

讲 座

重视抗菌药物治疗前病原学检查的规范性

明茜¹ 黄丽芳¹ 肖毅¹ 孟凡凯¹ 毛汉文^{2*}¹华中科技大学同济医学院附属同济医院血液科,湖北武汉 430030²武汉市东西湖区人民医院肿瘤血液科,湖北武汉 430040

关键词 菌检率; 血培养; 痰培养; 尿培养; 血清降钙素原

中图分类号 R446 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20220213

根据国家卫健委发布的《关于印发 2021 年国家医疗质量安全改进目标的通知》,年度十大目标之一的“提高住院患者抗菌药物治疗前病原学送检率”(简称菌检率),即以治疗为目的使用抗菌药物的住院患者,使用抗菌药物前病原学检验标本送检病例数占同期使用抗菌药物治疗病例总数的比例,反映了医疗机构住院患者抗菌药物的使用情况。《医院感染管理医疗质量控制指标(2015 年版)》要求住院患者抗菌药物使用前病原学送检率不低于 30%,限制使用级不低于 50%,特殊使用级不低于 80%^[1]。但目前很多医院送检率未达到上述标准,主要原因有送检意识不强,或在标本采集、标本运送和保存、实验室处理等环节出现问题,也将导致检出率下降,降低了临床医生对标本送检的积极性。感染性疾病的病原学检验项目包括形态学检查、培养、分子生物学等,细菌培养、真菌培养以及相关辅助检查如降钙素原(PCT)、白介素-6(IL-6)、真菌 1-3-β-D 葡聚糖检测(G 试验)等,属于病原学送检范围。本文就住院患者抗菌药物治疗前各种病原学检验的标本采集、运送以及结果等方面进行解读,拟为医疗机构人员在具体实施上提供参考。

微生物培养

血培养

1. 送检指征:①体温 $>38^{\circ}\text{C}$ 或 $<36^{\circ}\text{C}$;②寒战;③外周血白细胞计数增多($>10.0 \times 10^9/\text{L}$,特别有“核左移”时)或减少($<4.0 \times 10^9/\text{L}$);④呼吸频率 >20 次/min 或动脉血二氧化碳分压(PaCO_2) <32 mmHg;⑤心率 >90 次/min;⑥皮肤黏膜出血;⑦昏迷;⑧多器官功能障碍;⑨血压降低;⑩炎症反应指标升高,如 C 反应蛋白(CRP)、PCT、G 试验等。

2. 采样时机:①寒战或发热初起时采集,使用抗菌药物之前采血;②当可疑临床症状出现后,应尽早采血培养;③如果患者已经开始应用抗菌药物治疗,则应该在下一用药前采血培养。

根据 2017 年国家卫生和计划生育委员会发布《临床微生物实验室血培养操作规范》(以下简称《操作规范》)^[2],对疑为成人血流感染的患者应尽可能在短时间内从不同部位采集 2~3 套血培养标本,此后 2~5 d 内不必重复采集。在 24 h 内采集 2~3 套血培养标本,大部分的病原菌都可被检出。如怀疑感染性心内膜炎,宜在经验性用药前 30 min 内在不同部位采集 2~3 套血培养。若 24 h 血培养阴性宜再加做 2 套血培养。多套血培养结果可区别污染菌(尤其是凝固酶阴性葡萄球菌、肠球菌属和草绿色链球菌),也可增加培养的阳性率。

3. 采集方法:

①血培养宜单独采血,若需与其它检测项目同时采血时,应先接种血培养瓶,以避免污染。采集过程中保持无菌观念,注意采集部位皮肤的消毒,消毒区域直径 >3 cm。常见消毒液有 75% 乙醇、2% 碘酊,自然干燥 60 s,1% 碘伏需要作用 1.5~2 min。注意检查血培养瓶是否完好无损、是否过期。

②选择一个静脉穿刺点,采集需氧、厌氧各 1 瓶,瓶内使用聚茴香脑磺酸钠(SPS)作为抗凝剂(浓度为 0.025%~0.05%),使用树脂作为抗生素吸附剂。若采血量充足,注射器采集的血液应先注入厌氧瓶,后注入需氧瓶,碟型针采集的血液反之。若采血量不足则优先注入需氧瓶。

③成人血培养需氧瓶(儿童只需采取需氧瓶)、厌氧瓶各 8~10 mL 血;采血量每增加 1 mL,阳性率增加 3%(0.6%~4.7%)。但采血量也并非越多越

* 通信作者:毛汉文,E-mail:mhw550@sina.cn,湖北省武汉市东西湖区泾河街金北一路 48 号

好,如使用肉汤培养基时,超过一定数量的采血量会稀释培养瓶内的肉汤,使肉汤无法有效中和血中的抑制物质(补体、抗体、抗生素),应保持血液与肉汤的最佳比例 1:4~1:10。儿童中,厌氧瓶只有对特殊高危的患儿使用,母亲产褥期患腹膜炎,慢性口腔炎或鼻窦炎,蜂窝组织炎,有腹腔感染的症状和体征,咬伤,败血性,接受类固醇治疗的粒细胞缺乏患儿^[3]。

④仅在评估导管相关性血流感染(catheter related blood stream infection, CRBSI)时采集导管血,即短期外周静脉导管置入、中心静脉导管置入和静脉输液港植入。如怀疑 CRBSI 或导管有细菌定植,短期外周导管应无菌操作拔除导管,中心静脉导管或静脉输液港如有必要也可拔除。剪切拔除导管尖端 5 cm,采用 Maki 半定量培养,并抽取 2 套外周血培养。如需保留导管,则至少采集 1 套静脉外周血培养和 1 套导管血培养。

4. 运送:血培养瓶应在 2 h 内送至实验室孵育或上机,如不能及时送检,应将血培养瓶置于室温,不可冷藏或冷冻。若培养瓶延迟送检而提示已有细菌生长,则应直接进行涂片镜检。经评估后不合格的血培养瓶应拒收并尽快告知申请医师。

5. 结果解读

①血流感染:患者出现相关疾病的临床症状,如心内膜炎、脑膜炎、肺炎等,且 2 套培养瓶均为同一种微生物阳性,可判定为血流感染。

②可疑血流感染:特定疾病如移植患者、腹部感染患者等,出现 2 套培养瓶为多种微生物的阳性结果;患者出现相关疾病的临床症状,如留置导管后、修复心脏瓣膜、服用免疫抑制剂,且 1 套培养瓶出现阳性结果;如草绿色链球菌或凝固酶阴性葡萄球菌;出现沙门菌、李斯特菌属、金黄色葡萄球菌、嗜血杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等阳性。

③可疑污染:即使严格遵守无菌操作,仍有 3%~5% 的血培养瓶中出现痤疮丙酸菌属、梭菌、类白喉棒状杆菌、凝固酶阴性葡萄菌属等正常皮肤菌群,或不动杆菌属、芽孢杆菌等周围环境常见菌^[4],仅 1 套培养瓶出现阳性结果。但若不同部位血培养标本培养出以上同一种菌,或多次分离出同一种菌且药敏结果相同,则应考虑可能为致病菌。可疑血流感染和可疑污染,以及出现临床症状但血培养阴性,均需重复采血,必要时需做病毒病因学或非可培养的微生物检测。

6. 考虑 CRBSI 时,是否拔除导管?

根据《操作规范》,①如有 1 套及以上血培养阳

性且导管尖端培养阳性,且菌种鉴定与药敏谱相同,则为 CRBSI;如 2 套血培养均为阳性,且菌种鉴定与药敏谱相同,在没有其它明确感染源的情况下,则为 CRBSI;如菌种鉴定但药敏暂未出,但导管血阳性报警时间比外周血阳性报警时间早 ≥ 120 min,在没有其它明确感染源的情况下,提示为 CRBSI;②如仅血培养阳性,且阳性株为金黄色葡萄球菌或念珠菌属,则可能为 CRBSI;如需进行确认,需进一步采集其它部位外周血培养,若获得阳性且为同一菌种,在没有其它明确感染源的情况下,提示为 CRBSI;③如仅导管尖端培养阳性,则提示导管定植;④如血培养和导管尖端培养均为阴性,则不考虑 CRBSI。

痰培养

1. 送检指征:①咳痰,尤其是出现脓性、血性、铁锈色或红棕色痰;②咯血,肺结核患者常痰中带血;③呼吸困难;④发热;⑤胸痛。另外,肺部感染患者有 25%~50% 发生菌血症^[5],做痰培养的同时应作血培养。

2. 采集时机:①在抗生素应用前采集痰标本;②对于细菌性肺炎,痰标本送检每天 1 次,连续 2~3 d;③不建议 24 h 内多次采集,除非痰液外观性状改变;④怀疑分枝杆菌感染者,应连续收集 3 d 清晨痰液送检。

3. 采集方法:临床上约半数的标本都是不合格的,所取标本常为口腔唾液^[6]。正确的方式是在取标本前应摘去牙托,清洁口腔如刷牙漱口,去除表面的菌群;深咳嗽,收集从下呼吸道咳出的痰液,采集标本过程中要有专业的医务人员指导。如肉眼观察为唾液时,应将标本丢弃。咳痰困难者,可用 3%~5% 氯化钠溶液 5 mL 雾化约 5 min 导痰。

在一些特殊患者中,有时需要采取器械采集,包括支气管镜采集法、防污染毛刷采集法、支气管肺泡灌洗法、经气管穿刺吸引法、经胸壁针刺吸引法。采集过程中应避免咽喉部正常菌群的污染,气管插管的患者应避免插管表面细菌的污染。并且,采集的标本应做涂片检查,鳞状上皮细胞 $\leq 1\%$ 时,表示未受到口腔分泌物污染。

4. 运送:呼吸道标本应在采集后立即送检,不可低温保存。实验室须在接到标本后 2 h 内接种,放置过久会降低肺炎链球菌、流感嗜血杆菌的分离率,而定植于上呼吸道的非致病菌则会过度生长。

5. 结果解读:不应过度重视痰培养结果有非发酵菌(铜绿、鲍曼、嗜麦芽)及念珠菌属,因为这些细菌为在呼吸道寄生条件致病菌,在免疫功能正常的

患者中通常不致病;不应忽略的痰培养结果有真菌、分枝杆菌和奴卡菌(常规抗酸和弱酸染色)、隐球菌等^[7]。如痰培养中出现病毒,应注意加做病毒核酸检测。检出军团菌或肺炎链球菌应注意加做免疫学检测,如尿抗原。同时还应注意革兰染色、培养结果、临床治疗反应的一致性。

尿培养

1. 送检指征:①有典型的尿路感染症状,尿频、尿急、尿痛;②肉眼脓尿或血尿;③尿常规检查表现为白细胞和/或亚硝酸盐阳性;④留置导尿管的患者出现发热;⑤膀胱排空功能受损;⑥泌尿系统疾病手术前。

2. 采集时机:尿培养无特殊采集时机,一般采集晨尿(或在膀胱储留>4 h的尿)。

3. 采集方法:尿液标本采集前先消毒外阴,再留取中段尿于无菌容器中送检。门诊患者易将随机尿代替中段尿送检,这将导致结果不准确。因治疗需要,部分患者留置导尿管,采集标本时采集了尿袋中的尿液,这也将导致结果不准确。留置导尿管的患者采集时应先消毒导尿管口,按无菌操作方法用注射器经导尿管抽取尿液。另外,长期留置导管进行常规尿培养意义不大,通常会培养出大量定植菌。必要时行耻骨上膀胱穿刺采集尿液标本,这是评估膀胱内细菌感染的“金标准”^[8]。

4. 运送:尿培养标本应立即送检、及时接种,如果不能在 30 min 内接种,应置于 4℃ 冰箱冷藏保存,最晚不超过 6 h 内接种。要注意的是,淋病奈瑟菌培养的标本不能冷藏。

5. 结果解读:尿液标本有 3 种或更多种属细菌存在,通常意味标本采集时的污染;但有尿道支架的患者,可能会分离到多种病原,有可能是致病性的。

粪便培养 怀疑为细菌性腹泻时应采集粪便标本培养,有自然排便法、直肠拭子法。应采集新鲜、带脓血样或稀便做培养,应尽量采用无菌容器。腹泻患者应尽量在急性期(3 d 内)采集标本,以提高阳性率。住院 3 d 以后,不以感染性腹泻为原发病的患者不适合做粪便培养。

咽拭子培养 标本采集应在抗生素使用之前,嘱患者用清水反复漱口,以清除口腔表面的细菌。用压舌板将舌向下向外压,使悬雍垂向外牵引,将拭子超过舌根到达咽后壁或悬雍垂的后侧,在咽部肉眼见明显发红或有假膜处反复涂抹棉拭,放入无菌试管内立即送检。

无菌体液培养 无菌体液如脑脊液、胆汁、胸

水、腹水、心包液、关节液、鞘膜液等,进行微生物培养的诊断价值高。通常由穿刺获得,采集过程中必须遵循无菌操作原则,采集适量的标本,注意生物安全,不要感染到人、污染到环境。如有引流,可从引流管的近皮端用注射器采集标本送检,严禁从引流袋内抽取标本。如脑脊液,采集的每管中不少于 1 mL 液体,采集的标本应 30 min 内室温送检,严禁冷藏。若做脑脊液培养,建议同时加做外周血培养。

病灶标本培养 对于开放性伤口和已溃破的化脓灶,先用无菌生理盐水反复冲洗表面,再用无菌拭子将表面的脓液沾掉丢弃,最后用无菌拭子采集深部脓液及病灶深部分泌物,禁止在换下的旧敷料上沾取标本或直接用敷料送检。如果分泌物未分离到致病菌,可取感染部位的坏死组织送检。如果怀疑为不常见的病原菌感染时,实验室应选择相应的培养基并延长培养时间。对于脓疱或水疱,局部皮肤消毒后,用小号针头挑破脓疱,拭子采集脓疱液和基底部标本。未破裂脓肿,消毒脓肿表面的皮肤,用注射器将脓肿内容物吸出送检,应同时送检需氧和厌氧菌培养。

烧伤伤口先行广泛清洗和清创,出现渗出液后用无菌拭子采集标本,仅作需氧培养;建议取活检标本,伤口表面分泌物培养不一定有意义。当创伤出血时、敷用药物 2 h 以内及烧伤在 12 h 内不应采集标本,此时获得阳性结果的机会很少。

非培养性检测

微生物涂片镜检 采集组织分泌物如下呼吸道标本、肛周样本,生殖道、眼及内耳分泌物,咽拭子、伤口创面和脓肿分泌物等进行涂片检测,是经济快捷发现病原体的方法。涂片阳性且与培养结果一致,对病原学诊断有一定参考价值,可作为初始经验性抗感染治疗的依据。

微生物核酸检测 聚合酶链式反应(PCR)技术直接检测血液或组织中微生物 DNA 或 RNA 含量,对某些病毒性疾病如疱疹病毒感染具有确诊价值。宏基因组测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)也属微生物核酸检测^[9],通过直接提取临床样本中的 DNA 或 RNA 进行高通量测序,经过专用病原数据库比对与生物信息分析,一次性完成细菌、真菌、病毒和寄生虫等病原体的检测,对罕见的病原也有优秀的识别能力,具有灵敏度高、特异性强的特点。标本的选择应与感染类型相关,如呼吸道感染可采用肺泡灌洗液、深部痰、鼻咽拭子,怀疑

血流感染时采用静脉血,怀疑中枢神经系统感染采用脑脊液等。

免疫学检测 急性期血清学 IgM 抗体阳性对诊断有指导价值,恢复期 IgG 抗体滴度呈 4 倍或 4 倍以上变化或 IgM 抗体由阴转阳具有回顾性确诊的价值。血清 G 试验、血清或分泌物半乳甘露聚糖抗原试验(GM 试验)阳性对侵袭性真菌病诊断有辅助价值,比影像学提前 7~10 d^[10]。

血清降钙素原检测 PCT 是判断细菌感染的重要标志物,动态监测 PCT 水平变化,也可以作为评估抗感染疗效及确定抗感染疗程的参考指标之一^[11]。但 PCT 特异性并不高,胰腺炎、缺血性肠病、肺水肿、创伤、肿瘤、肾功能不全等也可见 PCT 升高,所以需要联合其它检查或检验共同判断。

PCT 判断细菌感染^[12]:PCT<0.1 μg/L,认为没有细菌感染的可能;PCT 0.25~0.5 μg/L,存在细菌感染的可能;PCT>0.5 μg/L 时,可能性增大。针对疑似下呼吸道感染患者,当 PCT≥0.25 μg/L 时,提示细菌感染的可能性高,建议启用经验性抗菌治疗;针对怀疑脓毒症的患者,立即启动经验性抗菌治疗。PCT≥0.5 μg/L 时,有助于脓毒症的诊断。

PCT 水平指导抗感染药物使用:对于非重症下呼吸道感染患者,当 PCT 下降至 0.25 μg/L 或峰值浓度 80% 以下,且病情稳定的情况下,建议停用抗菌药物;对于正在接受抗菌药物治疗的重症感染患者,当 PCT 下降至 0.5 μg/L 或峰值浓度 80% 以下,建议停用抗菌药物。

白介素-6 检测 IL-6 是在炎症反应过程中起着核心调节功能的细胞因子,感染后 IL-6 的水平明

显升高,且其浓度与患者疾病的严重程度一致,可以作为感染评估和检测的常用指标,对脓毒症及病情严重程度的判定具有一定意义。

参考文献

- 1 乔继红,秦颖,陈浮,等.目标管理在提高病原微生物标本送检率中的应用[J].实用医药杂志,2021,38(3):285-288.
- 2 中华人民共和国国家卫生健康委员会.临床微生物实验室培养操作规范(WS/T 503-2017)[EB/OL].(2017-09-06)[2017-10-24].http://www.nhc.gov.cn/wjw/s9492/201710/f5612af688db482193a08b15e3091a29.shtml.
- 3 中国医师协会检验医师分会儿科疾病检验医学专家委员会.儿童血培养规范化标本采集的中国专家共识[J].中华检验医学杂志,2020,43(5):547-552.
- 4 Doern GV,Carroll KC,Diekema DJ,et al. Practical guidance for clinical microbiology laboratories: a comprehensive update on the problem of blood culture contamination and a discussion of methods for addressing the problem[J].Clin Microbiol Rev,2019,33(1):00009-00019.
- 5 张黎,刘正印,徐英春,等.继发血流感染病原学和临床特点[J].中华内科杂志,2012,51(5):366-370.
- 6 衣沈妮,林甜甜,刘蕾娜,等.不同口腔护理干预对无法自主咳痰病人痰培养留取结果的影响[J].全科护理,2021,19(16):2224-2226.
- 7 刘建,高子薇,凌虹.呼吸道菌群遗传、物种多样性及对免疫微环境的作用[J].国际遗传学杂志,2020,43(5):288-294.
- 8 祁晓芳,杜相珠,耿炜,等.留置导尿管患者尿培养采集方法的研究[J].国际医药卫生导报,2021,27(15):2298-2301.
- 9 Gu W,Miller S,Chiu CY. Clinical Metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J].Annu Rev Pathol,2019,14:319-338.
- 10 Jenks JD,Salzer HJF,Hoenigl M. Improving the rates of aspergillus detection: an update on current diagnostic strategies[J].Expert Rev Anti Infect Ther,2019,17(1):39-50.
- 11 袁梁,隋文君,顾海彤,等.不同病原体血流感染血清降钙素原水平研究[J].国际检验医学杂志,2021,42(19):2333-2336.
- 12 Branche A,Neeser O,Mueller B,et al. Procalcitonin to guide antibiotic decision making[J].Curr Opin Infect Dis,2019,32(2):130-135.
(2021-11-14 收稿 2022-01-16 修回)
- 12 Yin Y,Han W,Cao Y. Association between activities of SOD,MDA and Na⁺-K⁺-ATPase in peripheral blood of patients with acute myocardial infarction and the complication of varying degrees of arrhythmia[J].Hellenic J Cardiol,2019,60(6):366-371.
- 13 Yi Z,Ke J,Wang Y,et al. Fluvastatin protects myocardial cells in mice with acute myocardial infarction through inhibiting RhoA/ROCK pathway[J].Exp Ther Med,2020,19(3):2095-2102.
- 14 朱艳,徐谭,贾林霞,等.替格瑞洛在 NSTEMI 病人 PCI 术后的应用效果及对氧化应激相关因子和内皮功能的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2020,18(2):284-287.
- 15 卢丰才,彭文晖.急性冠脉综合征患者血清铁含量与心功能水平、心肌损伤程度的相关性[J].中国医药导报,2017,14(20):74-77.
- 16 Puymirat E,Simon T,Cayla G,et al. Acute myocardial infarction: changes in patient characteristics management and 6-month outcomes over a period of 20 years in the FAST-MI program (French Registry of Acute ST-Elevation or Non-ST-Elevation Myocardial Infarction) 1995 to 2015[J].Circulation,2017,136(20):1908-1919.
- 17 Kim YH,Her AY,Jeong MH,et al. Different statin effects of ST-elevation versus Non-ST-elevation acute myocardial infarction after stent implantation[J].Am J Med Sci,2020,359(3):156-167.
- 18 岑运光,廖卫,王太昊,等.葛酮通络胶囊联合缬沙坦沙库巴曲对扩张型心肌病心力衰竭患者心功能及血清 sICAM-1、LPO 水平的影响[J].现代中西医结合杂志,2020,29(20):2203-2207.
(2020-04-23 收稿 2021-01-07 修回)

(上接第 139 页)