

# 胆道感染患者胆汁和血培养主要病原菌一致性研究

郑礼杰<sup>a</sup>, 陈建国<sup>a</sup>, 张金<sup>b</sup>, 李节<sup>a</sup>

(江苏大学附属人民医院 a. 检验科; b. 呼吸内科, 江苏镇江 212002)

**摘要:** 目的 探讨胆道感染患者胆汁培养和血培养主要病原菌的一致性。方法 回顾性分析2016年1月~2019年6月江苏大学附属人民医院胆汁和血培养同时阳性的114例胆道感染患者的资料, 比较胆汁和血液两种类型标本中病原菌的分布, 采用Kappa检验分析其一致性。结果 116份胆汁标本共检出148株菌, 革兰阴性菌占71.62%, 革兰阳性菌占27.03%, 真菌占1.35%。126份血液标本共检出129株菌, 革兰阴性菌占82.95%, 革兰阳性菌占16.28%, 真菌占0.78%。有45例患者(39.47%)的胆汁和血标本分别只检出一种菌, 且相同; 28例(24.56%)的胆汁和血标本检出病原菌至少一种相同; 41例(35.96%)的胆汁和血标本检出病原菌完全不同。胆汁和血培养检出大肠埃希菌的总符合率为61.40%。胆汁和血标本检出菌至少一种相同的患者中, 大肠埃希菌检出率在两种标本类型中表现出较高的一致性(Kappa值=0.784), 符合率为89.3%。结论 胆道感染患者的胆汁和血培养病原菌以革兰阴性杆菌为主, 其中大肠埃希菌占比最高。两种标本类型在大肠埃希菌检出率上具有较高一致性。

**关键词:** 胆道感染; 病原菌; 一致性

中图分类号: R575.7; R446.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2020)02-124-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.02.034

## Preliminary Study on Pathogenic Bacteria in Bile and Blood Culture of Patients with Biliary Tract Infection

ZHENG Li-jie<sup>a</sup>, CHEN Jian-guo<sup>a</sup>, ZHANG Jin<sup>b</sup>, LI Jie<sup>a</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Respiratory Medicine, People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, Jiangsu Zhenjiang 212002, China)

**Abstract: Objective** To explore the concordance of main pathogenic bacteria in bile and blood of patients with biliary tract infection. **Methods** The data of 114 patients with bile and blood culture positive in the same period in the Affiliated People's Hospital of Jiangsu University from January 2016 to June 2019 were enrolled and the distribution of pathogenic bacteria in bile and blood samples was compared. The Kappa test was used to determine the concordance. **Results** A total of 148 strains of bacteria were detected in 116 bile samples. Gram-negative bacteria accounted for 71.62%, Gram positive bacteria accounted for 27.03% and fungi accounted for 1.35%. A total of 129 strains of bacteria were detected in 126 blood samples, including 82.95% of Gram -negative bacteria, 16.28% of Gram-positive bacteria and 0.78% of fungi. There were 45 cases (39.47%) of bile and blood samples detected only one same kind of bacteria. 28 cases (24.56%) of bile and blood samples detected at least one same kind of pathogens, 41 cases (35.96%) of bile and blood samples detected pathogens were completely different. The total coincidence rate of *Escherichia coli* detected by bile and blood culture was 61.40%. In patients with at least one same kind of bacteria detected in bile and blood samples, the detection rate of *Escherichia coli* showed a high consistency between the two sample types (Kappa value = 0.784), with a coincidence rate of 89.3%. **Conclusion** Gram-negative bacteria was the main pathogen in bile and blood culture of patients with biliary tract infection, and *Escherichia coli* accounted for the highest proportion. There was a high consistency in the detection rate of *Escherichia coli* between the two sample types.

**Keywords:** biliary tract infection; pathogens; consistency

胆道感染是一种潜在的威胁生命的疾病, 多由胆道梗阻和感染共同导致<sup>[1]</sup>。抗生素治疗是胆道感染的重要治疗手段, 指南指出一旦怀疑应立即开始抗菌治疗<sup>[2]</sup>。胆汁和血培养可以明确胆道感染的致病菌, 指导临床针对性选择抗生素。目前研究主要集中在对胆汁培养或血培养结果病原菌的分析上,

对胆汁培养和血培养结果一致性的研究关注较少。本研究探讨胆道感染患者中胆汁和血培养的病原菌分布, 并比较两种标本类型主要病原菌检出的一致性, 为临床提供理论依据。

### 1 材料与方法

1.1 研究对象 以2016年1月~2019年6月我院

作者简介: 郑礼杰(1984-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 细菌耐药监测及机制, E-mail: zhenglj0537@126.com。

通讯作者: 李节(1978-), 女, 本科, 副主任检验技师, 研究方向: 临床微生物, E-mail: zhanfangzhong@126.com。

114例胆道感染患者作为研究对象,其中男性73例,女性41例,年龄 $71.20 \pm 12.33$ 岁。基础疾病为胆道结石81例(包括胆总管结石并发胆管炎45例,胆囊结石并发急性胆囊炎21例,胆囊炎15例),肝胆肿瘤33例(肝癌14例,胆管癌11例,胆囊癌8例)。纳入标准为:①临床表现:既往有胆道疾病史,黄疸、寒颤(或高热)、腹痛及腹部压痛、Murphy征阳性。②实验室检查:炎症反应指标C反应蛋白或降钙素原升高。③胆汁细菌培养阳性。④影像学检查:B超、电子计算机断层扫描、磁共振成像检查发现胆管扩张或狭窄、结石、肿瘤、炎症等。⑤同一胆道感染患者48h内进行胆汁培养和血培养,且均检出病原菌。排除标准为:①并发其他部位感染患者(血流感染除外)。②同一患者的胆汁和血培养均阳性但送检时间间隔 $> 48$ h。本研究得到本院医学伦理委员会的批准。

1.2 仪器与试剂 Bact/ALERT 3D全自动血培养仪(法国生物梅里埃)及配套血培养瓶,VITEK-2 Compact全自动微生物鉴定系统(法国生物梅里埃)及配套细菌鉴定卡。

### 1.3 方法

1.3.1 标本采集:胆汁标本由临床医师行经内镜逆行胰胆管造影术(ERCP)、经皮胆道引流术或外科手术中无菌操作获得,注入无菌容器后立即送微生物室接种。无菌操作采集一套(一个需氧瓶和一个厌氧瓶)静脉血液标本后立即送检。

1.3.2 细菌培养及鉴定:将胆汁标本分别接种到血琼脂培养基、麦康凯琼脂培养基、巧克力琼脂培养基后,分别置于 $5\text{ml/dl CO}_2$ 培养箱和厌氧袋中进行培养。将报阳血培养瓶接种于血琼脂培养基、麦康凯琼脂培养基、巧克力琼脂培养基,分别置于 $5\text{ml/dl CO}_2$ 培养箱和厌氧袋中进行培养。培养 $18 \sim 24$ h后按照操作说明上机行细菌鉴定试验。采用标准菌株大肠埃希菌 ATCC 25922,金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 以及铜绿假单胞菌 ATCC 27853 进行质量控制。

1.3.3 统计 114例患者送检的116份胆汁阳性标本和126份血培养阳性标本的病原菌分布情况。

1.3.4 将114例患者分为A组(胆汁和血标本检出病原菌完全相同)、B组(胆汁和血标本检出病原菌至少一种相同)和C组(胆汁和血标本检出病原菌完全不同)共三组,比较检出前两组的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌在三组中的检出率有无差异,并比较B组中大肠埃希菌在胆汁和血标本中的一致性。

1.4 统计学分析 采用SPSS 20.0进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。计数资

料以百分率(%)表示,采用 $\chi^2$ 检验,一致性描述性统计采用Kappa一致性检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。Kappa值 $< 0$ 说明两组结果很不一致,Kappa值 $=0$ 说明两组结果是由机遇造成,Kappa值 $> 0$ 为有意义,Kappa值越大,两组结果一致性越好,其中 $0 < \text{Kappa值} < 0.4$ 为一致性较弱, $0.4 \leq \text{Kappa值} < 0.75$ 为一致性一般,Kappa值 $\geq 0.75$ 为一致性较高。

## 2 结果

2.1 胆汁和血培养标本病原菌检出情况 见表1。116份胆汁标本共检出148株、30种病原菌,其中85份(73.28%)检出1种病原菌,30份(25.86%)检出2种病原菌,1份(0.86%)检出3种病原菌。革兰阴性菌占71.62%(106/148),革兰阳性菌占27.03%(40/148),真菌占1.35%(2/148)、前三位分别是大肠埃希菌31.76%(47/148)、肺炎克雷伯菌15.54%(23/148)、粪肠球菌10.14%(15/148)。126份血液标本共检出129株、30种病原菌,其中123份(97.62%)检出1种病原菌,3份(2.38%)检出2种病原菌,革兰阴性菌占82.95%(107/129),革兰阳性菌占16.28%(21/129),真菌占0.78%(1/129),前三位分别是大肠埃希菌44.96%(58/129)、肺炎克雷伯菌19.38%(25/129)、铜绿假单胞菌4.65%(6/129)。

表1 胆汁和血培养病原菌分布及构成比[株数(%)]

类 别	胆汁 (n=148)	血液 (n=129)
革兰阴性菌	106 (71.62)	107 (82.95)
大肠埃希菌	47 (31.76)	58 (44.96)
肺炎克雷伯菌	23 (15.54)	25 (19.38)
奇异变形菌	6 (4.05)	1 (0.78)
阴沟肠杆菌复合菌	6 (4.05)	5 (3.88)
铜绿假单胞菌	4 (2.70)	6 (4.65)
其他	20 (13.51)	12 (9.30)
革兰阳性菌	40 (27.03)	21 (16.28)
粪肠球菌(D群)	15 (10.14)	1 (0.78)
屎肠球菌(D群)	7 (4.73)	4 (3.10)
鹌鸡肠球菌(D群)	6 (4.05)	1 (0.78)
其他	12 (8.11)	15 (11.63)
真菌	2 (1.35)	1 (0.78)
白假丝酵母	2 (1.35)	10.78%)

2.2 胆汁培养和血培养中主要病原菌的一致性 见表2。114例患者中,A组45例(39.47%),共检出12种、90株病原菌(胆汁和血标本分别只检出一种菌且相同);B组28例(24.56%),共检出20种、94株病原菌(胆汁和血标本检出病原菌至少一种相同);C组41例(35.96%),共检出31种、93株病原菌(胆汁和血标本检出病原菌完全不同)。



三组检出病原菌的前两位均是大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,比较这两种菌在三组中的检出率,结果显示差异有统计学意义( $\chi^2=20.311$ ,  $P=0.000$ )。

大肠埃希菌在B组胆汁和血中检测结果符合率为

表2 三组中的病原菌分布 [n(%)]

病原菌	A组 (n=90)	病原菌	B组 (n=94)	病原菌	C组 (n=93)
大肠埃希菌	48 (53.33)	大肠埃希菌	31 (32.98)	大肠埃希菌	26 (27.96)
肺炎克雷伯菌	18 (20.00)	肺炎克雷伯菌	17 (18.09)	肺炎克雷伯菌	13 (13.98)
鲍曼不动杆菌复合菌	4 (4.44)	粪肠球菌	10 (10.64)	粪肠球菌	5 (5.38)
铜绿假单胞菌	4 (4.44)	屎肠球菌	7 (7.45)	鹌鸡肠球菌	4 (4.30)
臭鼻克雷伯菌	2 (2.22)	阴沟肠杆菌复合菌	6 (6.38)	奇异变形菌	4 (4.30)
弗氏柠檬酸杆菌	2 (2.22)	铜绿假单胞菌	4 (4.26)	铅黄肠球菌	4 (4.30)
鸟肠球菌	2 (2.22)	鹌鸡肠球菌	3 (3.19)	人葡萄球菌人亚种	3 (3.23)
奇异变形菌	2 (2.22)	布氏柠檬酸杆菌	2 (2.13)	溶血葡萄球菌	3 (3.23)
嗜水/豚鼠气单胞菌	2 (2.22)	铅黄肠球菌	2 (2.13)	屎肠球菌	3 (3.23)
阴沟肠杆菌复合菌	2 (2.22)	嗜水/豚鼠气单胞菌	2 (2.13)	阴沟肠杆菌复合菌	3 (3.23)
黏质沙雷菌	2 (2.22)	$\beta$ 溶血链球菌	1 (1.06)	白假丝酵母	2 (2.15)
粪肠球菌	2 (2.22)	其他	9 (9.57)	其他	23 (24.73)

表3 大肠埃希菌在B组中的检测结果

血培养	胆汁培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	14	2	16
阴性	1	11	12
合计	15	13	28

### 3 讨论

胆道感染是一种临床常见的感染性疾病,严重时可导致脓毒血症、感染性休克甚至死亡<sup>[3-4]</sup>,一旦怀疑胆道感染应立即开始抗菌治疗<sup>[2]</sup>,因此明确的病原菌和药物敏感试验结果是必需的。本研究中胆汁标本革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌及主要病原菌的分布,与全国三级医院等的情况一致<sup>[4-7]</sup>,进一步证实胆汁培养检出菌以革兰阴性菌为主。胆汁标本检出1种菌占比73.28%,检出2种及3种菌的分别占比25.86%,0.86%,与马晨等<sup>[8]</sup>的结果一致。有学者提出混合感染住院时间长、调整用药比率高<sup>[4]</sup>,但另有学者提出只有一种菌的胆汁培养更有可能含有真正的病原体,没有必要对胆汁中的所有菌使用抗生素<sup>[9]</sup>。一项针对腹腔镜胆囊切除术患者的实验显示胆汁中多菌种检出与低BMI(body mass index, 体重指数)、ERCP术史、并发症呈显著相关<sup>[7]</sup>,另一项研究对象为急性胆管炎的研究中,放置胆管支架是多菌种生长的独立因素<sup>[10]</sup>,但两项研究未明确检出的多种菌在疾病发生过程中的具体作用。PARK等<sup>[9]</sup>认为胆汁中细菌的存在意味着

89.3%, Kappa值为0.784,一致性较强,见表3。大肠埃希菌在所有研究对象中的总符合率为61.4%(70/114)。

一种携带者状态而不是感染,也有人认为肠道细菌通过支架进入胆道系统导致胆汁污染<sup>[7]</sup>,因此需要进一步的研究来阐明多菌种胆汁中各微生物在疾病发生中的机理及相互作用。病理状态下胆管压力增高,黏膜通透性增加,肠道丧失抗炎、抑菌、上皮紧密连接维持和肠道运动调节作用,肠道细菌移位进入血液系统<sup>[13,11]</sup>,本研究中血培养革兰阴性菌占82.95%,排名前两位的为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌,这与国内外<sup>[1,12-13]</sup>的研究报道一致。近年的研究发现胆道系统在非病理状态下拥有比肠道更丰富多样但不完全相同的微生物种群<sup>[14]</sup>,在病理状态下微生物多样性下降<sup>[15]</sup>,这或许可以解释本实验胆汁和血培养检出菌在种类和比率上的差异。

我们的研究中,大肠埃希菌在胆汁和血培养中检出的总符合率为61.4%,比其他报道<sup>[10,16]</sup>的比例低,可能与胆汁标本的留取方式、实验对象的基础疾病有关,也可能跟我们限制了同一患者胆汁和血培养送检时间间隔不超过48h有关。在A、B、C三个组中,排前2位的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌检出率有显著性差异,考虑有两方面原因:血液中常见的污染菌如凝固酶阴性葡萄球菌在B、C组中有检出;B、C组中非单一菌种检出的胆汁标本占一定比例,结合文献报道胆汁引流患者的胆汁培养污染率在30%~98%,无胆汁引流患者的污染率在7%~41%<sup>[7]</sup>,推测胆汁标本有污染的可能。有近40%的病例显示出胆汁和血培养病原菌完全相同,这有利于临床上致病菌的判断,也印证了胆道感染

和血流感染之间的相关关系。大肠埃希菌在胆汁和血培养检出菌至少一种相同的分组病例中具有近90%的符合率,一致性亦较强,说明大肠埃希菌是胆道感染的重要致病菌,有利于对多种病原菌阳性病例中真正致病菌的判断。有35.96%患者的胆汁和血培养病原菌完全不同,混合感染还是标本被污染或有其他未知原因,值得进一步研究。本研究胆汁和血培养均未检出厌氧菌,且未纳入临床治疗效果无法判断真正的致病菌,是不足之处。

综上,对于胆道感染患者,主要的病原菌为革兰阴性杆菌,胆汁和血培养病原菌的符合率较高,特别是主要病原菌之一的大肠埃希菌在两者中的一致性较高。

#### 参考文献:

- [1] KOCHAR R, BANERJEE S. Infections of the biliary tract[J]. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, 2013, 23(2): 199-218.
- [2] 胡凤林, 尚东, 张浩翔, 等. 《东京指南(2018)》急性胆道感染诊疗策略更新解读[J]. *中国实用外科杂志*, 2018, 38(7): 763-766.  
HU Fenglin, SHANG Dong, ZHANG Haoxiang, et al. A review of Tokyo Guidelines 2018 for the management of acute biliary infections [J]. *Chinese Journal of Practical Surgery*, 2018, 38(7): 763-766.
- [3] YANG Runkuan, ZHU Shengtao, PISCHKE S E, et al. Bile and circulating HMGB1 contributes to systemic inflammation in obstructive jaundice[J]. *Journal of Surgical Research*, 2018, 228: 14-19.
- [4] 王娟, 谢良伊, 张景, 等. 肝胆系统疾病患者胆汁病原菌分布与临床特征[J]. *中国感染控制杂志*, 2017, 16(11): 1021-1025.  
WANG Juan, XIE Liangyi, ZHANG Jing, et al. Distribution of pathogens from bile and clinical characteristics of patients with hepatobiliary diseases [J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2017, 16(11): 1021-1025.
- [5] 杨清慧, 李文涛. 恶性梗阻性黄疸患者胆道分离细菌药敏与感染的相关因素分析[J]. *复旦学报(医学版)*, 2017, 44(4): 489-492.  
YANG Qinghui, LI Wentao. Biliary tract infection and risk factors of patients with malignant obstructive jaundice [J]. *Fudan University Journal (Medical Sciences)*, 2017, 44(4): 489-492.
- [6] 孙志, 王鹏远, 李威, 等. 2012年全国三级医院胆汁培养病原菌的构成及耐药性分析[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(11): 1038-1041.  
SUN Zhi, WANG Pengyuan, LI Wei, et al. Bacterial distribution and resistance in biliary tract infections of the tertiary hospitals of China in 2012 [J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2015, 31(11): 1038-1041.
- [7] YUN S P, SEO H I. Clinical aspects of bile culture in patients undergoing laparoscopic cholecystectomy[J]. *Medicine*, 2018, 97(26): e11234.
- [8] 马晨, 答嵘, 张凯歌, 等. 417株临床胆汁分离细菌培养与药物敏感试验结果分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2013, 25(7): 813-815, 818.  
MA Chen, DA Rong, ZHANG Kaige, et al. Bacterial distribution of 417 bile-isolated strains and their drug susceptibilities [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2013, 25(7): 813-815, 818.
- [9] PARK J W, LEE J K, LEE K T, et al. How to interpret the bile culture results of patients with biliary tract infections[J]. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2014, 38(3): 300-309.
- [10] CHANDRA S, KLAIR J S, SOOTA K, et al. Endoscopic retrograde Cholangio-Pancreatography-Obtained bile culture can guide antibiotic therapy in acute cholangitis[J]. *Digestive Diseases*, 2019, 37(2): 155-160.
- [11] TAJEDDIN E, SHERAFAT S J, MAJIDI M, et al. Association of diverse bacterial communities in human bile samples with biliary tract disorders: a survey using culture and polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis methods[J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2016, 35(8): 1331-1339.
- [12] 刘娟, 刘波, 李惠芬, 等. 胆道感染病原学分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(20): 3111-3114.  
LIU Juan, LIU Bo, LI Huifen, et al. Etiological analysis of biliary tract infection [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2018, 28(20): 3111-3114.
- [13] 王晶, 马娟, 范云, 等. 2015~2017年陕西省人民医院临床血流感染病原菌的分布及耐药性分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(4): 87-90, 95.  
WANG Jing, MA Juan, FAN Yun, et al. Distribution and drug resistance of pathogenic bacteria of blood culture in Shaanxi Provincial People's Hospital from 2015 to 2017[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(4): 87-90, 95.
- [14] VERDIER J, LUEDDE T, SELLE G. Biliary mucosal barrier and microbiome [J]. *Viszeralmedizin*, 2015, 31(3): 156-161.
- [15] SHEN Hongzhang, YE Fuqiang, XIE Lu, et al. Metagenomic sequencing of bile from gallstone patients to identify different microbial community patterns and novel biliary bacteria [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 17450.
- [16] RUPP C, BODE K, WEISS K H, et al. Microbiological assessment of bile and corresponding antibiotic treatment: a strobe-compliant observational study of 1 401 endoscopic retrograde cholangiographies [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(10): e2390.

收稿日期: 2019-10-31

修回日期: 2020-01-12