

下呼吸道多药耐药鲍曼不动杆菌定植与感染诊断方法评价

王 朔, 曹兴建[△], 曹照明, 陈相, 张克霞(南通大学第二附属医院检验科, 江苏南通 226001)

【摘要】 目的 评价下呼吸道多药耐药鲍曼不动杆菌(MRAB)定植与感染实验室诊断方法的临床价值。**方法** 选取本院 ICU 患者 62 例, 均为气管插管吸取的痰标本直接涂片革兰染色镜检检出革兰阴性杆菌且经细菌培养和药敏试验确认为 MRAB 的患者。依据综合分析原则, 将 62 例患者分为感染组(38 例)和定植组(24 例), 采用痰标本直接涂片、定量培养和直接涂片联合定量培养 3 种方法进行检测, 比较各种方法对 MRAB 感染的诊断效能。**结果** 直接涂片诊断灵敏度为 81.6%、特异度为 79.2%、约登指数为 0.61, 定量培养诊断灵敏度为 65.8%、特异度为 70.8%、约登指数为 0.37, 直接涂片联合定量培养诊断灵敏度为 89.5%、特异度为 87.5%、约登指数为 0.77。直接涂片联合定量培养对下呼吸道 MRAB 感染的诊断效能优于直接涂片和定量培养($P < 0.05$)。**结论** 直接涂片联合定量培养是判断下呼吸道 MRAB 定植或感染的可靠的实验室诊断方法, 能为临床提供更好的判定依据。

【关键词】 多药耐药鲍曼不动杆菌; 痰标本; 直接涂片; 定量培养; 定植; 感染

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.04.031 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)04-0504-03

鲍曼不动杆菌(AB)广泛分布于自然界和医院环境中, 由于其侵袭力低, 定植力强, 且极易产生获得性耐药, 在重症监护病房(ICU)下呼吸道感染患者中的检出率不断增加, 其中又以多药耐药鲍曼不动杆菌(MRAB)为主^[1]。以往通常认为, 下呼吸道在生理条件下处于无菌状态, 从下呼吸道分离获得的 MRAB 应视为病原菌。然而, 随着分子生物学技术研究的深入, 发现下呼吸道也可出现细菌的无症状定植状态。ICU 患者往往存在不同程度的免疫力低下, 增加了条件致病菌 MRAB 的易感性, 而原发性疾病导致的患者体温和外周血白细胞水平升高, 掩盖了感染征象^[2]。因此, 如何判断下呼吸道分离获得的 MRAB 是定植菌株或感染菌株, 是重症医学科和呼吸科面临的一大难题^[3]。本文对下呼吸道痰标本细菌培养和药敏试验确认为 MRAB 感染的 62 例 ICU 患者进行了回顾性分析, 评价了痰标本直接涂片、定量培养和直接涂片联合定量培养 3 种方法对 MRAB 定植与感染的诊断价值, 以期为临床治疗及预防感染提供相关实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月至 2012 年 12 月本院 ICU 收治的患者 62 例, 气管插管吸取的痰标本直接涂片革兰染色镜检均检出革兰阴性杆菌, 且经细菌培养、鉴定确认为 MRAB 感染。

1.2 仪器与试剂 二氧化碳培养箱购自日本 SANYO 公司, ID32GN 鉴定板条与 ATB Expression 微生物鉴定仪购自法国 BioMerieux 公司, 药敏纸片与 M-H 培养基购自英国 Oxoid 公司; 大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 作为质控菌株, 由本实验室保存。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采用无菌技术采集所有患者经气管插管吸取的下呼吸道痰标本。

1.3.2 直接涂片检测 将采集获得的痰标本直接涂片, 革兰

染色后油镜下观察; 以白细胞吞噬菌或白细胞浓集区域的优势菌为拟分离菌。

1.3.3 定量培养检测 采用四区划线定量接种培养法进行痰标本定量培养检查。

1.3.4 菌株鉴定与药敏试验 对定量培养获得的疑似病原菌进行纯化细菌, 采用革兰染色、O-F 试验及 ID32GN 鉴定板条进行病原菌菌种鉴定; 采用 K-B 法进行药敏试验, 确认病原菌对 3 类或 3 类以上抗菌药物同时耐药时, 判为具有多药耐药性。

1.3.5 分组设计和诊断标准 按治疗转归和如下标准将患者分为感染组和定植组。感染组确定标准: 符合医院感染诊断标准, 且依据药敏试验检测结果药物治疗后疗效确切。定植组确定标准: 患者痰标本培养可分离获得 MRAB, 但无感染症状及影像学表现^[4]。对于同一时间、同一标本培养获得 2 种或 2 种以上细菌的患者, 困难于判断所分离获得的细菌是否为真正的病原菌, 故不纳入本研究。同一患者重复分离获得 MRAB 时, 只按 1 次进行分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

按照临床治疗转归和诊断标准, 在痰标本分离获得 MRAB 的 62 例 ICU 患者中, 38 例确认为 MRAB 感染, 纳入感染组, 24 例确认为 MRAB 定植, 纳入定植组。两组患者痰标本直接涂片镜检结果显示, 感染组检出 MRAB 感染 31 例、定植 7 例, 定植组检出 MRAB 感染 5 例、定植 19 例; 痰标本直接涂片镜检诊断 MRAB 感染的灵敏度为 81.6%(31/38)、特异度为 79.2%(19/24)、约登指数为 0.61。痰标本定量培养检测结果显示, 以 1×10^7 CFU/mL 为阳性临界值, 感染组检出感染 25 例、定植 13 例, 定植组检出感染 7 例、定植 17 例; 细菌定量

[△] 通讯作者, E-mail: Ntcaoxh@163.com。

培养诊断 MRAB 感染的灵敏度为 65.8%(25/38)、特异度为 70.8%(17/24)、约登指数为 0.37。直接涂片联合定量培养检测结果显示,感染组检出感染 34 例、定植 4 例,定植组检出感染 3 例、定植 21 例;直接涂片联合定量培养诊断 MRAB 感染的灵敏度为 89.5%(34/38)、特异度为 87.5%(21/24)、约登指数为 0.77。不同方法检测结果及诊断效能分析见表 1~2。通

表 1 各研究组不同方法检测结果与感染诊断结果的关系(n)

组别	n	直接涂片		定量培养		直接涂片、定量培养结果一致性		直接涂片联合定量培养	
		感染	定植	感染	定植	一致	不一致	感染	定植
感染组	38	31	7	25	13	22	16	34	4
定植组	24	5	19	7	17	17	7	3	21
χ^2	—	22.292		7.900		1.055		36.218	
P	—	0.000		0.005		0.304		0.000	

表 2 不同检测方法对 MRAB 感染的诊断效能分析

检测方法	灵敏度 (%)	特异性 (%)	假阳性率 (%)	假阴性率 (%)	约登指数
直接涂片	81.6	79.2	13.9	26.9	0.61
定量培养	65.8	70.8	31.8	43.3	0.37
直接涂片联合定量培养	89.5	87.5	8.1	16.0	0.77

3 讨 论

ICU 患者因需要建立人工气道、机械通气时间较长,以及广谱抗菌药物、糖皮质激素和免疫抑制剂在治疗中的广泛应用,使其呼吸道定植菌显著增加,肺部感染发病率也相对较高。近年来,ICU 患者痰标本 MRAB 检出率不断升高,而且耐药性更强^[5]。与此同时,临床医生多凭经验判断患者下呼吸道标本培养获得的 MRAB 属于定植或感染,准确性较低。如果将定植误诊为感染,易导致过度使用广谱抗菌药物,延长患者住院时间,同时也增加了院内感染的发病风险。如果将感染误诊为定植,则会导致抗菌药物使用不当,疗程不充分,甚至有可能导致患者病情的加重。如何正确鉴别来源于患者下呼吸道痰标本的 MRAB 为感染或定植,是目前 MRAB 感染临床治疗和控制其院内感染面临的难题之一。而且,MRAB 易导致院内感染的暴发流行,导致 MRAB 感染的临床治疗和控制面临较多困难。有研究报道 ICU 患者获得性 MRAB 感染的病死率可达 66.7%^[6]。因此,临床医师迫切需要实验室提供可靠的依据,以正确判断下呼吸道痰标本培养获得的 MRAB 属于定植或感染,从而对其进行有效地预防和控制^[7]。

痰标本直接涂片检测的理论依据在于:白细胞浸润、吞噬病原菌是细菌感染过程中必然出现的免疫病理现象之一^[8]。在来自炎症部位的痰标本中,存在白细胞浸润、吞噬病原菌的现象,但该现象是否出现,取决于白细胞吞噬能力和病原菌抗吞噬能力的强弱;前者强于后者,即可出现吞噬现象;前者弱于后者或二者能力相当时,不会出现吞噬现象。然而,由于 ICU 患者往往免疫力低下,因此仅凭白细胞浸润、吞噬病原菌的现象,无法正确判断 MRAB 为感染或定植。本研究结果证实,痰

过比较 3 种方法可见,对于下呼吸道 MRAB 定植与感染的诊断,直接涂片联合定量培养优于直接涂片优于定量培养,尤以直接涂片联合定量培养的灵敏度最高和特异性最好,假阳性率和假阴性率最低,约登指数最高,且差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

标本直接涂片检测诊断 MRAB 感染的灵敏度为 81.6%、特异度为 79.2%、假阳性率 13.9%、假阴性率 26.9%、约登指数为 0.61,而且感染组患者痰直接涂片检测的阳性率高于定植组患者($P<0.05$)。因此,痰标本直接涂片观察是否存在上述免疫病理现象(即白细胞吞噬病原菌或与之并存),仍可作为判断下呼吸道 MRAB 定植或感染的直接证据之一。

病原菌在下呼吸道定植、生长、繁殖并达到一定浓度时,即可导致下呼吸道感染,病引起感染部位出现相应的病理学改变。由于 MRAB 定植能力强,毒力相对较弱,因此可能已繁殖达到一定浓度但并未引起病理学改变,此时,患者不会表现出任何临床症状和体征。而且,由于下呼吸道痰标本定量培养对感染诊断临界值的界定并不十分严谨,结果重复性也较差,因此定量培养对临床诊治的价值尚有争论^[9]。有研究显示,简单地根据细菌培养浓度是否高于临界值诊断有无肺部感染,可能会得到错误的结论,如果患者近期更换了抗菌药物治疗方案或者根据临床症状判断感染的可能性很大,则诊断临界值可能偏低,导致假阳性率升高;反之亦然^[10]。依据本研究设定的阳性临界值(1×10^7 CFU/mL),痰标本定量培养诊断 MRAB 感染的灵敏度为 65.8%、特异度为 70.8%、假阳性率为 31.8%、假阴性率为 43.3%、约登指数为 0.37,而且感染组患者检测阳性率高于定植组患者($P<0.05$),说明虽然定量培养的临床价值存在争议,但其检测结果结合患者的临床表现,仍可用于判断下呼吸道 MRAB 定植或感染。如能更好地结合患者肺部感染的临床症状和体征,以及肺部 MRAB 浓度的动态变化,也不失为一种可用于判断 MRAB 肺部感染或定植的较好的诊断方法之一。

直接涂片联合定量培养可同时分析患者体内是否存在 MRAB 感染过程中出现的免疫病理现象,以及患者下呼吸道微生态系统的改变,结合患者肺部感染的临床症状和体征,能很好地克服传统定量培养检测简单依据细菌浓度是否高于临界值而判断有无感染所可能存在的偏差,同时也考虑了免疫力低下患者免疫病理现象不明显的特点^[11]。本研究结果显示,直接涂片联合定量培养充分利用了二者的优点,诊断 MRAB 感染的灵敏度为 89.5%、特异度为 87.5%、假阳性率为 8.1%、

假阴性率为 16.0%、约登指数为 0.77,且感染组患者检测阳性率高于定植组患者($P<0.05$)。因此,直接涂片联合定量培养可为临床判断下呼吸道 MRAB 定植或感染提供更好的诊断依据。

本研究结果证实,上述 3 种方法对下呼吸道 MRAB 的诊断效能由高到低依次为直接涂片联合定量培养(约登指数为 0.77)、直接涂片(约登指数为 0.61)、定量培养(约登指数为 0.37),而且,直接涂片联合定量培养的诊断灵敏度和特异度最高,假阳性率和假阴性率最低,诊断准确性最好,优于单独采用直接涂片或定量培养对下呼吸道 MRAB 定植或感染的诊断价值。因此,直接涂片联合定量培养是诊断下呼吸道 MRAB 定植或感染的可靠的实验室检测方法,可为疾病诊断提供更好的诊断依据。

本研究局限于受试对象均为 ICU 患者,且检测标本均为气管插管吸取的下呼吸道痰标本,对于如何通过检测患者自然咳出的痰标本以判断其他病区患者下呼吸道 MRAB 定植或感染还需更多的临床研究验证。目前,可用于判断多药耐药菌感染或定植的其他诊断方法尚包括 C 反应蛋白、降钙素原等指标的检测等,但也存在一定的争议^[12]。因此,有必要开展更为深入的研究,以探讨可用于临床判断多药耐药菌感染或定植的实验室指标,从而为疾病的诊治和临床合理使用抗菌药物提供更佳依据。

参考文献

[1] 赵洪峰,任淑华,蔡艺飞. ICU 患者鲍氏不动杆菌定植感染的调查分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(4): 693-695.

[2] Andermahr J, Greb A, Hensler T, et al. Pneumonia in multiple injured patients; a prospective controlled trial on early prediction using clinical and immunological parameters [J]. Inflamm Res, 2002, 51(5): 265-272.

[3] 施毅. 正确应对不动杆菌肺部感染[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2012, 11(1): 13-14.

(上接第 503 页)

院时间短、并发症少等优势,值得在临床中推广应用。

参考文献

[1] 何绍炬,李思齐,袁勇,等. 阑尾炎并发肠梗阻 18 例诊治体会[J]. 云南医药,2009,30(3):370-371.

[2] 吴孟超,吴在德. 黄家驷外科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:1571-1578.

[3] 吴在德,吴肇汉. 外科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2007:456.

[4] 林加生,许少敏. 急性阑尾炎致肠梗阻临床诊治分析(附 128 例报告)[J]. 临床和实验医学杂志,2006,5(2):171.

[5] 王桂生. 急性阑尾炎合并肠梗阻 39 例临床分析[J]. 吉林医学,2011,32(6):1190.

[6] 刘天戟,宋海涛,赵海鹏,等. 以肠梗阻为征象的阑尾炎 64 例临床特点分析[J]. 中国实验诊断学,2009,13(6):843-

[4] Papadomichelakis E, Kontopidou F, Antoniadou A, et al. Screening for resistant gram-negative microorganisms to guide empiric therapy of subsequent infection[J]. Intensive Care Med, 2008, 34(12): 2169-2175.

[5] 习慧明,徐英春,朱德妹,等. 2010 年中国 CHINET 鲍曼不动杆菌耐药性监[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(2):98-104.

[6] Michalopoulos A, Falagas ME, Karatza DC, et al. Epidemiologic, clinical characteristics, and risk factors for adverse outcome in multi-resistant gram-negative primary bacteremia of critically ill patients[J]. Am J Infect Control, 2011, 39(5): 396-400.

[7] 朱迎钢,瞿介明. 医院感染治疗中的一个难以决策的问题:定植还是感染[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2011,10(5):421-423.

[8] 冉茂娟,范贤明,湛晓勤. 呼吸系统细菌定植与感染[J]. 临床肺科杂志,2012,17(2):319-323.

[9] Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of cinetobacter baumannii producing PER-1 extended spectrum β -lactamase in an ICU [J]. Hosp Infect, 2005, 59(3): 242-248.

[10] Wilkinson TM, Patel IS, Wilks M, et al. Airway bacterial load and FEV1 decline in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 167(8): 1090-1095.

[11] 陈伯义,何礼贤,胡必杰,等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中国医药科学,2012,2(8):3-8.

[12] Jensen JU, HEIN L, Lundgren B, et al. Procalcitonin and antibiotic escalation in critical care patients-not a good idea[J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(10): III-IV.

(收稿日期:2013-08-28 修回日期:2013-10-19)

844.

[7] 景宝利. 218 例肠梗阻病因及治疗分析[J]. 中国现代医学杂志,2008,18(2):248-250.

[8] 胡三元,刘南. 腹腔镜在急腹症中的应用[J]. 临床外科杂志,2011,19(1):12-13.

[9] 刘宏杰,刘振邦,曾山崎. 腹腔镜治疗粘连性肠梗阻 32 例[J]. 实用医学杂志,2009,25(12):2028-2029.

[10] Karl A, Zucke R. 腹腔镜外科学[M]. 胡三元,译. 2 版. 济南:山东科学技术出版社,2006:657.

[11] 周志坚,张会娟,常艳. 腹腔镜肠粘连松解术 37 例临床分析[J]. 实用医院临床杂志,2010,7(6):125-126.

[12] 王玉祥,李应红,许兴,等. 困难性阑尾炎腹腔镜下治疗体会[J]. 中国微创外科杂志,2010,10(7):664-666.

(收稿日期:2013-08-22 修回日期:2013-10-25)