

儿童感染脑膜炎病原菌的分布和耐药性分析

李瑞蓉 武素梅 李连青 朱镭 崔雪萍

基金项目:艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治(2009ZX10004-203)

作者单位:030001 太原市,山西医科大学(李瑞蓉)

030013 太原市,山西省儿童医院检验科(武素梅 朱镭)

030012 太原市,山西省临床检验中心(李连青 崔雪萍)

通讯作者:李连青, E-mail: sxllq@tom.com

【摘要】 目的 研究山西地区婴幼儿脑膜炎患者的病原菌分布,了解儿童脑膜炎病原菌分布的变化和耐药情况。**方法** 收集 2010 年 1 月至 2010 年 8 月山西省儿童医院 98 例脑膜炎患者的全血和脑脊液标本,用 API 板条鉴定阳性菌株,选用 K-B 纸片扩散法进行药敏试验。**结果** 全血标本中培养出 15(15.3%)株阳性菌株,脑脊液标本中培养出 12(12.2%)株阳性菌株。除分离的隐球菌外,其余分离的 26 株阳性菌株中,表皮葡萄球菌比率最高占 34.6%,金黄色葡萄球菌占 15.4%,凝固酶阴性葡萄球菌占 11.5%,肺炎双球菌和产单核李斯特菌各占 7.7%,其余病原菌占 24.1%,分离病原菌对青霉素类耐药率高达 92.4%,大环内酯类红霉素耐药率 84.6%;三代头孢曲松耐药率 73.1%;氨基糖苷类环丙沙星耐药率 61.5%;对万古霉素、丁卡霉素、美洛培南等的耐药率为 0。另外,从脑脊液标本中分离出 1 例 D 群链球菌,1 例高水平耐药(high levels of resistance, HLAR)屎肠球菌和 1 例亚利桑那沙门菌,其中前两种属多重耐药菌。**结论** 山西地区儿童脑膜炎患者中细菌感染菌种分布广泛,革兰氏阳性菌占的比例大,细菌的耐药性呈增长趋势。因此应引起临床高度关注,合理使用抗生素,防止耐药菌的进一步蔓延。

【关键词】 脑膜炎;脑脊液;抗药性;婴幼儿

Analysis of distribution and drug resistance of pathogenic bacteria of meningitis infection in children

LI Rui-rong¹, WU Su-mei², LI Lian-qing³, et al. ¹Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China ²Department of Laboratory, Children's Hospital of Shanxi Province, Taiyuan 030013, China ³Clinical Laboratory Center of Shanxi Province, Taiyuan 030012, China

【Abstract】 Objective To study the distribution of the pathogenic bacteria among infant patients of meningitis in Shanxi Province, and to understand the variation and drug resistance of pathogenic bacteria distribution. **Methods** 98 cases from children patients of meningitis in Children's Hospital of Shanxi Province were collected from January to August, 2010, API strips were used to identify positive strains, and the drug sensitive test were done with K-B paper strips diffusion method. **Results** 15 positive strains were cultivated from the blood of those 98 meningitis patients. 12 positive strains were isolated from the cerebrospinal fluid of those 98 patients. Penicillin resistant rate of 92.4%, erythrocine resistant rate of 84.6%, three generations of ceftriaxone resistant rate of 73.1%, aminoglycoside ciprofloxacin resistance rate of 61.5%. Besides, one *D streptococcus*, one HLAR *Enterococcus faecium* and one *Salmonella Arizona* were isolated and the two former were multidrug resistant bacteria. **Conclusion** Infected bacteria strains in children meningitis patients appear wide distribution, gram-positive bacteria account for a large proportion and furthermore, drug resistance is increasing. All these should be paid much attention, and antibiotics should be used rationally so as to prevent further spread of resistant bacteria.

【Key words】 Meningitis; Cerebrospinal fluid; Drug resistance; Infants

化脓性脑膜炎简称化脑,系由各种化脓菌感染引起的中枢神经系统急性感染性疾病。常见于小儿

尤其是婴幼儿。随着抗生素的不断发展和治疗技术的进步,其病死率已由 50%~90%降至 10%以下,但

仍是小儿严重感染性疾病之一。近年研究表明,儿童脑膜炎感染病原菌分布与以往相比发生了明显变化^[1];由于临床抗生素滥用使用,条件致病菌感染中枢神经系统的情况呈现上升趋势,并且出现了多重耐药^[2]。本文对 98 例儿童脑膜炎患者全血和脑脊液培养出的病原菌进行分析,从而了解山西地区儿童感染脑膜炎病原菌分布变化和耐药情况。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选择 2010 年 1 月至 2010 年 8 月于山西省儿童医院就诊的 98 例脑膜炎患儿,采集其脑脊液和全血标本,用于分离阳性菌株,剔除同一患者相同部位培养出的重复菌株。

1.2 主要的仪器与试剂 法国梅里埃 BACT-ALERT-3D 血培养仪,普通孵箱,CO₂ 孵箱,梅里埃 API 板条鉴定,OLYMPUS 显微镜。白洋 B40 台式低速离心机(RCF4470 × g)药敏试验用 M-H 琼脂,肺炎链球菌以及其他链球菌用含 5%脱纤维羊血 M-H 琼脂。M-H 琼脂购自杭州天和为生物试剂公司。血平板和巧克力平板购于博赛生物研究所。卡他布兰汉菌用嗜血杆菌培养基加 SR158 营养补充剂。

1.3 药敏纸片与标准菌株 药敏纸片为青霉素 P,氨苄西林 AMP,苯唑西林 OX,头孢西丁 FOX,头孢呋辛 CFP,头孢噻肟 CTX,头孢曲松 CRO,头孢他啶 CAZ,万古霉素 VA,环丙沙星 CIP,左氧氟沙星 LEV,红霉素 E,头孢吡肟 FEP,头孢唑肟 LED,氨曲南 ATM,哌拉西林/舒巴坦 TZP,美洛培南 MEM,庆大霉素 CN,复方新诺明 SMZ-TMP,四环素 TE,氯霉素 C,均购买于英国 OXOID 公司。标准菌株 ATCC 25922,ATCC 25923,ATCC 23857,ATCC 27853 均购于卫生部临检中心。

1.4 实验方法 血培养用法国梅里埃 BACT-ALERT-3D 血培养仪培养细菌,脑脊液经离心半径 15 cm,3000 r/min 离心 10 min-15 min 取沉淀接种于 CSF 增菌管和普通血平板以及巧克力平板,分别放入普通孵箱和 CO₂ 培养箱 36 ℃培养 18 h-24 h。隐球菌采用墨汁染色,在 OLYMPUS 显微镜下观察结果。用 OXIOD 公司的链球菌分族凝乳凝集试剂盒做血清学凝集试验。

1.5 药敏试验 采用 K-B 纸片扩散法,结果判读标准按美国临床实验室委员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)2009 年版规定进行^[3]。采用 WHONET 5.4 软件进行数据分析。

2 结果

98 例脑膜炎患者有 3 例死亡病例,年龄为新生

儿和婴儿期。98 例化脓性脑膜炎患者按年龄分为新生儿 32 例,婴儿 28 例,他们两者之和占到脑膜炎患者的 61.2%。幼儿和学龄前期儿童占 20 例,学龄期儿童占 12 例,其他年龄组仅为 6 例。从脑脊液中培养出的阳性菌的情况看,病原菌感染全部是 5 岁以下的婴幼儿。

2.1 细菌的分布 98 例脑膜炎患者的全血和脑脊液标本中,全血培养出阳性菌 15 株,阳性率 15.3%,脑脊液中培养出阳性菌 12 株,阳性率 12.2%。血培养和脑脊液中阳性菌株的分布见表 1。

表 1 血培养和脑脊液阳性菌株的分布

细菌	血培养阳性菌株	脑脊液阳性菌株
表皮葡萄球菌	8	1
金色葡萄球菌	2	2
产单核李斯特菌	1	1
D 群链球菌	-	1
亚利桑那沙门菌	-	1
卡他布兰汉菌	-	1
凝固酶阴性的葡萄球菌	2	1
HLAR 尿肠球菌	-	1
肺炎链球菌	1	1
隐球菌	-	1
产气肠杆菌	1	1
合计	15	12

2.2 26 株病原菌的耐药率 98 例儿童脑膜炎患者血培养和脑脊液培养总共分离出病原菌 27 株,其中隐球菌未做药敏试验。26 株病原菌中,9 株表皮葡萄球菌占 34.6%,4 株金黄色葡萄球菌占 15.4%,3 株凝固酶阴性的葡萄球菌占 11.5%,2 株肺炎链球菌和 2 株产单核李斯特菌各占 7.7%,其它的病原菌共占 24.1%。按 2009 年版 CLSI 判读标准,26 株病原菌对青霉素类耐药率高达 92.4%,大环内酯类红霉素耐药率 84.6%;三代头孢曲松耐药率 73.1%;氨基糖苷类环丙沙星耐药率 61.5%;万古霉素、丁卡霉素、美洛培南等的耐药率为 0。见表 2。

2.3 血培养和脑脊液阳性菌株的耐药率比较 从表 3 中通过血培养和脑脊液的耐药率比较可以看出,血培养中阳性菌株对青霉素和三代头孢类抗生素的耐药率比脑脊液中阳性菌株的耐药率高。但对氨基糖苷类抗生素的耐药率比脑脊液中阳性菌株的耐药率低。

2.4 脑脊液中 3 种罕见病原菌的药敏结果 从儿童脑膜炎患者的脑脊液中培养出临床上罕见的 3 种病原菌,分别为 D 群链球菌、HLAR 尿肠球菌、亚利

表 2 26 株血培养和脑脊液培养阳性菌的耐药率[株(%)]

抗菌药物	敏感率	中介率	耐药率
	S	I	R
青霉素	1(3.8)	1(3.8)	24(92.4)
氨苄西林	1(6.7)	1(6.7)	14(86.6)
苯唑西林	0	0	24(100.0)
头孢呋辛	1(25.0)	0	3(75.0)
头孢哌酮	4(33.3)	0	8(66.7)
头孢曲松	7(26.9)	0	22(73.1)
头孢噻肟	7(26.9)	0	22(73.1)
头孢他啶	1(50.0)	0	1(50.0)
万古霉素	26(100.0)	0	0
环丙沙星	5(38.5)	0	8(61.5)
庆大霉素	4(33.3)	1(8.3)	7(58.4)
丁卡霉素	2(100.0)	0	0
克林霉素	6(50.0)	1(8.3)	5(41.7)
左氧氟沙星	1(50.0)	0	1(50.0)
复方新诺明	2(15.4)	0	11(84.6)
红霉素	2(15.4)	0	11(84.6)
头孢西丁	2(22.2)	0	7(77.8)
头孢吡肟	3(20.0)	1(6.7)	14(73.3)
四环素	0	0	1(100.0)
利奈唑胺	26(100.0)	0	0
拉氧头孢	4(44.4)	0	5(55.6)
美洛培南	6(100.0)	0	0
氯霉素	1(100.0)	0	0
氨曲南	1(50.0)	0	1(50.0)
哌拉西林/舒巴坦	2(100.0)	0	0

表 3 血培养阳性菌和脑脊液阳性菌的耐药率[株(%)]

抗菌药物	血培养	脑脊液
青霉素	15(100.0)	10(90.0)
氨苄西林	12(73.3)	9(81.8)
头孢哌酮	10(61.7)	5(41.7)
头孢噻肟	10(66.7)	6(54.5)
头孢西丁	13(86.7)	5(41.7)
红霉素	12(73.3)	8(72.7)
环丙沙星	8(53.3)	9(81.8)
左旋氧氟沙星	9(60.0)	8(72.7)
复方新诺明	7(46.6)	7(63.6)
万古霉素	0	0
美洛培南	0	0

桑那沙门菌,三种细菌药敏结果见表 4。

3 讨论

化脑是一种严重的儿童感染性疾病,婴幼儿发

表 4 脑脊液中 3 种罕见病原菌的药敏结果

抗菌药物	细菌		
	D 群链球菌	HLAR 屎肠球菌	亚利桑那沙门菌
青霉素钠	R	R	R
氧哌嗪青霉素	R	R	R
头孢哌酮	—	R	S
头孢曲松	S	R	S
头孢噻肟	S	R	S
苯唑西林	R	—	—
氨苄西林	R	—	—
万古霉素	S	S	—
左氧氟沙星	S	—	—
克林霉素	R	—	—
复方新诺明	R	—	—
红霉素	R	R	—
头孢吡肟	S	R	S
四环素	R	—	S
利奈唑胺	S	S	—
环丙沙星	R	R	S
高单位庆大霉素	—	R	S

注:R 为耐药,I 为中介,S 为敏感

病率高,由于抗生素的滥用,条件致病菌发病率增高,细菌的耐药性日趋严重。通常化脓性脑膜炎是由菌血症发展而来,预后好坏与是否早期明确病原菌,选择恰当的抗生素进行治疗密切相关。首先化脑应选用易于透过血脑屏障的药物,使脑脊液中抗生素浓度超过抑菌浓度 10 倍以上。并要注意给药方法及用药剂量,根据有关临床资料^[4],一般主张用氨基糖苷类药物和青霉素。

本文研究结果显示,山西地区儿童脑膜炎感染病原菌的分布比较广泛。从年龄方面分析,分离的病原菌大都来自 5 岁以下的婴幼儿,新生儿和 1 岁以下的婴儿多见。这些结果与英国和巴西的有关研究报道一致,统计学资料表明,婴幼儿,感染脑膜炎病原菌分布与年龄差异有统计学意义($P<0.05$)^[5,6]。从表 1 结果显示,血培养阳性菌株 15 株,阳性率为 15.3%。革兰氏阳性菌株多见,表皮葡萄球菌所占的比例最高为 8.2%,金黄色葡萄球菌次之为 2.0%,革兰氏阴性菌少见。脑脊液培养阳性菌株 12 株,阳性率 12.2%,脑脊液培养中以革兰氏阳性菌株多见。由于小儿抵抗力较弱,血脑屏障发育未完善,细菌易侵入大脑神经系统。化脑一般为身体其他部位感染引起败血症^[7],细菌随血流进入大脑所致,因而全血与脑脊液中培养出的病原菌分布不一致。

脑脊液病原菌比血培养病原菌分布更加广泛。我们从脑脊液中培养出的 1 例亚利桑那沙门菌和 1

例 D 群链球菌以及 1 例 HLAR 屎肠球菌, 这 3 种病原菌引起婴幼儿脑膜炎已较罕见, 但国内外也有类似报道。1992 年陈汝仪等^[8]报道一例亚利桑那沙门菌引起化脓性脑膜炎的病例。2005 年 有首例婴儿感染亚利桑那沙门菌引起脑膜炎的报道^[9]。2006 年李玲^[10]报道屎肠球菌致化脓性脑膜炎一例, 是由成人感染引起的脑膜炎, 小儿发病的病例尚未见报道。

化脑治疗首先应选用易于透过血脑屏障的药物, 使脑脊液中抗生素浓度超过抑菌浓度 10 倍以上, 并注意给药方法及用药剂量。儿童化脓性脑膜炎根据有关临床资料主张一般用青霉素和氨基糖苷类药物。由于抗生素的广泛滥用, 细菌对治疗化脑疗效显著的青霉素类抗菌药耐药率逐步提高。本研究结果从表 2 中显示, 26 株病原菌对青霉素类耐药率高达 92.4%, 三代头孢曲松耐药率 73.1%; 大环内酯类红霉素耐药率 84.6%; 氨基糖苷类环丙沙星耐药率 61.5%; 万古霉素、丁卡霉素、美洛培南等抗生素的耐药率为 0。虽然万古霉素等抗生素耐药率为零, 然而其通过血脑屏障的能力较差, 因此对患儿的治疗效果不显著。从表 3 中血培养和脑脊液的耐药率比较可以看出, 血培养中阳性菌青霉素和三代头孢类抗生素耐药率比脑脊液耐药率高。例如血培养中青霉素耐药率 100.0%, 脑脊液耐药率 90.0%; 头孢西丁血培养耐药率 86.7%, 脑脊液的耐药率仅为 41.7%。但是氨基糖苷类抗生素脑脊液的耐药率比血培养的耐药率高, 比如血培养环丙沙星耐药率 53.3%, 脑脊液的耐药率高达 81.8%。通过比较血培养和脑脊液耐药率的不同, 达到指导临床用药提高化脓性脑膜炎的治疗的效果。

随着临床抗生素的广泛滥用, 细菌的多重耐药 (multidrug resistant, MDR) 日趋严重。MDR 菌是指有 MDR 的病原菌。MDR 菌是一种微生物对三类(比如氨基糖苷类、红霉素、B-内酰胺类)或三类以上抗生素同时耐药。MDR 菌株的出现, 增加了化脓性脑膜炎治疗的难度。表 4 结果显示 D 群链球菌和 HLAR 屎肠球菌属于 MDR 病原菌, D 群链球菌又叫肠球菌, 屎肠球菌属于肠球菌属。肠球菌属链球菌科, 是人类和动物肠道正常菌群的一部分, 但近年研究已证实了肠球菌的致病力^[11,12]。肠球菌已成为医院感染的重要致病菌, 其耐药程度高, 治疗困难。本文研究中的 D 群链球菌对青霉素耐药, 这与国外 Gerber 等^[13]报道婴幼儿脑膜炎感染 D 群链球菌用青霉素治疗效果显著不一致。

抗生素的滥用导致了病原菌耐药率的提高, 加上中枢神经系统结构特殊, 药效浓度很难到达, 这些都为儿童感染化脓性脑膜炎的治疗带来严峻挑战。儿童是一个特殊群体, 盲目用药会导致病情加重, 副作用增加。因此临床医生在选用抗生素时, 应当根据药敏结果和临床实际给予个性化用药, 从而在提高疗效的同时降低细菌的耐药性, 控制耐药菌株的传播。

4 参考文献

- 1 邱玉芳, 晏路芳, 余章斌, 等. 新生儿化脓性脑膜炎临床特征和病原菌变迁及耐药性分析. 现代医学, 2008, 5: 334-337.
- 2 孟祥红, 董梅, 孙红宁, 等. ICU 患者病原菌分布和耐药性分析. 中国诊断实验学, 2008, 1: 64-66.
- 3 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for Antimicrobial susceptibility testing M100-S17, 2007.
- 4 Cordeiro SM, Neves Moreno, Santiago MD, Enterococcal Meningitis: A Clinical Study of 39 Case and Review of the Literature, 2003, 5: 356-364.
- 5 Bedford H, de Louveois J, Halket S. Meningitis in infancy in England and Wales follow up at age 5 years. 2001, 323: 1-5.
- 6 Cordeiro SM, Neves AB, Ribeiro CT, et al. Hospital-based surveillance of meningococcal meningitis in Salvador. Brazil, 2007, 11: 1147-1153.
- 7 谭冬梅, 董柏青, 李翠云, 等. 广西南宁市 5 岁以下细菌性脑膜炎病原学研究. 中国热带医学, 2004, 03: 333-336.
- 8 陈汝仪, 许杏春. 一例亚利桑那沙门菌引起化脓性脑膜炎的报道. 临床检验杂志, 1992, 03: 001.
- 9 Te-Li Chen, Peck-Fong Thien Shu-Chin Liaw, et al. First Report of Salmonella enterica Serotype Panama Meningitis Associated With Consumption of Contaminated Breast Milk By a Nenate. Journal of Clinical Microbiology, 2005, 10: 5400-5402.
- 10 李玲. 屎肠球菌致化脓性脑膜炎 1 例. 皖南医学院学报, 2006, 25: 44.
- 11 B. Hoen, C. Chirouze, C.H. Cabell, et al. Emergence of endocarditis due to group D streptococcal findings derived from merged database of the International collaboration on Endocarditis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2005, 24: 12-16.
- 12 E. Giannitsioti, C. Chirouze, A. Bouvet, et al. Characteristics and regional variations of group D streptococcal endocarditis in France. Clinical Microbiology & Infection, 2007, 13: 770-776.
- 13 Gerber JS, Glas M, Frank G, et al. Streptococcus bovis infection in young infants. Pediatr Infect Dis J, 2006, 25: 1069-1073.

(收稿日期: 2010-10-12)

(本文编辑: 李蕊)