

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.13.029

# 张家口地区甲癣病原真菌分布及药物敏感性试验研究\*

吴远慧,冯冬梅<sup>△</sup>,王世宁,陈雷刚,杨晓静

(河北北方学院附属第一医院,河北 张家口 075000)

**摘要:**目的 为张家口地区甲癣病原真菌的临床诊疗提供参考。方法 采用描述性研究,选取医院2019年3月1日至2021年3月31日收治的甲癣患者512例,分析张家口地区甲癣病原真菌的培养与鉴定及药物敏感性试验(简称药敏试验)结果。结果 共有甲癣患者366例,检出病原菌366株,其中以红色毛癣菌(19.95%)、犬小孢子菌(21.86%)、念珠菌(11.48%)及絮状表皮癣菌(10.66%)为主。犬小孢子菌(50例)、铁锈色小孢子菌(10例)以男性为主,青霉菌(4例)、念珠菌(32例)以女性为主;主要以31~40岁(138例)的感染人群为主;培养阳性菌群患者对克霉唑、咪康唑的耐药率分别为25.96%和21.86%,对两性霉素和特比萘芬的耐药率分别为12.57%和3.28%。结论 张家口地区甲癣病原真菌以犬小孢子菌、红色毛癣菌为主,对两性霉素、特比萘芬的耐药性较低。

**关键词:**甲癣;病原真菌;药物敏感性试验;张家口

中图分类号:R95;R978.5;R965.3

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)13-0117-04

## Distribution and Drug Susceptibility Test of Pathogenic Fungi of Onychomycosis in Zhangjiakou Area

WU Yuanhui, FENG Dongmei, WANG Shining, CHEN Leigang, YANG Xiaojing

(The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei, China 075000)

**Abstract: Objective** To provide a reference for clinical diagnosis and treatment of pathogenic fungi of onychomycosis in Zhangjiakou area. **Methods** A descriptive study was adopted, and 512 patients with onychomycosis admitted to the hospital from March 1, 2019 to March 31, 2021 were selected to analyze results of the culture, identification and drug susceptibility test of pathogenic fungi of onychomycosis in Zhangjiakou area. **Results** There were 366 patients infected with onychomycosis, and 366 strains of pathogenic fungi were identified, which were mainly *Trichophyton rubrum* (19.95%), *Microsporum canis* (21.86%), *Candida* species (11.48%) and *Epidermophyton floccosum* (10.66%). The patients infected with *Microsporum canis* (50 cases) and *Microsporum ferrugineum* (10 cases) were mainly male, while the patients infected with *Penicillium* species (4 cases) and *Candida* species (32 cases) were mainly female. The patients' age was mainly in the range of 31-40 years old (138 cases). The resistance rates of patients infected with positive pathogenic fungi to clotrimazole and miconazole were 25.96% and 21.86%, respectively, while the resistance rates to amphotericin and terbinafine were 12.57% and 3.28%, respectively. **Conclusion** The pathogenic fungi of onychomycosis in Zhangjiakou area are mainly *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum*, which have low resistance rates to amphotericin and terbinafine.

**Key words:** onychomycosis; pathogenic fungi; drug susceptibility test; Zhangjiakou

甲癣是临床较常见的皮肤科浅表真菌疾病,致病菌主要包括皮肤癣菌、酵母菌、霉菌等<sup>[1]</sup>,疾病进展缓慢,病程反复<sup>[2]</sup>。随着疾病的进展,可累及患者的甲板及甲下组织,给患者的生理、心理造成一定影响。有研究报道,甲癣地域性差异显著<sup>[3]</sup>。及时、有效分析甲癣病原真菌的分布及药物敏感性,对于指导临床用药具有显著意义。通常,温暖潮湿的环境适宜真菌生长<sup>[4]</sup>。但张家口地区的气候寒冷干燥,仅夏季为浅部真菌病高发季节,真菌性皮肤病的菌种分布可能与气候湿热地区有所不同,且国内一直缺乏张家口地区浅部真菌病病原菌检测及药物敏感性试验(简称药敏试验)分析相关的

研究资料<sup>[5]</sup>。为此,本研究中分析了张家口地区甲癣病原真菌的培养鉴定及药敏试验结果,为临床治疗提供科学依据。现报道如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

**纳入标准:**确诊为甲癣;符合浅部真菌病(手足癣、体癣、股癣、甲真菌病)的临床表现,实验性真菌镜检阳性。所有患者在张家口地区的分布性较均一。

**排除标准:**合并糖尿病、恶性肿瘤等慢性消耗性疾病;经过抗真菌治疗。

**病例选择:**采用描述性研究,选取我院2019年3月1日

\*基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目[20200539]。

第一作者:吴远慧,硕士研究生,主治医师,研究方向为皮肤病理学与免疫学、皮肤真菌学,(电子信箱)gss15782@163.com。

<sup>△</sup>通信作者:冯冬梅,硕士研究生,主任医师,研究方向为色素性皮肤病、红斑鳞屑性皮肤病、皮肤真菌的诊治,(电子信箱)zjkfdm123@sohu.com。

至2021年3月31日诊治的甲癣患者512例。其中,男255例,女257例;年龄10~66岁,平均(33.26±2.59)岁;体质量指数(24.55±2.65)kg/m<sup>2</sup>;病程(3.12±1.02)年;病灶部位的临床症状主要包括甲板内型、白色表浅型、全甲毁损型、近端甲下型、远端侧位甲下型等。

### 1.2 研究方法

甲癣病原真菌培养与鉴定:取患者的皮屑,分别进行直接镜检和真菌培养。直接镜检采取氢氧化钾玻片法,以查到菌丝结构为阳性结果。传统的真菌培养及鉴定方法为,取标本接种于含5×10<sup>-4</sup>g/L氯霉素的沙保弱琼脂培养基斜面,置25~27℃恒温培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)内培养,观察菌落生长情况,第4周末生长者视为培养阴性。培养阳性者应用马铃薯琼脂培养基、玉米琼脂培养基、察氏培养基及尿素琼脂培养基行真菌分离培养与鉴定。根据菌落的大小、形态、生长速度、色素和质地,以及镜下菌丝、孢子的形态特征鉴定菌种。必要时做玻片小培养,结合镜下菌丝、孢子的形态和位置进行鉴定。在超净台上挑取和转种真菌,显微镜下观察,用棉蓝对挑取的菌落染色。记录菌种鉴定结果。

采用新兴的真菌核糖体DNA(rDNA)基因间隔序列(ITS)测定技术进一步确定致病真菌类型。1)真菌DNA的提取:分别收集培养于沙氏葡萄糖琼脂斜面培养基上的真菌组织约100mg,按照DNeasy Plant Mini Kit说明书提取菌株DNA,并利用E. Z. N. A. Micro Elute DNA CleanUp Kit进行基因组DNA纯化。所有操作按试剂盒说明书进行,测量其浓度及纯度。2)聚合酶链式反应-高分辨熔解曲线分析技术(PCR-HRM)分型鉴定:于生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,得出菌种鉴定结果,并与传统的真菌培养与鉴定方法进行比较,判断结果是否一致。

药敏试验:采用抗真菌药物纸片(杭州微生物试剂有限公司,批号为20181223)进行药敏试验,选取张家口地区常用药物克霉唑、咪康唑、氟康唑、灰黄霉素、两性霉素、特比萘芬等。分别挑取菌落于1mL蒸馏水中,以获得菌丝和分生孢子的混合菌液,沉淀30min;均匀涂布Mueller Hinton(MH)琼脂(英国Oxoid公司,批号为20280930)平板;待平板干燥,将其置28℃温度下培养5~10d。当平板生长时,测定抑菌环,得到药敏试验结果。分别对上述药物的耐药情况进行比较。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0统计学软件分析。计数资料以率(%)表示,行 $\chi^2$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 真菌培养与鉴定结果

经过菌群培养与鉴定,共培养阳性菌群患者366例,检出病原菌366株,主要检出红色毛癣菌、犬小孢子菌、

念珠菌及絮状表皮癣菌。详见表1。

表1 真菌培养与鉴定结果(n=366)

Tab.1 Results of fungal culture and identification (n=366)

真菌	例数	检出率(%)	真菌	例数	检出率(%)
红色毛癣菌	73	19.95	铁锈色小孢子菌	14	3.83
须癣毛癣菌	7	1.91	玫瑰色毛癣菌	11	3.01
犬小孢子菌	80	21.86	马拉色菌	26	7.10
紫色毛癣菌	18	4.92	念珠菌	42	11.48
青霉菌	5	1.37	许兰黄癣菌	18	4.92
暗色丝孢菌	11	3.01	絮状表皮癣菌	39	10.66
石膏样小孢子菌	11	3.01	断发毛癣菌	11	3.01

### 2.2 患者性别分布

犬小孢子菌、铁锈色小孢子菌以男性患者为主,青霉菌、念珠菌以女性患者为主。详见表2。

表2 真菌培养与鉴定结果患者性别分布(例)

Tab.2 Results of fungal culture and identification of patients with different genders (case)

真菌	男 女		真菌	男 女	
	男	女		男	女
红色毛癣菌	35	38	铁锈色小孢子菌	10	4
须癣毛癣菌	4	3	玫瑰色毛癣菌	5	6
犬小孢子菌	50	30	马拉色菌	15	11
紫色毛癣菌	9	9	念珠菌	10	32
青霉菌	1	4	许兰黄癣菌	9	9
暗色丝孢菌	5	6	絮状表皮癣菌	20	19
石膏样小孢子菌	6	5	断发毛癣菌	5	6

### 2.3 患者年龄分布

患者主要以31~40岁的感染人群为主。详见表3。

表3 真菌培养与鉴定结果患者年龄分布(例)

Tab.3 Results of fungal culture and identification of patients with different ages (case)

真菌	10~20岁	21~30岁	31~40岁	41~50岁	51~66岁
红色毛癣菌	10	15	25	11	12
须癣毛癣菌	1	1	3	1	1
犬小孢子菌	20	11	29	10	10
紫色毛癣菌	2	5	9	1	1
青霉菌	0	0	4	1	0
暗色丝孢菌	2	0	5	2	2
石膏样小孢子菌	1	2	0	5	3
铁锈色小孢子菌	1	2	5	2	4
玫瑰色毛癣菌	2	2	6	1	0
马拉色菌	5	6	12	1	2
念珠菌	11	12	15	1	3
许兰黄癣菌	1	0	9	5	3
絮状表皮癣菌	1	2	11	12	13
断发毛癣菌	2	1	5	1	2

## 2.4 阳性菌群患者药敏试验结果比较

药敏试验结果分析显示,阳性菌群患者对克霉唑及咪康唑的耐药率均在20%以上。详见表4。

表4 药敏试验结果(n=366)

Tab. 4 Results of drug susceptibility test (n=366)

药品名称	敏感		中介		耐药	
	例数	敏感率(%)	例数	中介率(%)	例数	耐药率(%)
克霉唑	259	70.77	12	3.28	95	25.96
咪康唑	271	74.04	15	4.10	80	21.86
氟康唑	288	78.69	17	4.64	61	16.67
灰黄霉素	299	81.69	18	4.92	49	13.39
两性霉素	301	82.24	19	5.19	46	12.57
特比萘芬	332	90.71	22	6.01	12	3.28

## 3 讨论

流行病学调查显示,由甲真菌病造成的指甲疾病的发病率为15%~40%<sup>[6]</sup>。英国的甲真菌的发病率为3%,疾病的形成码显示,30%的患者多与足癣疾病显著相关<sup>[7]</sup>。老年人及男性患者的发病率显著高于其他人群<sup>[8]</sup>。同时,甲真菌病存在显著地域性及种族性差异<sup>[9]</sup>。英国一项调查显示,85%~90%的甲真菌病是由皮肤癣菌造成,而其他疾病则是由非皮肤癣菌疾病造成<sup>[10]</sup>。既往研究显示,造成甲真菌病的致病菌主要包括红色毛癣菌及须癣毛癣菌,而这类致病菌的感染多见于亲动物性的皮肤感染。而遗传学研究认为,甲真菌病的易感性具有显著遗传学基础,须癣毛癣菌及红色毛癣菌具有显著的家庭遗传性<sup>[11]</sup>。传统的真菌鉴定方法为真菌培养后根据菌种的显微镜下形态进行鉴别,以其形态学、细胞学、生理学和生态学的特征为依据,简单、易行、直观,不需要昂贵的仪器,但在基层医疗机构仍未普及<sup>[12]</sup>,导致真菌性皮肤病的诊断主要是通过临床经验,常被误诊,且缺乏药敏试验,导致临床用药混乱,治愈率低。

本研究中,共培养阳性菌群患者366例,其阳性检出率在70%以上,与既往研究结果<sup>[13]</sup>一致。而在对阳性菌群患者的研究中,主要以红色毛癣菌、犬小孢子菌、念珠菌及絮状表皮癣菌为主,提示张家口地区的真菌感染主要以上述病原微生物为主。张蕊娜等<sup>[14]</sup>的研究显示,不管是老年人群,还是非老年人群,甲真菌病患者的主要致病菌均主要为红色毛癣菌。郑文爱等<sup>[15]</sup>对351株甲真菌病病原菌进行了体外药敏试验,结果红色毛癣菌和指(趾)间毛癣菌对特比萘芬的最低抑菌浓度几何均数最低。本研究中,张家口地区对两性霉素及特比萘芬的耐药情况显著降低,提示临床治疗首选两性霉素和特比萘芬,与郑文爱等<sup>[15]</sup>、杨虹霞<sup>[16]</sup>的研究结果较一致。不同性别、年龄患者的致病菌的感染情况呈显著差异,提示在治疗中应根据患者的年龄、性别调整治疗方式。

临床皮肤科门诊真菌性皮肤病病种多,病情复杂,并可能同时合并细菌或继发其他微生物感染,临床用药复杂多样,多有耐药现象,为治疗真菌性皮肤病带来了难度,易延误患者的治疗,导致病情反复不愈<sup>[17]</sup>。尤其是基层医疗机构缺乏真菌镜检、培养及鉴定技术,且传统的真菌鉴定方法在一定程度上受人为因素的干扰较大。本研究中,通过对患者的致病菌的核酸检测,并进一步核对致病微生物,提高了本研究结果的准确性<sup>[18]</sup>。

综上所述,张家口地区甲癣病原真菌以犬小孢子菌及红色毛癣菌为主,对两性霉素、特比萘芬的耐药性较低。临床需加强甲癣病原菌的检测与鉴别,选择治疗药物时可选择耐药性较低者,提高治疗效率。

## 参考文献

- [1] 鲁丽霞,陈明亮,李芳芳,等. 常见甲病的皮肤镜表现[J]. 中华皮肤科杂志,2020,53(6):479-483.
- [2] 熊娟娟,毕健平,孙德祥,等. 甲真菌病和甲银屑病皮肤镜特征分析[J]. 中华皮肤科杂志,2019,52(2):106-110.
- [3] 杨敏,刘琬,高小曼,等. 老年人2型糖尿病合并皮肤疾病的临床分析[J]. 中华老年医学杂志,2017,36(9):955-958.
- [4] 竺佳,黄巧玲,胡玉平,等. 特比萘芬仿制药与原研药治疗甲真菌病间接比较的Meta分析[J]. 临床皮肤科杂志,2020,49(4):228-233.
- [5] 孙振燕,张思平,章婧,等. 甲真菌病皮肤镜表现及模式分析[J]. 中华皮肤科杂志,2018,51(11):812-814.
- [6] 丁徽,郑瑀心,陈挺,等. 误诊为甲癣的甲下骨疣1例[J]. 中国皮肤性病学杂志,2018,32(11):1346-1347.
- [7] 季刚. 特比萘芬联合半导体激光治疗甲癣102例疗效观察[J]. 第三军医大学学报,2016,38(14):1694-1697.
- [8] 董辰,孙碧君,杨琳,等. 椎体软骨发育不良伴免疫调节异常1例基因诊断及文献复习[J]. 临床儿科杂志,2016,34(8):584-588.
- [9] 毕绮丽. 辛伐他汀与伊曲康唑联用致横纹肌溶解并继发心肌损害1例[J]. 中国医院药学杂志,2019,39(1):107-108.
- [10] 杨易,王煊斌,郑慕雄. 头皮针套管治疗嵌甲64例疗效观察[J]. 临床皮肤科杂志,2020,49(5):311-312.
- [11] 朱思虹,董励耘,毛叶红,等. 须癣毛癣菌致新生儿脓癣1例[J]. 临床皮肤科杂志,2016,45(8):603.
- [12] ELEWSKI BE, WENDY C, TINA L. Is Severity of Disease a Prognostic Factor for Cure Following Treatment of Onychomycosis?[J]. J Drugs Dermatol, 2018, 17(2): 175-178.
- [13] GUPTA AK, CARVIEL J, SHEAR NH. Onychomycosis and Chronic Fungal Disease: Exploiting a Commensal Disguise to Stage a Covert Invasion[J]. J Cutan Med Surg, 2018, 22(3): 318-322.
- [14] 张蕊娜,王莉,钟珊,等. 老年人甲真菌病临床及致病菌特点分析[J]. 临床和实验医学杂志,2019,18(8):3.