

· 临床论著 ·

胆石症合并急性胆管炎患者胆汁及血液病原菌培养
及药敏分析

邹雪飞 吴广利 王伟 刘成霞 牛琼 马锋振

【摘要】 目的 观察胆石症合并急性胆管炎患者胆汁及血液中病原菌的分布特征、培养阳性率及其对抗菌药物的敏感性,指导临床合理选择和应用抗菌药物。**方法** 选取2011年1月至2014年1月本院消化内科诊断为急性胆道感染、经内镜逆行性胰胆管造影术(ERCP)术中证实存在结石的97例患者的胆汁标本,所有胆汁标本均进行普通细菌、厌氧菌及真菌培养,其中33例行血培养,分别对其病原菌培养及药敏结果进行分析,同时对97例患者术前经验性应用的抗菌药物情况进行统计分析。**结果** 97例胆汁培养者中73例检出病原菌,阳性率为75.3%。胆汁标本中共分离出病原菌77株,其中革兰阴性菌60株,革兰阳性菌14株,真菌3株,革兰阴性菌中排名居前3位的细菌分别是大肠埃希菌(43株,55.8%)、克雷伯菌属(6株,7.8%)、阴沟肠杆菌(4株,5.2%)。33例血培养者17例检出病原菌,阳性率为51.5%。血培养中分离出病原菌17株,大肠埃希菌15株,肺炎克雷伯菌1株,梭杆菌属1株。革兰阴性菌对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星敏感性较高(敏感率分别为93.3%、88.3%和83.3%),未发现对亚胺培南及美罗培南耐药者。对氨基糖苷类和左氧氟沙星敏感性最低(敏感率均为23.0%)。97例患者术前均经验性应用抗菌药物,55例应用单一抗菌药物抗感染,主要为左氧氟沙星(34/55),其次为头孢哌酮/舒巴坦(11/55)和其他(10/55);42例两联抗感染治疗,主要为左氧氟沙星+甲硝唑(16/42)、头孢哌酮/舒巴坦+甲硝唑(15/42)和其他(11/42)。**结论** 胆石症合并急性胆道感染者胆汁中及血液中的主要病原菌为革兰阴性菌,且均以大肠埃希菌为主。头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星敏感性较高,可作为首选抗菌药物,亚胺培南、美罗培南作为备选抗菌药物,在严重感染或其他抗菌药物无效的情况下考虑使用。左氧氟沙星、氨基糖苷类在胆道结石并胆道感染者中耐药率高,临床上经验性应用抗菌药物时应避免选用。

【关键词】 胆石症;胆道感染;胆汁培养;药物敏感性试验

Bile and blood bacterial flora and its antibiotic sensitivity in patients with acute cholangitis combined with choledocholithiasis ZOU Xuefei, WU Guangli, WANG Wei, LIU Chengxia, NIU Qiong, MA Fengzhen. Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, China

Corresponding author: WU Guangli, Email: guangli-wu@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the characteristics of microbial isolates and the positive rate from bile and blood cultures taken from patients with cholangitis resulting from choledocholithiasis, and to compare antimicrobial sensitivities and to guide the rational choice and use of antibiotics. **Methods** Bile cultures and antibiograms from 97 patients hospitalized between January 2011 to January 2014 in our hospital were reviewed. Specimens were obtained from patients with cholangitis and confirmed choledocholithiasis during endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP), the bile specimens were examined for pathogenic aerobic and anaerobic bacteria and *fungi*, there were 33 blood samples among them were cultured simultaneously. Data on microbial isolates and antimicrobial sensitivities were analyzed, respectively. At the same time, the empirical antibiotics of the 97 cases prior to operation were also analyzed. **Results** Bile culture was positive in 73 among 97 cases, the positive culture rate was 75.3%, a total of 77 pathogens were isolated in bile culture: 60 Gram-negative bacteria, 14 Gram-positive bacteria and 3 *fungus*. The most common Gram-negative pathogens were *Escherichia coli* (55.8%), *Klebsiella* (7.8%), *Enterobacter*

cloacae (5.2%). Blood culture was positive in 17 among 33 cases, the positive culture rate was 51.5%, 17 pathogens were isolated in blood culture, including *Escherichia coli* (15 strains), *Klebsiella* (1 strain), *Fusobacterium* (1 strain). The more sensitive antibiotics against Gram-negative bacteria were cefoperazone/sulbactam, piperacillin/tazobactam, amikacin (susceptibility 93.3%, 88.3% and 83.3%, respectively). The lower susceptibility rate of Gram-negative to fourteen kinds of antimicrobial agents was levofloxacin and aztreonam (with susceptibility rate for 23.0%). There were no resistance for imipenem and meropenem. Empirical antibiotic therapy was prescribed prior to operation in all cases, monotherapy was used in 55 cases, the main drug was levofloxacin (34/55), the second was cefoperazone/sulbactam (11/55) and the other (10/55). The dual therapy was used in 42 cases, the mainly was levofloxacin plus metronidazole (16/42), the second was cefoperazone/sulbactam plus metronidazole (15/42), and the other (11/42). **Conclusions** Gram-negative bacteria were the predominant bile and blood pathogens found in patients with cholangitis resulting from choledocholithiasis. And the most prominent Gram-negative pathogens were *Escherichia coli*. The sensitive rates of cefoperazone/sulbactam, piperacillin/tazobactam and amikacin were higher, which could be used as the preferred antimicrobial agents. Imipenem and meropenem should remain the last alternative, when all other therapies fail or serious infection. The resistance rates of cases with cholangitis resulted from choledocholithiasis to the levofloxacin and aztreonam were higher. It should avoid to choose during empiric antimicrobial therapy.

【Key words】 Choledocholithiasis; Cholangitis; Blood culture; Bile culture; Bacterial sensitivity tests

胆石症合并胆道感染是消化系统常见病、危重病。其临床表现多种多样,可从轻度的腹部不适到危及生命的感染性休克。相关文献报道,急性胆管炎的总病死率为 10% ~ 30%。临床上一旦怀疑或确诊为急性胆道感染,抗感染治疗则应尽早进行,然而,临床病原菌培养及药物敏感性的结果常滞后于抗菌药物的选择,故在抗感染早期常需经验性选择抗菌药物。因此,了解胆石症并胆道感染者的病原菌分布及其药物敏感性对于抗菌药物的选择至关重要。本文调查分析了 97 例胆石症并胆道感染者胆汁标本中病原菌分布及其耐药性,并对其中 33 例另行血培养的标本进行了分析,现报道如下。

资料与方法

一、临床资料

选取 2011 年 1 月至 2014 年 1 月,本院消化内科微创治疗的胆总管结石并急性胆系感染者共 97 例,其中男性 59 例,女性 38 例,中位年龄 68 岁, > 60 岁者 72 例, < 60 岁者 25 例。

二、病例纳入标准与排除标准

1. 纳入标准: (1) 符合胆石症并胆管炎的诊断^[1]: ①症状: 腹痛及腹部压痛(右上腹或中上腹); ②体征: 发热和(或)寒战、黄疸伴或不伴 Murphy 征阳性; ③实验室检查: 炎症指标升高(白细胞或 C-反应蛋白升高), 肝功能异常(胆红素、转氨酶、 γ -谷氨酰转肽酶、碱性磷酸酶等

升高); ④影像学检查: 术前经腹部彩色多普勒超声、CT 和磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)发现胆道结石或扩张等。以上症状 + 体征中 ≥ 2 项 + 实验室检查 + 影像学检查即可明确诊断。

(2) 年龄大于 18 岁。

(3) 内窥镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)证实存在胆道结石者。

2. 排除标准^[2]: ①原发性硬化性胆管炎患者; ②肝硬化患者; ③胰腺癌、胆管癌患者; ④胆道良性狭窄患者; ⑤肝移植患者; ⑥免疫功能低下, 存在其他部位感染者; ⑦正在接受糖皮质激素治疗的患者。

三、胆汁及血液标本的采集

所有胆汁标本均由经验丰富的 ERCP 操作医师采取, 术前十二指肠镜、导管和导丝等器械均进行严格消毒。选择性深插管成功后, 通过无菌注射器抽吸胆汁 5 ml, 立即注入已备好的无菌试管内, 进行病原菌培养及药敏分析。97 例患者中有 33 例进行了血培养, 在患者行 ERCP 手术前高热寒战时抽取上肢静脉血 10 ml 进行病原菌培养。

四、胆汁血液培养方法及药敏试验

将送检的胆汁及血液分别于双相血培养瓶中 37 °C 培养, 待液相部分变浑浊或固相部分菌落生长时转接种于血平板与中国蓝琼脂平板上, 分离所得的菌株用西门子公司(Microscan walkAway 96

全自动细菌鉴定及药敏分析仪进行鉴定及药敏测定。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC25923 和铜绿假单胞菌 ATCC27853。

五、统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析, 组间的比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、胆汁培养结果

入组 97 例胆汁标本中有 73 例培养出病原菌, 培养阳性率为 75.3%, 其中 69 例分离出单一病原菌 (94.5%), 4 例分离出两种病原菌 (5.5%), 共分离出病原菌 77 株, 其中革兰阴性菌 60 株 (77.9%), 革兰阳性菌 14 株 (18.2%), 真菌 3 株 (3.9%)。革兰阴性菌中前 3 位分别是大肠埃希菌 (43 株), 克雷伯菌属 (6 株), 阴沟肠杆菌 (4 株), 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌共 47 株, 检出产超广谱 β -内酰胺酶菌 (extended spectrum beta-lactamases, ESBLs) 15 株, 检出率为 31.9%, 详见表 1。

二、血培养结果

本研究 33 例血培养标本中有 17 例检测出病原菌, 阳性检出率为 51.5%, 共检出病原菌 17 株,

其中大肠埃希菌 15 株, 肺炎克雷伯菌 1 株, 梭杆菌属 1 株。

三、药敏试验结果

60 例革兰阴性菌对 14 种抗菌药物的敏感情况见表 2。革兰阴性菌对亚胺培南、美罗培南的敏感性最高, 敏感率为 100%, 其次为头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星、阿莫西林/克拉维酸钾、庆大霉素、头孢西丁 (敏感率分别为 93.3%、88.3%、83.3%、53.3%、51.7% 和 51.7%)。对氨基糖苷类、左氧氟沙星敏感率最低, 敏感率为 23.3%, 耐药率高达 76.7%。

四、3 种敏感性较高的抗菌药物间的比较

在敏感性较高的 3 种抗菌药物中, 应用卡方检验对其敏感率进行两两比较, 见表 3, 对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星分别行两两比较, 结果显示, 两两比较的敏感率差异均无统计学意义 (P 均 > 0.01)。

讨 论

一般情况下, 健康人的胆汁无菌, 有研究报道, 当发生胆道梗阻时, 胆汁酸的肝肠循环受到抑制, 肠道内胆盐缺乏, 因而无法发挥胆盐抑制肠道细菌

表 1 入组 97 例患者胆汁中病原菌分布与构成比

病原菌	菌株数	构成比 (%)
革兰阴性菌	60	77.9
大肠埃希菌	43	55.8
克雷伯菌属 ^a	6	7.8
阴沟肠杆菌	4	5.2
奇异变形杆菌	3	3.9
弗氏枸橼酸杆菌	3	3.9
鲍曼不动杆菌	1	1.3
革兰阳性菌	14	18.2
屎肠球菌	9	11.7
粪肠球菌	3	3.9
化脓性链球菌	1	1.3
表皮葡萄球菌	1	1.3
真菌	3	3.9
白色念珠菌	2	2.6
热带念珠菌	1	1.3
合计	77	100.0

注: ^a 克雷伯菌属包括肺炎克雷伯菌肺炎亚种 4 例, 产酸克雷伯菌 1 例, 解鸟氨酸克雷伯菌 1 例

表 2 入组 97 例患者胆汁中主要革兰阴性菌对常用抗菌药物敏感率及革兰阴性菌的敏感率分析 [株 (%)]

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=43)	克雷伯菌属 (n=6)	其他 G ⁻ 菌 (n=11)	合计 (n=60)
亚胺培南	43 (100.0)	6 (100.0)	11 (100.0)	60 (100.0)
美罗培南	43 (100.0)	6 (100.0)	11 (100.0)	60 (100.0)
头孢哌酮/舒巴坦	40 (93.0)	5 (83.3)	11 (100.0)	56 (93.3)
哌拉西林/他唑巴坦	38 (88.4)	5 (83.3)	10 (90.9)	53 (88.3)
阿米卡星	35 (81.4)	6 (100.0)	9 (81.8)	50 (83.3)
阿莫西林/克拉维酸钾	24 (55.8)	3 (50.0)	5 (45.5)	32 (53.3)
庆大霉素	22 (51.2)	3 (50.0)	6 (54.5)	31 (51.7)
头孢西丁	23 (53.5)	4 (66.7)	4 (36.4)	31 (51.7)
头孢他啶	12 (27.9)	4 (66.7)	6 (54.5)	22 (36.7)
头孢吡肟	13 (30.2)	3 (50.0)	5 (45.5)	21 (35.0)
头孢噻肟	11 (25.6)	3 (50.0)	4 (36.4)	18 (30.0)
头孢曲松	11 (25.6)	3 (50.0)	4 (36.4)	18 (30.0)
左氧氟沙星	6 (14.0)	4 (66.7)	4 (36.4)	14 (23.3)
氨基糖苷	11 (25.6)	2 (33.3)	1 (9.1)	14 (23.3)

表3 三种敏感性较高的抗菌药物敏感率的两两比较

对比组	总G ⁻ 菌株数		χ^2	P
	(N)			
	N1	N2		
阿米卡星	50	10	2.911	0.088
头孢哌酮/舒巴坦	56	4		
阿米卡星	50	10	0.617	0.423
哌拉西林/他唑巴坦	53	7		
头孢哌酮/舒巴坦	56	4	0.901	0.343
哌拉西林/他唑巴坦	53	7		

注: 原来检验水准为 $\alpha = 0.05$, 两两比较的检验水准应取 $0.05/3 = 0.0167$; 其中N1表示敏感的G⁻菌例数, N2表示中介或者耐药G⁻菌例数, $N = N1 + N2$

过度繁殖及吸附内毒素作用, 肠道内革兰阴性杆菌出现优势繁殖^[3-4]。同时, 胆道梗阻时机体网状内皮系统功能低下, 机体免疫细胞功能下降^[5], 在两者相互作用下, 导致内毒素血症及细菌易位。本研究显示, 胆石症合并胆道感染患者胆汁中的主要病原菌为革兰阴性菌, 其中以大肠埃希菌为多见, 革兰阳性球菌相对较少, 主要为屎肠球菌与粪肠球菌, 表明胆汁中细菌类型与肠道细菌类型基本相同。

本研究胆汁标本共 97 例, 有 73 例检测出病原菌, 培养阳性率为 75.3%, 高于江玮等^[6]和陈国栋等^[7]报道的 65.0% 和 70.0%, 其可能原因是本试验选取的病例为胆石症合并急性胆道感染者, 排除了胆道良性狭窄、恶性肿瘤及慢性感染者。共分离出病原菌 77 株, 其中革兰阴性菌 60 株 (77.9%), 革兰阳性菌 13 株 (18.2%), 真菌 3 株 (3.9%)。与以往报道的基本相同^[8-10], 胆道感染的主要致病菌为大肠埃希菌、肠球菌属及克雷伯菌属等病原菌, 然而, 相比之下, 本研究中铜绿假单胞菌的检出率低, 革兰阳性球菌检出率下降^[2, 7], 未分离出厌氧菌。与既往认为胆道感染易合并厌氧菌感染不同, 本研究未发现合并厌氧菌感染者。97 例胆汁标本中有 4 例为混合性感染, 2 例大肠埃希菌与屎肠球菌混合感染, 1 例为大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌混合感染, 1 例为奇异变形杆菌与屎肠球菌混合感染, 国内报道混合性感染者较少, 混合性感染可能与近年抗菌药物的不合理应用有关。检出产 ESBLs 菌株 15 株, 检出率为 31.9% (15/47)。混合感染及产 ESBLs 菌株的检出为临床治疗增加了难度。

本研究血培养标本 33 例, 其中 17 例检出病原菌, 阳性检出率为 51.5%, 高于国内相关报道^[11-12], 可能与本试验中血培养病例的选择有关。共检测出病原菌 17 株, 其中大肠埃希菌 15 株, 肺炎克雷伯菌 1 株, 梭杆菌属 1 株, 与胆汁中主要致病菌基本一致。虽然血培养阳性率低于胆汁培养, 但因其对患者创伤小、取材相对方便简单, 可用于指导术前抗菌

药物的选用。

胆石症并胆道感染的治疗措施主要有解除梗阻及抗菌治疗, 一旦临床上怀疑或确诊为急性胆管炎, 应立即给予抗感染治疗, 2006 年东京指南推荐, 经验性抗菌药物的选择根据于病情的严重程度及药物敏感性试验^[13]。对于轻度急性胆管炎, 可选择常规应用的头孢类抗菌药物如头孢唑啉和头孢替胺外, β -内酰胺类/ β -内酰胺酶抑制剂复合制剂如哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦等亦可作为单药治疗, 对于中度及重度急性胆管炎, 首选抗菌谱广的 β -内酰胺类/ β -内酰胺酶抑制剂复合制剂或三、四代头孢如头孢哌酮/舒巴坦、头孢曲松、头孢吡肟等, 为覆盖厌氧菌, 还可联合甲硝唑。若上述治疗失败, 可改用碳青霉烯类药物如亚胺培南、美罗培南。本试验药敏试验结果表明, 革兰阴性菌对头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星较为敏感, 敏感率分别为 93.3%、88.3% 和 83.3%, 未发现对亚胺培南、美罗培南耐药者, 对阿莫西林/克拉维酸钾、庆大霉素、头孢西丁表现为不同程度的耐药 (敏感率分别为 53.3%、51.7% 和 51.7%), 对氨曲南、左氧氟沙星最为耐药, 敏感率仅均为 23.3%。对敏感性较高的 3 种抗菌药物进行比较, 头孢哌酮/舒巴坦与哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦与阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦与阿米卡星, 两两比较的敏感率差异均无统计学意义。但本研究中, 尽管阿米卡星对胆汁培养中的革兰阴性菌显示较高的敏感率, 但由于其耳毒性及肾毒性, 新生儿、老年患者及肾功能减退患者应慎用。另外, 本研究还入组病例对经验性应用的抗菌药物做了统计, 55 例病例应用单一抗菌药物, 主要为左氧氟沙星 (34/55), 其次为头孢哌酮/舒巴坦 (11/55) 和其他 (10/55), 42 例病例两联抗感染治疗, 主要为左氧氟沙星+甲硝唑 (17/42)、头孢哌酮舒巴坦 + 甲硝唑 (16/42) 和其他 (10/55), 然而本研究结果提示, 左氧氟沙星耐药率高达 76.7%。

综上所述, 胆道结石并急性胆道感染的主要病原菌为革兰阴性菌, 前 3 位者主要是大肠埃希菌、克雷伯菌和阴沟肠杆菌, 在治疗胆石症合并胆道感染病例中, 头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星可作为首选药物; 在轻、中度急性胆管炎时选用, 亚胺培南、美罗培南作为备选药物, 在严重感染或其他抗菌药物无效的情况下考虑使用。今后控制胆道感染应放弃首选左氧氟沙星。血培养阳性率虽然较低, 但因其对患者创伤小、取材相对

方便简单, 可用于指导术前抗菌药物的选用。

参考文献

- 1 中华医学会外科学分会胆道外科学组. 急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011版)[J]. 中华消化外科杂志, 2011, 10(1): 9-13.
- 2 Karpel E, Madej A, BuLdak L, et al. Bile bacterial flora and its in vitro resistance pattern in patients with acute cholangitis resulting from choledocholithiasis[J]. Scand J Gastroenterol, 2011, 46(7-8): 925-930.
- 3 龙跃平, 肖谷欣. 胆盐在胆道梗阻所致肠道细胞易位中的作用[J]. 中华实验外科杂志, 1995, 12(2): 109-110.
- 4 黎沾良. 肠道细菌移位和外科重症[J]. 中华外科杂志, 1998, 36(11): 11-12.
- 5 季福, 陈锦先, 施维锦. 阻塞性黄疸伴内毒素血症时机体免疫功能的变化[J]. 肝胆胰外科杂志, 1997, 9(3): 100-102.
- 6 江玮. 胆汁培养的病原菌分布及耐药性调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(20): 5057-5059.
- 7 陈国栋, 曹真虎, 杜丽, 等. 胆道感染的病原菌特征及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(23): 5411-5412.
- 8 熊国祚, 张俊方, 戴先鹏, 等. 胆道感染患者胆汁培养的菌谱调查及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(1): 198-199.
- 9 Sahu MK, Chacko A, Dutta AK, et al. Microbial profile and antibiotic sensitivity pattern in acute bacterial cholangitis[J]. Indian J Gastroenterol, 2011, 30(5): 204-208.
- 10 Ratanachuek T, Prajanphanit P, Leelawat K, et al. Role of ciprofloxacin in patients with cholestasis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(2): 276-279.
- 11 叶国良, 陈会松, 盛红, 等. 胆石症并胆道感染患者胆汁与血细菌培养比较及药敏分析[J]. 中国实用内科杂志, 2006, 25(9): 805-807.
- 12 郭学刚, 孙安华. 胆道疾病患者胆汁菌群分布及药物敏感性的变化[J]. 中华消化内镜杂志, 2003, 20(1): 24-26.
- 13 Tanaka A, Takada T, Kawarada Y, et al. Antimicrobial therapy for acute cholangitis: Tokyo Guidelines[J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2007, 14(1): 59-67.

(收稿日期: 2014-05-23)

(本文编辑: 孙荣华)

邹雪飞, 吴广利, 王伟, 等. 胆石症合并急性胆管炎患者胆汁及血液病原菌培养及药敏分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(1): 91-95.