

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.05.022

胎膜早破导致胎膜绒毛膜羊膜炎的细菌培养及药敏结果分析

刘柳柳 顾宁[△] 王志群 戴毅敏

(南京大学医学院附属鼓楼医院妇产科 江苏 南京 210008)

摘要 目的:分析胎膜早破(premature rupture of memberane, PROM)所致孕妇绒毛膜羊膜炎的细菌培养及药敏结果,探讨胎膜早破引起的绒毛膜羊膜炎主要致病菌的病原学特征,为围产期感染用药提供科学依据。**方法:**对2011年6月至2013年9月在我院分娩的597例破膜时间大于24小时的PROM孕妇的胎膜进行细菌培养及药敏试验。**结果:**597例破膜时间大于24小时的PROM孕妇的胎膜细菌培养中,86例培养阳性,阳性率为14.41%;培养阳性病例中革兰氏阴性杆菌占73.26%(63/86),革兰氏阳性菌占34.88%(30/86),培养最多的菌种是大肠埃希菌,占60.47%(52/86)。革兰氏阴性杆菌对亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、庆大霉素、头孢西丁、左氧氟沙星敏感;革兰氏阳性球菌对亚胺培南、丁胺卡那、哌拉西林/他唑巴坦、替考拉宁、万古霉素、利奈唑胺、庆大霉素、头孢西丁、左氧氟沙星敏感。**结论:**革兰氏阴性杆菌是PROM相关的绒毛膜羊膜炎的主要致病菌,应根据病原学特征合理应用抗生素。

关键词:胎膜早破;绒毛膜羊膜炎;细菌培养;药敏试验

中图分类号:R714.43 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)05-887-05

Bacterial Culture and Drug Susceptibility of Fetal Membranes in Chorioamnionitis Caused by Premature Rupture of Membranes

LIU Liu-liu, GU Ning[△], WANG Zhi-qun, DAI Yi-min

(Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu, 210008, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the bacterial culture and drug susceptibility of fetal membrane sample from women suffered chorioamnionitis with premature rupture of membranes (PROM), explore the feature of pathogenic bacteria induced chorioamnionitis and provide evidence for rational use of antibiotics. **Methods:** 597 fetal membrane samples of women with premature rupture of membranes beyond 24 hours from maternity department of our hospital from June 2011 to Sept 2013 were cultured. Bacterial strains were isolated and identified, and drug-susceptibility tests were done. **Results:** Among the 597 fetal membrane samples, 86 were infected by bacteria. The total positive rate was 14.41%. The infection of gram-negative bacilli accounted for 73.26%(63/86), whereas gram-positive cocci 34.88%(30/86). The strain with the highest isolated rate was E.coli, 60.47%(52/86). Gram-negative bacilli were sensitive to imipenem, piperacillin/tazobactam, cefoperazone / sulbactam, gentamicin, ceftazidime, levofloxacin. Gram-positive cocci were sensitive to imipenem, amikacin, piperacillin/tazobactam, vancomycin, linezolid, gentamicin, teicoplanin, and ceftazidime levofloxacin. **Conclusion:** Gram-negative bacilli are the main pathogenic bacteria isolated in fetal membrane samples of women with premature rupture of membranes. It is important to use antibiotics rationally according to the feature of pathogenic bacteria.

Key words: Premature rupture of membranes; Chorioamnionitis; Bacterial culture; Drug susceptibility test

Chinese Library Classification(CLC): R714.43 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)05-887-05

前言

绒毛膜羊膜炎是羊水、羊膜和绒毛膜的急性炎症,对母儿预后产生不良影响。绒毛膜羊膜炎可引起胎膜早破,而胎膜破裂后病原体上行感染,可引起绒毛膜羊膜炎,总之胎膜早破与绒毛膜羊膜炎关系密切。绒毛膜羊膜炎诊断标准很多,包括临床诊断标准、微生物学诊断标准和组织病理学诊断标准,其中微生物诊断标准是指羊水、绒毛膜、羊膜中培养出病原微生物^[1]。本研究对2011年6月至2013年9月在我院分娩的597

例破膜时间大于24小时的胎膜早破孕妇的胎膜进行细菌培养及药敏试验。分析胎膜早破孕妇中符合绒毛膜羊膜炎微生物学诊断标准(即胎膜细菌培养阳性)的孕妇主要致病菌的分布及药敏情况。为胎膜早破相关的绒毛膜羊膜炎的围生期感染用药提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2011年6月至2013年9月在我院分娩的破膜时间大于24小时的PROM孕妇,共597例,培养阳性86例。培养阳性孕妇中足月胎膜早破52例,未足月PROM为34例,其临床特点见表1。

作者简介:刘柳柳(1982-),硕士研究生,主要研究方向:病理产科

[△]通讯作者:顾宁,电话:13815879541, E-mail: leafroot@263.net

(收稿日期:2014-06-04 接受日期:2014-06-25)

表 1 胎膜细菌培养阳性患者临床资料

Table 1 Clinical feature of women with bacteria cultured from fetal membranes

	足月胎膜早破 (premature rupture of membranes)	未足月胎膜早破 (preterm premature rupture of membranes)
培养阳性例数 Positive culture	52	34
年龄(岁) Age (years)	28.9± 4.4	29.5± 5.7
孕周(周) Gestational weeks	39.3± 1.2	33.0± 2.5
破膜至分娩时间(h) PROM-to-delivery time (h)	39.9± 19.9	68.4± 39.1
剖宫产例数 Caesarean section	3	4
绒毛膜羊膜炎 Chorioamnionitis	3	3
胎儿宫内窘迫 Fetal distress	3	1
新生儿窒息 Neonatal asphyxia	0	2
新生儿重症监护治疗 NICU admission	2	16

1.2 标本采集

胎盘娩出放入无菌容器中,选取远离胎膜破裂处胎膜,消毒表面羊膜,用无菌血管钳去除表面羊膜,取下层绒毛膜,放入无菌容器中^[2,3]。

1.3 方法

1.3.1 仪器和试剂 二氧化碳培养箱,全自动细菌分析仪(法国生物梅里埃公司,型号:VITEK2 Compact)。试剂:血平板、巧克力平板,梅里埃鉴定及药敏试条。

1.3.2 操作步骤 胎膜标本接种在血平板及巧克力平板,放入二氧化碳培养箱培养 48 小时,无菌株生长,则培养阴性,有细菌生长,则使用全自动细菌分析仪来鉴定菌种,并用 M-H 平板纸片法行药敏试验。

1.4 诊断标准

1.4.1 胎膜早破的诊断标准 ① 孕妇突感有较多液体自阴道流出,可混有胎粪及胎脂,肛诊上推胎先露部可见阴道流液量增加,无腹痛等其他产兆;② 阴道窥器检查可见液体自宫口流出或阴道后穹窿有较多混有胎粪及胎脂的液体;③ 阴道液干燥片检查见羊齿植物叶状结晶;④ 阴道液 pH 值 6.5。

1.4.2 微生物标准诊断的绒毛膜羊膜炎 取材避免各种污染,通过微生物培养的方法,在羊水、绒毛膜、羊膜中检测出病原微生物。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 统计学软件进行处理,计量资料结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$),进行 t 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 胎膜培养细菌分布

597 例孕妇的胎膜细菌培养中,86 例培养阳性,阳性率为 14.41%。所有培养阳性病例中培养出一种菌株的孕妇占 87.21%(75/86),培养出两种菌株的孕妇占 11.63%(10/86),培养出三种菌株的孕妇占 1.16%(1/86)。其中革兰氏阴性杆菌占 73.26%(63/86),革兰氏阳性菌球菌占 34.88%(30/86)。培养阳性细菌主要为大肠埃希菌 60.47%(52/86),其次为粪肠球菌,15.12%(13/86),B 族链球菌阳性率不高,为 3.49%(3/86),详见表 2。

表 2 胎膜细菌分布

Table 2 The distribution of bacteria

菌种 Bacterial strain	培养阳性例数 Positive culture	培养阳性总数 Total cases	阳性率 Percentage
大肠埃希菌 <i>Escherichia coli</i>	52	86	60.47%
粪肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	13	86	15.12%
表皮葡萄球菌 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	86	4.65%
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	4	86	4.65%
无乳链球菌(B 群) <i>Streptococcus agalactiae</i>	3	86	3.49%
约氏不动杆菌 <i>Acinetobacter johnsonii</i>	2	86	2.33%
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	2	86	2.33%
肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	86	2.33%

麻疹孪生球菌 <i>Gemella morbillorum</i>	2	86	2.33%
人葡萄球菌 <i>Staphylococcus hominis</i>	2	86	2.33%
阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>	2	86	2.33%
豚气球菌 <i>Aerococcus</i>	1	86	1.16%
嗜麦芽寡养单胞菌 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	86	1.16%
鲍曼不动杆菌 <i>Acinetobacter baumannii</i>	1	86	1.16%
草绿色链球菌 <i>Streptococcus mitis</i>	1	86	1.16%
摩氏摩根菌 <i>Morganella morganii</i>	1	86	1.16%
光滑念珠菌 <i>Slick candida</i>	1	86	1.16%
液化沙雷菌 <i>Serratia liquefaciens</i>	1	86	1.16%
口腔链球菌 <i>Streptococcus oralis</i>	1	86	1.16%
沃氏葡萄球菌 <i>Staphylococcus warneri</i>	1	86	1.16%
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	86	1.16%

2.2 胎膜培养药敏结果

革兰氏阴性杆菌对亚胺培南、哌拉西林 / 他唑巴坦、头孢哌酮 / 舒巴坦、庆大霉素敏感率可达 90%以上,对头孢西丁、头孢吡肟、丁胺卡那、左氧氟沙星敏感率可达 85-90%,对红霉素敏感率仅 33.33%。革兰氏阳性球菌对亚胺培南、哌拉西林 / 他

唑巴坦、替考拉宁、万古霉素、利奈唑胺、庆大霉素、丁胺卡那敏感率 100%。对左氧氟沙星敏感率 76.5%，对氨苄西林敏感率 66.67%，对克林霉素敏感率 58.82%，对红霉素敏感率仅 29.41%，详见表 3。

表 3 细菌药敏结果

Table 3 Drug susceptibility of bacteria

杆菌(Bacilli)		球菌(Cocci)	
药物 Drug	敏感率 Sensitivity rate	药物 Drug	敏感率 Sensitivity rate
亚胺培南 Imipenem	98.39%	亚胺培南 Imipenem	100%
哌拉西林 / 他唑巴坦 Piperacillin/ tazobactam	96.77%	哌拉西林 / 他唑巴坦 Piperacillin/ tazobactam	100%
头孢哌酮 / 舒巴坦 Cefoperazone / sulbactam	96.61%	替考拉宁 Teicoplanin	100%
庆大霉素 Gentamicin	90.91%	万古霉素 Vancomycin	100%
头孢西丁 Cefoxitin	89.09%	庆大霉素 Gentamicin	100%
丁胺卡那 Amikacin	89.06%	利奈唑胺 Linezolid	100%
左氧氟沙星 Cefoxitin levofloxacin	85.71%	丁胺卡那 Amikacin	100%

头孢吡肟	85.48%	头孢西丁	85.71%
Cefepime		Cefoxitin	
氨曲南	83.05%	左氧氟沙星	76.47%
Aztreonam		Cefoxitin levofloxacin	
头孢他啶	82.26%	复方新诺明	75.00%
Ceftazidime		Chemitrim	
头孢呋辛	74.55%	氨苄西林	66.67%
Cefuroxime		Ampicillin	
头孢噻肟	69.09%	青霉素	63.33%
Cefotaxime		Penicillin	
红霉素	33.33%	克林霉素	58.82%
Erythromycin		Clindamycin	
哌拉西林	27.27%	红霉素	29.41%
Piperacillin		Erythromycin	

3 讨论

绒毛膜羊膜炎是常见的产科疾病,可引起母儿不良预后,如产褥感染、孕妇败血症、死胎、早产、新生儿败血症、新生儿支气管肺发育不良,尤其对早产儿神经系统发育造成不利影响^[4]。胎膜早破与绒毛膜羊膜炎关系密切,因此有许多关于胎膜早破相关的绒毛膜羊膜炎诊断、治疗、预防的研究。国内许多研究^[7-10]以胎膜早破孕妇宫颈分泌物为研究对象,进行细菌培养,意在通过治疗下生殖道感染,减少胎膜早破及相关的绒毛膜羊膜炎的发生,但笔者认为上生殖道微生物的检测更有意义。

绒毛膜羊膜炎的病原体除少部分来自血源感染,如李司忒氏菌属,绝大部分来自阴道、肠道菌群的上行感染。国外学者通过羊膜腔穿刺取羊水、剖宫产时取胎膜等标本收集的方法减少阴道污染,进行绒毛膜羊膜炎病原体的检测。他们的研究^[11,12]表明绒毛膜羊膜炎多为多种病原体的混合感染,主要病原体为需氧革兰氏阴性杆菌(主要为大肠埃希菌)、需氧革兰氏阳性球菌(主要为B族链球菌)、支原体(主要为解脲支原体和人型支原体)和厌氧菌(主要加德纳杆菌和拟杆菌等)。本研究需氧菌培养结果主要为革兰氏阴性杆菌,特别是大肠埃希菌,与国外研究结果相符。B族链球菌培养阳性率低,仅有三例,可能原因有:1)中国孕妇B族链球菌携带不如国外高;2)B族链球菌阳性者已行预防性治疗;3)标本收集、检测方法的不同。国外有报道^[11,12],支原体是绒毛膜羊膜炎检出率最高的病原体,其中解脲支原体为47%,人型支原体为30%,而本研究未进行支原体及厌氧菌检测,这也是本研究不足之处。

研究^[13-15]表明,广谱抗生素的应用可有效的降低绒毛膜羊膜炎引起的母儿并发症,因此广谱抗生素被普遍应用于治疗绒毛膜羊膜炎。国外研究^[16-18]推荐的标准治疗方案是静脉联合应用氨苄西林和庆大霉素,若为剖宫产分娩,则用克林霉素覆盖厌氧菌。有趣的是,尽管支原体是绒毛膜羊膜炎孕妇中分离出的最常见的病原体,但标准的抗生素治疗中均未涉及覆盖此种病原体的方案,且近期并没有研究表明大环内酯类抗生素的应用对绒毛膜羊膜炎母儿的预后有益。本研究结果显示庆大霉素对革兰氏阴性杆菌及阳性球菌敏感性均较高,分别为90.91%和100%,氨苄西林对球菌敏感性有66.67%,克林霉素对球菌

敏感率也可达58.82%,故国外的标准治疗方案同样适用于我国孕妇。在我们的研究中,不难发现,头孢西丁对革兰氏阴性杆菌敏感性及革兰氏阳性球菌敏感性均较高,分别为89.09%、85.71%,且头孢西丁对厌氧菌有一定作用,故头孢西丁也可作为治疗绒毛膜羊膜炎的方案,左氧氟沙星对革兰氏阴性杆菌及革兰氏阳性球菌均敏感,且其对支原体有一定作用,可以应用于产后无哺乳需求的孕妇,但其对厌氧菌敏感性差,需加用覆盖厌氧菌的抗生素。革兰氏阴性杆菌对哌拉西林敏感率性差,故可用含β内酰胺酶抑制剂的哌拉西林治疗。亚胺培南、万古霉素、丁胺卡那属于强效抗生素,不做常规用药,可用于其他药物耐药、无效的严重感染,如产妇的败血症。红霉素对球菌、杆菌均不敏感,可能与我院应用大环内酯类抗生素作为胎膜早破感染预防性用药有关。

综上所述,我们检测出的菌种与国外一些通过羊水穿刺取羊水培养及剖宫产取胎膜培养的细菌菌种基本一致,故不能单纯应用污染解释,有一定的临床指导意义。绒毛膜羊膜炎主要致病菌为大肠埃希菌和粪肠球菌,应使用广谱抗生素作为治疗用药,经验用药推荐静脉庆大霉素联合氨苄西林的方案或头孢西丁单药治疗。但临床医生对胎膜早破孕妇还是要及时采样进行病原学检查,根据结果选择合适的抗生素,既能有效防治母儿感染,又可防止耐药菌株的产生。但细菌培养往往有滞后性,阳性率低等缺点,国外已有应用分子PCR技术^[9]检测胎膜细菌,既不需要复杂的培养环境,提高了检出率,又不受是否应用抗生素影响,将来可能作为检测的重要手段之一。

参考文献(References)

- [1] Alan TN, William WA. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis[J]. Clin Perinatol, 2010, 37(2):339-354
- [2] Jones HE, Harris KA, Azizia M, et al. Differing Prevalence and Diversity of Bacterial Species in Fetal Membranes from Very Preterm and Term Labor[J]. PLoS One, 2009, 4(12): 8205-8205
- [3] Queiros da Mota V, Prodhon G, Yan P, et al. Correlation between placental bacterial culture results and histological chorioamnionitis: a prospective study on 376 placentas [J]. Clin Pathol, 2013, 66(3): 243-248
- [4] Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery[J]. N Engl J Med, 2000, 342:1500-1507

- [5] Thomas W, Speer CP. Chorioamnionitis: important risk factor or innocent bystander for neonatal outcome? [J]. Neonatology, 2011, 99: 177-187
- [6] Clark EA, Varner M. Impact of preterm PROM and its complication on long-term infant outcomes [J]. Clin Obstet Gynecol, 2011, 54(2): 358
- [7] 王文慧,肖玉会,王淑兰,等.胎膜早破孕妇宫颈分泌物细菌培养结果分析[J].现代中西医结合杂志,2011, 20(2):150-152
Wang Wen-hui, Xiao Yu-hui, Wang Shu-lan, et al. Bacterial culture of cervical Secreta sample from women with premature rupture of membrane[J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2011, 20(2):150-152
- [8] 石清蒲,李力,汪丛敏,等.未足月胎膜早破孕妇宫颈分泌物、羊水细菌培养及药敏结果分析[J].中国妇幼保健,2013,28(13):2036-2038
Shi Qing-pu, Li Li, Wang Cong-min, et al. Bacterial culture and drug susceptibility of cervical Secreta and amniotic fluid sample from women with preterm premature rupture of membrane [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2013, 28(13): 2036-2038
- [9] 崔建玲.胎膜早破孕妇宫颈分泌物细菌培养结果分析[J].当代医学, 2013, (10): 94
Cui Jian-ling. Bacterial culture of cervical Secreta sample from women with premature rupture of membrane [J]. Contemporary Medicine, 2013, (10):94
- [10] 尤海英,黄文静,屈洁霞.生殖道感染与未足月胎膜早破的关系[J].中国实用医药, 2012, 7(7): 28-29
You Hai-ying, Huang Wen-jing, Qu Jie-xia. Relationship between the reproductive tract infection and preterm premature rupture of membranes[J]. China Practical Medicine, 2012, 7(7): 28-29
- [11] Sperling RS, Newton E, Gibbs RS, et al. Intraamniotic infection in low-birth-weight infants[J]. J Infect Dis, 1988, 157(1): 113-117
- [12] Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal Pathogens[J]. Clin Microbiol Rev, 2005, 18(4): 757-789
- [13] Hopkins L, Smaill F. Antibiotic regimens for management of intraamniotic infection[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2002: CD003254
- [14] Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomised trial.ORACLE Collaborative Group[J]. Lancet, 2001, 357 (9261): 979-988
- [15] Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W. Broad-spectrum antibiotics for spontaneous preterm labour: the ORACLE II randomised trial. ORACLE Collaborative Group[J]. Lancet, 2001,357(9261):989-994
- [16] Locksmith GJ, Chin A, Vu T, et al. High compared with standard gentamicin dosing for chorioamnionitis: a comparison of maternal and fetal serum drug levels[J]. Obstet Gynecol, 2005, 105:473
- [17] ACOG Practice Bulletin No.139:premature rupture of membranes[J]. Obstet Gynecol, 2013, 122(4): 918-930
- [18] Kenyon S, Boulvain M, Neilson J. Antibiotics for preterm rupture of the membranes: a systematic review [J]. Obstet Gynecol, 2004, 104 (5): 1051-1057

(上接第 899 页)

- [13] Jackson L S, Davis J W, Kaups K L, et al. Percutaneous tracheostomy: to bronch or not to bronch-that is the question [J]. J Trauma, 2011,71 (6): 1553-1556
- [14] Cho YJ. Percutaneous dilatational tracheostomy [J]. Tuberc Respir Dis (Seoul), 2012,72(3):261-274
- [15] Yugu6 I, Okada S, Ueta T, et al. Analysis of the risk factors for tracheostomy in traumatic cervical spinal cord injury[J]. Spine, 2012,37 (26):1633-1638
- [16] Riant F, Bergametti F, Fournier H D, et al. CCM3 Mutations Are Associated with Early-Onset Cerebral Hemorrhage and Multiple Meningiomas E[J]. Molecular Syndromology, 2013,4 (4): 165-172
- [17] Hurley M, Smyth A. New agents to treat lung infection in cystic fibrosis, a big enough leap[J]. Future Med Chem, 2013,5(2):117-120
- [18] Mystakelli C, Gourgiotis S, Aravosita P, et al. Lung Abscess in a Patient With VAP. A Rare Case of Lung Infection Complicated by Two Pathogens[J]. J Clin Med Res, 2013,5(1):64-66
- [19] Leelapattana P, Fleming JC, Gurr KR, et al. Predicting the need for tracheostomy in patients with cervical spinal cord injury[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2012,73(4):880-884
- [20] Ganuza JR, Garcia Forcada A, Gambarrutta C, et al. Effect of technique and timing of tracheostomy in patients with acute traumatic spinal cord injury undergoing mechanical ventilation [J]. J Spinal Cord Med, 2011,34(1):76-84