

光滑假丝酵母菌氟康唑耐药机制研究

刘 术

岳阳市广济医院检验科 湖南岳阳 414000

[摘 要] **目的** 研究分析光滑假丝酵母菌氟康唑的耐药机制。**方法** 于临床进行标本采集, 如血样本, 尿液等, 将标本进行分离后得到 356 株光滑假丝酵母菌, 从中随机选取氟康唑耐药株以及氟康唑敏感株各 10 株, 进行 PCR 扩增以及 DNA 测序, 并分析探讨所得结果。**结果** 氟康唑敏感株组基因测序结果未得到有意义的发现; 氟康唑耐药株组的基因测序结果发现具有突变。**结论** 光滑假丝酵母菌氟康唑的耐药与基因突变有关, 具体耐药机制有待深入研究。

[关键词] 光滑假丝酵母菌; 氟康唑; 耐药机制

[中图分类号] R446.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1674-9561 (2017) 06-173-02

引言

研究数据显示, 临床上由于抗生素滥用等已产生大量耐药菌株, 光滑假丝酵母菌的耐药菌株主要是氟康唑的耐药产生, 其主要机制目前无统一确定理论, 基因突变为其中一种, 本研究即主要以此方向进行进一步探讨, 具体研究如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集医院检验科的血液, 尿液等检验标本, 进行分离得到 356 株光滑假丝酵母菌, 经仪器检测证实均为光滑假丝酵母菌, 从中随机选取氟康唑耐药株以及氟康唑敏感株各 10 株, 进行 PCR 扩增以及 DNA 测序, 并分析探讨所得结果^[1-2]。

1.2 方法

1.2.1 抗真菌药敏实验

本研究所采用的抗真菌药敏实验方法是根据美国国家临床实验标准化委员 (NCCLS)^[1] 建立的抗真菌药敏试验法进行, 将氟康唑敏感株及耐药株进行抗真菌药敏实验, 同时进行假丝酵母菌标准菌株的药敏试验作为标准对照组, 进行结果的比对^[3]。

1.2.2 DNA 序列 PCR 扩增及序列检测

根据资料提供的数据进行引物合成, 并且进行 PCR 扩增, 扩增后对所扩增的产物进行基因序列测试, 比对有无突变点。

1.3 药敏试验结果判定标准

氟康唑 FCA $\leq 8\mu\text{g/ml}$ 为敏感, $16 \sim 32\mu\text{g/ml}$ 为剂量依赖性敏感, $> 64\mu\text{g/ml}$ 为耐药; 伊曲康唑 ITRA $\leq 0.125\mu\text{g/ml}$ 为敏感, $0.25 \sim 0.5\mu\text{g/ml}$ 为剂量依赖性敏感, $> 1\mu\text{g/ml}$ 为耐药; AMB 敏感性没有定义, $> 2\mu\text{g/ml}$ 为耐药^[1]。

1.4 统计学处理

采用统计软件 spss17.0 对所得结果进行统计学分析, 采用 χ^2 进行比较, χ 比较用 t 检验, $p < 0.05$ 时, 存在统计学意义。

2 结果

2.1 药敏实验

抗真菌药敏试验显示耐药组对 3 中真菌药物均具有耐药性, 如表 1 所示。

表 1: 抗真菌药敏实验结果

组别	株数	氟康唑	两性霉素 B	伊曲康唑
敏感组	10	< 8	$1 \sim 2$	≤ 0.125
耐药组	10	> 64	> 2	$0.25 \sim 0.5$
标准组	10	$16 \sim 32$	$1 \sim 2$	> 1

2.2 基因序列检测

经基因序列检测结果显示, 氟康唑敏感株组基因测序结果未得到有意义的发现; 氟康唑耐药株组的基因测序结果发现具有两处突变。

3 讨论

光滑假丝酵母菌是常见于人体黏膜组织中的一种共生菌, 目前临床上由假丝酵母菌引起的感染愈来愈多, 造成感染加剧的原因有多种^[4], 一方面是广谱抗生素的大量应用, 由于卫生监管的漏洞, 导致广谱抗生素的大量应用甚至滥用, 引起临床上大范围的抗生素耐药的发生^[5], 故极易引发感染, 尤其是黏膜组织的感染^[6]。另一方面, 由于艾滋病, 糖尿病等疾病的发病率不断增加, 假丝酵母菌的感染率也随之增加, 并且正逐渐成为此类疾病的主要死亡原因之一, 同时, 由于免疫抑制剂的大量使用, 患者的感染风险极度增加^[7]。光滑假丝酵母菌是目前最为常见的致病真菌, 仅次于白假丝酵母菌, 并且治疗困难程度极大, 可采取的治疗手段极少, 并且光滑假丝酵母菌极易产生耐药^[8]。临床上常用的抗真菌药物由氟康唑, 两性霉素 B, 伊曲康唑等, 并且资料显示, 氟康唑的耐药性较强, 而且具有交叉耐药的现象。耐药菌株的出现加大了光滑假丝酵母菌治疗的难度, 因此, 了解耐药机制对于进一步用药治疗以及药物敏感性的提高具有重要意义。

目前对于光滑假丝酵母菌的耐药方面的研究资料相对较少, 需要更加深入的发掘, 光滑假丝酵母菌对于抗真菌药物的敏感性较低, 这使其极易对抗真菌药物产生耐药性, 低敏感性这一特性早前有人推论与基因有关, 最近的研究表明光滑假丝酵母菌产生新同源染色体的能力较其它真核生物强, 能通过携带着丝粒的染色体片段的复制和着丝粒末端的添加而产生新的同源染色体。对于氟康唑, 伊曲康唑等几种抗真菌药物, 光滑假丝酵母菌具有交叉耐药的现象, 本研究通过对于三组菌株的抗真菌药敏试验, 同样验证了光滑假丝酵母菌对于氟康唑, 伊曲康唑, 两性霉素 B 的交叉耐药, 其作用机制具有相同之处。目前, 最为常见的研究是抗真菌药物的靶酶基因 ERG11 的突变可能是导致光滑假丝酵母菌氟康唑等药物耐药的主要机制之一, 但具体的耐药机制并无最新的研究成果, 现有的研究资料并未明确表明 ERG11 的突变是光滑假丝酵母菌耐药的耐药机制, 较为普遍认可的是外排泵理论, 认为光滑假丝酵母菌的外排泵功能是对氟康唑类药物的主要分子机制^[11]。因此, 对于光滑假丝酵母菌氟康唑的耐药机制的研究有待更深入的探讨, 其耐药机制并非单一原因, 不断的研究表明是多种机制共同导致的耐药现象, 故光滑假丝酵母菌极易产生耐药现象。本实验通过采集实验室检验标本, 从中分离得到光滑假丝酵母菌菌株, 经过选取得到耐药菌株和敏感菌株各 10 株, 进行 PCR 扩增以及基因测序后, 发现耐药菌株组具有两处点突变, 但未能证实是 ERG11 位点, 仅可得到初步结论光滑假丝酵母菌氟康唑耐药机制与基因突变有关, 具体机制还需进一步深入研究。

4 结论

(下转第 175 页)

有学者研究表明,麻醉护理一体化管理可提高护理针对性和护理服务质量,利于促进麻醉术后患者生理功能恢复,对降低术后并发症发生风险有积极意义^[5]。本研究结果也证实,给予麻醉护理一体化管理的实验组患者苏醒时间明显较仅给予常规护理管理的对照组短,说明麻醉护理一体化管理可有效促进患者麻醉苏醒期生理功能恢复,而缩短苏醒时间,分析其原因可能与麻醉护理一体化管理加强了对患者的术前心理干预,降低了患者术前焦虑情绪,于降低手术应激反应有利有关。另外,实验组入室交接时间也较对照组短,这也提示麻醉护理一体化管理可通过术前掌握患者情况而提高护理针对性,对提升 PACU 护理工作效率有利。

除上述结论外,本研究结果还发现,实验组苏醒恢复期高血压、躁动、疼痛、呼吸困难、心律失常发生率均较对照组低。究其原因可能与麻醉护理一体化管理术前给予患者心理干预、术后苏醒期有效安抚患者而缓解其围术期焦虑等负性情绪,利于降低其心理压力;而患者负性情绪的缓解可减轻手术应激,对降低术后疼痛刺激、躁动等发生风险有利;且在患者苏醒期严密观察其拔管指征、实行尽早拔管,也利于患者呼吸功能恢复有关。此外,有学者研究发现,对全麻苏醒期患者进行人性化护理,给予其生理与心理护理的双重支持,最

大限度降低患者身心痛苦,可促进患者术后恢复,也能显著提高 PACU 护理质量^[6]。故麻醉护理一体化管理对骨科全麻手术患者麻醉苏醒期进行生理支持与心理干预也可有效降低患者术后疼痛,提高 PACU 护理服务质量,利于患者术后康复。

综上所述,麻醉护理一体化管理应用于骨科全麻手术患者麻醉护理工作,可降低其麻醉苏醒期并发症发生率,促进患者术后恢复,对提高 PACU 护理质量也有积极意义。

[参考文献]

- [1] 郑虹彩,冯丹丹,张静,等.麻醉恢复室内术后患者发生恶心呕吐的原因分析及对策[J].解放军护理杂志,2016,33(19):44-45.
- [2] 赵艳丽,张丹妹.集束化护理用于骨科全身麻醉术后患者效果观察[J].现代中西医结合杂志,2015,24(30):3391-3393.
- [3] 罗恒,田华.高龄患者全身麻醉术后在麻醉恢复室的安全护理[J].重庆医学,2016,45(31):4462-4464.
- [4] 陆文英,朱小勇,余静.四肢骨折患者全麻苏醒期发生高血压的危险因素研究[J].中华全科医学,2014,12(2):227-229.
- [5] 朱海娟,吕娜,黄丽华,等.创建麻醉护理一体化管理模式在麻醉后恢复室的应用[J].海南医学,2016,27(23):3950-3952.
- [6] 陈黔,钟萍.人性化护理在麻醉恢复室病人中的应用研究[J].中国妇幼保健研究,2016,27(s2):151-152.

(上接第 171 页)

对策分析[J].检验医学,2015,30(10):1002-1003.

[2] 张长庚,严香菊,姚新洁等.溶血对生化检验结果影响的探讨[J].标记免疫分析与临床,2014,21(4):487-488.

[3] 陈志平.溶血现象对临床生化检验项目的影响及预防对策[J].中国当代医药,2014,21(3):84-85.

[4] 刘胜峰,刘玉玲,潘效营等.标本溶血现象对临床生化检验项目的影响分析[J].检验医学与临床,2016,13(z1):192-193.

[5] 郭昀燕.溶血标本对生化检验准确性的影响及对策分析[J].国际检验医学杂志,2016,37(14):2010-2011.

[6] 方超,吴朝珍.溶血对生化检验准确性的影响及纠正探析[J].临床医药文献电子杂志,2014,1(8):1438-1439.

[7] 王标,董利民.溶血现象对临床生化检验项目的影响观察[J].临床医药文献电子杂志,2015,2(14):2701,2703.

[8] 郭炜,叶扬,张敬治等.探讨溶血对生化检验准确性的影响及纠正措施的方法分析[J].实用检验医师杂志,2017,9(1):16-17.

(上接第 172 页)

提高到 99.3%^[2]。从表 2 中可以看出,本组结果单纯细胞学诊断的准确率仅为 92.4%,冰冻切片为 91.0%,两种方法结合临床准确率明显提高至 98.3%,病理诊断率得到了明显提高,特别是恶性肿瘤检测率显著增高。

3.5 穿刺细胞学已在我科开展了 10 余年,积累了丰富的经验并将此应用于术中细胞学诊断,无疑提高了细胞学诊断的准确性及恶性肿瘤检出率。盆腔包块穿刺涂片检查较难,现在一般采取术中冰冻切片病理快速检查,明确诊断,使患者得到及时诊治;开展冰冻切片结合细胞学涂片同时进行检

查,取得了明显效果。

[参考文献]

- [1] 吴振兴.6509 例穿刺细胞学临床应用体会[J].山东医药,1982,7:15-17.
- [2] 包磊,蔡红光,杨惠英,等.术中印片对诊断为恶性乳腺良性病变的诊断价值[J].临床与实验病理杂志,2002,18(4):434-436.
- [3] Mitchell ML. Frozen diagnosis for axillary sentinel lymphnodes:the first six years[J].Mod Pathol,2005,18(1):58-61.
- [4] 李平,王燕霞,赵俊军,等.乳腺肿瘤术中细胞学与冷冻诊断的互补作用[J].诊断病理杂志,2004,11(2):112.

(上接第 173 页)

本研究通过几种抗真菌药物的药敏试验测定以及经 PCR 扩增后进行基因测序等对光滑假丝酵母菌氟康唑的耐药机制的相关问题进行研究,发现光滑假丝酵母菌对氟康唑产生耐药,并且耐药株的发生机制与基因突变有关,但具体基因位点以及联系还需进一步研究证明,为深入研究耐药株的耐药机制提供了初步思路及依据。

[参考文献]

[1] 陈中沛,胡志芬.2 型糖尿病患者罹患口腔假丝酵母菌感染相关危险因素分析[J].中国病原生物学杂志,2016,5(7):21-22.

[2] 赵金云,许文芳,金法祥.布洛芬对临床分离假丝酵母菌耐氟康唑逆转作用的研究[J].中华医院感染学杂志,2016,24(7):23-24.

[3] 霍丽丽,刘朝晖.舍他康唑对于耐药假丝酵母菌药物敏感性研

究[J].中国实用妇科与产科杂志,2016,4(8):21-22.

[4] 雷云.复发性外阴阴道假丝酵母菌病致病菌的药敏及其基因分布[J].广西医学,2014,36(6):221-222.

[5] 董丹凤,江岑,章黎华,等.临床分离光滑假丝酵母菌唑类药物耐药机制研究[J].上海交通大学学报(医学版),2014,7(7):53-54.

[6] 张文,梁惠,周强,等.香蕉外洗液诱导白色假丝酵母菌耐药菌株恢复对氟康唑的敏感性[J].中华医院感染学杂志,2010,10(6):103-104.

[7] 施高翔,严园园,邵菁,等.穿心莲内酯联合氟康唑抗耐药白假丝酵母菌作用机制研究陆克乔[J].中国微生态学杂志,2014,3(4):134-135.

[8] 牛莉娜,陈小雅,吴至成,等.575 株假丝酵母菌感染菌群分布及耐药性分析[J].海南医学院学报,2015,2(4):53-54.