

· 医院药学 ·

2015—2019年连云港市第二人民医院感染真菌患者菌株分布及耐药性分析

赵董强^{1,2}, 王彦^{1*}, 杨雪芹¹, 王欣蕊¹

1. 连云港市第二人民医院, 江苏 连云港 222006

2. 盐城市亭湖区疾病预防控制中心, 江苏 盐城 224002

摘要:目的 分析2015—2019年连云港市第二人民医院真菌培养阳性标本的病原菌分布情况和耐药状况。方法 收集2015年1月—2019年12月在连云港市第二人民医院所有的真菌培养和药敏试验阳性的标本共663例,应用DL-96II细菌测定系统的体外诊断试剂DL-96FOUNGUS对样本进行真菌鉴定,以5种常见抗真菌药物为例,采用MIC法开展对样本中已鉴定真菌的药物敏感性试验,并应用WHONET 5.6软件进行对于该试验结果的统计学分析。结果 2015—2019年连云港市第二人民医院共分离出真菌663株。按照菌种类型分类,可得到如下比例:白色假丝酵母菌占49.9%(331/663)、热带假丝酵母菌占15.2%(101/663)、都柏林假丝酵母菌占8.3%(55/663)、光滑假丝酵母菌14.9%(99/663)、其他假丝酵母菌占11.6%(77/663)。白色假丝酵母菌对伏立康唑、氟康唑、伊曲康唑3种抗菌药物仍具有耐药性;热带假丝酵母菌对氟胞嘧啶、两性霉素高度敏感,对伏立康唑、氟康唑、伊曲康唑表现为耐药;光滑假丝酵母菌对氟胞嘧啶和两性霉素B的敏感性最高。结论 白色假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、光滑假丝酵母菌是真菌感染的主要常见致病菌,以热带假丝酵母菌为主的多种假丝酵母菌对于氟康唑、伊曲康唑等临床常用抗菌药物耐药性日渐增长。

关键词: 真菌; 药敏试验; 耐药性; 白色假丝酵母菌; 热带假丝酵母菌; 光滑假丝酵母菌

中图分类号: R969.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)08-1723-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.08.036

Analysis of bacterial strain distribution and drug resistance of fungal cultures from patients in the Second People's Hospital of Lianyungang from 2015 to 2019

ZHAO Dong-qiang^{1,2}, WANG Yan¹, YANG Xue-qin¹, WANG Xin-rui¹

1. The Second People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222006, China

2. Yancheng Tinghu District Center for Disease Control and Prevention, Yancheng 224002, China

Abstract: Objective The distribution of pathogens and drug resistance of positive fungal culture specimens in the Second People's Hospital of Lianyungang from 2015 to 2019 were analyzed. **Methods** A total of 663 fungal culture and drug sensitivity test positive specimens were collected from The Second People's Hospital of Lianyungang from January 2015 to December 2019. The *in vitro* diagnostic reagent DL-96FOUNGUS of DL-96 II bacterial determination system was used to identify the fungi in the samples. Taking 5 common antifungal drugs as examples, the MIC method was used to carry out drug sensitivity test of identified fungi in the samples, and WHONET 5.6 software was used for statistical analysis of the test results. **Result** According to the types of bacteria, the following proportion can be obtained: *Candida albicans* accounted for 49.9% (331/663), *Candida tropicalis* accounted for 15.2% (101/663), *Candida Dublin* accounted for 8.3% (55/663), *Candida glabrata* accounted for 14.9% (99/663), and other candida accounted for 11.6% (77/663). *Candida albicans* was still resistant to voriconazole, fluconazole, and itraconazole. *Candida tropicalis* was highly sensitive to fluorocytosine and amphotericin, and showed resistance to voriconazole, fluconazole and itraconazole. *Candida glabrata* had the highest sensitivity to fluorocytosine and amphotericin B. **Conclusion** *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, and *Candida globulidis* are the main pathogenic bacteria of fungal infection. The resistance of various candida strains, mainly the *Candida tropicalis*, to fluconazole, itraconazole, and other commonly used antibiotics in clinic is increasing day by day.

Key words: fungi; drug sensitivity test; drug resistance; *Candida albicans*; *Candida tropicalis*; *Candida globulidis*

投稿日期: 2021-02-22

基金项目: 江苏大学临床医学科技发展基金项目(JLY2021088)

作者简介: 赵董强,男,本科,医学检验技术专业。E-mail:1194562407@qq.com

*通信作者: 王彦,主要从事微生物方面研究。E-mail:wangyan1358@163.com

近年来, 由于经验性用药、肿瘤晚期、器官移植、哮喘、艾滋病病毒 (HIV) 感染、中性粒细胞缺乏症等破坏机体免疫系统功能的疾病逐年增加, 随着临床对部分药物如广谱抗菌药物、抗肿瘤药物、免疫抑制剂、化疗药物等的广泛使用甚至于滥用, 以及在现如今临床侵入性操作的普遍开展^[1-4], 导致患者身体免疫功能普遍下降, 在过去 10 年中真菌感染在临床上已经成为危害患者生命的严重感染, 事实上, 死于真菌感染的患者和死于结核病或疟疾的患者一样多^[5-6]。而且由于临床使用不当或过度使用抗生素, 导致真菌对各种药物敏感性降低, 因而对真菌药物敏感性的研究, 测定其抗真菌药敏谱, 建立监测数据网, 对于临床治疗真菌感染患者起了尤为重要的作用^[7]。

连云港市第二人民医院创立于 1908 年, 前身为“义德医院”, 至今已有 111 年的历史。医院为三级甲等综合性医院, 担负着医疗、教学、科研、预防、保健、康复、公益 7 项中心任务以及政府指令性任务和突发公共卫生事件急救救治任务。同时承担着连云港市肿瘤医院、连云港市临床肿瘤研究所和连云港市慈善医院职能, 是蚌埠医学院附属连云港医院, 南京医科大学康达学院附属医院、江苏大学附属医院、徐州医科大学教学医院。以建设“省内有影响, 苏北进前列, 总体实力较强的三级甲等综合医院和苏北一流的三级甲等肿瘤医院”为目标, 全面赶超市一流三级医院。当前本院真菌感染占全院细菌感染比率的 8.5%, 先就其菌株分布及耐药情况进行分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 收集 2015 年 1 月—2019 年 12 月

在连云港市第二人民医院所有的真菌培养及药敏试验阳性的标本 663 例, 其中呼吸道分泌物和尿液为主要标本类型 (剔除同一患者的重复菌株)。

1.1.2 试剂与仪器 体外诊断试剂 DL-96FOUNGUS 和 DL-96 II 细菌测定系统为珠海迪尔公司产品, 血平板及沙保罗平板为郑州安图公司产品, MJ180 霉菌培养箱为上海跃进医疗器械有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集和培养 按照第 3 版临床微生物标准化操作规程 (ISO 15189 认可指导书) 留取及接种标本^[8]。

1.2.2 真菌鉴定 标本接种沙保罗平板, 放置霉菌培养箱 24 h 后, 挑出无污染的真菌菌落选用 DL-96 II 细菌测定系统进行菌种鉴定和药敏。

1.2.3 药敏试验 真菌药物敏感性试验采用 MIC 法, 真菌药敏根据临床实验室标准研究所 (CLSI) M27-S3 标准判读^[9]。

1.2.4 数据分析 菌株分布及药敏结果采用 WHONET 5.6 软件进行数据分析。

2 结果

2.1 病原菌分布

2015—2019 年连云港市第二人民医院共分离培养出株真菌菌株 663 株。呼吸道分泌物标本占 40.9% (271/663), 尿液标本占 40.3% (267/663), 全血标本占 4.4% (29/663), 阴道分泌物标本占 4.7% (31/663), 无菌体液标本占 5.6% (37/663), 其他类型标本占 4.2% (28/663)。白假丝酵母菌占 49.9% (331/663)、热带假丝酵母菌占 15.2% (101/663), 都柏林假丝酵母菌占 8.3% (55/663), 光滑假丝酵母菌 14.9% (99/663), 其他假丝酵母菌占 11.6% (77/663), 见表 1、2。

表 1 不同标本检出菌株数量
Table 1 Distribution of different strains

菌种	2015 年		2016 年		2017 年		2018 年		2019 年		合计	
	n/株	构成比/%	n/株	构成比/%								
白色假丝酵母菌	28	54.90	71	53.38	61	48.03	81	50.00	90	47.37	331	49.92
热带假丝酵母菌	6	11.76	22	16.54	22	17.32	19	11.73	32	16.84	101	15.23
光滑假丝酵母菌	9	17.65	19	14.29	27	21.26	26	16.05	18	9.47	99	14.93
近平滑假丝酵母菌	8	15.69	17	12.78	12	9.45	2	1.23	12	6.32	51	7.69
都柏林假丝酵母菌	0	0.00	0	0.00	0	0.00	22	13.58	33	17.37	55	8.30
其他	0	0.00	4	3.01	5	3.94	12	7.41	5	2.63	26	3.92
合计	51	100.00	133	100.00	127	100.00	162	100.00	190	100.00	663	100.00

表 2 真菌标本类型分布

Table 2 Distribution of fungal specimens

标本类型	菌株数量/株					合计	构成比/%
	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2019 年		
尿液	25	66	52	61	63	267	40.27
呼吸道分泌物	14	46	41	72	98	271	40.87
阴道分泌物	3	4	14	5	5	31	4.68
全血	3	7	6	6	7	29	4.37
创面分泌物	2	3	4	0	3	12	1.81
其他	0	4	3	5	4	16	2.41
无菌体液	0	7	7	13	10	37	5.58
合计	47	137	127	162	190	663	100.00

2.2 真菌对常用药物的耐药性

连云港市第二人民医院真菌以假丝酵母菌属为主,其中白色假丝酵母菌检出率最高;非白假丝酵母菌中,以热带假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌为主,本研究对白色假丝酵母菌、热带假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌的耐药性进行分析。

2.2.1 白色假丝酵母菌耐药性 白色假丝酵母菌对伊曲康唑的敏感性较差,对伏立康唑和氟康唑的敏感性相对次之,且二者耐药率呈逐年上升趋势;对两性霉素 B 的敏感性最好,敏感率保持在 90% 以上,见表 3。

表 3 白色假丝酵母菌对各药物耐药率的变化

Table 3 Changes in drug resistance rates of *Candida albicans* to various drugs

抗菌药物	白色假丝酵母菌耐药率/%				
	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2019 年
伏立康唑	7.1	29.6	55.7	37.0	15.6
氟胞嘧啶	29.6	8.5	4.9	2.5	2.2
氟康唑	55.7	28.2	41.0	34.6	17.8
两性霉素	37.0	1.4	3.3	3.7	6.7
伊曲康唑	53.6	40.8	59.0	53.1	27.7

2.2.2 热带假丝酵母菌耐药性 2016—2019 年连云港市第二人民医院热带假丝酵母菌对伊曲康唑的耐药率最高,对伏立康唑和氟康唑的药物耐药率相对次之,对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的药物敏感性最好,所得样本真菌对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的敏感率几乎保持在 90% 以上(2015 年的样本量不足,排除其数据),见表 4。

2.2.3 光滑假丝酵母菌耐药性 2015—2019 年连云港市第二人民医院光滑假丝酵母菌对伊曲康唑

的耐药率最高,对伏立康唑和氟康唑的耐药率次之,对氟胞嘧啶、两性霉素 B 敏感性最高,见表 5。

表 4 热带假丝酵母菌对各药物耐药率的变化

Table 4 Changes of resistance rate of *Candida tropicalis* to various drugs

抗菌药物	热带假丝酵母菌耐药率/%				
	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2019 年
伏立康唑	50.0	68.2	72.7	68.4	34.4
氟胞嘧啶	0	4.5	0	5.3	0
氟康唑	11.1	72.7	77.3	57.9	37.5
两性霉素	0	0	4.5	0	6.3
伊曲康唑	0	77.3	72.7	63.1	59.4

表 5 光滑假丝酵母菌对各药物耐药率的变化

Table 5 Changes in drug resistance rates of *Candida glabrata* to various drugs

抗菌药物	光滑假丝酵母菌耐药率/%				
	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2019 年
伏立康唑	10.5	10.5	59.3	34.6	5.6
氟胞嘧啶	5.3	5.3	0	0	0
氟康唑	21.1	21.1	51.8	34.6	11.1
两性霉素	0	0	3.7	11.5	0
伊曲康唑	47.4	47.4	77.8	46.1	44.4

3 讨论

3.1 真菌样本来源分析

连云港市第二人民医院在 2015 年之前,临床医师主要把重点放在细菌感染上,对真菌的重视较少,没有系统化的送检,因而 2015 年真菌培养的送检率较低。但在这之后,临床医师意识到真菌的诊断价值对临床的意义,提高对真菌的重视,故真菌标本送检率逐年增高。2015—2019 年真菌阳性样

本来源以呼吸道标本和尿液标本居多, 均占 40% 以上, 由于痰液、尿液标本采集方便、易于获得, 而此类标本污染率高, 定植菌居多, 常需反复送检, 是致使其送检率高的主要原因, 但其对病原菌的诊断价值可能不及血液等无菌体液标本。因此, 在 2015 年之后, 由于医院提高了对无菌体液标本诊断价值的重视, 2016—2019 年对无菌体液的真菌检测及检出率有所增高, 在临床应用也获得巨大价值。

3.2 真菌构成分布

连云港市第二人民医院真菌以假丝酵母菌属为主, 其中白色假丝酵母菌检出率最高; 非白假丝酵母菌中, 以热带假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌为主。近年来白色假丝酵母菌的检出率略有下降趋势, 但在真菌构成中仍占主要部分; 热带假丝酵母菌、光滑假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌和霉菌等其他类型的检出率有上升趋势, 值得临床上的关注。

3.3 真菌耐药特点和治疗真菌对策

从表 1 中可以看出, 白色假丝酵母菌具有高检出率, 白色假丝酵母菌高感染率与其正常寄居部位广泛有关, 使免疫力下降或各种侵入性操作能引起正常菌群失衡的因素均增加其感染的风险, 从整体看, 除白色假丝酵母菌、热带假丝酵母菌对伊曲康唑的耐药率最高, 其他常用抗真菌药仍保持较高真菌敏感性。

2015—2017 年, 由于患者的增多, 早期连云港市第二人民医院对用药控制的不成熟, 导致医院白色假丝酵母菌对各药的耐药率在上升, 在及时意识到耐药率的变化后, 临床医师及时改进用药剂量和方式, 之后白念耐药率逐渐下降, 取得良好的用药效果。而热带假丝酵母菌在 2016—2019 年对伊曲康唑的耐药率最高, 对伏立康唑和氟康唑的药物耐药率相对次之, 对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的药物敏感性最好, 所得样本真菌对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的敏感率几乎保持在 90% 以上, 这是由于伊曲康唑、伏立康唑和氟康唑有良好的抗真菌谱广作用, 且具有对人体较少的不良反应及副作用, 是连云港市第二人民医院临床医生使用较多的抗真菌药物, 另外为了使药物的耐药率相对提高, 临床在预防用药使用抗菌剂的同时也会加用这些抗真菌药物。光滑假丝酵母菌在 2015—2017 年, 对伊曲康唑、两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的耐药率呈现一个上升趋势, 考虑到前期在对真菌感染患者治疗经验不足, 依赖于疗效好的抗菌谱较广的药物, 因而前

3 年的耐药率逐年上升。之后几年应对真菌感染的临床经验有所提高, 临床医师合理确定药物的剂量和疗程, 避免了抗菌药物的滥用, 使得药物耐药率有所改善。

从连云港市第二人民医院的真菌感染来分析, 在前期, 临床主要把重点放在细菌感染的诊断和治疗中, 对于真菌感染方面还没有系统的认识, 造成前期对真菌的检出不足, 同时临床上依赖广谱抗菌药物, 导致耐药率的不断提升。在采集样本时, 也缺乏对无菌体液样本的重视, 忽视了其中重要临床价值。在及时发现问题后, 医院及时改进, 临床医师与检验科共同提高对真菌感染的重视, 使得耐药率有所改善, 也为连云港市第二人民医院应对真菌感染问题提供了宝贵经验。综合连云港市第二人民医院对 3 种常见真菌耐药性的分析, 发现伊曲康唑、伏立康唑和氟康唑作为医院临床医师的常用药物, 他们的耐药率均处于一个较高的水平, 虽然两性霉素 B 和氟胞嘧啶敏感性较高并且联用有协同作用, 但两者的毒性副作用大及不良反应多见使得临床依然对之慎用。

间断性或连续低剂量使用药物会导致真菌产生耐药性, 因而合理确定药物的剂量和疗程, 盲目用药和滥用药必须在治疗深部真菌病时被制止^[10]。改善感染宿主的免疫功能是防止真菌耐药性产生的主要措施^[11-12], 合理地预防性用药, 也有助于解决真菌感染, 有望在大量真菌感染前清除真菌。联合用药在临床上也有助于治疗真菌感染。在抗细菌、抗结核、抗病毒和抗肿瘤化疗中, 经常联合使用多种作用于相同或不同靶点的药物以提高疗效^[13-14]。因此, 临床科室和微生物实验室都应高度重视真菌病原学检查及耐药性监测, 尽早诊断, 并及时、合理地使用抗真菌药物, 以降低感染率和死亡率。对于临床真菌耐药率的控制, 任重而道远。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘伟. 我国重要病原性真菌的耐药性研究现状 [J]. 微生物与感染, 2017, 12(1): 2-7.
- [2] Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(Suppl 6): 5-10.
- [3] 秦茹, 姜函, 郑玉强. 某院 2015—2018 年住院患儿深部真菌感染的菌群分布及耐药性分析 [J]. 现代医药卫生, 2020, 36(11): 1601-1603.

- [4] 黄婷婷, 万小旭, 刘 丹, 等. 住院患者真菌感染的菌群分布及耐药性分析 [J]. 实用药物与临床, 2017, 20(1): 88-90.
- [5] Suleyman G, Alangaden G J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention [J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2016, 30(4): 1023-1052.
- [6] Brown G D, Denning D W, Levitz S M. Tackling human fungal infections [J]. *Science*, 2012, 336(6082): 647.
- [7] 张京家, 肖 盟, 张 戈, 等. 2011 年中国侵袭性假丝酵母种类及药物敏感性监测 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(14): 2081-2085.
- [8] 周庭银, 倪语星. 临床微生物检验标准化操作 ISO15189 认可指导书 [J]. 检验医学, 2009, 24(11): 780.
- [9] Riera F O, Caeiro J P, Denning D W. Burden of serious fungal infections in argentina [J]. *J Fungi (Basel)*, 2018, 4(2): 51.
- [10] 刘锦燕, 项明洁. 抗真菌药物敏感性试验方法研究进展 [J]. 检验医学, 2009, 24(12): 927-931.
- [11] Nailis H, Vandenbosch D, Deforce D, *et al.* Transcriptional response to fluconazole and amphotericin B in *Candida albicans* biofilms [J]. *Res Microbiol*, 2010, 161(4): 284-292.
- [12] 刘洪涛, 张军东, 曹永兵, 等. 真菌耐药性研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2003, 38(5): 328-331.
- [13] 汪倩钰, 李从荣, 郭 静. 武汉某院住院患者无菌体液真菌感染临床分布及耐药性分析 [J]. 检验医学, 2019, 34(7): 591-594.
- [14] Ktari N, Bkhairia I, Nasri M, *et al.* Structure and biological activities of polysaccharide purified from Senegrain seed [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 144: 190-197.

[责任编辑 高 源]