

# 血清殺菌濃度與菌血症預後相關性研究

王永衛

台北榮民總醫院感染管制委員會

雖然近十年來出現許多新的抗生素，菌血症之死亡率卻仍居高不下，甚至較以前尚未有抗生素時期一樣，究其原因，主要是與病患本身潛在性疾病，先進但複雜的侵入性技術，細菌的抗藥性及診斷的早晚有關。但使用適當的抗生素，仍然是治療菌血症成功與失敗攸關因素。如何判斷抗生素在體內的適切，血清殺菌試驗 (serum bactericidal test) 爲一簡單而且客觀的方法。本研究共收集 43 例菌血症病例，測試最高與最低藥物濃度血清殺菌試驗 (peak and trough serum bactericidal test) 結論是最高藥物濃度血清殺菌試驗在 1:4 以上與病患的存活有統計意義 ( $p < 0.05$ )。殺菌濃度抑菌濃度比 ((minimal bactericidal concentration/minimal inhibitory concentration)) 無論是最高最低藥物濃度，均不得大於 4 倍，否則即表示致病菌有耐受性。死亡率有統計意義 ( $p < 0.05$ )。(院內感染控制通訊第四卷 47-51 頁)

## 前 言

菌血症 (bacteremia) 是指血液中有細菌但沒有臨床症狀 [1]，而敗毒症或敗血症 (sepsis, septicemia) 意指細菌本身及細菌所分泌的內毒素、外毒素，進入血液循環，引發一連串全身性炎症反應 [2] 及血流動力變化。多年來一直是內科急症之一，死亡率及後遺症一直居高不下。治療菌血症，有賴正確的診斷，迅速的治療，以及有效的抗生素。菌血症的病原菌對各種抗生素的藥物敏感試驗，最便捷的莫如紙錠擴散試驗 [3]，它簡單而且經濟，但是紙錠擴散試驗，僅能提供定性資料 (有效或無效)，其間受測試者主觀判讀，生長環境差異，接種菌液濃度 (標準 5

$\times 10^5$  cfu/ml)，生長遲緩或挑剔性病原菌等因素，往往造成結果差異性大。要進一步偵測某種病原菌對多少劑量 (濃度) 的抗生素有效時，就必須使用稀釋試驗法。菌血症、心內膜炎、腦膜炎、骨髓炎等嚴重感染時，更必須定量抗生素感受性劑量，以做為治療參考。

常用的稀釋試驗法有肉湯稀釋法、微量稀釋法以及瓊脂稀釋法，三者各有優缺點 [3, 4] 但皆耗費人力、時間，較不符合經濟。血清殺菌試驗 (serum bactericidal test, SBT)，是直接測定病人血清中抗生素殺菌能力的方法，自 1949 年 Schlichter 首先提出這方法至今 [5]，經多次改良，在材料與方法嚴謹規範後 [6]，不但操作簡易系統化，而且結果客

觀，特別適合上述嚴重感染治療參考指標。本試驗目的就在評估血清殺菌試驗與菌血症預後之相關性。

## 方 法

### 一、病患：

民國 80 年 8 月 1 日至 81 年 5 月 31 日間，台北榮民總醫院感染科住院病人，臨床診斷為菌血症，而且微生物實驗室血液細菌培養陽性診斷確定者。在給予有效抗生素治療二天後，採取血液樣本，包括最低藥物血清濃度（注射藥前）與最高藥物血清濃度（注射藥後）。為求客觀，所有病患必須經由靜脈注射藥物，不論單獨或是兩種以上抗生素，都必需紙錠擴散法證實有效，且已治療三天，血清中抗生素濃度已達穩定。最高藥物血清濃度採血時間，嚴格規定注射藥物後 15-45 分（視注射物藥理動力學而定），最低藥物血清濃度採血時間則在次一劑量給予之前。期間共收集 43 例。每名病患都做最高與最低血清藥物濃度抑菌試驗及殺菌試驗 (peak, trough minimal inhibitory and bactericidal concentration ;

P-MIC, P-MBC, T-MIC, T-MBC)。

### 二、血清殺菌試驗

#### (一) 接種原的準備：

1. 選取 4-5 個分離菌落，接種於 5 毫升之 brain heart infusion broth 5ml，培養在 35 °C 6 小時。（在某些情況可培養較長時間以得到適當接種原）
2. 加上 0.1 毫升培養菌到含有 9.9 毫升之 brain heart infusion broth，混合均勻後再從這試管取 1 毫升到含有 9 毫升的 brain heart infusion broth 試管，即成 1000 倍的稀釋液。

#### (二) 血清的稀釋和接種步驟：

根據美國國家檢驗標準委員會 (NCCLS) 所建議及參考相關文獻。[3, 6] 簡述於後：

1. 首先以無菌技術依下表進行稀釋和接種，每次稀釋必須混合均勻後，使用一支的吸管為之，以免影響稀釋的正確性。
2. 培養：完成上述步驟後，將每一支試管混合均勻後，培養在 35 °C 18-24 小時。
3. 18-24 小時後，肉眼看不到生長（呈清澈）的最高稀釋度為血清最低抑菌濃度。

試管號碼	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
BHI (ML)	—	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0
血清 (ML)	0.5	0.5	取前一管 0.5 毫升的量連續稀釋到第 11 管									
接種原 (ML)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—
總容量 (ML)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
最後稀釋度	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024		

4. 從每一支清澈的試管塗劃一圈環量 (0.01ml) 到一個 BAP 培養基，如果為挑剔性細菌，則使用巧克力培養基。

5. 培養基培養 18 至 24 小時，視需要可培養更長的時間，培養後計算菌落的數目。

## 6. 最後可得血清最低殺菌濃度

(三) 每一個案都同時測定最高及最低血清藥物殺菌抑菌濃度

## 三統計方法

以卡方檢定及 Fisher exact test, 1-tail 計算。p 值小於 0.05 具統計學意義。

表一 菌血症病患的血清殺菌效價

No	病原菌	結果	最高 抑菌濃度	最高 殺菌濃度	最低 抑菌濃度	最低 殺菌濃度	最高及最低 殺菌抑菌濃度比
1	<i>S. aureus</i>	治癒	1:2	<1:2	<1:2	<1:2	1 1
2	<i>S. aureus</i>	治癒	1:16	1:4	1:16	<1:2	4 8
3	<i>GD-nonenterococcus</i>	治癒	1:1024	1:1024	1:64	1:64	1 1
4	<i>S. milleri</i>	治癒	1:128	1:128	1:16	1:16	1 1
5	<i>GD-enterococcus</i>	治癒	1:16	1:16	<1:2	<1:2	1 1
6	<i>S. aureus</i>	治癒	1:128	1:64	1:8	1:2	2 4
7	<i>S. aureus</i>	治癒	1:8	1:4	1:8	1:4	2 2
8	<i>S. anguis</i>	治癒	1:64	1:8	1:64	1:8	8 8
9	<i>S. aureus</i>	治癒	1:128	1:64	1:128	1:64	2 2
10	<i>B-Strep group B</i>	治癒	1:256	1:64	1:64	1:32	4 2
11	<i>S. anguis</i>	治癒	1:256	1:256	1:32	1:16	1 2
12	<i>G. nobilloromcoccus</i>	死亡	1:64	1:32	1:4	1:4	2 1
13	<i>S. suis</i>	死亡	<1:2	<1:2	<1:2	<1:2	1 1
14	<i>S. aureus</i>	治癒	1:512	1:32	1:128	1:8	16 16
15	<i>S. aureus</i>	治癒	1:128	1:64	1:2	1:2	2 1
16	<i>S. aureus</i>	死亡	1:8	1:2	1:2	<1:2	4 1
17	<i>S. aureus</i>	治癒	1:128	1:32	1:2	<1:2	4 1
18	<i>GD-enterococcus</i>	治癒	1:16	<1:2	1:16	<1:2	8 8
19	<i>Coagulase(-)Staphylococcus</i>	治癒	1:2048	1:512	1:64	1:32	4 2
20	<i>S. sanguis</i>	治癒	1:8192	1:4096	1:64	1:64	2 1
21	<i>S. auerus</i>	治癒	1:256	1:128	1:64	1:8	2 8
22	<i>S. auerus</i>	死亡	1:128	1:64	1:32	1:8	2 4
23	<i>S. auerus</i>	治癒	1:64	1:4	1:8	<1:2	16 4
24	<i>S. acidominimus</i>	死亡	1:256	1:16	1:8	<1:2	16 4
25	<i>E. coli</i>	治癒	1:2	1:2	1:2	1:2	1 1
26	<i>K. pneumoniae</i>	治癒	1:64	1:64	1:64	1:64	1 1
27	<i>E. coli</i>	治癒	1:8	1:8	1:2	1:2	1 1
28	<i>E. coli</i>	死亡	1:512	1:512	1:64	1:64	1 1
29	<i>K. pneumoniae</i>	治癒	1:16	1:16	1:16	1:8	1 2
30	<i>E. coli</i>	治癒	1:512	1:512	1:64	1:64	1 1
31	<i>E. coli</i>	死亡	1:8	1:8	1:8	1:8	1 1
32	<i>X. maltophilia</i>	治癒	1:8	1:2	1:8	1:2	4 4
33	<i>Sal. G-B enteriditis</i>	治癒	1:128	<1:2	1:64	<1:2	64 32
34	<i>E. coli</i>	死亡	1:16	1:16	1:16	1:8	1 2
35	<i>P. cepacia</i>	治癒	1:64	1:2	1:32	<1:2	32 16
36	<i>E. coli</i>	治癒	1:8	1:8	1:2	1:2	1 1
37	<i>K. pneumoniae</i>	治癒	1:16	1:16	1:4	1:4	1 1
38	<i>K. pneumoniae</i>	治癒	1:128	1:64	1:32	1:4	2 8
39	<i>K. pneumoniae</i>	治癒	1:32	1:32	1:2	<1:2	1 1
40	<i>P. cepacia</i>	治癒	1:4	1:4	1:2	1:2	1 1
41	<i>S. typhi</i>	治癒	1:64	1:32	1:8	1:4	2 2
42	<i>E. coli</i>	治癒	1:8	1:8	1:8	1:2	1 4
43	<i>K. pneumoniae</i>	治癒	1:64	1:64	1:8	1:8	1 1

## 結 果

本研究共收集 43 病例，其中 24 例 (55.8%) 屬革蘭氏陽性菌，19 例 (44.2%) 屬革蘭氏陰性菌菌血症，血清殺菌效價結果見表一。43 例中有 8 例死亡，死亡率 18.6%，8 例 (18.6%) 屬院內感染菌血症，其中 4 例 (50%) 死亡，與社區感染菌血症死亡率 (11.4%) 統計學明顯差異 (p 值小於 0.05，Fisher exact test)。作者回溯本院 1988-1991 年院內感染菌血症，與本研究院內感染死亡率相當 (50% vs 42.1%)。

分析比較死亡病例的血清殺菌濃度，發現最高殺菌濃度 (P-MBC) 如果以 1:4 為界。死亡與存活病例的個案差異即有意義 (p 值小於 0.05)，如果以 1:8 為界，則意義更明顯 (p 值小於 0.005)。這代表治療菌血症，必須使最高殺菌濃度，達 1:4 或以上。至於最低殺菌濃度 (T-MBC)，直到 1:16 為界仍不具統計學意義。見表二。至於血清抑菌濃度方面，無論最高或最低血清抑菌濃度 (P-MIC or T-MIC)，以 1:4 或 1:8 為界，死亡與存活的差異皆不具統計學意義。見表二。這可能因為病例數仍低，或操作時因抑菌濃度判讀不易，也較主觀，比殺菌濃度判讀較具變異性的關係。

同樣的血清濃度，殺菌濃度與抑菌濃度比值 (MBC/MIC) 若增大，則表示有耐受性菌種 (有異於抗藥性)。意思是指再此濃度下，只能抑制細菌而無法將其殺死，最高殺菌濃度與抑菌濃度比值 (P-MBC/P-MIC) 小於 4 則死亡病例與存

活病例有顯著統計學意義 (p 值小於 0.05)，參閱表二。

表二 病患血清殺菌效價之關值

SBT	COV	Fatal	Alive	p value
P - MBC	≥ 1:8	2	29	<0.005
P - MBC	≥ 1:4	4	31	<0.05
T - MBC	≥ 1:8	2	16	NS
T - MBC	≥ 1:4	4	20	NS
P - MIC	≥ 1:8	7	33	NS
P - MIC	≥ 1:4	7	33	NS
T - MIC	≥ 1:8	7	24	NS
T - MIC	≥ 1:4	7	26	NS
P - MBC/P - MIC	≥ 4	4	31	<0.05
T - MBC/T - MIC	≥ 4	4	30	<0.05

NS=Not significant  
COV=Cut-off value

## 討 論

血清殺菌濃度多少才夠？一直為人爭議不休，有人認為要高達 1:32 才可以，太低即使抗生素 *in vitro* 敏感試驗有效，也會治療失敗，太高除造成醫療浪費之外，也容易產生肝、腎許多不必要的副作用。由本研究結果可知，血清殺菌試驗中，主要以最高殺菌濃度為主。最少需大於 1:4 以上。至於殺菌濃度與抑菌濃度比值，無論是最最高最低血清殺菌濃度，均不得大於 4 倍，否則即表示致病菌有耐受性。當然除了病原菌本身以外，宿主本身是否免疫力正常也很重要，本研究也發現在這些病例有潛在性疾病；包括結締組織疾病，惡性腫瘤，代謝性疾病如糖尿病，肝硬化等，都是影響治療結果的因素，有人也提出免疫力抑制病患最高血清殺菌濃度應該提高為 1:32 以上，仍有待進一步研究，採對照組方式比較，才比較客觀。

血清殺菌試驗步驟簡單，容易操作，不需昂貴儀器，結果客觀，一般微生物實驗室，都可以操作，所得資料，可進一步提供臨床醫師治療菌血症的重要依據，但有幾點注意事項：

1. 最高血清濃度與最低血清濃度必須準時採血，否則容易造成誤差。
2. 血清分離後，在-20 °C保存
3. 接種菌液要合乎標準濃度每毫升  $10^5$  個。
4. 血清殺菌試驗方法，仍有許多差異性，判讀時必須配合臨床，以免治療過當或不足。

### 參考文獻

1. 許清曉：Sepsis 及 Septicemia 之定義及其中文譯名。院內感染控制通訊 1993;3(1): 7-8.
2. Bone RC: Toward an epidemiology and natural history of SIRS(systemic inflammatory response syndrome). JAMA 1992;268:3452-5.
3. 蔡文城：實用臨床微生物診斷學(第六版)九州文物圖書有限公司。1992:1088-90.
4. Washington JA: Bacteria, Fungi and Parasite. In: Mandell GL ed. Principle and Practice of Infectious Disease. 3rd ed. New York: Churchills Livingstone. 1990:188-91.
5. Schlichter JG, Maclean H, Milzer A: Effective penicillin therapy in subacute bacterial endocarditis and other chronic infections. Am J Med Sci 1949;217:600-8.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methodology on the Serum Bactericidal Test: Proposed Guideline. NCCLS Document M21-P. Villanova PA: NCCLS. 1987.

