

• 论 著 •

早产儿呼吸机相关性肺炎的病原菌分布及耐药性分析*

亓 然¹, 马晓波^{1,2}, 李 琦^{1,2}, 宋秀宇^{1,2,△}

(1. 福建医科大学第一临床医学院, 福建福州 350108; 2. 厦门大学附属第一医院检验科, 福建厦门 361003)

摘要:目的 分析早产儿呼吸机相关性肺炎(VAP)分离病原菌的分布及药敏特点,探讨早产儿 VAP 的治疗措施,为临床合理用药提供依据。方法 纳入厦门大学附属第一医院 2013 年 1 月至 2014 年 6 月诊断为 VAP 的 54 例早产儿,采集呼吸道分泌物标本,采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定药敏系统进行细菌鉴定和药敏分析。结果 共分离病原菌 69 株,革兰阴性菌占 94.20%,革兰阳性菌占 5.80%。最常分离到的 4 种细菌分别是肺炎克雷伯菌(29 株,42.03%)、产气肠杆菌(12 株,17.39%)、铜绿假单胞菌(10 株,14.49%)和嗜麦芽窄食单胞菌(7 株,10.14%)。药敏结果显示:病原菌对临床常用抗菌药物均有多重耐药现象,仅对部分抗菌药物敏感,且出现产超广谱 β -内酰胺酶菌株。结论 该院 VAP 患儿病原菌以革兰阴性菌为主,混合感染多见,有多重耐药现象,因此根据药敏情况合理使用抗菌药物对于治疗早产儿 VAP 至关重要。

关键词:呼吸机相关性肺炎; 病原菌; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.23.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)23-3393-03

Analysis of distribution and drug resistance of pathogens in premature infants with ventilator-associated pneumonia*

Qi Ran¹, Ma Xiaobo^{1,2}, Li Xun^{1,2}, Song Xiuyu^{1,2,△}

(1. the First Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350108, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361003, China)

Abstract: Objective To investigate the distribution and characteristics of drug resistance of pathogens in premature infants with ventilator-associated pneumonia(VAP), and explore the therapeutic measures for premature infants with VAP, so as to provide references for clinically reasonable administration of antibacterial agents. **Methods** A total of 54 cases of premature infants diagnosed with VAP in the First Affiliated Hospital of Xiamen University from January 2013 to June 2014 were enrolled in this study. Specimens of respiratory tract secretion were collected, and species identification of pathogens and drug sensitivity test were performed by VITEK 2 Compact system. **Results** A total of 69 strains were isolated. Gram negative bacteria was accounted for 94.20%, and gram positive bacteria was accounted for 5.80%. Four of the most common pathogenic bacteria were Klebsiella pneumoniae (29 strains, 42.03%), Enterobacter aerogenes (12 strains, 17.39%), Pseudomonas aeruginosa (10 strains, 14.49%) and Stenotrophomonas maltophilia (7 strains, 10.14%). The results of antibiotics-sensitivity tests showed that these strains were multi-drug resistant to most commonly used antibiotics, but sensitive to only a few antibiotics. **Conclusion** Gram-negative bacteria are the major pathogens for premature infants with VAP in this hospital. Mixed infection and multidrug resistance are common. Therefore, the rational use of antibiotics according to drug sensitivity tests' results is critical in treating VAP.

Key words: ventilator-associated pneumonia; pathogen; drug resistance

随着早产儿急救医学的不断发展,机械通气已成为抢救危重早产儿生命的重要辅助手段,而因机械通气引起的呼吸机相关性肺炎(VAP)亦是影响早产儿抢救的棘手问题。笔者对厦门大学附属第一医院 2013 年 1 月至 2014 年 6 月 54 例 VAP 早产儿进行病原菌分布及药敏情况的分析,以期临床诊治提供实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1 月至 2014 年 6 月厦门大学附属第一医院早产儿病房收治的 54 例 VAP 患儿,男 35 例,女 19 例;其中胎龄小于 28 周的患儿 5 例,28~<32 周患儿 7 例,32~37 周患儿 42 例。VAP 诊断标准^[1]:(1)使用机械通气不少于 48 h;(2)胸部 X 线片显示肺部有浸润阴影或出现新的浸润阴影;(3)体检肺部可闻及湿罗音;(4)同时具备下列条件之一:白细胞计数大于 $10 \times 10^{11}/L$ 或小于 $4.0 \times 10^9/L$,体温大于 37.5 $^{\circ}C$,呼吸道有脓性分泌物,从支气管分泌物中分离出病原菌。

1.2 方法

1.2.1 标本采集与细菌培养 用一次性吸痰管从下呼吸道采集分泌物标本,或在更换气管导管及拔管时从气管内导管端采集分泌物,置于无菌管中及时送检,作细菌培养,所有步骤严格进行无菌操作。操作严格按照《全国临床检验操作规程》进行。细菌培养采用哥伦比亚血平板和巧克力平板。

1.2.2 细菌鉴定及药敏试验 细菌鉴定及药敏试验采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统,结果经 AES 专家系统校正。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213、肺炎链球菌 ATCC49619、流感嗜血杆菌 ATCC49247。

1.2.3 超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的筛选和表型确证试验 筛选采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统,当临床分离出的大肠埃希菌或克雷伯菌属细菌对头孢泊肟、头孢噻肟、头孢他啶、头孢曲松、氨曲南的最小抑菌浓度(MIC)值大于

* 基金项目:福建省自然科学基金计划项目(2013D002,2014D004)。 作者简介:亓然,男,研究员,主要从事微生物耐药性研究。 Δ 通讯作者,E-mail:songxyxm@hotmail.com。

或等于 2 μg/mL 时为可疑菌株。表型确证试验根据美国临床实验室标准化协会 (CLSI) M100-S42 推荐, 采用纸片扩散法, 头孢他啶和头孢他啶/克拉维酸、头孢噻肟和头孢噻肟/克拉维酸纸片, 两组药敏纸片中的任何一组加克拉维酸后抑菌环直径比不加者增大 5 mm 或超过 5 mm, 则可确证该菌产 ESBLs。

1.3 统计学处理 使用 WHONET5.6 软件进行药物敏感性结果的统计分析, 纳入首次分离株, 剔除重复菌株。

2 结 果

2.1 病原菌分布特点 54 例 VAP 感染早产患儿下呼吸道分泌物标本中共分离出病原菌 69 株, 其中革兰阴性菌 65 株 (94.20%) 占绝大多数, 革兰阳性菌仅有 4 株 (5.80%)。最常分离的 4 种细菌分别是肺炎克雷伯菌 (29 株, 42.03%)、产气肠杆菌 (12 株, 17.39%)、铜绿假单胞菌 (10 株, 14.49%) 和嗜麦芽芽孢单胞菌 (7 株, 10.14%)。病原菌分布, 见表 1。其中, 6 例患儿分离到 2 种细菌, 4 例患儿分离到 3 种细菌, 这 10 例患儿使用呼吸机均超过 96 h。

表 1 检出病原菌分布及构成比 (%)

细菌名称	菌株数 (n)	构成比 (%)
革兰阴性菌		
肺炎克雷伯菌	29	42.03
产气肠杆菌	12	17.39
铜绿假单胞菌	10	14.49
嗜麦芽芽孢单胞菌	7	10.14
鲍曼不动杆菌	3	4.35
阴沟杆菌	2	2.90
卡他莫拉氏菌	1	1.50
大肠埃希菌	1	1.50
革兰阳性菌		
屎肠球菌	1	1.50
粪肠球菌	1	1.50
金黄色葡萄球菌	1	1.50
肺炎链球菌	1	1.50
合计	69	100.00

2.2 肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌产 ESBLs 菌株的检出率 分离出的 29 株肺炎克雷伯菌中 21 株 ESBLs 阳性 (72.41%), 分离出的 1 株大肠埃希菌为产 ESBLs 菌株。

2.3 药敏结果 主要革兰阴性菌对阿米卡星、喹诺酮类抗菌药物 (左旋氧氟沙星、环丙沙星) 敏感率较高, 另外, 产气肠杆菌和嗜麦芽芽孢单胞菌对复方磺胺甲噁唑完全敏感; 而对传统的头孢菌素类和青霉素类抗菌药物产生了高度耐药, 如氨苄西林、哌拉西林、头孢唑林、头孢呋辛、头孢他啶和头孢曲松的耐药率都达到 90% 以上; 虽然对添加 β-内酰胺酶抑制剂的抗菌药物, 如阿莫西林/克拉维酸、头孢哌酮/舒巴坦、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率较上述抗菌药物有所下降, 但肺炎克雷伯菌和产气肠杆菌对添加克拉维酸和舒巴坦抑制剂的抗菌药物也产生了很高的耐药率, 为 66.7%、100.0%; 碳青霉烯类抗菌药物中, 美罗培南和亚胺培南的敏感率相对较高, 厄他培南的耐药率高达 80% 以上, 产气肠杆菌对亚胺培南的耐药率也有 60% 以上。主要病原菌药敏结果分析, 见表 2 (见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

3 讨 论

早产儿由于免疫系统尚未发育成熟, 免疫功能低下, 易发生医院内获得性感染。机械性通气的有创操作容易破坏早产儿的会厌屏障及气管黏膜屏障, 更易将外界及咽喉部的微生物带入下呼吸道^[2]。同时, 气管插管本身可以抑制吞咽活动, 易使胃肠内容物反流和吸入, 有利于微生物的滋生。此外, 细菌易在插入导管表面黏附定植, 形成生物被膜, 机械通气时随着气体和液体流动, 可导致细菌脱落进入下呼吸道引发感染。

本次监测结果显示, VAP 病原菌的构成与国内外相关文献报道一致^[3-4], 以革兰阴性菌为主, 占 94.20%。革兰阴性菌分离率高可能与广谱抗菌药物的使用, 杀灭呼吸道正常菌群及早产儿免疫功能差, 导致革兰阴性菌及条件致病菌感染有关^[5]。有研究显示, 早产儿 VAP 发生率高, 与长时间的气管内插管有关。机械通气每增加 1 d, 发生 VAP 的危险性增加 1.0%~3.0%^[6]。本次研究显示, 10 例混合感染的早产患儿机械通气时间均大于 96 h。可能因为长时间机械性通气, 增加呼吸机相关性肺损伤, 使肺部易受致病菌感染, 加重肺部损伤, 形成恶性循环^[7]。因此, 缩短机械性通气时间可以降低 VAP 的发生率。

随着 β-内酰胺类抗菌药物的广泛应用, 临床上产 ESBLs 的肺炎克雷伯菌和大肠杆菌菌株日益增多。这些产酶菌株在同种和异种之间可以经过接合、转化和转移, 使敏感菌变成耐药菌, 造成院内严重的交叉感染。本研究检测结果显示, 肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株的阳性率达到 72.41%, 与刘汉楚等^[8]报道一致。克拉维酸、舒巴坦等 β-内酰胺酶抑制剂能抑制 ESBLs, 因而对 ESBLs 阳性菌株具有较高的敏感性, 但本研究表明, 肺炎克雷伯菌对头孢哌酮/舒巴坦、氨苄西林/舒巴坦和阿莫西林/克拉维酸的耐药率分别达到了 100.0%、93.1% 和 82.8%, 提示舒巴坦和克拉维酸对 ESBLs 的抑制能力在下降。

药敏结果显示主要病原菌均呈多重耐药现象。对传统的头孢菌素、青霉素类、大环内酯类等抗菌药物表现出了广泛耐药性, 这与 β-内酰胺酶抑制剂和碳青霉烯类抗菌药物的广泛使用有着密切关系。总敏感率较高的前几位药物为阿米卡星 (100.0%)、左旋氧氟沙星 (100.0%)、环丙沙星 (80.4%)、美罗培南 (76.9%)、复方磺胺甲噁唑 (75.5%)。左旋氧氟沙星和环丙沙星属于喹诺酮类抗菌药物, 可引起幼龄动物软骨关节损坏, 不能用于早产儿。阿米卡星属于氨基糖苷类抗菌药物, 其肾毒性和耳毒性在氨基糖苷类中相对较低, 但对早产儿仍要慎用。复方磺胺甲噁唑属于磺胺类抗菌药物, 对早产儿有肾脏损伤, 易出现血尿、结晶尿及肾衰竭, 抑制骨髓的造血功能。目前, 在儿科磺胺类抗菌药物已经很少应用。美罗培南属于碳青霉烯类的广谱抗菌药物, 能够降解细菌产生的 β-内酰胺酶, 对于大多数病原菌具有明显抗菌作用, 不良反应相对较少。有研究甚至发现, 单用美罗培南治疗 VAP 可以降低患者病死率^[9]。因此, 可以作为临床上早产儿 VAP 经验性用药的首选。

综上所述, VAP 患儿的病原菌以革兰阴性菌中的肺炎克雷伯菌为主, 并伴有混合感染, 多数细菌呈多重耐药, 故应加强多重耐药菌监测。在治疗方面应根据培养及药敏结果, 有针对性地选择抗菌药物, 在治疗初期可以选择体外活性较好的抗菌药物作为经验性用药, 严重感染时可以根据本院病原菌分布及药物敏感趋势选择合适的抗菌药物联合应用, 并及时根据药物敏感试验结果调整用药。

本研究还显示,与 HSP 缓解组比较,HSP 发作组患儿 EPL 和 Ly30 上升($P < 0.05$),提示 HSP 患儿抗凝作用减弱,可能与凝血因子消耗有关。HSP 患儿广泛的微血管内皮损伤,释放大量的组织血小板凝血致活酶,凝血酶能与血栓调节蛋白(TM)结合成 1:1 的复合物,引起凝血酶大分子特异性改变,进而将蛋白 C(PC)大量激活成活化蛋白 C(APC),APC 与活化的凝血因子 V(FVa)及活化的凝血因子 VIII(FVIIIa)产生蛋白溶解性降解,进而发挥其抗凝作用,造成 PC 的大量消耗。此外,APC 能促进纤维蛋白溶解,有利于血栓形成部位的血管疏通^[9]。临床研究报道,PC 缺陷患者有明显的血栓形成倾向,常以皮肤爆发性紫癜为体征,表现为皮下微血管内凝血现象,用浓缩 PC 制剂可得到有效治疗^[10]。HSP 患者体内因子 VIII 和凝血因子 VIII(FVIII)是下降的,因子 VIII 在 Ca^{2+} 和磷脂的参与下促进因子 X 活化,在形成内源性凝血活酶过程中被消耗而减少,而 FVIII 随病情变化而变化,在发病后期 FVIII 随着受损的血管内皮细胞的逐渐修复也趋于正常^[11]。有研究表明,HSP 病程中组织因子途径抑制物(TFPI)水平降低^[12],凝血因子 VII(FVII)与组织因子(TF)结合激活 FX 与凝血因子 IX(FIX),促进外源性凝血过程。TFPI 主要在小血管的内皮细胞合成,通常 TFPI 的增减与 TF 有关,当 TF 过度表达时,TFPI 也可反馈性增加,但当 TF 增加的幅度超过 TFPI,使 TF/TFPI 比值增高时,TFPI 水平呈现相对性降低。在血栓形成后期,TFPI 因过度消耗而致其抗原绝对值减低。由此可见,HSP 患儿因凝血因子消耗导致抗凝作用减弱。

综上所述,通过对发作期和缓解期 HSP 患儿 TEG 的研究,发现在 HSP 的病理过程中,由于血管内皮损伤、血流动力学及血液成分等的改变,患儿体内止血系统发生异常,凝血、抗凝血及血液纤溶间的动态平衡失调,即凝血功能亢进,抗凝血功能下降,纤溶激活代偿不显著。这表明 HSP 存在一种血栓形成前期的亚临床状态,即高凝状态,并随着病情而变化。动态监测患儿上述指标的变化,对于监测病情变化,指导早期抗凝药物的应用,减低对 HSP 患儿的伤害,以及估计预后都有重要的价值。

参考文献

[1] 李洪娟,王新良. 过敏性紫癜凝血活性分子标志物研究进展[J].

(上接第 3394 页)

参考文献

[1] 中华医学呼吸病学会. 医院获得性肺炎诊断和治疗指南(草案)[J]. 中华结核和呼吸杂志,1999,22(4):201-208.
 [2] 巨容,蒋燕,汪瑾,等. 新生儿呼吸机相关性肺炎病原菌分析[J]. 泸州医学院学报,2014,37(2):198-201.
 [3] Chastre J, Luyt CE, Trouillet JL, et al. New diagnostic and prognostic markers of ventilator-associated pneumonia[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2006, 12(5):446-451.
 [4] 邹友富,邓春. 新生儿呼吸机相关性肺炎危险因素及病原菌状况分析[J]. 重庆医科大学学报,2010,35(10):1550-1555.
 [5] 钟巧,高晓玲,王晨虹,等. 母婴同室新生儿医院内获得性肺炎临床研究[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(19):2548-2550.
 [6] Minei JP, Nathens AB, West M, et al. Inflammation and the Host Response to injury, a Large-Scale Collaborative Project: patient-oriented research core-standard operating procedures for clinical

实用儿科临床杂志,2007,22(9):708-710.

[2] Chen A, Theruya J. Global hemostasis testing thromboelastography: old technology, new applications[J]. *Clin Lab Med*, 2009, 29(2):391-407.
 [3] Narchi H. Risk of long term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schönlein purpura with normal or minimal urinary findings: a systematic review[J]. *Arch Dis Child*, 2005, 90(9):916-920.
 [4] Jolanta M, Malyszko JS, Szymon B, et al. Adiponectin is related to CD146, a novel marker of endothelial cell activation/injury in chronic renal failure and peritoneally dialyzed patients[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(9):4620-4627.
 [5] Holmén C, Elsheikh E, Stenvinkel P, et al. Circulating inflammatory endothelial cells contribute to endothelial progenitor cell dysfunction in patients with vasculitis and kidney involvement[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(10):3110-3120.
 [6] 储靖,陈宁,杨程. 血栓弹力图检测 5 种不同液体用于术前预扩容对凝血功能的影响[J]. 河北医学,2013,19(9):1348-1349.
 [7] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2011:696.
 [8] Blann AD, Lip GY, Beevers DG, et al. Soluble P-selection in atherosclerosis: a comparison with endothelial cell and platelet markers[J]. *Thromb Haemost*, 1997, 77(6):1077-1080.
 [9] Prandota J, Pankow-Prandota L, Kotecki L. Impaired activation of the fibrinolytic system in children with Henoch-Schönlein purpura; beneficial effect of hydrocortisone plus sigma-aminocaproic acid therapy on disappearance rate of cutaneous vasculitis and fibrinolysis[J]. *Am J Ther*, 2001, 8(1):11-19.
 [10] 张之南,杨天枢,郝玉书. 血液病学:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:1484-1486.
 [11] Shimomura N, Kawai K, Watanabe S, et al. Adult Henoch-Schönlein purpura with severe abdominal pain treated with dapsone and factor X III concentrate[J]. *J Dermatology*, 2005, 32(2):124-127.
 [12] Broze GJ Jr. Tissue factor pathway inhibitor and the current concept of blood coagulation[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1995, 6(Suppl 4):S7-13.

(收稿日期:2015-07-08)

care. II. Guidelines for prevention, diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia(VAP) in the trauma patient[J]. *J Trauma*, 2006, 60(5):1106-1113.
 [7] 何素玉,刘靖,牛慧军. 早产儿呼吸机相关性肺炎 35 例[J]. 实用儿科临床杂志,2008,23(13):1045-1046.
 [8] 刘汉楚,鲍连生,卢珊荣,等. 新生儿呼吸机相关性肺炎的病原菌培养及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(16):3517-3520.
 [9] Santos SS, Machado FR, Kiffer CR, et al. Treatment of nosocomial pneumonia: an experience with meropenem[J]. *Braz J Infect Dis*, 2001; 5(3):124-129.

(收稿日期:2015-06-21)

