

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2016.08.001

· 论 著 ·

新生儿败血症病原菌及其耐药性六年的变迁

刘 瑜¹, 王琍琍¹, 曹秀菁²

(1 安徽医科大学第一附属医院, 安徽 合肥 230000; 2 安徽医科大学, 安徽 合肥 230000)

[摘要] 目的 了解新生儿败血症病原菌、耐药情况及其变化趋势,为临床抗感染治疗提供依据。方法 回顾性分析 2009 年 1 月—2014 年 12 月某院新生儿科收治的新生儿败血症血培养分离病原菌及其药敏结果,比较 2009—2011 年与 2012—2014 年病原菌分布及其耐药性变化。结果 新生儿败血症患者共培养病原菌 259 株,其中革兰阳性菌 175 株(67.57%),革兰阴性菌 65 株(25.10%),真菌 19 株(7.33%)。前后三年均以凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)为主,其次为肺炎克雷伯菌;产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株的构成比由 10.56% 升高至 15.38%,真菌构成比由 4.93% 上升至 10.25%;前后三年病原菌构成比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。前后三年主要病原菌对常用抗菌药物的耐药率比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);革兰阳性菌对万古霉素、替考拉宁及利奈唑胺 100.00% 敏感,但 CNS 中有 82.28%~88.33% 耐甲氧西林,金黄色葡萄球菌有 75.00%~100.00% 耐甲氧西林;肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌对第三代头孢菌素类抗生素的耐药率达 42.86%~86.67%,对头孢哌酮/舒巴坦的耐药率分别从 17.39%、14.29% 上升至 33.33%、30.00%,未检出对美罗培南及亚胺培南耐药的菌株。白假丝酵母菌对氟康唑的耐药率从 20.00% 上升至 50.00%,所有检出的真菌对两性霉素 B 仍保持敏感。结论 CNS 是新生儿败血症的主要致病菌,其次为肺炎克雷伯菌,真菌感染比例有所增加,临床应根据血培养及药敏结果合理使用抗菌药物。

[关键词] 新生儿败血症; 病原菌; 抗药性; 微生物; 耐药性; 变迁; 合理用药

[中图分类号] R181.3⁺2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2016)08-0537-05

Change in pathogens and antimicrobial resistance in neonatal septicemia during 6 years

LIU Yu¹, WANG Li-li¹, CAO Xiu-jing² (1 The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230000, China; 2 Anhui Medical University, Hefei 230000, China)

[Abstract] **Objective** To understand the pathogens causing neonatal septicemia, as well as changing trend of antimicrobial resistance, and provide evidence for clinical anti-infection treatment. **Methods** Results of blood culture and antimicrobial susceptibility testing of pathogens from neonates with septicemia who were admitted to the department of neonatology of a hospital from January 2009 to December 2014 were analyzed retrospectively, distribution of pathogens and antimicrobial resistance between 2009 - 2011 and 2012 - 2014 were compared. **Results** A total of 259 strains were isolated from blood specimens, gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, and fungi were 175 (67.57%), 65(25.10%), and 19(7.33%) respectively. Coagulase-negative staphylococcus (CNS) was the main pathogen during 6 years, followed by *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*); the constituent ratio of the extended-spectrum β -lactamase (ESBLs)-producing strains increased from 10.56% to 15.38%, constituent ratio of fungi increased from 4.93% to 10.25% ($P>0.05$); The sensitivity of gram-positive bacteria to vancomycin, teicoplanin, and linezolid were all 100.00%, 82.28% - 88.33% of CNS and 75.00% - 100.00% of *Staphylococcus aureus* were methicillin-resistant; the resistance rates of *K. pneumoniae* and *Escherichia coli* to the third-generation cephalospo-

[收稿日期] 2015-12-28

[基金项目] 国家自然科学基金(C090106)

[作者简介] 刘瑜(1988-),女(汉族),河南省南阳市人,硕士研究生,主要从事新生儿疾病研究。

[通信作者] 王琍琍 E-mail: wllwywz@163.com

rins were 42.86% - 86.67%, to cefoperazone/sulbactam increased from 17.39% and 14.29% to 33.33% and 30.00% respectively, meropenem- and imipenem-resistant strains were not found. Resistance rate of *Candida albicans* to fluconazole increased from 20.00% to 50.00%, all detected fungi remained sensitive to amphotericin B.

Conclusion CNS are the major pathogens in neonatal septicemia, followed by *K. pneumoniae*, constituent ratio of fungal infection has increased. Antimicrobial agents should be chosen according to blood culture and antimicrobial susceptibility testing results.

[Key words] neonatal septicemia; pathogen; drug resistance, microbial; drug resistance; change; rational drug use

[Chin J Infect Control, 2016, 15(8): 537 - 541]

新生儿败血症(neonatal septicemia)是新生儿期严重的感染性疾病,在发达国家其发生率为1%~5%,而发展中国家发生率为49%~170%,是新生儿死亡的重要原因之一^[1]。该病起病隐匿,临床症状缺乏特异性,血培养是诊断的金标准,但耗时长,培养阳性率低,如果完全依赖血培养结果,可能延误最佳治疗时机。本研究回顾性分析2009年1月—2014年12月本院新生儿科收治的新生儿败血症血培养病原菌及其药敏结果,以便为临床抗感染治疗提供依据,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 安徽医科大学第一附属医院新生儿科2009年1月—2014年12月收治的新生儿。入选标准:(1)生后脐带结扎至28 d内;(2)符合新生儿败血症诊断标准^[2];(3)血培养阳性,且参考以下条件^[3]排除血培养污染:a 血培养结果阳性,但新生儿未使用抗菌药物,一般情况良好,且血常规,C反应蛋白(CRP)或降钙素原(PCT)正常;b 新生儿无静脉留置导管及气管插管等侵袭性操作;c 血培养报警超过48 h的阳性结果;d 原有的感染类型不支持该种菌感染者。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 研究期间本院新生儿科收治新生儿6 619例,符合入选标准的新生儿259例,收集患者血培养、药敏试验结果及其相关临床资料。

1.2.2 血标本采集 在使用抗菌药物治疗前(病情变化时或病情不允许停用抗菌药物则在下一次抗菌药使用前),严格无菌操作于新生儿桡动脉或股静脉处抽取3~5 mL血注入儿童专用血培养瓶中,并于60 min内送检。

1.2.3 菌种培养、鉴定及药敏试验 将血培养瓶置于美国BD公司的BACTEC 9120全自动血培养仪中培养,仪器阳性报警后,继续行细菌鉴定及药敏试验。细菌鉴定及药敏分析采用美国西门子公司MicroScan WalkAway - 96 Plus及法国生物梅里埃公司VITEK 2 Compact全自动微生物鉴定及药敏系统进行。真菌鉴定及药敏分析采用法国生物梅里埃公司ATB-FUNGUS真菌鉴定及药敏系统进行。实验方法及结果判定按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准^[4]。

1.2.4 质控菌株 大肠埃希菌 ATCC 25922,铜绿假单胞菌 ATCC 27853,金黄色葡萄球菌 ATCC 27923,粪肠球菌 ATCC 29212,肺炎克雷伯菌 ATCC 700603,白假丝酵母菌 ATCC 90028,均由卫生部临床检验中心提供。

1.3 数据分析 应用SPSS 19.0统计软件进行数据分析,WHONET 5.6软件进行耐药性分析,计量资料不符合正态分布,采用中位数(P_{25} - P_{75})进行描述,采用秩和检验;计数资料以率或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 2009年1月—2014年12月本院新生儿科收治6 619例住院新生儿,其中确诊新生儿败血症259例,新生儿败血症发生率为3.91%。其中2009—2011年142例,男性94例,女性48例;2012—2014年117例,男性78例,女性39例。前后两组新生儿一般资料比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),资料具可比性。见表1。

表 1 前后两组败血症新生儿一般资料的比较

Table 1 Comparison in general information between two groups of neonates with septicemia at two stages

项目	2009—2011 年(n = 142)	2012—2014 年(n = 117)	χ^2/Z	P
性别(男/女)	94/48	78/39	0.006	0.937
足月/早产	74/68	54/63	0.911	0.340
平均日龄($P_{25} - P_{75}$, d)	6.5(1.67 - 14)	6(1 - 12)	-0.980	0.327
平均胎龄($P_{25} - P_{75}$, 周)	37.43(32 - 39.71)	35.00(32.71 - 38.86)	-0.789	0.430
平均出生体重($P_{25} - P_{75}$, g)	2 765(1 500 - 3 400)	2 280(1 600 - 3 250)	-0.673	0.501
入院诊断				
新生儿肺炎	44	52	0.205	0.651
单纯早产儿	28	32	0.223	0.637
新生儿高胆红素血症	14	12	1.133	0.287
新生儿窒息	6	11	0.562	0.454
新生儿脐炎	5	6	0.010	0.922
新生儿呼吸窘迫综合征	3	7	0.829	0.363
新生儿坏死性小肠结肠炎/消化道穿孔	2	6	1.211	0.271
新生儿腹泻	2	5	0.696	0.404
新生儿脓疱病	3	1	1.583	0.208
新生儿硬肿症	3	1	1.583	0.208
化脓性脑膜炎	1	2	0.141	0.708
新生儿缺氧缺血性脑病	0	2	1.585	0.208
呼吸衰竭	0	2	1.585	0.208
化脓性关节炎	1	1	0.029	0.864
新生儿泌尿系统感染	0	2	1.585	0.208

2.2 病原菌检出情况 259 例败血症新生儿血培养结果均为单一菌株,共培养病原菌 259 株。革兰阳性(G^+)菌 175 株(67.57%),革兰阴性(G^-)菌 65 株(25.10%),真菌 19 株(7.33%)。2009—2011 年分离的主要病原菌依次为凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和粪肠球菌,检出 15 株产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌;2012—2014 年分离的主要病原菌依次为 CNS、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、白假丝酵母菌、粪肠球菌、阴沟肠杆菌,检出 18 株 ESBLs 菌;前后三年比较, G^+ 菌的构成比有所下降,但仍然是优势菌,且以 CNS 为主; G^- 菌的构成比升高,其中肺炎克雷伯菌的构成比下降,大肠埃希菌升高,真菌的构成比升高。2009—2011 年仅检出白假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌,2012—2014 年仍以此两种真菌为主,同时检出清酒假丝酵母菌及克柔假丝酵母菌。前后三年新生儿败血症病原菌的分布比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 主要病原菌耐药情况 前后三年主要病原菌对常用抗菌药物的耐药率比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);革兰阳性菌对万古霉素、替考拉宁及利奈唑胺保持 100.00% 敏感,但 CNS 中有 82.28%~88.33% 耐甲氧西林,金黄色葡萄球菌有

表 2 前后两组新生儿败血症血培养病原菌分布

Table 2 Distribution of blood culture pathogens of two groups of neonates with septicemia at two stages

病原菌	2009—2011 年		2012—2014 年	
	株数	构成比 (%)	株数	构成比 (%)
G^+ 菌	101	71.13	74	63.25
表皮葡萄球菌	61	42.96	45	38.47
溶血葡萄球菌	16	11.27	13	11.11
人葡萄球菌	1	0.70	1	0.85
松鼠葡萄球菌	1	0.70	1	0.85
金黄色葡萄球菌	8	5.64	4	3.42
粪肠球菌	6	4.23	5	4.28
尿肠球菌	5	3.52	3	2.57
无乳链球菌	0	0.00	1	0.85
单核细胞李斯特菌	2	1.41	1	0.85
草绿色链球菌	1	0.70	0	0.00
G^- 菌	34	23.94	31	26.50
肺炎克雷伯菌	23	16.20	15	12.82
大肠埃希菌	7	4.93	10	8.55
阴沟肠杆菌	4	2.81	5	4.28
鲍曼不动杆菌	0	0.00	1	0.85
真菌	7	4.93	12	10.26
白假丝酵母菌	5	3.52	6	5.13
光滑假丝酵母菌	2	1.41	4	3.42
清酒假丝酵母菌	0	0.00	1	0.85
克柔假丝酵母菌	0	0.00	1	0.85
合计	142	100.00	117	100.00

75.00%~100.00%耐甲氧西林;肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌对第三代头孢菌素类抗生素的耐药率达 42.86%~86.67%,对头孢哌酮/舒巴坦的耐药率分别从 17.39%、14.29%上升至 33.33%、30.00%,未检出对美罗培南及亚胺培南耐药的菌株。见表 3~4。白假丝酵母菌对氟康唑的耐药率由 20.00% 上升至 50.00%,对伊曲康唑的耐药率由 0 升高至 33.33%;光滑假丝酵母菌对氟康唑的耐药率由 0 上升至 25.00%。所有检出真菌对两性霉素 B、氟胞嘧啶及伏立康唑均敏感。

表 3 两组新生儿败血症血培养葡萄球菌属细菌对抗菌药物的耐药情况(株数,%)

Table 3 Antimicrobial resistance of *Staphylococcus spp.* in blood culture of two groups of neonates with septicemia (No. of isolates, %)

抗菌药物	CNS		金黄色葡萄球菌	
	2009—2011 年 (n=79)	2012—2014 年 (n=60)	2009—2011 年 (n=8)	2012—2014 年 (n=4)
青霉素	77(97.47)	60(100.00)	8(100.00)	4(100.00)
氨苄西林	75(94.94)	60(100.00)	8(100.00)	4(100.00)
苯唑西林	65(82.28)	53(88.33)	6(75.00)	4(100.00)
庆大霉素	12(15.19)	10(16.67)	3(37.50)	1(25.00)
万古霉素	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
利奈唑胺	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
红霉素	57(72.15)	47(78.33)	7(87.50)	3(75.00)
克林霉素	34(43.04)	32(53.33)	2(25.00)	1(25.00)
左氧氟沙星	17(21.52)	19(31.67)	2(25.00)	2(50.00)
环丙沙星	19(24.05)	18(30.00)	2(25.00)	1(25.00)
复方磺胺甲噁唑	53(67.09)	35(58.33)	1(12.50)	1(25.00)
利福平	11(13.92)	9(15.00)	1(12.50)	1(25.00)

表 4 两组新生儿败血症血培养主要 G⁻ 杆菌对抗菌药物的耐药情况(株数,%)

Table 4 Antimicrobial resistance of main gram-negative bacilli in blood culture of two groups of neonates with septicemia(No. of isolates, %)

抗菌药物	肺炎克雷伯菌		大肠埃希菌	
	2009—2011 年 (n=23)	2012—2014 年 (n=15)	2009—2011 年 (n=7)	2012—2014 年 (n=10)
氨苄西林	17(73.91)	13(86.67)	5(71.43)	8(80.00)
阿莫西林/克拉维酸	6(26.09)	5(33.33)	2(28.57)	4(40.00)
头孢噻肟	16(69.57)	13(86.67)	4(57.14)	8(80.00)
头孢曲松	14(60.87)	12(80.00)	3(42.86)	6(60.00)
头孢他啶	17(73.91)	12(80.00)	3(42.86)	6(60.00)
头孢哌酮/舒巴坦	4(17.39)	5(33.33)	1(14.29)	3(30.00)
美罗培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
庆大霉素	4(17.39)	2(13.33)	4(57.14)	7(70.00)
阿米卡星	2(8.70)	2(13.33)	1(14.29)	2(20.00)
左氧氟沙星	3(13.04)	3(20.00)	2(28.57)	5(50.00)
环丙沙星	4(17.39)	5(33.33)	2(28.57)	4(40.00)
复方磺胺甲噁唑	7(30.43)	5(33.33)	3(42.86)	6(60.00)

3 讨论

败血症是新生儿期严重疾病之一,病情发展迅速,易导致感染性休克、化脓性脑膜炎、弥散性血管内凝血等而危及生命,部分存活者会遗留严重后遗症^[5]。随着抗菌药物的广泛应用,败血症病原菌不断发生变化,掌握当前新生儿败血症常见病原菌及其耐药情况,对治疗该病意义重大。

本研究显示,本院新生儿败血症的主要病原菌仍以 CNS 为主,与国内外报道^[6-9]一致。随着围产医学和新生儿急救技术的发展,早产儿尤其是极/超低出生体重儿存活率逐年提高,该类新生儿病情往往较重,住院期间常需经历气管插管、动静脉置管等侵袭性操作,CNS 可产生黏附素,容易粘在医疗器械中,导致早产儿易发生 CNS 为主的医院感染;新生儿免疫系统发育不成熟,免疫功能低下,皮肤黏膜抵抗力亦弱,对低毒力的条件致病菌防御能力低下;广谱抗菌药物治疗时间长,破坏机体正常菌群,导致以 CNS 为主的条件致病菌大量繁殖,这些因素都促使 CNS 成为新生儿败血症主要致病菌^[9]。本研究中肺炎克雷伯菌居第二位,与唐晓娟等^[6]报道一致,与黄梦等^[8]、林森等^[10]分别报道大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌居第二位不同,可能与地区差异、抗菌药物使用及菌群变迁有关。真菌败血症构成比为 7.33%,较国内黄玲玲等^[11]报道高,考虑与本院收治早产儿尤其是极/超低出生体重儿比例高有关。

部分 G⁺ 菌对庆大霉素、利福平、左氧氟沙星及环丙沙星耐药率低,但考虑其对肝脏、肾脏、听力及软骨发育的毒副作用较大,不宜在新生儿中使用。万古霉素属于糖肽类抗生素,是临床治疗葡萄球菌感染最有效、经济的药物,但国内外学者^[6,12]已发现对万古霉素耐药的葡萄球菌,因此,合理使用万古霉素对减少和/或推迟耐万古霉素菌株的出现具有重要意义。以肺炎克雷伯菌为主的 G⁻ 菌对头孢菌素类抗生素耐药率较高,选择该类药物治疗时需慎重;对美罗培南、亚胺培南敏感性高,可作为治疗首选药物。产 ESBLs 菌株多由肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌产生,因 ESBLs 菌株药物诱导的靶点基因突变和 *qnr* 基因可由质粒携带,很容易在不同菌种之间传播,导致耐药菌株广泛播散^[10]。研究^[13-14]发现,随着第三代头孢菌素在临床上的使用产 ESBLs 菌逐渐增多。随着第三代头孢菌素的使用本院新生儿科

产 ESBLs 菌株的构成比由 10.56% 升高至 15.38%，与上述报道^[13-14]一致，故严格控制使用第三代头孢菌素，减少产 ESBLs 菌株的产生迫在眉睫。2012—2014 年较 2009—2011 年耐氟康唑真菌检出增加，这可能与我科氟康唑在防治早产儿真菌感染中广泛使用有关。2012—2014 年检出 3 株耐伊曲康唑真菌，但本院新生儿科从未使用过伊曲康唑治疗真菌感染，推测可能与本地区伊曲康唑在治疗真菌感染中使用有关，具体情况需待进一步研究。两性霉素 B 是一种抗菌谱广的抗真菌药，因其脂质体制剂的耐受性好，肾毒性小，已经被推荐作为新生儿真菌败血症治疗的首选药物^[15]。

总之，随着抗菌药物在新生儿中的广泛使用，病原菌的耐药性随着时间和地域的变迁亦不断变化，耐药菌株的产生不可避免，多重耐药菌株的出现日渐增加，已成为临床治疗的棘手问题。因此，在临床使用抗菌药物时应严格掌握抗菌药物的使用原则和细菌耐药问题，在经验性用药前尽可能进行血培养及药敏检测，待其结果确定后再选择合适抗菌药物，避免抗菌药物滥用，减少或避免耐药菌株出现。

[参 考 文 献]

[1] Li Z, Xiao Z, Li Z, et al. 116 cases of neonatal early-onset or late-onset sepsis; A single center retrospective analysis on pathogenic bacteria species distribution and antimicrobial susceptibility[J]. Int J Clin Exp Med, 2013,6(8):693-699.

[2] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,中华医学会中华儿科杂志编辑委员会. 新生儿败血症诊疗方案[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(12):897-899.

[3] 曹慧玲,李珉,魏源华,等. 血培养病原菌分布及污染菌判定的实验室检查[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(18):2067-2071.

[4] Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards

for antimicrobial susceptibility testing [S]. M100-S18, CLSI, 2008;100.

[5] Klinger G, Levy I, Sirota L, et al. Outcome of early-onset sepsis in a national cohort of very low birth weight infants [J]. Pediatrics, 2010, 125(4): e736-e740.

[6] 唐晓娟,冯星. 1 606 例新生儿败血症病原菌分布及其耐药性分析[J]. 临床儿科杂志, 2014, 32(3):210-213.

[7] 李杨方,吴玉芹,奚敏,等. 574 例新生儿败血症病原菌及临床特征分析[J]. 中国小儿急救医学, 2013, 20(1):85-87.

[8] 黄梦,李克诚,徐旭. 新生儿败血症病原菌分布及耐药性 10 年回顾分析[J]. 临床儿科杂志, 2014, 32(9):855-858.

[9] Ozkan H, Cetinkaya M, Koksall N, et al. Culture-proven neonatal sepsis in preterm infants in a neonatal intensive care unit over a 7 year period; coagulase-negative staphylococcus as the predominant pathogen [J]. Pediatr Int, 2014, 56(1): 60-66.

[10] 林森,饶荣. 158 例新生儿败血症病原菌种类及其耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(4):297-299.

[11] 黄玲玲,王宁玲,梁霞,等. 81 例新生儿败血症病原菌分布及耐药性分析[J]. 安徽医学, 2015, 36(4):450-453.

[12] Claessens J, Roriz M, Merckx R, et al. Inefficacy of vancomycin and teicoplanin in eradicating and killing *Staphylococcus epidermidis* biofilms in vitro[J]. Int J Antimicrob Agents, 2015, 45(4): 368-375.

[13] Hansen F, Olsen SS, Heltberg O, et al. Characterization of third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from bloodstream infections in Denmark [J]. Microb Drug Resist, 2014, 20(4):316-324.

[14] 张秀玲. 201 例产超广谱 β -内酰胺酶细菌感染病例分析[J]. 中国感染控制杂志, 2015, 14(4):270-271.

[15] Arrieta AC, Shea K, Dhar V, et al. Once-weekly liposomal amphotericin B as *Candida* prophylaxis in very low birth weight premature infants; a prospective, randomized, open-label, placebo-controlled pilot study [J]. Clin Ther, 2010, 32(2): 265-271.

(本文编辑:文细毛)