

· 论 著 ·

慢性阻塞性肺疾病患者口咽部菌群分析与菌群分布紊乱的防治措施

刘富新, 杨荣生

(湖北中医药大学附属襄阳医院, 湖北襄阳 441000)

摘要:目的 观察轻度慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者口咽部菌群分布状态,探讨 COPD 患者口咽部正常菌群分布紊乱与病情发展的相关性及防治措施。方法 对在体检中心进行健康体检、经肺功能检查的轻度 COPD 患者 124 例进行咽拭子细菌培养,并选择健康者 100 例同时做咽拭子细菌培养作为对照组,对比观察口咽部细菌分布状态。结果 轻度 COPD 患者咽拭子培养中主要致病菌和(或)条件致病菌检出种类和检出率较健康者明显增加,轻度 COPD 患者同时检出非口咽正常菌大于或等于 3 株者占 29.0%(36/124),明显高于健康者(8.0%,8/100),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 COPD 患者由于免疫和(或)抽烟等不良生活习惯的因素,易使机体正常菌群分布紊乱、感染而使病情发展,监测口咽部菌群分布状态,对正常菌群分布紊乱者积极采取防治措施,对预防感染及轻度 COPD 的进一步发展和加重具有临床实用意义。

关键词:肺疾病,慢性阻塞性; 口咽; 菌群分布; 防治措施

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)02-0178-03

The prevention and control measures of oropharyngeal flora distribution disorder in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Liu Fuxin, Yang Rongsheng

(Xiangyang Hospital Affiliated to Hubei Traditional Chinese Medical University, Xiangyang, Hubei 441000, China)

Abstract: Objective To observe the mild chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients' oropharyngeal flora distribution state, discuss the illness development and prevention measure of COPD patients with oropharyngeal flora disorder. **Methods** 124 cases of mild COPD patients from the medical center were enrolled in the study to do bacterial culture of swabs, and 100 cases of healthy subjects were recruited at the same time to do bacterial culture of swabs as control group. The oropharyngeal bacteria distribution state was observed. **Results** The number of species and detection rates of main pathogenic bacteria and conditional pathogenic bacteria in COPD patients was higher than healthy subjects. In mild COPD patients, the patients with abnormal oropharyngeal bacteria isolates ≥ 3 , accounted for 29.0%(36/124) which was significantly higher than that in control group(8.0%,8/100) and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Because of immune factors and bad living habits such as smoking, which could lead to the disorder of body's normal flora, infection and make the illness developed. Monitoring of oropharyngeal flora distribution state, and taking active measures to prevent and control it had clinical significance in the prevention of infection and the development of mild COPD.

Key words: pulmonary disease, chronic obstructive; oropharynx; bacterial flora distribution; prevention and control measures

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是中老年人群常见病,早期或轻度(I级)患者症状并不显著,患者并未意识到肺功能是异常的,常因感染使病情加重,出现咳嗽、咳痰、胸闷、气短、气喘、呼吸困难等炎症和缺氧症状,进而累及多器官、组织细胞受损,甚至危及生命^[1]。本研究旨在观察无症状轻度 COPD 患者口咽部菌群分布状态,以便早期预防感染,控制病变发展。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 10 月至 2014 年 3 月在本院健康体检中心进行体检的 1 672 名机关在职和离退休干部,将其口中经肺功能检查为轻度 COPD 患者 124 例作为观察组,其中男 86 例,女 38 例;年龄 53~78 岁,平均(62.7±8.3)岁,且近期未使用过抗菌药物;选择同期在体检中心健康体检者 100 例作为对照组。两组研究对象年龄、性别比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 仪器与试剂 上海力申科学仪器有限公司二氧化碳培养箱、普通培养箱、血琼脂、生化微量鉴定管、药敏纸片(由杭州天和微生物试剂有限公司生产)等。

1.3 方法 嘱受试者用无菌生理盐水漱口后,由体检中心医

生用无菌生理盐水棉拭子于受试者口咽喉部采集标本后立即送检,1 h 内分别接种于血平板和巧克力平板上,置于 35℃ 普通培养箱和二氧化碳培养箱中培养 18~24 h 观察结果,连续观察 3 d,挑优势生长的菌落进行革兰染色、分离鉴定,致病菌做药敏试验。

1.4 质控菌株 大肠埃希菌 ACC25922、ATCC35218,金黄色葡萄球菌 ATCC25923,肺炎链球菌 ATCC49619,肠球菌 ATCC29212 和铜绿假单胞菌 ATCC27853 均购自湖北省临床检验中心。

1.5 细菌鉴定 细菌鉴定严格按《全国临床检验操作规程》(3 版)、中华人民共和国原卫生部医政司 1997 年 1 月的规定进行操作并参加湖北省临床检验中心开展的室内质评活动,细菌均鉴定到种的水平。

1.6 统计学处理 用实验室信息管理系统(LIS)统计出咽拭子细菌培养结果,采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,构成比或率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

轻度 COPD 患者口咽部主要致病菌和(或)条件致病菌菌

株构成比明显高于健康者,且轻度 COPD 患者同时检出非口咽正常菌大于或等于 3 株者占 29.0%,明显高于健康者(8.0%),其中轻度 COPD 患者咽拭子培养主要致病菌和(或)条件致病菌检出率居前 3 位者分别为凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌,数量小于 3 例的细菌有 β 溶血链球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、黏质沙雷菌、产酸克雷伯菌、臭鼻克雷伯菌、弗劳地枸橼酸杆菌、异型枸橼酸杆菌等,均高于健康者。见表 1、2。

表 1 观察组与对照组咽拭子培养主要病原菌检出率比较[n(%)]

病原菌名称	观察组(n=124)	对照组(n=100)
金黄色葡萄球菌	28(22.6)	6(6.0)*
肺炎链球菌	22(17.7)	3(3.0)*
肺炎克雷伯菌	27(21.8)	8(8.0)*
铜绿假单胞菌	15(12.1)	3(3.0)*
大肠埃希菌	33(26.6)	4(4.0)*
鲍曼不动杆菌	21(16.9)	9(9.0)*
凝固酶阴性葡萄球菌	35(28.2)	5(5.0)*
流感嗜血杆菌	6(4.8)	1(1.0)*
阴沟肠杆菌	11(8.9)	1(1.0)*
产气肠杆菌	20(16.1)	3(3.0)*
肠球菌	15(12.1)	3(3.0)*
奇异/普通变形杆菌	12(9.7)	1(1.0)*
白色念珠菌	13(10.5)	2(2.0)*
其他	34(27.4)	6(6.0)*

*: P<0.05,与观察组比较。

表 2 观察组与对照组咽拭子培养非口咽正常菌株数量分布比较[n(%)]

组别	n	≥3 株	<3 株
观察组	124	36(29.0)	88(71.0)
对照组	100	8(8.0)*	92(92.0)
合计	224	44(19.6)	180(80.4)

*: P<0.05,与观察组比较。

3 讨论

健康人口咽部寄居着甲、丙链球菌,奈瑟菌,棒状杆菌等一定种类的微生物称为正常菌群,其在宿主及外环境影响下在菌群种类和数量上保持一定动态平衡。正常菌群对保护机体生态平衡具有重要作用,口咽部正常菌群本身就是机体的一道天然屏障,一旦菌群正常生态结构被破坏可导致菌群失调,可引起呼吸道感染甚至死亡^[2]。本次咽拭子培养结果显示,轻度 COPD 患者口咽部菌群分布紊乱,致病菌、条件致病菌株增多,且细菌数量和种类也多而复杂,且同时检出非口咽正常菌大于或等于 3 株者占 29.0%,明显高于健康者(8.0%),且多达 15.0%以上主要病原菌株是金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌等。表明 COPD 患者口咽部菌群紊乱状态明显较健康者严重。有研究表明,细菌感染引起 COPD 急性加重期(AECOPD)的机制有“阈值假说”,即气道内存在一定负荷量的细菌定植,同样有一个引起 AECOPD 的细菌负荷量阈值,当细菌负荷量超过阈值时就会产生足够严重的炎性反

应,宿主局部炎症反应与细菌负荷量增加呈正比^[3]。而反复细菌感染可激活炎症细胞释放多种炎症介质,炎症介质在气道炎症形成中具有重要作用,感染严重程度直接影响患者预后^[4]。分析和控制可能引起机体菌群紊乱的因素,对 COPD 患者具有积极意义。

COPD 患者以老年人居多,多合并有不同程度其他系统疾病,机体防御和免疫功能均较低,加之某些环境因素和个人不良的生活习好(如抽烟等)及自身免疫功能的紊乱与不规范地使用抗菌药物等均是致口咽部菌群紊乱的重要因素如吸烟可导致 COPD 患者血清炎性细胞因子白介素(IL)-1β 和抗炎性细胞因子 IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)分泌失衡^[5],进而影响机体微生态环境,吸烟后咽部菌群的微生态发生了改变,某些致病菌定植,正常菌群数量减少,是呼吸道发生感染、炎症的重要诱因^[6]。且 COPD 大多起病缓慢,症状多以间断性咳嗽、咳痰及喘息为主,患者大多能够忍耐未给予足够重视,慢性长期病变使患者免疫功能逐渐减低,使正常菌群通过诱导激活宿主的固有免疫应答反应以达到抑制其他菌群生长的作用降低,进而造成了呼吸系统防御机制的损伤^[7]。同时抗菌药物的滥用,也破坏了正常菌群的生物拮抗和定植抗力,特别是对外界影响较敏感的正常厌氧菌数量减少时需氧菌过度增生,促使外来菌(病原菌)的定植和真菌大量繁殖。在固有菌群的平衡因抗菌药物及外在因素被破坏后加重了菌群紊乱和耐药株的产生,增加 COPD 并发感染的概率和治疗难度^[8]。

针对 COPD 口咽正常菌群紊乱,易诱发感染致病情急性加重的问题,其防治措施:(1)养成良好的生活习惯如戒烟、注意个人卫生、加强健康锻炼、合理膳食等^[9]。(2)根据我国传统医学理念,扶正祛邪,提高人体免疫力;同时应用现代微生物学原理,疾病的发生本质是机体微生态失调,故治疗重点不仅要抑杀病原菌,更应顺应生态系统的自然规律,因势利导,保护人体微生态环境,扶植正常菌群,提高定植能力和生物拮抗力。因此,在选用抗菌药物时应充分考虑到生态系统的结构和功能,尽量保护人体正常微生物群,将药物的抗菌作用与生态系统固有的自净作用统一起来^[10]。(3)规范抗菌药物的使用剂量和疗程,尽可能先进行病原学检查及药敏试验,针对不同个体和不同菌株的药敏结果用药,避免联合使用多种抗菌药物,减少口服广谱抗菌药物;在大量使用抗菌药物的同时应进行菌群检测,注意细菌耐药性变化^[11]。

总之,COPD 是可以早期预防和治愈的,早期控制使疾病加重的各种因素、保护机体正常菌群的生态平衡对早期预防 COPD 具有重要作用。

参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2013,36(4):255-264.
- [2] 李兰娟.感染微生物学[M].北京:人民卫生出版社,2002:248-252.
- [3] Wilkinson TM, Hurst JR, Perera WR, et al. Effect of interactions between lower airway bacterial and rhinoviral infection in exacerbations of COPD[J]. Chest, 2006, 129(2):317-324.
- [4] 何馨,王浩彦,徐秋芬,等.稳定期慢性阻塞性肺疾病气道炎症与系统性炎症关系的研究[J].国际呼吸杂志,2011,31(5):329-333.
- [5] 郑权,田景伦,刘霞,等.吸烟对慢性阻塞性肺病患者血清 IL-1β 和 IL-1Ra 的影响[J].标记免疫分析与临床,2008,15(6):346-348.
- [6] 陈丽萍,周宏,高瑛,等.吸烟对人体呼吸道菌群(下转第 182 页)

3 讨 论

目前,我国各大医院检验科室的主要仪器设备、相应配套试剂及校准物(标准品)大多依赖进口,大大增加了检验项目的检测成本,导致看病的化验费用居高不下,患者医疗成本不断攀升。作者认为,国产仪器及试剂在各项性能指标均能达到相应标准的前提下,应倡导引进各大医院检验科,国产仪器的广泛应用在未来将可能降低检验项目的检测成本。本科目前引进 1 台由重庆市天海公司生产的 UW2000 全自动尿液联合分析工作站,该仪器尿干化学检测采用传统仪器的光反射原理,测定试纸带上的颜色变化,对试纸中央呈色最均匀的部分进行数字分析、得出反射率,通过反射率对干化学成分进行定性;尿液有形成分采用光镜的形态学检测法,在系统控制下,吸入尿液标本到计数池,通过显微装置、摄像系统,能在显示器上得到放大的清晰的镜下图像,每幅图像对应准确的尿液微升数,从而确定每微升的细胞个数。为了保证该检测系统对临床标本检测的可行性,本研究对该仪器的有形成分检测系统和尿液干化学系统的精密度、线性、准确性及携带污染率等进行了评价,对于在性能评价中发现的问题,积极反馈给厂家,以期国产仪器能不断改进,使检测结果更加可靠,与进口仪器具有可比性。

通过对 UW2000 的性能进行评价,作者发现,高值、中值的批内重复性好,RBC 的 CV 分别为 15.6%、6.8%,WBC 的 CV 分别为 16.4%、10.5%,提示高值和中值标本所受影响因素较小,有形成分能在计数池中均匀分布,同时发现当细胞数在低于 100 个/ μL 时批内重复性稍低一些,RBC 的 CV 为 20.3%,WBC 的 CV 为 24.6%,但还是达到了相关性能评价要求,该性能评价要求由天海公司提供。相关研究也表明,在其他型号尿沉渣仪器也存在低值标本批内精密度低于高值和中值标本的情况^[7]。分析低值标本精密度低的原因很可能是由于细胞在液体中密度低,而仪器采集的尿液量仅为 1 μL ,因而每次采到的细胞数变化较大,从而导致低值标本的批内重复性降低;RBC 和 WBC 线性范围较宽,标本无需浓缩和稀释,新鲜尿液混匀后即可进行检测,此外,RBC 和 WBC 携带污染率均小于 2%,该结果提示经仪器自动清洗后,管路系统及计数池几乎无残留细胞存在。进一步对 20 例临床尿液标本进行仪器检测与人工检测的比对分析发现,相关性好,RBC 与 WBC 相关系数分别为 0.992、0.995。干化学检测系统评价结果显示,干化学各个成分批内、批间精密度均符合评价标准;此外,与参加室间质评的 H-500 仪器比较,2 台仪器对干化学项目检测符合率均达到相关要求。

通过对该仪器的性能评价,作者发现目前存在的一些问题,UW2000 在开机后测定前面几份标本时尿液有形成分结果的重复性稍差,待仪器检测约 5 份标本后尿液有形成分结果趋于稳定,本次性能评价精密度是待仪器稳定后所得的数值。此外,作者发现有形成分在细胞计数板中常常并不处于同一层

面,因而检测当前标本聚好焦后,可能下一份标本由于细胞分布的层次不同,需要重新聚焦后计算机显示的图片才会更清晰,因而若仪器能够自动聚焦或通过加速细胞下沉技术使其处于同一液面,对于图像的清晰度方面可能会有更大的提高;同时也发现当尿液标本存在 WBC 聚集或大量黏液丝时 UW2000 容易将黏液丝或细胞聚集为条状者误认为是管型,此外,由于尿液有形成分的计数池容量仅为 1 μL ,而管型在尿液中的数量常常并不是很多,较容易漏检。因此,对于使用该仪器的用户在具有管型形成条件(如干化学蛋白定性为阳性等)的标本^[8]必须进行显微镜检测;作者在对尿液化学成分进行性能评价时发现尿蛋白定性模块对于阴性质控液检测时有时出现弱阳性,已将性能评价中发现的问题向厂家反馈,以期仪器及配套试剂的质量不断改进。

总之,任何自动化尿液分析仪器均不能完全替代显微镜检测^[9]。总体来说,UW2000 自动化程度高,对尿液有形成分和化学成分可以进行同步检测,具有自动混匀功能、检测速度较快,大大减少了工作强度及工作人员对尿液标本的接触;此外,标本无需离心,图像显示清晰、直观,对于仪器不能识别或误判的成分可辅以人工识别,这样较好地解决了其识别准确性问题及仪器误认的细胞形态,避免了对大量样品进行人工涂片;在仪器维护、保养正确的情况下尿液有形成分和化学成分结果较为可靠,具有较高的临床实用价值。

参考文献

- [1] 丛玉隆,马骏龙. 尿液有形成分镜检与自动化检测方法学利弊和互补分析[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(6):609-611.
- [2] 顾可梁. 重视尿液有形成分检查[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(1):1-3.
- [3] 顾可梁. 尿有形成分的识别与检查方法的选择[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(6):572-575.
- [4] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:58-76.
- [5] 王梅,吴燕,夏云. AX-4280 全自动尿液分析仪性能评价[J]. 重庆医学,2012,41(3):262-263.
- [6] 丛玉隆,马骏龙,李云莲,等. 尿沉渣测定四种方法的参考值范围调查[J]. 中华医学检验杂志,1997,20(4):229-231.
- [7] 杨艳丽,任健康. AVE-763 尿沉渣智能分析仪应用性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(8):765-766.
- [8] 罗春丽. 临床检验基础[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2010:187.
- [9] 吴立冬,吴志斌,吴建华. 尿干化学分析与尿沉渣镜检的对比分析[J]. 中国医药指南,2014,12(11):116-117.

(收稿日期:2015-08-21)

(上接第 179 页)

- 的影响[J]. 中国微生态学杂志,2013,25(1):29-30,33.
- [7] 陈森,张红璇,詹伟峰,等. 胸腺肽 $\alpha 1$ 对 AECOPD 患者的免疫调节作用[J]. 临床肺科杂志,2012,17(10):1787-1788.
 - [8] 王平,习翠玲,蒋怡芳,等. 慢性阻塞性肺病合并肺部真菌感染的危险因素研究[J]. 现代预防医学,2012,39(24):6385-6387.
 - [9] 徐忠敏,沈伟珍,徐文静,等. 社区慢性阻塞性肺病患者健康教育

需求调查[J]. 现代预防医学,2008,35(19):3715-3716.

- [10] 梁世廉. 从生态自然观的角度探讨抗生素的应用与细菌耐药性的预防[J]. 临床误诊误治,2008,21(7):66-67.
- [11] 王金凤. 老年慢性阻塞性肺病细菌耐药性和药物敏感性研究[J]. 现代诊断与治疗,2013,24(9):2065-2066.

(收稿日期:2015-08-19)