

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.10.019

昆明某医院血培养病原菌分布与耐药性研究

伏改芬,尹利民,卢 赞,李代碧,许 婷

云南省昆明市第一人民医院/甘美医院检验科,云南昆明 650011

摘 要:**目的** 分析该院血培养阳性标本病原菌分布特点及耐药性,为临床合理应用抗菌药物提供参考依据,降低细菌耐药性。**方法** 对 2017—2019 年血培养阳性病原菌的分布情况及耐药性进行回顾性分析。**结果** 血培养阳性非重复性标本共分离出病原菌 985 株,其中革兰阴性菌 622 株,占 63.15%,革兰阳性菌 341 株,占 34.62%,真菌 22 株,占 2.23%。革兰阴性菌中排名前 3 位依次是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌(肺炎亚种)、铜绿假单胞菌。产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌检出率分别为 53.73%和 16.84%,大肠埃希菌未发现对碳青霉烯类耐药。肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类耐药率均 $<15.00\%$ 。铜绿假单胞菌对常用抗菌药物耐药率均 $<40.00\%$ 。革兰阳性菌以凝固酶阴性葡萄球菌为主,占 11.17%(110/985),耐甲氧西林金黄色葡萄球菌占 22.00%。未发现对万古霉素、替加环素和替考拉宁耐药的葡萄球菌。肠球菌属中屎肠球菌对青霉素 G 的耐药率(93.80%)明显高于粪肠球菌(4.8%),未发现对利奈唑胺、替加环素、万古霉素耐药的肠球菌。**结论** 2017—2019 年该院临床血培养阳性的病原菌以革兰阴性菌为主,定期进行血流感染监测有利于指导临床合理选择和使用抗菌药物。

关键词:血培养; 血流感染; 耐药性

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)10-1413-04

Study on the distribution and drug resistance of pathogenic bacteria in blood culture in a hospital in Kunming

FU Gaifen, YIN Limin, LU Zan, LI Daibi, XU Ting

Department of Clinical Laboratory, Kunming Municipal First People's Hospital /

Ganmei Hospital, Kunming, Yunnan 650011, China

Abstract: Objective To analyze the distribution characteristics and drug resistance of pathogens in positive blood culture specimens in the hospital, and thus to provide a reference for the rational use of antimicrobial drugs in clinical practice and reduce the drug resistance of bacteria. **Methods** A retrospectively analysis was performed for the distribution and drug resistance of pathogens in positive blood culture specimens collected from January 2017 to December 2019. **Results** A total of 985 types of pathogens were isolated from non-repetitive positive blood culture specimens, including 622 Gram-negative bacteria, accounting for 63.15%, 341 Gram-positive bacteria, accounting for 34.62%, and 22 fungi, accounting for 2.23%. Among the Gram-negative bacteria, the top three pathogens were Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae subspecies, and Pseudomonas aeruginosa. The detection rates of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli and ES-BLS-producing Klebsiella pneumoniae were 53.73% and 16.84%, respectively. Resistance of Escherichia coli to carbapenems was not observed, while the resistance rate of Klebsiella pneumoniae to carbapenems was less than 15.00%. The resistance rates of Pseudomonas aeruginosa to commonly used antibacterial drugs were all less than 40.00%. Among the Gram-positive bacteria, coagulase-negative Staphylococci was the most common pathogen observed accounting for 11.17% (110/985), among which the incidence rate of methicillin-resistant Staphylococcus aureus was 22.00%. Resistance of Staphylococci to vancomycin, tigecycline or teicoplanin was not found. Among the Enterococcus genus, the resistance rate of Enterococcus faecium to penicillin (93.80%) was significantly higher than that of Enterococcus faecalis (4.8%). Resistance of Enterococcus to linezolid, tigecycline and vancomycin was not found. **Conclusion** The pathogens isolated from positive blood culture specimens in the hospital from 2017 to 2019 are mainly Gram-negative bacteria. Regular bloodstream infection monitoring is supposed to be helpful to guide the rational selection and use of antimicrobial drugs in clinical practice.

Key words: blood culture; bloodstream infections; drug resistance

作者简介:伏改芬,女,主管技师,主要从事临床微生物检验方面的研究。

本文引用格式:伏改芬,尹利民,卢赞,等.昆明某医院血培养病原菌分布与耐药性研究[J].检验医学与临床,2021,18(10):1413-1416.

血流感染是各种病原微生物(细菌、真菌、病毒等)入侵血流所引起的血液感染,为败血症与菌血症的统称。近年来,由于创伤手术或侵袭操作及肿瘤患者的增加,免疫抑制剂、激素和广谱抗菌药物的大量使用,导致临床血流感染发生率逐年上升,病死率升高,血培养作为诊断血流感染的金标准,不仅能检测出病原菌,还能检测其对常用抗菌药物的耐药性,为临床治疗提供重要依据^[1-2]。因此,作者对 2017—2019 年本院血流感染病原菌分布及耐药性进行统计分析,为今后血流感染病原菌临床经验性用药提供科学依据,同时降低临床抗感染治疗中的细菌耐药性。

1 资料与方法

1.1 标本及菌株来源 选取 2017—2019 年本院住院和门诊患者的血培养阳性标本 985 株,剔除同一患者连续多次培养的重复菌株及考虑为污染的凝固酶阴性葡萄球菌,血培养标本的采集严格按照美国临床和实验室标准协会(CLSI)血培养的原则和操作规程推荐指南进行操作^[3]。

1.2 仪器与试剂 血培养仪使用赛默飞公司 Versa-TREK 240、BD 公司 BACTECTMFX 全自动血培养仪,法国梅里埃公司 Vitek-2 COMPACT 全自动鉴定药敏分析仪,纸片扩散法(K-B 法)所需物品由英国 Oxoid 公司提供。

1.3 培养与鉴定 将血培养瓶置于培养仪中进行培养,对报阳血标本进行分离、培养、鉴定,药敏试验判读

参照 CLSI2017 年标准进行判读。质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC25923 和 ATCC292213、铜绿假单胞菌 ATCC27853 均由原中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会临床检验中心提供。

1.4 统计学处理 采用 WHONET 5.6 软件进行数据分析处理。计数资料以例数或百分率表示。

2 结果

2.1 菌株分布与构成 本院 2017—2019 年血培养共分离出病原菌 985 株,其中革兰阴性菌 622 株(63.15%),包括大肠埃希菌 322 株(32.69%),肺炎克雷伯菌 95 株(9.64%),铜绿假单胞菌 28 株(2.84%),甲型副伤寒沙门菌 20 株(2.03%),厌氧菌 16 株(1.62%),鲍曼不动杆菌 15 株(1.52%),其他革兰阴性杆菌 126 株(12.79%);革兰阳性菌 341 株(34.62%),包括表皮葡萄球菌 53 株(5.38%),人葡萄球菌 43 株(4.37%),金黄色葡萄球菌 37 株(3.76%),尿肠球菌 35 株(3.55%),粪肠球菌 16 株(1.62%),溶血葡萄球菌 14 株(1.42%),其他革兰阳性菌 143 株(14.52%);真菌 22 株(2.23%)。

2.2 主要革兰阳性菌对常用抗菌药物的耐药情况 肠杆菌科细菌对阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦和碳青霉烯类耐药率均较低,对氨苄西林耐药率较高。铜绿假单胞菌对常用抗菌药物均敏感,耐药率为 18.9%~39.7%。见表 1。

表 1 主要革兰阴性菌对常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌		肺炎克雷伯菌		铜绿假单胞菌
	ESBLs(—)	ESBLs(+)	ESBLs(—)	ESBLs(+)	
氨苄西林	88.3	100.0	R	R	R
阿莫西林/克拉维酸	9.8	11.4	24.5	41.7	R
头孢呋辛	54.0	100.0	34.0	100.0	—
头孢噻肟	55.5	100.0	30.3	100.0	—
头孢他啶	18.0	33.9	27.0	78.3	39.7
头孢吡肟	10.9	20.4	23.2	45.8	27.0
氨曲南	29.7	55.9	25.8	71.4	32.4
厄他培南	0.0	0.0	18.5	10.5	R
亚胺培南	0.0	0.0	18.7	23.1	28.6
美罗培南	0.0	0.0	17.6	4.8	37.0
阿米卡星	0.4	0.8	18.4	14.3	18.9
庆大霉素	39.7	47.8	22.6	20.8	21.6
环丙沙星	44.9	63.3	34.8	75.0	24.3
左氧氟沙星	39.0	60.0	27.7	62.5	27.0
四环素	70.3	75.9	20.9	50.0	R
复方磺胺甲噁唑	57.9	64.5	15.6	54.2	R
头孢哌酮/舒巴坦	4.1	7.4	20.2	17.6	21.6
哌拉西林/他唑巴坦	2.2	3.3	19.0	25.0	24.3

注:R 表示天然耐药;—表示未统计;ESBLs 为产超广谱 β-内酰胺酶。

2.3 主要革兰阳性菌对常用抗菌药物的耐药情况 分离出的凝固酶阴性葡萄球菌(CNS,主要包括表皮葡萄球菌、人葡萄球菌、溶血葡萄球菌)共 110 株(11.17%),葡萄球菌属病原菌对青霉素 G 高度耐药。未产生对万古霉素、替考拉宁、替加环素、利奈唑胺耐药的葡萄球菌属。肠球菌属中以屎肠球菌[35 株(3.55%)]和粪肠球菌[16 株(1.62%)]为主。与粪肠球菌比较,屎肠球菌对常用抗菌药物的耐药率普遍更高,屎肠球菌对很多常用抗菌药物均耐药,尤其是对氨苄西林、红霉素、青霉素 G、环丙沙星、左氧氟沙星和莫西沙星均高度耐药。粪肠球菌对氨苄西林、青霉素 G 均较敏感,对红霉素、四环素的耐药率均较高。见表 2、表 3。

表 2 主要葡萄球菌对常用抗菌药物的耐药率(%)		
抗菌药物	金黄色葡萄球菌	CNS
青霉素 G	87.9	92.9
苯唑西林	24.2	72.9
庆大霉素	6.1	15.9
克林霉素	24.2	21.2
奎奴普汀-达福普汀	0.0	1.2
红霉素	54.5	72.9
四环素	18.2	27.6
替加环素	0.0	0.0
左氧氟沙星	12.1	47.0
环丙沙星	12.1	42.9
莫西沙星	6.1	32.5
万古霉素	0.0	0.0
利奈唑胺	0.0	0.0
利福平	6.1	5.3
复方磺胺甲噁唑	0.0	44.0
替考拉宁	0.0	0.0

表 3 肠球菌属对常用抗菌药物的耐药率(%)		
抗菌药物	屎肠球菌	粪肠球菌
氨苄西林	93.8	4.8
青霉素 G	93.8	14.3
奎奴普汀-达福普汀	0.0	R
红霉素	95.8	47.6
四环素	56.2	47.6
替加环素	0.0	0.0
左氧氟沙星	81.2	29.4
环丙沙星	85.4	23.8
莫西沙星	95.7	38.5
万古霉素	0.0	0.0
利奈唑胺	0.0	0.0
庆大霉素(高浓度)	2.1	0.0

注:R 表示天然耐药。

3 讨 论

血培养结果是血流感染诊断的金标准,近年来耐药菌株比例逐年上升,为血流感染的治疗增加了难度^[4-5]。本研究对本院 2017—2019 临床送检的血培养阳性标本的病原菌分布与耐药性进行回顾性分析,结果表明,2017—2019 年共收集 985 株非重复分离菌株,病原菌种类分布广泛,以革兰阴性菌为主,其次是革兰阳性菌,这与以往研究结果一致^[6]。肠杆菌科中 ESBLS 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌检出率为 53.73%、16.84%,未检出耐碳青霉烯类大肠埃希菌,肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类耐药率为 7.8%~10.1%。本研究结果显示,碳青霉烯类抗菌药物耐药率<15.0%,由此说明对于肠杆菌科细菌引起血流感染,碳青霉烯类抗菌药物依然是危急重症患者及其他抗菌药物治疗失败的首选治疗药物。

非发酵菌中铜绿假单胞菌由于其多重侵袭力和复杂的耐药性,已成为临床抗感染治疗的棘手问题。本研究中铜绿假单胞菌对亚胺培南的药率为 28.6%,对阿米卡星、庆大霉素的耐药率为 18.9%、21.6%。碳青霉烯类药物是临床治疗铜绿假单胞菌重要药物之一,其耐药的分子机制复杂且多变,不同菌株在不同地区亦存在差异^[7-9]。革兰阳性菌中分离率最高的是 CNS,主要包括表皮葡萄球菌、人葡萄球菌、溶血葡萄球菌,共 110 株,占 11.17%。其次是金黄色葡萄球菌和肠球菌属,与徐腾飞等^[10]的研究结果一致。CNS 作为人体表面正常寄生的细菌,《WS/T503-2017 临床微生物实验室血培养操作规范》^[11]指出,CNS 既是血流感染的常见致病菌之一,又是最常见的污染菌,其较高的分离率可能与机体免疫功能低下、抗菌药物的广泛应用等有关,对常用抗菌药物的耐药率均高于金黄色葡萄球菌,应引起临床重视,是血培养常见的污染菌^[12]。此外,由于 CNS 存在于机体皮肤表面,若采血时未严格遵循无菌操作,极易发生污染,因此,临床对血培养检出 CNS 时应注意结合其临床症状,避免不必要的抗菌药物的使用。本研究结果显示,葡萄球菌对青霉素 G 高度耐药,耐药率>70.0%。未出现耐万古霉素、替加环素、替考拉宁、利奈唑胺的菌株,提示这些药物可作为首选用药。目前,在国际上已报道 35 株完全耐万古霉素的葡萄球菌,我国虽尚未发现耐万古霉素的葡萄球菌,但已有异质性万古霉素耐药葡萄球菌的报道,因此应慎用该药,防止耐药菌株产生^[13]。

粪肠球菌和屎肠球菌在革兰阳性菌中的分离率仅次于 CNS 和金黄色葡萄球菌。本研究结果提示,屎肠球菌的耐药率明显高于粪肠球菌,尤其对青霉素类、大环内脂类和喹诺酮类抗菌药物的耐药率均>86.1%,未出现对万古霉素、替加环素和利奈唑胺耐药的肠球菌,因此,这 3 种药物可作为肠球菌属严重感染的治疗首选药物。殷琳等^[14]研究表明,肠球菌属

在血培养阳性标本中的分离率和耐药率均有所增加, 它们对 β -内酰胺类、氨基糖苷类和糖肽, 如万古霉素等许多抗菌药物的耐药率越来越高, 使其成为重要的医院病原菌, 这可能与近年来过度滥用广谱抗菌药物有关。因此, 应提高临床标本送检率, 结合肠球菌属的抗菌谱, 选择有效治疗和感染控制措施, 减少万古霉素耐药的肠球菌和多重耐药肠球菌的进一步出现。

综上所述, 随着现代医学的发展, 由于产超广谱抗菌药物的广泛使用, 耐药菌、条件致病菌和非致病菌在血液感染中的发病率明显增多, 在各种感染中居首位, 其病死率高达 20%~50%^[15]。血液标本的细菌培养是诊断菌血症基本而重要的方法, 由于不同地区临床医生对抗菌药物的应用习惯不同, 抗菌药物耐药情况亦存在差异。所以, 对血培养耐药情况进行监测, 若从血液中检测出细菌, 一般视为病原菌感染, 提示有菌血症。对血培养病原菌的分布构成情况及其耐药性进行监测, 在一定程度上对掌握本单位、本地区的病原菌分布和耐药趋势, 以及确定治疗措施有重要意义。

参考文献

[1] 马梦亭, 郭普, 李静, 等. 2015—2017 年某院血培养病原菌的分布及耐药率变迁[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2019, 40(9): 1128-1131.

[2] 钱扬会, 李艳君, 赵强元. 2015 年某院血流感染主要病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(21): 2990-2992.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and procedures for blood cultures; ap-proved guideline. CLSI document: M47-A[S]. Wayner, PA, USA: CLSI, 2007.

[4] LOONEN A J, DE C J, TOSSERAMS J, et al. Biomarkers and molecular analysis to improve bloodstream infection-

diagnostics in an emergency care unit[J]. PLoS One, 2014, 9(1): 87315.

[5] VENTOLA C L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats[J]. P T, 2015, 40(4): 277-283.

[6] 廖云凤, 严立. 2013—2016 年重庆市血流感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(21): 2654-2661.

[7] 颜令, 王淑玲, 徐兰兰, 等. 铜绿假单胞菌临床分布及耐药性的不均一性[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(3): 230-234.

[8] 哈瑞, 李刚, 师志云, 等. 80 株铜绿假单胞菌对亚胺培南耐药机制的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(21): 2617-2620.

[9] 袁翊, 叶帮芬, 万小涛, 等. 耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌的耐药机制[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(11): 1602-1604.

[10] 徐腾飞, 刘志武, 金凤玲. 2012—2015 年医院血流感染病原菌分布及耐药性变迁[J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(10): 936-940.

[11] 中华人民共和国卫生部. 临床微生物实验室血培养操作规范: WS/T503-2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[12] 陈俊, 王燕, 钱耀先, 等. 某院血流感染常见病原菌分布特征及耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(2): 200-203.

[13] 赵亚楠, 赵建平. 2012—2017 年内蒙古自治区人民医院血培养分离菌的临床分布及耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2018, 18(6): 641-645.

[14] 殷琳, 喻华, 黄湘宁, 等. 2016—2017 中国西部地区多重耐药肠球菌的耐药及分布特点[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(9): 1128-1137.

[15] 王素梅, 张健东, 王宇凡, 等. 2015—2017 年血培养病原菌分布与耐药性研究[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(12): 61-65.

(收稿日期: 2020-09-23 修回日期: 2021-01-26)

(上接第 1412 页)

[11] 章毅, 朱华, 金焕英, 等. 液氮冻存时间对 605 份脐血造血干细胞质量和临床移植效果的影响[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36(1): 1-3.

[12] 陈林, 张坤, 邵文陶, 等. 脐带血造血干细胞分离冻存方法优化[J]. 重庆理工大学学报(自然科学版), 2014, 28(12): 82-86.

[13] 黄璐, 宋瑰琦, 吴云, 等. 深低温冻存不同时间对脐血细胞质量的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(1): 177-180.

[14] 任召祺, 张铮, 原杰, 等. 外周血造血干细胞的采集、冻存与质量检测的研究[J]. 北京医学, 2018, 40(11): 1075-

1078.

[15] ANAGNOSTAKIS I, PAPASSAVAS A C, MICHALOPOULOS E, et al. Successful short-term cryopreservation of volume-reduced cord blood units in a cryogenic mechanical freezer: effects on cell recovery, viability, and clonogenic potential[J]. Transfusion, 2014, 54(1): 211-223.

[16] LEE H R, SONG E Y, SHIN S, et al. Quality of cord blood cryopreserved for up to 5 years[J]. Blood Res, 2014, 49(1): 54-60.

(收稿日期: 2020-08-23 修回日期: 2021-01-03)