

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.08.010

162 例次腹膜透析相关性腹膜炎病原学分析

杨会林, 闫津津, 温见翔, 陈娟, 文明明, 余昊, 周丽娜

北京大学深圳医院检验科, 广东深圳 518036

摘要:目的 研究该院腹膜透析相关性腹膜炎透出液的病原菌培养鉴定结果、涂片革兰染色镜检结果、耐药情况,为腹膜透析相关性腹膜炎的临床诊断、治疗、预后及实验室检查提供数据支持。方法 回顾性分析 2014 年 1 月至 2019 年 4 月该院收治的 124 例腹膜透析相关性腹膜炎患者共 162 次透出液的病原菌分布、涂片革兰染色镜检结果、耐药情况。结果 162 例次透出液检测中,115 例次透出液培养阳性,阳性率 71.0%。培养出 126 株病原菌,其中 83 株革兰阳性球菌(65.9%),34 株革兰阴性杆菌(27.0%),6 株真菌(4.8%),2 株革兰阴性球菌,1 株革兰阳性杆菌。115 例次透出液培养阳性的腹膜炎患者中有 78 例次同步送检涂片革兰染色,其中 34 例次阳性,阳性率 43.6%。在病原菌耐药性方面,48.0% 葡萄球菌耐苯唑西林,4.8% 链球菌耐青霉素,54.5% 肠杆菌目细菌耐第 3、4 代头孢菌素。结论 在该院,腹膜透析相关性腹膜炎病原菌以革兰阳性球菌为主;在透析相关性腹膜炎诊治中,应重视透出液涂片革兰染色镜检;应根据病原菌监测情况进行经验性抗菌药物的选择。

关键词:腹膜透析; 腹膜炎; 病原学; 涂片革兰染色镜检; 药敏试验**中图法分类号:**R446.5**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2021)08-1064-04

Analysis on etiology in 162 case-times of peritoneal dialysis-related peritonitis

YANG Huilin, YAN Jinjin, WEN Jianxiang, CHEN Juan, WEN Mingming, YU Hao, ZHOU Lina

Department of Clinical Laboratory, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen,

Guangdong 518036, China

Abstract: Objective To investigate the pathogenic bacterial culture identification results, smear Gram staining microscopic examination results and drug resistance of peritoneal dialysis-related peritonitis (PDAP) dialysate to provide the data support for the diagnosis, treatment, prognosis and laboratory examination of PDAP. **Methods** The pathogenic bacterial distribution, smear Gram staining microscopic examination results and drug resistance of 162 case-times of dialysates from 124 patients with PDAP from January 2014 to April 2019 were retrospectively analyzed. **Results** Among 115 case-times of dialysate detection, 115 case-times were the culture positive with the positive rate of 71.0%. A total of 126 strains of pathogenic bacteria were cultured, including 83 strains (65.9%) of Gram-positive cocci, 34 strains (27.0%) of Gram-negative bacilli, 6 strains (4.8%) of fungi, 2 strain of Gram-negative cocci and 1 strain of Gram positive bacillus. Among the peritonitis patients with 115 case-times of dialysate culture positive, 78 case-times synchronously submitted the smear Gram staining, in which 34 cases showed positive, the positive rate was 43.6%. In the aspect of pathogenic bacterial drug resistance, 48.0% of staphylococcus was methicillin-resistant, 4.8% of streptococcus was resistant to penicillin, 45.5% of Enterobacteria was resistant to third or fourth generation cephalosporin. **Conclusion** Gram-positive cocci is the main pathogenic bacterium in PDAP of this hospital. More attention should be paid to the smear Gram staining microscopic examination of dialysate during the diagnosis and treatment of PDAP. The selection of empirical antibacterial drugs should be conducted based on the bacteriological monitoring situation.

Key words: peritoneal dialysis; peritonitis; etiology; smear Gram stain microscopic examination; antimicrobial susceptibility test

慢性肾衰竭是各种慢性肾脏疾病发展至后期的共同结局。腹膜透析(以下简称腹透)是治疗慢性肾衰竭的重要手段。腹透利用患者自身腹膜作为半透

膜,通过向腹腔内灌注透析液,实现血液与透出液之间物质交换以清除体内代谢废物。腹透相关性腹膜炎是腹透的重要并发症,是腹透失败和患者死亡的主

作者简介:杨会林,男,副主任技师,主要从事感染性疾病实验室诊断研究。

本文引用格式:杨会林,闫津津,温见翔,等. 162 例次腹膜透析相关性腹膜炎病原学分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(8): 1064-1067.

要原因之一^[1]。及早准确检出病原菌并进行药敏试验,根据病原菌的种类和药敏结果调整治疗措施,具有积极意义^[2]。本研究回顾分析本实验室 2014 年 1 月至 2019 年 4 月腹透相关性腹膜炎患者的微生物检查情况,为规范腹透操作、防治腹透相关性腹膜炎及实验室检测提供数据支持。

1 资料和方法

1.1 一般资料 本研究经医院医学伦理委员会审核批准。124 例患者为 2014 年 1 月至 2019 年 4 月在本院进行腹透治疗过程中发生腹膜炎的肾衰竭患者,其中男 66 例,女 58 例;年龄 27~80 岁,平均(56.3±16.0)岁;患者基础疾病:慢性肾炎 67 例,糖尿病肾病 34 例,高血压肾病 8 例,梗阻性肾病 5 例,肾病综合征 4 例,其他疾病 6 例。每例患者每次住院期间多次送检只算 1 例,但如多次住院则算多例。根据国际腹透协会(ISPD)最近颁布的《ISPD 腹膜炎预防与治疗建议:2016 年更新》^[3],至少符合下列 3 项条件中的 2 项或以上即可诊断为腹透相关性腹膜炎:(1)腹痛和(或)透出液浑浊,伴或不伴发热;(2)透出液白细胞计数超过 100×10⁶/L,其中多形核细胞占 50%以上;(3)透出液微生物培养阳性。

1.2 仪器与试剂 BacT/ALERT 3D 血培养仪(法国生物梅里埃)、VITEK 2 Compact 细菌鉴定药敏仪(法国生物梅里埃)、VITEK MS 质谱细菌鉴定仪(法国生物梅里埃)、ATB STREP5 链球菌药敏卡(法国生物梅里埃)、Thermo cytospin4 细胞离心机(美国赛默飞世尔)。

1.3 方法

1.3.1 标本留取 患者出现腹痛、发热症状或发现有透出液浑浊情况,无菌操作留取 20 mL 透出液直接注入血培养瓶(中和抗菌药物需氧瓶、厌氧瓶各 10 mL)送检进行病原菌培养;无菌容器留取 50 mL 透出液送检涂片革兰染色。

1.3.2 检测方法 透出液培养标本直接装载入梅里埃 BacT/ALERT 3D 培养仪进行培养,报阳后转出到半固体培养基培养后以梅里埃 VITEK MS 质谱仪及 VITEK 2 Compact 细菌鉴定药敏仪进行鉴定和药敏试验(链球菌以 ATB STREP 药敏条进行药敏试验),药敏结果判定参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)或欧洲药敏试验委员会(EUCAST)当年标准。怀疑分枝杆菌感染者透出液离心处理后接种罗氏培养基。细菌革兰染色涂片,以 50 mL 透出液 3 000 r/min 离心 10 min 后涂片,革兰染色后镜检。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 透出液病原菌培养结果 162 例次腹透相关性

腹膜炎透出液中,115 例次培养结果为阳性,阳性率 71.0%。其中 104 例次为单种菌感染,11 例次为混合感染。共检出 126 株病原菌,其中 83 株革兰阳性球菌,占 65.9%;34 株革兰阴性杆菌,占 27.0%;6 株真菌,占 4.8%;2 株革兰阴性球菌;1 株革兰阳性杆菌,为结核分枝杆菌。见表 1。

表 1 腹透相关性腹膜炎患者透出液病原菌谱		
病原菌	n	构成比(%)
革兰阳性球菌	83	65.9
凝固酶阴性葡萄球菌	42	33.3
链球菌属	21	16.7
肠球菌属	9	7.1
金黄色葡萄球菌	8	6.3
其他革兰阳性球菌	3	2.4
革兰阴性杆菌	34	27.0
大肠埃希菌	16	12.7
铜绿假单胞菌	3	2.4
肺炎克雷伯菌	3	2.4
嗜水气单胞菌	3	2.4
其他肠杆菌目细菌	3	2.4
其他非肠杆菌目革兰阴性杆菌	6	4.8
革兰阴性球菌	2	1.6
革兰阳性杆菌	1	0.8
真菌	6	4.8

2.2 培养结果为阳性的透出液同步送检的涂片革兰染色镜检结果 115 例次培养阳性透出液中,有 78 例次同步送检涂片革兰染色镜检,34 例次涂片革兰染色阳性,阳性率为 43.6%;培养阳性透出液中,结果为革兰阳性球菌与结果为革兰阴性杆菌的透出液的涂片革兰染色阳性率差异有统计学意义($\chi^2=4.69,P<0.05$),见表 2。

表 2 培养结果阳性的透出液同步送检的涂片革兰染色镜检结果			
培养病原菌类型	涂片送检数(n)	涂片阳性数(n)	涂片阳性率(%)
革兰阳性球菌	45	12	26.7
革兰阴性杆菌	21	13	61.9
革兰阳性杆菌	1	0	0.0
革兰阴性球菌	1	0	0.0
真菌	2	2	100.0
混合感染	8	7	87.5
合计	78	34	43.6

2.3 腹透相关性腹膜炎主要病原菌耐药情况

2.3.1 葡萄球菌属 50 株葡萄球菌(42 株凝固酶阴性葡萄球菌、8 株金黄色葡萄球菌)中,24 株(48.0%)耐甲氧西林。对葡萄球菌属耐药率较高的抗菌药物

为青霉素 G (92. 0%)、红霉素 (82. 0%)、克林霉素 (58. 0%)，耐药率较低的抗菌药物为利福平 (8. 0%)、莫西沙星 (20. 0%)，未检出耐万古霉素、利奈唑胺、替加环素的葡萄球菌菌株。见表 3。

表 3 葡萄球菌属细菌耐药情况 (n=50)				
抗菌药物	敏感(n)	中介(n)	耐药(n)	耐药率(%)
苯唑西林	26	—	24	48. 0
青霉素 G	4	—	46	92. 0
红霉素	9	0	41	82. 0
克林霉素	21	0	29	58. 0
环丙沙星	34	3	13	32. 0
左氧氟沙星	34	6	10	32. 0
庆大霉素	36	7	7	28. 0
复方磺胺甲噁唑	37	0	13	26. 0
四环素	38	0	12	24. 0
莫西沙星	40	4	6	20. 0
利福平	46	0	4	8. 0
万古霉素	50	0	0	0. 0
利奈唑胺	50	—	0	0. 0
替加环素	50	—	0	0. 0

注:计算耐药率时,中介菌株计入耐药菌株。—表示无数据。

2.3.2 链球菌属 21 株链球菌中,青霉素 G 的耐药率为 4. 8%，耐药率较高的抗菌药物为红霉素 (61. 9%)、四环素 (52. 4%)、克林霉素 (42. 9%)，未检出耐头孢噻肟、莫西沙星、万古霉素、利奈唑胺的链球菌菌株。见表 4。

表 4 链球菌属细菌耐药情况 (n=21)				
抗菌药物	敏感(n)	中介(n)	耐药(n)	耐药率(%)
红霉素	8	0	13	61. 9
四环素	10	1	10	52. 4
克林霉素	12	0	9	42. 9
左氧氟沙星	18	2	1	14. 3
青霉素 G	20	1	0	4. 8
头孢噻肟	21	0	0	0. 0
莫西沙星	21	0	0	0. 0
万古霉素	21	—	0	0. 0
利奈唑胺	21	—	0	0. 0

注:计算耐药率时,中介菌株计入耐药菌株。—表示无数据。

2.3.3 肠杆菌目细菌 22 株肠杆菌中,检出 12 株耐第 3、4 代头孢菌素 (54. 5%)，未检出耐碳青霉烯类抗菌药物肠杆菌目细菌。耐药率较高的抗菌药物为氨苄西林 (86. 4%)、头孢唑啉 (59. 1%)、头孢曲松 (54. 5%)、磺胺甲基异恶唑 (45. 5%)，耐药率较低的抗菌药物有哌拉西林/他唑巴坦 (4. 5%)、头孢他啶 (18. 2%)、头孢吡肟 (18. 2%)、妥布霉素 (22. 7%)，未检出耐亚胺培南、美罗培南、阿米卡星的肠杆菌目菌株。见表 5。

表 5 肠杆菌目细菌耐药情况 (n=22)				
抗菌药物	敏感(n)	中介(n)	耐药(n)	耐药率(%)
氨苄西林	3	0	19	86. 4
头孢唑啉	9	0	13	59. 1
头孢曲松	10	1	11	54. 5
磺胺甲基异恶唑	12	0	10	45. 5
氨基南	13	1	8	40. 9
环丙沙星	16	0	6	27. 3
左氧氟沙星	16	0	6	27. 3
妥布霉素	17	2	3	22. 7
头孢他啶	18	0	4	18. 2
头孢吡肟	18	1	3	18. 2
哌拉西林/他唑巴坦	21	0	1	4. 5
阿米卡星	22	0	0	0. 0
亚胺培南	22	0	0	0. 0
美罗培南	22	0	0	0. 0

注:计算耐药率时,中介菌株计入耐药菌株。

3 讨 论

本院 2014 年 1 月至 2019 年 4 月共送检 162 例次腹透相关性腹膜炎患者的透出液,115 例次阳性,阳性率为 71. 0%，低于 ISPD 指南的要求^[3]，也低于国内数据 (77. 0%~73. 4%)^[4]。送检标本量、送检前是否使用抗菌药物、有无及时送检、送检容器、检测方法、检测环境都会影响微生物培养的检出率。检出率偏低的原因:(1)透出液培养常规采 20 mL 透出液注入血培养瓶送检,送检量低于 ISPD 指南要求的 50 mL;(2)实验室夜班不处理微生物标本导致标本延时送检;(3)部分患者就诊前先行使用抗菌药物。临床医生、护理人员、实验室检验人员应加强协作,进一步规范送检、优化检验流程,提高检出率。

腹透相关性腹膜炎常见的原因有导管出口处和隧道感染、便秘、腹泻、肠道感染、泌尿系统感染、诊疗操作、腹透导管生物膜形成、接触宠物等^[1]。本研究显示,本中心腹透相关性腹膜炎的主要病原菌为葡萄球菌和链球菌,此两类细菌为皮肤黏膜定植菌群,其感染多与接触污染有关^[5]。应加强对医护人员、腹透患者及看护者的腹透操作培训,加强导管及出口处护理,减少感染概率,降低腹透感染率。

本研究 115 例次培养阳性患者中,有 78 例次同步送检细菌涂片革兰染色镜检,其中 34 例次阳性,阳性率为 43. 6%。无菌体液细菌涂片革兰染色镜检阳性率高低与是否采用足够量标本进行离心、检验者经验有关。YODOSHI 等^[6]研究 1 546 份儿童尿液床旁涂片革兰染色,灵敏度为 81. 4%，特异度为 98. 2%。TANIGUCHI 等^[7]研究指出,基于革兰染色结果和本地指南使用抗菌药物进行抗感染治疗具有相似的疗效,能减少一半以上的治疗费用。目前国内鲜见腹透

相关性腹膜炎透出液涂片革兰染色阳性率的数据。国外研究显示,腹透相关性腹膜炎透出液涂片革兰染色的敏感性为细菌培养的 10%~50%^[8]。涂片革兰染色操作简单,能比培养提前 1~4 d 发出报告。部分患者送检前使用抗菌药物或培养条件不佳,会得到阴性培养结果,但细菌涂片可能检出细菌。涂片阳性结果可帮助临床早期初步判断病原菌种类,临床及时选用相应抗菌药物进行治疗,再根据后续培养和药敏结果调整,从而优化治疗,减少广谱抗菌药物滥用导致的细菌耐药。临床应重视透出液涂片革兰染色的送检,微生物实验室应改进涂片镜检方法(离心浓缩、加强人员培训等),提高涂片阳性率。

《腹透相关感染防治指南》推荐第 1 代头孢菌素联合第 3 代头孢菌素作为腹膜炎的初始治疗方案^[1]。本研究显示,革兰阳性菌中,24 株葡萄球菌耐苯唑西林,比例为 48.0%。耐苯唑西林葡萄球菌对头孢菌素类耐药,而肠球菌属对头孢菌素天然耐药(9/9),故本研究检出的革兰阳性球菌,至少有 39.8%(33/83)对头孢菌素耐药。因此,不建议选择头孢菌素作为革兰阳性球菌的初始用药,可选择较敏感的抗菌药物如喹诺酮类、万古霉素、利奈唑胺、替加环素等。利福平、庆大霉素虽对葡萄球菌属具有较高的敏感性,但不建议单独使用,可以与敏感抗菌药物联合治疗^[9]。本研究革兰阴性杆菌以肠杆菌目细菌为主,对第 3 代头孢菌素中的头孢曲松耐药率高达 54.5%,但对头孢他啶的耐药率仅为 18.2%。因此可选择头孢他啶作为革兰阴性杆菌的经验治疗药物,再根据培养及药敏试验结果调整抗菌药物治疗。

参考文献

[1] 中国腹膜透析相关感染防治专家组. 腹膜透析相关感染(上接第 1063 页)

[5] KORHAN P, ERDAL E, ATABEY N. MiR-181a-5p is downregulated in hepatocellular carcinoma and suppresses motility, invasion and branching-morphogenesis by directly targeting c-Met[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 450(4): 1304-1312.

[6] LIU K, XIE F, GAO A D, et al. SOX2 regulates multiple malignant processes of breast cancer development through the SOX2/miR-181a-5p, miR-30e-5p/TUSC3 axis [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 62-64.

[7] CHEN G, SHEN Z L, WANG L, et al. Hsa-miR-181a-5p expression and effects on cell proliferation in gastric cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(6): 3871-3875.

[8] ZHANG H, ZHU M X, SHAN X, et al. A panel of seven-miRNA signature in plasma as potential biomarker for colorectal cancer diagnosis[J]. Gene, 2019, 687: 246-254.

[9] SHAN X, ZHANG H, ZHANG L, et al. Identification of four plasma microRNAs as potential biomarkers in the

的防治指南[J]. 中华肾脏病杂志, 2018, 34(2): 139-148.

[2] 田园, 陈文, 李军, 等. 腹膜透析相关感染性腹膜炎病原菌分布监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(15): 2295-2297.

[3] LI P K, SZETO C C, PIRAINO B, et al. ISPD peritonitis recommendations: 2016 update on prevention and treatment[J]. Perit Dial Int, 2018, 38(4): 313-318.

[4] 佟怡婧, 严豪, 李振元, 等. 711 例次腹膜透析相关性腹膜炎的致病菌谱变化及药物敏感分析[J]. 中华肾脏病杂志, 2017, 33(8): 601-608.

[5] SZETO C C, KWAN B C, CHOW K M, et al. Coagulase negative staphylococcal peritonitis in peritoneal dialysis patients: review of 232 consecutive cases [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2008, 3(1): 91-97.

[6] YODOSHI T, MATSUSHIMA M, TANIGUCHI T, et al. Utility of point-of-care Gram stain by physicians for urinary tract infection in children ≤36 months [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(14): e15101.

[7] TANIGUCHI T, TSUHA S, SHIIKI S, et al. Gram-stain-based antimicrobial selection reduces cost and overuse compared with Japanese guidelines [J]. BMC Infect Dis, 2015, 15: 458-461.

[8] VON GRAEVENITZ A, AMSTERDAM D. Microbiological aspects of peritonitis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis [J]. Clin Microbiol Rev, 1992, 5(1): 36-48.

[9] 王辉, 马筱玲, 钱渊, 等. 临床微生物学手册 [M]. 北京: 中华医学电子音像出版社, 2017: 1519-1536.

(收稿日期: 2020-07-28 修回日期: 2021-01-29)

diagnosis of male lung squamous cell carcinoma patients in China [J]. Cancer Med, 2018, 7(6): 2370-2381.

[10] SHEN Y Y, JY C, YUAN J, et al. MiR-451a suppressed cell migration and invasion in non-small cell lung cancer through targeting ATF2 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(17): 5554-5561.

[11] LIU Z, MIAO T, FENG T, et al. MiR-451a inhibited cell proliferation and enhanced tamoxifen sensitive in breast cancer via macrophage migration inhibitory factor [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 207684.

[12] RIQUELME I, TAPIA O, LEAL P, et al. MiR-101-2, miR-125b-2 and miR-451a act as potential tumor suppressors in gastric cancer through regulation of the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Cell Oncol, 2016, 39(1): 23-33.

(收稿日期: 2020-07-27 修回日期: 2021-01-14)