

2014—2017 年解放军总医院海南分院真菌分布及耐药性分析

沈绍清¹, 于 帅², 陈怡君¹, 蔡 芸^{3*}

1. 解放军总医院海南分院 药剂科, 海南 三亚 572013

2. 解放军总医院海南分院 检验科, 海南 三亚 572013

3. 解放军总医院 药学部 药物临床研究中心, 北京 100853

摘要: 目的 了解 2014—2017 年解放军总医院海南分院真菌的分布和耐药特点, 为促进抗真菌药的合理应用、有效减缓真菌耐药提供参考。方法 提取解放军总医院海南分院 2014 年 1 月—2017 年 12 月临床真菌分离和药敏相关数据, 分析真菌的分布特征及其对常用抗真菌药的耐药率和变化趋势。结果 共纳入 1 048 份阳性真菌样本, 呼吸道标本占 41.89%, 60 岁以上患者 (61.45%) 和重症医学科 (25.48%) 分布比例最高; 共分离出 1 329 株真菌, 白色念珠菌、念珠菌属、热带念珠菌分别占 24.53%、15.80%、13.69%。各种念珠菌对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的敏感率基本保持在 90% 以上; 热带念珠菌对伊曲康唑耐药率最高, 达 10%~20%, 对氟康唑和伏立康唑的耐药率亦高于两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶; 白色念珠菌对伊曲康唑和伏立康唑的耐药率呈逐年快速上升趋势。结论 白色念珠菌和热带念珠菌感染应慎用唑类抗真菌药; 两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶是念珠菌感染的有效选择。

关键词: 真菌; 热带念珠菌; 抗真菌药; 耐药性; 感染

中图分类号: R978.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2019)01-0252-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.01.054

Analysis on distribution and drug resistance of fungal in Hainan branch of PLA General Hospital from 2014 to 2017

SHEN Shao-qing¹, YU Shuai², CHEN Yi-jun¹, CAI Yun³

1. Department of Pharmacy, Hainan Branch of PLA General Hospital, Sanya 572013, China

2. Clinical laboratory, Hainan Branch of PLA General Hospital, Sanya 572013, China

3. Center of Medicine Clinical Research, Department of Pharmacy, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

Abstract Objective To investigate the distribution and drug resistance of fungal in Hainan branch of PLA General Hospital from 2014 to 2017, and to provide reference for promoting the rational use of antifungal drugs and effectively alleviating fungal resistance.

Methods According to the data on clinical isolates and drug susceptibility from January 2014 to December 2017 in Hainan branch of PLA General Hospital, the distribution characteristics and the resistance profile of fungi were analyzed, as well as the trend. **Results** Among the 1 048 samples of culture-positive fungal, most of them were isolated from respiratory tract (41.89%). Patients over 60 years old (61.45%) and patients in ICU (25.48%) took the higher proportion. Among the 1 329 strains of fungal, *Candida albicans*, *Candida spp.*, and *C. tropicalis* accounted for 24.53%, 15.80%, and 13.69%, respectively. The sensitive rate of various candida to amphotericin B and 5-fluorouracil remained above 90%. The resistance rate of *C. tropicalis* against itraconazole was the highest, up to 10%—20%. And the resistant rate of *C. tropicalis* against fluconazole and voriconazole were higher than those of amphotericin B and 5-fluorouracil. And the resistant rate of *C. albicans* against itraconazole and voriconazole was increased rapidly year by year.

Conclusion The pyrroles antifungal agents should be used with caution for the infection of *C. albicans* and *C. Tropicalis*. Amphotericin B and 5-fluorouracil are effective candidates for *Candida species* infections.

Key words: fungal; *Candida tropicalis*; antifungal agents; resistance; infection

收稿日期: 2018-08-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573472、81770004); 解放军总医院海南分院临床科研扶持基金项目 (2018FC-WJFWZX-1-15)

作者简介: 沈绍清, 男, 硕士, 药师, 主要从事药理和临床药学研究。E-mail: shenshaoqing0521@126.com

*通信作者 蔡 芸, 女, 博士, 副研究员, 主要从事抗感染临床药理研究。E-mail: caicai_hh@126.com

随着广谱抗菌药物的大量使用,以及抗肿瘤、造血干细胞移植治疗等带来的免疫抑制剂的广泛应用,真菌感染的机会大大增加^[1]。控制侵袭性真菌感染和其耐药问题成为感染性疾病治疗中的又一重要任务。解放军总医院海南分院地处海南三亚,当地为我国唯一的热带省份城市,属热带海洋性季风气候,常年处于高温、高湿环境,较适宜真菌生长^[2],真菌分布及耐药特点可能与大陆北方地区存在差异。为此,本文通过对解放军总医院海南分院 2014 年 1 月—2017 年 12 月临床分离真菌的分布和耐药特征进行分析,为促进抗真菌药的合理应用、有效减缓真菌耐药提供参考。

1 资料和方法

1.1 资料来源

资料来源于解放军总医院海南分院 2014 年 1 月—2017 年 12 月住院患者送检微生物样本数据。纳入标准:真菌送检样本。排除标准:来源、患者性别、年龄、送检科室等信息不全样本;从免疫力正常人群培养出念珠菌的呼吸道样本^[3];同一患者相同部位的重复分离菌株。

1.2 方法

血液及无菌体液样本采用法国梅里埃公司 BcaT/AletT 3D 240 全自动血培养仪及配套培养瓶培养,转种采用沙氏培养基;非无菌部位样本采用沙氏培养基培养。念珠菌属采用玉米培养基和法国科马嘉显色培养基联合鉴定,菌种采用梅里埃 VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统及配套真菌鉴定卡鉴定;丝状真菌采用棉兰染色,镜下形态学鉴定。念珠菌药敏试验采用梅里埃 ATB FUNG3 微量稀释法进行;丝状真菌不进行药敏试验。念珠菌药敏结果根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI) M27-S4 标准^[4]进行判读。质控菌株为白色念珠菌 ATCC6258、克柔念珠菌 ATCC14053,来源于卫生部临床检验中心。

1.3 统计学处理

采用 Excel 2007 软件对细菌耐药监测数据进行统计处理。

2 结果

2.1 真菌样本来源

2.1.1 样本来源分布 2014—2017 年,共送检住院患者微生物样本 14 535 份,按入排标准评估后最终纳入本研究的真菌样本 5 704 份。纳入样本中,培养阳性 1 048 份,阳性率为 18.37%。阳性标本中,

来自呼吸道的标本数量最多,为 439 份(占 41.89%);其次分别为尿液标本 231 份(占 22.04%);伤口脓液标本 165 份(占 15.74%);血液标本 99 份(占 9.45%),见表 1。

2.1.2 患者年龄分布 阳性样本中,男性患者 591 例(占 57.71%),女性患者 457 例(占 44.63%);小于 18 岁患者 29 例(占 2.77%),18~60 岁患者 375 例(占 35.78%),大于 60 岁患者 644 例(占 61.45%),患者年龄分布见表 2。

2.1.3 样本的送检科室分布 样本送检数量前 3 位的科室分别为重症医学科 267 份(占 25.48%),呼吸内科 161 份(占 15.36%),血液科 143 份(占 13.65%),真菌样本的送检科室分布见表 3。

2.2 真菌构成分布

2014—2017 年,共从 1 048 份培养阳性样本中分离真菌 1 329 株。检出率前 5 位的真菌分别为白色念珠菌(24.53%)、念珠菌属(15.80%)、热带念珠菌(13.69%)、曲霉(8.65%)、近平滑念珠菌(1.18%),其中热带念珠菌检出率逐年下降,而曲霉检出率则逐年上升。2014—2017 年真菌构成及变化趋势见表 4。

表 1 真菌样本来源分布

Table 1 Source distribution of fungal samples

样本	n/株	构成比/%
呼吸道	439	41.89
尿液	231	22.04
伤口脓液	165	15.74
血液	99	9.45
生殖道分泌物	32	3.05
脑脊液等其他无菌体液	17	1.62
粪便	10	0.95
其他	55	5.25
合计	1 048	100.00

表 2 患者年龄分布

Table 2 Age distribution of patients

年龄/岁	n/株	构成比/%
<18	29	2.77
18~60	375	35.78
>60	644	61.45
合计	1 048	100.00

表 3 真菌样本的送检科室分布

Table 3 Department distribution of fungal samples

科室	n/株	构成比/%
重症医学科	267	25.48
呼吸内科	161	15.36
血液科	143	13.65
消化内科	104	9.92
急诊科	80	7.63
普通外科	59	5.63
神经外科	51	4.87
妇产科	50	4.77
肾内科	45	4.29
泌尿外科	43	4.10
其他	45	4.29
合计	1 048	100.00

2.3 主要真菌对常用抗真菌药的耐药性

2.3.1 白色念珠菌对抗真菌药的耐药性 白色念珠菌对伊曲康唑的敏感性较差,伏立康唑次之,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 5。

2.3.2 热带念珠菌对抗真菌药的耐药性 热带念珠菌对常用抗真菌药的敏感性较白色念珠菌差,4 年间耐药率变化无明显规律;对伊曲康唑的耐药率相对最高,为 10%~20%,中介耐药较为明显;对氟康唑和伏立康唑的亦有一定程度的耐药,耐药率约 10%;对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的敏感性最好,敏感率几乎保持在 90%以上。见表 6。

2.3.3 近平滑念珠菌对抗真菌药的耐药性 近平滑念珠菌对常用抗真菌药的敏感性与白色念珠菌相当,4 年间敏感率几乎维持在 90%以上,波动不明显;对氟康唑、伏立康唑及两性霉素 B 的敏感性最高,少有耐药菌株,对伊曲康唑的敏感率相对低,且有一定程度中介耐药,见表 7。

表 4 2014—2017 年真菌构成及变化趋势

Table 4 Constituent ratio and trend of fungal from 2014 to 2017

真菌种类	2014 年		2015 年		2016 年		2017 年		合计	
	数量	构成比/%	数量	构成比/%	数量	构成比/%	数量	构成比/%	数量	构成比/%
白色念珠菌	58	34.52	84	26.92	118	29.72	66	14.60	326	24.53
念珠菌属	12	7.14	31	9.94	33	8.31	134	29.65	210	15.80
热带念珠菌	32	19.05	56	17.95	39	9.82	55	12.17	182	13.69
近平滑念珠菌	16	9.52	20	6.41	46	11.59	26	5.75	108	8.13
无名念珠菌	6	3.57	20	6.41	17	4.28	8	1.77	51	3.84
光滑念珠菌	0	0.00	5	1.60	24	6.05	15	3.32	44	3.31
曲霉	9	5.36	14	4.49	34	8.56	58	12.83	115	8.65
其他	35	20.83	82	26.28	86	21.66	90	19.91	293	22.05
合计	168	100.00	312	100.00	397	100.00	452	100.00	1 329	100.00

表 5 2014—2017 年白色念珠菌对抗真菌药的耐药率

Table 5 Resistant rate of *C. albicans* to antifungal agents from 2014 to 2017

抗真菌药	2014 年		2015 年		2016 年		2017 年	
	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%
伏立康唑	96.77	3.23	92.31	3.85	90.29	9.71	84.85	12.12
氟康唑	96.77	3.23	92.31	3.85	91.09	1.98	86.36	1.52
5-氟胞嘧啶	100.00	0	88.00	0	97.03	1.98	95.45	1.52
伊曲康唑	80.65	6.45	82.69	7.69	75.49	9.80	60.61	18.18
两性霉素 B	90.32	3.23	96.15	3.85	97.06	0	93.94	0

表 6 2014—2017 年热带念珠菌对抗真菌药的耐药率

Table 6 Resistant rate of *C. tropicalis* to antifungal agents from 2014 to 2017

抗真菌药	2014 年		2015 年		2016 年		2017 年	
	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%
伏立康唑	86.67	13.33	87.18	4.95	80.77	15.38	80.77	7.69
氟康唑	80.00	13.33	76.92	7.50	80.00	16.00	76.00	12.00
两性霉素 B	92.86	7.14	97.50	1.00	100.00	0	88.00	4.00
5-氟胞嘧啶	100.00	0	97.50	0	100.00	0	92.00	0
伊曲康唑	26.67	20.00	61.54	11.36	44.00	16.00	52.00	12.00

表 7 2014—2017 年近平滑念珠菌对抗真菌药的耐药率

Table 7 Resistant rate of *C. parvius* to antifungal agents from 2014 to 2017

抗真菌药	2014 年		2015 年		2016 年		2017 年	
	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%	敏感率/%	耐药率/%
伏立康唑	100.00	0	88.24	5.88	100.00	0	100.00	0
氟康唑	100.00	0	88.24	0	96.77	0	100.00	0
两性霉素 B	100.00	0	94.12	0	100.00	0	100.00	0
5-氟胞嘧啶	100.00	0	100.00	0	93.55	3.23	100.00	0
伊曲康唑	90.00	0	70.59	0	87.10	3.23	95.24	0

3 讨论

3.1 真菌样本来源分析

2014—2017 年真菌阳性样本来源以呼吸道标本最多, 占 41.89%, 其次分别为尿液 22.04%, 与 CHINET^[5-8] 同期微生物样本分布水平相当, 而血液和脑脊液等其他无菌体液分别仅占 9.45%、1.62%, 明显低于 CHINET 同期水平。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, 本院在强调规范采集、送检标本的同时, 应进一步提高无菌标本的送检率。

在真菌阳性样本临床特点方面, 男性多于女性, 年龄大于 60 岁的人群最多。这一方面受当地气候和旅游因素影响, 本院收治患者多为旅游及冬休度假的“候鸟人群”的老年人有关; 另一方面与老年患者抵抗力差、免疫力较弱, 易患感染性疾病有关^[9]。真菌阳性样本来源科室以重症医学科、呼吸内科及血液科为主, 这一方面与科室收治患者多以感染性疾病为主, 另一方面与患者存在基础疾病多、恶性肿瘤、营养状况差、辅助机械通气、留置导管、住院时间长, 以及大量使用广谱抗菌药物、免疫抑制剂、糖皮质激素和接受造血干细胞移植等真菌感染

高危因素有关^[10]。

3.2 真菌构成分布及变迁特点分析

本院真菌以念珠菌属为主, 其中白色念珠菌检出率最高; 非白念珠菌中, 以热带念珠菌和近平滑念珠菌为主, 与首都医科大学附属北京地坛医院报道情况一致^[11]。本院热带念珠菌占有念珠菌属的 19.51%, 该比例高于我国 10 家监测中心报道^[12]的 15.7%, 亦高于解放军总医院 (以下简称“院本部”) 14.35% 的水平, 可能与本院地处热带造成的差异有关。ARTEMI 研究显示, 热带念珠菌分布存在显著的地域差异, 其检出率以拉丁美洲 (13.2%)、亚太 (11.7%) 等热带地区最高, 高于全球的 7.7%, 而地处温带的欧洲地区最低 (4.9%)^[13]。2014—2017 年本院白色念珠菌检出率逐年下降, 而曲霉检出率逐年上升, 值得临床关注。

3.3 真菌耐药特点及变化趋势分析

从整体看, 除白色念珠菌、热带念珠菌对伊曲康唑的敏感性相对较差外, 其他抗真菌药仍保持较高抗真菌活性。其中热带念珠菌对常用抗真菌药的耐药率明显高于白色念珠菌和其他非白色念珠菌, 尤以伊曲康唑为著, 与院本部及有关报道相似^[14]。伊曲康唑对各种念珠菌活性普遍低于两性霉素 B、5-氟胞嘧啶及其他唑类抗真菌药, 热带念珠菌对其

敏感率仅为 21.67%~61.54%，低于院本部水平（2016 年约 70%）。唑类抗真菌药对念珠菌属的耐药率呈逐年降低趋势，而两性霉素 B 对其始终保持高度敏感，可能与唑类抗真菌药耐受性较两性霉素 B 好，且具备口服剂型，临床应用广泛有关；另外，可能与伊曲康唑口服生物利用度相对较低^[15]，因治疗浓度不足而诱导真菌耐药，并对唑类抗真菌药交叉耐药有关^[16]。因此，对于念珠菌属尤其是白色念珠菌和热带念珠菌感染，临床应慎用唑类抗真菌药，可酌情选用两性霉素 B 或 5-氟胞嘧啶。目前认为唑类抗真菌药的耐药机制为：作用靶点 ERG 11 基因过度表达，降低了与药物的亲和力^[17]；药物外排机制导致细胞内药物浓度降低^[18]；真菌生物被膜的形成^[19]等。

目前，解放军总医院海南分院尚未开展棘白菌素类抗真菌药（如卡泊芬净等）的敏感性试验，而棘白菌素本身对念珠菌有较好的抗菌活性，被推荐作为念珠菌血症治疗的首选药物^[20]，应对其耐药性进行监测，以合理应用之，提高疗效，减少耐药。另外，在曲霉检出率不断升高的形势下，亟待建立适宜的药敏试验方法，以正确评估其耐药特点，指导临床合理选择抗真菌药，有效治疗曲霉感染。

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] 王美璐, 匡慧慧, 程龙灿, 等. 海南热带地区恶性血液病患者肺部真菌和其他病原菌感染特征单中心分析 [J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(3): 911-916.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 下呼吸道感染细菌培养操作指南 [S]. WS/T 499-2017, 2017: 11.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard [S]. 2013: M27-S4.
- [5] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.
- [6] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2015 年中国 CHINET 细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2016, 16(6): 685-694.
- [7] 胡付品, 朱德妹, 郭燕, 等. 2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.
- [8] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2017 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2018, 18(3): 241-251.
- [9] Marwick C A, Yu N, Lockhart M C, et al. Community-associated *Clostridium difficile* infection among older people in Tayside, Scotland, is associated with antibiotic exposure and care home residence: cohort study with nested case-control [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(12): 2927-2933.
- [10] Yang S P, Chen Y Y, Hsu H S, et al. A risk factor analysis of healthcare-associated fungal infections in an intensive unit: a retrospective cohort study [J]. *MBC Infect Dis*, 2013, 13: 10.
- [11] 徐新民, 李敏, 李瑞红, 等. 399 株医院真菌感染的分布特点及耐药性分析 [J]. 首都医科大学学报, 2016, 37(4): 500-503.
- [12] 范欣. 中国多中心连续五年侵袭性感染热带念珠菌流行病学及唑类耐药机制研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [13] Pfaller M A, Diekema D J, Gibbs D L, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida Species* to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion [J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(4): 1366-1377.
- [14] 魏凌, 夏文颖, 王珏, 等. 2013—2015 年真菌血流感染病原真菌分布及药敏分析 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(3): 256-259.
- [15] 中国医学教育协会感染疾病专业委员会. 抗菌药物药代动力学/药效学临床应用专家共识 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(6): 409-446.
- [16] Liu W, Tan J, Sun J, et al. China-SCAN team. Invasive candidiasis in intensive care units in China: *in vitro* antifungal susceptibility in the China-SCAN study [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(3): 162-167.
- [17] Alizadeh F, Khodavandi A, Zalakian S. Quantitation of ergosterol content and gene expression profile of ERG11 gene in fluconazole-resistant *Candida albicans* [J]. *Curr Med Mycol*, 2017, 3(1): 13-19.
- [18] Jensen R H, Astvad K M, Silva L V, et al. Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance *in vivo* in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(9): 2551-2555.
- [19] Zeng B, Li J, Wang Y, et al. *In vitro* and *in vivo* effects of suloctidil on growth and biofilm formation of the opportunistic fungus *Candida albicans* [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(41): 69972-69982.
- [20] Pappas P G, Kauffman C A, Andes D R, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the infectious diseases society of America [J]. *Clin Infect Dis*, 2016, 62(4): e1-e50.