儿科血液病房血培养病原菌分布及 耐药情况分析

旷凌寒 江咏梅 胡正强 母丽媛 苏敏 周伟

(四川大学华西第二医院检验科,四川 成都 610041)

[摘要] **目的** 调查儿科血液病房血培养病原菌分布及其变迁,分析主要病原菌的耐药性及导致血培养阳性败血症的相关危险因素。**方法** 对该院2008~2011年自儿科血液病房的2358份血培养标本分离出的病原菌种类、药敏结果及临床资料整理分析。**结果** 共分离出110株病原菌,前三位依次为大肠埃希菌16株、铜绿假单胞菌12株、表皮葡萄球菌8株。4年中革兰阳性菌的构成比降低,而革兰阴性菌的构成比升高。耐甲氧西林的凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)和金黄色葡萄球菌(MRSA)检出率分别为69%和43%,但均对万古霉素敏感。产超广谱β内酰胺酶(ESBL)的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌分别为69%和62%,但均对碳青霉烯类抗生素敏感。恶性肿瘤性疾病是血培养阳性的危险因素($OR=3.564, P<0.05$)。**结论** 儿科血液病房儿童血流感染的病原菌种类繁多,构成比不断变化,耐药率高。恶性肿瘤性疾病是血培养阳性的危险因素。

[中国当代儿科杂志,2013,15(4):259-263]

[关键词] 血培养;血液病;细菌;药物敏感性试验;儿童

Species and drug resistance of pathogens in blood cultures from the pediatric hematology ward

KUANG Ling-Han, JIANG Yong-Mei, HU Zheng-Qiang, MU Li-Yuan, SU Min, ZHOU Wei. Department of Laboratory Medicine, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China (Zhou W, Email: chengduzhouwei@126.com)

Abstract: Objective To investigate the species and percentage changes of pathogens in blood cultures from the pediatric hematology ward, and to analyze the drug resistance of main pathogens and the risk factors for positive blood culture (sepsis). **Methods** A retrospective analysis was performed to analyze the species and drug sensitivity of the pathogens isolated from 2358 blood cultures from the pediatric hematology ward of the West China Second University Hospital between 2008 and 2011, as well as the related clinical data. **Results** A total of 110 strains of pathogens were isolated, with *Escherichia coli* (16 strains), *Pseudomonas aeruginosa* (12 strains) and *Staphylococcus epidermidis* (8 strains) being the most common ones. From 2008 to 2011, the percentage of Gram-positive bacteria decreased, while the percentage of Gram-negative bacteria increased. The detection rates of methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* were 69% and 43% respectively, but both were sensitive to vancomycin. The detection rates of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* were 69% and 62% respectively, but both were sensitive to imipenem and meropenem. Malignant tumor was a risk factor for positive blood culture ($OR=3.564, P<0.05$). **Conclusions** A wide range of pathogens are responsible for bloodstream infection in the pediatric hematology ward and the percentages of bacteria are changing; these pathogens have a high drug resistance rate. Malignant tumor is a risk factor for positive blood culture in the pediatric hematology ward.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(4):259-263]

Key words: Blood culture; Hematology; Bacteria, Drug sensitivity; Child

菌血症、败血症是严重的全身性感染,病情复杂多变,死亡率较高,血液病儿童由于免疫力低下或常使用免疫抑制剂而更易感染。血液细菌培养及药敏结果是对菌血症和败血症诊断和治疗的依据。为了

解近年来在儿科血液病房儿童血培养标本中病原菌的种类及主要病原菌对常用抗生素的耐药情况,本研究对我院儿科血液病房2358份血液细菌培养结果进行统计分析,报告如下。

[收稿日期]2012-11-01; [修回日期]2012-12-27

[作者简介]旷凌寒,女,硕士研究生,技师。

[通信作者]周伟,主管技师。

1 资料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 2008年1月1日至2011年12月31日我院儿科血液病房符合血培养采集指征患儿的血液标本2358份。患儿出现以下一种或多种体征时作为血培养采血指征:发热($\geq 38^{\circ}\text{C}$)或低温($\leq 36^{\circ}\text{C}$),寒战,白细胞增多(计数大于 $10.0 \times 10^9/\text{L}$,特别有“核左移”时),皮肤黏膜出血,昏迷,多器官功能衰竭,血压降低,C反应蛋白升高及呼吸加快,血液病患儿出现血粒细胞减少、血小板减少等^[1]。

1.1.2 试剂及仪器 血培养仪为 Bact/ALERT 3D 全自动血培养仪(法国生物梅里埃公司);培养瓶为法国生物梅里埃公司儿童血培养瓶,血液琼脂平板购自广州市迪景微生物科技有限公司,沙保弱氏平板购自杭州天和微生物试剂有限公司。细菌鉴定及药敏检测采用法国生物梅里埃公司 VITEK 2 COMPACT 微生物全自动鉴定及药敏分析仪。细菌鉴定及药敏板用标准菌株 ATCC25922、ATCC25923、ATCC27853 等进行质控,有效期内使用。

1.2 血培养方法

按血培养瓶产品说明,无菌采集血液 1~3 mL 入培养瓶中,置 Bact/ALERT 3D 全自动血培养仪孵育。普通细菌培养的预设培养时间为 5 d,若 5 d 后系统仍未报阳则为培养阴性。真菌培养的预设培养时间为 14 d,若 14 d 后系统仍未报阳则为培养阴性。培养阳性的标本进行革兰染色,并将染色结果初报病房医生,同时转种血平板,培养 18~24 h 后取纯培养菌用 VITEK 2 COMPACT 微生物全自动鉴定及药敏分析仪进行鉴定及药敏,真菌转种沙保弱氏平板,18 h~5 d 后取纯培养菌用 VITEK 2 COMPACT 微生物全自动鉴定及药敏分析仪进行鉴定,并用法国生物梅里埃公司 ATB FUNGUS 进行抗真菌药物 MIC 测定,参照 CLSI 标准进行结果判定。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料用例数或构成比表示,危险因素分析采用 logistic 回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患儿基本资料、病原菌的种类及检出率

2008~2011 年儿科血液病房总共送检血培养

标本 2358 份,阳性标本 131 份,总阳性率 5.56%,4 年中阳性率有降低趋势(表 1)。其中同一患儿同一时间重复分离菌株 21 株,所以最终纳入研究的病原菌株为 110 株。

表 1 2008~2011 年血培养阳性检出率 [例(%)]

年份	标本总数	血培养阳性
2008 年	503	32(6.4)
2009 年	644	40(6.2)
2010 年	615	38(6.2)
2011 年	596	21(3.5)

排除同一病人同一时间条件下,重复送检血培养,且结果相同的例数,4 年儿科血液病房共送检血培养 1099 人,其中男性 664 例,女性 435 例,平均年龄 6.62 岁(年龄范围:0~18 岁)。有 101 人血培养阳性(110 株病原菌中,有 9 株为同一患儿在非同一时间条件下的不同血培养标本阳性菌株),其中男性 65 例,女性 36 例患儿。53.59%(589/1099)的患儿在血培养标本采集前使用了抗生素。血培养阳性患儿血培养标本采集前的抗生素使用率更高,达 71.81%(79/110),其中包括 16 例患儿使用了万古霉素,8 例使用了亚胺培南,12 例使用了美罗培南等限制级抗生素。48.18%(53/110)的患儿为两种或两种以上抗生素联合使用,大多是一代头孢菌素和三代头孢菌素联合使用,4 例患儿联合使用了抗真菌药物。

将病原菌分为革兰阳性菌、革兰阴性菌及真菌三大类,4 年来革兰阴性菌的构成比增高(从 44% 升至 63%),而革兰阳性菌的构成比降低(从 46% 降至 26%),真菌构成比较低,4 年仅检出 3 例(表 2)。4 年中共检出 6 例深部真菌感染的患儿,血液感染占 50%,比例较大。3 例真菌感染的败血症患儿中有 2 例接受了化疗,1 例安置了中心静脉导管,且导管培养与血培养结果一致,最后 2 例患儿经治疗好转后出院,1 例患儿死亡。3 例中有 2 例患儿在血培养标本采集前使用了抗生素,该 2 例患儿的发热时间均为超过 1 个月,其中 1 例在血培养采集前 3 d 使用,另 1 例在血培养采集前 5 d 使用,抗生素种类包括万古霉素、亚胺培南、美洛培南。

儿科血液病房各年血培养病原菌的检出率见表 2。110 株病原菌共计 36 种,革兰阳性菌构成比(41.8%)低于革兰阴性菌(55.5%),真菌检出率较低(2.7%)。分离率前 5 位的病原菌分别是大肠埃希菌(14.6%)、铜绿假单胞菌(10.9%)、表皮葡萄球菌(7.3%)、肺炎克雷伯菌(7.3%)和金黄色葡萄球菌(6.4%)(表 3)。

表2 2008~2011年血培养阳性病原菌种类

病原菌	2008年(n=27)		2009年(n=34)		2010年(n=30)		2011年(n=19)		合计(n=110)	
	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)	株数	构成比(%)
革兰阴性菌	12	44	15	44	22	73	12	63	61	55
革兰阳性菌	15	46	19	56	7	23	5	26	46	42
真菌	0	0	0	0	1	3	2	11	3	3

表3 2008~2011年血培养阳性标本各种病原菌数量及构成比 (n=110)

病原菌	检出株数	构成比(%)
大肠埃希氏菌	16	14.5
铜绿假单胞菌	12	10.9
表皮葡萄球菌	8	7.3
肺炎克雷伯氏菌	8	7.3
金黄色葡萄球菌	7	6.4
人葡萄球菌	6	5.5
鲍曼氏不动杆菌	5	4.6
沙门氏菌某些种	5	4.6
腐生葡萄球菌	4	3.6
鲁氏不动杆菌	4	3.6
肺炎链球菌	3	2.7
溶血葡萄球菌	3	2.7
尿肠球菌	3	2.7
洋葱伯克霍尔德氏菌	2	1.8
科氏葡萄球菌解脲亚种	2	1.8
近平滑假丝酵母菌	2	1.8
化脓性链球菌	1	0.9
豕链球菌	1	0.9
嗜水气单胞菌	1	0.9
阴沟肠杆菌	1	0.9
粘质沙雷氏菌	1	0.9
中间葡萄球菌	1	0.9
无乳链球菌	1	0.9
头状葡萄球菌	1	0.9
生癌肠杆菌	1	0.9
克氏微球菌	1	0.9
短芽孢杆菌	1	0.9
恶臭假单胞菌	1	0.9
嗜水气单胞菌	1	0.9
阴沟肠杆菌	1	0.9
坐皮肤球菌	1	0.9
变异库克菌	1	0.9
草绿色链球菌	1	0.9
产酸克雷伯氏菌	1	0.9
化脓性链球菌	1	0.9
曲霉属	1	0.9

2.2 分离的主要病原菌

2008~2011年4年中分离的主要病原菌为大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌及表皮葡萄球菌。凝固酶阴性葡萄球菌自2009年至2011年分离率明显降低(自35%降低至5%)(表4)。

2.3 主要病原菌对常用抗生素耐药率

将所有凝固酶阴性葡萄球菌耐药率合并进行分析,对甲氧西林耐药的凝固酶阴性葡萄菌检出率为69%(18/26),对甲氧西林耐药的金黄色葡萄球菌(MRSA)检出率为43%(3/7)(表5),对产超广谱β内酰胺酶(ESBL)抗菌药物耐药的大肠埃希菌检出率为69%(11/16),对产ESBL抗菌药物耐药的肺炎克雷伯菌检出率为62%(5/8)(表6)。

2.4 儿科血液病房患儿发生血培养阳性败血症危险因素分析

将经骨髓形态学检查及组织化学检查、流式细胞学、病理学及染色体、基因检查等方法确诊为白血病、淋巴瘤、神经母细胞瘤等恶性肿瘤性疾病的患儿分类为恶性肿瘤性疾病组,将其他诊断为非恶性肿瘤性疾病的患儿分类为非恶性肿瘤性疾病组,用logistic回归方法分析性别、年龄和恶性肿瘤性疾病是否是儿科血液病房患儿发生血培养阳性败血症的危险因素,统计结果显示性别与血培养阳性败血症的发生几率无关($P > 0.05$),年龄是发生血培养阳性败血症的保护因素($OR = 0.937, 95\% CI : 0.889 \sim 0.987, P < 0.05$),恶性肿瘤性疾病是发生血培养阳性败血症的危险因素($OR = 3.564, 95\% CI : 1.994 \sim 6.370, P < 0.05$)(表7)。

表4 2008~2011年4年中分离的主要病原菌及凝固酶阴性葡萄球菌的变化

2008年			2009年			2010年			2011年		
菌株	数量	构成比(%) (n=27)	菌株	数量	构成比(%) (n=34)	菌株	数量	构成比(%) (n=30)	菌株	数量	构成比(%) (n=19)
大肠埃希氏菌	4	15	表皮葡萄球菌	4	12	铜绿假单胞菌	7	23	大肠埃希氏菌	4	21
金黄色葡萄球菌	3	11	铜绿假单胞菌	4	12	大肠埃希氏菌	5	17	金黄色葡萄球菌	1	5
人葡萄球菌	3	11	大肠埃希氏菌	3	9	沙门氏菌某些种	4	13	人葡萄球菌	1	5
表皮葡萄球菌	2	7	腐生葡萄球菌	3	9	人葡萄球菌	2	7	肺炎链球菌	1	5
肺炎链球菌	2	7	金黄色葡萄球菌	2	6	表皮葡萄球菌	2	7	鲁氏(洛菲)不动杆菌	1	5
凝固酶阴性葡萄球菌	8	30	凝固酶阴性葡萄球菌	12	35	凝固酶阴性葡萄球菌	5	17	凝固酶阴性葡萄球菌	1	5

表5 主要革兰阳性球菌对常用抗生素耐药情况

抗菌药物	[株(%)]	
	凝固酶阴性葡萄球菌 (n=26)	金黄色葡萄球菌 (n=7)
庆大霉素	13(50)	6(86)
左旋氧氟沙星	4(15)	0(0)
苯唑西林	18(69)	3(43)
青霉素	26(100)	6(86)
奎奴普丁/达福普汀	0(0)	0(0)
利福平	3(12)	0(0)
替考拉宁	0(0)	0(0)
四环素	11(42)	0(0)
复方磺胺	18(69)	2(29)
万古霉素	0(0)	0(0)
红霉素	24(92)	6(86)
克林霉素	5(19)	3(43)
米诺环素	0(0)	0(0)

表6 主要革兰阴性杆菌对常用抗生素耐药情况 [株(%)]

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=16)	铜绿假单胞菌 (n=12)	肺炎克雷伯菌 (n=8)
阿米卡星	1(6)	0(0)	0(0)
阿莫西林/克拉维酸	6(38)	0(0)	2(25)
哌拉西林	16(100)	-	4(50)
氨苄西林	16(100)	-	8(100)
头孢吡肟	8(50)	1(8)	2(25)
头孢噻肟	11(69)	1(8)	5(62)
头孢他啶	11(69)	1(8)	2(25)
头孢西丁	4(25)	-	1(12)
头孢噻吩	15(94)	-	6(75)
产 ESBL	11(69)	-	5(62)
环丙沙星	12(75)	0(0)	0(0)
复方磺胺	15(94)	11(92)	6(75)
庆大霉素	9(56)	1(8)	4(50)
妥布霉素	11(69)	1(8)	0(0)
亚胺培南	0(0)	1(8)	0(0)
美洛培南	0(0)	1(8)	0(0)

表7 儿科血液病房患儿发生血培养阳性败血症的危险因素分析

变量	血培养阴性	血培养阳性	P 值	OR 值	95% CI
性别(例)					
男	599	65	0.375	0.820	0.528 ~ 1.272
女	399	36			
年龄(岁)	6.68	6.01	0.015	0.937	0.889 ~ 0.987
临床诊断(例)					
恶性肿瘤性疾病	641	86	<0.001	3.564	1.994 ~ 6.370
非恶性肿瘤性疾病	357	15			

3 讨论

本研究显示,血培养标本中阳性率为 5.56%,与国内文献报道的阳性率基本相同^[2]。4年来我院儿科血液病房的血培养阳性率有所下降。病原菌共计 36 种,革兰阳性菌比例(41.8%)低于革兰阴性菌(55.5%),真菌的检出率(2.7%)低于相关文献报道^[3]。分离的主要病原菌是大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌。这与国外的文献报道有所不同,英国与美国的相关文献均显示,凝固酶阴性的葡萄球菌等革兰阳性菌是儿童医院感染的主要病原^[4-5]。自 2008 年至 2011 年,革兰阳性菌的构成比有所减低(从 46% 降至 26%),而革兰阴性菌的构成比有所升高(从 44% 升高至 63%)。分析各年病原菌种类和数量的变化可得,2010 年和 2011 年革兰阳性菌构成比的减少,主要是由于凝固酶阴性葡萄球菌数量的减少,2008 年和 2009 年分别检出凝固酶阴性葡萄球菌 8 株和 12 株,而 2010 年和 2011 年仅检出 5 株和 1 株,分析主要

原因是从 2009 年底开始我院儿科血液病房血培养的采集改由培训合格、穿刺技术精湛专职的采血人员进行,大大降低了血培养污染率。凝固酶阴性葡萄球菌尽管有时是真正的病原菌,但它同时也是最常见的血培养污染菌^[6]。由于大部分患儿有贫血的症状,所以常需单瓶采集,增加了污染机率以及判断是否为污染菌的难度,给临床的诊治工作造成困扰。因此样本采集人员的穿刺技术及严格的消毒程序对降低血培养污染至关重要。

本研究药敏结果显示,儿科血液住院患儿血培养阳性的主要病原菌对常用抗生素的耐药率较高,耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌、产 ESBL 的大肠埃希菌和产 ESBL 的肺炎克雷伯检出率均高于 60%,高于相关文献报道^[7]。提示临床医生在经验性治疗时需要根据药敏试验结果选用敏感的抗生素。血培养采集前的抗生素使用率较高,使用限制级抗生素的比例也较高,但未见抗生素继发真菌感染的病例。3 例真菌感染的败血症患儿中,2 例在血培养采集前使用了抗生素,但该 2 例患儿的发热时间均长达 1 月余,而抗生素使用时间均较短。故考

虑为抗生素使用后继发真菌感染的可能性不大。

本研究中性别与血培养阳性败血症的发生几率无关,年龄增加是发生血培养阳性败血症的保护因素,恶性肿瘤性疾病是发生血培养阳性败血症的危险因素,恶性肿瘤性疾病组患儿发生血培养阳性败血症的几率是非恶性肿瘤性疾病组患儿的3.564倍。这可能是由于恶性肿瘤性疾病患儿长期使用免疫抑制剂,并且化疗后白细胞计数降低,导致免疫力下降引起^[8]。因此,临床医生在对低年龄恶性肿瘤性疾病患儿进行护理和治疗时应更加引起重视,预防血培养阳性败血症的发生。

总之,儿科血液病房住院患儿血流感染的病原菌种类繁多,病原菌的构成也在不断变化,儿科血液病房病人由于患儿的特殊性,样本采集人员的穿刺技术及严格的消毒程序对降低血培养污染至关重要。体外药敏结果显示儿科血液病房患儿血培养主要病原菌对常用抗菌药物耐药率高。由于国内对血液病儿童发生败血症几率的相关报道较少,所以可供临床用于经验性抗生素治疗的数据不多,因此,定期回顾分析儿科血液病房病原菌构成及耐药性结果有助于临床早期抗感染的经验治疗,合理使用抗生素。另外,本研究显示年龄增加是儿科血液病房患儿发生血培养阳性败血症的保护因素,恶性肿瘤性疾病是危险因素,因此临床医生在对低年龄且患恶

性肿瘤性疾病的儿科血液病房患儿进行经验性抗感染治疗时,应引起注意。

[参 考 文 献]

- [1] 中华医学会检验医学分会. 临床微生物学血培养操作规范[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(2):124-126.
- [2] 范少真,王爱华. 1997-2006年北京儿童医院血液病房医院感染分析[J]. 北京医学,2009, 31(7):407-410.
- [3] 陈杏春. 血培养真菌菌种分布与感染相关因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010, 20(17):2702-2704.
- [4] Urrea M, Rives S, Cruz O, Navarro A, Garcia JJ, Estella J. Nosocomial infections among pediatric hematology/oncology patients: results of a prospect incidence study[J]. Am J Infect Control, 2004, 32(4): 205-208.
- [5] Paulus SC, van Saene HKF, Hems worth S, Paulus SC, van Saene HK, et al. A prospective study of septicemia on a pediatric oncology unit: a three-year experience at the Royal Liverpool Children's Hospital, Alder Hey, UK[J]. Euro J Cancer, 2005, 41(14): 2132-2140.
- [6] Melvin P, Weinstein J. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress[J]. Clin Microbial, 2003, 41(6): 2275-2278.
- [7] 郑卓军,汤永民. 恶性血液肿瘤患儿化疗后感染产ESBLs细菌耐药性分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(7):518-520.
- [8] Fortun J, Sanz MA, Madero L, Lopez J, de la Torre J, Jarque I, et al. Update on bacteremia in oncology and hematology[J]. Enferm Infect Microbiol Clin, 2011, 29(4):48-53.

(本文编辑:王庆红)

· 消息 ·

新生儿颅脑超声诊断学习班通知

为提高对围产期脑损伤及其他中枢神经系统疾病的诊断水平,充分利用已有的医疗资源,推广颅脑超声检查诊断技术,北京大学第一医院儿科按计划于2013年8月27日至31日举办为期5天的新生儿颅脑超声学习班。本班属国家级教育项目,授课教师为本科及北京市著名专家教授。学习结束授予10学分。主要授课内容包括:中枢神经系统解剖;新生儿不同颅脑疾病超声诊断;新生儿颅脑疾病不同影像学检查方法比较与选择;超声见习。招收学员对象:儿科新生儿专业医师、超声专业医师及技师。学费:1200元。欲参加者请与我们联系:北京大学第一医院儿科(邮编100034)王红梅、周丛乐。电话:010-83573461或83573213。E-mail:bdyy2002@163.com。如果需要,我们将寄去正式通知。

北京大学第一医院儿科
2013年1月15日