

老年胆道感染患者胆汁中菌群情况及耐药性

殷锐¹, 钱娟², 苏炜¹, 刘芳¹

1. 中国人民解放军东部战区空军医院干部病房, 江苏 南京 210000;

2. 南京医科大学第二附属医院儿科, 江苏 南京 210000

摘要: **目的** 探讨老年胆道感染患者胆汁中细菌菌群的分布情况及各常见菌群耐药性, 为临床治疗提供更可靠的理论指导。**方法** 收集 2017 年 1 月至 12 月住院的胆道感染患者 100 例(观察组), 分别经皮经肝胆囊穿刺引流/经皮经肝胆管穿刺引流或胆道手术等方式无菌留取胆汁标本进行相关细菌学培养和细菌的鉴定。另选取同期进行健康体检的 100 例为对照组。采用全自动生化分析仪检测血清中 C 反应蛋白(CRP)水平, 用 ELISA 检测血清中白介素(IL)-6 和肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平并比较。**结果** 本研究行胆汁细菌培养 100 例, 其中 85 例培养出细菌生长, 阳性率为 85.00% (85/100), 共培养出病原菌 102 株, 其中最常见的是革兰阴性菌 92 株(90.20%), 药敏实验提示大部分革兰阴性菌对亚胺培南、美罗培南等抗菌药物敏感性高; 大部分致病菌对第二、三代抗菌药物均有较高的耐药率; 另外, 研究中 10 株革兰阳性菌中的 9 例肠球菌均对替考拉宁敏感, 对目前临床一线使用的抗菌药物均有较高的耐药率, 其中红霉素、氨苄西林的耐药率最高, 分别为 77.78%、66.67%。观察组血清 IL-6、TNF- α 和 CRP 水平均高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 胆道感染的病原菌多为肠道菌群中的革兰阴性菌, 对碳青霉烯类(亚胺培南、美罗培南)敏感性高, 临床治疗需密切结合致病菌分离培养及药敏实验结果。

关键词: 胆道感染; 病原菌; 耐药性; 革兰阴性菌; 革兰阳性菌; 药敏实验

中图分类号: R 446.5 R 575.7 文献标识码: B 文章编号: 1674-8182(2020)02-0207-04

Bacterial flora distribution and drug resistance in bile of elderly patients with biliary tract infection

YIN Rui*, QIAN Juan, SU Wei, LIU Fang

* Air Force Hospital of Eastern Theater Command of Chinese People's Liberation Army, Nanjing, Jiangsu 210000, China

Corresponding author: LIU Fang, E-mail: liufang454@126.com

Abstract: Objective To explore the distribution of bacterial flora in bile of elderly patients with biliary tract infection and the resistance of common bacterial flora to provide more reliable theoretical guidance for clinical treatment. **Methods** By percutaneous transhepatic gallbladder drainage, percutaneous transhepatic biliary drainage or biliary tract surgery, the bile specimens were collected for bacteriological culture and bacterial identification from 100 patients with biliary tract infection treated from January 2017 to December 2017 (observation group), and 100 cases of healthy subjects with physical examination over the same period were selected as control group. By automatic biochemical analyzer and ELISA, the serum level of CRP and IL-6 and TNF- α were detected, respectively and compared between two groups. **Results** In 100 bile specimens, there were 85 cases cultured for bacterial growth (85.00%) with 102 strains of pathogenic bacteria, in which 92 (90.20%) isolates were Gram-negative bacteria. Drug sensitivity testing suggested that most Gram-negative bacteria had high sensitivity to imipenem and meropenem, and most common pathogenic bacteria had higher drug resistance to the second and third generation of antibiotics, 10 strains of Gram-positive bacteria were 100% sensitive to teicoplanin. In the antibiotics used in the first-line treatment, the drug resistance rates of erythromycin (77.78%) and ampicillin (66.67%) were the highest. The serum levels of IL-6, TNF- α and CRP in observation group were significantly higher than those in control group ($P < 0.01$). **Conclusions** Most of the pathogenic bacteria of biliary tract infection are Gram-negative bacteria in intestinal flora and are highly sensitive to piperacillin and advanced carbapenem. The clinical treatment should be performed fully considering the results of pathogen isolation and culture and drug sensitivity test.

Key words: Biliary tract infection; Pathogenic bacteria; Drug resistance; Gram-negative bacteria; Gram-positive bacteria; Drug sensitivity test

胆道感染作为临床常见的一类急腹症,多表现为不同程度的胆囊炎或胆管炎。老年性胆道感染可以理解为发生在特殊人群的感染性疾病,主要特点为患者自身抵抗力差、基础疾病较多、起病急骤、病情复杂等,严重者可引起不同程度的脓毒血症甚至是多器官功能损害等^[1]。针对较重的胆道感染常见处理方式手术或胆道置管引流,老年患者常因自身原有基础疾病而难以承受相关的外科手术治疗,因此,抗菌药物的应用对于老年胆道感染患者尤其重要^[2]。近年来关于胆道感染致病菌耐药的报道大量涌现,说明胆道感染细菌耐药已经显著影响到此类患者的预后。为了解老年胆道感染患者菌群变化以及更有效的指导临床抗菌药物的使用,本研究收集 2017 年 1 月至 12 月住院的 100 例患者的胆汁培养结果,现分析报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2017 年 1 月至 12 月于我院住院的胆道感染患者 100 例作为观察组。纳入标准:(1)急诊入院;(2)符合中华医学会外科学分会胆道外科学组制定的《急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011 版)》中急性胆囊炎或胆管炎的诊断标准;(3)入院 24 h 内行经皮经肝胆囊穿刺引流(PTGD)或经皮经肝胆管穿刺引流(PTCD),获得胆汁标本。排除标准:(1)合并其他部位感染;(2)免疫系统疾病;(3)肝肾功能异常。另选取同期在本院进行健康体检的正常人 100 例为对照组。本研究经医院伦理委员会批准,所有人员均已签署知情同意书。两组基线资料比较无统计学差异($P > 0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 两组基线资料比较 ($n = 100$)

组别	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	男/女 (例)	体质指数 (kg/m^2 , $\bar{x} \pm s$)
观察组	77.26 \pm 4.01	57/43	23.14 \pm 6.07
对照组	74.34 \pm 14.28	65/35	23.38 \pm 7.15
t/χ^2 值	1.969	1.345	0.256
P 值	0.051	0.246	0.798

1.2 病原菌培养及药敏试验 (1)仪器及试剂:研究采用法国梅里埃公司生产的 VITEK-60 全自动细菌鉴定仪,VITEK-60 所配套提供的原装生化鉴定板,药敏试纸为英国 OX 微生物公司产品。(2)研究方法:将收集的胆汁样品接种到相应的培养基上,按相关设备说明分离致病菌菌落,并用 VITEK-60 全自动细菌鉴定仪进行菌种鉴定。药敏实验采用传统的

K-B法,将致病菌株接种到有各类药敏的培养基上,定期记录观察;另外,每周应用标准菌株进行药敏试验质控检测。质控菌:大肠埃希菌 ATCC25922,铜绿假单胞菌 ATCC27853,金黄色葡萄球菌 ATCC25923。

1.3 血清白介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 和 C 反应蛋白(CRP)水平检测 胆道感染确诊次日、用药前,采集晨起、空腹静脉血 5 ml,2 500 r/min 离心 15 min,收集上层血清,储存于 -70°C 冰箱。用美国贝克曼库尔特 AU5800 全自动生化分析仪检测血清中 CRP 水平。用 ELISA 检测血清中 IL-6 和 TNF- α 水平,试剂盒均购于武汉博士德生物有限公司,酶标仪由美国伯腾仪器有限公司生产,检测时波长设置为 450 nm。

1.4 统计学方法 采用 Whonet 5.5 软件进行细菌耐药性统计分析。采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以 % 表示,组间比较采用 χ^2 检验和校正 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 老年胆道感染患者一般情况分析 100 例老年胆道感染患者中,急性结石性胆囊炎 48 例;急性非结石性胆囊炎为 11 例;胆管结石伴急性胆管炎 9 例;胆道狭窄引起急性胆管炎 14 例;胆道肿瘤引起胆道感染 6 例;其他因素所致的胆囊/胆管炎 12 例。临床表现为右上腹或剑突下疼痛的患者 97 例;Murphy 征阳性的患者 89 例;体温 $\geq 38.5^\circ\text{C}$ 的患者 71 例。临床实验室检查发现白细胞 $\geq 10.0 \times 10^9/\text{L}$ 的患者 70 例。既往有胆道手术史 7 例。

2.2 病原菌分布 本研究行胆汁细菌培养 100 例,其中 85 例培养出细菌生长,阳性率 85.00% (85/100),共培养出病原菌 102 株:革兰阴性菌 92 株(90.20%),革兰阳性菌 10 株(9.80%)。见表 2。

表 2 胆道感染患者病原菌分布情况 ($n = 102$)

病原菌	株数	构成比 (%)
革兰阴性菌	92	90.20
大肠埃希菌	56	54.90
肺炎克雷伯菌	21	20.59
铜绿假单胞菌	10	9.80
产酸克雷伯菌	2	1.96
其他	3	2.94
革兰阳性菌	10	9.80
粪肠球菌	5	4.90
屎肠球菌	4	3.92
其他	1	0.98

表 3 革兰阴性菌对常用抗菌药物的耐药情况 (%)

抗菌药物	革兰阴性菌 (n = 92)	大肠埃希菌 (n = 56)	肺炎克雷伯菌 (n = 21)	铜绿假单胞菌 (n = 10)
亚胺培南	2. 17(2/92)	1. 79(1/56)	0	10. 00(1/10)
美罗培南	1. 09(1/92)	1. 79(1/56)	0	0
哌拉西林/他巴唑坦	30. 43(28/92)	35. 71(20/56)	28. 57(6/21)	20. 00(2/10)
头孢哌酮/舒巴坦	53. 26(49/92)	69. 64(39/56)	42. 86(9/21)	10. 00(1/10)
阿米卡星	11. 96(11/92)	17. 86(10/56)	4. 76(1/21)	0
庆大霉素	48. 91(45/92)	62. 50(35/56)	23. 81(5/21)	50. 00(5/10)
头孢他啶	44. 56(41/92)	57. 14(32/56)	28. 57(6/21)	30. 00(3/10)
头孢噻肟	47. 83(44/92)	62. 50(35/56)	38. 10(8/21)	10. 00(1/10)
头孢吡肟	33. 70(31/92)	37. 50(21/56)	38. 10(8/21)	20. 00(2/10)
头孢呋辛	58. 70(54/92)	80. 36(45/56)	33. 33(7/21)	20. 00(2/10)
氨基糖甙	36. 96(34/92)	51. 79(29/56)	19. 05(4/21)	10. 00(1/10)
左氧氟沙星	45. 65(42/92)	60. 71(34/56)	19. 05(4/21)	40. 00(4/10)
环丙沙星	47. 83(44/92)	53. 57(30/56)	52. 38(11/21)	30. 00(3/10)
磺胺甲噁唑/甲氧苄啶	51. 09(47/92)	62. 50(35/56)	47. 62(10/21)	20. 00(2/10)

表 4 革兰阳性菌(肠球菌)对常用抗菌药物的耐药情况 (n = 9)

抗菌药物	株数	耐药率 (%)
万古霉素	1	11. 11
替考拉宁	0	0
青霉素 G	5	55. 56
氨苄西林	6	66. 67
红霉素	7	77. 78
四环素	5	55. 56

表 5 两组血清炎症因子水平比较 (n = 100, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	CRP (mg/L)
观察组	92. 26 \pm 16. 01	24. 03 \pm 3. 24	5. 96 \pm 1. 21
对照组	65. 65 \pm 28. 22	16. 85 \pm 4. 02	3. 02 \pm 2. 19
t 值	8. 202	13. 960	11. 750
P 值	0. 000	0. 000	0. 000

2. 3 各类病原菌对常见抗菌药物的耐药情况

2. 3. 1 革兰阴性菌 本研究共培养出革兰阴性菌 92 株。药敏结果提示,大部分革兰阴性菌对亚胺培南、美罗培南等抗菌药物敏感性高;大部分致病菌对第二、三代抗菌药物有较高的耐药率。老年胆道感染致病菌常见抗菌药物的耐药情况见表 3。

2. 3. 2 革兰阳性菌 本研究共培养出革兰阳性菌 10 株。药敏结果提示,研究中 9 株革兰阳性菌(肠球菌)均对替考拉宁敏感(100%);对目前临床一线使用的抗菌药物均有较高的耐药率,其中红霉素、氨苄西林的耐药率最高,分别为 77. 78%、66. 67%。见表 4。

2. 4 两组血清炎症因子水平比较 观察组血清 IL-6、TNF- α 、CRP 水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0. 01$)。见表 5。

3 讨论

正常胆汁是无菌的,在机体免疫力减弱、胆道梗阻或 Oddi 括约肌功能紊乱的情况下极易引起胆系感

染,入侵的细菌主要由肠道上行而来,也可由肠道经门脉或淋巴系统进入胆道。既往研究提示,最常见的为肠道革兰阴性菌,以大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌为主^[3]。本研究胆道感染菌群的分布情况与国内外大部分的研究相一致^[4-7]。但本研究老年人胆汁细菌培养结果整体阳性率偏高,肠球菌比例有所升高,菌谱相对简单,可能与样本量有一定的关系。

随着近年来各类抗菌药物广泛的应用于临床,极大丰富了临床对各类致病菌治疗手段,与此同时,各类耐药菌株也不断地出现^[8-11]。本研究的老年胆道感染患者在发病前均有不同程度应用抗菌药物的病史。本研究药敏实验显示,大部分革兰阴性菌对亚胺培南、美罗培南等抗菌药物敏感性高;大部分致病菌对第二、三代抗菌药物均有较高的耐药率,因此在临床早期治疗的过程中,应该慎重选择该类抗菌药物。说明对于大部分的老年胆道感染患者早期应用第二、三代头孢均无法有效的控制胆道感染,只有高级抗菌药物如亚胺培南、美罗培南等敏感性最高,可用于严重复杂的胆道感染。另外,本研究还发现革兰阴性菌对阿米卡星的耐药性也较低,笔者分析原因可能是与临床应用较少有关,因为阿米卡星具有较强的肾毒性及耳毒性,所以临床很少使用。

本研究发现,9 株革兰阳性菌(肠球菌)均对替考拉宁最敏感,为 100%;对目前临床一线使用的抗菌药物均有较高的耐药率,其中红霉素、氨苄西林的耐药率最高,分别为 77. 78%、66. 67%。说明在临床怀疑胆道感染患者可能为革兰阳性菌感染时,可首选替考拉宁治疗;另外,在选用其他抗菌药物作为首选治疗药物时也必须得慎重,避免因治疗不当造成新耐药菌株的出现。本组革兰阳性菌药敏试验结果与既往文献相似^[12-14]。

老年患者一般合并多种基础疾病,且多夜间急诊

入院患者,病情较重,无法耐受复杂手术,多行非手术引流处理。胆道减压同时合理选用敏感抗菌药物很重要。理想的抗菌药物联合用药能广泛覆盖抗菌谱,并可维持较长时间的有效血药浓度及胆汁内高浓度。一般情况下,革兰阴性细菌占大多数,临床经验治疗上,一般首先选用革兰阴性菌敏感抗菌药物,如果治疗 3~5 d 后效果不明显,排除继发性肝脓肿,应该考虑存在革兰阳性菌感染可能^[15-16]。药敏试验结果出来前,治疗革兰阳性菌感染比较困难,笔者认为早期适当应用替考拉宁治疗是可行的。另外,对于住院期间同一患者应多次进行药敏实验,不同时期可能会培养出不同的菌群,因此根据细菌培养及药敏合理选择有针对性的抗菌药物治疗,避免滥用,进一步避免新耐药菌株的产生。

由于医院感染的发生,机体会出现一系列的应激反应。IL-6 是最为常见的炎症因子,在炎症反应开始时即被激活而大量释放入血,进而提高血管内皮细胞通透性,有效调节组织代谢活性并促进其他细胞因子释放^[17],其对诊断胆道感染和判断患者预后具有重要价值;TNF- α 是肿瘤坏死因子,参与炎症反应过程^[18];CRP 是机体遭受刺激时,由肝细胞合成的急性相蛋白,可激活单核巨噬细胞系统,进而清除病原体^[19]。本研究发现,老年胆道感染患者血清 IL-6、TNF- α 、CRP 水平均高于未感染患者,提示老年胆道感染患者存在免疫炎症损伤。

本研究不足之处为仅对老年患者的临床资料进行分析,样本量较小,分离出的病原菌数量也不够多,故在各致病菌耐药性分析上可能存在一些偏倚。

综上所述,老年胆道感染患者胆汁中菌群多以肠道来源革兰阴性菌为主,其对碳青霉烯类(亚胺培南、美罗培南等)敏感性较高,对其他大部分抗菌药物均存在不同程度的耐药,故在临床诊治过程中,需要密切结合细菌分离及药敏实验结果,避免新的耐药菌株出现。老年胆道感染患者存在免疫炎症损伤。

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] 王志刚,潘乐玉,徐金莲,等. 胆道感染致病菌分布及耐药性的研究[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(8): 1973-1975.

[3] Lachowicz D, Skopińska E, Pawłowska J, et al. Assessment of susceptibility of strictly anaerobic Bacteria originated from different sources to fluoroquinolones and other antimicrobial drugs[J]. Med Dosw Mikrobiol, 2012, 64(2): 115-122.

[4] Wilkins T, Agabin E, Varghese J, et al. Gallbladder dysfunction; cho-

lecystitis, choledocholithiasis, cholangitis, and biliary dyskinesia[J]. Prim Care, 2017, 44(4): 575-597.

[5] Noh SY, Gwon DI, Ko GY, et al. Role of percutaneous cholecystostomy for acute acalculous cholecystitis: clinical outcomes of 271 patients[J]. Eur Radiol, 2018, 28(4): 1449-1455.

[6] Joseph B, Jehan F, Dacey M, et al. Evaluating the relevance of the 2013 Tokyo guidelines for the diagnosis and management of cholecystitis[J]. J Am Coll Surg, 2018, 227(1): 38-43. e1.

[7] Ke CW, Wu SD, Li YN. Emergency cholecystectomy versus percutaneous transhepatic gallbladder drainage followed by delayed cholecystectomy in patients with moderate acute cholecystitis[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2018, 98(10): 768-772.

[8] Silva M, Moutinho-Ribeiro P, Gaspar R, et al. Endoscopic resolution of acute cholecystitis secondary to biliary fully covered metal stent[J]. Acta Gastroenterol Belg, 2017, 80(4): 547-548.

[9] 成秋云,陈经艾,刘东华. 胆道感染患者胆汁培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(11): 2627-2628, 2631.

[10] La Greca A, Di Grezia M, Magalini S, et al. Comparison of cholecystectomy and percutaneous cholecystostomy in acute cholecystitis: results of a retrospective study[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(20): 4668-4674.

[11] Manta R, Zulli C, Zullo A, et al. Endoscopic ultrasound-guided gallbladder drainage for acute cholecystitis with a silicone-covered nitinol short bilaterally flared stent: a case series[J]. Endosc Int Open, 2017, 5(11): E1111-E1115.

[12] 郑惊雷,梁力建,赖佳明. 胆道感染病原菌及其对抗生素敏感性变化的研究[J]. 中国实用外科杂志, 2005, 25(2): 86-88.

[13] Lee R, Ha H, Han YS, et al. Percutaneous transhepatic gallbladder drainage followed by elective laparoscopic cholecystectomy for patients with moderate to severe acute cholecystitis[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(44): e8533.

[14] Mayumi T, Okamoto K, Takada T, et al. Tokyo Guidelines 2018: management bundles for acute cholangitis and cholecystitis[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2018, 25(1): 96-100.

[15] Liu W, Chen WJ, He XD, et al. Successful treatment using corticosteroid combined antibiotic for acute acalculous cholecystitis patients with systemic lupus erythematosus[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(27): e7478.

[16] 鲁艳,李从荣. 医院感染革兰阳性球菌的耐药性及干预对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(3): 596-597.

[17] Liu G, Zhang JY, Frey L, et al. Prostate-specific IL-6 transgene autonomously induce prostate neoplasm through amplifying inflammation in the prostate and peri-prostatic adipose tissue[J]. J Hematol Oncol, 2017, 10(1): 14.

[18] Siddiqui J, Herchline T, Kahlon S, et al. Infectious diseases society of America position statement on telehealth and telemedicine as applied to the practice of infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2017, 64(3): 237-242.

[19] 徐林,刘文. 血液学指标对老年胆道感染的早期诊断价值[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(3): 605-606.