

文章编号: 1672-3384 (2009) -05-0046-04

抗真菌药物耐药现状及机制研究

【作者】 石荟 商艳* 李强

第二军医大学附属长海医院呼吸内科 (上海 200433)

【摘要】 近年来随着抗真菌药物在临床上使用日益广泛,同时也导致真菌耐药性的迅速发展,耐药真菌感染的治疗已成为一个棘手的临床问题。真菌耐药是多种机制共同作用的结果,不同抗真菌药物的耐药机制不尽相同。对抗真菌药物耐药性的流行病学现状及耐药机制进行深入探讨,从而更好地了解耐药性与临床治疗失败的关系,有助于控制耐药真菌感染。

【关键词】 抗真菌药物; 耐药性

【中图分类号】 R978.5

【文献标识码】 A

目前,由于广谱抗生素的滥用以及持续性免疫缺陷(如艾滋病、中性白细胞减少)患者、肿瘤化疗和器官移植患者的增加,深部真菌感染率有所升高^[1]。随着抗真菌药物在临床上使用日益广泛,真菌耐药性迅速发展,这一问题已经大大限制了抗真菌药物在临床上的应用,成为困扰抗真菌研究的主要难题。为了更好地控制真菌感染,在分子水平上认识真菌耐药性的发生机制并控制其发生发展,显得尤为重要。

抗真菌药物耐药性的流行病学现状

抗真菌药物的研究历史已有近百年,1980年Rosenblatt首次报道念珠菌对酮康唑产生耐药性,此后有关真菌耐药性的报道越来越多。Wroblewka等发现,从临床分离的851株白色念珠菌中,有37.2%对氟康唑耐药,47.6%对伊曲康唑耐药。真菌对两性霉素B的原发耐药发生率低,多见于足放线菌、镰孢菌、土曲霉菌等感染,偶见于黄曲霉菌、假霉样真菌属、帚霉属、镰刀菌属。肿瘤患者使用细胞毒性药物化学治疗、中性粒细胞减少、免疫抑制治疗等都是两性霉素B耐药真菌感染的条件。新型隐球菌继发对两性霉素B耐药偶见于严重的免疫功能损伤患者。对唑类抗真菌

药耐药以假丝酵母菌感染最常见,最常见的感染是艾滋病(AIDS)患者口腔念珠菌的感染,尤其是CD4计数极度低下和长时间抗真菌药物使用者^[2]。20世纪90年代早期引入氟康唑治疗AIDS后,口腔念珠菌感染很快出现了耐氟康唑的菌株。除此之外,唑类耐药还常见于氟康唑的累计使用剂量超过10g的患者^[3]。给药方式同样会对耐药的产生造成一定的影响,间歇给药的耐药发生率相较于持续给药要高的多^[4]。值得引起重视的是无论是每日或每周的预防用药还是单药的冲击治疗,都会有耐药发生的可能性^[5-6]。唑类耐药报道还见于反复感染的外阴念珠菌病患者^[7],而且研究发现非白色假丝酵母菌感染引起耐药的比例有所增加^[8]。常见的耐药非白色念珠菌包括光滑念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌和近平滑念珠菌^[9]。伊曲康唑在临床应用的时间相对较短,并且以口服为主,故耐药的报道相对较少,但在免疫缺陷患者中,已分离出耐伊曲康唑的念珠菌、烟曲霉、新型隐球菌^[10]。伊曲康唑对耐氟康唑的念珠菌和烟曲霉的最低抑菌浓度(minimal inhibition concentration, MIC)明显升高,说明在唑类抗真菌药物之间存在交叉耐药的可能性。

* 通讯作者: 主治医师, E-mail: shangyande@yahoo.com.cn

抗真菌药物的耐药性机制

2.1 对多烯类的耐药机制

多烯类抗真菌药物主要包括两性霉素 B 和制霉菌素等,其特点是作用于细胞膜中含有固醇的真菌,多烯类抗真菌药物通过其疏水的双键与固醇结合形成甾醇-多烯复合物,使细胞膜脂质双层发生去极化,形成多孔状,从而导致 K^+ 、 Mg^{2+} 等离子和基质外泄。此外还可通过氧化反应进一步加重细胞膜损伤从而导致细胞死亡,其抗真菌作用和不良反应都较强。现研究发现,真菌对多烯类的耐药性与细胞内麦角甾醇的含量减少有关。细胞膜中缺少麦角甾醇的真菌变种常对多烯类药物耐药,其细胞膜中的主要甾醇成分已不是麦角甾醇。在对两性霉素 B 耐药的白色念珠菌突变体中,可发现麦角甾醇的含量有 74% ~ 85% 的下降。进一步研究证实杜氏利什曼原虫对两性霉素 B 的耐药,就是由于细胞膜中另外一种固醇替代了麦角甾醇,影响了细胞膜的流动性,并且改变后的细胞膜对两性霉素 B 的亲和力较低^[11]。

2.2 对氟胞嘧啶耐药的机制

单独应用氟胞嘧啶抗真菌治疗时有 10% ~ 15% 的真菌可产生耐药性。对白色念珠菌的基因组学研究证实,对氟胞嘧啶类药物的耐药是由特殊菌株的基因型所决定的隐性特征,在菌株的遗传位点上存在着耐药基因 *FCY* (*FCY* 为显性, *fcy* 为隐性)。因此, *FCY/FCY* 菌株对氟胞嘧啶敏感,其尿嘧啶磷酸核苷转移酶 (UPRT 酶) 活性高 (大约为 3U); 部分耐药的菌株表现出耐药基因的杂合子 *FCY/fcy*, 其 UPRT 酶活性减弱 (大约为 1.5U); 杂合子进一步突变将产生耐药表现型 *fcy/fcy*, 其 UPRT 酶几乎没有活性。基因分析已显示有两个基因定位 *FCY1* 和 *FCY2* 可以突变产生氟胞嘧啶耐药^[12]。

2.3 对三唑类的耐药机制

三唑类抗真菌药主要指氟康唑、伊曲康唑和伏立康唑等,特别是伏立康唑,对很多机会致病菌,包括曲霉菌、克鲁斯念珠菌等耐氟康唑的真

菌都显示良好的抗真菌活性。然而随着唑类药物的广泛应用,临床治疗失败的病例也越来越多,究其原因,主要与真菌对唑类药物的耐药性增加有关。针对三唑类的耐药可由以下几种机制引起^[13]: ①主动外排减少了唑类抗真菌药的累积。真菌对唑类药物外排泵的作用增强,使唑类药物在细胞内的浓度达不到有效作用浓度。ABC 转运子是与小分子物质跨膜运动有关的外排泵,其编码的基因族主要有 4 大类: *MDR*, *CFTR*, *YEF* 和 *PDR*。迄今为止,已从念珠菌和曲霉菌中分离出 8 个属于 ABC 转运子的基因,包括属于 *PDR* 族的 *cdr* 基因 (*cdr1* - *cdr5*), *MDR* 族的 *hst6*, *CFTR* 族的 *ycf1* 和 *YEF* 族的 *elf1*。 *cdr1* 基因编码的跨膜蛋白,是一种 ATP 依赖性的转运子,可将小分子物质进行跨膜转运。耐药念珠菌的 *cdr1*, *cdr2* 和 *mdr1* 的 mRNA 浓度明显升高,并伴细胞内唑类药物浓度下降。外排泵的作用增强可见于固有耐药和获得耐药的白色念珠菌、克柔念珠菌、光滑念珠菌、烟曲霉菌等。②改变唑类药物的靶酶。耐药真菌的细胞色素 P450 中 14 α -去甲基酶 (14-DM) 编码基因 *ERG11* 发生了基因突变,导致 14-DM 的结构发生变化,使其 mRNA 过度表达, P450 中 14-DM 合成增加。测序分析比较发现,耐药株靶酶基因 *ERG11* 编码区出现 12 个碱基的点突变^[14],导致基因产物 4 个氨基酸的改变,现研究证实,突变体的 *ERG11* P450 酶的催化活性没有改变,但对唑类药物的亲和力下降,显示了靶酶基因 *ERG11* 发生突变与真菌的耐药有一定的相关性。另外靶酶基因的过度表达可产生大量的靶酶,细胞内药物的浓度不能完全抑制靶酶的活性,也促使真菌产生耐药性。另有研究发现对唑类耐药的光滑念珠菌中,其麦角固醇的含量增加,主要是由于 14-DM 表达增多,也证实了 *ERG11* 基因过度表达与念珠菌耐药表型的关系^[15]。③膜甾醇合成通路发生变化^[16]。对耐唑类抗真菌药的酿酒酵母菌的基因研究发现,甾醇合成的变化与耐药有关。唑类药物与念珠菌作用后引起麦角甾醇合

成受阻,麦角甾醇被14 α -甲基-3,6-羟基替代。14 α -甲基-3,6-羟基为细胞毒性甾醇,能干扰真菌甾醇与磷脂的整合而抑制细胞生长,使唑类药物对真菌的抑制作用被对抗而产生耐药性。④真菌细胞膜对抗真菌剂的通透性下降,使药物不能进入真菌细胞内。

真菌对唑类药物的耐药是逐渐形成的,是多种不同的耐药机制共同作用的结果。在唑类药物选择压力作用下,部分真菌最初可能通过其中某一机制产生低水平耐药,然后被筛选出来成为优势菌群的低水平耐药菌株,在持续的选择压力作用下,又可能发生基因突变^[17]。临床上念珠菌对唑类抗真菌药的耐药是最为普通的真菌耐药类型,分离出的病原菌以白色念珠菌为主。伊曲康唑在临床应用的时间相对较短,并且以口服为主,故耐药的报道相对较少。伊曲康唑对耐氟康唑的念珠菌和烟曲霉的MIC值明显升高,其中部分真菌对伊曲康唑也耐药,即使较新的伏立康唑对耐氟康唑的念珠菌和烟曲霉的MIC值亦有所升高。

2.4 对 β -1,3-D-葡聚糖合酶抑制剂的耐药机制

这类抗真菌药物主要作用于真菌细胞壁,如棘白菌素类的卡泊芬净和米卡芬净等。目前真菌对卡泊芬净耐药性的研究还限于实验室突变株。酵母菌和念珠菌分离株中的*fsk1*和*fsk2*基因的突变与卡泊芬净耐药性有关。此外,涉及细胞壁成分运输的一个高尔基体蛋白——*sbe2p*的过度表达会导致酿酒酵母菌耐药。但临床上重要的病原菌新型隐球菌对卡泊芬净不敏感,虽然该菌细胞壁中含有 β -1,3-D-葡聚糖,详细的机制还在进一步研究中^[18]。

3 真菌耐药的对策

真菌的耐药机制十分复杂,目前认为^[19]对于临床真菌耐药的相关因素可以归结为以下3点:①真菌因素,主要包括MIC值、细胞类型(转换表型,血清型)、菌株的基因稳定性、种群的大小、生物膜等;②药物的因素,包括药物抑菌性、药物剂量、群体药代动力学以及药物间相互因素;

③宿主因素,包括宿主的免疫状态、感染的部位、感染的严重程度、患者的依从性、有无易感感染的因素(如静脉内插管)等。真菌耐药性已成为深部真菌感染治疗上一个日益严峻的问题,目前解决这一问题的策略包括有:联合用药来增加疗效,减少产生耐药菌株;提高患者的免疫功能;避免盲目的预防性用药;研制针对新的作用靶位点的抗真菌药物;改进原有药物的剂型;监测抗真菌药物的耐药情况等一系列方式。另有资料^[20]表明提高药物剂量,如应用高剂量氟康唑($>12\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)治疗敏感的、剂量依赖性的念珠菌感染是安全有效的。由于真菌耐药机制复杂,临床治疗真菌感染应努力获得更多样本和证据,应根据具体情况选择合适的药物和给药方法。

4 展望

目前问世的抗真菌药物研究中已形成逐渐向高效、广谱、低毒方向发展的趋势,研究抗真菌药物的作用机制有利于进一步了解和改善药物的药学特性,以便更好地发挥疗效。目前研究需进一步探讨抗真菌药物产生耐药的机制,从而能更好地了解耐药性与临床治疗失败的关系,进一步带来更佳的临床获益。

【参考文献】

- [1] Vanden BH, Engelen M, Rochette F. Antifungal agents of use in animal health—chemical, biochemical and pharmacological aspects. *J Vet Pharmacol Ther*, 2003, 26: 5-29
- [2] Maenza JR, JC Keruly, RD Moore, et al. Risk factors for fluconazole-resistant candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Infect Dis*, 1996, 173: 219-225
- [3] Millon L, A Manteaux, G Reboux, et al. Fluconazole-resistant recurrent oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive patients: persistence of *Candida albicans* strains with the same genotype. *Clin Microbiol*, 1994, 32: 1115-1118
- [4] Heald AE, GM Cox, WA Schell, et al. Oropharyngeal yeast flora and fluconazole resistance in HIV-infected patients receiving long-term continuous versus intermittent fluconazole therapy. *AIDS*, 1996, 10: 263-268
- [5] Laguna F, JL Rodriguez-Tudela, JV Martinez-Suarez, et al.

- Patterns of fluconazole susceptibility in isolates from human immunodeficiency virusinfected patients with oropharyngeal candidiasis due to *Candida albicans*. *Clin Infect Dis*, 1997, 24: 124-130
- [6] Sanguinetti A, JK Carmichael, K Campbell. Fluconazole - resistant *Candida albicans* after long - term suppressive therapy. *Arch Intern Med*, 1993, 153: 1122-1124
- [7] Sobel JD, JA Vazquez. Symptomatic vulvovaginitis due to fluconazole - resistant *Candida albicans* in a female who was not infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*, 1996, 22: 726-727
- [8] Redondo - Lopez V, M Lynch, C Schmitt, et al. *Torulopsis glabrata* vaginitis; clinical aspects and susceptibility to antifungal agents. *Obstet Gynecol*, 1990, 76: 651-655
- [9] Rex JH, Rinald MG. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39 (1): 1-6
- [10] Law D, CB Moore, HM Wardle, et al. High prevalence of antifungal resistance in *Candida* spp. from patients with AIDS. *Antimicrob Chemother*, 1994, 34: 659-668
- [11] 冷萍, 郭秀丽, 娄红祥. 真菌耐药的分子机制及新型抗真菌药物术. *生理学进展*, 2005, 36 (4): 325-327
- [12] Hope WW, Taberner L, Denning DW, et al. Molecular mechanisms of primary resistance to flucytosine in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48: 4377-4386
- [13] 黄文祥, 王其南. 抗真菌药物的耐药性研究进展. *国外医药抗生素分册*, 2003, 24 (4): 176-179
- [14] Asai K, Tsuchimori N, Okonogi K, et al. Formation of azole resistant *Candida albicans* by mutation of sterol 14 - demethylase P450. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43 (5): 1163
- [15] Asai K, Tsuchimori N, Okonogi K, et al. Formation of azole - resistant *Candida albicans* by mutation of sterol 14 - demethylase P450. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43 (5): 1163-1169
- [16] 孙淑娟, 娄红祥, 李宏建. 真菌耐药机制研究进展. *中国医院药学杂志*. 2004, 24 (8): 496-498
- [17] 张坚磊, 王金良. 国外医学临床生物化学与检验学分册. 2005, 26 (9): 609-616
- [18] 叶丽娟, 王格, 朱辉. 抗真菌药物作用机制及真菌耐药机制的研究进展. *国外医药抗生素分册*, 2006, 27 (5): 221-227
- [19] Theodore C. White, Kieren A. Marr, et al. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *clinical microbiology reviews*. 1998, 11 (2): 382-402
- [20] 施安国. 真菌耐药的现状与对策. *医药导报*, 2005, 24 (3): 243-245

文章编号: 1672-3384 (2009) -05-0049-04

我院抗菌药物合理使用管理的实践和体会

【作者】 陈世财

北京潞河医院药剂科 (北京 101100)

【摘要】 为了加强门诊抗菌药物的合理使用, 我院通过抗菌药物自动分级管理、安装合理用药软件、药品用量超常预警、抗菌药物知识的培训、不合理处方点评等多种形式进行了综合管理, 经过各部门的通力合作和不懈努力, 净化了我院抗菌药物合理使用环境, 引导了临床医师合理、安全、有效地使用抗菌药物, 使我院抗菌药物的使用逐步规范和合理。从2008年年初到年底, 门诊抗菌药物处方不合格率从0.94%下降到0.063%, 抗菌药物占全部药品比例从25.36%下降到22.17%, 全院药占比也随之持续下降, 有效遏制了抗菌药物不合理使用愈演愈烈的势头, 初步达到了我们的预期目标。

【关键词】 抗菌药物; 合理用药; 处方点评; 体会

【中图分类号】 R574

【文献标识码】 A

近几年来, 随着我院医疗水平不断提高, 各类患者不断增多, 药品占全院总收入比例持续上

升, 为此, 根据上级卫生行政管理部门和医保管理部门的管理要求, 医院在2007年初出台《关于