

〔文章编号〕 1007-0893(2020)24-0098-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.24.046

ITR、AMB 浓度梯度法检测眼部真菌药敏试验效果评估

许芬芳 蔡洁

(厦门大学附属厦门眼科中心, 福建 厦门 361001)

〔摘要〕 目的: 探析伊曲康唑 (ITR)、两性霉素 B (AMB) 以浓度梯度法 (E-test) 检测眼部真菌的药敏试验效果。方法: 以 2017 年 11 月至 2019 年 11 月厦门大学附属厦门眼科中心收集的 264 例眼部标本开展研究, 均实施真菌培养以确定眼部真菌阳性率、菌属分布, 对检出阳性菌株行 ITR、AMB 药敏试验, 按药敏试验方式差异分作行 M27-A 微量肉汤稀释法的对照组及行 E-test 的观察组, 统计两组致病真菌阳性率及菌属分布, 并评估两组的药敏试验效果及符合率。结果: 264 例眼部标本经培养后检出真菌 60 株, 真菌阳性率 22.73%, 以角膜真菌阳性率最高, 达 27.18%, 其次为玻璃体、结膜及前房, 依次为 10.00%、7.69% 及 6.67%。菌属分布中, 以镰刀菌属阳性率占比最高, 达 61.67%, 曲霉菌属、链格孢霉菌属居二、三位, 依次为 16.67%、11.67%; 观察组的 ITR、AMB 药敏率依次为 70.00%、43.33%, 相较于对照组的 66.67%、45.00%, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 且以两种药物联合检测验证药敏试验符合率, 观察组 ITR、AMB 符合率依次为 95.00%、96.67%, 两种药物呈现良好一致性, 可见两种药敏试验方法一致性良好。结论: 眼部真菌检出部位以角膜居首, 阳性检出率以镰刀菌属占比最高, 且运用 E-test、M27-A 检测 ITR、AMB 药敏效果发现, AMB 敏感性较高, ITR 则稍低, 两者共同检查药敏试验符合率呈较好一致性, 但 E-test 操作简易, 定量准确, 应用价值较高。

〔关键词〕 眼部真菌; 伊曲康唑; 两性霉素 B; 浓度梯度法; M27-A 微量肉汤稀释法

〔中图分类号〕 R 77 〔文献标识码〕 B

以往眼部真菌感染在眼科疾病中较为少见, 而近些年其发病率上升趋势明显, 主要因素可归于抗菌药物、免疫抑制剂及皮质类激素的广泛使用^[1]。此外, 因其具备一定危害性, 可随感染情形加重形成诸如真菌性角膜炎等危重致盲性眼病, 故治疗较为棘手^[2]。而明晰眼部真菌菌属分布, 实施有价值且便捷的抗真菌药物敏感试验, 在防治真菌性眼病中具有重要意义。考虑到目前药物敏感试验方式较多, 譬如 M27-A 微量肉汤稀释法及浓度梯度法 (E-test) 等, 哪种试验方法对伊曲康唑 (itraconazole, ITR)、两性霉素 B (amphotericin B, AMB) 药敏效果评估更好尚待确凿验证^[3]。基于此, 笔者对 2017 年 11 月至 2019 年 11 月本院收集的 264 例眼部标本予以不同药物敏感试验方法, 以探循 E-test 的实用性及有效性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

以 2017 年 11 月至 2019 年 11 月本中心收集的 264 例眼部标本开展研究, 其中, 收集患者病历信息如下: 男 165 例、女 99 例; 年龄 6 ~ 60 岁, 平均年龄 (39.05 ± 4.36) 岁; 采集部位: 角膜 206 例、玻璃体 20 例、前房 15 例、结膜 13 例。

1.2 真菌培养及鉴定

标本收集均由临床医生采集并床旁接种于沙保罗或马铃薯培养基, 并立即送至微生物室行常规真菌培养培养温度控

制为 28 °C, 相对湿度控制为 40%, 培养时间控制在 3 ~ 10 d。严格遵照《全国临床检验操作规程》^[4] 规范操作, 行乳酸棉酚兰染色, 于显微镜下观察, 并参照《实用临床微生物学检验与图谱》^[5] 比对真菌菌落形态、外观及生长变化等特征鉴定菌种。

1.3 ITR、AMB 药敏试验方法

对所检出阳性菌种予以 M27-A 微量肉汤稀释法及 E-test 行 ITR、AMB 药敏试验, 按药敏试验方式差异分作行 M27-A 微量肉汤稀释法的对照组及行 E-test 的观察组。

1.3.1 M27-A 微量肉汤稀释法 制备 ITR、AMB 贮存、应用液: ITR、AMB 用二甲基亚砷溶解成 640 μg · mL⁻¹ 贮存液, 于 -20 °C 冰箱储存待用, 应用时稀释为 0.625 ~ 320 μg · mL⁻¹, 接种终浓度为 0.0313 ~ 16 μg · mL⁻¹。

1.3.2 E-test 以 0.1 mol · L⁻¹ 磷酸钾 (pH 7.0) 缓冲并补充 2% 葡萄糖的 RPMI 1641 琼脂测定 ITR 最小抑制浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC), 以 0.165 mol · L⁻¹ 四氢呋喃 (pH 7.0) 缓冲并补充 2% 葡萄糖的 RPMI 1641 琼脂测定 AMB MIC, 将制备的 0.5 麦氏浊度的真菌混悬液用无菌棉拭子均匀涂敷在 RPMI 1641 琼脂培养基 (规格: 厚 4 mm, 直径 90 mm) 表面, 干燥 15 min, 每平皿 1 ~ 2 个 E-test 条 (安图公司生产), 并在 5% CO₂、35 °C 条件下孵育 24 h, 判读药物敏感性结果。判定标准: AMB MIC ≥ 2 mg · L⁻¹、ITR MIC ≥ 1 mg · L⁻¹ 视为耐药。

〔收稿日期〕 2020-10-16

〔作者简介〕 许芬芳, 女, 主管技师, 主要从事临床检验工作。

1.4 观察指标

统计眼部致病真菌阳性率、菌属分布，观察两组眼部标本药敏结果。其中，药敏结果以药敏率和符合率进行评估。符合率评定标准：以 M27-A 微量肉汤稀释法为对照组，E-test 检出 MIC 数据在 1 个倍比稀释度范围即可判定符合。药敏率 = 敏感例数 / 总例数 × 100 %；符合率 = (检测均敏感例数 + 检测均耐药例数) / 总例数 × 100 %。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 *t* 检验，计数资料用百分比表示，采用 χ^2 检验，*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 眼部致病真菌阳性率、菌属分布

264 例眼部标本经培养后检出真菌 60 株，真菌阳性率 22.73 %，以角膜真菌阳性率最高，达 27.18 %，其次为玻璃体、结膜及前房，依次为 10.00 %、7.69 % 及 6.67 %。菌属分布中，以镰刀菌属阳性率占比最高，达 61.67 %，曲霉菌属、链格孢霉菌属居二、三位，依次为 16.67 %、11.67 %。不同部位真菌阳性率见表 1，菌属分布见表 2。

表 1 眼部各类标本真菌阳性率

部 位	标本数 / 株	真菌阳性菌株数 / 株	阳性率 / %
角膜	206	56	27.18
玻璃体	20	2	10.00
前房	15	1	6.67
结膜	13	1	7.69

表 2 60 株阳性真菌菌属分布

菌 属	株数 / 株	百分比 / %
镰刀菌属	37	61.67
曲霉菌属	10	16.67
链格孢霉菌属	7	11.67
念球菌属	2	3.33
无孢子群	2	3.33
其他菌属	2	3.33

2.2 两组眼部标本药敏率以及观察组两种药物的符合率比较

观察组的 ITR、AMB 药敏率依次为 70.00 %、43.33 %，与对照组的 66.67 %、45.00 % 比较，差异均无统计学意义 (*P* > 0.05)，见表 3。且以两种药物联合检测验证药敏试验符合率，观察组 ITR、AMB 符合率依次为 95.00 %、96.67 %，两种药物呈现良好一致性，见表 4。

表 3 两组眼部标本药敏率结果比较 (n = 60, 例)

组 别	药物	镰刀菌属 (n=37)	曲霉菌属 (n=10)	链格孢霉菌属 (n=7)	念球菌属 (n=2)	无孢子群 (n=2)	其他菌属 (n=2)	药敏 / n (%)
对照组	ITR	9	8	6	2	1	1	27(45.00)
	AMB	26	2	7	2	2	1	40(66.67)
观察组	ITR	8	8	6	2	1	1	26(43.33)
	AMB	28	2	7	2	2	1	42(70.00)

表 4 观察组两种药物药敏方法符合率结果比较 (n = 60, 例)

药 物	镰刀菌属 (n=37)	曲霉菌属 (n=10)	链格孢霉菌属 (n=7)	念球菌属 (n=2)	无孢子群 (n=2)	其他菌属 (n=2)	符合 / n (%)
ITR	35	10	6	2	2	2	57(95.00)
AMB	36	10	7	2	2	1	58(96.67)

3 讨论

眼部真菌感染发病率于近些年来逐步增加，在抗真菌药物使用过程中部分患者可出现耐药性。由此，实施抗真菌药敏试验尤为必要，有利于抗真菌药物合理选取，从而起到真菌性眼病防治效果。目前，沿用药敏试验方法较多，诸如纸片法及微量稀释法等，但检查方法各有优缺，且操作均较为复杂，现国际及国内仍未统一抗真菌药敏试验方法。E-test 是在美国国家临床实验室标准委员会 (national committee clinical laboratory standards, NCCLS) 所颁布通行的抗真菌试验方法上开发的一类更为简易且实用的替代方法，其在培养基、接种浓度、培养条件上基本类同于 NCCLS M27-A 方案，可发挥较好的药敏试验效果^[6]。

对此，笔者运用 E-test 检测眼部致病真菌进行相关药敏试验。由结果显示：通过 264 例眼部标本培养检测，共计检出阳性真菌 60 株，阳性率为 27.18 %，检出部位以角膜居首，达 56 例，且以镰刀菌属、曲霉菌属及链格孢霉菌属位列前三位，依次为 37 例、10 例及 7 例。可见真菌感染主要部位仍为角膜，原因则与该部位血管抵抗力低下，易受外界入侵有关。而检出阳性致病真菌中，以镰刀菌属占比最高。这与我国其他地区报道大体接近^[7]。此外需注意的是，链格孢霉菌属已跃升至眼部致病真菌第三位，这与广州地区报道数据呈一致性^[8]。因而，需重点防范链格孢霉菌属引起的眼部感染。链格孢霉菌属菌丝和孢子壁颜色呈黑色素样，且细胞以淡褐色及深褐色表现居多，且从临床病原学研究分析，其对角膜毒性轻微，于角膜中形成的厚垣孢子一般仅产生溃疡，可对诸如 AMB、ITR 等药物表现出较高敏感性。且由本地区抗真菌药物使用情况显示：以 ITR、AMB 使用较为广泛^[9]。而由药物药敏率及符合率结果显示：运用 E-test ITR 药敏率为 43.33 %，AMB 则为 70.00 %，与使用 M27-A 微量肉汤稀释法的 45.00 %、66.67 % 基本相当，且两者联合下，ITR、AMB 符合率为 95.00 %、96.67 %。可知 E-test 在 ITR、AMB 药敏性表现上具有和 M27-A 微量肉汤稀释法同等效果。且从符合率结果来看，两种药敏试验方法一致性良好。而就两种检验方法操作难易而言，所用 M27-A 微量肉汤稀释法操作较为繁琐，于临床开展有所限制，E-test 则是于整合琼脂扩散及液基稀释法优点所发展而来的一项新型药敏试验方法，操作简易，且 E-test 条具有连续指数梯度药物，由此试验更为可靠及稳定，且重复性好，还可定量读出 MIC 值，表现出较佳药敏效果，有助于临床用药指导，故推荐将其作为眼部致病真菌感染常规试验手段^[10]。除此之外，

AMB 对眼部感染中镰刀菌属药敏率达 75.68%，且对于其他菌属（除曲霉菌属外，药敏率仅为 20%）亦表现出较强抑制性，且价格实惠，易于制备，提倡将其作为临床眼部真菌感染一线用药。针对曲霉菌属，ITR 则体现出高药敏表现，在面对临床感染程度较重，且运用 AMB 效果不佳眼部真菌感染患者，可采用 ITR 加以施治。

综上所述：眼部真菌检出部位以角膜居首，阳性检出率以镰刀菌属占比最高，且运用 E-test、M27-A 检测 ITR、AMB 药敏效果发现，AMB 敏感性较高，ITR 则稍低，两者共同检查药敏试验符合率呈较好一致性，但 E-test 操作简易，定量准确，具有较高应用价值。

〔参考文献〕

- (1) 王俊妹. 伊曲康唑胶囊与两性霉素 B 滴眼液治疗真菌性角膜炎的效果分析 (J). 中国医药指南, 2018, 16(6): 45.
- (2) 王倩, 罗丹, 陈华波, 等. 3759 例角膜炎患者真菌检测与耐药性分析 (J). 中国真菌学杂志, 2019, 14(1): 16-19.
- (3) 张阳, 王智群, 孙旭光. 2007 至 2016 年我国北方地区真菌性角膜炎病原学及药物敏感性分析 (J). 中华眼科杂志, 2018, 59(6): 432-436.
- (4) 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程 (M). 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 873-884, 896-897.
- (5) 陈东科, 孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱 (M). 北京: 人民卫生出版社, 2011: 626-660.
- (6) 包兴旺, 杜新华, 陆滨, 等. 真菌性角膜炎病原学及药敏结果分析 (J). 中华医院感染学杂志, 2018, 28(5): 746-748.
- (7) 王彦方, 俞颂平, 施天严, 等. 感染性眼病患者感染病原菌分布与耐药性研究 (J). 中华医院感染学杂志, 2018, 28(6): 907-910.
- (8) 梁齐合, 梁婉珍, 钟玉琼. 9668 株临床念珠菌感染的菌种分布及耐药性变化 (J). 国际医药卫生导报, 2020, 26(7): 957-961.
- (9) 蔡霞. 眼部真菌感染的病原学分析 (J). 检验医学与临床, 2017, 14(2): 312-314.
- (10) 常玉芝. 真菌感染分离鉴定及药敏试验研究 (J). 中国处方药, 2019, 17(9): 67-68.

〔文章编号〕 1007-0893(2020)24-0100-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.24.047

临床药师参与 90 例骨科抗菌药物会诊情况分析

何伟 梁妙莲 范倩雯

(佛山市中医院三水医院, 广东 佛山 528100)

〔摘要〕 目的: 对临床药师参与的 90 例骨科患者抗菌药物会诊情况进行分析, 为抗菌药物合理使用提供依据。方法: 查阅 2018 年 1 月至 2019 年 6 月佛山市中医院三水医院 90 例骨科患者的抗菌药物的临床药师会诊记录, 对临床药师参与会诊后的治疗效果、参与会诊阶段情况、细菌学培养情况及会诊意见进行分析, 并对典型病例进行会诊说明, 分析临床药师参与会诊后的治疗情况。结果: 临床药师会诊后治愈率为 97.78%, 临床药师在术后参与抗菌药物会诊的比例为 94.44% (85/90), 与术前参与的 5.56% (5/90) 相比, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。在所有会诊意见中, 更换抗菌药物种类的占比最高 (42.2%), 改变给药途径的占比最低 (2.2%), 会诊意见采纳后抗菌药物平均治疗天数为 (5.82 ± 2.31) d。结论: 临床药师参与骨科抗菌药物会诊能帮助临床医师解决患者感染的相关疑难问题, 达到尽快治愈的目的。

〔关键词〕 骨科用药; 抗菌药物; 临床药师

〔中图分类号〕 R 969.3 〔文献标识码〕 B

近年来, 为了降低抗菌药物的滥用情况, 国家相继出台多个抗菌药物管理办法^[1]。抗菌药物的不合理使用会导致治疗失败, 耐药菌的产生, 还造成医疗资源的浪费, 增加患者

负担, 存在较大的医疗安全隐患。临床药师根据掌握的抗菌药物知识和本院细菌耐药的流行病学趋势, 深入参与临床感染的治疗, 为医师提供合理的治疗方案^[2]。帮助医师找到

〔收稿日期〕 2020-10-23

〔作者简介〕 何伟, 男, 主管药师, 主要研究方向是临床药学、合理用药、抗感染药物临床应用、药品不良反应监测。