研究论文
Research paper 22 February 2026, 45(2): 250096 菌物学报 Mycosystema ISSN 1672-6472 CN 11-5180/Q

Doi: 10.13346/j.mycosystema.250096
CSTR: 32115.14.j.mycosystema.250096

黄曲霉中唑类耐药基因 *Cyp51* 突变位点鉴定

艾柯代·玉苏甫#，祖拜旦木·艾则孜#，哈地利亚·哈斯木，王晓东*

新疆医科大学第一附属医院皮肤科，新疆 乌鲁木齐 830011

摘　要：对新疆临床分离的 6 株黄曲霉进行分子鉴定及唑类耐药基因 *cyp51A*、*cyp51B* 和 *cyp51C* 耐药突变表型鉴定。采用 PCR 扩增 ITS 和 *BenA* 基因，扩增产物进行测序，blast 比对后进行菌种的分子鉴定；采用 Sensititre Yeastone 真菌药敏试剂盒检测 7 种药物的体外抗真菌药物敏感性，MIC/MEC 结果解释标准依据 CLSI M57S 推荐；设计特异性引物，采用 PCR 扩增黄曲霉菌株的 *cyp51A*、*cyp51B* 和 *cyp51C* 基因并测序，测序结果与黄曲霉参考菌株比对鉴定耐药突变表型。真菌药敏试验 MIC/MEC 值显示，6 株菌株均对棘白菌素类高度敏感(MEC≤0.015 μg/mL)、对伊曲康唑和泊沙康唑敏感率为 100%；1 株对两性霉素 B 耐药(MIC=8 μg/mL)，2 株对伏立康唑耐药(MIC=4 μg/mL)。基因测序结果显示，*cyp51A* 和 *cyp51C* 在敏感株和耐药株中均出现了同义和非同义点突变，*cyp51B* 中未发现突变。然而，*cyp51C* 基因中 P276T 突变位点只存在于耐药菌株中。棘白菌素类、伊曲康唑和泊沙康唑对黄曲霉的体外抑菌活性较好，伏立康唑和两性霉素对黄曲霉的抑菌活性较差；*cyp51C* P276T 突变可能是黄曲霉对伏立康唑耐药的新潜在机制。
关键词：黄曲霉；抗真菌药物敏感性；唑类耐药；*cyp51* 基因

[引用本文]
艾柯代·玉苏甫，祖拜旦木·艾则孜，哈地利亚·哈斯木，王晓东，2026. 黄曲霉中唑类耐药基因 *Cyp51* 突变位点鉴定. 菌物学报，45(2): 250096
Yusup A, Aziz Z, Kasim K, Wang XD, 2026. Identification of the *Cyp51* mutation site of the azole resistance gene in *Aspergillus flavus*. Mycosystema, 45(2): 250096

资助项目：新疆维吾尔自治区“天山英才医药卫生高层次人才培养计划中青年骨干人才”(TSYC202301B029)
This work was supported by the Xinjiang Uygur Autonomous Region “Tianshan Elite Medical and Health High-level Talent Training Program Young Backbone Talents” (TSYC202301B029).
*Corresponding author. E-mail: zhengdong18@sina.com
#Co-first author
Received: 2025-04-02; Accepted: 2025-07-14

Identification of the *Cyp51* mutation site of the azole resistance gene in *Aspergillus flavus*

YUSUP Akeda#, AZIZ Zubaida#, KASIM Kadirya, WANG Xiaodong*

Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang, China

Abstract: The molecular characterization and phenotype identification of resistance mutations of azole resistance genes *cyp51A*, *cyp51B* and *cyp51C* of 6 clinical *Aspergillus flavus* isolates from Xinjiang are carried out. The isolates were identified based on internal transcribed spacer (ITS) and *BenA* gene sequencing. The Sensititre Yeastone Fungal Drug Sensitivity Kit was used to detect the *in vitro* antifungal susceptibility of 7 drugs, and the MIC/MEC results were interpreted according to the standards recommended by CLSI M57S. The *cyp51A*, *cyp51B* and *cyp51C* genes of *A. flavus* strains were amplified and sequenced by PCR, and the sequencing results were compared with the reference strain of *A. flavus* to identify the resistance mutation phenotype. All 6 clinical isolates were identified as *A. flavus*. The results of antifungal susceptibility test showed that the isolated *A. flavus* strains were completely sensitive to echinocandins, itraconazole and posaconazole; of which 1 strain was resistant to amphotericin (8 μg/mL) and 2 strains were resistant to voriconazole (4 μg/mL). Sequencing of the *cyp51A*, *cyp51B*, and *cyp51C* genes of 2 azole-sensitive and 4 azole-resistant strains revealed that both *cyp51A* and *cyp51C* in sensitive and resistant strains showed synonymous and non-synonymous point mutations, and no mutation was found in *cyp51B*. However, the P276T mutation site in *cyp51C* gene was only found in one resistant isolate. Echinocandins, itraconazole and posaconazole showed better antifungal activity against *A. flavus*, while voriconazole and amphotericin showed lower antifungal activity against *A. flavus*. Probably *cyp51C* gene mutation of *A. flavus* is associated with azole resistance.

Keywords: *Aspergillus flavus*; antifungal susceptibility; azole-resistance; *cyp51* gene

曲霉菌是环境中广泛存在的机会性致病真菌，可引起肺、眼、鼻、外耳道、皮肤等的感染。侵袭性曲霉病(invasive aspergillosis, IA)是曲霉菌感染最严重的一种类型，主要累及免疫功能受损患者，死亡率高达 60% (Chowdhary *et al*. 2013；Chris & David 2015)。尽管烟曲霉仍是 IA 最常见的病原体，但近年来非烟曲霉导致的感染比例显著上升，尤以黄曲霉 *Aspergillus flavus* Link 居多，可达 27.5% (徐媛等 2018)。值得注意的是，黄曲霉感染更易累及免疫正常的宿主，且常引发侵袭性鼻窦炎和角膜炎(Alessandro 2009；Al-Wathiqi *et al*. 2013)。唑类药物的作用机理是抑制麦角甾醇 14α-去甲基化酶(CYP51)，阻止麦角甾醇生物合成通路，导致麦角甾醇合成减少，发挥抗真菌作用(Patterson *et al*. 2016)。然而，随着农业和临床唑类药物的广泛使用，黄曲霉耐药株的检出率逐年上升(Vermeulen *et al*. 2013)。目前，烟曲霉的唑类耐药机制已较为明确，主要涉及 *cyp51A* 基因突变(如 TR34/L98H)及外排泵过表达等。相比之下，对黄曲霉耐药研究相对有限。近年研究表明，黄曲霉对唑类耐药可能与其特有的 *cyp51* 基因(*cyp51A*、*cyp51B*、*cyp51C*)突变相关，但不同基因亚型的作用存在显著差异(Sharma *et al*. 2018；Lucio *et al*. 2020)。新疆作为我国重要的农业和畜牧业基地，抗真菌药物使用模式与环境压力具有地域特殊性。本研究旨在探讨临床分离的黄曲霉的药敏特征及分析 *cyp51A*、*cyp51B* 和 *cyp51C* 基因与唑类耐药的关

系，揭示黄曲霉唑类耐药的可能机制，为区域性抗真菌药物的合理使用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

本研究的 6 株黄曲霉临床分离株筛选自 2011 年至 2023 年保存于新疆医科大学第一附属医院皮肤科真菌实验室真菌标本库的 111 株曲霉菌属分离株。全部菌株从临床标本中培养分离并经过形态学初步鉴定为黄曲霉。

1.2 方法

1.2.1 菌株培养

将–80 ℃低温冰箱液体冷冻保存的菌株恢复室温复苏后，用无菌接种环挑取少量菌液接种于 PDA 培养基，置于 28 ℃恒温培养箱培养 3–5 d。

1.2.2 DNA 提取

挑取一定量的菌落置于组织研磨器中进行研磨，并按照 Ezup 柱式真菌基因组 DNA 抽提试剂盒(生工生物工程(上海)股份有限公司)说明书进行菌种 DNA 提取。

1.2.3 PCR 扩增和测序

PCR 扩增核糖体 DNA 内转录间区(internal transcribed space, ITS)和 *BenA* (微管蛋白)基因。PCR 引物：ITS1 (5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′)、ITS4 (5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′)和 BT2a (5′-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3′)、BT2b (5′-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3′)。PCR 反应条件：95 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 30 s、57 ℃退火 30 s、72 ℃延伸 90 s，共 30 个循环；72 ℃延伸 10 min。扩增产物进行 1.5%琼脂糖凝胶电泳，产物纯化后测序。将测序得到的基因序列在 GenBank 进行 BLAST 比对后鉴定菌种。

1.2.4 体外抗真菌药物敏感性试验

使用商品化的体外抗真菌药物敏感性检测试剂盒 Sensititre YeastOne 真菌药敏板(Thermo Fisher)进行测量，实验步骤按照试剂盒说明书进行。我们测试了全部菌株对 3 类抗真菌药总计 7 种药物的敏感性，(a)多烯类：两性霉素 B；(b)唑类：伊曲康唑、伏立康唑和泊沙康唑；(c)棘白菌素类：卡泊芬净、阿尼芬净和米卡芬净。两性霉素 B 的最终检测浓度范围为 0.12–8 μg/mL；卡泊芬净、米卡芬净、伏立康唑、泊沙康唑为 0.008–8 μg/mL；伊曲康唑为 0.015–16 μg/mL；阿尼芬净：0.015–8 μg/mL。接种后的药敏板置于 35 ℃培养箱孵育 24–48 h。试剂盒以克柔念珠菌 ATCC6258 作为质量控制菌株。依据标准参考临床实验室标准协会(CLSI) M57S 来评估药物的敏感性(Procop *et al*. 2022)。

1.2.5 *Cyp51A* 基因突变检测

提取 6 株黄曲霉菌株基因组 DNA，按照真菌基因组 DNA 抽提试剂盒说明书进行。PCR 扩增 *cyp51A*、*cyp51B* 和 *cyp51C* 基因并测序，使用的引物序列见表 1。PCR 反应总体系为 25 μL：上下游引物各 1 μL，dNTP (mix) 1 μL，*Taq* 酶 0.2 μL，模板 DNA 1 μL，PCR 缓冲液 2.5 μL，

表 1 基因扩增及测序引物
Table 1 PCR and RT-PCR primers

基因 Gene	引物名称 Primer	序列 Sequence (5′→3′)
Cyp51A	Cyp51A-F1	CAAGAACAGCCTGCACAGAG
	Cyp51A-R1	GGGTGGATCAGTCTTATTA
	Cyp51A-F2	GCAATCATCGTCCTAAATC
	Cyp51A-R2	CTGTCCATTCTTGTAGGTA
	Cyp51A-F3	GCATGAGGGAGATCTATATG
	Cyp51A-R3	CCTATAATTGCTGGTTTCG
	Cyp51A-F4	TGAAGCTATTCAATGTAGAC
	Cyp51A-R4	ACTGCTGATGGTGTGCTAAG
Cyp51B	Cyp51B-F5	ATGGGCATCCTAGCTGTCATTC
	Cyp51B-R5	GGCGGTGTATATGGTAATCTC
	Cyp51B-F6	CCCTTGGTATTTCATTGGTTCCC
	Cyp51B-R6	TTTCATGTTACCATGGGCCC
	Cyp51B-F7	TTTCATGTTACCATGGGCCC
	Cyp51B-R7	TTCAGAGCTAACAGCGATGGC
	Cyp51B-F8	CGGAAGAACATTTCCCTGATCC
	Cyp51B-R8	CGTCTGGCAATATCATGCAC
Cyp51C	Cyp51C-F9	CAATGGTGCTGACAAACCTG
	Cyp51C-R9	CAAAGGAGCGACACATAAG
	Cyp51C-F10	GGTAATGTCTGGTCATAGG
	Cyp51C-R10	ATGAGCTTGGAATTGGG
	Cyp51C-F11	CGAATTCATCCTCAATGG
	Cyp51C-R11	GTCTCTCGGATCACATT
	Cyp51C-F12	GGAACTCTACCAAGAGCA
	Cyp51C-R12	GCTCATCATAATGCATGAGG

ddH_2O 18.3 μL。PCR 反应条件：95 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 30 s，63 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，共 30 个循环；72 ℃延伸 10 min。利用 SnapGene7.0.2 软件将扩增的产物基因序列与 GenBank 数据库提供的参考菌株黄曲霉 NRRL3357 进行比对，以确定基因突变位点。

2 结果与分析

2.1 菌种鉴定

所有菌株经 ITS 和 *BenA* 测序，与 GenBank 数据库中黄曲霉序列比对，一致性≥98%，表明所有菌株均为黄曲霉。

2.2 抗真菌药物敏感性

6 株临床分离黄曲霉对 7 种抗真菌药物的敏感性见表 2。棘白菌素类药物：6 株临床黄曲霉菌种均对阿尼芬净、卡泊芬净和米卡芬净具有较低水平的最低有效浓度(minimum effective concentration, MEC)，总体 MECs≤0.015 μg/mL。多烯类药物：根据 CLSI M57S 的黄曲霉两性霉素 B 的 ECV 值为 4 μg/mL，即≥8 μg/mL 提示非野生型(耐药)；有 1 株黄曲霉对 AMB 耐药。唑类药物：黄曲霉对伊曲康唑和泊沙康唑的敏感率为 100%；此外，发现 2 株对伏立康唑耐药(MIC>2 μg/mL)。

2.3 *Cyp51A*、*cyp51B* 和 *cyp51C* 基因突变

通过 PCR 扩增获得与预期目的片段大小相同的产物，对该产物进行序列测定，与黄曲霉敏感菌的 *cyp51A*、*cyp51B* 和 *cyp51C* 基因序列(GenBank 登录号为 NRRL3357)比对后发现，在敏感株和耐药菌株中的 *cyp51A* 基因共有 7 个同义突变位点(P61、K136、F188、Y247、P315、P394 和 N462)；*Cyp51B* 没有任何氨基酸替换；*Cyp51C* 中检测到 10 个同义和非同义突变位点，9 个突变位点(M54T、G58、S240A、D254G、L326、L348、S386、E421 和 N423D)也存在于敏感菌株中。1 株伏立康唑耐药菌株中携带 P276T 点突变，这个突变仅存在于该菌株中(表 3)。

3 讨论

近年来侵袭性曲霉病的发病率逐年上升，但治疗侵袭性真菌感染的药物种类有限，耐药菌株常导致治疗失败，给临床带来挑战。虽然黄曲霉占曲霉感染中的第 2 位，但关于黄曲霉的研究及临床信息相对较少，所以对黄曲霉进行药物敏感性试验及耐药机制的研究，对寻找新的治疗靶点意义重大。本研究中，棘白菌素类药物对黄曲霉体外抗菌活性最高，米卡芬净、阿尼芬净和卡泊芬净 MEC 均为 0.015 μg/mL，能有效抑制全部菌株生长，这个结果与研究报道一致(郭鹏豪等 2022)，进一步支持棘白菌素作为侵袭性曲霉病补救治疗的临床价值。唑类药物中抗菌效果最高的是伊曲康唑和泊沙康唑，优于伏立康唑，这与 Wang *et al*. (2022)报道的黄曲霉唑类耐药情况基本一致。本实验 6 株黄曲霉中有 1 株对两性霉素 B 耐药，占所有黄曲霉菌株的 16.67%。对中国安徽地区的曲霉临床分离株的药物敏感性研究显示，该地区黄曲霉对两性霉素 B 的耐药率为 20.8% (Wang *et al*. 2022)。最近欧洲的一项研究，从 26 909 株曲霉属分离株中，在 36.8%

表 2 黄曲霉对抗真菌药物的 MIC/MEC 值(μg/mL)
Table 2 The MIC/MEC values (μg/mL) of antifungal agents against clinical isolates of *Aspergillus flavus*

样本 Sample	伊曲康唑 Itraconazole	伏立康唑 Voriconazole	泊沙康唑 Posaconazole	阿尼芬净 Anidulafungin	米卡芬净 Micafungin	卡泊芬净 Caspofungin	两性霉素 B Amphotericin B
01	0.12	0.5	0.25	≤0.015	0.015	0.015	4
02	0.25	1	0.25	≤0.015	≤0.008	≤0.008	4
03	0.25	0.5	0.25	≤0.015	≤0.008	≤0.008	4
04	0.25	0.5	0.25	≤0.015	≤0.008	≤0.008	8
05	0.25	4	0.12	≤0.015	≤0.008	≤0.008	2
06	0.25	4	0.25	≤0.015	≤0.008	0.015	4

表 3 黄曲霉 *cyp51A*、*cyp51B* 和 *cyp51C* 基因氨基酸突变位点

Table 3 The amino acid mutation sites of *cyp51A*, *cyp51B* and *cyp51C* genes in clinical isolates of *Aspergillus flavus*

样本号 Sample No.	唑类敏感/耐药 Azole sensitive/resistant	氨基酸突变位点 Amino acid mutation sites									
Cyp51A											
01	S	-	-	F188	Y247	-	-	-			
02	S	P61	K136	F188	Y247	P315	P394	N462			
03	S	-	-	F188	Y247	-	P394	-			
04	S	P61	-	F188	-	-	P394	-			
05	R	P61	K136	F188	-	-	P394	-			
06	R	F188	-	-	Y247	-	P394	-			
Cyp51B											
01	S	undetected									
02	S	undetected									
03	S	undetected									
04	S	undetected									
05	R	undetected									
06	R	undetected									
Cyp51C											
01	S	-	-	-	-	-	L326	L348	S386	E421	N423D
02	S	M54T	G58	S240A	D254G	-	L326	L348	S386	E421	N423D
03	S	-	-	-	-	-	-	L348	S386	E421	N423D
04	S	M54T	G58	S240A	-	-	L326	L348	-	-	-
05	R	M54T	G58	S240A	D254G	P276T	-	-	-	E421	N423D
06	R	M54T	G58	S240A	D254G	-	L326	L348	S386	E421	N423D

注：S，敏感；R，耐药

Note: S, sensitive; R, resistant.

的土曲霉、14.9%的黄曲霉、5.2%的黑曲霉和2.01%的烟曲霉分离株中检测到对两性霉素 B 的耐药性。不同研究中的两性霉素 B 耐药菌株所占比例有所差异，可能与菌株的地区分布、标本来源和检测方法有关。Wang *et al*. (2018)的研究证实，Sensititre YeastOne 真菌药敏检测试剂盒对于两性霉素 B 的检测结果比 CLSI M38-A2 方法的结果高 3.3 倍，提示需结合临床疗效对耐药阈值进行区域性验证。

甾醇 14-去甲基化酶(CYP51)是唑类抗真菌药物作用的靶酶，其基因突变与多种真菌唑类药物耐药相关。本研究对 4 株敏感及 2 株耐药菌株的 *cyp51* 基因进行了测序，*cyp51A* 基因中 7 个(P61、K136、F188、P315、Y247、P394 和 N462)突变位点在敏感株与耐药株中均存在，不是既往文献报道的 K197N、D282E、M288L、Y132N 和 T469S 等多个与黄曲霉对唑类耐药有关的突变位点(Krishnan-Natesan *et al*. 2008)，提示其为黄曲霉种群多态性特征，可能不直接参与耐药。*Cyp51B* 基因测序显示未发现任何突变位点，这与之前的研究结果一致(Sharma *et al*. 2018；Lucio *et al*. 2020)，再次证明 *cyp51B* 基因序列较为保守，不易发生突变，黄曲霉耐药可能与 *cyp51B* 基因突变无关。迄今为止，只有黄曲霉 *cyp51C* 的一个点突变(Y319H)提示与唑类耐药密切相关(Paul *et al*. 2015)。本研究中 *cyp51C* 基因存在 10 个突变位点，在敏感和耐药菌株中均有 9 个(M54T、G58、S240A、D254G、L326、L348、S386、E421 和 N423D)突变位点，这些突变位点与耐药无关(Sharma *et al*. 2018；Choi *et* *al*. 2019)，P276T 突变仅在 1 株耐药菌株中检出，未见于敏感菌株，需扩大样本量验证其与伏立康唑耐药的因果关系。另一株伏立康唑耐药株未携带 P276T 突变或其他已知 *cyp51* 突变，提示可能存在其他耐药机制，如外排泵基因 *cdr1B* 过表达，生物膜形成、氧化应激应答增强等表型适应性途径降低药物敏感性。Liu *et al*. (2012)首次在伏立康唑耐药的黄曲霉临床分离株中发现 *cyp51C* 的 T788G 突变(S240A)，并通过异源表达实验证明该突变可使伏立康唑 MIC 值升高 4 倍，提示其可能参与耐药表型。本研究在敏感株和耐药株中存在 *cyp51C* 中的 S240A。Paul *et al*. (2018)在印度耐药株中检测到 S240A 突变，但该突变在敏感株和耐药株中普遍存在。这表明 S240A 点突变可能与黄曲霉唑类耐药无直接因果关系，但其可能与其他突变或调控机制(如外排泵过表达)协同导致唑类耐药。本研究的样本量较小，且未构建点突变菌株进行验证性实验。后续研究可通过 CRISPR-Cas9 基因编辑技术构建 P276T 点突变菌株，评估其对伏立康唑 MIC 值的影响。

综上所述，本地区黄曲霉的耐药机制可能与 *cyp51C* 的点突变有关，然而，黄曲霉对唑类耐药现象并非受单一机制的调控，且临床很多患者存在滥用抗真菌药物的现象，导致黄曲霉对唑类药物的耐药性不断提高，而新型抗真菌药开发缓慢，改善黄曲霉对唑类的耐药问题迫在眉睫，因此，我们需要进一步研究黄曲霉致病机制和耐药机制，寻找新的药物治疗靶点，探索新的治疗体系，提高患者生存率。

作者贡献

艾柯代·玉苏甫：论文构思及撰写；祖拜旦木·艾则孜：论文修改、原始数据收集；哈地利亚·哈斯木：论文构思及指导；王晓东：论文验证与审核。

利益冲突声明

该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

Al-Wathiqi F, Ahmad S, Khan Z, 2013. Molecular identification and antifungal susceptibility profile of *Aspergillus flavus* isolates recovered from clinical specimens in Kuwait. BMC Infectious Diseases, 13(1): 126

Alessandro CP, 2009. Differences in pathogenicity and clinical syndromes due to *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus*. Medical Mycology, 47(Suppl. 1): S261-70

Choi MJ, Won EJ, Joo MY, Park YJ, Kim SH, Shin MG, Shin JH, 2019. Microsatellite typing and resistance mechanism analysis of voriconazole-resistant *Aspergillus flavus* isolates in South Korean hospitals. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 63(2): e01610

Chowdhary A, Kathuria S, Xu J, Meis JF, 2013. Emergence of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* strains due to agricultural azole use creates an increasing threat to human health. PLoS Pathogens, 9(10): e1003633

Chris K, David WD, 2015. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. Thorax, 70(3): 270-277

Guo PH, Huang XD, Wu JS, Cai WY, Chen XQ, Wen JX, Liao K, 2022. Distribution and drug susceptibility of *Aspergillus* isolated from lower respiratory tract specimens in 68 hospitals in Guangdong Province. Chinese Journal of Nosocomiology, 32(20): 3047-3051 (in Chinese)

Krishnan-Natesan S, Chandrasekar PH, Alangaden GJ, Manavathu EK, 2008. Molecular characterisation of *cyp51A* and *cyp51B* genes coding for P450 14alpha-lanosterol demethylases A (CYP51Ap) and B (CYP51Bp) from voriconazole-resistant laboratory isolates of *Aspergillus flavus*. International Journal of Antimicrobial Agents, 32(6): 519-524

Liu W, Sun Y, Chen W, Liu WX, Wan Z, Bu DF, Li RY, 2012. The T788G mutation in the *cyp51C* gene confers voriconazole resistance in *Aspergillus flavus* causing aspergillosis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 56(5): 2598-2603

Lucio J, Gonzalez-Jimenez I, Rivero-Menendez O, Alastruey-Izquierdo A, Pelaez T, Alcazar-Fuoli L, Mellado E, 2020. Point mutations in the 14-α sterol demethylase *cyp51A* or *cyp51C* could contribute to azole resistance in *Aspergillus flavus*. Genes, 11(10): 1217

Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, Kontoyiannis DP, Marr KA, Morrison VA, Nguyen MH, Segal BH, Steinbach WJ, Stevens DA, Walsh TJ, Wingard JR, Young JH, Bennett JE, 2016. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the infectious diseases society of America. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 63(4): e1-e60

Paul RA, Rudramurthy SM, Dhaliwal M, Singh P, Ghosh AK, 2018. Voriconazole resistance in clinical and environmental isolates of *Aspergillus flavus* - frequency and investigation into the role of multidrug efflux pumps. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 62(11): e01022-18

Paul RA, Rudramurthy SM, Meis JF, Mouton JW, Chakrabarti A, 2015. A novel Y319H substitution in *cyp51C* associated with azole resistance in *Aspergillus flavus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 59(10): 6615

Procop GW, Dufresne PJ, Berkow E, Cullen SK, Fuller J, Hanson KE, Holliday NM, Lockhart SR, Schuetz AN, Verweij PE, Wiederhold NP, Zelazny AM, 2022. Epidemiological cut off values for antifungal susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute, 42(18): 2162-2914

Sharma C, Kumar R, Kumar N, Masih A, Gupta D, Chowdhary A, 2018. Investigation of multiple resistance mechanisms in voriconazole resistant *Aspergillus flavus* clinical isolates from a chest hospital surveillance in Delhi, India. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 62(3): e01928

Vermeulen E, Lagrou K, Verweij P, 2013. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a growing public health concern. Current Opinion in Infectious Diseases, 26(6): 493-500

Wang HC, Hsieh MI, Choi PC, Wu CJ, 2018. Comparison of the Sensititre YeastOne and CLSI M38-A2 microdilution methods in determining the activity of amphotericin B, itraconazole, voriconazole, and posaconazole against *Aspergillus* species. Journal of Clinical Microbiology, 56(10): e00780

Wang YR, Zhang LW, Zhou LR, Zhang M, Xu YH, 2022. Epidemiology, drug susceptibility, and clinical risk factors in patients with invasive aspergillosis. Frontiers in Public Health, 10: 835092

Xu Y, Chen M, Liao WQ, 2018. Epidemiology of invasive aspergillosis in China. Chinese Journal of Mycology, 13(1): 57-60 (in Chinese)

[附中文参考文献]

郭鹏豪，黄旭东，吴劲松，蔡文莹，陈雪琴，温见翔，廖康，2022. 广东省68家医院下呼吸道标本分离曲霉菌分布及其药物敏感性. 中华医院感染学杂志，32(20): 3047-3051

徐媛，陈敏，廖万清，2018. 中国侵袭性曲霉菌病流行病学现状. 中国真菌学杂志，13(1): 57-60