

• 调查报告 •

# 1 368 例血培养标本病原菌种类及耐药性分析

郑卫东, 袁仕伟, 李 莲<sup>△</sup>

(湖北医药学院附属人民医院检验部, 湖北十堰 442000)

**摘要:**目的 了解血培养阳性致病菌菌谱以及药敏情况, 为抗生素合理使用提供理论依据。方法 采用美国 BD 公司 BACTEC9050 型全自动血培养仪及其配套成人树脂需氧瓶和含溶血素厌氧瓶, 儿童树脂需氧瓶培养, 所有菌株按照常规操作流程进行鉴定。药敏试验采用 K-B 纸片扩散法, 细菌菌谱及耐药性分析用 WHONET 5.5 软件。结果 1 368 例血液培养标本中共分离出 29 种 119 株病原菌, 阳性检出率为 8.6%。革兰氏阳性球菌中未发现万古霉素耐药菌株。革兰氏阴性杆菌中, 各菌属对抗菌药物均有一定的耐药率, 但均未发现亚胺培南(IPM)和美罗培南(MEM)耐药株。结论 血液培养病原菌菌谱较广, 以革兰氏阳性球菌为主, 革兰氏阴性杆菌次之, 且耐药情况普遍存在, 应及时对血液细菌进行耐药性监测并指导临床合理使用抗生素。

**关键词:**微生物敏感性试验; 抗菌药; 血培养; 病原菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)18-2099-03

近年来由于各种侵入性治疗增多, 肿瘤化疗患者的增加, 以及抗生素的广泛使用, 耐药菌株逐渐增多, 严重威胁患者生命。血液培养已成为血液细菌感染诊断和危重患者病情监测的重要手段。因此, 有必要对血培养中的细菌菌谱进行调查和耐药率进行分析, 为临床合理使用抗生素提供实验依据<sup>[1]</sup>。现对该院各科室送检的 1 368 例血液标本进行细菌培养, 并对检出的致病菌株种类和耐药状况进行回顾性分析, 报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2008 年 6 月至 2011 年 6 月该院各科室送检的 1 368 例血液标本, 重复送检患者相同结果不予统计。

**1.2 仪器与试剂** 美国 BD 公司 BACTEC9050 型全自动血培养仪及其配套成人树脂需氧瓶和含溶血素厌氧瓶, 儿童树脂需氧瓶。真菌药敏纸片为丹麦 ROSCO 公司生产, 其余药敏纸片均购自北京天坛药物生物公司。

**1.3 标本采集和处理** 按《全国临床检验操作规程》3 版, 进行血液标本的采集和处理<sup>[2]</sup>。

**1.4 药敏试验** K-B 纸片扩散法。根据美国临床及实验室标准化协会(CLSI 2008~2010 版)文件选择药物和判定结果<sup>[3]</sup>。每周做 1 次室内质控, 所用质控菌株为大肠埃希菌(ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、铜绿假单胞菌(ATCC27853), 均购自卫生部临床检验中心。

**1.5 细菌培养** 美国 BD 公司 BACTEC9050 型全自动血培

养仪进行实时监测, 发现阳性报警的血培养瓶, 取出涂片, 革兰氏染色镜检并同时进行分离培养。

**1.6 细菌鉴定** 所有菌株按照常规操作流程进行鉴定, 常见菌株使用杭州天和微生物试剂公司生产的微量生化反应管编码系统鉴定, 肠杆菌科/非发酵菌疑难菌株的鉴定采用美国 BD 公司生产的肠杆菌/非发酵菌鉴定试剂盒系统, 结果判断采用 BBL Crystal 微生物细菌鉴定软件分析。真菌的鉴定, 根据涂片结果及念珠菌显色平板上的颜色对照试剂盒提供的标准判断。

**1.7 统计学处理** 细菌菌谱及耐药性分析应用 WHONET 5.5 软件, 耐药率高低比较应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 病原菌分离率及构成比** 1 368 例标本共检出 119 株病原菌, 阳性率 8.6%。其中革兰氏阳性球菌 63 株(52.9%); 革兰氏阴性杆菌 50 株(42.0%); 白色假丝酵母菌 4 株(3.3%); 革兰氏阳性杆菌 1 株(0.8%); 厌氧菌 1 株(0.8%)。

**2.2 病原菌在医院各科室的分布** 119 株病原菌分布于 25 个科室, 前 3 位的科室分别为: 儿科 42 株(35.2%)、血液科 14 株(11.7%)和 ICU 室 11 株(9.2%)。

**2.3 革兰氏阳性球菌检测结果及耐药率** 见表 1。

**2.4 革兰氏阴性杆菌检测结果及耐药率** 见表 2。

表 1 63 株革兰氏阳性球菌检测结果及耐药率(%)

细菌名称	株数(n)	GM	TET	CIP	SXT	CHL	PENG	OX	ERY	CC	VA	LVF	FEP
MSSA	6	16.6	16.6	16.6	16.6	16.6	100.0	0.0	33.3	33.3	0.0	16.6	—
MRSA	2	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	100.0	100.0	100.0	50.0	0.0	50.0	—
MRCNS	43	48.9	39.6	51.2	76.8	39.6	100.0	100.0	97.7	79.1	0.0	39.6	—
MSCNS	6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	33.4	0.0	66.7	50.0	0.0	0.0	—
链球菌属	3	—	—	—	—	33.3	0.0	—	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
肠球菌属	3	66.6	33.3	33.3	—	33.3	66.6	—	66.6	—	0.0	33.3	—

MSSA: 甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌; MRSA: 甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌; MRCNS: 甲氧西林耐药凝固酶阴性葡萄球菌; MSCNS: 甲氧西林敏感凝固酶阴性葡萄球菌; GM: 庆大霉素; TET: 四环素; CIP: 环丙沙星; SXT: 复方新诺明; CHL: 氯霉素; PENG: 青霉素 G; OX: 苯唑西林; ERY: 红霉素; CC: 克林霉素; VA: 万古霉素; LVF: 左氧氟沙星; FEP: 头孢吡肟; —: CLSI 不宜选用或未检测。

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: lilianzbw@163.com.

表 2 50 株革兰氏阴性杆菌检测结果及耐药率 (%)

细菌名称	株数(n)	GM	TET	CIP	SXT	CHL	AM	FEP	CTX	CAZ	PIP	TZP	IPM	MEM	ATM	AN	AMC
ESBLs(+)大肠埃希菌	12.0	75.0	83.3	66.6	75.0	25.0	100.0	75.0	91.6	91.6	100.0	0.0	0.0	0.0	83.3	16.6	25.0
ESBLs(-)大肠埃希菌	9.0	44.4	88.8	44.4	77.7	33.3	88.8	0.0	0.0	0.0	77.7	11.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
假单胞菌属	13.0	7.6	—	7.6	7.6	—	—	7.6	—	15.3	7.6	15.3	0.0	0.0	30.7	7.6	—
ESBLs+肺炎克雷伯菌	4	50.0	50.0	50.0	50.0	50	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	25	0.0	0.0	100.0	50.0	100.0
鲍曼不动杆菌	4.0	—	50.0	—	50.0	—	—	0.0	0.0	0.0	25.0	0.0	0.0	0.0	—	0.0	—
沙门氏菌属	3.0	—	—	0.0	33.3	33.3	33.3	0.0	—	0.0	—	—	—	—	—	—	—

ESBLs(+):超广谱β-内酰胺酶阳性;ESBLs(-):超广谱β-内酰胺酶阴性;AM:氨苄西林;CTX:头孢噻肟;CAZ:头孢他啶;PIP:哌拉西林;TZP:哌拉西林/他唑巴坦;IPM:亚胺培南;MEM:美罗培南;ATM:氮曲南;AN:阿米卡星;AMC:阿莫西林/克拉维酸;—:无数据。

### 3 讨 论

本研究显示 1 368 例血培养标本共分离出 29 种 119 株病原菌,阳性检出率为 8.6%(119/1 368)。血液感染的主要病原菌为革兰氏阳性球菌 52.9%(63/119),其次为革兰氏阴性杆菌 42.0%(50/119)。检出最多的细菌为凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)49 株,占全部致病菌的 41.2%(49/119),表明 CNS 是引起血液感染的最常见病原菌,这和国内外的文献报道基本相似<sup>[4-7]</sup>。CNS 是条件致病菌,该菌正常寄生于人体皮肤、黏膜表面。长期以来,CNS 被认为是血培养的污染菌,但 CNS 作为病原菌的潜在重要性逐渐引起重视,国外报道认为,大约 30%院内血液感染是由 CNS 所引起<sup>[8]</sup>。由此可见,CNS 既是院内感染导致败血症的最常见菌,又是最常见的血培养的污染菌,因此,确定 CNS 是否是致病菌非常必要。如连续 2 次以上血培养检出该菌,致病菌的可能性大,如只有 1 次阳性,则应结合患者是否有败血症的症状、白细胞计数是否升高来判断<sup>[9]</sup>。

63 株革兰氏阳性球菌以葡萄球菌属检出率最高,共检出 57 株,高达 90.4%(57/63)。57 株葡萄球菌属中耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)共检出 45 株,占 78.9%(45/57),这类菌株携带 mecA 基因,编码青霉素结合蛋白 PBP2,除了对所有β-内酰胺类抗生素及β-内酰胺/β-内酰胺酶抑制剂复合物耐药外,对其他类抗菌药物均表现出不同程度的耐药。43 株 MRCNS 对常用抗菌药物普遍耐药,尤其对红霉素、克林霉素和复方新诺明耐药率最高,分别达 97.7%、79.1%和 76.8%,6 株 MSCNS 除了对红霉素、克林霉素表现有较高的耐药率外,对其他药物则耐药率较低。MRCNS 和 MSCNS 的耐药率比较,差异有统计学意义(P<0.05)。6 株 MSSA 对青霉素类也表现为完全耐药,但由于 MSSA 和 MRSA 例数较少,其结果不具代表性,耐药率有待进一步观察。但应注意红霉素对克林霉素诱导耐药性现象日益严重,57 株葡萄球菌 D 试验阳性株达 17 株,占检出葡萄球菌的 29.8%(17/57)。此外,MRSA 和 MRCNS 存在多重耐药性,与国内外有些报道一致<sup>[10-11]</sup>。虽然国内外均有葡萄球菌属、肠球菌属耐万古霉素的耐药菌株报道<sup>[12-14]</sup>。但在本组中未发现万古霉素耐药菌株,表明万古霉素仍为目前革兰氏阳性球菌血液感染的首选药物。

50 株革兰氏阴性杆菌以大肠埃希菌占首位,其次为肺炎克雷伯菌。由于抗生素的不合理使用,产 ESBLs 的细菌的检出率逐年升高,主要在大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中产生<sup>[4,15]</sup>。ESBLs 能水解大多数青霉素类、头孢菌素类和单酰胺类抗生素,因而可引起细菌耐药,由于 ESBLs 菌株的增加,大肠埃希菌耐药率呈逐年上升趋势<sup>[16]</sup>。检出的 21 株大肠埃希菌,产 ESBLs 菌 12 株;而 5 株肺炎克雷伯菌中 4 株为产 ESBLs 菌,这和研究者的结果相一致<sup>[17-18]</sup>。但值得注意的是本研

究中肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株的比例较高,分析原因,可能与标本来源、菌种分布及抗生素使用不同有关,也可能是由于检出菌的菌株数较少(仅 5 株),不能正确反映变化规律,需进一步研究证实。其他革兰氏阴性杆菌中,假单胞菌属、不动杆菌属和沙门氏菌属等对多数药物虽有不同程度耐药,但耐药率较低。50 株革兰氏阴性杆菌中,均未发现耐 IPM 和 MEM 菌株,表明 IPM 和 MEM 仍为革兰氏阴性杆菌血液感染的首选药物。

119 株病原菌分布于医院 25 个科室,分布前 3 位的科室分别为儿科(42 株)、血液科(14 株)和 ICU 室(11 株),构成比分别为 35.2%、11.7%和 9.2%。分析原因可能是由于早产儿、新生儿由于免疫系统尚不完善,侵入性治疗和操作较多;血液科患者由于大量化疗药物的应用,血细胞被大量破坏,患者抵抗力较差;ICU 重症患者各种侵入性治疗和操作较多,患者体质衰弱等原因易导致血液感染。本研究结果表明,早产儿、新生儿、白血病化疗患者和重症患者是血液感染的高危人群。

败血症具有低发生率,高危险性的特点<sup>[19]</sup>。虽然广谱抗菌药物广泛用于临床,但败血症的病死亡率并无明显的下降。在中国血液感染是重症患者最主要的死亡原因之一,尽管近年来医学水平在不断发展,但诊断血液感染最好的方法仍是血培养,及时、准确的检出病原菌,对败血症的诊断和治疗具有十分重要的意义。但必须指出的是,当前包括该院在内的多数医院,由于血培养配套培养瓶价格昂贵,患者经济原因或临床医师认识不足及实验室和临床沟通不到位等因素,尚未完全按照 CLSI 推荐的采血量采集样本,阳性患者可能存在一定的漏检。CLSI 推荐对于不明原因发热、败血症、肺炎等 24 h 内不同部位采集 2~3 套血培养(1 套是指单个采血点采集需氧瓶和厌氧瓶各 1 瓶)。研究表明,当每套血培养采血 20 mL 时(需氧、厌氧各 10 mL),一套检出率 65%,二套检出率 80%,三套检出率 96%<sup>[20]</sup>。但不少医院为节约成本,血培养仅用需氧瓶培养,加之实验室条件限制,厌氧菌分离、培养和鉴定较为困难,因此国内文献少有厌氧菌检出报道,血培养结果的真实性值得商榷。尽管本组 1 368 例标本仅培养出 1 株专性厌氧菌,表明厌氧菌引起败血症的现象是存在的,应引起微生物实验室检验者和临床医师的重视。

### 参考文献

[1] Reynolds R, Potz N, Colman M, et al. Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteraemia in the UK and Ireland 2001—2002: the BSAC bacteraemia resistance surveillance programme [J]. Antimicrob Chemother, 2004, 53(6): 1018-1032.  
 [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 北

京:人民卫生出版社,2007:738-741.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. Wayne: CLSI, 2008.

[4] Hufnagel M, Burger A, Bartelt S, et al. Secular trends in pediatric bloodstream infections over a 20-year period at a tertiary care hospital in Germany[J]. Eur J Pediatr, 2008, 167(44):1149-1159.

[5] Greenberg D, Moser A, Yagupsky P, et al. Microbiological spectrum and susceptibility patterns of pathogens causing bacteraemia in paediatric febrile neutropenic oncology patients: comparison between two consecutive time periods with use of different antibiotic treatment protocols[J]. Int J Antimicrob Agents, 2005, 25(14): 469-473.

[6] 汤贝贝,何贵元,曹阳,等. 2 256 例血培养标本病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11):1326-1327.

[7] 曹三成,贾凯,王娟,等. 某市新生儿败血症病原学及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3):331-334.

[8] Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease[J]. Vet Microbiol, 2009, 134(2):45-54.

[9] Beckmann SE, Diekema DJ, Doern GV, et al. Determining the clinical significance of coagulase negative staphylococci isolated from blood cultures infect control[J]. Hosp Epidemiol, 2005, 26(6): 559-566.

[10] 刘智勇,府伟灵. 2003~2007 年西南医院流感嗜血杆菌临床分布及药敏情况分析[J]. 重庆医学, 2009, 38(2):144-147.

[11] Cavalcanti SM, Franca ER, Cabral C, et al. Prevalence of staphylococcus a UI-US introduced into intensive care units of a University Hospital[J]. Braz J Infect Dis, 2005, 9(1):56-63.

[12] 代洪,范学工. 金黄色葡萄球菌万古霉素耐药与凝固酶活性[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(1):19-22.

[13] Wang Z, Cao B, Liu YM, et al. Investigation of the prevalence of patients cocolonized or infected with methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci in China: a hospital-based study[J]. Chin Med J, 2009, 122(11):1283-1288.

[14] Han SH, Chin BS, Lee HS, et al. Vancomycin-resistant enterococci bacteremia: risk factors for mortality and influence of antimicrobial therapy on clinical outcome[J]. J Infect, 2009, 58(3):182-190.

[15] 朱英,陈兰. 医院感染耐药菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(12):1789-1791.

[16] 陆红,朱丽青,吴庆,等. 血液感染大肠埃希菌的耐药率及其产超广谱  $\beta_2$ -内酰胺酶分析[J]. 浙江检验医学, 2009, 7(2):17-19.

[17] 向延根,石燕,陈拥军,等. 1 465 份血液普通细菌培养的病原菌分布及耐药率分析[J]. 实用预防医学, 2008, 15(6):1950-1953.

[18] Koh EM, Lee SG, Kim CK, et al. Microorganisms isolated from blood cultures and their antimicrobial susceptibility patterns at a university hospital during 1994-2003[J]. Korean J Lab Med, 2007, 27(4):265-275.

[19] Garcia JA, Cooper TR, Schneider VF, et al. Rapid detection of microorganisms in blood cultures of newborn infants utilizing an automated blood culture system[J]. Pediatrics, 2000, 105(3):523.

[20] Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, et al. Optimal testing parameters for blood cultures[J]. Clin Infect Dis, 2004, 38(16): 1724-1730.

(收稿日期:2011-03-16)

• 调查报告 •

## 某地区 HBV 感染者乙型肝炎病毒分子流行病学调查\*

林毅胜<sup>1</sup>, 张志珊<sup>2</sup>, 蒋燕成<sup>2</sup>, 王文杰<sup>1</sup>, 林慧英<sup>1</sup>, 张璇<sup>1</sup>, 吴福林<sup>1</sup>

(1. 福建省泉州市中心血站 362000; 2. 福建省泉州市第一医院检验科 362000)

**摘要:**目的 调查泉州地区献血者人群 HBV 感染者 HBV 基因型、基因亚型及血清型的分布情况。方法 对 139 例献血者 HBsAg 筛查阳性的样本进行 S 区聚合酶链反应扩增测序,应用 MEGA 3.1 软件通过与标准序列比对分析其基因型和基因亚型,应用 Magnus 和 Norder 法进行血清型分析。结果 139 例样本中,检测出 B 基因型 89 例(64.0%),其中 Ba 亚型 76 例(85.4%),B3 亚型 11 例(12.3%),B4 亚型 2 例(2.3%);C 基因型 59 例(36.0%),其中 C2 亚型 47 例(94.0%),C1 亚型 1 例(2.0%),C5 亚型 1 例(2.0%),有 1 例属于未知亚型。血清型以 adw2 和 adrq+ 为主,分别为 78 例和 45 例,2 例血清型未见报道。结论 泉州地区献血者人群 HBV 感染者中,以 Ba 和 C2 亚型占优势,血清型以 adw2 和 adrq+ 为主。

**关键词:** 肝炎病毒,乙型; 献血者; 基因型; 基因亚型; 血清型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)18-2101-03

根据乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)全基因组序列差异大于或等于 8%,或 S 基因序列大于或等于 4%,HBV 可分为 8 个基因型(A~H)<sup>[1]</sup>。在基因型的基础上,根据全基因组序列差异大于或等于 4%,HBV 又分为不同的基因亚型,如 A 型可分为 Aa 和 Ae 亚型,B 型可分为 B1(Bj)、B2(Ba)、B3 和 B4 亚型,C 型可分为 C1(Cs)、C2(Ce)、C3~C7 亚型等<sup>[1-3]</sup>。此外,HBV 分类还包括血清型分析。外膜主蛋白上的一些残基(如 aa139~147,aa122 和 aa160)决定 HBV 的血清亚型,目前有 ayw1,ayw2,ayw3,ayw4,adw2,adw4,ayr,adrq+ 和 adrq-

共 9 种类型<sup>[4]</sup>。自从 1998 年我国全面实行无偿献血以来,每年献血者已达 1 000 万例次,掌握献血者人群 HBV 的分子生物学信息,对于分析该地区“健康”携带者 HBV 的分子流行病学情况,以及对于研究和预防 HBV 的输血传播具有重要的意义。本研究调查了泉州地区无偿献血者 HBV 的基因型、基因亚型及血清型分布情况,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2009 年 1 月至 2010 年 12 月泉州市中心血站收集的无偿献血者 HBsAg 阳性的标本共 139 例,其中男 96

\* 基金项目:泉州市科技项目(2010Z62)。