

• 论 著 •

# 临床胆汁分离细菌培养与药物敏感试验结果分析\*

房丽丽, 李 琦<sup>△</sup>, 马晓波, 林贵兰, 郑燕青, 陈世东, 郑港森

(厦门大学附属第一医院暨福建医科大学教学医院检验科, 福建厦门 361003)

**摘要:**目的 分析胆道感染病原菌分布和药敏试验结果, 为临床合理用药提供依据。方法 2013 年 4 月至 2014 年 9 月厦门大学附属第一医院胆汁标本采用法国生物梅里埃公司 BacT/ALERT 3D 全自动血培养仪及配套的血培养瓶进行增菌培养, 全自动微生物鉴定药敏分析仪进行细菌鉴定及药敏试验, 运用 WHONET 5.6 软件进行数据统计分析。结果 217 例胆道感染患者有 35 例(16.1%)分离出 2 种病原菌, 其中肠球菌属与肠杆菌科细菌混合感染(19 例, 54.3%)最常见; 共分离出 252 株非重复菌株, 革兰阳性菌 83 株(32.9%), 革兰阴性菌 165 株(65.5%), 真菌 4 株(1.6%); 分离率居前 3 位为大肠埃希菌、粪肠球菌和肺炎克雷伯菌; 最常见的非发酵菌为铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌。常见肠杆菌科细菌对氨基糖苷类、4 代头孢类、碳青霉烯类和哌拉西林/他唑巴坦耐药率低于 40.0%, 大肠埃希菌对喹诺酮类的耐药率大于 50.0%; 粪肠球菌和屎肠球菌对万古霉素、利奈唑胺和替加环素的耐药率极低, 对高浓度链霉素和高浓度庆大霉素的耐药率均小于 30.0%。结论 该地区胆道感染常见病原菌为大肠埃希菌、粪肠球菌和肺炎克雷伯菌, 肠球菌属和肠杆菌科细菌混合占 2 种病原菌混合感染很大比例, 病原菌对头孢类和喹诺酮类抗菌药物的耐药性日趋严峻。

**关键词:**胆道感染; 病原菌; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.007

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)04-0449-03

## Distribution and drug resistance analysis of bile-isolated pathogens In Xiamen area\*

Fang Lili, Li Xun<sup>△</sup>, Ma Xiaobo, Lin Guilin, Zheng Yanqing, Chen Shidong, Zheng Gangsen

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xiamen University and Teaching Hospital of Fujian Medical University, Xiamen, Fujian 361003, China)

**Abstract: Objective** To analyze the distribution and drug resistance of bile-isolated pathogens in Xiamen area, providing evidence for clinical use of antibiotics. **Methods** Bile cultures and antibiotic susceptibility tests were performed on strains isolated from the First Affiliated Hospital of Xiamen University. WHONET 5.6 was used for data analysis. **Results** In 35 out of 217 samples, 2 kinds of pathogens were isolated. Among these, Enterococcus and Enterobacteriaceae coinfection was most common. There were 252 strains isolated totally, with 83 gram-positive strains(32.9%), 165 gram-negative strains (65.5%) and 4 fungi strains (1.6%). Escherichia coli, Enterococcus faecalis and Klebsiella pneumoniae were three of the most common pathogens isolated. Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii were two of the most common nonfermenters isolated. The resistance rates of Enterobacteriaceae to aminoglycosides, fourth generation cephalosporins, carbapenems or piperacillin/tazobactam were lower than 40.0%. The resistance rate of Escherichia coli to quinolones was higher than 50.0%. Enterococcus faecalis or enterococcus faecium were less resistant to vancomycin, linezolid and tigecycline. The resistance rates of enterococcus to high concentration of streptomycin or gentamicin were lower than 30.0%. **Conclusion** The top three common pathogens isolated from bile are Escherichia coli, Enterococcus faecalis and Klebsiella pneumonia in Xiamen area. Infections by Enterococcus together with Enterobacteriaceae account for large numbers of coinfection cases. The resistance rates to cephalosporin or quinolones of pathogens causing biliary tract infections have increased dramatically.

**Key words:** biliary tract infection; pathogen; drug resistance

随着抗菌药物的广泛使用和滥用,胆道感染的细菌谱和药敏谱不断变化。本研究回顾性分析了本地区胆道感染病原菌分离情况和药敏试验结果,为临床医生经验使用抗菌药物治疗胆道感染提供流行病学依据。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013 年 4 月至 2014 年 9 月厦门大学附属第一医院确诊的胆道感染患者胆汁中分离出的病原菌,同一患者只取第一次分离菌株。质控菌株为大肠埃希菌(ATCC25922)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)及金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、粪肠球菌(ATCC29212)、阴沟肠杆菌

(ATCC700323),均由原卫生部临床检验中心提供。

**1.2 仪器与试剂** 法国生物梅里埃公司 BacT/ALERT 3D 全自动血培养仪及配套的血培养瓶、法国生物梅里埃公司 VITEK 2 compact 全自动微生物鉴定药敏仪及其专用的细菌鉴定卡和药敏卡。杭州天和生物技术研究室的血培养基。英国 Oxoid 公司的药敏纸片。

**1.3 方法** 无菌操作抽取胆汁后置无菌试管,严格按照《全国临床检验操作规程》进行,采用法国生物梅里埃公司 BacT/ALERT 3D 全自动血培养仪及配套的血培养瓶进行增菌培养,采用 VITEK 2 compact 全自动微生物鉴定药敏分析仪进行细菌

\* 国家自然科学基金资助项目(81302529);福建省自然科学基金资助项目(2014D007)。 作者简介:房丽丽,女,主管检验技师,主要从事细菌耐药方面研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: xli2001@xmu.edu.cn。

鉴定及药敏测定,药敏结果经 AES 专家系统校正。黏液型细菌药敏测定采用纸片扩散(K-B)法。

**1.4 统计学处理** 数据经世界卫生组织细菌耐药监测网提供的 WHONET 5.6 软件进行统计分析。

**2 结果**

**2.1 病原菌分布** 本研究包含非重复胆道感染病例 217 例,其中 35 例(16.1%)分离出 2 种病原菌,肠球菌属与肠杆菌科混合感染(19 例)最常见,占 2 种病原菌感染的 54.3%,其中多数为肠球菌属与大肠埃希菌混合感染,有 12 例(63.2%)。本研究分离出非重复菌株 252 株,革兰阳性菌 83 株(32.9%),革兰阴性菌 165 株(65.5%),真菌 4 株(1.6%),其中热带念珠菌、白色念珠菌各 50%(2/4)。病原菌分离率居前 3 位为大肠埃希菌、粪肠球菌和肺炎克雷伯菌。最常见的非发酵菌为铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌。各种细菌的构成比见表 1、2。

**表 1 胆汁中分离革兰阴性杆菌构成比**

病原菌	n	构成比(%)
大肠埃希菌	78	47.3
肺炎克雷伯菌	31	18.8
阴沟肠杆菌	9	5.5
弗氏柠檬酸杆菌	7	4.2
鲍曼不动杆菌	6	3.6
铜绿假单胞菌	6	3.6
嗜水气单胞菌	5	3.0
奇异变形杆菌	4	2.4
产酸克雷伯菌	3	1.8
嗜麦芽窄食假单胞菌	3	1.8
豚鼠气单胞菌	2	1.2
摩根摩根菌	2	1.2
琼氏不动杆菌	1	0.6
洛菲不动杆菌	1	0.6
布氏柠檬酸杆菌	1	0.6
产气肠杆菌	1	0.6
黑氏埃希菌	1	0.6
产吡啶肠杆菌	1	0.6
伊丽莎白脑膜炎杆菌	1	0.6
洋葱伯克霍尔德菌	1	0.6
少动鞘氨醇杆菌	1	0.6
合计	165	100.0

**表 2 胆汁中分离革兰阳性球菌构成比**

病原菌	n	构成比(%)
粪肠球菌	34	41.0
屎肠球菌	17	20.5
钻黄肠球菌	7	8.4
草绿色链球菌	7	8.4
鸟肠球菌	5	6.0
金黄色葡萄球菌	3	3.6
咽峡炎链球菌	2	2.4
山羊葡萄球菌	2	2.4
耐久肠球菌	1	1.2
耳葡萄球菌	1	1.2
表皮葡萄球菌	1	1.2
溶血葡萄球菌	1	1.2
人葡萄球菌	1	1.2
米勒链球菌	1	1.2
合计	83	100.0

**2.2 药敏试验**

**2.2.1 主要革兰阴性杆菌药敏情况** 肠杆菌科细菌作为胆汁中主要的革兰阴性病原菌,对氨基糖苷类、4 代头孢类、碳青霉烯类和哌拉西林/他唑巴坦耐药率低于 40.0%,尤其对阿米卡星、亚胺培南和头孢吡肟的耐药率均小于 20.0%,大肠埃希菌对喹诺酮类的耐药率达 58.6%。见表 3。

**表 3 分离自胆汁中主要革兰阴性杆菌的耐药情况(%)**

抗菌药物	大肠埃希菌	肺炎克雷伯菌	阴沟肠杆菌
阿米卡星	3.5	11.0	10.7
氨苄西林	63.3	74.5	88.9
氨苄西林/舒巴坦	41.7	33.8	57.1
氨基曲南	30.8	28.7	67.9
呋喃妥因	6.6	51.4	28.6
复方磺胺甲噁唑	56.8	40.4	60.7
环丙沙星	58.6	34.9	26.9
美洛培南	0.0	28.6	0.0
哌拉西林	51.9	53.5	20.0
哌拉西林/他唑巴坦	1.8	12.0	35.7
庆大霉素	33.9	18.5	17.9
头孢吡肟	15.4	16.7	7.1
头孢唑辛	61.2	60.0	40.0
头孢曲松	45.6	36.1	71.4
头孢他啶	19.0	42.0	42.9
头孢替坦	7.6	23.0	41.7
头孢唑啉	55.8	45.8	96.4
妥布霉素	11.6	11.2	17.9
亚胺培南	1.8	12.8	0.0
左旋氧氟沙星	54.7	25.2	7.7

**2.2.2 主要革兰阳性球菌药敏情况** 粪肠球菌和屎肠球菌作为胆汁中主要的革兰阳性病原菌,对高浓度链霉素和高浓度庆大霉素的耐药率均小于 30.0%,对万古霉素、利奈唑胺和替加环素的耐药率极低。屎肠球菌对喹诺酮类耐药率远高于粪肠球菌。见表 4。

**表 4 分离自胆汁中主要肠球菌的耐药情况(%)**

抗菌药物	粪肠球菌	屎肠球菌
青霉素 G	2.3	71.4
万古霉素	1.2	3.3
氨苄西林	0.0	57.1
呋喃妥因	0.0	45.7
复方磺胺甲噁唑	6.7	40.0
高浓度链霉素	14.9	26.5
高浓度庆大霉素	21.0	25.6
红霉素	41.5	58.9
环丙沙星	4.9	54.4
克林霉素	96.3	67.8

续表 4 分离自胆汁中主要肠球菌的耐药情况(%)

抗菌药物	粪肠球菌	屎肠球菌
奎奴普丁/达福普汀	85.0	3.4
利奈唑胺	2.4	3.4
四环素	43.4	47.5
替加环素	0.0	0.0
左旋氧氟沙星	4.2	54.3

3 讨论

近年来随着侵入性医疗操作的广泛应用,各种条件致病菌如肠杆菌科、肠球菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌等易通过壶腹或胆肠吻合口逆行至胆道系统,诱发内源性感染或通过医护人员工作者以及被其污染的医院环境或带菌患者而引起医院内感染。

本研究结果发现 16.1%(35/217)的患者胆汁中同时分离出 2 种病原菌。病原菌以革兰阴性杆菌常见,占 65.5%,47.3% 大肠埃希菌居首位,分离率远高于肺炎克雷伯菌和阴沟肠杆菌,与相关文献报道相同<sup>[1]</sup>。革兰阳性菌中,肠球菌属分离率最高,占 77.1%(64/83)。其中,34 株粪肠球菌居第 1 位,与王涛<sup>[2]</sup>的报道相同。有 16 株非发酵菌,常见铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌,可能与广泛开展内镜、长时间放置引流管引起的院内感染有关<sup>[3]</sup>。

由于近年 NDM-1 型金属酶、KPC 型碳青霉烯酶及头孢菌素酶等新耐药机制的发现,肠杆菌科细菌的耐药性越来越高,耐药种类越来越多。本研究显示肠杆菌科细菌对 2、3 代头孢类抗菌药物耐药性高,普遍大于 40.0%,特别阴沟肠杆菌对头孢唑啉耐药率高达 96.4%。喹诺酮类抗菌药物在胆汁中的浓度远高于其血药浓度<sup>[4]</sup>,是临床医生凭经验治疗胆道感染的常见选择之一。本次研究数据显示肠杆菌科细菌对于喹诺酮类抗菌药物的耐药率尚可,仅大肠埃希菌对其耐药率大于 50.0%,由于肠杆菌科细菌存在质粒介导喹诺酮类耐药基因,阳性菌株可同时携带整合子进行水平传播<sup>[5]</sup>,提示要注意监测

肠杆菌科细菌对其的药敏情况。

本研究表明本地区胆汁中肠球菌属细菌和肠杆菌科混合感染(19 例)最常见,占 2 种病原菌混合感染很大比例(54.3%)。肠球菌的耐药性低于国内其他地区<sup>[6]</sup>,对高浓度链霉素和高浓度庆大霉素的耐药率均小于 30.0%,低于修宁宁等<sup>[7]</sup>的报道,对万古霉素、利奈唑胺和替加环素的耐药率极低。由于肠球菌对多种抗菌药物天然耐药,而且一旦产生耐药,耐药肠球菌可通过医疗环境和医护人员传播,尤其增加了临床治疗 2 种细菌混合感染的难度。

重视以肠球菌属细菌和肠杆菌科混合感染为主的 2 种病原菌混合胆道感染,过去临床医生经验治疗胆道感染使用的头孢类和喹诺酮类抗菌药物的耐药性明显上升,尽早采集胆汁进行培养并提高送检率,彻底清洗消毒医疗器械和提高医务人员的手卫生依从性,按照药敏结果选择合适的抗菌药物进行胆道抗感染治疗。

参考文献

[1] 徐伟红,徐斌.胆道感染患者胆汁标本分离的病原体及其耐药性[J].中国感染控制杂志,2014,13(1):32-35.  
 [2] 王涛.168 例胆汁标本病原菌分布及耐药性分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(12):1610-1611.  
 [3] 周春妹,胡必杰,吕媛.卫生部全国细菌耐药监测网 2011 年胆汁培养病原菌耐药监测[J].中国临床药理学杂志,2012,28(12):933-936.  
 [4] 鲍峻峻,许建明,胡咏梅,等.不同剂量左氧氟沙星在大鼠胆汁药物浓度分布情况探讨[J].安徽医药,2012,16(3):294-297.  
 [5] 黄丽,高晓坤,张宏.肠杆菌科细菌质粒介导喹诺酮类耐药基因的检测[J].中国感染与化疗杂志,2014,14(4):286-290.  
 [6] 胡付品,朱德妹,汪复,等.2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2012,12(5):321-329.  
 [7] 修宁宁,辛青松.145 株肠球菌体外药敏结果分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(19):2624-2626.

(收稿日期:2015-10-18)

(上接第 448 页)

数较多,各峰分离情况良好。相似度评价结果表明,广西产地的狼毒药材与其他产地的药材存在差异。因此,在临床用药等方面应当关注药材的来源与产地。

参考文献

[1] 卓兆莲,高英,李卫民,等.中药狼毒考证[J].中医学报,2006,34(3):50.  
 [2] 冯宝民,裴月湖.瑞香狼毒中的化学成分研究[J].中国药学杂志,2001,36(1):21-22.  
 [3] 何郁芳,谢秀娟,王美英.狼毒的药理作用和化学成分研究进展[J].河南科技大学学报:医学版,2004,22(1):79.  
 [4] 马健,李永华.瑞香狼毒提取物逆转人肝癌耐药细胞多药耐药的实验研究[J].中国中医药科技,2004,11(4):223.  
 [5] 汤亚杰,徐小玲,李冬生,等.瑞香狼毒化学成分与抗肿瘤作用研究进展[J].中成药,2008,30(7):1035-1038.  
 [6] 杨甲月,燕志强,徐蕊,等.瑞香狼毒根中活性物质的分离鉴定及

作用机理[J].西北植物学报,2011,31(2):291-297.

[7] 谢演晖,严小红,王灿坚.RP-HPLC 法测定月腺大戟中狼毒乙素的含量[J].中药材,2010,33(4):568.  
 [8] 栗晓栗,林瑞超,王兆基.毒性中药狼毒质量标准研究[J].中成药,2006,28(4):498.  
 [9] 乔春峰,韩全斌,贺震旦.RP-HPLC 法测定狼毒中岩大戟内酯 A 和 B 的含量[J].药物分析杂志,2006,26(9):1204.  
 [10] 何南生,周临,曾宪仪.狼毒大戟化学对照品研究[J].实用临床医学,2006,7(12):25.  
 [11] 苗爱东,孙殿甲.Excel 2002 在中药指纹图谱相似度计算中的应用[J].药学进展,2003,27(1):52-54.

(收稿日期:2015-10-18)

