前常用抗真菌药物主要作用包括:影响真菌细胞膜中甾醇合成、影响真菌细胞壁合成、影响核酸合成^[4]。随着真菌感染的日益常见和对常用抗真菌药物抗性的增加,作为预测抗真菌治疗重要环节的抗真菌药物的敏感性测定日益受到临床重视。抗真菌敏感性实验能够为临床选用药物提供有用信息^[5]。真菌是一种较高等的真核生物,其繁殖方式、生长周期和生长条件等均与细菌不同。目前常用抗真菌药物敏感试验方法有琼脂扩散法、E-test法和NCCLS推荐的M38-A液基稀释法^[6]。M38-A液基稀释法是丝状真菌药物敏感试验的标准方法,因其试验条件严格,故有较高的准确性、可重复性及不同实验室内结果的一致性^[7]。E-test法和NCCLS推荐的M38-A液基稀释法针对常用抗真菌药物结果的符合率报道不一,符合率为64.5%~96.3%^[8]。我们认为抗真菌药物在半固体培养基和液体培养基中的溶解度是有差别的;不同丝状真菌在相同培养基上的生长速度也有较大差别。因此,即使延长琼脂扩散法、E-test法的终点判读时间至48h,此两种方法得到的药敏试验结果也会同M38-A结果存在差别。我们研究结果显示镰刀菌属与曲霉菌属体外敏感试验结果相近。眼部感染丝状真菌对二性霉素B敏感性较高,其次为特比奈芬,对唑类抗真菌药的敏感性较差;体外敏感试验结果同临床治疗并非完全一致,与国内外报道相近^[8-10]。二性霉素B作为传统抗真菌药物体外敏感试验表现出很高的抗菌活性。但对于较晚期的感染治疗效果不佳,我们认为这与该药物的角膜穿透性差及细胞毒性较强有关。早期感染患者在清除部分病灶后使用该药表现出了良好的治疗效果。抗真菌药物敏感性实验可以为临床提供有用信息^[11]。

总之,随着实验室检测方法的逐步发展和统一,必将为临床抗真菌治疗药物的选择提供更大帮助。在真菌耐药性监测中发挥应有的作用。

参考文献

- 1 孙士营,刘梦阳,史伟云,等. 眼部真菌感染菌种分布特征. 中国真菌学杂志 2007;2(6):324-328
- 2 钟文贤,谢立信,史伟云,等. 真菌性角膜炎 654 例感染谱分析. 中华医学杂志 2006;86(24):1681-1685
- 3 李鹏,李良毛,潘世锦. 真菌性角膜炎诊断及治疗的新进展. 国际眼科杂志 2008;8(10):2097-2101
- 4 Guinea J, Peláez T, Alcalá L, et al. Comparison of sensititre yeastone with the NCCLSM-38A microdilution method to determine the activity of amphotericin B, voriconazole, and itraconazole against clinical isolates of aspergillus fumigatus. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006;56(1):53-55
- 5 Reyes G, Ghannoum MA. Antifungal susceptibility testing of yeasts: uses and limitations. *Drug Resist Updat* 2007;3(1):14-19
- 6 李少平. 丝状真菌的药物敏感性测定研究进展. 国外医学临床生物化学与检验学分册 2004;25(5):405-407
- 7 National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard. NCCLS: Wayne, Pennsylvania 2002:1-30
- 8 Ozkutuk A, Ergon C, Metin DY, et al. Comparison of disk diffusion, E-test and broth microdilution test in determination of susceptibility of aspergillus species to amphotericin B, itraconazole and voriconazole. *J Chemother* 2008;20(1):87-92
- 9 Hospenthal DR, Murray CK, Rinaldi MG. The role of antifungal susceptibility testing in the therapy of candidiasis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004;48(3):153-160
- 10 Xie L, Zhai H, Zhao J, et al. Antifungal susceptibility for common pathogens of fungal keratitis in Shandong Province, China. *Am J Ophthalmol* 2008;146(2):261-265
- 11 Kanafani ZA, Perfect J. Antimicrobial resistance: resistance to Antifungal Agents; Mechanisms and Clinical Impac. *Antimicrobial Resistance* 2008;46(1):121-124