

我院136例难治性肺部感染患者支气管肺泡灌洗液病原菌分布及耐药性分析

倪鸿昌^{1*}, 严玉兰², 凌芳³(1.镇江市第一人民医院药剂科, 江苏镇江 212002; 2.镇江市第一人民医院呼吸科, 江苏镇江 212002; 3.江苏大学附属医院药剂科, 江苏镇江 212001)

中图分类号 R446.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)26-3630-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.26.09

摘要 目的:了解肺部感染患者支气管肺泡灌洗液(BALF)标本中病原菌分布及耐药情况,为临床合理用药提供参考。方法:对2012年1月—2015年12月镇江市第一人民医院136例难治性肺部感染住院患者的痰液及BALF标本进行病原菌培养和鉴定,比较两种标本病原菌的检出情况,并对BALF标本中病原菌的药敏试验结果进行分析。结果:136例患者痰液和BALF标本的阳性率分别为22.06%和47.79%,差异有统计学意义($P<0.01$);痰液和BALF标本中各检出病原菌32株和72株,均以嗜麦芽窄食单胞菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌为主。BALF标本中的嗜麦芽窄食单胞菌对米诺环素和左氧氟沙星敏感;铜绿假单胞菌对常见抗菌药物的耐药率 $<50\%$;鲍曼不动杆菌对亚胺培南、氨苄西林钠舒巴坦钠、阿米卡星和米诺环素敏感;金黄色葡萄球菌对利奈唑胺、氯霉素和万古霉素敏感。结论:BALF标本的阳性率高于痰液标本,检出的病原菌以革兰氏阴性菌为主;临床应根据药敏试验结果和患者临床症状合理选择抗菌药物。

关键词 难治性肺部感染;支气管肺泡灌洗液;病原菌;耐药性

Analysis of Pathogen Distribution and Drug Resistance in 136 Cases of Bronchoalveolar Lavage Fluid from Patients with Refractory Pulmonary Infection of Our Hospital

NI Hongchang¹, YAN Yulan², LING Fang³(1.Dept. of Pharmacy, the First People's Hospital of Zhenjiang City, Jiangsu Zhenjiang 212002, China; 2.Dept. of Respiratory, the First People's Hospital of Zhenjiang City, Jiangsu Zhenjiang 212002, China; 3.Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Jiangsu Zhenjiang 212001, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the pathogen distribution and drug resistance situation in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) from patients with refractory pulmonary infection, and provide reference for clinical rational drug use. **METHODS:** The sputum and BALF specimen of 136 inpatients with refractory pulmonary infection from the First People's Hospital of Zhenjiang City from Jan. 2012 to Dec. 2015 were cultured and identified, pathogen detection was compared, and results of drug sensitivity test for pathogen in BALF specimen was analyzed. **RESULTS:** The positive rates of sputum and BALF specimen of 136 inpatients were 22.06% and 47.79%, with statistical significance ($P<0.01$); a total of 32 and 72 strains were isolated, they mainly were *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus*. *S. maltophilia* in BALF was sensitive to minocycline and levofloxacin; resistance rate of *P. aeruginosa* to common antibiotics was lower than 50%; *A. baumannii* was sensitive to imipenem, ampicillin sodium and sulbactam sodium, amikacin and minocycline; *S. aureus* was sensitive to linezolid, chloramphenicol and vancomycin. **CONCLUSIONS:** The positive rate of BALF specimen is higher than sputum, the pathogens are mainly Gram-negative bacteria. Clinician should rationally select antibiotics based on the drug sensitivity test and clinical symptoms.

KEYWORDS Refractory pulmonary infection; Bronchoalveolar lavage fluid; Bacterial culture; Drug sensitivity test

肺部感染是临床较为常见的感染类别,其病原菌种类多、耐药性强。目前常采用痰培养来协助诊断,但易受口腔正常菌种的污染,临床参考价值有限^[1-2]。支气管肺泡灌洗液(Bronchoalveolar lavage fluid, BALF)与痰液相比,对下呼吸道感染性疾病的诊断具有较高的特异性和敏感性,其药敏试验结果对临床抗感染治疗的指导价值相对较高^[3-4]。本文对镇江市第一人民医院(以下简称“我院”)2012—2015年136例难治性肺部感染住院患者的痰液和BALF标本进行病原菌培养和鉴定,比较两种标本的病原菌检出情况,并对BALF标本中病原菌的耐药性进行探讨,为临床合理使用抗菌药物提供参考。

1 资料与方法

*副主任药师,硕士。研究方向:抗菌药物合理使用。电话:0511-88917720。E-mail:tszn2001918@163.com

1.1 研究对象

选择我院2012年1月—2015年12月因难治性肺部感染住院的患者136例,其中男性74例,女性62例;年龄16~89岁,平均年龄(56.21±16.02)岁;慢性阻塞性肺疾病(COPD)伴肺部感染58例,单纯肺部感染51例,肺脓肿27例。

纳入标准:参照《诊断性可弯曲支气管镜应用指南》(2008年版)^[5]相应标准诊断为难治性肺部感染,且经治疗72 h后其感染症状未被控制者。排除标准:(1)严重高血压及心律失常者;(2)新近发生的心肌梗死或有不稳定心绞痛发作史的患者;(3)严重心/肺功能障碍者;(4)无法纠正出血倾向的患者;(5)严重的上腔静脉阻塞综合征患者;(6)疑有主动脉瘤者;(7)多发性肺大疱者;(8)全身情况极度衰竭的患者。

1.2 标本采集

1.2.1 痰液标本的收集 入院当日清洗口腔后,拍背或刺激患者咳嗽,用一次性无菌吸痰管负压吸取其呼吸道痰液,痰液标本装入无菌试管中立即送检。

1.2.2 BALF标本的收集 所有需行支气管镜检查的患者均在治疗前签署知情同意书。将洗涤管镜插至患者需进行治疗的肺段,快速注入灌洗液(生理盐水)20 ml,然后立即用支气管镜抽取灌洗液,并将其放置于无菌收集瓶内,立即送检。微生物室收到标本后,于30 min内接种完毕。

1.3 病原菌培养、鉴定与药敏试验

分别将痰液及BALF标本接种于血平皿、巧克力平皿或麦康凯平皿(上海科玛嘉微生物技术有限公司)中进行常规培养,于35℃ 5%CO₂箱(血平皿、巧克力平皿)或35℃普通温箱(麦康凯平皿)中孵育18~24 h。培养后菌落计数<10⁴ CFU/ml者判定为污染菌;而≥10⁴ CFU/ml者则具有临床意义,可进行后续药敏试验^[6]。除头孢哌酮钠舒巴坦钠的药敏试验采用纸片扩散(K-B)法外,其余病原菌的鉴定和药敏试验均采用法国生物梅里埃公司的VITEK 2 Compact全自动微生物分析系统及其配套的药敏卡片。药敏试验结果解读及判定参照2012年版美国临床和实验室标准化协会(CLSI)的标准。质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853、金黄色葡萄

球菌 ATCC 25923均由国家卫生计生委临床检验中心提供。重复检查为同一病原菌者只记录1次。

1.4 统计学方法

采用WHONET 5.6软件分析病原菌株数及药敏试验结果。采用SPSS 16.0统计软件处理所得数据,计数资料以率表示,两种标本阳性率的组间比较采用χ²检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种标本病原菌检出情况

136例患者的痰液标本中,检出病原菌的有30例,阳性率为22.06%(30/136);BALF标本中,检出病原菌的有65例,阳性率为47.79%(65/136),两者比较差异有统计学意义(P<0.01)。从痰液标本中共检出病原菌32株,其中革兰氏阴性菌29株(90.63%,29/32),包括嗜麦芽窄食单胞菌15株、铜绿假单胞菌8株和鲍曼不动杆菌6株;革兰氏阳性菌3株(9.37%,3/32),均为金黄色葡萄球菌。从BALF标本中共检出病原菌72株,其中革兰氏阴性菌66株(91.67%,66/72),以嗜麦芽窄食单胞菌(24株)、铜绿假单胞菌(19株)和鲍曼不动杆菌(12株)为主;革兰氏阳性菌6株(8.33%,6/72),均为金黄色葡萄球菌。两种标本病原菌检出情况见表1。

表1 两种标本病原菌检出情况

Tab 1 Pathogen detection in 2 kinds of specimens

标本类型	阳性率,%	病原菌,株	革兰氏阴性菌,株				革兰氏阳性菌,株 金黄色葡萄球菌
			嗜麦芽窄食单胞菌	铜绿假单胞菌	鲍曼不动杆菌	其他	
痰液	22.06	32	15	8	6	无	3
BALF	47.79*	72	24	19	12	肺炎克雷伯菌(6)、大肠埃希菌(3)、鲁氏不动杆菌(1)、 蜂房哈夫尼菌(1)	6

注:与痰液标本比较,*P<0.01

Note: vs. sputum specimens, *P<0.01

2.2 BALF标本病原菌药敏试验结果分析

2.2.1 主要革兰氏阴性菌的耐药情况 药敏试验结果显示,在检出的66株革兰氏阴性菌中,嗜麦芽窄食单胞菌对米诺环素和左氧氟沙星敏感,耐药率均为0;对复方磺胺甲噁唑的耐药率为8.33%。铜绿假单胞菌对常用抗菌药物的耐药率<

50%,对哌拉西林钠他唑巴坦钠的耐药率为15.79%。鲍曼不动杆菌对亚胺培南、氨苄西林钠舒巴坦钠、阿米卡星和米诺环素敏感,耐药率均为0;对头孢曲松的耐药率为88.33%。BALF标本中主要革兰氏阴性菌药敏试验结果见表2。

2.2.2 主要革兰氏阳性菌的耐药情况 从BALF标本中仅检

表2 BALF标本中主要革兰氏阴性菌药敏试验结果

Tab 2 Results of drug sensitivity test of the main Gram-negative bacteria in BALF

抗菌药物	嗜麦芽窄食单胞菌(n=24)		铜绿假单胞菌(n=19)		鲍曼不动杆菌(n=12)	
	耐药菌株数	耐药率,%	耐药菌株数	耐药率,%	耐药菌株数	耐药率,%
亚胺培南	-	-	7	36.84	0	0
庆大霉素	-	-	8	42.11	5	41.67
氨苄西林钠舒巴坦钠	-	-	5	26.32	0	0
头孢曲松	-	-	-	-	10	88.33
复方磺胺甲噁唑	2	8.33	-	-	5	41.67
头孢哌酮钠舒巴坦钠	-	-	8	42.11	4	33.33
阿米卡星	-	-	8	42.11	0	0
头孢吡肟	-	-	4	21.05	2	16.67
哌拉西林钠他唑巴坦钠	-	-	3	15.79	1	8.33
环丙沙星	-	-	7	36.84	4	33.33
头孢他啶	-	-	9	47.37	4	33.33
诺氟沙星	-	-	4	21.05	-	-
米诺环素	0	0	-	-	0	0
左氧氟沙星	0	0	-	-	-	-

注:“-”表示药敏试验未推荐或未进行药敏试验

Note:“-” indicates that drug sensitivity test dose not recommend or no drug sensitivity test has been done

出金黄色葡萄球菌6株。药敏试验结果显示,金黄色葡萄球菌对青霉素G、红霉素、哌拉西林钠他唑巴坦钠、苯唑西林和克林霉素的耐药率均为100%;对利奈唑胺、氯霉素和万古霉素敏感,耐药率均为0。BALF标本中金黄色葡萄球菌药敏试验结

果见表3。

2.3 治疗和转归

136例患者经支气管镜行支气管肺泡灌洗1~3次不等,充分抽吸其分泌物;同时,根据药敏结果及时调整用药,除3例患

者因原发疾病及自身原因自动出院、1例死亡外,其余患者均治愈或好转出院。

表3 BALF标本中金黄色葡萄球菌药敏试验结果

Tab 3 Results of drug sensitivity test for *Staphylococcus aureus* in BALF

抗菌药物	耐药菌株数	耐药率, %
青霉素G	6	100
红霉素	6	100
庆大霉素	2	33.33
利福平	2	33.33
四环素	1	16.67
哌拉西林钠他唑巴坦钠	6	100
苯唑西林	6	100
克林霉素	6	100
环丙沙星	4	66.67
利奈唑胺	0	0
氯霉素	0	0
万古霉素	0	0

3 讨论

呼吸道感染是最为常见的感染,临床医师根据患者的临床表现、全胸片检查等,不难对一般肺部感染作出临床诊断,并可通过经验性治疗治愈。但对经验性治疗无效的肺部感染,往往需要明确其病原菌及其耐药性。目前,病原学诊断常采用痰培养,但由于受到口腔正常菌群的影响,易出现假阴性或假阳性结果,不仅影响临床诊断与治疗,还可导致耐药现象日趋严重,故对临床感染诊治的价值非常有限^[7]。近年来,以经支气管镜获得的BALF标本为研究对象,进行细菌分离与培养,被认为是明确致病菌更为敏感和可靠的方法^[8]。本研究对两种标本的检出情况进行了比较,结果显示,痰液和BALF标本的病原菌分布较为相似,均以嗜麦芽窄食单胞菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌为主,但BALF标本的阳性率(47.79%)明显高于痰液标本(22.06%),差异有统计学意义($P < 0.01$),此结果与文献[9-10]基本一致。但值得注意的是,本研究并未进行定量分析,阳性结果也并不一定代表患者感染,加之BALF标本也难免受到污染,故培养结果仍需结合患者临床表现及其他辅助检查进行合理解读^[11]。此外,136例患者中,超过50%的患者的病原学检查结果为阴性,其原因可能与广谱抗菌药物的长期使用或其他非典型性病原体(如病毒等)感染有关^[12]。

本研究结果表明,136例患者的BALF标本中共检出病原菌72株,以革兰氏阴性菌为主,最常见的依次是嗜麦芽窄食单胞菌(24株)、铜绿假单胞菌(19株)和鲍曼不动杆菌(14株)。24株嗜麦芽窄食单胞菌对米诺环素和左氧氟沙星均敏感,有2株菌株对复方磺胺甲噁唑耐药(耐药率为8.33%)。目前认为,嗜麦芽窄食单胞菌对复方磺胺甲噁唑耐药与编码二氢叶酸合成酶和二氢叶酸还原酶的基因(编码基因分别为sul、dfrA)有关^[13]。19株铜绿假单胞菌对庆大霉素、头孢哌酮舒巴坦钠、阿米卡星和头孢他啶的耐药率均已超过了40%。铜绿假单胞菌的耐药机制极为复杂,往往不是由单一因素造成的,通常是几种机制协同作用的结果^[14]。应当注意的是,所有敏感性药物在延长治疗期间均有可能导致铜绿假单胞菌发生耐药,故建议对于危重症患者,应根据其临床症状和药敏试验结果,联合使用抗菌药物治疗,以降低细菌耐药的发生几率^[7]。例如,我院1例COPD伴肺部感染患者,其痰培养结果为阴性,经验性治疗效果不佳;而BALF培养检出铜绿假单胞菌,根据其药敏试验结果选用哌拉西林钠他唑巴坦钠联合环丙沙星治疗后好转出院。12株鲍曼不动杆菌中有10株对头孢曲松耐药,5株对庆大霉素和复方磺胺甲噁唑耐药。该菌的耐药机制主要包

括产生抗菌药物灭活酶、药物作用靶点改变和胞内药物质量浓度下降等^[15]。根据其药敏试验结果,对鲍曼不动杆菌感染患者的临床治疗可选用亚胺培南、氨苄西林钠舒巴坦钠、阿米卡星和米诺环素等。BALF标本中共检出革兰氏阳性菌6株,均为金黄色葡萄球菌,对利奈唑胺、氯霉素和万古霉素敏感,而对青霉素G、红霉素、哌拉西林钠他唑巴坦钠、苯唑西林和克林霉素等的耐药率均高达100%,提示对于此类感染应首选糖肽类抗菌药物。

综上所述,支气管肺泡灌洗是诊断严重肺部感染的有效方法,其标本收集操作简单,阳性率高,药敏试验结果对难治性肺部感染患者的临床治疗具有一定的指导意义。但由于支气管镜要通过鼻咽部及声门进入下呼吸道,支气管镜头部的细菌污染是难以避免的,因此如何克服支气管镜的细菌污染、如何鉴别致病菌和污染菌等问题还有待解决^[16]。

参考文献

- [1] 李金,李光.支气管肺泡灌洗液细菌培养分布及耐药性分析[J].天津医科大学学报,2015,21(3):242.
- [2] 罗珊,傅锦芳,刘清霞,等.支气管肺泡灌洗液病原菌分布与耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2015,25(15):3416.
- [3] 邹单东,韦柳华,程红革.肺泡灌洗液细菌培养及药敏结果分析[J].重庆医学,2012,41(27):2854.
- [4] 戴金华,竺展坤,余秋云.支气管肺泡灌洗液培养在肺部感染监测中的应用研究[J].中国卫生检验杂志,2011,21(12):2911.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会.诊断性可弯曲支气管镜应用指南:2008年版[J].中华结核和呼吸杂志,2008,31(1):14.
- [6] 陈爱凤,蔡闯,丁士标.呼吸科支气管肺泡灌洗液革兰阴性杆菌耐药性分析[J].中国卫生检验杂志,2015,25(18):3187.
- [7] 徐涛,陈玉莲,翁杏花,等.下呼吸道支气管肺泡灌洗液病原菌种类及耐药分析[J].检验医学与临床,2012,9(8):907.
- [8] 李卓园,韦柳华,周定球,等.院内获得性肺炎患者支气管肺泡灌洗液病原菌分布及药敏结果分析[J].中国药房,2010,21(30):2838.
- [9] 肖永红,王进,朱燕,等.Mohnarin 2008年度报告:肺与肺泡灌洗液分离菌耐药性分析[J].中国抗生素杂志,2010,35(8):614.
- [10] 白晓,许霞,赵花.肺部感染肺泡灌洗液中非发酵菌分布及耐药性分析[J].南昌大学学报:医学版,2014,54(8):40.
- [11] 魏东,刘学东.难治性哮喘患者肺泡灌洗液病原体培养结果分析[J].中国现代医生,2013,51(11):47.
- [12] 胡海波,郑翔翔,秦建伟,等.血细菌培养阴性的感染性心内膜炎的外科治疗[J].江苏医药,2013,39(9):1056.
- [13] 刘灿.嗜麦芽窄食单胞菌对磺胺类抗菌药物耐药机制的研究进展[J].安徽医药,2014,18(5):961.
- [14] 齐志丽,段美丽,李昂.铜绿假单胞菌耐药机制研究现状[J].山东医药,2014,54(4):83.
- [15] 陈代杰,郭蓓宁,杨信怡,等.鲍曼不动杆菌耐药机制[J].中国感染与化疗杂志,2015,15(3):286.
- [16] 章高平,陈强,刘建梅,等.支气管肺泡灌洗液细菌培养在小儿肺部感染中的应用[J].中国当代儿科杂志,2012,14(5):350.

(收稿日期:2015-11-03 修回日期:2016-07-24)

(编辑:张元媛)