

DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-9638. 2013. 03. 016

• 实验研究 •

手术方式采集的 197 份胆汁标本需氧菌培养及药敏分析

陈建设, 罗浩明

(邵阳市中心医院, 湖南 邵阳 421000)

[摘要] 目的 了解某院胆道感染患者胆汁中常见病原菌及其耐药变化趋势, 为指导临床正确选用抗菌药物提供依据。方法 对该院 2010 年 1 月—2011 年 12 月间 197 例手术中直接穿刺采集的胆汁标本进行需氧培养, 并做细菌鉴定和药敏试验。结果 197 份胆汁标本中, 130 份培养阳性, 阳性率为 65.99%; 共分离 151 株需氧菌, 其中 21 份标本为需氧菌混合感染。分离革兰阴性(G^-)杆菌 114 株(75.50%), 革兰阳性(G^+)球菌 36 株(23.84%), 真菌 1 株(0.66%)。病原菌居前 6 位者依次为大肠埃希菌(48.34%)、屎肠球菌(10.59%)、阴沟肠杆菌(6.62%)、粪肠球菌(5.96%)、肺炎克雷伯菌(5.96%)、铜绿假单胞菌(4.64%)。大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类药物(亚胺培南、美罗培南)敏感率达 100.00%; 大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌对哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星敏感性高(敏感率 77.78%~100.00%); 肠球菌属细菌对替加环素、利奈唑胺敏感率为 100.00%, 粪肠球菌对万古霉素敏感率为 100.00%, 1 株屎肠球菌对万古霉素耐药。 G^- 杆菌对青霉素类、头孢菌素类、喹诺酮类抗菌药物敏感性普遍下降。结论 胆道感染细菌以肠杆菌科细菌为主, 其次为肠球菌属; 临床医生在经验用药的同时, 应尽早做胆汁培养和药敏检测, 根据药敏试验结果合理用药。

[关键词] 胆道感染; 胆汁; 病原菌; 微生物敏感性试验; 抗药性; 微生物; 合理用药

[中图分类号] R969.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2013)03-0215-04

Aerobic culture of 197 intra-operatively collected bile specimens and anti-microbial susceptibility of bacteria

CHEN Jan-she, LUO Hao-ming (Central Hospital of Shaoyang, Shaoyang 421000, China)

[Abstract] **Objective** To realize the isolation and drug resistance of major pathogens from bile of patients with biliary tract infection, so as to provide reference for rational use of antimicrobial agents. **Methods** Bile specimens collected from 197 operated patients in a hospital from January 2010 to December 2011 were performed aerobic culture, bacteria were identified and performed antimicrobial susceptibility testing. **Results** Of 197 bile specimens, 130 (65.99%) were positive culture; 151 aerobic isolates were obtained, 21 specimens isolated mixed bacteria. The isolated pathogens included 114(75.50%) isolates of gram-negative bacilli, 36 (23.84%) of gram-positive cocci, and 1 (0.66%) of fungus. The top 6 pathogens were *Escherichia coli* (48.34%), *Enterococcus faecium* (10.59%), *Enterobacter cloacae* (6.62%), *Enterococcus faecalis* (5.96%), *Klebsiella pneumoniae* (5.96%), and *Pseudomonas aeruginosa* (4.64%). Sensitive rates of *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* to carbapenem (imipenem, meropenem) were 100.00%; *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* to piperacillin/tazobactam and amikacin were 77.78% - 100.00%; *Enterococcus spp.* to tigecycline and linezolid were 100.00%, all *Enterococcus faecalis* to vancomycin were 100.00%, 1 *Enterococcus faecium* isolate was resistant to vancomycin. Sensitive rates of gram-negative bacilli to penicillins, cephalosporins, and quinolones decreased. **Conclusion** Biliary tract infection is mainly caused by Enterobacteriaceae and *Enterococcus spp.*, bile culture and antimicrobial susceptibility testing of pathogens should be performed as early as possible, clinicians should choose antimicrobial agents according to antimicrobial susceptibility testing results.

[收稿日期] 2012-08-29

[作者简介] 陈建设(1972-), 男(汉族), 湖南省邵阳市人, 副主任检验师, 主要从事检验医学研究。

[通讯作者] 陈建设 E-mail: chenjianshe2010@163.com

[Key words] biliary tract infection; bile; pathogen; antimicrobial susceptibility testing; drug resistance, microbial; rational drug use

[Chin Infect Control, 2013, 12(3): 215 - 218]

胆道感染是常见疾病, 抗菌药物的应用是必不可少的。但是随着抗菌药物的广泛应用和不规范使用, 细菌的耐药性不断增高, 因此, 细菌培养和药敏监测尤为重要。细菌培养是诊断胆道感染的重要方法, 手术方式采集胆汁标本不易污染。分析本院 2010 年 1 月—2011 年 12 月间 197 例手术方式采集胆汁标本的细菌培养及药敏试验结果, 为临床科学用药和对有手术禁忌证而采用非手术治疗者经验用药提供重要依据。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 标本取自 2010 年 1 月—2011 年 12 月本院肝胆外科行胆管手术、胆囊切除术, 且病理学检查确诊为胆囊炎的患者 197 例, 其中男性 86 例, 女性 111 例; 年龄 <30 岁 5 例, 30 岁~23 例, 40 岁~43 例, 50 岁~43 例, 60 岁~48 例, 70 岁~27 例, ≥80 岁 8 例。胆汁标本均为术中直接穿刺采集。

1.2 主要器材 法国生物梅里埃 BAcT/ALERT 3D 型血培养仪、VITEK-2 COMPACT 鉴定仪、配套细菌鉴定卡及药敏卡; 血琼脂平板、麦康凯平板、巧克力平板的琼脂基质粉均购自英国 Oxoid 公司; 头孢他啶、环丙沙星、万古霉素等抗菌药物纸片购自英国 Oxoid 公司。

1.3 细菌分离鉴定及药敏试验 将无菌采集的胆汁注入需氧瓶, 采用 BAcT/ALERT 3D 型血培养仪培养或传统接种于相应培养基肉汤增菌培养; 阳性标本分离培养, 严格执行临床微生物检验标准操作规程。用 VITEK-2 全自动微生物鉴定系统对病原

菌进行鉴定及药敏试验。药敏结果参照美国临床实验室标准化研究所 (CLSI) 2010 年 M100-S20 文件^[1]。其中头孢哌酮/舒巴坦的折点参照头孢哌酮, 替加环素的折点参照美国食品和药品管理局 (FDA) 推荐的折点 (肠杆菌科敏感 ≤2 μg/mL, 耐药 ≥8 μg/mL; 葡萄球菌 ≤0.5 μg/mL; 肠球菌属 ≤0.5 μg/mL; 链球菌 ≤0.5 μg/mL)。

1.4 超广谱 β-内酰胺酶 (ESBLs) 测定 参照 CLSI 2010 年 M100-S20 文件推荐的方法^[1], 对大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和产酸克雷伯菌进行 ESBLs 测定。头孢他啶与头孢他啶加入克拉维酸纸片 (10 μg) 和头孢噻肟与头孢噻肟加入克拉维酸纸片进行试验, 当加入克拉维酸纸片, 抑菌圈环直径 ≥5 mm (单独药敏纸片抑制环直径), 该菌即为产 ESBLs 株。

1.5 质控菌株 金黄色葡萄球菌 ATCC 29213、大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC 27853、粪肠球菌 ATCC 29212、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603。

2 结果

2.1 细菌培养分离 197 份胆汁标本中, 130 份培养阳性, 阳性率为 65.99%; 共分离 151 株需氧菌, 其中 21 份标本为需氧菌混合感染。分离革兰阴性 (G⁻) 杆菌 114 株 (75.50%), 革兰阳性 (G⁺) 球菌 36 株 (23.84%), 真菌 1 株 (0.66%)。病原菌居前 6 位者依次为大肠埃希菌、屎肠球菌、阴沟肠杆菌、粪肠球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌, 病原菌构成见表 1。

表 1 胆汁标本分离的病原菌构成比

Table 1 Constituent ratio of pathogens from bile specimens

病原菌	株数	构成比 (%)	病原菌	株数	构成比 (%)
G⁻ 杆菌			G⁺ 球菌		
大肠埃希菌	73	48.34	屎肠球菌	16	10.59
阴沟肠杆菌	10	6.62	粪肠球菌	9	5.96
肺炎克雷伯菌	9	5.96	链球菌属	4	2.65
铜绿假单胞菌	7	4.64	其他 G ⁺ 球菌**	7	4.64
产酸克雷伯菌	4	2.65	真菌		
气单胞菌属	4	2.65	白假丝酵母菌	1	0.66
其他 G ⁻ 杆菌*	7	4.64	合计	151	100.00

* 包括嗜水气单胞菌、温和气单胞菌、鲍曼不动杆菌、弗氏枸橼酸杆菌、少动鞘氨醇单胞菌、奇异变形杆菌; ** 包括鸟肠球菌、铅黄肠球菌、藤黄微球菌、模仿葡萄球菌等

2.2 药敏试验 主要病原菌对常用抗菌药物的敏感率见表 2。大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类药物(亚胺培南、美罗培南)敏感率为 100.00%;大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌对哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星敏感性高(敏感率 77.78%~100.00%);肠球菌属对替加环素、

利奈唑胺敏感率为 100.00%,粪肠球菌对万古霉素敏感率为 100.00%,1 株屎肠球菌对万古霉素耐药。73 株大肠埃希菌中,35 株产 ESBLs;13 株克雷伯菌属细菌(9 株肺炎克雷伯菌、4 株产酸克雷伯菌)中,7 株产 ESBLs。

表 2 主要病原菌对常用抗菌药物的敏感率(株数,%)

Table 2 Antimicrobial susceptibility rate of major pathogens (No. of isolates,%)

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=73)	阴沟肠杆菌 (n=10)	肺炎克雷伯菌 (n=9)	铜绿假单胞菌 (n=7)	屎肠球菌 (n=16)	粪肠球菌 (n=9)
阿米卡星	73(100.00)	10(100.00)	7(77.78)	7(100.00)	-	-
氨苄西林	5(6.85)	0(0.00)	1(11.11)	0(0.00)	3(18.75)	7(77.78)
氨苄西林/舒巴坦	10(13.70)	0(0.00)	6(66.67)	0(0.00)	-	-
氨曲南	19(26.03)	8(80.00)	6(66.67)	4(57.14)	-	-
头孢唑林	13(17.81)	0(0.00)	6(66.67)	0(0.00)	-	-
头孢他啶	44(60.27)	2(20.00)	6(66.67)	3(42.86)	-	-
头孢曲松	21(28.77)	3(30.00)	6(66.67)	-	-	-
环丙沙星	19(26.03)	5(50.00)	6(66.67)	4(57.14)	4(25.00)	6(66.67)
庆大霉素	47(64.38)	8(80.00)	7(77.78)	5(71.43)	-	-
亚胺培南	73(100.00)	10(100.00)	9(100.00)	6(85.71)	-	-
美罗培南	73(100.00)	10(100.00)	9(100.00)	7(100.00)	-	-
左氧氟沙星	25(34.25)	7(70.00)	6(75.00)	4(57.14)	8(50.00)	7(77.78)
呋喃妥因	55(75.34)	3(30.00)	1(11.11)	0(0.00)	4(25.00)	5(55.56)
哌拉西林/他唑巴坦	72(98.63)	7(70.00)	9(100.00)	7(100.00)	-	-
妥布霉素	48(65.75)	7(70.00)	7(77.78)	5(71.43)	-	-
复方磺胺甲噁唑	28(38.36)	8(80.00)	7(77.78)	0(0.00)	-	-
头孢哌酮/舒巴坦	53(72.60)	7(70.00)	7(77.78)	-	-	-
替加环素	-	-	-	-	16(100.00)	9(100.00)
四环素	-	-	-	-	10(62.50)	4(44.44)
万古霉素	-	-	-	-	15(93.75)	9(100.00)
高水平链霉素	-	-	-	-	14(87.50)	7(77.78)
高水平庆大霉素	-	-	-	-	12(75.00)	7(77.78)
奎奴普汀/达福普汀	-	-	-	-	15(93.75)	1(11.11)
红霉素	-	-	-	-	3(18.75)	2(22.22)
利奈唑胺	-	-	-	-	16(100.00)	9(100.00)
青霉素 G	-	-	-	-	3(18.75)	6(66.67)

3 讨论

正常情况下,人的胆汁是无菌的。胆囊炎或胆结石患者,尤其出现胆道梗阻时,常伴有反复发生的胆道感染。而肠道细菌易位被认为是胆道感染发生的主要原因。病原菌多直接从肠道经 Oddi 括约肌反流入胆道,也可通过血液或淋巴道进入胆道而致胆系感染。多数情况下,胆道标本为需氧菌和厌氧菌混合感染,有报道^[2]胆道厌氧菌培养感染率达 52.5%;本组标本因未进行常规厌氧培养,故未统计厌氧菌分布情况。细菌培养是诊断胆道感染的重要方法,而外科(手术)方法采集胆汁标本不易污染。

本组以手术方式采集的 197 份胆汁标本,130

份培养阳性,阳性率为 65.99%,共分离 151 株需氧菌,其中 21 份标本有需氧菌混合感染。主要病原菌为大肠埃希菌(73 株,48.34%),其次为肠球菌属细菌、阴沟肠杆菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌;种类与近年文献报道^[3-6]基本一致,但其分布比例,不同地区存在差异。合理使用抗菌药物,对于控制胆道感染极为重要,可以更好地为手术前准备,以及减少手术后切口感染等并发症的发生。

本资料显示,胆汁中肠杆菌科细菌(主要为大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、肺炎克雷伯菌)为主要的病原菌,约占需氧感染菌 60%以上。胆汁中具有较高浓度的头孢曲松等药物,但药敏结果显示大肠埃希菌和阴沟肠杆菌对此类药物敏感性明显降低;敏感性

最高的是碳青霉烯类药物(亚胺培南、美罗培南),敏感率达 100.00%;大肠埃希菌、铜绿假单胞菌对阿米卡星的敏感率为 100.00%,肺炎克雷伯菌对阿米卡星的敏感率也达 77.78%,可能是目前临床上较少使用该药的缘故。头孢类抗生素是既往治疗胆道感染用得较多的药物,头孢他啶、头孢曲松、头孢哌酮的敏感率较低,说明第三代头孢菌素对治疗胆道感染不一定有效。这可能与产质粒介导的 ESBLs 和 AmpC 酶大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌的比例逐步增高有关。因此,仍需密切监测菌株的耐药性。本次发现 1 株铜绿假单胞菌对亚胺培南耐药,对其他主要抗菌药物的敏感率低;肠杆菌科则未发现碳青霉烯耐药株。这警示临床必须合理应用碳青霉烯类抗生素,防止在抗菌药物压力下筛选出泛耐药的肠杆菌科细菌。有研究^[7]发现,以往抗菌药物的使用、使用肾上腺糖皮质激素等均是多重耐药铜绿假单胞菌感染的独立危险因素;Miliani 等^[8]发现亚胺培南和环丙沙星的使用与耐药铜绿假单胞菌检出率升高有关。

肠球菌属是医院感染的主要病原菌,尤其是随着万古霉素耐药肠球菌的增加^[9-11],给临床治疗带来了困难。临床分离的肠球菌以粪肠球菌和屎肠球菌为主,既往报道粪肠球菌比例占多数^[12]。近年屎肠球菌所占比例有所上升,林奇龙等报道^[13-14],其分离出的屎肠球菌已超过粪肠球菌。本研究 197 份手术方式采集的胆汁标本中共分离出肠球菌属细菌 29 株,其中屎肠球菌 16 株,粪肠球菌 9 株,其他肠球菌 4 株。药敏结果表明,肠球菌属细菌除对万古霉素、替加环素、利奈唑胺和高浓度的庆大霉素及链霉素保持高敏感性外,对大多数常用抗菌药物的敏感率低。其中发现 1 株屎肠球菌对万古霉素耐药(经 E-test 条验证 MIC \geq 32 μ g/mL)。

通过对手术方式采集胆汁标本的检测,了解地区性特殊部位细菌感染及细菌耐药趋势,动态分析细菌的变迁规律,将为临床合理选择抗菌药物,尤其是对有手术禁忌证非手术治疗者经验治疗用药提供依据。治疗胆系感染经验用药时,要尽早做细菌学检测及药敏试验,根据药敏结果及时调整用药。避免耐药菌的产生和减缓细菌耐药的发生具有重要的临床意义。

[参 考 文 献]

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S20. performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty informational supplement[S]. Wayne:CLSI,2010.
- [2] Lu Y,Xiang T H. Bile anaerobic bacteria detection and antibiotic susceptibility in patients with gallstone[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2003,2(3):431-434.
- [3] 李涛,熊自忠,沈继录,等. 胆汁细菌种类及主要分离菌株耐药性分析[J]. 中国微生态学杂志,2009,21(12):1080-1083.
- [4] 年华,丁丽萍,褚玉卓. 608 份胆汁标本中分离细菌菌谱及其药敏结果分析[J]. 微生物学杂志,2009,29(2):93-96.
- [5] 肖永红,薛峰. Mohnarín 2008 年胆汁培养病原菌构成及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2010,20(16):2409-2412.
- [6] 袁兴贵,严培军,俞南松,等. 304 株胆道感染病原菌及其药敏分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(9):1912-1914.
- [7] Tumbarello M,Repetto E,Trecarichi E M, et al. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections; risk factors and mortality[J]. Epidemiol Infect, 2011, 139(11): 1740-1749.
- [8] Miliani K, L heriteau F, lacave L, et al. Imipenem and ciprofloxacin consumption as factors associated with incidence rates of resistant *Pseudomonas aeruginosa* in hospitals in northern France[J]. J Hosp Infect, 2011, 77(4):343-347.
- [9] Zheng B, Tomita H, Xiao Y H, et al. Molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from mainland China[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(9): 2813-2818.
- [10] Zhu X, Zheng B, Wang S, et al. Molecular characterization of outbreak-related strains of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from an intensive care unit in Beijing, China[J]. J Hosp Infect, 2009, 72(2):147-154.
- [11] Deshpande L M, Fritsche T R, Moet G J, et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococci* from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007, 58(2):163-170.
- [12] 李明,董训兰. 130 株临床肠球菌属感染特点及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(7):885-860.
- [13] 林奇龙,夏邦世,沈忠海,等. 201 株肠球菌属的临床分布及耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志,2009,9(7):858-860.
- [14] Qu T T, Chen Y G, Yu Y S, et al. Genotypic diversity and epidemiology of high-level gentamicin resistant *Enterococcus* in a Chinese hospital[J]. J Infect, 2006, 52(2):124-130.