

# 科玛嘉显色培养基快速鉴定酵母菌 2 485 株

## Application of CHROMagar medium in rapid identification of yeasts: a report of 2 485 strains

沈洁, 吴建华, 王英, 顾军\* (第二军医大学长海医院皮肤科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:**评价科玛嘉念珠菌显色培养基在酵母菌临床鉴定中的应用价值。**方法:**临床标本先用沙堡培养基培养,分离出的酵母菌再用科玛嘉念珠菌显色培养基鉴定。**结果:**8 525 份临床标本培养阳性 2 687 例,阳性率为 31.52%,其中酵母菌 2 485 株,通过科玛嘉显色培养基鉴定到种的有 2 188 株,占 88.11%。**结论:**科玛嘉念珠菌显色培养基能快速、有效地鉴定临床常见的 4 种酵母菌。

**[关键词]** 科玛嘉培养基;鉴定;酵母菌;念珠菌属

**[中图分类号]** R 379 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2007)03-0337-02

近年来院内深部真菌感染逐渐增多,在院内感染中占重要地位。因此,致病菌种的鉴定有助于临床医生及早进行抗真菌治疗,对于疾病的预后,甚至挽救患者的生命至关重要。目前常用的真菌诊断方法包括直接涂片镜检、分离培养、组织病理学检查、免疫学检查及分子生物学检查等。临床上目前主要通过直接镜检和培养,而培养有较多方法,如传统培养基培养及生理生化鉴定、科玛嘉显色培养基(CHROMagar)培养法等。目前临床上应用较广泛的是通过科玛嘉显色培养基培养鉴定真菌。本研究通过对长海医院 2004 年 1 月至 2005 年 12 月真菌送检标本通过科玛嘉显色培养基培养鉴定的情况做一调查分析,期望对院内深部真菌感染的诊断有更进一步的认识和提高。

### 1 材料和方法

1.1 标本来源 标本选择本院 2004 年 1 月至 2005 年 12 月间临床送检的住院患者 8 525 份标本,包括痰、粪、尿、血、胸腹水、脑脊液及各种分泌物拭子。

1.2 培养基 科玛嘉念珠菌显色培养基购自博赛科技有限公司,培养基的主要组成:蛋白胨 10 g/L、葡萄糖 20 g/L、琼脂 15 g/L 和氯霉素 0.5 g/L,另外,加入色素 2 g/L。

1.3 培养条件 标本按常规先接种于沙堡培养基,37℃培养,24 h 观察结果,酵母菌类再接种于科玛嘉念珠菌显色培养基,25℃培养,24~48 h 观察结果。

1.4 结果判断标准 在科玛嘉念珠菌显色培养基上生长为翠绿色菌落(直径约 2 mm)为白念珠菌,蓝灰色菌落(直径约 1.50 mm)为热带念珠菌,紫色边缘模糊、有微毛菌落较大(直径约 4~5 mm)为克柔念珠菌,整个菌落显紫红色(直径约 2 mm)为光滑念珠菌,白色至粉红色为其他念珠菌。科玛嘉念珠菌显色培养基不能鉴定的菌种,再用 API 鉴定。

### 2 结果

2.1 沙堡培养基培养结果 8 525 份临床标本经沙堡培养基培养分离菌株 2 687 例,阳性率为 31.52%,主要以酵母菌为主,各菌种的分布情况见表 1。

从各种临床标本来看,以痰、粪检出率较高,分别为 51.13%和 42.56%。其次为咽拭子、尿、引流液及腹水。

表 1 8 525 份标本沙堡培养基培养结果

Tab 1 Culture results of 8 525 specimen by Sabouraud's agar

| 标本  | N     | 培养阳性         | 酵母菌          | 其他菌种       |
|-----|-------|--------------|--------------|------------|
| 痰   | 2 177 | 1 113(51.13) | 973(87.42)   | 140(12.58) |
| 尿   | 2 376 | 630(26.52)   | 595(94.44)   | 35(5.56)   |
| 粪   | 874   | 372(42.56)   | 367(98.66)   | 5(1.34)    |
| 血   | 796   | 22(2.76)     | 18(81.82)    | 4(18.18)   |
| 咽拭子 | 1 158 | 430(37.13)   | 425(98.84)   | 31(7.21)   |
| 腹水  | 326   | 22(6.75)     | 17(77.27)    | 5(22.73)   |
| 脑脊液 | 284   | 19(6.69)     | 19(100.00)   | 0(0)       |
| 引流液 | 534   | 79(14.79)    | 71(89.87)    | 8(10.13)   |
| 合计  | 8 525 | 2 687(31.52) | 2 485(92.48) | 202(7.52)  |

2.2 科玛嘉显色培养基培养结果 所分离 2 485 株酵母菌中,科玛嘉显色培养基可鉴定到种的有 2 188 株占 88.11%(表 2)。其中白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌及其他酵母所占的比例分别为 59.21%、14.52%、12.01%、2.31%及 11.91%。

2.3 不同标本所分离出的念珠菌种属构成 2 485 株酵母菌中,白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌等在不同标本种类中所占的比例有不同。

2.3.1 痰标本中各种酵母菌所占比例 痰标本中,培养分离的白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌及其他酵母所占的比例分别为 65.91%、8.71%、13.21%、2.71%及 9.52%。

2.3.2 尿标本中各种酵母菌所占比例 尿标本中,培养分离的白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌及其他酵母所占的比例分别为 42.91%、30.62%、12.82%、1.51%及 12.31%。

**[基金项目]** 第二军医大学长海医院重大与特色项目资助. Supported by Key Project of Changhai Hospital, Second Military Medical University.

**[作者简介]** 沈洁, 硕士, 主治医师. 现在浙江省杭州市第一人民医院儿科, 杭州 310006.

E-mail: shenjiecn@hotmail.com

\* Corresponding author. E-mail: gujun01@medmail.com

表 2 2 485 株酵母菌科玛嘉培养结果

Tab 2 Culture result of 2 485 strains by CHROMagar medium

[n(%)]

| 标本  | N     | 白念珠菌         | 光滑念珠菌      | 热带念珠菌      | 克柔念珠菌    | 其他酵母       |
|-----|-------|--------------|------------|------------|----------|------------|
| 痰   | 973   | 642(65.91)   | 85(8.71)   | 128(13.21) | 26(2.71) | 92(9.52)   |
| 尿   | 595   | 255(42.91)   | 182(30.62) | 76(12.82)  | 9(1.51)  | 73(12.31)  |
| 粪   | 367   | 228(62.12)   | 38(10.41)  | 44(11.92)  | 13(3.53) | 44(11.91)  |
| 血   | 18    | 4(22.21)     | 6(33.31)   | 4(22.21)   | 1(5.61)  | 3(16.71)   |
| 咽拭子 | 425   | 304(71.52)   | 26(6.11)   | 39(9.23)   | 8(1.91)  | 48(11.32)  |
| 腹水  | 17    | 3(17.61)     | 8(47.10)   | 0(0)       | 0(0)     | 6(35.32)   |
| 脑脊液 | 19    | 1(5.31)      | 0(0)       | 0(0)       | 0(0)     | 18(94.72)  |
| 引流液 | 71    | 33(46.52)    | 16(22.51)  | 8(11.31)   | 1(1.42)  | 13(18.33)  |
| 合计  | 2 485 | 1 470(59.21) | 361(14.52) | 299(12.01) | 58(2.31) | 297(11.91) |

2.3.3 粪标本中各种酵母菌所占比例 粪标本中,培养分离的白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌及其他酵母菌所占的比例分别为 62.12%、10.41%、11.92%、3.53% 及 11.91%。

2.3.4 血标本中各种酵母菌所占比例 血标本中,培养分离的白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌及其他酵母菌所占的比例分别为 22.21%、33.31%、22.21%、5.61% 及 16.71%。

2.3.5 咽拭子标本中各种酵母菌所占比例 咽拭子标本中,培养分离的白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌及其他酵母菌所占的比例分别为 71.52%、6.11%、9.23%、1.91% 及 11.32%。

### 3 讨论

临床标本的分离培养包括手工方法和仪器法,对酵母菌手工鉴定平均耗时总共平均约需 6 d,仪器法约需 4 d。手工方法操作烦琐,生化结果判定较困难,即使是标准菌株,结果仍极易出错。而用 Fugus 等仪器测试卡法,虽然鉴定耗时较短,操作也简便,鉴定结果准确率又高且可配套进行体外药敏试验,但因仪器和试卡均为进口产品,价格昂贵,且仪器占地面积大,维护成本高,所以不利于推广应用<sup>[1]</sup>。

科玛嘉念珠菌显色培养基是根据念珠菌属内各种念珠菌不同的生化反应分解不同底物而使菌落呈现不同颜色,从而分离、鉴定主要的致病念珠菌。其主要优点为:(1)比传统手工法缩短了许多步骤,节约了时间。该法比传统方法节约至少 24 h,尤其对临床高度怀疑为念珠菌感染的标本可直接接种于显色培养基上,这样可节约分离培养的时间,为危重患者的治疗争取宝贵时间<sup>[2]</sup>。(2)能鉴定 90% 以上的念珠菌,基本可满足临床使用。(3)结果准确、容易判读。有文献<sup>[3]</sup>报道:显色法结果与 VITEK 鉴定符合率达 98.91%。由于显色差异大,对于两种或多种念珠菌混合感染均可作出明确判断。目前,95% 以上的临床真菌感染是由白念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌等引起,而科玛嘉念珠菌显色培养基对以上常见念珠菌可直接从临床标本中分离培养和鉴定。

本研究通过对大量的临床检验资料统计分析,得出了较可靠的结果,可指导临床工作。科玛嘉念珠菌显色法培养加鉴定耗时平均仅需 48 h,与应用仪器法耗时基本相等,且培养基制备

方便,价格适中,结果判定简便快速准确。虽然有一部分菌株无法鉴定到种,但已能鉴定出目前临床感染 90% 以上的 4 种酵母样真菌,是一种可以常规开展的酵母样真菌检验方法。

Correia 等<sup>[4]</sup>用 PCR 指纹技术对临床获得的 177 份念珠菌进行鉴定,证明白念珠菌仍然是最常见的深部念珠菌感染的病原菌。在我国,余进等<sup>[5]</sup>对北京大学第一医院的 595 份临床标本进行真菌培养和鉴定:白念珠菌有 432 份,占 72.6%,其余 163 份非白念珠菌中热带念珠菌 72 份占 12.1%、光滑念珠菌 34 份占 5.7%、近平滑念珠菌 34 份占 5.7%、克柔念珠菌 14 份占 2.4%、季也蒙念珠菌 2 份占 0.34%、乳酒念珠菌 3 份占 0.50%、葡萄牙念珠菌 1 份占 0.17%、无名念珠菌 1 份占 0.17%、未分类 2 份占 0.34%。

从长海医院真菌送检标本数据看<sup>[6]</sup>,2000~2004 年 5 年间念珠菌属占分离菌种的比例分别为 79.70%、82.85%、91.00%、90.35% 和 91.81%,白念珠菌占念珠菌属的比例分别为 47.53%、33.62%、59.10%、60.31% 和 64.09%,而白念珠菌占分离菌种的比例则分别为 37.88%、27.68%、53.78%、54.60% 和 58.84%。由此可见,念珠菌感染是医院内最常见的真菌感染,它占到了整个真菌感染的 80% 以上。因此临床上应用科玛嘉念珠菌显色培养基分离鉴定深部真菌标本,可以满足快速、简便、准确的要求。

### [参考文献]

[1] 周惠平. 临床细菌检验面临的挑战[J]. 中华医学检验杂志, 1999,22:12-14.  
 [2] 温旺荣,王德春,朱忠勇. 白念珠菌生物分型法的建立及应用[J]. 中华医院感染学杂志,2000,10:161-163.  
 [3] 林青良,黄东红,梁双吟. 科玛嘉显色培养基与 API 20C AUX 鉴定系统鉴定念珠菌的比较[J]. 福建医科大学学报,2001,34:173.  
 [4] Correia A, Sampalo P, Almeida J, et al. Study of molecular epidemiology of candidiasis in Portugal by PCR fingerprinting of Candida clinical isolates[J]. J Clin Microbiol, 2004,42:5899-5903.  
 [5] 余进,李若瑜,王丹,等. 院内深部念珠菌感染的菌种类型调查及危险因素分析[J]. 中国麻风皮肤病杂志,2000,16:211-215.  
 [6] 吴建华,沈洁,王英,等. 院内患者深部真菌感染的流行病学调查[J]. 中国真菌学杂志,2006,1:337-339.

[收稿日期] 2006-07-04 [修回日期] 2007-01-30  
 [本文编辑] 曹静