

DOI:10.16781/j.0258-879x.2021.08.0941

• 短篇论著 •

支气管肺泡灌洗液病原菌的分布及耐药性分析

李亚周, 黄晓春, 万玉香, 刘云*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院实验诊断科, 上海 200433

[摘要] **目的** 了解我院支气管肺泡灌洗液样本中的病原菌分布及其耐药性, 为临床合理用药提供参考。**方法** 收集 2016 年 1 月至 2019 年 12 月我院送检的 615 例支气管肺泡灌洗液样本, 分离、鉴定病原菌, 并进行体外药敏试验。**结果** 共检出 707 株非重复病原菌, 其中革兰阴性菌 593 株 (83.9%), 革兰阳性菌 114 株 (16.1%); 构成比占前 3 位的病原菌分别为铜绿假单胞菌 (171 株, 24.2%)、肺炎克雷伯菌 (147 株, 20.8%) 和鲍曼不动杆菌 (97 株, 13.7%)。革兰阴性菌中, 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率较高, 对亚胺培南和美洛培南的耐药率分别为 33.3% (57/171) 和 30.6% (52/170); 肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率较低 (<20%), 产超广谱 β -内酰胺酶菌株的检出率为 16.3% (24/147); 鲍曼不动杆菌的耐药率较高, 对亚胺培南和美洛培南的耐药率均为 85.6% (83/97)。革兰阳性菌中, 金黄色葡萄球菌对青霉素耐药率达 89.4% (76/85), 尚未发现对万古霉素和利奈唑胺耐药的革兰阳性菌, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的检出率为 32.9% (28/85)。**结论** 我院支气管肺泡灌洗液样本中的主要病原菌为革兰阴性菌, 主要病原菌的耐药性不容忽视。支气管肺泡灌洗液病原菌检查对于疾病诊断和指导合理使用抗菌药物具有较高的临床价值。

[关键词] 支气管肺泡灌洗液; 病原体; 革兰阴性菌; 革兰阳性菌; 耐药性

[中图分类号] R 378 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2021)08-0941-04

Distribution and drug resistance of pathogens in bronchoalveolar lavage fluid

LI Ya-zhou, HUANG Xiao-chun, WAN Yu-xiang, LIU Yun*

Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the distribution and drug resistance of pathogens in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples in our hospital, so as to provide reference for clinical rational drug use. **Methods** Pathogens were isolated and identified from 615 BALF samples between Jan. 2016 and Dec. 2019 in our hospital, and drug sensitivity test *in vitro* was conducted. **Results** A total of 707 non repetitive pathogens were detected, including 593 (83.9%) Gram-negative bacilli and 114 (16.1%) Gram-positive bacilli. The top 3 pathogens were *Pseudomonas aeruginosa* (171 strains, 24.2%), *Klebsiella pneumoniae* (147 strains, 20.8%) and *Acinetobacter baumannii* (97 strains, 13.7%), respectively. Among the Gram-negative bacilli, *Pseudomonas aeruginosa* had a higher resistance rate to carbapenems, while the resistance rates to imipenem and meropenem were 33.3% (57/171) and 30.6% (52/170), respectively; *Klebsiella pneumoniae* had a lower resistance rate to carbapenems (<20%), the extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production strains in *Klebsiella pneumoniae* was 16.3% (24/147); and *Acinetobacter baumannii* had a higher resistance rate of 85.6% (83/97) to imipenem and meropenem. Among the Gram-positive bacilli, the resistance rate of *Staphylococcus aureus* to penicillin was 89.4% (76/85). Gram-positive pathogens were not yet resistant to vancomycin and linezolid. The detection rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was 32.9% (28/85). **Conclusion** The main pathogens isolated from BALF samples in our hospital are Gram-negative bacilli, and their drug resistance can not be ignored. The detection of pathogens in BALF has high clinical value for disease diagnosis and rational use of antibiotics.

[收稿日期] 2020-04-20 **[接受日期]** 2020-09-27

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(31500721), 上海青年临床医技人才(临床检验专业)培养资助计划[沪卫卫基(2016)04号], 上海市科学技术委员会项目(17JC1400900). Supported by National Natural Science Foundation of China for Young Scientists (31500721), Training Program for Young Clinical Medical Talents (Clinical Laboratory) in Shanghai (HYW[2016]04), and Program of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (17JC1400900).

[作者简介] 李亚周, 技师. E-mail: 1532307851@qq.com

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31162075, E-mail: liyun1258@163.com

[Key words] bronchoalveolar lavage fluid; pathogens; Gram-negative bacteria; Gram-positive bacteria; drug resistance
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(8): 941-944]

下呼吸道感染是临床最为常见的感染性疾病之一,多由细菌、真菌或病毒等病原体引起。常规痰涂片及培养易受口咽部菌群污染、定植的影响,往往不能真实反映下呼吸道感染的病原特征,其结果对临床感染的诊治价值有限^[1]。支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)是利用纤维支气管镜对肺段及亚肺段进行灌洗后采集到的肺泡表面衬液,其不易受上呼吸道杂菌的污染,培养结果可以较好地反映下呼吸道感染的病原学特征^[2-3]。本研究对2016年1月至2019年12月我院送检的肺泡灌洗液培养结果进行回顾性分析,了解我院下呼吸道感染患者病原菌的分布及耐药情况,为指导合理使用抗菌药物及改善预后提供参考。

1 材料和方法

1.1 菌株来源 菌株分离自我院2016年1月至2019年12月接受纤维支气管镜肺泡灌洗检查或治疗的门诊和住院患者的615例BALF送检样本, BALF细菌培养按照《全国临床检验操作规程》(第4版)^[4]要求进行。用MALDI-TOF MS质谱仪(德国布鲁克·道尔顿公司)对分离到的菌株进行鉴定。剔除从同一患者样本中分离的重复菌株。

1.2 药敏试验方法 用Vitek 2 compact全自动微生物分析仪(法国生物梅里埃公司)对菌株进行体外药敏试验,部分药敏试验采用纸片扩散法(K-B法)完成。药敏试验结果根据美国临床实验室标准化委员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)文件^[5]规定进行判断和解释。

1.3 特殊耐药表型检测 按美国CLSI推荐的酶抑制剂增强确证试验检测肺炎克雷伯菌产超广谱 β 内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamase, ESBL)菌株。当金黄色葡萄球菌体外药敏试验结果为苯唑西林最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC) $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ 、或头孢西丁MIC $\geq 8 \mu\text{g/mL}$, 或头孢西丁抑菌圈直径 $\leq 21 \text{ mm}$ 时,判定为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)。按照CLSI肺炎链球菌非脑膜炎分离株判断

标准,当青霉素MIC $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ 、 $4 \mu\text{g/mL}$ 、 $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ 时分别判定为青霉素耐药肺炎链球菌(penicillin resistant *Streptococcus Pneumoniae*, PRSP)、青霉素中介肺炎链球菌(penicillin intermediate *Streptococcus Pneumoniae*, PISP)和青霉素敏感肺炎链球菌(penicillin susceptible *Streptococcus Pneumoniae*, PSSP)。其中, PISP和PRSP统称为青霉素不敏感肺炎链球菌(penicillin nonsusceptible *Streptococcus Pneumoniae*, PNSP)。

1.4 统计学处理 采用WHONET 5.6软件对数据进行分析和处理,计数资料以菌株数和百分数表示。

2 结果

2.1 病原菌分布 共分离出707株病原菌,其中革兰阴性菌593株(83.9%),包括铜绿假单胞菌171株(24.2%)、肺炎克雷伯菌147株(20.8%)、鲍曼不动杆菌97株(13.7%)、流感嗜血杆菌52株(7.4%)、嗜麦芽窄食单胞菌42株(5.9%)及其他84株(11.9%);革兰阳性菌114株(16.1%),包括金黄色葡萄球菌85株(12.0%)、肺炎链球菌27株(3.8%)、屎肠球菌及化脓性链球菌各1株(1.4%)。病原菌主要来源于呼吸科门诊(345株, 48.8%)、呼吸科病房(118株, 16.7%)、烧伤科(95株, 13.4%)、急救ICU(59株, 8.3%)、心血管外科ICU(26株, 3.7%)、血液内科(10株, 1.4%),其他科室54株(7.6%)。

2.2 主要革兰阴性病原菌的耐药性分析 革兰阴性菌中,铜绿假单胞菌对美洛培南及亚胺培南的耐药率 $>30\%$,对头孢哌酮、哌拉西林、氨曲南、环丙沙星和左氧氟沙星的耐药率 $>20\%$,呈现较高的耐药性;肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率 $<20\%$,对头孢唑林、头孢呋辛、头孢曲松、哌拉西林、氨苄西林舒巴坦的耐药率均 $>30\%$;鲍曼不动杆菌的耐药率普遍较高,对美洛培南和亚胺培南碳青霉烯类抗菌药物的耐药率达85.6%,对头孢他啶、头孢曲松、头孢吡肟、哌拉西林他唑巴坦、氨苄西林舒巴坦的耐药率均 $>70\%$,仅对米诺环素的耐药率 $<30\%$ 。见表1。

表1 主要革兰阴性菌对常用抗菌药物的耐药率

抗菌药物	% (n/N)		
	铜绿假单胞菌 N=171	肺炎克雷伯菌 N=147	鲍曼不动杆菌 N=97
头孢唑林		33.3 (49/147)	
头孢呋辛		37.0 (54/146)	
头孢他啶	17.1 (29/170)	23.1 (34/147)	85.6 (83/97)
头孢曲松		32.7 (48/147)	85.6 (83/97)
头孢哌酮	26.7 (39/146)		
哌拉西林	21.6 (37/171)	35.0 (43/123)	82.9 (58/70)
氨苄西林舒巴坦		34.0 (50/147)	78.4 (76/97)
哌拉西林他唑巴坦	14.0 (24/171)	17.7 (26/147)	85.6 (83/97)
头孢吡肟	19.9 (34/171)	22.4 (33/147)	86.6 (84/97)
氨基糖苷类	24.3 (41/169)	26.5 (39/147)	
厄他培南		17.7 (26/147)	
亚胺培南	33.3 (57/171)	13.6 (20/147)	85.6 (83/97)
美洛培南	30.6 (52/170)	17.8 (26/146)	85.6 (83/97)
庆大霉素	17.0 (29/171)	25.2 (37/147)	75.3 (73/97)
妥布霉素	15.8 (27/171)	17.7 (26/147)	72.2 (70/97)
阿米卡星	12.3 (21/171)	13.0 (19/146)	74.2 (72/97)
环丙沙星	25.1 (43/171)	25.9 (38/147)	86.6 (84/97)
左氧氟沙星	24.6 (42/171)	25.9 (38/147)	55.7 (54/97)
米诺环素			26.8 (26/97)
复方磺胺甲噁唑		29.2 (40/137)	52.8 (47/89)

2.3 主要革兰阳性病原菌的耐药性分析 革兰阳性菌中,金黄色葡萄球菌对青霉素耐药率达89.4%,尚未发现对万古霉素、替加环素和利奈唑胺耐药的菌株。肺炎链球菌对红霉素、克林霉素的耐药率>90%,对青霉素、左氧氟沙星、莫西沙星、万古霉素、利奈唑胺尚未出现耐药。见表2。

表2 主要革兰阳性菌对常用抗菌药物的耐药率

抗菌药物	% (n/N)	
	金黄色葡萄球菌 N=85	肺炎链球菌 N=27
青霉素	89.4 (76/85)	0
苯唑西林	32.9 (28/85)	
红霉素	52.9 (45/85)	96.3 (26/27)
克林霉素	43.5 (37/85)	96.3 (26/27)
庆大霉素	11.8 (10/85)	
环丙沙星	28.2 (24/85)	
左氧氟沙星	28.2 (24/85)	0
莫西沙星	27.1 (23/85)	0
四环素	22.4 (19/85)	85.2 (23/27)
万古霉素	0	0
替加环素	0	
利奈唑胺	0	0
利福平	3.5 (3/85)	
复方磺胺甲噁唑	11.1 (8/72)	59.3 (16/27)
米诺环素	7.6 (5/66)	
头孢曲松		7.4 (2/27)

2.4 特殊耐药表型检测结果 分离的147株肺炎克雷伯菌株中,检出产ESBL菌株24株(16.3%)。分离的85株金黄色葡萄球菌中,检出MRSA 28株(32.9%)。27株肺炎链球菌中PNSP的检出率为0。

3 讨论

肺部感染严重威胁人类健康,欧美国家成人社区获得性肺炎年发病率为5/1 000~11/1 000,直接医疗费用逾80亿美元^[6];住院患者中医院获得性肺炎发病率为0.5~2.0%,病死率>35.0%^[7]。BALF不像痰样本那样易受上呼吸道杂菌的污染,被认为是诊断肺部感染,尤其是下呼吸道感染更为敏感、可靠的标本来源^[8]。章高等^[9]对肺部感染者BALF和痰液同时进行培养,结果显示BALF培养中肺炎链球菌的检出率(14.0%)明显高于痰培养结果(4.0%),且仅BALF中分离出大肠埃希菌,提示BALF培养能为临床提供更为可靠的诊断依据。

本研究中707株病原菌主要分离自呼吸科门诊、呼吸科病房和烧伤科病房。呼吸科门诊或病房的患者大多患有基础肺部疾病,烧伤患者机体免疫功能低下、住院时间长、常需接受各种呼吸道侵入操作,因此容易发生肺部感染。本研究检出最多的前4位病原菌依次为铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌,分别占24.2%(171株)、20.8%(147株)、13.7%(97株)和12.0%(85株)。病原菌绝大部分为革兰阴性菌(83.9%,593株),这可能与临床广泛使用第三、第四代头孢菌素密切相关。

鲍曼不动杆菌对大部分抗菌药物的耐药率较高,对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率达85.6%(83/97),只有对米诺环素的耐药率较低(26.8%,26/97)。鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药的机制可能包括青霉素结合蛋白位点改变、外膜蛋白改变、药物外排泵过表达、碳青霉烯酶产生等^[10-11]。针对多重耐药鲍曼不动杆菌,相关诊疗指南推荐以舒巴坦复方制剂为基础、联合多西环素或米诺环素的多种联合用药方案^[12],或碳青霉烯类联合阿米卡星或替加环素,也有将多黏菌素作为基础用药的方案^[13]。铜绿假单胞菌对碳青霉烯类药物也呈较高的耐药趋势,对美洛培南和亚胺培南的耐药率分别为30.6%(52/170)、33.3%(57/171),

对头孢哌酮、哌拉西林、氨曲南、环丙沙星、左氧氟沙星的耐药率>20%。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]。同一种药物长期使用有可能导致铜绿假单胞菌发生耐药,因此对于危重患者,应根据临床症状和体外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概率。肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率较低(<20%),产ESBL菌株的检出率为16.3%(24/147)。

革兰阳性菌中,金黄色葡萄球菌对临床常用的大环内酯类和 β -内酰胺类抗菌药物耐药率较高,但尚未发现对万古霉素、替加环素和利奈唑胺的耐药菌株。MRSA的检出率为32.9%(28/85),对于临床免疫力低下且长期应用青霉素类抗菌药物的患者,经验性抗感染治疗无明显改善时,医师需警惕MRSA感染的可能,找到病原学证据后,尽早给予糖肽类抗生素或米诺环素治疗。本研究BALF中还分离到一定数量的肺炎链球菌、流感嗜血杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌,这些病原菌也是引起社区获得性肺炎和下呼吸道感染的重要致病菌^[15-16]。

综上所述,本研究结果显示我院门诊和住院患者送检的BALF中以革兰阴性菌为主,主要病原菌的耐药情况不容忽视。临床医师需结合本院患者病原学分布和不同细菌的耐药特征,合理选择抗菌药物,避免多重耐药菌的产生。BALF病原菌培养已成为诊断下呼吸道感染的重要辅助方法,对临床明确诊断和指导抗菌药物的合理使用具有较高的应用价值。

[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,2015,21:242-244.
- [2] ESCRIBANO MONTANER A, GARCÍA DE LOMAS J, VILLA ASENSI J R, ASENSIO DE LA CRUZ O, DE LA SERNA BLÁZQUEZ O, SANTIAGO BURRUCHAGA M, et al. Bacteria from bronchoalveolar lavage fluid from children with suspected chronic lower respiratory tract infection: results from a multi-center, cross-sectional study in Spain[J]. *Eur J Pediatr*, 2018, 177: 181-192.
- [3] 俞国峰,严一核,应利君. ICU肺部感染患者肺泡灌洗液病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国现代医生,2018,56:89-92.
- [4] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社,2015:636-638.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[M]. 28th ed. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018: 32-49, 58-66, 82-86.
- [6] 宋元林,候东妮. 社区获得性肺炎病原学检测新进展[J]. 中华全科医学,2018,16:1530-1534.
- [7] MONTRAVERS P, HARPAN A, GUIVARCH E. Current and future considerations for the treatment of hospital-acquired pneumonia[J]. *Adv Ther*, 2016, 33: 151-166.
- [8] 罗珊,傅锦芳,刘清霞,简子娟,李虹玲,晏群,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,2015,25:3416-3418.
- [9] 章高平,陈强,刘建梅,周树平,余晓君,卢娟,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,2012,14:350-352.
- [10] 刘秋萍,徐凌. 鲍曼不动杆菌耐药机制的研究进展[J]. 中国抗生素杂志,2018,43:1179-1187.
- [11] 万秋斌,张凤勇,范萃,余霞. ICU患者下呼吸道标本中鲍曼不动杆菌的耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38:649-650,653.
- [12] 中华医学会呼吸病学分会. 中国成人社区获得性肺炎诊断和治疗指南(2016年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志,2016,39:253-279.
- [13] 范冰,丛玉隆. 以多粘菌素为基础联合用药治疗多重耐药鲍曼不动杆菌感染的研究进展[J]. 中华灾害救援医学,2018,6:414-418.
- [14] 王琼琼,张能华. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌的临床分布及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志,2018,28: 2100-2102.
- [15] 彭春红,叶贤伟,张湘燕. 社区获得性肺炎病原谱的构成及病原菌快速检测方法的进展[J]. 中华结核和呼吸杂志,2016,39:311-312.
- [16] 周华,李光辉,卓超,杨毅,石岩,陈佰义,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,2013,93:1203-1213.

[本文编辑] 孙岩