

• 论 著 •

儿童血培养病原菌分布及耐药性分析^{*}

伍云霞, 汤丽艳, 郑玉强, 张 群[△]

(重庆医科大学附属儿童医院检验科/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/儿科学重庆市重点实验室/重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地, 重庆 400014)

摘要:目的 了解患儿近 5 年血培养病原菌分布及耐药情况。方法 无菌采集患儿血液标本, 37 ℃ 培养 7 d, 采用血平板和巧克力平板转种病原菌, 采用自动微生物鉴定仪对病原菌进行鉴定和药敏实验。结果 2009~2013 年共送检 36 636 份血培养标本, 检出病原菌 2 107 株, 阳性率为 5.75%。其中, 草兰阳性菌 1 413 株(占 67.06%), 草兰阴性菌 626 株(占 29.71%)、真菌 68 株(占 3.23%)。主要的分离菌为凝固酶阴性葡萄球菌(44.03%), 其次是大肠埃希菌(9.33%)、金黄色葡萄球菌(6.46%)、肺炎克雷伯菌(5.74%)和肠球菌属(4.94%)。大部分草兰阴性菌对氨苄西林耐药, 大部分草兰阳性菌对青霉素耐药。结论 草兰阳性球菌是该院患儿血培养的主要病原菌。大部分病原菌对常用抗菌药物耐药率较高。

关键词:儿童; 血培养; 病原菌; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.10.006

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2015)10-1332-04

Bacterial profile and antimicrobial susceptibility pattern in blood samples of children^{*}

Wu Yunxia, Tang Liyan, Zheng Yuqiang, Zhang Qun[△]

(Laboratory Medicine, Children's Hospital of Chongqing University of Medical Sciences / Ministry of Education, Key Laboratory of Child Development and Disorders / Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing / Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders, Chongqing 400014, China)

Abstract: Objective To assess the prevalence of bacterial isolates from septicemia suspected pediatric patients and antimicrobial susceptibility pattern. Methods Blood was collected with aseptic precaution and incubated at 37 ℃ for 7 days. Subcultures were made on blood agar and chocolate agar plates. Organisms were identified and antibiotic sensitivity test of the isolates were performed by automatic microbiology system. Results From 2009 to 2013, 36 636 blood culture were detected, from which 2 107 strains of pathogenic bacteria were isolated, and the positive rate was 5.75%. The rates of Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and fungi were 67.06% (1 413 isolates), 29.71% (626 isolates) and 3.23% (68 isolates), respectively. The predominant bacteria were coagulase negative staphylococci (44.03%), followed by E. coli (9.31%), S. aureus (6.46%), K. spp (5.75%) and Enterococcus (4.94%). Most of Gram-negative organisms were highly resistant to ampicillin, and Gram-positive organisms were highly resistant to penicillin. Conclusion Gram-positive cocci could be the main pathogens in blood culture of pediatric patients. Pathogens isolated from blood might be with high resistance rate to most commonly used antibiotics.

Key words: pediatric; blood culture; pathogenic bacteria; drug resistance

败血症是常见的、严重的细菌感染性疾病, 是由病原菌或条件致病菌侵入血液循环, 生长、繁殖并产生毒素所致。小儿败血症病情复杂, 进展迅速, 临床表现有时并无特异性, 且在严重感染发病程度及抗感染治疗方面也有其特殊性, 因此其发病率及病死率均较高。血培养是检测血液标本中有无病原菌的常用方法。血培养阳性是确诊败血症的重要依据, 对培养获得的病原菌进行鉴定及药敏分析是及时诊治败血症的前提。然而, 败血症病原构成比随年代不同而有所变迁, 以往常见的致病性较强的病原菌, 如金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、伤寒沙门菌等, 如今所占比例明显减少, 而内源性低毒力条件致病菌的检出率则呈明显上升趋势。同时, 不同地区血培养病原菌的分布存在一定的差异, 耐药性也有显著变化, 因此常导致经验性治疗失败。本研究对 2 107 例儿童血培养阳性标本进行

了统计分析, 旨在了解近几年来儿童血培养阳性标本中的病原菌种类及耐药性。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2009 年 1 月 1 日至 2013 年 12 月 31 日重庆医科大学附属儿童医院门诊及住院患儿送检的血培养标本共计 36 636 份, 分离获得病原菌 2 107 株。

1.2 仪器与试剂 BACTEC9240 全自动血培养仪、Phoenix100 自动微生物鉴定仪及配套的树脂儿童血培养瓶、细菌鉴定药敏卡均购自美国 BD 公司。药敏纸片购自英国 OXOID 公司。ATB FUNGUS3 真菌药敏条购自法国生物梅里埃公司。细菌分离培养平板购自重庆康通公司。质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC25923、粪肠球菌 ATCC29212、大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 购自卫生部临床检验

* 基金项目: 重庆市卫生局医学科学技术研究项目(2011-2-247)。

作者简介: 伍云霞, 女, 检验师, 主要从事临床微生物学检验研究。 △

通讯作者, E-mail: zhangqun198166@163.com。

中心。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 患儿高热或寒战时无菌操作采静脉血 1~3 mL, 注入树脂儿童血培养瓶, 置 BACTEC9240 全自动血培养仪中进行培养。

1.3.2 病原菌培养与鉴定 血培养仪提示阳性的标本及时接种血平板及巧克力平板, 同时作涂片染色检查; 血培养仪提示为阴性的标本在培养至 7 d 时随机盲种。采用 Phoenix100 自动微生物鉴定仪对分离的病原菌进行鉴定。

1.3.3 药敏实验 参照《全国临床检验操作规程(第 3 版)》采用纸片扩散法和 E. test 法进行细菌药敏实验检测。采用 ATB FUNGUS3 真菌药敏条进行真菌药敏实验检测。

2 结 果

2.1 不同科室标本血培养病原菌的检出率 血培养病原菌检出率最高的科室是血液病房, 其次为重症监护病房, 检出率分别为 11.72% 和 10.91%。各临床科室血培养病原菌检出率见表 1。

2.2 血培养病原菌菌种分布 36 636 份血培养标本共检出病原菌 2 107 株, 阳性率为 5.75%。其中, 革兰阳性菌 1 413 株 (67.06%), 革兰阴性菌 626 株 (29.71%), 真菌 68 株 (3.23%)。主要分离菌种为凝固酶阴性葡萄球菌 (CONS) 925 株 (44.03%), 其次是大肠埃希菌 196 株 (9.33%)、金黄色葡萄球菌 136 株 (6.46%)、肺炎克雷伯菌 121 株 (5.74%)、肠球菌属 104 株 (4.94%)、肺炎链球菌 72 株 (3.42%)、沙门菌属 57 株 (2.71%) 和铜绿假单胞菌 42 株 (1.99%), 其他菌种占 21.38%。

2.3 主要革兰阳性球菌耐药性 主要的革兰阳性球菌对青霉

素、红霉素、克林霉素耐药率高, 但对万古霉素和利奈唑胺敏感。共检出 36 株耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌 (MRSA) 和 823 株耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌 (MRCNS), 其耐药率分别为 27.21%、88.97%。主要革兰阳性菌的耐药率见表 2。

2.4 主要革兰阴性菌耐药性 革兰阴性菌对氨苄西林和一代头孢类菌素耐药率普遍较高, 最敏感的药物是碳青霉烯类。大肠埃希菌对美洛培南和亚胺培南的耐药率为 0.00%, 肺炎克雷伯菌对美洛培南和亚胺培南耐药率分别为 9.92%、11.57%。主要革兰阴性菌耐药率见表 3。

表 1 各临床科室血培养病原菌检出率

科室	送检数(n)	病原菌(n)	检出率(%)
重症监护病房	1 357	148	10.91
血液肿瘤病房	2 986	350	11.72
新生儿病房(含新生儿外科)	11 149	672	6.03
肿瘤病房	673	33	4.90
呼吸病房	6 188	236	3.81
骨科病房	326	25	7.67
神经内科	2 531	137	5.41
肾脏免疫	2 125	87	4.09
心脏内科	738	45	6.10

2.5 真菌耐药性 除葡萄牙假丝酵母菌和季也蒙假丝酵母菌对两性霉素 B 天然耐药外, 其余检出的真菌均对两性霉素 B 和 5-氟胞嘧啶敏感, 对氟康唑、伊曲康唑、伏立康唑不同程度耐药。主要真菌的耐药率见表 4。

表 2 主要革兰阳性菌的耐药率(%)

抗菌药物	CONS (n=925)	金黄色葡萄球菌 (n=136)	肠球菌属 (n=104)	肺炎链球菌 (n=72)	其他链球菌 (n=99)
利奈唑胺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
替考拉宁	0.00	0.00	0.00	—	0.00
万古霉素	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
氨苄西林	98.49	98.53	64.86	—	—
青霉素	98.27	98.53	70.27	18.06	41.57
红霉素	88.67	88.67	78.38	98.61	88.76
苯唑西林	88.97	27.21	—	—	—
克林霉素	72.56	72.06	39.64	94.44	70.53
庆大霉素	46.65	20.59	—	—	—
阿米卡星	4.77	1.50	—	—	—
环丙沙星	33.51	5.26	64.86	—	—
利福平	34.77	2.94	86.49	—	—
阿莫西林	—	—	—	8.57	25.30
头孢吡肟	—	—	—	10.00	31.63
头孢噻肟	—	—	—	5.71	31.96
复方磺胺甲噁唑	61.70	28.68	—	2.94	10.23
四环素	34.77	2.94	64.86	76.39	65.31

续表2 主要革兰阳性菌的耐药率(%)

抗菌药物	CONS (n=925)	金黄色葡萄球菌 (n=136)	肠球菌属 (n=104)	肺炎链球菌 (n=72)	其他链球菌 (n=99)
氯霉素	—	—	—	8.67	12.24
美洛培南	—	—	—	41.43	27.06
左旋氧氟沙星	—	—	—	0.00	6.19
泰利霉素	—	—	—	5.80	2.38
高浓度庆大霉素	—	—	52.72	—	—

—:未做药敏实验。

表3 主要革兰阴性菌耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=196)	肺炎克雷伯菌 (n=121)	铜绿假单胞菌 (n=42)	沙门氏菌属 (n=57)	阴沟肠杆菌 (n=14)	鲍曼不动杆菌 (n=17)	木糖产碱 OXLY 亚种(n=20)	嗜麦芽窄食单胞菌 (n=29)
阿莫西林/棒酸	27.18	60.33	—	10.71	—	—	—	—
氨苄西林/舒巴坦	50.77	79.34	—	79.34	—	35.29	0.00	—
哌拉西林/他唑巴坦	10.77	54.55	7.14	8.93	28.57	35.29	5.00	3.45
美洛培南	0.00	9.92	4.76	0.00	0.00	29.41	0.00	—
亚胺培南	0.00	11.57	4.76	0.00	0.00	29.41	0.00	—
环丙沙星	40.51	3.31	0.00	5.36	14.29	29.41	10.00	—
左旋氧氟沙星	40.00	0.83	7.14	3.57	14.29	29.41	5.00	0.00
氨苄西林	90.26	—	—	62.50	—	—	0.00	—
头孢唑林	73.33	88.43	—	—	—	—	0.00	—
氨曲南	49.74	76.03	11.90	17.86	28.57	—	—	—
头孢噻肟	70.26	84.30	—	10.71	42.86	47.06	—	—
头孢吡肟	59.49	74.38	11.90	14.29	21.43	41.18	50.00	—
头孢他啶	39.49	75.21	16.67	10.71	28.57	41.18	15.00	27.59
庆大霉素	52.82	39.67	11.90	—	21.43	52.94	—	—
阿米卡星	1.54	1.65	2.38	—	0.00	23.53	—	—
四环素	61.54	39.67	—	39.29	28.57	35.29	15.00	—
复方磺胺甲噁唑	68.21	42.15	—	26.79	35.71	41.18	5.00	3.45
氯霉素	32.82	33.88	—	58.93	35.71	23.53	10.00	17.24

—:未做药敏实验。

表4 主要真菌的耐药率(%)

抗菌药物	白假丝酵母菌 (n=27)	近平滑假丝酵母菌 (n=24)	光滑假丝酵母菌 (n=5)	热带假丝酵母菌 (n=5)	季也蒙假丝酵母菌 (n=2)	葡萄牙假丝酵母菌 (n=2)	无名假丝酵母菌 (n=3)
5-氟胞嘧啶	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
两性霉素B	0.00	0.00	0.00	0.00	—	—	0.00
氟康唑	7.41	0.00	20.00	20.00	0.00	0.00	0.00
伊曲康唑	22.22	0.00	20.00	20.00	0.00	0.00	0.00
伏立康唑	11.11	0.00	20.00	20.00	0.00	0.00	0.00

—:未做药敏实验。

3 讨论

本院近5年儿童血培养阳性率为5.75%，略低于国内外的相关报道，其原因可能与采血量、检测次数、采血时间等因素相关^[1-5]。在检出的病原菌中，革兰阳性菌占67.06%，其中以CONS最多，占43.94%；革兰阴性菌占29.71%，其中以大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、沙门菌属、铜绿假单胞菌为主；真菌占3.23%。这说明CONS是儿科血培养检出的主要病原菌，与

近年来全国其他地区相关报道相似^[2]。虽然CONS是一类条件致病菌，但由于儿童免疫功能发育不全，较易受到此类细菌侵袭，因此近年来CONS越来越受到儿科临床医师的关注和重视。本研究结果还显示，血液病房和重症监护病房血培养阳性检出率相对较高，这可能与上述病房的患儿大多自身免疫力低下，更易受CONS等条件致病菌侵袭有关。因此临床应加强对这些病房患儿的监护。

本研究显示,常见革兰阳性菌对青霉素的耐药率大于98%,与国内类似研究报道相似,但高于国外相关报道^[4-5]。这可能与国内、外处方用习惯不同相关。本研究未检出耐万古霉素革兰阳性菌。MRCNS 检出率为 88.97%,耐药率高于其他地区,提示本院患者 MRCNS 感染严重^[2-3,6-7]。目前,国内治疗 MRCNS 引起的败血症首选万古霉素,为了防止耐万古霉素葡萄球菌的出现,应监控此类细菌的耐药性,严格控制万古霉素的使用。本研究中,MRSA 检出率为 27.21%,低于深圳、南京地区,但高于上海地区^[6-7]。MRSA 是医院感染的常见病原菌,应防止其暴发流行和加强院感监测。本研究显示,肠球菌属对氨苄西林、青霉素的耐药率均大于 60.00%,对大环内酯类的耐药率大于 75.00%,但对糖肽类抗菌药物敏感性较高,提示治疗重症肠球菌感染时,可考虑采用糖肽类药物。肺炎链球菌除对糖肽类敏感外,对左旋氧氟沙星敏感率大于 90.00%。与其他革兰阳性菌相比,肺炎链球菌对青霉素的耐药率偏低,为 18.06%,但对大环内酯类红霉素耐药率偏高,为 98.61%,提示临床治疗时不宜选择大环内酯类作为经验性用药。

革兰阴性杆菌对亚胺培南、美洛培南敏感率均较高,对氨苄西林普遍耐药。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对 β -内酰胺类药物耐药率较高。非发酵菌对阿米卡星、亚胺培南的敏感率均大于 70.00%,嗜麦芽窄食单胞菌对复方磺胺甲噁唑和左旋氧氟沙星敏感,耐药率小于 5.00%。虽然革兰阴性菌引起的败血症发病率低于革兰阳性菌,但前者的耐药菌株并不少见。本研究从血培养阳性瓶中分离出的 196 株大肠埃希菌中,其中产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs) 菌株 102 株,占 52.04%,高于南京、上海地区^[7-8]。由于产 ESBLs 菌株的多重耐药基因位于质粒中,多重耐药性容易在不同细菌间传递,因此不仅需要根据药敏实验结果选择有效的抗菌药物,还应加强消毒隔离工作,防止病原菌播散。

在本研究中,真菌的检出率为 3.23%,略低于综合性医院^[9-10]。除天然耐药菌株外,本研究未发现耐两性霉素 B 酵母样真菌,因此两性霉素 B 仍是治疗真菌感染的有效药物之一。本研究检出的酵母样真菌对 5-氟胞嘧啶、氟康唑、伊曲康唑的耐药率低于类似文献报道^[8],但真菌是医院感染的重要病原

(上接第 1331 页)

菌对美洛培南的耐药率相对较低,但仍达到了 0.40%,提示在把美洛培南作为肺炎克雷伯菌严重感染的首选药物时,应加强标本检测,尤其是药敏实验检测,避免滥用碳青霉烯类药物,从而减少产青霉烯水解酶(KPC)肺炎克雷伯菌的产生。

综上所述,肺炎克雷伯菌易通过可产生 ESBLs、AmpC 或 KPC 的质粒,携带多种耐药基因,并通过质粒实现耐药性转移,因此除给予老年患者提高免疫功能的综合治疗外,还需根据药敏实验结果和细菌监测数据,选用相对敏感的抗菌药物。此外,应及时制订切合实际的治疗方案,加强高危科室的管理,提高医务人员无菌操作意识,做好环境卫生及物品消毒,临床实验室则应加强细菌耐药基因检测和耐药性监测,从而减少多重耐药菌株的产生,延缓细菌耐药性的出现。

参考文献

[1] 寿叶女,陈建江,单平园,等.405 株肺炎克雷伯菌感染临床分布与

菌,且引起的败血症患者病死率高,因此应警惕耐药株的出现,防止院内感染的发生。

总之,革兰阳性菌是本院患儿血培养的主要病原菌,大部分病原菌对常用抗菌药物耐药率较高,应重视血培养病原菌检测及耐药性分析,根据药敏特性个体化选药,避免盲目使用广谱抗菌药物,以减缓和控制多重耐药菌株的产生,同时提高治愈率。

参考文献

- [1] 王新德,王钦仁.住院儿童血培养病原菌分布及耐药性分析[J].检验医学与临床,2011,8(18):2183-2184.
- [2] 李树林.儿科血培养病原菌类型及其耐药性分析[J].中国卫生检验杂志,2011,21(2):410-411.
- [3] 刘玲,王春香.新生儿败血症的细菌分布耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2006,16(5):582-585.
- [4] Dagnew M, Yismaw G, Gizachew M, et al. Bacterial profile and antimicrobial susceptibility pattern in septicemia suspected patients attending Gondar University Hospital, Northwest Ethiopia[J]. BMC Res Notes, 2013, 22(6):283-286.
- [5] Tiwari DK, Golia S. A study on the bacteriological profile and antibiogram of bacteremia in children below 10 years in a tertiary care hospital in Bangalore, India[J]. J Clin Diagn Res, 2013, 7(12):2732-2735.
- [6] 吴跃平,章文,陈运生,等.儿童血培养病原菌分布及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2006,16(4):463-465.
- [7] 侯红,高岭,王霞,等.2009 至 2011 年南京地区儿童血培养中病原菌分布及耐药性分析[J].检验医学,2013,28(11):1030-1033.
- [8] 徐凯.血培养标本中病原真菌的分布及药敏结果分析[J].海南杂志医学,2010,21(22):32-33.
- [9] 黄卫春,沈蕙颖,项盈,等.7688 份儿童血培养病原菌分布及耐药性分析[J].检验医学,2012,27(6):467-470.
- [10] 白书媛,闵嵘,张丽丽,等.某三级医院连续 4 年血培养分离菌构成及耐药性[J].中国感染与控制杂志,2014,13(2):85-88.

(收稿日期:2015-01-02)

-
- 耐药研究[J].中华医院感染学杂志,2012,22(3):614-616.
 - [2] 丁金龙,杨丽,应群华,等.2008-2010 年肺炎克雷伯菌的感染分布及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2012,12(8):1697-1699.
 - [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S21 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2011.
 - [4] 汪复,朱德妹,胡付品,等.2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2013,13(5):321-330.
 - [5] 胡志军,潘晓龙,周东升,等.肺炎克雷伯菌感染的临床分布及耐药性监测[J].中华医院感染学杂志,2014,24(2):2865-2867.
 - [6] 卢赛飞,张建礼.415 株肺炎克雷伯菌的临床分布及耐药性分析[J].国际检验医学杂志,2014,35(11):3076-3077.
 - [7] 胡志军,潘晓龙,周东升,等.肺炎克雷伯菌感染的临床分布及耐药性监测[J].中华医院感染学杂志,2014,24(12):2865-2867.

(收稿日期:2015-01-02)