

辽宁省近 5 年痰培养主要病原菌分布及临床意义

王德成, 管仲莹*

(辽宁中医药大学 附属第二医院, 辽宁 沈阳 110034)

摘要 了解住院患者痰培养的病原菌分布及其对常用抗菌药物的耐药情况, 为临床合理用药提供参考。回顾性分析辽宁省 2015 年 1 月至 2019 年 12 月共 3 878 份痰标本感染菌鉴定结果和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 的药敏试验结果。采用法国梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪进行菌种鉴定, 并对从门诊和住院下呼吸道感染患者中分离的 785 株铜绿假单胞菌进行药物敏感试验分析。结果表明, 痰培养病原菌以革兰阴性杆菌为主, 占 68.9%, 其次为真菌。在革兰阴性杆菌中, 铜绿假单胞菌占 20.2%。铜绿假单胞菌对氨苄西林、呋喃妥英、复方新诺明、头孢呋辛(酯)、头孢曲松、头孢替坦、头孢唑啉的耐药性较高, 每年的耐药率均高于 95%。而对于阿米卡星、环丙沙星、头孢吡肟、头孢他啶、左氧氟沙星则出现较低的耐药性, 5 年的耐药率均低于 50%。铜绿假单胞菌对阿米卡星、哌拉西林、头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南的耐药率有逐年下降的趋势, 而对环丙沙星、左氧氟沙星的耐药率有逐年上升的趋势。以上结果表明辽宁省近 5 年痰培养主要致病菌为革兰阴性杆菌, 其中铜绿假单胞菌占很大的比例。铜绿假单胞菌易产生多重耐药性, 必须加强耐药性监测, 为临床提供最新的耐药性资料, 以便更好地控制铜绿假单胞菌的感染, 同时也对临床合理使用抗生素有指导意义。

关键词 痰培养; 铜绿假单胞菌; 耐药性; 革兰阴性菌; 阿米卡星

中图分类号 Q939.93 文献标识码 A 文章编号 1005-7021(2021)02-0073-05

doi: 10.3969/j.issn.1005-7021.2021.02.010

Distribution of Main Pathogens in Sputum Culture in Liaoning Province in Recent Five Years and Clinical Significance

WANG De-cheng, GUAN Zhong-ying*

(2nd Affil. Hosp., Liaoning Uni. of TCM, Shenyang 110034)

Abstract In order to investigate and analyze the distribution of main pathogenic bacteria in sputum cultures and their drug resistance to common used antibiotic agents, *Pseudomonas aeruginosa* from 2nd affiliated hospital of Liaoning University of TCM, provide references with reasonable usage of antibiotic. 3 878 cases of sputum bacterial cultures and sensitivity test results of *P. aeruginosa* in Liaoning Province from January 2015 to December 2019 were retrospectively analyzed. French Biological Merryella API full automatic detection system was used to identify the bacteria. K-B disc diffusion method was performed to detect the drug susceptibility of 785 strains of *P. aeruginosa* isolated from in- and out patients with respiratory tract infection. Sputum cultures pathogen with Gram-negative bacilli was given priority to, accounting for about 68.9%, followed by fungi. Drug resistance rates of *P. aeruginosa* to ampicillin, nitrofurantoin, sulfamethoxazole, cefuroxime (axetil), ceftriaxone, cefotetan, cefazolin were all high, and to amikacin, ciprofloxacin, cefepime, ceftazidime, levofloxacin were all low, the drug resistant rate in five years was below 50%. The resistance rates of *P. aeruginosa* to amikacin, piperacillin, cefepime, meropenem and imipenem decreasing trend year by year, but it was opposite in ciprofloxacin and levofloxacin. The above results showed that Gram-negative bacilli was

基金项目: 辽宁省高校优秀人才项目 (LJQ2015072)

作者简介: 王德成 男, 副主任检验师。主要从事临床医学检验工作。Tel: 024-86803333-2302, E-mail: 7508217@qq.com

* 通讯作者。女, 主任技师。主要从事临床医学检验及医学实验室标准化管理工作。Tel: 024-86803333-2335, E-mail: gzygress@163.com

收稿日期: 2021-03-26

the main pathogenic bacteria in recent five years' sputum cultures in Liaoning Province , among them *P. aeruginosa* account for a large proportion of its resistance. Since *P. aeruginosa* is easy to produce multi-resistance , drug resistance monitor must be strengthened to provide the latest resistance information of *P. aeruginosa* clinically so that *P. aeruginosa* infection could be controlled better and direct rational usage of antibiotics.

Keywords sputum cultures; *Pseudomonas aeruginosa*; drug resistance; Gram negative bacteria; amikacin

下呼吸道感染是临床常见的感染性疾病,具有较高的发病率和致死率。近年来,广谱和超广谱抗生素的广泛使用,导致细菌的耐药性不断增加,加大了临床治疗难度,增加了医疗费用^[1]。下呼吸道感染致病菌的菌群分布主要以革兰阴性杆菌为主,且多年来所占比例呈上升趋势^[2]。铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)是最严重的院内获得性感染的病原菌之一^[3],由于抗菌药物被过度使用及各种有创诊疗操作的广泛开展,该菌多重耐药现状在世界范围内日趋严重^[4]。研究铜绿假单胞菌的耐药性有助于指导临床合理使用抗菌药物,节约医疗资源。痰培养是诊断下呼吸道感染最重要的手段^[5]。因此,通过痰培养研究下呼吸道致病菌的菌群分布及铜绿假单胞菌的耐药性,有利于分析病原菌的分布特点,从而指导临床用药,为医疗卫生部门提供有力的参考,具有非常重要的意义。本研究对辽宁省各大医院痰液标本中分离出的病原菌进行回顾性统计分析并对铜绿假单胞菌进行药物敏感性分析,以期为指导临床医生合理使用抗菌药物提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 病原菌分离自辽宁省各大医院2015年1月至2019年12月住院患者下呼吸道8956例痰液标本。质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC25923 (*Staphylococcus aureus* ATCC25923)、大肠埃希菌 ATCC25922 (*Escherichia coli* ATCC25922)、铜绿假单胞菌 ATCC27853 (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853)、粪肠球菌 ATCC29212 (*Enterococcus faecalis* ATCC29212)和肺炎克雷伯菌 ATCC700603 (*Klebsiella pneumoniae* ATCC700603)。菌株分离培养严格按照卫生部《全国临床检验操作规程》进行。

1.1.2 培养基及试剂 血培养基(BA)、伊红-美兰培养基(EMB)、巧克力培养基(CBA)、TTC-沙

氏培养基、苛养菌药敏琼脂培养基(HTM)和M-H培养基均由郑州安图生物工程有限公司提供;革兰阴性细菌鉴定卡(VITEK 2 美国 bioMerieux, Inc)、革兰阳性细菌鉴定卡(VITEK 2 美国 bioMerieux, Inc)、奈瑟菌、嗜血杆菌鉴定卡(VITEK 2 美国 bioMerieux, Inc)、革兰阴性细菌药敏卡(VITEK 2 compact 美国 bioMerieux, Inc)、革兰阳性细菌药敏卡(VITEK 2 compact 美国 bioMerieux, Inc)和肺炎链球菌药敏卡(VITEK 2 compact 美国 bioMerieux, Inc)均由法国梅里埃公司提供。

1.1.3 主要仪器与设备 全自动微生物鉴定仪(VITEK 2 Compact, 法国梅里埃);二氧化碳培养箱(371, 赛默飞世尔科技中国有限公司);微生物恒温培养箱(BJPX-450, 山东博科生物产业有限公司);生物安全柜(BSC-4500IIA2-X, 济南鑫贝西生物技术有限公司);显微镜(CX-31, 奥林巴斯)。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集接收与处理 晨痰采集前1~2 h 不可进食,采集标本前用冷开水漱口,用力咳出呼吸道深部的痰液并直接吐入无菌容器中。标本立即送入实验室,尽快进行涂片和接种。取痰液的脓性部分直接涂片,进行革兰染色,显微镜低倍视野下观察记录5个视野的细胞平均数,每个低倍镜视野中,鳞状上皮细胞<10个,白细胞>25个,为合格下呼吸道标本。将浓痰加入含有15~20 mL 灭菌生理盐水试管中,剧烈震荡5~10 s,然后用接种环将沉淀于管底的浓痰小片沾出,再放入另一试管内,以同样的方法反复2次,最后将剩余的浓痰接种在培养基上。将涂片检查合格的痰标本处理后接种于BA、EMB、CBA和TTC-沙氏培养基,其中CBA置于CO₂环境下,以便分离嗜血杆菌与脑膜炎奈瑟菌,TTC-沙氏培养基用于分离念珠菌和其他酵母菌等。

1.2.2 细菌鉴定与药敏试验 挑取分离纯化培养的菌落涂片进行革兰染色,显微镜观察菌体形态和染色特征形态,再经氧化酶、触酶试验、法

国梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪进行菌种鉴定和药物敏感性试验 (MIC)，结果按美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 标准^[6]判读为敏感 (S)、中介 (I)、耐药 (R)。

1.2.3 数据分析 采用瑞美 LIS 系统对药敏试验结果进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 病原菌分布

2015 年 1 月至 2019 年 12 月共收集痰标本 8 956 株，阳性标本 3 878 株，阳性率 43.3%，其中革兰阴性杆菌 2 673 株，占 68.9%。铜绿假单胞菌 785 株，阳性率 20.2%。革兰阳性球菌和革兰阳性杆菌分别占 7.3% 和 4.2%。真菌所占比例为 19.6%。具体情况见表 1、图 1、图 2。

表 1 3 878 株下呼吸道感染病原菌菌株分布

Table 1 Distribution of 3 878 strains of pathogens causing lower respiratory

病原菌	株数	构成比 / %
革兰阴性杆菌	2 673	68.9
铜绿假单胞菌	785	20.2
克雷伯菌属	553	14.3
不动杆菌属	529	13.6
奇异变形菌	137	3.5
嗜麦芽寡养单胞菌	115	3.0
阴沟肠杆菌	74	2.0
大肠埃希菌	69	1.8
副流感嗜血杆菌	60	1.5
流感嗜血杆菌	57	1.5
粘质沙雷菌	22	0.6
其他	272	7.0
革兰阳性球菌	284	7.3
溶血性葡萄球菌	75	1.9
肺炎链球菌	47	1.2
表皮葡萄球菌	35	0.9
屎肠球菌	18	0.5
其他	109	2.8
革兰阳性杆菌	161	4.2
纹带棒杆菌	58	1.5
其他	103	2.7
真菌	760	19.6
白假丝酵母菌	347	8.9
曲霉菌	47	1.2
热带假丝酵母菌	42	1.1
光滑假丝酵母菌	39	1.0
季也蒙假丝酵母菌	18	0.5
其他	267	6.9
合计	3 878	100

2.2 药敏结果

铜绿假单胞菌对氨苄西林、呋喃妥英、复方

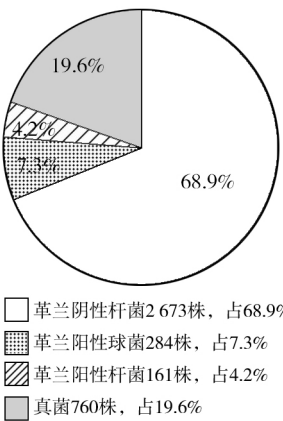


图 1 2015 年 1 月至 2019 年 12 月痰标本阳性菌分布图

Fig. 1 Distribution of positive bacteria in sputum samples from January 2015 to December 2019

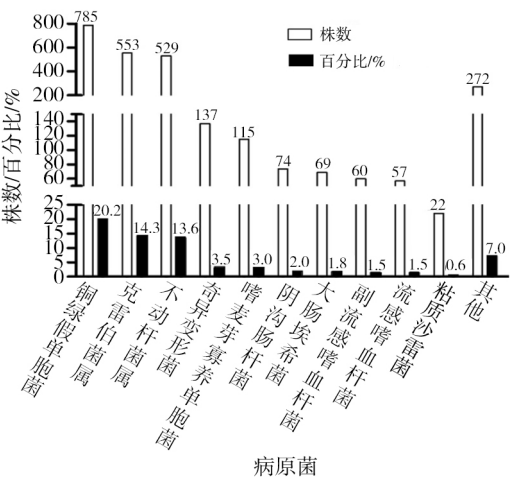


图 2 下呼吸道感染病原菌 2 673 株革兰阴性杆菌分布图

Fig. 2 Distribution of 2 673 strains of gram negative bacilli causing lower respiratory tract infection

新诺明、头孢呋辛 (酯)、头孢曲松、头孢替坦、头孢唑啉的耐药性较高，每年的耐药率均高于 95%。而对于阿米卡星、环丙沙星、头孢吡肟、头孢他啶、左氧氟沙星则出现较低的耐药性，5 年的耐药率均低于 50%。铜绿假单胞菌对阿米卡星、哌拉西林、头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南的耐药率有逐年下降的趋势，而对环丙沙星、左氧氟沙星的耐药率有逐年上升的趋势。具体耐药情况见表 2、图 3。

表2 2015年至2019年痰标本分离铜绿假单胞菌
对抗菌药物的耐药率(%)

Table 2 Drug resistance rate of *Pseudomonas aeruginosa*
isolated from sputum samples in 2015 to 2019 (%)

	2015年 (n=115)	2016年 (n=146)	2017年 (n=158)	2018年 (n=179)	2019年 (n=185)
阿米卡星	48.15	13.77	10.86	4.71	1.62
氨苄西林	100.0	99.29	99.39	100.0	100.0
氨苄西林/ 舒巴坦	100.0	98.58	98.79	100.0	100.0
呋喃妥英	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
复方新诺明	100.0	98.57	98.77	99.45	99.06
环丙沙星	30.77	14.08	30.06	34.81	42.86
美罗培南	66.67	45.51	48.54	45.79	42.39
哌拉西林	59.26	22.75	32.76	14.81	10.00
哌拉西林/ 他唑巴坦	51.85	14.37	20.81	9.47	12.43
庆大霉素	51.85	16.67	19.54	25.79	23.57
头孢吡肟	44.44	20.24	23.43	13.16	2.70
头孢呋辛	100.0	99.29	98.79	99.45	99.07
头孢呋辛酯	100.0	99.29	98.79	99.45	99.07
头孢曲松	100.0	97.86	96.97	98.89	98.13
头孢他啶	40.74	17.86	23.43	12.63	15.93
头孢替坦	100.0	98.59	99.39	100.0	100.0
头孢唑肟	100.0	99.30	98.79	100.0	100.0
妥布霉素	53.85	19.72	15.85	24.31	25.97
亚胺培南	74.07	50.00	62.64	55.50	53.76
左氧氟沙星	29.63	23.21	19.43	37.89	42.93

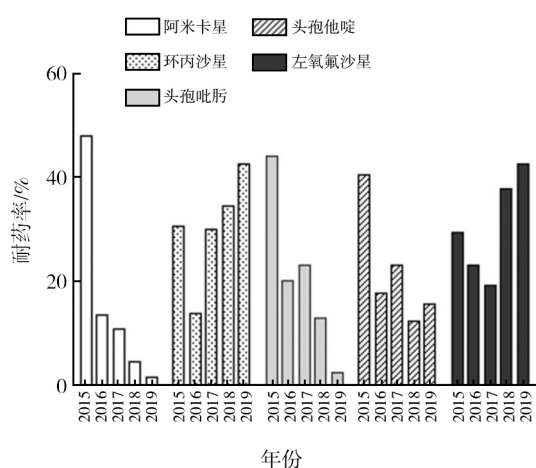


图3 2015年至2019年铜绿假单胞菌对
临床常用抗菌药物耐药率的变化趋势

Fig. 3 Change trend of resistance rate of *Pseudomonas aeruginosa*
to commonly used clinical antibiotics from 2015 to 2019

3 讨论

下呼吸道感染是临床常见的感染性疾病,痰培养对于下呼吸道感染的病原菌检查具有重要的临床价值,药敏试验为临床合理使用抗生素提供了依据^[7]。通过本研究可以看出,辽宁省下呼吸道感染患者的病原菌主要以革兰阴性杆菌为主,占68.9%,且有上升趋势,主要包括铜绿假单胞菌、克雷伯菌属和不动杆菌属,与近年来国内外统计资料显示革兰阴性杆菌引起下呼吸道感染比例上升已逐渐趋于主导地位的报道一致^[6]。真菌占下呼吸道感染病原菌的19.6%,主要以白假丝酵母菌、曲霉菌、热带假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌常见。革兰阳性菌主要为溶血性葡萄球菌、肺炎链球菌、纹带棒杆菌和表皮葡萄球菌。

在分离出的病原菌中,铜绿假单胞菌占相当大的比例,约为20.2%。近年来,由于β-内酰胺类抗菌药物、免疫抑制剂和肿瘤化疗药物的广泛使用以及各种侵入性操作的增多,该菌引起的医院感染日益突出^[8]。铜绿假单胞菌具有多种天然和获得性耐药机制,耐药性强,耐药机制复杂,且具有极强的环境适应能力,分布广泛,可导致呼吸系统、血液系统和泌尿系统感染^[9]。铜绿假单胞菌的耐药机制主要有通过主动外排机制、药物渗透障碍(由于产生了细菌生物被膜所导致)、产生细菌生物被膜以及产生由染色体或质粒介导的β-内酰胺酶、氨基糖苷类钝化酶及DNA旋转酶等产生耐药现象^[10]。

临床治疗铜绿假单胞菌严重感染的标准方案是将一种抗假单胞菌的β-内酰胺类(如哌拉西林)和氟喹诺酮类(如左氧氟沙星、环丙沙星)或氨基糖苷类(如阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素)联合应用,联合用药能产生附加或协同杀菌作用,同时可减少耐药的发生。其中阿米卡星是联合用药的首选药物^[11-12]。药敏结果显示,辽宁省的铜绿假单胞菌耐药性较高的药物主要有氨苄西林、呋喃妥英、复方新诺明、头孢呋辛(酯)、头孢曲松、头孢替坦、头孢唑肟。因此建议临床减少使用这类抗生素,降低其耐药性。而对阿米卡星、环丙沙星、头孢吡肟、头孢他啶、左氧氟沙星的耐药率相对都较低。铜绿假单胞菌对阿米卡星、哌拉西林、头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南的耐药率

有逐年下降的趋势,而对环丙沙星、左氧氟沙星的耐药率有逐年上升的趋势。阿米卡星除对铜绿假单胞菌有较好的抑制作用外,报道显示,其他一些革兰阴性菌(如大肠埃希菌、耐碳青霉烯类革兰阴性菌等)对其均有较高的敏感性^[13-14]。阿米卡星已被临床用于重症肺炎的治疗^[15]。头孢吡肟、美罗培南、亚胺培南对其他革兰阴性菌作用不尽相同,有报道显示^[16],大肠埃希菌对美罗培南、亚胺培南均有较高的敏感性,但对头孢吡肟却有较高耐药性;鲍氏不动杆菌对头孢吡肟敏感性较高,但对美罗培南、亚胺培南的耐药性却较高。

呼吸道感染病原菌诊断的重要手段是痰培养,也是临床医师选用有效抗菌药物的重要依据^[17]。因此,临床医师对于呼吸道感染性疾病患者在治疗前应给予痰培养,然后依据本地区病原菌特点进行经验性用药,得知痰培养药敏结果后再调整抗菌药物。同时,在临床实践工作中,临床医务人员应与细菌室工作人员密切配合,保证微生物诊断的结果与质量。细菌室工作人员应定期对检验结果进行统计分析,为临床合理选用抗菌药物提供依据。为了避免耐药菌株的逐年上升和产生超级细菌的现象,应避免抗生素的滥用,共同营造一个和谐的医疗环境。

参考文献:

- [1] Karam G, Chastre J, Wilcox MH, et al. Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance [J]. Crit Care, 2016, 20 (1): 136.
- [2] Haiyan Liu, Bin Liu, Fade Zheng, et al. Distribution of pathogenic bacteria in lower respiratory tract infection in lung cancer patients after chemotherapy and analysis of integron resistance genes in respiratory tract isolates of uninfected patients [J]. Journal of Thoracic Disease, 2020, 12 (8): 4216-4223.
- [3] Ong SP, Azam AH, Sasahara T, et al. Characterization of *Pseudomonas lytic* phages and their application as a cocktail with antibiotics in controlling *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J BiosciBioeng, 2020, 129 (6): 693-699.
- [4] Abd El-Baky RM, Masoud SM, Mohamed DS, et al. Prevalence and some possible mechanisms of colistin resistance among multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Infect Drug Resist, 2020, 13: 323-332.
- [5] Chanda R, Opperman CJ. Assessment of sputum cultures for the diagnosis of lower-respiratory tract infections in the outpatient setting [J]. S Afr Med J, 2020, 110 (6): 12968.
- [6] 丁树红, 金菲, 倪芳, 等. 下呼吸道感染患者支气管肺泡灌洗液定量培养及临床分析 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40 (9): 1354-1358.
- [7] Xiao-Yan Gai, Shi-Ning Bo, Ning Shen, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of ciprofloxacin in elderly Chinese patients with lower respiratory tract infections caused by Gram-negative bacteria [J]. Chinese Medical Journal, 2019, 132 (6): 638-646.
- [8] Colleen S Curran, Thomas Bolig, Parizad Torabi-Parizi. Mechanisms and targeted therapies for *Pseudomonas aeruginosa* lung infection [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2018, 197 (6): 708-727.
- [9] Preeti Pachori, Ragini Gothalwal, Puneet Gandhi. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review [J]. Genes Dis, 2019, 6 (2): 109-119.
- [10] Zheng Pang, Renee Raudonis, Bernard R Glick, et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies [J]. Biotechnol Adv, 2019, 37 (1): 177-192.
- [11] Yu PA, Tran EL, Parker CM, et al. Safety of antimicrobials during pregnancy: a systematic review of antimicrobials considered for treatment and postexposure prophylaxis of plague [J]. Clinical Infectious Diseases, 2020, 70 (Suppl 1): 37-50.
- [12] Heffernan AJ, Sime FB, Sarovich DS, et al. Pharmacodynamic evaluation of plasma and epithelial lining fluid exposures of amikacin against *Pseudomonas aeruginosa* in a dynamic *In Vitro* hollow-fiber infection model [J]. Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 2020, 64 (9): 1-13.
- [13] 李彩华, 陈维忠, 胡晓峰, 等. 耐碳青霉烯类革兰阴性菌分布特征及耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28 (5): 650-653.
- [14] 蒙光义, 潘鹏, 王冬晓, 等. 医院常见革兰阴性菌的临床分布及耐药性分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36 (6): 488-491.
- [15] 于季红, 闫中强, 赵秀梅, 等. 阿米卡星联合哌拉西林他唑巴坦钠治疗老年重症肺炎的临床疗效 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30 (18): 2759-2763.
- [16] 李怡, 陈玲, 李婧, 等. 2012-2016 年革兰阴性菌的临床分布及耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28 (8): 1166-1169.
- [17] 刘文, 吴治. 我院痰培养标本中病原菌的临床分布及耐药性分析 [J]. 微生物学杂志, 2013, 33 (2): 97-100.