

慢性肝病患者 假丝酵母菌感染的临床特征及耐药性分析

杨耿侠, 陈 铭, 栗光明

[摘要] 目的 分析慢性肝病患者假丝酵母菌感染的临床特征及其对抗真菌药物的耐药性, 为临床合理用药提供依据。
方法 收集 2017 年 3 月 1 日—2018 年 3 月 1 日首都医科大学附属北京佑安医院 106 例住院慢性肝病患者相关临床资料, 并对检出的假丝酵母菌菌株进行体外药物敏感性(药敏)检测。**结果** 106 例假丝酵母菌感染者中, 分离菌株以白色念珠菌为主, 占 43.4%, 热带念珠菌是最常见的非白色念珠菌, 占 19.8%。白色念珠菌对 5 种常见抗真菌药物耐药率普遍较低, 最高的是两性霉素 B, 为 8.7%。白色念珠菌对氟康唑及伏立康唑耐药率明显低于非白色念珠菌, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。所有菌株均对伊曲康唑及两性霉素 B 的耐药率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 所有菌株对 5-氟胞嘧啶耐药率均较低, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 慢性肝病患者假丝酵母菌感染仍然是以白色念珠菌为主, 其对常用抗真菌药物耐药率较低, 临床应根据药敏结果合理选择药物。

[关键词] 假丝酵母菌; 感染; 慢性肝病; 耐药性; 白色念珠菌; 抗真菌药物; 临床特征

[中国图书资料分类号] R446.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-8134(2021)06-0519-04

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2021.06.010

Clinical feature and drug resistance analysis of *Candida* infection in patients with chronic liver disease

YANG Geng-xia, CHEN Ming, LI Guang-ming*

General Surgery Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, 100069, China

*Corresponding author, E-mail: liguangming@ccmu.edu.cn

[Abstract] **Objective** To analyze the clinical feature of patients with *Candida* infection and their resistance to antifungal drugs, and provide evidence for reasonable clinical medication. **Methods** The related clinical data were collected from hospitalized patients with chronic liver disease in Beijing You'an Hospital, Capital Medical University from March 1st, 2017 to March 1st, 2018, and the drug sensitivity of the detected *Candida* strains was tested *in vitro*. **Results** Among the 106 cases of *Candida* infection, *Candida albicans* was the main isolates and the infection rate reached 43.4%. *Candida tropicalis* was the most common non-*Candida albicans* with an infection rate of 19.8%. The resistance rate of *Candida albicans* to five common antifungal drugs was relatively lower, while the maximal resistance was achieved against amphotericin B, accounting for 8.7%. The resistance rate of *Candida albicans* to fluconazole and voriconazole was significantly lower than that of non-*Candida albicans*, with statistically significant difference ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the resistance rate of all strains to itraconazole and amphotericin B ($P > 0.05$), and the resistance rate of all strains to 5-fluorocytosine was relatively low, with no statistically significant difference ($P > 0.05$). **Conclusions** *Candida albicans* is still predominant *Candida* infection in patients with chronic liver disease. The resistance rate of *Candida albicans* to commonly used antifungal drugs is relatively low. In clinical practice, drugs should be reasonably selected based on the drug sensitivity results.

[Key words] *Candida*; infection; chronic liver disease; drug resistance; *Candida albicans*; antifungal drug; clinical feature

假丝酵母菌是院内侵袭性真菌感染的主要致病菌之一, 对危重患者和重症监护病房的患者健康构成重大威胁, 病死率较高^[1]。近年来假丝酵母菌感染的全球发病率不断升高, 其危险因素包括手术、实体或血液恶性肿瘤、长期广谱抗生素治疗、糖尿病、留置导管、住院时间延长等^[2]。随着抗真菌药物治疗不断增加, 临床假丝酵母菌耐药率也在不断上升^[3]。因此, 监测院内假丝酵母菌感染分布及耐药性对指导临床用药有重要意义。本研究回顾性分析 2017 年 3 月 1 日—2018 年 3 月

1 日我院 106 例慢性肝病患者假丝酵母菌感染的临床特征, 并对 5 种常用抗真菌药物的药物敏感性(药敏)试验结果进行分析, 为临床合理用药提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象 收集 2017 年 3 月 1 日—2018 年 3 月 1 日首都医科大学附属北京佑安医院 106 例住院慢性肝病患者相关临床资料(包括性别、年龄、菌株分离科室), 并对检出的假丝酵母菌菌株进行体外药物敏感性(药敏)试验, 分离菌株的临床标本包括: 体液(胆汁、胸腹水、脑脊液), 血液(导管血和外周血)。其中男性患者 79 例, 女性患者 27 例, 中位年龄为 51.0 岁, 患者标本重复送检, 分离出同一菌种不重复统计。

1.2 试剂与仪器 沙氏平板培养基及 FUNGUS3

[基金项目] “十三五”国家科技重大专项(2017ZX10201101); 北京市优秀人才计划(2018000021223ZK04); 北京市属科研院所科技发展项目(院所合作 Y-2020H8-1)

[作者单位] 100069, 首都医科大学附属北京佑安医院普通外科中心(杨耿侠、栗光明), 临床检验中心(陈铭)

[通信作者] 栗光明, E-mail: liguangming@ccmu.edu.cn

鉴定板购于法国梅里埃公司, 96 孔板购于康宁公司, 全自动加样仪器 Sensititre 购于赛默飞科技公司, 质控菌株包括克柔念珠菌 ATCC6258 和近平滑念珠菌 ATCC22019。氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑、两性霉素 B 及 5- 氟胞嘧啶标准物质购于中国食品药品检定研究院。

1.3 菌种鉴定及药敏试验 收集的临床标本于沙氏平板培养基接种培养 (35℃), 24 ~ 48 h 后取单个真菌菌落纯培养, 选取新鲜的单一菌落使用质谱仪进行鉴定。药敏试验采用 FUNGUS3 鉴定板, 药敏浓度结果按美国临床和实验室标准化协会发布的致病性酵母菌抗真菌药敏试验方案 M27-A 判定^[4]: 氟康唑最小抑制浓度 (minimal inhibit concentration, MIC) $\leq 8.0 \mu\text{g/ml}$ 为敏感, $\geq 64.0 \mu\text{g/ml}$ 为耐药; 伏立康唑 MIC $\leq 1.0 \mu\text{g/ml}$ 为敏感, $\geq 4.0 \mu\text{g/ml}$ 为耐药; 伊曲康唑 MIC $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$ 为敏感, $\geq 1.0 \mu\text{g/ml}$

为耐药; 5- 氟胞嘧啶 MIC $\leq 4.0 \mu\text{g/ml}$ 为敏感, $\geq 32.0 \mu\text{g/ml}$ 为耐药; 两性霉素 B MIC $\leq 2.0 \mu\text{g/ml}$ 为敏感, $\geq 8.0 \mu\text{g/ml}$ 为耐药。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行处理。计数资料用频数、率或构成比 (%) 表示, 组间比较采 $R^*C \chi^2$ 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 菌种分布及标本类型 106 例患者分离的病原菌标本中, 病原菌分离自血液标本 37 株 (34.9%), 腹水标本 34 株 (32.1%), 胆汁标本 20 株 (18.9%), 胸水标本 10 株 (9.4%), 脑脊液标本 5 株 (4.7%)。白色念珠菌是假丝酵母菌感染的常见致病菌, 占 43.4%; 热带念珠菌是最常见的非白色念珠菌感染, 占 19.8%。见表 1。

表 1 菌种分布及标本类型 [株 (%)]
Table 1 Distribution and specimen type of strains [strain (%)]

病原菌	菌株数及构成比	标本类型				
		血液	腹水	胆汁	胸水	脑脊液
白色念珠菌	46(43.4)	12(11.3)	17(16.0)	11(10.4)	6(5.7)	
热带念珠菌	21(19.8)	7(6.6)	9(8.5)	3(2.8)	2(1.9)	
光滑念珠菌	13(12.3)	6(5.7)	4(3.8)	3(2.8)		
近平滑念珠菌	12(11.3)	6(5.7)	3(2.8)	1(0.9)	2(1.9)	
克柔念珠菌	1(0.9)			1(0.9)		
葡萄牙念珠菌	1(0.9)			1(0.9)		
新型隐球菌	10(9.4)	5(4.7)				5(4.7)
柯达酵母菌	1(0.9)		1(0.9)			
酿酒酵母菌	1(0.9)	1(0.9)				
合计	106(100)	37(34.9)	34(32.1)	20(18.9)	10(9.4)	5(4.7)

2.2 不同性别与年龄患者的菌种分布 假丝酵母菌感染者中, 男性患者占 74.5%, 显著高于女性患者的 25.5%。男性患者常见的假丝酵母菌感染菌株为白色念珠菌及热带念珠菌, 分别占 31.1% 和 16.0%; 女性患者常见的感染菌株为白色念珠菌, 占 12.3%, 男女性别菌种分布比较差异有统计学意义 ($\chi^2=25.509$, $P=0.001$)。假丝酵母菌感染者中,

年龄在 31 ~ 岁、51 ~ 岁的构成比例大致相当, 分别占 33.9%、41.5%; 在 < 30 岁、71 ~ 岁患者分别占 13.2%、11.3%。在 31 ~ 岁、51 ~ 岁患者常见的假丝酵母菌感染菌株为白色念珠菌及热带念珠菌, 在 < 30 岁、71 ~ 岁患者常见的假丝酵母菌感染菌株分别为新型隐球菌和白色念珠菌, 不同年龄菌种分布比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=28.792$, $P=0.001$)。见表 2 ~ 3。

表 2 不同性别患者菌种分布 [% (例)]
Table 2 Distribution of strain in patients with different genders [% (cases)]

性别	整体构成	白色念珠菌	热带念珠菌	光滑念珠菌	近平滑念珠菌	新型隐球菌	其他
男	74.5(79)	31.1(33)	16.0(17)	6.6(7)	9.4(10)	8.5(9)	2.8(3)
女	25.5(27)	12.3(13)	3.8(4)	5.7(6)	1.9(2)	0.9(1)	0.9(1)
合计	100(106)	43.4(46)	19.8(21)	12.3(13)	11.3(12)	9.4(10)	3.8(4)

表 3 不同年龄患者菌种分布 [% (例)]
Table 3 Distribution of strain in patients with different ages [% (cases)]

年龄 (岁)	整体构成	白色念珠菌	热带念珠菌	光滑念珠菌	近平滑念珠菌	新型隐球菌	其他
< 30	13.2(14)	0.9(1)	1.9(2)	1.9(2)	2.8(3)	5.7(6)	0(0)
31 ~	33.9(36)	18.9(20)	8.5(9)	1.9(2)	1.9(2)	0.9(1)	1.9(2)
51 ~	41.5(44)	19.8(21)	7.5(8)	7.5(8)	3.8(4)	0.9(1)	1.9(2)
71 ~	11.3(12)	3.8(4)	1.9(2)	0.9(1)	2.8(3)	1.9(2)	0(0)
合计	100(106)	43.4(46)	19.8(21)	12.3(13)	11.3(12)	9.4(10)	3.8(4)

2.3 药敏试验结果 白色念珠菌对 5 种常见抗真菌药物耐药率普遍较低，最高的是两性霉素 B，为 8.7%。白色念珠菌对氟康唑及伏立康唑耐药率明显低于非白色念珠菌，差异均有统计学意义

（ P 均 < 0.05 ）。所有菌株均对伊曲康唑及两性霉素 B 的耐药率差异均无统计学意义（ P 均 > 0.05 ），所有菌株对 5-氟胞嘧啶耐药率均较低，差异均无统计学意义（ P 均 > 0.05 ）。见表 4。

表 4 常见假丝酵母菌对抗真菌药物的耐药率

Table 4 Resistance rate of common *Candida* to antifungal drug

药物	白色念珠菌 ($n=46$)		热带念珠菌 ($n=21$)		光滑念珠菌 ($n=13$)		近平滑念珠菌 ($n=12$)		其他菌株 ($n=14$)		χ^2 值	P 值
	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)	株数	耐药率 (%)		
氟康唑	3	6.5	4	19.0	4	30.8	1	8.3	7	50.0	16.082	0.003
伏立康唑	2	4.3	5	23.8	5	38.5	6	50.0	0	0	22.301	0.001
伊曲康唑	3	6.5	2	9.5	2	15.4	1	8.3	2	14.3	2.446	0.654
两性霉素 B	4	8.7	2	9.5	2	15.4	4	33.3	4	28.6	7.427	0.115
5-氟胞嘧啶	1	2.2	1	4.8	1	7.7	0	0	0	0	2.232	0.693

注：分母不足 20 者所得百分率可信度差，但为了全表统一还是计算出百分率

3 讨论

近年来，抗菌素的广泛应用引发多种耐药病原菌产生，耐药研究日益增多^[5]。慢性肝病患者肝脏的合成能力下降导致机体免疫力下降，同时肝病肝硬化引起门静脉高压症导致腹水增加及菌群移位失调，更易引发真菌机会性感染，慢性肝病患者通常合并低蛋白血症、菌群失调、免疫功能下降，导致感染几率增加^[6-7]，同时，抗生素与免疫抑制剂的使用增加了真菌感染的可能，特别是失代偿期肝硬化及重症肝病患者更易感，并且真菌感染后症状更重^[8-9]。慢性肝病患者的假丝酵母菌感染主要是由念珠菌感染引起，早期及时、准确的治疗对改善患者预后具有重要意义^[10-11]。

本研究发现，在慢性肝病患者的念珠菌感染中非白色念珠菌的占比已明显超过了白色念珠菌，但就单一菌种而言，白色念珠菌仍然是最常见菌种，这与中国侵袭性真菌感染监测网（CHIF-NET）发布的 2015—2017 年的数据一致^[12]。但本研究中非白色念珠菌以热带念珠菌（19.8%）最为常见，这又与全国的数据[非白色念珠菌中最常见类型为近平滑念珠菌（27.1%）]有所差异。这种差异可能与研究纳入的标本来源不同有关。既往研究表明，近平滑念珠菌最常见于导管相关血流感染，而本研究中大部分菌株来源于腹水、胆汁等腹腔感染样本^[13-16]。其他研究发现，在腹腔假丝酵母菌病的确证患者中，热带念珠菌（21.5%）是侵袭性真菌感染最主要的非白色念珠菌^[17-18]，与本研究结果一致。

本研究结果显示，所有菌株对 5-氟胞嘧啶均有较好的敏感性，但鉴于这种药物较强的不良反应，临床上较少单独应用，一般与唑类药物联合使用，从而减少用量，降低其不良反应^[19]。唑类药物特别是氟康唑仍是临床上治疗假丝酵母菌感

染的首选药物，本研究中白色念珠菌对唑类药物的耐药率较低。但热带念珠菌和光滑念珠菌对氟康唑及伏立康唑的耐药率明显较高。对这些耐药菌种所致的感染，鉴于氟康唑体内抗菌活性明显高于体外的特点，可通过适当增加药物剂量以提高敏感性，或改用棘白菌素类药物进行治疗。研究显示，棘白菌素类抗真菌药物可有效杀灭对唑类和两性霉素 B 耐药的真菌（除新型隐球菌对其天然耐药），并且具有良好的临床耐受性^[4]。伏立康唑的抗真菌活性优于氟康唑，可以作为治疗深部真菌感染的首选药物^[20]，也可以合理的与两性霉素 B 联合用于耐药菌的治疗。

本研究是一项回顾性的单中心研究，样本量较小，因而还须要进一步扩大样本量进行分析。我院所用的 FUNGUS3 鉴定板仅包括 5-氟胞嘧啶、两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑 5 种药物，不包括棘白菌素类和泊沙康唑等新唑类药物，所以本研究缺失对棘白菌素和新唑类药物耐药的药敏资料。此外，本研究未对患者的治疗过程和临床结局进行汇总分析。

综上所述，慢性肝病患者假丝酵母菌感染仍然是以白色念珠菌为主，其对常用抗真菌药物耐药率较低。临床应加强对真菌感染的关注，根据假丝酵母菌感染的种类、部位及药敏试验结果合理选择抗真菌药物，尽量避免单纯经验用药，给予患者最佳的个性化治疗，以降低耐药率和病死率。

【参考文献】

- [1] Schwartz S, Kontoyiannis DP, Harrison T, *et al.* Advances in the diagnosis and treatment of fungal infections of the CNS [J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17(4):362–372.
- [2] Song Y, Chen X, Yan Y, *et al.* Prevalence and antifungal susceptibility of pathogenic yeasts in China: a 10-year retrospective study in a teaching hospital [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11:1401. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01401.
- [3] Guo LN, Xiao M, Cao B, *et al.* Epidemiology and antifungal

- susceptibilities of yeast isolates causing invasive infections across urban Beijing, China [J]. *Future Microbiol*, 2017, 12(12):1075–1086.
- [4] 田涸. 2015—2017 年某医院念珠菌感染及其耐药性分析 [J]. *中国真菌学杂志*, 2019, 14(1):37–41.
- [5] 张鑫, 陈华伟, 徐云雷, 等. 北京市平谷区医院的感染性疾病病原菌分布及耐药性 [J]. *传染病信息*, 2020, 33(6):562–565.
- [6] Nanchal RS, Ahmad S. Infections in liver disease [J]. *Crit Care Clin*, 2016, 32(3):411–424.
- [7] Ghobrial C, Mogahed EA, El-Karakasy H. Routine analysis of ascitic fluid for evidence of infection in children with chronic liver disease: is it mandatory? [J]. *PLoS One*, 2018, 13(10):e203808.
- [8] Fernandez J, Acevedo J, Wiest R, *et al.* Bacterial and fungal infections in acute-on-chronic liver failure: prevalence, characteristics and impact on prognosis [J]. *Gut*, 2018, 67(10):1870–1880.
- [9] 季柏林, 雷永良, 徐丽霞, 等. 肝病住院患者真菌感染调查与药敏分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(5):1047–1049, 1057.
- [10] Alexopoulou A, Vasilieva L, Agiasotelli D, *et al.* Fungal infections in patients with cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2015, 63(4):1043–1045.
- [11] Bucses T, Schwabl P, Mandorfer M, *et al.* Prognosis of cirrhotic patients with fungiascites and spontaneous fungal peritonitis (SFP) [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(6):1452–1454.
- [12] Xiao M, Chen SC, Kong F, *et al.* Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species causing candidemia in China: an update from the CHIF-NET study [J]. *J Infect Dis*, 2020, 221(Suppl 2):S139–S147.
- [13] Sikora M, Kuthan R, Piskorska-Malolepsza K, *et al.* Prevalence and antifungal susceptibility of the emerging fungal species, *Candida nivariensis*, isolated in a teaching hospital in Poland [J]. *Pol J Microbiol*, 2019, 68(3):303–308.
- [14] Gabaldon T. Recent trends in molecular diagnostics of yeast infections: from PCR to NGS [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2019, 43(5):517–547.
- [15] Zeng ZR, Tian G, Ding YH, *et al.* Surveillance study of the prevalence, species distribution, antifungal susceptibility, risk factors and mortality of invasive candidiasis in a tertiary teaching hospital in Southwest China [J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1):939. DOI: 10.1186/s12879-019-4588-9.
- [16] Bezerra AR, Oliveira C, Correia I, *et al.* The role of non-standard translation in *Candida albicans* pathogenesis [J]. *FEMS Yeast Res*, 2021, 21(4). DOI: 10.1093/femsyr/foab032.
- [17] 张敬霞, 崔恩博, 张鞠玲, 等. 肝病患者无菌部位酵母菌感染的临床特征及抗真菌药物的敏感性分析 [J]. *中国真菌学杂志*, 2020, 15(1):15–21.
- [18] Tits J, Cools F, de Cremer K, *et al.* Combination of miconazole and domiphen bromide is fungicidal against biofilms of resistant *Candida* spp [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64(10). DOI: 10.1128/AAC.01296–20.
- [19] Feng Y, Chen W, Jia Y, *et al.* N-Heterocyclic molecule-capped gold nanoparticles as effective antibiotics against multi-drug resistant bacteria [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(27):13223–13227.
- [20] 任晓慧, 周有骏, 陈新, 等. 深部真菌感染及其治疗药物研究现状 [J]. *武汉工业学院学报*, 2012, 31(1):22–27.
- (2021-06-01 收稿 2021-11-06 修回)
(本文编辑 揣征然)

(上接第 500 页)

【参考文献】

- [1] Morvan MG, Teque FC, Locher CP, *et al.* The CD8⁺ T cell noncytotoxic antiviral responses [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2021, 85(2):e00155–20. DOI: 10.1128/mmb.00155–20.
- [2] Zheltkova V, Argilaguet J, Peligero C, *et al.* Prediction of PD-L1 inhibition effects for HIV-infected individuals [J]. *PLoS Comput Biol*, 2019, 15(11):e1007401.
- [3] Leong YA, Chen Y, Ong HS, *et al.* CXCR5(+) follicular cytotoxic T cells control viral infection in B cell follicles [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(10):1187–1196.
- [4] Jiao YM, Yang HG, Huang HH, *et al.* Dichotomous roles of programmed cell death 1 on HIV-specific CXCR5(+) and CXCR5(-) CD8(+) T cells during chronic HIV infection [J]. *Front Immunol*, 2017, 8:1786. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01786.
- [5] Yu D, Ye L. A portrait of CXCR5+ follicular cytotoxic CD8⁺ T cells [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(12):965–979.
- [6] Pontarini E, Murray-Brown WJ, Croia C, *et al.* Unique expansion of IL-21+ Tfh and Tph cells under control of ICOS identifies Sjogren's syndrome with ectopic germinal centres and MALT lymphoma [J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(12):1588–1599.
- [7] Hu J, Feng X, Valdearcos M, *et al.* Interleukin-6 is both necessary and sufficient to produce perioperative neurocognitive disorder in mice [J]. *Br J Anaesth*, 2018, 120(3):537–545.
- [8] Yang HG, Jiao YM, Huang HH, *et al.* Transforming growth factor-beta promotes the function of HIV-specific CXCR5(+) CD8 T cells [J]. *Microbiol Immunol*, 2020, 64(6):458–468.
- [9] Pedros C, Altman A, Kong KF. Role of TRAFs in signaling pathways controlling T follicular helper cell differentiation and T cell-dependent antibody responses [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:2412. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02412.
- [10] 赵海燕, 刘萍萍, 尹飞. HIV 感染者滤泡细胞毒性 T 细胞与疾病进展的关系及功能分析 [J]. *传染病信息*, 2020, 33(6):509–512.
- (2021-08-30 收稿 2021-10-24 修回)
(本文编辑 张云辉)