

## 消化道真菌定植与感染的临床研究

李贤见

作者单位:405404 重庆市,开县人民医院检验科

**【摘要】 目的** 调查不同疾病住院患者消化道真菌定植与感染发生率,为真菌感染控制提供实验依据。**方法** 收集我院不同疾病住院患者的粪便标本 2144 份,做革兰氏染色镜检,同时接种真菌分离培养平板并经 API 20C AUX 进行真菌鉴定。**结果** 经涂片镜检检出真菌 624 例,阳性率为 29.10%,其中 13 例查见真菌孢子及菌丝,根据患者临床资料提示其中 10 例为消化道真菌感染所致腹泻,与临床的符合率为 76.92%,余下 611 例为仅见真菌孢子,未见菌丝。真菌培养阳性 700 例,阳性率为 32.65%,其中有 112 例分离到 2 种或以上真菌,占真菌分离培养阳性总数的 16.00%。分离真菌主要为白色念珠菌 516 例(73.71%),其次为光滑念珠菌 48 例(6.86%)。真菌分离率较高的疾病有恶性肿瘤(18.14%)、慢性呼吸系统疾病(17.00%)、慢性心脑血管疾病(14.57%)。随着年龄的增高,真菌培养的阳性率有增高趋势。**结论** 涂片镜检与真菌培养联合检测有助于提高消化道真菌感染检出率。

**【关键词】** 消化道;真菌;定植;感染

### The clinical research of gastrointestinal fungal colonization and infection

LI Xian-jian. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Kai County, Chongqing 405404, China

**【Abstract】 Objective** To survey of the incidence rate of gastrointestinal fungal colonization and infection in inpatients with different diseases and provide experimental evidence for fungal infection controlling. **Methods** 2144 stool samples of inpatients with different disease were collected to do Gram staining and microscopic examination. At the same time, fungal identification were carried out by API 20C AUX. **Results** There were 624 cases (29.10%) fungi were checked out from 2144 stool specimens by microscopic examination which including 13 cases found fungal spores and hyphae. According to the clinical data there were 10 cases diarrhea caused by digestive tract fungi and the clinical coincidence was 76.92%. Only fungal spores were found in the remaining 611 cases fungi. There were 700 cases(32.65%) were positive by fungal culture, of which 112 cases with two or more fungi were isolated and cultured accounted for 16.00%. The isolated fungi was mainly *Candida albicans* accounted 516 cases(73.71%) and secondly was *Candida glabrata* accounted 48 cases (6.86%). The isolating rate of fungi from malignant tumor (18.14%), chronic respiratory disease (17.00%) and chronic cardiovascular and cerebrovascular diseases(14.57%) were higher than the other diseases. The positive rate of fungi culture was raised up along with the age growing. **Conclusion** The unite detecting of microscopic examination and fungi culture can improve the detection rate of digestive tract fungal infection.

**【Key words】** Digestive tract; Fungi; Colonization; Infection

真菌是广泛分布于自然界中的一大类真核细胞微生物,其种类繁多,而且有些真菌还可以与人体共栖,维持微生态平衡。近年来随着高效广谱抗生素、糖皮质激素、细胞毒类药物与免疫抑制剂的使用以及侵袭性操作等,导致由白色假丝酵母菌、隐球菌及曲霉菌等条件致病菌引起的真菌感染逐渐增加,已成为医院感染死亡的主要原因之一。

患者在疾病治疗过程中,因多数抗菌药物都可引起消化道正常定植菌群微生态紊乱而导致真菌感染,其发生率呈逐年增高趋势<sup>[1]</sup>。因此,对消化道真菌

感染的预防、早期诊断和有效治疗的重要性也显得尤为重要。腹泻是消化道真菌感染的主要临床表现,但引起腹泻的病因很多,即使感染性腹泻也涉及多种不同病原体。因此,仅从临床症状及体征很难确诊消化道真菌感染,粪便常规检查是目前诊断消化道真菌感染的金标准。实验室检查中应用最为广泛的仍是粪便涂片检查和真菌培养,本文研究拟通过对消化道标本的真菌培养与涂片镜检结果的比较,结合患者临床资料分析其消化道真菌定植与感染的相关性,并为消化道真菌感染控制提供实验依据。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 收集 2144 例我院住院患者的粪便标本。患者男 1572 例, 年龄 3~82 岁; 女 572 例, 年龄 2~86 岁。患者疾病包括: 恶性肿瘤、慢性心脑血管病、胃肠道疾病、血液病、慢性呼吸系统疾病、慢性肾脏病、糖尿病、器官移植和儿童腹泻等。

**1.2 仪器与试剂** 革兰氏染色试剂为上海微晶生物试剂有限公司产品, 沙保氏斜面培养基为上海艾研生物科技有限公司产品, 实验标准菌株为白色假丝酵母菌 ATCC 90028 购于中国药品生物制品鉴定中心。日本 Olympus BX 40 生物显微镜, 酵母菌鉴定试剂条 API 20C AUX 为法国生物梅里埃公司产品, GNP-9270 型隔水式恒温培养箱为上海跃进医疗器械厂产品。

**1.3 标本采集** 采集标本时用干净竹签选取含有黏液、脓血等病变成分的粪便。外观无异常的粪便须从表面、深处及粪端多处取材, 其量至少为大拇指末段大小(约 5 g)。将留取的样本置入封闭的无菌容器内送检。

**1.4 革兰氏染色镜检** 取粪便标本中明显的部分均匀涂抹于玻片上, 厚度以能在光线下透过看见字为宜, 晾干或置于酒精灯上微微加热固定。革兰染色后进行镜检, 真菌孢子及菌丝呈紫色, 为革兰阳性菌。

**1.5 培养及鉴定** 用接种环挑取疑似病变的粪便标本于沙保氏斜面培养基上连续划线涂抹, 待表面干燥后, 置 35℃ 培养箱内培养 48 h, 挑取沙保氏斜面培养基上的真菌菌落, 用盐水涂片并做革兰氏染色后于镜下观察, 确定为真菌的菌落经纯化后进行真菌鉴定, 鉴定采用酵母菌生化鉴定试剂条 API 20C AUX, 严格按说明书进行操作。

## 2 结果

**2.1 临床送检标本真菌涂片镜检结果** 对临床送检的 2144 例患者的粪便标本进行真菌涂片染色镜检, 真菌镜检阳性 624 例, 阳性率为 29.10%。其中 13 例查见真菌孢子及菌丝, 根据患者临床资料提示有 10 例为消化道真菌感染所致腹泻, 与临床的符合率为 76.92%; 余下 611 例为仅见真菌孢子、未见菌丝。真菌涂片镜检结果见表 1。

**2.2 临床送检标本真菌培养结果** 对临床送检的 2144 例患者的粪便标本经真菌培养及鉴定, 真菌培养阳性 700 例, 阳性率为 32.65%, 其中有 112 例分离到 2 种或以上真菌, 占真菌分离培养阳性总数的 16.00%。分离真菌主要为白色念珠菌 516 例, 占培养阳性的 73.71%; 光滑念珠菌 48 例, 占培养阳性的 6.86%; 热带念珠菌 41 例, 占培养阳性的 5.86%; 克柔念珠菌 37 例, 占培养阳性的 5.29%; 其他 58 例(其中 1 例为曲霉菌), 占培养阳性的 8.29%。真菌分离率较高的疾病有恶性肿瘤(18.14%)、慢性呼吸系统疾病(17.00%)、慢性心血管疾病(14.57%)等, 真菌分离率较低的为器官移植、儿科住院患者。700 例真菌培养阳性的鉴定结果见表 2。

**2.3 不同年龄段患者粪便标本中分离真菌的结果** 在粪便真菌培养阳性的 700 例患者中, 将患者按年龄分为 0~14 岁, 15~24 岁, 25~44 岁, 45~64 岁, ≥ 65 岁, 5 个年龄段, 其粪便标本中分离真菌阳性率逐渐增高。不同年龄段患者粪便标本中分离真菌结果见表 3。

## 3 讨论

真菌广泛存在于自然界, 已发现的几千种真菌中对人类致病的不到 100 种, 而感染消化道者只占其中极少数。真菌作为条件致病菌常存在于人体皮

表 1 2144 份临床送检粪便标本真菌涂片镜检结果[n(%)]

疾病	例数	阴性	阳性	孢子+菌丝	真菌感染性腹泻
恶性肿瘤	327(15.25)	216(10.07)	111(5.18)	2(0.09)	4(0.18)
慢性心脑血管病	287(13.39)	196(9.14)	91(4.24)	2(0.09)	0(0.00)
胃肠道疾病	158(7.37)	105(4.90)	53(2.47)	0(0.00)	0(0.00)
血液病	173(8.07)	118(5.50)	55(2.57)	1(0.05)	1(0.05)
慢性呼吸系统疾病	315(14.69)	208(9.70)	107(4.99)	2(0.09)	0(0.00)
慢性肾脏病	249(11.61)	178(8.30)	71(3.31)	2(0.09)	2(0.09)
糖尿病	227(10.59)	159(7.42)	68(3.17)	3(0.14)	2(0.09)
器官移植	138(6.44)	126(5.88)	12(0.56)	0(0.00)	0(0.00)
儿童腹泻	133(6.20)	125(5.83)	8(0.37)	1(0.05)	1(0.05)
其他	137(6.39)	89(4.15)	48(2.24)	0(0.00)	0(0.00)
合计	2144(100.00)	1520(70.90)	624(29.10)	13(0.61)	10(0.47)

表 2 700 例真菌培养阳性结果[n(%)]

疾病	例数	白色念珠菌	光滑念珠菌	热带念珠菌	克柔念珠菌	其他
恶性肿瘤	127(18.14)	95(13.57)	7(1.00)	6(0.86)	5(0.71)	14(2.00)
慢性心脑血管病	102(14.57)	86(12.28)	6(0.86)	5(0.71)	4(0.57)	1(0.14)
胃肠道疾病	58(8.29)	41(5.95)	4(0.57)	6(0.86)	3(0.43)	4(0.57)
血液病	64(9.14)	48(6.86)	5(0.71)	4(0.57)	2(0.29)	5(0.71)
慢性呼吸系统疾病	119(17.00)	83(11.86)	6(0.86)	8(1.14)	7(1.00)	15(2.14)
慢性肾脏病	80(11.43)	60(8.57)	7(1.00)	5(0.71)	5(0.71)	3(0.43)
糖尿病	75(10.71)	52(7.43)	7(1.00)	4(0.57)	5(0.71)	7(1.00)
器官移植	13(1.86)	7(1.00)	2(0.29)	1(0.14)	2(0.29)	1(0.14)
儿童腹泻	8(1.14)	6(0.86)	1(0.14)	0(0.00)	1(0.14)	0(0.00)
其他	54(7.71)	38(5.43)	3(0.43)	2(0.29)	3(0.43)	8(1.14)
合计	700(100.00)	516(73.71)	48(6.86)	41(5.86)	37(5.29)	58(8.29)

表 3 不同年龄段患者粪便标本中分离真菌结果

年龄	例数	阳性例数	阳性率(%)
0~14岁	152	10	6.58
15~24岁	116	16	13.79
25~44岁	431	91	21.11
45~64岁	574	181	31.53
≥65岁	871	402	46.15
合计	2144	700	32.65

肤表面及与外界相通的腔道内,当机体抵抗力减弱或正常机体微生态的拮抗作用失衡时可引起真菌感染。消化道由于自身的特殊环境,可有真菌存在,但通常情况下并不致病。

真菌定植与感染的诊断标准参照中国预防医学科学院编制的《医院感染监测指南》。真菌定植是指在人体与外界相通的部位,如消化道、上呼吸道、泌尿生殖道等部位有大量呈孢子状态生长的真菌涂片或真菌培养阳性而并未损伤局部组织或出现症状;真菌感染是指有临床表现并有相应部位的真菌检查阳性,且镜检发现菌丝。真菌由寄生部位直接侵入组织出现的感染为内源性感染,亦可通过各种导管或穿刺带入深部组织或血液循环而发生外源性感染。

本文研究对 2144 例临床送检粪便标本进行真菌培养及鉴定,结果显示消化道中真菌定植率较高,在医院的住院患者中,其真菌定植率接近 30%,其中 2 种或以上真菌定植也较多见,但消化道真菌感染率较低,约为 0.5%左右,表明消化道真菌定植较常见,但真菌感染相对较少。定植真菌以白色念珠菌最多见,达到 70%以上,其次为光滑念珠菌、热带念珠菌和克柔念珠菌。有研究<sup>[2]</sup>提示念珠菌可穿透即使是正常致密的肠黏膜上皮,但是否发展至感染并出现临床症状则取决于病原体的数量、毒力及宿主的

抵抗力。

消化道真菌定植受多种因素的影响,本文实验结果显示不同年龄段机体消化道内真菌定植差异较大,患者年龄越大,真菌定植率越高,即儿童与青少年机体消化道内真菌定植相对较低,中老年患者机体消化道内真菌定植较高,可能与机体不同年龄阶段消化道内微生态的构成不同相关。真菌定植老年人明显高于中青年人,可能与老年人机体防御机能减退,原发病或基础病较多,加之老年人肠道菌群老化,有些生理性细菌如双歧杆菌、乳酸杆菌等均有不同程度的减少,使肠道菌群的稳定性下降,使用抗菌药物后,肠道真菌感染机会相对增多。并且由于消化道真菌定植较为普遍,大部分感染之前就有定植,所以消化道发生真菌感染的老年人较中青年人会明显增多<sup>[3]</sup>。

另外,不同疾病患者其体内消化道真菌定植有一定差异,本文实验结果显示恶性肿瘤、慢性呼吸系统疾病、慢性心脑血管疾病患者的消化道内真菌定植阳性率较高,可能与这些患者通常年龄偏大、经常使用抗生素、激素及细胞毒性等药物有关,尤其是长期使用抗生素时可使肠道正常菌群被破坏、生物屏障作用消失,致使栖息于肠道的念珠菌大量增殖,损害局部的黏膜导致炎症发生,同时病原菌还可通过受损的肠壁进入腹腔或血管引起其他部位的严重感染。器官移植与儿科住院患者的消化道内真菌定植相对较低,分别为 1.86% 和 1.14%。推测由于儿科住院患者年龄较小,器官移植患者因要特别预防真菌感染,所以使用抗真菌药物较多见,从而抑制了真菌在机体内的定植。

本文研究对 2144 例临床送检粪便标本进行真菌涂片镜检,结合部分真菌涂片镜检 (下接第 81 页)

- predicts outcome of gastric cancer patients receiving S-1 postoperatively. *Gastric Cancer*, 2010, 13:231.
- 3 Robert M. Hoffman: Three-dimensional sponge-gel matrix histoculture of human tumors: methods and applications. *Cell Biology, A Laboratory Handbook*, 1994, 2:367-389.
- 4 Shin wha lee, Yong-man kim, Moon-bo kim, et al. Chemosensitivity of uterine cervical cancer demonstrated by the histoculture drug response assay. *Tohoku J Exp Med*, 2009, 219:277-282.
- 5 Yuan Shu-Qiang, Zhou Zhi-wei, Liang Yong-Ju, et al. Correlation of chemosensitivity measured by histoculture drug response assay to expression of multidrug resistance genes and proteins in gastric cancer. *Chinese Journal of Cancer*, 2009, 28:337-343.
- 6 高春芳, 主编. 实验室诊断新技术与临床. 北京:人民军医出版社, 2010:117-118.
- 7 Salmon SE, Hamburger AW, Soehnlen B, et al. Quantitation of differential sensitivity of human-tumor stem cells to anticancer drugs. *N Engl J MED*, 1978, 298:1321-1327.
- 8 鄂征, 主编. 组织培养和分子细胞学技术. 第 2 版. 北京:北京出版社, 1994, 135.
- 9 Lawler EM, Miller FR, Heppner GH. Significance of three-dimensional growth patterns of mammary tissues in collagen gels. *In Vitro*, 1983, 19:600-610.
- 10 Miller BE, Miller FR, Heppner GH. Assessing tumor drug sensitivity by a new in vitro assay which preserves tumour heterogeneity and subpopulation interactions. *J Cell Physiol Suppl*, 1984, 3:105-116.
- 11 Furukawa T, Kubota T, Hoffman RM. Clinical applications of histoculture response assay. *Clin Cancer Res*, 1997, 1:305-311.

(收稿日期:2011-04-15)

(本文编辑:杨军)

(上接第 93 页)

阳性患者的病历进行分析,结果显示当涂片查见真菌孢子及菌丝时,结合患者相关临床资料提示超过 70% 患者为真菌感染。由于查见真菌孢子及菌丝时,往往提示真菌在机体内生长繁殖较快,病原体在体内大量生长繁殖是其致病性的一个重要原因,当消化道内出现较多真菌孢子及菌丝时可致消化功能紊乱并出现相关临床体征,因此大便涂片真菌镜检有助于协助临床诊断真菌感染。涂片仅查见真菌孢子未查见菌丝的患者,通常为真菌定植,定植真菌往往生长繁殖较慢、数量有限并较少出现菌丝,患者通常不表现出真菌感染相关的临床体征。

本文研究中真菌培养及鉴定结果显示白色念珠菌占培养阳性的比例为最高,超过 70%,表明白色念珠菌是目前真菌定植最常见、数量最多的菌种,其次是光滑念珠菌、热带念珠菌及克柔念珠菌。曲霉菌作为广泛分布于环境中的一种真菌,对正常人体不致病,但对部分特殊人群可作为条件致病菌并导致严重后果<sup>[4]</sup>。本文研究中曲霉菌阳性的 1 例是来自于血液科的慢性粒细胞白血病患者,由于患者长期使用广谱抗生素和细胞毒性药物,致机体免疫力明显降低而容易受到曲霉菌侵袭,随着这部分特殊人群的逐渐增多,可能导致曲霉菌所致感染呈上升趋势。

消化道真菌感染主要因为定植真菌在机体抵抗力下降或在基础性疾病作用下促使真菌大量增殖而导致肠道功能紊乱,随着医疗水平的提高,一些慢性

病生存时间延长以及器官移植治疗的开展,皮质激素和免疫抑制剂的长期应用,使肠道真菌感染的发病率不断增加。真菌涂片镜检操作简便、快速,检测结果与临床符合率较高,直接涂片检查对于肠道真菌感染的诊断具有重要意义。真菌培养及鉴定可确定真菌的种属,对致病性真菌来说,培养阳性就可确诊,但条件致病性真菌则不同,因正常人体内可有部分真菌的存在,因此,一般的粪便培养对真菌诊断作用有限。其次真菌培养及鉴定操作繁琐、耗时长,真菌培养阳性也不能确定是真菌定植或感染。因此,真菌涂片镜检与培养鉴定各有其优缺点,但涂片镜检对临床上快速确定真菌感染具有重要意义。

#### 4 参考文献

- 1 Grossman RF, Rotschafer JC, Tan JS. Antimicrobial treatment of lower respiratory tract infections in the hospital setting. *Am J Med*, 2005, 118:29S-38S.
- 2 MacFie J, O'Boyle C, Mitchell CJ, et al. Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity. *Cut*, 1999, 45:223-228.
- 3 房芳,梁冰. 老年人抗生素相关性肠道菌群失调. *中华医院感染学杂志*, 1998, 3:185-186.
- 4 唐晓丹,吴菊芳. 器官移植受者曲霉菌感染诊治进展. *中国感染与化疗杂志*, 2007, 7:63-67.

(收稿日期:2011-03-12)

(本文编辑:李震)