

ICU 重症患者肠道念珠菌组成分析

沈阳市第四人民医院 刘璐*, 沈阳 110031

摘要 目的:分析 ICU 重症患者肠道念珠菌组成情况,为预防感染提供依据。方法:收集 300 例患者的粪便或肛周拭子标本,行真菌培养,收集菌落,鉴定菌种,分析急诊 ICU 患者肠道念珠菌组成情况。结果:①本组 300 份标本,检出念珠菌定植 82 例,定植率 27.33%,定植菌株 112 株,其中 1 种念珠菌 56 例(68.29%),2 种念珠菌 22 例(26.83%),3 种念珠菌 4 例(4.88%)。②ICU 重症患者肠道念珠菌类型以白念珠菌为主(51.79%),其次为光滑念珠菌(20.54%)。③同时有 2 种菌株定植以白念珠菌+光滑念珠菌为主,占 50.00%,同时有 3 种菌株定植以白念珠菌+热带念珠菌+光滑念珠菌为主,占 11.54%。④念珠菌对伊曲康唑耐药率最高(17.86%),其次为氟康唑(13.39%);克柔念珠菌对伊曲康唑、氟康唑耐药率(55.56%、44.44%)最高,光滑念珠菌对伏立康唑耐药率(26.09%)最高,近平滑念珠菌对卡泊芬净、氟胞嘧啶耐药率(33.33%、16.69%)最高。结论:ICU 重症患者肠道念珠菌定植率较高,主要以白念珠菌定植为主,主要念珠菌对伊曲康唑、氟康唑耐药率较高。

关键词 肠道菌群;念珠菌;重症监护室

中图分类号 R519.3

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzzz20180317

念珠菌即假丝酵母菌,属条件致病菌,是引起医院感染的常见病原菌,分布于呼吸道、泌尿系统、消化系统等器官内,机体免疫功能降低、微生态环境失衡可引起念珠菌感染,且随着预防性应用抗菌药物的逐渐增多,免疫抑制剂的使用增加,住院患者念珠菌定植率明显上升,尤其以急诊 ICU 患者为主^[1]。肠道念珠菌定植是引发念珠菌血症的主要原因^[2],本文探讨 ICU 重症患者肠道念珠菌分布情况,报道如下。

材料与方法

标本收集 收集 2016 年 1 月~12 月沈阳市第四人民医院急诊 ICU 住院诊治的 300 例患者的粪便或肛周拭子标本。所有病例住院时间约 7 d;无腹泻;入住急诊 ICU 前无侵袭性念珠菌感染。300 例患者(男 109,女 191);年龄 26~76 岁,平均(59.3±10.7)岁;基础疾病:中毒 30 例,休克 65 例,消化道出血 35 例,气胸 20 例,复合型外伤 34 例,高血压脑病 58 例,心血管疾病 58 例。所有患者标本均接种于显色板,36℃培养 48 h,收集单个菌落于 40%甘油-YPD 培养基内,-80℃低温保存。

菌株鉴定 收集菌株均采用法国生物梅里埃公司生产的微生物 API 板条作初步菌种鉴定,随后进行内转录间隔区测序,将低温保存的菌株接种于 SDA 平板,进行复苏处理,采用 QIA amp® DNA stool min kit+玻璃珠击打法^[3]提取 DNA,-20℃低

温保存,采用聚合酶链反应法(PCR)扩增内转录间隔区片段,进一步鉴定菌种,PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,严格按照试剂使用说明进行操作,PTC-100Thermal Cycle 型 PCR 扩增仪购自美国伯乐公司,Tanon 4100 型全自动数码凝胶电泳成像系统购自上海天能公司。引物序列:内转录 1 区:5'-TCCGTA-GGTGAACCTGCG-3';内转录 4 区:5'-TC-CTCCGCTT-ATTGATATGC-3'。反应体系共 50 μL,1×PCR 扩增缓冲液 5 μL+氧化镁(25mmol/L)5 μL+脱氧核糖核苷三磷酸(2.5mmol/L)4 μL+引物各 1 μL+Taq DNA 聚合酶(5U/μl)0.5 μL+DNA1 μL+双蒸水 32.5 μL。扩增条件:94℃ 5 min,94℃ 30 s,50℃ 30 s,72℃ 30 s,共 30 个循环,72℃ 5 min,引物测序由上海 Invitrogen 公司完成。同一标本间隔 24 h 连续 2 次培养检出同一念珠菌为阳性,并采用 K-B 纸片扩散法行念珠菌药敏试验,采用法国生物梅里埃公司 ATB Fungus 药敏试剂盒,严格按照试剂使用说明进行操作。

统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计学软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验,计数资料以百分数(%)表示,进行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

肠道念珠菌检出率 本组 300 份标本,确诊为念珠菌定植 82 例,阳性率 27.33%,其中一种念珠菌定植 56 例,2 种念珠菌定植 22 例,3 种念珠菌定植 4 例,见表 1。

*通信作者:刘璐,E-mail:qgp657086413@163.com

表 1 急诊 ICU 患者肠道念珠菌检出情况

定植念珠菌种类	例	构成比(%)
1 种	56	68.29
2 种	22	26.83
3 种	4	4.88
合计	82	100.00

不同肠道念珠菌构成情况 共检出定植菌株 112 株,急诊 ICU 肠道念珠菌类型以白念珠菌为主,阳性率为 51.79%,其次为光滑念珠菌,占 20.54%,见表 2。

表 2 急诊 ICU 患者肠道念珠菌构成情况

菌种	例	构成比(%)
白念珠菌	58	51.79
热带念珠菌	16	14.29
光滑念珠菌	23	20.54
克柔念珠菌	9	8.04
近平滑念珠菌	6	5.36
合计	112	100.00

2 种或 2 种以上念珠菌定植情况 同时有 2 种菌株定植以白念珠菌 + 光滑念珠菌为主,占 50.00%,同时有 3 种菌株定植主要为白念珠菌 + 热带念珠菌 + 光滑念珠菌,占 11.54%,见表 3。

表 3 2 种或 2 种以上念珠菌定植情况

念珠菌分布	例	构成比(%)
白念珠菌 + 光滑念珠菌	13	50.00
白念珠菌 + 近平滑念珠菌	7	26.92
白念珠菌 + 克柔念珠菌	1	3.85
光滑念珠菌 + 热带念珠菌	1	3.85
光滑念珠菌 + 克柔念珠菌	0	0.00
光滑念珠菌 + 近平滑念珠菌	0	0.00
白念珠菌 + 光滑念珠菌 + 近平滑念珠菌	1	3.85
白念珠菌 + 热带念珠菌 + 光滑念珠菌	3	11.54
合计	26	100.00

念珠菌耐药性分析 112 株念珠菌对伊曲康唑耐药率最高,其次为氟康唑;6 种念珠菌中又以克柔念珠菌对伊曲康唑、氟康唑耐药率最高,以光滑念珠菌对伏立康唑耐药率最高,而近平滑念珠菌对卡泊芬净、氟胞嘧啶耐药率最高,见表 4。

讨 论

正常生理条件下,人体肠道内寄居多类微生物,菌群之间相互制约、相互影响,共同发挥营养、免疫及拮抗作用,维持肠道菌群的动态平衡。而在病理、免疫下调或广谱应用抗生素等条件下,肠道菌群调节紊乱,可能引起感染性疾病^[4]。报告显示^[5],ICU 患者念珠菌感染高达 30%,严重影响患者健康。本研究发现患者念珠菌定植率为 27.33%,与上述统计结果相近,提示急诊 ICU 患者念珠菌定植相关感染发生率较高,主要可能与重症患者机体免疫功能低下,常进行介入及侵入性操作有关。

本研究发现,肠道定植念珠菌属以白念珠菌定植率最高,其次为光滑念珠菌、热带念珠菌,与吴建浓等^[6]结论相符。肠道光滑念珠菌定植率高于近平滑念珠菌,但后者引起血流感染风险较高。近平滑念珠菌主要通过外源性途径传播,包括静脉导管、医疗设备、手等,因此其不定植亦可引起血流感染^[7,8]。本研究还发现,急诊 ICU 患者同时合并 2 种或以上念珠菌感染率为 31.71%,提示急诊 ICU 患者肠道念珠菌定植数量及类型较为复杂,主要可能与急诊重症患者广谱抗生素应用较多,导致部分对抗生素敏感的真菌被杀灭,而对抗生素敏感性较低的真菌则可能增多、定植^[9]。本研究发现,念珠菌对伊曲康唑耐药率最高,其次为氟康唑;且克柔念珠菌对伊曲康唑、氟康唑耐药率较高,光滑念珠菌对伏立康唑耐药率较高,近平滑念珠菌对卡泊芬净、氟胞嘧啶耐药率较高,而白念珠菌对 5 种抗生素均有一定程度的耐药,但耐药率均不高。因此,对急诊 ICU 患者必须重视肠道念珠菌定植的防控,在治疗相关感染时,必须严格参照药敏试验结果合理应用敏感性抗生素,同时重视对医院感染的预防,严格遵循无菌操作原则,强化对 ICU 病房环境的监测,加强对急诊 ICU 患者的护理,做好消毒隔离处理,以降低念珠菌感染发生风险。

表 4 急诊 ICU 患者念珠菌耐药性分析

[例(%)]

药物/菌种	白念珠菌	热带念珠菌	光滑念珠菌	克柔念珠菌	近平滑念珠菌	合计
伊曲康唑	6(10.17)	2(12.50)	6(26.09)	5(55.56)	1(16.67)	20(17.86)
氟康唑	5(8.47)	1(6.25)	5(21.74)	4(44.44)	—	15(13.39)
伏立康唑	4(6.80)	1(6.25)	5(21.74)	1(11.11)	—	11(9.82)
卡泊芬净	3(5.08)	—	2(8.70)	1(11.11)	2(33.33)	8(7.14)
氟胞嘧啶	2(3.39)	—	1(4.35)	1(11.11)	1(16.67)	5(4.46)

参考文献

- 1 郭凤梅,杨毅,邱海波,等.中国重症患者侵袭性念珠菌感染的流行病学特征[J].中华内科杂志,2014,53(6):491-492.
- 2 刘怡雯,詹熳,胡枫,等.ICU 患者感染念珠菌的临床分布及体外药敏分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(20):4602-4604.
- 3 Whibley N, Jaycox JR, Reid D, et al. Delinking CARD9 and IL-17: CARD9 Protects against candida tropicalis Infection through a TNF- α -Dependent, IL-17-Independent Mechanism[J]. J Immunol, 2015, 195(8):3781-3792.
- 4 刘君玲,孙贺元,王树英,等.2008~2012 年医院重症监护室念珠菌感染情况分析[J].中华流行病学杂志,2014,35(3):326-328.
- 5 刘雅,肖玉玲,康梅,等.侵袭性白念珠菌感染的危险因素及耐药性变迁[J].中国抗生素杂志,2014,39(10):780-784.
- 6 刘新明,侯红艳,田磊,等.重症监护病房病原菌分布及耐药性分析[J].内科急危重症杂志,2015,21(1):34-37.
- 7 George B. Evaluation of the prevalence of candida albicans infection in patients with oral sub mucous fibrosis in comparison with healthy individuals[J]. Mol Ecol, 2015, 25(2):174-181.
- 8 黄腾飞,祝益民.侵袭性念珠菌感染的早期诊断研究进展[J].中国小儿急救医学,2016,23(2):117-120.
- 9 Netea MG, Joosten LA, Jw VDM, et al. Immune defence against candida fungal infections[J]. Nat rev immunol, 2015, 15(10):630-642.

(2017-06-26 收稿 2018-01-02 修回)

(上接第 197 页)

激反应生成过氧化物,引起血管内皮功能障碍;通过抑制纤溶酶原激活物抑制物的表达和增强血小板的聚集、粘附,导致纤溶功能紊乱和血栓形成;发挥细胞毒的调节作用,加重神经细胞的损伤^[6]。S100B 蛋白是由活化的星形胶质细胞产生的神经组织蛋白,参与细胞内相关蛋白的调节,并对神经元的微环境有一定影响,有利于神经系统的发生、发展和维持。正常情况下,外周血中含量较低,但脑损伤时由于血脑屏障损害,以及脑血流和脑细胞的代谢紊乱等均可导致细胞膜完整性破坏,从而使脑组织内的 S100B 蛋白进入血循环,导致外周血中浓度水平升高。

鼠 NGF 是从小鼠下颌下腺提取的活性蛋白,在体内可选择性地与其受体结合,不仅可以促进交感、感觉神经元的生长与分化,营养成熟的神经细胞;还可诱导轴突、树突的发育,促进神经元的有丝分裂、分化和修复。鼠 NGF 主要通过调节 Ca^{2+} 平衡及对抗自由基等作用来发挥其对神经元的保护作用,尤其在继发性脑损伤过程中可显示出一定的减轻脑水肿、保护缺血神经元和促进功能恢复等功效。本研究在常规治疗基础上对急性脑梗死患者加用鼠 NGF 治疗,治疗后梗死灶体积缩小,NIHSS 评分以及血清 MCAF、HCY 和 S100B 蛋白水平均明显下降。提示鼠 NGF 可通过下调 MCAF、HCY 和 S100B 蛋白表达,增加神经保护因子的形成,减少炎性介质

释放,使神经细胞生活的内环境明显优化,加强葡萄糖的利用,增加核酸和蛋白质的合成^[7],奠定受损胆碱能神经元存活、发育和修复的物质基础。

参考文献

- 1 王军,韩玲,张均.急性脑梗死与颈动脉斑块、超敏 C 反应蛋白和 P-选择素水平的相关性探讨[J].内科急危重症杂志,2012,18(4):207-208.
- 2 汪志忠,黎红华,吴非,等.丹参多酚对急性脑梗死患者血清单核细胞趋化蛋白-1 及白细胞介素-10 的影响[J].神经损伤与功能重建,2013,8(1):71-72.
- 3 Omrani HQ, Shandiz EE, Qabai M, et al. Hyperhomocysteinemia, folate and B12 vitamin in Iranian patients with acute ischemic stroke[J]. ARYA Atheroscler, 2011, 7(3): 97-100.
- 4 中华神经内科学会,中华神经外科学会.各类脑血管疾病的诊断要点[J].中华神经科杂志,1996,27(6):60-61.
- 5 Park SY, Kim J, Kim OJ, et al. Predictive value of circulating interleukin-6 and heart-type fatty acid binding protein for three months clinical outcome in acute cerebral infarction: multiple blood markers profiling study[J]. Crit Care, 2013, 17(2): R45.
- 6 Divyya S, Naushad SM, Kaul S, et al. Glutamate carboxypeptidase II (GCP II) genetic variants as determinants of hyperhomocysteinemia: implications in stroke susceptibility[J]. Indian J Biochem Biophys, 2012, 49(5):356-362.
- 7 李玉华.注射用鼠神经生长因子对脑梗死患者临床疗效及血清中单核细胞趋化蛋白-1、同型半胱氨酸和 S100B 的影响[J].中国老年学杂志,2015,35(13):3587-3589.

(2017-03-22 收稿 2018-04-14 修回)