

• 临床研究 •

1 684 株血培养阳性病原菌分布及耐药性分析*

徐新民, 华文浩, 宋丽红, 郭晶晶, 李敏, 陆瑶, 李瑞红, 王慧珠
(首都医科大学附属北京地坛医院, 北京 100730)

摘要:目的 了解该院临床送检血培养阳性标本的病原菌分布及耐药情况, 为临床合理使用抗菌药物提供重要依据。方法 采用全自动微生物分析仪进行细菌培养、鉴定和药敏分析, 结果按美国临床和实验室标准化协会(CLSI) 2014 年版标准判读, 采用 Whonet 5.6 软件进行数据分析。结果 46 564 份临床送检血培养标本中检出阳性菌 3 614 株, 去除非重复菌株, 共 1 684 株, 其中革兰阳性菌 870 株, 占 51.6%, 革兰阴性菌 738 株, 占 43.8%, 真菌 36 株, 占 2.1%。药敏结果分析显示革兰阳性菌对青霉素耐药率均较高大于 90%, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)的检出率分别 42.6%和 73.0%, 未发现对万古霉素和利奈唑胺耐药的葡萄球菌属, 发现少数对万古霉素和利奈唑胺耐药的屎肠球菌。革兰阴性菌中对氨基西林耐药率最高(不低于 64.3%), 对亚胺培南和美罗培南耐药率最低, 但铜绿假单胞菌对二者的耐药率较高, 分别为 41.5%和 33.3%, 鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药率为 42.5%。结论 凝固酶阴性葡萄球菌为该院血流感染的主要病原菌, 并且耐药现象比较严重, 临床医生应根据药敏结果合理选择抗菌药物。

关键词:血培养; 病原菌分布; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.16.070

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2015)16-2443-03

血培养是一种用于菌血症、败血症等血液感染疾病的病原学诊断方法, 也被认为是诊断的金标准。近年来, 由于抗菌药物的广泛使用, 以及静脉置管等侵入性操作的广泛应用, 使得血培养病原菌耐药性逐年增高。为了解本院血液感染的病原菌分布及耐药情况, 现将近 6 年本院临床送检的血培养阳性标本进行统计分析。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 首都医科大学附属北京地坛医院 2009 年 1 月至 2014 年 12 月临床送检的 46 564 份血培养标本, 去除同一患者同一部位分离的相同菌株。

1.2 仪器与试剂 血琼脂平板、麦康凯琼脂平板、巧克力琼脂平板等均购自法国生物梅里埃公司; 全自动血培养仪 BACTEC 9240 和全自动微生物细菌鉴定药敏分析仪 phoenix100 均为美国 BD 公司。

1.3 检测方法 无菌条件采集静脉血, 成人 8~10 mL, 两套四瓶(两个不同部位, 每个部位一个需氧瓶和一个厌氧瓶); 儿童 3~5 mL, 两个需氧瓶, 采集后立即注入血培养瓶置于全自动血培养仪进行培养和检测, 仪器报警指示呈阳性时, 转种血平板、麦康凯平板和沙保罗平板, 置 35℃ 培养 1~2 d, 有菌生长时, 挑取单个菌落涂片进行革兰染色, 并电话通知临床医生, 同时采用全自动微生物分析系统进行细菌鉴定和药敏试验, 真菌以试纸条进行药敏试验。若培养 5 d, 仪器未报阳性, 则报阴性。

1.4 质量控制 按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)要求进行质量控制, 质控菌株包括大肠埃希菌 ATCC 25922, 金黄色葡萄球菌 ATCC 29213, 铜绿假单胞菌 ATCC 27853, 肺炎链球菌 ATCC 49619 和粪肠球菌 29212, 质控菌株购于卫生部临床检验中心。

2 结果

2.1 病原菌科室分布 肝病科送检例数最多, 占全院的 20.5%, 培养阳性率也最大, 这与本院的特色有关, 其次为感染一科(11.3%), 儿科(10.8%), ICU(10.6%)。

2.2 病原菌分布 46 564 份临床送检血培养, 检出阳性菌 3614 株, 阳性率为 7.8%, 去除非重复菌株, 共 1 684 株, 其中革兰阳性菌 870 株, 前三位病原菌为凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)、肠球菌属和金黄色葡萄球菌; 革兰阴性 738 株, 前三位为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和铜绿假单胞菌; 真菌 36 株, 占 2.1%, 结核分枝杆菌 16 株, 占 0.9%, 其他 26 株, 占 1.5%, 见表 1。

表 1 2009~2014 年血培养主要阳性病原菌分布及构成比

病原菌	株数(n)	构成比(%)
革兰阳性球菌	870	51.6
CNS	455	27.0
金黄色葡萄球菌	108	6.4
粪肠球菌	42	2.5
屎肠球菌	74	4.4
革兰阴性杆菌	738	43.8
大肠埃希菌	266	15.8
肺炎克雷伯菌	148	8.8
铜绿假单胞菌	74	4.4
阴沟肠杆菌	34	0.2
真菌	36	2.1
结核分枝杆菌	16	0.9
其他	26	1.5
总数	1 684	100.0

2.3 革兰阳性球菌耐药情况 凝固酶阴性葡萄球菌和金黄色葡萄球菌对青霉素的耐药率较高, 分别为 97.4%和 100.0%, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)的检出率分别 42.6%和 73.0%, 未发现对万古霉素和利奈唑胺耐药的葡萄球菌属, 发现少数对万古霉素和利奈唑胺耐药的屎肠球菌, 耐药率均为 5.9%。对替考拉宁的敏感率大于 95.0%。其抗菌药物的耐药情况见表 2。

2.4 革兰阴性杆菌耐药情况 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和

* 基金项目:北京市优秀人才培养资助项目(2014000021469G235)。

阴沟肠杆菌对一代、二代、三代头孢明显耐药,但对亚胺培南和美罗培南的耐药率几乎为 0.0%;铜绿假单胞菌对亚胺培南和美罗培南的耐药率分别为 41.5%和 33.3%,鲍曼不动杆菌对

亚胺培南耐药率为 42.5%,对多黏菌素 B 最为敏感。主要革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药情况见表 3。

表 2 主要革兰阳性球菌耐药率

抗菌药物名称	凝固酶阴性葡萄球菌(n=455)		金黄色葡萄球菌(n=108)		屎肠球菌(n=74)		粪肠球菌(n=42)	
	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)
阿米卡星	455	4.4	108	9.3	68	60.3	41	68.3
阿莫西林/克拉维酸	454	18.5	108	13.0	67	73.1	3	0.0
氨苄西林	416	72.4	97	41.2	68	100.0	41	9.8
苯唑西林	455	68.8	108	31.5	66	21.2	41	97.6
复方磺胺甲噁唑	453	63.8	108	44.4	68	55.9	41	12.2
红霉素	454	85.0	108	62.0	68	86.8	41	65.9
环丙沙星	453	43.9	107	19.6	68	85.3	39	33.3
吉米沙星	454	49.8	108	34.3	68	100.0	39	97.4
甲氧苄啶	88	0.0	57	0.0	66	0.0	40	0.0
克林霉素	219	69.4	70	42.9	8	87.5	41	90.2
利福平	455	10.8	108	10.2	68	72.1	41	82.9
利奈唑胺	427	0.0	107	0.0	68	5.9	41	0.0
青霉素 G	431	97.4	97	100.0	—	—	—	—
四环素	452	28.8	108	20.4	68	48.5	41	73.2
替考拉宁	439	3.2	107	1.9	68	4.4	41	2.4
头孢西丁	389	79.2	50	66.0	67	0.0	41	0.0
妥布霉素	455	31.0	108	27.8	68	98.5	39	64.1
万古霉素	453	0.0	108	0.0	68	5.9	41	0.0

—:无数据。

表 3 主要革兰阴性杆菌耐药率

抗菌药物名称	大肠杆菌(n=266)		肺炎克雷伯菌(n=148)		铜绿假单胞菌(n=74)		阴沟肠杆菌(n=34)		鲍曼不动杆菌(n=14)	
	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)
阿米卡星	242	2.9	147	1.4	64	1.6	34	2.9	14	42.9
阿莫西林/克拉维酸	241	9.1	147	10.2	64	96.9	34	91.2	14	71.4
氨苄西林	242	81.8	142	87.3	64	100.0	33	81.8	14	64.3
氨苄西林/舒巴坦	241	26.6	145	15.9	64	100.0	32	37.5	14	42.9
氨曲南	237	24.1	145	7.6	63	34.9	34	17.6	13	84.6
多黏菌素 B	—	—	—	—	41	0.0	—	—	10	10.0
复方磺胺甲噁唑	242	69.0	147	15.0	64	78.1	34	11.8	14	42.9
环丙沙星	241	48.5	146	6.8	64	28.1	34	11.8	14	42.9
吉米沙星	242	53.7	147	12.2	65	30.8	34	8.8	14	50.0
氯霉素	242	19.4	146	14.4	64	96.9	34	11.8	2	100.0
美洛培南	242	0.0	147	0.7	63	33.3	34	0.0	14	50.0
莫西沙星	17	64.7	7	14.3	—	—	1	0.0	—	—
哌拉西林	241	72.6	139	18.7	64	28.1	34	14.7	12	50.0
哌拉西林/他唑巴坦	242	2.5	146	6.2	64	26.6	34	11.8	13	46.2
四环素	242	70.2	147	17.7	64	0.0	34	11.8	14	42.9
头孢吡肟	224	31.7	143	9.8	65	29.2	34	5.9	13	46.2

—:无数据。

续表 3 主要革兰阴性杆菌耐药率

抗菌药物名称	大肠杆菌(n=266)		肺炎克雷伯菌(n=148)		铜绿假单胞菌(n=74)		阴沟肠杆菌(n=34)		鲍曼不动杆菌(n=14)	
	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)	数量(n)	耐药率(%)
头孢噻肟	239	44.4	144	13.2	63	96.8	34	23.5	14	42.9
头孢他啶	235	15.3	146	6.2	65	26.2	34	17.6	14	42.9
亚胺培南	242	0.0	147	0.7	65	41.5	34	0.0	14	42.9
左旋氧氟沙星	242	47.5	146	6.8	65	30.8	34	5.9	14	42.9

3 讨论

本院 2009~2014 年血培养阳性率平均为 7.8%，较低于国内外同等医院水平^[1-3]，根据美国 CLSI 标准，适当的采血时间、采血次数和血培养瓶数量对血培养阳性率的检出非常重要。本院血培养标本主要来自感染一科、儿科和 ICU，其分离到的阳性病原菌也最高，分离株数分别为 190 株(11.3%)、182 株(10.8%)和 178 株(10.6%)。研究显示，ICU 患者血流感染具有较高的病死率，其中血管导管相关性血流感染为主要危险因素，另外与患者免疫系统低下，免疫抑制剂的使用也相关^[4]。

1 684 株病原菌中革兰阳性球菌分离率较高，为 870 株，占 51.6%，其次为革兰阴性杆菌 738 株(43.8%)，文献中有的报道以革兰阳性球菌为主^[1-3,5]，也有的以革兰阴性杆菌为主^[6]，本院二者基本相同，这可能与医院的临床科室分布以及送检的次数有关。在革兰阳性球菌中以 CNS 感染为主，占 27.0%，与报道较一致^[7]。近几年，CNS 已成为医院感染的重要致病菌，也是最常见的污染菌。研究显示，CNS 可以产生多糖黏质，使其附着在医疗器械等的光滑表面，形成生物膜，抵御机体的免疫吞噬^[8]，消毒不完善的情况下即可导致血标本污染，临床上很难确定 CNS 是致病菌还是污染菌，有研究表明阳性报警时间可以对此进行鉴别^[9-10]，因此在检出 CNS 时应及时通知临床医生，结合临床症状进一步分析是污染菌还是致病菌。

本研究的药敏结果显示，CNS 对青霉素的耐药率高达 97.4%，对头孢西丁的耐药率也近 80%。对主要革兰阳性球菌耐药率较高的抗菌药物有青霉素、红霉素、头孢西丁、苯唑西林和氨苄西林，耐药率均在 40%~100%。以往文献报道，CNS 23 S rRNA 保守区 V 区 C2390T、G2431C、G2436A 和 C2453T 多位点变异可能导致其对红霉素、林可霉素、氯霉素及利奈唑胺的多重耐药^[11]，本研究中对利奈唑胺和替考拉宁耐药率较低，对万古霉素耐药最低，仅有 5.9%。因此，万古霉素和替考拉宁依然是抗革兰阳性球菌的主要药物。MRSA、MRCNS 和耐万古霉素肠球菌 (VRE) 的检出率分别为 42.6% (46/108)、73.0% (332/455) 和 5.9% (4/68)。革兰阴性杆菌中鲍曼不动杆菌的耐药性最为严重，对多黏菌素 B 和亚胺培南均出现了耐药，耐药率分别为 10.0% 和 42.9%，研究表明耐亚胺培南的鲍曼不动杆菌携带 TEM、PER、非诱导 Amp C 酶、OXA-23 型碳青霉烯酶基因，产生 OXA-23 型碳青霉烯酶是鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药的主要机制^[12-13]。铜绿假单胞菌对亚胺培南耐药率也较高，为 41.5%。美罗培南对铜绿假单胞菌的灵敏度为 67%，对鲍曼不动杆菌的灵敏度为 50.0%，而对其他革兰阴性杆菌灵敏度均接近 100.0%。2012 年美国临床和实验室标准协会《抗菌药物灵敏度试验执行标准》规定，对肠杆菌科细菌不作超广谱 β-内酰胺酶 (ESBLs) 耐药性的分析，直接参照药敏选药，因此本研究未作 ESBLs 分析。

目前泛耐药和全耐药的菌株不断出现，已成为全球性的难

题，临床医生应高度重视细菌培养和药敏结果，正确、合理地选择抗菌药物。作为微生物实验室的工作人员也应该做好本院病原菌耐药性的监测工作，为临床医生及时提供准确可靠的药敏结果。

参考文献

- [1] 时琰丽,鲁炳怀,朱凤霞. 2010-2012 年民航总医院血培养病原菌分布及其耐药性分析[J]. 实用医技杂志, 2013, 20(8): 829-831.
- [2] 张小江,张辉,窦红涛,等. 2012 年北京协和医院细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(2): 104-111.
- [3] Gohel K, Jojera A, Soni S, et al. Bacteriological profile and drug resistance patterns of blood culture isolates in a tertiary care nephrourology teaching institute [J]. Biomed Res Int, 2014, 20(11): 153747.
- [4] Ostrowski J, Paterson DL, Lipman J, et al. Blood culture collection in patients with acute kidney injury receiving renal replacement therapy: an observational study [J]. Anaesth Intensive Care, 2012, 40(5): 813-819.
- [5] 陈素梅. 血培养阳性标本的病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国抗菌药物杂志, 2013, 38(8): 6-8.
- [6] 林晓晖,梁卫芳,严智敏,等. 275 例血培养阳性标本的病原菌构成及耐药性分析[J]. 中国抗菌药物杂志, 2011, 36(12): 943-947.
- [7] 谭云昌,曾正莲. 血培养常见病原菌分布及药敏分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(21): 4608-6809.
- [8] Ayepola OO, Olasupo NA, Egwari LO, et al. Antibiotic susceptibility pattern and biofilm formation in coagulase negative staphylococci [J]. J Infect Dev Ctries, 2014, 8(12): 1643-1645.
- [9] Kassis C, Rangaraj G, Jiang Y, et al. Differentiating culture samples representing coagulase-negative staphylococcal bacteremia from those representing contamination by use of time-to-positivity and quantitative blood culture methods [J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(10): 3255-3260.
- [10] Lai CC, Wang CY, Liu WL. Time to positivity in blood cultures of staphylococci: clinical significance in bacteremia [J]. J Infect, 2011, 62(3): 249-251.
- [11] 徐洪亮,薛文成,褚美玲,等. 凝固酶阴性葡萄球菌对利奈唑胺耐药机制的初步研究[J]. 中华实验和临床感染病杂志, 2012, 6(5): 37-40.
- [12] 汪丽,王峰,王卫华. 多重耐药鲍曼不动杆菌的分子流行病学及耐药机制研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2011, 31(4): 343-344.
- [13] Zowawi HM, Sartor AL, Sidjabat HE, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in the Gulf Cooperation Council States: dominance of OXA-23-type producers [J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(3): 896-903.