

昆明地区儿童脑脊液细菌培养阳性结果分析*

黄海林¹,王海平¹,张倩²,奎莉越¹,苏敏¹,祁洪娟¹,杜廷义¹

(1. 昆明医科大学附属儿童医院检验科,昆明 650228;

2. 昆明市妇幼保健院检验科,昆明 650021)

摘要:目的 监测近年来昆明地区儿童细菌性脑膜炎(BM)病原菌分布特点。方法 对在2012年7月~2015年6月间,昆明医科大学附属儿童医院脑脊液细菌培养阳性结果进行统计,并结合患者的出院诊断及其它实验室相关检测资料进行回顾性分析。结果 4 627例合格的脑脊液培养标本中,阳性标本共计97例,阳性率为2.1%(97/4 627),其中首次检出细菌为91株(含污染菌17株)。前三位的病原菌依次为大肠埃希菌23株(31.1%)、肺炎链球菌15株(20.3%)和无乳链球菌7株(9.5%),三者共占检出病原菌的60.8%(45/74)。结论 大肠埃希菌、肺炎链球菌是主要病原菌。实验室应加强污染菌的鉴别以提高临床微生物学实验室服务质量。

关键词:儿童;细菌性脑膜炎;脑脊液;病原菌

中图分类号:446.14 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)04-151-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.04.044

Analysis of Positive Culture of Cerebrospinal Fluid in Children of Kunming Area

HUANG Hai-lin¹, WANG Hai-ping¹, ZHANG Qian², KUI Li-yue¹, SU Min¹, QI Hong-juan¹,

DU Ting-yi¹ (1. Department of Clinical Laboratory, the Children's Hospital

of Kunming Medical University, Kunming 650228, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Maternal and Child Health Care Hospital of Kunming, Kunming 650032, China)

Abstract: **Objective** To investigate the pathogenic distribution characteristics of bacterial meningitis (BM) of the children in the Kunming area. **Methods** The positive results of Cerebrospinal fluid (CSF) bacterial culture samples in the period of July, 2012~June, 2015 were statistically analyzed. And a retrospective review was performed combining with the discharge diagnosis as well as other related testing data of these corresponding patients. **Results** 4 627 cases of qualified CSF samples were cultured, and 97 positive results which belonged to 91 patients were obtained, 17 strains of them were contaminative bacteria, so the contamination rate was 18.7% (17/91). The top three main BM pathogens in this group were showed orderly as follows: *Escherichia coli* 23 (31.1%), *Streptococcus pneumoniae* 15 (20.3%) and *Streptococcus agalactiae* 7 (9.5%), accounted totally for a 60.8% (45/74). **Conclusion** For children's BMs in this area, the isolates of *Escherichia coli* and *Streptococcus pneumoniae* were the main pathogens. It is an inevitable request to exclude the interference of contaminative bacteria for the purpose to improve the qualities of our clinical-microbiologic service.

Keywords: children; bacterial meningitis; cerebrospinal fluid; pathogen

细菌性脑膜炎(bacterial meningitis, BM)是严重威胁儿童健康的急性中枢神经系统感染性疾病,脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)细菌培养仍然是颅内细菌感染必不可少的实验诊断方法。由于感染的病原菌分布及其耐药性都处在一个不断变迁的过程之中, BM感染病原菌的监测和研究是一项长期的工作任务,实验室的监测手段和分析方法也应得到不断的改进和提高。本篇报道对2012年

7月~2015年6月间完成的4 627例脑脊液细菌培养检验结果进行了较为深入的分析,并进一步讨论了在病原学检验资料应用过程中值得注意的几个问题。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2012年7月~2015年6月间,昆明医科大学附属儿童医院收治,疑似中枢神经系统损伤的就诊患者,行腰椎穿刺术后,留取合格的

* 基金项目:“昆明地区儿童抗菌药物耐药性监测及临床研究”(云南省科技厅项目,编号:2013FZ241),“肺炎链球菌的病原流行病学监测与分子生物学研究”(昆明市科技局项目,编号:2015-1-S-00564)。

作者简介:黄海林(1967—),女,大学毕业,主管检验师,从事工作及研究方向:临床微生物学及检验, Tel: 15198830964, E-mail: 2262384809@qq.com。

通讯作者:杜廷义(1966—),男,博士,副主任医师,从事工作及研究方向:临床微生物学及检验, Tel: 13108689232, E-mail: timkally@163.com。

CSF 培养标本。总计为 4 627 例。

1.2 CSF 培养、细菌鉴定及药物敏感性检测

1.2.1 CSF 病原菌的分离培养:在抗生素使用前,采集患儿 CSF 1~3 ml,立即接种至 BD-BACTEC Peds plus/F 培养瓶,置 BACTEC FX 全自动血培养系统。阳性者转种血琼脂平板和巧克力色琼脂平板,5 g/dl CO₂ 环境下 35℃ 培养 16~18 h。

1.2.2 观察菌落:染色后,以 Sensititre Aris2x 全自动微生物分析系统对细菌进行鉴定及药敏试验,严格按照系统要求进行操作,结果判读遵循 CLSI 执行标准及相应的更新文件。

1.2.3 质量控制:严格参照文献^[1]执行,使用的质控菌株包括大肠埃希菌(ATCC 25922)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)、金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)及肺炎链球菌(ATCC49247)。

1.3 菌株所对应的患者相关实验检查结果 采集自实验室 LIS 系统,所对应的患者诊断信息采集自医院的病案管理系统。

1.4 统计学分析 数据的分析处理采用 SPSS17.0 统计软件包。

2 结果

2.1 分离菌株的一般情况 在 4 627 份 CSF 标本中,共获得分离菌株 97 株,培养阳性率为 2.1%。其中首次分离菌株 91 株,未发现二次感染分离株。91 株首次分离细菌的菌种构成比,见表 1。

表 1 91 株脑脊液培养检出菌的构成分布

菌名	菌株数	构成比(%)
革兰阳性菌		
肺炎链球菌	15	16.5
其它凝固酶阴性葡萄球菌	11	12.1
B 群链球菌	7	7.7
表皮葡萄球菌	6	6.6
金黄色葡萄球菌	4	4.4
产单核细胞李斯特菌	2	2.2
革兰阴性菌		
大肠埃希菌	23	25.3
铜绿及其它假单胞菌	8	8.8
其它肠杆菌科细菌	4	4.4
流感嗜血杆菌	3	3.3
卡它莫拉菌	1	1.0
酵母样真菌		
新型隐球酵母菌	5	5.5
其它酵母样真菌	2	2.2

2.2 91 个病例的出院诊断 对应的 91 个病例中,出院诊断显示为病毒性脑炎者 5 例,恶性肿瘤 2 例和 T3~T7 椎体压缩原因待查 1 例。8 例患者的其它相关实验室检测资料均不支持患者存在中枢神经系统细菌感染。8 例患者所对应的 CSF 检出细菌均为凝固酶阴性葡萄球菌,包括表皮葡萄球菌 5 株,溶血性葡萄球菌、头状葡萄球菌、模仿葡萄球菌各 1 株。

2.3 其余病例 其余病例经综合实验室检测资料并参照文献^[2]判断,有 9 例患者的细菌培养结果也为非病原菌株。这 9 例患者的 CSF 蛋白浓度范围为 0.20~0.76 g/L(中位数:0.51 g/L),CSF 白细胞计数范围为(4~26)×10⁶/L(中位数:13×10⁶/L)。9 例患者所对应的检出细菌为凝固酶阴性葡萄球菌 6 株(均为非表皮葡萄球菌),流感嗜血杆菌、蜂房哈夫尼亚菌、黏质沙雷菌各 1 株。

2.4 74 株分析认定的病原细菌在各年龄段分布情况 见表 2。

表 2 74 株病原菌在不同年龄儿童 BM 病例中的顺序分布(菌株数)

排位	新生儿 (5~20 天)	婴儿期 (1~12 月)	幼儿期 (1~3 周岁)	儿童期 (3~13 周岁)
首位	大肠埃希菌(10)	大肠埃希菌(12)	肺炎链球菌(6)	肺炎链球菌(3)
次位	无乳链球菌(4)	肺炎链球菌(5)	新型隐球菌(3)	金黄色葡萄球菌(2)
第三位	假单胞菌(5)	假单胞菌(3)	流感嗜血杆菌(1)	新型隐球菌(2)
第四位	金黄色葡萄球菌(2)	无乳链球菌(3)	卡它莫拉菌(1)	大肠埃希菌(1)
第五位	凝固酶阴性葡萄球菌(2)	酵母样真菌(2)		产单核细胞李斯特菌(1)

注:新生儿组中未列入的肺炎链球菌、产单核细胞李斯特菌各 1 株,婴儿组中未列入的有流感嗜血杆菌、弗劳地枸橼酸杆菌、伤寒沙门菌、表皮葡萄球菌各一株,合计共 74 株。

2.5 耐药率 23 株大肠埃希菌对常用抗菌药物的耐药率依次为氨苄西林 95.7%,环丙沙星 52.2%,头孢唑啉 39.1%。本组大肠埃希菌中,检出 ESBLs 产酶株 5 株,未见亚胺培南和阿米卡星耐药株。15 株肺炎链球菌中,对红霉素和克林霉素均耐药,对头孢曲松和左旋氧氟沙星的耐药率依次为 26.6%和 20.0%,未见万古霉素和美罗培南耐药株。本组样本检出青霉素不敏感肺炎链球菌(PNSP)2 株。

3 讨论 通过对检测结果的综合分析,儿童 BM 的病原菌构成有随年龄增大而变化的特征。在新生儿期和婴儿期,病原菌构成较为复杂,大肠埃希菌是此阶段儿童 BM 的首要病原菌;而到了幼儿期以后,肺炎链球菌、新型隐球菌等则成为了 BM 的主要病原菌。分析过程同时表明 17 株凝固酶阴性

葡萄球菌分离株中,有14株为污染菌。对污染菌的分析鉴别有利于临床对儿童BM病原细菌的准确把握,从而及时采取有效的治疗措施。

在近期的相关报道中,临床医师从临床分析的角度,已经开始注意CSF培养中存在的“污染菌”问题,并采取了相应的措施^[3,4]。任伟等^[3]在其报道中详细列出了对污染菌的判断标准和分析过程;其分析结果与本文结论基本一致。而金亮^[5]也指出:以凝固酶阴性葡萄球菌为主,多重耐药现象明显的CSF细菌分离结果,是以院内感染为主的中枢神经系统感染的表现,而儿童BM是一种以社区获得性感染为主的严重威胁儿童健康的疾病。因此,有理由认为,凝固酶阴性葡萄球菌不应该是原发性儿童BM的主要致病菌,甚至不应该是经产道获得的新生儿感染的主要病原菌。这一判断也得到了本地区孕产期妇女阴道分泌物培养结果的佐证。同一时期的本地区相关监测显示,孕产期妇女阴道分泌物的前三位细菌为大肠埃希菌、无乳链球菌和表皮葡萄球菌,三者比例为202:161:98。这一顺序与表2所总结的新生儿期BM病原菌分布基本一致。本组资料在排除污染细菌干扰以后,病原菌分布和主要病原菌的药敏试验结果,与各年龄段的主要感染途径之间的关系,就能够得到较为合理的解释。因此,为了克服污染因素对监测结果临床应用所产生的误导,有条件的实验室,应注重提高和加强对分离菌株的深入分析以鉴定和识别污染菌的影响。

涂片检查和细菌培养是临床BM实验诊断的两个重要检测项目^[6],但这两个项目的阳性检出率偏低也是实际存在的问题。资料中,74例BM病例CSF涂片染色的阳性检出率仅为17.6%(13/74),且没有出现培养阴性而涂片阳性的现象。如此,涂片革兰染色在临床BM实验诊断中的应用价值就表现得极其有限。而未进行厌氧菌分离培养,也可能是造成本组样本阳性率偏低的原因之一。

BM是一种严重威胁儿童健康的中枢神经系统感染性疾病。针对现有检测项目的不足,新的CSF感染标志物的探索以及分子生物学技术的临床应用研究是一个值得期待的发展方向^[7,8]。

参考文献:

- [1] 周庭银,倪语星. 临床微生物检验标准化操作[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社,2010:14-30.
Zhou TY, Ni YX. Standard operating procedures of clinical microbiology[M]. 2th Ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2010:14-30.
- [2] 马国奋,柯俊龙,陈海坤. 脑脊液检查在颅内感染鉴别

诊断中的应用[J]. 中国医师杂志,2014,16(7):986-988.

Ma GF, Ke JL, Chen HK. The Application of CSF tests in the differential diagnosis of intracranial infection[J]. Journal of Chinese Physician, 2014, 16(7): 986-988.

- [3] 任伟,袁春雷,周涛. 儿童脑脊液培养阳性43例临床分析[J]. 中国小儿急救医学,2014,21(2):101-103.

Ren W, Yuan CL, Zhou T. Clinical analysis of 43 cases of positive culture of cerebrospinal fluid in children[J]. Chin Pediatr Emerg Med, 2014, 21(2):101-103.

- [4] 朱敏丽,胡钱红,麦菁芸,等. 新生儿化脓性脑膜炎病原菌分布特点及耐药性分析[J]. 中华儿科杂志, 2015,53(1):51-56.

Zhu MM, Hu QH, Mai JY, et al. Analysis of pathogenic bacteria and drug resistance in neonatal purulent meningitis[J]. Chin J Pediatr, 2015, 53(1):51-56.

- [5] 金亮. 338份脑脊液细菌培养及药物敏感性情况分析[J]. 临床荟萃,2014,29(5):552-555.

Jin L. Bacterial culture and drug resistance from 338 cerebrospinal fluid specimens [J]. Clinical Focus, 2014, 29(5):552-555.

- [6] 高洁,杨丽,毛雪,等. 新生儿化脓性脑膜炎临床分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版),2014, 10(1):9-12.

Gao J, Yang L, Mao X, et al. Clinical analyzing of neonatal purulent meningitis[J]. Chin J Obstet Gynecol Pediatr (Electron Ed), 2014, 10(1):9-12.

- [7] 彭凤,徐晓萍,邬叶红,等. 脑脊液乳酸测定在中枢神经系统疾病中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2007,22(6):79-80.

Peng F, Xu XP, Wu YH, et al. Application of lactic acid assay in CSF in the diseases of central nervous system[J]. J Mod Lab Med, 2007, 22(6):79-80.

- [8] 韩慧,胡子有,姚芳,等. TagMan探针法荧光定量PCR检测脑脊液细菌方法的建立及应用[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(1):6-8.

Han H, Hu ZY, Yao F, et al. Establishment and applying of TagMan probe real-time PCR for detection of bacteria in cerebrospinal fluid[J]. J Mod Lab Med, 2011, 26(1):6-8.

收稿日期:2015-10-20

修回日期:2016-05-13