

某院 2017—2018 年血培养阳性标本 菌群分布及耐药性分析

王林 张昌峰 梁浩杰 舒琳睿 朱俊

作者单位: 230031 安徽合肥, 安徽中医药大学第一附属医院检验中心

通信作者: 王林, Email: azywl0878@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.03.007

【摘要】 目的 分析血培养标本菌群分布特点及耐药性, 为临床血流感染 (BSI) 合理用药和感染控制提供依据。方法 收集 2017 年 1 月—2018 年 12 月安徽中医药大学第一附属医院门诊及住院患者血培养样本及临床资料, 进行菌株鉴定和药敏试验, 分析菌群分布及耐药性。结果 共送检血培养标本 3 446 份, 检出首次非重复病原菌 309 株, 阳性检出率为 8.97%, 其中革兰阳性 (G^+) 菌、革兰阴性 (G^-) 菌、真菌分别占 52.75% (163/309)、38.83% (120/309)、8.41% (26/309)。居前 5 位的病原菌依次为大肠埃希菌、人葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌及金黄色葡萄球菌, 分别占 18.12% (56/309)、11.65% (36/309)、11.00% (34/309)、7.44% (23/309)、6.47% (20/309)。大肠埃希菌对亚胺培南的耐药率明显低于肺炎克雷伯菌 (0 比 26.09%, $P < 0.05$), 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 检出率为 50.00%, 低于耐甲氧西林人葡萄球菌 (72.22%) 和耐甲氧西林表皮葡萄球菌 (70.59%), 未发现对万古霉素、利奈唑胺和替加环素耐药的葡萄球菌。屎肠球菌对多种常见抗菌药物的耐药率均明显高于粪肠球菌 (均 $P < 0.05$)。结论 血培养菌群分布复杂, 耐药性差异大, 以 G^+ 菌检出为主。应加强血培养病原菌分布及其耐药性差异监测, 减少多重耐药菌的产生。

【关键词】 血培养; 病原菌; 耐药性; 微生物

基金项目: 安徽中医药大学科研项目 (2019zryb13)

Distribution and antimicrobial resistance of blood culture positive pathogens in a hospital during 2017–2018

Wang Lin, Zhang Changfeng, Liang Haojie, Shu Linrui, Zhu Jun. Clinical Laboratory Center, the First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China

Corresponding author: Wang Lin, Email: azywl0878@126.com

【Abstract】 **Objective** To analyze the distribution characteristics and drug resistance of pathogens in blood culture, and to provide basis for rational drug use and control of clinical bloodstream infection (BSI). **Methods** The clinical data and blood culture samples of outpatients and inpatients in the First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine during January 2017 to December 2018 were collected. The bacterial identification and drug sensitivity test were carried out, and bacterial distribution and drug resistance were analyzed. **Results** Totally 309 strains of pathogens were isolated from 3 446 samples and positive rate was 8.97%, among which the proportion of Gram-positive (G^+) bacteria, Gram-negative (G^-) bacteria and fungi was 52.75% (163/309), 38.83% (120/309) and 8.41% (26/309), respectively. The top five species of pathogens were *Escherichia coli*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*, accounting for 18.12% (56/309), 11.65% (36/309), 11.00% (34/309), 7.44% (23/309) and 6.47% (20/309), respectively. The resistance rate of *Escherichia coli* to imipenem was significantly lower than that of *Klebsiella pneumoniae* (0 vs. 26.09%, $P < 0.05$). The detection rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was 50.00%, which was lower than that of methicillin-resistant *Staphylococcus hominis* (72.22%) and methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (70.59%). No *Staphylococcus spp.* resistant to vancomycin, linezolid and tigecycline was found. The resistance rates of *Enterococcus faecium* to several common antibiotics were significantly higher than those of *Enterococcus faecalis* (all $P < 0.05$). **Conclusions** The bacteria distribution in blood culture is complex, mainly G^+ bacteria, with significant difference in drug resistance. The distribution and drug resistance of pathogens in blood culture should be monitored to reduce the occurrence of multi drug resistant bacteria.

【Key words】 Blood culture; Pathogenic bacteria; Drug resistance; Microbial

Fund program: Scientific Project of Anhui University of Chinese Medicine (2019zryb13)

血流感染 (bloodstream infection, BSI) 是指细菌、真菌等病原微生物侵入血液, 随血液循环遍及全身的播散性感染性疾病, 严重者可发生多器官功能障碍综合征, 危及患者身体健康甚至生命安全^[1]。研究显示, 我国每年超过 20 万人发生不同程度的 BSI^[2], 病死率达 28.7%, 当出现脓毒症甚至感染性休克时病死率可高达 60%^[3]。血培养是 BSI 诊断和危重患者病情监测的重要手段, 也是早期合理使用抗菌药物和控制感染的重要依据。近年来随着广谱抗菌药物、免疫抑制剂、放/化疗药物及侵袭性诊疗技术等广泛应用, BSI 发病率呈不断上升趋势, 病原菌构成谱和耐药性亦不断发生改变^[4]。因此, 定期检测本地区血培养病原菌分布及耐药性变化对于指导临床合理用药具有重要意义。本研究回顾性分析 2017 年 1 月—2018 年 12 月我院门诊及住院患者血培养阳性标本的菌群分布及耐药性, 为指导临床合理用药和制定相应防治策略提供依据, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 样本来源 收集 2017 年 1 月—2018 年 12 月本院门诊及住院患者血培养标本分离的病原菌, 剔除同一患者重复菌株。如血培养检出凝固酶阴性葡萄球菌 (coagulase negative *Staphylococcus*, CNS), 则根据患者血培养报阳时间、报阳瓶数、有无 BSI 症状和体征或联合其他检测指标综合判断。如血培养报阳时间大于 48 h 且仅从单一培养瓶中检出 CNS 则视为污染菌; 如降钙素原 (procalcitonin, PCT)、C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、白细胞计数 (white blood cell count, WBC) 等实验室检查结果不支持细菌感染, 也将 CNS 视为污染菌。

1.2 质控菌株 大肠埃希菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、铜绿假单胞菌 ATCC 27853、粪肠球菌 ATCC 29212 购自国家卫生健康委员会临床检验中心。

1.3 仪器与试剂 法国梅里埃公司 Bact/ALert 3D 全自动血培养仪, VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定和药敏分析系统; 血平板、巧克力平板、麦康凯平板及沙保弱平板等均购自郑州安图生物工程股份有限公司, 药敏纸片为英国 Oxoid 公司产品。

1.4 菌株鉴定及药敏试验 按《全国临床检验操作规程》进行标本采集、运送以及细菌培养、分离和鉴定。采集患者静脉血, 成人每瓶采集血液 8~10 mL 先注入需氧瓶后注入厌氧瓶, 儿童采集血液 1~3 mL 注入儿童血培养瓶, 置于 Bact/ALert 3D 全自动血培

养仪培养, 培养 5 d 未回报阳性结果者转种血平板 24 h 仍无细菌生长视为阴性。血培养回报阳性结果后, 立即抽取培养液转种于血平板和巧克力平板, 必要时接种于麦康凯平板和沙保弱平板; 厌氧瓶在需氧瓶基础上增加 1 个血平板放入厌氧袋, 置于 35℃、5% CO₂ 培养箱培养 18~24 h, 以获取纯培养菌落; 同时涂片行革兰染色镜检进行确认以排除假阳性并及时将初步结果上报临床。细菌鉴定和药敏试验由梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统完成, 部分补充药敏试验采用纸片扩散法。药敏结果参照 2017 年美国临床实验室标准化协会公布的标准判定, 以敏感 (sensitive, S)、中介 (intermediate, I)、耐药 (resistant, R) 报告结果。

1.5 伦理学 本研究符合医学伦理学标准, 经本院伦理批准 (审批号: 20190830), 所有对患者的检测均获得过患者或家属的知情同意。

1.6 统计学方法 使用 SPSS 21.0 软件分析数据, 符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 非正态分布的计量资料以中位数 (四分位数) [$M(Q_L, Q_U)$] 表示, 计数资料以株 (%) 表示, 采用 χ^2 检验及 Fisher 精确检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 共送检 3 446 份血培养标本, 其中男性 2 052 份, 女性 1 394 份; 检出首次非重复病原菌 309 株, 阳性检出率为 8.97%; 男性阳性率明显高于女性 [10.14% (208/2 052) 比 7.25% (101/1 394)], 差异有统计学意义 (P<0.05)。阳性患者年龄 1~95 岁, 中位年龄 63 (39, 71) 岁, 15 例年龄 < 14 岁 (占 4.85%), 160 例年龄 > 60 岁 (占 51.78%)。

2.2 血培养阳性标本菌群分布 309 株阳性标本中革兰阳性 (G⁺) 菌 163 株, 革兰阴性 (G⁻) 菌 120 株, 真菌 26 株; 其中以大肠埃希菌最多见, 其后依次为葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌等。见表 1。

2.3 病原菌耐药情况

2.3.1 葡萄球菌属的耐药性比较 金黄色葡萄球菌对苯唑西林的耐药率为 50.00%, 除青霉素 (95.00%)、红霉素 (55.00%)、克林霉素 (40.00%) 外, 对其他抗菌药物的耐药率均 < 30%。葡萄球菌和表皮葡萄球菌对青霉素、苯唑西林和红霉素的耐药率均高于金黄色葡萄球菌, 但表皮葡萄球菌对四环素和庆大霉素的耐药率均低于金黄色葡萄球菌。以上菌株均未检出耐万古霉素、利奈唑胺和替加环素。见表 2。

表 1 血培养阳性标本的菌群分布及构成比

病原菌	株数 (株)	构成比 (%)	病原菌	株数 (株)	构成比 (%)
G ⁻ 菌	120	38.83	G ⁺ 菌	163	52.76
大肠埃希菌	56	18.12	人葡萄球菌	36	11.65
肺炎克雷伯菌	23	7.44	表皮葡萄球菌	34	11.00
产酸克雷伯菌	12	3.88	金黄色葡萄球菌	20	6.47
铜绿假单胞菌	8	2.59	粪肠球菌	8	2.59
其他 G ⁻ 菌	21	6.80	粪肠球菌	5	1.62
真菌	26	8.41	其他 G ⁺ 菌	60	19.43
近平滑假丝酵母菌	8	2.59	合计	309	100.00
罗伦特隐球酵母菌	6	1.94			
法式念珠菌	6	1.94			
其他真菌	6	1.94			

注: G⁺ 为革兰阳性, G⁻ 为革兰阴性

表 2 葡萄球菌属的耐药情况比较

抗菌药物	人葡萄球菌 (n = 36)		表皮葡萄球菌 (n = 34)		金黄色葡萄球菌 (n = 20)	
	耐药株数 (株)	耐药率 (%)	耐药株数 (株)	耐药率 (%)	耐药株数 (株)	耐药率 (%)
青霉素	36	100.00	33	97.06	19	95.00
苯唑西林	26	72.22	24	70.59	10	50.00
红霉素	32	88.89	23	67.65	11	55.00
克林霉素	20	55.55	14	41.18	8	40.00
四环素	14	38.89	6	17.65	5	25.00
左氧氟沙星	13	36.11	9	26.47	4	20.00
环丙沙星	13	36.11	6	17.65	3	15.00
庆大霉素	2	5.56	1	2.94	1	5.00
复方磺胺甲噁唑	15	41.67	19	55.88	2	10.00
利福平	3	8.33	3	8.82	0	0
奎奴普汀 / 达福普汀	1	2.78	0	0	0	0
替加环素	0	0	0	0	0	0
万古霉素	0	0	0	0	0	0
利奈唑胺	0	0	0	0	0	0

2.3.2 肠球菌属的耐药性比较 屎肠球菌和粪肠球菌对克林霉素均高度耐药,对利奈唑胺和替加环素敏感率为 100%。除四环素和奎奴普汀 / 达福普汀外,屎肠球菌对氨苄西林、红霉素及氟喹诺酮类耐药性均明显高于粪肠球菌,见表 3。肠球菌中检出 1 株耐万古霉素屎肠球菌,来自重症监护病房 84 岁男性血培养标本,该菌株对青霉素、左氧氟沙星、红霉素、克林霉素、万古霉素耐药,对利奈唑胺、替加环素和奎奴普汀 / 达福普汀敏感。

2.3.3 主要 G⁻ 菌耐药情况比较 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌对氨苄西林、氨苄西林 / 舒巴坦、头孢唑林和头孢曲松耐药率较高,但对亚胺培南和阿米卡星耐药率较低。大肠埃希菌中超广谱 β -内酰胺酶 (extended spectrum Beta-lactamases, ESBLs) 的阳性率为 66.07% (37/56),肺炎克雷伯菌中 ESBLs 的阳性率为 17.39% (4/23)。大肠埃希菌对哌拉西林 / 他唑巴

坦、头孢西丁、阿米卡星和呋喃妥因的耐药率均明显低于肺炎克雷伯菌,未发现耐亚胺培南大肠埃希菌。除阿米卡星 (8.33%) 外,产酸克雷伯菌对氨苄西林、呋喃妥因的耐药率均高于 60%,对头孢菌素类耐药率为 41.67% ~ 58.33%。见表 4。

表 3 屎肠球菌和粪肠球菌的耐药情况比较

抗菌药物	屎肠球菌 (n = 8)		粪肠球菌 (n = 5)	
	耐药株数 (株)	耐药率 (%)	耐药株数 (株)	耐药率 (%)
青霉素	8	100.00	1	20.00
氨苄西林	7	87.50	0	0
高浓度庆大霉素	7	87.50	2	40.00
高浓度链霉素	5	62.50	1	20.00
环丙沙星	8	100.00	1	20.00
左氧氟沙星	8	100.00	1	20.00
克林霉素	8	100.00	5	100.00
红霉素	7	87.50	1	20.00
万古霉素	1	12.50	0	0
奎奴普汀 / 达福普汀	1	12.50	4	80.00
四环素	3	37.50	5	100.00
替加环素	0	0	0	0
利奈唑胺	0	0	0	0

表 4 主要 G⁻ 菌的耐药情况比较

抗菌药物	大肠埃希菌 (n = 56)		肺炎克雷伯菌 (n = 23)		产酸克雷伯菌 (n = 12)	
	耐药株数 (株)	耐药率 (%)	耐药株数 (株)	耐药率 (%)	耐药株数 (株)	耐药率 (%)
氨苄西林	50	89.29	19	82.61	9	75.00
氨苄西林 / 舒巴坦	34	60.71	14	60.87	5	41.67
哌拉西林 / 他唑巴坦	2	3.57	8	34.78	5	41.67
头孢唑林	41	73.21	15	65.22	7	58.33
头孢他啶	22	39.29	12	52.17	5	41.67
头孢曲松	40	71.43	16	69.57	7	58.33
头孢吡肟	24	42.86	12	52.17	6	50.00
头孢西丁	3	5.36	12	52.17	6	50.00
氨基糖苷	27	48.21	9	39.13	6	50.00
亚胺培南	0	0	6	26.09	5	41.67
阿米卡星	2	3.57	6	26.09	1	8.33
妥布霉素	13	23.21	8	34.78	5	41.67
左氧氟沙星	30	53.57	15	65.22	5	41.67
呋喃妥因	4	7.14	11	47.83	8	66.67
复方磺胺甲噁唑	28	50.00	7	30.43	5	41.67

注: G⁻ 为革兰阴性

3 讨论

BSI 是极易引起机体中毒、感染及全身炎症反应的感染性疾病^[5],起病急,病情凶险,病死率高^[6]。近年来随着广谱抗菌药物的广泛应用、侵袭性诊疗操作的增加及细菌在医院内患者间传播,致使 BSI 相关多重耐药的发生率不断增加,给临床抗感染治疗带来了极大挑战,因此,了解血培养菌群构成及其耐药性,对指导临床合理用药和控制感染极为重要。本研究结果显示,2017—2018 年我院血培养阳性标本以 G⁺ 菌为主,与既往报道的结果一致^[7],但与 2017 年中国细菌耐药监测网 (China Antimicrobial

Surveillance Network, CHINET) 血培养监测结果^[8] (G^- 菌占 70.80%) 差异显著,提示病原菌的分布与变迁可能与患者所在地域、气候、菌株分布及院前经验用药有关,提示在经验性使用抗菌药物时,应针对本地区细菌耐药监测结果选择合适的抗菌药物。

本院 G^+ 分离菌以 CNS 为主,金黄色葡萄球菌和肠球菌次之。CNS 主要来源于皮肤及创面,为人体皮肤的正常菌群,是临床血培养中常见的致病菌和重要污染菌^[9]。有研究指出,CNS 血培养阳性者中仅 12%~26% 被诊断为 BSI,因此,检验工作中上报血培养阳性结果时需要甄别感染、污染还是定植菌,以避免假阳性结果的干扰^[10]。葡萄球菌属细菌对青霉素、红霉素的耐药率均 >50%,对万古霉素、替加环素、利奈唑胺耐药率均为 0,但万古霉素作为治疗 G^+ 球菌的最后一道屏障,适用于耐甲氧西林葡萄球菌和耐 β -内酰胺类抗菌药物葡萄球菌严重感染者的治疗,临床需谨慎使用以减缓其耐药性的发生。目前,国际上已有报道耐万古霉素金黄色葡萄球菌,我国虽尚未发现耐万古霉素金黄色葡萄球菌,但已有异质性万古霉素耐药葡萄球菌的报告^[11]。肠球菌属是引起 BSI 的重要病原菌之一,屎肠球菌对青霉素、氨苄西林、红霉素、左氧氟沙星、环丙沙星的耐药率均明显高于粪肠球菌,而粪肠球菌对四环素和奎奴普汀/达福普汀的耐药率均高于屎肠球菌。本研究分离的肠球菌数量有限,可能导致统计学偏倚,需进一步扩大样本量观察。

本研究结果还显示,我院 BSI 的 G^- 菌以大肠埃希菌为主,占 18.12%,肺炎克雷伯菌次之,与文献报告的血培养病原菌构成比基本一致^[12]。大肠埃希菌中产 ESBLs 的比例明显高于肺炎克雷伯菌(分别为 66.07% 和 17.39%),对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢唑林、头孢曲松的耐药率均 >60.00%,而对哌拉西林/他唑巴坦、头孢西丁、阿米卡星、呋喃妥因有较好的敏感性。与此相比,肺炎克雷伯菌对各类抗菌药物的耐药趋势较为明显,仅对亚胺培南和阿米卡星耐药率 <30%。临床上对产 ESBLs 肠杆菌科细菌感染最有效的抗菌药物是碳青霉烯类药物,但近年来耐碳青霉烯类药肠杆菌(carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*, CRE) 的检出率呈明显上升趋势^[13],其中检出最多的是耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌(carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)。有研究表明,由 CRKP 引发的 BSI 病死率高,已成为医院内死亡的独立危险因素^[14],本研究

肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率为 26.09%,高于 2017 年 CHINET 血培养监测数据(20.90%)^[8]。因此,医务人员应高度重视对 CRKP 的防控,严格按照无菌技术规程进行操作。

综上所述,临床医师应提高血培养送检意识,根据血培养及药敏结果合理选择抗菌药物,以减少耐药菌株的产生,特别是本组资料检出 1 株耐万古霉素屎肠球菌,此类菌株的耐药基因可在同种或不同菌株间传播,应引起临床医师的高度重视。微生物实验室也需适时对临床常见病原菌的耐药率进行动态监测,以掌握本地区病原菌分布及耐药演变规律,为及早治疗 BSI 提供有利的控制手段。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 Weng L, Zeng XY, Yin P, et al. Sepsis-related mortality in China: a descriptive analysis [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44 (7): 1071-1080. DOI: 10.1007/s00134-018-5203-z.
- 2 陈森,江唯波,韩贤达,等. 2014-2017 年医院血流感染病原菌分布及耐药性变迁 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28 (23): 3532-3535. DOI: 10.11816/cn.ni.2018-173830.
- 3 黄勋,吴安华. 脓毒症诊断标准变迁及热点问题探讨 [J]. *中国感染控制杂志*, 2019, 18 (6): 461-464. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20195326.
- 4 Teh BW, Harrison SJ, Slavin MA, et al. Epidemiology of bloodstream infections in patients with myeloma receiving current era therapy [J]. *Eur J Haematol*, 2017, 98 (2): 149-153. DOI: 10.1111/ejh.12813.
- 5 张晓彤,国世星,邵青,等. 多因子联合检测在诊断血流感染和指导抗菌药物早期合理使用中的应用价值 [J]. *实用检验医师杂志*, 2020, 12 (1): 37-41. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.01.012.
- 6 冒山林,葛梓,赵晖,等. 急诊社区发生血流感染的病原菌分布特点及耐药性分析 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31 (1): 67-72. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2019.01.014.
- 7 周婷婷,茆海丰,姜山,等. 血培养标本中病原菌分布及耐药性分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27 (19): 4356-4358, 4370. DOI: 10.11816/cn.ni.2017-170587.
- 8 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2017 年 CHINET 中国细菌耐药性监测 [J]. *中国感染与化疗杂志*, 2018, 18 (3): 241-251. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2018.03.001.
- 9 王文,蔡璇,金松,等. 2012-2015 年金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26 (21): 4863-4865, 4875. DOI: 10.11816/cn.ni.2016-160522.
- 10 张玉,林雪霏,刘伟江,等. 血培养阳性报警时间对凝固酶阴性葡萄球菌血流感染的诊断价值 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28 (18): 2770-2772, 2782. DOI: 10.11816/cn.ni.2018-182238.
- 11 杨建芬. 临床血培养病原菌分布及耐药性分析 [J]. *实用检验医师杂志*, 2019, 11 (2): 82-84. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.02.006.
- 12 刘乐平,刘文恩,晏群,等. 2012-2015 年某三甲医院血培养常见病原菌及其耐药性变迁 [J]. *中国感染控制杂志*, 2016, 15 (6): 374-379. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2016.06.003.
- 13 杨旭,王文倩,国译丹,等. 医院环境中耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌检测方法及其同源性分析 [J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32 (2): 176-179. DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202002011.
- 14 储从家,吴惠玲,李杰芬,等. 某医院 2014-2017 年耐碳青霉烯类革兰阴性杆菌分布及耐药性 [J]. *中国微生态学杂志*, 2019, 31 (10): 1219-1222. DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201910024.

(收稿日期: 2020-06-15)

(本文编辑: 邵文)