

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2015.06.005

· 论 著 ·

1 693 例难治性肺炎患儿支气管肺泡灌洗液病原体培养分析

黄宝兴, 邓继焱, 王红梅, 张艳, 赵瑞珍, 陈虹宇, 王和平, 马东礼

(深圳市儿童医院, 广东 深圳 518026)

[摘要] 目的 了解儿童难治性肺炎患儿感染的病原体及其耐药情况。方法 对深圳市儿童医院 2008 年 5 月—2014 年 12 月收治的难治性肺炎住院患儿行支气管镜术, 并对支气管肺泡灌洗液(BALF)进行病原体培养及耐药性检测。结果 共纳入 1 693 例难治性肺炎患儿, 226 例患儿 BALF 标本培养病原体 273 株, 革兰阳性菌占 38.10%(104/273), 其中肺炎链球菌 71 株、金黄色葡萄球菌 23 株; 革兰阴性菌占 58.24%(159/273), 包括副流感嗜血杆菌 44 株, 肺炎克雷伯菌 28 株, 大肠埃希菌 19 株, 铜绿假单胞菌 17 株; 检出真菌 10 株, 其中 8 株为白假丝酵母菌。肺炎链球菌对喹诺酮类、头孢曲松和头孢噻肟敏感性较高。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)占金黄色葡萄球菌的 26.32%。副流感嗜血杆菌产 β -内酰胺酶的菌株占 32.72%, 肺炎克雷伯菌中产 β -内酰胺酶的菌株占 62.96%。结论 难治性肺炎患儿病原体主要为肺炎链球菌、副流感嗜血杆菌等, 经验性治疗应重点覆盖上述病原体, 疗效不佳时应考虑耐药可能, 并及时根据培养和药敏结果进行目标性治疗。

[关键词] 支气管肺泡灌洗液; 支气管镜; 难治性肺炎; 抗药性; 微生物; 病原学

[中图分类号] R181.3⁺2 R725.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2015)06-0379-04

Analysis on bacterial culture of bronchoalveolar lavage fluid from 1 693 children with refractory pneumonia

HUANG Bao-xing, DENG Ji-kui, WANG Hong-mei, ZHANG Yan, ZHAO Rui-zhen, CHEN Hong-yu, WANG He-ping, MA Dong-li (Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen 518026, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate pathogens and antimicrobial resistance of pathogens causing refractory pneumonia in children. **Methods** Children with refractory pneumonia who admitted to a hospital between May 2008 and December 2014 were performed bronchoscopy, and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were performed bacterial culture and antimicrobial resistance testing. **Results** 1 693 patients were recruited in the study, 273 bacterial isolates were isolated from BALF specimens of 226 children, gram-positive bacteria accounted for 38.10% (104/273), the main gram-positive bacteria were *Streptococcus pneumoniae* ($n=71$) and *Staphylococcus aureus* ($n=23$); gram-negative bacteria accounted for 58.24% (159/273), including 44 isolates of *Haemophilus parainfluenzae*, 28 *Klebsiella pneumoniae*, 19 *Escherichia coli*, and 17 *Pseudomonas aeruginosa*; 10 isolates of fungi were also detected, 8 of which were *Candida albicans*. The sensitivity of *Streptococcus pneumoniae* to quinolones, ceftriaxone and cefotaxime were high. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) positive rate was 26.32%. ESBLs-producing rate of *Haemophilus parainfluenzae* and *Klebsiella pneumoniae* was 32.72% and 62.96% respectively. **Conclusion** The major pathogens causing refractory pneumonia were *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus parainfluenzae*, empirical treatment should be conducted accordingly, antimicrobial resistance should be considered if therapeutic effect is poor, and targeted therapy should be performed according to cultured results and antimicrobial susceptibility testing result.

[Key words] bronchoalveolar lavage fluid; bronchoscope; refractory pneumonia; drug resistance; microbial; aetiology

[Chin Infect Control, 2015, 14(6): 379-382]

[收稿日期] 2015-01-02

[基金项目] 深圳病原体高通量基因测序技术工程实验室 深发改[2014]1712 号

[作者简介] 黄宝兴(1978-), 男(汉族), 安徽省凤阳县人, 主管技师, 主要从事生物化学和病原学检测研究。

[通信作者] 黄宝兴 E-mail: 13510333100@139.com

肺炎是儿童常见的呼吸道疾病,是我国 5 岁以下儿童死亡的主要原因,应引起足够的重视。多数肺炎可通过经验性治疗治愈,但部分患儿病情较重,伴有脓性分泌物增加,使抗感染药物难以达到病变局部而致迁延不愈,甚至恶化、死亡,即所谓的难治性肺炎。常规痰培养因口腔菌群污染或难以取到病变部位标本而应用受限,因此,行支气管镜术,并对支气管肺泡灌洗液(BALF)进行检查和病原体培养,对严重肺部疾病的诊断和治疗具有重要的临床指导价值^[1]。本研究回顾性分析了 2008 年 5 月—2014 年 12 月 1 693 例难治性肺炎患儿 BALF 培养结果,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 回顾性分析 2008 年 5 月—2014 年 12 月我院收治的住院肺炎患儿,符合儿科学第 7 版肺炎诊断标准^[2],其中病程在 3 周以上且疗效不佳,或病程在 1 周以内但胸部 X 线或 CT 检查提示有明显实变或不张,经常规治疗 1 周其症状、体征和胸部 X 线或 CT 检查无明显改善的患儿为难治性肺炎患儿,符合儿科支气管镜术指南(2009 年版)^[3]中支气管镜应用指征。

1.2 BALF 采集及细菌培养 在支气管镜室局麻下行电子支气管镜术。支气管镜由左鼻孔进入气管、支气管后,镜端固定于右/左肺中叶开口,予温生理盐水 8 mL 灌洗 2~3 次,灌洗后吸出,回收即装入无菌培养瓶,立即送检。接种培养基:血平板、麦康凯平板(郑州安图绿科生物工程有限公司),嗜血杆菌巧克力平板(广州市迪景微生物科技有限公司)。同一患儿重复送检的多份标本不重复计算。

1.3 细菌鉴定与药敏试验 采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定药敏系统及 GP68、GNI、GN13、GPI、GP67 检测卡对菌株进行鉴定和药物敏感性检测。按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)2014 年标准,根据其微量稀释法所检测的最低抑菌浓度(MIC)值判定细菌的药敏结果。假丝酵母菌的鉴定采用 YST 鉴定卡,FUN-GUS 3 系统进行药敏试验。对肺炎克雷伯菌进行超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)检测;以苯唑西林耐药判定金黄色葡萄球菌是否为 MRSA;采用头孢噻吩显色法对嗜血杆菌属进行 β -内酰胺酶测定。

1.4 质控菌株 肺炎链球菌 ATCC 49619,大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853、肺

炎克雷伯菌 ATCC 700603,均购自卫生部临床检验中心。

1.5 统计分析 应用 SPSS 17.0 软件对患儿资料进行统计学分析,WHONET 5.6 软件对药敏结果进行统计分析。

2 结果

2.1 一般情况 本研究共纳入难治性肺炎并行 BALF 送检的患儿 1 693 例,其中 2014 年 888 例、2013 年 399 例、2012 年 194 例、2011 年 144 例、2008—2010 年 68 例;男性 1 356 例,女性 337 例;年龄 3 h~14 岁,平均年龄(2.65±2.67)岁,中位数为 1 岁 4 个月。

2.2 病原菌检出情况 226 例患儿 BALF 共检出病原体 273 株,其中男性 187 例,女性 39 例,平均年龄(1.89±2.23)岁。病原体检出阳性率为 13.35%(226/1 693)。年龄段<1 岁患儿 BALF 检出病原体比率最高,为 19.13%(115/601),详见表 1。分离革兰阳性菌 104 株,革兰阴性菌 159 株,真菌 10 株。革兰阳性菌中检出数量最多的为肺炎链球菌(71 株),占 26.01%,其次为金黄色葡萄球菌(23 株);革兰阴性菌中检出副流感嗜血杆菌 44 株,占 16.12%(44/273),其次为肺炎克雷伯菌(28 株);真菌主要为白假丝酵母菌(8 株)。见表 2。各病原体检出集中在 2013、2014 年。

表 1 不同年龄段患儿 BALF 标本病原体检出情况

Table 1 Detection of pathogens from BALF specimens of children of different ages

年龄段(岁)	标本数	阳性标本数	菌株数	阳性率(%)
<1	601	115	141	19.13
1~	452	48	53	10.62
3~	401	48	57	11.97
≥6	239	15	22	6.28
合计	1 693	226	273	13.35

2.3 主要病原菌药敏结果 肺炎链球菌药敏结果显示,青霉素 MIC<2 mg/L 22 株, MIC≥2 mg/L 者 40 株。肺炎链球菌对万古霉素、利奈唑胺、左氧氟沙星、莫西沙星均 100%敏感,对头孢曲松和头孢噻肟的敏感率>70%。金黄色葡萄球菌中 MRSA 比率为 26.32%。副流感嗜血杆菌产 β -内酰胺酶的菌株占 32.72%,肺炎克雷伯菌产 ESBLs 的菌株占 62.96%。详见表 3~5。

表 2 难治性肺炎患儿 BALF 标本中病原体分布

Table 2 Distribution of pathogens from BALF specimens of children with refractory pneumonia

病原体	株数	构成比(%)
革兰阳性菌	104	38.10
肺炎链球菌	71	26.01
金黄色葡萄球菌	23	8.42
表皮葡萄球菌	4	1.46
人葡萄球菌	3	1.10
无乳链球菌	1	0.37
溶血葡萄球菌	1	0.37
粪肠球菌	1	0.37
革兰阴性菌	159	58.24
副流感嗜血杆菌	44	16.12
肺炎克雷伯菌	28	10.25
大肠埃希菌	19	6.96
铜绿假单胞菌	17	6.23
鲍曼不动杆菌	13	4.76
流感嗜血杆菌	9	3.30
卡他莫拉菌	9	3.30
嗜麦芽窄食单胞菌	5	1.83
产气肠杆菌	4	1.46
黏质沙雷菌	3	1.10
阴沟肠杆菌	3	1.10
产酸克雷伯菌	2	0.73
洋葱伯克霍尔德	2	0.73
恶臭假单胞菌	1	0.37
真菌	10	3.66
白假丝酵母菌	8	2.93
近平滑假丝酵母菌	2	0.73
合计	273	100.00

表 3 肺炎链球菌药敏结果(%,株)

Table 3 Antimicrobial susceptibility testing result of *Streptococcus pneumoniae* (% ,No. of isolates)

抗菌药物	检测株数	敏感	中介	耐药
阿莫西林	57	61.40(35)	14.04(8)	24.56(14)
头孢曲松	62	83.87(52)	1.61(1)	14.52(9)
头孢噻肟	62	75.80(47)	14.52(9)	9.68(6)
厄他培南	61	100.00(61)	0.00(0)	0.00(0)
美罗培南	61	36.07(22)	57.37(35)	6.56(4)
万古霉素	62	100.00(62)	0.00(0)	0.00(0)
利奈唑胺	62	100.00(62)	0.00(0)	0.00(0)
四环素	62	12.90(8)	3.23(2)	83.87(52)
氯霉素	62	96.77(60)	0.00(0)	3.23(2)
红霉素	57	1.75(1)	0.00	98.25(56)
泰利霉素	61	100.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
莫西沙星	62	100.00(62)	0.00(0)	0.00(0)
氧氟沙星	62	98.39(61)	1.61(1)	0.00(0)
左氧氟沙星	62	100.00(62)	0.00(0)	0.00(0)
复方磺胺甲噁唑	62	11.29(7)	12.90(8)	75.81(47)

表 4 金黄色葡萄球菌药敏结果(%,株)

Table 4 Antimicrobial susceptibility testing result of *Staphylococcus aureus* (% ,No. of isolates)

抗菌药物	检测株数	敏感	中介	耐药
青霉素	19	0.00(0)	0.00(0)	100.00(19)
苯唑西林	19	73.68(14)	0.00(0)	26.32(5)
阿莫西林	16	0.00(0)	0.00(0)	100.00(16)
阿莫西林/克拉维酸	16	75.00(12)	0.00(0)	25.00(4)
庆大霉素	19	100.00(19)	0.00(0)	0.00(0)
万古霉素	19	100.00(19)	0.00(0)	0.00(0)
喹努普汀/达福普汀	19	100.00(19)	0.00(0)	0.00(0)
利奈唑胺	19	100.00(19)	0.00(0)	0.00(0)
四环素	19	78.95(15)	0.00(0)	21.05(4)
红霉素	19	47.37(9)	0.00(0)	52.63(10)
替加环素	18	100.00(18)	0.00(0)	0.00(0)
克林霉素	19	52.63(7)	0.00(0)	47.37(9)
左氧氟沙星	18	100.00(18)	0.00(0)	0.00(0)
莫西沙星	19	94.74(18)	5.26(1)	0.00(0)
环丙沙星	19	100.00(19)	0.00(0)	0.00(0)
复方磺胺甲噁唑	19	84.21(16)	0.00(0)	15.79(3)
利福平	19	84.21(16)	10.53(2)	5.26(1)

表 5 肺炎克雷伯菌药敏结果(%,株)

Table 5 Antimicrobial susceptibility testing result of *Klebsiella pneumoniae* (% ,No. of isolates)

抗菌药物	检测株数	敏感	中介	耐药
氨苄西林	27	0.00(0)	0.00(0)	100.00(27)
氨苄西林/舒巴坦	27	37.04(10)	3.70(1)	59.26(16)
哌拉西林/他唑巴坦	27	77.78(21)	7.41(2)	14.81(4)
头孢唑林	27	33.33(9)	0.00(0)	66.67(18)
头孢曲松	27	33.33(9)	0.00(0)	66.6(18)
头孢他啶	27	44.45(12)	3.70(1)	51.85(15)
头孢替坦	27	88.89(24)	0.00(0)	11.11(3)
头孢吡肟	27	70.37(19)	7.41(2)	22.22(6)
氨基曲南	27	51.85(14)	0.00(0)	48.15(13)
亚胺培南	27	96.30(26)	0.00(0)	3.70(1)
厄他培南	27	92.60(25)	3.70(1)	3.70(1)
妥布霉素	27	88.89(24)	11.11(3)	0.00(0)
阿米卡星	27	100.00(27)	0.00(0)	0.00(0)
庆大霉素	27	85.19(23)	0.00(0)	14.81(4)
左氧氟沙星	27	96.30(26)	3.70(1)	0.00(0)
环丙沙星	27	96.30(26)	0.00(0)	3.70(1)
复方磺胺甲噁唑	27	70.37(19)	0.00(0)	29.63(8)

3 讨论

肺炎是由不同病原体或其他因素所致的包括肺泡腔及其间质组织在内的肺实质炎症,是儿童最常见的下呼吸道疾病之一。大部分肺炎患者可以通过经验性治疗治愈,然而近年来随着病原谱的变迁和多重耐药株的出现,部分患儿因感染耐药菌,并存或并发心血管系统等其他系统疾病,肺炎迁延不愈,即为难治性肺炎。及时送病原学检查,获得病原体及药敏

结果,进行目标性治疗,避免常规痰培养因污染导致的假阳性所致的不恰当的抗菌药物治疗,有利于患儿康复,减少医疗费用和耐药菌的产生。

研究证实,传统方法的痰培养在取材过程中易被口腔定植菌污染,其可靠性及敏感性依赖于高质量的取材过程和合适的培养方法。随着支气管镜在呼吸内科广泛应用,经支气管镜进行肺泡灌洗,并留取灌洗液进行病原体培养,可以减少口咽菌群对本标本的污染,对明确难治性肺炎的病原体及指导用药有重要意义^[4-6]。

本研究表明,对 1 693 例难治性肺炎患儿行 BALF 病原体培养,阳性率为 13.35%,低于常规痰培养细菌检出率^[7]。其原因可能为难治性肺炎患儿多已进行抗菌药物治疗;此外,BALF 在取材过程中因需要生理盐水盥洗而致标本有一定程度的稀释从而使菌量相对减少,致检出率降低。纤维支气管镜可在直视下观察局部病变情况,采样准确,可在无菌操作下直接取下呼吸道分泌物培养及病原学检查,较痰标本更能反映肺部炎症情况。故目前 BALF 培养被视为难治性肺炎病原辅助诊断与治疗敏感而可靠的方法。2011 年国家卫生部开始进行抗菌药物临床应用专项整治活动,我院积极响应卫生部号召,加强对抗菌药物的管理,努力提高病原学送检率。经过 1 年多的管理和宣传,BALF 的检测例数逐年递增,且本研究病原体的检出也主要集中在 2013—2014 年间。

病原谱分析提示难治性肺炎以革兰阴性菌为主,主要为副流感嗜血杆菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和铜绿假单胞菌;革兰阳性菌以肺炎链球菌和金黄色葡萄球菌为主;同时检出了部分真菌。病原体的构成符合儿童常见下呼吸道感染的病原谱^[8]。本研究所使用的仪器肺炎链球菌对青霉素的 MIC 值仅显示为 $< 2 \text{ mg/L}$ 和 $\geq 2 \text{ mg/L}$,故按 2014 版 CLSI 标准敏感为 $< 2 \text{ mg/L}$,对于青霉素 $\geq 2 \text{ mg/L}$ 的 40 株无法判定其敏感性^[9]。肺炎链球菌对左氧氟沙星、氧氟沙星和莫西沙星、头孢曲松和头孢噻肟等药物敏感率较高,可临床经验性使用;肺炎链球菌对红霉素敏感率较低,经验性治疗选择时需慎重。MRSA 占金黄色葡萄球菌的 26.32%,低于成人患者 MRSA 的比率^[10],提示对儿童怀疑有金黄色葡萄球菌肺炎时,可经验性使用对青霉素酶稳定的青霉素类或头孢菌素,同时送病原学检查;疗效不佳时需考虑 MRSA 感染的可能性,并加用万古霉素或利奈唑胺等药物。副流感嗜血杆菌 β -内酰胺酶阳性率

为 32.72%,经验性治疗时应选用含酶抑制剂的药物,如阿莫西林/克拉维酸钾,或选用喹诺酮类^[11]。肺炎克雷伯菌产 ESBLs 的比率高达 62.96%,提示对怀疑有肺炎克雷伯菌肺炎的患者使用二代或三代头孢菌素治疗失败可能性较大,宜尽早明确病原学诊断及获得药敏结果进行目标治疗,或选用含酶抑制剂的药物。

综上所述,本研究通过 BALF 病原学检查显示,难治性肺炎患儿的病原体主要为肺炎链球菌、副流感嗜血杆菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌等,符合普通下呼吸道感染的病原谱,经验性治疗时应重点覆盖上述病原体,并送病原学检测,疗效不佳时应考虑耐药可能性,并及时根据培养和药敏结果进行目标性治疗。

[参 考 文 献]

- [1] Cantral DE, Tape TG, Reed EC, et al. Quantitative culture of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of bacterial pneumonia. [J]. Am J Med. 1993,95(6):601-607.
- [2] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第 7 版. 北京:人民卫生出版社,2002:1180.
- [3] 中华医学会儿科学分会呼吸学组儿科支气管镜协作组. 儿科支气管镜术指南(2009 年版)[J]. 中华儿科杂志,2009, 47(10): 740-744.
- [4] Dickson RP, Erb-Downward JR, Prescott HC, et al. Analysis of culture-dependent versus culture-independent techniques for identification of bacteria in clinically obtained bronchoalveolar lavage fluid [J]. J Clin Microbiol. 2014,52(10):3605-3613.
- [5] 杨存明. 纤维支气管镜灌洗术在小儿难治性肺炎治疗中的临床应用. 中国现代药物应用[J]. 2014,8(16):30-32.
- [6] 吴波,周璐. 儿童难治性肺炎临床特点及病原分布特点[J]. 临床肺科杂志. 2014,19(5):917-918.
- [7] 宁静,董汉权,任立歆. 儿童难治性肺炎病原体分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志. 2014,24(5):1260-1262.
- [8] 刘霞,马静,张忠晓,等. 儿童重症肺炎 2044 例肺泡灌洗液细菌病原学分析[J]. 中国实用儿科杂志. 2014,29(6):438-441.
- [9] 王红梅,赵瑞珍,陈虹宇,等. 深圳地区儿童临床分离的 711 株肺炎链球菌分布及耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志. 2010,9(5):351-353.
- [10] 李宁,程齐俭,韩立中,等. 上海地区成人医院获得性肺炎易患因素病原学及预后分析[J]. 中国感染与化疗杂志. 2011,11(5):339-343.
- [11] 桑福德. 桑福德抗微生物治疗指南[M]. 第 42 版. 北京:中国协和医科大学出版社,2012:42.