

- hepatitis[J]. J Hepatol, 1999, 31(5): 929
- [3] Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2011, 8(6): 320
- [4] Wong R J, Gish R, Frederick T, et al. The impact of race/ethnicity on the clinical epidemiology of autoimmune hepatitis[J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(2): 155
- [5] Feld J J, Dinh H, Arenovich T, et al. Autoimmune hepatitis: effect of symptoms and cirrhosis on natural history and outcome[J]. Hepatology, 2005, 42(1): 53
- [6] Krawitt E L. Autoimmune hepatitis[J]. N Engl J Med, 2006, 354(1): 54
- [7] Czaja A J, Freese D K. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2002, 36(2): 479
- [8] Hennes E M, Zeniya M, Czaja A J, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2008, 48(1): 169
- [9] Manns M P, Czaja A J, Gorham J D, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2010, 51(6): 2193
- [10] 肖潇, 邱德凯, 马雄. 自身免疫性肝炎[J]. 中华消化杂志, 2013, 33(1): 63
- [11] Yasui S, Fujiwara K, Yonemitsu Y, et al. Clinicopathological features of severe and fulminant forms of autoimmune hepatitis[J]. J Gastroenterol, 2009, 50(4): 430

(2014-11-14 收稿)

文章编号 1006-8147(2015)03-0242-03

论 著

## 支气管肺泡灌洗液细菌培养分布及耐药性分析

李 金<sup>1</sup>, 李 光<sup>2</sup>

(1. 天津医科大学总医院医学检验科, 天津 300052; 2. 天津医科大学生物学教研室, 天津 300070)

**摘要** 目的: 分析临床分离支气管肺泡灌洗液细菌培养分布及耐药状况。方法: 回顾性分析 1 081 例支气管肺泡灌洗液病原菌分布及耐药情况。结果: 共分离出病原菌 506 株, 革兰阴性菌 472 株, 占 93.2%; 革兰阳性菌 34 株, 占 6.8%。主要病原菌为铜绿假单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌、鲍曼不动杆菌、琼氏不动杆菌、鲁氏不动杆菌及金黄色葡萄球菌。铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌对阿米卡星敏感性在 80% 以上, 嗜麦芽窄食单胞菌对复方新诺明敏感性高 (80.6%); 未发现耐万古霉素的金葡萄球菌。结论: 肺泡灌洗液的主要病原菌为革兰阴性杆菌, 细菌多耐药现象严重, 合理用药是控制感染的关键。

**关键词** 肺泡灌洗液; 细菌分布; 耐药性

中图分类号 R446.5

文献标志码 A

下呼吸道感染一直是危害人类健康的主要疾病之一, 其所涉及病原微生物种类较多, 包括病毒、细菌、真菌、支原体等, 病原学诊断一直是临床医学领域的难题。对下呼吸道感染, 大多采用无创性方法采集痰液, 由于人为干预因素较多加之留取过程中极易受到上呼吸道细菌污染, 其结果对临床感染诊治价值非常有限<sup>[1-2]</sup>。经过探索新的标本采集和培养方法不断涌现, 其中肺组织培养、肺泡灌洗液培养、保护性毛刷深部取痰培养等对确定感染病原体具有更高价值<sup>[1-3]</sup>。近年来, 随着抗菌药物使用的增多, 越来越多的病原菌出现了耐药现象, 解决耐药问题也成为临床的一大难题。本文对 1 081 例支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 细菌培养结果、病原菌分布及耐药性进行了回顾性分析, 为临床诊治提供依据。

### 1 资料和方法

#### 1.1 研究对象 回顾性分析某三级甲等综合医院

作者简介 李金 (1979-), 男, 主管技师, 硕士在读, 研究方向: 临床微生物学检验; 通信作者: 李光, E-mail: lgtijmu@163.com。

2011 年 1 月-2013 年 12 月 1 081 份临床 BALF 送检标本。其中男 642 例, 女 439 例, 年龄 13~100 岁, 平均年龄 57.1 岁。送检科室以呼吸科病房为主 (886 例, 占比 81.9%), 其余主要为感染科病房 (37 例, 占比 3.4%) 及肺部病房 (31 例, 占比 2.8%)。患者予以纤维支气管镜肺泡灌洗治疗, 肺泡灌洗液送细菌培养及药敏试验。同一患者多次分离到的细菌不重复计入。

**1.2 方法** 支气管肺泡灌洗术依相应操作规程<sup>[4]</sup>进行。细菌培养方式按照《全国临床检验操作规程》(第 3 版) 进行。将 BALF 标本离心沉淀物分别接种于血平皿、巧克力平皿、麦康凯平皿。血平皿、巧克力平皿置于 35 ℃ 5% CO<sub>2</sub> 箱中培养, 麦康凯平皿置于 35 ℃ 普通温箱中培养 18~24 h。

**1.2.1 试剂与材料** 羊血琼脂平皿为天津市金章科技发展有限公司产品, 巧克力平皿为法国梅里埃公司产品, 麦康凯平皿和 M-H 平皿均由本室自行配置并进行严格的质控。琼脂基础为杭州天和微生物试剂有限公司产品。细菌鉴定卡、药敏卡、Vitek

II-Compact 检测板均为法国生物梅里埃公司产品。药敏纸片由英国 Oxoid 公司提供。

1.2.2 细菌分离鉴定与药敏试验 细菌鉴定和药敏试验均采用法国生物梅里埃公司 VITEK II compact 全自动微生物分析系统。除头孢哌酮/舒巴坦为 K-B 法外其余药敏试验采用 VITEK II compact 全自动微生物分析系统配套药敏卡片。药敏试验结果判定及解释参照美国临床实验室标准化协会 (CLSI)2012 年标准。所选药物包括:氨苄西林、阿莫西林/克拉维酸、头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢曲松、头孢吡肟、头孢西丁、氨曲南、亚胺培南、阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、环丙沙星、左旋氧氟沙星、复方新诺明、呋喃妥因、四环素、替加环素、青霉素 G、苯唑西林、利福平、莫西沙星、克林霉素、红霉素、利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁、奎奴普汀/达福普汀。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 ATCC25923。

1.3 统计学处理 采用世界卫生组织细菌耐药性监测中心推荐的 WHONET 5.6 为分析软件。

## 2 结果

2.1 细菌分布 1 081 例临床 BALF 送检标本中 459 例患者共检出细菌 506 株, 检出率 42.5%(459/1081)。同一标本同时检出两种细菌 35 例占 7.6%(35/459)。革兰阴性菌 472 株(占 93.3%), 革兰阳性菌 34 株(占 6.7%)。最常见细菌依次为铜绿假单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌、鲍曼不动杆菌、琼氏不动杆菌、鲁氏不动杆菌、肺炎克雷伯菌、恶臭假单胞菌、金黄色葡萄球菌(表 1)。

表 1 506 株病原菌分布情况

细菌	株数量	%
铜绿假单胞菌	90	17.79
嗜麦芽窄食单胞菌	68	13.44
鲍曼不动杆菌	63	12.45
琼氏不动杆菌	43	8.50
鲁氏不动杆菌	33	6.52
肺炎克雷伯菌	25	4.94
恶臭假单胞菌	24	4.74
金黄色葡萄球菌	21	4.15
弗劳地枸橼酸杆菌	19	3.75
粘质沙雷菌	11	2.17
产酸克雷伯菌	9	1.78
荧光假单胞菌	8	1.58
洋葱伯克霍尔德菌	8	1.58
阴沟肠杆菌	8	1.58

2.2 耐药性分析 超广谱  $\beta$  内酰胺酶 (ESBLs) 检

测:大肠埃希氏菌 ESBLs 检出率 75.0%(3 株/4 株), 肺炎克雷伯菌 ESBLs 检出率 36.0%(9 株/25 株), 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 检出率 61.9%(13 株/21 株)。培养主要致病菌药敏结果详见表 2。

表 2 主要病原菌对常用抗菌药物的敏感率(%)

抗生素名称	铜绿假单胞菌 (90 株)	嗜麦芽窄食单胞菌 (68 株)	鲍曼不动杆菌 (63 株)	金黄色葡萄球菌 (21 株)
氨苄西林	1.1	—	3.3	—
阿莫西林/克拉维酸	5.6	—	41	—
头孢哌酮/舒巴坦	70.4	—	63.8	—
哌拉西林/他唑巴坦	78.4	—	70	—
头孢曲松	0	—	3.3	—
头孢吡肟	83.3	—	68.9	—
头孢西丁	0	—	1.6	—
氨曲南	57	—	5.1	—
亚胺培南	80	—	62.3	—
阿米卡星	86.7	—	98.2	—
妥布霉素	86.7	—	70.5	—
庆大霉素	85.4	—	68.9	23.8
环丙沙星	81.1	—	70.5	33.3
左旋氧氟沙星	83.3	—	70.5	33.3
复方新诺明	6.7	80.6	44.3	90.5
呋喃妥因	0	—	0	100
四环素	32.3	—	53.6	33.3
替加环素	14.4	—	86.9	100
青霉素 G	—	—	—	0
苯唑西林	—	—	—	38.1
利福平	—	—	—	42.9
莫西沙星	—	—	—	33.3
克林霉素	—	—	—	28.6
红霉素	—	—	—	14.3
利奈唑胺	—	—	—	100
万古霉素	—	—	—	100
替考拉宁	—	—	—	100
奎奴普汀/达福普汀	—	—	—	100

## 3 讨论

支气管肺泡灌洗液是利用纤维支气管镜,对肺段和亚肺段进行灌洗后采集到的肺泡表面衬液。由于灌洗液不像痰液那样容易受到上呼吸道杂菌的污染,临床价值较高,对下呼吸道感染的诊断意义更大<sup>[5]</sup>。

本组细菌检出率为 42.5%,提示下呼吸道可能还存在病毒或支原体等的感染,有待进一步研究,分离菌以革兰阴性杆菌为主与邹单东、蒋利君等<sup>[6-7]</sup>研究一致。进一步印证近年来随着第三、四代头孢菌素的大量应用,革兰阴性杆菌已成为下呼吸道感

染的主要病原菌。

铜绿假单胞菌是临床上引起各种感染的主要致病菌之一,是医院感染中肺部感染的首要病原菌。本组资料铜绿假单胞菌居首位,其对头孢吡肟、亚胺培南、阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、环丙沙星、左旋氧氟沙星敏感性在 80%以上,80%的菌株对碳青霉烯类敏感,稍低于 Mohnarin2008 年度报告中报道结果<sup>[8]</sup>,主要由于 mexT 抑制 OprD 基因表达的同时增加了 MexEF-OprN 外排泵系统的表达,使细胞内通过 OprD 通道进行渗透的抗菌药物的浓度出现普遍降低,从而导致铜绿假单胞菌对碳青霉烯(主要是亚胺培南)类抗菌药物出现交叉耐药,而且当外膜蛋白 OprD2 缺失或表达减少时,也可引起铜绿假单胞菌对亚胺培南耐药<sup>[9]</sup>。其除了对多种抗生素天然耐药外,在使用过程中其自身也极易产生耐药性,因此建议要重复连续监测其耐药性变化,以保证治疗的有效性。

鲍曼不动杆菌仅阿米卡星、替加环素敏感性在 80%以上。对大部分抗菌药物均有较高的耐药性与其复杂的耐药机制有关,包括(1)产生各种  $\beta$ -内酰胺酶以及产生氨基糖苷类修饰酶(AMEs);(2)细菌外膜膜孔蛋白缺陷,细菌发生突变失去某种特异孔蛋白(常见的是 CarO 和 OprD)后, $\beta$ -内酰胺类等药物无法进入或进入减少;(3)外排泵的外排作用增强,可以将进入细菌体内的药物泵出膜外;(4)青霉素结合蛋白(PBPs)编码基因突变导致 PBPs 构象改变,与  $\beta$ -内酰胺类药物结合力下降等<sup>[10]</sup>。

嗜麦芽窄食单胞菌对复方新诺明敏感性高。本研究标本来源大部分为呼吸科中老年住院患者,以下呼吸道感染最为常见,其所引起的感染主要是结构性肺病如慢性阻塞性肺疾病(COPD)、囊性纤维化患者的慢性感染、院内获得性肺炎、呼吸机相关性肺炎(VAP)等,是其检出率排在第二位原因。研究显示,慢性呼吸道疾病、免疫功能低下、重度营养不良、低蛋白血症、肿瘤化疗、重症监护病房(ICU)住院时间长、气管插管或气管切开、留置中心静脉导管、长期接受广谱抗菌药物尤其是碳青霉烯类抗生素治疗是嗜麦芽窄食单胞菌感染的易患因素<sup>[11]</sup>。金黄色葡

萄球菌未发现对糖肽类耐药菌株,但对其他抗菌药物均有较高耐药性,本组 MRSA 检出率为 61.9%(13 株/21 株),比例高于 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性检测报道结果<sup>[12]</sup>,与标本检出数量少有关,但仍应注意长期不规范的抗生素用药可能会进一步增加 MRSA 的产生,对于此类感染应该首选糖肽类抗生素。

综上所述,灌洗液中分离的病原菌具有多耐药的特点,而且不同细菌对抗菌药物的耐药性各不相同,因此临床用药需结合药敏结果以及不同细菌的耐药特点,避免抗菌药物使用不当而诱导产生多药耐药菌株,用药遵守早期、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,积极治疗原发病,改善和保护机体免疫力以提高治疗的成功率。

#### 参考文献:

- [1] ATS/IDSA. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired,ventilator-associated,and healthcare-associated pneumonia[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005,171(4):388
- [2] 邢志刚,张庆,何权瀛. 慢性支气管炎急性发作期痰培养结果及价值分析[J]. 中国实用内科杂志, 2000,20(3):163
- [3] 黄荣道. 支气管肺泡灌洗在肺部疾病的应用进展[J]. 中国实用医药, 2009,4(17):256
- [4] 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
- [5] Kim E S, Kim E C, Lee S M, et al. Bacterial yield from quantitative cultures of bronchoalveolar lavage fluid in patients with pneumonia on antimicrobial therapy[J]. Korean J Intern Med, 2012,27(2):156
- [6] 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
- [7] 蒋利君. 肺泡灌洗液中铜绿假单胞菌的分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012,22(9):1923
- [8] 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
- [9] 郑璇儿,杨杰. 铜绿假单胞菌耐药性的基因学研究进展[J]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2014,8(1):123
- [10] 邢丽丹. 鲍曼不动杆菌的耐药机制及感染防治的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013,34(18):2422
- [11] 周华,李光辉,卓超,等. 中国嗜麦芽窄食单胞菌感染诊治和防控专家共识[J]. 中华医学杂志, 2013,93(16):1203
- [12] 胡付品,朱德妹,汪复,等. 2013 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014,14(5):365

(2014-11-06 收稿)