

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2016.03.004

· 论 著 ·

老年下呼吸道感染患者痰分离真菌种类及药物敏感性

瞿良¹, 姜昌丽¹, 罗成富², 杨天兰³, 王勤⁴, 朱光旭¹, 李雪梅¹, 李云¹

(1 中国人民解放军昆明总医院, 云南 昆明 650032; 2 云南省武警边防总队医院, 云南 昆明 650032; 3 中国人民武装警察部队云南省总队医院分院, 云南 昆明 650031; 4 成都军区联勤部卫生部信息中心, 四川 成都 610015)

[摘要] **目的** 了解老年患者下呼吸道痰标本中真菌种类分布及药物敏感性, 为预防真菌感染及针对性诊治提供依据。**方法** 收集 2010 年 1 月—2014 年 10 月云南亚高原地区 3 所医院老年患者下呼吸道标本分离的真菌, 对其进行鉴定和药物敏感性试验。**结果** 1 887 株真菌中, 白假丝酵母菌最多, 占 65.18%, 同时, 分离出毛霉菌属(0.69%)、构巢曲霉菌(0.16%)等少见菌株; 分离的菌株对制霉菌素、两性霉素 B 和伊曲康唑的敏感率较高, 分别为 100.00%、90.14% 和 88.98%; 对氟康唑和咪康唑的耐药率较高, 分别为 34.29% 和 36.62%; 5 种常见酵母菌对制霉菌素均敏感, 但白假丝酵母菌、光滑假丝酵母菌对氟康唑、咪康唑的耐药率达 35.94%~40.88%, 白假丝酵母菌对 5-氟胞嘧啶的耐药率为 19.51%。**结论** 对老年人临床抗真菌治疗需要考虑真菌类别及药敏结果。

[关键词] 亚高原; 老年; 下呼吸道; 真菌; 感染; 抗药性; 微生物; 耐药性; 合理用药

[中图分类号] R379 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2016)03-0160-04

Species and antimicrobial susceptibility of fungi isolated from sputum of elderly patients with lower respiratory tract infection

QU Liang¹, JIANG Chang-li¹, LUO Cheng-fu², YANG Tian-lan³, WANG Qin⁴, ZHU Guang-xu¹, LI Xue-mei¹, LI Yun¹ (1 Kunming General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Kunming 650032, China; 2 Yunnan Frontier Corps Hospital of Armed Police, Kunming 650032; 3 Branch of Chinese People's Armed Police Corps General Hospital of Yunnan, Kunming 650031; 4 The Ministry of Health Information Center of Joint Logistics Department in Chengdu Military Command, Chengdu 610015, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the species distribution and antimicrobial susceptibility of fungi isolated from lower respiratory tract(LRT) sputum specimens of elderly patients, and provide evidence for preventing and treating fungal infection. **Methods** Fungi isolated from LRT specimens of elderly patients in 3 hospitals in Yunna subplateau area between January 2010 and October 2014 were collected, identified and performed antifungal susceptibility testing. **Results** Of 1 887 fungal isolates, *Candida albicans* (*C. albicans*) accounted for 65.18%, *Mucor*(0.69%), *Aspergillus nidulans* (0.16%) and other rare strains were isolated; the isolated strains were highly sensitive to nystatin (100.00%), amphotericin B (90.14%), and itraconazole (88.98%); but had higher resistance rates to fluconazole (34.29%) and miconazole (36.62%); five common *Candida* species were all sensitive to nystatin, but resistance rates of *C. albicans* and *C. glabrata* to fluconazole and miconazole were up to 35.94% - 40.88%, resistance rate of *C. albicans* to 5-fluorocytosine was 19.51%. **Conclusion** Fungal species and antifungal susceptibility testing results should be considered in antifungal treatment for elderly patients.

[Key words] subplateau; the elderly; lower respiratory tract; fungus; infection; drug resistance, microbial; drug resistance; rational drug use

[Chin J Infect Control, 2016, 15(3):160-163]

[收稿日期] 2015-06-18

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81170316/H2501); 国家自然科学基金项目(31200657)

[作者简介] 瞿良(1972-), 男(汉族), 陕西省西安市人, 主治医师, 主要从事临床微生物研究。

[通信作者] 瞿良 E-mail: ql112-ql@163.com

在中国,60 周岁以上的公民为老年人。2012 年 10 月 23 日,全国老龄委办公室发布消息称,2013 年我国 60 岁以上老年人口已突破 2 亿,未来 20 年我国老年人口将进入快速增长期,到 2050 年老年人口将达到全国人口的三分之一,老年人面临着养老、医疗,以及精神赡养等诸多社会问题。昆明市中心海拔约 1 891 m,属北亚热带低纬高原山地季风气候。近 5 年来,随着广谱抗菌药物、肾上腺糖皮质激素和免疫抑制剂的广泛应用,肿瘤等大量慢性消耗性疾病的出现,器官移植、各种导管介入性治疗和心脑血管手术的增加,条件致病性真菌感染日益增多。老年患者真菌感染和药物敏感性具有一定的规律,掌握其规律,合理使用抗菌药物,对正确诊治老年下呼吸道真菌感染具有现实的临床意义。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源 2010 年 1 月—2014 年 10 月 3 所部队医院门诊和住院患者(年龄 ≥ 60 岁)痰标本分离的真菌,包括中国人民解放军昆明总医院、云南省武警边防总队医院、云南省武警总队医院,分别为 1 022、460、405 株,剔除分离自同一患者具有相同药敏结果的同种菌株。

1.2 标本采集 采集标本前,嘱患者用清水漱口数次,除去口腔内大部分杂菌。自然咳痰法:让患者用力自气管深部咳出痰,吐至无菌的痰盒内;支气管镜下采集法:直接在纤支镜下采集痰及分泌物标本。对痰标本进行镜检,以白细胞 > 25 个/低倍镜视野、鳞状上皮细胞 < 10 个/低倍镜视野为合格标本。

1.3 培养基及试剂 沙保弱培养基、Shadomy 琼脂培养基(丹麦 Rosco 公司),API20C AUX 生化鉴定系统(法国生物梅里埃公司)和科玛嘉酵母菌显色培养基干粉(郑州博赛公司)。

1.4 分离鉴定及药敏试验 标本接种于沙保弱培养基,35℃培养 24~72 h,可疑菌落经革兰染色确定为真菌后,用 API20C AUX 生化鉴定系统和科玛嘉酵母菌显色培养基进行鉴定分型,必要时按传统流程鉴定(糖同化试验、糖发酵试验、CAFC 酚氧化酶试验、脲酶试验等)。药敏试验:Shadomy 琼脂培

养基先置 35℃干燥 20~25 min,用生理盐水制成 0.5 麦氏单位菌悬液,经 1:1 稀释倾倒入于 Shadomy 琼脂培养基,用 L 型玻棒涂抹均匀,35℃干燥 10 min,贴药敏纸片,培养 18~24 h,判读结果。7 种抗真菌药敏纸片为:5-氟胞嘧啶、两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑、酮康唑、咪康唑、制霉菌素。

1.5 药敏判断标准 用卫生部临床检验中心提供的标准菌株:白假丝酵母菌 ATCC 64548、光滑假丝酵母菌 ATCC 15126、热带假丝酵母菌 ATCC 13803、克柔假丝酵母菌 ATCC14243 进行质控检测,药敏结果均符合标准。操作参照《全国临床检验操作规程》第 3 版,药敏结果判断按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准进行。

2 结果

2.1 真菌鉴定结果 从老年下呼吸道感染患者痰标本中检出真菌 1 887 株,其中白假丝酵母菌最多,达 1 230 株(65.18%),其次为光滑假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌、烟曲霉菌、克柔假丝酵母菌,分别为 296、91、68、52、52 株。同时,检出毛霉菌(0.69%)、总状共头霉菌(0.26%)、构巢曲霉菌(0.16%)、球拟酵母菌(0.05%)等较为少见的菌株。见表 1。

表 1 1 887 株老年患者下呼吸道感染真菌分布

Table 1 Distribution of 1 887 fungal isolates causing LRT infection in elderly patients

真菌	株数	构成比(%)
白假丝酵母菌	1 230	65.18
光滑假丝酵母菌	296	15.69
热带假丝酵母菌	91	4.82
近平滑假丝酵母菌	68	3.60
烟曲霉菌	52	2.76
克柔假丝酵母菌	52	2.76
季也蒙假丝酵母菌	35	1.85
白吉利毛孢子菌	26	1.38
高里假丝酵母菌	15	0.80
毛霉菌属	13	0.69
总状共头霉菌	5	0.26
构巢曲霉菌	3	0.16
球拟酵母菌属	1	0.05
合计	1 887	100.00

2.2 药敏结果 分离的菌株对制霉菌素、两性霉素 B、伊曲康唑的敏感率较高,分别为 100.00%、90.14%和 88.98%;对氟康唑、咪康唑的耐药率较高,分别为 34.29%和 36.62%,见表 2。5 种常见酵母菌对制霉菌素均敏感,但白假丝酵母菌、光滑假丝酵母菌对氟康唑、咪康唑的耐药率为 35.94%~40.88%,白假丝酵母菌对 5-氟胞嘧啶的耐药率为 19.51%。见表 3。

表 2 1 887 株老年患者下呼吸道感染真菌的药敏结果
Table 2 Antifungal susceptibility testing results of 1 887 fungal isolates causing LRT infection in elderly patients

药物名称	敏感		中介		耐药	
	株数	敏感率(%)	株数	中介率(%)	株数	耐药率(%)
制霉菌素	1 887	100.00	0	0.00	0	0.00
两性霉素 B	1 701	90.14	146	7.74	40	2.12
伊曲康唑	1 679	88.98	142	7.52	66	3.50
酮康唑	1 420	75.25	278	14.73	189	10.02
5-氟胞嘧啶	1 361	72.13	215	11.39	311	16.48
氟康唑	886	46.95	354	18.76	647	34.29
咪康唑	664	19.29	532	28.19	691	36.62

表 3 老年患者下呼吸道真菌感染 5 种主要常见酵母菌耐药率(%)

Table 3 Antimicrobial resistance rates of 5 common *Candida* species causing LRT infection in elderly patients (%)

菌种	制霉菌素	两性霉素 B	伊曲康唑	酮康唑	5-氟胞嘧啶	氟康唑	咪康唑
白假丝酵母菌	0.00	0.49	1.14	6.67	19.51	36.26	35.94
光滑假丝酵母菌	0.00	1.35	4.05	8.11	5.07	40.54	40.88
热带假丝酵母菌	0.00	2.20	8.79	13.18	12.09	13.19	50.55
近平滑假丝酵母菌	0.00	2.94	2.94	11.76	11.76	14.71	55.88
克柔假丝酵母菌	0.00	1.92	1.92	3.85	11.54	-	80.77

- :表示天然耐药

3 讨论

下呼吸道感染非发酵菌及其耐药严重性越来越受到医院感染科的高度重视^[1],但真菌的感染也日趋严峻。本组研究结果显示:亚高原地区 3 所部队医院老年患者下呼吸道痰标本检出的真菌主要是白假丝酵母菌,占真菌总数的 65.18%,其次为光滑假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌、烟曲霉菌及克柔假丝酵母菌,居前 5 位的菌株与相关报道^[2-3]略有不同,此可能与标本来源不同有关。同时,检出构巢曲霉菌、总状头霉属、毛霉属等较为少见的菌株,可能与真菌生长的环境和地区分布有关^[4]。感染真菌以白假丝酵母菌为首,原因可能是多数老年患者同时患有多种基础性疾病(如肺部疾病、脏器衰竭、恶性肿瘤、血液病、糖尿病等),在积极治疗原发病的过程中,存在不合理使用抗菌药物的现象;老年患者用药剂量与青壮年者不同,医生应根据老年人的生理特点及时适当地减少用药剂量或调整用药间隔时间,本研究中部分医生使用抗菌药物时间过长(10 d 左右)而未调整,这可能导致老年患者呼吸道正常菌群失调,耐药菌株增多,为白假丝酵母菌感染创造了有利时机,严重时导致烟曲霉菌感染;老年人免疫功能低下,抵抗力差,长期使

用抗菌药物,并且随着老年人年龄的增大,咳嗽反射减弱,支气管腺体增生,分泌物增多,黏膜纤毛清除功能降低,痰不易咯出,使上呼吸道病原菌向下呼吸道蔓延,造成真菌感染。

本研究所分离的真菌对制霉菌素、两性霉素 B、伊曲康唑的敏感率较高,两性霉素 B 是治疗严重真菌病的有效药物,主要是通过与其细胞膜的甾醇结合增加细胞膜通透性致真菌死亡,也可与人类细胞膜上的甾醇结合导致其不良反应大,一定程度上限制了其应用。5-氟胞嘧啶不良反应轻,具有较强抗菌特性,单独使用时容易产生耐药性,白假丝酵母菌对 5-氟胞嘧啶的耐药率已达到 19.51%,临床上常与两性霉素 B 合用,以提高疗效并缩短治疗时间。文献^[5]报道,克柔假丝酵母菌对氟康唑天然耐药。本研究发现,52 株克柔假丝酵母菌对氟康唑全部耐药,耐药率 100.00%,对其他 5 种抗真菌药表现不同程度的耐药,对氟康唑、咪康唑耐药率普遍高于其他抗真菌药,可能与亚高原地区老年患者地域性和习惯性用药特点有关,需继续试验观察。分离真菌对氟康唑和咪康唑等早期使用的抗真菌药物的耐药率较高,可能与抗真菌药物不合理应用有关^[6-8]。尽管严格限制了抗菌药物的滥用,一些条件致病真菌的感染仍不断增加,如烟曲霉菌和构巢曲霉菌是表浅致病菌,但近年引起系统性真菌感染

发生率增加,已成为老年人下呼吸道感染的重要病原菌。在使用抗菌药物治疗不佳时,应考虑耐药菌株和新菌株致病的可能,及时调整抗菌药物的使用。

条件致病性真菌感染日益增多,对使用广谱抗菌药物、免疫抑制剂、插管、器官移植、免疫功能低下的老年患者应特别注意预防和检测,同时加强病区卫生,防止交叉感染。研究^[9-10]表明,白假丝酵母菌能在塑料制品表面至少存活 60 min,在医护人员手、医院的墙壁、空气、塑料制品的表面也分离到真菌,其与真菌感染患者分离菌株一致。

总之,真菌感染形式的复杂性、变异性,以及不断出现新致病菌导致真菌感染的检测和诊断很困难,除依靠传统的方法外,利用微生物技术(如免疫学检测)和分子生物学(如聚合酶链反应)等手段对病原菌进行快速、特异、简便的鉴定,特别是体外最低抑菌浓度(MIC)检测的研究,根据临床实验室的体外药敏试验结果,指导临床用药,在最安全、最经济的条件下获得最佳的疗效。

[参 考 文 献]

[1] 瞿良,王惠萱,夏正武,等.下呼吸道非发酵菌感染特征与药物敏感性分析[J].中国感染控制杂志,2010,9(3):192-195,

191.

- [2] 龚国富,徐三男,项勤,等.重症监护病房患者酵母样真菌感染调查分析[J].中华医院感染学杂志,2003,13(3):282-283.
- [3] 高素平,高东田,史衍席,等.深部真菌的鉴定和药敏试验对抗真菌感染的作用[J].中国麻风皮肤病杂志,2002,18(2):134-136.
- [4] Cubero M, Calatayud L, Ayats J, et al. Clonal spread of *Klebsiella pneumoniae* producing OXA-1 beta-lactamase in a Spanish hospital [J]. Int Microbiol, 2013,16(4):227-233.
- [5] 汪复.实用抗感染治疗学[M].北京:人民卫生出版社,2004.
- [6] 解晓珍,席道友,张中奎.225例真菌感染及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2003,13(4):380-381.
- [7] 左满凤,刘贺临,朱木良,等.1~3月龄婴儿下呼吸道感染痰检病原菌分布及耐药分析[J].中国当代儿科杂志,2014,16(12):1226-1230.
- [8] Bonduel M, Santos P, Turienzo CF, et al. Atypical skin lesions caused by *Curvularia sp.* and *Pseudallescheria boydii* in two patients after allogeneic bone marrow transplantation [J]. Bone Marrow Transplant, 2001, 27(12):1311-1313.
- [9] 瞿良,王惠萱,罗成富.亚高原地区下呼吸道肠杆菌科细菌感染及耐药性情况分析[J].国际检验医学杂志,2011,32(12):1312-1313.
- [10] 瞿良,朱光旭,罗成富.126株获得性感染假丝酵母菌分布特点及耐药分析[J].中国消毒学杂志,2012,29(10):930-931.

(本文编辑:豆清娅)