

# 血流感染临床检验路径专家共识

上海市微生物学会临床微生物学专业委员会 上海市医学会检验医学专科分会

上海市医学会危重病专科分会

通信作者:吴文娟,同济大学附属东方医院南院检验科,上海 200123,Email:wuj1210@126.com;

李敏,上海交通大学医学院附属仁济医院检验科,上海 200127,Email:ruth\_limin@126.com;

陈德昌,上海交通大学医学院附属瑞金医院重症医学科,上海 200025,Email:icudcchen@aliyun.com

**【摘要】** 血流感染是严重的全身感染性疾病,其诊断及及时性、准确性,以及初始抗微生物药物的合理应用与临床检验密切相关。为了规范血流感染的临床检验路径,实现早期诊断、个体化精准治疗,以及改善患者临床预后,相关领域专家起草了《血流感染临床检验路径专家共识》,从基于风险评估的诊断流程、临床标本采集、检验技术评价、报告出具及结果解读等方面,提出相关推荐意见,为临床医师、检验医师、技术人员及卫生管理人员提供参考依据。

**【关键词】** 血流感染;临床检验;抗微生物药物;路径

**基本项目:**上海市公共卫生三年行动计划(2020-2022年)重点学科项目(GWV-10.1-XK04);上海市优秀技术带头人(20XD1434500)

DOI:10.3760/cma.j.cn311365-20220130-00033 中图分类号:R51

## Expert consensus on clinical laboratory strategies for bloodstream infection

*Clinical Microbiology Division of Shanghai Society of Microbiology; Shanghai Society of Laboratory Medicine, Shanghai Medical Association; Shanghai Society of Critical Care Medicine, Shanghai Medical Association*

*Corresponding authors: Wu Wenjuan, Department of Laboratory Medicine, Shanghai East Hospital, Tongji University, Shanghai 200123, China, Email: wuj1210@126.com; Li Min, Department of Laboratory Medicine, Ren Ji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China, Email: ruth\_limin@126.com; Chen Dechang, Department of Critical Care Medicine, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China, Email: icudcchen@aliyun.com*

血流感染(bloodstream infection)作为一种严重的全身感染性疾病,易诱发脓毒症(sepsis)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),病死率高,已经成为全球范围内主要的公共卫生负担之一<sup>[1]</sup>。血流感染患者的预后与诊断时效性、准确性及初始抗微生物药物的合理应用密切相关<sup>[2]</sup>。目前,诊断血流感染的金标准仍然是血培养阳性,对疑有感染的患者,第一时间留取血培养是至关重要的,《拯救脓毒症运动(surviving sepsis campaign, SSC):2021年脓毒症和脓毒症休克管理国际指南》也再次强调:应该在识别脓毒症后的1h内留取抗微生物药物使用前的2套(需氧和厌氧)血培养标本进行病原体培养<sup>[3]</sup>。21世纪以来,通过对从业人员培训、样本预处理及提高结果解读能力等方式,血流感染的诊断效能进一步提高。随着基质辅助激光解吸飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry,

MALDI-TOF MS)技术和快速抗微生物药物敏感试验(rapid antimicrobial susceptibility testing, RAST)在临床微生物实验室的广泛应用,以及病原体宏基因组学第二代测序(metagenomics next generation sequencing, mNGS)、微滴式数字聚合酶链反应(droplet digital polymerase chain reaction, ddPCR)等新兴技术的发展与临床应用,血流感染检测从采样到报告的流程得到进一步优化<sup>[4-5]</sup>。现阶段血流感染病原体诊断仍基于集束化(bundle)治疗原则,包括优化分析前参数、抗微生物药物治疗前及时采集血培养标本、采用MALDI-TOF MS等快速检测方法,以及与临床抗微生物药物管理团队密切合作等<sup>[6]</sup>。同时,疾病诊断相关分组(diagnosis related groups, DRG)和按病种分值付费(diagnosis-intervention packet, DIP)被推行后,对疾病诊疗提出了新的要求与挑战。因此,有必要优化血流感染临床检验路径,做到检验医学、临床微生物学与临床医

学紧密结合,提高血流感染的诊断效能,改善血流感染患者的预后。

### 一、共识的应用范围

本共识主要针对血流感染的流行病学、风险分级的诊断流程、临床检验技术评价、临床检验路径、相关影响因素、报告出具及结果解读等方面进行文献检索及综合分析,以解答临床常见问题,并基于此提出共识相关推荐意见。本共识旨在为检验医师、临床微生物检验从业人员及临床医师提供血流感染诊断相关参考依据,以期规范血流感染的临床检验路径,做到早期诊断、个体化精准治疗,最终改善血流感染患者的临床预后。

### 二、共识制订流程

2021 年 7 月,以检验医学、临床微生物学及临床医学等不同专业 30 余名专家为基础的共识撰写组成立,采用工作会议方式讨论共识的题目、提纲及具体内容等相关问题。根据会议讨论和沟通结果,专家组成员检索了 PubMed 和 Cochrane 图书馆数据库中以英文形式发表或附有英文摘要的文献,同时检索中华医学会系列期刊,在分析过程中重点关注近 10 年发表的系统综述及随机对照试验(randomized controlled trial, RCT),经过 5 轮以撰写组会议为基础的讨论,形成 19 条基本条目。根据推荐条目的理论依据、科学性进行推荐意见分级的制订及评价,最终采取评估、制订及评价分级(grades of recommendation, assessment, development, and evaluation, Grade)系统制订推荐意见(表 1)。评价过程重复 2 轮,综合获得较为完善的共识条目和推荐级别。随后,共识条目撰写小组根据会议意见总结,再次查阅及增补最新文献,于 2022 年 1 月初完成共识意见最终稿,经 2 轮投票,所有推荐意见均达成高度一致。

表 1 Grade 推荐级别

评价分级	推荐意见	证据级别
Grade 1 +	强推荐	高级别证据
Grade 2 +	弱推荐	低级别证据
Expert opinion	专家建议	证据级别不足
Grade 2 -	弱不推荐	低级别证据
Grade 1 -	强不推荐	高级别证据

注:Grade 为评估、制订及评价分级

### 三、术语

1. 血流感染:传统的血流感染定义为有全身感染症状,即有证据表明患者有发热(体温  $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$ )或低温(体温  $<36\text{ }^{\circ}\text{C}$ )、寒战、低血压、少尿或高乳酸水平等 1 种或多种临床症状或体征,血培养呈阳性的全身性感染<sup>[7]</sup>。但目前已知并非所有导致血流感染的病原体均可通过血培养检出,由于长期使用糖

皮质激素及免疫抑制剂,使得发生血流感染后部分患者的全身急性炎症反应不典型,且部分高危血流感染患者在留取血培养标本前已经接受广谱抗微生物药物治疗,导致血培养假阴性率增加<sup>[7]</sup>。所以目前血流感染是指患者血液中存在病原微生物,伴或不伴有感染的症状和体征。

2. 社区获得性血流感染(community-acquired bloodstream infection):患者由社区入院,入院 48 h 内发生的血流感染。其主要病因为社区获得性肺炎、腹腔感染、尿路感染、脑膜炎、感染性心内膜炎及皮肤软组织感染等<sup>[8-9]</sup>。

3. 医院获得性/重症监护病房获得性血流感染(hospital-acquired/intensive care unit-acquired bloodstream infection):患者入院或 ICU 48 h 后检出的血流感染,或既往 2 周有住院史,再次入院或 ICU 48 h 内检出的血流感染。主要病因为医院获得性肺炎、腹腔感染、尿路感染、导管/植入物相关性感染、外科术后感染及原发性血流感染等<sup>[8-9]</sup>。

4. 非复杂性血流感染(uncomplicated bloodstream infection)和复杂性血流感染(complicated bloodstream infection):患者血培养阳性,无感染性心内膜炎,无人工植入装置,血培养于治疗 2~4 d 内转阴,经有效治疗后 72 h 内退热,且无迁徙性感染灶的感染为非复杂性血流感染。不符合上述定义者即为复杂性血流感染<sup>[8-9]</sup>。

5. 持续性血流感染(persistent bloodstream infection):患者发热等临床症状无改善,血培养阳性状态持续 3 d 或以上<sup>[8-9]</sup>。

6. 导管相关性血流感染(catheter-related bloodstream infection, CRBSI):患者除血管内导管外没有其他明确的感染源,在植入血管内导管 48 h 后或拔除血管内导管 48 h 内出现的血流感染,并伴有发热、寒战或低血压等感染表现<sup>[8-9]</sup>。

7. 培养阴性血流感染(culture negative bloodstream infection):血流感染患者从未通过培养方法鉴定出明确的病原体,可能的原因包括获得培养物之前经验性使用抗微生物药物,导致感染的病原体不易培养且缺乏快速诊断手段的病原菌导致的血流感染等<sup>[8-9]</sup>。

### 四、基于患者风险分级的诊断流程

不同地区和国家血流感染发生率和病死率的风险等级不一致,其中社区获得性血流感染和医院获得性血流感染各占 40%,ICU 获得性血流感染约占 20%<sup>[7]</sup>。欧洲每年约有 120 万例患者被诊断为血流感染,且伴有不同程度的并发症,已经成为日益严重

的公共卫生问题<sup>[10]</sup>。美国一项 6 年回顾性队列研究显示,住院患者血流感染发生率为 5.9%,全因死亡率为 15.6%<sup>[11]</sup>。我国目前在血流感染发病率及病死率方面代表性的数据仍较匮乏。一项综合 72 篇文献的系统分析结果显示,加权合并的血流感染全因病死率为 28.7% (95%CI 27.2% ~ 30.3%),医院获得性血流感染的病死率为 26.8% (95%CI 2.4% ~ 32.0%),显著高于社区获得性血流感染的病死率 [6.9% (95%CI 4.5% ~ 10.7%)]<sup>[12]</sup>。近期发表的重症医学科感染流行率的扩展研究 III (The Extended Study on Prevalence of Infection in Intensive Care III, EPIC III) 提示,ICU 血流感染占有收治感染性疾病的 15.3%<sup>[10]</sup>。虽然目前仍无法获得血流感染发病情况和病死率的确切数据,但结合患者临床表现、病史和现有实验室手段,本共识提出以下基于患者风险分级的诊断流程推荐意见。

**推荐意见 1:对于疑似血流感染患者,推荐快速识别或排除原发感染部位,应采集疑似原发感染部位的临床标本送检,尽快实施必要的感染源控制措施 (Grade 1+,强推荐)。并进行病原体耐药性评估 (Grade 2+,弱推荐)。**

血流感染多继发于重症肺部感染、腹腔感染、尿路感染及手术切口感染等,也与血管内植入物及导管留置相关。明确导致血流感染的病因,及时处理原发病灶,对于血流感染的诊治尤为重要。一项纳入 3 663 例包含血流感染、腹腔感染、尿路感染等导致严重脓毒症及脓毒症休克患者的前瞻性观察性研究表明,1 173 例 (32%) 患者进行了包含导致血流感染及脓毒症感染源的筛查和处理,其 ICU 内患者的病死率低于感染病灶未筛查及处理组患者 (21.2% 比 25.1%),差异有统计学意义 ( $P = 0.010$ )。经校正混杂因素后,筛查和处理组患者的住院病死率仍呈现降低趋势 ( $OR = 0.809, 95\%CI 0.658 \sim 0.994, P = 0.044$ )<sup>[13]</sup>。另一项随机对照研究纳入 1 915 例侵袭性念珠菌病患者 (包含念珠菌血流感染),结果表明移除血管内导管可以降低此类患者的病死率 ( $OR = 0.50, 95\%CI 0.35 \sim 0.72, P = 0.0001$ )<sup>[14]</sup>。但如何定义感染病灶处理的“最佳时间”仍未统一,对于外科切口感染导致的血流感染或脓毒症,也有研究表明 6 h 或 12 h 以内处理外科感染源对于患者病死率影响的差异无统计学意义 (27.6% 比 26.8%,  $P = 0.789$ )<sup>[13]</sup>。

对于疑似血流感染患者需评估病原体的耐药性,以提高经验性治疗成功率,其评估内容主要包括患者 90 d 内广谱抗微生物药物治疗史、流行病学

史、基础免疫功能等。一项纳入 473 例患者的前瞻性观察性研究表明,90 d 内广谱抗微生物药物治疗史是导致包含血流感染在内的多重耐药病原体感染的独立风险因素 ( $OR = 12.3, 95\%CI 6.48 \sim 23.35$ )<sup>[15]</sup>。

血流感染管理源头控制措施中,控制原发感染部位非常重要,这就要求临床医师快速识别并控制原发性感染灶特定的感染部位 (特别是脓肿引流、清除感染部位的坏死组织、移除潜在感染的装置,以及明确控制持续的微生物污染源等)。一般而言,应该选择侵入性最小、效果最好的感染源控制方案<sup>[16-18]</sup>。识别感染源后,在 6 ~ 12 h 内控制感染源通常被认为是具有意义的<sup>[19-24]</sup>。识别和证实感染源有助于抗微生物治疗药物的选择<sup>[9]</sup>。

一项基于脓毒症休克患者的多中心观察性研究显示,脓毒症休克患者在急诊室就诊后,及时采取感染源控制措施的患者较未接受感染源控制措施的患者有更好的预后;在 2 250 例患者中,524 例 (23.3%) 采取感染源控制措施,其中经导管引流 301 例 (57.4%),急诊手术 103 例 (19.7%),内镜干预 78 例 (14.9%),取出感染装置 32 例 (6.1%),其他控制措施 10 例 (1.9%); COX 比例风险模型 (COX proportional hazard model) 显示,采取感染源控制措施的患者 28 d 病死率显著降低 [ $HR = 0.538 (0.389 \sim 0.744), P < 0.001$ ]<sup>[17]</sup>。但在该研究中未能证实更早实施感染源控制措施的获益,采取感染源控制措施的患者中,134 例 (25.6%) 于 6 h 内采取感染源控制措施,115 例 (21.9%) 于 12 h 内采取感染源控制措施,275 例 (52.5%) 于 12 h 以上采取感染源控制措施,存活 28 d 的患者开始感染源控制时间 [13.6 (6.0, 42.5) d] 与死亡患者 [10.4 (4.4, 25.9) d] 之间差异无统计学意义 ( $P = 0.082$ ),可能与研究中纳入的患者数量有限,导致统计学误差有关<sup>[17]</sup>。因此,脓毒症和脓毒症休克患者的任何感染源控制干预都最好在诊断后,在可行的情况下尽快实施<sup>[18-20,25]</sup>。

**推荐意见 2:对于疑似血流感染的危重症患者宜进行脓毒症筛查,并尽早启动包括送检血培养在内的脓毒症集束化处理流程 (Grade 2+,弱推荐)。**

血流感染患者易诱发脓毒症,尤其是对于免疫抑制宿主而言,并可快速发展为 MODS,导致预后不佳。因此,早期筛查、快速识别并启动包含血培养在内的脓毒症集束化处理流程尤为重要。一项纳入 50 项前瞻性观察性研究的结果表明,对包含血流感染在内的患者进行脓毒症筛查,可以早期识别患者的危重症状态,同时降低患者继发脓毒症与脓毒症

休克后的相关病死率 ( $OR = 0.66, 95\%CI 0.61 \sim 0.72$ )<sup>[26]</sup>。另一项回顾性队列研究纳入了美国 509 家医院的 1 012 410 例脓毒症患者 (包含血流感染引起的脓毒症), 对于识别脓毒症后 1 h 内留取血培养、使用广谱抗微生物药物、液体复苏及监测乳酸指标在内的集束化处理流程依从性较好的医院, 此类患者病死率较低 (26.3% 比 22%,  $P = 0.04$ ), 且总住院时间缩短<sup>[27]</sup>。

目前已有序贯器官衰竭评分 (sequential organ failure assessment, SOFA)、急性生理学和慢性健康状况评价 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II) 等可用于评估血流感染导致脓毒症的严重程度和预后, 并根据实验室指标和患者生命体征估算其病死率<sup>[3]</sup>。但大多数血流感染首诊于抢救室或急诊室, 因此快速序贯器官衰竭评分 (quick sequential organ failure assessment, qSOFA) 联合乳酸和 (或) 其他生物化学指标也是可选择的评估工具之一。在精准医疗时代, 鼓励建立基于大数据的风险预测模型, 以实现个体化评估。

**推荐意见 3:** 对于疑似血流感染且高度怀疑合并严重脓毒症或脓毒症休克的高风险患者, 建议在送检血培养的同时联合送检基于核酸检测的病原体快速鉴定 (专家建议)。

目前, 病原体血培养结果仍然是诊断血流感染的金标准, 但危重症患者血流感染诊疗所需要的“快速诊断”, 是目前血培养的检测速度和阳性检出率无法满足的。数据表明, 约 35% 的血流感染或脓毒症难以通过常规的培养手段明确病原体, 即为培养阴性的脓毒症 (culture negative sepsis)<sup>[28]</sup>, 从而使血流感染的漏诊、误诊率增加, 导致危重症患者预后不良。

mNGS 等分子检测手段被逐步应用于临床, 其从标本采集至报告时间控制在 30 h 以内, 且由于血流感染患者的血浆游离 DNA 浓度高, 所以更容易检测出传统血培养中较难检出的病原体。一项纳入 348 例血流感染导致脓毒症患者的观察性研究表明, 使用 mNGS 检测病原体的灵敏度可高达 93%, 且在 166 份培养阴性的血标本中有 62 份通过 mNGS 检出了病原体<sup>[29]</sup>。其对于发生血流感染后临床症状不典型的免疫抑制宿主的阴性预测值也可高达 95%<sup>[30]</sup>。

由于获取血培养检测报告需要一定的时间, 且血流感染诱发的脓毒症缺少诊断的“金标准”检测, 导致对脓毒症的鉴别诊断仍存在一定困难。事实上 1/3 或更多最初被诊断为脓毒症的患者最终被诊断

为非感染性疾病, 因此在送检血培养的同时联合送检基于核酸检测的病原体快速鉴定尤为重要。

**推荐意见 4:** 对于疑似血流感染患者, 建议同时启用快速处理流程以评估其患感染性疾病的可能性 (专家建议)。若经联合检测仍无法确认病原体, 则建议再次评估是否存在非感染因素的其他病因 (专家建议)。

对于疑似血流感染的患者, 建议在就诊后 3 h 内完成病史采集和体格检查, 以及与感染相关的实验室检查, 包括血常规、CRP、降钙素原、血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A protein, SAA)、1,3-β-D 葡聚糖试验 (1,3-β-D-glucan, 以下简称 G 试验)、半乳甘露聚糖抗原试验 (galactomannan antigen test, 以下简称 GM 试验)、细胞因子检测 (如 IL-6、IL-10 和 TNF-α 等)、乳酸检测、病原体核酸即时检测 (point of care testing)、抗原及抗体 (尤其是 IgM 型抗体) 检测等, 确定感染性疾病是否存在, 以及提示可能导致感染的病原体<sup>[31]</sup>。此外, 美国和欧洲已经获批新型细胞形态学标志物——单核细胞分布宽度 (monocyte distribution width, MDW) 用于成人急诊脓毒症的辅助诊断, 值得进一步关注和参考<sup>[32]</sup>。若联合检测仍无法确认病原体, 建议再次评估是否存在非感染因素的其他病因。

**推荐意见 5:** 对于疑似真菌性血流感染, 建议在送检血培养的同时启动真菌血清学或分子生物学检测 (专家建议)。

真菌性血流感染所致的脓毒症或脓毒症休克发病率逐年增高, 尤其是在免疫缺陷患者中, 会增加患者病死率及总住院时间。一些观察性研究显示, 及时、精准的抗真菌治疗有可能降低真菌性血流感染患者的病死率<sup>[33]</sup>, 但这些研究尚无法证明抗真菌治疗与预后之间确切的因果关系, 也未阐明治疗时机的作用, 还有一些研究并未证明这种关联<sup>[34]</sup>, 但对于真菌性血流感染的认识在逐步加深。对于一些发热伴中性粒细胞减少或免疫抑制的宿主, 结合真菌多部位定植情况及当地真菌感染的流行病学, 需要考虑真菌引起血流感染的可能性, 建议及时采用血清学或分子生物学技术检测致病性真菌<sup>[34]</sup>。

**推荐意见 6:** 对于可能由耐药菌感染引起的血流感染, 同时合并严重脓毒症或脓毒症休克的高风险患者, 建议在送检血培养的同时进行快速耐药基因检测或快速药物敏感试验 (专家建议)。

多重耐药 (multidrug resistant) 或广泛耐药 (extensively drug-resistant) 病原体在血流感染患者

中的检出率越来越高,建议结合高危因素,仔细评估耐药病原体的可能性。高危因素包括:当地耐药病原体的流行病学情况,在过去 1 年中被证实感染或定植了耐药病原体,过去 90 d 内广谱抗微生物药物治疗史,过去 90 d 内耐药病原体流行国家的旅居史或住院史等。一旦疑似耐药菌引起的血流感染,建议启动快速病原体核酸检测或快速体外药物敏感试验。一项纳入 191 例革兰阴性菌导致的血流感染患者的随机对照研究表明,与传统检测组患者(98 例)比较,使用快速体外药物敏感试验组患者(93 例)进行包含氨基糖苷类药物在内的联合治疗后的停药时间更早[32(0,795) h 比 54(4,216) h],差异有统计学意义( $P=0.002$ ),调整为敏感抗微生物药物方案所需时间更短[50(10,339) h 比 69.5(20,872) h],差异有统计学意义( $P=0.034$ )<sup>[35]</sup>。亚组分析亦提示,与经验性抗感染治疗无效患者比较,快速体外药物敏感试验组患者调整为敏感抗微生物药物方案所需时间也更短[39.5(32,97) h 比 57(49,83) h],差异有统计学意义( $P=0.036$ ),但两组患者 28 d 病死率差异无统计学意义<sup>[35]</sup>。

综上,为了加快诊断并最终改善血流感染患者临床预后,本共识提出以下临床诊断路径(图 1)。

#### 五、血流感染临床检验技术评价和应用

近 10 年来,血流感染临床检验新技术层出不穷,发展迅猛。目前,应用于临床实验室血流感染检测的分子生物学技术主要包括核酸杂交技术、核酸扩增及 DNA 序列分析、基因芯片和 MALDI-TOF MS 技术等。MALDI-TOF MS 技术可用于阳性血培养标本中病原体(包括细菌、真菌及其他非典型微生物)

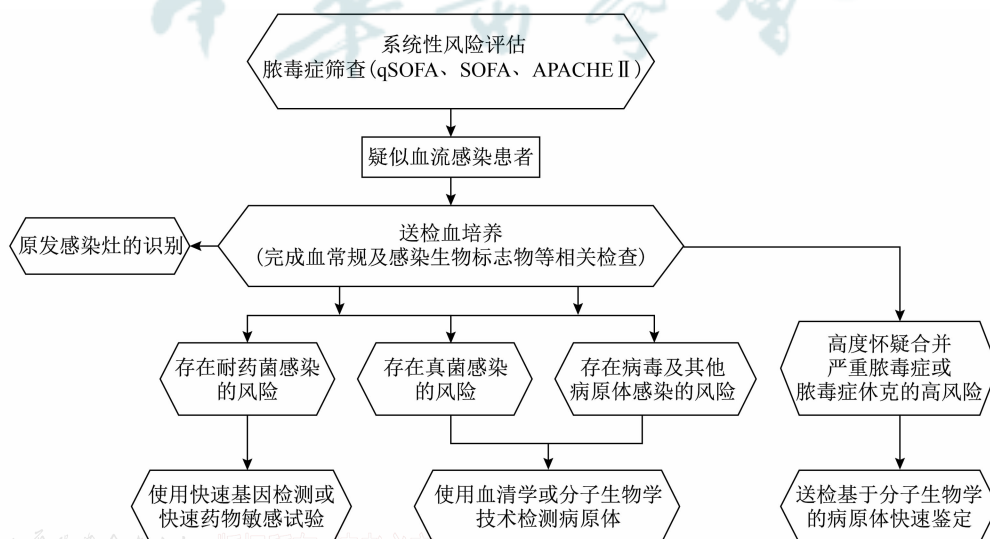
的直接鉴定,这项技术对革兰阴性菌具有良好的鉴定效能( $>90\%$ 符合后续培养结果),但用于鉴定革兰阳性菌时仍需慎重(约 80%符合后续培养结果)<sup>[36]</sup>。另一方面,对于合并感染性疾病的危重症患者,近些年已经尝试通过核酸检测技术对血样本直接进行病原体和耐药基因检测,如病原体靶向的荧光定量聚合酶链反应(fluorescence quantify polymerase chain reaction, FQ-PCR)、ddPCR 和即时检测,以及非靶向的 mNGS 技术。这些检测方法正在逐步形成标准化操作规范,有待获得相关部门(如国家药品监督管理局)批准后推广应用。

结合患者流行病学和临床表现,临床医师可基于可疑的病原体种类选择适宜的病原学检测方法并采集相应的临床标本送检(表 2)。

实验室应结合不同检测方法的性能特征、检测周转时间(turn around time, TAT)、影响因素等进行方法学评价,并在临床沟通中向临床医师推荐检验项目优化选择(表 3)。

**推荐意见 7:对于疑似血流感染,宜同时进行厌氧菌和需氧菌培养与鉴定(Grade 2+,弱推荐)。**

对于大多数引起血流感染的病原体,包括细菌、真菌、非典型微生物、病毒及寄生虫等,常规血培养方法在 48 h 内可提供阳性结果,且随着现代化自动连续监测血培养系统和培养基的使用,几乎很少有病原体培养报阳时间超过 5 d。部分特殊的病原体,如分枝杆菌和双相真菌等则需要更长的培养时间;还有部分特殊病原体,如嗜血杆菌、军团菌等则需要特殊的培养基或非培养方法<sup>[37]</sup>。



注:qSOFA 为快速序贯器官衰竭评分;SOFA 为序贯器官衰竭评分;APACHE II 为急性生理学和慢性健康状况评价 II

图 1 血流感染临床检验路径流程图

表 2 不同病原体的检测方法和标本要求<sup>[37]</sup>

病原体	检测方法	标本类型和转运要求	报告时间 <sup>c</sup>
一般需氧菌/厌氧菌/酵母菌	2~4 套血培养	静脉血 <sup>b</sup> , 常温, 立即送检	12~72 h
	核酸检测 <sup>a</sup>	5 mL 血浆, 常温, 2 h 内送检	4~24 h
巴尔通体	2~4 套血培养	裂解-离心培养管, 每管 10 mL	≥72 h
	IgM/IgG 抗体检测	5 mL 血清, 常温, 2 h 内送检	2 h
	核酸检测	5 mL 血浆, 常温, 2 h 内送检	4~24 h
军团菌	2~4 套血培养	裂解-离心培养管, 每管 10 mL	≥72 h
	尿抗原检测	10 mL 清洁中段尿, 常温, 2 h 内送检	0.5 h
丝状/双相真菌	2~4 套血培养	需氧血培养瓶或真菌专用瓶	2~28 d
	IgM/IgG 抗体检测	5 mL 血清, 常温, 2 h 内送检	2 h
	核酸检测	5 mL 血浆, 常温, 2 h 内送检	4~24 h
分枝杆菌	3 次分枝杆菌血培养	5 mL 血液, 特定血培养瓶	14 d 至 4 周
病毒	IgM/IgG 抗体检测	5 mL 血清, 常温, 2 h 内送检	2 h
	核酸检测	5 mL 血浆, 常温, 2 h 内送检	4~24 h
寄生虫	显微镜检查	外周血/骨髓涂片	2 h
	IgM/IgG 抗体检测	5 mL 血清, 常温, 2 h 内送检	2 h
	核酸检测	5 mL 血浆, 常温, 2 h 内送检	4~24 h
惠普尔养障体/鸚鵡热衣原体	核酸检测	5 mL 血浆, 常温, 2 h 内送检	4~24 h
贝纳柯克斯体(即伯氏立克次体)	核酸检测	5 mL 血浆, 常温, 2 h 内送检	4~24 h
	IgM/IgG 抗体检测	5 mL 血清, 常温, 2 h 内送检	2 h

注:<sup>a</sup>核酸检测包括荧光定量聚合酶链反应、微滴式数字聚合酶链反应、宏基因组学第二代测序和核酸即时检测方法;<sup>b</sup>血培养标本采集时,除特殊情况外,标本一般指静脉血;<sup>c</sup>报告时间为单一样本单次检测所需时间

表 3 血流感染临床检验技术评价<sup>[23]</sup>

类别	方法	优点	缺点	适用患者风险级别	备注
血培养检测技术	血培养检测	特异性高,可进行后续体外药物敏感试验 <sup>[38]</sup>	灵敏度低,报告结果周期时间长,不能诊断难培养的病原体 <sup>[38]</sup>	中高风险	疑似血流感染,严重脓毒症或脓毒症休克可能性较高的成人患者,应立即送检血培养,并在 1 h 内经验性使用抗微生物药物 <sup>[16]</sup>
	血培养快速诊断技术	无需进行血培养后转种,缩短 TAT <sup>[39]</sup>	无法进行后续的体外药物敏感试验, FilmArray 检测平台可检测部分耐药基因	中高风险	FilmArray <sup>[67]</sup> (暂未获 NMPA 批准); Verigene <sup>[68]</sup> , Accelerate Pheno <sup>[69]</sup> 等技术快速诊断血培养
质谱检测技术	MALDI-TOF MS	灵敏度和特异度较高,成本低,血培养报阳后 TAT 短(20~30 min),对检测病原菌耐药性也有帮助 <sup>[40-42]</sup>	仪器要求高,基于血培养阳性培养物;对某些特殊种类的细菌、分枝杆菌和丝状真菌的鉴定效果仍需提升 <sup>[61]</sup>	中高风险	可有血培养菌液、菌膜和纯菌鉴定 3 个层级 <sup>[36]</sup>
直接核酸检测技术	普通 PCR	灵敏度和特异度较高,通常使用特异扩增病原微生物目标基因或使用通用引物扩增细菌(16S/23S)或真菌(18S)基因组的保守 rRNA 区域	实验室要求较高,存在假阳性和假阴性。如血液中存在 PCR 抑制剂、污染物 DNA 或死亡微生物 DNA 等,则影响检测结果 <sup>[40,62]</sup>	低中风险	通过 PCR 直接对血液标本病原微生物及耐药性(如 RocheLight Cycler® SeptiFast, SeeGeneMagic Plex® Sepsis Test, Abbott Iridica)进行检测,而无需事先孵育 <sup>[70]</sup>
	ddPCR	可定量检测,灵敏度和特异度较高 <sup>[43]</sup>	仪器和试剂较为昂贵,实验室要求较高	低中风险	暂无 NMPA 批准试剂
	mNGS	灵敏度和特异度较高,广谱、能检测出难以培养或苛养的病原菌 <sup>[44-45]</sup>	仪器和试剂较为昂贵,实验室要求较高 <sup>[39]</sup>	高风险	暂无 NMPA 批准试剂
	FISH	灵敏度和特异度较高, TAT 短 <sup>[46]</sup>	探针类型有限,一些微生物只能在属的水平鉴定,无法获得抗药物敏感性信息 <sup>[46]</sup>	高风险	暂无 NMPA 批准试剂
快速评估炎症相关指标	PCT	严重细菌性炎症和真菌感染的特异指标 <sup>[47-48]</sup> 。灵敏度较高,检测成本较低	特异度一般,比 CRP 高,更适合预后判断和疗效观察 <sup>[63]</sup>	中高风险	血清水平与脓毒症严重程度相关,动态监测其变化水平可判断病情进展情况 <sup>[48]</sup> 。PCT 持续升高,预示感染加重或治疗失败, PCT 降低提示病情好转和治疗有效 <sup>[71]</sup>
	CRP	急性时相蛋白,稳定性和准确度好,检测成本低 <sup>[49-50]</sup>	特异度不高,是炎症和组织损伤的非特异性标志物 <sup>[64]</sup>	低风险	筛查项目

续表 3

类别	方法	优点	缺点	适用患者风险级别	备注
	SAA	急性时相蛋白, 机体受感染后, 4~6 h 内即可迅速升高约 1 000 倍, 清除病原体后又可迅速降至正常水平, 是反映机体感染情况和炎症恢复的灵敏指标 <sup>[51]</sup>	特异度不高	低风险	SAA 联合 CRP、PCT 检测, 可鉴别诊断细菌、病毒感染, 动态观察疗效并可指导临床用药 <sup>[72-73]</sup>
	IL-6	急性感染早期, IL-6 升高早于其他细胞因子, 也早于 CRP 和 PCT, 而且持续时间长, 对预后也有意义 <sup>[52]</sup>	特异度不高, IL-6 参与许多疾病的发生和发展, 其血液水平与炎症、病毒感染、自身免疫病密切相关	低中风险	细胞因子组合评分较任何单一细胞因子水平有更好的预测效果
	ImmunoXpert	同时检测 CRP、IL-10 和 TRAIL 3 种宿主因子水平判断是否有感染, 并鉴别是细菌还是病毒感染 <sup>[53]</sup>	临床数据有限	中高风险	对判断是否病毒感染特异性较好, 目前仅在美国和欧洲获批。仅做科研参数应用
	血常规	白细胞和中性粒细胞计数增高判断感染的灵敏度较高, 检测成本低 <sup>[54]</sup>	特异度不高	低中风险	注意感染和血液系统疾病的鉴别
	MDW	是感染/炎症发生的早期指标; 可对脓毒症早期辅助诊断, 以及预测患者未来 12 h 内将发展为脓毒症; 尤其对症状不典型/高度不确定的患者, MDW 异常者发生脓毒症可能性高 3 倍 <sup>[55-56]</sup>	在免疫功能抑制患者中的表现, 目前尚无临床研究数据	中高风险	目前仅在美国和欧洲获批, 国内正在做临床注册, 仅可做科研参数参考应用
	血气分析(乳酸)	灵敏度较高, 检测成本较低	特异度不高	中高风险	血流感染所致脓毒症休克患者的早期乳酸水平及乳酸清除率对其预后具有预测价值 <sup>[74]</sup>
	凝血功能	灵敏度较高, 检测成本较低	特异度不高	中高风险	感染严重者可引起休克、DIC 和 MODS <sup>[75]</sup>
特殊病原抗原抗体筛查指标	G 试验	可用于侵袭性真菌病的筛查 <sup>[57]</sup>	不能鉴定具体菌属和菌种, 灵敏度和特异度不稳定	低中风险	侵袭性真菌感染, 包括念珠菌、曲霉菌、肺孢子菌、镰刀菌、地霉、组织胞浆菌、毛孢子菌等 <sup>[76]</sup>
	GM 试验	是侵袭性曲霉病的早期诊断指标, 适用于血清、肺泡灌洗液 <sup>[57-58]</sup>	只针对曲霉感染, 对其他真菌检测无效, 且灵敏度和特异度受诸多因素影响。某些药物和食物可导致假阳性 <sup>[65]</sup>	低中风险	可区分侵袭性曲霉菌感染和细菌感染
	T-SPOT/QFT	辅助诊断结核潜伏感染或者活动性结核分枝杆菌感染, 灵敏度和特异度都较高 <sup>[59]</sup>	不能区分活动性结核或结核潜伏感染。检测成本较高, TAT 一般为 2~3 d	低中风险	检测结果不受接种卡介苗与否及免疫功能低下等因素影响 <sup>[76]</sup>
	寄生虫抗体筛查	灵敏度和特异度都较高, 操作简单, TAT 短, 结果判定简单, 成本较低 <sup>[60]</sup>	要结合血常规, 涂片显微镜检查综合分析 <sup>[66]</sup>	低中风险	感染寄生虫者, 应取其血液、粪便或尿液作实验室检查。医师也可抽取可能感染器官或组织的液体送检。通常需反复查找寄生虫 <sup>[66]</sup>

注: MALDI-TOF MS 为基质辅助激光解吸飞行时间质谱; PCR 为聚合酶链反应; ddPCR 为微滴式数字聚合酶链反应; mNGS 为宏基因组学第二代测序; FISH 为荧光原位杂交技术; PCT 为降钙素原; CRP 为 C 反应蛋白; SAA 为血清淀粉样蛋白 A; IL 为白细胞介素; ImmunoXpert 为以色列体外诊断公司推出的全自动免疫分析系统; MDW 为单核细胞分布宽度; G 试验为 1,3- $\beta$ -D-葡聚糖试验; GM 试验为半乳甘露聚糖抗原试验; T-SPOT/QFT 为结核感染 T 细胞试验; TAT 为检测周转时间; TRAIL 为肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体; FilmArray 为多重 PCR 系统; NMPA 为国家药品监督管理局; Verigene 为全自动多病原芯片检测系统; Accelerate Pheno 为一种结合荧光原位杂交技术与细胞形态动力学分析的全新阳性血培养检测系统; RocheLight Cycler<sup>®</sup> SeptiFast 和 SeeGeneMagic Plex<sup>®</sup> Sepsis Test, Abbott Iridica 为雅培公司 Iridica 平台推出的对血液标本进行直接的病原微生物和耐药性检测的 PCR 方法; DIC 为弥散性血管内凝血; MODS 为多器官功能障碍综合征

常规培养通常至少包括 2 套血液培养(需氧和厌氧)<sup>[16]</sup>。肺炎链球菌等部分革兰阳性菌及部分兼性厌氧菌在厌氧培养瓶中生长得更好, 检测时间更短, 能有效防止漏检, 缩短 TAT<sup>[77]</sup>。一项基于 23 313 例血流感染患者的研究发现, 每套收集 2 瓶需氧和 1 瓶厌氧血培养瓶的病原体检出率高于每套 2 瓶需氧瓶的检出率, 所以应确认血液培养组中包括厌氧瓶<sup>[77]</sup>。

及早进行准确的抗微生物治疗是降低严重细菌和真菌感染发病率和病死率的最重要的方法, 因此血培养瓶报阳后, 快速的微生物鉴定和抗微生物药物敏感性测定对患者的预后至关重要<sup>[78-80]</sup>。使用哪些抗微生物药物治疗危重患者的血流感染主要取决于以下因素: ① 病原体感染源; ② 病原体的类型和种属; ③ 抗微生物药物的敏感性或耐药性; ④ 真

菌,尤其是念珠菌感染<sup>[81-85]</sup>。

**推荐意见 8:对于疑似 CRBSI,建议同时检测导管和外周血培养(专家建议)。**

怀疑 CRBSI 时,建议在送检外周血培养的同时送检导管。对短期外周血管导管,建议通过静脉穿刺采集 2 套患者外周血培养,同时拔除导管,取 5 cm 导管末梢进行 Maki 半定量法培养。在休克患者的血压监测中动脉测压导管(arterial catheter, AC)使用日趋普遍,若疑似为 AC 相关性血流感染,建议抽取 AC 血和外周血各 1 套,同时拔除导管,送检培养。部分患者应用非隧道式导管、隧道式中心静脉导管及完全植入式导管(venous access ports, VAP),这部分患者如果疑似 CRBSI,建议采集至少 2 套血培养,其中至少 1 套是通过静脉穿刺采集的外周血,另外 1 套是通过导管插孔或者 VAP 膜采集血液,注意导管血要与外周血在同一时间采集,并附上标签以示区别<sup>[86-87]</sup>。

一项回顾性研究对不同来源的血培养样本进行比较,分析了 2 677 组分别来源于导管和外周静脉穿刺的血培养样本,发现从导管来源的血培养能获得更高的灵敏度和阳性预测值<sup>[88]</sup>。对于 CRBSI 的诊断,测量从导管和外周静脉采集血培养的阳性差异时间(differential time to positive, DTP)对疑似 CRBSI 具有很高的诊断价值<sup>[89]</sup>。Blot 等<sup>[90]</sup>证实 DTP $\geq$ 120 min 对诊断导管相关性感染的灵敏度和特异度分别为 94% 和 94%,对导管相关脓毒症的灵敏度和特异度分别为 96.4% 和 100%。

**推荐意见 9:对于血培养分离的病原体,建议进行体外抗微生物药物敏感试验(antimicrobial sensitivity test, AST)以明确病原体对何种抗微生物药物敏感,临床需要时建议开展培养物直接快速药物敏感试验(专家建议)。**

常规的 AST 方法包括以下几种<sup>[91]</sup>。

1. 扩散法。① 琼脂纸片扩散法:纸片扩散试验按微生物敏感性分为敏感、中介或耐药而提供定性结果,不测定最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。然而,对于微生物/抗微生物药物的特定组合,抑制生长区的直径与 MIC 有关,故可以根据抑制区直径计算出近似的 MIC。② 抗微生物梯度纸条扩散法(E-test 法):通过试条与椭圆形生长抑制区的交叉点确定 MIC。

2. 稀释法。① 试管肉汤稀释法:可以提供定量结果 MIC。② 微量肉汤稀释法:微量肉汤稀释法的优点包括重现性好,所需样本量少,且成本低,允许大量重复。该方法比常量稀释法更有效、更容易。

③ 琼脂稀释法:能够在同一套琼脂平板上同时测试几种微生物得到 MIC。

3. 半自动化和全自动化设备:目前可用设备包括 MicroScan Walkaway System、VITEK 和 VITEK 2、Sherlock Microbial Identification System、Sensititre Auto Reader and Sensititre ARIS2X 和 BD Phoenix System 等。这些自动化设备使用光学系统测量细微变化,可确定细菌生长和抗微生物药物的敏感性,并且比传统的人工评估时间更短(6~12 h)。

对于常规的 AST 方法,通常需要至少 24 h 才能获得菌落生长,另外还需 24 h 才能获得生物化学鉴定和耐药表型。在收到样本后 48 h 内不能获得 AST 结果,这可能会导致长时间使用或过度使用广谱抗微生物药物,药物的过度使用导致了多重耐药微生物的出现和蔓延。因此美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)<sup>[92]</sup>与欧洲临床微生物和感染病学会(European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, ECCMID)欧洲抗菌药物敏感性试验委员会(European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST)<sup>[93]</sup>均制订了快速药物敏感试验操作指南,以在临床需要时开展培养物直接快速 AST 试验。

**推荐意见 10:通常血液标本不建议直接涂片、革兰染色及显微镜检查。对于疑似寄生虫感染如疟原虫、丝虫等建议按特定程序采样、制片及染色镜检,并结合 IgM/IgG 抗体检测(专家建议)。**

根据寄生虫生活史的特点,使用显微镜对患者的血液、组织液、排泄物、分泌物或活体组织进行检查,以检查寄生虫的某一发育虫期,是一种基于形态学的相对便捷的寄生虫病诊断方法,且是寄生虫学检验的金标准,被广泛用于各寄生虫病的诊断。血液的湿片常用来检查不同线虫种类和锥虫的微丝蚴,浅层皮肤切片的生理盐水片有利于检查螺旋体盘尾丝虫<sup>[66,94-99]</sup>。

采用化学或荧光染料对生物制剂进行染色可以提高对寄生虫生命周期阶段的检测和可视化。例如瑞氏吉姆萨染色可以快速检测厚、薄血膜中疟原虫、巴贝斯虫、锥虫、利什曼原虫和微丝蚴的种类;吖啶橙(acridine orange)是一种有机荧光染料,能选择性嵌入细胞核 DNA,可用于检测棘阿米巴和利什曼原虫;硫氟白(thiofluoride white)可以选择性地与真菌细胞壁中的纤维素和甲壳素结合,也被用来检测棘阿米巴、微孢子虫等<sup>[98,100-101]</sup>。

对于在组织中或器官内寄生而不易取得材料的寄生虫(如异位寄生),病原学诊断方法检出率较

低,检出效果不理想,则需结合 IgM/IgG 抗体检测<sup>[102]</sup>。以弓形虫为例,弓形虫病通常无症状,诊断主要基于血清学检测弓形虫特异性 IgG 和 IgM 抗体。通常,特异性 IgM 在接触病原体后近 1 周出现,IgG 较 IgM 晚 1~3 周出现。IgM 阳性通常表明为急性感染,随后 IgM 逐渐消失<sup>[103]</sup>。然而,仅根据 IgM 区分既往和现症感染具有挑战性,因为弓形虫 IgM 在初次感染后可持续数月或数年<sup>[104-108]</sup>。

## 六、结果报告和临床应用

**推荐意见 11:** 血培养的原则是报告具有临床意义的病原菌,建议对于可能的污染菌需要结合宿主因素(免疫状态、病史等)、报阳时间、报阳瓶数等信息综合分析(专家建议)。

Weinstein<sup>[109]</sup>发现血培养阳性标本中分离的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、乙型溶血性链球菌( $\beta$ -hemolytic *Streptococcus*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、肠球菌属(*Enterococcus*)及念珠菌属(*Candida*)预示真正血流感染病原菌的可能性高。同样在相当大比例的病例中,某些检出的病原体是污染菌的概率更大,这些微生物包括凝固酶阴性葡萄球菌(coagulase-negative staphylococci, CoNS)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、除炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)以外的芽孢杆菌(*Bacillus*)、痤疮丙酸杆菌(*Propionibacterium acnes*)、微球菌属(*Micrococcus*)、草绿色链球菌(*Viridans Streptococci*)、肠球菌属和产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)<sup>[109-112]</sup>。CoNS 是常见的血培养污染物之一,通常占有所有血液培养污染菌的 70%~80%,但对于新生儿和有侵入性治疗的患者,其是重要病原菌<sup>[113-115]</sup>。对于真正的菌血症,多组血液培养通常会培养出相同的菌种<sup>[111,116-117]</sup>。这是区分污染和菌血症的最常用指标,即双侧血培养瓶分离出 CoNS 同种细菌,且抗菌谱一致,提示是感染而非污染的可能性高;若为异种 CoNS,则提示污染的可能性高<sup>[118]</sup>。其他一些细菌具有潜在致病力,如草绿色链球菌,需结合临床的高危因素综合判断。

确定污染的另一个指标是血培养报阳时间(time to positivity, TTP)。多项研究表明,TTP 超过 5 d 后报阳,培养物污染的可能性更大<sup>[119]</sup>。但随着连续监测血液培养技术的进步,报阳时间和检测病原体的灵敏度可能会发生变化,这使得 TTP 在应用方面成为问题<sup>[120-121]</sup>。

报阳瓶数同样可以帮助判断是否是污染菌。研究发现,阳性瓶数量的增加确实提高了感染的诊断

阳性率,在 129 例从 1 次静脉穿刺中分离出 CoNS 的患者中,使用由 4 瓶组成的套装,当 1 瓶呈阳性时,对真实感染的阳性预测值为 2%,当 2 瓶呈阳性时阳性预测值为 9%,当 3 瓶呈阳性时阳性预测值为 13%,当所有 4 瓶均呈阳性时则阳性预测值增高至 27%<sup>[122]</sup>。

**推荐意见 12:** 缩短血培养报告时间有助于规范临床抗微生物药物使用,缩短住院时间,改善血流感染患者预后。在危急值报告(一级报告)基础上,建议开展直接鉴定/体外药物敏感报告(二级报告):报告阳性血培养直接质谱/分子鉴定结果和(或)直接 AST 结果(可电话通知或书面通知临床);若质谱鉴定结果确定,建议先发出正式快速鉴定报告,正式 AST 结果(三级报告/终报告)于后期另外报告(专家建议)。

临床微生物实验室三级报告时间:一级报告时间为从血液标本采集到第 1 次革兰染色镜检报告时间;二级报告时间为从血液标本采集到第 1 次微生物直接鉴定或初步 AST 时间;三级报告时间为从血液标本采集到最终报告时间<sup>[123-124]</sup>。平均报告时间因微生物类型而异,推荐常规革兰染色、微生物鉴定和 AST 的平均报告时间分别约为 1、2 和 3 d,采用优化血培养流程时,可在 24~48 h 发出最终报告<sup>[123]</sup>。

血流感染临床经验性抗微生物药物治疗病原菌覆盖比例约为 70%,这导致发病和死亡的风险增加、住院时间延长和费用增加<sup>[125]</sup>。一项研究显示,引入 MALDI-TOF MS 技术直接鉴定后,患者有效治疗开始时间可提前 10 h( $P=0.021$ ),最佳治疗开始时间可提前 43 h( $P<0.001$ ),患者 30 d 全因病死率从 20.3%降低到 12.79%( $P=0.021$ ),患者 ICU 住院时间从平均 14.9 d 缩短到平均 6.6 d( $P=0.014$ )<sup>[126]</sup>。血培养报告时间缩短有助于尽早由经验治疗过渡到目标治疗,规范临床抗微生物药物使用,缩短住院时间,改善患者预后,以及降低整体医疗费用。综合实验室工作流程优化和采用先进技术,如 MALDI-TOF MS、快速 AST 平台和进一步的实验室自动化将在缩短临床微生物学报告时间方面发挥重要作用<sup>[127-128]</sup>。

**推荐意见 13:** 建议各类血流感染检验报告需符合医院内常规检验报告格式要求,包括必要的患者基本信息、标本类型、标本量和性状、检测结果、检测局限性、检测人员、检测方法和实验室信息等内容(专家建议)。

无论血培养还是非培养诊断技术,检验报告应

明确标明检测的所有病原体,并注明某种病原体检测阳性或上述病原体检测阴性等信息。定量检测报告(如 GM 试验)应列出生物参考区间,免疫和分子定性检测均需列出检出限和检验方法(如 ELISA、化学发光法等)<sup>[129-130]</sup>。

mNGS 检测报告应该易于理解,便于阅读,只需要报告通过判读规则的临床相关或潜在相关的微生物信息,并解释其临床意义,不应向医师报告实验室环境及试剂污染物、错误匹配及人内源性反转录病毒(human endogenous retroviruses, HERV)等没有意义的鉴定结果。同时,应该最大化发挥 mNGS 无偏倚检测的特点,如检测到与患者待查临床症状无关的病原体如 HBV、HCV 和 HIV 等,也应以适当的方式报告给临床医师。建议在病原体核酸检测报告单上进行备注说明检测方法、检测的局限性,建议临床医师结合临床实际情况和其他检测结果进行综合判断<sup>[131-132]</sup>。

**推荐意见 14:** 病原体核酸检测通常无法区分病原体有活力和无活力、定植或活动性感染等特性,因此阳性结果也仅表明在当前标本中某种病原体 DNA 或 RNA 检测阳性,不代表一定由该病原体引起感染。宜在结果解释中予以注明(Grade 2+, 弱推荐)。

对血液标本进行核酸检测时,检测到的病原体可能来自病原微生物、死亡微生物、外界污染,或是定植菌群所致的一过性菌血症,需要从临床角度进行综合分析<sup>[133-137]</sup>。其中特别需要关注的是,人体血液通常被认为是无菌的,但是健康人群和血流感染患者的血液标本中都存在细菌 DNA,其细菌 DNA 含量、种类有一定差异。相关研究报道,在脓毒症患者和健康受试者的血液样本中均有细菌 DNA 的存在,然而,组间细菌多样性差异有统计学意义( $P = 0.002$ );在健康受试者血液中,厌氧菌(76.2%)呈显著优势,其中大多数是双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)(73.0%);在脓症患者中,大多数检测到的分类群属于需氧或微嗜氧细菌(75.1%)<sup>[138]</sup>。

所以在病原体核酸检测时,向临床报告最终阳性结果之前可补充其他诊断试验(如血清学检测、培养、第一代测序、ddPCR 等)来交叉验证病原体感染,并在结果解释中加以备注。RNA 转录组测序技术用于分析有活性微生物的基因表达水平,可能有助于区分感染与定植,以及有无活力<sup>[139-140]</sup>。

同样,病原体核酸检测也可能存在假阴性的情况,如由于 PCR 通常基于特异性引物针对某种特定

病原微生物进行检测,所以当病原体的该区域序列发生突变时,可能会出现因缺乏对该序列的检测而导致的假阴性,不代表一定不存在该病原体引起的感染<sup>[141]</sup>。

**推荐意见 15:** 当疑似血流感染患者具有耐药菌感染高风险时,耐药基因检测的结果宜结合临床表现进行综合判断(Grade 2+, 弱推荐)。建议通过 AST 结果进行验证(专家建议)。

分子抗菌谱(molecular antibiogram, MA)在分子水平上检测临床相关耐药信息,检测通常以耐药基因为目标,使用基因扩增技术结合扩增子分析[如实时荧光定量 PCR、PCR + 微阵列或 PCR + 电喷雾电离质谱法(electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)]<sup>[142-143]</sup>。耐药基因筛查通常检测单个基因靶点,或最多检测几个靶点。其中包括甲氧西林耐药标志物 *mecA* 和 *mecC*,万古霉素耐药标志物 *vanA* 和 *vanB*,以及编码超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(extended spectrum  $\beta$  lactamase, ESBL)的基因等<sup>[144]</sup>。具体检测方法有核酸探针阵列介导的特异性耐药基因检测,环介导等温扩增反应(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)(从尿液中检测大肠埃希菌对抗菌药物的耐药性)<sup>[145]</sup>,以及 PCR 和高分辨率的熔融分析组合也有助于耐药基因的分子检测<sup>[146]</sup>。

现在已经有很多商品化系统应用了耐药基因筛查手段。如 GeneXpert Smart Cycloer II 快速 DNA 扩增系统(美国赛沛公司),其中 Xpert MRSA/SA Blood Culture 用于从阳性血培养中筛查耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)<sup>[147]</sup>,Xpert SA Nasal Complete 用于从鼻腔拭子中筛查 MRSA<sup>[148]</sup>,万古霉素耐药标志物 *vanA* 和 *vanB* 的检测<sup>[149]</sup>,以及 Xpert Carba-R 用于从直肠拭子中筛查碳青霉烯耐药基因 *bla<sub>KPC</sub>*、*bla<sub>NDM</sub>*、*bla<sub>VIM</sub>*、*bla<sub>OXA-48</sub>* 和 *bla<sub>IMP</sub>*<sup>[150]</sup>。BioFire FilmArray BCID panel 从血液培养中确定了 24 个常见的菌血症原因和 3 种耐药基因 *mecA*、*vanA/B* 和 *bla<sub>KPC</sub>*<sup>[151]</sup>。需要强调的是,临床标本中检出耐药基因只是定性的,因为没有提供 MIC 值,也不一定与实际表型相关,即有可能该耐药基因存在于定植而非本次感染的病原菌中,也可能是耐药基因可检出但未表达或表达水平不足以形成耐药表型,因此,不能直接作为启动多重耐药菌治疗抗菌药物的依据,在诊断工作中实施耐药基因筛查,需要临床医师对结果解释有深入的了解,并充分了解不同技术的优势和局限性<sup>[6,144]</sup>。

**推荐意见 16:** CRP、降钙素原、IL-6、MDW,真菌 G 试验、GM 试验等感染相关生物标志物可辅助判断是否存在感染,但不宜作为独立的诊断依

### 据或启动抗微生物药物使用的依据 (Grade 2 -, 弱不推荐)。

脓毒症是没有可靠诊断金标准的异质性疾病, 鉴于血培养阳性的灵敏性较低, 许多脓毒症病例是根据相对主观的临床表现进行诊断的<sup>[152]</sup>。随着脓毒症发病机制研究的不断深入, 越来越多的生物标志物用于脓毒症诊断和治疗监测的临床实践, 也为临床提供了更多的依据。20 世纪 80 年代, 研究发现早期高炎症阶段, IL-6 和 CRP 作为典型的炎症因子, 其水平显著升高<sup>[20]</sup>。20 世纪 90 年代, 研究人员发现降钙素原可以作为一种潜在的生物标志物, 细菌感染患者中降钙素原升高<sup>[153]</sup>。G 试验和 GM 试验主要用于快速诊断侵袭性感染或真菌感染性疾病, 且现在常与 PCR 或质谱技术结合使用, 以缩短诊断时间<sup>[154]</sup>。

一项前瞻性多中心队列研究评估了循环生物标志物在辅助脓毒症和非脓毒症鉴别诊断中的准确性, 研究共纳入 279 例低体温或高热、符合全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 标准的 ICU 患者, 并且临床医师考虑使用抗微生物药物进行治疗, 共选用了已经证实与脓毒症有关联的 53 个循环生物标志物, 如 CRP、降钙素原、IL-6 等, 结果发现这些生物标志物很难将脓毒症和非脓毒症患者区分开, 提示这些生物标志物可用于辅助诊断<sup>[155]</sup>。MDW 是外周血单核细胞活化的形态学参数, 当 MDW 临界值为 20.0 时, 可有效分辨急诊成人患者是脓毒症还是其他感染性疾病, 其受试者操作特征曲线下面积 (the area under receiver operator characteristic curve, AUROC) 为 0.79; 此外, 若使用 MDW 联合白细胞计数进行筛查, 对脓毒症诊断的 AUROC 为 0.89, 高于仅使用白细胞计数的筛查方式 (AUROC 为 0.81); MDW 的阴性预测值为 97%, 可以有效协助临床排除非脓毒症<sup>[156]</sup>。

### 推荐意见 17: 宜使用降钙素原和临床评估以决定血流感染患者停用抗微生物药物的时间, 而非单独基于临床评估 (Grade 2 +, 弱推荐)。

对于脓毒症或脓毒症休克患者, 一般建议进行较短时间的抗微生物药物治疗, 然而, 危重患者接受抗微生物药物治疗的天数往往超过必要的天数。虽然通常只用临床评估决定病程, 但生物标志物降钙素原也可以提供指导, 目前降钙素原已在危重和非危重患者中进行了广泛的研究, 包括指导何时开始和停止治疗<sup>[157]</sup>。

一项针对 ICU 脓毒症患者的验证性研究发现, 减少抗微生物药物暴露对预后没有明显的负面影

响<sup>[158]</sup>。这项试验对脓症患者使用了较高的降钙素原截止值 (0.5 ~ 1  $\mu\text{g/L}$ ), 并使用降钙素原药理学 (从峰值水平下降 > 90%) 来指导建议停止使用抗微生物药物。在多中心非劣效性比例试验中也得到验证, 即在脓症患者中, 使用降钙素原指导停用抗微生物药物是有效和安全的<sup>[159]</sup>。

由于入 ICU 的脓症患者病情危重、风险高, 治疗时间至关重要, 降钙素原主要用于指导治疗有效后的及时停药, 而不是用于指导经验性治疗<sup>[160]</sup>。在一项降钙素原指导下停用抗微生物药物的研究中, 所有临床怀疑为脓毒症的患者都使用抗微生物药物, 当试验组患者的降钙素原水平从峰值下降至少 80% 或当降钙素原降至 0.5  $\mu\text{g/L}$  以下时, 推荐停用抗微生物药物。与标准治疗相比, 使用降钙素原可减少抗微生物药物暴露 (抗微生物药物使用时间从 7 d 缩短至 5 d), 并提高存活率 (1 年存活率提高 6.1%)<sup>[63]</sup>。

一项荟萃分析对 11 项针对脓毒症危重患者的以降钙素原指导抗微生物药物管理 (antibiotic stewardship, ABS) 试验进行了分析, 结果发现, 与 2 230 例对照组患者相比, 2 252 例应用降钙素原指导抗微生物药物治疗的患者的病死率显著降低 (21.1% 比 23.7%)<sup>[161]</sup>。这一发现与按感染类型 (呼吸道、尿路、腹部、皮肤或中枢神经系统) 和脓毒症严重程度等进行亚组分析所得结果是一致的。该研究还显示, 在脓症患者中, 降钙素原能指导临床医师更早停用抗微生物药物, 治疗时间从 10.4 d 缩短到 9.3 d, 在非严重的脓毒症和呼吸道感染患者中效果更明显。进一步荟萃分析还显示, 存活率的提高仅与停用抗微生物药物的降钙素原算法有关<sup>[161]</sup>。而对于 ICU 患者, 开始使用抗微生物药物的降钙素原算法或混合方法并不能降低病死率<sup>[162]</sup>。各国专家一致认为, 降钙素原指导 ABS 支持用于急性呼吸道感染和脓症患者分析抗微生物药物治疗开始和持续时间, 可减少抗微生物药物的暴露和相关不良反应发生, 并改善临床结果<sup>[162]</sup>。为了简化实际应用, 专家组对已建立的降钙素原算法进行改进, 纳入了疾病的严重程度和细菌感染的可能性, 并将固定截止值减少到轻至中度和重度疾病各 1 个值 (分别为 0.25  $\mu\text{g/L}$  和 0.5  $\mu\text{g/L}$ )<sup>[163]</sup>。

### 推荐意见 18: 建议使用具有溯源性的降钙素原检测方法, 确保检测结果的解读适用于相应的参考体系。对于存在多种检测系统的实验室, 建议进行检测系统间定期比对, 尤其关注临界低值的准确性 (专家建议)。

降钙素原的检测方法多样,使用的仪器、试剂不同,可能会对测量值的准确度产生影响<sup>[164-166]</sup>。正如其他生物标志物所证明的那样,不同试剂的使用可能会导致不同检测方法所获结果之间不具有可比性<sup>[167-169]</sup>。这将影响临床决策,以及随后基于生物标志物测量值的临床实践指南和公共卫生保健策略的制订<sup>[170]</sup>。目前,法国 BRAHMS 公司的 PCT115LIA 为溯源链顶端的金标准物质,符合国际标准化组织(International Organization for Standardization, ISO)发布的 ISO 17511 导则的 BRAHMSPCT 溯源流程,且都采用相同的临界值<sup>[171]</sup>。但仍有一些比较研究和室间质量评价(external quality assessment, EQA)方案在结果可比性方面显示出不一致的结果,降钙素原检测结果的等价性仍然存疑<sup>[172]</sup>。许多研究指出,需要 1 个参考物质和基于参考方法的新参考系统,以实现降钙素原结果的全球标准化<sup>[164-166, 173-174]</sup>。在此背景下,国际临床化学和实验室医学联盟(International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, IFCC)成立了降钙素原检测标准化工作组,汇集了来自国家计量研究所、校准实验室的专家,以及临床医师、生物学家、EQA 供应商和试剂制造商,正在开发更高级别的参考测量程序(reference measurement procedure, RMP),以建立一个强大的参考测量系统(reference measurement system, RMS);他们正在组织一项互换性研究,以确定适合的 EQA 材料,以及可靠地评估降钙素原结果的当前可比性<sup>[175]</sup>。

**推荐意见 19:**对疑似血流感染患者,建议采用多种检测技术的联合应用,以期提高病原体检出率,有效提高血流感染患者的生存率,并减少救治的医疗资源负担,改善卫生经济学(专家建议)。

大量的临床研究数据证明了快速微生物病原学

诊断技术的应用及相应流程的优化有助于缩短临床微生物实验室向临床报告病原菌鉴定和体外药物敏感试验结果的时间,帮助临床医师能够在第一时间对血流感染患者使用有效的目标性抗微生物药物。精准的抗微生物药物治疗不仅可以减少患者不必要的经验性抗微生物药物使用,缩短抗微生物药物使用时间,避免可能的抗微生物药物耐药产生,还可以降低抗微生物药物治疗费用、其他鉴别诊断费用,总住院费用等也能获得相应的减少。因此,快速病原学诊断对于感染性疾病的诊疗具有显著的临床及卫生经济学价值。目前,暂时缺少国内血流感染促进临床合理用药与及时诊治相关研究,建议进一步开展 RCT 研究工作。快速病原学诊断的临床及卫生经济学价值见表 4。

### 七、总结与展望

在国家推行 DRG 和 DIP 的大背景下,规范临床路径、提高医疗质量、降低患者负担及遏制不必要医疗支出是相关医疗政策推行的主要目标。血流感染作为一种严重的全身感染性疾病,易诱发脓毒症及 MODS,病死率高。规范血流感染临床检验路径,对于提升血流感染诊断效能,降低血流感染患者的病死率,提高血流感染的治愈率和生存率至关重要。

临床医师需重视血流感染精准的快速诊断检测(rapid detection and diagnosis, RDT)的作用,通过有依据、有针对性的检测方法尽快明确血流感染及原发病灶的病原体或者其他相关的感染依据(如 PCR 或 mNGS 等方法找到确切的病原体特异性基因序列,或者免疫学方法找到特异性抗原或者 IgM 型抗体),并根据体外药物敏感试验或者耐药基因等客观依据,选用敏感的抗微生物药物进行及时的精准治疗,进行血流感染早期干预治疗;严格遵守诊疗指南,加强临床路径管理,避免过度治疗或治疗不到位。

表 4 快速病原学诊断的临床及卫生经济学价值

时间	国家	患者类型	快速诊断方法	检测 TAT 和抗微生物药物使用时间	住院时间	卫生经济学	参考文献
2013 年	瑞士	革兰阴性菌血症	MALDI-TOF MS	减少 35.1% 的抗微生物药物使用	-	-	Clerc 等 <sup>[176]</sup>
2013 年	美国	成人血流感染	MALDI-TOF MS、RAST	TAT 缩短 28 h, 目标抗微生物药物处方时间缩短 10 h	ICU 住院时间缩短 6.6 d, 30 d 病死率下降 7%	-	Huang 等 <sup>[126]</sup>
2014 年	美国	抗微生物药物耐药革兰阴性菌血症	MALDI-TOF MS	抗微生物药物使用时间缩短 58 h	ICU 住院时间缩短 5 d, 30 d 病死率下降 12%	总住院费用减少 26 298 美元	Perez 等 <sup>[128]</sup>
2016 年	英国	血流感染患儿	多重 PCR 快速检测	促进 54% 的靶向抗微生物药物使用	10 例患儿提前出院, 节省 14 张床位	-	Ray 等 <sup>[177]</sup>

注: MALDI-TOF MS 为基质辅助激光解吸飞行时间质谱; RAST 为快速抗微生物药物敏感试验; PCR 为聚合酶链反应; TAT 为检测周转时间; ICU 为重症监护病房。“-”为内容未涉及

检验学科应优化血培养等血流感染检测流程和方法,采用规范的、新的血流感染诊断关键技术,如 MALDI-TOF MS 和 mNGS 等新技术、新方法的临床应用,并尽可能采用多种检测技术联合,以期提高血流感染病原体检出率,指导临床进行及时、有效的精准治疗;同时,需提升检验人员资质、技术能力、诊断价值等为临床服务的核心价值。从临床需求出发,立足专业核心价值,提供更具诊断价值的报告。

综上,本共识一共推荐 22 条意见,其中强推荐意见 1 条,弱推荐意见 6 条,弱不推荐 1 条,专家建议 14 条。本共识将帮助医院优化血流感染临床检验路径,推动临床微生物检验与临床医学紧密结合,以期提升我国血流感染的诊疗能力和水平,提高血流感染患者的生存率,并减少救治的医疗资源负担,改善卫生经济学。

执笔:吴文娟(同济大学附属东方医院南院检验科)、余跃天(上海交通大学医学院附属仁济医院重症医学科)、朱召芹(上海市公共卫生临床中心医学检验科)、李敏(上海交通大学医学院附属仁济医院检验科)、刘倩(上海交通大学医学院附属仁济医院检验科)、郭建(同济大学附属东方医院检验科)

专家组成员(按姓氏拼音排序):常东(复旦大学附属浦东医院医学检验科)、陈德昌(上海交通大学医学院附属瑞金医院重症医学科)、宫晔(复旦大学附属华山医院重症医学科)、郭建(同济大学附属东方医院检验科)、郭玮(复旦大学附属中山医院医学检验科)、胡付品(复旦大学附属华山医院抗生素研究所)、蒋晓飞(复旦大学附属华山医院医学检验科)、李莉(上海交通大学医学院附属第一人民医院医学检验科)、李敏(上海交通大学医学院附属仁济医院检验科)、刘娇(上海交通大学医学院附属瑞金医院重症医学科)、刘倩(上海交通大学医学院附属仁济医院检验科)、马少林(同济大学附属东方医院重症医学科)、莫茜(上海交通大学医学院儿童医学中心感染研究所)、倪语星(上海交通大学医学院附属瑞金医院临床微生物科)、汤一苇(丹纳赫中国诊断平台医学事务部)、王敬华(上海市临床检验中心微生物室)、王瑞兰(上海交通大学医学院附属第一人民医院重症医学科)、吴文娟(同济大学附属东方医院南院检验科)、徐锦(复旦大学附属儿科医院医学检验科)、姚玉峰(上海交通大学医学院病原生物学教研室)、余方友(同济大学附属肺科医院医学检验科)、余跃天(上海交通大学医学院附属仁济医院重症医学科)、张泓(上海交通大学医学院附属儿童医院医学检验科)、赵虎(复旦大学附属华东医院医学检验科)、周春妹(复旦大学附属中山医院医学检验科)、朱召芹(上海市公共卫生临床中心医学检验科)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

[ 1 ] Kern WV, Rieg S. Burden of bacterial bloodstream infection: a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens [ J ]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26 ( 2 ): 151-157. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.10.031.

[ 2 ] Adrie C, Garrouste-Orgeas M, Ibn Essaïed W, et al. Attributable mortality of ICU-acquired bloodstream infections: impact of the source, causative micro-organism, resistance profile and antimicrobial therapy [ J ]. *J Infect*, 2017, 74(2):131-141. DOI:

10.1016/j.jinf.2016.11.001.

[ 3 ] Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [ J ]. *Crit Care Med*, 2021, 49 ( 11 ): e1063-e1143. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005337.

[ 4 ] Greninger AL, Naccache SN. Metagenomics to assist in the diagnosis of bloodstream infection [ J ]. *J Appl Lab Med*, 2019, 3(4):643-653. DOI: 10.1373/jalm.2018.026120.

[ 5 ] Wang L, Guo W, Shen H, et al. Plasma microbial cell-free DNA sequencing technology for the diagnosis of sepsis in the ICU [ J ]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8:659390. DOI: 10.3389/fmolb.2021.659390.

[ 6 ] Mangioni D, Viaggi B, Gianì T, et al. Diagnostic stewardship for sepsis: the need for risk stratification to triage patients for fast microbiology workflows [ J ]. *Future Microbiol*, 2019, 14: 169-174. DOI: 10.2217/fmb-2018-0329.

[ 7 ] Vallés J, Ferrer R. Bloodstream infection in the ICU [ J ]. *Infect Dis Clin North Am*, 2009, 23 ( 3 ): 557-569. DOI: 10.1016/j.idc.2009.04.005.

[ 8 ] Martínez RM, Wolk DM. Bloodstream infections [ J/OL ]. *Microbiol Spectr*, 2016, 4(4): DMIH2-0031-2016(2016-08-12) [2022-01-30]. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.DMIH2-0031-2016>.

[ 9 ] Timsit JF, Ruppé E, Barbier F, et al. Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement [ J ]. *Intensive Care Med*, 2020, 46(2):266-284. DOI: 10.1007/s00134-020-05950-6.

[ 10 ] Vincent JL, Sakr Y, Singer M, et al. Prevalence and outcomes of infection among patients in intensive care units in 2017 [ J ]. *JAMA*, 2020, 323(15):1478-1487. DOI: 10.1001/jama.2020.2717.

[ 11 ] Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and trends of sepsis in US hospitals using clinical vs claims data, 2009-2014 [ J ]. *JAMA*, 2017, 318(13):1241-1249. DOI: 10.1001/jama.2017.13836.

[ 12 ] 杨祖耀,詹思延,王波,等. 中国血流感染住院病死率的系统评价和 meta 分析 [ J ]. *北京大学学报(医学版)*, 2010, 42 ( 3 ): 304-307. DOI:10.3969/j.issn.1671-167X.2010.03.013.

[ 13 ] Martínez ML, Ferrer R, Torrents E, et al. Impact of source control in patients with severe sepsis and septic shock [ J ]. *Crit Care Med*, 2017, 45(1):11-19. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002011.

[ 14 ] Andes DR, Safdar N, Baddley JW, et al. Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials [ J ]. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(8):1110-1122. DOI: 10.1093/cid/cis021.

[ 15 ] Giantsou E, Liratzopoulos N, Efraimidou E, et al. Both early-onset and late-onset ventilator-associated pneumonia are caused mainly by potentially multiresistant bacteria [ J ]. *Intensive Care Med*, 2005, 31(11):1488-1494. DOI: 10.1007/s00134-005-2697-y.

[ 16 ] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 [ J ]. *Intensive Care Med*, 2017, 43(3):304-377. DOI: 10.1007/s00134-017-4683-6.

[ 17 ] Kim H, Chung SP, Choi SH, et al. Impact of timing to source control in patients with septic shock: a prospective multi-center

- observational study [J]. *J Crit Care*, 2019, 53:176-182. DOI: 10.1016/j.jcrc.2019.06.012.
- [18] Marshall JC, Maier RV, Jimenez M, et al. Source control in the management of severe sepsis and septic shock: an evidence-based review [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32 (11 Suppl): S513-S526. DOI: 10.1097/01.ccm.0000143119.41916.5d.
- [19] Azuhata T, Kinoshita K, Kawano D, et al. Time from admission to initiation of surgery for source control is a critical determinant of survival in patients with gastrointestinal perforation with associated septic shock [J]. *Crit Care*, 2014, 18(3):R87. DOI: 10.1186/cc13854.
- [20] Bloos F, Thomas-Rüddel D, Rüddel H, et al. Impact of compliance with infection management guidelines on outcome in patients with severe sepsis: a prospective observational multi-center study [J]. *Crit Care*, 2014, 18(2):R42. DOI: 10.1186/cc13755.
- [21] Moss RL, Musumeci CA, Kosloske AM. Necrotizing fasciitis in children: prompt recognition and aggressive therapy improve survival [J]. *J Pediatr Surg*, 1996, 31(8):1142-1146. DOI: 10.1016/s0022-3468(96)90104-9.
- [22] Chao WN, Tsai CF, Chang HR, et al. Impact of timing of surgery on outcome of *Vibrio vulnificus*-related necrotizing fasciitis [J]. *Am J Surg*, 2013, 206(1):32-39. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2012.08.008.
- [23] Buck DL, Vester-Andersen M, Møller MH. Surgical delay is a critical determinant of survival in perforated peptic ulcer [J]. *Br J Surg*, 2013, 100(8):1045-1049. DOI: 10.1002/bjs.9175.
- [24] Karvellas CJ, Abraldes JG, Zepeda-Gomez S, et al. The impact of delayed biliary decompression and anti-microbial therapy in 260 patients with cholangitis-associated septic shock [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 44(7):755-766. DOI: 10.1111/apt.13764.
- [25] Bloos F, Rüddel H, Thomas-Rüddel D, et al. Effect of a multifaceted educational intervention for anti-infectious measures on sepsis mortality: a cluster randomized trial [J]. *Intensive Care Med*, 2017, 43(11):1602-1612. DOI: 10.1007/s00134-017-4782-4.
- [26] Damiani E, Donati A, Serafini G, et al. Effect of performance improvement programs on compliance with sepsis bundles and mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e0125827 (2015-05-06) [2022-01-30]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125827>.
- [27] Kahn JM, Davis BS, Yabes JG, et al. Association between state-mandated protocolized sepsis care and in-hospital mortality among adults with sepsis [J]. *JAMA*, 2019, 322(3):240-250. DOI: 10.1001/jama.2019.9021.
- [28] Gupta S, Sakhujia A, Kumar G, et al. Culture-negative severe sepsis: nationwide trends and outcomes [J]. *Chest*, 2016, 150(6):1251-1259. DOI: 10.1016/j.chest.2016.08.1460.
- [29] Parize P, Muth E, Richaud C, et al. Untargeted next-generation sequencing-based first-line diagnosis of infection in immunocompromised adults: a multicentre, blinded, prospective study [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2017, 23(8):574.e1-574.e6. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.02.006.
- [30] Blauwkamp TA, Thair S, Rosen MJ, et al. Analytical and clinical validation of a microbial cell-free DNA sequencing test for infectious disease [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(4):663-674. DOI: 10.1038/s41564-018-0349-6.
- [31] Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and septic shock: basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making [J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104(4):573-585. DOI: 10.1016/j.mena.2020.02.011.
- [32] Hausfater P, Robert Boter N, Morales Indiano C, et al. Monocyte distribution width (MDW) performance as an early sepsis indicator in the emergency department: comparison with CRP and procalcitonin in a multicenter international European prospective study [J]. *Crit Care*, 2021, 25(1):227. DOI: 10.1186/s13054-021-03622-5.
- [33] Kollef M, Micek S, Hampton N, et al. Septic shock attributed to *Candida* infection: importance of empiric therapy and source control [J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(12):1739-1746. DOI: 10.1093/cid/cis305.
- [34] Antinori S, Milazzo L, Sollima S, et al. Candidemia and invasive candidiasis in adults: a narrative review [J]. *Eur J Intern Med*, 2016, 34:21-28. DOI: 10.1016/j.ejim.2016.06.029.
- [35] Anton-Vazquez V, Suarez C, Planche T. Impact of rapid susceptibility testing on antimicrobial therapy and clinical outcomes in Gram-negative bloodstream infections [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2022, 77(3):771-781. DOI: 10.1093/jac/dkab449.
- [36] 胡继红, 马筱玲, 王辉, 等. MALDI-TOF MS 在临床微生物鉴定中的标准化操作专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2019, 42(4):241-249. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-8158.2019.04.004.
- [37] Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(6):e1-e94. DOI: 10.1093/cid/ciy381.
- [38] Klouche M, Schröder U. Rapid methods for diagnosis of bloodstream infections [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2008, 46(7):888-908. DOI: 10.1515/CCLM.2008.157.
- [39] Kim JS, Kang GE, Kim HS, et al. Evaluation of verigene blood culture test systems for rapid identification of positive blood cultures [J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016:1081536. DOI: 10.1155/2016/1081536.
- [40] Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections: standard and progress in pathogen diagnostics [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2020, 26(2):142-150. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.11.017.
- [41] Angeletti S. Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical microbiology [J]. *J Microbiol Methods*, 2017, 138:20-29. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.09.003.
- [42] Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2013, 26(3):547-603. DOI: 10.1128/CMR.00072-12.
- [43] Liu CF, Shi XP, Chen Y, et al. Rapid diagnosis of sepsis with TaqMan-based multiplex real-time PCR [J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(2):e22256. DOI: 10.1002/jcla.22256.

- [44] Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(6):341-355. DOI: 10.1038/s41576-019-0113-7.
- [45] Han D, Li Z, Li R, et al. mNGS in clinical microbiology laboratories: on the road to maturity [J]. Crit Rev Microbiol, 2019, 45 (5/6): 668-685. DOI: 10.1080/1040841X.2019.1681933.
- [46] Peters RP, Savelkoul PH, Simoons-Smit AM, et al. Faster identification of pathogens in positive blood cultures by fluorescence *in situ* hybridization in routine practice [J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(1):119-123. DOI: 10.1128/JCM.44.1.119-123.2006.
- [47] Oberhoffer M, Karzai W, Meier-Hellmann A, et al. Ein neuer diagnostischer parameter bei schweren infektionen und sepsis [J]. Anaesthesist, 1998, 47(7):581-587. DOI: 10.1007/s001010050599.
- [48] Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection [J]. Lancet, 1993, 341(8844):515-518. DOI: 10.1016/0140-6736(93)90277-n.
- [49] Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014:547818. DOI: 10.1155/2014/547818.
- [50] Krüger S, Welte T. Biomarkers in community-acquired pneumonia [J]. Expert Rev Respir Med, 2012, 6(2):203-214. DOI: 10.1586/ers.12.6.
- [51] Sack GH, Jr. Serum amyloid A: a review [J/OL]. Mol Med, 2018, 24(1): 46(2018-08-30) [2022-01-30]. <https://doi.org/10.1186/s10020-018-0047-0>.
- [52] Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm [J]. Immunotherapy, 2016, 8(8):959-970. DOI: 10.2217/imt-2016-0020.
- [53] van Houten CB, de Groot J, Klein A, et al. A host-protein based assay to differentiate between bacterial and viral infections in preschool children (OPPORTUNITY): a double-blind, multicentre, validation study[J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(4): 431-440. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30519-9.
- [54] Lachmann G, Reinhart K. The history of biomarkers; how far have we come? [J]. Crit Care Clin, 2020, 36(1):1-10. DOI: 10.1016/j.ccc.2019.08.001.
- [55] Riva G, Castellano S, Nasillo V, et al. Monocyte distribution width (MDW) as novel inflammatory marker with prognostic significance in COVID-19 patients[J/OL]. Sci Rep, 2021, 11(1): 12716(2021-06-16) [2022-01-30]. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92236-6>.
- [56] Crouser ED, Parrillo JE, Martin GS, et al. Monocyte distribution width enhances early sepsis detection in the emergency department beyond SIRS and qSOFA [J]. J Intensive Care, 2020, 8:33. DOI: 10.1186/s40560-020-00446-3.
- [57] Mikulska M, Furfaro E, Viscoli C. Non-cultural methods for the diagnosis of invasive fungal disease [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2015, 13(1):103-117. DOI: 10.1586/14787210.2015.979788.
- [58] Ullmann AJ, Aguado JM, Arıkan-Akdagli S, et al. Diagnosis and management of *Aspergillus* diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline [J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24 Suppl 1:e1-e38. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.01.002.
- [59] Haas MK, Belknap RW. Diagnostic tests for latent tuberculosis infection [J]. Clin Chest Med, 2019, 40(4):829-837. DOI: 10.1016/j.ccm.2019.07.007.
- [60] Wang ZQ, Shi YL, Liu RD, et al. New insights on serodiagnosis of trichinellosis during window period: early diagnostic antigens from *Trichinella spiralis* intestinal worms [J]. Infect Dis Poverty, 2017, 6(1):41. DOI: 10.1186/s40249-017-0252-z.
- [61] Faron ML, Buchan BW, Ledebner NA. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for use with positive blood cultures: methodology, performance, and optimization [J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(12):3328-3338. DOI: 10.1128/JCM.00868-17.
- [62] Benítez-Páez A, Álvarez M, Belda-Ferre P, et al. Detection of transient bacteraemia following dental extractions by 16S rDNA pyrosequencing: a pilot study [J/OL]. PLoS One, 2013, 8(3): e57782(2013-04-04) [2022-01-30]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057782>.
- [63] de Jong E, van Oers JA, Beishuizen A, et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial [J]. Lancet Infect Dis, 2016, 16(7):819-827. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)00053-0.
- [64] Ujeic-Voortman JK, Baan CA, Verhoeff AP, et al. Ethnic differences in systemic inflammation: an investigation of C-reactive protein levels among Moroccan, Turkish and Dutch groups in the Netherlands [J]. Atherosclerosis, 2011, 218(2):511-516. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.051.
- [65] Verdagner V, Walsh TJ, Hope W, et al. Galactomannan antigen detection in the diagnosis of invasive aspergillosis [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2007, 7(1):21-32. DOI: 10.1586/14737159.7.1.21.
- [66] Momčilović S, Cantacessi C, Arsić-Arsenijević V, et al. Rapid diagnosis of parasitic diseases: current scenario and future needs [J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(3):290-309. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.04.028.
- [67] Lebovitz EE, Burbelo PD. Commercial multiplex technologies for the microbiological diagnosis of sepsis [J]. Mol Diagn Ther, 2013, 17(4):221-231. DOI: 10.1007/s40291-013-0037-4.
- [68] Scott LJ. Verigene® Gram-positive blood culture nucleic acid test [J]. Mol Diagn Ther, 2013, 17(2):117-122. DOI: 10.1007/s40291-013-0021-z.
- [69] Cenci E, Paggi R, Socio GV, et al. Accelerate Pheno™ blood culture detection system: a literature review [J]. Future Microbiol, 2020, 15:1595-1605. DOI: 10.2217/fmb-2020-0177.
- [70] Perlin DS, Wiederhold NP. Culture-independent molecular methods for detection of antifungal resistance mechanisms and fungal identification [J]. J Infect Dis, 2017, 216(Suppl 3):S458-S465. DOI: 10.1093/infdis/jix121.
- [71] Dandona P, Nix D, Wilson MF, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects [J]. J Clin Endocrinol

- Metab, 1994, 79 (6): 1605-1608. DOI: 10.1210/jcem.79.6.7989463.
- [72] 中国中西医结合学会检验医学专业委员会. 血清淀粉样蛋白 A 在感染性疾病中临床应用的专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42 (3): 186-192. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2019.03.008.
- [73] Wu F, Hou XQ, Sun RR, et al. The predictive value of joint detection of serum amyloid protein A, PCT, and hs-CRP in the diagnosis and efficacy of neonatal septicemia [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23 (13): 5904-5911. DOI: 10.26355/eurrev\_201907\_18335.
- [74] Pan J, Peng M, Liao C, et al. Relative efficacy and safety of early lactate clearance-guided therapy resuscitation in patients with sepsis: a meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98 (8): e14453. DOI: 10.1097/MD.000000000014453.
- [75] Levi M, Sivapalaratnam S. Disseminated intravascular coagulation: an update on pathogenesis and diagnosis [J]. Expert Rev Hematol, 2018, 11 (8): 663-672. DOI: 10.1080/17474086.2018.1500173.
- [76] Marty FM, Koo S. Role of (1→3)-beta-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis [J]. Med Mycol, 2009, 47 Suppl 1: S233-S240. DOI: 10.1080/13693780802308454.
- [77] Patel R, Vetter EA, Harmsen WS, et al. Optimized pathogen detection with 30- compared to 20-milliliter blood culture draws [J]. J Clin Microbiol, 2011, 49 (12): 4047-4051. DOI: 10.1128/JCM.01314-11.
- [78] Kollef MH. Inadequate antimicrobial treatment: an important determinant of outcome for hospitalized patients [J]. Clin Infect Dis, 2000, 31 Suppl 4: S131-S138. DOI: 10.1086/314079.
- [79] Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Herrera-Melero I, et al. Mortality and morbidity attributable to inadequate empirical antimicrobial therapy in patients admitted to the ICU with sepsis: a matched cohort study [J]. J Antimicrob Chemother, 2008, 61 (2): 436-441. DOI: 10.1093/jac/dkm460.
- [80] Rantala A, Niinikoski J, Lehtonen OP. Yeasts in blood cultures: impact of early therapy [J]. Scand J Infect Dis, 1989, 21 (5): 557-561. DOI: 10.3109/00365548909037885.
- [81] Timsit JF, Bassetti M, Cremer O, et al. Rationalizing antimicrobial therapy in the ICU: a narrative review [J]. Intensive Care Med, 2019, 45 (2): 172-189. DOI: 10.1007/s00134-019-05520-5.
- [82] Bassetti M, Peghin M, Vena A, et al. Treatment of infections due to MDR Gram-negative bacteria [J/OL]. Front Med (Lausanne), 2019, 6: 74 (2019-04-16) [2022-01-30]. https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00074.
- [83] Calandra T, Roberts JA, Antonelli M, et al. Diagnosis and management of invasive candidiasis in the ICU: an updated approach to an old enemy [J]. Crit Care, 2016, 20 (1): 125. DOI: 10.1186/s13054-016-1313-6.
- [84] Bassetti M, Righi E, Montravers P, et al. What has changed in the treatment of invasive candidiasis? A look at the past 10 years and ahead [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73 (Suppl 1): i14-i25. DOI: 10.1093/jac/dkx445.
- [85] Abbas M, Paul M, Huttner A. New and improved? A review of novel antibiotics for Gram-positive bacteria [J]. Clin Microbiol Infect, 2017, 23 (10): 697-703. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.06.010.
- [86] Clinical Laboratory Standards Institute. Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI document M47-A [S]. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2007.
- [87] 国家卫生健康委办公厅. 血管导管相关感染预防与控制指南 (2021 版) [EB/OL]. (2021-10-10) [2022-01-30]. http://www.nhc.gov.cn/zycgj/s7659/202103/dad04cf7992e472d9de1fe6847797e49/files/e2b49e72f2484d7f9d3e8b9c2f6d261c.pdf.
- [88] Falagas ME, Kazantzi MS, Bliotzi IA. Comparison of utility of blood cultures from intravascular catheters and peripheral veins: a systematic review and decision analysis [J]. J Med Microbiol, 2008, 57 (Pt 1): 1-8. DOI: 10.1099/jmm.0.47432-0.
- [89] Bouza E, Loeches B, Muñoz P. Fever of unknown origin in solid organ transplant recipients [J]. Infect Dis Clin North Am, 2007, 21 (4): 1033-1054, ix-x. DOI: 10.1016/j.idc.2007.09.001.
- [90] Blot F, Nitenberg G, Chachaty E, et al. Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures [J]. Lancet, 1999, 354 (9184): 1071-1077. DOI: 10.1016/s0140-6736(98)11134-0.
- [91] 朱德妹, 吴文娟, 胡付品, 等. 细菌真菌耐药监测实用手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2020: 59.
- [92] Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100 [S]. 31st ed. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2021.
- [93] Åkerlund A, Jonasson E, Matuschek E, et al. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories [J]. J Antimicrob Chemother, 2020, 75 (11): 3230-3238. DOI: 10.1093/jac/dkaa333.
- [94] Singh A, Houpt E, Petri WA. Rapid diagnosis of intestinal parasitic protozoa, with a focus on *Entamoeba histolytica* [J]. Interdiscip Perspect Infect Dis, 2009, 2009: 547090. DOI: 10.1155/2009/547090.
- [95] Schuster FL, Ramirez-Avila L. Current world status of *Balantidium coli* [J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21 (4): 626-638. DOI: 10.1128/CMR.00021-08.
- [96] Garber GE. The laboratory diagnosis of *Trichomonas vaginalis* [J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2005, 16 (1): 35-38. DOI: 10.1155/2005/373920.
- [97] Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea* [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2007, 50 (1): 1-26. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2007.00232.x.
- [98] Marciano-Cabral F, Cabral G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans [J]. Clin Microbiol Rev, 2003, 16 (2): 273-307. DOI: 10.1128/CMR.16.2.273-307.2003.
- [99] El-Nahas HA, Salem DA, El-Henawy AA, et al. Giardia diagnostic methods in human fecal samples: a comparative study [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2013, 84 (1): 44-49. DOI: 10.1002/cyto.b.21048.

- [100] Garcia LS. Laboratory identification of the microsporidia [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(6):1892-1901. DOI: 10.1128/JCM.40.6.1892-1901.2002.
- [101] Fouque E, Trouilhé MC, Thomas V, et al. Cellular, biochemical, and molecular changes during encystment of free-living amoebae [J]. Eukaryot Cell, 2012, 11(4):382-387. DOI: 10.1128/EC.05301-11.
- [102] Teimouri A, Mohtasebi S, Kazemirad E, et al. Role of *Toxoplasma gondii* IgG avidity testing in discriminating between acute and chronic toxoplasmosis in pregnancy [J/OL]. J Clin Microbiol, 2020, 58(9):e00505-20 (2020-08-24) [2022-01-30]. <https://doi.org/10.1128/JCM.00505-20>.
- [103] Dunn D, Wallon M, Peyron F, et al. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling [J]. Lancet, 1999, 353(9167):1829-1833. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)08220-8.
- [104] Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis [J]. Lancet, 2004, 363(9425):1965-1976. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16412-X.
- [105] Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in pregnancy [J]. Clin Infect Dis, 1994, 18(6):853-861; quiz 862. DOI: 10.1093/clinids/18.6.853.
- [106] Sensini A, Pascoli S, Marchetti D, et al. IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection: a multicenter study [J]. Clin Microbiol Infect, 1996, 2(1):25-29. DOI: 10.1111/j.1469-0691.1996.tb00196.x.
- [107] Del Bono V, Canessa A, Bruzzi P, et al. Significance of specific immunoglobulin M in the chronological diagnosis of 38 cases of toxoplasmic lymphadenopathy [J]. J Clin Microbiol, 1989, 27(9):2133-2135. DOI: 10.1128/jcm.27.9.2133-2135.1989.
- [108] Bobić B, Sibalić D, Djurković-Djaković O. High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infection. Case report [J]. Gynecol Obstet Invest, 1991, 31(3):182-184. DOI: 10.1159/000293151.
- [109] Weinstein MP. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(6):2275-2278. DOI: 10.1128/JCM.41.6.2275-2278.2003.
- [110] Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, et al. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations [J]. Rev Infect Dis, 1983, 5(1):35-53. DOI: 10.1093/clinids/5.1.35.
- [111] Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults [J]. Clin Infect Dis, 1997, 24(4):584-602. DOI: 10.1093/clind/24.4.584.
- [112] Pien BC, Sundaram P, Raof N, et al. The clinical and prognostic importance of positive blood cultures in adults [J]. Am J Med, 2010, 123(9):819-828. DOI: 10.1016/j.amjmed.2010.03.021.
- [113] Calfee DP, Farr BM. Comparison of four antiseptic preparations for skin in the prevention of contamination of percutaneously drawn blood cultures: a randomized trial [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(5):1660-1665. DOI: 10.1128/JCM.40.5.1660-1665.2002.
- [114] Norberg A, Christopher NC, Ramundo ML, et al. Contamination rates of blood cultures obtained by dedicated phlebotomy vs intravenous catheter [J]. JAMA, 2003, 289(6):726-729. DOI: 10.1001/jama.289.6.726.
- [115] Rubin LG, Sánchez PJ, Siegel J, et al. Evaluation and treatment of neonates with suspected late-onset sepsis: a survey of neonatologists' practices [J]. Pediatrics, 2002, 110(4):e42. DOI: 10.1542/peds.110.4.e42.
- [116] Huang AH, Yan JJ, Wu JJ. Comparison of five days versus seven days of incubation for detection of positive blood cultures by the Bactec 9240 system [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1998, 17(9):637-641. DOI: 10.1007/BF01708346.
- [117] Tokars JI. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance [J]. Clin Infect Dis, 2004, 39(3):333-341. DOI: 10.1086/421941.
- [118] Weinstein MP, Mirrett S, Van Pelt L, et al. Clinical importance of identifying coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures: evaluation of MicroScan Rapid and Dried Overnight Gram-Positive panels versus a conventional reference method [J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(7):2089-2092. DOI: 10.1128/JCM.36.7.2089-2092.1998.
- [119] Reisner BS, Woods GL. Times to detection of bacteria and yeasts in BACTEC 9240 blood culture bottles [J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(6):2024-2026. DOI: 10.1128/JCM.37.6.2024-2026.1999.
- [120] McDonald LC, Fune J, Gaido LB, et al. Clinical importance of increased sensitivity of BacT/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles [J]. J Clin Microbiol, 1996, 34(9):2180-2184. DOI: 10.1128/jcm.34.9.2180-2184.1996.
- [121] Mirrett S, Reller LB, Petti CA, et al. Controlled clinical comparison of BacT/ALERT standard aerobic medium with BACTEC standard aerobic medium for culturing blood [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(6):2391-2394. DOI: 10.1128/JCM.41.6.2391-2394.2003.
- [122] Peacock SJ, Bowler IC, Crook DW. Positive predictive value of blood cultures growing coagulase-negative staphylococci [J]. Lancet, 1995, 346(8968):191-192. DOI: 10.1016/S0140-6736(95)91254-1.
- [123] Tabak YP, Vankeepuram L, Ye G, et al. Blood culture turnaround time in U.S. acute care hospitals and implications for laboratory process optimization [J/OL]. J Clin Microbiol, 2018, 56(12):e00500-18 (2018-11-27) [2022-01-30]. <https://doi.org/10.1128/JCM.00500-18>.
- [124] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 503—2017 中华人民共和国卫生行业标准:临床微生物实验室血培养操作规范 [S/OL]. (2017-09-06) [2022-01-30]. <http://www.nhc.gov.cn/ewebeditor/uploadfile/2017/10/20171024163700956.pdf>.
- [125] Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures [J]. Am J Clin Pathol, 2008, 130(6):870-876. DOI: 10.1309/AJCPVM DQU2ZJDPBL.
- [126] Huang AM, Newton D, Kunapuli A, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia

- [J]. Clin Infect Dis, 2013, 57(9):1237-1245. DOI: 10.1093/cid/cit498.
- [127] Hogan CA, Watz N, Budvytiene I, et al. Rapid antimicrobial susceptibility testing by VITEK® 2 directly from blood cultures in patients with Gram-negative rod bacteremia[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2019, 94(2):116-121. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.01.001.
- [128] Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia[J]. J Infect, 2014, 69(3):216-225. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.05.005.
- [129] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02:2012《医学实验室质量和能力认可准则》(2019-2-20 第二次修订)[EB/OL]. (2019-02-25)[2022-01-30]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/jbzz/2019/02/895562.shtml>.
- [130] 上海市医学会分子诊断专科分会, 上海市医学会检验医学专科分会, 上海市微生物学会临床微生物专业委员会, 等. 病原体核酸即时检测质量管理要求专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(11):1021-1028. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20210712-00428.
- [131] 韩东升, 马筱玲, 吴文娟. 病原体宏基因组高通量测序医院实验室本地化之路:现状和挑战[J]. 中华检验医学杂志, 2022, 45(2):100-104. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20211009-00619.
- [132] Stratton CW, Schutzbank TE, Tang YW. Use of metagenomic next-generation sequencing in the clinical microbiology laboratory: a step forward, but not an end-all[J]. J Mol Diagn, 2021, 23(11):1415-1421. DOI: 10.1016/j.jmol dx.2021.09.003.
- [133] Yan G, Liu J, Chen W, et al. Metagenomic next-generation sequencing of bloodstream microbial cell-free nucleic acid in children with suspected sepsis in pediatric intensive care unit[J/OL]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11:665226(2021-08-24)[2022-01-30]. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2021.665226>.
- [134] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(11):681-689. DOI:10.3760/cma.j.cn11365-20200731-00732.
- [135] Miao Q, Ma Y, Wang Q, et al. Microbiological diagnostic performance of metagenomic next-generation sequencing when applied to clinical practice[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(Suppl 2):S231-S240. DOI: 10.1093/cid/ciy693.
- [136] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(2):107-120. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20201026-00794.
- [137] Salter SJ, Cox MJ, Turek EM, et al. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses[J/OL]. BMC Biol, 2014, 12:87(2014-11-12)[2022-01-30]. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0087-z>.
- [138] Gosiewski T, Ludwig-Galezowska AH, Huminska K, et al. Comprehensive detection and identification of bacterial DNA in the blood of patients with sepsis and healthy volunteers using next-generation sequencing method: the observation of DNAemia[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36(2):329-336. DOI: 10.1007/s10096-016-2805-7.
- [139] Emerson JB, Adams RI, Román C, et al. Schrödinger's microbes: tools for distinguishing the living from the dead in microbial ecosystems[J]. Microbiome, 2017, 5(1):86. DOI: 10.1186/s40168-017-0285-3.
- [140] Langelier C, Kalantar KL, Moazed F, et al. Integrating host response and unbiased microbe detection for lower respiratory tract infection diagnosis in critically ill adults[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(52):E12353-E12362. DOI: 10.1073/pnas.1809700115.
- [141] Mo X, Wang X, Zhu Z, et al. Quality management for point-of-care testing of pathogen nucleic acids: Chinese expert consensus[J/OL]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11:755508(2021-10-13)[2022-01-30]. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.755508>.
- [142] van Belkum A, Dunne WM, Jr. Next-generation antimicrobial susceptibility testing[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(7):2018-2024. DOI: 10.1128/JCM.00313-13.
- [143] Arena F, Giani T, Pollini S, et al. Molecular antibiogram in diagnostic clinical microbiology: advantages and challenges[J]. Future Microbiol, 2017, 12:361-364. DOI: 10.2217/fmb-2017-0019.
- [144] van Belkum A, Burnham CD, Rossen J, et al. Innovative and rapid antimicrobial susceptibility testing systems[J]. Nat Rev Microbiol, 2020, 18(5):299-311. DOI: 10.1038/s41579-020-0327-x.
- [145] Schoepp NG, Schlappi TS, Curtis MS, et al. Rapid pathogen-specific phenotypic antibiotic susceptibility testing using digital LAMP quantification in clinical samples[J/OL]. Sci Transl Med, 2017, 9(410):eaal3693(2017-10-04)[2022-01-30]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aal3693>.
- [146] Athamanolap P, Hsieh K, Chen L, et al. Integrated bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing using PCR and high-resolution melt[J]. Anal Chem, 2017, 89(21):11529-11536. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02809.
- [147] Bauer KA, West JE, Balada-Llasat JM, et al. An antimicrobial stewardship program's impact with rapid polymerase chain reaction methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*/S. aureus blood culture test in patients with S. aureus bacteremia[J]. Clin Infect Dis, 2010, 51(9):1074-1080. DOI: 10.1086/656623.
- [148] Jacqmin H, Schuermans A, Desmet S, et al. Performance of three generations of Xpert MRSA in routine practice: approaching the aim? [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36(8):1363-1365. DOI: 10.1007/s10096-017-2939-2.
- [149] Holzkecht BJ, Hansen DS, Nielsen L, et al. Screening for vancomycin-resistant enterococci with Xpert® *vanA/vanB*: diagnostic accuracy and impact on infection control decision making[J]. New Microbes New Infect, 2017, 16:54-59. DOI: 10.1016/j.nmni.2016.12.020.
- [150] Cortegiani A, Russotto V, Graziano G, et al. Use of Cepheid Xpert Carba-R® for rapid detection of carbapenemase-producing bacteria in abdominal septic patients admitted to intensive care unit[J/OL]. PLoS One, 2016, 11(8):e0160643(2016-08-04)[2022-01-30]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160643>.
- [151] MacVane SH, Nolte FS. Benefits of adding a rapid PCR-based blood culture identification panel to an established antimicrobial stewardship program[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(10):2455-2463. DOI: 10.1128/JCM.00996-16.

- [152] Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, et al. Biomarkers of sepsis; time for a reappraisal [J]. *Crit Care*, 2020, 24(1):287. DOI: 10.1186/s13054-020-02993-5.
- [153] Karzai W, Oberhoffer M, Meier-Hellmann A, et al. Procalcitonin: a new indicator of the systemic response to severe infections[J]. *Infection*, 1997, 25(6):329-334. DOI: 10.1007/BF01740811.
- [154] Saffiotti C, Mesini A, Bandettini R, et al. Diagnosis of invasive fungal disease in children: a narrative review [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2019, 17(11):895-909. DOI: 10.1080/14787210.2019.1690455.
- [155] Parlato M, Philippart F, Rouquette A, et al. Circulating biomarkers may be unable to detect infection at the early phase of sepsis in ICU patients: the CAPTAIN prospective multicenter cohort study[J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44(7):1061-1070. DOI: 10.1007/s00134-018-5228-3.
- [156] Crouser ED, Parrillo JE, Seymour C, et al. Improved early detection of sepsis in the ED with a novel monocyte distribution width biomarker[J]. *Chest*, 2017, 152(3):518-526. DOI: 10.1016/j.chest.2017.05.039.
- [157] van Engelen T, Wiersinga WJ, Scicluna BP, et al. Biomarkers in sepsis[J]. *Crit Care Clin*, 2018, 34(1):139-152. DOI: 10.1016/j.ccc.2017.08.010.
- [158] Nobre V, Harbarth S, Graf JD, et al. Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients: a randomized trial[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177(5):498-505. DOI: 10.1164/rccm.200708-1238OC.
- [159] Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2010, 375(9713):463-474. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61879-1.
- [160] Ferrer R, Martin-Loeches I, Phillips G, et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program[J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(8):1749-1755. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000330.
- [161] Wirz Y, Meier MA, Bouadma L, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on clinical outcomes in intensive care unit patients with infection and sepsis patients: a patient-level meta-analysis of randomized trials[J]. *Crit Care*, 2018, 22(1):191. DOI: 10.1186/s13054-018-2125-7.
- [162] Lam SW, Bauer SR, Fowler R, et al. Systematic review and meta-analysis of procalcitonin-guidance versus usual care for antimicrobial management in critically ill patients: focus on subgroups based on antibiotic initiation, cessation, or mixed strategies[J]. *Crit Care Med*, 2018, 46(5):684-690. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002953.
- [163] Schuetz P, Beishuizen A, Broyles M, et al. Procalcitonin (PCT)-guided antibiotic stewardship: an international experts consensus on optimized clinical use[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2019, 57(9):1308-1318. DOI: 10.1515/cclm-2018-1181.
- [164] Chambliss AB, Hayden J, Colby JM. Evaluation of procalcitonin immunoassay concordance near clinical decision points[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2019, 57(9):1414-1421. DOI: 10.1515/cclm-2018-1362.
- [165] Lippi G, Salvagno GL, Gelati M, et al. Two-center comparison of 10 fully-automated commercial procalcitonin (PCT) immunoassays [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2019, 58(1):77-84. DOI: 10.1515/cclm-2019-0888.
- [166] Eidizadeh A, Asif AR, von Ahsen N, et al. Differences in procalcitonin measurements between three BRAHMS-partnered immunoassays (Liaison, Elecsys and Architect) [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2019, 57(9):e207-e210. DOI: 10.1515/cclm-2018-0916.
- [167] Rulander NJ, Cardamone D, Senior M, et al. Interference from anti-streptavidin antibody[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2013, 137(8):1141-1146. DOI: 10.5858/arpa.2012-0270-CR.
- [168] Gessl A, Bluemel S, Bieglmayer C, et al. Anti-ruthenium antibodies mimic macro-TSH in electrochemiluminescent immunoassay[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2014, 52(11):1589-1594. DOI: 10.1515/cclm-2014-0067.
- [169] Korta P, Pocheć E. Glycosylation of thyroid-stimulating hormone receptor[J]. *Endokrynol Pol*, 2019, 70(1):86-100. DOI: 10.5603/EP.a2018.0077.
- [170] Vesper HW, Myers GL, Miller WG. Current practices and challenges in the standardization and harmonization of clinical laboratory tests[J]. *Am J Clin Nutr*, 2016, 104(Suppl 3):907S-912S. DOI: 10.3945/ajcn.115.110387.
- [171] 朱美英, 曹鄂洪. 降钙素原的检测和应用——《感染相关生物标志物临床意义解读专家共识》解读[J]. *上海医药*, 2018, 39(1):14-18.
- [172] Huynh HH, Bœuf A, Pfannkuche J, et al. Harmonization status of procalcitonin measurements: what do comparison studies and EQA schemes tell us? [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2021, 59(10):1610-1622. DOI: 10.1515/cclm-2021-0566.
- [173] Dipalo M, Gnocchi C, Avanzini P, et al. Comparison of procalcitonin assays on KRYPTOR and LIAISON® XL analyzers [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2019, 9(3):94. DOI: 10.3390/diagnostics9030094.
- [174] Dupuy AM, Bargnoux AS, Larcher R, et al. Bioanalytical performance of a new particle-enhanced method for measuring procalcitonin[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2020, 10(7):461. DOI: 10.3390/diagnostics10070461.
- [175] Huynh HH, Bœuf A, Vinh J, et al. Evaluation of the necessity and the feasibility of the standardization of procalcitonin measurements: activities of IFCC WG-PCT with involvement of all stakeholders[J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 515:111-121. DOI: 10.1016/j.cca.2021.01.004.
- [176] Clerc O, Prod'hom G, Vogne C, et al. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with Gram-negative bacteremia: a prospective observational study[J]. *Clin Infect Dis*, 2013, 56(8):1101-1107. DOI: 10.1093/cid/cis1204.
- [177] Ray ST, Drew RJ, Hardiman F, et al. Rapid identification of microorganisms by FilmArray blood culture identification panel improves clinical management in children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2016, 35(5):e134-e138. DOI: 10.1097/INF.0000000000001065.

(收稿日期:2022-01-30)

(本文编辑:沈敏敏)