

• 临床研究 •

某综合性医院 2015 年尿液标本细菌分布及耐药性监测

徐腾飞¹, 金凤玲^{2△}

(1. 兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院, 兰州 730000)

摘要:目的 了解兰州大学第一医院 2015 年尿液标本临床分离细菌的分布情况及其耐药性特征。方法 收集兰州大学第一医院 2015 年 1 月 1 日至 12 月 31 日全部尿液标本中分离出的非重复细菌 365 株, 药敏试验采用纸片扩散法, 判读药敏结果按美国临床实验室标准化协会(CLSI)2014 年版标准, 利用 WHONET5.5 软件进行数据分析。结果 尿液标本中共分离出非重复细菌 365 株, 占 2015 年全年总菌株数的 9.3%。其中革兰阳性菌 90 株, 革兰阴性菌 275 株。以大肠埃希菌最为多见, 共 182 株, 占比为 49.9%(182/365), 其次为肠球菌属, 共 73 株, 占比为 20.0%(73/365)。大肠埃希菌产超广谱 β -内酰胺酶比率为 52.2%(95/182), 对阿米卡星、头孢哌酮/他唑巴坦、哌拉西林/他唑巴坦敏感率较高, 均在 85.0% 以上。肠球菌属细菌对万古霉素和利奈唑胺有着高度敏感性。结论 监测细菌耐药性情况可指导临床合理使用抗菌药物进行尿路感染的治疗, 对于指导泌尿系统疾病的防治具有一定的意义。

关键词:尿液标本; 细菌分布情况; 细菌耐药性监测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.24.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)24-3471-03

尿路感染又称泌尿系统感染, 是尿路上皮对细菌侵入导致的炎性反应。泌尿系统感染是常见的感染性疾病之一, 每年大概有 1.5 亿人受此影响, 并有大约 700 万人会到医院寻求医生的治疗^[1]。泌尿系统感染的高发病率和复发率使其成为一种潜在的威胁生命的感染, 因而及时准确地诊断能够在一定程度上帮助临床采取行之有效的治疗措施^[2]。尿细菌培养对其诊断有重要作用。近年来, 受到抗菌药物在临床广泛应用的影响, 使得泌尿系统感染疾病的病原体构成产生了一定变化, 因而调查分析尿液标本中细菌分布情况及耐药性监测对于指导临床合理有效地选择抗菌药物具有重要意义。本文将对兰州大学第一医院 2015 年尿液标本临床分离菌的分布和耐药性情况做一分析与讨论, 现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株来源 收集 2015 年 1 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日于兰州大学第一医院就诊患者尿液标本中分离出的并且剔除了同一患者重复分离株的细菌 365 株。标本采样及菌种鉴定按照《全国临床检验操作规程》(3 版)进行^[3]。

1.1.2 试剂与仪器 麦康凯平板、MH 琼脂平板、血平板为梅里埃生物制品有限公司产品。药敏纸片均为英国 Oxoid 公司产品, 包括阿米卡星、氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢吡肟、头孢他啶、头孢西丁、氨基糖苷、环丙沙星、左氧氟沙星、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、头孢噻肟、氯霉素、庆大霉素、青霉素 G、头孢呋辛、头孢唑林、哌拉西林/舒巴坦、头孢曲松、美罗培南、厄他培南、亚胺培南。Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定仪(法国 Bio Mérieux 公司)。

1.2 方 法

1.2.1 菌种鉴定 用 Vitek 2 自动化细菌鉴定仪及其配套的细菌鉴定卡进行细菌鉴定。

1.2.2 药敏试验 用 K-B 法测定抗菌药物的抑菌圈直径。质控菌株为 ATCC25922 大肠埃希菌, ATCC25923 铜绿假单胞菌, ATCC29212 粪肠球菌, ATCC27853 铜绿假单胞菌。

1.2.3 结果判读和数据分析 结果根据 2014 年美国临床和实验室标准化协会(CLSI)标准判读^[4], 应用 WHONET5.5 软

件进行统计分析。

2 结 果

2.1 细菌分布情况 2015 年共收集就诊患者尿液标本分离菌 365 株, 占 2015 年总菌株数的 9.3%(365/3 916)。其中革兰阳性菌 90 株, 占尿液分离菌的 24.7%(90/365)。革兰阴性菌 275 株, 占尿液分离菌的 75.3%(275/365)。全部尿液分离菌株中, 以大肠埃希菌最为多见, 共 182 株, 占比为 49.9%(182/365), 其次为肠球菌属, 共 73 株, 占比为 20.0%(73/365)。具体各类型菌株分布见表 1。

表 1 尿液标本分离细菌分布情况表

细菌	菌株数(n)	构成比(%)
大肠埃希菌	182	49.9
尿肠球菌	66	18.1
肺炎克雷伯菌	29	7.9
铜绿假单胞菌	17	4.7
奇异变形杆菌	9	2.5
粪肠球菌	7	1.9
链球菌属	7	1.9
阴沟肠杆菌	7	1.9
鲍曼不动杆菌	7	1.9
表皮葡萄球菌	4	1.1
其他	30	8.2
合计	365	100.0

2.2 细菌对抗菌药物敏感率及耐药率情况

2.2.1 肠球菌属细菌对常用抗菌药物的敏感率与耐药率 2015 年全年分离出的肠球菌属细菌共 73 株, 其中尿肠球菌 66 株, 粪肠球菌 7 株, 分别占全部尿液分离菌的 18.1% 和 1.9%。尿肠球菌对奎奴普汀/达福普汀的耐药率为 1.5%, 对呋喃妥因的耐药率为 30.3%, 对利福平的耐药率为 50.0%, 对氨苄西林、青霉素 G、左氧氟沙星和环丙沙星的耐药率高, 均在 85.0% 以上。粪肠球菌对奎奴普汀/达福普汀的耐药率为 85.8%, 对除万古霉素、利奈唑胺以外的其他抗菌药物的耐药率在 28.6%~42.8%。尿肠球菌和粪肠球菌对万古霉素和利奈唑胺的耐药率均为 0.0%。见表 2。

△ 通讯作者, E-mail: 1260961695@qq.com。

2.2.2 大肠埃希菌对常用抗菌药物的敏感率与耐药率 大肠埃希菌对亚胺培南、美罗培南、厄他培南药物敏感率高,分别为 99.5、100.0%、100.0%,耐药率均为 0.0%,其中对美罗培南的中介敏感率为 0.5%。超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)阳性检出率为 52.2%(95/182)。对阿米卡星、头孢哌酮/他唑巴坦、哌拉西林/他唑巴坦敏感率较高,均在 85.0%以上。而对诺氟沙星、左氧氟沙星等喹诺酮类药物的耐药率高于 60.0%。对头孢呋辛、头孢唑林、头孢噻肟耐药率也高于 60.0%。见表 3。

表 2 尿液标本分离的肠球菌属细菌对常见抗菌药物的耐药率与敏感率(%)

抗菌药物	屎肠球菌 66 株		粪肠球菌 7 株	
	耐药	敏感	耐药	敏感
氨苄西林	87.9	12.1	42.8	57.2
呋喃妥因	30.3	25.8	28.6	57.2
高浓度庆大霉素	43.9	56.1	28.6	71.4
奎奴普汀/达福普汀	1.5	90.9	85.8	0.0
利福平	50.0	27.3	42.8	57.2
青霉素	89.4	10.6	42.8	42.8
万古霉素	0.0	100.0	0.0	100.0
左氧氟沙星	90.9	9.1	42.8	57.2
利奈唑胺	0.0	100.0	0.0	100.0
环丙沙星	90.3	6.4	42.8	57.2

表 3 尿液标本分离的大肠埃希菌对常用抗菌药物的药敏情况(%)

抗菌药物	大肠埃希菌 182 株		
	敏感	中介	耐药
阿米卡星	87.8	5.0	7.2
氨苄西林	7.7	0.5	91.8
氨苄西林/舒巴坦	52.2	17.6	30.2
阿莫西林/克拉维酸	54.4	29.7	15.9
氨基南	50.0	10.4	39.6
呋喃妥因	72.2	12.1	15.7
复方磺胺甲恶唑	33.5	1.1	65.4
美洛培南	100.0	0.0	0.0
诺氟沙星	34.6	1.7	63.7
哌拉西林	14.9	7.1	78.0
哌拉西林/他唑巴坦	87.4	8.8	3.8
庆大霉素	53.9	0.5	45.6
头孢吡肟	39.6	14.8	45.6
头孢呋辛	35.2	1.6	63.2
头孢噻肟	36.8	0.0	63.2
头孢他啶	63.2	7.1	29.7
头孢西丁	78.5	8.8	12.7
头孢唑林	65.4	0.0	34.6
亚胺培南	99.5	0.5	0.0
左氧氟沙星	33.5	1.1	65.4
头孢哌酮/舒巴坦	85.7	11.6	2.7
厄他培南	100.0	0.0	0.0

3 讨 论

从本调查数据来看,2015 年 1 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日,兰州大学第一医院从尿液标本中共分离出细菌 365 株,其中大肠埃希菌分离率最高,占全部的 49.9%,其次依次为屎肠球菌(18.1%)、肺炎克雷伯菌(7.9%)、铜绿假单胞菌(4.7%)、奇异变形杆菌(2.5%)、粪肠球菌(1.9%)等,结果与朱德妹

等^[5]报道的结果相仿。

近年来,抗菌药物得到了临床的广泛应用,使得由于选择性压力造成的细菌耐药率和耐药率在逐步上升^[6]。分析 2015 年资料,发现大肠埃希菌的产 ESBLs 比率已经达到 52.2%。大肠埃希菌对阿米卡星及 β-内酰胺酶抑制剂这两类药物敏感率比较高,均处于 80%~90%。而喹诺酮类的药物对其的抑菌作用弱,耐药率均超过 60%以上,这就提示了在进行泌尿系统抗感染治疗时,已经不宜将喹诺酮类药物作为首选药物或经验性治疗的首选药物。分析大肠埃希菌产 ESBLs 菌株,发现其对头孢西丁产生了一定的耐药性,这也提示了这类菌的耐药质粒不但携带对 ESBLs 的耐药基因,还同时产生了质粒型头孢菌素酶(AmpC 酶)^[7]。本研究数据表明,产 ESBLs 大肠埃希菌目前对碳青霉烯类抗菌药物很敏感,该类药物的耐药率均为 0.0%,这可能与在治疗这类细菌感染时对抗菌药物的控制使用有关。另外兰州大学第一医院所报道的对碳青霉烯类抗菌药物的药敏结果也是低于近期我国其他学者报道的耐药性监测结果^[8]。但也要注意,已经有对亚胺培南中敏感的大肠埃希菌出现,应引起重视。应该在此基础上,再深入研究耐碳青霉烯酶的耐药机制及进行流行病学调查,从而能够采取行之有效的方法,以防止耐药株的出现和流行。

对于革兰阳性细菌引起的泌尿系统感染,最主要的两种细菌就是粪肠球菌和屎肠球菌。从药敏结果来看,肠球菌属细菌对万古霉素和利奈唑胺这两种药物的敏感率高。去年还暂未发现有耐此 2 种药物细菌出现,但应注意国内外已经有报道耐万古霉素的肠球菌属细菌出现,并进行了相关耐药性机制的研究^[9-10]。呋喃妥因、氨苄西林对粪肠球菌的抑菌作用较强,可用于临床上治疗尿路感染疾病的经验性用药。另外,与粪肠球菌相比,屎肠球菌对药物的耐药率更高,其对喹诺酮类药物如左氧氟沙星、环丙沙星等耐药率已经超过了 90%,因而提示该类药物已不再适用于由于屎肠球菌感染而引起的泌尿系统疾病。

对泌尿系统感染患者尿液标本进行培养和药物敏感试验能够给临床选择合理而有效的抗菌药物进行治疗具有重要意义。而分析尿液标本细菌的分布情况和监测其耐药性情况也给临床医生的经验性用药提供了一定的参考依据。

参考文献

[1] Lin HA, Yang YS, Wang JX, et al. Comparison of the effectiveness and antibiotic cost among ceftriaxone, ertapenem, and levofloxacin in treatment of community-acquired complicated urinary tract infections[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2015, 49(2): 237-242.

[2] Kumar MS, Ghosh S, Nayak S, et al. Recent advances in biosensor based diagnosis of urinary tract infection[J]. Biosens Bioelectron, 2016, 15(80): 497-510.

[3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 715-920.

[4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference leukocyte differential count (proportional) and evaluation of instrument methods: approved standard: M100-S24[S]. PA, USA: CLSI, 2014.

[5] 朱德妹, 汪复, 胡付品, 等. 2010 年中国 CHINET 尿液标本中细菌的分布和耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(4): 241-250.

[6] Arias CA, Murray BE. Antibiotics-resistant bugs in the 21st Century-A Clinical Super-Challenge[J]. N Engl J Med, 2009, 360(5): 439-443.

[7] 陈贤云, 夏春, 薛莲. 产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(20): 2397-2398.

[8] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2014 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 401-410.

• 临床研究 •

[9] 莫国华, 孙龙, 陈益民. 1 272 例尿液标本细菌培养结果及耐药性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(3): 322-326.

[10] 黄益澄, 吕火祥, 王洪, 等. 耐万古霉素肠球菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(9): 2155-2157.

(收稿日期: 2016-05-11 修回日期: 2016-07-28)

改良龙胆紫快速染色法检测阴道分泌物真菌的研究应用

张玲, 陈艳文, 周碧云, 李淑嘉, 赵望, 巫小莉[△]
(广州金域医学检验中心 510168)

摘要:目的 研究一种简易快速染色法, 提高阴道真菌的检出率, 为临床提供诊断依据。方法 改良龙胆紫快速染色法: 于白带常规的试管中加入生理盐水约 0.3 mL, 龙胆紫(革兰 I 液)1 滴, 室温染 2 min, 1 滴悬液均匀涂于玻片中镜检。结果 孢子无色而夹膜则呈亮黄绿色, 真菌菌丝着色不均匀呈紫色或无色, 上皮细胞、白细胞、球菌、加德纳菌、线索细胞染成紫色, 滴虫、乳酸杆菌不上色, 红细胞呈暗红色。孢子检出率高于革兰快速染色法和生理盐水悬液湿片法。结论 改良龙胆紫快速染色法, 融合了传统生理盐水悬液湿片法和革兰快速染色法的优点, 快速、简单, 易掌握, 涂片色差大, 孢子易于辨认, 检测准确性高, 实用性强, 有临床应用价值。

关键词:改良龙胆紫快速染色法; 革兰快速染色法; 生理盐水悬液湿片法; 真菌

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 24. 035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)24-3473-02

真菌、细菌及滴虫性阴道炎、子宫炎是妇科的常见病和多发病, 但这 3 种病患者的临床表现常无区别^[1]。阴道(白带)常规是妇科炎症一种常见的常规检查手段, 检查结果准确与否直接影响临床医生对患者的诊断、用药和治疗, 如何能快速准确给临床提供诊断依据, 是检验界一直探讨的问题。常用的生理盐水悬液湿片法干扰因素多, 体积细小的孢子混杂在分泌物中容易漏检, 所以检出率低^[2]; 而革兰快速染色法操作繁琐检测时间长, 难以应付大批量的门诊标本, 为改变这种局面, 作者尝试用龙胆紫(革兰第 I 液)直接滴加到白带常规盐水悬液中染色, 湿片镜检, 收到理想的效果, 作者称之为改良龙胆紫快速染色法。

1 材料与方 法

1.1 材料 奥林巴斯 BX-43 双目显微镜、玻片、0.9%生理盐水、革兰染色液(贝索企业, 批号 415061)。

1.2 标本来源 376 例来自广州中医药大学金沙洲医院 2015 年 11 月体检中心及妇科门诊患者阴道常规标本。

1.3 方 法

1.3.1 0.9%生理盐水悬液湿片法 于阴道常规管内加入生理盐水约 0.3 mL 制成悬液, 涂片高倍镜(40×)镜检(并留用于革兰染色)。

1.3.2 革兰快速染色法 上述涂片, 按照《全国临床检验操作规程》进行初染、媒染、脱色、复染^[3], 油镜(100×)镜检。

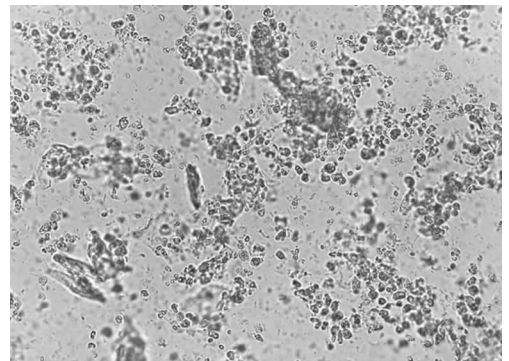
1.3.3 改良龙胆紫快速染色法 于上述 0.9%生理盐水悬液(约 0.3 mL)中加入龙胆紫(革兰 I 液)1 滴, 室温染 2 min, 1 滴悬液均匀涂于玻片中, 高倍镜(40×)镜检。

2 结 果

2.1 生理盐水悬液法 背景杂质多, 孢子不易辨认, 特别是不典型的小孢子, 很容易漏检; 见图 1。

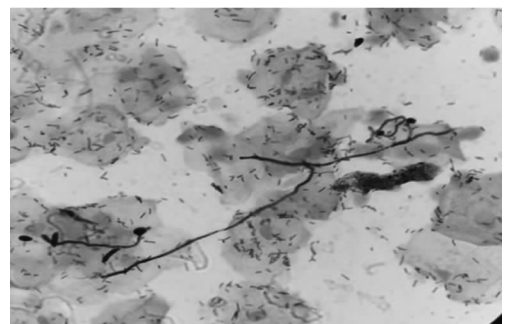
2.2 革兰快速染色法 孢子、菌丝、乳酸杆菌染成紫色, 上皮

细胞、白细胞、加德纳菌、线索细胞、染成红色; 见图 2。



注: 菌丝+孢子。

图 1 生理盐水悬液法(高倍镜, 40×)



注: 菌丝+孢子。

图 2 革兰快速染色法(油镜, 100×)

2.3 改良龙胆紫快速染色法 孢子无色而夹膜则呈亮黄绿色, 真菌菌丝着色不均匀呈紫色或无色, 上皮细胞、白细胞、球菌、加德纳菌、线索细胞染成紫色, 滴虫、乳酸杆菌不上色、红细

[△] 通讯作者, E-mail: 13725345142@126.com。