

血培养双侧双瓶临床应用的回顾性分析

王玉蓉^{1,2}, 李洋¹, 王珏¹, 范坤¹, 夏文颖¹, 刘根焰¹, 赵旺胜^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院检验学部, 江苏 南京 210029; ²东南大学附属南京江北人民医院检验科, 江苏 南京 210048)

[摘要] 目的:比较血培养双侧双瓶与单瓶阳性率和污染率的差异,探讨血培养双侧双瓶的临床应用价值。方法:采用全自动血培养仪对 2012 年南京医科大学第一附属医院住院患者送检的血液标本进行培养,其中 1~6 月 963 份为单瓶培养;7~12 月 2 405 份为双侧双瓶培养;阳性标本做病原菌鉴定,对双侧双瓶和单瓶的阳性率和污染率分别进行统计分析。结果:2 405 份双侧双瓶标本,有 282 份培养出细菌,其中 37 份凝固酶阴性葡萄球菌和棒状杆菌属细菌根据 CLSI M47-A 血培养指南判定为疑似污染菌,阳性率为 10.2%(245/2 405),污染率为 1.54%(37/2 405),阳性污染率 13.12%(37/282);963 份单瓶标本,有 72 份细菌培养阳性,其中 15 份凝固酶阴性葡萄球菌和棒状杆菌属疑为污染,阳性率为 5.92%(57/963),污染率 1.66%(15/963),阳性污染率 20.8%(15/72)。在双侧双瓶标本分离的 282 株细菌中,有 56 株仅在厌氧瓶中生长,占总菌株 19.9%(56/282),其中,分离出 10 株厌氧菌,46 株兼性厌氧菌。结论:双侧双瓶阳性率明显高于单瓶,双侧双瓶有助于临床对血培养结果的合理分析,推广血培养双侧双瓶具有重要临床意义。

[关键词] 血培养;双侧双瓶;阳性率;污染率

[中图分类号] R446.11

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2014)10-1389-03

doi:10.7655/NYDXBNS20141025

菌血症或真菌血症发病率近 10 年来持续增加,血培养则是目前临床诊断菌血症和真菌血症的最基本且很重要的方法,正确和规范的血培养结果对感染性疾病的诊断、治疗和预后都有极为重要的临床意义。然而,目前国内常规血培养多数采用单瓶^[1-2],尽管美国临床实验室标准化协会(CLSI)在 2007 年血培养指南中推荐血培养应采血 2~3 套^[3],但国内血培养常规采集 2 套标本(双侧双瓶)的医院很少。本院在前几年血液科推广双侧双瓶血培养试点的基础上,于 2012 年 7 月全面推行双侧双瓶培养,现将应用结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

血培养标本来自于 2012 年南京医科大学第一附属医院住院的成人患者,其中 1~6 月 963 份为单瓶培养,7~12 月 2 405 份应用双侧双瓶培养。

血培养采用美国 BD 公司 FX400 全自动血培养仪;细菌鉴定采用法国梅里埃公司 VITEK2 COMPACT;BACTEC PLUS/F 树脂需氧培养瓶和

BACTEC Lytic/10 含溶血素厌氧培养瓶,均为美国 BD 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 血液采集要求

无菌消毒后在 30 min 内用蝶形针自患者双臂 2 个静脉穿刺点采血 30~40 ml,分别注入需氧瓶和厌氧瓶各 2 瓶,血量 8~10 ml/瓶,立即送检,单瓶培养仅从患者单侧采血 8~10 ml 注入 1 个需氧瓶。

1.2.2 双侧双瓶定义

双侧双瓶是指从一个部位采血接种一套培养瓶,再从另一部位采血接种另一套培养瓶,一个需氧瓶和一个厌氧瓶为一套血培养。

1.2.3 疑似污染定义

根据 CLSI-M47-A^[3]的结果判读标准,对血培养污染相关的微生物包括芽孢杆菌属、棒状杆菌属、丙酸杆菌、气球菌属、微球菌属和单瓶凝固酶阴性葡萄球菌与临床医师沟通后,结合临床病历资料中体温、白细胞(WBC)计数和感染相关症状综合判读是否为疑似污染菌。

1.3 统计学方法

应用 Epicalc 软件进行两组阳性率的非校正卡方检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

[基金项目] 国家自然科学基金资助(31070312)

*通信作者(Corresponding author), zwsjsph@sohu.com

2 结果

2.1 血培养双侧双瓶与单瓶阳性率和污染率比较

在 2 405 份双侧双瓶血培养标本中, 有 282 份样本培养出细菌, 其中 37 份凝固酶阴性葡萄球菌和棒状杆菌属疑为污染; 在 963 份单瓶血培养标本中, 阳性标本 72 份, 其中 15 份为凝固酶阴性葡萄球菌和棒状杆菌属疑为污染; 根据疑似污染定义, 血培养双侧双瓶与单瓶阳性率和污染率结果比较见表 1。双侧双瓶培养阳性率明显高于单瓶 ($\chi^2 = 15.36, P < 0.05$)。

表 1 血培养双侧双瓶与单瓶阳性率和污染率比较 (%)

组别	阳性率 ^a	污染率 ^b	阳性污染率 ^c
双侧双瓶	10.20(245/2 405)	1.54(37/2 405)	13.10(37/282)
单瓶	5.92(57/963)	1.56(15/963)	20.83(15/72)

a: 阳性率为病原菌数/标本数; b: 污染率为污染菌数/标本数; c: 阳性污染率为污染菌数/阳性标本数。

2.2 血培养阳性标本中需氧瓶与厌氧瓶细菌生长的结果比较

在双侧双瓶培养阳性的 282 份标本中, 需氧瓶、厌氧瓶同时有细菌生长的共 102 份, 占 36.2%; 仅需氧瓶生长细菌的有 124 份, 占 43.9%; 仅厌氧瓶生长细菌的为 56 份, 占 19.9%; 其中, 专性厌氧菌有 10 株, 主要以脆弱拟杆菌、消化链球菌和具核梭杆菌为主, 兼性厌氧菌有 46 株, 多以葡萄球菌、大肠埃希菌和链球菌等为主。需氧瓶与厌氧瓶细菌生长比较见表 2。

2.3 单瓶和多瓶阳性分离菌比较

在 282 株血培养阳性菌株中, 有 46 株 4 个瓶均生长, 23 株菌在 3 个瓶生长, 88 株菌在 2 个瓶生长, 125 株菌仅单瓶生长(表 3)。

3 讨论

如何提高血培养的阳性率, 力争快速而又准确

表 2 需氧瓶与厌氧瓶细菌分离结果的比较

双侧双瓶阳性分布情况	凝固酶阴性葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌	克雷伯菌	其他肠杆菌科	铜绿假单胞菌	不动杆菌属	其他非发酵菌	肠球菌属	链球菌属	真菌	厌氧菌
需氧	44	5	9	3	2	18	20	6	7	2	8	0
厌氧	12	4	16	4	2	0	1	0	3	2	2	10
需氧+厌氧	17	10	30	14	6	0	4	0	8	11	2	0
合计	73	19	55	21	10	18	25	6	18	15	12	10

表 3 282 株血培养阳性菌单瓶和多瓶生长情况比较

生长瓶数	凝固酶阴性葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	肠杆菌科	铜绿假单胞菌	不动及其他非发酵菌	真菌	肠球菌	链球菌	厌氧菌
1	49	4	29	5	14	6	11	3	4
2	14	5	25	13	17	4	3	1	6
3	5	2	8	0	0	2	2	4	0
4	5	8	24	0	0	0	2	7	0

地提供病原学报告, 使患者得到及时的诊断和治疗, 一直是临床医生和微生物检验人员共同探讨和关心的问题。双侧采血培养的优点在于不同部位采血增加了捕捉细菌的机会, 血液中的细菌不是每时每刻流动于体内的各个部位, 仅单侧采集血培养的阳性率就不高; 另外, 获得血中细菌的最佳条件是要足够的血量, 血量和血培养之间有着直接的关系, 血流感染时, 成人每毫升血液中细菌含量一般为 0~5 CFU, 增加血培养血量, 就能增加血中细菌的检出率^[4-5], 研究表明当血培养的血量在 2~30 ml 的范围内, 病原菌的阳性培养率与血量呈正比^[6]。本实验结果显示, 采用双侧双瓶血培养, 阳性率为 10.2%, 明显高于单侧单瓶的 5.9% ($P < 0.05$), 这与

双侧不同部位采血和总血量达到 30~40 ml 有很重要的关系。

在上世纪 70 年代研究提示厌氧菌血症呈现下降趋势^[7-8], 因而从 80 年代起许多研究者推荐常规血培养仅用需氧瓶, 国内几十年来血培养几乎都采用单一需氧瓶, 但近年来许多研究者对以往推荐的这种培养方式持怀疑态度, Khanna 等^[9]研究发现在 640 份血培养阳性标本中, 需氧瓶和厌氧瓶同时阳性为 55%, 仅需氧瓶阳性 26%, 仅厌氧瓶阳性有 19%; Riley 等^[10]研究则认为, 与单个需氧瓶相比, 需氧和厌氧瓶搭配的培养模式可以培养出更多的厌氧菌和葡萄球菌、肠杆菌科细菌。本研究结果也揭示, 需氧瓶加厌氧瓶检测到细菌的几率明显高于单

个需氧瓶,从表2可见,282株细菌中仅在需氧瓶生长的为124株(43.9%),而仅在厌氧瓶生长的有56株,占总菌株的19.9%(56/282),其中培养出10株厌氧菌,实验结果表明,血培养仅用需氧瓶,就无法分离出厌氧菌,同时较多的兼性厌氧菌也有可能漏检,造成阳性率降低,所以常规血培养推荐使用双瓶具有一定的临床意义。

另外,血培养如采用单瓶,常常在培养出凝固酶阴性葡萄球菌时,无法确认和区分是污染还是病原体感染,导致不能给临床诊断和治疗提供准确的信息和依据。如果采用双侧双瓶,通过比较凝固酶阴性葡萄球菌是在单瓶生长,还是多瓶生长,就能帮助临床分析是否污染。本实验结果显示,培养出的73株凝固酶阴性葡萄球菌,有49株是1瓶生长,经查阅患者病历,有37例白细胞总数不高,不发热,没有明显的临床症状,且临床医生未给予抗生素治疗,判断为疑似污染。其他12株结合临床排除污染。本研究结果显示,采用双侧双瓶血培养,如单瓶生长凝固酶阴性葡萄球菌,通常考虑为污染,但最终判定为污染必须由临床医生结合病史决定。本研究中有24株凝固酶阴性葡萄球菌是2瓶或3瓶以上生长,判定为感染病原体。国外许多研究证实^[7],如果凝固酶阴性的葡萄球菌与草绿色链球菌在血培养中2次被检出,即可判定为病原菌;据报告,在1024份培养出的凝固酶阴性葡萄球菌的血液样本中有272株(27%)具有临床意义^[11]。因此,血培养采用双侧双瓶,并不会增加采血的污染率,还可帮助临床医生在真阳性中辨别出是否皮肤污染造成的假阳性。

[参考文献]

[1] 徐宁,李丰良.血培养病原菌分布及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2013,22(3):627-629
[2] 张锦英,梅亚宁,赵旺胜.1906份血细菌培养结果分析

[J].南京医科大学学报:自然科学版,2000,20(5):404-405
[3] CLSI. Principles and procedures for blood cultures; Approved guideline. CLSI document M47-A[S]. Wayne, PA: Clinical and laboratory standards institute, 2007
[4] Patel R, Vetter EA, Harmsen WS, et al. Optimized pathogen detection with 30-compared to 20-milliliter blood culture draws [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(12): 4047-4051
[5] Lin HH, Liu YF, Tien N, et al. Evaluation of the blood volume effect on the diagnosis of bacteremia in automated blood culture systems [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2013, 46(1): 48-52
[6] Cockerill III FR, Wilson JW, Vetter EA, et al. Optimal testing parameters for blood cultures [J]. Clin Infect Dis, 2004, 38(12): 1724-1730
[7] Lassmann B, Gustafson DR, Wood CM, et al. Reemergence of anaerobic bacteremia [J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(7): 895-900
[8] Roh KH, Kim JY, Kim HN, et al. Evaluation of BACTEC Plus aerobic and anaerobic blood culture bottles and BacT/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles for the detection of bacteremia in ICU patients [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012, 73(3): 239-242
[9] Khanna P, Collignon P. Anaerobic bottles are still important in blood culture sets [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2001, 20(3): 217-219
[10] Riley JA, Heiter BJ, Bourbeau PP. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/ALERT FAN aerobic blood culture bottles with recovery from one fan aerobic bottle and one FAN Anaerobic Bottle [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(1): 213-217
[11] Savithri MB, Iyer V, Jones M, et al. Epidemiology and significance of coagulase-negative staphylococci isolated in blood cultures from critically ill adult patients [J]. Crit Care Resusc, 2011, 13(2): 103-107

[收稿日期] 2014-05-13