

· 论著 ·

吸毒人群口腔念珠菌的药物敏感性分析

袁有华¹ 白丽² 武有聪² 刘奇²

(1. 河南省南阳市西峡县疾病预防控制中心, 南阳 474550; 2. 云南省大理学院基础医学院医学微生物与免疫学教研室, 大理 671000)

【摘要】 目的 了解吸毒人群口腔念珠菌对常用抗真菌药物的敏感性, 为临床治疗念珠菌病提供参考资料。方法 采用美国 CLSI 推荐的微量稀释法测定 75 株念珠菌对 4 种常用抗真菌药物两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、氟康唑和酮康唑的药物敏感性。结果 75 株吸毒人群口腔念珠菌对两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、氟康唑和酮康唑的耐药率分别为 0%、4%、8% 和 13.3% ($P < 0.01$), 对氟康唑和酮康唑的交叉耐药率为 8%; 非白念珠菌对氟康唑和酮康唑的耐药率高于白念珠菌 ($P < 0.05$)。结论 吸毒人群口腔念珠菌对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的敏感性高于对氟康唑和酮康唑的敏感性。吸毒人群口腔念珠菌存在着对氟康唑、酮康唑和 5-氟胞嘧啶的天然耐药株和对唑类药物的天然交叉耐药株, 且非白念珠菌对氟康唑和酮康唑的耐药率及交叉耐药率高于白念珠菌。

【关键词】 念珠菌; 药物敏感性; 吸毒人群**【中图分类号】** R 756.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-3827(2010)06-0351-04

Analysis on antifungal susceptibility of oral *Candida* species from drug abusers

YUAN You-hua¹, BAI Li², WU You-cong², LIU Qi²

(1. Centre for Disease Control and Prevention of Xixia County, Nanyang 474550, China; 2. Department of Medical Microbiology and Immunology, School of Basic Medicine, Dali University, Dali 671000, China)

【Abstract】 Objective To study the antifungal susceptibility of oral *Candida* from drug abusers and to provide references for clinical treatment of candidosis. **Methods** Susceptibilities to four common antifungal drugs (fluconazole, ketoconazole, 5-fluorocytosine and amphotericin B) were determined in 75 isolates of oral *Candida* by broth microdilution antifungal susceptibility test recommended by CLSI. **Results** The resistant rates of 75 isolates of oral *Candida* from drug abusers to Amb, 5-FC, FCZ, and KETO were 0%, 4%, 8%, and 13.3%, respectively ($P < 0.01$). The crosswise resistant rates of these strains to FCZ and KETO were 8%. The resistant rate and crosswise resistant rate of non-*Candida albicans* to FCZ and KETO were higher than those of *Candida albicans* ($P < 0.05$). **Conclusions** Oral *Candida* species from drug abusers are resistant to FCZ, KETO and 5-FC in nature, but crosswisely resistant to FCZ and KETO. The resistant and crosswise resistant rates of non-*Candida albicans* to FCZ and KETO are higher than those of *Candida albicans*.

【Key words】 *Candida*; antifungal susceptibility; drug abusers

[Chin J Mycol, 2010, 5(6):351-354]

念珠菌是人体口腔的正常菌群之一, 一般不致病。但由于吸毒成瘾者特异性细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫受损^[1], 口腔念珠菌病在吸毒人群中具有较高的患病率^[2]。随着临床上抗真菌药物

的广泛应用, 念珠菌的耐药现象也日益突出。而国内目前对吸毒人群口腔念珠菌对常用抗真菌药物的敏感性尚不清楚。本文采用美国临床和实验室标准化研究所 (Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI) 推荐的微量液基稀释法^[3] (Broth Microdilution Antifungal Susceptibility Test) 检测了 75 株吸毒人群口腔分离的念珠菌对 4 种常用抗真菌药物氟康唑 (Fluconazole, FCZ)、酮康唑 (Ketocon-

基金项目: 大理学院博士基金资助项目 (KY430440)。

作者简介: 袁有华, 男 (汉族), 硕士, 主管医师。E-mail: yyhnice@163.com

通讯作者: 白丽, E-mail: bll@public.km.yn.cn

azole, KETO)、5-氟胞嘧啶 (Fluorocytosine, 5-FC) 和两性霉素 B (Amphotericin B, Amb) 的敏感性,旨在了解吸毒人群口腔念珠菌对常用抗真菌药物的敏感性。

1 材料与方法

1.1 材料

标准菌株 ATCC10231、ATCC76615 : 19、ATCC76615 : 09 分别作为 Amb、5-FC 和 FCZ、KETO 的敏感标准株。

试验菌株 共 75 株 (包括白念珠菌 58 株、光滑念珠菌 5 株、近平滑念珠菌 2 株、涎沫念珠菌 2 株、季也蒙念珠菌 1 株、热带念珠菌和酿酒酵母各 1 株、其他念珠菌 5 株), 分离自云南地区吸毒人群口腔, 经形态染色、培养特性、芽管形成试验、假菌丝及厚膜孢子形成试验、YBC (yeast biochemical card) 酵母鉴定卡及 CHRO Magar Candida 培养基综合鉴定。

抗真菌药物 氟康唑、酮康唑、5-氟胞嘧啶和两性霉素 B 药物标准品购自中国药品生物制品检定所。

1.2 方法

采用美国临床和实验室标准化研究所推荐的 M27-A2 方法即微量液基稀释法, 测定 75 株念珠菌对四种抗真菌药物的最小抑菌浓度 (Minimum Inhibition Concentration, MIC), 根据表 1 判定结果^[4]。采用 SPSS13.0 统计包统计结果, 用 χ^2 检验计算 P 值 ($P < 0.05$ 时差异有统计学意义)。

表 1 念珠菌药物敏感性的判定标准

Tab. 1 Determination standard of drug susceptibility for Candida

MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	敏感	剂量依赖性敏感	耐药
FCZ	≤ 8	16 ~ 32	≥ 64
KETO	≤ 0.125	0.25 ~ 0.5	≥ 1
5-FC	≤ 4	8 ~ 16	≥ 32
Amb	< 1	-	≥ 1

2 结 果

2.1 药物敏感性试验结果

4 种抗真菌药物对吸毒人群口腔念珠菌的敏感性 (见表 2) 按吸毒人群口腔念珠菌对药物敏感率的高低排列, 75 株吸毒人群口腔念珠菌对 Amb、5-FC、FCZ、KETO 的敏感率分别为 100%、94.7%、92% 和 72%, 耐药率分别为 0%、4%、8% 和 13.3%。不同药物对吸毒人群口腔念珠菌的敏感率差异有显著性 ($P < 0.01$)。对吸毒人群念珠菌敏感性最高的抗真菌药物为 Amb, 最低的抗真菌药物为 KETO。

吸毒人群口腔非白念珠菌和白念珠菌的药物敏感性 (见表 3、表 4) 通过比较白念珠菌和非白念珠菌对 4 种药物的耐药率、剂量依赖性敏感率和敏感率发现, 非白念珠菌对 FCZ 和 KETO 的耐药率高于白念珠菌 ($P < 0.05$), 而两种念珠菌对 5-FC 和 Amb 的耐药率差异无显著性 ($P > 0.05$)。

在 75 株念珠菌中, 有 6 株同时对 FCZ 和 KETO 耐药, 对这两种药物的交叉耐药发生率为 8%。在 10 株 KETO 耐药株中, 有 6 株对 FCZ 耐药, 而 6 株 FCZ 耐药株全部对 KETO 耐药。AMB 和 5-FC 之间无交叉耐药性, 与 FCZ 和 KETO 也无交叉耐药性。且非白念珠菌对 FCZ 和 KETO 的交叉耐药率高于白念珠菌 ($P < 0.05$)。

3 讨 论

随着念珠菌病发病率的增加, 念珠菌耐药菌株不断被发现, 成为临床抗真菌治疗的一大难题。章强强等^[5]应用微量稀释法测定 100 株临床分离株酵母菌的药物敏感性显示念珠菌对 Amb、5-FC、FCZ 的耐药率都为 3.08%, 对 KETO 全部敏感。周汛等^[6]用微量稀释法测定 110 株临床分离念珠菌对 Amb、5-FC、FCZ 和 KETO 的耐药率分别为 0.91%、3.63%、5.45%, KETO 全部敏感。与上述两者相比, 本研究结果显示, 吸毒人群口腔念珠菌与临床念珠菌分离株的 Amb、5-FC、FCZ 药物敏感性差别不大, 但 KETO 的敏感性差别较大。本研究采用与武有聪^[7]相同的药物敏感性判断标准, 结果发现, 吸毒人群口腔念珠菌对 5-FC、FCZ 和 KETO 的药物敏感性与 HIV 阳性人群和健康人群差异无显著性。

无论从耐药率还是 MIC 值比较, 本次测定的 75 株吸毒人群口腔念珠菌中非白念珠菌对 FCZ 和 KETO 的耐药率均大于白念珠菌, 而两组念珠菌对 5-FC 和 Amb 耐药率差异无显著性, 说明非白念珠

表 2 吸毒人群口腔念珠菌对不同药物的敏感性

Tab. 2 Susceptibility to four antifungal drugs of oral *Candida* species from drug abusers

药物	敏 感		剂量依赖性敏感		耐 药	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
KETO	54	72	11	14.7	10	13.3
FCZ	69	92	0	0	6	8
5-FC	71	94.7	1	1.41	3	4
Amb	75	100	0	0	0	0

注: $\chi^2 = 43.951, P = 0.000$

表 3 吸毒人群口腔白念珠菌与非白念珠菌对四种药物耐药率的比较 (株)

Tab. 3 Comparison of resistant rates to four different drugs between oral *Candida albicans* and non-*Candida albicans* from drug abusers (strains)

菌 株	FCZ			KETO			5-FC			Amb	
	S	SDD	R	S	SDD	R	S	SDD	R	S	R
白念珠菌	56	0	2	47	8	3	54	1	3	58	0
非白念珠菌	13	0	4	7	3	7	17	0	0	17	0
合计	69	0	6	54	11	10	71	1	3	75	0
χ^2	4.730			15.815			1.238			0	
<i>P</i>	0.03			0.000			0.681			1	

表 4 吸毒人群口腔白念珠菌与非白念珠菌对唑类药物的交叉耐药性比较

Tab. 4 Comparison of crosswise resistant rates to azoles between oral *Candida albicans* and non-*Candida albicans* from drug abusers

菌种 (株)	交叉耐药株数	交叉耐药率 (%)
白念珠菌 (58)	2	3.45
非白念珠菌 (17)	4	23.53
合计 (75)	6	8

注: $\chi^2 = 4.733, P = 0.03$

菌更容易形成对唑类药物的耐药,这与 HIV 阳性者口腔念珠菌和临床分离株的结果相似^[8]。西班牙 Quindos 等^[9]调查了 325 例患者念珠菌的抗真菌药物敏感性,认为非白念珠菌更倾向于抵抗 FCZ

和 KETO。有报道^[10]认为非白念珠菌中的光滑念珠菌和克柔念珠菌对 FCZ 有较高的耐药性 (36.3% 和 100%)。本次调查吸毒人群口腔念珠菌中 5 株光滑念珠菌有 2 株同时对 FCZ 和 KETO 耐药,2 株涎沫念珠菌均对 FCZ 和 KETO 耐药,说明非白念珠菌中的光滑念珠菌和其他少见念珠菌确实存在对唑类药物的交叉耐药。在本试验中共发现 10 株耐 KETO 株,其中 6 株耐 FCZ,其交叉耐药率达 60%,说明念珠菌中有相当高的唑类药物耐药株,临床治疗效果不好时,应考虑到耐药株的存在,及时更换作用机制不同的抗真菌药物。

关于耐药现象的发生,一般认为抗真菌药的广泛应用,导致了耐药株的产生,也有学者认为有天然耐药株的存在^[11]。我们所分离的吸毒人群口腔念珠菌,绝大部分无口腔念珠菌病的症状,也未使用过抗真菌药物治疗,因此倾向于认为所发现的耐

药菌株为天然耐药株,且非白念珠菌的天然耐药率高于白念珠菌。

参 考 文 献

[1] Fridmen H, Nemton C, Klein TW. Microbial infections, immunomodulation, and drugs of abuser [J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16(2):209-219.

[2] 黄莺. 毒品对口腔健康的损害与预防对策[J]. 中国人民公安大学学报(自然科学版), 2005, 44(2):38-39.

[3] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard NCCLS document M27-A [S]. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.

[4] 孙长贵, 曾贤铭, 杨燕. 肉汤稀释法酵母菌药物敏感性试验及质量控制介绍[J]. 江西医学检验, 2007, 25(1):57-60.

[5] 章强强, 苏逸丹, 李莉, 等. 100 株临床分离致病酵母体外药敏试验分析[J]. 中华皮肤科杂志, 2000, 33(5):37-39.

[6] 周汛, 李桂明. 110 株念珠菌的菌种鉴定及药敏试验[J].

重庆医科大学学报, 2007, 32(4):425-427.

[7] 武有聪, 陈兆芳, 刘奇, 等. HIV 感染者与健康人群口腔念珠菌的体外药物敏感性比较[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(9):878-881.

[8] 向黎, 陈建钢, 钟志华, 等. HIV 感染患者口腔念珠菌的培养鉴定及耐药性研究[J]. 临床口腔医学杂志, 2006, 22(3):181-184.

[9] Quindos G, Abarca L, Carrillo-Munoz AJ, et al. Multicenter survey of *in vitro* antifungal resistance in yeasts of medical importance isolated from Spanish patients [J]. Rev Iberoam Micol, 1999, 16(2):97-100.

[10] 谢国艳, 蔡志昌, 周建华, 等. 临床感染深部真菌的分离鉴定和药敏结果分析[J]. 检验医学, 2004, 19(2):122-124.

[11] Dupont B, Graybill JR, Armstrong D, et al. Fungal infections in AIDS patients[J]. J Med Vet Mycol, 1992, 30(Suppl):19-28.

[收稿日期] 2010-06-28

[本文编辑] 施 慧

(上接第 350 页)

[4] 余进, 李若瑜. 国内甲真菌病病原学的流行病学调查[J]. 中国真菌学杂志, 2006, 1(1):63-64.

[5] 陈玲娣, 党宏, 丁星, 等. 甲真菌病病原菌的流行病学调查分析[J]. 临床皮肤科杂志, 1996, 25(6):399-400.

[6] Pontes ZB, Lima Ede-O, Oliveira NM, et al. Onychomycosis in Joao Pessoa City, Brazil [J]. Rev Argent Microbiol, 2002, 34(2):95-99.

[7] Gautret P, Rodier MH, Kauffmann-Lacroix C, et al. Case report and review. Onychomycosis due to *Candida parapsilosis* [J]. Mycoses, 2000, 43(11-12):433-435.

[8] Ghannoum MA, Rex JH, Galgiani JN. Susceptibility testing of fungi: current status of correlation of *in vitro* data with clinical outcome [J]. J Clin Microbiol, 1996, 34(3):489-495.

[9] 廖万清. 抗真菌感染治疗新进展—第二十届国际化学治疗会

议抗真菌感染治疗进展[J]. 中华皮肤科杂志, 1998, 31(5):306-307.

[10] Gillings M, Holley M. Repetitive element PCR fingerprinting (rep-PCR) using enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) primers is not necessarily directed at ERIC elements [J]. Lett Appl Microbiol, 1997, 25(1):17-21.

[11] 李艳琴, 申泉, 刘彬彬, 等. 番茄内生菌分离及其 ERIC-PCR 指纹图谱分析[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5):89-93.

[12] 黄静, 刘慧, 朱家馨, 等. 白念珠菌基因多态性与耐药性关系[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2007, 28(1):35-39.

[收稿日期] 2010-11-26

[本文编辑] 王 飞