

重症监护室患者体外插管假丝酵母菌属鉴定及耐药性分析

樊 昕,任晓萍,杜丽颖,王聪敏,杨蓉娅

(北京军区总医院全军皮肤病诊治中心,北京 100125)

[摘要] **目的** 了解某医院重症监护室(ICU)患者实施体外插管中真菌感染及其耐药情况。**方法** 采集该院 ICU84 例患者的各种插管标本 161 份,将其接种于假丝酵母菌显色培养基,API 20C AUX 鉴定试剂盒作菌株鉴定,ATB FUN-3 药敏测试试剂盒进行药敏试验。**结果** 161 份标本中检出真菌 98 株(60.87%),以白假丝酵母菌(52 株,53.06%)为主,其余依次为热带假丝酵母菌(14 株,14.29%)、光滑假丝酵母菌(11 株,11.22%)、近平滑假丝酵母菌(9 株,9.18%)和克柔假丝酵母菌(12 株,12.25%)。其中呼吸道插管分离 60 株(61.22%),留置导尿管 25 株(25.51%),静脉插管 13 株(13.27%)。分离菌株对 5-氟胞嘧啶、两性霉素 B 和伏立康唑的耐药率均 <10%,对伊曲康唑的耐药率为 12.24%;而光滑假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌对氟康唑的耐药率均 >45%。**结论** ICU 患者各种插管中真菌感染以白假丝酵母菌为主;呼吸道插管感染率最高;各类假丝酵母菌对 5-氟胞嘧啶、两性霉素 B 和伏立康唑耐药性较低,而对氟康唑耐药性较高。

[关键词] 重症监护室;侵入性操作;真菌感染;假丝酵母菌属;抗药性;微生物;抗真菌药;插管

[中图分类号] R379.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2010)06-0396-04

Identification and drug-resistance analysis on *Candida spp.* isolated from external intubator used by ICU patients

FAN Xin, REN Xiao-ping, DU Li-ying, WANG Cong-min, YANG Rong-ya (Department of Dermatology, The Military General Hospital of Beijing PLA, Beijing 100125, China)

[Abstract] **Objective** To investigate fungal infection and drug resistance of fungi in ICU patients with external intubation. **Methods** 161 specimens of intubator used by 84 ICU patients in a hospital were collected, and specimens were inoculated on Candidal chromogenic medium, all strains were identified by API 20C AUX Kit, and drug sensitivity test were performed by ATB FUN-3 Kit. **Results** Ninety-eight (60.87%) fungus strains were isolated from 161 specimens, most of which were *Candida albicans* (52, 53.06%), the next were *Candida tropicalis* (14, 14.29%), *Candida glabrata* (11, 11.22%), *Candida parapsilosis* (9, 9.18%), and *Candida krusei* (12, 12.25%). Sixty strains (61.22%) were isolated from respiratory intubator, 25 (25.51%) from urethral catheter and 13 (13.27%) from venous cannula. Drug-resistant rate of isolated strains to 5-fluorocytosine, amphotericin B, and voriconazole were all <10%, resistant rate to itraconazole was 12.24%; resistant rate of *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida krusei* to fluconazole were all >45%. **Conclusion** *Candida albicans* is the main fungi in infection caused by external intubation; fungal infection rate in patients undergoing respiratory intubation is high than patients undergoing the other external intubation; All kinds of *Candida* have low drug-resistance to 5-fluorouracil, amphotericin B and fluconazole and have high drug-resistance to fluconazole.

[Key words] intensive care unit; invasive operation; fungal infection; *Candida spp.*; drug-resistance, microbial; antifungal drug; intubation

[Chin Infect Control, 2010, 9(6): 396-399]

[收稿日期] 2010-07-02

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30700038)
中国博士后科研基金面上项目(20080441270)
中国博士后科研基金特别资助项目(200801039)

[作者简介] 樊昕(1976-),男(汉族),陕西省西安市人,主治医师,主要从事真菌感染及其耐药性研究。

[通讯作者] 杨蓉娅 E-mail: yangrya@sina.com

重症监护室(ICU)患者与普通病房患者相比较,发生医院获得性感染的概率明显提高,尤其真菌感染发生率逐年增加,占医院感染的 19%^[1]。ICU 的危重患者,由于人工呼吸机、留置静脉导管、广谱抗菌药物和肾上腺糖皮质激素等的广泛使用,使得深部真菌感染的机会明显增加,真菌感染的发病率和病死率均明显高于普通病房。此外,由于 ICU 患者需要进行一些体外插管进行相关治疗,故了解相关插管中真菌感染的种类和对药物的敏感性,对合理应用抗真菌药物,减少其不良反应及耐药性具有重要意义。为此,笔者收集了 2009 年 1 月—2010 年 2 月本院 ICU 各种体外插管患者资料,对其真菌感染及耐药状况进行分析;同时结合患者临床资料,对医院 ICU 体外插管的真菌感染发病率、病原谱和耐药性等进行研究。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集本院 ICU2009 年 1 月—2010 年 2 月住院患者资料,剔除标准^[2]:(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 48 h 内出现感染症状,经病原学检查证实为真菌感染者;(3)入院 1 周内即死亡者。共 84 例患者入选,其中男性 51 例(60.71%),女性 33 例(39.29%);平均年龄为(62.12±7.25)岁;原发疾病为:下呼吸道感染或呼吸衰竭 39 例(46.43%),心血管疾病(心肌梗死、心律失常、心力衰竭等)30 例(35.71%),神经外科疾病(脑出血、脑外伤、脊髓损伤等)术后 15 例(17.86%);17 例(20.24%)合并有糖尿病史。所有患者均使用广谱抗菌药物。

1.2 标本采集 采集 84 例患者的各种插管标本 161 份,包括呼吸道插管(79 份,49.07%)、留置导尿管(54 份,33.54%)和中心静脉留置导管(28 份,17.39%)表面物质或导管尖端,进行真菌培养和药敏试验。剔除患者同一部位重复分离的菌株。

1.3 培养所用材料 法国科玛嘉假丝酵母菌显色培养基;API 20C AUX 鉴定试剂盒和 ATB FUN-3 药敏测试试剂盒;抗真菌药物:5-氟胞嘧啶、两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑。

1.4 方法

1.4.1 分离与鉴定 标本接种于假丝酵母菌显色培养基,30℃培养 24~48 h,记录生长的酵母样真

菌和菌落形态特征及颜色,初步判断显色真菌的种属。然后挑取分纯的菌落,用 API 20C AUX 鉴定试剂盒按操作说明要求进行操作,培育 24~48 h 后进行鉴定分型,连续 3 次阳性,且菌种相同者确诊。质控菌株为 ATCC 90028 白假丝酵母菌,购自北京国家菌种保藏中心。

1.4.2 药敏试验及判断标准 挑取分纯的酵母样真菌菌落,采用 ATB Fungus2 微量药敏试剂盒,按操作说明要求进行操作,培育 24 h 判断结果,记录最低抑菌浓度(MIC)值。参照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)M-27A 的真菌药敏标准^[3]判定分界值,见表 1。

表 1 假丝酵母菌属药物敏感试验参考标准(mg/L)

Table 1 Standards of drug sensitive test of *Candida spp.* (mg/L)

抗真菌药物	S	I	R
5-氟胞嘧啶	≤4	8~16	≥32
两性霉素 B	≤1	-	≥2
氟康唑	≤8	16~32	≥64
伊曲康唑	≤0.125	0.25~0.50	≥1
伏立康唑	≤1	2	≥4

S:敏感;I:中介;R:耐药

1.5 统计方法 采用 WHO 推荐的 Whonet5.4 统计软件对药敏结果进行统计分析。

2 结果

2.1 检出真菌种类及其感染来源 161 份标本中检出真菌 98 株,检出率 60.87%。其中最常见的是白假丝酵母菌(52 株,53.06%),其余依次为热带假丝酵母菌(14 株,14.29%)、光滑假丝酵母菌(11 株,11.22%)、近平滑假丝酵母菌(9 株,9.18%)和克柔假丝酵母菌(12 株,12.25%)。菌株主要分离自呼吸道插管(60 株,61.22%)和留置导尿管(25 株,25.51%),余见表 2。

2.2 药敏试验 98 株真菌对 5-氟胞嘧啶、两性霉素 B 和伏立康唑的耐药率均<10%,对伊曲康唑的耐药率为 12.24%,而光滑假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌对氟康唑的耐药性相对较高,均>45%,见表 3。

表 2 真菌感染来源及其种类(株,%)

Table 2 The sources and species of fungal infection (strain,%)

插管类别	白假丝酵母菌	热带假丝酵母菌	光滑假丝酵母菌	近平滑假丝酵母菌	克柔假丝酵母菌	合计
呼吸道插管	28(28.57)	11(11.23)	8(8.16)	5(5.10)	8(8.16)	60(61.22)
留置导尿管	15(15.31)	3(3.06)	1(1.02)	3(3.06)	3(3.06)	25(25.51)
静脉插管	9(9.18)	0(0.00)	2(2.04)	1(1.02)	1(1.02)	13(13.27)
合计	52(53.06)	14(14.29)	11(11.22)	9(9.18)	12(12.25)	98(100.00)

表 3 98 株真菌对抗真菌药物的耐药情况(耐药株,%)

Table 3 Drug-resistance of 98 fungal isolates to antifungal agents (resistant strain, %)

真菌	5-氟胞嘧啶	两性霉素 B	氟康唑	伊曲康唑	伏立康唑
白假丝酵母菌(n=52)	4(7.69)	5(9.62)	12(23.08)	7(13.46)	2(3.85)
热带假丝酵母菌(n=14)	1(7.14)	1(7.14)	4(28.57)	2(14.29)	0(0.00)
光滑假丝酵母菌(n=11)	0(0.00)	0(0.00)	5(45.45)	1(9.09)	0(0.00)
近平滑假丝酵母菌(n=9)	0(0.00)	0(0.00)	7(77.78)	0(0.00)	0(0.00)
克柔假丝酵母菌(n=12)	0(0.00)	0(0.00)	10(83.33)	2(16.67)	0(0.00)
合计(n=98)	5(5.10)	6(6.12)	38(38.78)	12(12.25)	2(2.04)

3 讨论

美国医院感染监测系统(National Nosocomial Infection Surveillance System, NNIS)的研究表明^[4],ICU 的医院真菌感染率较普通病房高出很多,分析原因可能在于:(1) ICU 患者病情危重;(2) 大部分患者年老体弱,基础疾病(糖尿病、冠心病、慢性阻塞性肺病等)多,免疫功能低下;(3) 多数患者需长期反复使用多种广谱抗菌药物或进行大剂量肾上腺糖皮质激素治疗;(4) 接受有创诊治措施较多,如建立人工气道、留置导尿管和中心静脉导管等。假丝酵母菌属感染是真菌感染中最常见的,其最常见的原发感染依次为呼吸道、泌尿生殖道、静脉导管置管、消化道、腹腔、皮肤、软组织等^[5]。越来越多的体外插管会明显增加真菌感染的机会,为此,我们收集 84 例 ICU 患者各种体外插管标本 161 份,结合患者临床资料进行分析,从中探讨 ICU 真菌感染的流行病学特点,为综合性诊断和治疗提供依据。

本研究发现,白假丝酵母菌仍是真菌感染中最常见的致病菌,占 53.06%。但近年来,不少学者观察到真菌感染的种类有较大变化,白假丝酵母菌比例较前下降,而热带假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌、光滑假丝酵母菌的比例均不同程度上升。本研究中检出热带假丝酵母菌 14 株(14.29%),仅次于白假丝酵母菌,这与全球多中心酵母菌的监测结果相符,但光滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌所占比例均低于相关报道^[6]。这可能与本研究时间短,样本数量少等,造成其他假丝酵母菌属比例下降等因

素有关。虽然克柔假丝酵母菌的毒力比白假丝酵母菌弱,但它对非生物表面的黏附力却非常强大,能凭借细胞表面疏水性附着于无生命物质的表面并繁殖。这种现象常在植入物(如导尿管、人工心脏瓣膜、心率调整器、硅树脂制成的假体、气管内插管、脑脊液分流管道等)中出现^[7]。这与本研究发现在 ICU 患者体外插管分离培养出克柔假丝酵母菌的比例高于国内其他相关报道^[8]相符合。

随着真菌感染率的不断上升,真菌病治疗也面临着严峻的挑战,因为真菌感染的患者通常病情复杂且严重,有较高的死亡率,抗真菌药物可选择范围不大,若不进行真菌体外药敏试验,有可能遇到耐药株,将贻误患者的治疗,影响预后。本研究中的真菌药敏试验结果提示,目前真菌耐药率较低的抗真菌药物分别是 5-氟胞嘧啶(5.10%)、伏立康唑(2.04%)和两性霉素 B(6.12%),其耐药性均 < 10%,而国内外研究中作为经验性抗真菌首选的氟康唑,在本研究中耐药率较高,尤其是光滑假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌和克柔假丝酵母菌对其的耐药率分别达到了 45.45%、77.78% 和 83.33%。分析原因,主要与临床广泛小剂量预防性应用氟康唑和近年来非白假丝酵母菌比例显著升高有关^[9]。有学者发现 ICU 中患者病死率与年龄、休克、抗真菌治疗,特别是与各种体外插管有关^[10]。因此,我们必须加强对医院内真菌感染的认识,除了进行真菌培养明确菌种外,更提倡早期进行真菌的涂片检查,以明确是否存在真菌感染,做到早期诊断和治疗;同时规范抗菌药物的使用,合理应用抗真菌药,防止耐药菌株的出现,以期在最安全和最经济的条

件下获得最佳疗效。

由于某些插管是在紧急条件下进行的无菌操作不严格,如肺动脉、外周动脉插管,测定血流动力学参数及采血等医疗操作频率高,污染和继发感染的危险大。体外插管导致真菌感染的主要影响因素包括导管的材质和真菌的毒力、黏附力。为了预防各种插管后真菌感染,关键是严格执行无菌操作,防止交叉感染,有以下要点需要注意:(1)对插管的医生和护理导管的护士进行相关教育及培训;(2)留置导管的过程中,实施最大可能的无菌操作;(3)2%氯己定制剂消毒皮肤预防感染效果最好;(4)常规更换体外导管不是预防感染的有效措施;(5)常规预防措施实施后,感染概率若仍居高不下,可考虑使用抗感染药物封管。对真菌感染,除了积极控制病原体外,还应提高真菌的检测水平,达到早期诊断和及时治疗,并且应根据临床微生物实验室的体外药敏试验结果选择临床用药。

[参考文献]

[1] Vincent J L, Rello J, Marshall J, *et al.* International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units [J]. *JAMA*, 2009, 302(21): 2323 - 2329.
 [2] 尹有宽,张继明,黄玉仙,等. 医院内深部真菌感染的前瞻性调查[J]. *中华医院感染学杂志*, 2004, 14(11): 1308 - 1310.

[3] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved Standard M27-A[J]. Lancaster Avenue, Villanova, Pennsylvania: NCCLS, 1997: 1 - 12.
 [4] Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, *et al.* Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study[J]. *Intensive Care Med*, 2002, 28(2): 525 - 526.
 [5] Schelenz S. Management of candidiasis in the intensive care unit[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 61(Suppl 1): i31 - i34.
 [6] Wang J L, Chang S C, Hsueh P R, *et al.* Species distribution and fluconazole susceptibility of *Candida* clinical isolates in a medical center in 2002[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2004, 37(4): 236 - 241.
 [7] Boutilier P, Carr A. Fungal colonization and failure of a long-term gastrostomy tube in a cat[J]. *Can Vet J*, 2005, 46(8): 709 - 710.
 [8] 朱葵向,兰蕾. 134 株真菌鉴定及药敏结果分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2008, 18(11): 1634 - 1636.
 [9] Mohan das V, Ballal M. Proteinase and phospholipase activity as virulence factors in *Candida* species isolated from blood[J]. *Rev Iberoam Micol*, 2008, 25(4): 208 - 210.
 [10] Almirante B, Rodriguez D, Park B J, *et al.* Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, barcelona, Spain, from 2002 to 2003[J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(4): 1829 - 1835.

(上接第 392 页)

[15] 王锐,韩玲,赵伟萍. 20 例输血感染案例引起的思考[J]. *中国输血杂志*, 2002, 15(3): 216 - 218.
 [16] 翁坤荣,林战,李国祥,等. 168 例术后伤口龟分枝杆菌感染的治疗与随访观察[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2004, 27(5): 328 - 331.
 [17] 朱晓东,单炯,周晓琴. 新生儿呼吸机相关性肺炎的临床流行病学分析[J]. *临床儿科杂志*, 2006, 24(9): 743 - 744.
 [18] 刘岭,邓勇,张芳. 一起新生儿感染性腹泻的流行病学调查与分析[J]. *疾病控制杂志*, 2005, 9(3): 287 - 288.
 [19] 李伟. 新生儿脓疱疮感染原因分析及预防[J]. *实用临床医学杂志*, 2001, 15(4): 35 - 38.
 [20] 申田,叶作栋. 135 例医院鼠伤寒沙门菌感染流行因素探讨[J].

中国感染控制杂志, 2004, 3(2): 146 - 147.

[21] 邹宇华,陈少贤,周舒冬. 医务人员防护知识和防护意识与 SARS 感染的关系研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2004, 14(6): 663 - 665.
 [22] 卢小娟,王林甫. 嗜麦芽窄食单胞菌医院感染暴发调查[J]. *中国厂矿医学*, 2006, 19(3): 281 - 282.
 [23] 陈文光,蒋景华,徐勋彪. 一起蒸馏水污染引起鲍曼不动杆菌感染暴发的调查[J]. *浙江预防医学*, 2007, 19(7): 26.
 [24] 储旭东,尹洪波,林钢. 小儿臀部非结核分枝杆菌感染 18 例[J]. *南通医学院学报*, 2004, 24(4): 480 - 481.
 [25] 李妙芳,张淑卿,王彬. 从近几年医院感染暴发事件反思医院感染管理[J]. *中医药管理杂志*, 2009, 17(8): 743 - 744.