

【临床研究】

作者简介:周艳君(1983-),女,河南禹州人,硕士,主管技师,主要从事临床医学检验诊断工作。

Burkholderia gldioli, and the protection of patients with basic diseases should be strengthened. Because of the severe drug resistance situation, clinical diagnosis should be combined with inflammatory markers, and attention should be paid to patients with viral infection. Rational drug and drug combination should be selected according to drug sensitivity report.

Key words: *Burkholderia gldioli*; clinical distribution; drug resistance

唐菖蒲伯克霍尔德菌最初在植物中被发现, 曾被认为是植物病原体。国外研究显示, 唐菖蒲伯克霍尔德菌很少引起人类疾病, 最初发现其与肺部感染有关^[1-3], 也有报道其与肺移植后感染、新生儿脓毒血症、新生儿血流感染等有关^[4-5]。国内也有报道唐菖蒲伯克霍尔德菌在血培养中被检出, 因此, 该细菌被认为是血流感染的一个重要的条件致病菌, 也是医院感染的病原菌之一^[6-7]。本研究对新乡医学院第一附属医院近年诊治的唐菖蒲伯克霍尔德菌的临床分布和耐药情况进行分析, 旨在为相关疾病的防治提供病原学参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 观察对象为 2013 年 1 月至 2016 年 11 月在新乡医学院第一附属医院住院治疗的 86 412 例患者, 男 50 411 例, 女 36 001 例, 男女比例为 1.4 : 1; 年龄 5 ~ 62 岁, 其中 ≥ 18 岁者 56 400 例, < 18 岁者 30 012 例; 其中符合菌血症诊断标准^[8]者 81 807 例, 符合脑膜炎诊断标准^[9]者 4 605 例; 科室来源: 感染科 16 022 例, 血液科 26 301 例, 监护病区 18 461 例, 结核科 13 060 例, 肾内科 10 062 例, 其他科室 2 506 例; 标本类型: 血液标本 71 495 例, 骨髓标本 10 312 例, 脑脊液标本 4 605 例。

1.2 主要试剂与仪器 血平板、普通型巧克力培养基(郑州安图生物公司), 抗菌药物纸片(英国 OX-OID 公司), 水解酪蛋白(杭州滨和微生物试剂有限公司), 革兰染液由实验室自配(每批染液均用标准菌株做质控)。BACTEC-FX 自动血培养仪、Phoenix100 全自动微生物分析系统和鉴定板(美国 BD 公司); 普通培养箱、CHP160 型 CO₂ 温箱(上海市三发科学仪器有限公司); 艾德康 ELISA1100 仪器(烟台艾德康生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 血液标本: 在患者接受抗生素治疗前, 寒战时或发热初期采集外周静脉血, 采集时采用乙醇-碘附-乙醇三步法消毒皮肤, 按照血液与培养基 1/10 ~ 1/5 的比例采集; 成人需氧瓶、厌氧瓶需接种 5 ~ 8 mL 血液, 儿童瓶需接种 1 ~ 3 mL 血液。骨髓标本: 采用髌骨的髌前上棘无菌穿刺抽取骨髓液进行培养, 按照实际抽取标本量选择合适的血培

养瓶增菌培养。脑脊液标本: 采用腰椎穿刺术无菌采集脑脊液标本, 按照实际抽取标本量选择合适的血培养瓶增菌培养。本研究血液、骨髓、脑脊液标本均采用培养瓶增菌法进行增菌培养, 严格按照全国临床检验操作规程和临床微生物学检验要求执行, 采集后立即送检^[10]。

1.3.2 标本接种、分离培养 严格按照 BACTEC-FX 自动血培养仪操作说明, 将正确采集标本后的培养瓶直接上机培养, 培养周期为 5 d。红色报警提示阳性瓶出现, 查看阳性曲线, 按仪器提示取下阳性瓶, 用 1 mL 无菌注射器抽吸培养瓶内阳性培养物, 采用三区划线法, 将阳性培养物分别转种于血平板、巧克力平板、麦康凯平板上, 转种过程严格执行无菌操作, 然后将培养基放于 35 ℃、体积分数 5% CO₂ 温箱中培养 18 ~ 24 h。绿色报警提示阴性瓶出现, 查看阴性曲线确认后直接取下培养瓶, 显示培养周期已到, 培养结果报告阴性。

1.3.3 菌落涂片及染色镜检 用接种环挑取血平板上生长良好的直径为 2 ~ 3 mm 的灰白色、透明或半透明、湿润、凸起菌落, 涂抹于玻片上的生理盐水中, 自然干燥、火焰固定, 革兰染色后油镜镜检, 镜下可见革兰阴性杆菌, 直或微弯曲杆菌, 单个或成对排列; 生物化学特征: 氧化酶阴性, 触酶阳性, 硝酸盐还原试验阳性, 42 ℃ 不生长。麦康凯平板和巧克力平板也有菌落生长。

1.3.4 菌种鉴定、药物敏感性试验 制备菌悬液: 使用美国 BD 公司提供的鉴定板(含生物化学鉴定和药物敏感鉴定), 采用微量肉汤稀释法对常用的阿米卡星、庆大霉素、亚胺培南等 19 种抗生素进行体外抗菌药物敏感性试验, 全自动上机培养。按美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 相关标准^[11]判定实验结果。根据此标准分为耐药、中介和敏感。

1.3.5 炎症指标及携带病毒结果判定 炎症指标: 参照第 4 版全国临床检验操作规程^[10], 白细胞计数(white blood cell count, WBC) $> 10 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 时判断为阳性; C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP) $> 8.200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 判断为阳性; 红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR) 参考范围男性 0 ~ 15 mm · h⁻¹, 女性 0 ~ 20 mm · h⁻¹, 高于参考范围上限判断为阳性; 纤维蛋白原(fibrinogen, FIB) $>$

4 g · L⁻¹ 判断为阳性。携带病毒:甲型肝炎病毒 (hepatitis A virus,HAV)、乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus,HBV)、丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus,HCV)、梅毒螺旋体 (treponema pallidum,TP)、EB 病毒 (epstein-barr virus,EBV)、巨细胞病毒 (cytomegalovirus,CMV) 由艾德康 ELISA 1100 仪器通过酶联免疫吸附试验 (Enzyme linked immunosorbent assay,ELISA) 检测,结果阴性判定未携带,阳性判定为携带。

1.4 质控菌株 质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC25923,由河南省临床检验中心提供。

1.5 统计学处理 应用 WHONET 5.5 软件进行药物敏感性试验统计学资料分析;采用瑞美统计软件分析炎症指标和病毒感染。

2 结果

2.1 菌株分布情况 共检出唐菖蒲伯克霍尔德菌 145 株,总检出率为 0.17% (145/86 412)。在 145 例唐菖蒲伯克霍尔德菌感染者中,122 例 (84.14%) 伴有基础性疾病:发热 39 例,糖尿病 5 例,脓毒血症 13 例,慢性胃炎 6 例,肾盂肾炎 8 例,肺炎 9 例,脑出血 5 例,血小板减少症 12 例,胆囊炎 4 例,食管炎 3 例,心律失常 4 例,肝硬化 8 例,关节炎 6 例。唐菖蒲伯克霍尔德在不同临床标本中的检出株数和检出率不同,71 495 例血液标本中检出该菌 123 株,检出率 0.17%;10 312 例骨髓标本中检出该菌 16 株,检出率 0.16%;4 605 例脑脊液标本中检出该菌 6 株,检出率 0.13%。从性别分布来看,男性 50 411 例,检出 110 株 (0.22%),女性 36 001 例,检出 35 株 (0.10%)。从年龄分布来看,≥18 岁患者 56 400 例,检出 131 株 (0.23%),<18 岁患者 30 012 例,检出 14 例 (0.05%)。从科室分布来看,感染科 16 022 例,检出 42 株 (0.26%);血液科 26 301 例,检出 36 株 (0.14%);监护病区 18 461 例,检出 24 株 (0.13%);结核科 13 060 例,检出 20 株 (0.15%);肾内科 10 062 例,检出 14 株 (0.14%);其他科室 2 506 例,共检出 9 株 (0.36%)。从科室分布的构成比看,感染科占 28.97% (42/145),血液科占 24.83% (36/145),监护病区占 16.55% (24/145),结核科占 13.79% (20/145),肾内科占 9.66% (14/145),其他科室占 6.21% (9/145)。

2.2 唐菖蒲伯克霍尔德菌耐药情况 结果见表 1。145 株唐菖蒲伯克霍尔德菌对氨曲南和阿莫西林/克拉维酸的耐药率分别为 87.58%、80.00%,呈高度耐药;对庆大霉素、头孢唑林、氨苄西林、哌拉西

林、复方新诺明 5 种药物的耐药率分别为 50.34%、55.86%、51.72%、59.31%、62.07%,呈中度耐药;对其余 12 种药物的体外药物耐药率均 <50.00%,呈低度耐药,其中对亚胺培南和美罗培南的药物敏感性最高,分别为 77.93%、73.11%。多重耐药株比例为 48.97% (71/145)。

表 1 145 株唐菖蒲伯克霍尔德菌对常规抗菌药物的耐药情况
Tab.1 Drug resistance of 145 strains of *Burkholderia gladioli* to conventional antibacterials

抗菌药物	敏感/株 (%)	中介/株 (%)	耐药/株 (%)
阿米卡星	101 (69.66)	0 (0.00)	44 (30.34)
庆大霉素	66 (45.52)	6 (4.14)	73 (50.34)
亚胺培南	113 (77.93)	0 (0.00)	32 (22.07)
美洛配能	106 (73.11)	0 (0.00)	39 (26.89)
头孢唑林	64 (44.14)	0 (0.00)	81 (55.86)
头孢他啶	75 (51.72)	15 (10.35)	55 (37.93)
头孢噻肟	80 (55.17)	2 (1.38)	63 (43.45)
头孢吡肟	63 (43.45)	10 (6.90)	72 (49.65)
氨曲南	18 (12.42)	0 (0.00)	127 (87.58)
氨苄西林	70 (48.28)	0 (0.00)	75 (51.72)
哌拉西林	59 (40.69)	0 (0.00)	86 (59.31)
阿莫西林/克拉维酸	29 (20.00)	0 (0.00)	116 (80.00)
氨苄西林/舒巴坦	84 (57.93)	0 (0.00)	61 (42.07)
哌拉西林/他唑巴坦	86 (59.31)	0 (0.00)	59 (40.69)
复方新诺明	52 (35.86)	3 (2.07)	90 (62.07)
氯霉素	97 (66.90)	8 (5.52)	40 (27.58)
环丙沙星	75 (51.72)	11 (7.59)	59 (40.69)
左氧氟沙星	89 (61.38)	11 (7.59)	45 (31.03)
四环素	94 (64.83)	1 (0.69)	50 (34.48)

2.3 合并炎症指标检出情况以及携带病毒感染情况 对临床分离出 145 株唐菖蒲伯克霍尔德菌的患者进行相关炎症指标 (包括 WBC、CRP、ESR、FIB) 统计,其中 13 株 (8.97%) 的炎症指标结果在参考值范围之内,判断为阴性;132 株 (91.03%) 炎症指标结果高于参考值高限,判断为阳性,阳性符合率高,其中合并某一种炎症指标增高者 108 株 (81.82%),合并 2 种炎症指标增高者 19 株 (14.39%);合并 ≥3 种炎症指标增高者 5 株 (3.79%)。145 例患者的携带病毒感染情况:134 例 (92.41%) 测定结果为阴性,判定未携带病毒感染;11 例测定结果阳性 (携带 HAV 感染者 1 例、携带 HBV 感染者 5 例、携带 HCV 感染者 2 例、携带 TP 感染者 1 例、携带 EBV 感染者 1 例、携带 CMV 感染者 1 例),判定携带病毒感染,携带病毒感染率为 7.59% (11/145)。

3 讨论

细菌性菌血症和脑膜炎如不及时治疗,会发展成为致命性疾病。菌血症常见致病菌包括金黄色葡

萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎链球菌、表皮葡萄球菌等,脑膜炎常见致病菌包括脑膜炎双球菌、肺炎球菌和流感嗜血杆菌等。而近年来,唐菖蒲伯克霍尔德菌所致血液感染的报道越来越多,其多重耐药形势也越来越严峻。

本研究显示,2013年1月到2016年11月从新乡医学院第一附属医院86412例诊断为菌血症或脑膜炎住院患者的不同临床标本中,共分离出145株唐菖蒲伯克霍尔德菌;该菌仅在血液、脑脊液、骨髓等临床标本中被分离出。目前大多报道其在血液中被检出,也有其引起呼吸系统感染的报道^[1-3],本研究中,该菌引起的病例中有122例(84.14%)伴有基础性疾病,男性患者(0.22%)多于女性患者(0.09%),18岁以上患者(0.23%)多于18岁以下患者(0.05%),与艾彪等^[6]和朱丽莎等^[7]的报道情况大体一致;该菌主要在感染科、血液科、监护病区被检出,构成比为28.97%、24.83%、16.55%,感染科占比例最高,与艾彪等^[6]报道的儿科占比例最高不一致。该菌在临床科室广泛存在,被检出科室患者伴有机体免疫力差、伴随传染病、插管介入现象(呼吸机、静脉插管)等,推测这些科室是唐菖蒲伯克霍尔德菌的易感区域,因此应结合该菌临床分布特点,注意早期细菌感染引起的炎症反应,把握易感因素,重视其在菌血症、脑膜炎患者中的致病性,尤其重视伴随基础性疾病患者。

本研究体外耐药性调查显示,唐菖蒲伯克霍尔德菌对常用的19种抗菌药物中的12种药物表现为低度耐药。临床用药以头孢菌素类抗菌药物为主,其用药途径及药物品种选择方便。本研究结果显示,该菌对第1代头孢菌素头孢唑林的耐药率为55.86%;对第3代头孢菌素头孢他啶和头孢噻肟、第4代头孢菌素头孢吡肟的耐药率分别为37.93%、43.45%、49.65%,比报道的30.8%、42.3%、32.7%稍高^[6],相比第1、2、3代头孢菌素而言,第4代头孢菌素对大多数革兰阴性菌作用更强,且对大多数 β -内酰胺酶(包括AmpC等)稳定性极好,抗菌谱极广,被视为三线抗菌药物使用,同时治疗多重耐药菌感染或多种病原体的混合感染效果好。另外喹诺酮类药物环丙沙星、左氧氟沙星以及氨基糖甙类药物阿米卡星、复合制剂氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦因体外耐药率低、效果好,也被临床常用;而氯霉素和四环素因其严重不良反应,临床不常用或慎用;碳青霉烯类药物亚胺培南、美罗培南对于重症感染、多重耐药以及第3、4代头孢菌素、复合制剂治疗不佳的患者效果好,耐药率相对较

低,可择优选择。该菌对庆大霉素、哌拉西林、复方新诺明的耐药率分别为50.34%、59.31%、62.07%,比艾彪等^[6]报道的14.4%、18.3%、17.3%高;对氨苄西林耐药率为51.72%;对氨曲南、阿莫西林/克拉维酸高度耐药,耐药率分别为87.58%、80.00%,国内报道分别为64.40%、100.00%^[6],国外报道其对氨曲南耐药率为72.2%^[12],结果基本一致。与国内外报道不一致的地方表明,细菌的耐药谱有着地区性差异,与人群、环境等有密切联系。针对唐菖蒲伯克霍尔德菌感染的药物很多,临床用药时应结合本地区体外抗菌药物敏感性结果,合理用药、联合用药,并警惕亚胺培南和美罗培能耐菌株;同时本研究发现71例多重耐药菌株,多重耐药率为48.97%,也应引起临床重视。

发生细菌性感染时,CRP作为一种急性时相反应蛋白最先开始升高,随后WBC升高、ESR加快,然后FIB升高。有研究认为,WBC、CRP、ESR、FIB等4项炎症指标在联合确证细菌感染方面显得更加全面^[13]。本研究中,4项炎症指标与细菌感染的阳性符合率为91.03%;13例炎症指标阴性株中,9例存在低热症状,依据药物敏感性报告应用敏感抗生素后效果明显,4例患者来自结核科、感染科,用药效果不明显,经临床分析,患者存在确诊的基础性疾病,培养菌可能是合并菌,也可能是污染菌。查阅病历发现,11例(7.59%)携带病毒感染的患者与134例未携带病毒感染的患者相比,病情更重、住院时间更长、康复效果更差。因此,应重视合并细菌、病毒感染的患者,早诊断、早治疗。

本研究结果提示,唐菖蒲伯克霍尔德菌可引起菌血症和脑膜炎,因该菌具备不常见性和多重耐药性的特点,临床应引起高度重视,依据药物敏感性报告联合用药,同时应结合相关炎症指标分析感染结果,排除污染菌。该研究提供了病原菌耐药率数据,为本地区相关疾病治疗提供依据,为其他地区对该菌的研究提供参考。对于本地区该菌引起其他系统的感染,有待进一步追踪。

参考文献:

- [1] QUON B S, REID J D, WONG P, et al. *Burkholderia gladioli* a predictor of poor outcome in cystic fibrosis patients who receive lung transplants? a case of locally invasive rhinosinusitis and persistent bacteremia in a 36-year-old lung transplant recipient with cystic fibrosis [J]. *Can Respir J*, 2011, 18(4): 64-65.

(下转第1113页)

症组患者血清 cTnI 水平显著高于脓毒症组,CHE 水平显著低于脓毒症组;死亡组患者血清 cTnI 水平显著高于生存组,CHE 水平显著低于生存组。cTnI 与心脏损伤有关,CHE 与肝脏损伤有关,脓毒症病情程度不同,对心脏和肝脏的损伤程度也存在差异,机体产生的 cTnI 和 CHE 水平也会不同^[5]。因此,血清 cTnI 和 CHE 水平对脓毒症患者病情程度及预后具有预测作用。

综上所述,血清 PCT、cTnI 和 CHE 水平检测对脓毒症患者病情程度及预后评估具有重要意义,对临床诊断脓毒症及制定治疗措施具有指导意义。

参考文献:

[1] 王胜云,陈德昌.降钙素原和 C-反应蛋白与脓毒症患者病情严重程度评分的相关性研究及其对预后的评估价值[J].中华危重病急救医学,2015,27(2):97-101.

[2] 赵倩,谢月群,张涛,等.降钙素原对脓毒症患者病情及预后的临床价值[J].中华急诊医学杂志,2016,25(7):937-943.

[3] RUDKJØBING V B,THOMSEN T R,XU Y,et al. Comparing culture and molecular methods for the identification of microorganisms

involved in necrotizing soft tissue infections[J]. *BMC Infect Dis*, 2016,16(1):652.

[4] 李熙鸿.脓毒症的诊断与治疗进展[J].中华实用儿科临床杂志,2013,28(6):404-406.

[5] 穆原,沈京培,管贤伟,等.小儿危重病例评分联合 D-二聚体及降钙素原检测用于儿童感染病情的早期评判[J].中华实用儿科临床杂志,2016,31(6):425-428.

[6] 袁咏梅.血浆 NT-proBNP 和 cTn I 联合检测对老年脓毒症患者病情评估及预后判断的临床价值[J].中国老年学杂志,2015,35(13):3700-3702.

[7] 张亮,刘万周,程涛.降钙素原和急性生理与慢性健康评分 II 对脓毒症患者预后的评估[J].新乡医学院学报,2016,33(7):629-631.

[8] 钟延法,雷朝英,郭学敏,等. PCT、hs-CRP、WBC 联合检测对脓毒症患儿感染类型及病情严重程度的诊断价值研究[J].医学综述,2015,22(19):3631-3634.

[9] 许焯,封志纯.脓毒症心肌抑制发病机制研究现状[J].中华实用儿科临床杂志,2016,31(13):1034-1036.

[10] 牛芳,宋熔,杨靖,等.血清氨基末端脑钠肽前体/胆碱酯酶比值评估脓毒症患者的临床研究[J].检验医学与临床,2016,13(19):2709-2710,2713.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)

(上接第 1110 页)

[2] BRIZENDINE K D,BADDLEY J W,PAPPAS P G,et al. Fatal *Burkholderia gladioli* infection is identified as *Empedobacter brevis* in a lung transplant recipient with cystic fibrosis[J]. *Transpl Infect Dis*,2012,14(4):E13-E18.

[3] IMATAKIL O,KITA N,NAKAYAMA-IMAOHJI H,et al. Bronchiolitis and bacteraemia caused by *Burkholderia gladioli* in a non-lung transplantation patient[J]. *New Microbes New Infect*,2014,2(6):175-176.

[4] DURSUN A,ZENCIROGLU A,KARAGOL B S,et al. *Burkholderia gladioli* sepsis in newborns[J]. *Eur J Pediatr*,2012,171(10):1503-1509.

[5] ZHOU F,NING H,CHEN F,et al. *Burkholderia gladioli* isolated from the blood cultures of newborns in the neonatal intensive care unit[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*,2015,34(8):1533-1537.

[6] 艾彪,周莉,艾明华,等.唐菖蒲伯克霍尔德菌血流感染的诊断与治疗[J].中华医院感染学杂志,2015,25(17):3856-3858.

[7] 朱丽莎,马青,艾彪,等.血培养中 32 例唐菖蒲伯克霍尔德菌分布特点及耐药性分析[J].国际检验医学杂志,2015,36

(16):2436-2437.

[8] 中华医学会重症医学分会.中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)[J].中华内科杂志,2015,54(6):557-581.

[9] VAN DE BEEK D,CABELLOS C,DZUPOVA O,et al. ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis[J]. *Clin Microbiol Infect*,2016,22(Suppl 3):S37-S62.

[10] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2015:12-13.

[11] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests[S]. *Twenty Sixth Informational Supplement*, 2016; M02-A12, M07-A10.

[12] ROMERO-GOMEZ M P,QUILES-MELERO M I,PENA GARCIA P,et al. Outbreak of *Burkholderia cepacia* bacteremia caused by contaminated chiorhexidine in a hemodialysis unit[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*,2008,29(4):377-378.

[13] 杨焦峰,王伟娟,康丽霞,等.血清降钙素原和 C 反应蛋白在细菌感染性疾病诊断中的价值[J].新乡医学院学报,2015,32(3):233-235.

(本文编辑:李胜利 英文编辑:徐自超)