

• 临床检验研究 •

乳腺导管内正常菌群的研究

刘双格, 续哲莉[△]

(吉林大学中日联谊医院乳腺外科, 长春 130033)

摘要:目的 研究乳腺导管内细菌的分布情况。方法 对 130 例行双侧乳管镜检查的女性患者(260 例乳房), 根据体检、B 超及乳管镜检查结果分为 3 组: 完全正常组 69 例, 乳腺导管扩张症组 107 例, 积乳症组 84 例。对每例患者收集乳管冲洗液进行细菌培养。结果 有 20 种细菌被检出, 细菌检出率前 3 位为凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、芽孢杆菌, 且以前两种为主。乳管内多数以一种细菌生长为主, 有时可为几种细菌共生长。积乳症组细菌检出率最高, 与完全正常组比较差异有统计学意义; 乳管扩张症组检出率次之, 与完全正常组比较差异无统计学意义。结论 乳管内细菌数量活动在 $10^1 \sim 10^3$ CFU/mL 之间。

关键词: 细菌; 乳腺导管; 定量

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.014

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)18-2074-03

Identification of normal flora in breast duct

Liu Shuangge, Xu Zheli

(Breast Surgery Department, China-Japan Union Hospital Affiliated to Jilin University, Changchun 130033, China)

Abstract: Objective To study the distribution of flora in breast duct. Methods 130 cases of female patients (260 cases of breast), accepting bilateral breast duct endoscopy, were divided into 3 groups according to physical examination, B-ultrasound inspection and breast duct endoscopy, including 69 cases were asymptomatic and results of all exams were normal, 107 cases were with ductal ectasia and 84 cases were with galactostasis. Ductal lavage specimen was collected and underwent bacteria culture for each case. Results 20 species of bacteria were isolated. The top three species of detection rate were coagulase negative staphylococci, Staphylococcus aureus and Bacillus, and the former two were the main. Most ductal lavage specimen were positive with one one specie of bacteria. There was statistical difference of isolation frequency of bacteria between galactostasis group and the normal group, but no statistical difference between ductal ectasia group and normal group. Conclusion The quantity of ductal bacteria ranged from 10^1 CFU/mL to 10^3 CFU/mL.

Key words: bacteria; mammary duct; quantitation

乳腺导管开口平时处于密闭状态, 与外界病原菌接触的概率较少。但随着泌乳、现代生活方式的改变、性生活的影响、体内激素水平的变化等, 乳腺导管内微生态发生着一定的变化。已知健康奶牛乳腺内常见细菌为小球菌和链球菌, 棒状杆菌属和乳杆菌属也可以出现, 而对于人类乳腺导管内菌群的研究报道少见。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 8~12 月该科门诊乳管镜检查的女性患者共 130 例。所有对象均行双侧乳管镜检查, 共计 260 例乳房。年龄为 21~71 岁, 平均年龄 41 岁。居住地在农村 100 例, 城市 160 例。未行过哺乳 50 例, 已行过哺乳(含正在哺乳)210 例。正在哺乳期有 28 例, 非哺乳期 232 例。全部病例均为经体检、B 超及乳管镜检查未见明显乳房病变人群。根据体检、B 超及乳管镜检查结果分为 3 组: 乳腺各项检查均正常且无症状组 69 例(其中 7 例未行过哺乳), 乳腺导管扩张症组 107 例(其中 12 例未行过哺乳), 积乳症组 84 例[(哺乳期(产后 3 d~2 个月)28 例, 非哺乳期 56 例)]。

排除标准: 正处于乳腺急性炎症性期或有全身感染的迹象者; 近 1 个月全身或局部用过抗生素者; 接受皮质激素或免疫抑制剂治疗 1 个月以上者; 患有糖尿病或其他消耗性疾病者; 有乳头血性溢液者; 溢乳者; 乳腺肿瘤患者; 处于月经期者。

1.2 仪器与试剂 恒温 SanYanCO₂ 培养箱, 普通光学显微镜, 全自动微生物鉴定仪(MicroScan Walkaway 96), 厌氧产气袋(日本三菱), 厌氧培养袋(日本三菱), 乳管镜(北京博莱德光电技术开发有限公司生产的 FVS-6000M I 型内窥镜图像系

统), 高压灭菌器, 低温冰箱, 5 mL 注射器, 硬膜外导管。哥伦比亚血琼脂培养基(CBA), 麦康凯培养基(MAcC), 沙保罗培养基, 卡玛嘉显色培养基, 脑心浸液培养基(BHI)(添加血清、1%维生素 K₁ 溶液、氯化血红素、吐温-80、L-盐酸半胱氨酸、酵母浸出液), 95% 乙醇, 结晶紫溶液, 卢戈氏液, 石碳酸复红液, 氧气指示剂。

1.3 标本采集及培养 0.9% 氯化钠溶液清洗乳头乳晕区皮肤, 去除乳头表面可见脏物。干纱布擦干乳头。乳头乳晕区及周围皮肤用酒精棉球彻底消毒 2 次。铺巾后乳头乳晕区再次消毒 1 次。5 号扩张器扩张乳管(尽可能取多个乳管开口), 乳管内局部注射 1% 利多卡因 0.2~0.5 mL。然后依次用 6、7、8 号扩张器再次扩张乳管。对于无乳头溢液患者乳管内缓慢注射 1~3 mL 生理盐水, 对于有乳头溢液的取溢液孔的溢液, 局部轻轻按压乳房, 使溶液尽可能到达下一级乳管远端。用一根硬膜外导管从乳管开口插入约 0.5 cm, 沿乳腺导管走行方向挤压乳房, 助手将硬膜外导管另一端插入 5 mL 注射器前端(针头取下), 沿导管收集冲洗液于注射器内, 分别立刻接种于 CBA、MAcC、沙保罗及 BHI 培养基。所有采集过程在 24 °C 左右室温下进行, 室内空气提前经过紫外线消毒 30 min。整个操作过程在 1 h 内完成, 时间最长不超过 2 h。标本采集后继续进行乳管镜检查, 并收集图像和记录病变。

1.4 细菌的鉴定及计数 根据革兰氏染色、菌落的形态与颜色、细菌的形态与排列等进行鉴定, 必要时通过全自动微生物鉴定仪及卡玛嘉显色培养基进行鉴定。以公式: 某菌数量 = 菌落形成单位(CFU)/标本体积(mL), 计算各种细菌数量(CFU/

[△] 通讯作者, E-mail: zhelixu@sina.com。

mL)。

1.5 杂菌污染的判读 若在非划线接种区发现大批菌落生长,应考虑在处理标本时被杂菌污染。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 17.0 统计软件,通过 Pearson χ^2 检验、*t* 检验与秩和检验对各种阳性率进行比较。

2 结 果

2.1 细菌阳性检出率 共对 260 例乳房行细菌培养,其中 31 例标本被污染,占 11.92%,被污染的标本在各组分布情况见表 1。未被细菌污染的 229 例乳腺导管标本中有 143 例标本细菌培养呈阳性,阳性率为 62.45%。乳腺导管扩张症组(65.00%)与完全正常组细菌阳性检出率(50.84%)比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而积乳症组(68.57%)与完全正常组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。表 2 显示,229 例乳房中共检出细菌 20 种。细菌检出率居于前 3 位的是凝固酶阴性葡萄球菌(28.82%)(经确认主要为表皮葡萄球菌)、金黄色葡萄球菌(20.52%)和芽孢杆菌(4.37%)。乳腺导管扩张症组各细菌种属检出率与完全正常组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。积乳症组金黄色葡萄球菌、棒状杆菌检出率明显高于完全正常组,差异有统计学意义($P<0.05$)。完全正常组、乳腺导管扩张症组都以 1 种细菌生长为主,乳腺导管扩张症组最多可检出 3 种细菌共生,通过秩和检验分析发现此两组细菌种类差异无统计学意义($P>0.05$);积乳症组以 2 种细菌共生为主,最多可检出 3 种细菌,与完全正常组比较差

异有统计学意义($P<0.05$)。同时还得出,不同侧乳房细菌检出率差异无统计学意义($P>0.05$);行过哺乳组的细菌阳性检出率较高($P<0.05$);农村组细菌检出率高于城市组($P<0.05$);将积乳症组按乳汁淤积时间进行分组结果提示,产后哺乳期细菌检出率较高,断乳初期细菌检出率下降,随后逐渐升高,然后趋于稳定状态。

表 1 不同组别之间细菌污染情况比较

类别	污染例数(<i>n</i>)	总例数(<i>n</i>)	污染率(%)
分组			
完全正常组	10(1)	69	14.49
乳腺导管扩张症组	7(0)	107	6.54
积乳症组			
哺乳期	8	28	28.57
非哺乳期	6	56	10.71
左右侧			
左	17	130	13.08
右	14	130	10.77
地区			
农村	8	100	8.00
城市	23	160	14.38
行哺乳与否			
是	26	210	12.68
否	5	50	9.10

括号内为污染的未行过哺乳的例数。

表 2 3 组乳管冲洗液标本细菌检出率结果比较[*n*(%)]

细菌种类	完全正常组(59 例)	乳腺导管扩张症组(100 例)	积乳症组(70 例)	总计(229 例)
需氧菌 7 种				
凝固酶阴性葡萄球菌	13(22.03)	34(34.00) ^a	19(27.14) ^b	66(28.82)
金黄色葡萄球菌	7(11.86)	20(20.00) ^a	20(28.57) ^c	47(20.52)
A 组化脓性链球菌	2(3.40)	2(2.00) ^a	4(5.71) ^b	8(3.49)
非溶血性链球菌	1(1.69)	2(2.00) ^a	0	3(1.31)
芽孢杆菌	3(5.08)	3(3.00) ^a	4(5.71) ^b	10(4.37)
棒状杆菌	0(0.00)	0(0.00)	7(10.00) ^c	7(3.06)
微球菌	0(0.00)	2(2.00) ^a	0(0.00)	2(0.87)
厌氧菌 8 种				
乳杆菌	0(0.00)	2(2.00) ^a	3(4.29) ^b	5(2.18)
脆弱拟杆菌	1(1.69)	2(2.00) ^a	0(0.00)	3(1.31)
双歧杆菌	0(0.00)	2(2.00) ^a	0(0.00)	4(1.75)
大消化链球菌	0(0.00)	1(1.00) ^a	0(0.00)	1(0.44)
真杆菌	0(0.00)	2(2.00) ^a	0(0.00)	2(0.87)
厌氧消化链球菌	1(1.69)	0(0.00)	2(2.85) ^b	3(1.31)
痤疮丙酸杆菌	2(3.40)	2(2.00) ^a	3(4.29) ^b	7(3.06)
消化球菌	2(3.40)	4(4.00) ^a	3(4.29) ^b	9(3.93)
兼性厌氧菌 4 种				
大肠埃希菌	0(0.00)	1(1.00) ^a	4(5.71) ^b	5(2.18)
肺炎克雷伯菌	0	2(2.00) ^a	2(2.85) ^b	4(1.75)
无乳链球菌	1(1.69)	0	1(1.43) ^b	2(0.87)
粪肠球菌	0(0.00)	0(0.00)	2(2.85) ^b	2(0.87)
真菌 1 种				
白色念珠菌	0(0.00)	0(0.00)	1(1.43)	1(0.44)

^{a,b}:分别与完全正常组比较, $P>0.05$; ^c:与完全正常组比较, $P<0.05$ 。

表 3 3 组标本细菌定量检测结果比较(CFU/mL)

组别	最大值	最小值	例数(<i>n</i>)	$\bar{x}\pm s$
完全正常组	110	10	30	60.67±27.02
乳腺导管扩张症组	180	20	65	70.00±38.49 ^a
积乳症组	220	20	48	80.00±47.66 ^b

^a:与完全正常组比较, $P>0.05$; ^b:与完全正常组比较, $P<0.05$ 。

2.2 细菌的定量检测结果 乳腺导管内细菌数量与人体其他腔道系统内细菌数量比较要少得多,数量在 $10^1\sim10^3$ CFU/mL 之间。见表 3。

3 讨 论

人体和正常菌群之间各种微生物保持着一定的生态平衡。正常人乳头乳晕处可见多种细菌,包括表皮葡萄球菌、金黄色

葡萄球菌、链球菌、棒状杆菌、肠球菌、真菌等。正常乳腺内可无细菌或有少量细菌。Ransj 等^[1]采集了 25 例(49 例乳房)在乳房缩小术前的深部腺体标本进行细菌培养,大于 90% 的标本培养出了细菌,主要为表皮葡萄球菌及丙酸杆菌。James 等^[2]对将要行乳房整形术的 59 例患者的术中标本行细菌学检查,共培养出 12 种细菌生长,其中需氧菌有 8 种,厌氧菌有 4 种,凝固酶阴性葡萄球菌最多,为 53%,其次为痤疮丙酸杆菌(39%)。本研究对 209 例非泌乳期和 20 例泌乳期乳房进行乳腺导管内标本采集和培养,有 143 例乳房检出细菌,检出率为 62.45%,共检出 20 种细菌,其中需氧菌 7 种,厌氧菌 8 种,兼性厌氧菌 4 种,真菌 1 种。本研究对乳头及周围皮肤消毒较为彻底,且取材方法可靠,培养结果可基本排除乳头皮肤细菌对结果的影响。与 James 的研究结果相比,本研究细菌检出种类明显增加,尤其是厌氧菌和兼性厌氧菌,可能是使用了不同的培养基和不同的厌氧培养环境。Rahal 等^[3]通过对 100 例乳腺导管扩张症患者及 50 例正常者进行细菌培养发现,两组表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌检出率最高,两组无论总细菌检出率还是各个菌种检出率比较,都无明显不同,从而得出结论乳管扩张性是一种非感染性的炎症反应过程。本研究结果与上述结果相似,乳腺导管扩张症组细菌检出率(65.00%)虽然明显高于完全正常组细菌检出率(50.84%),但两组细菌总体检出率及各菌种检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

本研究显示积乳症组细菌总体检出率相对较高,以金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌多见,与高海风等^[4]的报道较为一致。Fragkou 等^[5]认为,母羊乳头导管中的葡萄球菌达到一定数量后,可以起到一定防御微生物的作用,一旦阻碍了这种防御机制,则细菌能够侵入乳腺实质而引起乳腺炎。人类乳头导管中的葡萄球菌是否有同样的功能,尚需进一步研究。

本研究显示乳腺导管内细菌的数量较少,与其他系统比较

少得多,分析其原因可能有以下几方面:(1)乳腺导管为盲端系统,细菌只能从乳头开口向内部沿乳腺导管逐步定植;(2)乳腺导管上皮具有免疫功能,以及乳汁中的一些抗菌物质会抑制正常菌群的生长;(3)一些局麻药物具有一定的抗菌作用^[6-7];(4)另外也不能完全排除乳头消毒过程中将消毒液带入乳管内,影响细菌生长。

参考文献

[1] Ransj U, Asplund OA, Gylbert L, et al. Bacteria in the female breast[J]. Scand J Plast Reconstr Surg, 1985, 19(1): 87-89.

[2] James W, Thornton MD, Louis C, et al. Studies on the endogenous flora of the human breast[J]. Annals of Plastic Surgery, 1988, 20(1): 39-42.

[3] Rahal RM, Júnior RF, Reis C, et al. Prevalence of bacteria in the nipple discharge of patients with duct ectasia[J]. Int J Clin Pract, 2005, 59(9): 1045-1050.

[4] 高海风,孔令伟,马祥君,等. 22 例乳汁淤积和乳腺炎患者乳汁的细菌培养结果分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2010, 6(6): 422-424.

[5] Fragkou IA, Mavrogianni VS, Ccippis PJ, et al. The bacterial flora in the teat duct of ewes can protect against and can cause mastitis[J]. Vet Res, 2007, 38(4): 525-545.

[6] Chandan SS, Faoagali J, Wainwright CE. Sensitivity of respiratory bacteria to lignocaine[J]. Pathology, 2005, 37(21): 305-307.

[7] Pelz K, Ahmad MWA, Bogdan C, et al. Analysis of the antimicrobial activity of local anaesthetics used for dental analgesia[J]. Journal of Medical Microbiology, 2008, 57(14): 88-94.

(收稿日期:2011-04-25)

(上接第 2073 页)

的 PBC 患者。因而当 AMA 阴性而临床上仍怀疑 PBC 时,应检测抗核点抗体^[10]。如果核点型合并核膜型或着丝点型、线粒体型更会提高诊断特异性,给临床很大帮助。近年来国内 PBC 发病率不断增加,对其早期发现和临床诊断显得尤为重要^[11]。由于 ANA 的出现可先于临床症状的出现和发病,而此时做肝穿刺检查往往正常,因而检测 ANA 能为患者提供治疗时间,减轻痛苦。

ANA 阳性并不等于一定是 AID,通常抗体滴度越高,AID 的可能性越大,但两者间并无明确的界限存在。目前无临床症状的所谓“正常人群”中也有部分自身抗体阳性,这可能正如 Nielen 和 Arbuckle 等认为的自身抗体的出现远远早于(甚至提前 10 年)临床症状的出现和发病,它们可能预示着即将发生某种 AID。因此,在临床诊疗中应综合分析,重视抗体滴度在 AID 诊疗中的作用,还需要结合临床特征、生化指标以及实验室检查来完善,以避免片面根据某种核型弱阳性所致的误诊。

参考文献

[1] 李永哲. 自身抗体检测技术临床推广和质量保证工作中应重视的问题[J]. 中华检验医学志, 2006, 29(9): 769-773.

[2] 龙振洲. 医学免疫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 174.

[3] 胡朝军, 李永哲, 佟大伟, 等. 临床 14 282 份标本自身抗体谱检测

结果分析[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(8): 668-690.

[4] Tan EM, Fehkamp TE, Smolen JS, et al. Range of antinuclear antibodies in “healthy” individuals[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(16): 1601-1611.

[5] 陈风军. 131 例抗核抗体检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(1): 68-69.

[6] Roberts PJ, Nikoloutsopoulos T, Cox S, et al. Antinuclear antibody testing in a regional immunopathology laboratory[J]. Immunol Cell Biol, 2003, 81(5): 409-412.

[7] Nishihashi A, Haraguchi T, Hiraoka Y, et al. CENP-I is essential for centromere function in vertebrate cells[J]. Dev Cell, 2002, 2(4): 463-476.

[8] Brouwer R, Egberts WT, Hengstman GJ, et al. Autoantibodies directed to novel components of the PM/ScI complex[J]. Arthritis Res, 2002, 4(2): 134-138.

[9] 柯琳建, 黄立群, 郑高哲. 系统性硬皮病抗核抗体谱的检测意义[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7): 635-636.

[10] 德国欧盟公司. 欧蒙 ANA、组织/器官特异性自身抗体以及病原体抗体荧光模型[S]. 2006: 61-62.

[11] 冯雪, 李永哲. 原发性胆汁性肝硬化患者抗线粒体抗体亚型检测的临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2008, 15(5): 265-267.

(收稿日期:2011-04-17)