

Original article

Performance evaluation of 4-day versus 5-day blood cultures using the BD BACTEC FX system

Jiyeon Kim,¹ Heungsup Sung,¹ Mi-Na Kim¹

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

BD BACTEC FX system을 이용한 혈액배양에서 배양기간의 수행능 평가

김지연,¹ 성흥섭,¹ 김미나¹

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과

Abstract

Background: Blood culture (BC) systems have evolved to increase sensitivity and reduce turnaround times. This study compared the performance of a 4-day versus a 5-day BC incubation period using the BD BACTEC™ FX (Becton, Dickinson and Company, USA).

Methods: A total of 37,379 consecutive sets of BC were evaluated over a 3-month period in a 2,700-bed tertiary care hospital. Positive BC results were reviewed to assess time-to-positivity (TTP) and species identification of the isolates. The BCs were performed in pairs of vials, utilizing either BD BACTEC Plus Aerobic/F or Peds Plus/F with BD BACTEC Lytic Anaerobic media.

Results: A total of 14,899 episodes, averaging 2.51 sets per episode, were analyzed. Of these, 1,398 (9.38%) were positive, yielding 1,465 isolates. TTP (hours) were < 12 in 48.87%, 12-24 in 31.40%, 24-48 in 13.38%, 48-72 in 3.28%, 72-96 in 1.43%, and >96 in 1.64%. The two most prevalent organisms, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. were detected within 12 hours in 88.75% and 78.90%, respectively. The respective median TTP (T50) values for *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterococcus faecalis*/*E. faecium*, and *Staphylococcus aureus* were 9.24, 9.60, 13.75, and 14.20. T50 values for these species were significantly shorter in anaerobic bottles than in aerobic bottles. Of 24 BCs with TTP > 96, only 4 containing anaerobic bacteria or molds were first detected after 96 hours.

Conclusion: A 4-day incubation has demonstrated excellent sensitivity. However, a 5-day incubation may be beneficial for hospitals caring for patients at high risk for infections with slow-growing fungi or fastidious bacteria.

Keywords: Anaerobic bacteria, Blood culture, Fungi, Incubation, Times to positivity



OPEN ACCESS

pISSN : 2288-0585
eISSN : 2288-6850Ann Clin Microbiol 2023 December, 26(4): 125-137
<https://doi.org/10.5145/ACM.2023.26.4.125>

Corresponding author

Mi-Na Kim

E-mail: mnkim@amc.seoul.kr**Received:** October 26, 2023**Revised:** December 01, 2023**Accepted:** December 04, 2023

© 2023 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.

Introduction

균혈증은 이환률과 사망률이 심각한 감염병으로, 균혈증을 신속하고 민감하게 진단하는 것은 적절한 치료와 예후에 매우 중요하다[1,2]. 따라서 혈액배양의 수행능에서 신속성이 결정적인 요소가 된다.

과거 육안판독을 할 때는 혈액배양 표준배양기간이 7일이었다[3,4]. 현재 임상검사실에서 일반화된 자동화된 혈액배양 시스템은 균의 대사로 인해 발생하는 CO₂를 검출하거나 가스 분압의 변화를 지속적으로 모니터링하여 균의 검출시간을 단축시키고 민감도 또한 향상시켰다. The Clinical and Laboratory Standards Institute는 자동화된 혈액배양 시스템을 사용시 표준 배양기간으로 5일을 권장하고 있다[5,6]. 또한 임상적으로 의미 있는 균종은 48시간 이내에 대부분 검출되기 때문에 48시간에 음성결과를 예비 보고할 것을 권고하고 있다[5,7].

최종 음성보고까지 소요 시간은 균혈증의 진단과 치료에 미치는 영향을 고려하면 짧을수록 좋다. 표준배양기간보다 짧은 3일 혹은 4일로 배양기간을 단축하면 장비 용량과 검사실 공간을 20%에서 40%까지 절감할 수 있다는 보고가 있다[7]. 배양기간을 단축함으로써 3일 이후부터 늘어나는 오염균 분리를 감소시켜서 환자가 불필요한 항균제 치료를 받게 될 위험을 줄이는 것도 장점이다[7-11]. 이 연구는 배양기간을 4일에서 5일로 연장한 경우 혈액배양의 효율성을 비교 평가하고자 하였다.

Materials and methods

1. 연구대상

2020년 9월부터 11월까지 3개월간 서울아산병원에서 실시한 37,379쌍의 혈액배양 검체에 대한 검사실 자료를 후향적으로 분석하였다. 연구가 이루어진 기관은 2,700병상 규모이고, 중환자실 205병상을 보유한 3차 병원으로, 혈액배양 표준지침은 성인에서 의뢰 1회 당 BD BACTEC plus Aerobic/F (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)와 BD BACTEC Lytic Anaerobic 배양병을 쌍으로 3쌍을 실시하고, 소아는 BD BACTEC Peds Plus/F 와 BD BACTEC plus Anaerobic/F 배양병을 쌍으로 1쌍을 실시하는 것을 권장하고 있다.

모든 혈액배양병은 주7일 24시간 동안 임상미생물검사실에서 접수하여 BD BATEC FX blood culture system에 장착하였고 36±1°C에서 120시간까지 배양하였다. 장비에서 양성 신호가 검출되면 전산으로 자동인터페이스되어 실시간으로 양성임을 검출시간과 동시에 보고했다. 균종 동정과 항균제 감수성 검사는 MicroScan Pos Breakpoint Combo Panel Type 28 (PBC28) (Beckman Coulter, Brea, CA, USA)과 MicroScan NC72 panel (Beckman Coulter)을 사용하여 실시했고, 혐기균 등 일부 까다로운 균종 동정은 matrix-assisted laser desorption Ionization-time of flight (MALDI-TOF) 질량분석기(Bruker, Billerica, MA, USA)를 사용하였다.

2. 혈액배양 양성검출시간

연구기간 중 모든 혈액배양 양성결과를 검사정보시스템에서 다운로드 하였다. 혈액배양 시스템에서 배양병의 균의 성장을 검출하는데 걸리는 시간을 양성검출시간(time-to positivity, TTP)으로

정의하였다. 배양시간에 따른 양성률, 분리 균종별 호기병 및 혐기병의 TTP를 분석하였다. 호기병과 혐기병에서 동일 균종이 검출되었을 때 먼저 검출된 병의 검출시간을 해당 혈액배양 쌍의 TTP로 간주하였다. 1회의 혈액배양 의뢰는 한 환자에서 24시간 이내 의뢰한 혈액배양 쌍을 모두 포함하였다. 동일한 의뢰에 속하는 배양병들의 TTP 중 가장 짧은 시간을 해당 의뢰의 TTP로 정의했다. 균종별로 50%의 양성검체가 검출된 TTP를 T50으로 정의하였다.

3. 통계

균종별로 호기병과 혐기병의 T50의 차이는 Mann-Whitney U test로, 그 중 호기병과 혐기병 모두에서 양성인 쌍에 대한 T50의 차이는 Wilcoxon signed-rank test로 유의성을 검정하였다. 모든 통계 분석은 SPSS (SPSS Statistics 21, IBM, NY, USA)로 시행했고, 양측 검정으로 유의수준을 평가하여 P 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

Results

1. 혈액배양 양성률

1회 의뢰 당 1쌍이 의뢰된 경우는 1,889건 (12.68%), 2쌍은 4,402건(29.55%), 3쌍은 8,053건 (54.05%), 4쌍 이상은 555건(3.73%)으로, 2쌍 이상이 87.32%를 차지했다. 1쌍만 의뢰된 1,889건 중 1,643건(86.98%)이 소아환자의 혈액배양이었다. 결과적으로 연구기간 동안 37,379쌍의 검체가 14,899 회의 혈액배양에서 의뢰되어 회 당 평균 2.51쌍이 의뢰되었다.

그 중 총 2,610쌍 (6.98%), 1,398회(9.38%)가 양성이었다. 양성 의뢰들 중 1쌍에서만 양성은 514건 (36.77%), 2쌍 양성은 350건(25.04%), 3쌍 이상 양성은 534건(38.20%)으로, 63.23%에서 2쌍 이상이 배양되었다. 1,336건(95.57%)에서는 균종이 1종류만 동정되었고, 58건(4.15%)은 2종, 3건(0.21%)은 3종, 1건 (0.07%)은 4종이 동정되어 총 1,465주가 동정되었다.

2. TTP

1,465주 중 12시간 이내에 716주(48.87%)가 검출되었고, 12시간에서 24시간까지 460주(31.40%), 24시간에서 48시간까지 196주(13.38%), 48시간에서 72시간까지 48주 (3.28%), 72시간에서 96시간까지 21주 (1.43%), 96시간 이후에 24주(1.64%)가 검출되었다. 따라서 48시간 이내에 93.65%가 검출되었고, 96시간 이내에 98.36%의 균주가 검출되었다(Fig. 1). 48시간 이내에 양성이 검출된 의뢰들 중 1쌍에서만 양성이 31.88%, 2쌍 양성 23.55%, 3쌍 이상 양성이 38.23%였다.

총 양성병은 3,916병으로, 호기병은 2,109병(53.86%)이고 혐기병은 1,807병(46.14%)이었다. 양성인 2,610쌍 중 호기병에서만 균이 검출된 쌍은 803건(30.76%), 혐기병에서만 검출된 쌍은 501건 (19.20%), 호기병과 혐기병 둘 다 검출된 쌍은 1,306건(50.04%)이었다. 호기병의 T50은 13.38시간 (interquartile range [IQR], 9.75-20.61시간), 혐기병의 T50은 10.47시간(IQR, 8.40-16.12시간)으로 호기성병에 비해 혐기성병의 T50이 유의하게 짧았다($P < 0.0001$)(Fig. 2).

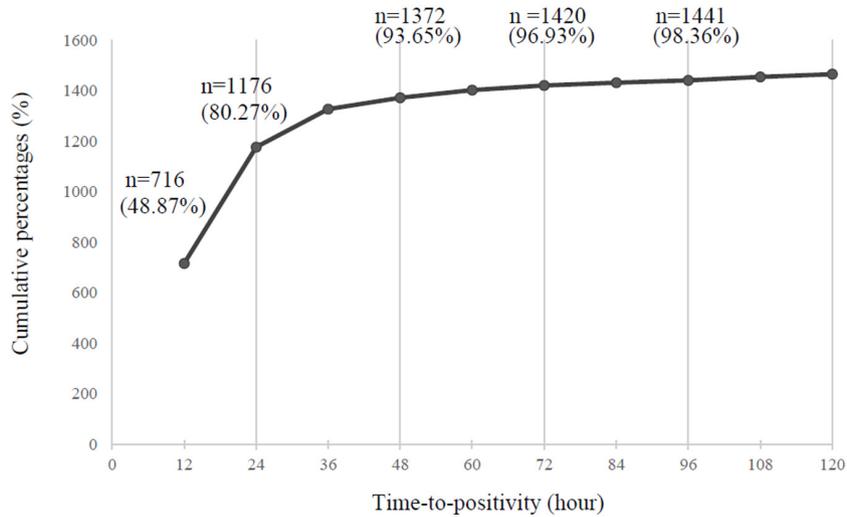


Fig. 1. Cumulative percentages of positive blood cultures according to time-to-positivity.

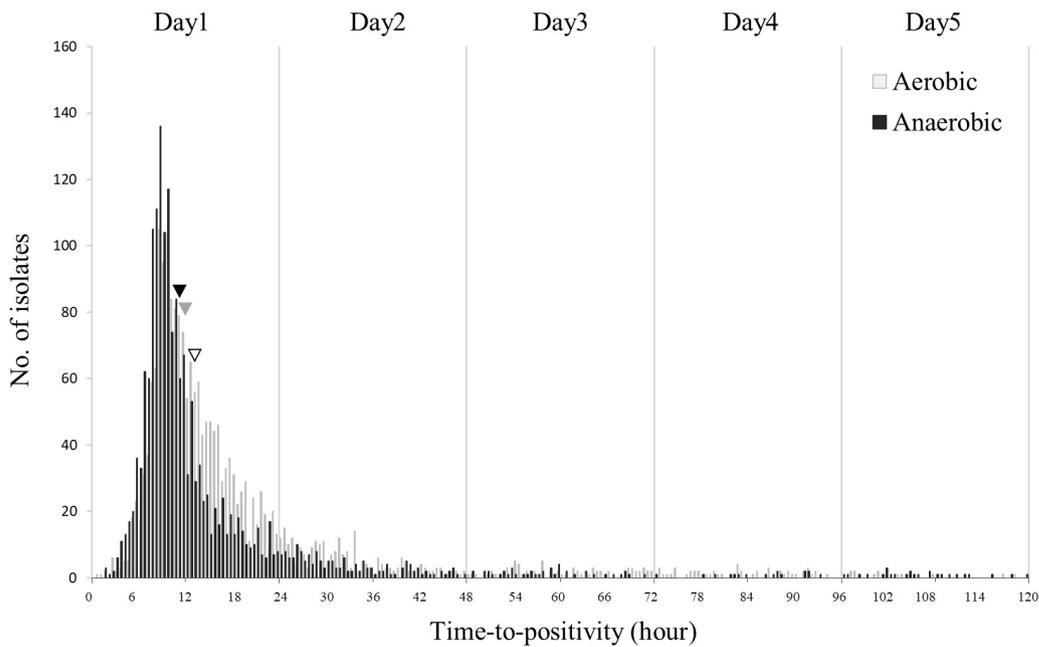


Fig. 2. Number of isolates by time to positivity in aerobic and anaerobic bottles. The white, black, and gray arrow head denoted T50 of aerobic bottles, anaerobic bottles, both bottles, respectively. T50, median time-to-positivity.

3. 다빈도 균종들의 TTP

의뢰 횟수 당 다빈도 균종은 *Escherichia coli*가 311건(21.23%), *Klebsiella* spp. 237건(16.18%), coagulase-negative staphylococci (CNS) 171건(11.67%), *Enterococcus faecalis* 및 *E. faecium* 167건 (11.40%), *Pseudomonas aeruginosa* 78건(5.32%), *Staphylococcus aureus* 71건(4.85%) 순이었다. 이들 다빈도 6종이 전체 분리 균주 수의 70.65%를 차지하였다(Table 1).

Table 1. Cumulative incidence of twelve most frequent species according to time-to-positivity of blood cultures

Organism	Total	Cumulative incidence (%) of isolates at time-to-positivity (h)							T50 (IQR)
		12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	96 h	> 96 h	
<i>Escherichia coli</i>	311	276 (89)	307 (99)	309 (99)	309 (99)	311 (100)			9.24 (7.90-10.80)
<i>Klebsiella</i> spp.	237	187 (79)	226 (95)	232 (98)	234 (99)	236 (99)	237 (100)		9.60 (8.30-11.48)
Coagulase negative staphylococci*	171	15 (9)	104 (61)	156 (91)	166 (97)	169 (99)	171 (100)		22.67 (18.23-29.28)
<i>Enterococcus faecalis</i> / <i>E. faecium</i>	167	59 (35)	150 (90)	160 (96)	164 (98)	166 (99)	166 (99)	167 (100)	13.75 (11.32-16.90)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	78	7 (9)	68 (87)	74 (95)	76 (97)	78 (100)			17.57 (14.63-21.85)
<i>Staphylococcus aureus</i>	71	28 (39)	57 (80)	67 (94)	71 (100)				14.20 (10.33-19.70)
<i>Citrobacter freundii</i>	26	23 (88)	26 (100)						9.75 (7.02-10.76)
<i>Bacillus</i> spp.*	29	10 (34)	23 (79)	24 (83)	26 (90)	28 (97)	28 (97)	29 (100)	15.58 (11.98-22.19)
<i>Bacillus cereus</i>	4	4 (100)							8.30 (5.97-10.38)
<i>Streptococcus anginosus</i> group	20	2 (10)	14 (70)	19 (95)	19 (95)	19 (95)	20 (100)		18.26 (16.28-25.74)
<i>Enterobacter cloacae</i>	17	13 (76)	17 (100)						8.90 (4.54-11.58)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16	4 (25)	15 (94)	16 (100)					15.53 (11.52-19.73)
<i>Corynebacterium</i> spp.*	21	0	3 (14)	10 (48)	13 (62)	17 (81)	18 (86)	21 (100)	42.27 (31.09-72.00)

*Skin normal flora were often detected at ≥ 48 h as contaminants of blood cultures.

Abbreviation: T50, median time-to-positivity; IQR, interquartile range.

다빈도 균종은 절대호기균인 *P. aeruginosa*를 제외하고 모두 통성혐기성균에 해당하였다. 의뢰 횟수 당 TTP는 다빈도1, 2 순위인 *E. coli*와 *Klebsiella* spp.가 12시간 이내 각각 276건(88.75%), 187건(78.90%), 24시간 이내 307건(98.71%), 226건(95.36%), 48시간 이내 각각 309건(99.36%), 232건(98.73%), 96시간 내 둘 다 100% 검출되었다. 다음 다빈도 균종들 중 *E. faecalis* 및 *E. faecium*은 12시간 이내 59건(35.33%), 24시간 이내 150건(89.82%), 48시간 이내 164건(98.20%)이 검출되었다. *P. aeruginosa*는 12, 24, 48시간 이내에 7건(8.97%), 68건(87.18%), 76건(97.44%)이 검출되었고, *S. aureus*는 28건(39.44%), 57건(80.28%), 71건(100%)이 검출되어 3가지 균종들은 96시간 내에 *E. faecium*에서 1건을 제외하고 모두 검출되었다.

T50은 *E. coli*가 9.24시간(IQR, 7.90-10.80시간), *Klebsiella* spp.가 9.60시간(IQR, 8.30-11.48시간)으로 제일 짧았고, *E. faecalis* 및 *E. faecium*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*는 각각 13.75시간(IQR, 11.32-16.90시간), 14.20시간(IQR, 10.33-19.70시간), 17.57시간(IQR, 14.63-21.85시간)이었다. *E. coli*와 *Klebsiella* spp.는 각각 다른 다빈도 균종에 비해 유의하게 T50이 짧았고($P < 0.0001$, $P < 0.0001$, respectively), *P. aeruginosa*의 T50은 유의하게 길었다($P < 0.0001$).

4. 다빈도 균종들의 호기병 및 혐기병의 TTP

E. coli, *Klebsiella* spp., *E. faecalis* 및 *E. faecium*, CNS, *S. aureus*, *P. aeruginosa*가 검출된 2,019쌍 중, 호기병에서만 검출된 경우가 584건(28.93%), 혐기병에서만 검출된 경우가 371건(18.38%)이며 두 병 모두에서 검출된 경우가 1,064건(52.70%)이었다(Table 2).

Table 2. Number (%) of six most frequent organisms isolated from only aerobic bottles, only anaerobic bottles and both bottles

Organism	Total	Only in aerobic	Only in anaerobic	Both
<i>Escherichia coli</i>	649	80 (12.3)	141 (21.7)	428 (65.9)
<i>Klebsiella</i> spp.	475	86 (18.1)	101 (21.3)	288 (60.6)
Coagulase negative staphylococci	235	92 (39.1)	48 (20.4)	95 (40.4)
<i>Enterococcus faecalis</i> / <i>E. faecium</i>	326	100 (30.7)	65 (19.9)	161 (49.4)
<i>Staphylococcus aureus</i>	168	69 (41.1)	12 (7.1)	87 (51.8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	166	157 (94.6)	4 (2.4)	5 (3.1)
Total	2,019	584 (28.93)	371 (18.38)	1,064 (52.70)

*E. coli*와 *Klebsiella* spp.는 각각 428, 288쌍이 두 병 모두에서 검출되었으며, 80, 86쌍은 호기병에서만, 141, 101쌍은 혐기병에서만 검출되었다. CNS, *E. faecalis* 및 *E. faecium*, *S. aureus* 가 각각 95, 161, 87 쌍은 두 병 모두에서, 92, 100, 69쌍은 호기병에서만, 48, 65, 12쌍은 혐기병에서만 검출되었다. 절대호기균인 *P. aeruginosa*는 호기병에만 157쌍이 검출되었고, 혐기병에서만 4쌍, 두 병 모두에서 5쌍이 검출되었다.

E. coli, *Klebsiella* spp., *E. faecalis* 및 *E. faecium*, CNS, *S. aureus*의 호기병과 혐기병의 TTP의 차이를 비교하기 위해서, 호기병과 혐기병 둘 다 양성인 쌍에 대해 T50을 분석하였다(Fig. 3). *E. coli*와 *Klebsiella* spp.의 T50은 각각 호기병에서 9.52시간(IQR, 8.25-11.26시간), 9.78시간(IQR, 8.66-11.94시간), 혐기성병에서 8.42시간(IQR, 7.16-9.58시간), 8.73시간(IQR, 7.67-9.75시간)으로 혐기병에서 T50이 유의하게 짧았다($P < 0.0001$, $P < 0.0001$, respectively). *E. faecalis* 및 *E. faecium*과 *S. aureus*의 T50이 각각 호기병에서 13.28시간(IQR, 11.45-15.39시간), 12.52시간(IQR, 9.42-15.45시간), 혐기병에서 12.58시간(IQR, 10.29-15.57시간), 11.10시간(IQR, 8.80-14.78시간)으로 혐기병에서 T50이 유의하게 짧았다($P = 0.009$, $P = 0.005$, respectively). CNS의 T50은 호기병에서 20.2시간, 혐기병에서 22.7시간으로 혐기병에서 길었지만, 통계적으로 유의한 차이는 없었다($P = 0.131$).

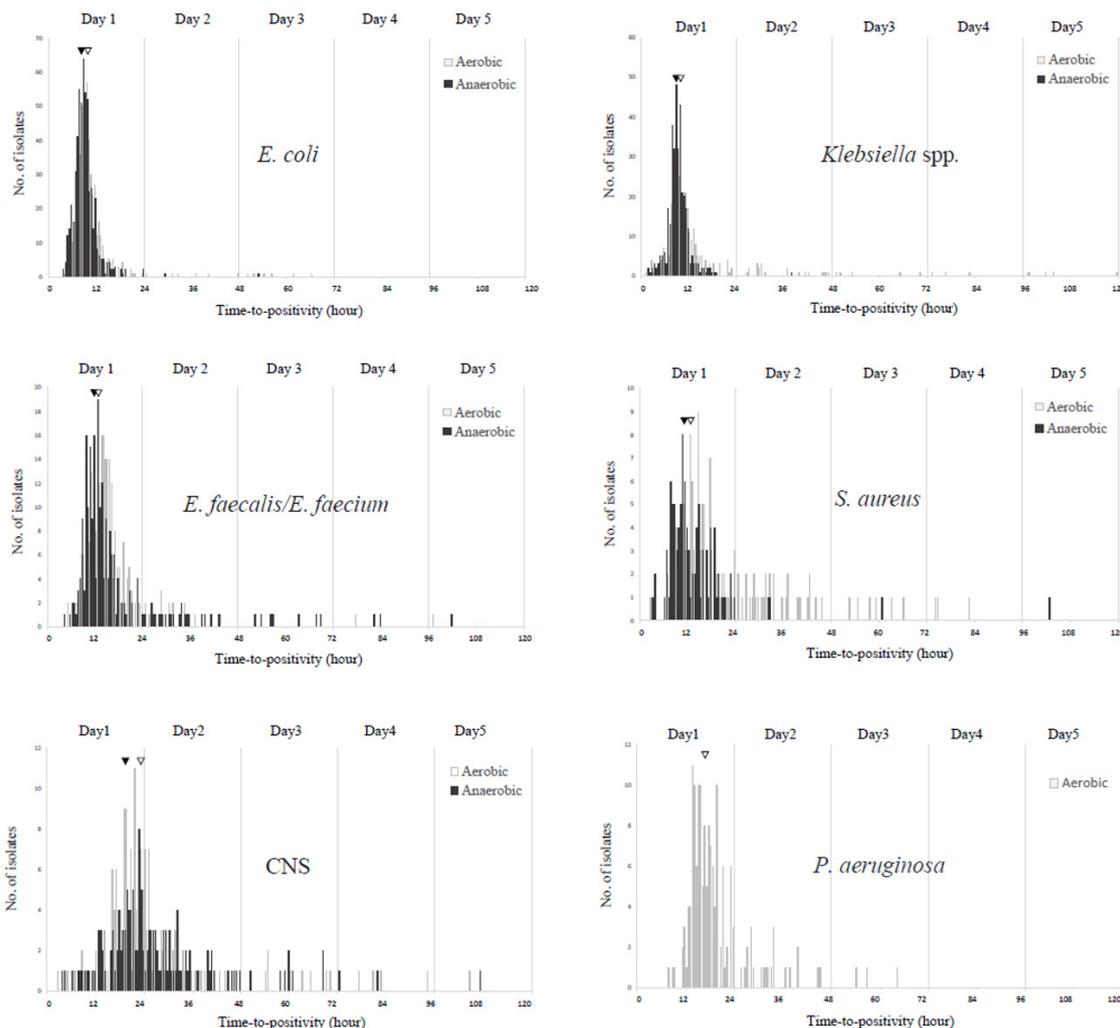


Fig. 3. The time to positivity (TTP) of aerobic and anaerobic bottles among six most frequent organisms. Each of the white and black arrow heads denoted T50 of aerobic bottles and anaerobic bottles, respectively. The TTP for *P. aeruginosa* displayed only for aerobic bottles. CNS, coagulase-negative staphylococci; T50, median time-to-positivity.

5. 통상오염균의 분리 빈도

CNS, *Bacillus* spp., viridans streptococci, *Corynebacterium* spp., *Cutibacterium* spp., *Micrococcus* spp.는 171, 29, 42, 13, 21, 4건의 의뢰에서 분리되어 총 280건이 분리되었으며, 전체 분리 균주의 18.43%를 차지했다. 12시간 이내에 검출된 균주는 각각 15, 10, 7, 0, 0, 0건으로 총 33건(11.79%), 48시간 이내 검출된 균주는 각각 166, 26, 41, 1, 0, 3건으로 총 237건(84.64%) 이었다. 2쌍 이상에서 48시간 이내 검출된 건은 90건(32.60%)이었다.

96시간 이후에는 *Cutibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp.가 각각 10, 3, 1건으로 총 14건(5.00%)이 검출되었고, 그 중 9건이 1쌍에서만 검출되었다(Table 1,3).

Table 3. Cumulative incidence of anaerobic and microaerophilic bacteria, aerobic Actinomycetes, fastidious bacteria and fungus by time-to-positivity

Organism	Total	Cumulative incidence (%) of isolates by time-to-positivity						
		12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	96 h	> 96 h
Anaerobes								
<i>Bacteroides</i> spp.	25	0	10 (40)	24 (96)	25 (100)			
<i>Cutibacterium acnes</i>	13	0	0	0	0	0	3 (23)	13 (100)
<i>Clostridium</i> spp.	11	5 (45)	9 (82)	9 (82)	10 (91)	11 (100)		
<i>Parvimonas micra</i>	3	0	0	1 (33)	2 (67)	3 (100)		
<i>Actinomyces</i> spp.	2	0	0	0	1 (50)	2 (100)		
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2	0	0	1 (50)	1 (50)	2 (100)		
<i>Leptotrichia goodfellowii</i>	2	0	0	0	2 (100)			
<i>Prevotella</i> spp.	2	0	0	0	0	0	1 (50)	2 (100)
<i>Veillonella</i> spp.	2	0	0	2 (100)				
<i>Bifidobacterium breve</i>	1	0	0	0	0	0	1 (100)	
<i>Finegoldia magna</i>	1	0	0	0	0	0	1 (100)	
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	1	0	0	1 (100)				
<i>Parabacteroides goldsteinii</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (100)
<i>Peptoniphilus</i> spp.	1	0	0	0	1 (100)			
<i>Propionimicrobium lymphophilum</i>	1	0	0	0	0	1 (100)		
<i>Alistipes finegoldii</i>	1	0	0	0	0	0	0	1 (100)
Unknow anaerobic organism	1	0	0	0	0	0	0	1 (100)
HACEK								
<i>Aggregatibacter</i> spp.	2	0	0	0	0	1 (50)	2 (100)	
Microaerophilic bacteria								
<i>Campylobacter helveticus</i>								
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	1	0	0	0	0	1 (100)		
Fungus								
<i>Candida</i> spp.	57	6 (11)	13 (23)	30 (53)	33 (58)	48 (84)	54 (95)	57 (100)
<i>Candida albicans</i>	10	0	1 (10)	4 (40)	4 (40)	8 (80)	9 (90)	10 (100)
<i>Candida glabrata</i>	27	1 (4)	3 (11)	8 (30)	10 (37)	20 (74)	25 (93)	27 (100)
<i>Candida tropicalis</i>	11	3 (27)	7 (64)	9 (82)	10 (91)	11 (100)		
<i>Candida parapsilosis</i>	8	1 (13)	1 (13)	8 (100)				
<i>Candida krusei</i>	1	1 (100)						
<i>Fusarium</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	1 (100)
Aerobic actinomycetes								
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1	0	0	0	0	0	1 (100)	
<i>Nocardia farcinica</i>	1	0	0	0	0	0	1 (100)	

Abbreviations: HACEK, *Haemophilus* spp., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella* spp.

T50은 CNS 22.67시간(IQR, 18.23-29.28시간), *Bacillus* spp. 15.58 시간(IQR, 11.98-22.19시간), *Corynebacterium* spp. 42.27시간(IQR, 31.09-72.00시간)이었다. *Bacillus* spp.는 7건(24.13%)이 2쌍 이상에서 48시간 이내에 검출되는데 비해 *B. cereus*는 4건 모두 2쌍 이상에서 12시간 이내에 검출되어 T50은 8.3시간(IQR, 5.97-10.38시간)이었다.

6. 혈액배양에서 4일 이후에 양성으로 검출된 결과분석

96시간 이후 검출된 균주는 24주로 양성 균주의 1.64%이었고, 이중 피부상재균인 *Cutibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp.가 14주로 48.3%를 차지하였다. 이에 비해 느리게 자라는 *Prevotella* spp., *Parabacteroides goldsteinii*, *Propionimicrobium lymphophilum*, *Alistipes finegoldii*, *Fusarium* spp.와 종동정이 실패한 혐기균 각 1건씩과 *Candida* spp. 3주가 포함되었다. 이중 종동정이 실패한 혐기균 1주, *Parabacteroides goldsteinii*, *Alistipes finegoldii*, *Fusarium* spp.는 96시간 이후에 처음 검출되었다(Table 3). *Prevotella* spp. *Bifidobacterium breve*, *Finegoldia magna*, *Aggregatibacter* spp., *Mycobacterium fortuitum*, *Nocardia farcinica* 등은 대부분 72-92시간 사이에 처음 분리되었다. *Candida* spp.는 전체의 22.8%가 72시간 이후 분리되었고, 96시간 이후 분리된 3주는 96시간 이전에 같은 균종의 양성 검출이 선행되었다.

Discussion

혈액배양 첫 12시간 이내에 총 양성 건수의 절반 정도가 검출되었고, 24시간 이내에 80.27%, 48시간 이내에는 93.65%가 검출되어 자동화된 혈액배양시스템을 사용할 때 양성 의뢰의 대부분은 48시간 이내에 90%이상 검출된다는 이전 보고들과 일치하였다[7,8,11,12]. 전체 양성 의뢰건수의 37.40%에서 동정된 *E. coli* 와 *Klebsiella* spp.의 T50은 각각 9.24시간, 9.60시간으로 절반 이상 10시간 이내에 검출되었고, 24시간 이내 95% 이상 검출되었다. 이 결과는 bioMérieux 사의 최신 기종인 Virtuo 시스템에서 FA Plus와 FN plus 배지를 사용한 연구에서 *E. coli*의 검출시간 중앙값이 9.5시간인 것과 매우 유사하여[8], 최신의 자동화된 지속적 감시 혈액배양시스템을 사용하는 경우 균종 별 비슷한 검출시간을 보일 것으로 판단된다. 따라서 주 7일 24시간 운영하는 검사실은 *E. coli* 와 *Klebsiella* spp. 등 혈류감염의 주요 원인균의 양성 결과들을 혈액배양을 의뢰한 당일에 그람염색 결과를 보고할 수 있고, MALDI-TOF 질량분석법으로 신속 동정을 실시한다면 균종 동정까지도 당일에 보고할 수 있다. 이전 연구에서 혈액배양 양성일 때 그람염색 결과는 균혈증 환자의 경험적 항균제치료를 바꾸는 가장 중요한 계기였고, 그람염색 결과보고시간이 예후에 결정적인 영향을 미쳤다[13]. 최근 항균제중재프로그램이 활성화되면서 임상미생물검사실의 배양동정 및 항균제감수성검사의 신속한 보고는 결정적인 수단이 되었다[14]. 자동화된 지속적 감시 혈액배양시스템은 혈액배양의 질을 높이는데 결정적인 역할을 하며[5], 그로부터 얻은 양성 검출 보고와 양성배양병에 대한 신속 동정 및 항균제감수성검사 보고가 실시간 이루어지는 검사실에서 항균제중재프로그램을 획기적으로 향상시킬 수 있을 것이다.

반면 4일 이후 배양된 균주는 전체 분리 균주의 1.64%에 불과하며, 다빈도 균종 6종은 *Enterococcus* spp. 1주를 제외하고는 모두 4일 이내에 배양되었다. 이는 동일 기관에서 BACTEC 9240 혈액배양시스템을 사용하여 4일 이후 검출된 균의 임상적 의의를 평가한 이전 연구에

서 4일 배양으로 충분하다는 결론을 내린 것과 일치한다[7]. 그 연구에서 4일 이후 배양된 균주는 *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes xylosoxidans*, *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Morganella morganii*, *Peptostreptococcus* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus*, *Candida* spp.와 같은 통상적 병원균이 14건, *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., CNS, viridans group streptococci와 같은 피부상재균이 16건으로, 이 중 3건만이 임상적으로 유용하였다고 평가하였다. 전체 분리 균주의 61.78%가 2쌍 이상에서 48시간 내에 분리되었으나, 통상 오염균으로 해석하는 CNS, *Bacillus* spp., viridans streptococci, *Corynebacterium* spp., *Cutibacterium* spp., *Micrococcus* spp.는 32.60%만이 분리되어, 전체 분리 균주와 큰 차이를 보였다. 따라서 이는 피부상재균이 2쌍 이상에서 48시간 이내에 분리 될 때만 감염의 원인균으로 해석하는 교과서적인 지침을 지지한다[5-6]. 96시간 이후 검출된 24주 중 14주는 통상 오염균으로 4일에서 5일로 배양기간을 연장하면 이전 연구들과 유사하게 오염균이 배양될 확률은 높아졌다[7,11]. 이 연구에서 4일 이후 처음으로 검출된 균종 중에서 *Cutibacterium acnes*가 가장 많은 빈도를 차지하여 이는 피부상재균 오염일 확률이 높다. 혈액배양시간을 7일에서 5일로 단축하면 *C. acnes*의 분리빈도가 77% 감소했다고 하며[3], 5일 배양을 할 때도 *Cutibacterium* spp.는 73.55%가 4일이 지나서 분리된다[8]. 이 연구의 결과 또한 모두 4일 배양으로 단축하면 *C. acnes* 오염으로 인한 위양성이 감소될 것임을 보여주었다. 하지만, 이전 연구에서 연구자들의 검사실에서 진단한 *C. acnes*가 혈액배양에서 배양된 환자 552명의 중 18명(3.5%)이 실제 균혈증의 원인이었고, 이중 1명은 아급성 심내막염이었다는 결과를 발표한 바 있다[15]. 그 연구에서 혈액에서 분리된 *C. acnes*의 임상적인 의의를 판정하는데 검출 시간보다는 2쌍 이상 양성인지 여부가 중요하였다. 이 연구에서도 4일 이후 *C. acnes*가 검출된 환자 10명 중 1명을 제외하고는 모두 한 쌍에서만 검출되었으며 이후 추가적인 혈액배양은 없었다. 두 쌍에서 분리된 1명 또한 4일 이전에 처음 분리되어 5일 배양에 유용성을 지지하는 결과는 아니었다.

Bacillus spp. 중 *B. cereus*는 혈액종양환자, 만성질환자, 면역억제자, 다발성외상환자, 정맥약물 투여자 등에서 균혈증을 일으키며 특히 혈액종양환자에서 심각한 균혈증을 일으키는 것으로 알려져 있다[16]. *B. cereus*를 제외한 *Bacillus* spp.의 T50은 15.58시간으로 7건만이 2쌍이상에서 48시간 이내에 분리되어, *Bacillus* spp.가 검출되었을 경우 임상적으로 의미 있는 병원균일 확률은 25%로 줄어든다. 이에 반해 *B. cereus*의 T50은 8.30시간으로 4건 모두 2쌍 이상에서 12시간 이내에 검출되어, *B. cereus*가 혈액종양환자에서 분리되었을 때 모두 2쌍 이상 12시간 이내에 검출되었다는 이전 연구와 일치한다[11]. 따라서 혈액종양환자에서 12시간 이내 TTP로 그람양성간균이 자란다면 *B. cereus*를 고려한 항균제 치료가 필요하다. 이처럼 피부상재균이 분리될 때는 오염균인지 균혈증의 원인균인지 감별하는데 TTP와 양성세트 수가 판별에 유용한 변수가 된다.

절대호기균인 *P. aeruginosa*의 T50은 17.57시간으로 그람음성간균 중 통성혐기균에 해당하는 *E. coli*, *Klebsiella* spp.에 비해 더 늦게 검출되었다. BACTEC 9240 및 BacT/Alert 3D 혈액배양 시스템을 사용한 여러 연구들에서도 통성혐기균에 비해 절대호기균의 TTP가 통상적으로 길었다. [11,17-19]. BACTEC 9240은 균이 자랄 때 생산되는 CO₂ 농도를 검출하기 때문에, CO₂ 생산능이 떨어지는 비발효 절대호기성균은 검출이 통상 더 늦다[20-21]. *P. aeruginosa*는 대표적인 병원감염균으로 전형적으로 항생제를 사용하는 입원환자에서 균혈증을 일으킨다[22]. 따라서 각 혈액배양시스템에서 전용하는 혈액배양 배지에 포함된 항균제 제거 레진의 효능이 TTP에 영향을 미치는 주요한 요인이 된다[23]. BACTEC 호기병은 레진이 든 PLUS 배지로, 동일한 배지를 사용한 이전 연

구에서 *E. coli* 의 T50은 9.9시간으로 비슷한데 *P. aeruginosa*는 14.7시간으로 2시간 정도 짧아서[20], 이 연구에 포함된 환자군의 차이가 T50에 영향을 주었을 확률이 있다. 하지만 bioMérieux 사의 최근 모델인 Virtuo 시리즈의 레진 배양병을 사용한 연구에서도 *E. coli*의 T50은 9.5시간으로 비슷한데, *P. aeruginosa*는 16시간으로 *S. aureus* 의 T50과 동일했다[8]. 따라서 *P. aeruginosa*의 T50이 *E. coli* 보다 긴 것은 균종 자체의 특성으로 판단되었다.

E. coli, *Klebsiella* spp., *E. faecalis* 및 *E. faecium*, *S. aureus*의 경우 혐기병에서만 분리된 경우가 전체 양성검출 건수의 19.80% 정도로 혐기병 배양은 다빈도 통성혐기성 균의 검출에 필수적이다. 또한 *E. coli*, *Klebsiella* spp.에 비해 그람양성알균인 *E. faecalis* 및 *E. faecium*, *S. aureus*의 T50이 더 길다. 이들 다빈도 통성혐기성 균은 혐기병의 T50이 호기병에 비해 유의하게 짧았고 두 병 모두 검출되는 경우만을 비교했을 때에도 혐기병의 T50이 짧았다. 따라서 혐기병 배양을 함으로써 통성혐기균을 더 신속하게 검출하는 효과가 있어서 혈액배양에 호기병과 혐기병을 쌍으로 배양을 권장한다 [11,17,18]. 또한 전체 호기병의 T50은 13.38시간, 혐기병의 T50은 10.47시간으로 혐기병의 T50이 유의하게 짧아서 다빈도 6종 이외의 균종들에서도 TTP를 줄이는데 혐기병이 유용할 것으로 해석할 수 있다.

양성병의 종류와 함께 각 병에서의 TTP는 혈액배양 양성시 균종을 예측하는데 유용한 정보가 될 수 있다. 이 연구 결과로 볼 때 혐기병에서 12시간 내에 혈액배양 그람음성간균이 양성이라는 보고를 받는다면 *E. coli*, *Klebsiella* spp. 등의 *Enterobacteriales*일 확률은 높으나, *P. aeruginosa*일 확률은 1% 미만이다. 반대로 호기병에서 처음 검출되고 TTP가 8시간을 넘긴 그람음성간균은 *P. aeruginosa*일 확률이 상당히 높고, oxidase 양성까지 입증하면 24시간 이내에 *P. aeruginosa*에 적절한 항균제치료를 시작하기를 권장하는 결과도 있다[20]. 다빈도 6종을 볼 때 임상적으로 의미있는 균종들은 48시간 이내 90% 이상 검출되고, 그 이후 분리되는 경우는 다른 의뢰 건에서 이미 2일 이내 검출되었을 확률이 높아서 48시간 이후 의미있는 균종이 분리될 확률이 낮다. 따라서 48시간에 음성 결과를 예비보고 하는 것은 임상적으로 매우 유용한 정보가 된다[7,8,11,12].

이 연구에서 4일째 또는 그 이후 처음으로 양성되었던 경우 중 *Parabacteroides goldsteinii*, *Alistipes finegoldii*, *Mycobacterium fortuitum*, *Nocardia fasciata*, *Fusarium* spp.와 같은 혐기균과 호기성 방선균, 털곰팡이 등은 임상적으로 의미있는 감염 원인균으로 판단된다. 느리게 자라는 *Bartonella*, *Legionella*, *Brucella*, *Nocardia*, *Mycobacteria* 등의 세균이나 진균은 배양기간을 단축할수록 검출 민감도가 낮아진다[7,24,25]. 96 시간 이후 처음 분리되는 경우는 극소수이지만, 5일 배양을 유지함으로써 드문 원인균에 의한 균혈증의 민감도를 높일 수 있다는 장점이 있다. 이 연구에서 5일 이상의 연장배양의 주요 목표 세균인 HACEK (*Haemophilus* spp., *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella* spp.) 그룹 중 *Aggregatibacter* spp. 양성 검체 3개와 호기성 Actinomycetes에 속하는 *Mycobacterium fortuitum* 양성 1검체, *Nocardia* spp. 양성 1검체는 72-96시간에 분리되어 모두 4일 이내 분리되었다. 이는 자동화된 지속감시 혈액배양시스템이 일반화된 이후 연구에서는 HACEK 그룹은 5일 이내에 분리된다는 보고와 일치한다[26]. 느리게 자라는 균종을 100% 검출할 수 있도록 전체 혈액배양기간을 연장하기는 불가능하다. 한 다기관 연구에서는 심내막염이 의심되어 연장배양이 의뢰된 377건의 혈액배양 검체에서 HACEK 그룹이 분리된 경우는 한 건도 없었다[27]. 따라서 혈액배양 민감도를 높이기 위해 배양기간을 5일을 초과하여 연장하는 것은 비용효과적이지 않고, 목표 균종에 가장 적절한 다른 배양법이나 분자생물

학적 진단법을 적용하는 대안을 마련하는 것이 최근의 경향이다[28]. 연구자들은 임상 의사가 혈액배양 의뢰시 진균배양을 요청하는 경우 5일 짜 혈액배양 진균용 평판배지에 접종하여 2주간 연장배양을 실시하고 있다.

결론적으로 이 연구에서 4일 배양은 중환자실을 포함한 3차 의료기관의 임상검사실에서 수용할만한 높은 민감도를 보인다. 반면 5일 배양은 느리게 자라는 드문 원인균에 의한 균혈증을 검출할 수 있는 장점이 있어서 검사실 공간이 허용된다면 감염에 취약한 고위험 환자군이 많은 의료기관의 임상검사실에 5일 배양이 충분히 이점이 있다.

요약

배경: 혈액배양 시스템은 높은 민감도와 신속한 결과 보고를 위해 발전해 왔다. 이 연구에서는 BD BACTEC FX 시스템(Becton, Dickinson and Company, USA)에서 4일과 5일 간의 혈액배양의 유용성을 평가하였다.

방법: 3개월간 2,700병상 규모의 3차 의료기관에 의뢰된 37,379쌍의 혈액배양을 대상으로 하였으며, 혈액배양 양성 검체의 time-to-positivity (TTP) 및 분리 균종에 대한 정보를 분석하였다. 호기성 혈액배양은 BD BACTEC Plus Aerobic F 또는 Peds Plus/F, 혐기성은 BD BACTEC Lytic Anaerobic 배지로 배양하였다.

결과: 14,899회의 혈액배양이 의뢰되어 회당 평균 2.51쌍이 의뢰되었다. 총 1,398회(9.38%)에서 양성이 검출되었으며, 1,465주의 균이 동정되었다. TTP가 12시간 미만인 경우가 48.87%, 12-24가 31.40%, 24-48가 13.38%, 48-72가 3.28%, 72-96가 1.43%, 96가 1.64%였다. 검출빈도가 가장 높은 *E. coli*와 *Klebsiella* spp. 균종은 12시간 이내에 각각 88.75%와 78.90%가 검출되었다. *E. coli*, *Klebsiella* spp., *E. faecalis* 및 *E. faecium*, *S. aureus*의 median TTP (T50)은 각각 9.24, 9.60, 13.75, 14.20시간이었으며 혐기성이 호기성에 비해 T50이 유의하게 짧았다. 96시간 이후 검출된 양성결과 24건 중, 96시간 이후에 처음으로 검출된 건은 단 4건으로, 이는 모두 혐기성균과 곰팡이에 해당하였다.

결론: BD BACTEC FX 시스템에서 4일 배양은 우수한 민감도를 나타내기 때문에 비용 효과적일 수 있지만, 검사실 공간이 충분하고 드문 감염의 위험이 높은 환자가 많은 의료기관에서는 느리게 자라는 드문 균까지 검출하기 위해서 5일 배양이 유용하다.

Ethics statement

The obtainment of informed consent was waived since it is a retrospective chart review.

Conflicts of interest

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

Funding

None.

References

1. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:501-9.
2. Pien BC, Sundaram P, Raouf N, Costa SF, Mirrett S, Woods CW, et al. The clinical and prognostic importance of positive blood cultures in adults. *Am J Med* 2010;123:819-28.
3. Hardy DJ, Hulbert BB, Migneault PC. Time to detection of positive BacT/Alert blood cultures and lack of need for routine subculture of 5- to 7-day negative cultures. *J Clin Microbiol* 1992;30:2743-5.
4. Seo EJ and Pai CH. BACTEC NR-730 blood culture. *Korean J Clin Pathol* 1993;13:601-6.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Principles and procedures for blood cultures. 2nd ed. CLSI guideline M47. Wayne, PA: CLSI; 2022.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Principle and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: CLSI; 2007.
7. Sung H, Kim MN, Pai CH. The clinical relevance of four-day blood cultures with the BACTEC 9240 system. *Korean J Clin Pathol* 2001:193-8.
8. Ransom EM, Alipour Z, Wallace MA, Burnham CA. Evaluation of optimal blood culture incubation time to maximize clinically relevant results from a contemporary blood culture instrument and media system. *J Clin Microbiol* 2021;59:e02459-20.
9. Doern GV, Brueggemann AB, Dunne WM, Jenkins SG, Halstead DC, McLaughlin JC. Four-day incubation period for blood culture bottles processed with the Difco ESP blood culture system. *J Clin Microbiol* 1997;35:1290-2.
10. Bourbeau PP and Pohlman JK. Three days of incubation may be sufficient for routine blood cultures with BacT/Alert FAN blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 2001;39:2079-82.
11. Park SH, Shim H, Yoon NS, Kim MN. Clinical relevance of time-to-positivity in BACTEC9240 blood culture system. *Korean J Lab Med* 2010;30:276-83.
12. Pardo J, Klinker KP, Borgert SJ, Trikha G, Rand KH, Ramphal R. Time to positivity of blood cultures supports antibiotic de-escalation at 48 hours. *Ann Pharmacother* 2014;48:33-40.
13. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *Am J Clin Pathol* 2008;130:870-6.
14. López-Pintor JM, Sánchez-López J, Navarro-San Francisco C, Sánchez-Díaz AM, Loza E, Cantón R. Real life clinical impact of antimicrobial stewardship actions on the blood culture workflow from a microbiology laboratory. *Antibiotics* 2021;10:1511.
15. Park HJ, Na S, Park SY, Moon SM, Cho OH, Park KH, et al. Clinical significance of *Propionibacterium acnes* recovered from blood cultures: analysis of 524 episodes. *J Clin Microbiol* 2011;49:1598-601.
16. Tusgul S, Prod'hom G, Senn L, Meuli R, Bochud PY, Giulieri SG. *Bacillus cereus* bacteraemia: comparison between haematologic and nonhaematologic patients. *New Microbes New Infect* 2017;15:65-71.
17. Song SA, Kim JH, Shin JH, Kim SH, Lee NY, Kim MN, et al. Clinical usefulness of routine use of anaerobic blood culture bottle. *Ann Clin Microbiol* 2014;17:35-41.
18. Ransom EM and Burnham CA. Routine use of anaerobic blood culture bottles for specimens collected from adults and children enhances microorganism recovery and improves time to positivity. *J Clin Microbiol* 2022;60:e00500-22.

19. Viganò EF, Vasconi E, Agrappi C, Clerici P. Use of simulated blood cultures for time to detection comparison between BacT/ALERT™ and BACTEC™ 9240 blood culture systems. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44:235-40.
20. Cobos-Trigueros N, Zboromyrska Y, Morata L, Alejo-Cancho I, Calle CD, Vergara Gómez A, et al. Time-to-positivity, type of culture media and oxidase test performed on positive blood culture vials to predict *Pseudomonas aeruginosa* in patients with Gram-negative bacilli bacteraemia. *Rev Esp Quimioter* 2017;30:9-13.
21. 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.
22. Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, Cabili S, Carmeli Y. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:43-8.
23. Lee JY, Hong JH, Lee M. Comparison of BACTEC Plus aerobic/F media and BacT/Alert FA media to detect bacteria in blood culture bottles containing peak therapeutic levels of antimicrobials. *Korean J Clin Microbiol* 2010;13:151-6.
24. Doern GV. Detection of selected fastidious bacteria. *Clin Infect Dis* 2000;30:166-73.
25. Reisner BS and Woods GL. Times to detection of bacteria and yeasts in BACTEC 9240 blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 1999;37:2024-6.
26. Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clin Infect Dis* 2005;41:1677-80.
27. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, et al. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* organisms: a retrospective multicenter evaluation. *J Clin Microbiol* 2006;44:257-9.
28. Weinstein MP. Emerging data indicating that extended incubation of blood cultures has little clinical value. *Clin Infect Dis* 2005;41:1681-2.