DOI:10.12138/j.issn.1671－9638.20263407

·论著·

某院侵袭性念珠菌感染分离株的药物敏感性及微卫星基因分型

栗 方[1,2],王金菊[3],张 浩[3],王军爽[3],王诗淇[4],王欣俞[4],王 娟[5],张艳利[5],谢建新[6]
(1. 河北燕达医院感染与疾病控制部,河北 廊坊 065201; 2. 首都医科大学附属北京朝阳医院感染和临床微生物科,北京 100020; 3. 河北燕达医院科研教学部,河北 廊坊 065201; 4. 河北燕达医院检验科,河北 廊坊 065201; 5. 河北燕达医院重症医学科,河北 廊坊 065201; 6. 河北燕达医院全科医学科,河北 廊坊 065201)

[摘 要] **目的** 调查某院侵袭性念珠菌感染分离株的菌群构成、耐药特性及基因分型,为临床抗真菌药物的合理应用及病例溯源提供依据。**方法** 收集 2019 年 6 月—2025 年 12 月河北燕达医院侵袭性念珠菌感染分离株,进行种群结构和耐药性分析,采用 VITEK MS 质谱复核鉴定,使用真菌药敏板对 9 种抗真菌药物进行体外药敏试验,利用微卫星标记对侵袭性念珠菌感染分离株进行基因分型。**结果** 共分离侵袭性念珠菌感染株 132 株。其中,白念珠菌 53 株(40.15%),其次近平滑念珠菌复合群 33 株(25.00%),热带念珠菌 22 株(16.67%),光滑念珠菌 18 株(13.64%),耳念珠菌 2 株(1.51%),其他念珠菌 4 株(3.03%)。菌株复核鉴定正确率 85.61%(113/132)。白念珠菌对 9 种药物的耐药率较低(<8%),热带念珠菌对氟康唑和伏立康唑的耐药率均为 54.5%。微卫星基因分型显示,来自同一患者不同部位分离的念珠菌具有相同的基因型。**结论** 侵袭性念珠菌仍以白念珠菌为主,对多数抗真菌药物的敏感性较高;热带念珠菌对唑类药物存在交叉耐药。基因分型提示白念珠菌、近平滑念珠菌和热带念珠菌呈多态性分布,发生侵袭感染的菌株基因型与定植的基因型相关。

[关 键 词] 侵袭性念珠菌;质谱鉴定;体外药敏;微卫星分型;分子溯源
[中图分类号] R378

Antifungal susceptibility and microsatellite genotyping of *Candida* isolates from invasive infections at a hospital

LI Fang[1,2], *WANG Jinju*[3], *ZHANG Hao*[3], *WANG Junshuang*[3], *WANG Shiqi*[4], *WANG Xinyu*[4], *WANG Juan*[5], *ZHANG Yanli*[5], *XIE Jianxin*[6] (1. *Department of Infection and Disease Control, Hebei Yanda Hospital, Langfang* 065201, *China*; 2. *Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Affiliated Beijing Chaoyang Hospital of Capital Medical University, Beijing* 100020, *China*; 3. *Department of Scientific Research and Teaching, Hebei Yanda Hospital, Langfang* 065201; 4. *Department of Clinical Laboratory, Hebei Yanda Hospital, Langfang* 065201; 5. *Department of Critical Care Medicine, Hebei Yanda Hospital, Langfang* 065201; 6. *Department of General Practice, Hebei Yanda Hospital, Langfang* 065201)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the species composition, antifungal resistance characteristics, and genotyping of *Candida* isolates from invasive candidiasis at a hospital, thereby providing evidence for the rational clinical use of antifungal agents and source tracing of cases. **Methods** *Candida* isolates from invasive candidiasis collected at Hebei Yanda Hospital between June 2019 and December 2025 were analyzed for species distribution and antifungal resistance. Species identification was confirmed using the VITEK MS mass spectrometry system. *In vitro* antifungal susceptibility testing against nine antifungal agents was performed with fungal susceptibility testing panels. Microsatellite markers were used for genotyping of the isolates. **Results** A total of 132 *Candida* isolates from invasive candidiasis were recovered. *Candida albicans* was the most common species, with 53 isolates (40.15%),

[收稿日期] 2026－05－13
[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划项目(20261154)
[作者简介] 栗方(1971－),女(汉族),北京市人,主任技师,从事病原真菌流行病学及耐药机制研究。王金菊为共同第一作者。
[通信作者] 谢建新 E-mail:437356505@qq.com; 王欣俞 E-mail: xywang83@126.com

followed by *Candida parapsilosis* species complex with 33 (25.00%), *Candida tropicalis* with 22 (16.67%), *Candida glabrata* with 18 (13.64%), *Candida auris* with 2 (1.51%), and other *Candida* species with 4 (3.03%). The correct identification rate after confirmatory identification was 85.61% (113/132). *C. albicans* showed low resistance rates (<8%) to all nine antifungal agents, whereas the resistance rates of *C. tropicalis* to both fluconazole and voriconazole were 54.5%. Microsatellite genotyping revealed that *Candida* isolates recovered from different body sites of the same patient shared identical genotypes. **Conclusion** *C. albicans* remained the predominant species among *Candida* isolates from invasive candidiasis and showed high susceptibility to most antifungal agents. *C. tropicalis* showed cross-resistance to azoles. Microsatellite genotyping indicated genotypic polymorphism among *C. albicans*, *C. parapsilosis*, and *C. tropicalis* isolates, and the genotypes of isolates causing invasive infections were associated with those of colonizing isolates.

[**Key words**] invasive candidiasis; mass spectrometry identification; *in vitro* antifungal susceptibility testing; microsatellite genotyping; molecular source tracing

不同地区侵袭性念珠菌的种群分布特征存在较大差异[1]。目前,白念珠菌仍是临床最主要的致病菌,占所有念珠菌属的 40.1%～44.8%。近平滑念珠菌和热带念珠菌则分列其后[2]。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)通过获取真菌蛋白指纹图谱,并与数据库标准图谱进行比对实现菌株鉴定,具有高通量、高灵敏度及高特异度等优势[3]。近几年,多重耐药耳念珠菌的出现与流行引起全球广泛关注,但我国临床分离情况与国外存在一定差异,受区域间微生物检测技术水平不均衡等因素影响,常规检验中易出现误判和漏诊现象[4]。在多数地区,非白念珠菌的流行特征主要与抗真菌药的使用策略及患者个体危险因素密切相关[5]。我国的念珠菌耐药性主要集中在氟康唑和伏立康唑两种唑类药物。中国医院侵袭性真菌病监测网(China Hospital Invasive Fungal Surveillance Net, CHIF-NET)2009—2018 年为期 9 年的连续性监测数据显示,热带念珠菌对氟康唑的耐药率由 5.7%升至 31.8%,对伏立康唑的耐药率由 5.7%升至 29.1%[6];光滑念珠菌对氟康唑的耐药率由 2009 年的 12.2%上升至 2014 年的 24.0%,对伏立康唑的耐药率则由<20%上升至>50%[6]。另有研究[7]显示,对 285 株白念珠菌进行微卫星基因分型,共分出 87 种不同的 CAI 基因型。来自 16 所医院血培养分离的念珠菌基因分型结果显示:共发现 83 个聚集群,其中 20 个院内聚集,49 个广泛聚集,14 个同时表现为院内和广泛聚集[8],提示部分念珠菌某些克隆在医院之间传播。本研究收集 2019 年 6 月—2025 年 12 月某院保留的侵袭性念珠菌感染分离株,采用质谱技术进行菌株精准鉴定[9],对 9 种临床常用的抗真菌药物开展体外药敏试验,并通过微卫星分型技术进行溯源和聚类分析,以期对念珠菌感染的早期识别、抗真菌药物合理应用及医院感染防控提供依据。

1 对象与方法

1.1 *研究对象* 回顾性收集河北燕达医院 2019 年 6 月—2025 年 12 月侵袭性念珠菌感染分离株作为研究对象。纳入标准:(1)参照 2023 年我国颁布的《侵袭性真菌病真菌学检查指南》[10]、2020 年《欧洲癌症研究与治疗组织/真菌研究小组教育与研究联合会(European Organisation for Research and Treatment of Cancer / Mycoses Study Group, EORTC/MSG)标准》[11]、《重症患者侵袭性真菌感染诊断与治疗指南》[12];(2)至少一次血培养或无菌体液培养念珠菌阳性,并符合念珠菌感染的临床症状和体征;(3)同一患者、同一次患病期间首次分离的念珠菌纳入统计分析。排除标准:(1)临床资料不完整;(2)不符合念珠菌感染的诊断标准;(3)重复送检的相同菌株。本研究获得河北燕达医院伦理委员会审核通过[伦审(科)第 2025-05-001 号]。

1.2 *方法*

1.2.1 *病原菌初筛鉴定及复核鉴定* 标本同时接种至沙保弱培养基和科玛嘉显色培养基,35 ℃培养 48 h,对于生长缓慢的菌株延长到 14 d。科玛嘉显色培养法利用真菌特异性的生化反应,通过菌落产生的不同颜色进行初筛鉴定。采用 MALDI-TOF MS 技术,利用原位甲酸提取法,微生物质谱仪(法国生物梅里埃公司)复核鉴定。

1.2.2 *耳念珠菌全基因组测序* 接种环刮取培养基菌落,用 0.45%氯化钠(NaCl)溶液混悬于 2 mL EP 管中制备菌液。DNA 提取选用上海源叶生物

技术有限公司 DNA 提取试剂盒，按照说明书进行操作。将已提取的 DNA 样品经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳进行 DNA 完整性检测，对比 DNA Marker，样品条带清晰明亮且均一，DNA 提取成功。将基因组 DNA 经 Covaris 破碎仪随机打断成长度为 350 bp 左右的片段，经末端修复、加 A 尾、加测序接头、PCR 扩增、片段筛选和纯化步骤完成整个文库制备工作。使用 Qubit 3.0 精确测定每个文库浓度，质检合格后，根据文库的有效浓度及数据产出在 Illumina NovaSeq 平台进行测序。

1.2.3 耳念珠菌系统发育分析 在 NCBI 的 genome 数据库中下载不同 Clade 分型的耳念珠菌代表菌株，使用 Snippy 比对参考基因组 GCA_002759435.3（B8441，Clade I），对耳念珠菌 YD107 和 YD111 及 Clade I-VI 代表基因组进行 SNP 分析和注释，根据核心基因 SNP 变异位点构建系统发育进化树。采用 IQ-TREE V2.2.0 基于最大似然法构建系统发育树（参数 - m TEST - bb 1000 - alrt 1000）。耳念珠菌包括 Clade I～VI 六个主要进化分支。

1.2.4 抗真菌药物体外药敏 采用 Sensititre YeastOne 药物敏感性试验板以及接种用肉汤（赛默飞世尔科技公司）检测 9 种抗真菌药物（两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、阿尼芬净、卡泊芬净、米卡芬净、氟康唑、伊曲康唑、泊沙康唑及伏立康唑）的最低抑菌浓度（minimum inhibitory concentration，MIC）。实验操作严格按试剂说明书执行，培养条件设定为 35 ℃恒温孵育 24 h。并根据美国临床实验室标准化协会（CLSI）M27M44S[13]和欧洲抗微生物药物敏感性试验委员会（European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing，EUCAST）[14]指南文件中的临床界值，将结果分类为敏感（S）、剂量依赖性敏感（SDD）、中介（I）和耐药（R）。对没有临床折点的菌种，参考 CLSI M59[15]和文献报道[16]的流行病学界值，分为野生型（wild type，WT）和非野生型（non-wild type，NWT）。耐药性判定参考美国疾病预防与控制中心（Centers for Disease Control and Prevention，CDC）发布的临时耐药判定标准[17]，同时采用 EUCAST 真菌药敏标准第五版中关于耳念珠菌的流行病学折点（epidemiological cutoff value，ECOFF）作为补充参照[18]。

1.2.5 白念珠菌微卫星基因分型 选择微卫星 CAI 区对白念珠菌进行基因分型，正向引物：5′-ATGCCATTGAGTGGAATTGG-3′；反向引物：5′-AGTGGCTTGTGTTGGGTTTT-3′。

1.2.6 近平滑念珠菌微卫星基因分型 选取 3 个分辨率较高的特异性微卫星位点 CP1、CP4、CP6，正反向引物序列（5′端至 3′端）。CP1：AAAGTGCTACACACGCATCG /GGCTTGCAATTTCATTTCCT；CP4：CAAATCATCCAGCTTCAAACC/CATCAAACAAGAATTCGATATCAC；CP6：CAGGAACAGGACAATGGTGA/TCTGGAGCCTCTAGGACGTTT。

1.2.7 热带念珠菌微卫星基因分型 筛选出 8 个微卫星 CT14、*ctm*3、*ctm*8、*ctm*24、*ctm*26、*ctm*1、*ctm*18、URA3 位点组合，正反向引物序列（5′端至 3′端）。CT14：GTAAATCTTGTATACCGTGGA/TAGCCCATTTTCTAGTTTTGC；*ctm*3：ACTCACCCACTCACACAAAAC/CGTTATAAGTAAATCTTGATGATTCG；*ctm*8：TCAACATGACTATCATCATCTTCAG/GATGATGACAATGACGTTGATATCTC；*ctm*24：CACATTAATATTACCTCGAACGTG/CTAAAGGCGGGTATAGTTTATTGG；*ctm*26：CATTTCAATACCTGATAATTCTCCTC/CTTAGACAAGGCTCTACAGCACT；*ctm*1：TGGAAGTTACATAATGGTGATAAGTTC/GATATGCTTTATGCCTGGAATAG；*ctm*18：CCAATCCCTTATTCAACAATTAATATAC/GCAGCTTTACCAATAATTGACATT；URA3：ATTGGATAGTCCCTCTAAACTCACTACTA/AGCATTAGTTATATCACTCCACGATGAA。

1.3 质控菌株 白念珠菌 ATCC 90028，近平滑念珠菌 ATCC 22019，热带念珠菌 ATCC 750。质控菌株来自卫生部临检中心。

1.4 统计分析 应用 SPSS 27.0 软件和 WHONET 5.6 软件进行数据分析。计数资料以频数和构成比（%）表示。

2 结果

2.1 侵袭性念珠菌感染分离株种群分布 共收集侵袭性念珠菌感染分离株 132 株，其中白念珠菌分离占比最高，其次为近平滑念珠菌复合群、热带念珠菌、光滑念珠菌、耳念珠菌等，见表 1。近平滑念珠菌复合群 33 株，其中近平滑念珠菌 24 株（72.73%）、拟平滑念珠菌 6 株（18.18%）、似平滑念珠菌 3 株（9.09%）。

表 1　侵袭性念珠菌感染分离株种群分布

Table 1　Species distribution of *Candida* isolates from invasive candidiasis

菌种	株数(n = 132)	构成比(%)
白念珠菌	53	40.15
近平滑念珠菌复合体	33	25.00
热带念珠菌	22	16.67
光滑念珠菌	18	13.64
耳念珠菌	2	1.51
其他念珠菌*	4	3.03
合计	132	100

注：*其他念珠菌包括克柔念珠菌、高丽梅耶酵母、葡萄牙棒孢酵母、产朊念珠菌。

2.2　侵袭性念珠菌感染分离株复核鉴定结果　侵袭性念珠菌感染分离株共计 132 株，菌株复核鉴定正确率 85.61%(113 株)，错误率 14.39%(19 株)。鉴定错误菌株主要包括 7 株近平滑念珠菌误判为无名念珠菌，4 株拟平滑念珠菌误判为近平滑念珠菌，2 株似平滑念珠菌误判为近平滑念珠菌，似平滑念珠菌误判为光滑念珠菌、拟平滑念珠菌误判为无名念珠菌、高丽梅耶酵母误判为光滑念珠菌、耳念珠菌误判为希木龙念珠菌、热带念珠菌误判为光滑念珠菌、白念珠菌误判为光滑念珠菌各 1 株。

2.3　侵袭性念珠菌感染分离株标本类型分布　血培养标本 93 株，占 70.45%，其次是腹腔积液、导管、胆汁、胸腔积液、脑脊液、尿等，见表 2。

表 2　侵袭性念珠菌感染分离株标本来源分布

Table 2　Distribution of specimen sources for *Candida* isolates from invasive candidiasis

标本	标本数(份)	构成比(%)
血	93	70.45
腹腔积液	9	6.82
导管	9	6.82
胆汁	6	4.55
胸腔积液	3	2.27
脑脊液	3	2.27
尿	3	2.27
组织	2	1.52
其他*	4	3.03
合计	132	100

注：*表示包括引流液、腹膜透析液、下呼吸道标本等。

2.4　侵袭性念珠菌感染分离株体外药敏试验　对白念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、近平滑念珠菌、拟平滑念珠菌、似平滑念珠菌及耳念珠菌开展 9 种常用抗真菌药物的体外药敏试验。三唑类药物见表 3，棘白菌素类、两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶见表 4。

表 3　常见念珠菌对唑类药物的体外药敏试验结果

Table 3　*In vitro* antifungal susceptibility testing results of common *Candida* isolates to azoles

病原菌	菌株数(株)	氟康唑			伏立康唑			泊沙康唑			伊曲康唑		
		S/WT	I/SDD	R/NWT	S/WT	I/SDD	R/NWT	S/WT	I/SDD	R/NWT	S/WT	I/SDD	R/NWT
白念珠菌	53	94.3	0	5.7	96.2	0	3.8	94.3	0	5.7	92.5	0	7.5
热带念珠菌	22	36.4	9.1	54.5	36.4	9.1	54.5	50.0	0	50	72.7	0	27.3
光滑念珠菌	18	88.9	0	11.1	88.9	0	11.1	100	0	0	100	0	0
近平滑念珠菌	24	91.7	0	8.3	95.8	4.2	0	100	0	0	100	0	0
拟平滑念珠菌	6	16.7	0	83.3	16.7	0	83.3	100	0	0	100	0	0
似平滑念珠菌	3	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	100
耳念珠菌	2	0	0	100	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

注：NA 为无数据。

表 4　常见念珠菌对棘白菌素、两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶的体外药敏试验结果

Table 4　*In vitro* antifungal susceptibility testing results of common *Candida* isolates to echinocandins, amphotericin B, and 5-fluorocytosine

病原菌	菌株数(株)	卡泊芬净		阿尼芬净		米卡芬净		两性霉素 B		5-氟胞嘧啶	
		S/WT	R/NWT	S/WT	R/NWT	S/WT	R/NWT	S/WT	R/NWT	S/WT	R/NWT
白念珠菌	53	100	0	100	0	100	0	100	0	96.2	3.8
热带念珠菌	22	86.4	13.6	100	0	100	0	100	0	100	0
光滑念珠菌	18	100	0	100	0	94.4	5.6	100	0	100	0
近平滑念珠菌	24	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
拟平滑念珠菌	6	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
似平滑念珠菌	3	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0
耳念珠菌	2	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0

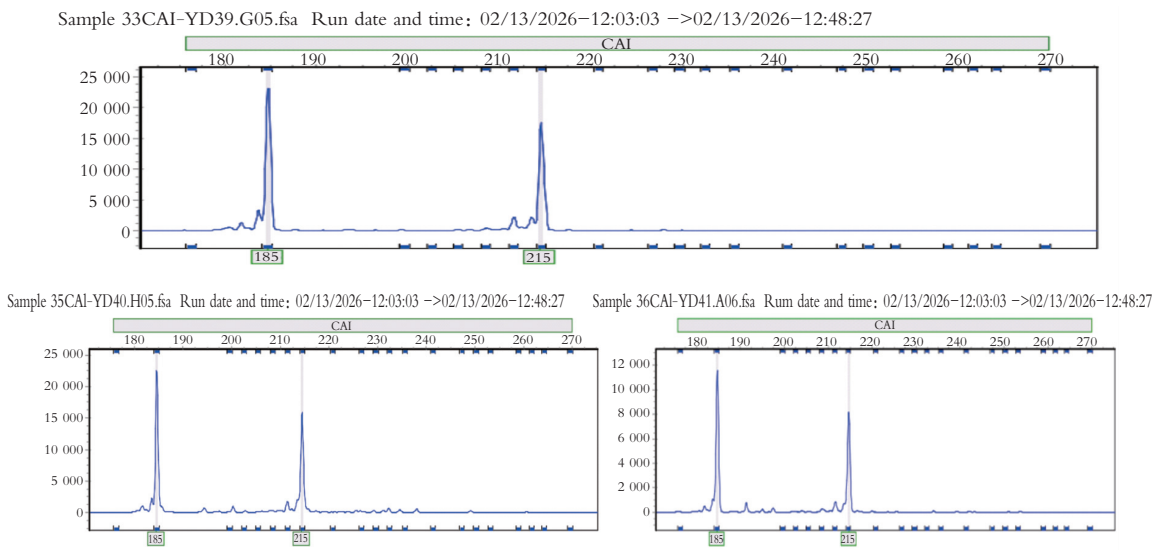
2.5　耳念珠菌聚类和耐药基因分析　耳念珠菌分离株 YD107、YD111，核心基因 SNP 变异位点构建系统发育进化树，与 Clade I（南亚分支）、Clade II（东亚分支）、Clade III（南非分支）、Clade IV（南美分支）、Clade V（伊朗分支）、Clade VI（新加坡/孟加拉分支）比较相似性，该院 2 株分离株均为 Clade I（南亚分支）。针对与唑类耐药相关基因 ERG11 和 TAC1B，棘白菌素耐药相关基因 FKS1，氟胞嘧啶类耐药相关基因 FCY1 和 FUR1，以及与多烯类两性霉素 B 耐药相关基因 ERG6，整理基因组变异结果发现，耳念珠菌 YD107 和 YD111 均存在 ERG11_Y132F、TAC1B_A583S 和 FCY1_S70R 变异。

2.6　白念珠菌微卫星分型　53 株白念珠菌，其中 3 株由于原始标本留存量少，再次复苏传代中失活，故对 50 株白念珠菌开展微卫星 CAI 区等位基因位点分型，共计 42 个基因型。其中 5 个病例显示同一患者不同部位微卫星 CAI 区分型完全相同，见表 5。如病例 4 YD39（血）、YD40（尿）、YD41（痰），基因分型均为 185/215，见图 1。YD25/YD43 和 YD29/YD42 基因型相同，经检索患者信息，其在不同科室且住院时间均无交叉。

表 5　同一患者不同部位白念珠菌微卫星 CAI 区位点分布

Table 5　Allelic distribution of the microsatellite CAI locus in *Candida albicans* isolates from different body sites of the same patient

患者	编号	标本类型	CAI 区位点
病例 1	YD19	血	215/230
	YD20	腹腔积液	215/230
病例 2	YD21	血	206/227
	YD22	腹腔积液	206/227
病例 3	YD27	血	233/233
	YD28	胸腔积液	233/233
病例 4	YD39	血	185/215
	YD40	尿	185/215
	YD41	痰	185/215
病例 5	YD45	血	230/247
	YD46	痰	230/247



注：横坐标代表该基因扩增的片段长度，纵坐标表示荧光信号强度。

图 1　病例 4 YD39/YD40/YD41 基因型峰值图

Figure 1　Microsatellite genotyping electropherograms of YD39, YD40 and YD41 from case 4

2.7　近平滑念珠菌复合群微卫星基因分型　对 33 株近平滑念珠菌开展微卫星 CP1、CP4、CP6 等位基因位点分型，共计 30 个基因型。其中 2 个病例显示同一患者血液和导管 3 个基因位点的基因型完全相同。见表 6。YD77/YD78、YD80/YD81 电泳图谱，见图 2。病例 3 YD80（血）、YD81（导管），CP1（245/245）、CP4（358/358）、CP6（247/272）3 个位点基因分型均相同，见图 3。YD82/YD83 基因型相同，患者分布在不同科室且时间无交叉。

表 6　同一患者不同部位近平滑念珠菌 3 个位点的微卫星分型

Table 6　Microsatellite genotyping at three loci of *Candida parapsilosis* from different body sites of the same patient

患者	编号	标本类型	CP1	CP4	CP6
病例 2	YD77	血	242/242	307/307	292/292
	YD78	导管	242/242	307/307	292/292
病例 3	YD80	血	245/245	358/358	247/272
	YD81	导管	245/245	358/358	247/272

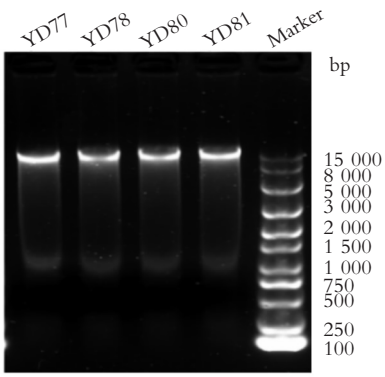
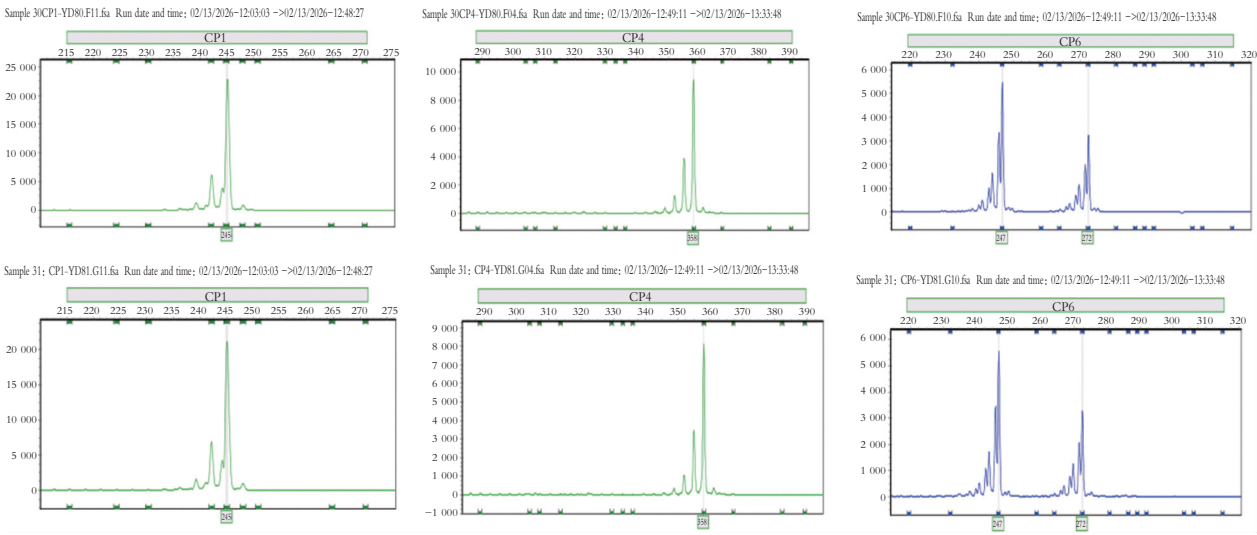


图 2　近平滑念珠菌 YD77/YD78/YD80/YD81 电泳图谱

Figure 2　Electrophoresis patterns of *Candida parapsilosis* isolates YD77, YD78, YD80 and YD81

2.8　热带念珠菌微卫星基因分型　本研究纳入 22 株热带念珠菌，其中 6 株菌株提取 DNA 浓度＜20 ng/μL，未达到质控标准（＞20 ng/μL），故未开展微卫星分析，最终纳入 16 株菌株。热带念珠菌进行微卫星 CT14、*ctm*3、*ctm*8、*ctm*24、*ctm*26、*ctm*1、*ctm*18、URA3 等位基因位点分型，共计 18 个位点。其中 2 个病例显示同一患者不同部位分离的菌株均属于同一个基因型。见表 7。病例 3 YD90（血）、YD91（肛拭子）CT14（149/149）基因型相同，见图 4。YD85/YD86 基因型相同，患者来自同一科室且时间段相近，可能存在聚集性风险。



注：横坐标代表该基因扩增的片段长度，纵坐标表示荧光信号强度。

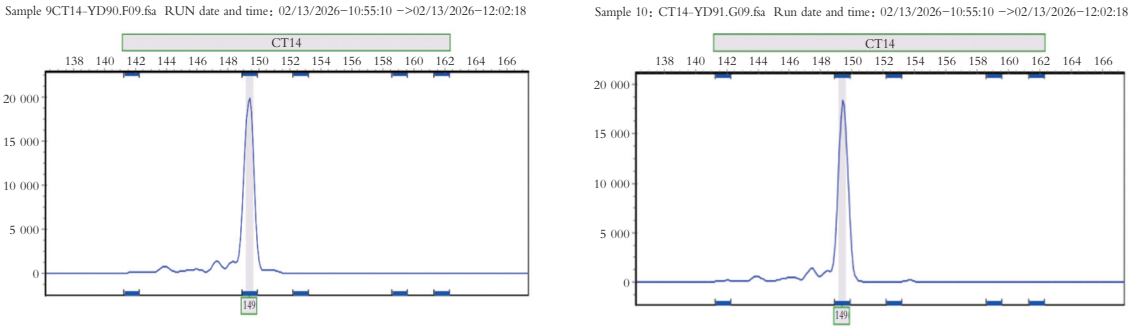
图 3　病例 3 YD80/YD81 基因型峰值图

Figure 3　Microsatellite genotyping electropherograms of YD80 and YD81 from case 3

表 7　同一患者不同部位热带念珠菌 8 个位点的微卫星分型

Table 7　Microsatellite genotyping at 8 loci of *Candida tropicalis* isolates from different body sites of the same patient

患者	编号	标本类型	CT14	*ctm*3	*ctm*8	*ctm*24	*ctm*26	*ctm*1	*ctm*18	URA3
病例 1	YD85	血	149/149	243/264	205/211	213/217	152/178	233/273	162/186	423/423
病例 2	YD86	血	149/149	243/264	205/211	213/217	152/178	233/273	162/186	423/423
病例 3	YD90	血	149/149	243/264	205/211	213/217	178/178	233/273	162/186	423/423
	YD91	肛拭子	149/149	243/264	205/211	213/217	178/178	233/273	162/186	423/423
病例 4	YD94	血	149/149	233/259	187/205	213/213	152/152	227/227	142/162	423/423
	YD95	尿	149/149	233/259	187/205	213/213	152/152	227/227	142/162	423/423



注：横坐标代表该基因扩增的片段长度，纵坐标表示荧光信号强度。

图 4 YD90/YD91 CT14 基因型峰值图

Figure 4 CT14 locus genotyping electropherograms of YD90 and YD91

3 讨论

本组研究显示，侵袭性念珠菌感染分离株种群分布位列第一的是白念珠菌(40.15%)，其次是近平滑念珠菌复合群、热带念珠菌和光滑念珠菌，与国内研究结果[19-20]基本一致。通过 MALDI-TOF MS 鉴定，近平滑念珠菌复合群被进一步鉴定为近平滑念珠菌、拟平滑念珠菌和似平滑念珠菌。本次菌株复核鉴定正确率为 85.61%(113/132)，有 19 株误判为其他念珠菌，提示实验室常用的科玛嘉显色培养基和自动化微生物鉴定系统，对少见、疑难念珠菌存在固有局限，易出现鉴定偏差。在临床感染性真菌的快速鉴定、分型、医院感染溯源等实验室诊断中，质谱技术可在一定程度上弥补传统形态学鉴定的不足[21]。2025 年通过医院感染主动筛查和质谱鉴定，检出 2 例耳念珠菌，利用系统发育分析证实 2 株耳念珠菌分离株均为 Clade I，与南亚分支 B8441 Clade I 高度相似，与国内研究[22]报道一致。

体外药敏结果显示，白念珠菌对所有抗真菌药物的耐药率均<8%，热带念珠菌对氟康唑、伏立康唑和泊沙康唑出现交叉耐药(>50%)，与文献[23]报道趋势基本一致。本组 24 株近平滑念珠菌对唑类药物耐药率很低(氟康唑耐药率为 8.3%)，6 株拟平滑念珠菌对氟康唑和伏立康唑耐药率均为 83.3%。由于拟平滑念珠菌数量少(6 株)，虽表现出对唑类药物的极高耐药率，但此发现基于少量菌株，需谨慎解读。研究发现 2 株耳念珠菌对氟康唑和伏立康唑呈现显著耐药性(≥128 μg/mL)。研究[24]结果显示，我国临床分离株中氟康唑耐药率高达 98.7%，几乎所有的分离株都对氟康唑高度耐药。

对临床常见的白念珠菌、近平滑念珠菌复合群和热带念珠菌进行基于微卫星基因分型研究，白念珠菌采用特异性微卫星 CAI 区等位基因，呈多态性分布，其中 5 例患者不同部位分离出相同的基因型。选取近平滑念珠菌 3 个微卫星位点(CP1、CP4、CP6)，其中 2 例患者导管和血培养鉴定出相同的基因型，均发生了导管相关血流感染，进一步证实导管护理对控制感染源的重要性[25]。筛选热带念珠菌 8 个等位基因位点，包括 CT14、*ctm*3、*ctm*8、*ctm*24、*ctm*26、*ctm*1、*ctm*18、URA3，其中 2 个病例显示同一患者不同部位分离的菌株均属于同一个微卫星基因型；另 2 个病例基因型相同，分布在同一科室且时间段接近，提示可能存在病例聚集。基因分型显示该院侵袭性白念珠菌、近平滑念珠菌和热带念珠菌主要是内源性感染，发生侵袭的基因型与定植有关。本次基因分型也存在局限性，白念珠菌还可采用 CDC3、EF3、HIS3 三个微卫星位点进行基因分型；近平滑念珠菌除了 CP1、CP4 和 CP6 外，还应选择 B5 位点，因 B5 为两个碱基构成的重复序列，具有更高的多态性，能明显提高分型效率。尽管已有文献报道用于热带念珠菌的基于微卫星位点的分型体系，但研究评估也证实，对于热带念珠菌仍然需要进一步筛选新的、分辨率更高的、更特异的位点。本研究是一项连续性监测，时间跨度较长，菌株分布在不同的科室，除了 2 例热带念珠菌外，未发现医院内克隆聚集现象，也可能与微卫星分型的遗传鉴别力不足有关。研究[26]结果显示，具有相同微卫星基因型的所有分离株都具有相同表型，几乎所有 Y132F 耐药株都具有克隆相关性。接触唑类药物后更容易出现耐药株携带 ERG11 基因中的 Y132F 替换[27]，在重症监护病房(ICU)环境中更易富集，并可长期存

在，从而导致留置导管的患者发生血流感染。

本研究存在一些局限性：研究未确定该院潜在的感染源和传播途径；作为回顾性分析，没有从患者的肠道微生物群、医院环境和医务人员手上获取分离株。进一步采用全基因组测序的研究，有助于阐明微卫星标记在流行病学研究中的作用。

作者贡献声明：栗方负责方案设计、试验实施、数据分析、初稿撰写；王金菊、张浩、王诗淇负责试验部分；王军爽负责数据整理与统计；王欣俞负责标本协调、论文修改；王娟、张艳利负责资料收集、整理；谢建新负责论文修改。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Soriano A, Honore PM, Puerta-Alcalde P, et al. Invasive candidiasis: current clinical challenges and unmet needs in adult populations[J]. J Antimicrob Chemother, 2023, 78(7): 1569－1585.

[2] WHO. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action[EB/OL]. (2022－10－25)[2026－02－20]. https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241.

[3] Ao KP, Li XH, Zhang WL, et al. Evaluation of the Autof ms1000 mass spectrometry for rapid clinical identification of filamentous fungi[J]. BMC Microbiol, 2023, 23(1): 228.

[4] 栗方，张艳利，王娟，等. 某医院耳念珠菌的耐药性特征及溯源分析[J]. 中国真菌学杂志，2025，20(6)：594－598.
Li F, Zhang YL, Wang J, et al. Analysis of the drug resistance characteristics and molecular traceability of *Candida auris* in a certain hospital[J]. Chinese Journal of Mycology, 2025, 20(6): 594－598.

[5] Cook A, Ferreras-Antolin L, Adhisivam B, et al. Neonatal invasive candidiasis in low- and middle-income countries: data from the NeoOBS study[J]. Med Mycol, 2023, 61(3): myad010.

[6] Wang Y, Fan X, Wang H, et al. Continual decline in azole susceptibility rates in *Candida tropicalis* over a 9-year period in China[J]. Front Microbiol, 2021, 12: 702839.

[7] Wu YM, Lee CH, Cheng YC, et al. Association between CAI microsatellite, multilocus sequence typing, and clinical significance within Candida albicans isolates[J]. Med Mycol, 2021, 59(5): 498－504.

[8] Díaz-García J, Gómez A, Machado M, et al. *Candida* genotyping of blood culture isolates from patients admitted to 16 hospitals in Madrid: genotype spreading during the COVID-19 pandemic driven by fluconazole-resistant *C. parapsilosis*[J]. J Fungi (Basel), 2022, 8(11): 1228.

[9] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组. MALDI-TOF MS鉴定病原微生物临床应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志，2024，47(9)：1013－1026.
Clinical Microbiology Group of Chinese Society of Laboratory Medicine. Expert consensus on pathogenic microorganism identification using MALDI-TOF MS[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2024, 47(9): 1013－1026.

[10] 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会，中华医学会检验医学分会临床微生物学组，中华医学会微生物学和免疫学分会微生物学组. 侵袭性真菌病真菌学检查指南[J]. 中华检验医学杂志，2023，46(6)：541－557.
Clinical Microbiology Society of the China Association for the Promotion of International Exchange in Healthcare, Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, Clinical Microbiology Group of the Microbiology and Immunology Society of the Chinese Medical Association. Guidelines on mycology examination of invasive fungal diseases[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2023, 46(6): 541－557.

[11] Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer and the mycoses study group education and research consortium[J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(6): 1367－1376.

[12] 中华医学会重症医学分会. 重症患者侵袭性真菌感染诊断与治疗指南(2007)[J]. 中华内科杂志，2007，46(11)：960－966.
Chinese Society of Critical Care Medicine, Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of invasive fungal infections in critically ill patients (2007)[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2007, 46(11): 960－966.

[13] CLSI. Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts. 3rd edition: M27M44S[S]. Malvern, PA, USA: CLSI, 2022.

[14] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents: Version10.0[S]. Stockholm: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2020.

[15] CLSI. Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing. 3rd edition: M59[S]. Malvern, PA, USA: CLSI, 2020.

[16] Delmas FZ, Melchers WJG, Verweij PE, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for 5-flucytosine and *Candida* species as determined by EUCAST broth microdilution[J]. JAC Antimicrob Resist, 2024, 6(5): dlae153.

[17] Centers for Disease Control and Prevention. Results returned for laboratorians and health professionals: antifungal susceptibility testing and interpretation[EB/OL]. (2026－06－03)

[2026 - 08 - 15]. https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris-antifungal.html.

[18] Arendrup MC, Friberg N, Mares M, et al. How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST)[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(11): 1464 - 1472.

[19] 王欢，陈素明，李霞，等. 侵袭性酵母菌感染的临床特征及抗生素敏感性分析[J]. 中国抗生素杂志，2024，49(10)：1095 - 1100.
Wang H, Chen SM, Li X, et al. Clinical characteristics and antibiotic sensitivity analysis of the invasive yeast infection[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2024, 49(10): 1095 - 1100.

[20] 梁悦怡，温海楠，孙立红，等. 无菌部位侵袭性真菌感染的病原学特点及预后不良危险因素分析[J]. 临床检验杂志，2023，41(11)：838 - 843.
Liang YY, Wen HN, Sun LH, et al. Etiological characteristics and risk factors of invasive fungal infections in sterile areas [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2023, 41(11): 838 - 843.

[21] 李家政，缪杨阳. MALDI-TOF MS技术在真菌鉴定和药敏试验中的影响因素研究[J]. 检验医学与临床，2023，20(14)：2104 - 2107.
Li JZ, Miao YY. Influencing factors of MALDI-TOF MS technology in fungal identification and drug susceptibility test research[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2023, 20(14): 2104 - 2107.

[22] 中华医学会检验分会临床微生物学学组. 成人耳念珠菌感染诊治防控专家共识[J]. 临床检验杂志，2020，38(8)：564 - 570.
Clinical Microbiology Group, Branch of Laboratory Medicine, Chinese Medical Association. Expert consensus on the diagnosis, treatment, prevention and control of *Candida auris* infection in adults[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2020, 38(8): 564 - 570.

[23] 丁琳，陆婷婷，张亚茹，等. 2019 年—2021 年某地区临床分离的侵袭性真菌流行病学及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志，2023，33(3)：300 - 303.
Ding L, Lu TT, Zhang YR, et al. Epidemiological and drug resistance analysis of clinically isolated invasive Fungi in an area from 2019 to 2021[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2023, 33(3): 300 - 303.

[24] Bing J, Du H, Guo PH, et al. *Candida auris*-associated hospitalizations and outbreaks, China, 2018 - 2023[J]. Emerg Microbes Infect, 2024, 13(1): 2302843.

[25] Rodrigues LS, Siqueira AC, Spalanzani RN, et al. Genotypic diversity of *Candida parapsilosis* complex in invasive candidiasis at a pediatric tertiary hospital: a 5-year retrospective study [J]. J Fungi (Basel), 2022, 8(12): 1280.

[26] Byun JH, Won EJ, Cho HW, et al. Detection and characterization of two phenotypes of *Candida parapsilosis* in South Korea: clinical features and microbiological findings[J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(3): e0006623.

[27] Palladini G, Lepera V, Trubini S, et al. Inter-hospital spread of fluconazole-resistant *C. parapsilosis* in Northern Italy: insights into clonal distribution, resistance mechanisms and biofilm production[J]. Mycoses, 2025, 68(9): e70111.

（本文编辑：左双燕）

本文引用格式：栗方，王金菊，张浩，等. 某院侵袭性念珠菌感染分离株的药物敏感性及微卫星基因分型[J]. 中国感染控制杂志，2026，25(9)：1286 - 1294. DOI：10.12138/j.issn.1671 - 9638.20263407.

Cite this article as: LI Fang, WANG Jinju, ZHANG Hao, et al. Antifungal susceptibility and microsatellite genotyping of *Candida* isolates from invasive infections at a hospital[J]. Chin J Infect Control, 2026, 25(9): 1286 - 1294. DOI: 10.12138/j.issn.1671 - 9638.20263407.