

• 临床检验研究论著 •

血培养病原菌分布及耐药性分析

刘行超,莫 珊,高 云,曾桂芬,费燕楠
(中国人民解放军一八一医院检验科,广西桂林 541002)

摘 要:**目的** 了解该院血培养标本中病原菌的分布和耐药性,为临床合理选择抗菌药物提供依据。**方法** 采用 BacT/Alert 3D 血培养仪进行血培养,ATB-expression 微生物鉴定系统对细菌及真菌进行鉴定,K-B 纸片法进行药敏试验,并进行统计学分析。**结果** 2 495 例血培养标本中检出阳性标本 199 例,阳性率为 7.98%,其中革兰阴性菌 96 株,占 48.24%;革兰阳性菌 85 株,占 42.71%;真菌 18 株,占 9.05%。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对亚胺培南、美罗培南的敏感率为 100.00%。金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌对万古霉素、利奈唑胺的敏感率为 100.00%。**结论** 临床医生应高度重视血培养结果,根据药敏试验结果合理使用抗菌药物,防止耐药菌株的产生。

关键词:血培养; 病原菌; 耐药性
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.006 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)02-0140-03

Distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in blood culture

Liu Xingchao, Mo Shan, Gao Yun, Zeng Guifen, Fei Yanman

(Department of Clinical Laboratory, The 181st Hospital of PLA, Guilin, Guangxi 541002, China)

Abstract:**Objective** To investigate the distribution and the drug resistance of pathogenic bacteria in blood culture of the hospital, in order to provide evidence for rational selection of antimicrobial agents. **Methods** Blood samples were cultivated with Bact/Alert 3D system, pathogenic bacteria were identified with ATB-expression system. Drug sensitivity tests were carried out by K-B method. The test results were analyzed with WHONET5.4 software. **Results** Among 2 495 blood culture samples, 199 samples were positive and the positive rate was 7.98%. There were 96 strains of Gram-negative bacteria(48.24%), 85 strains of Gram-positive bacteria(42.71%) and 18 strains of fungi(9.05%). Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae had 100.00% sensitivity to imipenem and meropenem. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis had 100.00% sensitivity to vancomycin and linezolid. **Conclusion** Clinical doctors should pay great attention to the results of blood culture and rationally use antimicrobial agents according to drug resistance test, so as to prevent and control drug-resistant bacteria.

Key words: blood culture; pathogen; drug resistance

菌血症是临床常见的危急症之一。近年来,由于广谱抗菌药物、免疫抑制剂、各种侵袭性操作和介入治疗手段的广泛应用,致使菌血症的发生率呈现明显的上升趋势。另外,抗菌药物的大量使用导致病原菌对临床常用抗菌药物的耐药性越来越强。血培养是临床医生诊治菌血症的重要依据,本研究对血培养标本分离菌的分布和耐药情况进行统计分析,以期为临床合理选择抗菌药物提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 11 月至 2012 年 3 月临床送检的血培养标本 2 495 例,剔除同一患者同一部位重复取样且致病菌一致的标本。血培养所取标本均为单瓶送检。

1.2 仪器与试剂 BacT/Alert 3D 全自动血培养仪及配套血培养瓶、ATB-expression 微生物鉴定系统及鉴定卡片购自法国生物梅里埃公司;药敏纸片购自英国 Oxoid 公司;质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853、金黄色葡萄球菌 ATCC25923 购于广西壮族自治区临床检验中心。

1.3 方法 在患者发热期及抗生素治疗前或下一次抗生素使用前,无菌定量采集静脉血(成人需氧中和和抗生素培养瓶:5~10 mL;小儿需氧培养瓶:儿童 3~5 mL,婴儿 1~2 mL)注入相应血培养瓶,置血培养仪中培养。血培养仪自动报警提示阳性

时,及时转种血琼脂平板、麦康凯琼脂平板、显色沙保罗平板培养 18~24 h,并同时涂片及革兰染色镜检。采用法国生物梅里埃公司 ATB-expression 微生物鉴定系统对细菌及真菌进行鉴定。药敏试验采用 M-H 琼脂作 K-B 纸片法,药敏结果按 2010 年 CLSI 标准进行判读。

1.4 耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)检测方法 采用 M-H 琼脂,以 30 μg 头孢西丁替代苯唑西林作 K-B 纸片法测定,按 2010 年 CLSI 标准:金黄色葡萄球菌和路登葡萄球菌的头孢西丁抑菌环直径小于或等于 21 mm,报告苯唑西林耐药;头孢西丁抑菌环直径大于或等于 21 mm,报告苯唑西林敏感。凝固酶阴性葡萄球菌(除外路登葡萄球菌)的头孢西丁抑菌环直径小于或等于 24 mm,报告苯唑西林耐药;头孢西丁抑菌环直径大于或等于 24 mm,报告苯唑西林敏感。

1.5 统计学处理 采用世界卫生组织细菌耐药性监测中心推荐的 WHONET5.4 软件进行统计分析。

2 结 果

2.1 血培养阳性率及病原菌构成比 2 495 例血培养标本中检出阳性标本 199 例,阳性率为 7.98%,其中革兰阴性菌 96 株,占 48.24%;革兰阳性菌 85 株,占 42.71%。此外,还检出真菌 18 株,占 9.05%,分别为马尔尼菲青霉菌 7 株(3.52%)、

作者简介:刘行超,男,副主任技师,主要从事细菌耐药性研究。

近平滑念珠菌 7 株(3.52%)、热带念珠菌 3 株(1.51%)、白色念珠菌 1 株(0.53%),其中 7 株马尔尼菲青霉菌均来自艾滋病患者血标本。血培养细菌分布见表 1。

表 1 血培养细菌分布及构成比

细菌	n	构成比(%)	细菌	n	构成比(%)
革兰阴性菌	96	48.24	革兰阳性菌	85	42.71
大肠埃希菌	46	23.12	金黄色葡萄球菌	23	11.56
肺炎克雷伯菌	16	8.04	表皮葡萄球菌	20	10.05
鲍曼不动杆菌	8	4.02	人葡萄球菌	5	2.51
铜绿假单胞菌	7	3.52	溶血葡萄球菌	5	2.51
阴沟肠杆菌	4	2.01	腐生葡萄球菌	2	1.01
其他革兰阴性菌	15	7.54	其他革兰阳性菌	30	15.08

2.2 血培养阳性标本的病区分布 该院 2010 年 11 月至 2012 年 3 月血液感染排前五位的科室是肝胆外科 14.57%(29/199)、肿瘤科 10.56%(21/199)、血液科 8.04%(16/199)、神经内科 7.54%(15/199)、新生儿科 7.54%(15/199)。

2.3 两种常见革兰阴性菌的耐药率 革兰阴性菌中产超广谱β-内酰胺酶的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的检出率分别为 82.61%(38/46)和 81.25%(13/16)。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对亚胺培南、美罗培南的敏感率为 100.00%。大肠埃希菌对氨苄西林、哌拉西林、头孢唑林、头孢呋辛、头孢噻肟、复方新诺明的耐药率较高,均大于 70.00%;肺炎克雷伯菌耐药率较高的抗菌药物分别是氨苄西林(天然耐药)、头孢唑林、庆大霉素、头孢呋辛、哌拉西林、头孢噻肟,均大于 80.00%。见表 2。

表 2 两种主要革兰阴性菌对抗菌药物的耐药率[n(%)]

抗菌药物	大肠埃希菌(n=46)	肺炎克雷伯菌(n=16)
氨苄西林	43(93.48)	16(100.00)
哌拉西林	42(91.30)	13(81.25)
头孢唑林	38(82.61)	15(93.75)
头孢呋辛	38(82.61)	14(87.50)
头孢噻肟	38(82.61)	13(81.25)
复方新诺明	33(71.74)	10(62.50)
氨曲南	30(65.22)	13(81.25)
庆大霉素	28(60.87)	15(93.75)
头孢吡肟	26(56.52)	8(50.00)
环丙沙星	25(54.35)	6(37.50)
头孢他啶	24(52.17)	11(68.75)
头孢哌酮/舒巴坦	9(19.57)	2(12.50)
头孢西丁	8(17.39)	6(37.50)
阿米卡星	8(17.39)	6(37.50)
哌拉西林/他唑巴坦	6(13.03)	5(31.25)
美罗培南	0(0.00)	0(0.00)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)

2.4 常见革兰阳性菌的耐药率 金黄色葡萄球菌和表皮葡萄

球菌对青霉素 G、红霉素、克林霉素、复方新诺明、苯唑西林和头孢类抗生素的耐药率均超过 50%,对万古霉素、利奈唑胺的敏感率为 100.00%。该研究中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)检出率为 53.85%(14/26);耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)检出率为 76.00%(19/25)。见表 3。

表 3 两种主要革兰阳性菌对抗菌药物的耐药率[n(%)]

抗菌药物	金黄色葡萄球菌(n=26)	表皮葡萄球菌(n=20)
青霉素 G	23(88.46)	18(90.00)
红霉素	22(84.62)	16(80.00)
克林霉素	17(65.38)	15(75.00)
复方新诺明	17(65.38)	12(60.00)
苯唑西林	14(53.85)	14(70.00)
头孢唑林	14(53.85)	15(75.00)
头孢曲松	14(53.85)	15(75.00)
头孢吡肟	14(53.85)	15(75.00)
头孢西丁	14(53.85)	15(75.00)
庆大霉素	12(46.15)	10(50.00)
氯霉素	8(30.77)	5(25.00)
左氧氟沙星	7(26.92)	9(45.00)
利福平	1(3.84)	3(15.00)
替考拉宁	0(0.00)	1(5.00)
万古霉素	0(0.00)	0(0.00)
利奈唑胺	0(0.00)	0(0.00)

3 讨 论

本院 2 495 例血培养标本中检出阳性标本 199 例,阳性率为 7.98%,低于国内其他文献报道的结果^[1-2]。这可能与本院临床科室送检标本时多为单瓶而未抽取整套送检致使阳性标本检出数量少有关。该研究中革兰阴性菌和革兰阳性菌的检出率差别不大,革兰阴性菌略高于革兰阳性菌。该院 2010 年 11 月至 2012 年 3 月血液感染主要分布在肝胆外科、肿瘤科、血液科、神经内科、新生儿科,可能是由于住院时间长、免疫力低下、进行侵袭性治疗等因素导致这些科室的患者血液感染的机会增加。

碳青霉烯类抗菌药物是临床治疗肠杆菌科细菌感染最有效的药物之一,本研究未发现对碳青霉烯类耐药的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌。非发酵菌耐药机制复杂,常对多种抗生素天然耐药,是临床治疗的一个难题。该研究中非发酵菌对头孢哌酮/舒巴坦、美罗培南、亚胺培南的敏感性较好,可作为非发酵菌菌血症治疗的首选药物。在本研究中检出 2 株泛耐药鲍曼不动杆菌,但是未检出泛耐药铜绿假单胞菌。根据 2010 年 CLSI 标准^[3],采用经修订的折点则没有必要进行产超广谱β-内酰胺酶(ESBLs)初筛和确证试验,但是 ESBLs 的耐药监测还是很有必要的,所以本文列出了其检出率。从其检出率来看,两种主要革兰阴性菌(大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌)ESBLs 的阳性率均大于 80.00%,可见对 ESBLs 的耐药监测具有十分重要的意义。MRS 耐药性主要表现为耐多种抗生素,凝固酶阴性葡萄球菌已经成为医院感染最重要的病原菌^[4],表皮葡萄球菌是最常见的凝固酶阴性葡萄球菌。从表 3 可以看出,表皮

葡萄球菌的耐药情况严重,青霉素 G、红霉素、克林霉素、复方新诺明、头孢类抗生素的耐药率均超过 60.00%,提示这些药物已不适合经验性治疗表皮葡萄球菌败血症;表皮葡萄球对利奈唑胺、替考拉宁、万古霉素较敏感,耐药率均在 5.00%以下,可作为治疗表皮葡萄球菌败血症的首选药物。近年来,肠球菌的耐药性愈来愈严重,表现为耐青霉素、高水平耐氨基糖苷类抗生素及耐万古霉素,各地报道的耐万古霉素肠球菌感染有增加的趋势^[5-6]。本研究中虽然未发现耐万古霉素的革兰阳性菌,但是检出 2 株对替考拉宁耐药的菌株。这应该引起临床医生的注意,严格控制糖肽类抗生素的使用,避免万古霉素的滥用,防止耐药菌株的出现。

本研究中检出真菌 18 株,占致病菌的 9.05%。近年来真菌感染的比例明显升高,这与广谱抗生素、免疫抑制剂、激素的长期使用及患者自身的免疫状况有关。临床医生应该对真菌感染引起足够重视,注意预防院内真菌感染,及时检测真菌感染,严格控制抗生素的使用。本文中检出真菌以马尔尼菲青霉菌和近平滑念珠菌为主,与国内其他文献报道的以白色念珠菌感染为主不同^[7-8],这可能与地域差异和标本送检量有关。7 株马尔尼菲青霉菌均来自艾滋病患者血标本,提示临床应重视艾滋病患者真菌感染情况。

综上所述,通过对本院 2010 年 11 月至 2012 年 3 月血培养病原菌分布及耐药性的统计分析,可以看出血培养标本检出病原菌种类多、分布广且耐药情况严重。这提示临床医生应重视血培养,根据药敏试验结果合理使用抗菌药物,减少不合理

的经验性用药,防止抗菌药物滥用及耐药菌株的产生。另外,医院应该对血培养病原菌的分布和耐药性做好统计工作,帮助临床医生及时掌握病原菌的耐药状况,指导抗菌药物的合理使用。

参考文献

[1] 张红霞,杨芒庄. 1 860 例血培养结果及药敏分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(4):452-453.

[2] 韩福禄,王文艳,庞莉. 血培养常见病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(3):630-631.

[3] CLSI. M100-S20 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010; 1-160.

[4] 徐雅萍,罗燕萍,周光,等. 凝固酶阴性葡萄球菌所致血行感染的相关研究[J]. 中华医院感染学杂志,2006,16(2):224-226.

[5] 王进,梁军,肖永红. 2008 年 Mohnarín 血流感染病原菌构成及耐药性[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(16):2399-2404.

[6] 徐宁,李丰良. 血培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(3):627-629.

[7] 张淑青,王贺永,李宏芬,等. 血培养标本中病原菌的分布及药敏分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(7):1472-1474.

[8] 刘彩林,孙自镭,朱旭慧,等. 2001~2010 年血培养病原菌变迁及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(3):624-626.

(收稿日期:2012-08-08)

(上接第 139 页)

值高于胎儿红细胞降低值,表现为 IOD 比值增大,到 8 min 时达到最大;此后,HbA 已经被完全洗脱而 HbF 继续被洗脱,成人红细胞着色强度不再降低,而胎儿红细胞着色继续降低,表现为 IOD 比值减小。笔者在对室温(20℃)以及低温(10℃)条件下其他洗脱时间的研究结果未在本文中讲述。伊红染色时间过短导致胎儿红细胞着色浅,染色时间过长导致背景干扰高,这些均会导致 IOD 比值下降;在染色 60 s 和 90 s 时,可以获得最佳染色效果。综合考虑后,笔者将洗脱条件定为 37℃ 8 min,伊红染色时间定为 60 s。

在以混合血液为研究对象的回收率实验中,脐带血含量与 K-B 实验结果的相关系数 $r=0.999$,95%置信区间为 0.997~1.000,回收率为 84.75%~96.55%,表明本研究建立的 K-B 实验方法获得了高稳定性和准确性,可以准确检出静脉血中的胎儿红细胞。实验组 and 对照组 K-B 实验检测结果对比以及临床反馈确诊病例的相关情况也从临床实践的角度验证实验结果的准确性。

综上所述,K-B 实验易出现操作不规范、结果不准确的情况。在开展该实验过程中,应以脐带血为阳性对照,未孕女性静脉血为阴性对照;在优化洗脱条件、染色条件后,可以通过回收率实验验证实验结果的准确性。在对临床患者检测中,应结合孕妇胎儿红细胞参考值范围及其他临床症状对患者作出正确诊断,避免发生 FMH。

参考文献

[1] Wylie BJ, D'Alton ME. Fetomaternal hemorrhage[J]. Obstet Gy-

necol, 2010, 115(5):1039-1051.

[2] Adeniji AO, Mabayoje VO, Raji AA, et al. Feto-maternal haemorrhage in parturients: incidence and its determinants[J]. J Obstet Gynaecol, 2008, 28(1):60-63.

[3] 王欣,张为远. 胎母输血综合征 7 例分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2010, 26(7):546-548.

[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, 2006:184-185.

[5] 赵友萍,黄醒华. 胎母输血综合征对围产儿影响的研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 2008, 43(8):632-634.

[6] 刘玉昆,王蕴慧,王振花,等. 胎母输血综合征的诊治(附三例报告)[J]. 中华围产医学杂志, 2008, 11(5):357-358.

[7] 沈红玲. 胎母输血综合征 4 例[J]. 实用妇产科杂志, 2010, 26(12):938-939.

[8] Porra V, Beraud J, Gueret P, et al. Identification and quantification of fetal red blood cells in maternal blood by a dual-color flow cytometric method: evaluation of the Fetal Cell Count kit[J]. Transfusion, 2007, 47(7):1281-1289.

[9] Agarwal P, Sekhar Das S, Gupta R, et al. Quantification of feto-maternal hemorrhage: selection of techniques for a resource-poor setting[J]. Gynecol Obstet Invest, 2011, 71(1):47-52.

[10] Uriel M, Subirá D, Plaza J, et al. Identification of feto-maternal haemorrhage around labour using flow cytometry immunophenotyping[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2010, 151(1):20-25.

(收稿日期:2012-07-08)