

血流感染病原菌的临床分布及耐药性分析*

陶运娟¹, 周跃¹, 刘连庚¹, 黄宏亮², 秦阳华^{3△} (1. 江苏省盐城市中医院检验科 224001; 2. 江苏省盐城市中心血站检验科 224001; 3. 第二军医大学附属长海医院实验诊断科, 上海 200433)

【摘要】 目的 分析长海医院 2009 年 1 月至 2013 年 12 月血流感染病原菌的菌种构成比、临床分布及耐药性分析, 指导临床合理使用抗菌药物。方法 采用 VITEK2-Compact 系统鉴定细菌及药敏试验。采用 WHONET5.6 软件分析血培养标本所分离的病原菌分布情况和药敏试验结果。结果 1 641 株血流感染病原菌中, 革兰阳性菌 373 株 (22.74%), 肠杆菌科细菌 933 株 (56.85%), 非发酵菌 291 株 (17.73%), 真菌 44 株 (2.68%)。分离率为前 5 位的病原菌分别是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌和凝固酶阴性葡萄球菌。药敏试验结果显示, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌为 61.70%, 未发现对万古霉素耐药的葡萄球菌, 耐万古霉素肠球菌为 4.23%, 肺炎克雷伯菌对亚胺培南耐药率达到 13.30%, 非发酵菌表现为多重耐药。结论 长海医院血流感染以肠杆菌科细菌为主, 其次为阳性球菌和非发酵菌, 除细菌外, 念珠菌血流感染也越来越常见, 临床应重视血流感染的病原菌及耐药趋势, 控制院内感染。

【关键词】 血流感染; 病原菌; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.09.019 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)09-1228-03

Clinical distribution and drug resistance of pathogens isolated from bloodstream infections* TAO Yun-juan¹, ZHOU Yue¹, LIU Lian-geng¹, HUANG Hong-liang², QIN Yang-hua^{3△} (1. Department of Clinical Laboratory, Yancheng Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yancheng, Jiangsu 224001, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Blood Center, Yancheng, Jiangsu 224001, China; 3. Department of Laboratory Diagnosis, Affiliated Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

【Abstract】 **Objective** To analyze the composition ratio, clinical distribution and drug resistance of pathogens isolated from bloodstream infections (BSIs) from Shanghai Changhai hospital for guiding rational use of antibacterial drugs in clinic. **Methods** The identification and antimicrobial susceptibility test of pathogens causing BSIs were performed by using the VITEK 2-Compact system. The obtained data were processed with WHONET5.6 software for evaluating the clinical distribution and drug resistance of isolated pathogens. **Results** Among 1 641 strains of bloodstream infection pathogens, 373 strains (22.74%) were Gram-positive bacteria, 933 strains (56.85%) were Enterobacteriaceae bacteria, 291 strains (17.73%) were non-fermenters and 44 strains (2.68%) were fungi. The top 5 pathogens in the isolation rates were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and coagulase-negative staphylococci (CoNS). The antimicrobial susceptibility test showed that 61.70% isolated strains of staphylococci aureus were resistant to methicillin; 4.23% isolated strains of enterococci feces were resistant to vancomycin; 13.30% isolated strains of *Klebsiella pneumoniae* were resistant to carbapenems; most isolated strains of non-fermenters bacteria were multi-drug resistant. **Conclusion** The most common pathogens of BSIs in Changhai hospital are dominated by enterobacteriaceae bacteria, followed by Gram-positive bacteria and non-fermentative bacteria. In addition to bacteria, candidemia are more and more common in nosocomial bloodstream infection. Increasing attention should be paid to the pathogens causing bloodstream infections and their drug resistant trend for controlling the nosocomial infections.

【Key words】 bloodstream infections; pathogen; resistant pattern

血流感染属于比较严重的感染性疾病, 其致死率较高, 实验室血培养是血流感染疾病的重要诊断方法, 通过血培养和体外药敏试验可明确病原菌的种类与耐药性, 对疾病的诊治有重要意义。本研究对长海医院 2009 年 1 月至 2013 年 12 月 1 641 例阳性血培养结果进行回顾性调查, 分析血培养阳性标本中病原菌种类、临床分布和耐药性特征, 为临床合理使用抗菌药物治疗菌血症提供依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源 回顾分析 2009 年 1 月至 2013 年 12 月长海医院住院患者的血培养病原菌株, 剔除同一患者相同部位的重复菌株。

1.2 仪器与试剂 Bactec9240 全自动血液培养仪 (美国 BD

公司生产) 及配套血培养瓶。VITEK 2-Compact 全自动细菌鉴定仪 (法国生物梅里埃公司) 及配套细菌鉴定药敏卡片。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 在患者高热寒战时及抗菌药物治疗前或者下一次抗菌药物使用前无菌采集血标本, 成人采集 8~10 mL 每瓶, 一套为 2 瓶, 分别为需氧瓶和厌氧瓶, 采集 2~3 套。儿童采集 1~3 mL 每瓶, 一般只做需氧瓶, 24 h 内采集 2~3 次, 混匀后立即送检。

1.3.2 细菌培养及分离 全自动血培养仪报警提示阳性, 需氧瓶转种血平板、麦康凯平板和巧克力平板, 厌氧瓶转种血平板、麦康凯平板和厌氧平板, 必要时另转种念珠菌显色平板。

* 基金项目: 国家科技部 863 项目子课题 (2011AA02A119)。

作者简介: 陶运娟, 女, 本科, 主管检验师, 主要从事临床微生物检验。△ 通讯作者, E-mail: qinyanghua@smmu.edu.cn。

置 35℃、5%CO₂ 孵箱培养 18~24 h,并且同时行革兰染色镜检,及时将初步涂片结果报告给临床医生。

1.3.3 菌株鉴定及药敏试验 用 VITEK2-Compact 全自动细菌鉴定仪进行鉴定和药敏试验,根据临床和实验室标准化协会(CLSI)第 23 版(2013 年)标准判读结果。所有操作严格按照《全国临床检验操作规程》第 3 版进行。

1.4 质控菌株 金黄色葡萄球菌(ATCC 29213)、粪肠球菌(ATCC 29212)、大肠埃希菌(ATCC 25922)和(ATCC 35218)和铜绿假单胞菌(ATCC 27853)。

1.5 统计学处理 采用 WHONET5.6 软件对病原菌的分布和药敏试验结果进行分析,剔除同一患者的相同菌株。

2 结果

2.1 病原菌种类与构成比 1 641 株阳性标本中,革兰阳性球菌 373 株(22.73%),其中凝固酶阴性葡萄球菌 127 株(7.74%),金黄色葡萄球菌 94 株(5.73%),屎肠球菌 71 株(4.33%),粪肠球菌 59 株(3.60%),B 群 β-溶血链球菌 8 株(0.49%),肺炎链球菌 7 株(0.43%),鸟肠球菌 4 株(0.24%),草绿色链球菌 3 株(0.18%);肠杆菌科细菌 933 株(56.85%),其中大肠埃希菌 514 株(31.32%),肺炎克雷伯菌 278 株(16.94%),阴沟肠杆菌阴沟亚种 63 株(3.84%),产气肠杆菌 24 株(1.46%),奇异变形杆菌 20 株(1.22%),黏质沙雷菌黏质亚种 15 株(0.91%),摩根摩根菌 8 株(0.49%),弗劳地柠檬酸杆菌 7 株(0.43%),沙门菌属 4 株(0.24%);非发酵革兰阴性杆菌 291 株(17.73%),其中鲍曼不动杆菌 136 株(8.29%),铜绿假单胞菌 132 株(8.04%),嗜麦芽芽食单胞菌 14 株(0.85%),洋葱伯克霍尔德菌 9 株(0.55%);真菌 44 株为白色念珠菌 44 株(2.68%)。

2.2 致病菌临床科室分布情况 见图 1。分离的阳性标本主要分布于消化科、血液科、普外科、胸外科等。

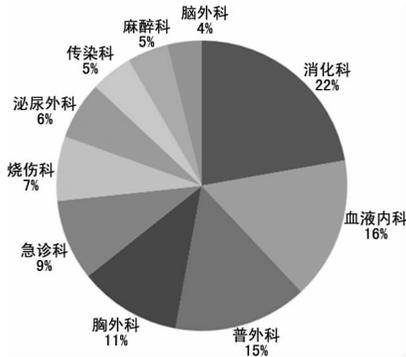


图 1 血流感染病原菌科室分布 (%)

2.3 分离的主要肠杆菌科细菌对抗菌药物的耐药情况 见表 1。肠杆菌科主要细菌对阿米卡星和碳青霉烯类的亚胺培南较敏感,对头孢类耐药率较高。

表 1 主要肠杆菌科细菌对抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=514)	肺炎克雷伯菌 (n=278)	阴沟肠杆菌阴沟 亚种(n=63)
阿米卡星	22(4.28)	41(14.75)	4(6.35)
头孢唑啉	355(69.06)	134(48.20)	61(96.83)
头孢他啶	153(29.77)	86(30.94)	23(36.51)
头孢曲松	337(65.56)	114(41.01)	26(41.27)
环丙沙星	372(72.37)	89(32.01)	10(15.87)
庆大霉素	278(54.09)	93(33.45)	9(14.29)
亚胺培南	4(0.78)	37(13.30)	3(4.76)
复方磺胺甲噁唑	326(63.42)	84(30.22)	15(23.81)
氨苄西林	454(88.33)	218(78.42)	46(73.02)
头孢吡肟	93(18.09)	47(16.91)	6(9.52)

2.4 分离的主要革兰阳性球菌对抗菌药物的耐药情况 葡萄球菌属对利奈唑胺较敏感,对苯唑西林和青霉素 G 耐药严重,未发现对万古霉素耐药的葡萄球菌,见表 2。肠球菌属对万古霉素、利奈唑胺敏感性较高,但是已检测出 3 株对万古霉素耐药的屎肠球菌,见表 3。

表 2 葡萄球菌对抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	金黄色葡萄球菌 金黄亚种(n=94)	凝固酶阴性 葡萄球菌(n=127)
庆大霉素	33(35.11)	43(33.86)
环丙沙星	35(37.23)	—
复方磺胺甲噁唑	12(12.77)	—
克林霉素	37(39.36)	41(32.28)
红霉素	58(61.70)	100(78.74)
利奈唑胺	1(1.06)	0(0.00)
苯唑西林	58(61.70)	119(93.70)
青霉素 G	87(92.55)	122(96.06)
四环素	50(53.19)	32(25.20)
万古霉素	0(0.00)	0(0.00)
莫西沙星	43(45.74)	38(29.92)

注:—表示无数据。

表 3 肠球菌对抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	粪肠球菌(n=59)	屎肠球菌(n=71)
环丙沙星	6(10.17)	55(77.46)
氨苄西林	0(0.00)	62(87.32)
红霉素	45(76.27)	60(84.51)
利奈唑胺	0(0.00)	0(0.00)
青霉素 G	8(13.56)	65(91.55)
四环素	45(76.27)	31(43.66)
万古霉素	0(0.00)	3(4.23)

2.5 主要非发酵菌对抗菌药物的耐药情况 见表 4。鲍曼不动杆菌显示出多重耐药,铜绿假单胞菌对药物的敏感性都高于鲍曼不动杆菌,对药物的敏感率大于 80.00%,对亚胺培南的耐药率为 21.21%。

表 4 主要非发酵菌对抗菌药物的耐药情况[n(%)]

抗菌药物	鲍曼不动杆菌 (n=136)	铜绿假单胞菌 (n=132)
阿米卡星	7(5.15)	17(12.88)
头孢他啶	75(55.15)	18(13.64)
头孢曲松	80(58.82)	—
环丙沙星	81(59.56)	16(12.12)
庆大霉素	72(52.94)	21(15.91)
亚胺培南	71(52.21)	28(21.21)
复方磺胺甲噁唑	82(60.29)	—
哌拉西林/他唑巴坦	66(48.53)	17(12.88)
氨苄西林/舒巴坦	68(50.00)	—
头孢吡肟	74(54.41)	22(16.67)

注:—表示无数据。

3 讨论

3.1 病原菌的菌群分布与科室分布 通过血培养可明确患者血流感染的病原菌种类与耐药性,对于疾病的早期诊断与积极有效的治疗具有重要临床价值。本研究结果显示,上海长海医院 2009~2013 年血流感染病原菌以肠杆菌科细菌为主,占 56.85%,排名前 2 位的分别为大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,其次为革兰阳性球菌,占 22.74%,分离最多的为凝固酶阴性葡萄球菌。非发酵革兰阴性杆菌为 291 株(17.73%),真菌 44 株(2.68%)。凝固酶阴性葡萄球菌为人体皮肤黏膜的正常菌群,

采血操作不严格会引起污染,导致假阳性。有报道该菌在血培养中有 40.0% 为污染菌,但国外报道 30.0% 的医院血流感染是由凝固酶阴性葡萄球菌引起的,因此为了更好地判断是否为致病菌,同一患者至少要采集 2~3 套血标本。双瓶同时为阳性,很可能是病原菌,单瓶阳性者应结合临床资料,报阳时间长短等因素进行综合分析。血培养检出细菌主要分布于消化科、血液内科、普外科、胸外科。这可能与长海医院消化科患者病情比较严重,机体免疫力低下等因素有关。血液内科患者多是长期接受化疗,外科患者有手术创伤,机体免疫功能降低,易于感染病原菌。此外医疗环境不良,如感染的患者、携带者、污染的空气、污染的医疗器械和带菌的工作人员,同样也是医院感染的重要因素,因此对于易感人群要尽早进行细菌监测。

3.2 病原菌的耐药性 肠杆菌科细菌的耐药监测结果显示,大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌对青霉素类氨苄西林高度耐药,对第 1、2、3 代头孢菌素耐药率也很高,对第 4 代头孢吡肟敏感率较高,这可能与临床大量滥用第 1、2、3 代头孢类药物有关,也与产超广谱 β -内酰胺酶的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌检出率逐年增加也有关系。肠杆菌科主要细菌对阿米卡星敏感性较高。碳青霉烯类对大肠埃希菌和阴沟肠杆菌敏感性较高,而对肺炎克雷伯菌的耐药率已达到 13.30%,这主要与肺炎克雷伯菌产碳青霉烯酶有关,即肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶(KPC)。KPC 属于 Ambler 分类的 A 类丝氨酸 β -内酰胺酶,其能对碳青霉烯类、单酰胺类、青霉素类、头孢菌素类等抗菌药物进行水解。KPC 基因通常存在于可传播的含有转座子的质粒中,这可使细菌的耐药性在不同种属之间传播,增加了细菌获得耐药性的机会。因此在临床工作中要严格执行治疗器械的消毒管理制度和医务人员的洗手制度,防止院内交叉感染。

血培养中革兰阳性菌主要为凝固酶阴性葡萄球菌和金黄色葡萄球菌,其中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)达到 61.70%,耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌更高,达 93.70%。MRSA 的耐药基因是 *mecA*,位于葡萄球菌的核染色体上,该结构类似于转座子,可以介导 *mecA* 基因在菌株之间游离传播,使不耐药的葡萄球菌属获得耐药性^[1]。*mecA* 基因编码低亲和力青霉素结合蛋白导致甲氧西林耐药,对所有头孢菌素、青霉素类加青霉素酶抑制剂抗菌药物都耐药,所以 MRSA 的多重耐药性是临床治疗的难点。血培养中检测出 MRSA 的患者一般病情都比较严重,治疗困难,而且病死率很高,因此一旦检测出 MRSA 应立即通知临床医生,及时给予患者最佳的治疗方案。本文结果显示其对青霉素的耐药率都大于 92.00%,利奈唑胺对葡萄球菌的敏感率还是很高的,本院目前没有发现对万古霉素耐药的葡萄球菌,因此对于严重的葡萄球菌感染患者,万古霉素是最好的选择。

本研究结果显示,分离的肠球菌以屎肠球菌为主,且呈多重耐药,耐药率明显高于粪肠球菌,对利奈唑胺敏感率为 100.00%,粪肠球菌对氨苄西林、利奈唑胺和万古霉素敏感率都为 100.00%。同时也分离到 3 株耐万古霉素的肠球菌(VRE),VRE 的出现给临床治疗带来了很大的困难,研究显示 VRE 可将耐药性传递给其他肠球菌或其他种类的细菌,尤其是 MRSA,导致耐万古霉素的金黄色葡萄球菌出现^[2-4]。这将给革兰阳性球菌感染的治疗带来更为严峻的考验,因此临床对于糖肽类药物的使用要慎重。

检测的非发酵菌主要为鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌,其中鲍曼不动杆菌表现为多重耐药,耐药率都大于 50.00%,且只对阿米卡星较敏感,耐药率为 5.15%。但是有研究显示,用 VITEK2C 鉴定仪检测的鲍曼不动杆菌对阿米卡星的耐药率与体外药敏试验检测结果有差异,实际耐药率较高^[5]。鲍曼不

动杆菌具有强大的获得外源性耐药基因的能力,对临床常用抗菌药物均可耐药,已成为超级细菌^[6]。铜绿假单胞菌对抗菌药物的敏感性都大于 80.00%,对亚胺培南的耐药率达到 21.21%,因此在临床治疗过程中要合理使用抗菌药物,避免碳青霉烯类药物滥用。

本研究血培养检出的真菌主要是白色念珠菌,血流真菌感染早期一般表现不明显,据国外报道,15.5%~21.0% 的真菌血流感染患者未能及时接受抗真菌治疗,病死率为 55%~66%,对于血流真菌感染,要给予足够的重视^[7-10]。

综上所述,血培养对于疾病的诊断和治疗意义重大,临床医生应该高度重视,及早采集标本,尽快合理使用抗菌药物。

参考文献

- [1] 李春辉,吴安华,黄昕,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分子流行病学研究[J].中华医院感染学杂志,2009,19(9):1032-1035.
- [2] Dahl KH, Simonsne GS, Olsvik O, et al. Heterogeneity in the *vanB* gene cluster of genomically diverse clinical strains of vancomycin-resistant enterococci [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(5):1105-1110.
- [3] Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinical relevant enterococci by PCR [J]. *J Clin Microbiol*, 1995, 33(1):24-27.
- [4] Barnaud G, Bingen E. Genotypic characterization of endemic VanA Enterococcus faecium strains isolated in a paediatric hospital [J]. *J Med Microbiol*, 2000, 49(9):793-799.
- [5] 黄晓春,陈岩,李园,等. VITEK 2C 检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星体外敏感性的性能评价[J]. 检验医学, 2013, 28(8):666-670.
- [6] 朱健铭,姜如金,吴康乐,等. 鲍氏不动杆菌泛耐药株的耐药机制研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(4):458-462.
- [7] Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program [J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(9):3254-3259.
- [8] Bassetti M, Trecarichi EM, Righi E, et al. Incidence risk factors and predictors of outcome of candidemia. Survey in 2 Italian university hospitals [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007, 58(3):325-331.
- [9] Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2004, 23(4):317-322.
- [10] Almirante B, Rodriguez D, Park BJ, et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003 [J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(4):1829-1835.