

- ❖ Stratton博士于1967年毕业于美国缅因州Bates学院，获学士学位，1971年于美国Vermont大学医学院获得医学博士学位，在Vermont医院医学中心完成内科实习和住院医师培训，之后在Colorado大学医学中心担任高级住院医师和传染病和临床微生物学研究员。
- ❖ Stratton博士目前任职于范德堡大学医学院和西弗吉尼亚大学医学院从事医学、病理学和临床微生物学的研究，并担任美国范德堡大学医学中心病理学和医学助理教授、临床微生物学实验室主任。同时是内科医师学会、病理学会、临床病理学会、微生物学会、感染病学学会等众多学术组织的成员或主席，《临床微生物学论坛》主编，传染病通讯的主编。发表多篇论文、专著、综述以及摘要等，并多次在会议上发表学术演讲。



Dr. Charles W. Stratton, IV

美国范德堡大学医学中心临床微生物实验室主任

血培养在感染性疾病诊断中的应用

Charles W. Stratton, M.D.

Vanderbilt University School of Medicine
Nashville, Tennessee

血培养新进展

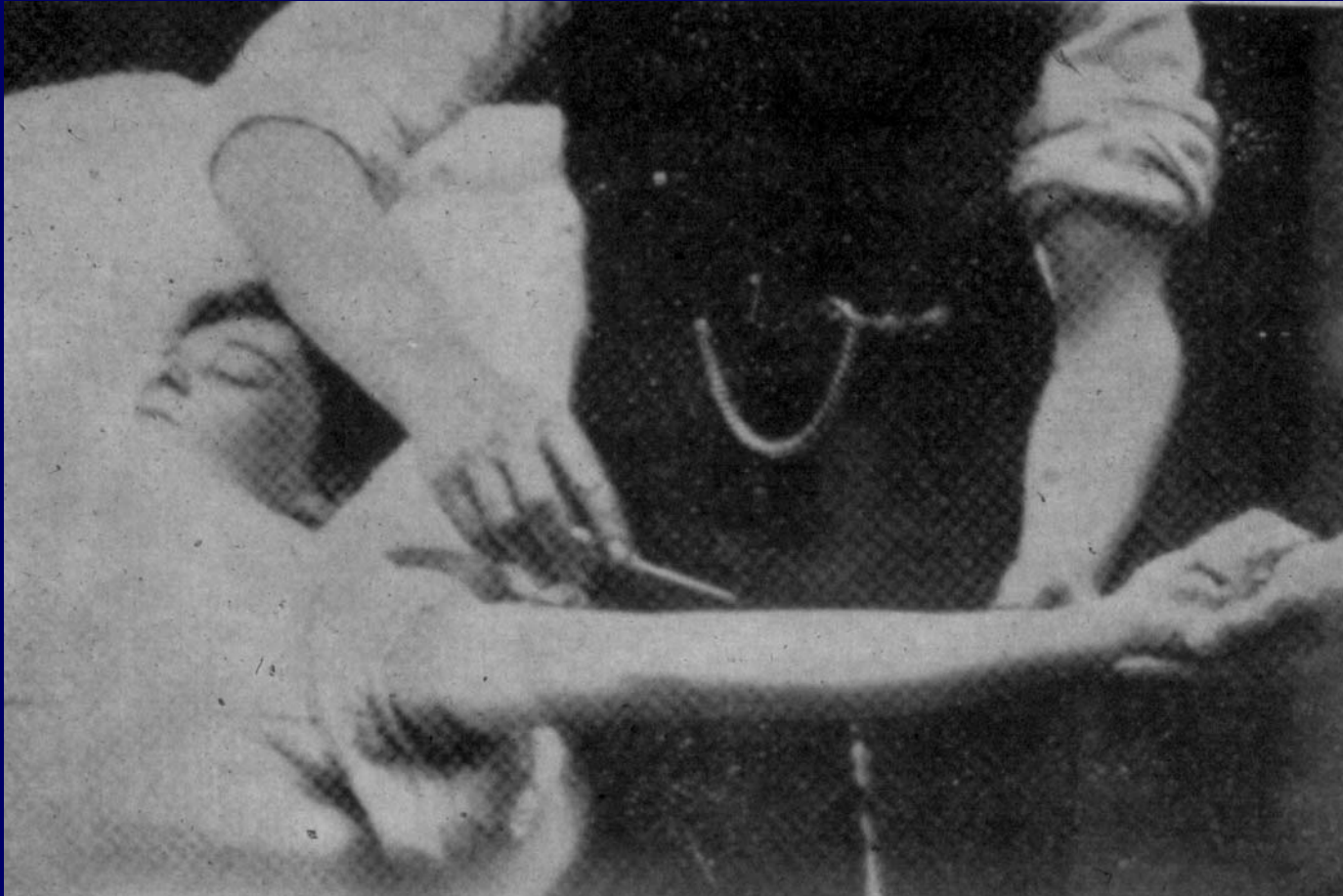
- 历史回顾
- 阳性血培养对临床诊断和预后判断的重要性
- 血培养基本要素
 - 技术因素和临床因素
- 当前研究的新资料

第一例血培养的描述

Crookshank EM. A Textbook of Bacteriology. 1896.

“To make a cultivation from the blood of a living person, the tip of a finger must be well washed with soap and water and sponged with 1 in 20 carbolic. Venous congestion is produced by applying an elastic band or ligature to the finger, which is pricked by a sterilized sewing needle. From the drop of blood which exudes the necessary inoculations and examinations can be made. Another way of extracting blood from the living person is to apply a leech. Blood may also be taken directly from a vein by laying it bare by dissection, making a small opening with a sterilized scissors, inserting a looped platinum needle, the needle of a hypodermic syringe, or a capillary tube.”

血培养采血方法-1905

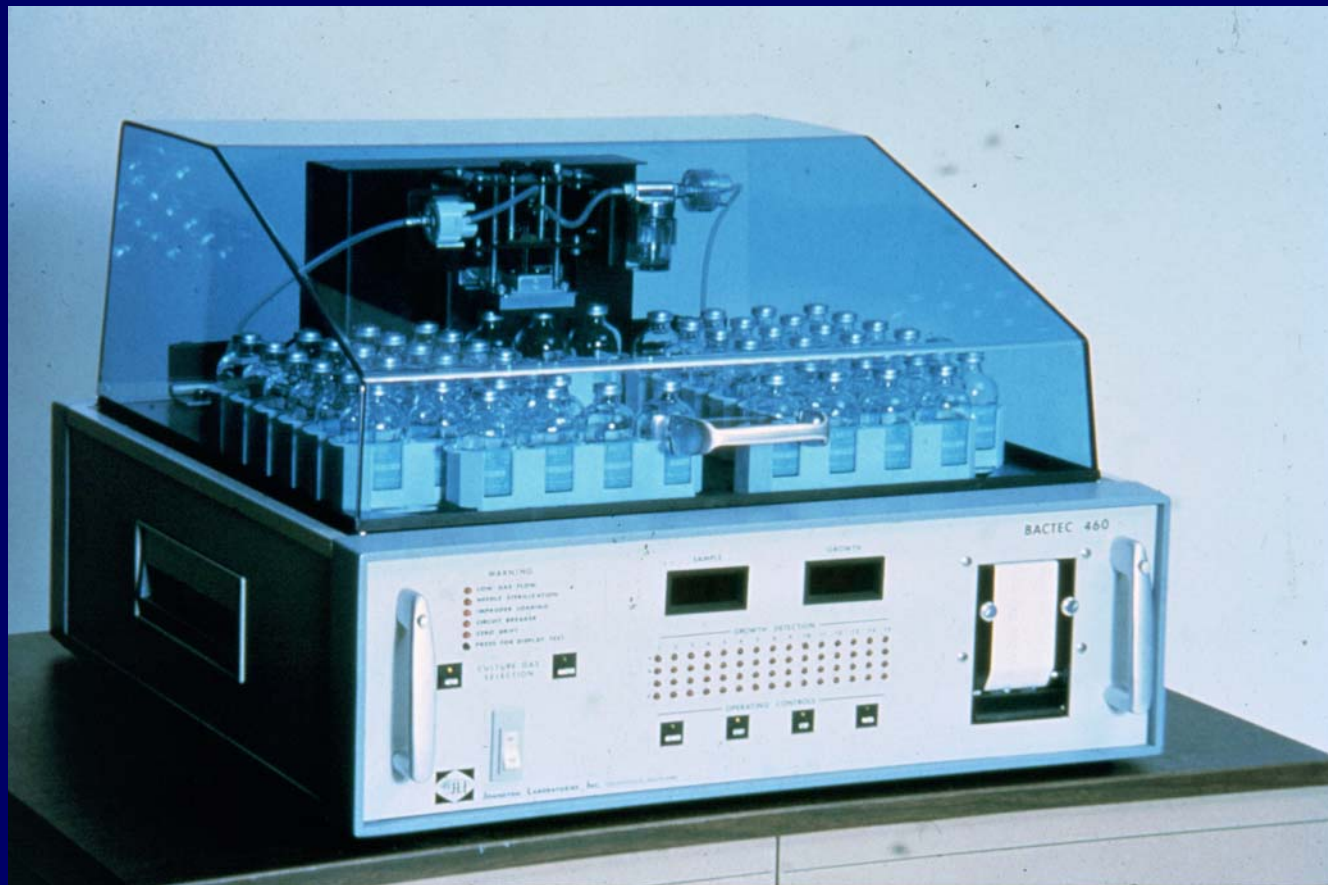


血培养成功的必要条件（1930年）

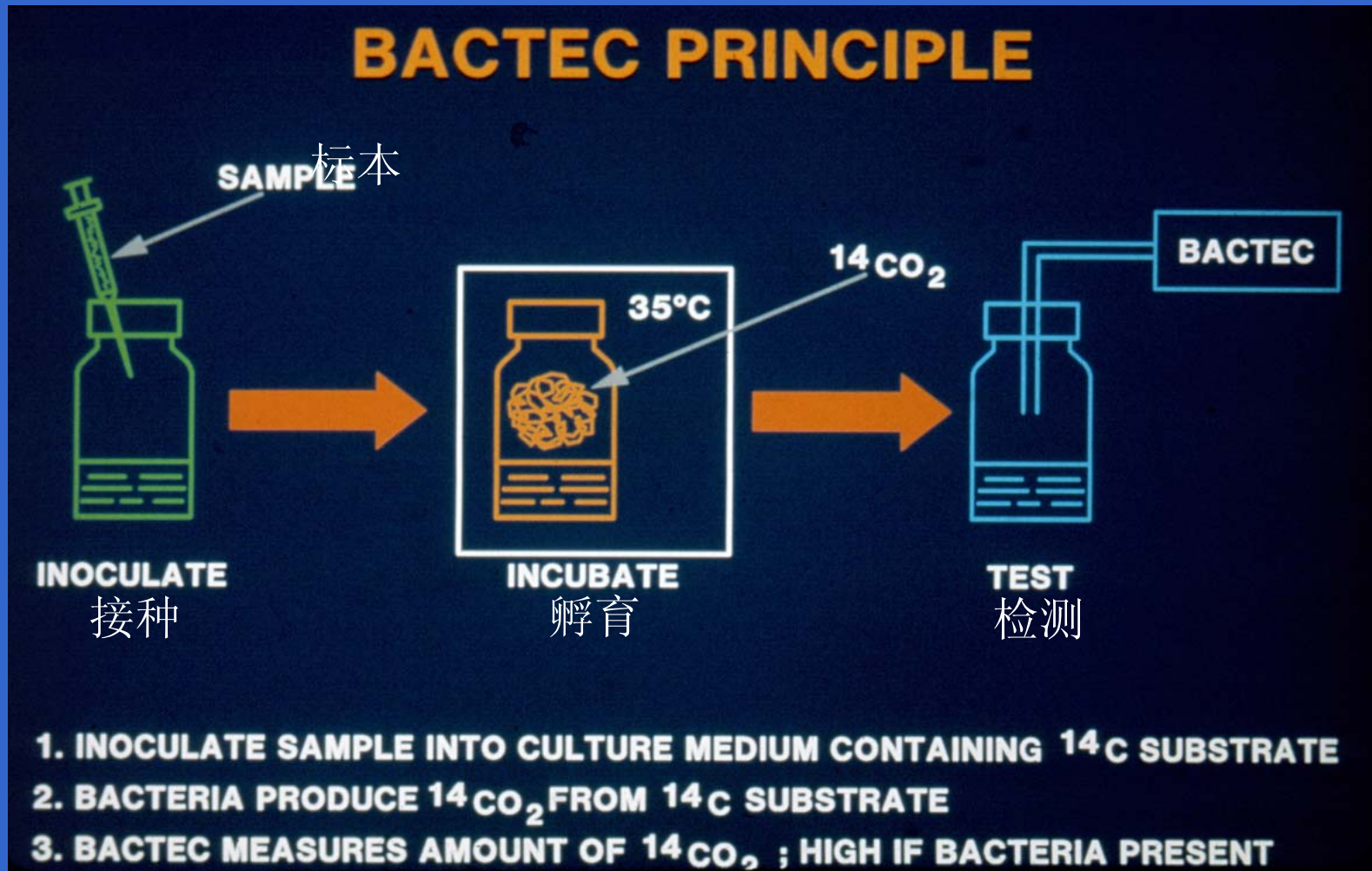
Pulvertaft, RJV. Lancet 1:821-2

- 采血量 ≥ 10 ml
- 血液和肉汤比例 $> 1:5$
- 三次血培养(SBE)
- 培养14天

第一台自动化血培养仪—BACTEC 460（ 20世纪70年代初期）

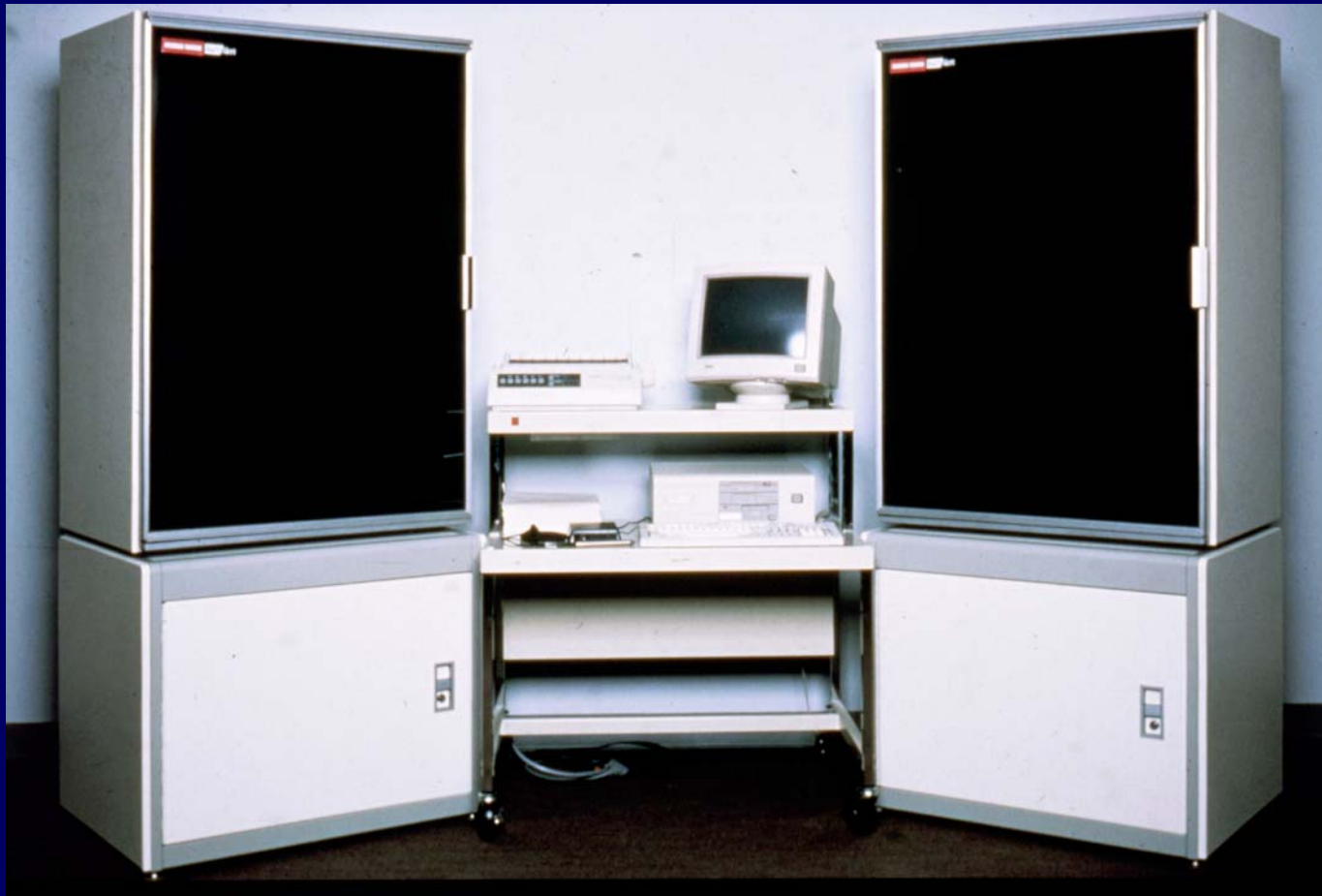


BACTEC工作原理



1. 把标本接种至含有 ^{14}C 底物的培养基
2. 细菌分解 ^{14}C 底物从而产生 $^{14}\text{CO}_2$
3. BACTEC通过测定 $^{14}\text{CO}_2$ 的量来检测细菌

第一台连续监测的血培养仪– BacT/Alert (1991年)



血培养的进展（1975 – 2004年）

- 对关键的技术因素和临床因素进行系统研究，以提高菌血症和真菌血症的检出率
 - 采血量
 - 肉汤培养基的种类
 - 血液和肉汤比例
 - 孵育气体
 - 振荡
 - 其它：抗菌药物吸附剂、吞噬细胞裂解剂等

血源性感染的临床意义

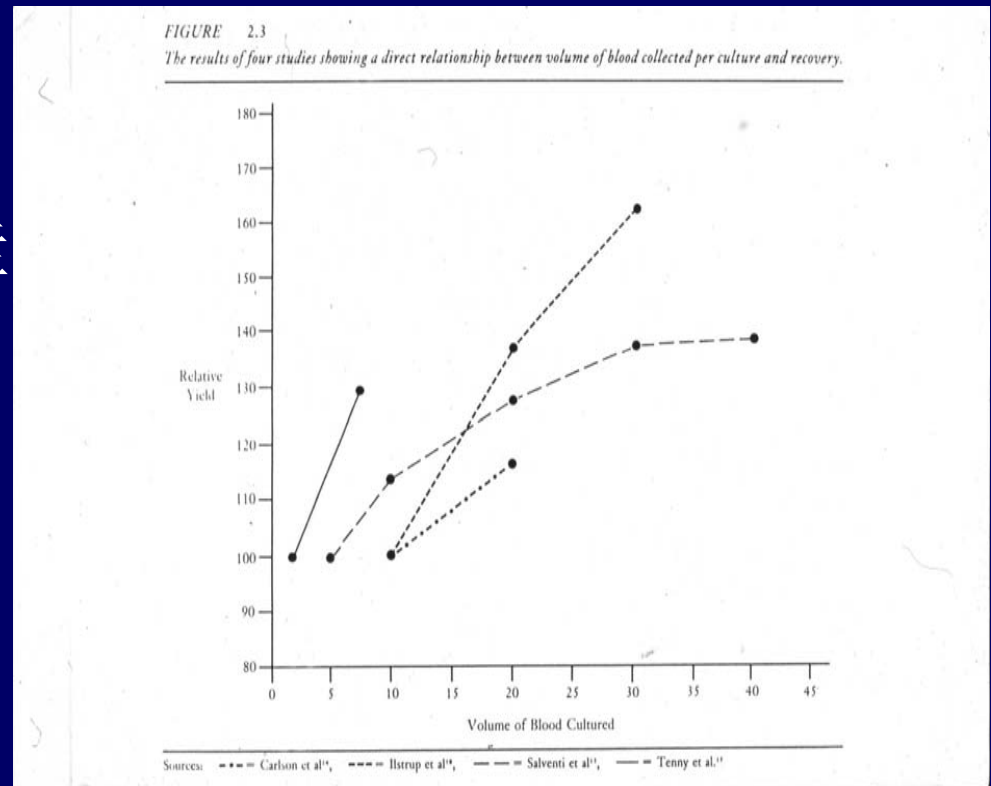
- 在各项微生物检验中，准确及时的从血液中培养出病原微生物具有非常重要的意义
- 菌血症的发生率
 - 在美国，估计每年超过200, 000例
 - 死亡率20-25%
 - 部分医院，医院获得性感染 > 50%
 - 延长住院时间
 - 与社区获得性感染相比，死亡率增加

阳性血培养对于临床诊断和预后判断的重要性

- 诊断
 - 明确感染的病原体
 - 通过药敏试验为临床合理选择抗菌药物提供依据
- 预后
 - 提示宿主防御系统不能把感染局限在原发灶
 - 提示用清除、引流等方案治疗原发感染灶的失败

影响血培养的技术因素

- 采血量是最重要的因素之一
- 成人： 20-30 ml 最佳
- 婴儿和儿童： 1-5 ml



影响血培养的技术因素

- 培养基
 - 不同的肉汤效果不一定相同
 - 不同厂家生产的同种培养基效果不一定相同
 - 合适的添加剂
 - 培养瓶的构造及顶部空间气体的影响

不同培养基的培养结果比较

<u>Microorganisms</u>	<u>Both media</u>	<u>COL Only</u> (哥伦比亚)	<u>THIO Only</u> (巯基乙酸盐)	<u>P</u>
葡萄球菌	109	25	24	NS
链球菌	68	14	38	<0.001
(肺炎链球菌)	(29)	(2)	(23)	(<0.001)
<i>肠杆菌科</i>	160	20	37	<0.05
<i>铜绿假单胞菌</i>	29	6	8	NS
厌氧菌	34	9	18	NS
真菌	13	27	2	<0.001
(白色念珠菌)	(10)	(19)	(1)	(<0.001)
所有微生物	420	119	126	NS

TSB培养基的比较

(Weinstein MP et al, J Clin Microbiol, 21:626-629, 1985)

<u>Microorganisms</u>	<u>Both</u> <u>Systems</u>	<u>SeptiChek</u> <u>Only</u>	<u>Vacutainer</u> <u>Only</u>	<u>P</u>
葡萄球菌	82	34	8	<0.001
链球菌	53	34	10	<0.001
<i>肠杆菌科</i>	160	71	22	<0.001
<i>铜绿假单胞菌</i>	28	32	8	<0.02
厌氧菌	12	8	24	<0.01
真菌	59	17	7	NS
所有微生物	411	192	79	<0.001

影响血培养的技术因素

- 血液和肉汤比例
 - 血液至少稀释5倍(1:5)
 - 减少抑制物
 - 巨噬细胞
 - 补体
 - 溶菌酶
 - 免疫球蛋白
 - 减少血液中抗菌药物浓度
 - 某些培养基允许更低的比率

影响血培养的技术因素

- 孵育气体
 - 传统每套含2瓶：需氧和厌氧
 - 上世纪70年代厌氧菌检出率高达25%
 - 厌氧菌菌血症目前不常见
 - Mayo Clinic (1990)：15年内下降45%
 - Barnes Hospital (1992)：1978-1990年下降3-4倍
 - 厌氧菌菌血症减少可能的原因
 - 厌氧菌感染的早期诊断和治疗
 - 外科预防的改善
 - 能有效覆盖厌氧菌的抗菌药物经验性用药

影响血培养的技术变量-厌氧瓶的使用

- 不推荐常规使用厌氧瓶
 - Murray et al (1992)：厌氧培养的结果对于临床治疗的影响很小
 - Morris et al (1993)
 - 84%厌氧菌菌血症患者（仅厌氧瓶阳性）都有临床症状提示厌氧菌感染
 - 因此，常规采用2个需氧瓶，选择性增加1个厌氧瓶，可以检测出84%的厌氧菌菌血症。

BacT/Alert 2瓶需氧和厌氧/需氧瓶的比较

(Riley et al, J Clin Microbiol, 41:213-7, 2003)

<u>Microorganisms</u>	<u>Both</u> <u>Pairs</u>	<u>需氧</u> <u>Only</u>	<u>需氧/厌氧</u> <u>Only</u>	<u>P</u>
葡萄球菌	231	23	38	0.05
链球菌	61	7	7	NS
肠球菌	24	8	13	NS
<i>肠杆菌科</i>	143	30	48	<0.05
非肠杆菌科杆菌	11	11	7	NS
厌氧菌	9	5	16	0.01
真菌	6	2	1	NS
所有微生物	487	86	131	0.002

影响血培养的技术因素-厌氧瓶的使用

- 选择厌氧瓶需要考虑的因素
 - 当地医院厌氧菌菌血中的发生率
 - 医务工作者的知识
 - 实际问题
 - 不同的病区，不同的病人（如，外科手术病人）
 - 血培养的操作者
 - 抽血员
 - 非抽血员
 - 住院医师和医学生

影响血培养的技术因素

- 抗凝剂
 - 大部分系统使用SPS
 - 干扰巨噬作用
 - 抑制溶菌酶和补体活性
 - 灭活氨基糖苷类药物
 - 对淋球菌、厌氧消化链球菌有抑制作用
- 振荡
 - 提高阳性瓶的检出率和缩短阳性时间

影响血培养的技术因素

- 抗菌药物的灭活或结合
 - BACTEC
 - 树脂
 - BacT/Alert
 - 活性炭
 - 与标准瓶相比提高检出率
 - 同时也提高污染菌的检出率特别是凝固酶阴性葡萄球菌，增加了费用

含树脂与不含树脂瓶的检出率比较

(Weinstein MP et al, J Clin Microbiol, 29:879-882, 1991)

<u>Microorganisms</u>	<u>Both</u> <u>Systems</u>	<u>Plus 26</u> <u>Only</u>	<u>SeptiChek</u> <u>Only</u>	<u>P</u>
葡萄球菌	76	71	16	<0.001
链球菌	15	6	5	NS
肠球菌	12	15	1	<0.005
<i>肠杆菌</i>	87	37	15	<0.005
<i>铜绿假单胞菌</i>	15	9	5	NS
厌氧菌	0	4	1	NS
真菌	34	12	14	NS
所有微生物	257	163	65	<0.001

BacT/Alert 含活性炭瓶与标准瓶细菌检出率比较

(McDonald LC et al, J Clin Microbiol, 34:2180-84, 1996)

<u>Microorganisms</u>	<u>Standard Only</u>	<u>FAN Only</u>	<u>P</u>
金黄色葡萄球菌	4	42	<0.0001
凝固酶阴性葡萄球菌	2	20	<0.0005
肠杆菌	5	22	<0.005
非肠杆菌科杆菌	6	2	NS
厌氧菌	5	5	NS
真菌	7	7	NS
多种微生物	8	16	NS
所有微生物	43	126	<0.0001

BacT/Alert FAN vs. Standard Bottles中 主要的污染物

(McDonald LC et al, J Clin Microbiol, 34:2180-84, 1996)

<u>Microorganisms</u>	<u>Standard Only</u>	<u>FAN Only</u>	<u>P</u>
凝固酶阴性葡萄球菌	79	160	<0.0001
其它污染物 ^a	42	62	NS
所有污染物	121	222	<0.0001

^a 丙酸菌、棒状杆菌、芽孢杆菌是其它污染物中主要的细菌

影响血培养的技术因素

- 孵育时间缩短
 - 二十世纪七十年代：7-14天
 - 二十世纪八十年代至九十年代初期：7天
 - 连续监测血培养系统：5天
 - 在特殊情况下可延长孵育时间：布鲁氏杆菌、军团菌、丝状真菌、心内膜炎

BacT/Alert Standard^a and ESP Blood Culture Bottles^b 累积发现的微生物数量

<u>Day of Incubation</u>	No. (% of total detected)		
	<u>BTA O₂ Bottle</u>	<u>BTA AnO₂ Bottle</u>	<u>ESP System</u>
1	285 (75.8)	258 (73.9)	4757 (63.2)
2	53 (89.9)	52 (88.8)	1910 (88.6)
3	16 (94.1)	15 (93.1)	490 (95.1)
4	10 (96.8)	10 (96.0)	204 (97.8)
5	3 (97.6)	6 (97.7)	169 (100)
6	1 (97.9)	2 (98.3)	No data
7	8 (100)	6 (100)	No data

^a Wilson ML et al, Diag Microbiol Infect Dis, 16:31-34, 1993

^b Doern GV et al, J Clin Microbiol, 35:1290-92, 1997

BACTEC 9240 需氧瓶中4天和5天的培养结果

- 孵育5天后共检出1133株有临床意义的菌株
 - 907株(80.0%) 在24小时内检出
 - 162株 (14.3%) 在24-48 小时检出
 - 仅18株在96小时以后检出
- 在第5天检出的细菌

<i>S. aureus</i>	4
<i>E. faecalis</i>	1
<i>Klebsiella</i> spp.	5
<i>Serratia</i> sp.	1
<i>Brucella</i> sp.	2
<i>Candida</i> spp.	3
<i>C. neoformans</i>	1

影响血培养的临床因素

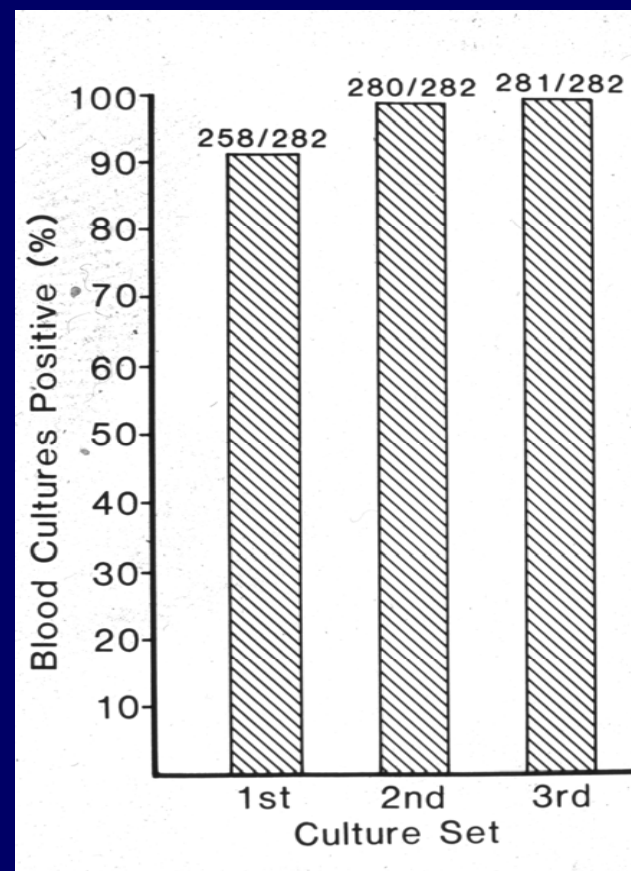
- 皮肤消毒剂的效果
 - 传统目标：污染率低于3%
 - 640个单位的CAP研究
 - Schiffman et al, Arch Lab Clin Med, 1998
 - 平均污染率 – 2.5%
 - 第90位百分数– 0.9%
 - 第10位百分数– 5.4%
 - 消毒剂并非立即起效
 - 碘伏1.5-2分钟
 - 碘酊0.5分钟
 - 其它：乙醇、洗必泰

影响血培养的临床因素

- 采血方式
 - 注射器静脉采血
 - 直接采血：真空装置
 - 静脉导管内抽血
 - 这种采血方式使用增加
 - 增加污染率
 - 同时需取外周血以确认

影响血培养的临床因素

- 血培养次数
- 如果每次采血量 ≥ 20 ml, 所有的成人菌血症在2或3次血培养之后均可检出



影响血培养的临床因素

- 采血时间
 - 更多依赖于病人当时的状态
 - 血培养的间隔时间不重要
 - 24小时内同时采血和连续采血之间无差异

血培养阳性的正确判读

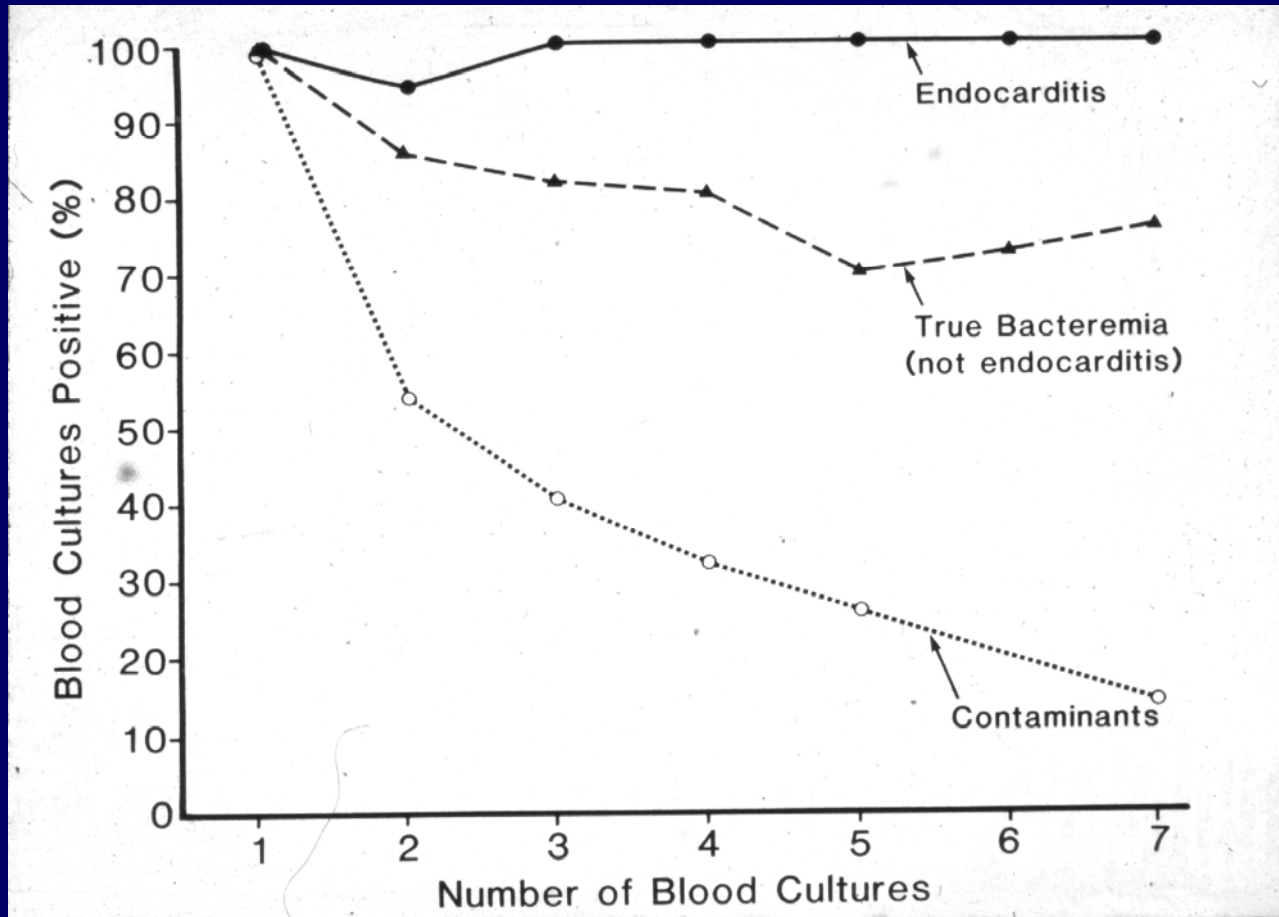
- 临床因素
 - 病史、体征、白细胞计数、影像学、病程、其它部位的培养结果
- 实验室因素
 - 微生物鉴定
 - 血培养阳性率（阳性瓶/总数）
 - 每套血培养阳性的瓶数
 - 微生物阳性检出时间
 - 菌株种类（如凝固酶阴性葡萄球菌）
 - 分子分型技术（如脉冲场凝胶电泳）
 - 传统方法（生化、抗菌谱）

血培养最常见的微生物

(Weinstein MP et al. Clin Infect Dis, 24:584-602, 1997)

微生物	数量	% “True”
金黄色葡萄球菌	178	87
大肠埃希菌	142	99
凝固酶阴性葡萄球菌	87	12
肺炎克雷伯菌	65	100
肠球菌	65	70
铜绿假单胞菌	53	96
肺炎链球菌	34	100
白色念珠菌	27	90
草绿色链球菌	27	38
阴沟肠杆菌	25	100

血培养的诊断意义 (Weinstein MP et al, Rev Infect Dis 5:35-53, 1983)



影响阳性血培养解释的其它因素

- 阳性的时间
 - 血液中病原菌的含量比污染菌多，所以检出时间短
- 阳性的瓶数
 - 病原菌多个血瓶阳性
- 病原菌和污染菌重叠程度
 - 培养阳性时间对导管相关性菌血症更有价值
(Raad et al, Ann Intern Med, 140:18-25, 2004)

血培养新进展

- 研究比过去少
- 连续监测血培养系统的临床对比评价更加困难
 - 伦理问题
 - 赞助商预算限制
 - 市场划分

BACTEC 9240 和 BacT/Alert 需氧标准瓶检出率比较

(Mirrett et al, J Clin Microbiol, 41:2391-4, 2003)

<u>Microorganisms</u>	<u>Both Systems</u>	<u>BTA Only</u>	<u>BACTEC Only</u>	<u>P</u>
金葡	109	23	12	NS
凝固酶阴性葡萄球菌	32	16	6	<0.05
链球菌	16	3	4	NS
肠球菌	66	15	13	NS
肠杆菌	66	17	14	NS
非肠杆菌科杆菌	30	11	7	NS
厌氧菌	0	0	2	NS
真菌	27	23	8	<0.01
所有微生物	348	108	67	<0.005

BACTEC 树脂瓶和BacT/Alert 活性炭检出率比较

(Mirrett et al. 102nd Gen Mtg ASM, 2002)

<u>Microorganisms</u>	<u>Both</u> <u>Systems</u>	<u>BacT/Alert</u> <u>Only</u>	<u>BACTEC</u> <u>Only</u>	<u>P</u>
葡萄球菌	239	58	54	NS
链球菌	9	2	5	NS
肠球菌	32	11	11	NS
肠杆菌	76	18	30	NS
(非大肠或肺克)	(47)	(8)	(19)	(<0.05)
铜绿假单胞菌	12	4	1	NS
其它革兰阴性菌	22	7	5	NS
厌氧菌	3	9	6	NS
真菌	31	22	9	<0.05
(白念)	(17)	(10)	(2)	(<0.05)
所有微生物	417	129	122	NS

BACTEC MYCO/F 血培养瓶

- 检测真菌和分枝杆菌（Bactec 9000系列）
- 添加Middlebrook 7H9、脑心浸液、特殊的蛋白和糖、皂角甙、氧、二氧化碳
- 也适用其它细菌生长

BACTEC MYCO/F LYTIC

- HIV患者，Bactec MFL系统新生隐球菌检出率较ISO系统高，但荚膜组织胞浆菌检出率低 (Waite & Woods, JCM, 1998)
- 在其他患者中，MFL系统真菌检出率比ISO和含树脂需氧瓶高，荚膜组织胞浆菌检出率与Isolator几乎一致 (18/19) (Fuller et al, JCM, 2001)
- 疑似分枝杆菌血症患者，MFL与13A, ISO, BTA MB系统比较 (Crump et al, JCM, 2003)
 - 检出率无明显差异 (n=94)
 - 检出时间有明显差异 MB<MFL<13A<ISO