

DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2013.04.005

论著·临床研究

116例细菌性脑膜炎儿童脑脊液病原菌分布及耐药性分析

蒋鸿超 奎莉越 黄海林 苏敏 温柏平

(昆明医科大学附属儿童医院检验中心,云南 昆明 650000)

[摘要] **目的** 了解小儿细菌性脑膜炎病原菌分布特点及其耐药状况,为临床进行及时有效治疗提供依据。**方法** 回顾分析2008年1月至2012年6月昆明市儿童医院5097例小儿脑脊液中的病原菌分离培养结果及其药敏试验情况。采用K-B纸片法对病原菌进行常用抗生素的敏感性检测并进行分析。**结果** 5年来共从5097例脑脊液标本中检出病原菌116株,其中革兰阳性菌77株(66.4%),革兰阴性菌30株(25.9%),真菌9株(7.8%),阳性率为2.28%(116/5097)。排名前6位的病原菌依次为表皮葡萄球菌32株(27.6%),肺炎链球菌15株(12.9%),大肠埃希菌15株(12.9%),溶血葡萄球菌9株(7.8%),新型隐球菌8株(6.9%),金黄色葡萄球菌6株(5.2%)。新生儿及婴儿早期的病原菌主要是凝固酶阴性葡萄球菌,其对青霉素、红霉素、克林霉素敏感率均低于40%;肺炎链球菌对青霉素敏感率仅为13.4%,而对红霉素和克林霉素敏感率达到60.0%;但未见万古霉素耐药的葡萄球菌和肺炎链球菌。革兰阴性杆菌对亚胺培南、美洛培南、头孢哌酮/舒巴坦及头孢吡肟敏感率较高。**结论** 近5年来小儿细菌性脑膜炎患者病原菌以革兰阳性球菌为主,检出病原菌对常用抗生素耐药性较高;另外,新型隐球菌检出占有一定的比例,应高度注意新型隐球菌性脑膜炎,防止误诊和漏诊。

[中国当代儿科杂志,2013,15(4):264-267]

[关键词] 脑脊液;病原菌;耐药;儿童

Frequency distribution and antibiotic resistance of pathogens from the cerebrospinal fluid of 116 children with bacterial meningitis

JIANG Hong-Chao, KUI Li-Yue, HUANG Hai-Lin, SU Min, WEN Bo-Ping. Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming, China (Email: hongchaojiang@yahoo.com.cn)

Abstract: **Objective** To determine the frequency distribution and antibiotic resistance of pathogens isolated from the cerebrospinal fluid samples of children with bacterial meningitis (BM) and to provide a basis for the timely and effective treatment of childhood BM. **Methods** Retrospective analysis was performed on pathogens isolated from 5097 cerebrospinal fluid samples collected from children in Kunming Children's Hospital between January 2008 and June 2012, as well as drug sensitivity test results. Kirby-Bauer antibiotic testing was used to analyze the sensitivity of these pathogens to commonly used antibiotics. **Results** A total of 116 pathogen strains were detected from the 5097 cerebrospinal fluid samples, including 77 (66.4%) Gram-positive strains, 30 (25.9%) Gram-negative strains, and 9 (7.8%) fungal strains, with a positive rate of 2.28%. The six most frequently isolated pathogens were *Staphylococcus epidermidis* (32 strains, 27.6%), *Streptococcus pneumoniae* (15 strains, 12.9%), *Escherichia coli* (15 strains, 12.9%), *Staphylococcus haemolyticus* (9 strains, 7.8%), *Cryptococcus neoformans* (8 strains, 6.9%) and *Staphylococcus aureus* (6 strains, 5.2%). Coagulase-negative staphylococci was the predominant pathogen in neonates and young infants with BM, and its sensitivity rates to penicillin, erythromycin and clindamycin were lower than 40%. *Streptococcus pneumoniae* had a penicillin sensitivity rate of 13.4%, while sensitivity rates to erythromycin and clindamycin reached 60.0%. No *Staphylococcus* and *Streptococcus pneumoniae* pathogens resistant to vancomycin were found. Gram-negative bacilli had relatively high sensitivity rates to imipenem, meropenem, cefoperazone/sulbactam and cefepime. **Conclusions** Gram-positive cocci are the predominant pathogens for childhood BM over the past five years. The detected pathogens develop high resistance to commonly used antibiotics. To prevent misdiagnosis, careful attention should be paid to BM caused by *Cryptococcus neoformans*.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(4):264-267]

Key words: Cerebrospinal fluid; Pathogen; Drug resistance; Child

[收稿日期]2012-09-01;[修回日期]2012-10-08
[作者简介]蒋鸿超,男,硕士,主治医师。

细菌性脑膜炎(bacterial meningitis, BM)是儿科最常见的一种急性中枢神经系统感染性疾病,进展迅速,常有不同程度的神经系统后遗症,病情严重,甚至可在数小时内导致患儿死亡。为降低 BM 后遗症发生率和病死率,有必要掌握小儿 BM 的病原菌分布特点及耐药状况,以提高早期准确的病原学诊断和采取及时有效的治疗,故本研究对我院 2008 年 1 月至 2012 年 6 月期间 5097 例小儿脑脊液中的 116 株病原菌分离培养结果及其耐药状况进行回顾性分析,报告如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源及临床资料

收集 2008 年 1 月至 2012 年 6 月我院脑脊液培养 5097 例标本中诊断为 BM 的 116 例患儿的临床资料,均符合 BM 的诊断标准。复发病例及其复检标本不重复计入。患儿年龄 2 d 至 12 岁;男 66 例,女 50 例。原发病中呼吸道感染 71 例,菌血症 34 例,皮肤感染 6 例,未明原发病 5 例。

1.2 方法

1.2.1 脑脊液病原菌的分离培养 入院时在应用抗菌药物前采集患儿脑脊液 1~3 mL 立即接种到专用培养瓶,置于全自动微生物培养仪进行培养,仪器报告阳性时从培养瓶中取出适量培养液转种于血液琼脂和巧克力色琼脂平板在 5% CO₂ 环境下 35℃ 培养 16~18 h,挑取菌落按《全国临床检验操作规程》第 3 版进行分离和鉴定。本实验室采用法国生物梅里埃(BioMerieux) VITEK-32 全自动微生物分析系统对细菌进行鉴定。

1.2.2 病原菌药敏试验 采用 K-B 法进行抗生素敏感性试验。药敏纸片购自北京天坛药物生物技术公司和英国 OXOID 公司。将菌株配成 0.5% 的麦氏比浊,以无菌棉拭子接种购自法国生物一梅里埃公司水解酪蛋白琼脂(MH)平板,置 35℃ 孵育 16~18 h。按照 CLSI M100-S17 规定判断药物敏感性^[1]。

1.2.3 标准菌株 质控菌株为大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)及金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)。

1.3 统计学分析

用 WHO 细菌耐药监测网提拱的 WHONET 5.4 软件进行数据分析。

2 结果

2.1 病原菌构成

116 株病原菌中,革兰阳性菌 77 株(66.4%),

革兰阴性菌 30 株(25.9%),真菌 9 株(7.8%),阳性率为 2.28%(116/5097)。排名前 6 位的病原菌依次为表皮葡萄球菌 32 株(27.6%),肺炎链球菌 15 株(12.9%),大肠埃希菌 15 株(12.9%),溶血葡萄球菌 9 株(7.8%),新型隐球菌 8 株(6.9%),金黄色葡萄球菌 6 株(5.2%)。新生儿及婴儿早期的病原菌主要是凝固酶阴性葡萄球菌(*Coagulase negative staphylococcus*, CNS),其比例达到 35.4%,特别是小婴儿(0~3 个月)CNS 占 75.6%(31/41)。另外,本研究发现新型隐球菌检出 8 株(6.9%)。见表 1~2。

2.2 革兰阳性菌耐药性

革兰阳性病原菌主要是表皮葡萄球菌和溶血葡萄球菌,其对青霉素、红霉素、克林霉素敏感率均低于 40%;肺炎链球菌对青霉素敏感率仅为 13.4%,而对红霉素和克林霉素敏感率达到 60.0%;但未见万古霉素耐药的葡萄球菌和肺炎链球菌,见表 3。

2.3 革兰阴性菌耐药性

革兰阴性杆菌对亚胺培南、美洛培南、头孢哌酮/舒巴坦及头孢吡肟敏感率较高,见表 4。

表 1 116 例脑脊液检出病原菌分布构成比

病原菌	株数	构成比(%)
革兰阳性菌		
表皮葡萄球菌	32	27.6
溶血葡萄球菌	9	7.8
肺炎链球菌	15	12.9
金黄色葡萄球菌	6	5.2
人葡萄球菌	5	4.3
粪肠球菌	3	2.6
牛链球菌	2	1.7
屎肠球菌	2	1.7
腐生葡萄球菌	3	2.6
革兰阴性菌		
大肠埃希菌	15	12.9
铜绿假单胞菌	5	4.3
鲍曼不动杆菌	2	1.7
弗氏柠檬酸杆菌	2	1.7
单核细胞增生李斯菌	2	1.7
鲁氏不动杆菌	1	0.8
臭鼻克雷伯菌	1	0.8
奇异变形杆菌	1	0.8
多杀巴斯德菌	1	0.8
真菌		
新型隐球酵母菌	8	6.9
白色假丝酵母菌	1	0.8
合计	116	100

表 2 脑脊液主要病原菌年龄分布 [株数(%)]

菌名	株数	<28 d	28 d ~	3 个月 ~	1 岁 ~	3 ~12 岁
表皮葡萄球菌	32	15(46.9)	10(31.3)	6(18.8)	1(3.1)	0(0)
肺炎链球菌	15	2(13.3)	5(33.3)	6(40.0)	1(6.7)	1(6.7)
大肠埃希菌	15	0(0)	3(20.0)	4(26.7)	4(26.7)	4(26.7)
溶血葡萄球菌	9	4(44.4)	2(22.2)	1(11.1)	1(11.1)	1(11.1)
新型隐球酵母菌	8	0(0)	0(0)	3(25.9)	3(25.9)	2(25.9)
金黄色葡萄球菌	6	1(16.7)	2(33.3)	1(16.7)	1(16.7)	1(16.7)
合计		22(25.9)	22(25.9)	21(24.7)	11(12.9)	10(11.8)

表 3 脑脊液主要革兰阳性菌对抗菌药物药敏分析 (%)

抗生素	表皮葡萄球菌(n=32)			溶血葡萄球菌(n=9)			金黄色葡萄球菌(n=6)			肺炎链球菌(n=15)		
	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感
氨苄西林	62.5	12.5	25.0	66.7	11.1	22.2	66.7	0	33.3	80.0	0	20
氨苄西林/舒巴坦	53.1	18.8	28.1	66.7	0	33.3	66.7	0	33.3	93.3	0	6.7
苯唑西林	48.4	17.2	34.4	66.7	11.1	22.2	50.0	0	50.0	86.6	6.7	6.7
左氧氟沙星	28.1	18.8	53.1	22.3	22.2	55.5	16.7	0	83.3	93.3	0	6.7
红霉素	81.2	12.5	6.3	66.7	22.2	11.1	50.0	33.3	16.7	20.0	20.0	60.0
万古霉素	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0
克林霉素	59.4	12.5	28.1	55.6	11.1	33.3	50.0	0	50.0	20.0	20.0	60.0
青霉素 G	87.5	0	12.5	88.8	0	12.2	66.7	0	33.3	80.0	6.6	13.4
头孢西丁	59.4	6.2	34.4	66.7	0	33.3	16.7	0	83.3	60.0	13.4	26.6
头孢唑啉	34.4	18.8	46.8	33.3	0	66.7	33.3	0	66.7	80.0	0	20

表 4 脑脊液主要革兰阴性菌对抗菌药物药敏分析 (%)

抗生素	全部革兰阴性菌(n=30)			大肠埃希菌(n=15)			铜绿假单胞菌(n=5)		
	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感	耐药	中介	敏感
头孢噻肟	46.7	6.6	46.7	20.0	20.0	60.0	40.0	0	60.0
头孢吡肟	20.0	13.3	66.7	13.3	20.0	66.7	20.0	0	80.0
头孢呋辛	33.3	20.0	46.7	66.7	20.0	13.3	20.0	20.0	60.0
头孢唑啉	66.7	13.3	20.0	60.1	13.3	26.6	40.0	0	60.0
头孢曲松	50.0	13.3	36.7	53.4	13.3	33.3	40.0	20.0	40.0
头孢哌酮	46.7	6.6	46.7	46.7	6.6	46.7	20.0	0	80.0
头孢哌酮/舒巴坦	26.7	6.6	66.7	13.4	6.6	80.0	20.0	0	80.0
氨苄西林	86.8	6.6	6.6	80.0	13.4	6.6	60.0	20.0	20.0
氨苄西林/舒巴坦	60.0	6.6	33.4	60.0	20.0	20.0	40.0	20.0	40.0
哌拉西林	53.3	0	46.7	60.0	13.4	26.6	20.0	20.0	60.0
环丙沙星	40.0	6.7	53.3	60.0	0	40.0	20.0	0	80.0
头孢他啶	26.7	13.3	60.0	53.4	0	46.7	20.0	20.0	60.0
亚胺培南	0	0	100	0	0	100	0	0	100
美洛培南	0	0	100	0	0	100	0	0	100

3 讨论

儿童 BM 是临床严重威胁患儿生命的常见的中枢神经系统感染,脑脊液或血液培养检出病原菌是诊断 BM 的重要依据。本研究显示,近 5 年来昆明地区儿童细菌性脑膜炎患者病原菌以革兰阳性球菌(66.4%)为主,与国内文献的报道相近^[2-5]。主要病原菌是 CNS 和肺炎链球菌,而铜绿假单胞菌则不

多见,说明病原菌分布与地区和年龄差异有关。首先,表皮葡萄球菌和溶血葡萄球菌合计比例达到 35.4%,特别是小婴儿(0~3 个月)CNS 占 75.6%(31/41),符合新生儿的分离率明显高于成人的文献报道^[6-7],这可能与标本的污染、侵入性治疗、免疫低下等因素有关。临床因为 CNS 致病力弱而经常怀疑为污染菌,但因其有产生黏液和表达黏液相关抗原的能力而产生毒力,这与 CNS 产生具有致病作用的厚生物膜(thicker biofilms)密切相关^[7-8]。同时

新生儿免疫功能相对较低,且血脑屏障功能不健全,致 CNS 成为新生儿 BM 的主要病原菌。本研究中脑脊液来源的金黄色葡萄球菌比例为 5.2%,比之前文献的监测结果要低^[6-7]。另外本研究结果显示 CNS 对青霉素、红霉素、克林霉素敏感率均低于 40%,说明该类细菌具有多重耐药性,临床应对其严重耐药性引起重视。与此同时,肺炎链球菌对青霉素敏感率为 13.4%,而对红霉素和克林霉素敏感率达到 60.0%,故对耐青霉素肺炎链球菌脑炎患儿宜选用第 3 代头孢菌素。革兰阴性杆菌对亚胺培南、美洛培南、头孢哌酮/舒巴坦及头孢吡肟敏感率较高。另外,值得一提的是本研究新型隐球菌检出 8 株(6.9%),提示临床应高度警惕新型隐球菌性脑膜炎,防止误诊和漏诊。新型隐球菌性脑膜炎临床表现及脑脊液常规和生化改变与其他病原所致脑膜炎较难鉴别,故临床易误诊和漏诊。当真菌脑脊液培养阴性,又没有其他诊断方法的情况下,与脑脊液传统墨汁染色和费时的真菌培养方法比较,脑脊液乳胶凝集试验具有更高的阳性检测率和敏感性,更适于隐球菌性脑膜炎的早期快速诊断^[9]。所以,针对新型隐球菌性脑膜炎易被误诊和漏诊的情况,积极采用脑脊液乳胶凝集试验不失为一个快速有效方法。总之,治疗 BM 应根据儿童用药的特点,依据脑脊液分离菌株的药敏试验结果合理选用敏感抗菌药物,选择毒性低、易于通过血脑屏障的药物进行早期个体化治疗,并保证足够疗程,必要时可以联合用药来降低后遗症发生率和病死率。

[参 考 文 献]

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing[S]. M100-S20. CLSI, Wayne, PA, USA, 2010.

[2] 李耘,吕媛,王珊. 2010 年度卫生部全国细菌耐药监测报告:脑脊液分离细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(24):5152-5156.

[3] Green MC, Mason EO, Kaplan SL, Lamberth LB, Stovall SH, Givner LB, et al. Increase in prevalence of Streptococcus pneumoniae serotype 6C at Eight Children's Hospitals in the United States from 1993 to 2009[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(6): 2097-2101.

[4] 王进,肖永红. 2008 年 Mohnarin 脑脊液分离菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(16):2405-2410.

[5] 郝凤兰,王进,肖永红. 2006 ~ 2007 年 Mohnarin 脑脊液分离菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(9): 1243-1247.

[6] 肖永红,王进,朱燕,齐惠敏,李湘燕,赵彩云,等. Mohnarin2008 年度全国细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(16):2377-2383.

[7] ThigpenMC, Whitney CG, Messonnier NE, Zell ER, Lynfield R, Haddler JL, et al. Bacterial meningitis in the United States, 1998-2007 [J]. N Engl J Med, 2011, 364(21): 2016-2025.

[8] Chang CJ, Ye JJ, Yang CC, Huang PY, Chiang PC, Lee MH. Influence of third generation cephalosporin resistance on adult in-hospital mortality from post-neurosurgical bacterial meningitis[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2010, 43(4): 301-309.

[9] 常杏芝,李若瑜,王欲琦,王爽,熊晖,吴晔,等. 脑脊液乳胶凝集试验在儿童新型隐球菌性脑膜炎诊断和治疗中的应用[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(2):115-118.

(本文编辑:王庆红)