

28 292 份临床血液标本细菌培养结果

孔繁林, 储从家, 管新龙, 李杰芬, 杨宇溪

(玉溪市人民医院, 云南 玉溪 653100)

[摘要] **目的** 调查某院临床送检血液标本中病原菌的分布特征。**方法** 采用 mimi VITAL 全自动荧光血培养仪、Bact/ALERT 3D 培养仪和 VITEK32 自动细菌鉴定仪对该院 1999—2008 年临床送检的 28 292 人份 55 606 瓶血标本进行培养鉴定, 对培养结果作统计分析。**结果** 28 292 份临床血液标本进行需氧和厌氧培养, 其中 5 837 份细菌培养阳性, 阳性率 20.63%; 需氧生长和厌氧生长分别占阳性培养的 83.50% (4 874/5 837) 和 82.30% (4 804/5 837)。共检出各种临床细菌 43 属 117 种 5 837 株, 其中甲型副伤寒沙门菌 4 486 株, 占 76.85%, 2001 年 (1 263 株)、2004 年 (740 株) 和 2006 年 (713 株) 为检出高峰年份。除外传染病因子, 菌群组成以革兰阳性球菌为主, 革兰阳性球菌、革兰阴性杆菌、真菌的比例为 65.73 : 25.30 : 2.74。凝固酶阴性葡萄球菌占阳性检出菌 (沙门菌属除外) 的 37.46% (493/1 316), 居分离菌首位, 并有逐年上升趋势 ($\chi^2 = 127.81, P < 0.01$)。近年真菌的分离率也在逐渐升高 ($\chi^2 = 29.77, P < 0.01$)。专性厌氧菌占全部分离菌的 0.38% (22/5 837), 占除沙门菌属外的 1.67% (22/1 316)。**结论** 同时做需氧和厌氧培养可以提高细菌培养的阳性检出率。甲型副伤寒沙门菌的持续检出和某些条件致病菌 (凝固酶阴性葡萄球菌和真菌) 的上升趋势应引起临床的高度关注。

[关键词] 血培养; 细菌培养; 病原学; 甲型副伤寒沙门菌; 凝固酶阴性葡萄球菌; 真菌

[中图分类号] R378 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2011)03-0209-05

Bacterial culture results of 28 292 clinical blood specimens

KONG Fan-lin, CHU Cong-jia, GUAN Xin-long, LI Jie-fen, YANG Yu-xi (Yuxi People's Hospital, Yuxi 653100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the distribution characteristics of pathogens isolated from clinical blood specimens from a hospital. **Methods** Bacteria isolated from 55 606 bottles of 28 292 blood specimens between 1999 and 2008 were cultured and identified by mimi VITAL Blood Culture Automation System and Bact/ALERT 3D System and VITEK 32 Automicrobial System, and the culture result was analysed statistically. **Results** In aerobic and anaerobic culture of 28 292 blood specimens, 5 837 showed positive culture results, the positive rate was 20.63%; The positive rate of aerobic and anaerobic bacteria was 83.50% (4 874/5 837) and 82.30% (4 804/5 837) respectively. A total of 5 837 strains of 117 species of 43 genus were detected, *Salmonella paratyphi A* accounted for 4 486 stains (76.85%). The distribution showed three peaks of bacterial detection were in the year of 2001 (1 263 strains), 2004 (740 strains) and 2006 (713 strains). Gram-positive cocci were the main isolated bacteria, the ratio of gram-positive cocci to gram-negative bacilli and fungi was 65.73 : 25.30 : 2.74. *Coagulase negative Staphylococcus* (CNS) accounted for 37.46% (493/1 316) of the detected bacteria except *Salmonella spp.*, and had a tendency of increasing gradually ($\chi^2 = 127.81, P < 0.01$). The isolation rate of fungus was increasing gradually ($\chi^2 = 29.77, P < 0.01$). The obligate anaerobes accounted for 0.38% (22/5 837) of all isolated bacteria, and accounted for 1.67% (22/1 316) except *Salmonella*. **Conclusion** Performing both aerobic and anaerobic culture can enhance the positive detection rate. Constant detection of *Salmonella paratyphi A* and increasing tendency of opportunistic pathogens (CNS and fungus) should be paid much attention to.

[收稿日期] 2009-09-10

[作者简介] 孔繁林(1940-), 男(汉族), 云南省华宁县人, 主任检验师, 主要从事临床细菌学研究。

[通讯作者] 储从家 E-mail: yxchucongja@sina.com

[Key words] blood culture; bacterial culture; etiology; *Salmonella paratyphi A*; coagulase negative *Staphylococcus*; fungus

[Chin Infect Control, 2011, 10(3): 209-213]

临床血液标本的细菌培养,不但为血源感染提供了最直接客观的证据,同时也是许多疾病的流行病学调查、防治研究以及医院内外感染监控等的重要手段,在临床诊疗、疾病防治乃至医学研究等多领域均有重要意义。现就本院近 10 年来临床血液标本的细菌培养结果分析报告如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 1999 年 1 月—2008 年 12 月本院门诊和住院患者送检的临床血液标本 28 292 份共 55 606 瓶,其中仅做需氧培养 962 份 962 瓶,仅做厌氧培养 16 份 16 瓶,同时做需氧、厌氧双培养 27 314 份 54 628 瓶;同时做需氧和厌氧培养人次占总人次的 96.54%(27 314/28 292)。按要求采样并注入培养瓶内。标本量:成人 5 mL/瓶,儿童 2~3 mL/瓶。

1.2 仪器与试剂 2004 年 12 月以前采用 mini VITAL 全自动荧光血培养仪,2004 年 12 月 1 日以后采用 BacT/ALERT 3D 培养仪进行血标本的细菌培养;VITEK 自动微生物分析仪作菌种鉴定。上述仪器以及专用配套培养瓶(厌氧和需氧)、细菌鉴定卡、厌氧培养缸及其试剂、厌氧菌分离用斯氏培养基,均为法国生物梅里埃公司产品。血平板和一般试剂购自杭州天和微生物试剂厂。沙门菌属诊断血清为卫生部兰州生物制品研究所产品。

1.3 细菌培养与鉴定 培养仪温度设置 35.5℃,阴性报警时限设定 5 d,必要时延长至 7 d。阳性报警标本即时转种血平板和/或斯氏平板,斯氏平板置厌氧缸,血平板置普通孵箱 36℃培养分离菌株。厌氧培养菌株均做耐氧试验。采用 VITEK32 微生物分析仪及专用细菌卡进行菌种鉴定。沙门菌属鉴定以血清学试验结果为准。

1.4 统计方法 2 组或多组百分率比较,采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 培养阳性率 28 292 份血标本中有 5 837 份细菌培养阳性,阳性率 20.63%。除 6 份标本检出复数菌(每份分别检出 2 种菌)外,余 5 831 份标本均检出单一菌种;复数菌检出占培养阳性人次的 0.10%(6/5 837)。27 314 份同时做需氧和厌氧双培养者,二者均有菌生长占 69.30%(4 045/5 837);仅需氧生长占 14.20%(829/5 837),仅厌氧生长占 13.00%(759/5 837)。需氧生长菌的比率 83.50%(4 874/5 837)与厌氧生长菌的比率 82.30%(4 804/5 837)比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 3.14, P > 0.05$)。

2.2 细菌种群分布 共检出各种临床细菌 43 属 117 种 5 837 株,其中有 28 株未鉴定到种(链球菌 1 株,细球菌 5 株,芽孢杆菌 8 株,棒状杆菌 6 株,丝状真菌 4 株,奴卡菌和酵母菌各 2 株)。10 年内共检出甲型副伤寒沙门菌 4 486 株,占有分离菌的 76.85%(4 486/5 837)。除外传染病因子,菌群组成仍以革兰阳性(G^+)球菌为主。 G^+ 球菌、革兰阴性(G^-)杆菌、真菌的比例为 65.73 : 25.30 : 2.74。专性厌氧菌占全部分离菌的 0.38%(22/5 837),占除沙门菌属外的 1.67%(22/1 316)。排序前 10 位的菌群为甲型副伤寒沙门菌、凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、伤寒沙门菌、肺炎克雷伯菌、尿肠球菌、阴沟肠杆菌、铜绿假单胞菌和肺炎链球菌。详见表 1。

2.3 菌群分布的变迁 用年度分离菌株数和分离率作统计,1999—2008 年甲型副伤寒沙门菌的检出,经历了 3 个间歇式高峰的过程,总体呈下降趋势($\chi^2 = 1 680.14, P < 0.01$)。凝固酶阴性葡萄球菌和真菌的检出,近年来有逐渐上升趋势(χ^2 值分别为 127.81 和 29.77,均 $P < 0.01$)。详见图 1~3。

表 1 血培养 5 837 株临床细菌种群分布(株)

Table 1 Distribution of 5 837 strains of clinical bacteria in blood culture (strain)

细菌种类	1999年 (n=63)	2000年 (n=122)	2001年 (n=1349)	2002年 (n=513)	2003年 (n=312)	2004年 (n=818)	2005年 (n=545)	2006年 (n=906)	2007年 (n=751)	2008年 (n=458)	合计(n=5837)	构成比 (%)
标本人次	727	927	3780	2699	1660	2302	2989	3708	4428	5072	28292	
沙门菌属 ^a	18	75	1263	468	263	740	413	713	424	144	4521	77.45
大肠埃希菌	5	8	11	6	11	16	20	30	44	51	202	3.46
克雷伯菌属 ^b	1	-	3	1	2	3	6	7	6	11	40	0.68
其他肠杆菌 ^c	3	5	5	4	2	4	2	5	8	6	44	0.75
非发酵菌 ^d	2	2	2	1	1	2	3	6	7	11	37	0.63
其他 G ⁻ 杆菌 ^e	-	-	-	2	-	2	-	-	3	3	10	0.17
凝固酶阳性葡萄球菌 ^f	15	9	20	5	9	15	24	37	73	52	259	4.44
凝固酶阴性葡萄球菌 ^g	9	13	28	18	18	21	52	62	135	137	493	8.45
链球菌属 ^h	1	7	4	3	5	2	5	10	11	13	61	1.05
肠球菌属 ⁱ	-	-	6	-	-	7	7	7	7	9	43	0.74
其他 G ⁺ 球菌 ^j	1	1	-	-	-	-	1	4	2	-	9	0.15
G ⁺ 杆菌 ^k	1	2	6	3	1	6	9	12	12	8	60	1.03
真菌 ^l	1	-	-	1	-	-	2	7	14	11	36	0.62
厌氧菌 ^m	6	-	1	1	-	-	1	6	5	2	22	0.38

a 含甲型副伤寒沙门菌 4 486 株, 伤寒沙门菌 35 株; b 含肺炎克雷伯菌等 3 种 40 株; c 含阴沟肠杆菌等 15 种 44 株; d 含铜绿假单胞菌等 13 种 37 株; e 含流感嗜血杆菌等 6 种 10 株; f 含金黄色葡萄球菌 245 株, 中间葡萄球菌 14 株; g 含表皮葡萄球菌等 15 种 493 株; h 含肺炎链球菌等 14 种 60 株和链球菌未定种 1 株; i 含屎肠球菌等 5 种 43 株; j 含藤黄微球菌等 3 种 4 株和细球菌未定种 5 株; k 含地衣芽孢杆菌等 16 种 44 株, 未定种芽孢杆菌 8 株, 未定种棒状杆菌 6 株和未定种奴卡菌 2 株; l 含白假丝酵母菌等 9 种 30 株, 丝状真菌 4 株, 酵母属细菌 2 株; m 含产气荚膜梭菌等 14 种 22 株

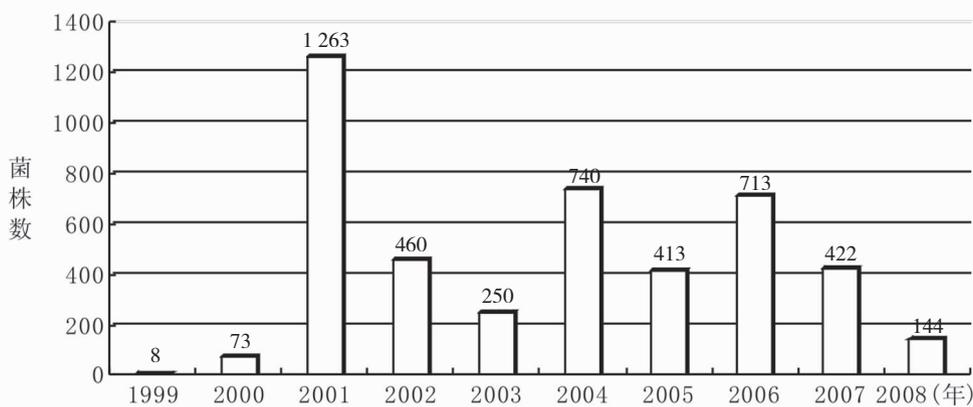


图 1 1999—2008 年血液培养甲型副伤寒沙门菌分离株数

Figure 1 Isolated stains of *Salmonella paratyphi A* in blood culture between 1999—2008

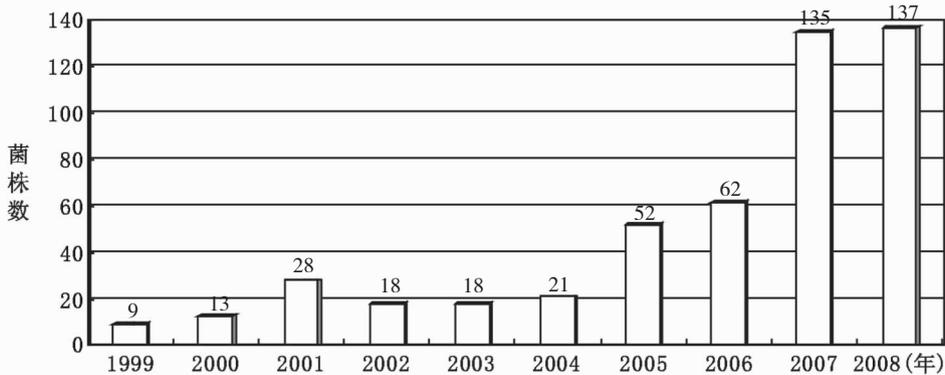


图 2 1999—2008 年血液培养凝固酶阴性葡萄球菌分离株数

Figure 2 Isolated stains of CNS in blood culture between 1999—2008

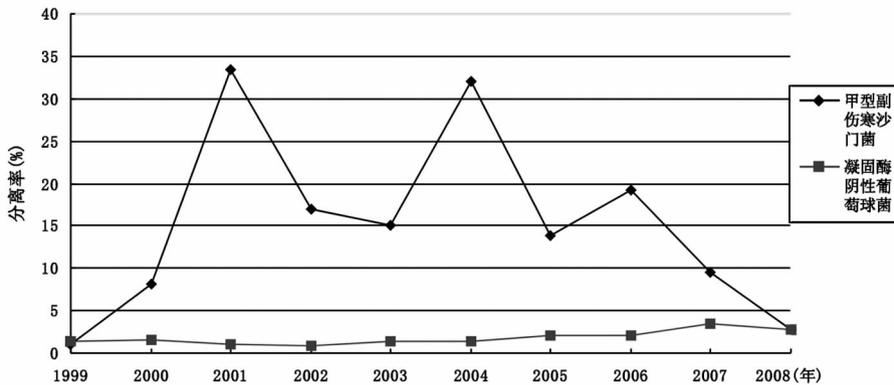


图 3 1999—2008 年血液培养 2 种菌群分离率的变迁

Figure 3 Change in isolation rates of 2 kinds of bacteria in blood culture between 1999—2008

3 讨论

临床血液标本的细菌培养,是否需要将需氧培养与厌氧培养同时进行一直存在较大争议^[1]。有证据表明^[2],近年来厌氧菌感染有下降趋势,厌氧血培养阳性率低,因而主张不需要常规做厌氧培养。然而本组资料结果显示,假若仅做需氧或厌氧一种培养,都将造成部分患者的漏检,漏检率可高达 16.50%~17.70%;漏检的不单是专性厌氧菌,大多数是兼性厌氧菌。这对败血症等感染性疾病,尤其是病死率相对较高的厌氧菌败血症的诊治十分不利。因此,我们主张需氧、厌氧双培养同时进行,这对于提高整体临床细菌培养阳性率,减少漏诊、误诊具有重要意义^[3]。部分兼性厌氧菌只在需氧或厌氧环境生长的原因尚不清楚,是否与感染早期感染菌的数量较少,在采集标本中的分布不均匀有关,有待进一步深入研究。

甲型副伤寒自 1999 年在玉溪市流行以来,甲型副伤寒沙门菌的检出急剧上升,本资料 10 年内共检出 4 486 例,占有血培养阳性患者的 76.85% (4 486/5 837)。甲型副伤寒沙门菌的检出经历了 3 个间歇式高峰,即 2001、2004 和 2006 年分别为检出病例数和培养分离率的高峰年,2002、2003、2005、2007 和 2008 年处于相对低谷时期。这种现象的机制,虽然目前还不太清楚,但对其流行病学调查和疾病防治无疑有重要意义。排除传染病因子,本组分离菌种群分布的特点,仍然以 G⁺ 球菌为主,与众多国内外报道^[4-6]一致。有学者认为^[7],近年来,由于抗菌药物的发展,出现了强有力的抗 G⁻ 杆菌药物以及金黄色葡萄球菌多重耐药株(如耐甲氧西林株)

的流行,使金黄色葡萄球菌感染又重新抬头,成为致严重感染的首要细菌。这可能是血培养标本中 G⁺ 球菌占优势的重要原因之一。同时,我们还注意到,近年来凝固酶阴性葡萄球菌在临床标本中的检出有所上升。以 2008 年为例,凝固酶阴性葡萄球菌已升至占血培养阳性(除外沙门菌属)的 44.19% (137/310),居血培养分离菌的首位;占临床各种标本阳性分离菌的 10.48% (292/2 786),排序仅次于酵母样真菌和大肠埃希菌,居第 3 位。本组凝固酶阴性葡萄球菌占除沙门菌属外血培养阳性的 37.46% (493/1 316),也居临床分离菌首位。凝固酶阴性葡萄球菌不但检出菌株比例高,而且细菌种类数也多,本组包括表皮葡萄球菌、耳葡萄球菌、模仿葡萄球菌、人葡萄球菌、溶血葡萄球菌、木糖葡萄球菌、腐生葡萄球菌、科氏葡萄球菌、缓慢葡萄球菌、头状葡萄球菌、松鼠葡萄球菌、沃氏葡萄球菌、猪葡萄球菌、华纳葡萄球菌和家畜葡萄球菌等共 15 种。临床确诊治疗的 240 例败血症就有 67 例(27.92%)为凝固酶阴性葡萄球菌败血症,且多达 12 种^[8]。尽管凝固酶阴性葡萄球菌某些种的病原性尚有待进一步证实,但其致病特征不取决于菌种而主要由细菌染色体上的细胞黏附基因(*ica*)操纵子决定,已成为一些学者的共识^[9-10]。药敏试验结果还证实,耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌具有与耐甲氧西林金黄色葡萄球菌极其相似的高度耐药和多重耐药趋势^[11],是凝固酶阴性葡萄球菌检出增加及血培养阳性球菌占优势的又一重要原因。葡萄球菌属细菌检出增加,已成为本组血培养除沙门菌属外最大的优势菌群。

此外,真菌感染的增多也值得高度关注。本院临床分离酵母菌属在各种(类)感染菌中的比率已从 2003 年的 5.87% (61/1 039) 上升至 2008 年的

24.45%(718/2 937),排序由第 7 位上升至第 1 位。本组资料中,10 年共检出白假丝酵母菌、季也蒙假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌、光滑球拟假丝酵母菌、无名假丝酵母菌、热带假丝酵母菌、新生隐球菌、浅黄隐球菌、丛生丝孢酵母菌、丝状真菌、酵母属真菌 11 种(属)36 株。2007 年真菌的分离株(14 株)比既往 8 年的总和(11 株)还要多。一般认为,凝固酶阴性葡萄球菌和酵母菌均属条件致病菌。条件致病菌感染的增加,符合现代临床感染菌群变迁的特点,与大量广谱抗菌药物、免疫抑制剂和糖皮质激素等的广泛应用以及各种侵袭性操作的普遍实施有关。大量临床资料表明,条件致病菌感染的增加会给感染性疾病的防治带来巨大困难,必须引起临床的高度重视。

[参考文献]

- [1] 张军民,周贵民. 厌氧菌血培养仍是值得重视的问题[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(10):979-980.
- [2] 倪语星. 进行厌氧血培养的临床意义[C]. 菌血症快速诊断论坛. 珠海,2004:32-39.
- [3] 储从家,孔繁林,罗次节,等. 同时做需氧厌氧培养提高血(体)

液细菌培养阳性率[J]. 中华检验医学杂志,2000,23(5):285.

- [4] 张小江,徐英春,王辉,等. 全自动血培养仪分离菌株的特征[J]. 中华医院感染学杂志,2004,14(8):952-955.
- [5] Vu-Thien H, Piroesch S, Sourmay J, et al. Use of the VITAL automated blood culture system in a children's hospital: a one year retrospective study[M]. OGHMP, Innsbruck, Austria, 1996:152-155.
- [6] Pere I, Barros R M. Clinical evaluation of two automated blood culture system in a pediatric hospital[M]. OGHMP, Innsbruck, Austria, 1996:12-14.
- [7] 姜永新,王金良. 实用临床细菌学检验与进展[M]. 天津:天津科技翻译出版公司,1993:21.
- [8] 孔繁林,储从家,管新龙,等. 败血症 240 例病原学特征[J]. 中国医师杂志,2007,9(10):1406-1407.
- [9] de silvag G D, Kantzanon M, Justice A, et al. The ica operon and biofilm production in coagulase-negative Staphylococci associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit [J]. J Clin Microbiol,2002,40(2):382-388.
- [10] 张永标,染彩倩,张和兴,等. 凝固酶阴性葡萄球菌菌谱与药敏谱调查[J]. 中国微生态学杂志,2006,18(5):395-396.
- [11] 孔繁林,储从家,管新龙,等. 345 株临床分离的凝固酶阴性葡萄球菌耐药性分析[J]. 中国感染控制杂志,2008,7(2):122-125.

(上接第 230 页)

4 个、下层中 1 个、下层后 1 个;蒸汽质量影响(过湿蒸汽)3 个,放置在下层前 2 个、下层中 1 个。包内 1250 指示卡不合格的器械包 28 个,放置在下层前,靠近下排气口 8 个;包装技巧不符合要求 20 个,放置在下层前 6 个、下层中 11 个、下层后 3 个,其中器械摆放太密,未放置吸附性的棉布 6 个;指示卡变色面直接接触金属器械 14 个。

3 讨论

生物监测是灭菌监测的最终结果,上述 2 组生物培养结果均为阴性,但应用不同化学指示卡监测却出现了不同的合格率。

3.1 3M 指示卡 1250 影响因素 1250 指示卡主要是通过颜色变化反映灭菌的关键参数,如温度、时间、蒸汽等,其监测的结果易受人为因素和外界因素影响。1250 指示卡变色不合格的原因:包装技巧不符合要求;包装材料选择不当;装载错误;过湿蒸汽或过干蒸汽;指示卡运输或储存不当(温度、湿度未达到规定要求);指示卡染料接触冷凝水或过度暴露导致颜色变更,与标准色发生差异。其最大误差可

达 25%^[3]。本组资料表明,在临床应用时,应按照操作规范要求选择合适的包装材料、规范地包装与装放、保证供应饱和的蒸汽等,尽可能避免外界因素对变色造成影响^[3]。

3.2 3M 移动式指示卡 1243 影响因素 1243 指示卡能像水银温度计那样在一定条件下,其指示性标识朝一个方向“爬行”,当标识爬入接受区域表明灭菌合格,反之则不合格。这样,避免了用肉眼辨色所致的误差和冷凝水等外界因素对变色效果的影响。本研究结果显示,1243 指示卡反映的灭菌合格率为 100%,其监测的合格率与生物监测结果^[2,4]一致。

[参考文献]

- [1] 宋敏,贾凤琴,胡珊珊,等. 3M 移动式包内化学指示卡灭菌后颜色变化观察与探讨[J]. 医学理论与实践杂志,2005,18(7):849-850.
- [2] 黄靖雄. 化学监测的一些问题[J]. 中华医院感染学杂志,2003,13(9):84.
- [3] 钱黎明,王雪晖,陆莉,等. 不同化学指示剂监测效果比较[J]. 中华医院感染学杂志,2004,14(2):179-180.
- [4] 张淑娟,王华生,贾晓清. 影响手术敷料包内化学指示卡因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2002,12(8):20.