血培养实验室污染菌群分布与阳性报警时间的判断*

答 嵘¹, 吴友伟², 王 伟^{3△}, 雷金娥¹ (1. 西安交通大学第一附属医院检验科 710061; 2. 陕西省人民医院消化内二科, 西安 710068; 3. 西安交通大学第一附属医院神经外科 710061)

【摘要】 目的 通过回顾西安交通大学第一附属医院血培养病原菌的检出情况进行污染菌判定的实验室检查, 了解血培养污染情况, 为临床判断血培养污染提供实验室证据与经验。方法 对西安交通大学第一附属医院 2014 年 1~12 月的血培养标本进行回顾性分析, 根据实验室对血培养污染的评估方案, 结合细菌种类、阳性报告时间进行综合分析, 判断血培养污染并分析其细菌种类与构成。结果 该研究共包含血培养 17 941 瓶, 其中阴性 7 193 套, 阳性 837 套, 成套率为 89.5%。血培养阳性率为 10.4%, 其中污染率为 1.6%, 主要污染菌为凝固酶阴性葡萄球菌, 污染菌阳性报警时间平均值在需氧瓶与厌氧瓶分别为 1.34 与 1.29 d。双瓶结果不一致的培养结果中多致病菌与条件致病菌。结论 血培养污染菌主要为皮肤常驻菌, 为降低血培养污染率, 严格执行血培养采血规范具有重要意义, 同时需重视住院患者采血环境的消毒。

【关键词】 血培养; 污染; 细菌

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.18.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)18-2647-03

Laboratory contamination bacterial distribution of blood culture and judgment of positive alarm time* DA Rong¹, WU You-wei², WANG Wei^{3△}, LEI Jin-e¹ (1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. Department of Gastroenterology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710068, China; 3. Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

【Abstract】 Objective To understand the bacterial contamination situation of blood culture to provide the laboratory evidence and experience for the clinical judgment of blood culture contamination by retrospectively analyzing the pathogenic bacterial detection situation of blood culture and laboratory judgment detection of contamination bacteria in the First Affiliated Hospital of Xi'an First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University Jiaotong University.

Methods The blood culture samples collected in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from January 2014 to December 2014 were retrospectively analyzed. The comprehensive analysis was performed according to the laboratory assessment scheme on blood culture contamination and combining with the bacterial species and positive report time for judging the blood culture contamination and analyzing the bacterial species and their composition.

Results This research contained 17 941 bottles of blood culture, including 7 193 sets of negative and 837 sets of positive, the complete set rate was 89.5%. The positive rate of blood culture was 10.4%, of which the contamination rate was 1.6%. The main contaminated bacteria were coagulase negative staphylococcus, and average alarm time of contaminated bacteria in aerobic and anaerobic bottles was 1.34, 1.29 d, respectively. The pathogenic bacteria and opportunistic pathogenic bacteria were common in the culture results of two bottles with the inconsistent culture results.

Conclusion Blood culture contaminating bacteria are mainly skin resident bacteria. To reduce the contamination rate of blood culture, it is vital to strictly execute the standard blood sampling procedure, and emphasize the sterilization of blood-collecting environment in hospitalized patients.

【Key words】 blood culture; contamination; bacteria

血流感染是临床上的急危重症, 准确、及时的抗感染治疗对于挽救患者生命至关重要。临床微生物检验能够为临床目标性抗感染治疗提供实验室依据, 血培养是血流感染的病原学检查的“金标准”。但是临床微生物检验报告提示的病原菌并非一定是致病菌, 血培养污染及判定对于临床正确使用抗菌药物, 避免滥用具有重要意义。现对西安交通大学第一附属医院 17 941 份血培养标本中污染菌的菌种与分布进行分析, 为临床血流感染治疗中正确判断致病菌提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 1~12 月西安交通大学第一附属医

院检验科微生物室接收的独立血培养套数(1 个静脉穿刺点取的血培养计算为 1 套), 1 个患者可以有 1 套或多套血培养。

1.2 仪器与试剂 BacT/ALERT 3D 全自动细菌/分枝杆菌培养监测系统(生物梅里埃, 法国), VITEK 2 全自动微生物分析系统(生物梅里埃, 法国), VITEK 2 COMPACT 全自动微生物分析系统(生物梅里埃, 法国), VITEK MS 全自动快速质谱微生物检测系统(生物梅里埃, 法国), CO₂ 培养箱(力申, 中国), 生物安全柜(鑫贝西, 中国), 中和抗菌药物需氧瓶、厌氧瓶、小儿瓶(生物梅里埃, 法国), 血琼脂平板(生物梅里埃, 法国), 巧克力平板(生物梅里埃, 法国), 鉴定与药敏卡(生物梅里

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81000767)。

作者简介: 答嵘, 女, 博士, 主管技师, 主要从事临床微生物学与感染方面的研究。△ 通讯作者, E-mail: wei_wangdoc@163.com。

埃,法国)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与处理 临床护士无菌操作采集血标本后注入血培养瓶,立即送检至检验科。条码扫描后,放入血培养仪内进行培养,培养瓶内微生物代谢产生 CO₂ 可渗透感应器,同显色基中多聚二甲基聚合物发生不可逆的反应,使之颜色由墨绿色变为淡绿色或金黄色,检测仪通过对感应器颜色的检测而判断阳性。如果经过一定时间培养后颜色没有显著变化,此标本即为阴性。

1.3.2 病原菌鉴定 阳性标本转种于血琼脂平板、巧克力平板,同时涂片进行革兰染色与显微镜检,并将涂片结果通知临床作为一级报告。转种后生长的菌株按照操作规程进行鉴定和药敏试验,并发出正式的细菌检验报告单为三级报告。阴性标本培养 5 d 血培养仪仍未出现阳性信号,报告培养 5 d 无细菌生长。

1.3.3 实验室对血培养污染的判定 计数血培养生长痤疮丙酸杆菌、芽孢杆菌、微球菌或凝固酶阴性的葡萄球菌的套数,这些细菌可能是污染菌。芽孢杆菌、微球菌和痤疮丙酸杆菌属于污染菌,部分无法鉴定到种的革兰阳性杆菌,单瓶阳性或双瓶阳性且细菌相同均判断为污染。凝固酶阴性的葡萄球菌单瓶阳性判断为污染,如双瓶培养出同一种菌则判断为致病菌。如培养出其他病原菌,双瓶培养阳性菌不同,考虑为污染菌。

1.4 统计学处理 血培养污染率(%) = 培养出污染菌的套数/接收血培养的总套数 × 100%。

2 结果

2.1 血培养病原菌分布 本研究共包括血培养 17 941 瓶,成套送检的为 8 030 套,成套率为 89.5%。阳性套数为 837 套,血培养阳性率为 10.4%。判断为病原菌的阳性套数为 711 套,需氧单瓶阳性为 219 套,厌氧单瓶阳性为 100 套,双瓶同时阳性为 392 套。病原菌分布见表 1。

表 1 阳性成套血培养病原菌分布

组别	病原菌	n
需氧瓶	大肠埃希菌	38
	铜绿假单胞菌	34
	鲍曼不动杆菌	24
	马耳他布鲁菌	14
	白色念珠菌	8
	肺炎克雷伯菌	8
	新生隐球菌	8
	近平滑念珠菌	7
	光滑念珠菌	6
	金黄色葡萄球菌	6
其他	66	
厌氧瓶	大肠埃希菌	35
	屎肠球菌	11
	金黄色葡萄球菌	8
	肺炎克雷伯菌	5
	脆弱拟杆菌	4
	血链球菌	3
	产气肠杆菌	2

续表 1 阳性成套血培养病原菌分布

组别	病原菌	n
双瓶	铜绿假单胞菌	2
	粪便拟杆菌	2
	中间普雷沃菌	2
	其他	26
	大肠埃希菌	173
	肺炎克雷伯菌	49
	金黄色葡萄球菌	36
	表皮葡萄球菌	17
	屎肠球菌	17
	阴沟肠杆菌	15
	粪肠球菌	10
	产酸克雷伯菌	6
	缓症/口腔链球菌	5
	咽峡炎链球菌	4
	其他	60

表 2 需氧瓶污染菌分布与阳性报警时间

病原菌	n	阳性报警时间范围(d)	平均阳性报警时间(d)
人型葡萄球菌	31	0.67~1.20	0.83
表皮葡萄球菌	26	0.27~3.70	1.39
藤黄/里拉微球菌	10	1.12~3.04	1.79
溶血葡萄球菌	8	0.67~4.21	1.41
科氏葡萄球菌	5	1.05~1.72	1.29
革兰阳性杆菌	4	0.51~4.98	2.57
杰氏棒杆菌	2	2.89~3.41	3.15
耳葡萄球菌	1	1.43	1.43
沃氏葡萄球菌	1	0.69	0.69
山羊葡萄球菌	1	1.32	1.32
解脲棒杆菌	1	0.78	0.78
蜡样芽孢杆菌	1	1.22	1.22
枯草芽孢杆菌	1	2.67	2.67
平均	—	0.27~4.98	1.34

注:—表示无数据。

表 3 厌氧瓶污染菌分布与阳性报警时间

病原菌	n	阳性报警时间范围(d)	平均阳性报警时间(d)
表皮葡萄球菌	8	0.83~1.70	1.16
头状葡萄球菌	3	0.74~1.63	1.19
科氏葡萄球菌	3	1.25~1.40	1.32
缓慢葡萄球菌	1	0.99	0.99
革兰阳性杆菌	1	1.91	1.91
杰氏棒杆菌	1	2.20	2.20
平均	—	0.74~2.20	1.29

注:—表示无数据。

2.2 血培养污染率 实验室判断为血培养污染的为 126 套, 污染率为 1.6%。其中 92 套需氧瓶单瓶阳性, 污染菌分布与阳性报警时间见表 2。17 套厌氧瓶单瓶阳性, 污染菌分布与阳性报警时间见表 3。17 套双瓶同时阳性。双瓶阳性中有 2 套分离菌相同, 15 套则双瓶培养出不同的细菌。污染菌分布与阳性报警时间见表 4。

表 4 双瓶污染菌分布与阳性报警时间(d)

病原菌	阳性报警时间(d)	病原菌	阳性报警时间(d)
大肠埃希菌	0.53	产酸克雷伯菌	0.98
大肠埃希菌	0.42	无乳链球菌	1.10
大肠埃希菌	1.46	铜绿假单胞菌	0.74
弗氏柠檬酸杆菌	0.84	沃氏葡萄球菌	1.43
格式乳球菌	0.70	血链球菌	1.23
金黄色葡萄球菌	2.00	铜绿假单胞菌	0.87
金黄色葡萄球菌	0.74	人型葡萄球菌	0.74
具核梭菌多形亚种	0.27	表皮葡萄球菌	0.72
蜡样芽孢杆菌	0.67	大肠埃希菌	0.17
铅黄肠球菌	0.80	木糖氧化无色杆菌	1.00
人型葡萄球菌	1.39	非脱羧鞘克菌	0.33
少见嗜铜菌	0.47	脆弱拟杆菌	0.75
尿肠球菌	0.70	普通拟杆菌	1.14
铜绿假单胞菌	0.47	大肠埃希菌	0.43
铜绿假单胞菌	1.05	不解糖嗜脲菌	1.28
革兰阳性杆菌	2.25	革兰阳性杆菌	4.33
蜡样芽孢杆菌	0.50	蜡样芽孢杆菌	0.50

3 讨 论

血培养是血流感染诊断的金标准, 随着全自动血培养仪在临床微生物实验室的广泛应用, 不仅提高了血培养的报告速度, 更是大大提高了血培养检测的敏感性。目前临床使用的血培养仪主要原理是根据培养过程中微生物代谢产生 CO₂ 的量引起颜色或荧光值的改变判断血培养瓶中是否有致病菌, 比传统的手工方法靠肉眼观察培养基是否变浑浊灵敏度得到显著提高。但另一方面, 相伴而来的是污染菌的检出率也相应地提高, 所以临床分析血培养结果的数据时, 需要排除污染菌而确定致病菌才能正确进行目标性抗感染治疗。作者对血培养数据进行分析, 拟寻求血培养污染菌的菌群分布与阳性报警时间的特点, 为临床正确判断致病菌提供实验室依据。

本研究共包括 17 941 份血培养瓶, 临床科室多成套送检, 每套包括 1 个需氧瓶和 1 个厌氧瓶, 共 8 030 套, 其中重症监护病房送检多为双套到 3 套, 儿科病房多只送单个小儿瓶。在经过检验科与临床沟通与努力, 血培养瓶成套率达到 89.5%, 临床医护人员的协作使血培养质量明显提高, 同时成套送检对于判断血培养污染很有价值^[1-2]。本研究结果显示, 西安交通大学第一附属医院血培养阳性率为 10.4%, 与文献报道持平, 提示临床血培养采集时机与采集指征掌握恰当。在阳性血培养中, 双瓶同时报阳性的有 392 套, 占到阳性中的 55.1%, 需氧瓶单独报阳性的有 219 套, 占到阳性中的 30.8%, 厌氧瓶单独报阳性的有 100 套, 占到阳性中的 14.1%。上述数据可以看出阳性血培养中需氧瓶比例为 85.9%, 而厌氧瓶比例为 69.2%, 其差异考虑是由于酵母菌等仅于需氧瓶中生长的病原菌所致。数据同时提示血培养采集双瓶非常有必要, 如果只采

需氧瓶, 则会漏掉 14.1% 的病原菌。血流感染中大肠埃希菌为最常见的病原菌, 与文献报道一致^[3]。单独需氧瓶中真菌居于重要地位, 厌氧瓶中厌氧菌引起的血流感染亦需引起临床重视。

血培养污染菌会误导抗菌药物的使用, 严重影响患者的治疗, 延长住院时间、增加额外的检查^[4]。血培养采集与运送中许多重要因素都会影响污染率, 包括严格执行标准操作规程、无菌手套、消毒培养瓶口、采血后先注入血培养瓶、专人送检、监测污染率等。虽然皮肤消毒剂究竟哪一类最有效仍存在争议, 但是含有乙醇的消毒剂还是值得推荐的^[5]。成年患者血培养污染率为 0.6%~6.0%, 而儿童血培养污染率为 1.18%, 1 岁以下为 2.07%, 1~6 岁为 0.94%, 6 岁以上儿童为 0.61%^[6]。本研究数据表明, 西安交通大学第一附属医院的血培养污染率为 1.6%, 低于行业要求 3% 的标准, 表明血培养采集消毒规范。单独需氧瓶阳性的为 92 套, 占到 126 套污染中的 73.0%, 而厌氧瓶单独阳性与双瓶阳性的均为 17 套, 均占 13.5%。血培养污染中需氧瓶占到 86.5%, 考虑可能原因是血培养采集后首先注入厌氧瓶而后注入需氧瓶, 所以皮肤表面菌引起采血初血液污染所致。研究表明通过将最初采集的 1 mL 血标本弃掉能够使血培养污染率降低 30.34%^[7]。单独需氧瓶阳性中污染菌主要是凝固酶阴性的葡萄球菌, 占到 79.3%, 其次是微球菌。文献报道, 儿童血培养污染以凝固酶阴性的葡萄球菌为主, 与本文成人数据相似, 而其他学者也有类似的研究结果^[8-9]。人型葡萄球菌在需氧瓶污染中位列第一, 而表皮葡萄球菌则在需氧瓶与厌氧瓶污染中均位于前列。需氧瓶与厌氧瓶污染菌的阳性报警时间平均值分别为 1.34 和 1.29 d, 提示临床判断血培养污染菌时可参考血培养瓶阳性报警时间。

血培养污染的来源包括患者皮肤、采血器具、将血液注入培养瓶的工具、采血人员的皮肤、采血环境等。本研究中值得关注的是血培养污染中双瓶培养结果不一致的污染菌种类, 其中大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌等临床重要的致病菌与条件致病菌均有检出, 这样的结果容易造成临床判断的困扰。而且阳性报警时间并未延长, 这些病原菌是如何污染血培养的, 作者考虑可能与血培养采集局部环境有关。此时, 应结合患者的临床症状、体征及其他辅助检查结果进行综合评判。血流感染患者多为危重患者, 呼吸系统、泌尿系统等感染常出现于患者采集血培养之前, 患者咳嗽、接触等造成局部环境病原菌密度较高, 可能是这类污染的重要原因之一。可以通过规范操作、加强消毒等措施降低此类情况所致血培养污染的发生^[10-11]。采用严格无菌技术, 包括戴无菌手套、大量氯己定消毒皮肤、使用无菌围帘, 能够明显降低急诊患者血培养污染率^[12]。

综上所述, 本研究通过对 17 941 份临床血培养标本培养结果的分析, 发现血培养污染率在规范操作的情况下发生率能够控制在 3% 以下, 血培养阳性菌的种类与阳性报警时间均有助于污染菌的判断。但是需氧瓶与厌氧瓶阳性菌种类不一致时, 如何判断需要进一步研究。同时, 其中一些常见致病菌与条件致病菌究竟如何污染血培养需要进一步查明, 从而为临床避免血培养污染提供理论依据。

参考文献

[1] 王坚铤, 汤瑾, 庄亦晖, 等. 双套血培养对提高血流感染检出率和鉴别污染的评价[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(6):440-443. (下转第 2653 页)

动药敏试验,敏感率 100.0%,它是一种新型静脉注射用甘氨酸四环素类抗菌药物。本研究中,大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌株逐年增多,可能为此类菌株对 β-内酰胺酶类药物耐药的原因之一,对于 ESBLs 菌株的出现“应避免长期使用第 3 代头孢菌素或同类间频繁更换”以减少细菌对 ESBLs 类抗菌药物耐药性的产生。本研究非发酵菌中,铜绿假单胞菌 2012~2014 年对氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦类药物耐药率小于 30.0%,对头孢吡肟、舒普深、妥布霉素、左氧氟沙星、阿米卡星及碳青霉烯类药物耐药率较低,但在 2012~2014 年相继出现有耐药率大于 30.0% 情况,提示要慎重使用此类药物。鲍曼不动杆菌对大多数药物耐药率超过 75.0%,提示鲍曼不动杆菌大多为全耐或泛耐菌株。为了给临床提供更多药物选择,本院微生物室在 2014 年进行了舒普深、替加环素药敏试验,耐药率均小于 30.0%。粪肠球菌对氨苄西林、呋喃妥因、利奈唑胺、青霉素 G、万古霉素类药物耐药率均小于 30.0%,尤其对利奈唑胺、青霉素 G、万古霉素类药物敏感率为 100.0%。尿肠球菌对利奈唑胺、奎奴普汀/达福普汀、替加环素、万古霉素耐药率小于 30.0%。本研究中,有些致病菌在 2014 年的耐药率低于 2012、2013 年,考虑可能与本院加强耐药监测、临床不断规范抗菌药物使用有关。

总之,本院尿路感染患者逐年增加,尿路感染主要致病菌是大肠埃希菌,每年感染菌株种类也有所不同,及时开展耐药机制研究对临床合理规范用药,防治泛耐药或全耐药菌株很有帮助。

参考文献

[1] 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,2006:472-531.

[2] Laupland KB, Ross T, Pitout JD, et al. Community on se-
 urinary tract infection: a population-based assessment

(上接第 2649 页)

[2] 陆文香,吴培南,徐卫东. 血培养 3 种采血方式结果分析 [J]. 中华医院感染杂志,2013,23(3):712-714.

[3] 曹慧玲,李岷,魏源华,等. 血培养病原菌分布及污染菌判定的实验室检查[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(18):2067-2069.

[4] Alahmadi YM, Aldeyab MA, McElnay JC, et al. Clinical and economic impact of contaminated blood cultures with-
 in the hospital setting[J]. J Hosp Infect, 2011, 77(3):233-236.

[5] Dawson S. Blood culture contaminants[J]. J Hosp Infec, 2014,88(2):1-10.

[6] Min H, Park CS, Kim DS, et al. Blood culture contamina-
 tion in hospitalized pediatric patients: a single institution
 experience[J]. Korean J Pediatr, 2014, 57(4):178-185.

[7] Binkhamis K, Forwarda K. Effect of the initial specimen
 diversion technique on blood culture contamination rates

[J]. Infection, 2007, 35(3):150-153.

[3] 周正任, 李凡, 舒明星, 等. 医学微生物学[M]. 6 版. 北京:
 人民卫生出版社, 2006:47.

[4] 李菁华, 刘镇, 周龙珍. 尿路感染患者的病原菌及其耐药
 性探讨[J]. 中国当代医药, 2014, 21(6):177-181.

[5] 赵静, 陈光辉, 王山梅. 尿路感染患者病原菌分布及耐药
 性分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(1):
 103-104.

[6] 黄烈, 林广城, 聂署萍, 等. 尿液培养主要病原菌分布和耐
 药性分析[J]. 现代预防医学, 2012, 39(4):969-971.

[7] 苏晓楠, 张桂铭, 王祥花, 等. 我院 2012 年住院患者尿液
 标本病原菌分布及药敏分析[J]. 青岛大学医学院学报,
 2014, 50(5):448-451.

[8] Vatopoulos A. High rates of metallo-beta-lactamase-pro-
 ducing Klebsiella pneumoniae in Greece—a review of
 the current evidence[J]. Eur Surveill, 2008, 13(4):1-6.

[9] Oteo J, Delgado-Iribarren A, Vega D, et al. Emergence of
 imipenem resistance in clinical Escherichia coli during
 therapy[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32(6):
 534-537.

[10] Kaezmarek F, Dib-Hajj F, Shang W, et al. High-level car-
 bapenem resistance in a Klebsiella Pneumoniae clinical i-
 solate is due to the combination of bla(ACT-1) beta-laeta-
 mase production, porin Ompk35/36 insertional inactiva-
 tion, and down-regulation of the phosphate transport por-
 in phoe[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(17):
 3396-3406.

(收稿日期:2015-03-15 修回日期:2015-04-24)

[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(3):980-981.

[8] 蒋文强, 李红霞, 罗军, 等. 儿童血培养细菌的分布及污染
 率分析[J]. 华西医学, 2014, 29(4):718-720.

[9] 李美兰, 周国花, 何菁菁. 血培养污染的发生率调查及对
 策[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(13):2853-2854.

[10] 张婷菊, 刘贵建. 降低血培养污染的对策[J]. 国际检验医
 学杂志, 2014, 35(1):119-120.

[11] 葛瑛, 刘晓清, 徐英春, 等. 血液采集操作影响血培养污染
 率:一项前瞻性研究[J]. 中华医学杂志, 2011, 124(23):
 4002-4006.

[12] Self WH, Mickanin J, Grijalva CG, et al. Reducing blood
 culture contamination in community hospital emergency
 departments: multicenter evaluation of a quality improve-
 ment intervention[J]. Acad Emerg Med, 2014, 21(3):
 274-282.

(收稿日期:2015-04-03 修回日期:2015-04-28)