

腹膜透析液微生物培养病原学分析*

吴友伟, 石红, 刘万静, 答嵘 (西安交通大学第一附属医院检验科, 西安 710061)

摘要:目的 回顾性分析腹膜透析液标本病原菌种类与药敏试验结果, 了解腹膜透析相关感染病原菌的分布与耐药性。方法 收集分析西安交通大学医学院第一附属医院2012年11月~2016年3月肾内科住院及门诊患者腹透液标本中分离培养阳性结果的病原菌种类与药敏试验结果。所有菌株均采用全自动微生物分析仪进行鉴定, 并检测其对抗生素的敏感性。用WHONET5.6软件进行数据统计分析。结果 研究中共包含菌株309株, 其中非重复分离菌株206株。革兰阳性细菌174株(84.47%), 革兰阴性细菌28株(13.59%), 真菌4株(1.94%)。革兰阳性细菌主要为葡萄球菌属、肠球菌属与链球菌属细菌, 其中表皮葡萄球菌最为常见。革兰阴性细菌中大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌最为常见。真菌均为念珠菌。分离菌株中革兰阳性细菌与革兰阴性杆菌均有不同程度的耐药现象, 葡萄球菌仅对利奈唑胺与万古霉素敏感率为100%, 大肠埃希菌仅对美罗培南、亚胺培南、哌拉西林-他唑巴坦敏感率为100%。结论 腹膜透析相关感染以革兰阳性细菌为主, 表皮葡萄球菌为最常见的分离菌株。多重耐药现象存在广泛, 提示临床合理应用抗生素至关重要。

关键词:腹膜透析液; 病原菌分布; 药敏试验

中图分类号: R446.5 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)06-092-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.06.026

Bacteria Distribution and Drug Resistance Analysis of Peritoneal Dialysis Fluid

WU You-wei, SHI Hong, LIU Wan-jing, DA Rong (Department of Clinical Laboratory,
the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract: **Objective** To investigate bacteria distribution and resistance of peritoneal dialysis fluid through the retrospective analysis of peritoneal dialysis fluid culture results. **Methods** Data were collected from November 2012 to March 2016 in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University. The isolated pathogens from peritoneal dialysis fluid specimens of clinical patients were tested by automatic microbial analyzer, and the susceptibility of antibiotics was verified by instrument method and disk diffusion method. WHONET5.6 software was used in data analysis. **Results** The study included 309 strains including 206 non-repeating ones. In which 174 (84.47%) strains of gram-positive bacteria, 28 (13.59%) strains of gram negative bacteria, and 4 (1.94%) strains of fungi were enrolled. Most of gram-positive bacteria were *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Streptococcus*, especially *Staphylococcus epidermis*. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* were most common in gram-negative bacteria. Fungi are all of *Candida*. Bacteria had different levels of drug resistance. All strains of *Staphylococcus* were all sensitive to Linezolid and Vancomycin, and all strains of *Escherichia coli* were all sensitive to Meropenem, Imipenem and Piperacillin/Tazobactam. **Conclusion** The peritoneal related infection was caused most by gram-positive bacteria, and the most common isolates was *Staphylococcus epidermis*. The existence of multiple drug resistance indicated rational usage of antibiotics for anti-infection treatment play vital roles in clinical practice.

Keywords: peritoneal dialysis fluid; pathogen distribution; drug sensitive test

腹膜炎是持续性不卧床腹膜透析(continuous ambulatory peritoneal dialysis, CAPD)的常见并发症。快速准确的鉴定致病微生物对于正确诊断与选择合理的抗感染治疗至关重要^[1,2]。腹膜透析液培养是目前临床广泛使用的获得腹膜炎致病微生物的检验方法, 本研究通过回顾性分析我院近年来腹膜透析液标本的病原菌鉴定结果与抗生素药敏试验结果, 对CAPD相关腹腔感染的病原菌分布与耐药性进行总结, 从而为临床抗感染治疗提供实

实验室依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集分析2012年11月~2016年3月西安交通大学医学院第一附属医院临床患者腹膜透析液标本中分离培养阳性结果的病原菌种类与药敏试验结果。

1.2 仪器与材料 血培养系统包括BacT/ALERT 3D全自动细菌/分枝杆菌培养监测系统(生物梅里埃, 法国), BACTEC FX400全自动血培养

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(项目编号: 81000767)。

作者简介: 吴友伟(1975—), 女, 本科, 在读硕士, 副主任医师, 从事临床微生物检验, 临床消化及营养代谢疾病诊治及发病机制研究,

E-mail: wyw0906@163.com。

通讯作者: 答嵘, E-mail: 57319984@qq.com。

系统(BD,美国)。微生物鉴定系统包括 VITEK 2 全自动微生物分析系统(生物梅里埃,法国), VITEK 2 COMPACT 全自动微生物分析系统(生物梅里埃,法国), VITEK MS 全自动快速质谱微生物检测系统(生物梅里埃,法国)。血培养瓶包括中和抗生素需氧瓶(生物梅里埃,法国;BD,美国),中和抗生素厌氧瓶(生物梅里埃,法国;BD,美国)。其他包括血琼脂平板(生物梅里埃,法国),鉴定与药敏卡(生物梅里埃,法国)。

1.3 方法 临床医生无菌操作采集腹膜透析液后注入血培养瓶,立即送检至检验科。条码扫描后,放入血培养仪内进行培养。培养瓶内如有微生物,其代谢产生 CO₂ 可渗透感应器,检测仪通过对感

应器颜色或荧光的检测而判断阳性。如果经过一定时间培养后颜色或荧光没有显著变化,此标本即为阴性。阳性培养瓶转种于血琼脂平板,生长的菌株按照操作规程用全自动微生物分析仪进行鉴定,并检测其对抗生素的敏感性。

1.4 统计学分析 采用世界卫生组织细菌耐药性监测网提供的 WHONET5.6 软件进行数据统计分析。

2 结果

2.1 腹膜透析液病原菌分布 见表1。研究中包括革兰阳性细菌 174 株(84.47%),革兰阴性细菌 28 株(13.59%),真菌 4 株(1.94%)。

表1 腹膜透析液标本病原菌分布和构成

微生物	微生物种类	株数(n=309)	%	非重复株数(n=206)	%
革兰阳性菌	表皮葡萄球菌	138	44.66	90	43.69
	溶血葡萄球菌	27	8.74	19	9.22
	头状葡萄球菌	22	7.12	18	8.74
	金黄色葡萄球菌	10	3.24	8	3.88
	沃氏葡萄球菌	13	4.21	8	3.88
	尿肠球菌	11	3.56	7	3.40
	草绿色链球菌	7	2.27	4	1.94
	粪肠球菌	5	1.62	3	1.46
	人型葡萄球菌	4	1.29	3	1.46
	缓慢葡萄球菌	3	0.97	3	1.46
	鹌鹑肠球菌	5	1.62	2	0.97
	缓症链球菌	3	0.97	2	0.97
	血链球菌	2	0.65	2	0.97
	科氏葡萄球菌	2	0.65	2	0.97
	山羊葡萄球菌	1	0.32	1	0.49
	停乳链球菌	1	0.32	1	0.49
	唾液链球菌	1	0.32	1	0.49
革兰阴性菌	大肠埃希菌	23	7.44	15	7.28
	铜绿假单胞菌	5	1.62	3	1.46
	鲍曼不动杆菌	4	1.29	2	0.97
	阴沟肠杆菌	2	0.65	2	0.97
	木糖氧化无色杆菌	1	0.32	1	0.49
	浅金黄色单胞菌	1	0.32	1	0.49
	弗劳地枸橼酸杆菌	2	0.65	1	0.49
	肺炎克雷伯菌	5	1.62	1	0.49
	摩根摩根菌	1	0.32	1	0.49
	嗜麦芽窄食单胞菌	2	0.65	1	0.49
真菌	白色念珠菌	3	0.97	2	0.97
	近平滑念珠菌	5	1.62	2	0.97

2.2 腹膜透析液标本病原菌药敏试验结果分析

见表2,表3。腹膜透析液标本中革兰阳性细菌与革兰阴性细菌均有不同程度的耐药现象。葡萄球菌属仅对利奈唑胺、万古霉素敏感,敏感率为100%,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA)在检出的

金黄色葡萄球菌中比例为25%,而耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(methicillin-resistant coagulase-negative staphylococcus, MRCNS)在检出的凝固酶阴性葡萄球菌中比例为69.2%。大肠埃希菌仅对美罗培南、亚胺培南、哌拉西林-他唑巴坦敏感,敏感率为100%,产超广谱β内酰胺酶菌(ES-

BLs) 比例为 46.7%。

表2 腹膜透析液标本葡萄球菌属药敏试验结果(%)

抗生素	凝固酶阴性葡萄球菌			金黄色葡萄球菌		
	R	I	S	R	I	S
青霉素 G	97.7	0	2.3	100	0	0
苯唑西林	69.2	0	30.8	25	0	75
庆大霉素	23.5	14.4	62.1	12.5	0	87.5
利福平	8.3	0.8	90.9	0	0	100
环丙沙星	42.7	8.4	48.9	0	0	100
左氧氟沙星	49.6	1.5	48.9	0	0	100
复方新诺明	68.9	0	31.1	25	0	75
克林霉素	24.6	0.8	74.6	50	0	50
红霉素	74	1.5	24.5	62.5	0	37.5
利奈唑胺	0	0	100	0	0	100
万古霉素	0	0	100	0	0	100
四环素	19.7	0	80.3	25	0	75

注:R. 耐药;I. 中敏;S. 敏感。

表3 腹膜透析液标本大肠埃希菌药敏试验结果(%)

抗生素	R	I	S
氨苄西林	80	0	20
哌拉西林	53.3	6.7	40
氨苄西林/舒巴坦	53.3	13.3	33.3
哌拉西林/他唑巴坦	0	0	100
头孢呋辛	46.7	6.6	46.7
头孢他啶	20	6.7	73.3
头孢曲松	46.7	6.6	46.7
头孢吡肟	13.3	6.7	80
氨曲南	20	0	80
亚胺培南	0	0	100
美罗培南	0	0	100
阿米卡星	6.7	0	93.3
庆大霉素	46.7	0	53.3
环丙沙星	46.7	0	53.3
左氧氟沙星	46.7	0	53.3
复方新诺明	60	0	40

3 讨论 CAPD 是腹膜透析治疗的重要方法,由于其能够在家进行,大大方便了患者,但是也对患者与家属的自我管理提出了更高要求。CAPD 患者治疗依从性欠佳,会导致并发症的发生,尤其是感染性腹膜炎不仅造成患者痛苦,而且增加治疗费用。因而,及时诊断与正确进行目标性抗感染治疗,选择合理的抗感染治疗至关重要。腹膜透析液培养是目前临床广泛使用的获得腹膜炎致病微生物的检验方法,本研究通过回顾性分析我院近年来腹膜透析液标本的病原菌鉴定结果与抗生素药敏试验结果,对 CAPD 相关腹腔感染的病原菌分布与耐药性进行总结,从而为临床抗感染治疗提供实验室依据。

研究结果表明腹膜透析液标本分离培养菌种中,细菌为主要病原菌占 98.06%(其中以革兰阳性细菌为主占 84.47%),而真菌仅见酵母菌占

1.94%。研究结果与其他研究相似,均以革兰阳性细菌为主^[3,4]。研究报道对腹膜炎病原菌进行检测,致病菌排前 3 位的细菌为葡萄球菌、链球菌、大肠埃希菌^[5]。革兰阳性菌中最常见为凝固酶阴性葡萄球菌,革兰阴性菌最常见的为大肠埃希菌^[3,4]。本研究结果显示革兰阳性细菌中最常见的是表皮葡萄球菌及其他凝固酶阴性的葡萄球菌,革兰阴性细菌中最常见的是大肠埃希菌,与报道结果相同。表皮葡萄球菌、肠球菌等系皮肤正常寄生菌,感染率如此高,分析与腹膜透析系侵入性操作,破坏了腹腔的密闭性,以及患者免疫力低下等因素,正常寄生菌趁虚而入造成感染。

本研究对检出率最高的细菌进行药敏试验结果的分析,发现具有不同程度的耐药。凝固酶阴性葡萄球菌中 MRCNS 检出率为 69.2%,而金黄色葡萄球菌中 MRSA 检出率为 25%。大肠埃希菌中产 ESBLs 菌检出率为 46.7%。与研究报道相似^[4]。本研究结果显示革兰阳性球菌对万古霉素、利奈唑胺均敏感,大肠埃希菌对亚胺培南、美罗培南均敏感,对氨苄西林耐药率高达 80%。均与其他学者研究结果相似^[3,4]。耐药菌株的产生分析与临床广泛应用抗生素、免疫抑制剂等有关。

尽管传统的培养鉴定方法仍广泛适用于临床微生物实验室中,但是对于生长缓慢的细菌或目前商品化试剂盒菌株库中未包括的菌种很难鉴定^[6]。另外对于一些未培养细菌与苛养菌,或者近期使用过抗生素的患者更难检测到^[7,8]。研究者利用聚合酶链式反应对腹膜透析液标本直接进行检测,效果理想,能够用于培养方法的补充检测手段^[9]。另有研究者对于腹膜透析液中白细胞计数、微量蛋白水平进行监测作为早期腹膜炎发生的预警指标,能够为尽早诊断及干预提供有效的实验室辅助^[10],因此,两者联合应用是否可为诊断和治愈赢得一定的治疗时间,有待进一步的研究证实。

腹膜透析相关性腹膜炎病原菌以细菌为主,最常见的是革兰阳性细菌中的葡萄球菌和革兰阴性细菌中的大肠埃希菌。提高腹膜透析液培养阳性率与鉴定速度,针对病原菌给予正确目标性抗感染治疗是腹膜透析相关性腹膜炎治疗的重中之重。

参考文献:

- [1] Kim DK, Yoo TH, Ryu DR, et al. Changes in causative organisms and their antimicrobial susceptibilities in CAPD peritonitis: a single center's experience over one decade[J]. Perit Dial Int, 2004, 24(5): 424-432.
- [2] Lee JY, Kim SH, Jeong HS, et al. Two cases of peritonitis caused by *Kocuria marina* in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(10): 3376-3378.

(下转 97 页)

HCMV 感染是否可直接导致患儿高胆红素血症和肝功损害其机制仍处于推测阶段,尚需进一步研究。

本研究结果显示新生儿和婴幼儿是人巨细胞病毒感染的高发人群,其中的早产儿和高胆红素血症患儿的 HCMV DNA 检出率高应引起重视。目前 HCMV 感染的实验室诊断方法较多,而 HCMV DNA 阳性是 HCMV 感染最直接的证据。而该研究利用回顾性分析方法,采用 FQ-PCR 技术检测 1 492 例疑似人巨细胞病毒感染的患儿尿液样本中的 HCMV DNA,总检出率为 19.5%(291/1 492),低于相关文献报道的 30%~40%,原因可能是本研究中统计样本时去除了反复检测的患儿,而且尿液样本的留取和保存影响因素较多,也不能排除地域差异。研究显示不同的样本类型会对 FQ-PCR 检测结果有直接影响,但是由于尿液样本简单易得,FQ-PCR 技术灵敏度高,特异性强,特别是对于新生儿婴幼儿采集尿液样本比采集血液等相关样本更为快捷和方便,而且患儿无创伤,因此尿液 HCMV DNA 检测对患儿 HCMV 感染及相关疾病的诊断和治疗具有重要意义。

参考文献:

- [1] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京:人民军医出版社,2011:256-271.
Li JM. Real-time PCR[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011:256-271.
- [2] 尚世强,陶然. 儿童巨细胞病毒感染的诊断[J]. 实用儿科临床杂志,2006,21(22):1598-1600.
- [3] 方风琴,季育华. 人巨细胞病毒潜伏激活研究新进展[J]. 检验医学,2010,25(3):240-243.
Fang FQ, Ji YH. New progress in the study of latent activation of human cytomegalovirus[J]. Laboratory Medicine, 2010, 25(3):240-243.
- [4] 蒋祥林,邹飞. 小儿巨细胞病毒感染致病特点及诊治进展[J]. 现代医药卫生,2012,28(4):556-557.
Jiang XL, Zou F. Pathogenic characteristics and progress of diagnosis and treatment of cytomegalovirus infection in children[J]. Modern Medicine and Health, 2012, 28(4):556-557.
- [5] Abu Faddan N, Eltayeb A, Refaiy A. Cytomegalovirus as a possible risk factor for neonatal gastrointestinal surgical conditions[J]. Fetal Pediatr Pathol, 2011, 30(2):124-129.
- [6] 张琳,王淮燕. 新生儿先天性巨细胞病毒感染的研究进展[J]. 现代预防医学,2013,40(16):3031-3033.
Zhang L, Wang HY. Research progress of congenital cytomegalovirus infection in neonates[J]. Modern Preventive Medicine, 2013, 40(16):3031-3033.
- [7] 沈凤贤,吕时铭. 妊娠期巨细胞病毒感染诊断研究进展[J]. 国际妇产科学杂志,2013,2(40):10-13,20.
Shen FX, Lü SM. Progress in diagnosis of cytomegalovirus infection in pregnancy[J]. The International Journal of Obstetrics and Gynecology, 2013, 2(40):10-13, 20.
- [8] 夏丽,张燕凌,朱声宏,等. 67 例腹膜透析相关性腹膜炎细菌培养及药敏试验分析[J]. 实用药物与临床,2015,18(1):85-89.
Xia L, Zhang YL, Zhu SH, et al. Analysis of bacterial culture and sensitivity test of 67 cases of peritoneal dialysis associated peritonitis[J]. Practical Pharmacy and Clinical Remedies, 2015, 18(1):85-89.
- [9] 赵珉,戴宏,沈继录,等. 132 例腹膜透析相关性腹膜炎病原菌及其耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2015,15(3):236-243.
Zhao M, Dai H, Shen JL, et al. Pathogenic bacteria and drug resistance in 132 cases of peritoneal dialysis related peritonitis[J]. Chin J Infect Chemother, 2015, 15(3):236-243.
- [10] 张燕敏,王增四,万胜,等. 改良法提高腹膜透析液致病菌培养阳性率的临床观察[J]. 中国血液净化,2015,14(2):82-84.
Zhang YM, Wang ZS, Wan S, et al. The improved culture method to increase the positive rate of bacteria in peritoneal dialysis fluid[J]. Chin J Blood Purif, 2015, 14(2):82-84.
- [11] Petti CA, Polage CR, Schreckenberger P. The role of 16S rRNA gene sequencing in identification of microorganisms misidentified by conventional methods[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(12):6123-6125.
- [12] Rantakokko-Jalava K, Jalava J. Optimal DNA isolation method for detection of bacteria in clinical specimens by broad-range PCR[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(11):4211-4217.
- [13] Yoo TH, Chang KH, Ryu DR, et al. Usefulness of 23S rRNA amplification by PCR in the detection of bacteria in CAPD peritonitis[J]. Am J Nephrol, 2006, 26(2):115-120.
- [14] Kim SH, Jeong HS, Kim YH, et al. Evaluation of DNA extraction methods and their clinical application for direct detection of causative bacteria in continuous ambulatory peritoneal dialysis culture fluids from patients with peritonitis by using broad-range PCR[J]. Ann Lab Med, 2012, 32(2):119-125.
- [15] 徐晓萍,徐磊,唐碧霞,等. 腹膜透析相关性腹膜炎并发症的早期预示指标研究[J]. 现代检验医学杂志,2013,28(1):74-76.
Xu XP, Xu L, Tang BX, et al. Early biomarkers on predicting peritonitis occurrence of peritoneal dialysis patients[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(1):74-76.

收稿日期:2016-05-23

修回日期:2016-09-20

收稿日期:2016-07-02

修回日期:2016-08-29