

• 论 著 •

儿童化脓性骨与关节感染的细菌耐药分析

郭 宇,梁玉龙,魏 莹,刘 薇
北京积水潭医院检验科,北京 100035

摘 要:**目的** 调查分析儿童化脓性骨与关节感染的致病菌类型及其耐药情况,为临床合理使用抗菌药物提供参考。**方法** 回顾性分析 2015—2020 年该院收治的骨髓炎和化脓性关节炎患儿的细菌培养结果,测定细菌对多种抗菌药物的最低抑菌浓度,统计主要致病菌对临床常用抗菌药物的耐药率,比较骨髓炎和化脓性关节炎、学龄前儿童和学龄儿童组间耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的检出率及耐药率。**结果** 共分离 170 株致病菌,其中金黄色葡萄球菌占比 61.2%(104/170);金黄色葡萄球菌对青霉素、红霉素耐药率较高,分别为 98.1%(102/104)和 73.1%(76/104);MRSA 总检出率为 31.7%(33/104),骨髓炎和化脓性关节炎、学龄前儿童和学龄儿童组 MRSA 检出率,差异无统计学意义($P>0.05$);MRSA 对红霉素、克林霉素、环丙沙星表现出更强的耐药性,未发现对万古霉素、利奈唑胺耐药的葡萄球菌。**结论** 金黄色葡萄球菌是儿童骨与关节化脓性感染的主要致病菌,MRSA 对红霉素和克林霉素的耐药率很高,对万古霉素、利奈唑胺全部敏感,故万古霉素、利奈唑胺可作为抗感染治疗的选择。

关键词:骨髓炎; 化脓性关节炎; 致病菌; 耐药; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.13.020

中图法分类号:R446.5;R684.3

文章编号:1673-4130(2021)13-1618-04

文献标志码:A

Bacterial drug resistance analysis of suppurative bone and joint infection in children

GUO Yu, LIANG Yulong, WEI Ying, LIU Wei

Department of Clinical Laboratory, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China

Abstract:**Objective** To investigate and analyze pathogenic bacteria types and drug resistance of suppurative bone and joint infections in children, and to provide reference for rational use of antibiotics in clinic. **Methods** Retrospectively analyzed the bacterial culture results of children with osteomyelitis and suppurative arthritis treated in this hospital from 2015 to 2020, determined the minimum inhibitory concentration of bacteria to a variety of antibiotics, and counted the drug resistance rate of main pathogenic bacteria to commonly used antibiotics clinically. The detection rate and drug resistance rate of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) were compared between the groups of osteomyelitis and suppurative arthritis and the groups of pre-school and school-age children. **Results** A total of 170 strains of bacteria were isolated from these patients, Staphylococcus aureus accounted for 61.2%(104/170) of the 170 isolates. The drug resistance rates of Staphylococcus aureus to penicillin and erythromycin were 98.1%(102/104) and 73.1%(76/104) respectively. The total detection rate of MRSA was 31.7%(33/104), and there was no significant difference in the detection rate between children with osteomyelitis and suppurative arthritis, preschoolers and school-age children ($P>0.05$). MRSA showed stronger resistance to erythromycin, clindamycin and ciprofloxacin, and no staphylococci resistant to vancomycin and linezolid were found. **Conclusion** Staphylococcus aureus is the main pathogenic bacteria in children with bone and joint purulent infections. MRSA has a high drug resistance rate to erythromycin and clindamycin, and is sensitive to vancomycin and linezolid, so vancomycin and linezolid can be used as the choice of anti-infection treatment.

Key words: osteomyelitis; suppurative arthritis; pathogen; antibiotic resistance; children

儿童骨与关节感染是严重影响小儿生长发育的感染性疾病,主要由骨髓炎及化脓性关节炎导致,分别约占 52%和 41%^[1]。近年来儿童骨髓炎和化脓性关节炎发病率有增加趋势,特别是在发展中国家^[2-3]。

如果不能有效控制骨与关节化脓性感染,致病菌持续侵袭骨膜、骨质、髓腔及周围组织,进一步形成死腔、死骨,可导致患儿肢体功能障碍乃至丧失,致残率高。尽早诊断、清除病灶、修复创面、合理使用抗菌药物是

作者简介:郭宇,男,副主任医师,主要从事临床感染性疾病的病原学及耐药机制研究。

本文引用格式:郭宇,梁玉龙,魏莹,等.儿童化脓性骨与关节感染的细菌耐药分析[J].国际检验医学杂志,2021,42(13):1618-1621.

治愈此类疾病的主要手段,其中致病菌类型和药敏试验结果尤为关键^[4]。革兰阳性球菌是儿童骨与关节感染的主要病原菌,其对抗菌药物的耐药性具有一定的地域差异性,且随着抗菌药物的广泛应用,细菌耐药性增加已成为临床医师面对的棘手问题。本文对北京积水潭医院小儿骨科收治的 173 例骨与关节化脓性感染患儿的致病菌分布及耐药情况进行分析,以期为临床合理选择和使用抗菌药物提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1 月至 2020 年 11 月北京积水潭医院小儿骨科收治的骨髓炎与化脓性关节炎患儿 170 例,其中男童 102 例,女童 68 例,年龄 4 个月至 14 岁,平均(8.4±3.6)岁;骨髓炎 96 例,化脓性关节炎 74 例。所有患儿根据病史、临床表现、实验室、影像学、病理及微生物学检查均明确诊断,排除由外伤、手术或医源性损伤引起的骨关节感染。

1.2 仪器与试剂 全自动体液及血液培养系统(BACTEC™ FX100,美国 BD 公司);基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MAIDI-TOF MS,德国 Bruker 公司);全自动微生物鉴定及药敏系统(VITEK2 Compact,法国梅里埃公司);各类细菌培养基(英国 Oxoid 公司)。

1.3 方法 关节液培养使用 BACTEC™ FX100 全自动体液及血液培养系统,脓液及组织标本细菌培养采用各类细菌培养基。剔除重复菌株后共 170 株菌株用于本次分析。菌种鉴定及抗菌药物药敏试验的质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213、粪肠球菌 ATCC29212、大肠埃希菌 ATCC25922。菌株分离纯化后,使用 MALDI-TOF MS 检测系统进行细菌种属鉴定,使用 VITEK2 Compact 药敏分析系统测定 12 种抗菌药物最低抑菌浓度(MIC)。根据美国临床实验室标准化协会(CLSI)2019 版 M100-S29 中的折点判读标准,将药敏试验结果分为耐药、中介、敏感,若金黄色葡萄球菌对苯唑西林 MIC≥4.00 mg/L,判定为甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)。

1.4 统计学处理 采用 Whonet5.6 软件计算细菌对抗菌药物的敏感率、中介率、耐药率,以及每种抗菌药物的 50%抑菌浓度(MIC₅₀)、90%抑菌浓度(MIC₉₀)及 MIC 范围。采用 SPSS26.0 统计学软件对数据进行分析,计数资料以率(%)表示,组间 MRSA 检出率

比较采用 χ^2 检验,频数<5 时则采用 Fisher 精确检验,MRSA 与甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)的药敏结果比较,采用 Wilcoxon 秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细菌培养结果 170 例患儿标本中共培养出 21 种细菌,葡萄球菌占 80.6%(137/170),其中金黄色葡萄球菌占 61.2%(104/170),非发酵革兰阴性杆菌占 8.2%(14/170),肠杆菌科细菌占 3.5%(6/170)。致病菌种类及构成比见表 1。

表 1 儿童骨髓炎与化脓性关节炎的致病菌种类		
致病菌种类	株数(n)	构成比(%)
葡萄球菌		
金黄色葡萄球菌	104	61.2
表皮葡萄球菌	15	8.8
其他凝固酶阴性葡萄球菌	18	10.6
非发酵革兰阴性杆菌		
铜绿假单胞菌	4	2.4
鲍曼不动杆菌	4	2.4
其他	6	3.5
肠杆菌科	6	3.5
肠球菌	5	2.9
其他细菌	8	4.7
合计	170	100.0

2.2 主要致病菌的药敏试验结果及 MIC 分布 共检出金黄色葡萄球菌 104 株,其中骨髓炎中检出 56 株,化脓性关节炎中检出 48 株。药敏试验结果显示,耐药率最高的是青霉素为 98.1%(102/104),其次是红霉素 73.1%(76/104),喹诺酮类药物和利福平的耐药率较低,均在 2%以下,未检出对万古霉素和利奈唑胺的耐药株。金黄色葡萄球菌对临床常用 12 种抗菌药物的耐药率、敏感率及 MIC 分布见表 2。

2.3 MRSA 与甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌的药敏试验结果比较 本研究共检出 MRSA 33 株,检出 MSSA 71 株,MRSA 对红霉素、克林霉素和环丙沙星的耐药率明显高于 MSSA,差异有统计学意义($P<0.05$);未检出对利奈唑胺和万古霉素耐药的菌株。MRSA 与 MSSA 对不同抗菌药物的药敏试验结果见表 3。

表 2 104 株金黄色葡萄球菌对 12 种抗菌药物的耐药情况及 MIC 分布						
抗菌药物	耐药(%)	中介(%)	敏感(%)	MIC ₅₀ (mg/L)	MIC ₉₀ (mg/L)	MIC 范围(mg/L)
青霉素	98.1	0.0	1.8	0.5	0.5	0.03~0.50
苯唑西林	32.1	0.0	67.9	0.5	4.0	0.25~4.00
庆大霉素	7.3	2.0	90.8	0.5	16.0	0.50~16.00
利福平	2.0	0.0	98.0	0.5	0.5	0.50~32.00
环丙沙星	2.0	4.2	93.9	0.5	1.0	0.25~8.00

续表 2 104 株金黄色葡萄球菌对 12 种抗菌药物的耐药情况及 MIC 分布

抗菌药物	耐药(%)	中介(%)	敏感(%)	MIC ₅₀ (mg/L)	MIC ₉₀ (mg/L)	MIC 范围(mg/L)
左旋氧氟沙星	1.3	1.3	97.5	0.3	0.5	0.12~4.00
莫西沙星	1.3	0.0	98.7	0.3	0.3	0.25~8.00
复方磺胺甲噁唑	14.3	0.0	85.8	12.0	96.0	1.00~320.00
克林霉素	38.5	0.0	61.9	0.5	8.0	0.25~8.00
红霉素	73.1	0.0	26.3	8.0	8.0	0.25~8.00
利奈唑胺	0.0	0.0	100.0	2.0	2.0	1.00~4.00
万古霉素	0.0	0.0	100.0	0.5	1.0	0.50~2.00

表 3 MRSA 与 MSSA 对 12 种抗菌药物的药敏试验结果比较(n)

抗菌药物	MRSA(n=33)			MSSA(n=71)			Z	P
	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感		
青霉素	33	0	0	68	0	3	-1.166	0.244
苯唑西林	33	0	0	0	0	71	N/A	N/A
庆大霉素	2	1	30	6	1	64	-0.403	0.687
利福平	2	1	30	0	0	71	-1.360	0.174
环丙沙星	3	2	28	1	1	69	-1.951	0.047
左旋氧氟沙星	1	1	31	0	0	71	-1.490	0.136
莫西沙星	1	1	31	0	0	71	-1.500	0.134
复方磺胺甲噁唑	3	1	29	11	0	60	-0.810	0.418
克林霉素	22	1	10	15	0	56	-4.688	<0.001
红霉素	29	1	3	47	0	24	-2.677	0.007
利奈唑胺	0	0	33	0	0	71	N/A	N/A
万古霉素	0	0	33	0	0	71	N/A	N/A

注:N/A 表示未做统计学分析。

2.4 不同疾病、不同年龄组中 MRSA 检出情况比较 骨髓炎及化脓性关节炎患儿 MRSA 总检出率为 31.7%(33/104)。化脓性关节炎患儿中 MRSA 检出率为 37.5%(18/48),其中学龄前儿童(≤6 岁,共 18 例)为 38.9%(7/18),学龄儿童(>6~16 岁,30 例)为 36.7%(11/30)。骨髓炎患儿中 MRSA 的总检出率为 26.8%(15/56),学龄前儿童(13 例)为 15.4%(2/13),学龄儿童(43 例)为 27.9%(12/43)。骨髓炎和化脓性关节炎患儿、学龄前儿童和学龄儿童 MRSA 检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 不同疾病、不同年龄组中 MRSA 检出情况比较(n)

细菌	骨髓炎(n=48)		化脓性关节炎 n=56	
	学龄前儿童	学龄儿童	学龄前儿童	学龄儿童
MRSA	2	13	7	11
MSSA	11	30	11	19

3 讨 论

近年来,特别是在发展中国家,儿童骨与关节感染发生率有所增加^[2]。此类疾病以形成窦道、死骨死腔、全身感染为主要症状,伴有多种并发症,如缺血性坏死、病理性骨折、深静脉血栓、肢体长度差异等^[5],严重影响儿童的生长发育。小儿骨髓炎和化脓性关

节炎发病隐匿,由于患儿通常不能清楚描述症状,多表现为拒绝活动或行走、拒绝负重等^[6],加之医生认知不足,造成该病早期诊断较困难,易被漏诊。

根据致病菌种类和药敏试验结果合理使用抗菌药物是治疗此类疾病的重要手段。儿童骨骼肌感染多由革兰阳性球菌经血源性、创伤性途径导致,其中金黄色葡萄球菌是最主要的致病菌^[7]。本研究中,金黄色葡萄球菌在儿童骨关节感染病原菌的构成比为 60.1%,远高于其他病原菌,与 DUMAN 等^[8]报道一致。金黄色葡萄球菌属高毒力细菌,可分泌杀白细胞素(PVL),这种坏死性毒素增加了细菌对骨关节的侵袭力,表明 PVL 阳性菌株与更高的败血症发生率、更长的住院时间和抗菌药物使用疗程、更多的手术介入相关^[9]。本研究中,金黄色葡萄球菌耐药率最高的抗菌药物是青霉素和红霉素,二者均为儿科常用药物,而喹诺酮类药物耐药率虽然很低,却属于儿童禁忌药物之一,提示儿童患者群体抗感染治疗时面临挑战,临床医生需更多的关注细菌药敏试验结果。

此外,MRSA 菌株因具有更强的耐药性,且流行率有上升趋势,已成为临床治疗的棘手问题。应灏等^[10]研究显示,15 例金黄色葡萄球菌中仅检出 2 例 MRSA,而近期张天久等^[11]报道显示,MRSA 检出率

高于 50%。儿童骨感染 MRSA 流行率另一个特点是具有明显的地域差异:美国报道 MRSA 流行率 30%~40%^[2],意大利仅为 8.5%^[2],而沙特阿拉伯在此类感染中未检出 MRSA^[12]。上述数据提示,研究并了解本地区儿童化脓性骨与关节感染患者金黄色葡萄球菌、MRSA 的感染率及相应药敏状况具有重要意义。本研究中,MRSA 检出率为 31.7%,较以往数据有所降低,这种下降趋势也出现在成人感染中^[13],可能与我国近年来更加严格控制和合理使用抗菌药物有关。本研究结果显示,不同疾病、不同年龄组患儿 MRSA 检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),其原因可能是儿童骨骼较短,骨髓炎如邻近关节,可导致化脓性关节炎,化脓性关节炎也可导致干骺端骨髓炎,二者可以合并感染,有时也是感染进展过程中的不同阶段。

MRSA 受 *mecA* 基因介导产生独特的青霉素结合蛋白(PBPs)即 PBP2a,表现为对 β 内酰胺类和头孢类抗菌药物耐药。有研究发现,除上述抗菌药物外,与 MSSA 相比,MRSA 还表现出对氨基糖苷类、大环内酯类、氟喹诺酮类、四环素类及利福平较高的耐药率^[14],故治疗 MRSA 可选择的抗菌药物十分有限。本研究发现,MRSA 对红霉素、克林霉素及环丙沙星的耐药性显著高于 MSSA,差异有统计学意义($P<0.05$),红霉素和克林霉素都属儿科常用药物,这增加了控制儿童骨关节感染的难度;但儿童感染中的 MRSA 与成人相比,耐药率整体较低^[16]。目前,万古霉素是治疗 MRSA 感染的一线用药,国内尚鲜见对万古霉素耐药的金黄色葡萄球菌的报道,但有研究表明万古霉素对金黄色葡萄球菌的 MIC 值有增高趋势;即使是在敏感范围,万古霉素治疗失败率与 MIC 值相关^[15]。本文中葡萄球菌对万古霉素全部敏感,但监测其 MIC 值变化仍十分必要。

儿童骨髓炎及化脓性关节炎的主要致病菌是葡萄球菌,其中金黄色葡萄球菌占比最高,MRSA 对红霉素和克林霉素耐药率很高,对万古霉素、利奈唑胺全部敏感,可作为抗感染治疗的选择。本研究也存在一些局限性,儿童骨髓炎和化脓性关节炎存在交互关系,由于骨髓炎合并关节炎的病例数较少,暂未纳入分析。本研究也发现儿童骨感染中 MRSA 耐药性与成人差别较大,其毒力基因、耐药机制等有待进一步深入研究。

参考文献

[1] MITHA A,BOUTRY N,NECTOUX E,et al. Community-acquired bone and joint infections in children:a 1-year prospective epidemiological study[J]. Arch Dis Child, 2015,100:126-129.

[2] DARTNELL J,RAMACHANDRAN M,KATCHBURI-

AN M. Haematogenous acute and subacute paediatric osteomyelitis: a systematic review of the literature[J]. J Bone Joint Surg Br,2012,94(5):584-595.

[3] RIISE O R,KIRKHUS E,HANDELAND K S,et al. Childhood osteomyelitis-incidence and differentiation from other acute onset musculoskeletal features in a population-based study[J]. BMC Pediatr ,2008,8:45.

[4] AGARWAL A,AGGARWAL A N. Bone and joint infections in children: septic arthritis[J]. Indian J Pediatr, 2016,83(8):825-833.

[5] AGARWAL A,AGGARWAL A N. Bone and joint infections in children: acute hematogenous osteomyelitis[J]. Indian J Pediatr,2016,83(8):817-824.

[6] MORO-LAGO I,TALavera G,MORALEDA L,et al. Clinical presentation and treatment of septic arthritis in children[J]. Rev Esp Cir Ortop Traumatol,2017,61(3): 170-175.

[7] FILLERON A,LAURENS M E,MARIN G,et al. Short-course antibiotic treatment of bone and joint infections in children;a retrospective study at Montpellier University Hospital from 2009 to 2013[J]. J Antimicrob Chemother, 2019, 74(12):3579-3587.

[8] DUMAN S,CAMURCU Y,UCPUNAR H,et al. Arthroscopic treatment of acute septic arthritis of the hip joint in pediatric patients aged 10 years or younger[J]. Arthroscopy,2020,36(2):464-472.

[9] CONGEDI S,MINOTTI C,GIAQUINTO C,et al. Acute infectious osteomyelitis in children:new treatment strategies for an old enemy[J]. World J Pediatr,2020, 16(5): 446-455.

[10] 应灏,焦勤. 72 例儿童骨与关节化脓性感染的临床分析[J]. 中华医院感染学杂志,2004,14(9):1013-1015.

[11] 张天久,俞松,杨小红,等. 儿童骨关节化脓性感染 102 例致病菌与耐药性分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2017, 32(10):756-758.

[12] ILYAS I,AL-RABIAH A M,ALHUSSAINAN T S,et al. Principles of bone and tissue banking in Saudi Arabia:10-year experience report[J]. Cell Tissue Bank,2020;1-9.

[13] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2019 年 CHINET 三级医院细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2020,20(3):233-243.

[14] 郭宇,王辉,赵春江,等. 2013 年中国革兰阳性球菌多中心耐药监测研究[J]. 中华检验医学杂志,2015,38(6): 373-381.

[15] CHANG C N,LO W T,CHAN M C,et al. An investigation of vancomycin minimum inhibitory concentration creep among methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from pediatric patients and healthy children in Northern Taiwan[J]. J Microbiol Immunol Infect,2017,50(3):362-369.