

• 临床检验研究 •

血培养病原菌分布及污染菌判定的实验室检查

曹慧玲, 李 岷, 魏源华, 顾万建, 赵苏瑛
(江苏省中医院检验科, 南京 210029)

摘要:目的 通过回顾该院的血培养病原菌检出情况以及污染菌的判定分析, 了解该院血流感染的主要病原菌构成比, 并证实开展双侧双瓶采血检测等实验室检查方法, 能有效提高阳性率和血培养污染菌的判定。方法 对该院 2010 年 7~12 月的 1 121 份血培养标本进行回顾性分析, 了解其病原菌分布, 对部分患者开展双侧双瓶采血检测, 以血培养中最常见的污染菌凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)为例, 评价该方法对血培养污染菌判定的价值。结果 血培养阳性检出率为 10.0%, 主要检出菌种为大肠埃希菌, 占 25.0%, 临床分布和时间分布显示为散发, 未见院内感染趋势。其中采用双侧双瓶采血检测的血培养标本 98 例, 阳性检出率达 22.5%, 高于单侧单瓶采血(9.6%), 其中检出 CNS 的比例为 22.7%, 双瓶 48 h 内同时检出 CNS 仅为 4.5%, 而单瓶检出占 18.2%, 提示临床 CNS 可能为污染菌, 建议结合患者临床资料、状态综合判断, 指导用药。结论 血培养检出病原菌种类仍以大肠埃希菌为最高, 同往年相似。开展采用双侧双瓶采血方法对判定 CNS 是否为污染菌有一定作用, 可提示临床结合患者具体情况综合判断, 减少不合理用药。

关键词:凝固酶; 血培养; 污染; 双侧采血

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)18-2067-02

Distribution of pathogens and laboratory examination for identification of contaminants in blood culture

Cao Huiling, Li Ming, Wei Yuanhua, Gu Wanjian, Zhao Suying

(Department of Clinical Laboratory, Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiangsu Province, Nanjing 210029, China)

Abstract: Objective To investigate the species and constituent ratio of pathogenic bacteria and confirm the utility of examination method, including two-sides and two-bottles collection to elevate the positive rate and the identification of contaminants in blood culture(BC), by retrospective analysis of the identification of pathogenic bacteria and contaminants in BC. **Methods** 1 121 cases of specimens for BC, collected from July to December in 2010, were retrospectively analyzed to understand the distribution of pathogenic bacteria. Two-sides and two-bottles collection of blood specimens were performed in part of patients to evaluate the clinical significance of this method for the identification of contaminants, taking coagulase negative Staphylococcus(CNS) for example. **Results** The positive rate of BC was 10.0% and 25.0% of clinical isolates were Escherichia coli. The distribution of clinics and time was diverging and there was no tendency of hospital onset of infection. 98 cases of patients accepted two-sides and two bottles collection of blood specimens, the positive rate of which was 22.5, higher than single-side and single-bottle collection(9.6%). The positive rate of CNS in two-set collection group was 22.7%, 4.5% were positive with CNS in 48h for tow bottles and 18.2% for one bottle, indicating CNS might be contamination. **Conclusion** The mainly detected pathogenic bacteria in BC were Escherichia coli. Two-set collection might be useful for the identification of CNS as contamination, and could supply certain information and reduce unreasonable prescriptions.

Key words: coagulase; blood culture; contaminant; two-set collection

血培养是确定血流微生物感染的“金标准”, 是重症感染、败血症等疾病诊断的重要实验室检查方法^[1]。血培养阳性标本中微生物的鉴定为临床提供了重要的信息, 从而关系到患者的安危。在大多数情况下, 可从血培养中分离得到代表着真正菌血症或真菌血症的病原菌(金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌和白假丝酵母菌等)。然而血培养污染菌也占到很大比例, 近年来污染菌判断已成为不可忽视的问题, 不仅增加检测成本, 也常常给临床诊断带来困难^[2]。凝固酶阴性葡萄球菌(coagulase negative staphylococcus, CNS)虽已被公认为病原菌, 但由于该菌为人体皮肤的正常菌群, 在血培养标本采集过程中往往造成污染, 成为最常见的血培养污染菌之一^[3]。目前, 已有很多文献提供了如何区别其为致病菌还是污染菌的临床及微生物学原则和方法, 但适用于临床实验室的检查方法还很有限^[4]。现对该院半年来的血培养病原菌分布进行回顾性分析, 并探讨判断污染菌相关实验方法的可行性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 1 121 份标本从该院 2010 年 7~12 月 97 例

住院患者的阳性血培养中分离得到, 男 50 例, 女 47 例, 年龄 3~90 岁, 详细记录每例患者的原发病、抽血前状况及抗生素使用情况等。

1.2 仪器与材料 BACTEC9120 全自动血培养仪(BD, 美国), Vitek32 细菌鉴定仪(生物梅里埃, 法国), CO₂ 培养箱(RS Biotech, 英国), 生物安全柜(Bioctean, 上海), 血培养瓶(BD, 美国), 血琼脂平板(贝瑞特, 郑州)、巧克力平板(生物梅里埃, 法国)、中国蓝平板(OXID, 英国)、药敏 M-H 平板(博赛, 郑州), 抗菌药物纸片(OXID, 英国)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及处理 无菌操作采集血标本后立即注入血培养瓶, 登记编号后放入血培养仪内进行培养, 培养瓶内微生物的代谢产物 CO₂ 进入培养基, 此培养基与含有荧光染料的感应器作用, 促使感应器内的荧光物质吸收后发出荧光, 当仪器的光源检测到后经运算处理分析达到阳性培养的判断标准, 立即发出阳性警报。

1.3.2 病原菌鉴定 阳性标本: 当仪器发出阳性报警时, 及时

转种于血琼脂平板、巧克力平板和中国蓝平板培养,并同时涂片行革兰氏染色、镜检,并将涂片结果通知临床作为一级报告,将培养的菌株按操作规程做鉴定及药敏试验,24 h 后发出最终报告。阴性标本:血培养 5 d 仍显示阴性者即报告无细菌生长。

1.3.3 提示污染菌的实验室方法 在遵循血培养采集规定建议下,部分患者采用左右臂双侧双瓶采血进行血培养,单瓶报警,经鉴定,判断是否可能为污染菌(如 CNS、革兰氏阳性球菌等),报告临床时应给予适当的提示,以便指导临床治疗;双瓶均在 48 h 内报警多提示为引起血流感染的病原菌生长。

2 结 果

2.1 血培养病原菌检出率 共检测血培养标本 1 121 份,阴性为 112 份,阳性检出率为 10.0%。其中采用双侧双瓶采血的血培养标本为 98 份,阳性为 22 份,阳性检出率为 22.5%。见表 1。

表 1 单、双侧瓶血培养阳性检出率结果比较

类别	阳性标本(n)	阴性标本(n)	阳性率(%)
单侧单瓶	90	933	9.6
双侧双瓶	22	76	22.5
总计	112	1 009	10.0

2.2 病原菌分布情况 112 份血培养阳性标本中,大肠埃希菌 28 株,占 25.0%;CNS 24 株,占 21.4%;铜绿假单胞菌 12 株,占 10.6%;真菌 10 株,占 8.9%。双侧双瓶采血标本检出 CNS 达 22.7%,单瓶检出 CNS 达 18.2%,双瓶同时检出 CNS 达 4.5%。见表 2。

表 2 112 份血培养阳性标本病原菌的分布情况

病原菌	菌株数(n)	构成比(%)
大肠埃希菌	28	25.0
CNS	24	21.4
铜绿假单胞菌	12	10.6
真菌	10	8.9
肺炎克雷伯菌	8	7.1
阴沟肠杆菌	6	5.4
革兰氏阳性球菌	3	2.7
非发酵革兰氏阴性杆菌	3	2.7
嗜水性单胞菌	2	1.8
溶血链球菌	2	1.8
尿肠球菌	1	0.9
鲍曼不动杆菌	1	0.9
产气肠杆菌	1	0.9
金黄色葡萄球菌	1	0.9
鲁氏不动杆菌	1	0.9
弗劳地枸橼酸杆菌	1	0.9
粘质沙雷菌	1	0.9
洋葱伯雷霍尔德菌	1	0.9
其他	6	5.4

3 讨 论

血培养是败血症等诊断的重要依据和唯一确诊手段,近年

来,血流感染已成为医院内感染和患者致死的主要原因之一,其检测需求逐渐增加。近 20 年来,随着全自动血培养仪等先进实验方法的应用,血培养阳性率呈上升趋势^[5]。本组 1 121 份血培养中,检测出病原菌 112 株,检出率为 10.0%。经统计,血培养阳性标本中病原微生物主要依次为大肠埃希菌(25.0%)、凝固酶阴性葡萄球菌(21.4%)、铜绿假单胞菌(10.6%)等,临床科室分布和时间分布上没有特别集中的趋势,提示没有院内感染的趋势。

随着临床上广谱抗生素以及各种侵袭性诊疗操作在住院患者和危重患者的广泛应用,CNS 成为院内感染重要病原菌之一^[6]。同时,CNS 也是血培养中最常见的污染菌,如在采血过程中,人体皮肤的正常菌群易被携带导致血培养阳性;留置导管部分也可导致血培养污染;CNS 可以产生黏滞物从而附着在医疗器械的光滑表面形成生物膜,消毒工作不完善的情况下也可导致血标本污染等^[7-8]。因此,很难确定 CNS 是菌血症的致病菌还是污染菌,也迫切需要临床实验室提供有效的辨别方法,以便向临床提供更加准确的信息。本研究在 1 121 份标本中,采用双侧双瓶采血的标本有 98 份,检测病原菌 22 株,检出率为 22.5%,较单瓶血培养标本高(9.6%),与文献报道相一致^[9-10]。其中阳性血培养中,凝固酶阴性葡萄球菌检出率达 22.7%,单瓶报警检出 CNS 达 18.1%,远高出双瓶同时报警(4.5%),同一患者左右臂同时采血,只有一瓶血培养显示阳性,而另一瓶培养 5 d 内无细菌检出,提示单瓶血培养中检出的 CNS 很可能是采血等过程中携带的污染菌,应提醒临床结合患者的临床状况进行分析并根据已得到的资料加以判断。除此之外,还可以通过观察血培养报警时间加以判断,由于菌血症的阳性报警时间小于污染情况,往往导致 48 h 内血培养阳性报警,超过 48 h 报警的微生物生长可疑为污染菌影响,但此情况发生时应排除真菌性菌血症,也有报道认为培养 3 d 内检出的 CNS 可认为是导致菌血症的致病菌^[11]。有实验室提出当符合以下全部条件时考虑标本污染:(1)仅从单一血培养标本中获此菌;(2)患者并无血管内留置导管或其他置入装置;(3)原有感染类型并不支持该菌所引起^[12]。

如何提高血培养阳性率并能快速、准确地提供实验室报告,是临床和实验室共同关注的问题。目前,判断致病菌和污染菌的实验方法还很局限,若对污染菌进行全面的实验室检查无疑会增加工作量和经济成本,因此,有必要采用适度而有效的检查方法联合判断。采取双侧双瓶采血 48 h 内阳性报警判定(真菌除外)并建立完善的血培养三级报告制度,是目前简单易行的方法,在大多数实验室具有可行性^[9]。但 CNS 菌血症的判定仅依靠以上两个标准是不够的,张红升^[6]实验发现 48 h 内血培养阳性的标本仍有 35.8%为污染,而 48 h 后的全部为污染。因此,CNS 菌血症应当根据临床、流行病学及微生物学三方面的资料来判定。

经分析,本组血培养阳性主要以大肠埃希菌、凝固酶阴性葡萄球菌、铜绿假单胞菌等为主,其临床分布及时间分布未发现有集中趋势,提示未发生院内感染,以 CNS 为例证实了本组对部分患者实行双侧双瓶采血方法有效地提高了阳性检出率和污染菌的判定,有助于向临床提供更加可靠的实验室检测结果。

参考文献

[1] Yanai M,Uehara Y,Yagoshi M,et al. Interpretation of the results of blood culture and interventional role by clinical(下转第 2071 页)

状和非运动症状的关系。

血清铁蛋白水平与运动症状的关系包括 UPDRS-Ⅲ评分和 H-Y 分期在 PD 组及其亚组分析中都没有发现相关性。非运动症状其重要性与 PD 处理、治疗的关系正日益被认识,系统评估非运动症状是这些工作的前提。2006 年 Chaudhuri 等^[2]提出了 30 个非运动症状的筛查量表(NMSQuest),量表涵盖消化系、泌尿、心血管等 9 大类症状,量表结果简单,主要对非运动症状进行定性描述,结果相加能比较直观地反映 PD 患者的非运动症状情况。本研究发现 PD 组的血清铁蛋白水平与患者年龄($r=0.244, P<0.05$)、发病年龄($r=0.208, P<0.05$)、教育年限($r=0.243, P<0.05$)相关;男性 PD 患者血清铁蛋白水平与非运动症状的性功能障碍($r=0.270, P<0.05$)相关;提示老年发病的男性 PD 患者具有较高的血清铁蛋白水平。女性 PD 患者血清铁蛋白水平与年龄($r=0.417, P<0.05$)、非运动症状的睡眠/疲劳感($r=-0.337, P<0.05$)负相关。对于这些阳性结果的临床意义还不很清楚,有待于进一步研究铁在 PD 发病机制中的作用。

总之,本研究发现男性 PD 患者血清铁蛋白水平要明显低于男性健康对照者,提示低血清铁蛋白水平是男性 PD 患者的危险因素之一。进一步与临床信息进行相关性分析显示,血清铁蛋白水平和一些临床症状相关。PD 患者的血清铁蛋白水平受病情、药物、饮食状况等多方面影响,因此,今后 PD 患者血清铁蛋白的研究应该注重前瞻性,扩大样本量、注重饮食、药物等综合影响因素,以期获得更有价值的研究结果。

参考文献

[1] Sian HJ, Mandel S, Youdim MB, et al. The relevance of iron in the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. J Neurochem, 2010, 7(6): 18-20.

[2] Rivera MS, Perez NI, Rios C, et al. The transition metals copper and iron in neurodegenerative diseases[J]. Chem Biol Interact, 2010, 186(23): 184-99.

[3] Sun YM, Hoang T, Neubauer JA, et al. Opioids protect against substantia nigra cell degeneration under conditions of iron deprivation: a mechanism of possible relevance to the Restless Legs Syndrome(RLS) and Parkinson's disease[J]. J Neurol Sci, 2011,

304(61): 93-101.

[4] Peng Y, Wang C, Xu HH, et al. Binding of alpha-synuclein with Fe(Ⅲ) and with Fe(Ⅱ) and biological implications of the resultant complexes[J]. J Inorg Biochem, 2010, 104(74): 365-370.

[5] Youdim MB. Brain iron deficiency and excess; cognitive impairment and neurodegeneration with involvement of striatum and hippocampus[J]. Neurotox Res, 2008, 14(8): 45-56.

[6] 沈吉康, 叶民, 刘卫国, 等. 帕金森病非运动症状的临床研究[J]. 临床神经病学杂志, 2010, 23(2): 251.

[7] Wang G, Cheng Q, Zeng J, et al. Sleep disorders in Chinese patients with Parkinson's disease: validation study of a Chinese version of Parkinson's disease sleep scale[J]. J Neurol Sci, 2008, 271(41): 153-155.

[8] 刘玉霞, 尹石华, 史健, 等. 脂肪肝与铁蛋白、血脂及转氨酶的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 4(9): 1001-1003.

[9] 沙玲, 牛华, 沈云松. 尿四联检测在 2 型糖尿病病程中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 21(7): 729-730.

[10] Ikeda K, Nakamura Y, Kiyozuka T, et al. Serological profiles of urate, paraoxonase-1, ferritin and lipid in Parkinson's disease: changes linked to disease progression[J]. Neurodegener Dis, 2011, 8(6): 252-255.

[11] Annanmaki T, Muuronen A, Murros K. Low plasma uric acid level in Parkinson's disease[J]. Mov Disord, 2007, 15(22): 1133-1136.

[12] Andreadou E, Nikolaou C, Gournaras F, et al. Serum uric acid levels in patients with Parkinson's disease: their relationship to treatment and disease duration[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2009, 111(31): 724-727.

[13] Oner P, Dirik EB, Taner Y, et al. Association between low serum ferritin and restless legs syndrome in patients with attention deficit hyperactivity disorder[J]. Tohoku J Exp Med, 2007, 213(67): 269-273.

[14] Benmoyal SL, Vander T, Shifman S, et al. Acetylcholinesterase/paraoxonase interactions increase the risk of insecticide-induced Parkinson's disease[J]. FASEB J, 2005, 19(6): 452-456.

(收稿日期: 2011-05-30)

(上接第 2068 页)

laboratory physicians[J]. Rinsho Byori, 2006, 54(10): 1059-1065.

[2] Roth A, Wiklund AE, Palsson AS, et al. Reducing blood culture contamination by a simple informational intervention[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(12): 4552-4558.

[3] Weddle G, Jackson MA, Selvarangan R. Reducing blood culture contamination in a pediatric emergency department[J]. Pediatr Emerg Care, 2011, 27(3): 179-181.

[4] Khatib R, Riederer KM, Clark JA, et al. Coagulase-negative staphylococci in multiple blood cultures: strain relatedness and determinants of same-strain bacteremia[J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(4): 816-820.

[5] 孙宝君. 血培养阳性病原菌分布及变化趋势的临床分析[J]. 解放军医学杂志, 2005, (5): 430-431.

[6] 张红升. 血培养凝固酶阴性葡萄球菌阳性的评价[J]. 医药论坛杂志, 2007, (5): 9-11.

[7] Viagappan M, Kelsey MC. The origin of coagulase-negative staph-

ylcocci isolated from blood cultures[J]. J Hosp Infect, 1995, 30(3): 217-223.

[8] Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease[J]. Vet Microbiol, 2009, 134(142): 45-54.

[9] 毛美丽, 汪瑞忠. 血培养单、双侧采血阳性率比较及病原菌分布和耐药性分析[J]. 检验医学, 2009, 8(12): 911-913.

[10] Kondo S, Misawa S, Oguri T, et al. The number of blood culture bottle sets and the clinical significance of staphylococcus spp. isolated from the blood culture[J]. Rinsho Byori, 2010, 58(5): 437-41.

[11] Kara A, Kanra G, Cengiz AB, et al. Pediatric blood culture: time to positivity[J]. Turk J Pediatr, 2004, 46(3): 251-355.

[12] 王新. 血培养提示凝固酶阴性葡萄球菌阳性, 如何判断其临床意义[J]. 现代医院, 2009, 12(4): 125.

(收稿日期: 2011-07-24)