

下呼吸道支气管肺泡灌洗液病原菌种类及耐药分析

徐 涛, 陈玉莲, 翁杏花, 邢孔鸯, 李磊邦 (广东省台山市人民医院检验科 529200)

【摘要】 目的 对支气管肺泡灌洗液(BALF)进行培养,以分析引起肺部感染的病原菌种类及其对抗菌药物的耐药情况。**方法** 2009 年 1 月至 2011 年 10 月 222 份 BALF 标本共分离出 80 株病原菌,对 80 株 BALF 培养的病原菌种类及其耐药结果进行回顾性分析。**结果** BALF 阳性率 36%,其中革兰阴性菌占 56.25%,革兰阳性菌占 25.00%,真菌占 18.75%;药敏结果显示革兰阴性杆菌对亚胺培南、美诺培南、头孢他啶、头孢吡肟、阿米卡星、哌拉西林/三唑巴坦、替卡西林/克拉维酸敏感性高,革兰阳性球菌对替考拉宁、万古霉素耐药率为 0,真菌对常用抗真菌药如 5-氟胞嘧啶、两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑敏感性高。**结论** BALF 培养的致病菌以革兰阴性菌为主,要重视 BALF 结核分枝杆菌培养,培养结果可对诊断肺部感染和抗菌药物目标性治疗提供确信的科学依据。

【关键词】 下呼吸道感染; 支气管肺泡灌洗液; 病原菌; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.08.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)08-0907-02

Pathogens and drug resistance in lower respiratory bronchoalveolar lavage fluid XU Tao, CHEN Yu-lian, WENG Xing-hua, XING Kong-yang, LI Lei-bang (Department of Clinical Laboratory, Taishan People's Hospital, Taishan, Guangdong 529200, China)

【Abstract】 Objective To analyze the pathogen types causing pulmonary infection cultured from bronchoalveolar lavage fluid(BALF) and their resistance to antibacterials. **Methods** 80 strains of pathogenic bacteria were isolated from 222 BALF samples from January 2009 to October 2011. The types of pathogenic bacteria and drug resistance results were retrospectively analyzed. **Results** The positive rate for BALF was 36%. Gram-negative bacteria accounted for 56.25%, Gram-positive bacteria accounted for 25.00% and fungi accounted for 18.75%. The drug sensitivity results showed that Gram-negative bacilli were highly sensitive to imipenem, meropenem, ceftazidime, cefpirome, amikacin, piperacillin/tazobactam and ticarcillin/clarulanic acid. The resistance rate of Gram-positive cocci to ticoplanin and vancomycin was zero and fungi had high sensitivity to common used antifungal drugs such as 5-fluorocytosine, amphotericin B, fluconazole, itraconazole, voriconazole. **Conclusion** Pathogenic bacteria cultured from BALF are mainly Gram-negative bacteria. Emphasis should be paid to Mycobacterium tuberculosis culture for BALF and the culture results provide the definite scientific evidence for diagnosing pulmonary infection and antibacterial targeting treatment.

【Key words】 lower respiratory tract infection; bronchoalveolar lavage fluid; pathogens; drug resistance

呼吸道感染最常见且危害性最大,呼吸道感染针对性治疗方案的确立有赖于微生物学结果。支气管肺泡灌洗液(BALF)进行培养敏感性 42%~93%,特异性 45%~100%,是诊断肺部感染性疾病可靠的方法。为了认真贯彻执行卫办医政发[2011]5 号卫生部办公厅关于印发《多重耐药菌医院感染预防与控制技术指南(试行)》的通知,合理使用抗菌药物,回顾性分析本地区 2009 年 1 月至 2011 年 10 月 BALF 标本培养分离出 80 株病原菌种类及耐药性,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 2009 年 1 月至 2011 年 10 月本院 222 例高度怀疑肺部感染患者的 BALF,年龄 18~76 岁,平均 59 岁,其中男 139 例,女 83 例。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 采用法国生物梅里埃公司 ATB Expression 自动细菌鉴定仪、美国 BD 公司 BD Bactec™ Mgit™ 960 全自动分枝杆菌培养仪、广州达安公司 DA7600 型核酸扩增仪、烛缸、35℃ 恒温普通培养箱。

1.2.2 试剂 血平板、巧克力平板、麦康凯平板、真菌平板、消化液购自广州迪景微生物科技有限公司,氧化酶、凝固酶、触酶试剂、快速革兰染色液、指示剂、配套的鉴定药敏及相关试条购

自法国梅里埃公司,广东珠海贝索生物试剂有限公司抗酸染色液,美国 BD 公司 BD BBL™ Prepared Culture Media(分枝杆菌培养管)、N-乙酰-L-半胱氨酸+2% NaOH(NaLC+2% NaOH 消化液)、Bactec™ Mgit 960 Growth Supplement(生长添加剂)、Bactec™ Mgit 960 Panta(杂菌抑制剂)、无菌磷酸盐缓冲液(PBS)pH6.8、广州达安公司结核分枝杆菌核酸扩增聚合酶链反应(PCR)荧光检测试剂盒。

1.2.3 标准参考菌株 购自广东省临床检验中心,分别为大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853、金黄色葡萄球菌 ATCC25923。

1.3 方 法

1.3.1 标本采集运送 BALF 由临床医生按相应操作规程采集。微生物检查必须严格遵守无菌操作。BALF 标本由专人负责及时送至微生物实验室,微生物实验室收到标本并在 30 min 内处理完毕,否则会影响苛养菌检出率。

1.3.2 标本培养 BALF 标本先进行离心沉淀物分别接种在血平板、巧克力平板、麦康凯平板、真菌平板、BD BBL™ Prepared Culture Media(分枝杆菌培养管)上,血平板、巧克力平板放 35℃ 5% CO₂ 培养, BD BBL™ Prepared Culture Media 放入 BD960 仪培养,麦康凯平板、真菌平板放 35℃ 普通培养箱

培养,培养 24~72 h 或根据实际情况决定培养时间。再涂片革兰染色及抗酸染色,发现问题及时与临床医生联系,充分体现检验结果的时效性。

1.4 统计学处理 采用 WHONTE5.4 软件进行数据统计。

2 结 果

2.1 BALF 培养病原菌种类及构成比 222 份标本共分离 80 株病原菌,其中革兰阴性杆菌占 56.25%,革兰阳性球菌占 25.00%,真菌占 18.75%;占前 3 位的分别为肺炎克雷伯菌(23.75%)、铜绿假单胞菌(20.00%)、白色念珠菌(16.25%)。见表 1。

表 1 BALF 病原菌种类及构成比

病原菌	株数	构成比(%)	病原菌	株数	构成比(%)
革兰阴性杆菌	45	56.25	革兰阳性球菌	20	25.00
肺炎克雷伯菌	19	23.75	结核分枝杆菌	12	15.00
铜绿假单胞菌	16	20.00	非结核分枝杆菌	2	2.50
大肠埃希菌	6	8.75	金黄色葡萄球菌	5	6.25
阴沟肠杆菌	2	2.50	肺炎链球菌	1	1.25
产气肠杆菌	1	1.25	真菌	15	18.75
流感嗜血杆菌	1	1.25	白色念珠菌	13	16.25
—	—	—	光滑念珠菌	2	2.50

注:—表示无数据。

表 2 肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌对抗菌药物的
耐 药 率[n(%)]

抗菌药物	肺炎克雷伯菌(n=19)	铜绿假单胞菌(n=16)
阿莫西林	19(100.0)	—
阿莫西林/克拉维酸	0(0.0)	—
哌拉西林	13(68.0)	3(18.8)
哌拉西林/三唑巴坦	0(0.0)	2(12.5)
替卡西林	19(100.0)	3(18.8)
替卡西林/克拉维酸	0(0.0)	2(12.5)
氨苄西林/舒巴坦	—	16(100.0)
头孢噻吩	13(68.4)	—
头孢西丁	4(21.7)	—
头孢噻肟	2(10.5)	5(31.3)
头孢他啶	0(0.0)	1(6.3)
头孢吡肟	0(0.0)	2(12.5)
头孢呋辛	6(31.6)	—
美诺培南	0(0.0)	1(6.3)
亚胺培南	0(0.0)	1(6.3)
复方新诺明	8(42.1)	16(100.0)
妥布霉素	6(31.6)	1(6.3)
阿米卡星	0(0.0)	1(6.3)
庆大霉素	6(31.6)	8(50.0)
奈替卡星	6(31.6)	1(6.3)
环丙沙星	8(42.1)	1(6.3)
多黏菌素 B	—	3(18.8)

注:—表示无数据。

2.2 BALF 培养病原菌耐药率 BALF 肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌的耐药率见表 2。革兰阳性球菌对替考拉宁、万古霉素耐药率为 0。白色念珠菌对 5-氟胞嘧啶、两性霉素 B、氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑耐药率分别为 1%、0、2%、2%、2%。

3 讨 论

根据我国制定的《支气管肺泡灌洗液细胞学检测技术规范(草案)》,合格标本标准为 BALF 中无大气道分泌物混入,回收率大于 40%,存活细胞占 95%以上,涂片细胞学形态完整,无变形,分布均匀。BALF 可以进行细胞学、微生物学、寄生虫学和免疫学等方面的各项检验^[1]。

下呼吸道 BALF 标本培养若条件病原菌浓度大于或等于 10⁴ cfu/mL 可以判断是引起呼吸道感染的致病菌^[2-3]。本研究结果表明,下呼吸道 BALF 细菌前 5 位是:肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌、结核分枝杆菌、大肠埃希菌。结核是最重要的呼吸道感染病,一定要重视下呼吸道标本结核分枝杆菌培养,否则会将最重要的呼吸道致病菌漏检。在痰标本中培养出白色念珠菌。是否是致病菌一直存在争议,但在下呼吸道 BALF 标本培养到,且浓度大于或等于 10⁴ cfu/mL,可根据患者的临床表现综合判断是否是引起呼吸道感染的致病菌。

本研究结果表明,引起肺部感染的肺炎克雷伯菌对美诺培南、亚胺培南、头孢他啶、头孢吡肟、阿米卡星、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林/三唑巴坦及替卡西林/克拉维酸耐药率为零,以天然耐药为主;铜绿假单胞菌对美诺培南、亚胺培南、头孢他啶、头孢吡肟、阿米卡星、哌拉西林/三唑巴坦、替卡西林/克拉维酸、奈替卡星、环丙沙星耐药率较低,以天然耐药为主;白色念珠菌对两性霉素 B 耐药率为零,对 5-氟胞嘧啶、氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑耐药率也很低(因 BT960 分枝杆菌药敏成本太贵,目前本院只开展分枝杆菌培养没有做耐药性检测)。从下呼吸道 BALF 分离出的病原菌受正常菌群干扰小,耐药率低。

临床微生物学细菌培养中下呼吸道标本占 55%,痰占下呼吸道标本的 90%,痰液标本易受正常菌群污染,痰液标本培养到的细菌是感染还是定植,要将痰液标本直接涂片、细菌培养结果及患者临床表现综合起来看,如只依靠普通痰液培养结果治疗,势必会造成不必要的广谱抗菌药物滥用及耐药性细菌出现。BALF 培养结果不支持感染,经验性抗菌药物的治疗就应停止。

在 BALF 标本培养分离出 80 株病原菌中,结核分枝杆菌占第 4 位,与文献[4]报道不同,肺炎链球菌、流感嗜血杆菌检出率低,应在抗菌药物应用前采集标本,若采集标本前应用抗菌药物,将降低肺炎链球菌、流感嗜血杆菌等苛养菌的分离率。标本必须在Ⅱ级生物安全柜中进行保存,尽快处理所有标本,以保证致病菌的活性。所有的 BALF 标本应离心直接涂片镜检,镜检结果是肺炎快速和早期诊断敏感和特异的方法,如果涂片见到细菌,但培养阴性,应扩大培养类型,可能存在军团菌、百日咳博德特菌,还可其他方法检测呼吸道非典型病原体感染,如肺炎支原体、肺炎衣原体和呼吸道病毒等^[5-6]。

临床医生在根据药敏试验结果选用抗菌药物时必须参考患者机体状况、临床治疗效果、药代动力学、药效动力学以及本院细菌耐药监测数据合理选用抗菌药物^[7]。临床治疗应遵守早期、适当、足量、短程原则,避免耐药菌产生,同时配合营养支持、水电解质和酸碱平衡等综合治疗,才能提(下转第 910 页)

AA 和 ABG 检测钠离子结果平均相差 1.19 mmol/L, 标准差为 0.58 mmol/L; ABG 检测钠离子结果 (141.53 ± 9.86) mmol/L, AA 检测钠离子结果 (142.72 ± 8.60) mmol/L, 两者差异无统计学意义 ($P>0.05$); 钠离子最大差异为 8.5 mmol/L, 最小差异为 0 mmol/L; 相关系数 r 为 0.95, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。结果显示 ABG 检测的钾离子有 59% 低于 AA 检测结果。

按照检验科的检测结果将钠离子分组: 135~145 mmol/L 作为正常血钠组, 高于 145 mmol/L 为高钠血症组, 低于 135 mmol/L 为低钠血症组。各亚组的差异均低于 US CLIA 2006 年版指南要求钠离子与靶值相差 4 mmol/L 的标准, 见表 2。

表 2 AA 和 ABG 检测钠离子结果差异分组分析 (mmol/L)

组别	<i>n</i>	差异平均值	差异标准差	最大差异	最小差异
高钠血症组	26	1.30	0.65	8.5	0.0
正常血钠组	58	1.28	0.36	7.4	0.0
低钠血症组	16	1.05	0.62	5.0	0.2

3 讨 论

床旁分析仪能给临床重症医学科室医生和急诊医生带来巨大帮助, 能使医生对病情作出快速诊断, 尤其当检查结果超出正常范围时, 快速获得检验结果尤其重要。目前多种床旁检测仪器已经广泛应用于急诊抢救、ICU、手术室等。

全 AA 和便携式 ABG 的主要差异在于出报告时间长短, 危急情况下便携式血气分析仪的时间优势具有重要的临床意义; 另外血气分析仪对电解质的检测结果不受血清蛋白水平的影响, 这是在对危重患者检测时的另一优势^[2-3]。

本研究结果显示, 尽管全 AA 和便携式 ABG 检测方法有所不同, 但两种仪器检测的钠离子浓度差异无统计学意义, 因此可以认为 ABG 检测的钠离子水平是可靠的, 可以依据该血钠水平作出相应的疾病判断。

本研究结果显示, 不能完全依靠 ABG 检测的钾离子结果进行临床病情判断, 尽管在正常血钾组两者差异有统计学意义, 但该差异在 US CLIA 指南允许范围内, 而在需要临床处理的高钾血症组和低钾血症组两者差异无统计学意义, 与先前的研究相同^[4]。

从化学角度分析存在于两种检测方法之间差异的原因可

能是: (1) ABG 应用的肝素增加样本容量, 从而降低电解质检测结果; (2) 大量的肝素本身与电解质结合, 从而降低 ABG 电解质检测值; (3) 凝血过程中血小板破裂释放钾, 是血浆或全血钾离子与血清钾离子偏低的原因, 而钠的测定受溶血影响较小^[5]。

该研究的局限性在于该结果仅来源于一台 AA 仪和一台 ABG 仪, 但之前的研究显示不同牌子的血气分析仪所得数据具有高度统计学一致性^[6]; ABG 样本的另一局限性是应用的注射器为通常使用的混有液体肝素的试管, 如果使用干燥的肝素试管减少样本稀释, 可能提高结果的准确性。

总之, 该研究认为缺少其他专用电解质床旁检测仪时, ABG 能够正确提供钠离子水平; 而对钾离子检测结果的准确性需要进一步对比研究。

参考文献

[1] Lam HS, Chan MH, Ng PC, et al. Are your hands clean enough for point-of-care electrolyte analysis[J]. Pathology, 2005, 37(4): 299-304.

[2] Dimeski G, Barnett RJ. Effects of total plasma protein concentration on plasma sodium, potassium and chloride measurements by an indirect ion selective electrode measuring system[J]. Crit Care Resusc, 2005, 7(1): 12-15.

[3] Chow E, Fox N, Gama R. Effect of low serum total protein on sodium and potassium measurement by ion-selective electrodes in critically ill patients[J]. Br J Biomed Sci, 2008, 65(3): 128-131.

[4] Prichard JS, French JS, Alvar N. Clinical evaluation of the ABL-77 for point of care analysis in the cardiovascular operating room[J]. J Extra Corpor Technol, 2006, 8(2): 128-133.

[5] 吴国强, 王沐沂, 傅强. 临床电解质与血气分析诊断指南[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1993: 65.

[6] Daures MF, Combescure C, Cristol JP. Comparative study of blood gas analyzers[J]. Ann Biol Clin, 2007, 65(5): 505-518.

(收稿日期: 2011-10-25)

(上接第 908 页)
高治疗的成功率。

参考文献

[1] 张秀珍, 朱德妹. 临床微生物检验问与答[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 41-43.

[2] 许浦生, 许建邦, 王艳明. 综合医院下呼吸道感染病原菌分离及动态变化[J]. 广东医学, 2010, 31(5): 623-626.

[3] 胡佩村, 李婉华, 廖一平. 呼吸内科下呼吸道感染的细菌分布及药物敏感分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(6): 708-710.

[4] 马兴旋, 刘春明, 雷保中, 等. COPD 急性加重期患者支气管肺泡灌洗液细菌培养及药敏结果分析[J]. 检验医学,

2008, 23(5): 525-527.

[5] 王辉. 下呼吸道标本的采集运送及处理中应注意的事项[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(9): 650-652.

[6] Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44 Suppl 2: S27-72.

[7] 刘又宁, 张雷. 痰标本的细菌培养与体外药敏试验的意义及局限性[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(9): 643-644.

(收稿日期: 2011-11-22)