

# Effect of Preincubation of Blood Culture Bottles in a BacT/Alert Unit Outside Laboratory Operating Hours on Detection Time

Jeong-Sook Kim<sup>1</sup>, Hanvit Seok<sup>2</sup>, Sunjoo Kim<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Nursing, Jinju Health College, Jinju,

<sup>2</sup>Medical Safety Division, Busan Regional Ministry of Food and Drug Safety, Busan,

<sup>3</sup>Department of Laboratory Medicine, Gyeongsang National University School of Medicine, Gyeongsang Health Science Institute, Jinju, Korea

**Background:** The pre-storage condition of blood culture bottles prior to entering the automated blood culture system may affect the time to detection (TTD) of microorganisms and the final report days.

**Methods:** We compared the TTD and final report days according to the pre-incubation conditions after laboratory operating hours: room temperature (RT) vs. a BacT/Alert unit (BioMerieux Inc.) for 3 months respectively. All bottles were inserted into the main BacT/Alert system the next morning.

**Results:** TTD was significantly reduced by pre-incubating bottles in a BacT/Alert unit (median, 8.4 h) compared to pre-storage at RT (median, 12.4 h) ( $P < 0.001$ ). The final report of bacterial identification and drug susceptibility within 2 days was available for 24.4% of bottles pre-incubated in a BacT/Alert unit

compared to 14.9% of those incubated at RT. The false positive results were significantly higher for pre-incubation in a BacT/Alert unit (0.81%) than for that (0.29%) at RT ( $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** If a clinical microbiology laboratory is not operational for 24 hours, an automated blood culture unit might be a good alternative to reduce TTD and allow the submission of a faster final report compared to pre-storage at RT. However, false positive readings increased more than two-fold by pre-incubation in a BacT/Alert unit. (*Ann Clin Microbiol* 2014;17:105-109)

**Key Words:** Blood culture, Delayed entry, Detection time, False positive, Preincubation

## INTRODUCTION

혈액배양은 패혈증을 진단하는 데 매우 중요한 검사법이다. 정확한 혈액배양을 위해 올바른 피부소독과 충분한 양이 채혈되어야 하며, 검체 운반, 보관 및 장비 투입 등 전 과정이 신속히 이루어져야 한다. 병원에서 미생물검사가 24시간 운영되는 것은 매우 어려우며, 야간에는 미생물검사를 운영하지 않는 기관이 대부분이다. 이 경우 혈액배양 병의 보관이 문제가 되는데, 이를 실온에 보관하지 않으면 37°C에 보관할지 결정을 해야 한다. 실온에 보관할 경우 위음성이 적을 수 있지만 균 검출이 늦어지는 단점이 있다. 37°C에 보관할 경우 균검출시간은 단축될 수 있지만 *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* 등 절대호기성 세균이 이미 증식한 경우 장비에 투입하여도 양성을 보이지 않는 경우

가 드물게 발생할 수 있다[1]. 37°C 보관 조건을 배양기에 넣는 경우와 혈액배양 장비를 배양기 대신 사용하는 경우로 구분할 수 있다. 미생물검사가 응급검사와 거리가 멀어 떨어져 있는 경우를 고려하여, 저자들은 혈액배양 병을 37°C 배양기와 실온에 보관한 조건에 대해서 그 결과를 보고한 바 있다[2]. 본 연구에서는 37°C 배양기 대신 혈액배양 장비 한 유닛에 보관한 경우와 실온에 보관한 경우를 비교하였다. 이는 응급검사에서 혈액배양검사를 24시간 수행하기 어려운 경우, 한 유닛의 혈액배양 장비를 응급검사에 설치하여 정규근무 이후 시간에 운영하고, 그 다음날 미생물검사에 있는 혈액배양 주 장비로 옮기는 업무 흐름을 감안하여 연구를 고안하였다.

Received 2 March, 2013, Revised 21 April, 2014, Accepted 12 June, 2014

Correspondence: Sunjoo Kim, Department of Laboratory Medicine, Gyeongsang National University School of Medicine, 79, Gangnam-ro, Jinju 660-702, Korea. (Tel) 82-55-750-8239, (Fax) 82-55-762-2696, (E-mail) sjkim8239@hanmail.net

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## MATERIALS AND METHODS

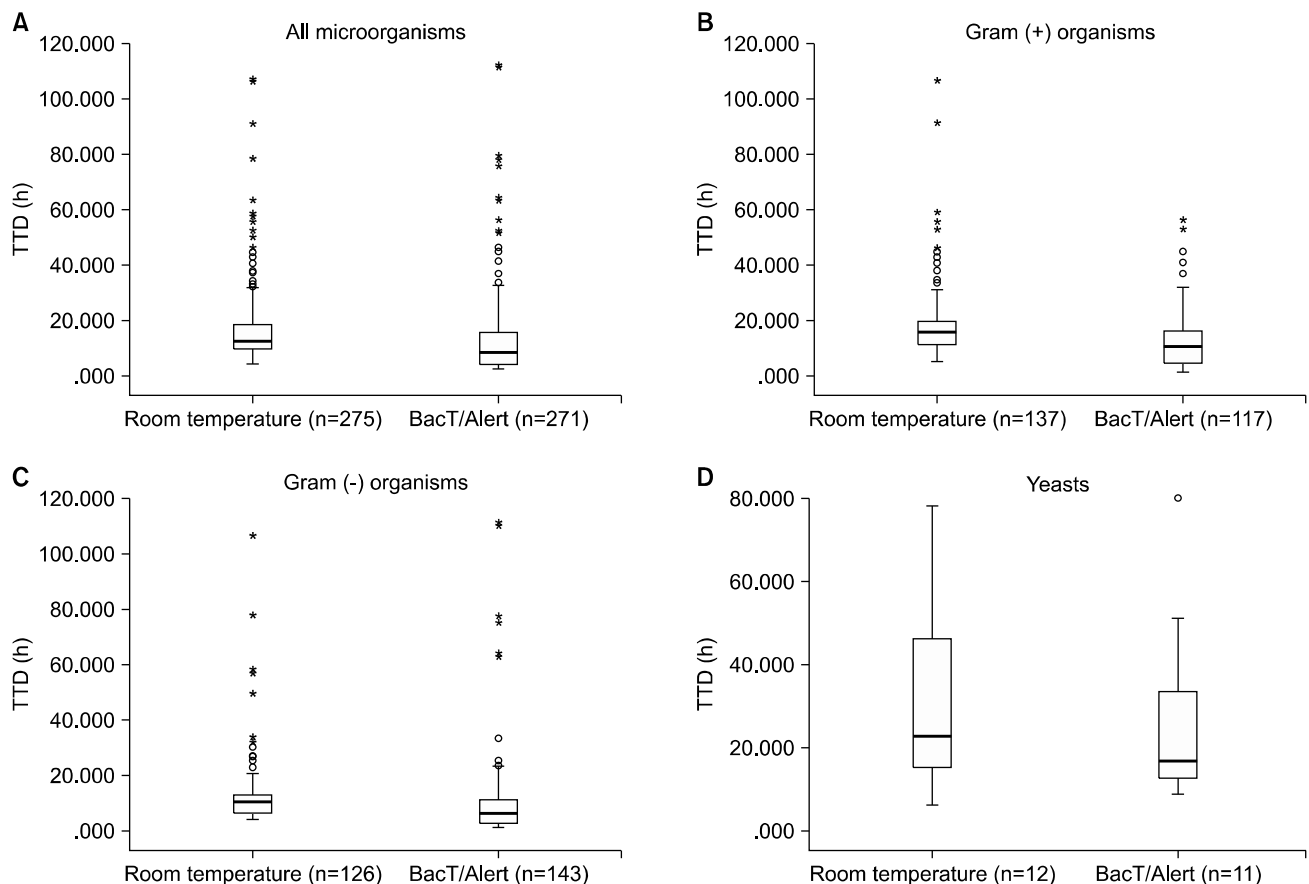
### 1. 혈액배양

이 연구는 경상대학교병원에서 혈액배양이 의뢰된 성인(18세 이상)을 대상으로 분석하였으며, 혈액배양은 일반적인 방법으로 수행하였다. 채혈량은 1회에 20 mL를 채취하도록 권고하였지만, 채혈량을 측정하지는 않았다. 통상 발열이 있어 균혈증이 의심되는 경우 연이어 2회 채혈을 기본으로 하였고, 채혈한 혈액은 차콜이나 레진이 들어 있지 않은 표준배지(standard aerobic, standard anaerobic)에 동량 나누어 담았다. 배양병은 정균근무시간에는 2층의 미생물검사실로 직접 운송하였고, 오후 6시부터 다음날 9시까지는 1층의 응급검사실로 운송하였다. 3개월씩 두 기간으로 나누어 배양병의 보관 조건을 달리했는데, 처음 3개월은 실온에 보관하였고, 나중 3개월은 BacT/Alert (bioMerieux Inc., Durham, NC, USA) 한 유닛을 응급검사실에 두고 당직자들이 혈액배양 병을 틈날 때 마다 이 유닛에 투입하였다. 이 유닛에는 총 240개까지 혈액배양 병 장착이 가능하다. 다음날 주 장비로 옮기기 때문에, 유닛을 컴퓨터에 인터페

이스 연결은 하지 않았다. 유닛은 37°C가 유지되고 연속적으로 부드럽게 흔들려 주는 기능이 있다. 두 기간 사이에는 약 6개월의 간격이 있다. 다음날 아침 9시경 혈액배양병을 모두 2층 미생물검사실로 옮겨 BacT/Alert 주 장비에 투입하였다. 주 장비 투입부터 군이 검출되기까지의 시간(time to detection, TTD)과 최종보고일자를 측정하였다. 군이 검출되면 그람염색과 한천배지에 계대배양을 시행한 후 다음날 배양된 집락으로 Vitek-2 시스템(bioMerieux Inc.)을 이용하여 동정 보고하였다. 혐기성 배양은 그람염색에서 군이 보이는데, 호기성 배양에서 군이 자라지 않는 경우에만 시행하였다. 만약 장비에서 양성으로 표시되었지만 그람염색에서 군이 보이지 않고 혈액한천배지, MacConkey배지, 초콜렛배지, 액체증균배지, 혐기성 배양 등에서도 군이 자라지 않는 경우 장비위양성으로 판단하였다.

### 2. 통계분석

정균근무시간 이후에 도착한 혈액배양 병의 실온 보관과 장비 보관 사이의 균검출시간(TTD) 차이는 Mann-Whitney U 시험을 통해 비교하였다. 장비투입부터 최종 보고까지 걸리는 일



**Fig. 1.** Comparison of time to detection (TTD) of (A) all microorganisms, (B) Gram (+) organisms, (C) Gram (-) organisms, and (D) yeasts according to prestorage of blood culture bottles at room temperature and in a BacT/Alert unit outside laboratory operating hours.  $P < 0.001$  in (A), (B), and (C) by Mann-Whitney U test.

자 및 장비위양성률 차이는  $\chi^2$  검정(SPSS version 20, Chicago, IL, USA)으로 비교하였고, 통계적 유의성은  $P$ 값이 0.05 미만인 경우로 판단하였다.

## RESULTS

### 1. 균검출시간(TTD) 비교

균검출시간 분포는 Fig. 1에 표시하였다. 혈액배양 병을 주 장비에 투입하기 전 실온에 보관한 경우와 BacT/Alert 유닛에 보관하는 경우 균검출시간 중앙값은 각각 12.4시간과 8.4시간으로 유의한 차이가 났다( $P<0.001$ ). 그람양성균 및 그람음성균은 실온에 보관하는 경우 균검출시간 중앙값이 각각 15.9시간 및 10.4시간인데 비해서, BacT/Alert 유닛에 보관한 경우 각각 10.3시간 및 6.4시간으로 유의한 차이를 보였다( $P<0.001$ ). 진균은 분리 숫자가 적어서, 통계적으로 유의한 차이는 없었다(23.2시간 vs. 17.1시간).

### 2. 최종보고일자

주 장비에 병을 투입한 시점부터 균주 동정 및 항균제 감수성 결과 보고까지 걸리는 일자를 Fig. 2에 표시하였다. 접수 후 2일 이내에 보고되는 것은 실온 보관 시 14.9%, 장비 유닛 보관 시 24.4%로 차이가 있었지만, 전체적으로 최종보고일자는 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다( $P=0.052$ ).

### 3. 장비위양성

장비에서는 양성으로 표시되었지만 균이 증식되지 않은 장비위양성의 경우 혈액배양 병을 실온에 보관한 시기에는 0.29% (19/6,544)였지만, 장비 유닛에 보관한 시기에는 0.81% (59/7,253)으로 약 2.8배 장비위양성이 증가하였다( $P<0.001$ ).

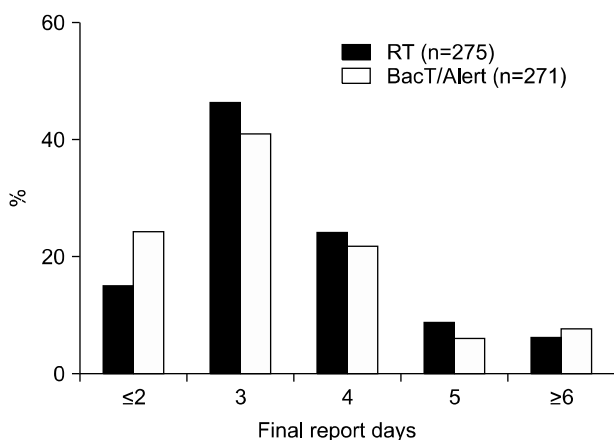


Fig. 2. Final report days of blood culture from bottle entry preincubated at room temperature (RT) or in a BacT/Alert unit outside laboratory operating hours.  $P=0.052$  by  $\chi^2$  test.

## DISCUSSION

혈액배양 병은 가능하면 채혈 후 2시간 이내에 장비에 장착하는 것이 가장 바람직하다[3]. 그러나 정규근무시간 이후에는 인력 운영이 취약하거나, 여러 개의 건물이 있는 경우 직접 장비에 투입하지 못하는 경우가 발생한다. 특히 직접 미생물검사실을 운영하지 않는 중소병원은 검체를 멀리 외부로 의뢰하게 되는데 이 때는 장비에 투입하기까지 하루 이상 소요될 수도 있다. 저자들은 혈액배양 병을 실온에 보관한 경우와 37°C 배양기에 보관한 경우에 대한 자료를 보고한 바 있다[2]. 저자들이 보고한 자료를 보면 37°C 배양기에 보관 시 균검출시간이 10.6시간으로 실온에 보관한 경우의 11.3시간보다 약 1시간 정도 감소하였다. 하지만 본 연구에서 장비 유닛에 보관할 경우 실온에 보관한 것보다 약 균검출시간이 4-5시간 더 짧아서, 37°C 배양기 보관 시의 결과보다 차이가 더 나는 것을 확인할 수 있었다. 이는 장비가 배양기 기능으로서 온도 유지가 훨씬 안정적이며, 혼합해 주는 기능이 있기 때문으로 판단할 수 있다. 하지만 앞선 연구에서 최종보고일자가 2일 이내인 비율이 실온 보관이 15.1%로서 본 연구의 14.9%와 거의 일치하였지만, 37°C 배양기 보관 시 30.6%로서 본 연구의 24.4%보다 약간 높은 결과를 보였다. 이는 연구기간에 따라 혼한 분리 균주 등이 다르기 때문으로 판단된다. 다른 임상 연구에서도 근무시간 이후 도착한 혈액배양을 37°C에 보관한 경우 실온 보관한 기간에 비해 그람염색 보고시간이 15시간 감소하였고, 적합한 항균제 사용에도 도움이 되었다고 보고하였다[4]. Kerremans 등[5]은 응급검사실 외부에 혈액배양 장비 한 유닛을 두고 여기에 혈액배양 병을 검체 운반자가 직접 넣게 한 후, 장비를 on/off하여 그 결과를 비교하였는데 균검출시간과 항생제 변경 시간에 유의한 차이가 있었다. 즉, 장비를 켜 놓은 실험군에서는 장비를 꺼놓은 상태의 대조군과 비교하였을 때 검체 채취부터 균검출시간까지 약 10시간 단축하였다.

하지만 야간에 검체를 37°C 배양기에 보관했음에도 불구하고, 채혈시간부터 균검출시간까지를 비교했을 때 채혈 당일 장비에 투입하면 28.3시간, 그 이후 장비에 투입하면 45.0시간으로 큰 차이를 보인다는 보고가 있었다[6]. 채혈시간이던 장비투입시간이던 관찰 시작 시점이 동일하므로, 이들의 결과는 앞에서 기술한 연구와는 매우 다르다고 할 수 있다. 정규근무시간에 접수된 검체와 그 이후 접수되어 실온에 보관된 검체의 균검출시간 비교에서 그람양성간균을 제외한 세균에서 약 4.4시간밖에 차이가 나지 않아, 실온에 보관한 경우에도 느리지만 지속적으로 균의 성장이 일어난다는 보고가 있다[7].

저자들은 실험실적으로 실온과 37°C에서 보관 시간에 따라 균의 검출시간이 어떻게 달라지는지에 대해서 보고한 바 있다. 즉시 장비 투입에 비해 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *P. aeruginosa* (균농도 15 colony-forming units, CFU/mL)의

균검출시간은 실온 보관시 4-12시간 지나면 유의하게 감소하였고, 37°C에 보관하는 경우 세 가지 균 모두 4시간이 경과하면 유의한 감소를 보였다[8]. 소아혈액배양병을 이용한 지연 장비투입 실험에서 group B streptococci와 *E. coli* (균농도 10 CFU/mL)는 실온 보관 시 30분 후 투입에 비해 8.5시간이 지나면 유의하게 균검출시간이 감소하였지만, *Staphylococcus epidermidis*는 오히려 증가하는 결과를 보였다[9]. 본 연구에서는 연구 기간이 짧고 군수가 적어 군주별로 검출시간을 비교하지는 못하였다.

본 연구에서 특이한 점은 장비 유닛 보관 군에서는 장비위양성률이 약 2.8배 높았다는 점이다. 이들 병에 대해서는 일반적으로 시행하는 한천배지 배양 이외에도 액체증균배양, 혐기성 배양을 모두 시도했지만 양성으로 자라는 것은 없었고, 2-3주 배양 후 그람염색에서도 균을 확인할 수 없어 장비위양성으로 최종 판단하였다. BacT/Alert 장비는 균 검출 원리가 병 바닥의 발색제의 색깔 변화인데, 아마도 장비 유닛에 보관한 후 꺼내어 잠시 실온에 방치한 후 주 장비로 투입하는 경우 발색제 색깔 변화에 영향을 미치는 것으로 판단하였다. 혹은 균 검출 그래프가 이미 어느 정도 진행된 상태에서 주 장비에서 새로 시작하는 것이 균 검출 그래프 로직에 영향을 주었다고 볼 수 있다. 장비 위양성으로 인해 혈액배양 검사에 큰 지장을 초래할 정도는 아니었지만, 약 0.3%에서 0.8%로 2배 이상 증가하였다. 본 연구와 가장 비슷한 형태의 Kerremans 등[5]의 보고에서는 장비위양성에 대해서는 언급하지 않았다.

연구 기간이 다를 경우 계절적 요인 등에 의해 혼한 분리 균종이 다를 수 있고, 병원 시스템상 혈액배양 오염률이 다를 수 있으며, 검사실 근무자에 따라서도 결과에 영향을 받을 수 있다. 바람직하게는 동일 기간에 동일 검체로 서로 다른 보관 조건에 두고 비교하는 것이지만, 이 경우 채혈량이 2배로 늘어나는 등 실제로는 시행하기 어려운 점이 있다.

결론적으로 미생물검사실을 24시간 운용하지 않거나 혈액배양 주장비가 응급검사실에 없는 검사실에서는 혈액배양 장비 한 유닛을 응급검사실에 두고 정규근무시간 이후에 검체를 유닛에 넣은 후, 다음 날 주 장비에 옮기면 균검출시간과 최종보

고일을 단축할 수 있다. 하지만 약간의 장비위양성이 올라가는 것을 감수해야 한다.

## REFERENCES

1. Seegmüller I, Eschenbach U, Kamereck K, Miethke T. Sensitivity of the BacT/ALERT FA-medium for detection of *Pseudomonas aeruginosa* in pre-incubated blood cultures and its temperature-dependence. J Med Microbiol 2004;53:869-74.
2. Koh EH, Lee DH, Kim S. Effects of preincubating blood culture bottles at 37°C during the night shift and of collected blood volume on time to detection and days to final report. Ann Clin Microbiol 2014;17:14-9.
3. CLSI. Principles and procedures for blood cultures; approved guideline. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
4. van der Velden LB, Vos FJ, Mouton JW, Sturm PD. Clinical impact of preincubation of blood cultures at 37°C. J Clin Microbiol 2011;49:275-80.
5. Kerremans JJ, van der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. J Clin Microbiol 2009;47:3520-3.
6. Saito T, Iinuma Y, Takakura S, Nagao M, Matsushima A, Shirano M, et al. Delayed insertion of blood culture bottles into automated continuously monitoring blood culture systems increases the time from blood sample collection to the detection of microorganisms in bacteremic patients. J Infect Chemother 2009;15:49-53.
7. Janapatla RP, Yan JJ, Chien ML, Chen HM, Wu HM, Wu JJ. Effect of overnight storage of blood culture bottles on bacterial detection time in the BACTEC 9240 blood culture system. J Microbiol Immunol Infect 2010;43:126-32.
8. Lee DH, Koh EH, Choi SR, Kim S. Growth dynamics of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* as a function of time to detection in BacT/alert 3D blood culture bottles with various preincubation conditions. Ann Lab Med 2013;33:406-9.
9. Jardine LA, Sturgess BR, Inglis GD, Davies MW. Neonatal blood cultures: effect of delayed entry into the blood culture machine and bacterial concentration on the time to positive growth in a simulated model. J Paediatr Child Health 2009;45:210-4.

=국문초록=

## 정규근무 시간 이후 자동화장비 투입 전 혈액배양 병의 보관조건이 균검출시간에 미치는 영향

<sup>1</sup>진주보건대학교 간호학과, <sup>2</sup>부산지방식품의약품안전청 의료제품안전과,  
<sup>3</sup>경상대학교 의학전문대학원 진단검사의학교실, 건강과학연구원

김정숙<sup>1</sup>, 석한빛<sup>2</sup>, 김선주<sup>3</sup>

**배경:** 혈액배양에서 균검출시간과 최종보고일은 자동화장비에 혈액배양 병을 투입하기 전 보관 조건에 따라 영향을 받을 수 있다.

**방법:** 정규근무시간 이후 검사실에 도착한 혈액배양 병을 실온과 BacT/Alert (bioMerieux Inc.) 한 유닛에 보관한 후 다음 날 아침에 주 장비에 투입하였다. 연구 기간은 각각 3개월이었고, 장비의 균검출시간과 최종보고일을 비교하였다.

**결과:** 균검출시간 중앙값은 장비 유닛 보관이 8.4시간으로 실온 보관의 12.4시간에 비해 유의하게 감소하였다( $P<0.001$ ). 최종 동정 및 감수성 결과 보고가 2일 이내에 이루어진 것은 장비 유닛 보관이 30.6%, 실온 보관이 15.6%로 차이가 있었지만, 최종보고일의 통계적 유의성은 없었다( $P=0.052$ ). 장비위양성률은 장비 유닛 보관이 0.81%로서, 실온 보관 0.29%에 비해 유의하게 높았다( $P<0.001$ ).

**결론:** 미생물검사실이 24시간 운용되지 않는 경우 자동혈액배양기 유닛을 응급검사실에 두고 사용하면 혈액배양 병을 실온에 보관할 때보다 균검출시간과 최종보고일을 단축시킬 수 있다. 하지만 이 경우 장비위양성이 늘어날 수 있다.

[Ann Clin Microbiol 2014;17:105-109]

교신저자 : 김선주, 660-702, 경남 진주시 강남로 79  
경상대학교 의과대학 진단검사의학교실  
Tel: 055-750-8239, Fax: 055-762-2696  
E-mail: sjkim8239@hanmail.net