

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.09.021

禹州市儿童和成人血培养阳性病原菌分布及耐药性分析

王增涛^{1,2}, 宋文哲^{1,2}, 黄金虎¹, 党创伟^{1,2}, 崔雯燕¹

1. 河南省禹州市人民医院检验科, 河南许昌 461670; 2. 河南省许昌市感染性疾病病原体研究重点实验室分实验室, 河南许昌 461670

摘要:目的 了解禹州市儿童和成人不同采血方式下血培养阳性的病原菌分布和耐药性, 以指导临床对血流感染进行诊断, 针对不同人群合理使用抗菌药物。方法 收集禹州市人民医院 2018 年 1 月至 2020 年 6 月所有病区送检的血培养标本, 儿科病区患儿作为儿科组, 采用单次单瓶(单侧单瓶)采集血培养标本, 其他病区 ≥ 18 岁的成人患者作为成人组, 采用单次多瓶(单侧双瓶和双侧双瓶)采集血培养标本, 使用 WHONET5.6 分析血培养阳性的病原菌分布及耐药性。结果 儿科组和成人组共送检 6 556 份血培养标本, 血培养的阳性率为 4.8%, 儿科组血培养阳性率为 2.3%, 成人组血培养阳性率为 8.6%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。儿科组血培养阳性的病原菌以革兰阳性菌为主, 占 85.6%, 成人组血培养阳性的病原菌以革兰阴性菌为主, 占 51.3%, 在细菌类别的构成上, 两组差异有统计学意义($P < 0.05$)。儿科组血培养检出的表皮葡萄球菌对庆大霉素的耐药率为 14.3%, 明显低于成人组的耐药率(43.8%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。儿科组和成人组血培养检出的大肠埃希菌对氨苄西林/舒巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、头孢西丁、美罗培南、庆大霉素、氯霉素的耐药率均 $\leq 50.00\%$, 并且未检出耐碳青霉烯类抗菌药物的革兰阴性菌。结论 对于儿童也应尽量单次采集多瓶血培养标本, 为血流感染的诊断提供更有力的证据, 并且针对不同人群合理使用抗菌药物。

关键词: 血培养; 采血方式; 病原菌分布; 耐药性

中图法分类号: R378

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)09-1262-04

Distribution and drug resistance of blood culture-positive pathogenic bacteria among children and adults in Yuzhou City

WANG Zengtao^{1,2}, SONG Wenzhe^{1,2}, HUANG Jinhu¹, DANG Chuangwei^{1,2}, CUI Wenyan¹

1. Department of Clinical Laboratory, Yuzhou Municipal People's Hospital, Xuchang, Henan 461670, China; 2. Sub-laboratory of Xuchang Key Laboratory of Infectious Disease Pathogen Research, Xuchang, Henan 461670, China

Abstract: **Objective** To understand the distribution and drug resistance of blood culture-positive pathogenic bacteria among children and adults by different blood sampling methods to guide the clinical diagnosis of bloodstream infection, and to rationally use antimicrobial agents by aiming at different populations. **Methods** The blood culture samples submitted by all the patients wards of Yuzhou Municipal People's Hospital from January 2018 to June 2020 were collected. The children patients in the pediatric ward served as the pediatric group and collected the blood sample by adopting once single bottle (unilateral side single bottle). The adult patients aged ≥ 18 years old in the other wards served as the adult group and adopted the once multiple bottles (unilateral double bottles and bilateral double bottles). WHONET5.6 was used to analyze the distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in blood culture-positive. **Results** A total of 6 556 cases of blood culture samples in the pediatric group and adult group were submitted, the positive rate of blood culture was 4.8%, which of the pediatric group was 2.3%, which of the adult group was 8.6%, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The pathogenic bacteria in the pediatric group was mainly Gram-positive bacteria, accounting for 85.6% and which in the adult group was mainly gram-negative bacteria, accounting for 51.3%. The composition of bacteria categories had statistically significant difference between the two groups ($P < 0.05$). The resistance rate of Staphylococcus epidermidis detected in blood culture of the pediatric group to gentamicin was 14.3%, which was obviously lower than 43.8% of the adult group, and the difference was

作者简介: 王增涛, 男, 主管技师, 主要从事感染性疾病方面的研究。
本文引用格式: 王增涛, 宋文哲, 黄金虎, 等. 禹州市儿童和成人血培养阳性病原菌分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(9): 1262-1265.

statistically significant ($P<0.05$); the drug resistance rates of *Escherichia coli* detected in blood culture of the pediatric group and adult group to ampicillin/sulbactam, cefoperazone/sulbactam, ceftazidime, cefepime, cefoxitin, meropenem, gentamicin and chloramphenicol were $\leq 50.00\%$, moreover no carbapenem-resistant Gram negative strain was detected. **Conclusion** For children patients, multiple bottles of blood culture samples should be collected as far as possible to provide stronger evidence for the diagnosis of bloodstream infection, moreover antimicrobial agents should be rationally used by aiming at different populations.

Key words: blood culture; blood sampling method; pathogenic bacterial distribution; drug resistance

血流感染是由细菌、真菌及病毒等病原微生物引起的危及生命的全身感染性疾病,可导致菌血症、败血症和脓毒症,具有较高的病死率,严重者可出现休克、弥散性血管内凝血、多脏器衰竭乃至死亡^[1]。血培养是对疑似血流感染患者进行诊断、评估的最常见的检测项目之一。自 20 世纪 90 年代以来,随着广谱抗菌药物的应用,以及越来越多的患者接受包括激素、免疫抑制剂及器官移植后的免疫调节治疗^[2],不同人群血培养的病原菌分布及耐药性发生了变化。同时,血培养标本不同的采血方式也会给血流感染的诊断带来干扰^[3]。因此,本研究旨在探讨儿童和成人不同采血方式血培养阳性的病原菌分布特征和耐药性特点,以期指导临床对血流感染进行诊断,并且针对不同人群合理使用抗菌药物。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集禹州市人民医院 2018 年 1 月至 2020 年 6 月所有病区送检的血培养标本。送检血培养患者的标本均按照 WST 503-2017《临床微生物实验室血培养操作规范》要求,无菌采集患者的静脉血接种到血培养瓶中,在 BACT/ALERT 3D 血培养仪中孵育培养,最长 5 d。

1.2 仪器与试剂 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统、BACT/ALERT 3D 全自动血培养仪均购自法国生物梅里埃股份有限公司,血培养瓶为生物梅里埃公司配套的增菌培养瓶;DL-96 细菌鉴定及药敏分析系统购自珠海迪尔生物工程有限公司;血琼脂培养基、巧克力培养基、麦康凯培养基均购自郑州人福博赛生物技术有限责任公司。质控菌株金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603、大肠埃希菌 ATCC 25922、粪肠球菌 ATCC 29212、铜绿假单胞菌 ATCC 27853 均购自原卫生部临床检验中心。

1.3 方法 儿科病区患儿采用单次单瓶(单侧单瓶)留取血培养标本,作为儿科组;其他病区 ≥ 18 岁的成人采用单次多瓶(单侧双瓶和双侧双瓶)留取血培养标本,作为成人组。将血培养阳性瓶进行革兰染色,并传代接种至血琼脂培养基、巧克力培养基、麦康凯培养基。根据菌落形态、常规生化试验结果和 VITEK 2 Compact 仪器结果进行微生物鉴定。葡萄球菌、肠球菌、肠杆菌科细菌和大多数非发酵葡萄糖细菌(如铜绿假单胞菌等)药敏试验采用 VITEK 2 Compact 药敏分析系统进行检测;链球菌、念珠菌药

敏试验采用 DL-96 药敏系统进行检测。药敏试验结果(剔除同一患者的同一种细菌的重复菌株)的判断,依据 2020 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准执行。儿童的定义参照国际《儿童权利公约》, <18 岁为儿童。

1.4 统计学处理 采用 WHONET5.6 细菌耐药监测软件对血培养阳性的病原菌种类及抗菌药物的耐药性进行分析。采用 SPSS24.0 统计软件进行统计分析,计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病区血培养阳性率 所有病区共送检 6 580 份血培养标本,检出血培养阳性标本 312 份,血培养阳性率为 4.7%。儿科病区均为年龄 <18 岁的儿童,主要以 0~28 d 的新生儿为主,送检 2 606 份血培养标本, >28 d 至 <18 岁的儿童送检 1 374 份血培养标本。儿科病区患儿送检的 3 980 份血培养标本有 90 份阳性,阳性率为 2.3%。其余病区共送检 2 600 份血培养标本,其中年龄 <18 岁的儿童仅送检 24 份血培养标本,且经培养均为阴性。不同病区血培养阳性率见表 1。

表 1 不同病区血培养阳性率			
病区	送检瓶数(<i>n</i>)	阳性瓶数(<i>n</i>)	阳性率(%)
儿科	3 980	90	2.3
重症医学科	447	62	13.9
呼吸内科	428	30	7.0
神经内科	304	13	4.3
消化内科	242	29	12.0
康复医学科、中医科	222	16	7.2
肿瘤科、血液内科	133	5	3.8
骨科	115	19	16.5
普外科	89	6	6.7
心血管内科	74	13	17.6
妇科	73	3	4.1
肾病科、内分泌科	57	11	19.3
神经外科	49	4	8.2
泌尿外科	46	1	2.2
门诊	43	4	9.3
感染性疾病科	34	3	8.8
全科医学科	22	3	13.6
其他科室*	222	0	0.0

注: * 包括产科、五官科、血液透析室。

2.2 不同留样方式的血培养阳性率 儿科组采用单

次单瓶(单侧单瓶)的采血方式,阳性率为 2.3%。成人组采用单次多瓶(单侧双瓶和双侧双瓶)的采血方式,阳性率为 8.6%,差异有统计学意义($\chi^2=139.41$, $P<0.05$)。

2.3 儿科组和成人组血培养阳性患者的病原菌分布 儿科组和成人组共送检 6 556 份血培养标本,检出病原菌共 205 株,其中革兰阳性菌 131 株,革兰阴性菌 69 株,真菌 5 株。儿科组血培养共检出病原菌 90 株,其中革兰阳性菌 77 株(以表皮葡萄球菌为主),革兰阴性菌 10 株,真菌 3 株;成人组血培养共检出病原菌 115 株,其中革兰阳性菌 54 株,革兰阴性菌 59 株(以大肠埃希菌为主),真菌 2 株。对儿科组和成人组血培养检出的细菌类别构成进行统计分析,差异有统计学意义($\chi^2=36.065$, $P<0.05$),见表 2。

表 2 儿科组和成人组血培养病原菌分布[n(%)]		
病原菌	儿科组(n=90)	成人组(n=115)
革兰阳性菌	77(85.6)	54(47.0)
表皮葡萄球菌	42(46.7)	16(13.9)
溶血葡萄球菌	11(12.2)	5(4.3)
金黄色葡萄球菌	5(5.6)	10(8.7)
人葡萄球菌	4(4.4)	7(6.1)
中间葡萄球菌	3(3.3)	1(0.9)
粪肠球菌	2(2.2)	3(2.6)
其他革兰阳性菌	10(11.1)	12(10.4)
革兰阴性菌	10(11.1)	59(51.3)
大肠埃希菌	4(4.4)	24(20.9)
肺炎克雷伯菌	0(0.0)	21(18.3)
洛非不动杆菌	3(3.3)	1(0.9)
阴沟肠杆菌	1(1.1)	2(1.7)
产酸克雷伯菌	1(1.1)	1(0.9)
奇异变形杆菌	1(1.1)	0(0.0)
其他革兰阴性菌	0(0.0)	10(8.7)
真菌	3(3.3)	2(1.7)
都柏林假丝酵母菌	2(2.2)	1(0.9)
角膜假丝酵母菌	1(1.1)	0(0.0)
热带假丝酵母菌	0(0.0)	1(0.9)

2.4 儿科组和成人组主要病原菌耐药性分析 儿科组血培养耐甲氧西林的表皮葡萄球菌的检出率明显高于成人组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。儿科组和成人组血培养检出最多的革兰阳性菌均为表皮葡萄球菌。儿科组血培养表皮葡萄球菌对庆大霉素的耐药率为 14.3%,成人组为 43.8%,差异有统计学意义($P=0.016$),见表 3。儿科组和成人组血培养检出最多的革兰阴性菌均为大肠埃希菌,两组中该菌对临床常用的抗菌药物的耐药率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 3 儿科组和成人组血培养表皮葡萄球菌耐药性分析[n(%)]			
抗菌药物	儿科组(n=42)	成人组(n=16)	P
青霉素 G	41(97.6)	16(100.0)	1.000
苯唑西林	18(42.9)	13(81.3)	0.009
头孢西丁	18(42.9)	13(81.3)	0.009
庆大霉素	6(14.3)	7(43.8)	0.031
利福平	1(2.4)	0(0.0)	1.000
左氧氟沙星	7(16.7)	4(25.0)	0.475
莫西沙星	4(9.5)	0(0.0)	0.567
复方磺胺甲噁唑	17(40.5)	5(31.3)	0.517
克林霉素	13(31.0)	9(56.3)	0.076
阿奇霉素	36(85.7)	13(81.3)	0.696
红霉素	37(88.1)	15(93.8)	1.000
氯霉素	6(14.3)	1(6.3)	0.660
四环素	11(26.2)	7(43.8)	0.219

表 4 儿科组和成人组血培养大肠埃希菌耐药性分析[n(%)]			
抗菌药物	儿科组(n=4)	成人组(n=24)	P
氨苄西林	4(100.0)	20(83.3)	1.000
氨苄西林/舒巴坦	2(50.0)	5(20.8)	0.253
头孢哌酮/舒巴坦	0(0.0)	0(0.0)	—
头孢唑林	3(75.0)	14(58.3)	1.000
头孢呋辛	1(25.0)	14(58.3)	0.311
头孢他啶	0(0.0)	10(41.7)	0.265
头孢曲松	1(25.0)	13(54.2)	0.596
头孢吡肟	1(25.0)	7(29.2)	1.000
头孢西丁	0(0.0)	3(12.5)	1.000
美罗培南	0(0.0)	0(0.0)	—
庆大霉素	2(50.0)	7(29.2)	0.574
环丙沙星	3(75.0)	10(41.7)	0.311
左氧氟沙星	3(75.0)	6(25.0)	0.084
复方磺胺甲噁唑	4(100.0)	11(45.8)	0.102
氯霉素	1(25.0)	3(12.5)	0.481

注:—表示无数据。

3 讨 论

血培养作为血流感染诊断的金标准,被临床广泛使用。由表 1 可以看出,儿科血培养送检数量位居全院首位,其次是重症医学科,但是重症医学科血培养阳性率(13.9%)高于儿科(2.3%),表明重症医学科血流感染的发生率较高。对于重症监护室(ICU)内的危重症患者,由于各种侵入性操作及导管等治疗设备在临床的广泛应用,导致了其血流感染发生率的上升以及治疗难度的增加。那么,对于送检血培养较多的儿科病区,以及血培养阳性率较高的重症医学科病区,可以设置卫星血培养系统,缩短血培养的报阳时间,避免微生物检验人员在“非工作时间”无法将标本

放置在血培养箱内,从而减少不必要的抗菌药物使用,实现对抗菌药物更好地管理。

国外研究显示,血培养的阳性率可达 15.70%^[4],国内研究显示,血培养阳性率为 5.09%~11.84%^[5],而该院的血培养阳性率仅为 4.7%,明显低于国内外水平。本研究中儿科组血培养标本阳性率为 2.3%,明显低于国内的相关报道^[6]。而成人组血培养标本阳性率为 8.6%,明显高于儿科组。儿童血培养过低的阳性率与儿科病区采用单次单瓶(单侧单瓶)的采血方式有关,然而目前较缺乏关于儿童血培养瓶最佳数量的建议,在日常实践中,儿童通常只分析 1 个血培养瓶来判断血流感染,主要是担心采血过多给患儿带来不适。成人采用的单套 2 瓶及双套 4 瓶血培养可以提高血流感染的诊断率^[7]。

关于儿科组和成人组血培养检出的病原菌分布,二者存在差异。儿科组血培养检出的病原菌主要以革兰阳性菌为主,占 85.6%,革兰阴性菌占 11.1%;成人组血培养检出的病原菌主要以革兰阴性菌为主,占 51.3%,革兰阳性菌占 47.0%。值得注意的是,本研究发现了 1 例由角膜假丝酵母菌引起的新生儿血流感染。由于禹州市人民医院实验室采用的 DL-96 FUNGUS 真菌鉴定板条,真菌库数据有限,鉴定结果一直不理想,最终送至河南省人民医院微生物实验室使用 Autof ms1000 仪器,鉴定为角膜假丝酵母菌,才得以明确本次感染的病原菌^[8]。近年来,质谱技术的迅速发展,使细菌鉴定时间从血培养阳性到鉴定出菌种缩短至不到 2 h,从而为血流感染患者的诊断和治疗提供了及时、可靠的依据^[9]。

儿科组血培养表皮葡萄球菌对抗菌药物的耐药率普遍低于成人组,可能与儿童各脏器功能不完善,临床抗菌药物使用剂量小有关。针对检出革兰阴性菌中最多的大肠埃希菌的耐药性进行分析,儿科组和成人组对临床常用的抗菌药物的耐药率较低,差异均无统计学意义($P>0.05$),而且未检出耐碳青霉烯类抗菌药物的革兰阴性菌,可能与基层医院允许使用的高级及限制级抗菌药物品种较少有关。

临床经常认为凝固酶阴性的葡萄球菌为污染菌,但是有研究显示,在血培养中检出的凝固酶阴性葡萄球菌中有 20%~40%具有临床意义^[10]。凝固酶阴性的葡萄球菌形成的生物膜在致病过程中起着关键作用。另外,如果其染色体上携带 mecA 基因,该基因编码的青霉素结合蛋白 2a(PBP2a)可使其对大多数抗菌药物耐药。凝固酶阴性的葡萄球菌是机会性致病微生物的重要组成部分,主要存在于人体皮肤黏膜和空气中,当有创操作等破坏皮肤屏障、皮肤消毒不彻底、无菌操作不当,定植于皮肤黏膜表面和空气中的凝固酶阴性的葡萄球菌便会侵入有基础疾病和免疫功能受损的成人以及免疫功能尚不完善的儿童,引

起血流感染。目前国际上仍缺乏能早期、快速、准确鉴别凝固酶阴性的葡萄球菌是否为血流感染病原菌的方法,因此临床上通常把凝固酶阴性的葡萄球菌血培养报阳瓶数作为鉴别诊断凝固酶阴性的葡萄球菌血流感染的手段之一^[11]。

综上所述,不仅是成人应采用单次多瓶的采血方式采集血培养标本,儿童也应尽量采用单次多瓶的采血方式,以对污染菌的鉴别提供更有力的证据,并且结合患者的临床体征,明确引起血流感染的真正病原菌,合理使用抗菌药物。

参考文献

- [1] 周梦兰,杨启文,于淑颖,等.血流感染流行病学研究进展[J].中国感染与化疗杂志,2019,19(2):212-217.
- [2] PIEN B C, SUNDARAM P, RAOOF N, et al. The clinical and prognostic importance of positive blood cultures in adults[J]. Am J Med, 2010, 123(9):819-828.
- [3] SHAHEEN N, ZEESHAN M, FASIH N, et al. Efforts to improve diagnosis of bacteraemia by reducing blood culture contamination in an emergency department: strategies and outcome[J]. J Pak Med Assoc, 2020, 70(5):835-839.
- [4] POSILLICO S E, GOLOB J F, ZOSA B M, et al. Consequences of implementing a "better" blood culture system[J]. Surg Infect (Larchmt), 2018, 19(6):582-586.
- [5] 杨敬芳,李继红,王鑫,等.6 445 份血培养分离菌的分布特征及耐药谱型研究[J].中华医院感染学杂志,2003,13(6):575-577.
- [6] 岳冬梅,佟雅洁,杨凡.儿科患者血培养常见病原菌分布及耐药性特点分析[J].中国医科大学学报,2018,47(6):537-541.
- [7] KARGALTSEVA N M, KOCHEROVETS V I, MIRONOV A Y, et al. Method for obtaining blood culture while diagnosing bloodstream infection[J]. Klin Lab Diagn, 2020, 65(3):185-190.
- [8] 魏占成,王增涛,王利静,等.1 例由角膜假丝酵母菌引起的新生儿血流感染[J].检验医学与临床,2020,17(7):1004-1006.
- [9] YUAN Y, WANG J, ZHANG J F, et al. Evaluation of an optimized method to directly identify bacteria from positive blood cultures using MALDI-TOF mass spectrometry[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(4):e23119.
- [10] CHUN S, KANG C, KIM Y J, et al. Clinical significance of isolates known to be blood culture contaminants in pediatric patients[J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(10):696-702.
- [11] 黄声雷,胡必杰,谢红梅,等.血培养报阳瓶数对凝固酶阴性葡萄球菌血流感染鉴别诊断的价值[J].中华医院感染学杂志,2014,24(10):2592-2594.