

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.08.16

· 调查研究 ·

134 例新型冠状病毒肺炎患者的细菌检测结果分析*

杨阳^{1,2}, 张静², 吴秋月², 王长军³, 贾雷立³, 夏欣一^{1,2,4}, 王文兵¹ (1. 江苏大学医学院, 江苏镇江 212000; 2. 东部战区总医院全军检验医学研究所, 南京 210000; 3. 解放军疾病预防控制中心, 北京 100071; 4. 火神山医院检验科, 武汉 430000)

摘要: **目的** 分析新型冠状病毒肺炎合并疑似细菌感染的临床特征与菌群组成情况。**方法** 共计纳入 134 例来自武汉火神山医院新型冠状病毒肺炎患者, 用传统细菌培养法和恒温扩增芯片法检测患者的细菌感染情况, 对细菌检测阳性组和细菌检测阴性组进行临床基本资料的回顾性分析, 对细菌检测阳性组患者的菌群组成情况进行统计。**结果** 134 例新型冠状病毒肺炎患者中, 细菌检测阳性 20 例, 阴性 114 例。细菌检测阳性组的危重症患者比例和接受机械通气治疗的比例略高于阴性组, 且平均住院天数较长, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$); 细菌检测阳性组患者入住 ICU 的比例及死亡率均高于阴性组患者, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。20 例细菌检测阳性患者中有 16 例患者为单菌阳性, 以耐甲氧西林葡萄球菌、流感嗜血杆菌、肺炎克雷伯菌常见; 4 例患者为 2 种细菌阳性, 以肺炎克雷伯菌合并鲍曼不动杆菌常见。**结论** 新型冠状病毒肺炎患者中疑似细菌感染者的死亡率远高于非细菌感染者, 前三位检出菌群为肺炎克雷伯菌、耐甲氧西林葡萄球菌、流感嗜血杆菌。持续监测细菌检出率及菌群分布变化对指导抗菌药物的使用具有重要意义。

关键词: 新型冠状病毒; 细菌感染; 死亡率; 菌群组成

中图分类号: R446.5

文献标志码: A

新型冠状病毒感染后继发细菌感染是一个重要的死亡危险因素。据统计国内外多家医院的合并感染情况的综述报道, 62/806 (8%) 新型冠状病毒肺炎患者在住院期间发生细菌/真菌共感染^[1]。同时有研究报道, 136 例新型冠状病毒肺炎患者中有 44 例患者 (32.4%) 诊断为继发细菌性肺炎^[2]。本研究旨在比较细菌检出阳性组和阴性组的临床特征差异, 统计新型冠状病毒肺炎患者中疑似细菌感染者的菌群组成情况, 为临床抗菌药物的使用包括经验性治疗提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 2 月 11 日至 2020 年 4 月 9 日入住武汉火神山医院 134 例新型冠状病毒肺炎患者, 所有患者均按照国家卫生健康委员会发布的新型冠状病毒肺炎诊断和治疗指南 (第 3 版—第 7 版) 中的诊断标准收治, 并经实时荧光定量 PCR 检测病毒核酸确认。其中, 包括 51 例普通型患者, 65 例重型患者, 18 例危重型患者。

1.2 主要试剂与仪器 3D 全自动血培养仪、Vitek 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统和配

套试剂 (生物梅里埃公司), 呼吸道病原菌核酸检测试剂盒 (批号 20180901)、RtisoChip-A 恒温扩增微流控芯片核酸分析仪 (博奥晶典公司)。

1.3 标本采集 在抗菌药物使用前或停药 1 周后进行标本采集。(1) 痰液标本: 经清水漱口后自呼吸道深部用力咳出的第一口痰, 对于无法自行咳痰的患者可采用诱导法或吸出法, 留取量要求大于 1 mL, 置于带盖的无菌容器中 2 h 内送检, 不能及时送检的标本置 2~8 ℃ 保存不超过 72 h。涂片镜检观察痰液标本质量, 痰标本中鳞状上皮细胞 < 10 个/低倍视野、白细胞 > 25 个/低倍视野为合格标本。(2) 全血标本: 采集后注入厌氧/需氧血培养瓶内, 立即送检。(3) 咽拭子: 用无菌棉拭子越过舌根擦拭咽后壁或腭弓两侧, 取出后插入无菌试管, 2 h 内送检。(4) 肺泡灌洗液: 通过纤维支气管镜采集, 留取 3 mL 以上的标本, 2 h 内送检。(5) 肺组织标本: 用外科手术方法取适量标本, 2 h 内送检。

1.4 方法 采用 2 种微生物检测方法, 包括传统的细菌培养法和恒温扩增芯片法, 其中细菌培养法 29 例, 基因芯片法 104 例, 细菌培养法加基因芯片法 1 例。

* 基金项目: 国家卫健委重点实验室开放课题 (YJJC201802); 江苏省人口学会开放课题 (JSPA2019020)。

作者简介: 杨阳, 1996 年生, 女, 硕士研究生, 临床检验诊断学专业。

通信作者: 王文兵, E-mail: wenbingwang@mail.ujc.edu.cn; 夏欣一, E-mail: xinyixia@nju.edu.cn。

1.4.1 细菌培养 检测标本类型包括痰液、全血。痰标本接种于血琼脂平板、巧克力琼脂平板、麦康凯琼脂平板,置于 5%CO₂、35℃培养 24 h,若无细菌生长,应继续培养 24 h。厌氧/需氧血培养瓶置于 3D 全自动血培养仪进行培养,阳性报警瓶卸载后需进行涂片染色与转种。在培养后的细菌平板中挑取单菌落制备为 0.5 麦氏浓度单位的菌悬液,使用 Vitek 2 Compact 全自动微生物鉴定与药敏分析仪及配套试剂进行鉴定与药敏分析。

1.4.2 恒温扩增芯片法 检测标本类型包括咽拭子、痰液、灌洗液及肺组织。采用恒温扩增技术对病原菌特异性靶基因进行扩增,1.5~2.5 h 内完成对呼吸道常见 13 种病原菌(肺炎链球菌、耐甲氧西林葡萄球菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、肺炎支原体、肺炎衣原体、流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、结核分枝杆菌复合群、嗜肺军团菌)的检测。按试剂盒说明书进行操作及结果判读。

1.5 统计学分析 用 SPSS 19.0 软件进行。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,两组间入住 ICU 情况、机械通气方式、临床结局的比较采用卡方检验。所有检验均为双侧,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者临床基本资料 134 例确诊患者中,细菌检测阳性者 20 例,阴性者 114 例。细菌检测阳性组男 9 例,女 11 例;阴性组的男、女各 57 例。两组患者的年龄差异无统计学意义(*P*>0.05)。细菌检测阳性组的危重症患者比例和接受机械通气治疗的比例高于阴性组,且平均住院天数较长(*P*>0.05)。细菌检测阳性组患者入住 ICU 的比例高于阴性组患者(*P*<0.05),且阳性组的死亡率达 15.0%,也显著高于阴性组患者(*P*<0.05)。见表 1。

2.2 菌群组成、标本类型 20 例细菌检测阳性患者中,16 例患者均检测到 1 种细菌,包括 4 例耐甲氧西林葡萄球菌、4 例流感嗜血杆菌、3 例肺炎克雷伯菌、2 例鲍曼不动杆菌、2 例嗜麦芽窄食单胞菌及 1 例金黄色葡萄球菌。4 例患者检测到 2 种细菌,包括 2 例肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌、1 例肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌、1 例耐甲氧西林葡萄球菌和大肠埃希菌。以上 20 例检出者的标本类型与检测方法见表 2。

表 1 细菌检测阳性者与阴性者的临床基础资料

项目	细菌检测 阳性组 (<i>n</i> = 20)	细菌检测 阴性组 (<i>n</i> = 114)	<i>P</i> 值
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	64.9±14.3	62.2±13.9	0.43
临床分型[<i>n</i> (%)]			0.25
普通型	7(35.0)	44(38.6)	
重型	8(40.0)	57(50.0)	
危重型	5(25.0)	13(11.4)	
入住 ICU[<i>n</i> (%)]	5(25.0)	8(7.0)	<0.05
机械通气[<i>n</i> (%)]	5(25.0)	23(20.2)	0.87
有创	2(10.0)	10(8.8)	
无创	3(15.0)	13(11.4)	
住院天数($\bar{x}\pm s$,d)	21.0±14.4	19.8±12.7	0.71
临床结局[<i>n</i> (%)]			<0.05
治愈	17(85.0)	113(99.1)	
死亡	3(15.0)	1(0.9)	
标本类型[<i>n</i> (%)]			
咽拭子	14(70.0)	80(70.1)	
痰液	4(20.0)	27(23.7)	
全血	1(5.0)	4(3.5)	
咽拭子+痰液	0	2(1.8)	
痰液+全血	0	1(0.9)	
痰液+灌洗液+肺组织	1(5.0)	0	
检出方法[<i>n</i> (%)]			
基因芯片	17(85.0)	87(76.3)	
细菌培养	3(15.0)	26(22.8)	
基因芯片+细菌培养	0	1(0.9)	

表 2 菌群组成、标本类型及检测方法

检出细菌	标本类型(<i>n</i>)	检测方法
耐甲氧西林葡萄球菌	咽拭子(4)	基因芯片
流感嗜血杆菌	咽拭子(4)	基因芯片
肺炎克雷伯菌	全血(1)	细菌培养
	咽拭子(1)	基因芯片
	痰液(1)	细菌培养
鲍曼不动杆菌	咽拭子(1)	基因芯片
	痰液(1)	细菌培养
嗜麦芽窄食单胞菌	咽拭子(1)	基因芯片
	痰液(1)	基因芯片
金黄色葡萄球菌	痰液(1)	基因芯片
肺炎克雷伯菌+鲍曼不动杆菌	咽拭子(1)	基因芯片
	痰液+灌洗液+肺组织(1)	基因芯片
肺炎克雷伯菌+大肠埃希菌	咽拭子(1)	基因芯片
耐甲氧西林葡萄球菌+大肠埃希菌	咽拭子(1)	基因芯片

3 讨论

目前研究表明,新型冠状病毒肺炎合并细菌感染的发生率各有差异,统计结果不同主要由于各研究纳入的普通型、重型、危重型患者比例有所差别。危重症患者继发细菌感染比例可达到普通型患者继发细菌感染比例的 3 倍之多^[3],且发生继发性细菌感染患者的死亡率远高于非危重症患者^[4]。本

研究表明,约 15% 的患者存在疑似细菌感染,疑似细菌感染者的 ICU 入住率和病死率显著高于非细菌感染者。总之,新型冠状病毒肺炎合并疑似细菌感染的发生率多数集中在 10%~20%,低于以往的中东呼吸综合征冠状病毒、非典型肺炎病毒等合并细菌感染的发生率^[5-6]。

在菌群分布方面,新型冠状病毒肺炎合并疑似细菌感染位列前三位的菌种依次是肺炎克雷伯菌、耐甲氧西林葡萄球菌及流感嗜血杆菌,与非典型肺炎病毒相比,耐甲氧西林葡萄球菌的感染率有所上升^[7]。尽管临床抗菌药物治疗在新型冠状病毒肺炎患者中较为广泛,但危重患者中疑似细菌感染的发生率及死亡率仍高居不下。一方面,非抗菌药物相关危险因素,包括患者基础疾病情况、糖皮质激素治疗、有创机械通气、留置血管导管、入住重症医学科等,均为引起继发性细菌感染的危险因素。因此,对有上述危险因素的患者应格外注意动态监测和接触保护,对疑似细菌感染者应结合临床症状与实验室指标(包括降钙素原水平)进行综合分析^[8]。另一方面,抗菌药物相关危险因素,包括使用碳青霉烯类、头孢菌素类、喹诺酮类、糖肽类抗菌药物,联合使用 β -内酰胺类抗菌药物与 β -内酰胺酶抑制剂,住院之前的抗菌药物暴露,使用抗菌药物的种类及时间等。第六版诊疗方案明确提出避免盲目或不恰当使用抗菌药物,尤其是联合使用广谱抗菌药物。除此之外,还应考虑抗菌药物副作用与患者基础疾病之间的关系,例如大环内酯类、四环素类和喹诺酮类中的一些药物可以延长心脏 QT 间期,对患有心脏疾病的患者可能会增加其死亡风险,因此,抗菌药物的治疗效果与潜在风险必须仔细权衡。

本研究纳入的样本总量有限,标本多数为咽拭子,这可能低估或高估了新型冠状病毒肺炎患者中疑似细菌感染的发生率,后续仍需多中心大样本研究予以验证。细菌培养法和基因芯片法的检出结果只能说明样本中存在相应细菌,该菌是否为真正致病菌首先需要结合患者的临床指标和临床表现进行综合判断,如白细胞计数、中性粒细胞计数、C 反应蛋白及发热类型等,而病毒感染与细菌感染在

这几项指标上均有不同甚至相反的表现,大大增加了确诊细菌感染的难度。其次,要结合标本类型及菌种类型进行判断,如咽拭子和痰液标本中常见的正常定植菌有甲型链球菌、卡他球菌、表皮葡萄球菌、乳杆菌等,若检出肺炎链球菌、肺炎克雷伯菌、流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌等条件性致病菌且患者有细菌感染的症状,则可进行经验性抗菌药物治疗;而无菌部位如血液、灌洗液、肺组织中若检出细菌则可考虑为致病菌。继续监测细菌检出率及菌群分布变化将为临床抗菌药物的使用提供理论依据,对于提升危重症患者的临床救治率及进一步降低死亡率具有重要意义。

4 参考文献

- [1] Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, *et al.* Bacterial and fungal coinfection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing[J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(9): 2459-2468.
- [2] 韩晶, 史丽霞, 谢祎, 等. 新型冠状病毒肺炎患者继发感染的危险因素分析[J]. 天津医药, 2020, 48(10): 916-919.
- [3] Huang CL, Wang YM, Li XW, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020, 395(10223): 497-506.
- [4] Zhou F, Yu T, Du R, *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study[J]. Lancet, 2020, 395(10229): 1054-1062.
- [5] Arabi YM, Deeb AM, Al-Hameed F, *et al.* Macrolides in critically ill patients with Middle East Respiratory Syndrome[J]. Int J Infect Dis, 2019, 81: 184-190.
- [6] Yap FHY, Gomersall CD, Fung KSC, *et al.* Increase in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition rate and change in pathogen pattern associated with an outbreak of severe acute respiratory syndrome[J]. Clin Infect Dis, 2004, 39(4): 511-516.
- [7] 王慧珠, 赵辉. SARS 患者细菌感染与药敏分析[J]. 中国医学检验杂志, 2003, 4(5): 326-328.
- [8] Cuquemelle E, Soulis F, Villers D, *et al.* Can procalcitonin help identify associated bacterial infection in patients with severe influenza pneumonia? A multicentre study[J]. Intensive Care Med, 2011, 37(5): 796-800.

(收稿日期: 2021-02-08)

(本文编辑: 刘群)