

2013—2015 年血培养主要病原菌分布及药物敏感性分析

夏文颖,许雨乔,金菲,王珏*,倪芳,文怡,梅亚宁,刘根焰,赵旺胜

(南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:统计分析 2013—2015 年南京医科大学第一附属医院血培养主要病原菌分布及药物敏感性变迁情况。方法:血培养采用 BACTEC FX 全自动血培养仪;细菌和真菌鉴定及药物敏感试验采用 VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏系统,链球菌药敏为纸片扩散法(K-B 法),真菌药敏采用 ATB FUNGUS 3 方法,WHONET5.6 软件进行统计分析。结果:2013—2015 年南京医科大学第一附属医院血培养阳性率 10.4%(2 056/19 799),双侧双瓶采血的标本阳性率显著高于单侧双瓶/双侧单瓶和单瓶采血组($P<0.01$)。前 5 位病原菌分别是大肠埃希菌(21.3%)、肺炎克雷伯菌(11.4%)、金黄色葡萄球菌(6.0%)、凝固酶阴性葡萄球菌(5.4%)和铜绿假单胞菌(4.3%)。肠杆菌科细菌对碳青霉烯类药物敏感性最高(>60%),但耐药株逐渐增多,尤其是耐碳青霉烯肺炎克雷伯菌。铜绿假单胞菌对除氨基糖苷类以外的抗菌药物均有较好的敏感性(>70%),而鲍曼不动杆菌对常见抗菌药物敏感性均较低(<40%)。革兰阳性球菌对万古霉素、利奈唑胺和替考拉宁敏感性较好。结论:双侧双瓶血培养的采血模式有助于提高血培养阳性率,监测污染率。血流感染病原菌中多重耐药株有增多趋势,加强抗菌药物管理和感染控制有重要意义。

[关键词] 血培养;双侧双瓶;病原菌分布;药敏敏感性

[中图分类号] R446.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)10-1349-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20171031

血流感染(blood stream infections)是临床常见的严重感染性疾病,有较高的病死率。由于现代侵入性诊疗技术的广泛应用以及抗菌药物的不合理使用等,血流感染阳性率逐年增高^[1]。了解血流感染的常见病原菌分布及其药敏情况对临床早期合理使用抗菌药物,降低病死率有指导意义。血培养是诊断血流感染最重要的实验室方法。本研究回顾性分析南京医科大学第一附属医院 2013—2015 年采用血培养双侧双瓶采血方法后血培养阳性率、病原菌分布及药敏变迁情况,以期为临床提供合理用药依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2013 年 1 月—2015 年 12 月南京医科大学第一附属医院临床送检 19 799 份血培养标本,统计自上述标本中分离的患者非重复首次菌株。BACTEC FX 全自动血培养仪及配套血培养瓶(BD 公司,美国);VITEK-2 Compact 全自动细菌鉴定仪、药敏分析及配套的鉴定药敏卡片(梅里埃公司,法国);药敏纸片(OXOID 公司,英国);API 20 C AUX 鉴定和

ATB FUNGUS 3 药敏分析系统、M-H 琼脂平板、血平板、巧克力平板及厌氧袋(梅里埃公司,法国)。

1.2 方法

1.2.1 细菌鉴定及药敏试验

血培养仪器报警阳性后取出,涂片革兰染色,同时转种血平板、巧克力平板,厌氧瓶增加厌氧血平板,厌氧血平板放入厌氧袋中密封,孵育培养 24~48 h。获取菌落后,进行涂片革兰染色,根据染色特性、菌体形态及需氧、厌氧平板生长情况,选择 VITEK-2 Compact 配套的鉴定及药敏卡片进行常规细菌鉴定及药敏;选择 VITEK-2 Compact 真菌鉴定卡或 API 20 C AUX 进行真菌鉴定,ATB FUNGUS 3 进行真菌药敏试验;链球菌药敏为纸片扩散法(K-B 法)。药敏结果按照美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)M100-S23^[2]规定判读。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853、金黄色葡萄球菌 ATCC25923。

1.2.2 疑似污染判断

根据 CLSI-M47-A 依据判读血培养污染菌^[3],以 1 个静脉穿刺点取的血培养计算为 1 套,1 个患者可以有 1 套或多套血培养;计数血培养生长芽孢杆菌属、棒状杆菌属、丙酸杆菌、气球菌属、微球菌或凝固酶阴性葡萄球菌的套数,以上污染菌检出瓶数=1(每套)时判定为污染菌。血培养污染率(%)=培养出污染菌的套数/接收血培养的总套数。

[基金项目] 江苏省实验诊断学重点实验室基金(xk201114);南京医科大学“十二五”教育研究课题(JYY2015020)

*通信作者(Corresponding author),E-mail: wangjue0223@163.com

1.3 统计学方法

菌株分布及药敏结果以 WHONET5.6 软件进行分析。采用 SPSS 19.0 软件进行数据统计处理,以 χ^2 检验比较阳性率的组间差异, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2013—2015 年血培养阳性率

共检测血培养 19 799 份,其中双侧双瓶送检率 81.0%(16 040/19 799),单侧双瓶/双侧单瓶送检率 9.0%(1 788/19 799),单瓶送检率 10.0%(1 971/19 799)。2013—2015 年血培养双侧双瓶采血标本的污染率分别为 0.6%、0.7%和 0.7%。排除污染菌后,3 年间血培养共分离 2 056 株病原菌,2013 年、2014 年和 2015 年血培养阳性率依次为 10.9%、10.6%和 9.8%;双侧双瓶、单侧双瓶/双侧单瓶和单侧单瓶采血方式血培养阳性率分别为 10.9%、7.7%和 8.4%,经统计学分析,双侧双瓶采血的标本阳性率显著高于单侧双瓶/双侧单瓶和单瓶采血组($P < 0.01$)。

2.2 2013—2015 年血培养病原菌分布

在 2013—2015 年血培养分离的 2 056 株病原菌中,共包括 154 种细菌,分离率最高的前 10 位细菌见表 1。其中革兰阴性菌分离率为 51.9%,主要为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和铜绿假单胞菌;革兰阳性菌分离率为 40.1%,主要为金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)和屎肠球菌;真菌分离率为 6.2%,主要为白假丝酵母菌、热带假丝酵母菌和近平滑假丝酵母菌。厌氧菌分离率为 1.7%,分离率最高的菌种为脆弱拟杆菌。病原菌主要分离来源为门诊、老年重症监护病房和血液科。

2.3 2013—2015 年血培养主要革兰阴性菌药敏变迁

大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌敏感率前 3 位的抗

菌药物依次为碳青霉烯类药物(亚胺培南、美罗培南)、氨基糖苷类(阿米卡星)和 β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂类(哌拉西林/他唑巴坦),2013—2015 年间变化不大。大肠埃希菌对碳青霉烯类药物敏感性(>90%)高于肺炎克雷伯菌(>60%),而肺炎克雷伯菌对头孢菌素类较大肠埃希菌有更好的敏感性。铜绿假单胞菌对除氨曲南以外的抗菌药物均有较好的敏感性(>70%),而鲍曼不动杆菌对常见抗菌药物敏感药率均较低(<40%),3 年间无明显变化(表 2)。

2.4 2013—2015 年血培养主要革兰阳性菌药敏变迁

金黄色葡萄球菌和 CNS 敏感率前 3 位的抗菌药物依次为万古霉素、利奈唑胺和替考拉宁,对利福平的敏感性也较高。肠球菌敏感率前 3 位的抗菌药物依次为万古霉素、利奈唑胺和替考拉宁,屎肠球菌对其余抗菌药物敏感性均较低,而粪肠球菌对青霉素 G 和氨苄西林的敏感性较高(>60%,表 3)。

2.5 2013—2015 年血培养多重耐药菌分离率变迁

2013—2015 年血流感染耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌(CRE)检出率分别为 8.7%、6.2%和 9.0%,以肺炎克雷伯和大肠埃希菌为主,其中耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌检出率为 5.3%、4.3%和 6.3%,耐碳青霉烯类大肠埃希菌检出率为 1.9%、0.8%和 1.7%。2013—2015 年血流感染多重耐药铜绿假单胞菌检出率分别是 12.9%、11.5%和 10.0%,多重耐药鲍曼不动杆菌检出率分别是 64.7%、76.2%和 68.6%。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)3 年间检出率分别是 28.0%、56.5%和 47.1%,2013 年血培养未检出耐万古霉素肠球菌(VRE),2014 年检出耐万古霉素屎肠球菌 5 株,耐万古霉素粪肠球菌 1 株,2015 年检出耐万古霉素屎肠球菌 3 株。

3 讨论

提高血培养阳性率,降低污染率,快速准确提供细菌鉴定和药敏结果能使血流感染患者得到及时的诊断和治疗。CLSI-M47-A 推荐血培养采血 2~3 套以提高阳性率及监测污染率^[3],南京医科大学第一附属医院自 2012 年推行血培养双侧双瓶采血制度,同时为儿童以及血液病患者等特殊人群提供单侧双瓶/双侧单瓶以及单侧单瓶的不同选择,2013—2015 年血培养双侧双瓶送检率已达到 81.0%,统计学分析显示,双侧双瓶的阳性率高于单侧双瓶/双侧单瓶和单侧单瓶,充分体现双侧双瓶采血方式在提高阳性率上的优势。

南京医科大学第一附属医院 2013—2015 年血

表 1 2013—2015 年血培养主要病原菌分布

细菌名称	菌株数	构成比(%)
大肠埃希菌	429	20.9
肺炎克雷伯菌	229	11.1
金黄色葡萄球菌	121	5.9
凝固酶阴性葡萄球菌	109	5.3
屎肠球菌	88	4.3
铜绿假单胞菌	87	4.2
鲍曼不动杆菌	73	3.6
粪肠球菌	48	2.3
阴沟肠杆菌	33	1.6
白色念珠菌	31	1.5
其他	808	39.9

表 2 2013—2015 年血培养主要革兰阴性菌药物敏感性 (%)

	大肠埃希菌			肺炎克雷伯菌			铜绿假单胞菌			鲍曼不动杆菌		
	2013 年	2014 年	2015 年	2013 年	2014 年	2015 年	2013 年	2014 年	2015 年	2013 年	2014 年	2015 年
哌拉西林	15.8	15.6	19.7	46.5	47.4	50.5	73.7	93.1	80.0	28.2	27.3	21.2
氨苄西林/舒巴坦	25.5	15.0	24.3	42.9	46.5	46.0	-	-	-	21.4	23.8	32.4
哌拉西林/他唑巴坦	69.1	87.0	88.8	60.5	77.6	75.0	79.2	93.1	82.8	15.4	23.8	29.4
头孢唑啉	24.4	21.4	24.5	50.0	56.6	52.0	-	-	-	-	-	-
头孢呋辛	22.2	17.5	23.4	50.0	53.9	44.3	-	-	-	-	-	-
头孢曲松	25.0	22.1	24.8	62.5	57.9	52.1	-	-	-	2.5	4.5	6.2
头孢他啶	42.3	53.2	58.9	55.3	67.1	62.0	79.2	82.8	90.0	23.1	19.0	23.5
头孢吡肟	33.7	47.4	52.3	41.0	73.7	68.7	82.6	89.7	90.0	15.4	19.0	26.5
氨曲南	31.7	38.3	46.4	57.9	64.5	56.0	31.6	25.0	30.2	-	-	-
亚胺培南	91.9	96.8	96.7	64.9	81.6	82.0	81.8	89.7	83.3	20.0	23.8	29.4
美洛培南	93.0	100.0	96.7	70.0	93.4	82.0	77.8	89.7	90.0	27.3	33.3	29.4
阿米卡星	58.8	94.2	95.3	67.6	88.2	88.8	73.9	100.0	93.3	27.3	25.2	23.4
庆大霉素	37.2	52.6	57.9	55.9	76.3	67.7	90.5	100.0	86.7	23.1	23.8	33.3
环丙沙星	31.7	32.5	33.6	71.4	72.4	70.2	95.7	100.0	93.6	18.8	19.0	18.5
复方新诺明	32.6	36.6	43.7	57.9	71.8	62.0	-	-	-	38.5	33.3	36.4
左旋氧氟沙星	32.2	31.2	38.6	64.7	75.0	67.7	91.3	100.0	90.0	30.8	28.6	42.9

-:未测定。

表 3 2013—2015 年血培养主要革兰阳性菌药物敏感性 (%)

	金黄色葡萄球菌			凝固酶阴性葡萄球菌			屎肠球菌			粪肠球菌		
	2013 年	2014 年	2015 年	2013 年	2014 年	2015 年	2013 年	2014 年	2015 年	2013 年	2014 年	2015 年
青霉素 G	0.0	6.7	10.2	3.6	11.0	5.2	50.0	5.0	16.1	66.7	84.6	84.6
苯唑西林	80.0	39.5	52.0	12.5	24.5	17.0	-	-	-	-	-	-
庆大霉素	71.4	66.7	73.5	54.7	64.6	50.0	-	-	-	-	-	-
利福平	100.0	88.6	88.0	77.8	86.9	86.8	10.5	0.0	33.3	23.1	0.0	0.0
复方新诺明	95.2	93.5	92.0	55.6	44.7	42.5	-	-	-	-	-	-
万古霉素	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	94.1	100.0	88.6	100.0	93.3	100.0
替考拉宁	93.8	100.0	93.8	85.1	92.3	88.0	94.7	80.0	100.0	100.0	100.0	100.0
红霉素	42.9	24.4	30.6	9.3	16.8	22.3	0.0	4.0	11.4	0.0	18.8	13.3
克林霉素	50.0	51.2	52.6	46.3	62.2	67.9	0.0	4.5	13.6	0.0	0.0	0.0
利奈唑胺	100.0	100.0	100.0	90.9	100.0	100.0	100.0	100.0	97.0	93.3	100.0	91.7
环丙沙星	80.0	63.6	62.4	25.0	32.4	33.3	-	-	-	-	-	-
左旋氧氟沙星	71.4	55.6	62.5	28.0	30.1	30.4	15.0	4.0	20.6	46.7	53.3	71.4
氨苄西林	-	-	-	-	-	-	9.5	4.0	17.1	80.0	87.5	93.3
高水平庆大霉素	-	-	-	-	-	-	27.8	20.0	50.0	7.7	0.0	50.0
米诺环素	-	-	-	-	-	-	27.8	50.0	71.9	18.2	53.8	71.4

-:未测定。

流感染分离出的主要病原菌前 5 位分别是大肠埃希菌(21.3%)、肺炎克雷伯菌(11.4%)、金黄色葡萄球菌(6.0%)、CNS(5.4%)和铜绿假单胞菌(4.3%),与全国监测数据相似^[4],差别在于 CNS 在血流感染病原菌中的排位,全国数据中 CNS 为第 1 位致病菌,而本研究 CNS 排位第 4。CNS 在血流感染中的排位一直存在争议,由于其存在于人体皮肤和黏膜上,所以除了

可导致血流感染致病,同时也是最重要的污染菌来源。有研究显示,血培养分离的 CNS 中仅有 32%~44%是真正的血流感染致病菌^[5]。本研究依据 CLSI 推荐方法排除污染率后分析血流感染病原菌分布,从而使得 CNS 在致病性病原菌中构成比下降,这与医院推行双侧双瓶以及加强与临床的及时沟通密不可分,统计血培养污染率有利于正确分析血流感染

致病菌构成,协助临床有效降低污染率。

血培养分离的病原菌中大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌在2013—2015年间始终是分离率最高的细菌(20.9%和11.1%),其次是金黄色葡萄球菌,构成比稳定(5.9%),铜绿假单胞菌分离率逐年下降(6.8%下降至3.6%),同时鲍曼不动杆菌的分离率逐年上升(3.3%上升至4.3%)。除以上分离率较高的细菌外,本研究显示,血培养真菌分离率缓慢上升略高于国内相关研究报道,但与国外报道数据相近^[6-7],这与近年来免疫受损人群迅速扩大,广谱抗菌药物、皮质类固醇激素和免疫抑制剂的广泛使用,导管插管和器官移植等新技术的开展有关。同时自2011年起厌氧菌的分离率也在增加(从0.4%上升至1.7%)^[8-9],以拟杆菌属为主。本研究发现近年血培养检出病原菌种类大大增加,检出了有重要临床价值的少见菌,如马耳他布鲁菌、马尔尼菲青霉菌和隐球菌等。这些细菌均易引起较重的临床感染,应加强其分离鉴定。少见菌检出的增加与多套血培养送检措施相关,因此临床应积极推广多套送检措施。

近年来CRE分离率逐渐增高,本研究显示血培养耐碳青霉烯肺炎克雷伯分离率高于大肠埃希菌,亚胺培南耐药率高于美罗培南,这与国内其他大型医院基本一致^[6]。CRE的耐药机制主要以产碳青霉烯酶为主,同时也有膜孔蛋白缺失或减少以及靶位蛋白改变等机制参与,本院CRE耐药机制以产肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶(KPC)为主,也有少量产金属 β -内酰胺酶(MBLs)的CRE株被检出,微生物实验室应重视CRE的审核,采用改良Hodge试验、EDTA协同试验以及CLSI推荐的Carba NP试验等方法确认结果的准确性,临床医生以及医院感染控制部门应加强碳青霉烯类药物的使用管理,防止院内感染的爆发。铜绿假单胞菌对除氨曲南以外的抗菌药物均有较好的敏感性,多重耐药株分离率也逐渐下降,低于本院以往的分析结果^[8,10],相反,鲍曼不动杆菌的分离率及耐药情况均愈发严重,多重耐药鲍曼不动杆菌可引起严重的院内感染,临床治疗十分棘手,研究表明替加环素对该菌有一定的抗菌活性^[11]。

金黄色葡萄球菌是血培养中分离率最高的革兰阳性菌,MRSA的分离率2014年、2015年均高于2013年,本研究显示血培养金黄色葡萄球菌未出现万古霉素和利奈唑胺耐药株,同时替考拉宁和利福平对该菌也有较好的抗菌活性,凝固酶阴性葡萄球菌和肠球菌对万古霉素、利奈唑胺和替考拉宁耐药率低,临床医生可选择以上药物针对革兰阳性球菌

引起的严重血流感染。2013—2015年血培养真菌以念珠菌为主,常见抗真菌药物均有较好的敏感率(60%),其中两性霉素B敏感性最高。

及时对血培养分离致病菌及药敏变化趋势进行统计分析,有助于指导临床医生正确选择抗菌药物,及时治愈患者的同时防止由于抗菌药物的使用不当导致耐药株的产生。

[参考文献]

- [1] Rodriguez-Bano J, De Cueto M, Retamar PA. Current management of bloodstream infections [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2010, 8(7): 815-829
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, CLSI documents M100-S23 [S]. Twenty-Fourth Informational Supplement, Wayne: CLSI, 2013
- [3] CLSI. Principles and procedures for blood cultures; Approved guideline. CLSI document M47-A [S]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007
- [4] 李光辉, 朱德妹, 汪复, 等. 2012年中国CHINET血培养临床分离菌的分布及耐药性[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2014, 14(6): 474-481
- [5] Schnell D, Lécuyer H, Geeraerts T, et al. Preliminary evaluation of a new clinical algorithm to interpret blood cultures growing coagulase-negative staphylococci [J]. *Scand J Infect Dis*, 2013, 45(7): 562-566
- [6] 张慧, 杨启文, 徐英春, 等. 北京协和医院2000—2013年血培养病原菌分布及耐药性分析[J]. *检验医学与临床*, 2014, 11(18): 2499-2502
- [7] Pires Pereira CA, Marra AR, Aranha Camargo LF, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian pediatric patients: microbiology, epidemiology, and clinical features [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68144
- [8] 张小莉, 王珏, 陈友华, 等. 602例血培养阳性病原菌的分布及耐药性分析[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2013, 33(2): 195-200
- [9] 张保荣, 刘根焰, 文怡, 等. 血培养检出病原菌的分布及耐药性分析[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(6): 878-883
- [10] 张肖, 夏文颖, 顾兵, 等. 血培养阳性病原菌种类及耐药性监测 [J]. *南京医科大学学报. 自然科学版*, 2012, 32(1): 119-124
- [11] Jean SS, Hsueh PR. Current review of antimicrobial treatment of nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant pathogens [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2011, 12(14): 2145-2148

[收稿日期] 2016-11-08