

DOI:10.13350/j.cjpb.221019

• 临床研究 •

新生儿呼吸窘迫综合征机械通气致并发呼吸道感染的菌群特征及其与血清 PCT、CD64 水平的关系

陈余粮*, 郭宗荣, 朱小燕

(宜春市妇幼保健院儿一科, 江西宜春 336000)

【摘要】 **目的** 检测新生儿呼吸窘迫综合征(neonatal respiratory distress syndrome, NRDS)患者机械通气后并发呼吸道感染的菌群特征,并探究其与血清降钙素原(procalcitonin, PCT)和 CD64 指数的相关性。 **方法** 2019年1月-2021年1月宜春市妇幼保健院收治的 NRDS 患儿 118 例,均给予机械通气,根据患儿是否发生呼吸道感染将其分为感染组(27 例)和未感染组(91 例)。采集患儿痰液作细菌培养检查,分析呼吸道菌群特征;检测新生儿痰液中细菌数、丰富度、香农-威纳指数,以及血清 PCT 和 CD64 水平,分析血清 PCT 和 CD64 与丰富度、香农-威纳指数的相关性。 **结果** 118 例 NRDS 患儿中 27 例确诊为呼吸道感染,呼吸道感染发生率为 22.65%。两组患儿在性别、胎龄、出生体质量、入院体质量等基线资料差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);感染组患儿呼吸机使用时间和住院时间与未感染组比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。27 例呼吸道感染患儿分离出病原菌 28 株,以大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、绿脓杆菌多见;28 株病原菌中的 25 株革兰阴性菌对环丙沙星、亚胺培南、哌拉西林、丁胺卡那、头孢他啶、氨苄西林、妥布霉素、阿米卡星和庆大霉素的敏感性为 20.00%~80.00%。27 例感染患儿中插管 < 3 d 组细菌条带丰富度和香农-威纳指数均显著低于插管 ≥ 3 d 组(均 $P < 0.05$),且血清 PCT 与细菌条带丰富度和香农-威纳指数均呈正相关(r 值分别为 0.561 和 0.601,均 $P < 0.05$),CD64 指数与细菌条带丰富度和香农-威纳指数均呈正相关(r 值分别为 0.552 和 0.634,均 $P < 0.05$)。 **结论** NRDS 患儿呼吸道感染率较高,血清 PCT 和 CD64 指数与细菌条带丰富度和香农-威纳指数呈正相关,可用于评估、诊断新生儿呼吸道感染的发生及预后。

【关键词】 呼吸窘迫综合征;呼吸道感染;呼吸道菌群特征;降钙素原;CD64 指数

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)10-1204-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Oct.;17(10):1204-1207.]

Characteristics of respiratory tract microflora and its relationship with serum PCT and CD64 levels in neonatal respiratory distress syndrome complicated with respiratory tract infection

CHEN Yu-liang, GUO Zong-rong, ZHU Xiao-yan (Yichun Maternal and Child Health Hospital, Yichun, Jiangxi 336000, China)*

【Abstract】 **Objective** To discuss the characteristics of respiratory tract microflora and its relationship with serum PCT and CD64 levels in neonatal respiratory distress syndrome (NRDS) complicated with respiratory tract infection after mechanical ventilation. **Methods** 118 children with NRDS admitted to Yichun Maternity and Child Health Hospital from January 2019 to January 2021 were treated with mechanical ventilation. According to whether the children had respiratory tract infection, they were divided into infection group ($n=27$) and non-infected group ($n=91$). Neonatal sputum was collected for bacterial culture examination to analyze the characteristics of respiratory tract flora. The number of target strip bacteria, richness, Shannon-Wiener index, serum PCT and CD64 levels in neonatal sputum were detected, and the correlation between serum PCT and CD64 and bacterial band richness and Shannon-Weiner index was analyzed. **Results**

Among the 118 cases of NRDS, 27 cases were diagnosed as respiratory tract infection, and the incidence of respiratory tract infection was 22.88%. There was no significant difference in sex, gestational age, birth weight and admission weight between the two groups ($P > 0.05$). The ventilator use time and hospitalization stay in the infection group were significantly higher than those in the non-infected group ($P < 0.05$). 28 strains of pathogenic bacteria were isolated from 27 children with respiratory tract infection, most of which were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Among the 28 strains of pathogenic bacteria, there were 25 strains of Gram-negative bacteria. The sensitivity of Gram-negative bacteria to ciprofloxacin, imipenem, piperacillin, amikacin, ceftazidime, ampicillin, tobramycin, amikacin and gentamicin were 20.00%~80.00%. In the 27 cases of infected children, the bacterial band richness and Shannon-Wiener index in < 3 d intubation group were significantly lower than those in ≥ 3 d intubation group ($P < 0.05$). Serum PCT was positively correlated with bacterial band richness and Shannon-Wiener index ($r=0.561$ and 0.601 , $P < 0.05$),

* **【通讯作者(简介)】** 陈余粮(1973-),男,江西高安人,本科,副主任医师。研究方向:普儿内科,儿科重症。E-mail:smxkjgh163@163.com

and CD64 index was positively correlated with bacterial band richness and Shannon-Wiener index in infection group ($r = 0.552$ and $0.634, P < 0.05$). **Conclusion** The incidence of respiratory tract infection in children with NRDS is relative high. Serum PCT and CD64 index are positively correlated with bacterial band richness and Shannon-Wiener finger number, which can be used to evaluate and diagnose the occurrence and prognosis of respiratory tract infections in newborns.

【Key words】 neonatal respiratory distress syndrome; respiratory tract infection; respiratory tract microflora characteristics; procalcitonin; CD64 levels

新生儿呼吸窘迫综合征(neonatal respiratory distress syndrome, NRDS)是指因肺表面活性物质缺乏的小儿呼吸系统疾病,临床表现为呼吸急促,皮肤青紫,甚至呼吸衰竭等,多见于早产儿,且孕周越小,发病率越高^[1-2]。NRDS发病率约为1%,而早产儿合并呼吸窘迫综合征发病率高达5%~10%,严重威胁患儿生命安全^[3]。目前,临床治疗NRDS多采用保温、实时监测、营养供应、纠正酸中毒等综合方案,而机械通气是其主要治疗措施,不仅可纠正酸中毒、改善缺氧,修复中枢神经抑制,而且还可以改善通气功能障碍,降低新生儿残疾和病死率^[4-5]。但因新生儿免疫功能低下、呼吸气管粘附细菌,同时机械通气后呼吸道分泌物易浓缩、干燥,进而诱发呼吸道感染。新生儿呼吸道内菌群复杂、多变,而细菌菌群构成呼吸道内微生态环境,肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌等病原菌和定植菌协同共生,若出现诱发因素,则会造成感染的发生,且随着抗生素的滥用和耐药性事件的增加,全面培养和鉴定呼吸道感染菌群,对治疗方案的制定和调整具有重要意义^[6-7]。细菌培养耗时长、阳性率低,在及时调整治疗方面具有一定局限性,而血液指标具有取样便捷、检测方便及灵敏度高等优势,已成为诊断细菌感染性疾病的重要方式^[8]。呼吸道感染系免疫炎症性疾病,降钙素原(procalcitonin, PCT)和CD64分别与炎症和免疫功能相关^[9-10],但与NRDS合并呼吸感染的关系尚未阐明。本研究拟检测和分析NRDS患儿机械通气后并发呼吸道感染菌群特征,探究与PCT和CD64指数的相关性,为该病的临床诊断和治疗提供依据。

对象与方法

1 病例

2019年1月-2021年1月本院收治的NRDS患儿118例,符合临床诊断标准,即氧合障碍合并残气量降低,肺水肿诱发的呼吸衰竭和胸片提示双肺弥漫性透光度降低。其中男性58例,女性60例;早产儿82例,足月儿36例。所有患儿均符合机械通气指征:①呼吸频繁暂停、呼吸困难和节律不整;②高碳酸血症 $\text{PaCO}_2 > 70 \text{ mmHg}$;③低氧血症,吸入氧浓度超过60%。采用,根据患儿机械通气后是否呼吸道感染(诊断依据包括临床症状和痰液培养结果)将其分成感染组(27例)和未感染组(91例)。

纳入标准:所有患儿均符合NRDS诊断标准和上机指征;病例资料齐全;首次应用机械通气;患儿家属知情,同意参与本研究。排除标准:出生后患有呼吸道感染,即上机前存在感染情况;先天性畸形、心脏病、肺发育不良者;免疫功能缺陷、宫内感染者;母体孕期有抽烟、喝酒或吸毒史者;不配合者。本研究获医院伦理委员会审查批准。

2 方法

2.1 机械通气 使用机械通气的具体模式为同步间歇指令通气。参数:呼吸频率33~60次/min,氧浓度0.32~0.65;吸气峰压17~23 cm H₂O,呼气末正压5.0~8.0 cm H₂O,吸气时间为0.3~0.45 s。应用涵飞雅培i-STAT300G便携式血气分析仪采集患儿动脉血,监测患儿上机后的血气指标,监测频次为初次上机后1~3 h,逐步调整为1次/d。

2.2 呼吸道病原菌培养及鉴定

2.2.1 痰液标本采集 上机后出现感染症状,如咳嗽、咳痰,气道分泌物增多等的患儿,应用痰液培养采集器的吸痰管在气管插管的深部采集2 ml痰液。若出现痰液粘稠等情况时,可灌入无菌生理盐水1 ml至气管插管处,待患儿血氧饱和度正常时采集痰液。采集的痰液保存在-20℃冰箱。

2.2.2 细菌培养 制备痰液振荡液,接种在流感嗜血杆菌分离平板和哥伦比亚血平板(美国贝克曼库尔特产品)上,于37℃培养36~48 h,应用珠海迪尔DL-96 II细菌测定系统鉴定细菌菌属,并记录痰液菌种和数量。应用K-B纸片扩散法做药敏试验。

2.3 病原菌条带丰富度和香农-威纳指数测定

2.3.1 细菌DNA提取 取患儿痰液标本,于4℃条件下采用细菌微量DNA提取试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司产品)提取细菌DNA(按说明书方法操作),-20℃保存。

2.3.2 荧光定量PCR扩增 试剂静置至室温后,在混悬仪上震荡、混合均匀。将各引物按比例与10%过硫酸铵、40%丙烯酰胺/双丙烯酰胺等试剂混合(16S rDNA通用引物,上海生工公司提供;试剂由美国Sigma公司提供),然后加入孔板。取出封板膜贴至孔板并排尽气泡,将封膜后的孔板放在混匀仪上震荡,制作20 μl体系(DNA原液2.4 μl,预混液10 μl,上、下游

引物各 0.2 μl, ddH₂O 7.2 μl)。将孔板放入 7500 型号定量 PCR 仪上进行扩增。

2.3.3 细菌条带丰富度分析及香农-威纳指数计算
应用 Quantity One 软件分析细菌条带数目,并将条带数目和相似度导入 BIO-DAP 软件,计算香农-威纳指数。

2.4 PCT 和 CD64 检测 分别于上机后 1 周采集患儿空腹静脉血 4 ml,分离血清,采用免疫荧光法测定 PCT 水平,按试剂盒说明操作。另取 100 μl 全血,加入 20 μl CD64-FITC 和 IgG1-FITC,避光 15 min 后加入 Q-PREP 溶血,应用美国 BD FACSCalibur 流式细胞仪测定 CD64 指数(粒细胞 CD64 MFI/淋巴细胞 CD64 MFI)。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 25.0 进行统计学分析。

计数资料用百分比表示,采用 χ^2 检验;计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间两两比较采用 *Lsd-t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;应用 Spearman 分析法分析细菌条带丰富度和香农-威纳指数与血清 PCT 及 CD64 指数的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 基线资料

118 例 NRDS 患儿中 27 例确诊为呼吸道感染,呼吸道感染发生率为 22.88%。两组患儿在性别、胎龄、出生体质量、入院体质量等基线资料差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);感染组患儿呼吸机使用时间和住院时间与未感染组比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)(表 1)。

表 1 两组患儿基线资料比较

Table 1 Comparison of baseline data between two groups of children

组别 Group	例数 Case	性别 Gender		胎龄(周) Gestational age(week)	出生体质量 Birth mass (kg)	入院体质量 Physical quality at the time of admission(kg)	呼吸机使用时间 Time spent on the ventilator(h)	住院时间 Hospital stays (d)
		男	女					
感染组	27	15	12	39.01±0.20	3.32±0.55	3.52±0.70	92.02±9.98	15.83±3.65
未感染组	91	43	48	39.04±0.21	3.29±0.59	3.59±0.69	58.42±10.65	11.64±3.30
<i>t</i> 或 χ^2 值		0.574		0.659	0.235	0.461	14.594	5.654
<i>P</i> 值		0.449		0.511	0.814	0.645	0.000	0.000

2 呼吸道感染菌群特征

27 例呼吸道感染患儿的痰标本中分离出 28 株病原菌,以大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、绿脓杆菌多见。28 株病原菌中的 25 株革兰阴性菌对环丙沙星、亚胺培南、哌拉西林、丁胺卡那、头孢他啶、氨苄西林、妥布霉素、阿米卡星和庆大霉素敏感性为 20.00%~80.00%(表 2 和表 3)。

表 2 呼吸道感染病原菌检出情况

Table 2 Detection results of pathogenic bacteria in respiratory tract infection

病原菌类型 Pathogen type	株数 No. of strain	百分比(%) Percentage
大肠埃希菌	11	39.29
肺炎克雷伯菌	6	21.43
绿脓杆菌	5	17.86
鲍曼不动杆菌	2	7.14
金黄色葡萄球菌	2	7.14
表皮葡萄球菌	1	3.57
合计 Total	28	100.00

3 细菌条带丰富度和香农-威纳指数

细菌条带丰富度和香农-威纳指数见表 4。27 例感染患儿中,插管 < 3 d 组(11 例)细菌条带丰富度和香农-威纳指数与插管 ≥ 3 d 组(16 例)比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

4 血清 PCT 和 CD64 指数

NRDS 患儿血清 PCT 和 CD64 指数见表 5。3 组间比较患儿血清 PCT 和 CD64 指数差异均无统计学

意义(均 $P < 0.01$);插管 ≥ 3 d 组与插管 < 3 d 组和未感染组比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);插管 < 3 d 组与未感染组差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 25 株革兰阴性菌药敏试验结果

Table 3 Results of drug sensitivity of gram-negative bacteria

抗生素 Antibiotic	敏感菌株数 Sensitive strain	耐药菌株数 Drug-resistant strain	敏感率(%) Sensitive rate
环丙沙星	20	5	80.00
亚胺培南	19	6	76.00
哌拉西林	11	14	44.00
丁胺卡那	10	15	40.00
头孢他啶	10	15	40.00
氨苄西林	5	20	20.00
妥布霉素	5	20	20.00
阿米卡星	6	19	24.00
庆大霉素	8	17	32.00

表 4 NRDS 患儿细菌条带丰富度和香农-威纳指数

Table 4 Band richness and Shannon-Wiener index in the infection group

组别 Group	例数 Case	条带丰富度(条) Band richness	香农-威纳指数 Shannon-Wiener index
插管 < 3 d 组	11	30.23±4.23	2.59±0.31
插管 ≥ 3 d 组	16	40.54±4.03	3.27±0.43
<i>t</i> 值		6.403	4.492
<i>P</i> 值		0.000	0.000

5 血清 PCT 与细菌条带丰富度和香农-威纳指数的相关性

感染组患儿血清 PCT 与细菌条带丰富度和香农-威纳指数呈正相关(r 值分别为 0.561 和 0.601,均 P

<0.01); CD64 指数与条带丰富度和香农-威纳指数呈正相关(r 值分别为 0.552 和 0.634, 均 $P < 0.01$)。

表 5 血清 PCT 和 CD64 指数
Table 5 Comparison of serum PCT and CD64 indexes among different groups

组别 Group	例数 Case	PCT ($\mu\text{g/L}$)	CD64
插管 $<3\text{d}$ 组	11	$0.56 \pm 0.13^{\text{a,b}}$	$4.00 \pm 1.33^{\text{a,b}}$
插管 $\geq 3\text{d}$ 组	16	$0.98 \pm 0.11^*$	$5.84 \pm 1.28^*$
未感染组	91	0.32 ± 0.07	1.48 ± 0.41
t 值		445.078	294.022
P 值		0.000	0.000

注: ^a 与未感染组相比, $P < 0.05$; ^b 与插管 $\geq 3\text{d}$ 组相比, $P < 0.05$ 。

讨论

新生儿肺部气道阻力高,发育不完善,以及储备功能弱,若存在早产、宫内窘迫、糖尿病和出生窒息等因素,将会降低机体肺表面活性物质的合成和分泌水平,诱发 NRDS^[11]。NRDS 患儿临床表现为呻吟、发绀、吸气和呼吸困难等,且新生儿机体存在二氧化碳潴留和缺氧、器官代谢紊乱等病理特征,而机械通气则可快速改善患儿缺氧症状,纠正机体酸碱中毒和缺氧情况,因而对 NRDS 患儿及早行机械通气,可预防或减少新生儿残疾及死亡的发生^[12]。呼吸道感染是临床机械通气失败的因素之一,亦是新生儿死亡的重要因素^[13-14],且呼吸道中细菌具有复杂性,病原菌和定植菌存在共生、制约或相互转化的关系,同时气管插管本身是有创操作,而新生儿免疫机能低下、气管材料易黏附细菌等,可增加患儿呼吸道感染几率,若可全面、系统检测和鉴定呼吸道病原菌,对疾病治疗和方案调整等具有重要意义。

本组 118 例 NRDS 患儿机械通气后,有 27 例出现呼吸道感染,低于徐正平等^[15]报道的 64.0%,可能与样本量、治疗技术和防护措施有关。27 例感染患儿中插管 $<3\text{d}$ 组细菌条带丰富度和香农-威纳指数均显著低于插管 $\geq 3\text{d}$ 组,而插管 $\geq 3\text{d}$ 组患儿血清 PCT 和 CD64 指数显著高于插管 $<3\text{d}$ 组和未感染组,插管 $<3\text{d}$ 组显著高于未感染组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。进一步比较分析显示,感染组患儿血清 PCT 与细菌条带丰富度和香农-威纳指数呈正相关,CD64 指数与细菌条带丰富度和香农-威纳指数呈正相关($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示细菌条带丰富度和香农-威纳指数均可反映细菌富集程度和菌群多样性,而血液指标 PCT 和 CD64 指数可预测细菌多样性情况。CD64 指数是中性粒细胞膜表面的因子,正常情况下 CD64 指数呈现低表达,而当机体发生感染时,在脂多糖和粒细胞集落刺激因子刺激下快速升高,且可持续 36 h,是机体感染程度的重要反应指标。PCT 是无活性糖蛋白,主

要作为全身感染反应的标志物,正常情况下由甲状腺细胞合成、分泌,在婴幼儿和成年人中极微表达。当出现全身感染时,血清 PCT 浓度急剧上升,且可持续 1~2 d。PCT 和 CD64 检测均可应用于呼吸道感染的预测、诊断。

本院收治的 NRDS 患儿中呼吸道感染率较高,感染病原菌主要为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和绿脓杆菌。血清 PCT 和 CD64 指数与细菌条带丰富度和香农-威纳指数呈正相关,可应用于评估、诊断感染的发生及预后。临床上可根据 NRDS 患儿痰液病原菌检出情况及血清 PCT 和 CD64 指数作出诊断并及时给予治疗。

【参考文献】

- [1] Sakonidou S, Dhaliwal J. The management of neonatal respiratory distress syndrome in preterm infants (European Consensus Guidelines-2013 update)[J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2015, 100(5):257-259.
- [2] Li Y, Zhang C, Zhang D. Cesarean section and the risk of neonatal respiratory distress syndrome: a meta-analysis[J]. Arch Gynecol Obstet, 2019, 300(3):503-517.
- [3] 胥焕, 许平. 不同制剂肺表面活性物质对早产儿呼吸窘迫综合征的疗效分析[J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(2):174-179.
- [4] 赵焱, 章守琴, 张翔宇. N-乙酰半胱氨酸抗氧化作用在急性呼吸窘迫综合征治疗中的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32(12):1530-1532.
- [5] McPherson C, Wambach JA. Prevention and treatment of respiratory distress syndrome in preterm neonates[J]. Neonatal Netw, 2018, 37(3):169-177.
- [6] 杨岭, 袁月, 高魏娜. 急性呼吸窘迫综合征患者 28 d 生存的影响因素及预后预测因子分析[J]. 国际呼吸杂志, 2021, 41(6):422-427.
- [7] 中国医师协会呼吸医师分会危重症医学工作委员会, 中华医学会呼吸病学分会呼吸危重症医学学组, 中华医学会呼吸病学分会呼吸治疗学学组. 严重急性呼吸道感染常规呼吸支持治疗的临床指征与院感防控[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020, 43(3):189-194.
- [8] 陈健, 郑雅旭, 孔德川, 等. 上海市实施急性呼吸道感染综合监测应对新发呼吸道传染病的实践与思考[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(12):1994-1998.
- [9] Covington EW, Roberts MZ, Dong J. Procalcitonin monitoring as a guide for antimicrobial therapy: a review of current literature[J]. Pharmacotherapy, 2018, 38(5):569-581.
- [10] Thiriet C, Mahjoub K, Courte G, et al. Automated measurement of neutrophil CD64 expression for diagnosing sepsis in critically ill patients[J]. Minerva Anesthesiol, 2019, 85(9):943-950.
- [11] Li Y, Wang W, Zhang D. Maternal diabetes mellitus and risk of neonatal respiratory distress syndrome: a meta-analysis[J]. Acta Diabetol, 2019, 56(7):729-740.
- [12] McPherson C, Wambach JA. Prevention and treatment of respiratory distress syndrome in preterm neonates[J]. Neonatal Netw, 2018, 37(3):169-177.
- [13] Vos LM, Bruyndonckx R, Zuithoff NPA, et al. Lower respiratory tract infection in the community: associations between viral aetiology and illness course[J]. Clin Microbiol Infect, 2021, 27(1):96-104.
- [14] 沈仁, 杨善浦, 吴月超, 等. 玉环海岛地区儿童呼吸道感染相关因素的临床研究[J]. 中华全科医学, 2019, 17(3):426-429.
- [15] 徐正平. 50 例新生儿机械通气并发呼吸道感染的临床研究[J]. 实用临床医药杂志, 2018, 22(5):49-51.

【收稿日期】 2022-05-19 【修回日期】 2022-08-08