

老年患者尿路感染阿萨希毛孢子菌的基因分型与药敏特点

孙 伟, 许淑珍, 苏建荣[△] (首都医科大学附属北京友谊医院临床检验中心, 北京 100050)

【摘要】 目的 探讨老年尿路感染患者尿液分离阿萨希毛孢子菌的基因分型及其药敏特征, 为临床治疗提供依据。**方法** 共收集 2009 年 1 月至 2012 年 1 月尿路感染阿萨希毛孢子菌 10 株, 设计序列特异性引物对其基因进行鉴定, 并采用微量肉汤稀释法和 E-test 法对其进行药敏试验。**结果** 基因型别鉴定结果显示, 10 株阿萨希毛孢子菌以Ⅳ型基因为主, 占 70%, 其次分别为Ⅲ型(20%)和Ⅰ型(10%); 体外药敏试验结果显示, 各菌株对两性霉素 B、氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑、5'-氟胞嘧啶均为敏感, 其中伏立康唑的最低抑菌浓度最小, 且部分菌株对伊曲康唑呈现剂量依赖性敏感。**结论** 老年尿路感染患者尿液阿萨希毛孢子菌基因型别以Ⅳ型为主, 三唑类药物对其具有显著疗效, 其中以伏立康唑效果最佳。

【关键词】 阿萨希毛孢子菌; 尿路感染; 基因型; 药敏试验

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 23. 001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)23-2913-03

Characteristics of genotypes and drug sensitivities of *Trichosporon asahii* from urinary tract infection of elder patients

SUN Wei, XU Shu-zhen, SU Jian-rong[△] (Department of Clinical Laboratory, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University Beijing 100050, China)

【Abstract】 Objective To investigate common genotypes and drug sensitivity of *Trichosporon asahii* (T. asahii) isolated from elder urinary tract infection patients. **Methods** Ten T. asahii urinary tract infection (UTI) isolates were collected between January 2009 and January 2012. Sequence specific primers were designed to identify and genotype these clinical strains. Drug sensitivity tests were carried out according to the reference method for broth dilution anti-fungal susceptibility testing of yeasts, approved standard- Third edition, as well as E-test method. **Results** The ten isolates belonged to type I, III and IV, respectively. Among them, type IV was the most prevalent one, accounting for 70%, then was type III (20%) and type I (10%). Drug sensitivity test results suggested that all strains were sensitive to Amphotericin B, Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole and 5-Flucytosine except that some ones were dose-dependent sensitivity against Itraconazole. **Conclusion** Type IV is the most dominant genotype of T. asahiis isolated from elder UTI patients. Voriconazole is the most effective in treating UTI caused by T. asahiis.

【Key words】 *Trichosporon asahii*; urinary tract infection; genotype; susceptibility test

近年来随着免疫抑制剂、激素、广谱抗菌药物的大量应用, 器官移植技术的开展以及各种导管的应用, 住院患者真菌感染日益增多, 其中由真菌引起的泌尿系统感染也急速增长, 位居医院内真菌感染的第 2 位, 已严重影响患者的治疗与康复^[1-3]。

流行病学资料显示, 真菌感染的病原谱在发生变化, 除了常见的念珠菌及曲霉菌感染外, 一些不常见的机会性真菌感染的报道也日渐增多, 如毛孢子菌等。阿萨希毛孢子菌作为毛孢子菌属的主要致病菌, 不仅能引起浅部感染, 如毛发、指甲、皮肤的白毛结节病, 而且还易导致免疫缺陷患者系统性或播散性感染^[4-6]。然而, 针对老年尿路感染患者尿液阿萨希毛孢子菌的基因分型以及其药敏特点至今尚少见相关报道。因此, 本研究对本院近 3 年从 60 岁以上住院患者尿标本中分离出的 10 株阿萨希毛孢子菌进行基因分型鉴定以及药敏试验, 并与国内外相关研究报道进行分析比较, 探讨其流行病学特点及药物治疗策略, 以期为临床合理诊治阿萨希毛孢子菌尿路感染提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者为 2009 年 1 月至 2012 年 1 月于本院住院患者, 送检尿标本真菌培养与鉴定为阿萨希毛孢子菌培养阳性患者 8 例, 其中男 6 例, 女 2 例, 年龄 75~91 岁, 平均 81 岁。绝大多数患者有尿频、尿急、尿痛及不同程度发热症状, 体温

37.1~38.3 ℃ 6 例; 无发热史, 仅有轻微膀胱刺激症状和尿道烧灼感者 2 例。所收集菌株按患者送检顺序编号, 其中患者 5 为临床复发病例(间隔周期为 2 个月), 连续收集该患者每次感染标本 3 株, 分别编号为 5-1、5-2 和 5-3。

1.2 纳入与排除标准 入院 72 h 后, 患者出现感染的症状和体征, 连续 2 次清洁中段尿标本真菌镜检和(或)培养呈阳性者, 可诊断为尿路真菌感染。若第 2 次真菌培养结果阴性, 可排除尿路真菌感染。

以下患者不在研究范围之内: (1) 以真菌感染入院或以其他疾病入院但合并真菌感染者。(2) 入院小于 72 h 出现感染的症状, 经病原学检查证实为真菌感染者。(3) 入院 1 周内即死亡者。(4) 同一患者、同一来源的标本中培养出相同的真菌, 且间隔小于 6 周者, 将重复样本剔除。(5) 尿液标本菌落计数小于 10⁴ CFU/mL 者不计入统计。

1.3 阿萨希毛孢子菌的分离培养与基因多态性分析 严格按照《全国临床检验操作规则》第 2 版对临床合格尿标本进行接种和培养, 初步分离的可疑真菌经过科玛嘉显色平板及法国 BioMérieux Vitek-2 Compact 全自动微生物分析系统鉴定为阿萨希毛孢子菌后, 挑取阳性菌落进行纯培养, 玻璃珠振荡法提取 DNA。特异性引物聚合酶链式反应(PCR)参照文献[4]和文献[7], 用内部转录间隔区(ITS 区)及基因间隔区(IGS1 区)

[△] 通讯作者, E-mail: sunwei010512@163. com。

特异引物分别扩增核糖体 rRNA 的 ITS 区和 IGS1 区。并在 GenBank 核酸序列数据库中进行同源性搜索,获取对应序列号。利用 IGS1 区种内多态性的特点,将 IGS1 区序列信息与已知的 9 种基因型别的菌株信息进行比对。同时,利用寡核苷酸引物(GACA)4 对各菌株进行 RAPD 分析,所得结果与 IGS1 区基因分型结果结合分析,确定临床分离株的基因多态性。

引物序列分别为:(1)ITS1:5'- TCC GTA GGT GAA CCT GCG G;(2)ITS4:5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC;(3)26SF:5'-ATC CTT TGC AGA CGA CTT GA;5SR:5'-AGC TTG ACT TCG CAG ATC GG;(5)GACA)4:5'-GAC AGA CAG ACA GAC A。

1.4 药物敏感性测定 药物敏感性测定参照 2011 版 CLSI 标准 M27-A3 微量肉汤稀释法进行,并平行进行 E-test 法测定。选取克柔念珠菌 ATCC6258 作为质控菌株。测试药物包括 5-氟胞嘧啶(5-FC)、两性霉素 B(AMB)、氟康唑(FLU)、伊曲康唑(ITC)和伏立康唑(VRC)。最低抑菌浓度(MIC)判断参照 M27-A3 关于念珠菌属的判读标准;AMB MIC≤1 μg/mL 敏感;5-FC MIC≤4 μg/mL 敏感,8 μg/mL≤MIC≤16 μg/mL,中介,MIC≥32 μg/mL 耐药;FLU MIC≤8 μg/mL敏感,8 μg/mL≤MIC≤16 μg/mL 剂量依赖性敏感,MIC≥64 μg/mL 耐药;ITC MIC≤0. 125 μg/mL 敏感,0. 25 μg/mL≤MIC≤0. 5 μg/mL 剂量依赖性敏感,MIC≥1 μg/mL 耐药;VRC MIC≤1 μg/mL 敏感, MIC = 2 μg/mL 剂量依赖性敏感, MIC ≥ 4 μg/mL耐药。E-test 法结果参照说明书进行判读。两种药敏检测方法分别独立重复 3 次。

2 结 果

2.1 基因型别的鉴定 核糖体 RNA 特异性引物 ITS1/ITS4 及 26SF/5SR 分别扩增 rRNA 的 ITS 区和 IGS1 区,产物大小分别为 520 bp(图 1A)和 642 bp (图 1B)。GACA 4 随机扩增各临床分离株的基因组 DNA,扩增产物主要条带及差异条带如图 1C,ITS 区扩增 PCR 产物测序结果与 GenBank 数据库中核酸序列的序列进行比对,从分子水平鉴定 10 株临床分离株

均为阿萨希毛孢子菌。

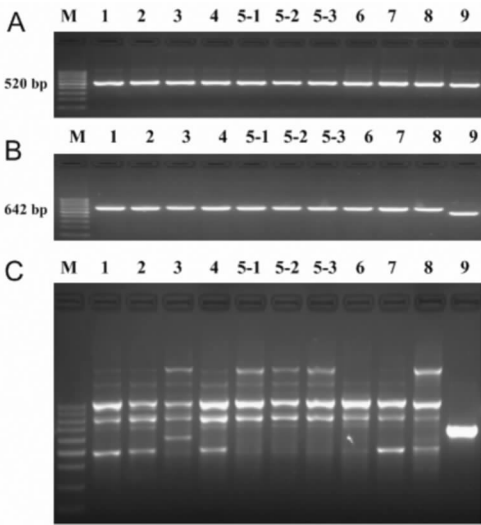
2.2 基因多态性分析 利用(GACA)4 对各菌株进行随机扩增多态性 DNA 标记(RAPD)分析,所得结果与 IGS1 区基因分型结果相结合,将该 10 株分离株扩增的序列信息与数据库中 12 种已知的阿萨希毛孢子菌基因型别进行比对,确定临床分离株的基因多态性。结果显示,10 株阿萨希毛孢子菌共有 I、Ⅲ、Ⅳ 3 个基因型别,以Ⅳ型为主(占 70%)。其中患者 1、2、4、5、8 同属于Ⅳ型,患者 3、7 同属于Ⅲ型,患者 6 属于 I 型,患者 5 连续 3 次分离株均属Ⅳ型。见表 1。

表 1 10 株阿萨希毛孢子菌的基因型别		
标本编号	GenBank 序列号(IGS1 区)	基因型别
1	AB066399. 1	Ⅳ
2	AB066399. 1	Ⅳ
3	AB066397. 1	Ⅲ
4	AB066399. 1	Ⅳ
5-1	AB066399. 1	Ⅳ
5-2	AB066399. 1	Ⅳ
5-3	AB066399. 1	Ⅳ
6	AB066386. 1	I
7	AB066397. 1	Ⅲ
8	AB066399. 1	Ⅳ

2.3 药敏试验结果 药敏试验结果如表 2 所示,微量肉汤稀释法测定 5 种抗真菌药物对临床分离的 10 株阿萨希毛孢子菌的 MIC 几何平均值分别为:AMB 0. 5 μg/mL;5-FC 4 μg/mL;FLU 2. 30 μg/mL;VRC 0. 09 μg/mL;ITC 0. 20 μg/mL。其中,FLU 的 MIC 值波动较大(1~4 μg/mL)。VRC 的 MIC 值最低,除患者 5 先后 3 次分离出同一株阿萨希毛孢子菌,VRC 对其 MIC 值有所升高外,对其他临床分离株的 MIC 值均为 0. 06 μg/mL。5 株临床分离株对 ITC 表现为剂量依赖性敏感(S-DD)。E-test 法与微量肉汤稀释法对临床分离阿萨希毛孢子菌的 MIC 测定显示了较高的一致性,但就整体而言,与肉汤微量稀释法相比 E-test 法测定 MIC 值偏高。

表 2 微量肉汤稀释法和 E-test 法测得 10 株阿萨希毛孢子菌的 MIC 值(μg/mL)

菌株 编号	AMB		5-FC		FLU		VRC		ITC	
	肉汤稀释法	E-test 法	肉汤稀释法	E-test 法	肉汤稀释法	E-test 法	肉汤稀释法	E-test 法	肉汤稀释法	E-test 法
1	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	4. 00(S)	4. 00	0. 12(S)	0. 19	0. 25(S-DD)	0. 25
2	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	4. 00(S)	4. 00	0. 06(S)	0. 09	0. 12(S)	0. 12
3	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	2. 00(S)	4. 00	0. 06(S)	0. 09	0. 12(S)	0. 19
4	0. 50(S)	0. 75	4. 00(S)	6. 00	2. 00(S)	2. 00	0. 06(S)	0. 09	0. 25(S-DD)	0. 25
5-1	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	2. 00(S)	2. 00	0. 06(S)	0. 09	0. 12(S)	0. 25
5-2	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	2. 00(S)	2. 00	0. 12(S)	0. 25	0. 25(S-DD)	0. 38
5-3	0. 50(S)	0. 75	4. 00(S)	4. 00	2. 00(S)	2. 00	0. 25(S)	0. 38	0. 50(S-DD)	0. 50
6	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	1. 00(S)	2. 00	0. 06(S)	0. 09	0. 12(S)	0. 12
7	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	2. 00(S)	2. 00	0. 06(S)	0. 09	0. 12(S)	0. 12
8	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	2. 00(S)	2. 00	0. 06(S)	0. 09	0. 12(S)	0. 19
MIC 值的几何均值	0. 50	0. 55	4. 00	4. 20	2. 30	2. 60	0. 09	0. 15	0. 20	0. 24
敏感性折点	≤1. 00		≤4. 00		≤8. 00		≤1. 00		≤0. 12	
质控 ATCC 6258	0. 50(S)	0. 50	4. 00(S)	4. 00	64. 00(R)	1. 00	0. 06(S)	0. 06	0. 06(S)	0. 06



A: 引物 ITS1 / ITS4 扩增产物, 大小 520 bp; B: 引物 26SF / 5SR 扩增产物, 大小 642 bp; C: 寡核苷酸引物(GACA)₄ 随机扩增基因组多态性 DNA, 主要产物条带如图所示。M: 相对分子质量标准; 泳道 1~8 为各临床分离菌株编号, 泳道 9 为质控菌: 克柔念珠菌 ATCC 6258。

图 1 10 株尿液分离阿萨希毛孢子菌 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图

3 讨 论

阿萨希毛孢子菌为引起深部毛孢子菌感染的主要病原, 该菌广泛存在于自然界中, 是一种条件致病菌。相关研究表明其主要引起皮肤、毛发感染, 亦可造成系统播散性感染, 血液播散性感染后常规抗真菌药物治疗常无效, 病死率极高^[8-11]。但对于阿萨希毛孢子菌引起的特定人群局部感染, 而非播散性深部真菌感染的监测及治疗却鲜有报道。国内杨蓉娅等^[12]对引起系统性感染的阿萨希毛孢子菌进行了小鼠毒力实验, 证实该菌虽为机会致病菌, 但对健康小鼠并非绝对不致病, 一旦进入体内的菌量达到一定程度后仍可致病。本研究患者尿标本反复分离出阿萨希毛孢子菌, 但多次血培养阴性, 胸腹部影像学检查只有炎性表现, 未见真菌感染典型结节, 病理表现亦未见异常。对于找到菌丝并且纯培养阳性的尿标本病原菌考虑定植还是感染, 目前没有统一的判定标准, 从而导致治疗的困惑。

本研究的研究对象年龄偏大, 且患有不同程度的基础性疾病, 如低蛋白血症、原发性高血压、糖尿病等, 免疫水平普遍低下。大量抗菌药物的使用, 特别是碳青霉烯类等广谱抗菌药物的使用, 引起体内菌群失调, 屏障功能破坏, 使真菌移位、定植、感染。同时抗菌药物长期应用使机体内正常菌群失调, 导致条件致病菌大量繁殖, 严重影响了机体的生态平衡, 是真菌感染的主要原因。另外, 8 例患者中 6 例均接受导尿治疗, 这表明介入性材料也许可能作为阿萨希毛孢子菌生物膜构建的黏附基质, 使微生物群体黏附于细胞外多聚材料表面而造成持续播散感染^[13-14]。因此, 介入性材料的使用可能是该菌定植或感染的高危因素。

为进行医院感染性疾病的流行病学调查和监测, 了解传播途径以及发病机制, 本研究对这 10 株临床分离株进行基因分型鉴定。真菌核糖体 RNA (rRNA) 基因是串联重复排列的结构, 在 2 个不同的区域中间存在 ITS 区和基因间隔区 (IGS), 可以反映物种间的进化关系, 其中 IGS1 区较 ITS 区在分辨种内特异性上有更高的区分度, 已被广泛应用于多种生物的鉴定、分型及物种进化分析^[5, 15]。美国和日本分离出的阿萨希毛

孢子菌以 I ~ V 型为主, 西班牙、巴西和阿根廷以 VI 型为主, 泰国和土耳其以 VII ~ IX 型为主^[7, 16]。本研究针对 IGS1 区设计特异性引物对临床分离株进行 PCR 鉴定, 并与已报道的 12 种阿萨希毛孢子菌型别相比对, 结果 10 株阿萨希毛孢子菌分别属于 I、III、IV 3 个型别, 其中 IV 型占 70%, 明显高于同类相关研究, 这可能与本研究单一的尿液标本类型有关, 而以往所有相关研究标本来源丰富, 包括皮肤、痰标本、血液标本等。另外, 患者 1、2、4、5、8 虽处于不同病房却均感染 IV 型。而患者 7 和患者 8 虽同属于重症医学科, 感染的类型却不相同, 分别为 III 型和 IV 型, 说明二者不存在交叉污染问题。患者 5 连续 3 次分离到阿萨希毛孢子菌 (每次间隔 2 个月以上), 基因分型显示这 3 株菌同为 IV 型, 为复发病例, 而非新感染病例。

本研究还对所分离阿萨希毛孢子菌进行药敏测试, 结果显示, 两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、氟康唑、伏立康唑均 100% 敏感, 对伊曲康唑的敏感性为 60%, 并未发现耐药株。其中, 伏立康唑的 MIC 几何平均值最低, 疗效最佳。说明引起老年患者尿路感染的阿萨希毛孢子菌虽然潜在危害极大, 但是, 只要医生对真菌感染的认识充分、重视以及病原学检测及时、准确, 阿萨希毛孢子菌所致尿路感染可控制在早期, 且并不一定会引起播散性感染和耐药菌株的产生。这与国外分离的阿萨希毛孢子菌多有耐药情况发生不同, 可能与国内的医疗环境或抗菌药物的使用偏好有关, 也可能与感染标本分离部位有关 (本研究标本来源唯一, 为清洁尿标本)。

综上所述, 本研究分离自尿路感染老年患者的 10 株阿萨希毛孢子菌不同于其他标本类型或其他部位的分离株, 分别属于 I 型、III 型和 IV 型, 以 IV 型为主。唑类药物对其治疗有效, 其中, 以伏立康唑效果最佳。这些研究结果有助于进一步了解老年尿路感染患者尿路阿萨希毛孢子菌感染的流行病学特点, 以及为临床抗真菌治疗, 有效控制真菌感染播散提供一定的策略及理论依据。

参考文献

- [1] Fisher JF, Sobel JD, Kauffman CA, et al. Candida urinary tract infections-treatment [J]. Clin Infect Dis, 2011, 52 (1): 57-66.
- [2] Fisher JF. Candida urinary tract infections—epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment: executive summary [J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(1): 29-32.
- [3] Chen SC, Tong ZS, Lee OC, et al. Clinician response to Candida organisms in the urine of patients attending hospital [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2008, 27: 2018-2022.
- [4] Mekha N, Sugita T, Ikeda R, et al. Genotyping and antifungal drug susceptibility of the pathogenic yeast Trichosporon asahii isolated from Thai patients [J]. Mycopathologia, 2010, 169(1): 67-70.
- [5] Rodriguez Tudela JL, Gomez Lopez A, Alastruey Izquierdo A, et al. Genotype distribution of clinical isolates of Trichosporon asahii based on sequencing of intergenic spacer [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007, 58(4): 35-40.
- [6] Xia Z, Yang R, Wang W, et al. Genotyping and antifungal drug susceptibility of Trichosporon asahii isolated from Chinese patients [J]. Mycopathologia, 2012, 173(1): 27-33.

虫细胞中表达和纯化类病毒颗粒蛋白,工艺较为繁琐,而且产量较低,制备成本很高。(2)该类病毒颗粒蛋白是在昆虫细胞中表达的,昆虫细胞内蛋白的加工修饰过程与哺乳动物细胞体内不尽相同,这会使得该疫苗的使用效果在实际应用中可能会引起问题。为了解决以上问题,本研究利用真核表达载体 pcDNA3.0 构建真核双顺反子表达载体,并将 EV71 P1 前体蛋白基因和非结构蛋白 3CD 基因插入该载体中,制备基于 DNA 载体的 EV71 VLPs 疫苗。该疫苗可以直接注射机体,并在 CMV 启动子的作用下实现 P1 和 3CD 蛋白在机体内的共表达,并进而自组装成 VLPs 诱导机体免疫反应。该疫苗可还用大肠埃希菌大量扩增,这将使生产成本大幅降低,有望改进目前 EV71 疫苗面临的一些问题,为 EV71 型手足口病的预防打下基础。

参考文献

- [1] Kung SH, Wang SF, Huang CW, et al. Genetic and antigenic analyses of enterovirus 71 isolates in Taiwan during 1998-2005[J]. Clin Microbiol Infect, 2007, 13(8): 782-785.
- [2] 孙佳. 肠道病毒 71 型研究进展[J]. 现代预防医学, 2011, 38(10): 1951-1952.
- [3] Yi L, Lu J, Kung HF, et al. The virology and developments toward control of human enterovirus 71[J]. Crit Rev Microbiol, 2011, 37(4): 13-27.
- [4] McMinn PC. An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2002, 26(2): 91-107.
- [5] Chung YC, Ho MS, Wu JC, et al. Immunization with virus-like particles of enterovirus 71 elicits potent immune responses and protects mice against lethal challenge[J]. Vaccine, 2008, 26(15): 55-62.
- [6] Chung CY, Chen CY, Lin SY, et al. Enterovirus 71 virus-

like particle vaccine; improved production conditions for enhanced yield[J]. Vaccine, 2010, 28(43): 6951-6957.

- [7] De W, Changwen K, Wei L, et al. A large outbreak of hand, foot, and mouth disease caused by EV71 and CAV16 in Guangdong, China, 2009[J]. Arch Virol, 2011, 156(6): 45-53.
- [8] Pyo HM, Masic A, Woldeab N, et al. Pandemic H1N1 influenza virus-like particles are immunogenic and provide protective immunity to pigs[J]. Vaccine, 2012, 30(7): 1297-1301.
- [9] 张喜珍, 王晓丹, 赵东海, 等. HIV-1 病毒样颗粒疫苗的构建及免疫原性研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2011, 41(12): 1148-1154.
- [10] 李晓楠, 赵忠鹏, 段跃强, 等. EV71 型 VP1 蛋白表达、纯化及免疫原性的初步评价[J]. 疫学杂志, 2010, 26(1): 1-5.
- [11] Baek JO, Seo JW, Kwon O, et al. Production of human papillomavirus type 33 L1 major capsid protein and virus-like particles from *Bacillus subtilis* to develop a prophylactic vaccine against cervical cancer[J]. Enzyme Microb Technol, 2012(2): 173-180.
- [12] Sominskaya I, Skrastina D, Dislers A, et al. Construction and immunological evaluation of multivalent hepatitis B virus (HBV) core virus-like particles carrying HBV and HCV epitopes[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(6): 27-33.
- [13] Chung YC, Ho MS, Wu JC, et al. Immunization with virus-like particles of enterovirus 71 elicits potent immune responses and protects mice against lethal challenge[J]. Vaccine, 2008, 26(15): 1855-1862.

(收稿日期: 2012-05-14)

(上接第 2915 页)

- [7] Sugita T, Nakajima M, Ikeda R, et al. Sequence analysis of the ribosomal DNA intergenic spacer 1 regions of *Trichosporon* species [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(18): 26-30.
- [8] Servonnet A, Bourgault M, Trueba F, et al. Disseminated *Trichosporon asahii* infection [J]. Ann Biol Clin, 2010, 68(36): 3-6.
- [9] Thibeault R, Champagne M, De Repentigny L, et al. Fatal disseminated *Trichosporon asahii* infection in a child with acute lymphoblastic leukemia [J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2008, 19(20): 3-5.
- [10] Kim SH, Kim DH, Joo SI, et al. Chronic cutaneous disseminated *Trichosporon asahii* infection in a nonimmuno-compromised patient [J]. J Am Acad Dermatol, 2008, 59(3): 7-9.
- [11] Chowdhary A, Ahmad S, Khan ZU, et al. *Trichosporon asahii* as an emerging etiologic agent of disseminated trichosporonosis: a case report and an update [J]. Indian J Med Microbiol, 2004, 22(1): 16-22.

- [12] 杨蓉娅, 王文岭, 敖俊红, 等. 阿萨希毛孢子菌致小鼠播散性毛孢子菌病的实验和治疗研究[J]. 中华皮肤科, 2004, 37(8): 481-483.
- [13] Kim JS, Holtom P, Vigen C. Reduction of catheter-related bloodstream infections through the use of a central venous line bundle: epidemiologic and economic consequences [J]. Am J Infect Control, 2011, 39(8): 640-646.
- [14] Vandijck DM, Blot SI, Labeau SO. Reduction of catheter related bloodstream infections in intensive care: one for all, all for one [J]. Nurs Crit Care, 2009, 14(5): 273.
- [15] 夏志宽, 杨蓉娅, 王文岭, 等. IGS1、ITS 和 D1/D2 区在毛孢子菌鉴定中的意义及国内阿萨希毛孢子菌基因分型研究[J]. 中华医学杂志, 2008, 88(44): 3145.
- [16] Rodriguez Tudela JL, Diaz Guerra TM, Mellado E, et al. Susceptibility patterns and molecular identification of *Trichosporon* species [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(40): 26-34.

(收稿日期: 2012-05-17)