

下呼吸道感染病原菌分布及药敏分析

吴吉江, 张保荣(江苏省邳州市人民医院检验科 221300)

【摘要】 目的 探讨下呼吸道感染患者的病原菌种类分布及其耐药性,为临床合理用药提供依据。**方法** 对 2011 年 1~12 月邳州市人民医院下呼吸道感染患者痰标本分离出的病原菌进行菌种分布和耐药性回顾性分析。**结果** 共分离出 336 株病原菌,其中革兰阴性菌 185 株(55.1%);革兰阳性菌 78 株(23.2%);真菌 73 株(21.7%)。主要革兰阴性菌依次为铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌,对常用抗菌药物呈现较高的耐药性,对亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦耐药性较低。革兰阳性菌以金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌为主,也显示较高的耐药率,未发现对万古霉素耐药的菌株。真菌以白假丝酵母、热带假丝酵母及曲霉菌为主。**结论** 下呼吸道感染中以革兰阴性杆菌为主,主要的病原菌对临床常用抗菌药物耐药呈现较高的耐药性,加强下呼吸道感染的病原学检查及耐药性监测至关重要。

【关键词】 下呼吸道感染; 病原菌; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.22.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)22-2804-02

Analysis of pathogens distribution and drug resistance in lower respiratory tract infection WU Ji-jiang, ZHANG Bao-rong (Department of Clinical Laboratory Sciences, PiZhou People's Hospital, PiZhou, Jiangsu 221300, China)

【Abstract】 Objective To analyze the pathogens distribution and antibiotic resistance in the patients with lower respiratory tract infection for rational antimicrobial therapy. **Methods** Bacteria culture and drug sensitivity test of sputum samples of patients with lower respiratory tract infection from January 2011 to December 2011 in our hospital were analyzed retrospectively. **Results** Totally 336 pathogenic bacteria were separated, it included 185 (55.1%) strains of Gram-negative bacilli, 78 (23.2%) strains of Gram-positive bacteria and 73 (21.7%) strains of fungi. The most predominant Gram-negative bacteria isolates in order of frequency were *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*. The resistance rates of Gram-negative bacteria to the commonly used antibiotics were very high. Imipenem, cefoperazone/sulbactam and piperacillin/tazobactam were effective antibiotics for treating Gram-negative bacteria infection. *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* were the main gram-positive cocci, and the resistance rates of them to the commonly used antibiotics were also high. No strains of gram-positive cocci isolated were resistant to vancomycin. **Conclusion** Gram-negative bacilli are main pathogens in lower respiratory tract infection and the antibiotic resistance grows more prevalent in some main pathogen strains. It is very important to emphasize pathogenic bacterium monitoring and pay attention to supervising drug resistance.

【Key words】 lower respiratory tract infection; pathogen; drug resistance

下呼吸道感染是临床最常见的感染性疾病,随着抗菌药物的广泛应用和细菌的变异,导致呼吸道感染病原菌的菌种、致病性及对抗菌药物的敏感性发生了变化。了解不同地区致病菌株的分布与耐药性特点,有助于有效控制感染、减少耐药菌株产生。本文对 2011 年 1~12 月本院下呼吸道感染患者痰培养结果进行了回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 对 2011 年 1~12 月本院下呼吸道感染患者送检的痰标本进行分离培养。去除同一病例中同一部位所获重复菌株。晨起清水漱口后用力咳痰或由一次性吸痰管吸取,留痰液于无菌容器中,2 h 内送检。送检标本经痰标本涂片检查,每低倍镜下见白细胞超过 25 个、上皮细胞少于 10 个为合格标本,可进行细菌培养。

1.2 细菌分离鉴定 菌种的分离培养按照《全国临床检验操作规程》^[1] 进行,鉴定采用法国生物梅里埃公司生产的 VITEK-32 细菌鉴定仪进行菌种鉴定。

1.3 药敏试验方法 细菌药敏试验采用纸片扩散法,药敏试验所用纸片购自英国 Oxoid 公司。药敏试验结果按照 2010 年临床实验室标准化协会(CLSI)的标准判定。质控菌株采用大

肠埃希菌(ATCC 25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)。

1.4 产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌分离鉴定标准 采用 ESBLs 表型确证试验,将待检菌液均匀涂布到 M-H 平板上,分别将头孢他啶和头孢他啶-克拉维酸、头孢噻肟和头孢噻肟-克拉维酸 4 张纸片均匀贴在 M-H 平板上,35℃ 孵育 18~24 h,测量抑菌环直径,2 对纸片其中 1 对的直径相差大于或等于 5 mm 判为产 ESBLs 阳性菌株。

1.5 统计学方法 细菌菌谱及耐药性分析应用 WHONET5.3 软件进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病原菌分布 820 例痰标本培养阳性 321 例,阳性率 39.1%,共培养出 336 株病原菌,其中革兰阴性菌 185 株,占 55.1%(185/336);革兰阳性菌 78 株,占 23.2%(78/336);真菌 73 株,占 21.7%(73/336)。革兰阴性菌以铜绿假单胞菌为主,占总株数 15.5%(52/336),其他依次为大肠埃希菌 10.7%(36/336),肺炎克雷伯菌 7.4%(25/336),鲍曼不动杆菌 6.0%(20/336),嗜麦芽窄食单胞菌 4.6%(15/336),阴沟肠杆菌 3.0%(10/336),流感嗜血杆菌 1.2%(4/336),卡他莫拉菌

0.6%(2/336),其他革兰阴性菌 6.3%(21/336)。革兰阳性菌分布分别是金黄色葡萄球菌 13.7%(46/336),肺炎链球菌 6.0%(20/336),其他革兰阳性菌 3.6%(12/336)。真菌分布分别是白假丝酵母菌 9.0%(30/336),热带假丝酵母菌 6.0%(20/336),曲霉菌 4.2%(14/336),其他真菌 2.7%(9/336)。

2.2 产 ESBLs 菌株检出率 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌产 ESBLs 检出率分别为 50.0%(18/36)、44.0%(11/25)。

2.3 细菌耐药性分析 下呼吸道感染中前 4 位革兰阴性菌耐药性分析见表 1,主要革兰阳性菌耐药性分析见表 2。

表 1 主要革兰阴性菌对常见抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	铜绿假单胞菌	大肠埃希菌	肺炎克雷伯菌	鲍曼不动杆菌
氨苄西林	100.0	94.2	96.0	100.0
哌拉西林	64.0	71.4	68.0	80.0
头孢唑啉	100.0	74.3	76.0	100.0
头孢呋辛	100.0	82.9	88.0	100.0
头孢曲松	98.0	74.3	48.0	85.0
头孢噻肟	96.0	57.1	60.0	90.0
头孢他啶	40.6	42.9	44.0	65.0
头孢吡肟	34.0	40.0	48.0	75.0
氨曲南	38.0	45.7	52.0	65.0
亚胺培南	8.0	0.0	0.0	15.0
阿米卡星	52.0	48.6	40.0	35.0
环丙沙星	46.0	51.4	28.0	45.0
左氧氟沙星	62.0	37.1	36.0	55.0
头孢哌酮/舒巴坦	20.0	14.3	24.0	25.0
哌拉西林/他唑巴坦	18.0	17.1	16.0	20.0

表 2 主要革兰阳性菌对常见抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	金黄色葡萄球菌	肺炎链球菌
青霉素	100.0	66.7
苯唑西林	52.8	—
头孢唑啉	89.3	64.8
头孢西丁	71.4	66.7
万古霉素	0.0	0.0
庆大霉素	85.7	41.6
环丙沙星	82.1	33.3
克林霉素	78.6	50.0
阿奇霉素	96.4	25.0
利福平	35.7	16.6
左氧氟沙星	57.1	25.0

注:—表示无数据。

3 讨 论

本研究回顾性分析 2011 年 1~12 月下呼吸道感染患者的病原谱,共分离出 336 株病原菌。研究结果显示,本院下呼吸道感染病原体以革兰阴性杆菌为主,革兰阳性球菌次之,其次为真菌。本研究结果还表明,在下呼吸道感染的革兰阴性杆菌

中,铜绿假单胞菌居首位,由此提示铜绿假单胞菌感染仍然是下呼吸道感染治疗的重点,在经验性抗感染时所选抗菌药物应重点覆盖此菌。在革兰阳性菌中,金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌是主要的致病菌。值得注意的是,真菌感染在下呼吸道感染中已经占据相当比例,与近年广谱抗菌药物及免疫抑制剂的大量应用,导致机体菌群失调、继发二重感染有密切关系^[2]。

细菌药敏试验结果显示,革兰阴性杆菌中耐药率最高的抗菌药物是氨苄西林,耐药率达 94.2%~100.0%。其次为头孢唑啉、头孢呋辛,耐药率较低的为头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南,均小于 30.0%。铜绿假单胞菌耐药最严重,其通过多种机制诱导细菌耐药,包括产生抗菌药物修饰酶、改变抗菌药物作用靶位、形成生物被膜、药物外排等^[3]。由表 1 可见,铜绿假单胞菌对除头孢他啶、头孢吡肟外的头孢菌素耐药率已接近 100.0%,而对亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦耐药率较低,与相关报道一致^[4]。因此,临床上对铜绿假单胞菌感染应优先选择亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦,必要时可联合应用。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 ESBLs 检出率分别为 50.0%、44.0%,产生 ESBLs 是革兰阴性菌对第 3 代头孢菌素和单环 β-内酰胺类抗菌药物耐药的最主要和最常见的机制。近年来临床上产 ESBLs 的细菌分离率逐渐增加,给临床治疗带来极大难度,应引起高度重视^[5-6],亚胺培南是目前是治疗产 ESBLs 菌感染的首选药物。鲍曼不动杆菌广泛分布于医院环境,是医院内下呼吸道感染的常见病原菌,在免疫力低下或接受侵袭性操作的患者中可导致致死性感染^[7]。本研究结果显示,下呼吸道感染患者鲍曼不动杆菌对亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦较为敏感,但由于不动杆菌极易与质粒以结合方式获得耐药性,且携带多种耐药基因,因此容易产生多重耐药^[8]。

由表 2 可见,金黄色葡萄球菌对常用抗菌药物耐药严重,其中青霉素耐药率已达 100.0%,其耐药机制为葡萄球菌靶点青霉素结合蛋白 PBP2a 产生,使细菌与青霉素类抗菌药物的亲和力降低,同时由于基因间的协调作用,呈现对 β-内酰胺类抗菌药物的高度耐药^[9]。肺炎链球菌对青霉素显示较高的耐药性,目前万古霉素仍然是治疗葡萄球菌属、肺炎链球菌最有效的药物。

总之,由于不同地区抗菌药物使用种类及频率等不同,造成病原菌的分布及耐药率存在差异,对于下呼吸道感染的治疗,应早期查找病原菌及进行药敏试验,根据药敏试验结果实行个体化用药,限制广谱抗菌药物的使用,从而有效地减缓耐药菌株的出现。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:755-785.
[2] 沈齐滨,屠玉坤.老年人呼吸道感染病原菌分布及耐药性分析[J].中国医学检验杂志,2004,10(5):463-464.
[3] 李学如,孟涛,王艳,等.铜绿假单胞菌耐药机制研究进展[J].国外医药:抗生素分册,2004,25(3):105-108.
[4] 姚春艳,张晓兵,董彦芳,等.2006~2008 年呼吸道标本非发酵菌的分类及耐药变迁[J].中华医院感染学杂志,2009,19(14):1875-1877.
[5] 张亚莉,史占军,李中齐,等.大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌产超广谱 β-内酰胺酶菌株的耐药性监测[J].中华医院感染学杂志,2004,14(3):331-333. (下转第 2808 页)

他们研究认为血浆标本在室温或冰箱中避光保存总胆红素和直接胆红素 24 h 不会有明显变化,常温条件下实验室光照 8 h 内总胆红素和直接胆红素检测不会有明显变化。Rehak 等^[7]也有类似的报道。

在本实验中结合了国内外学者的优秀理念和方法,结合本实验室光照背景情况进行了研究。本研究结果显示,总胆红素在实验室光照 2 h 后,胆红素含量已经开始下降,所得检测结果与基础值差异已有统计学意义。8 h 回收率为 86%,根据美国 CLIA'88 能力验证计划分析质量要求:胆红素检测值在靶值 ± 6.84 mmol/L(0.4 mg/dL)或 $\pm 20\%$ (取大者),仍为可接受范围,但 24 h 回收率已达 77%,结果不可接受。究其原因还是胆红素在光的作用下导致分子中双键构型转变方向,影响分子内部氢键形成,发生光照异构作用及自身氧化作用,这其中未结合胆红素比结合胆红素的分解作用大 2~3 倍。而胆红素中大部分为非结合胆红素,标本在受到光照下会使胆红素中相当部分的非结合胆红素形成构型异构体,进而进一步形成结构异构体,由于结构异构体不参与反应,所以导致测得总胆红素比实际值要低^[4,10]。在室温避光条件下,本文检测的总胆红素值呈上升趋势,到 24 h 回收率为 104%,仍为可接受范围。这就与国内外的报道存在一定差异,仔细分析可能与检测方法有关。有文献报道,干化学法、钒酸氧化法与重氮法检测胆红素结果不具有可比性^[11],而且国内也有文献报道钒酸氧化法测定总胆红素的平均回收率为 103.5%^[12]。

本研究结果显示,直接胆红素无论是在照射组还是避光组,随着时间的增加检测值在不断升高,且照射组比避光组明显,照射组 24 h 回收率可达 113%,避光组 24 h 回收率为 104%。升高的原因可能是:直接胆红素包括结合胆红素和 δ -胆红素,利用钒酸氧化法进行胆红素的测定存在反应时间不同,结果相差很大的特点。时间短,非结合胆红素参与反应少,结合胆红素反应也不完全;时间长,结合胆红素反应较完全,但一部分非结合胆红素也参与反应。光照加速了结合胆红素的转化,因此上升的速度比避光组要快,而且 δ -胆红素在血清中滞留的时间较长,也导致了结果的上升^[13-14]。

总而言之,由于各实验室所用生化仪器及配套试剂的不同、检测方法的不同、标本类型的不同、实验室光照条件的不同等各方面因素的影响,所得出的光线照射对胆红素的检测的影响不尽相同。因此各实验室应根据自身的条件,自行设计胆红素光照实验,合理安排标本保存时间。根据本科室现有环境和临床采集标本的时间,特制订如下措施:门诊待测标本应尽早离心分离血清,并且要避光保存,病房标本抽取后应放冰箱冷藏,并尽快送检;为了保证总胆红素和直接胆红素的测量准确,当待测标本较多时,为减少胆红素的自身氧化和光异构化,同

时为了给临床提供更为准确的实验数据,避光保存应不超过 4 h,条件允许应在项目测定设置时先测定胆红素,若 4 h 内无法检测,应置 2~8℃冰箱中避光保存^[9]。

参考文献

- [1] 周新,涂植光.临床生物化学和生物化学检验[M].3版.北京:人民卫生出版社,2006:234-235.
- [2] Fischman D. bilirubin as a Protective Factor for Rheumatoid Arthritis: An NAHANES Study of 2003-2008 Data [J]. Clin Med Res, 2010, 2(6): 256-260.
- [3] 史连义,周志伟.冠心病患者血清总胆红素水平的 Meta 分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(18): 2062-2064.
- [4] McDongh AF. Photolysis and photoisomerization of bilirubin in serum specimens exposed to room lighting [J]. Clin Chim Acta, 2008, 393(2): 130-131.
- [5] Tanner M, Kent N, Smith B, et al. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation [J]. Ann Clin Biochem, 2008, 45(4): 375-379.
- [6] Sofronescu AG, Loebs T, Zhu YS. Effects of temperature and light on the stability of bilirubin in plasma samples [J]. Clin Chim Acta, 2012, 413: 463-466.
- [7] Rehak NN, Cecco SA, Hortin GL. Photolysis of bilirubin in serum specimens exposed to room lighting [J]. Clin Chim Acta, 2008, 387(1/2): 181-183.
- [8] 沈学耕.胆红素待测标本受实验室光线照射影响测定结果的探讨[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(3): 285-287.
- [9] 赵同军,焦红见.自然光线照射对血清胆红素检测的影响[J]. 中外健康文摘, 2011, 8(46): 238-239.
- [10] 刘玉霞,朱晴辉.结合胆红素和非结合胆红素在高胆红素血症中的应用[J]. 检验医学, 2008, 23(2): 156-159.
- [11] 陈嘉霞.总胆红素三种检测方法对比分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(22): 5342-5344.
- [12] 贾丽霞,张红艳,程书珍.3种血清胆红素测定方法的比较[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(24): 3462-3463.
- [13] 李巍,于飞,宋克,等.胆红素测定若干问题的讨论[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(4): 53-54.
- [14] 王耿新,宋玉华.钒酸氧化法与重氮法胆红素测定的动力学研究[J]. 邯郸医学高等专科学校学报, 2005, 8(3): 223-224.

(收稿日期:2012-06-15)

(上接第 2805 页)

- [6] 叶晓光,王若伦,林红燕,等.产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌耐药谱动态观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(5): 492-495.
- [7] Esen S, Leblebicioglu H. Prevalence of nosocomial infections at intensive care units in Turkey: a multicentre 1 day point prevalence study [J]. Scand J Infect Dis, 2004, 36

(2): 144-148.

- [8] 林漫燕,陈亿长,辜红妮.下呼吸道感染的病原菌分布及药敏分析[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(7): 637-638.
- [9] 杨清宇,刘荣森.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(4): 478-480.

(收稿日期:2012-06-27)