

2014 ~ 2019 年广州地区血液肿瘤儿童血培养病原菌分布及耐药性特点分析

王洁琳, 周珍文, 高飞, 高秀蓉, 邓露露, 梁秉绍, 朱素菲 (广州市妇女儿童医疗中心检验科, 广州 510623)

摘要: 目的 探讨本中心儿童血液肿瘤患者血培养病原菌的分布及耐药特点, 为临床合理诊疗提供参考。方法 对该中心 2014 年~2019 年儿童血液肿瘤科室送检血培养样本所分离的病原菌以及药敏结果进行回顾性分析。结果 9 396 例患儿血培养标本共分离出病原菌 538 株, 其中革兰阴性菌 253 株 (47.03%)、革兰阳性菌 242 株 (44.98%)、真菌 43 株 (7.99%)。革兰阴性菌中以肺炎克雷伯菌 (11.90%)、大肠埃希菌 (10.04%) 和铜绿假单胞菌 (5.39%) 为主, 三者对氨苄西林及一代头孢均表现出极高的耐药率, 而厄他培南、美罗培南等碳青霉烯类抗生素对三种革兰阴性菌保持了较好的抗菌活性。2014~2019 年肺炎克雷伯菌对氨苄西林/舒巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、亚胺培南的耐药率差异有统计学意义 ($\chi^2=11.328\sim15.203$, $P<0.05$)。革兰氏阳性菌以凝固酶阴性葡萄球菌 (17.47%)、缓症链球菌 (10.60%) 和金黄色葡萄球菌 (4.28%) 为主; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分离率为 30.80%, 对青霉素 G 的耐药率高达 100%, 但对万古霉素、利奈唑胺及喹奴普汀均表现为敏感。真菌中热带假丝酵母菌 (6.69%) 占主要比例。结论 儿童血液肿瘤患者感染的病原菌种类较多, 多重耐药感染情况比较常见。明确病原菌种类及药敏结果, 合理应用抗生素, 对有效控制血液感染有重要意义。

关键词: 儿童; 血液肿瘤; 败血症; 耐药性

中图分类号: R733; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 05-082-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.021

Analysis on the Distribution and Characteristics of Drug Resistance of Pathogenic Bacteria in Blood Culture of Children with Blood Tumor in Guangzhou from 2014 to 2019

WANG Jie-lin, ZHOU Zhen-wen, GAO Fei, GAO Xiu-rong, DENG Lu-lu, LIANG Bing-shao, ZHU Su-fei

(Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Women and Children's Medical Centre, Guangzhou 510623, China)

Abstract: Objective To explore the distribution and characteristics of drug resistance of bacteria in blood from children with hematologic tumor, so as to provide references for clinical selection of rational drug use and diagnosis and treatment. **Methods** Retrospective analysis was conducted on the results of isolation and drug susceptibility from blood culture samples submitted for examination in the department of pediatric hematologic oncology from 2014 to 2019. **Results** A total of 538 strains of pathogenic bacteria were isolated from blood culture samples of 9 396 children, among which 253 strains of Gram-negative bacilli (47.03%), 242 strains of Gram-positive cocci (44.98%) and 43 strains of fungi (7.80%) were isolated. Among the Gram-negative bacteria, *Klebsiella pneumoniae* (11.90%), *Escherichia coli* (10.04%) and *Pseudomonas aeruginosa* (5.39%) were mainly found, the three showed high drug resistance to ampicillin and cephalosporin. Carbapenems such as ertapenem and meropenem maintained good antibacterial activity against three gram-negative bacteria. The drug resistance rates of *Klebsiella pneumoniae* to ampicillin/sulbactam, ceftazidime, cefepime and imipenem were statistically different from 2014 to 2019 ($\chi^2=11.328\sim15.203$, $P<0.05$). The main Gram-positive bacteria were Coagulase negative *Staphylococcus* (17.47%), *Bradyrhizobium* (10.60%), and *Staphylococcus aureus* (4.28%). The drug resistance rate of Methicillin-resistant golden grape ball strain was 30.80%, and the drug resistance rate of penicillin G was as high as 100%. However, it was sensitive to vancomycin, linezolidine and quinupristin. Among the fungi, *Candida tropicalis* (6.69%) accounted for the main proportion. **Conclusion** There were many kinds of pathogenic bacteria in children with hematologic tumor, and multi-drug resistant infection was common. It is of great significance for the effective control of blood infection to clarify the types of pathogenic bacteria and the results of drug susceptibility, and to apply antibiotics rationally.

Keywords: child; hematologic tumor; septicemia; drug resistance

血流感染是儿童血液系统恶性肿瘤化疗相关感染中最重要的类型之一, 病死率可达11.8%~40.0%^[1-2]。

作者简介: 王洁琳 (1974-), 女, 学士, 副主任技师, 主要从事临床微生物检验工作, E-mail:1019402877@qq.com。

血液肿瘤患儿由于疾病自身的特点及化疗药物的作用,均存在不同程度的免疫功能缺陷,易受到病原菌的侵袭,特别是化疗患者长期粒细胞的缺乏、黏膜屏障的破坏及长期应用抗生素等因素,使发生感染的概率增加^[3]。为了解儿童血液肿瘤患者血流感染的病原菌分布及耐药情况,本研究对我中心2014年1月~2019年12月血液肿瘤患儿送检的血培养阳性样本的病原菌分布、耐药情况进行探讨,为指导临床合理使用抗生素提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2014年1月~2019年12月本中心儿童血液肿瘤患儿送检的9396例血培养样本。

1.2 仪器与试剂 本实验采用梅里埃BacT ALERT 3D血培养仪进行细菌培养、VITEK 2 COMPACT全自动微生物鉴定及药敏分析仪、VITEK MS质谱仪进行鉴定及药敏上机。鉴定卡、药敏卡均由梅里埃试剂公司提供。血平板、营养琼脂平板、MH平板由广州迪景生物科技有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 标本采集:对疑为菌血症患儿,在使用抗生素前或出现高热、寒战时,于外周静脉取血做血培养,如有PICC/CVP等静脉置管则同时经导管取血送培养。送检标本按《全国临床检验操作规程》进行检验,不合格的标本要求重新采集送检。

1.3.2 检测方法:将血培养瓶放置梅里埃BacT ALERT 3D进行培养,培养阳性样本涂片、革兰染色镜检,并转种哥伦比亚血平板和巧克力平板;根据细菌涂片和革兰染色特点进一步鉴定和药敏试验,分离出纯培养物,直接用VITEK MS质谱仪鉴定,或根据革兰染色特点分别采用不同的鉴定卡,用生物梅里埃公司的VITEK 2 COMPACT全自动微生物鉴定及药敏分析仪进行鉴定;并根据VITEK MS质谱仪/VITEK 2 COMPACT全自动微生物鉴定及药敏分析仪鉴定结果选用相应的药敏卡,进行药敏试验。

1.3.3 质量控制:采用松鼠葡萄球菌ATCC 29061,光滑假丝酵母菌ATCC MYA-2950,阴沟肠杆菌ATCC 700323,大肠埃希菌ATCC 25922,金黄色葡萄球菌ATCC 29213,金黄色葡萄球菌ATCC 25923,铜绿假单胞菌ATCC 27853,粪肠球菌ATCC 19433,白色假丝酵母菌ATCC 14053和肺炎链球菌ATCC 49619进行质量控制,均符合预期结果,达到美国临床实验室标准化委员会(CLSI)颁布的药敏质控标准。

1.4 统计学分析 药敏结果采用WHONET5.6软件进行统计分析,计数资料以百分比或率表示。数据分析采用SPSS 19.0软件,多样本间率的比较采

用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株分布 见表1。2014年~2019年儿童血液肿瘤患儿送检的9396例血培养标本中,共检出病原菌538株。其中,革兰阴性菌253株占47.03%,以肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和铜绿假单胞菌为主;革兰阳性菌242株占44.98%,以凝固酶阴性葡萄球菌、缓症链球菌、金黄色葡萄球菌为主;真菌43株占7.99%,以热带假丝酵母菌为主。

2.2 革兰阴性菌耐药率情况 见表2。主要为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌和铜绿假单胞菌,其中前两者产超广谱 β -内酰胺酶菌株的比率分别为22.20%与44.20%。分离出的三种主要革兰阴性菌对氨苄西林、一代头孢均表现出极高的耐药率,对氨苄西林的耐药率均在90%以上,铜绿假单胞菌对氨苄西林的耐药率为100%。厄他培南、美罗培南等碳青霉烯类抗生素则对三种革兰阴性菌保持了较好的抗菌活性。2014~2019年肺炎克雷伯菌对氨苄西林/舒巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、亚胺培南耐药率差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),对头孢菌素的耐药率呈上升趋势,而对厄他培南、环丙沙星、妥布霉素的耐药率较低见表3。

3.3 革兰阳性菌耐药率情况 见表4。革兰氏阳性菌以凝固酶阴性葡萄球菌(94株)、缓症链球菌(57株)和金黄色葡萄球菌(22株)为主。在检出的金黄色葡萄球菌中,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)占30.80%;金黄色葡萄球菌对青霉素G的耐药率高达100%,最敏感的药物是利奈唑胺、万古霉素及奎奴普汀,耐药率均为0.00%。

3 讨论

急性白血病患者存在不同程度的免疫功能缺陷,化疗后的骨髓抑制导致粒细胞减少或缺失,患儿极易出现血流感染,且发展过程迅速,是导致患儿死亡的常见原因^[4-5]。了解本地区患儿血流感染常见病原菌分布及耐药性特点,是重症感染初期患儿缺乏病原学证据时经验性治疗的关键。

本研究共分析血液肿瘤患儿的血培养样本9396例,其中病原菌538株,阳性率为5.73%。本次研究表明,538株病原菌中,分离最多的病原菌为凝固酶阴性葡萄球菌,其次为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、缓症链球菌和金黄色葡萄球菌,与文献报道一致,而与有些报道的儿童血培养病原菌以革兰阴性菌为主有所不同。究其病原菌分布差异的原因,可能与不同地区儿童疾病类型、细菌流行种类、抗生素管理与使用相关,同时不排除患儿采血难度大,而导致血培养污染率升高的因素^[6-8]。

表1 2014~2019年血液肿瘤科血培养病原菌构成

病原菌	n	2014年(n=19)		2015年(n=76)		2016年(n=90)		2017年(n=79)		2018年(n=156)		2019年(n=118)	
		n	构成比(%)	n	构成比(%)	n	构成比(%)	n	构成比(%)	n	构成比(%)	n	构成比(%)
革兰阴性菌	253	10	52.63	32	42.11	34	37.78	39	49.37	76	48.72	62	52.54
肺炎克雷伯菌	64	2	10.53	10	13.16	5	5.56	10	12.66	22	14.10	15	12.71
大肠埃希菌	54	2	10.53	2	2.63	8	8.89	9	11.39	19	12.18	14	11.86
铜绿假单胞菌	29	0	0.00	6	7.89	3	3.33	6	7.59	7	4.49	7	5.93
鲍曼不动杆菌	16	0	0.00	0	0.00	3	3.33	0	0.00	3	1.92	10	8.47
阴沟肠杆菌	15	0	0.00	2	2.63	0	0.00	5	6.33	6	3.85	2	1.69
其它	75	6	31.58	12	15.79	15	16.67	9	11.39	19	12.18	14	11.86
革兰阳性菌	242	8	42.11	43	56.58	43	47.78	35	44.30	64	41.03	49	41.53
凝固酶阴性葡萄球菌	94	4	21.05	25	32.89	21	23.33	17	21.52	10	6.41	17	14.41
金黄色葡萄球菌	23	2	10.53	4	5.26	4	4.44	7	8.86	4	2.56	2	1.69
缓症链球菌	57	1	5.26	3	3.95	9	10.00	6	7.59	27	17.31	11	9.32
其它	68	1	5.26	11	14.47	9	10.00	5	6.33	23	14.74	19	16.10
真菌	43	1	5.26	1	1.32	13	14.44	5	6.33	16	10.26	7	5.93
热带假丝酵母菌	36	0	0.00	0	0.00	12	13.33	5	6.33	16	10.26	3	2.54
白色假丝酵母菌	1	1	5.26	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
近平滑假丝酵母菌	3	0	0.00	1	1.32	0	0.00	0	0.00	0	0.00	2	1.69
其它	3	0	0.00	0	0.00	1	1.11	0	0.00	0	0.00	2	1.69

表2 主要革兰阴性菌对常用抗生素的耐药率(n=253)

抗生素	肺炎克雷伯菌(n=64)		大肠埃希菌(n=54)		铜绿假单胞菌(n=29)	
	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)	耐药株数	耐药率(%)
氨苄西林	58	92.63	49	90.74	29	100
哌拉西林/他唑巴坦	23	35.94	1	1.85	2	6.90
头孢唑啉	54	84.38	44	81.48	29	100
头孢曲松	17	26.56	26	48.15	29	100
头孢吡肟	15	23.44	4	7.41	2	6.90
阿米卡星	3	4.69	1	1.85	0	0
亚胺培南	6	9.38	1	1.85	9	31.03
厄他培南	0	0.00	0	0.00	-	-
美罗培南	-	-	-	-	4	13.79
庆大霉素	9	14.06	31	57.41	0	0
左旋氧氟沙星	2	3.13	22	40.74	0	0
复方新诺明	27	42.19	47	87.04	29	100
环丙沙星	0	0.00	18	33.33	1	3.45
妥布霉素	2	3.13	12	22.22	0	0

注：“-”表示未测定。

表3 肺炎克雷伯菌对抗生素耐药率 (n=64,%)

抗生素	2014年 (n=2)	2015年 (n=10)	2016年 (n=5)	2017年 (n=10)	2018年 (n=22)	2019年 (n=15)	χ^2	P
哌拉西林/他唑巴坦	0.00	0.00	0.00	0.00	22.72	13.33	6.543	0.257
氨苄西林/舒巴坦	0.00	60.00	0.00	0.00	54.54	-	15.203	0.004
阿莫西林/克拉维酸钾	-	-	-	-	-	20.00	-	-
头孢他啶	0.00	0.00	0.00	0.00	36.36	26.67	11.328	0.045
头孢吡肟	0.00	0.00	0.00	0.00	36.36	26.67	11.328	0.045
亚胺培南	0.00	0.00	0.00	0.00	27.27	0.00	12.639	0.027
厄他培南	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-
左旋氧氟沙星	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	13.33	6.744	0.240
复方新诺明	0.00	70.00	0.00	0.00	81.81	33.33	29.039	0.000
氨曲南	0.00	0.00	0.00	0.00	40.90	0.00	19.993	0.001
阿米卡星	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	26.67	13.938	0.016
妥布霉素	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-
呋喃妥因	0.00	30.00	0.00	20.00	22.72	-	2.435	0.656
庆大霉素	0.00	70.00	0.00	0.00	22.72	-	16.751	0.002
环丙沙星	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-

注：“-”表示未做该抗生素的敏感试验。

表4 主要革兰阳性菌对常用抗生素的耐药率

抗生素	凝固酶阴性葡萄球菌 (n=94)		缓症链球菌 (n=57)		金黄色葡萄球菌 (n=23)	
	耐药株数	耐药率 (%)	耐药株数	耐药率 (%)	耐药株数	耐药率 (%)
青霉素 G	88	93.62	25	43.86	23	100
苯唑西林	67	71.28	-	-	7	30.43
克林霉素	58	61.70	36	63.16	8	34.78
红霉素	87	92.55	39	68.42	10	43.49
利奈唑胺	0	0	0	0	0	0
奎奴普汀/达福普汀	1	1.06	-	-	0	0
万古霉素	0	0	0	0	0	0
复方新诺明	61	64.89	-	-	0	0
四环素	38	40.43	-	-	2	8.70
环丙沙星	12	12.77	-	-	0	0
左旋氧氟沙星	2	2.13	-	-	0	0
头孢曲松	-	-	21	36.84	-	-
头孢吡肟	-	-	20	35.09	-	-
头孢噻肟	-	-	17	29.82	-	-

注：“-”表示未测定。

在检出的革兰阳性病原菌中,以凝固酶阴性葡萄球菌居首位,其作为条件致病菌,随着患者侵入性操作的增多,通过不同途径吸附在导管表面,凝固酶阴性葡萄球菌作为血流感染病原菌的比例可迅

速增加^[9-10]。因此,是否为致病菌,应结合降钙素原、血细胞检测等其他检验指标以及患者的临床症状综合考虑。本研究结果显示,检出的93例凝固酶阴性葡萄球菌中,耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球

菌(MRSCN)的检出率为72.50%,高于段俊林^[6]等报道的东莞地区儿童的检出率。在检出的金黄色葡萄球菌中,MRSA检出率为30.80%,较高的MRSA检出率导致葡萄球菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药率居高不下,药敏结果显示金黄色葡萄球菌对青霉素G的耐药率高达100%。在分离出的革兰阳性菌中均未发现万古霉素和利奈唑胺耐药菌株,奎奴普汀/达福普汀的敏感性亦很高,可作为其重症患者的首选药。但国外已有报道万古霉素耐药株的出现^[11],因此,为了合理使用抗生素,以免高耐药菌的增多,建议根据药敏结果,结合患者情况合理用药。

分离出的三种主要革兰阴性菌对氨苄西林、一代头孢均表现出极高的耐药率,对氨苄西林的耐药率均在90%以上,铜绿假单胞菌对氨苄西林的耐药率为100%。厄他培南、美罗培南等碳青霉烯类抗生素则对三种革兰阴性菌保持了较好的抗菌活性,应注意避免耐药菌株的产生。上述药物均不适用于早期经验性抗感染治疗。2014~2019年肺炎克雷伯菌对氨苄西林/舒巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、亚胺培南耐药率差异有统计学意义($P < 0.05$),对头孢菌素的耐药率呈上升趋势。

本研究共分离出真菌43株,以热带念珠菌为主,且耐药率呈逐渐上升趋势。白血病患者因大量长期使用广谱抗生素,同时使用各种化疗药物,使免疫力极度低下,极易引发菌群失调,引起真菌感染的发生率增高。为控制真菌血症的发生率,建议临床需要严格掌握抗生素的适应症,防止过度和不适当的使用抗生素^[12]。

综上所述,本中心白血液肿瘤患儿血培养分离的病原菌分布广泛,耐药性严峻。其中主要以凝固酶阴性葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌常见。及时监测分析病原菌的分布及耐药情况,有助于临床医生合理用药,在有效控制感染基础上延缓耐药菌株的产生。

参考文献:

- [1] KUO Fuchun, WANG Shihmin, SHEN Chingfen, et al. Bloodstream infections in pediatric patients with acute leukemia: Emphasis on gram-negative bacteria infections[J]. Journal of Microbiology, Immunology, and Infection, 2017, 50(4): 507-513.
- [2] AMMANN R A, LAWS H J, SCHREY D, et al. Bloodstream infection in paediatric cancer centres--leukaemia and relapsed malignancies are independent risk factors[J]. European Journal of Pediatrics, 2015, 174(5): 675-686.
- [3] APOSTOLOPOULOU E, RAFTOPOULOS V, TERZIS K, et al. Infection probability score, APACHE II and KARNOFSKY scoring systems as predictors of bloodstream infection onset in hematology-oncology patients[J]. BMC Infect Dis, 2010, 10: 135.
- [4] AL-EYADHY A A, TEMSAH M H, ALHABOUB A A N, et al. Asthma changes at a pediatric intensive care unit after 10 years: Observational study[J]. Annals of Thoracic Medicine, 2015, 10(4): 243-248.
- [5] YAO Jiafeng, LI Nan, JIANG Jin. Clinical Characteristics of bloodstream infections in pediatric acute leukemia: A Single-center experience with 231 patients[J]. Chinese Medical Journal, 2017, 130(17): 2071-2081.
- [6] 段俊林, 郭主声, 陈伟. 2017年广东省东莞地区儿童血培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1): 142-145.
- [7] 牛曼曼, 王宁玲, 刘亢亢, 等. 儿童急性白血病合并败血症56例分析[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2014, 19(6): 308-310.
- [8] 覃凌, 王慕云, 汪利娥. 血液病合并血流感染患者的病原菌分布及药敏分析[J]. 中国临床新医学, 2013, 6(10): 971-973.
- [9] 岳冬梅, 佟雅洁, 杨凡. 儿科患者血培养常见病原菌分布及耐药性特点分析[J]. 中国医科大学学报, 2018, 47(6): 537-541, 547.
- [10] WEISS S L, FITZGERALD J C, PAPPACHAN J, et al. Global epidemiology of pediatric severe sepsis: the sepsis prevalence, outcomes, and therapies study[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2015, 191(10): 1147-1157.
- [11] DIEKEMA D J, PFALLER M A, JONES R N, et al. Trends in antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infections in the USA, Canada and Latin America[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2000, 13(4): 257-271.
- [12] MARTIN A L, MARVEL J, FAHRBACH K, et al. The association of lung function and St. George's respiratory questionnaire with exacerbations in COPD: a systematic literature review and regression analysis[J]. Respiratory Research, 2016, 17(1): 40.

收稿日期: 2020-03-02

修回日期: 2020-05-12