

Effect of Delayed Entry on Time to Detection for the Lactose Nonfermentative Gram-Negative Rods

Seung-Wook Kim^{1*}, Jung-Hyun Byun^{2*}, Sunjoo Kim²

¹Convergence of Medical Sciences, ²Department of Laboratory Medicine, Gyeongsang Institute of Health Sciences, Gyeongsang National University School of Medicine, Jinju, Korea

Background: Prolonged transport or poor accessibility of blood culture equipment during night time may cause delayed entry of blood culture bottles. The effect of prestorage conditions on time to detection (TTD) for the blood culture was evaluated for the important gram-negative lactose nonfermentative bacteria.

Methods: Three different clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, and *Burkholderia cepacia* were diluted to 150 CFU/mL and 15 CFU/mL and inoculated into standard aerobic bottles. These were stored at 25°C and at 37°C for 0, 6, 12, 18, and 24 h. They were entered to BacT/Alert 3D Systems (bioMérieux Inc.) and TTD was monitored for each condition.

Results: At the 150 CFU/mL concentration, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* showed false-negative for the

bottles prestored at 37°C for 18 h and 24 h, respectively. However, there was no false-negative for *S. maltophilia* or *B. cepacia* at any prestorage conditions. There was a significant decrease of TTD for all experimental microorganisms except *P. aeruginosa* prestored for 24 h either at 25°C or at 37°C ($P < 0.05$).

Conclusion: Delayed entry may cause false-negative, especially for the high level of bacteremia of *P. aeruginosa* or *A. baumannii* when the bottles are stored at 37°C for ≥ 18 h. TTD could be reduced by prestorage of the bottles at 37°C until 12 h without false-negative for nonfermentative bacteria. (Ann Clin Microbiol 2017;20:7-12)

Key Words: Bacteremia, Delayed entry, *Pseudomonas*, Sepsis, Time to detection

INTRODUCTION

패혈증을 올바르게 진단하기 위해서는, 패혈증 의심 환자로부터 충분한 양(20-30 mL)의 혈액을 채취하여 호기병과 혐기병에 절반씩 분주한 후, 배양병은 2시간 이내에 혈액배양 장비에 투입해야 한다[1]. 하지만 야간이나 휴일 근무 시 혈액배양 장비 사용이 불가능하거나, 외부 검사기관으로 보내야 하는 경우, 병원이 여러 개 건물로 건축된 경우 혈액배양병의 장비 투입이 늦어지는 상황이 발생한다. 이때 배양병을 실온에 두어야 할지, 37°C에 보관해야 할지 하는 문제가 발생한다. 실온에 보관하면 균 검출 시간이 늦어지는 단점이 있다. 특히 야간에 혈액배양 장비를 전혀 운용하지 않는 경우, 37°C 보관에 비해서 균 검출 시간 및 최종 동정 시간에서 큰 차이를 보일 수 있다[2-4].

빠른 균 검출을 위해서 혈액배양 병을 37°C에 보관할 수 있

지만, 이 경우 일부 유당비발효균은 위음성을 보일 수 있다[5]. 하지만 유당비발효균을 대상으로 균수, 보관 온도 및 보관 시간에 따른 균검출시간 자료가 불충분하여, 본 연구에서는 패혈증에서 흔히 분리되는 유당비발효균 4가지(*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*) 임상분리주를 대상으로 여러 가지 보관 조건이 혈액배양 결과에 미치는 영향을 파악하고자 하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 균주 준비

임상 검체에서 분리된 녹농균(*P. aeruginosa*), *A. baumannii*, *S. maltophilia*, *B. cepacia* 균주를 혈액배양병에 계대배양한 후 생리식염수에 McFarland 0.5 탁도로 균을 부유시켰다. 균주 동정

Received 31 January, 2017, Revised 7 March, 2017, Accepted 7 March, 2017

Correspondence: Sunjoo Kim, Department of Laboratory Medicine, Gyeongsang National University School of Medicine, 79 Gangnam-ro, Jinju 52727, Korea. (Tel) 82-55-214-3072, (Fax) 82-55-214-3087, (E-mail) sjkim8239@hanmail.net

*These authors contributed equally to this work.

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

은 Vitek-2 Systems (bioMérieux Inc., Marcy l'Étoile, France)를 이용하여 동정하였다. 이 탁도의 균 농도를 1.5×10^8 /mL라고 가정하고 생리식염수로 10배씩 계단희석하여 이론적으로 150 CFU/mL와 15 CFU/mL 두 가지 농도로 만들었다. 균수는 두 가지 농도가 정확히 10배가 나지는 않기 때문에, 150 CFU/mL 농도의 균수를 사용하였다. 위와 같은 실험을 서로 다른 균을 사용하여 3회 반복하였다. 150 CFU/mL에 해당하는 농도가 녹농균(N=2)은 평균 187 CFU/mL (표준편차 47 CFU/mL), *A. baumannii* (N=3)는 평균 473 CFU/mL (표준편차 29 CFU/mL), *S. maltophilia* (N=3)는 평균 176 CFU/mL (표준편차 205 CFU/mL), *B. cepacia* (N=2)는 평균 218 CFU/mL (표준편차 3 CFU/mL)였다. 여기서는 편의상 150 CFU/mL를 '높은 농도', 15 CFU/mL를 '낮은 농도'로 기술한다.

2. 배양병 보관 조건

표준호기병(standard aerobic bottle, bioMérieux Inc.)에 균액을 1 mL 접종하고, 헌혈실에서 폐기되는 혈액 5 mL를 주입하였다. 배지는 25°C와 37°C 두 가지 온도의 배양기에 각각 0, 6, 12, 18, 24시간 동안 보관한 후, BacT/Alert 3D Systems (bioMérieux Inc.)에 장착하였다. 여기서는 편의상 25°C를 실온으로 기술한다.

3. 균검출시간(time to detection, TTD)

여러 조건에서 보관된 배양병을 장비에 투입한 후 양성 시그널이 나올 때까지의 시간을 '균검출시간(TTD)'으로 정의하였다. 균주별로 각 보관 조건에서의 TTD를 구하고, 그 결과를 비교하였다. '위음성'은 균이 증식하였지만 장비에서 양성 시그널을 내지 못한 것으로 정의하였다. 위음성의 경우 계대배양을 시행하지는 않고, 육안으로 균의 성장을 확인하였다.

4. 통계

각 균주별로 실온과 37°C 두 가지 온도와 0, 6, 12, 18, 24시간 동안 사전 보관한 조건에서의 평균 TTD를 구하고 그 결과를 비교하였다. 배양시간에 따른 각 보관시간별 평균 TTD 차이의 비교는 Kruskal-Wallis test로 유의성을 검정하였다. 대조군인 보관시간 0시간과 다른 보관시간과의 비교, 농도별 대조군 간의 비교 및 같은 보관시간에서 실온과 37°C에 보관된 균의 TTD차이는 Mann-Whitney U test로 분석하였다. 모든 검정은 양측(two-sided)이었고, 분석프로그램은 IBM SPSS version 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. *P* 값이 0.05 미만이면 통계적 유의성이 있다고 판단하였고, 다중비교 시에는 Bonferroni correction을 통해서 유의수준을 0.0083 (0.05/6) 이하로 하였다. 보관 시간에 따라 TTD 결과가 일관성이 없거나, 나머지 2군주 결과와 매우 큰 차이를 보이는 경우는 자료 분석에서 제외하였다. 즉, 보관 시간이 지나면서 TTD가 감소해야 하는데 오히려 증가한다면, 나머지 2개와 3시간 이상 TTD가 차이가 나는 경우 분석에서 제외하였다.

RESULTS

1. 녹농균

녹농균은 높은 농도 균을 실온에 보관한 경우 24시간째 2개 중 1개에서 위음성이었고, 37°C에 보관한 경우 18시간부터 2개 모두 위음성이었다. 보관시간에 따라 비교적 완만하게 TTD가 감소하였지만, 37°C에서 12시간 보관 후에 급속히 TTD가 감소하였다(Fig. 1). 하지만 보관 시간에 따른 통계적 유의성은 없었다($P=0.066$). 낮은 농도 균을 실온에 보관한 경우 위음성은 없었다. 낮은 농도에서는 비교적 완만하게 TTD가 감소하였지만, 37°C ($P=0.081$)에서는 18시간째 급속히 TTD가 감소하였다. 실

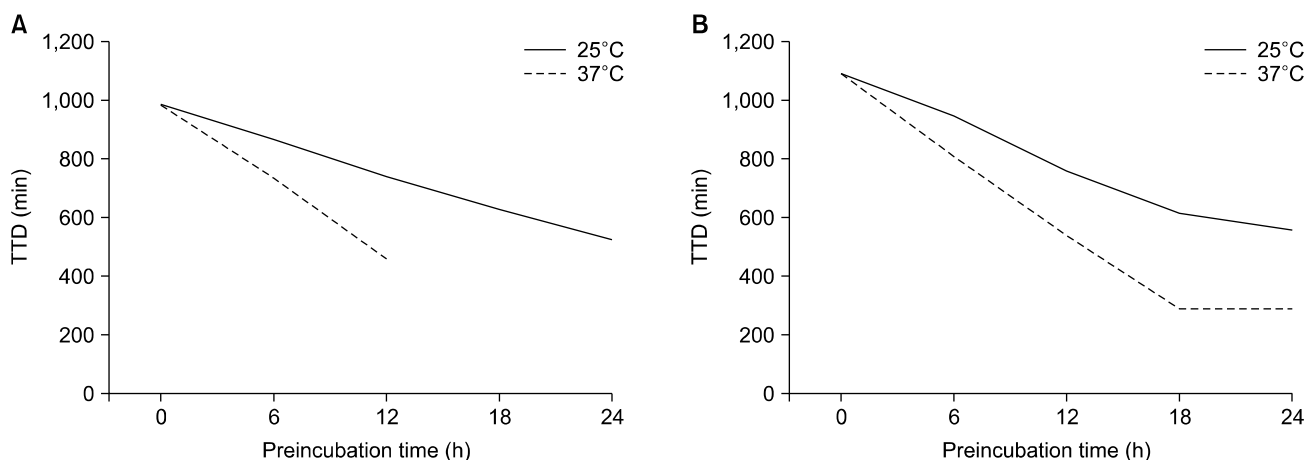


Fig. 1. Time to detection (TTD) of *Pseudomonas aeruginosa* of standard aerobic bottles stored at 25°C and at 37°C prior to insertion to BacT/Alert 3D blood culture system. Bacterial concentration: (A) 1.5×10^2 /mL, (B) 1.5×10^1 /mL.

온과 37°C의 TTD 그래프를 비교하면 육안적으로는 비교적 큰 차이를 보였다.

2. *A. baumannii*

*A. baumannii*는 접종 균수가 다른 균에 비해 약간 많았지만, 상대적으로 매우 빠른 속도로 균이 증식한 것을 알 수 있었다. 높은 농도에서는 실온($P=0.010$)에서 12시간째, 37°C ($P=0.016$)에서는 6시간째 급속히 TTD가 감소하였다(Fig. 2). 실온에서는 위음성은 없었지만, 37°C에서는 18시간째 3개 중 1개, 24시간째 3개 중 2개에서 위음성을 보였다. 낮은 농도에서도 실온($P=0.012$)에서 12시간째, 37°C ($P=0.012$)에서 6시간째 급속히 TTD가 감소하였다. 낮은 농도에서 37°C에서 24시간째 3개 중 1개에서 위음성을 보였다. 실온과 37°C의 TTD 그래프를 비교하면 육안적으로 두 온도 간에 차이가 거의 없었다.

3. *S. maltophilia*

*S. maltophilia*는 보관 조건에 따라 위음성은 없었다. 높은 농도에서는 실온($P=0.009$)에서 18시간, 37°C ($P=0.013$)에서 12시간째 급속히 TTD가 감소하였다(Fig. 3). 낮은 농도에서도 비슷한 패턴을 보였지만 실온에서는 TTD가 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.120$). 실온과 37°C의 TTD 그래프를 비교하면 육안적으로 두 온도 간에 차이가 거의 없었다.

4. *B. cepacia*

*B. cepacia*는 보관 조건에 따라 위음성은 없었다. 높은 농도에서는 보관 시간에 따라 실온($P=0.010$)에서 완전한 TTD 감소를 보였고, 37°C ($P=0.010$)에서는 18시간째 TTD가 유의하게 감소하였다(Fig. 4). 낮은 농도에서도 비슷한 패턴을 보였고, 각각의 온도에서 모두 TTD는 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

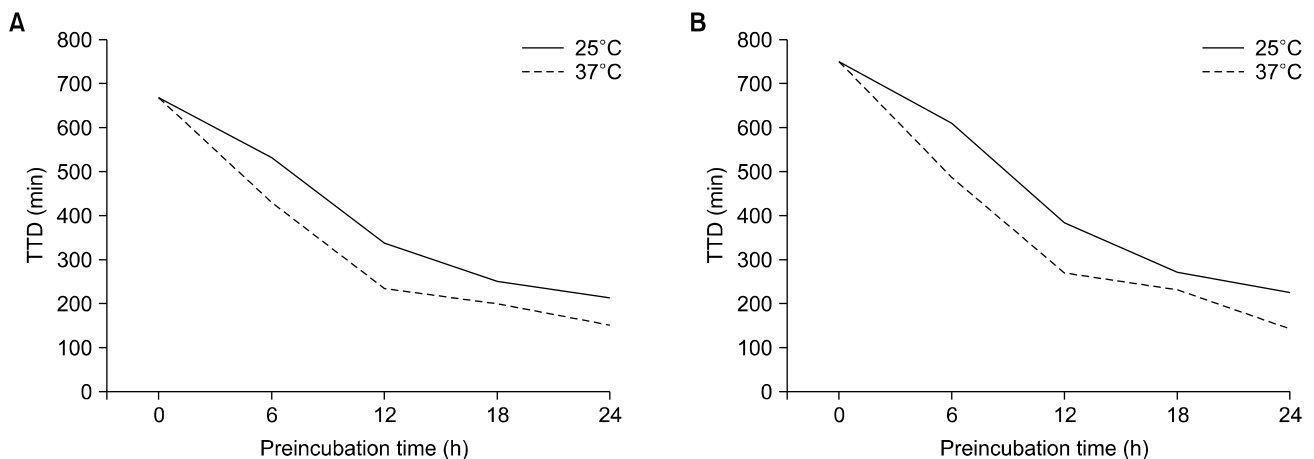


Fig. 2. Time to detection (TTD) of *Acinetobacter baumannii* of standard aerobic bottles stored at 25°C and at 37°C prior to insertion to BacT/Alert 3D blood culture system. Bacterial concentration: (A) 1.5×10^2 /mL, (B) 1.5×10^1 /mL.

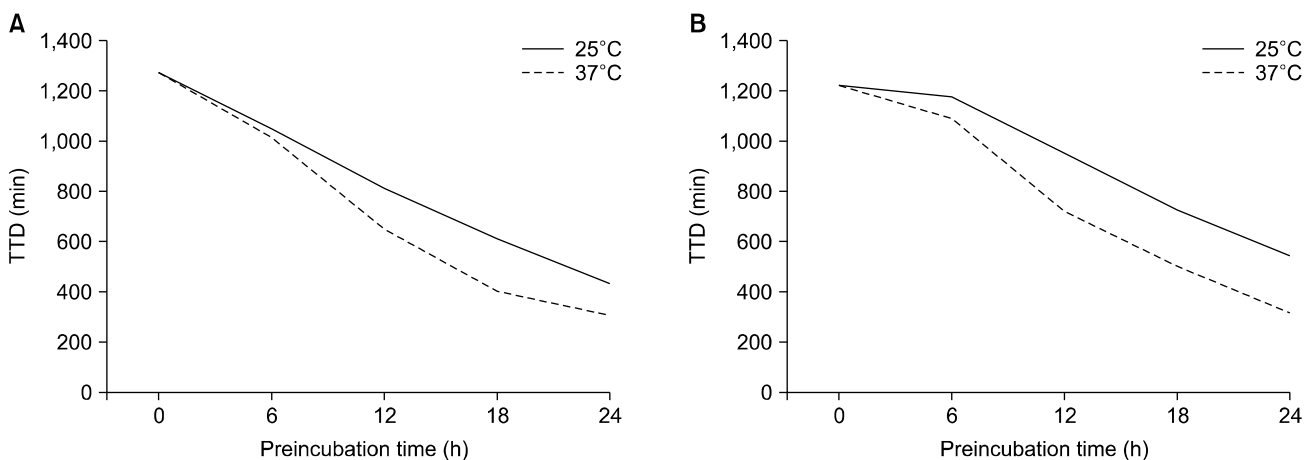


Fig. 3. Time to detection (TTD) of *Stenotrophomonas maltophilia* of standard aerobic bottles stored at 25°C and at 37°C prior to insertion to BacT/Alert 3D blood culture system. Bacterial concentration: (A) 1.5×10^2 /mL, (B) 1.5×10^1 /mL.

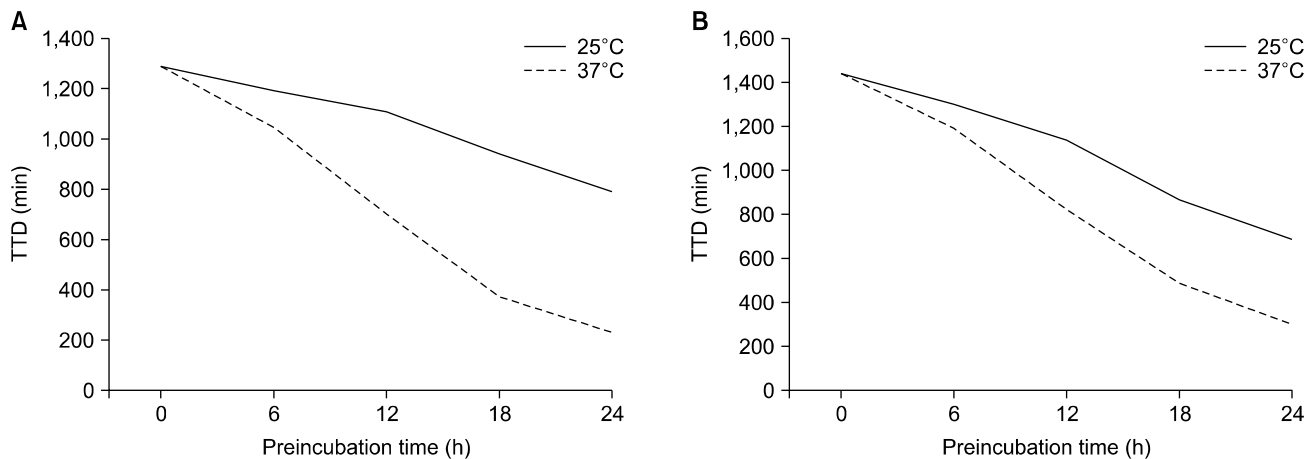


Fig. 4. Time to detection (TTD) of *Burkholderia cepacia* of standard aerobic bottles stored at 25°C and at 37°C prior to insertion to BacT/Alert 3D blood culture system. Bacterial concentration: (A) 1.5×10^2 /mL, (B) 1.5×10^1 /mL.

(실온 $P=0.012$, 37°C $P=0.009$). 실온과 37°C의 TTD 그래프를 비교하면 육안적으로 다른 실험군에 비해 가장 큰 차이를 보였다. 하지만 실험 횟수가 적어서 통계적으로는 유의한 차이를 보이지는 않았다($P>0.05$).

DISCUSSION

이론적으로 혈액배양병은 채혈 후 즉시 검사실로 운송하고, 또 검사실 도착 즉시 배양 장비에 투입하는 것이 바람직하다. 하지만 실제로는 검체 채취부터 장비에 투입되기 까지 지연되는 것은 불가피하다. CLSI 지침[1]에 채혈 후 2시간 이내 장비에 투입할 것을 권장하여, 최근에는 혈액배양 장비를 응급검사실에 설치하는 의료기관이 늘고 있다. 하지만 저자들이 근무하는 경상대학교병원은 응급검사실 장소가 협소하여 혈액배양 장비 설치가 불가능하고, 미생물검사실은 다른 층에 있어서 야간에 혈액배양병을 즉시 투입하는 것이 불가능한 구조이다. 유당비발효균은 다른 장내 세균이나 그람양성균과는 달리 균 성장 커브가 작아서 장비 투입 전 이미 균이 충분히 자란 경우 ‘성장 알고리즘’을 적용할 수 없어서 위음성으로 나오는 경우가 많다고 알려져 있다[5,6]. 이에 본 연구에서는 임상적으로 중요하고 비교적 자주 분리되는 유당 비발효균 4가지를 선택하여, 보관온도와 시간에 따른 균 검출 시간을 실험적으로 관찰하였다.

그 동안 혈액배양병의 지연투입에 대한 임상적 및 실험적 연구가 여러 번 보고된 바 있다. BacT/Alert 3D와 Bactec 9240 (Becton-Dickinson, Sparks, MD, USA) 두 장비를 비교 평가한 임상연구에서 4,402세트의 혈액배양 중 장비 위음성은 각각 0.02%와 0.32%에 불과하였다[7]. 이 연구에서는 미생물검사실과 병원 건물이 멀리 떨어져 있어서, 혈액배양병의 절반 이상이 37°C에 12시간 이상 보관되는 상태였다. 즉, 이 연구에서는

혈액배양병을 야간에 37°C 보관 시 위음성은 거의 문제가 되지 않았다고 하였다.

van der Velden 등[2]은 Bactec 9240 장비에서 혈액배양병을 37°C에 보관할 경우 실온에 비해 TTD가 12시간에서 7시간으로 단축되고, 그람염색 보고 시간도 34시간에서 19시간으로 단축되며, 위음성(4%)은 거의 없다고 하였다. 이러한 결과를 바탕으로 37°C에서 12시간까지 혈액배양병 보관이 가능하다고 하였다.

저자들은 야간에 도착하는 혈액배양병을 일단 응급검사실의 BacT/Alert 3D에 장착만 하였다가 다음날 다른 층에 있는 혈액배양 장비에 투입하는 경우, TTD는 실온에 비하여 4시간(8.4시간 vs. 12.4시간) 단축되고, 2일 이내 최종 보고되는 비율도 10% (24.4% vs. 14.9%) 늘어나는 것을 확인한 바 있다[4].

하지만 Bactec 9240을 사용한 다른 임상연구에서는 양성으로 나온 1,477 혈액배양병 중 89개(6.0%)가 위음성 있고, 특히 호기병(17개)보다는 혐기병(72개)에서 유의하게 위음성이 많다고 하였다[8]. 위음성으로 나온 것을 계대배양한 결과, *Pseudomonas* spp. 24개, 포도알균 21개, 효모균 24개였다. 즉, 녹농균 뿐만 아니라, 포도알균, 효모균에서도 장비 위음성이 문제가 될 수 있다고 하였다. 이 연구에서는 장비 지연 투입에 대해서 37°C 보관 시 8시간, 실온 보관 시 16시간 기준을 사용하였다.

Bactec 9240을 사용한 다른 임상연구에서도 956개 양성 중 장비에서 검출하지 못한 위음성이 76개(7.9%)로 비교적 높았는데, 그 중 68개는 35°C에 보관한 것이었고, 나머지 8개는 실온에 보관한 것이었다[6]. 보관 시간은 평균 16-18시간이었다. 이 연구자들은 35°C에 보관할 경우 장비투입까지 보관시간을 줄이고, 장비투입 전 배양병을 육안으로 관찰하면 위음성을 낮출 수 있다고 하였다. 즉, 이미 97개가 장비 투입 전 육안으로 양성을 보였다. 장비 위음성 균주들은 유당비발효균뿐만 아니라, 대장균, 폐렴알균, 장알균, 포도알균, 효모균 등 다양하였다.

Bactec 9240을 이용한 한 군주 실험에서 24시간까지 보관할 경우, 35°C에서 97.9%, 실온에서 99.2%가 검출이 가능하였다 [9]. 즉, 24시간까지는 위음성률이 높지 않고 온도에 따라 큰 차이가 없으므로, 35°C에 24시간까지 보관할 수 있다고 하였다. 저자들의 연구에 비해 군수(45 CFU/mL)가 적었는데, TTD는 녹농균(14 h)과 *A. baumannii* (12 h)는 비슷하였지만, *S. maltophilia* (32 h)는 큰 차이를 보였다. 이는 사용한 장비나 배지 조성 등이 다르기 때문으로 판단한다.

Akan과 Yildiz [10]는 Bactec 9240과 BacT/Alert 3D 장비에 대한 군주 실험에서 12시간까지는 거의 영향이 없다가, 24시간까지는 74%-100% 검출이 가능하고, 이 시간이 지나면 *A. baumannii*를 포함한 많은 균에서 양성률이 현저하게 낮아진다고 하였다. 즉, 35°C에서 12시간까지는 보관이 가능하다고 판단하여 본 연구 결과와 일치하였다.

Seegmüller 등[11]은 BacT/Alert 3D 장비와 차콜 배지(FA)를 사용한 실험적 연구에서 36°C에 24시간까지 사전 배양할 경우, 녹농균은 낮은 농도(7 CFU/mL)에서도 대부분 위음성을 보인 반면, 대장균, 황색포도알균, 장알균, 헤모필루스, 칸디다는 매우 높은 농도(MacFarland 0.5)에서도 위음성이 없었다. 하지만 실제로 혈액배양 결과를 분석한 결과 야간에 36°C에 혈액병을 보관하고 있었음에도 불구하고 위음성은 0.1% (6/5,360)로 매우 미미하였고, 그 중 3개가 녹농균이었다.

Sautter 등[12]은 Bactec 9240과 BacT/Alert 3D 장비의 지연 투입 비교 실험에서 군수 250 CFU를 투입하였는데, 녹농균보다 오히려 폐렴알균과 대장균에서 위음성이 높게 나왔다. 이들은 TTD를 비교하지 않고, 양성 유무만 판단하였다. 보고시간에 따른 결과를 바탕으로 실온에서는 24시간, 37°C에서는 12시간까지 보관할 경우 '지연투입'이라고 정의하였다. 즉, 이 시간까지는 보관이 가능하다는 의미로서, 본 연구 결과와 부합하였다.

독일에서는 중환자실에서 야간에 혈액배양병을 36°C에 보관하였는데, BacT/Alert 3D를 이용한 한 실험에서 녹농균(900 CFU)과 *A. baumannii* (500 CFU)를 36°C에서 8시간 사전 배양한 경우 위음성으로 나와 야간에 실온에 보관할 것을 추천하였다 [5]. TTD는 본 연구보다 긴 결과를 보였는데, 녹농균(300 CFU) 12.7시간, *A. baumannii* (150 CFU) 18.0시간, *S. maltophilia* (10 CFU) 24.0시간으로 나왔다. 하지만 이들은 혈액은 투입하지 않고, 세균만 투입하였다. 배양병에 혈액을 투입할 경우 실제 혈액배양 모델과 더 유사하고, 세균의 증식 속도가 훨씬 빨라진다 [13].

저자들은 BacT/Alert 3D와 황색포도알균, 대장균, 녹농균을 이용한 이전 실험에서 150 CFU/mL 농도에서 황색포도알균과 대장균은 48시간까지 위음성이 없었지만, 녹농균은 실온에서 48시간째, 37°C에서 24시간째 위음성을 보였다 [14]. 본 연구에서도 녹농균은 37°C에서 18시간째 위음성을 보여 이전의 실험과 비슷한 결과를 보였다.

본 연구에서 실온과 37°C에 보관한 병의 TTD 차이는 통계적으로 유의하지는 않았다. 육안적으로는 녹농균과 *B. cepacia*는 비교적 큰 차이를 보였지만, *A. baumannii*와 *S. maltophilia*는 거의 비슷한 결과를 보였다. 즉, *A. baumannii*와 *S. maltophilia*는 실온에서도 빠르게 증식한다고 유추할 수 있다.

군주 실험연구나 혈액배양 자료 분석에서 보고자마다 TTD나 위음성률에 차이가 나는 것은 사용한 장비, 액체배지 조성, 균 증식을 검출하는 소프트웨어, 군 수, 배양 온도, 혈액 주입 등에 차이가 있기 때문으로 판단한다. 또한 분포를 전체 의뢰 건수로 했는지, 양성 건수로 했는지에 따라 달라진다. 실제 패혈증 환자의 군 농도는 정확히 알 수는 없지만, 30 CFU/mL 이하라고 알려져 있다 [15]. 하지만 매우 낮은 농도의 군수를 실험적으로 만들기는 어려워서, 여기서는 이론적으로 150 CFU/mL, 15 CFU/mL 두 가지 농도를 사용하였다. 보관 온도는 실온을 25°C로 가정하여 25°C와 37°C 공기를 사용하는 배양기를 사용하였다. 유당비발효균은 절대호기성균이기 때문에, 혐기병은 사용하지 않고 호기병만 사용하였다.

결론적으로 BacT/Alert 3D 장비를 이용하여 표준병(standard bottle)을 사용한 실험 연구에서, 37°C 배양기에 보관할 경우 녹농균, *A. baumannii*를 제외한 나머지 2가지 유당비발효균은 위음성이 없었고, 녹농균과 *A. baumannii*는 18시간째부터 위음성으로 나왔다. 실온에 보관할 경우에는 18시간까지 실험에 사용한 유당비발효균 4가지 모두 위음성이 없었다. 건물이 떨어져 있거나 외부로 의뢰하는 경우 등 즉시 장비에 투입하는 것이 불가능하여, 혈액병을 35°C-37°C에 보관할 경우 12시간까지는 안전하게 위음성 가능성을 낮추면서 TTD는 단축할 수 있을 것으로 판단한다. 또한 37°C에서 18시간 이상 보관할 경우 높은 농도의 녹농균이나 *A. baumannii*는 장비 위음성을 보일 수 있다.

REFERENCES

1. CLSI. Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
2. van der Velden LB, Vos FJ, Mouton JW, Sturm PD. Clinical impact of preincubation of blood cultures at 37°C. J Clin Microbiol 2011;49:275-80.
3. Kerremans JJ, van der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. J Clin Microbiol 2009;47:3520-3.
4. Kim JS, Seok H, Kim S. Effect of preincubation of blood culture bottles in a BacT/Alert unit outside laboratory operating hours on detection time. Ann Clin Microbiol 2014;17:105-9.
5. Klaerner HG, Eschenbach U, Kamereck K, Lehn N, Wagner H, Miethke T. Failure of an automated blood culture system to detect nonfermentative gram-negative bacteria. J Clin Microbiol 2000;38:1036-41.
6. Lemming L, Holt HM, Petersen IS, Østergaard C, Bruun B. Bactec 9240 blood culture system: to preincubate at 35 degrees C

- or not? Clin Microbiol Infect 2004;10:1089-91.
7. Ziegler R, Johnscher I, Martus P, Lenhardt D, Just HM. Controlled clinical laboratory comparison of two supplemented aerobic and anaerobic media used in automated blood culture systems to detect bloodstream infections. J Clin Microbiol 1998;36:657-61.
 8. Shigei JT, Shimabukuro JA, Pezzlo MT, de la Maza LM, Peterson EM. Value of terminal subcultures for blood cultures monitored by BACTEC 9240. J Clin Microbiol 1995;33:1385-8.
 9. Chapin K and Lauderdale TL. Comparison of Bactec 9240 and Difco ESP blood culture systems for detection of organisms from vials whose entry was delayed. J Clin Microbiol 1996;34:543-9.
 10. Akan OA and Yildiz E. Comparison of the effect of delayed entry into 2 different blood culture systems (BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D) on culture positivity. Diagn Microbiol Infect Dis 2006;54:193-6.
 11. Seegmüller I, Eschenbach U, Kamereck K, Miethke T. Sensitivity of the BacT/ALERT FA-medium for detection of *Pseudomonas aeruginosa* in pre-incubated blood cultures and its temperature-dependence. J Med Microbiol 2004;53:869-74.
 12. Sautter RL, Bills AR, Lang DL, Ruschell G, Heiter BJ, Bourbeau PP. Effects of delayed-entry conditions on the recovery and detection of microorganisms from BacT/ALERT and BACTEC blood culture bottles. J Clin Microbiol 2006;44:1245-9.
 13. Lee DH, Koh EH, Choi SR, Kim S, Kim DH, Lee NY. Effect of sodium citrate on growth of bacteria in blood culture. Ann Clin Microbiol 2013;16:168-73.
 14. Lee DH, Koh EH, Choi SR, Kim S. Growth dynamics of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* as a function of time to detection in BacT/Alert 3D blood culture bottles with various preincubation conditions. Ann Lab Med 2013;33:406-9.
 15. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. eds. Study guide for Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. Philadelphia; Mosby Inc., 2007:873-89.

=국문초록=

장비투입 지연이 유당 비발효균의 혈액배양 검출시간에 미치는 영향

경상대학교 ¹융합의학과, ²의과대학 진단검사의학교실, 건강과학연구원

김승욱¹, 변정현², 김선주²

배경: 혈액배양 시 운송이 늦어지거나, 야간에 혈액배양 장비 사용이 어려운 경우 장비투입 지연이 발생할 수 있다. 혈액 배양에서 흔히 분리되는 유당비발효균을 대상으로 보관 조건에 따라 혈액배양 장비에서 균의 검출에 미치는 효과를 분석하였다.

방법: 임상검체에서 분리된 유당비발효 그람음성간균 4가지(녹농균, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*)를 대상으로 균수를 150 CFU (높은 농도)와 15 CFU (낮은 농도)로 희석하여 호기병에 균을 접종한 후 25°C와 37°C에 0, 6, 12, 18, 24시간 동안 보관하였다. BacT/Alert 3D Systems (bioMérieux Inc.) 혈액배양 장비에 투입한 후 균검출시간을 비교하였으며, 3회 반복 실험하였다.

결과: 녹농균은 37°C에 보관하면 높은 농도에서 18시간째 장비위음성으로 나왔다. *A. baumannii*는 37°C에 보관하면 높은 농도에서 24시간째 3개 중 2개에서 장비위음성으로 나왔다. *S. maltophilia*나 *B. cepacia*는 보관 조건에 따라 위음성으로 나온 경우는 없었다. 녹농균을 제외한 나머지 3가지 균은 24시간 동안 배양병을 보관할 경우, 보관온도와 상관없이 균검출시간이 모두 통계적으로 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

결론: 혈액배양 병의 장비 투입이 지연되어 37°C에 18시간 이상 보관하면 녹농균이나 *A. baumannii* 균혈증 농도가 높은 경우 장비 위음성으로 나올 가능성이 있다. 37°C에 혈액병을 보관할 경우 12시간까지는 위음성 가능성을 낮추면서, 유당 비발효균의 TTD는 단축할 수 있을 것으로 판단한다. [Ann Clin Microbiol 2017;20:7-12]

교신저자 : 김선주, 52727, 경남 진주시 강남로 79
경상대학교 의과대학 진단검사의학교실
Tel: 055-214-3072, Fax: 055-214-3087
E-mail: sjkim8239@hanmail.net