

110株皮肤癣菌病患者临床分离菌株的药敏试验分析

宋江勤¹ 韩利蓉¹ 刘雄彪² 汪晓红²

【摘要】目的 了解皮肤癣菌病的临床特点及分离出的菌株对几种常见抗真菌药物的耐药性, 指导临床对皮肤癣病抗真菌治疗。**方法** 收集某院皮肤科门诊2015年6月至2016年6月收治的疑似皮肤癣菌病患者的样本进行真菌直接镜检、培养及药敏试验。**结果** 110例皮肤癣菌病中体癣49例(44.5%)、股癣30例(27.3%)、手足癣16例(14.5%)、头癣9例(8.2%)和甲癣6例(5.5%), 于体癣患者中分离的菌株有红色毛癣菌28株(25.5%)、犬小孢子菌12株(10.1%)、须毛癣菌4株(3.6%)、絮状表皮癣菌5株(4.5%)。股癣、手足癣、头癣和甲癣分离菌株最多的均为红色毛癣菌, 分离株数分别为28株(25.5%)、13株(11.8%)、6株(5.4%)、6株(5.5%)和5株(4.5%)。对克霉唑的敏感性最高(105例, 95.5%), 其次为咪康唑(93例, 84.5%)、灰黄霉素(51例, 46.4%), 氟康唑耐药率达94.5%(104例)。**结论** 皮肤癣菌病中最常见的为体癣(除股癣), 男性发病率高于女性, 最常见临床分离株为红色毛癣菌, 10% KOH压片镜检与真菌培养均为诊断皮肤癣菌病的有效手段, 其对克霉唑的敏感性最高。

【关键词】 皮肤癣菌; 真菌培养; 红色毛癣菌

Antimicrobial susceptibility analysis of 110 fungal isolates from patients with dermatophytes Song Jiangqin¹, Han Lirong¹, Liu Xiongbiao², Wang Xiaohong². ¹Department of Clinical Laboratory, ²Dermatology, The First People's Hospital of Tianmen, Tianmen 431700, China

Corresponding author: Song Jiangqin, Email: mainx@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical features of dermatophytes and the resistance of the isolates to several antifungal agents, and to guide the clinical treatment of dermatophytes. **Methods** During June 2015 to June 2016, direct fungi microscopy, culture and susceptibility testing from dermatophytes patients at a hospital dermatology clinic were taken. **Results** Among the 110 cases, 49 cases (44.5%) were with skin ringworm tinea, 30 cases (27.3%) with jock itch, 16 cases (14.5%) with tinea, 9 cases (8.2%) with tinea capitis and 6 cases (5.5%) with onychomycosis. The strains isolated from tinea patients were 28 strains (25.5%) of *Trichophyton rubrum*, 12 (10.1%) of *Microsporum canis*, 4 strains (3.6%) of *Trichophyton mentagrophytes* and 5 strains (4.5%) of *Epidermophyton floccosum*. The common isolated strains from tinea, brothers tinea, tinea capitis, onychomycosis were *Trichophyton rubrum* with 28 strains (25.5%), 13 strains (11.8%), 6 strains (5.4%), 6 strains (5.5%) and 5 strains (4.5%), respectively. The sensitivity of the isolated strains to clotrimazole was the highest (105 cases, 95.5%), followed by miconazole (93 cases, 84.5%), griseofulvin (51 cases, 46.4%) and fluconazole (104 cases, 94.5%). **Conclusions** Tinea corporis was the most common skin tinea disease (except the tinea), with the incidence rate of men higher than women, the most common clinical isolates was *Trichophyton rubrum*. 10% KOH tableting microscopy and fungal culture were effective method for diagnosis of skin tinea disease, and was most sensitive to clonazole.

【Key words】 Dermatophytes; Fungal culture; *Trichophyton rubrum*

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2017.06.013

基金项目: 天门市科技成果项目 (No. 2016)

作者单位: 431700 天门市, 湖北省天门市第一人民医院检验科¹、皮肤科²

通信作者: 宋江勤, Email: mainx@qq.com

皮肤癣菌又称皮肤丝状真菌,其能与人体皮肤、毛发和指甲的角蛋白紧密结合^[1],只侵犯体表角化组织(皮肤、毛发、指甲和趾甲),不侵害深部组织或内脏,皆属外源性感染,由接触患者、动物(狗、猫、鼠、牛、马等)或染菌物体而感染。皮肤癣菌可以分为毛癣菌属、小孢子菌属和表皮癣菌属^[2]。世界人口的20%~25%被皮肤癣菌病困扰^[3]。皮肤癣菌病临床上可以分为体癣、股癣、甲癣、头癣、手癣、足癣和须囊炎癣等^[4],传播途径主要是从动物或土壤传播给人,或者是人与人之间的交叉传播^[5]。

皮肤癣菌病发病率高,对人们日常生活影响较大,临床预防与治疗一直都是一个难题^[6]。本研究通过对临床疑似皮肤癣菌病患者分离培养皮肤癣菌,并进行鉴定和药物敏感性试验,进一步了解皮肤癣菌病的临床特点及分离出的菌株对几种抗真菌药物的耐药性,以期指导临床对皮肤癣病进行抗真菌治疗。

资料和方法

一、研究对象和方法

患者来自2015年6月至2016年6月天门市第一人民医院皮肤科门诊接诊的疑似皮肤癣菌病的135例患者,其中包括男性81例和女性44例,年龄为5~56岁,平均年龄为30.5岁;患者的性别分布和年龄等一般资料差异均无统计学意义,具有可比性;在采样前均未接受过局部或全身抗真菌治疗。详细记录每位患者的临床资料,包括年龄、性别、职业、病变部位和皮肤癣病种类。

二、标本采集

针对可疑病灶处,先用75%酒精进行清洗,去除污物和污染菌。使用无菌手术刀的钝边刮取皮屑到清洁载玻片上,采集部位为新鲜皮损的活动下边缘或基底部的皮损。头发先用手术剪沿着发干的基底部剪断,再用无菌手术刀从头发的根部刮取一部分。

三、真菌镜检和培养

首先进行真菌直接镜检,在载玻片上滴上1滴10% KOH溶液和采集的标本混合,轻轻加盖一张清洁的盖玻片,防止气泡产生。分别在低倍镜(10×)和高倍镜(40×)观察每张玻片菌丝或孢子。直接镜检后,不论是否观察到真菌菌丝或孢

子,均将采集的标本接种于沙氏葡萄糖琼脂培养基(sabouraud dextrose agar, SDA),SDA中添加有氯霉素,可以抑制大部分革兰阳性和革兰阴性菌。培养皿置于28℃温箱中需氧培养4周,每天观察平皿生长情况,若发现有菌落生长,观察菌落形态,用接种针挑取完整菌落于载玻片上并加适量乳酸酚棉蓝染液染色,镜下观察真菌的分生孢子和菌丝,皮肤癣菌在SDA上的菌落形态和镜下形态参考徐红等^[7]研究结果和相关真菌图谱书籍^[8-9]。

四、药物敏感实验

使用4个抗真菌药物纸片进行药敏试验,4种药物分别为克霉唑(50 μg)、咪康唑(10 μg)、氟康唑(25 μg)和灰黄霉素(10 μg),挑取癣菌菌落于1 ml蒸馏水中,以获得菌丝和分生孢子的混合菌液,使其沉淀30 min。均匀涂布Mueller-Hinton (MH)琼脂(英国Oxoid公司)平板。待平板干燥后并将其置于在28℃培养5至10 d。当平板生长时,测定抑菌环。判断折点根据Pakshir等^[10]研究结果。

五、统计学处理

采用WHONET 5.6软件对研究对象的病原菌分布及耐药情况进行统计分析。本研究对分离阳性病原菌株的分布及药敏进行分析,未涉及组间比较,所有数据采用绝对值和百分比表示,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、研究对象的基本资料

共有135例疑似皮肤癣菌病患者被纳入研究,其中有110例通过直接镜检和培养被确诊为皮肤癣菌病患者,其中男性71(64.5%)和女性39(35.5%),年龄为5~56岁,平均年龄为30.5岁,其中16~30岁年龄组(36例,32.7%)人数最多,其次为5~15岁年龄组(33例,30.0%),见表1。从事农业相关职业的占39.1%,学生占22.7%。110例皮肤癣菌病患者中体癣(49例,44.5%)、股癣(30例,27.3%)、手足癣(16例,14.5%)、头癣(9例,8.2%)和甲癣(6例,5.5%),见表1。

二、实验室检查结果

135例疑似皮肤癣菌病患者的样本中,10% KOH压片直接镜检阳性103例(76.3%),采用SDA培养基真菌培养阳性的有110例(81.5%),

真菌培养阳性作为诊断皮肤癣菌病的金标准, 13例(9.6%)患者采用10% KOH压片镜检呈阴性。6例(4.4%)患者直接镜检阳性, 但培养阴性。10% KOH压片镜检结果与真菌培养结果进行比较, 其灵敏度和特异性分别为88.2%和76.0%。

对110株皮肤癣菌进行菌种鉴定, 从菌落形态和镜下形态进行鉴别, 所分离菌株来源于3个菌属, 分别为毛癣菌属、小孢子菌属和表皮癣菌属。在体癣患者中分离的菌株有红色毛癣菌28株(25.5%)、犬小孢子菌12株(10.1%)、须毛癣菌4株(3.6%)和絮状表皮癣菌5株(4.5%)。股癣、手足癣、头癣、甲癣分离菌株最多的均为红色毛癣菌, 分离株数分别为28株(25.5%)、13株(11.8%)、6株(5.4%)、6株(5.5%)和5株(4.5%), 详见表2。

三、阳性菌株药敏试验结果

4种抗真菌药物中, 克霉唑的敏感性最高(105株、95.5%), 其次为咪康唑(93株、84.5%)和灰黄霉素(51株、46.4%)。氟康唑耐药率达94.5%(104例), 详见表3。

讨 论

目前, 皮肤癣菌病是亚热带国家的一个重大公共卫生问题。虽然皮肤癣菌病在全世界均有发现, 而在发展中国家发病率更高^[11]。皮肤癣菌的快速培养鉴定和药物敏感性试验对于预防和治疗皮肤癣菌病至关重要。

本组皮肤癣菌病患者年龄集中在5~30岁, 可能与这个年龄段的患者社会活动增加, 体力劳动的机会更多造成。患者中学龄儿童最多, 考虑可能由于学龄儿童在教室较聚集, 卫生意识差, 增加了交叉感染的机会。这种现象应引起学校卫生部门的重视, 有必要开展学龄儿童的皮肤癣菌病流行状况调查及防治。本组病例中皮肤癣菌感染常见部位依次为体癣、股癣、手足癣、头癣和甲癣, 本研究人群以体癣(除股癣)最常见。各地报道的皮肤癣菌感染人群特点和感染部位分布差异较大, 国内也有报道认为皮肤癣菌病以股癣或足癣最常见^[12], 可能由于研究人群不同, 以及不同地区的气候和生活条件不同所致。

表1 110例临床皮肤癣菌病患者年龄和性别分布[例(%)]

类型	例数	年龄组(岁)				性别	
		5~15	16~30	31~45	46~65	男	女
体癣(除股癣)	49	29(59.2)	13(26.5)	4(8.2)	3(6.1)	31(63.3)	18(46.2)
股癣	30	4(13.3)	12(40.0)	9(30.0)	5(16.7)	20(28.2)	10(33.3)
手足癣	16	0(0.0)	9(56.2)	5(31.3)	2(12.5)	10(14.1)	6(37.5)
头癣	9	0(0.0)	1(11.1)	6(66.7)	2(22.2)	4(5.6)	5(55.5)
甲癣	6	0(0.0)	1(16.7)	4(66.7)	1(16.7)	6(8.5)	0(0.0)

表2 110株皮肤癣菌病患者临床分离菌株分布[株(%)]

分类	红色毛癣菌	犬小孢子菌	须毛癣菌	絮状表皮癣菌
体癣(除股癣)	28(25.5)	12(10.1)	4(3.6)	5(4.5)
股癣	13(11.8)	5(4.5)	9(8.2)	3(2.7)
手足癣	6(5.4)	4(3.6)	4(3.6)	2(1.8)
头癣	6(5.5)	2(1.8)	0(0.0)	1(0.9)
甲癣	5(4.5)	0(0.0)	1(0.9)	0(0.0)

表3 4种抗真菌药物敏感性试验结果[株(%)]

药物名称及含量	敏感	中介	耐药
克霉唑(50 mg)	105(95.5)	5(4.5)	0(0.0)
咪康唑(10 mg)	93(84.5)	12(10.9)	5(4.5)
灰黄霉素(10 mg)	51(46.4)	0(0.0)	59(53.6)
氟康唑(25 mg)	0(0.0)	6(5.5)	104(94.5)

本组病例中皮肤癣菌分离最多的为红色毛癣菌(52.7%),其次为犬小孢子菌(20.9%)、须毛癣菌(16.4%)和絮状表皮癣菌(10.0%),与其他文献报道一致^[13-15]。真菌分离株的药敏试验结果显示,克霉唑的敏感性最高,其次为咪康唑和灰黄霉素,而氟康唑耐药率达94.5%。故克霉唑和咪康唑可作为本地区皮肤癣菌病的日常经验用药,避免氟康唑用于皮肤癣菌的经验治疗。周春英等^[16]研究显示,大部分念珠菌对氟康唑的敏感性较好,对皮肤癣菌的敏感性较差,与本研究结果相符。

在皮肤癣菌的鉴定方面,虽然10% KOH压片镜检是一种经济快捷的皮肤癣菌病检查方法,但具有一定的局限性,其阳性率低于培养阳性率,与杨晓晶等研究结果一致^[17]。压片镜检结果与真菌培养结果比较,其灵敏度和特异性分别为88.2%和76.0%。综上,10% KOH压片镜检与真菌培养均是诊断皮肤癣菌病的有效手段,前者具有经济简便高效的优势,后者是诊断皮肤癣菌病的金标准^[18-19]。

天门地区处于亚热带地区,气候潮湿,部分地区卫生条件差,皮肤癣菌病在天门地区常见。检索未见既往天门地区皮肤癣菌病的相关研究报道,本研究可以为天门地区皮肤癣菌病的诊疗提供了一定的参考和指导。

参 考 文 献

- [1] Alshawa K, Beretti JL, Lacroix C, et al. Successful identification of clinical dermatophytes and *Neoscytalidium* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. *J Clin Microbiol*,2012,50(7):2277-2281.
- [2] Grumbt M, Monod M, Yamada T, et al. Keratin degradation by dermatophytes relies on cysteine dioxygenase and a sulfite efflux pump[J]. *J Invest Dermatol*,2013,133(6):1550-1555.
- [3] Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide[J]. *Mycoses*,2008,51(4):2-15.
- [4] Ananthanarayan R, Paniker CK. Medical mycology, Chapter 65[M]. *Textbook of Microbiology*; 8th edition. Hyderabad, India: Universities Press Private Limited. 2009:604-607.
- [5] Achterman RR, White TC. Dermatophyte virulence factors: Identifying and analyzing genes that may contribute to chronic or acute skin infections[J]. *Int J Microbiol*,2012,2012:358305.
- [6] Shalaby MF, El-Din AN, El-Hamd MA. Isolation, identification, and in vitro anti-fungal susceptibility testing of dermatophytes from clinical samples at Sohag University Hospital in Egypt[J]. *Electronic Physician*,2016,6(8):2557-2567.
- [7] 徐红, 温海. 临床常见皮肤癣菌的特征和鉴定[J]. *中国真菌学杂志*,2006,1(4):237-240.
- [8] 贾杰. 现代真菌病学[M]. 2版. 郑州: 郑州大学出版社,2001:34.
- [9] 秦启贤, 秦立模, 章强强. 临床真菌学[M]. 上海: 复旦大学出版社,2001:7-9.
- [10] Pakshir K, Bahaedinie L, Rezaei Z, et al. In vitro activity of six antifungal drugs against clinically important dermatophytes[J]. *Jundishapur J Microbiol*,2009,2(4):158-63.
- [11] 杨利红, 赵颖, 严淑贤, 等. 上海新泾社区50岁以上居民足癣患病情况调查[J]. *中国真菌学杂志*,2012,7(2):92-94.
- [12] 吴广侠, 宋连华, 王昌林, 等. 驻疆某部试验场区人员皮肤癣菌病调查及防治对策[J]. *中国皮肤性病学杂志*,2005,19(6):361-362.
- [13] 熊亚, 周村建, 李芹阶, 等. 重庆地区2 135例浅部真菌病患者病原学分析[J]. *临床皮肤科杂志*,2008,37(11):711-713.
- [14] 王有为, 罗才会, 李红霞, 等. 47 766例拟诊皮肤真菌病患者病原菌分离培养结果分析[J]. *中国真菌学杂志*,2016,11(1):37-40.
- [15] Kannan P, Janaki C, Selvi GS. Prevalence of dermatophytes and other fungal agents isolated from clinical samples[J]. *Indian J Med Microbiol*,2006,24(3):212-215.
- [16] 周春英, 郑玮清, 周东, 等. 试管法检测氟康唑和特比萘芬对常见致病性真菌的敏感性观察[J]. *中国麻风皮肤病杂志*,2000,16(2):85-87.
- [17] 杨晓晶, 王跃萍, 汪亚华, 等. 浅部真菌临床标本的真菌学分析[J]. *中国医药导刊*,2008,10(3):371-372.
- [18] 刘丽, 赖维, 龚子鉴, 等. 浅部真菌感染临床诊断与真菌镜检及培养结果的差异性比较[J]. *临床皮肤科杂志*,2009,38(1):12-14.
- [19] 刘会彬, 余进, 李若瑜, 等. 皮肤癣菌培养基和鉴定培养基分离鉴定皮肤癣菌的实验室和临床研究[J]. *临床皮肤科杂志*,2008,37(10):654-656.

(收稿日期: 2016-12-09)

(本文编辑: 孙荣华)

宋江勤, 韩利蓉, 刘雄彪, 等. 110株皮肤癣菌病患者临床分离菌株的药敏试验分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2017,11(6):587-590.