

2013—2017 年某院呼吸道分离病原菌分布及耐药性分析

王娟, 谢良伊, 张景, 欧阳鹏文, 姜斌, 彭娜, 郑淑娟, 曾玲, 贺蓉, 梁剑

湖南省人民医院检验科, 湖南师范大学附属第一医院, 湖南 长沙 410005

摘要: **目的** 分析某院呼吸道分离的病原菌分布及耐药性, 为指导临床用药及院感监控提供理论依据。 **方法** 对某院 2013—2017 年送检呼吸道标本进行细菌分离培养及鉴定, 对阳性培养菌株开展药物敏感性试验, 细菌分布及药敏数据分析采用 WHONET 5.6 软件进行统计。 **结果** 分离革兰阴性菌前六位分别是肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、流感嗜血杆菌; 革兰阳性菌前二位为肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌。排前四位的肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素耐药率为 4.1%~11.6%, 其中大肠埃希菌对喹诺酮类药物的耐药率明显高于其他三种肠杆菌, 未发现对替加环素耐药的菌株。非发酵菌中鲍曼不动杆菌除对替加环素、头孢哌酮/舒巴坦较敏感外, 对多种抗菌药物有较高的耐药性, 其中对氨基糖苷类耐药率波动在 45% 左右, 对碳青霉烯类的耐药率大于 50%。铜绿假单胞菌除存在天然耐药外, 其他抗菌药物的耐药率均低于鲍曼不动杆菌, 其中对氨基糖苷类耐药率 <10%。肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素 5 年内的耐药率呈持续上升, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 87.34, P < 0.05$)。肺炎链球菌对青霉素的耐药率为 1.9%, 未发现对万古霉素、利奈唑胺及替考拉宁耐药的金黄色葡萄球菌。 **结论** 呼吸道标本检出菌主要为革兰阴性菌, 对头孢菌素类耐药率高, 对碳青霉烯类抗生素耐药率日趋严重。应规范抗菌药物的使用, 控制多重耐药菌的流行与传播。

关键词: 呼吸道; 病原菌; 耐药性

中图分类号: R378 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2020)05-0584-05 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.05.020

呼吸道感染在全球具有较高的发生率和死亡率, 是严重威胁人类健康的常见感染性疾病之一。根据 2012 年世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 发布的消息, 每年全球约有 300 万名患者因肺炎而死亡, 占全球死亡率的 5%^[1-3]。随着抗生素的广泛使用, 细菌的耐药形势越发严峻, 多重耐药菌及泛耐药菌频繁出现^[4-6]。为了解本院分离的呼吸道病原菌病原谱的分布及耐药变化, 本课题组对 2013—2017 年检出的细菌数据进行了分析, 为临床合理使用抗菌药物提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本分离与培养 收集 2013—2017 年某院临床送检的呼吸道标本, 主要是合格痰、肺泡灌洗液等。所有标本分别接种血平板、巧克力及中国蓝平板, 5%~10% CO₂, 35℃ 培养 24~48 h。

1.2 细菌鉴定及药物敏感性试验 分离培养的阳性菌株使用法国生物梅里埃公司的 Vitek2 Compact 全

基金项目: 2017 年湖南省自然科学基金 (2017JJ3173); 湖南省人民医院仁术基金 (2016)

作者简介: 王娟 (1994-), 女, 湖南衡阳人, 在读研究生, 主要从事临床微生物的致病机理及耐药机制的研究工作。

通信作者: 谢良伊, E-mail: lyxie78@hunnu.edu.cn。

自动微生物分析系统进行鉴定, 同时使用配套药敏卡进行药物敏感性试验。M-H 和血 M-H 平板购自法国生物梅里埃公司, 所有药敏纸片购自英国 Oxoid 公司。依据 2017 年美国临床和实验室标准化协会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 标准判断药敏结果。采用标准菌株进行室内质控。

1.3 统计学处理 细菌分布及药敏数据采用 WHONET 5.6 软件进行统计分析, 细菌耐药率采用百分率 (%) 描述。率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 采用 SPSS 18.0 软件进行分析。

2 结果

2.1 病原菌的分布

2.1.1 分离阳性率及构成比 2013 年呼吸道标本阳性检出率为 13.42% (3 696/27 550), 革兰阴性菌、革兰阳性菌及真菌的构成比分别为 73.46%、10.50%、16.04%; 2014 年阳性检出率为 16.89% (4 524/26 790), 革兰阴性菌、革兰阳性菌及真菌的构成比分别为 74.01%、11.58%、14.41%; 2015 年阳性检出率为 16.34% (4 502/27 558), 革兰阴性菌、革兰阳性菌及真菌的构成比分别为 70.92%、11.93%、17.15%; 2016 年阳性检出率为 14.27% (4 422/30 988), 革兰阴性菌、革兰阳性菌及真菌的构

成比分别为 66.44%、10.02%、23.54%;2017 年阳性检出率为 16.14%(4 957/30 715),革兰阴性菌、革兰阳性菌及真菌的构成比分别为 69.17%、11.22%、19.61%。革兰阴性菌检出率明显高于革兰阳性菌检出率,其差异有统计学意义($\chi^2=19\,210,P<0.01$)。菌种检出分布构成比见表 1。

表 1 2013—2017 呼吸道标本阳性检出菌种病原谱构成比(n,%)

病原菌	2013 年(n=27 550)		2014 年(n=26 790)		2015 年(n=27 558)		2016 年(n=30 988)		2017 年(n=30 715)	
	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比
革兰阴性菌	2 715	73.46	3 348	74.01	3 193	70.92	2 938	66.44	3 429	69.17
革兰阳性菌	388	10.50	524	11.58	537	11.93	443	10.02	556	11.22
真菌	593	16.04	652	14.41	772	17.15	1 041	23.54	972	19.61
合计	3 696	100.00	4 524	100.00	4 502	100.00	4 422	100.00	4 957	100.00

2.1.2 革兰阳性菌构成比 2013—2017 年呼吸道标本中革兰阳性菌分离率排前三位的为肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌及表皮葡萄球菌。其中肺炎链球菌构成比较其他阳性菌构成比差异有统计学意义($\chi^2=505.11,P<0.05$)。革兰阳性菌具体分布构成比见表 2。

表 2 2013—2017 年呼吸道标本分离革兰阳性菌分布构成比(n,%)

病原菌	2013 年		2014 年		2015 年		2016 年		2017 年	
	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比
肺炎链球菌	298	76.80	448	85.50	429	79.89	366	82.61	502	90.29
金黄色葡萄球菌	39	10.05	56	10.69	91	16.95	57	12.87	43	7.73
表皮葡萄球菌	28	7.22	7	1.34	1	0.18	4	0.90	0	0.00
溶血葡萄球菌	7	1.80	1	0.19	6	1.11	11	2.48	10	1.79
其他凝固酶阴性的葡萄球菌	7	1.80	0	0.00	3	0.56	3	0.67	0	0.00
肠球菌属	3	0.77	10	1.91	4	0.74	2	0.45	0	0.00
其他链球菌属	4	1.03	2	0.38	0	0.00	0	0.00	1	0.18
其他	2	0.52	0	0.00	3	0.55	0	0.00	0	0.00
合计	388	100.00	524	100.00	537	100.00	443	100.00	556	100.00

2.1.3 革兰阴性菌构成比 2013—2017 年呼吸道标本中革兰阴性菌分离率前六位的为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、流感嗜血杆菌。其中肺炎克雷伯菌构成比较其他阴性菌构成比差异有统计学意义($\chi^2=51.24,P<0.05$)。革兰阴性菌具体分布构成比见表 3。

表 3 2013—2017 年呼吸道标本分离革兰阴性菌分布构成比(n,%)

病原菌	2013 年		2014 年		2015 年		2016 年		2017 年	
	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比
肺炎克雷伯菌	527	19.41	629	18.79	517	16.19	400	13.61	553	16.13
大肠埃希菌	485	17.86	423	12.63	252	7.89	282	9.60	209	6.10
铜绿假单胞菌	483	17.79	479	14.31	516	16.16	535	18.21	480	14.00
鲍曼不动杆菌	487	17.94	613	18.31	736	23.05	639	21.75	1 077	31.41
嗜麦芽窄食单胞菌	141	5.19	166	4.96	146	4.57	177	6.02	217	6.33
流感嗜血杆菌	156	5.75	478	14.28	458	14.34	452	15.38	348	10.15
产气肠杆菌	91	3.35	75	2.24	72	2.25	68	2.31	52	1.52
卡他莫拉菌	46	1.69	92	2.75	188	5.89	137	4.66	191	5.57
阴沟肠杆菌	67	2.47	110	3.29	84	2.63	98	3.34	96	2.80
产酸克雷伯菌	46	1.69	31	0.93	53	1.66	27	0.92	20	0.58
粘质沙雷菌	14	0.52	29	0.87	42	1.32	30	1.02	32	0.93
其他不动杆菌属	104	3.83	56	1.67	47	1.47	21	0.71	27	0.79
其他假单胞菌属	12	0.44	22	0.66	1	0.03	19	0.65	28	0.82
其他	56	2.06	145	4.33	81	2.54	53	1.80	99	2.89
合计	2 715	100.00	3 348	100.00	3 193	100.00	2 938	100.00	3 429	100.00

2.1.4 真菌构成比 2013—2017 年呼吸道标本中真菌分离率最高的为白色念珠菌,其次为热带念珠菌,其中白色念珠菌构成比较其他真菌构成比差异有统计意义($\chi^2=101.03,P<0.05$)。真菌具体分布构成比,见表 4。

表 4 2013—2017 年呼吸道标本分离真菌分布构成比(n,%)

病原菌	2013 年		2014 年		2015 年		2016 年		2017 年	
	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比	检出数	构成比
白色念珠菌	143	24.11	216	33.13	174	22.54	106	10.18	68	7.00
热带念珠菌	21	3.54	29	4.45	24	3.11	18	1.73	10	1.03
光滑念珠菌	5	0.84	21	3.22	14	1.81	13	1.25	2	0.21
克柔念珠菌	6	1.01	9	1.38	7	0.91	1	0.10	4	0.41
曲霉菌属	7	1.18	29	4.44	19	2.45	52	5.00	27	2.78
其他念珠菌属	411	69.32	348	53.38	534	69.18	851	81.74	861	88.57
合计	593	100.00	652	100.00	772	100.00	1 041	100.00	972	100.00

2.2 药物敏感性分析

2.2.1 主要革兰阴性菌对常用抗生素的耐药情况

大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、产气肠杆菌对碳青霉类抗生素耐药率为 4.1%~11.6%,未发现对替加环素耐药菌株,大肠埃希菌对喹诺酮类药物的耐药率明显高于其他三种肠杆菌。非发酵菌中鲍曼不动杆菌除对替加环素、头孢哌酮/舒巴坦较敏感外,对多种抗菌药物有较高的耐药性,其中对氨基糖苷类耐药

率波动在 45%左右,对碳青霉烯类的耐药率大于 50%。铜绿假单胞菌除天然耐药的药物外,其余抗菌药物的耐药率均低于鲍曼不动杆菌,对氨基糖苷类耐药率<10%。2013—2017 年肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗生素的耐药率分别为 4.4%、8.7%、10.3%、13.2%和 21.5%,呈现持续上升趋势,差异有统计学意义($\chi^2=87.34,P<0.05$)。主要革兰阴性菌对常用抗菌药物的耐药率见表 5。

表 5 2013—2017 年主要革兰阴性菌对抗菌药物耐药率(n,%)

抗菌药物	大肠埃希菌(n=1 651)		肺炎克雷伯菌(n=2 626)		阴沟肠杆菌(n=455)		产气肠杆菌(n=358)		鲍曼不动杆菌(n=3 552)		铜绿假单胞菌(n=2 493)		嗜麦芽窄食单胞菌(n=847)	
	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)
氨苄西林	1 414	85.6	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*
头孢哌酮/舒巴坦	120	7.3	397	15.1	52	11.5	20	5.56	1 089	30.7	291	11.7	138	16.3
哌拉西林/他唑巴坦	86	5.2	378	14.4	34	7.4	20	5.56	1 806	50.8	183	7.3	-*	-*
头孢唑啉	1 076	65.2	1 308	49.8	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*
头孢他啶	375	22.7	725	27.6	165	36.2	104	29.1	1 543	43.4	273	11.0	164	19.4
头孢曲松	1 105	66.9	1 260	48.0	239	52.5	145	40.5	2 104	59.2	-*	-*	-*	-*
头孢吡肟	385	23.3	688	26.2	80	17.5	33	9.2	1 858	52.3	223	8.9	-	-
氨基南	659	39.9	956	36.4	201	44.2	112	31.3	-*	-*	1 205	48.3	-*	-*
亚胺培南	68	4.1	305	11.6	35	7.7	28	7.8	2 088	58.8	514	20.6	-*	-*
庆大霉素	499	30.2	528	20.1	107	23.4	26	7.3	1 622	45.7	147	5.9	-	-
妥布霉素	139	8.4	252	9.6	88	19.3	7	2.0	1 549	43.6	146	5.9	-	-
环丙沙星	535	32.4	386	14.7	31	6.8	8	2.2	1 770	49.8	159	6.4	-*	-*
左旋氧氟沙星	475	28.8	312	11.9	24	5.2	6	1.7	1 425	40.1	214	8.6	26	3.1
复方新诺明	814	49.3	743	28.3	113	24.7	34	9.5	1 402	39.5	-*	-*	27	3.2
呋喃妥因	78	4.7	872	33.2	86	18.8	115	32.1	3 523	99.2	2 092	83.9	-	-
替加环素	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0.4	-*	-*	-	-

注:“-”示无药敏数据,“-*”示天然耐药。

2.2.3 革兰阳性菌药敏分析 呼吸道检出肺炎链球菌对青霉素的耐药率为 1.9%,未发现对万古霉素、利奈唑胺及替考拉宁耐药的金黄色葡萄球菌。主要革兰阳性菌对常见抗菌药物的耐药率见表 6。

表 6 2013—2017 年主要革兰阳性菌对抗菌药物耐药率(n,%)

抗菌药物	肺炎链球菌(n=2043)		金黄色葡萄球菌(n=286)		凝固酶阴性的葡萄球菌(n=88)	
	耐药株数	耐药率	耐药株数	耐药率	耐药株数	耐药率
青霉素 G	39	1.9	273	95.6	88	100
头孢西丁	-	-	108	37.8	66	75
苯唑西林	-	-	108	37.8	66	75
克林霉素	1 979	96.9	111	38.8	36	40.9
美罗培南	372	18.2	-	-	-	-
利福平	-	-	40	14.0	30	34.1
环丙沙星	0	0	56	19.6	66	75.0
左旋氧氟沙星	25	1.2	51	17.8	69	78.4
复方新诺明	1 812	88.7	286	100	67	76.1
红霉素	1 996	97.7	172	60.1	79	89.8
利奈唑胺	0	0	0	0	0	0
万古霉素	0	0	0	0	0	0
替考拉宁	18	0.9	0	0	0	0

注:“-”示无此药敏数据。

本研究结果显示,2013—2017 年呼吸道标本阳性分离率维持在 13%~16%之间,低于文献报道的呼吸道标本培养阳性率 36%^[7],分析本院阳性率较低的原因:第一,本院送检呼吸道标本中痰标本占比大,虽儿童呼吸道留取合格痰较多,但成人在留取呼吸道标本时难以得到合格的痰标本;第二,本院常规分离培养基较少,缺乏一些特殊病原体专用培养基,如百日咳鲍特菌所需鲍金培养基以及军团菌所需的活性炭酵母浸膏琼脂平板等,导致一部分特殊病原菌不能被有效分离出来;第三,标本送检过程不规范,标本送检时间过长或送检温度及储存方式错误,影响了标本阳性检出率。

近五年呼吸道病原菌分布数据显示,革兰阴性杆菌检出率由 73.46%下降至 69.17%,革兰阳性球菌由 10.50%上升至 11.22%,5 年来的比例变化幅度不大,主要检出病原菌为革兰阴性杆菌,检出率前 6 位病原菌是分别是肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、流感嗜血杆菌,结果与国内其他学者报道的基本一致^[8-9]。本院分离卡他莫拉菌属比重也较高,革兰阳性菌所占比重较小,主要为肺炎链球菌所引发的感染较多,其次为金黄色葡萄球菌,这与呼吸道感染的病原菌分布和构成在不

3 讨 论

同地区、不同时间存在很大差异,以及与病人年龄结构构成不同有关。本院儿科患者较多,导致肺炎链球菌的检出率一直居高不下,与小儿肺炎链球菌主要分离于小儿痰及肺泡灌洗液标本的结论相符^[10]。

本研究分析结果显示,革兰阴性菌中肠杆菌科细菌和非发酵菌属占多数比例,其中肠杆菌科细菌中以肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌为主要致病菌。四种肠杆菌科细菌对第一、二代头孢的耐药率为 40%~70%,明显高于第三、四代头孢耐药率(10%~30%),对头孢哌酮/舒巴坦保持较高的敏感性,未发现对替加环素耐药的菌株。非发酵菌中鲍曼不动杆菌除对替加环素、头孢哌酮/舒巴坦较敏感外,对氨基糖苷类耐药率在 45%左右,对碳青霉烯类的耐药率大于 50%,与鲍曼不动杆菌基因组富含外排泵基因及外排泵基因高表达有关^[11-12]。除天然耐药抗生素外,在第三、四代头孢菌素、碳青霉烯类、氨基糖苷类及喹诺酮类抗生素中,铜绿假单胞菌对其耐药率低于鲍曼不动杆菌。碳青霉烯类耐药主要耐药机制包括产碳青酶烯酶(包括 A、D 类丝氨酸酶以及 B 类金属酶),产 β -内酰胺酶合并膜孔蛋白的丢失,抗菌药物作用靶位的改变以及外排泵高表达^[13],本研究中肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗生素的耐药性在 2017 年出现大幅度增长,可能与该菌对其他多种抗生素耐药率上升、临床使用碳青霉烯类药物的频次增高引起细菌耐药机制的变迁有关,碳青霉烯类药物作为临床上治疗肠杆菌科的最后一道防线,其耐药率的上升需引起临床高度重视。有研究显示分离前三、四代头孢菌素和碳青霉烯类抗菌药物的使用是导致碳青霉烯类耐药的独立危险因素^[14],Pournaras 等^[15]的研究显示肠杆菌科细菌已出现对替加环素耐药的耐药株,RND 型转运蛋白,尤其是 AcrAB 外排泵在其耐药机制中发挥重要作用。本研究虽暂未发现对替加环素耐药的肠杆菌科细菌,但仍需临床医务者在其耐药问题上予以重视。

肺炎链球菌是引起社区性肺炎的重要病原体之一,同时也是造成小儿肺炎致死率高的原因之一。革兰阳性菌中,肺炎链球菌分离占 90%以上,青霉素是治疗肺炎链球菌的常规药物,药物敏感性分析显示其耐药率为 1.9%,低于近年国内监测水平^[16],仍然可作为常规首选治疗药物。MRSA 主要存在两种形式的耐药机制,第一是质粒介导产生了大量的 β -内酰胺酶而获得性耐药;另一个主要的耐药机制是耐药基因介导产生的固有性耐药。本院呼吸道标本中分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌约为 37.8%,与文献^[17]报道的一致,对喹诺酮类抗生素耐药率低,目前暂未发现对万古

霉素、利奈唑胺及替考拉宁耐药的金黄色葡萄球菌。在发现 MRSA 的时候,可根据药物敏感性结果及地区药敏流行数据选择不同种类抗生素。

本院目前从呼吸道标本中检出的真菌大多数为念珠菌属,正常人口腔中可能存在念珠菌的定植,一般不会引发临床症状,在机体抵抗力下降或菌群失调时可引起口腔念珠菌病,如雪口病,抗生素性口炎,义齿性口炎,白色念珠菌性白斑等,严重时也能导致致命性的深部感染。因此,临床及微生物工作者在念珠菌阳性培养结果上需结合病人临床症状,慎重考虑是否为定植或致病,给出有效诊疗结果。结合其他检查结果和临床症状对可疑病例进行进一步鉴定及药敏,主要为白色念珠菌,其次为热带念珠菌,白色念珠菌分离率有下降趋势,与国内研究结果相一致^[18]。本院每年都有曲霉菌属的检出,通过查阅病历资料,得知这些曲霉菌属通常来源于呼吸科慢性阻塞性肺疾病患者或者长期有呼吸道疾患的患者,呼吸道中曲霉菌属的存在提示临床医生,该患者可能存在肺部曲霉菌病的感染。随着临床微生物实验室真菌检出率的上升,需警惕呼吸道深部真菌病感染的存在,提高认识,增加检测手段,适当延长培养时间,增强深部真菌的检测能力,降低患者的病死率,提高患者治愈率。

呼吸道感染致病菌的主要诊断手段仍然为病原学培养,药敏结果也是临床选用有效、合理抗菌药物的重要依据,因此临床上需合理送检合格标本,现阶段痰仍是主要送检标本,在规范合格痰送检的同时,增加灌洗液、活检组织及抽吸液等标本的送检,同时微生物工作者应及时监测细菌耐药性变化趋势,指导临床医师合理使用抗菌药物,延缓耐药菌株的产生。

参考文献

- [1] Burgos J, Falcó V, Almirante B. Chemical pharmacotherapy for hospital-acquired pneumonia in the elderly[J]. Expert Opin Pharmacother, 2019(2):1-12.
- [2] Igor R. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia[J]. Bull World Health Organ, 2008, 86(5):408-416.
- [3] Renato S, Luis FR, Vivian AO, et al. Biomarkers in community-acquired pneumonia: a state-of-the-art review[J]. Clinics, 2012, 67(11):1321-1325.
- [4] Wang J, Liu F, Ao P, et al. Detection of serotype distribution and drug resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated from pediatric patients[J]. Lab Med, 2016, 48(1):39.
- [5] 陈霞,刘文恩,蒋红梅,等. 1 691 例呼吸道感染患者病原学流行病学调查[J]. 实用预防医学, 2018, 25(8):975-977.
- [6] 康昱,白熙,方向阳,等. 老年社区获得性肺炎合并营养不良患者的临床特点及危险因素分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(5):586-589.
- [7] 王乐. 不同标本微生物检验的阳性率流行病学分布分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(41):150-151.
- [8] 邵勤为,刘云,姜飞,等. 2014 年某医院 7 415 例痰培养病原菌分布及药敏分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2016, 36(4):487-490.
- [9] 张真,田磊,陈中举,等. 2013—2015 年某院患者下呼吸道感染病原菌分布及耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(6):516-520.