

부위별 검체채취 방법

-

소속 연세의대 세브란스병원 진단검사의학과

날짜 2022년 1월

작성자 이혁민

CONTENTS

1. 세균 감염의 의미
2. 미생물 검사의 종류 및 해석
3. 검체 채취의 원칙
4. 혈액 배양
5. 객담 배양
6. 요배양
7. 창상 배양

01

세균 감염의 의미

인체의 상재균 분포

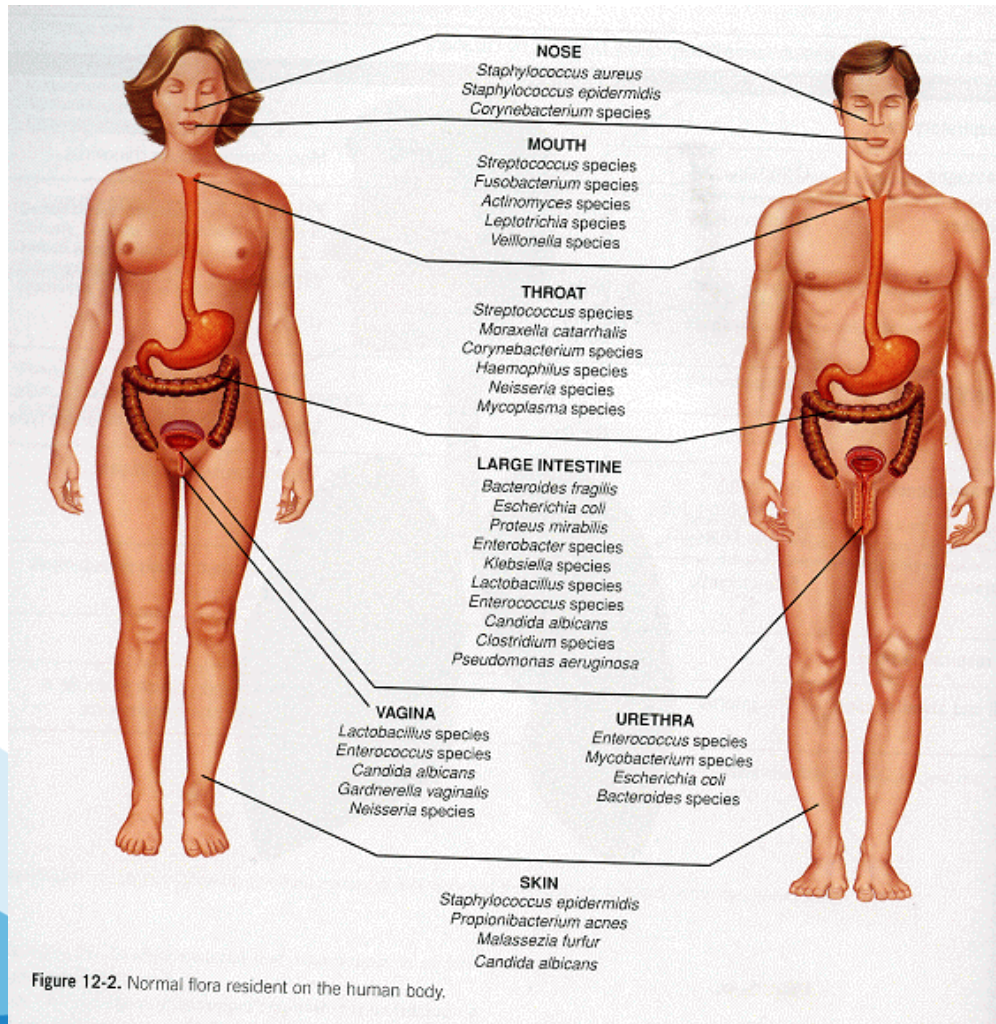


Figure 12-2. Normal flora resident on the human body.

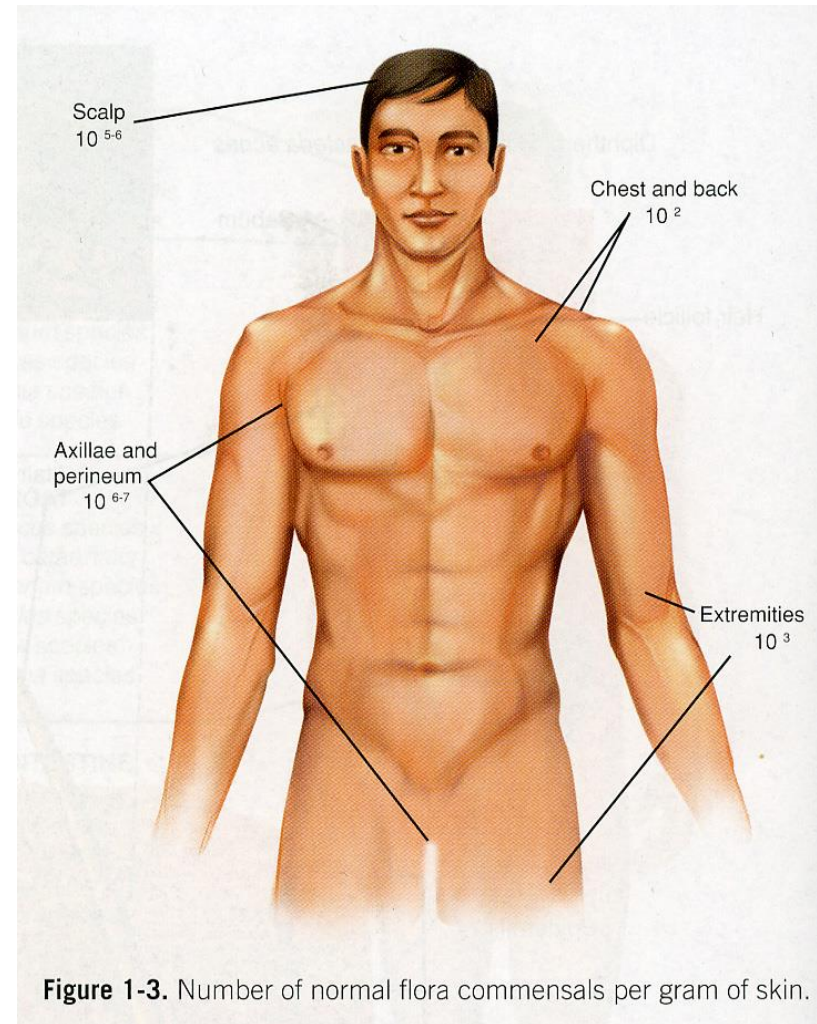


Figure 1-3. Number of normal flora commensals per gram of skin.



인체에서 분리되는 세균의 의미

- **정상군무리 (상재균, Normal flora)**
 - 병독소가 없거나 약한 미생물
 - 체표 또는 체내에서 무리를 이루어 증식
 - 인체에 피해를 주지 않음
- **집락화(colonization)**
 - 정상군무리와 유사
 - 해부학적 또는 미생물학적으로 관계 없는 부위에 존재
- **감염(infection)**
 - 병독소를 생성하는 미생물의 인체 침입
 - 면역력 저하로 인해 병독소가 약한 세균의 증식



미생물, 숙주, 환경의 상호 역학 관계

- 병원균: 분리되면 어느 때나 병원균으로 간주
 - *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium tuberculosis*
- 기회 감염균: 숙주의 상태에 따라 감염여부 결정
 - 대부분의 세균
- 비병원균: 다수 분리되어도 병원균인 경우는 거의 없음
 - *Lactobacillus*, *Propionibacterium*

세균 질환의 진단

- 병원균의 감염 진단: 특정 균의 존재 여부로 진단 가능
 - 항원 검사
 - 항체 검사 (최근 2-4주간의 항체가 상승)
 - 배양 검사
 - 분자 진단 검사
- 기회 감염균의 감염 진단
 - 항체 검사 (최근 2-4주간의 항체가 상승)
 - 배양 검사
 - 상재균이 없는 부위 감염
 - 상재균이 있는 부위 감염 (균의 존재 만으로 진단 불가)

02

미생물 검사의 종류 및 해석



임상미생물 검사의 종류

검사 종류	민감도	특이도	TAT	비용	특수 장비 인력
직접검사법	L ($>10^5$)	L	H	L or M	X
Gram stain					
AFB stain					
Antigen test	(M)	(H)	(H)	(M)	X
배양법	H ($>10^{2-3}$)	H	L	M	O
선택배지/비선택배지 (Plate)					
증균 배지 (Broth)	($<10^{1-2}$)				
분자유전학적 검사법	H ($>10^{1-2}$)	H	H	H	O
PCR					
PCR-Hybridization					

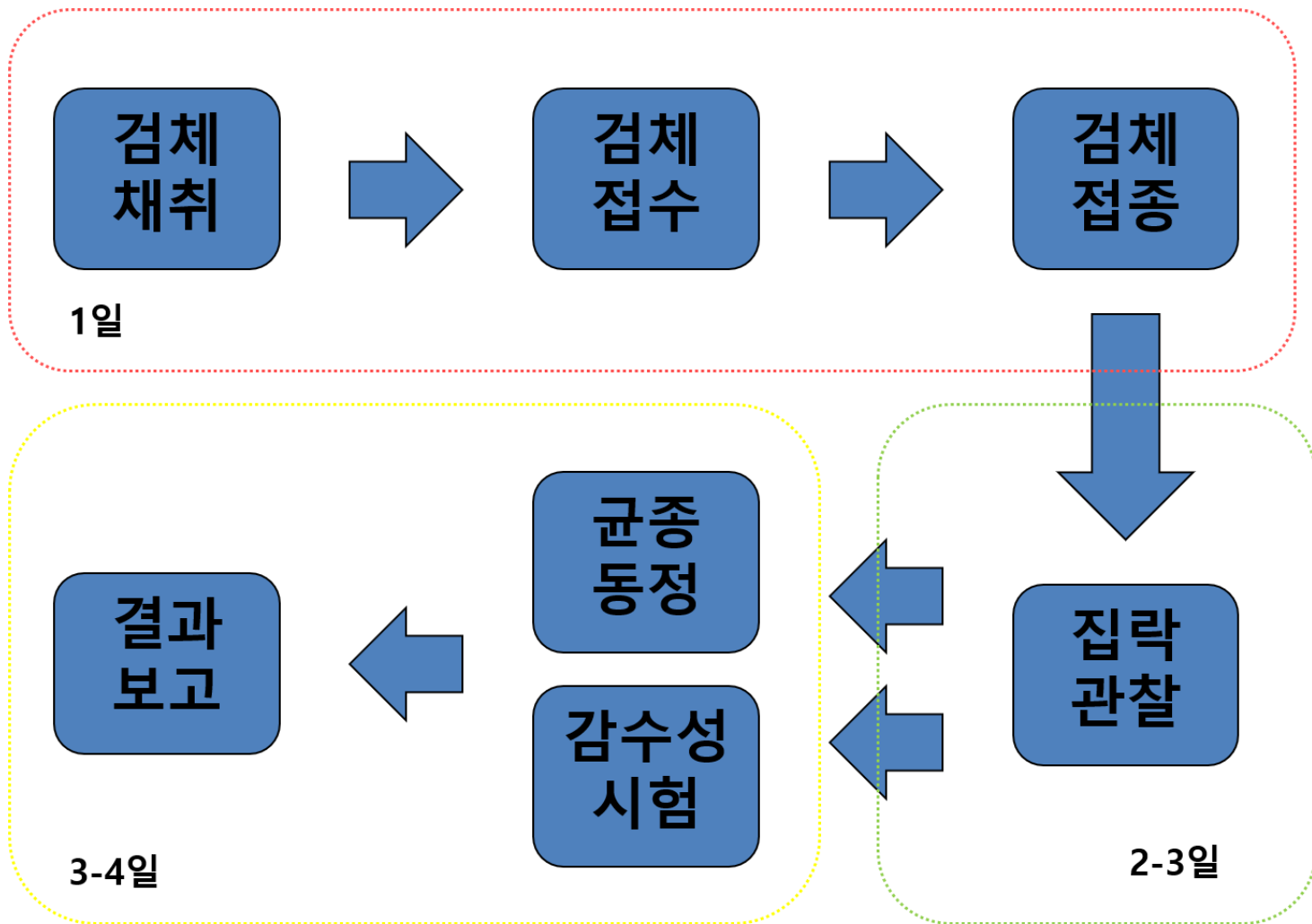
- **상재균이 없는 검체**
 - 혈액, 뇌척수액, 관절액을 포함한 각종 체액 등
 - 증식하는 모든 세균: 채취 시 오염균 배제
- **상재균이 있는 검체**
 - 객담, 요, 변 및 생식기 검체 등
 - 상재균 또는 다른 세균보다 우세한 세균의 분리
 - 동일 세균의 반복 분리
 - 병원균의 분리



- 검체에서 가장 빨리 세균 확인
 - 균종 추정 가능: 그람 양성 및 음성
- 염증 반응 판정: 백혈구 종류와 수
- 검체의 질 평가: 상피세포 갯수
- 해석 어려움
 - 항균제, 증식이 덜된 또는 오래된 세균
 - 그람 양성이 음성으로
 - 간균이 아주 길어지거나 공 모양으로



- 세균 배양 시 고려 사항
 - 검체 접종 배지의 선택
 - 배양 조건의 결정: 온도, 시간, 환경
 - 동정 방법의 결정
 - 항균제 감수성 시험의 필요성 및 방법
- 세균 배양 실패 원인
 - 모든 세균이 증식할 수 있는 배지 없음
 - 원인균에 적합한 배지 사용 필요
 - 항균제의 사용



03

검체 채취의 원칙

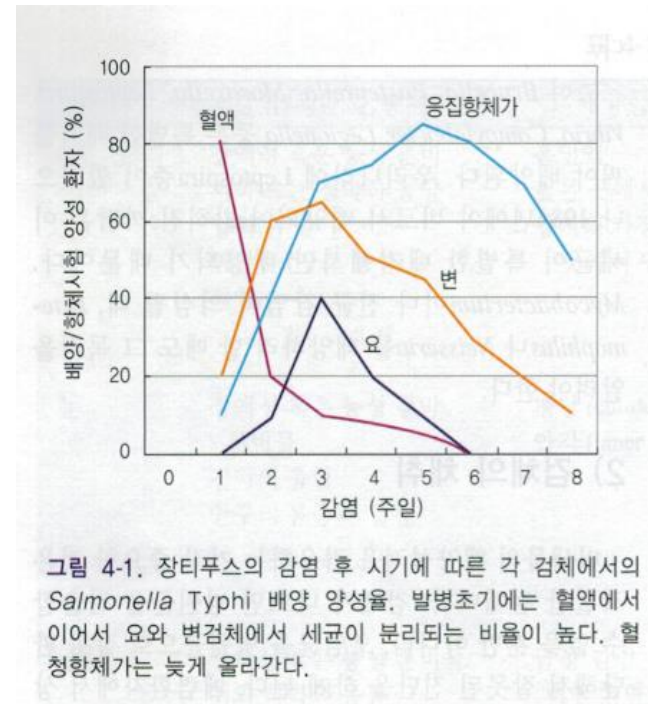


검체 채취의 기본 원칙

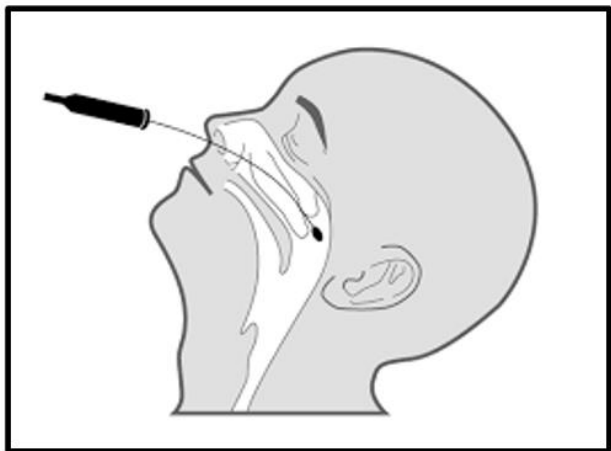
- 감염이 있는 바로 그 부위
- 적절한 시기
- 충분한 양
- 적당한 채취기구, 용기 및 배지
- 가능하면 항균제 투여 이전
- 용기에 환자의 정보를 정확하게 기록



- **Salmonella Typhi 감염 질환**
- **대표적인 장염 질환**
- **염병 또는 엠병**



검체 채취 도구



+

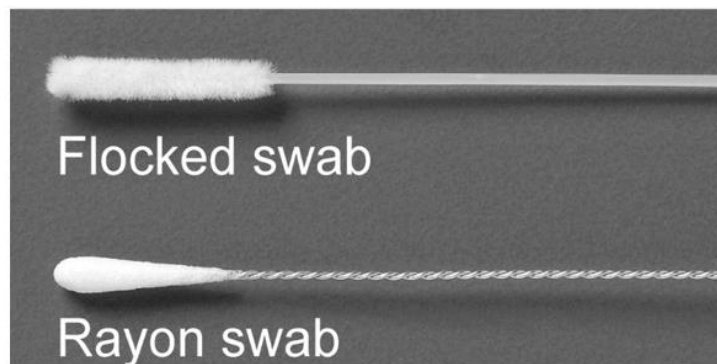
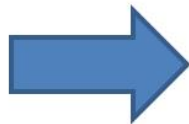




Table 1 Infectious agents detected among 83 university students with acute pharyngitis

	Flocked nasal swab sample	Rayon throat swab sample	Either sample
Rhinovirus ^a	18	16	22
Coronavirus	8	7	10
Influenza A virus	8	8	8
Metapneumovirus	4	2	4
Respiratory syncytial virus	2	0	2
Adenovirus	1	1	1
Parainfluenza virus	1	1	1
Influenza B virus	1	0	1
No. of samples (patients) with viruses detected ^b	43 (43)	35 (34)	49 (48)
No. of patients with β -hemolytic streptococci ^{b,c}			20

^aOf 22 patients with enterovirus/rhinovirus-positive samples, 18 could be unambiguously subtyped with PCR and sequencing as rhinoviruses

^bEight patients had a viral-streptococcal co-infection. One patient had a viral co-infection of rhinovirus and coronavirus HKU1

^cBeta-hemolytic streptococci were detected by rapid antigen detection (group A) and/or culture (group A, C, and G) outside our study, during routine clinical care. Group A species were also detected within the study using PCR

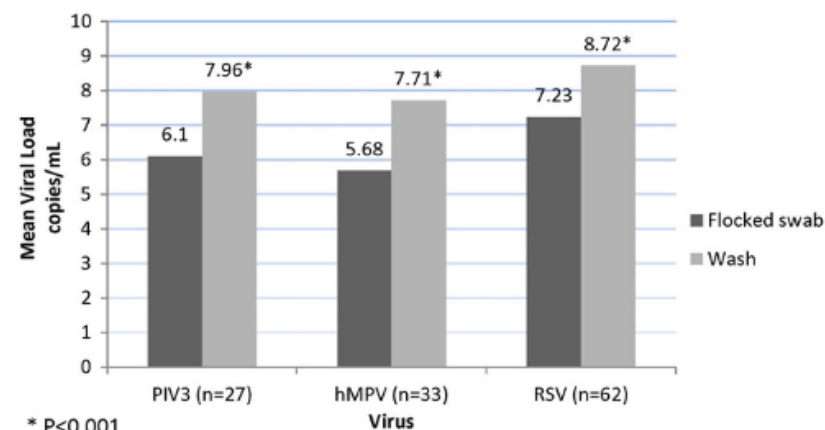
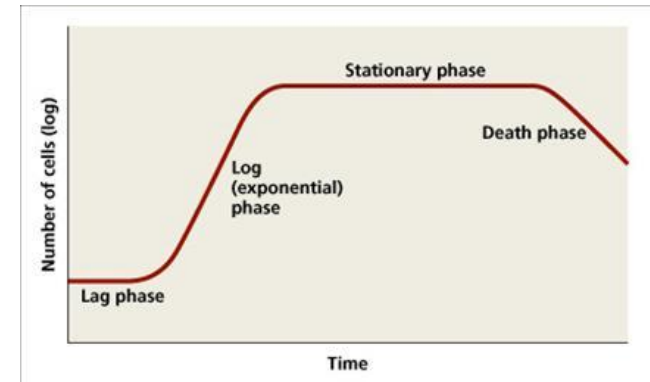


Fig. 1.

Mean log₁₀ of Viral load for Nasopharyngeal Washes and Nasopharyngeal Flocked Swabs positive for Parainfluenza Virus 3(PIV3), Metapneumovirus (hMPV) and Respiratory Syncytial Virus (RSV) among children < 3 years hospitalized at the Yukon-Kuskokwim Delta Regional Hospital, Alaska, October, 2005–September 2007.

검체 보관의 기본 원칙

- 가급적 빠른 시간 안에 미생물 검사실 접수
- 절대 냉장 금지
 - 뇌척수액 (CSF), 혈액(Blood)
- 실온 보관
 - 체액 (Body fluid)
- 냉장 보관 – 상재균이 있는 부위
 - 객담 (Sputum), 요 (Urine), 변 (Stool)



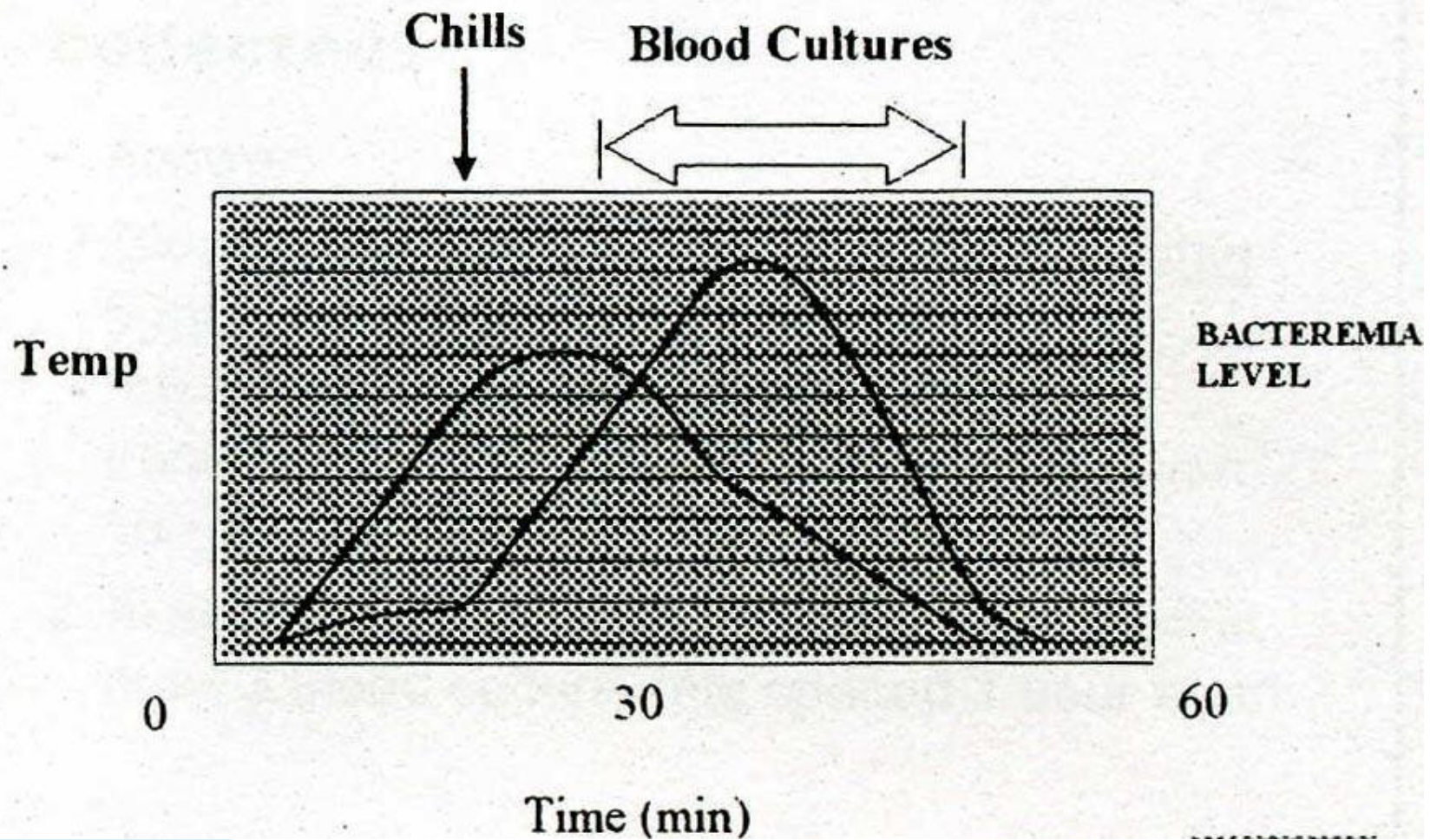
04

혈액 배양



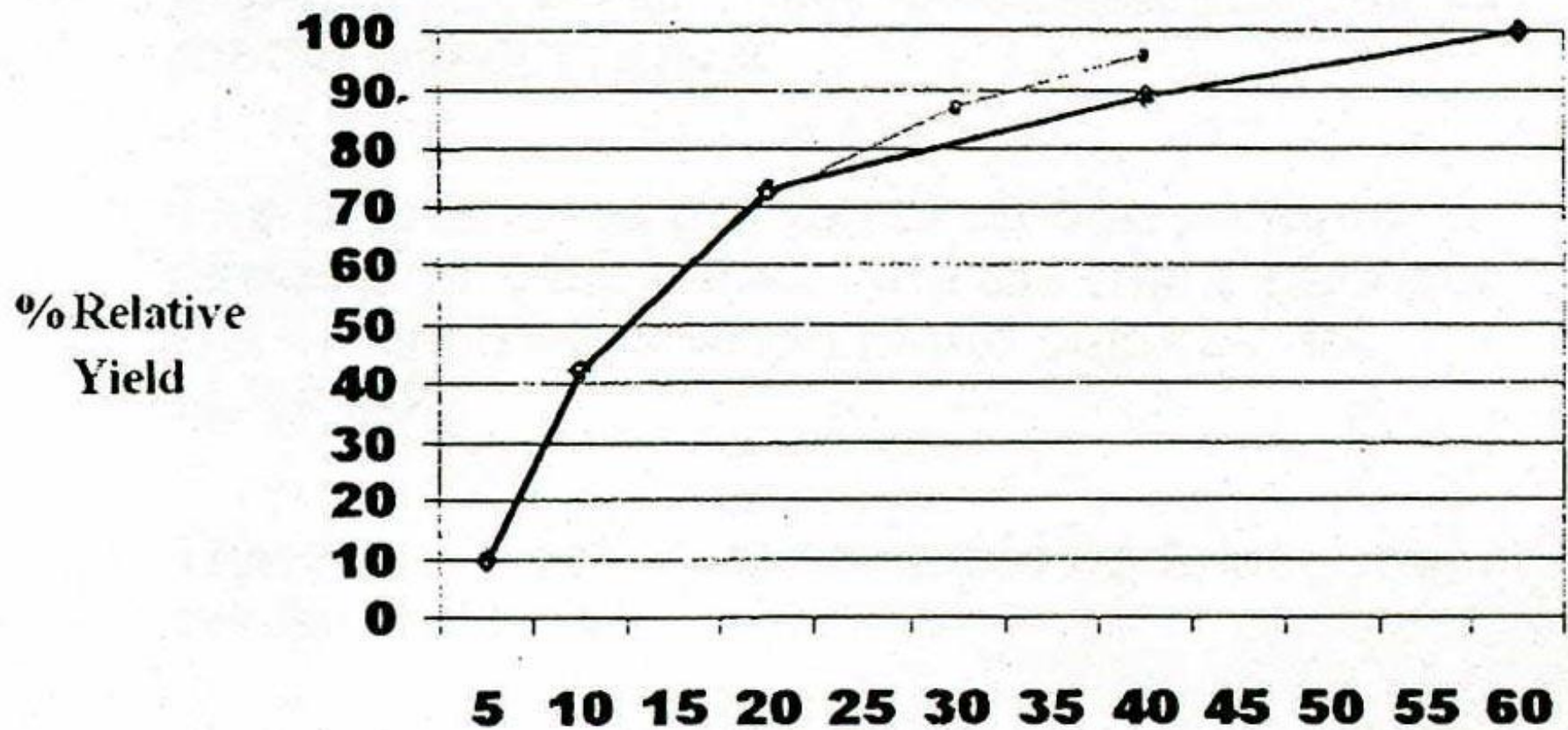
채혈 시기

- 항균제를 사용하기 전
- 간헐적 균혈증
 - 열이 나기 직전, 열이 나기 시작할 때
 - 5분 간격 또는 서로 다른 부위에서 동시에 채혈
- 지속적 균혈증 (감염성 심내막염)
 - 급성 심내막염: 병원성이 강한 세균, 즉시 채혈
 - 아급성 심내막염: 30분 – 1시간 간격으로 채혈





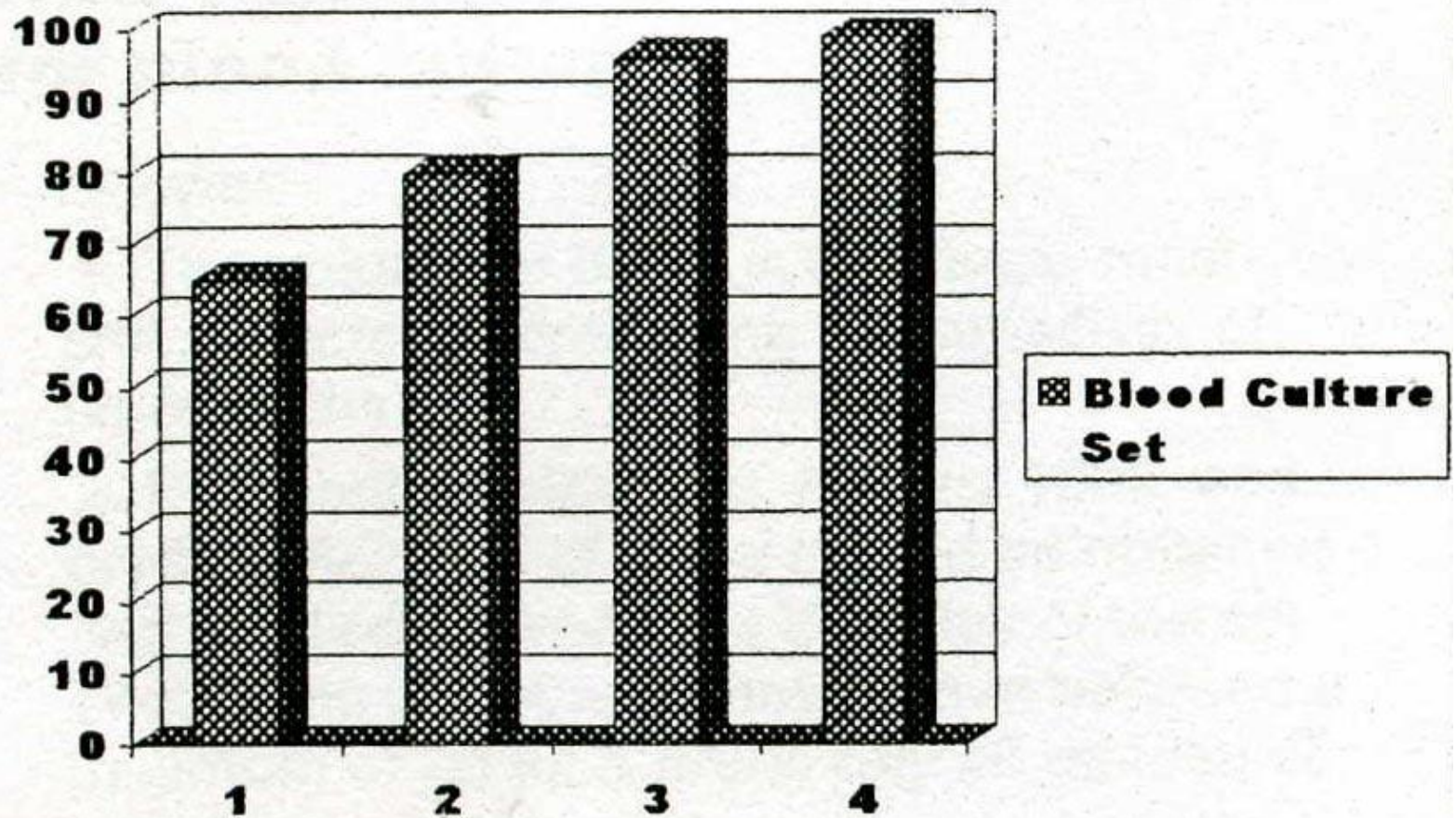
- 혈액배양 양성율에 가장 중요한 영향인자
- 균혈증 환자의 혈액에는 소수의 세균이 존재
→ 채혈량이 많을수록 양성율 증가
- 2 mL 채혈과 20 mL 채혈을 비교
→ 양성율이 20-50% 증가
- 성인: 20 mL, 소아: 1-5 mL를 채혈하여 혈액 양의 5-10배 이상되는 액체 배지에 접종





채혈횟수

- 3회 채혈이 원칙
- 간헐적 균혈증에서 24시간 내에 20 mL씩 3번 배양
 - 한 검체의 양성율 80%
 - 두 검체의 양성율 90%
 - 세 검체의 양성율 99%
- 연쇄구균성 심내막염 환자에서는 두 번의 혈액 배양을 시행하면 98%의 환자가 양성





채혈 방법

- 혈액배양에는 다량의 액체배지를 사용
→ 소량의 오염세균이 들어가도 증식
- 철저한 피부 소독 필요
- shunt나 catheter에서는 채혈 금지
→ 체내에 삽입된 인공 장치에는 정착된 세균
- 정맥 주사 부위 채혈
 - 주사 부위 위쪽 혈액: 희석
 - 주사 부위 아래쪽 혈관에서 채혈 (Distal)



혈액배양 배지의 종류



SA(호기성)

SN(혐기성)

PF(소아용)

- **접종용량**

- SA, SN: Blood 5~10mL(Media 45 mL)

- PF: Blood 0.5~4mL(Media 20mL)



혈액 분리 세균의 임상적 의의

Microorganism	True	Contaminant	Unknown
<i>S. aureus</i>	87	6	7
CNS	12	82	6
<i>S. pneumoniae</i>	100	0	0
Viridans <i>Streptococcus</i>	38	49	13
<i>Enterococcus</i> species	70	16	14
<i>E. coli</i>	99	0	1
<i>K pneumoniae</i>	100	0	0
<i>E. cloacae</i>	100	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	96	2	2
<i>C. albicans</i>	90	0	10



*S. epidermidis*의 임상적 의의

No. of sets		% of			PPV (%)
positive	obtained	Significant	Contaminant	Unknown	
1	1	0	97	3	55
1	2	5	95	3	20
2	2	60	3	37	98
1	3	0	100	0	5
2	3	75	0	25	
3	3	100	0	0	



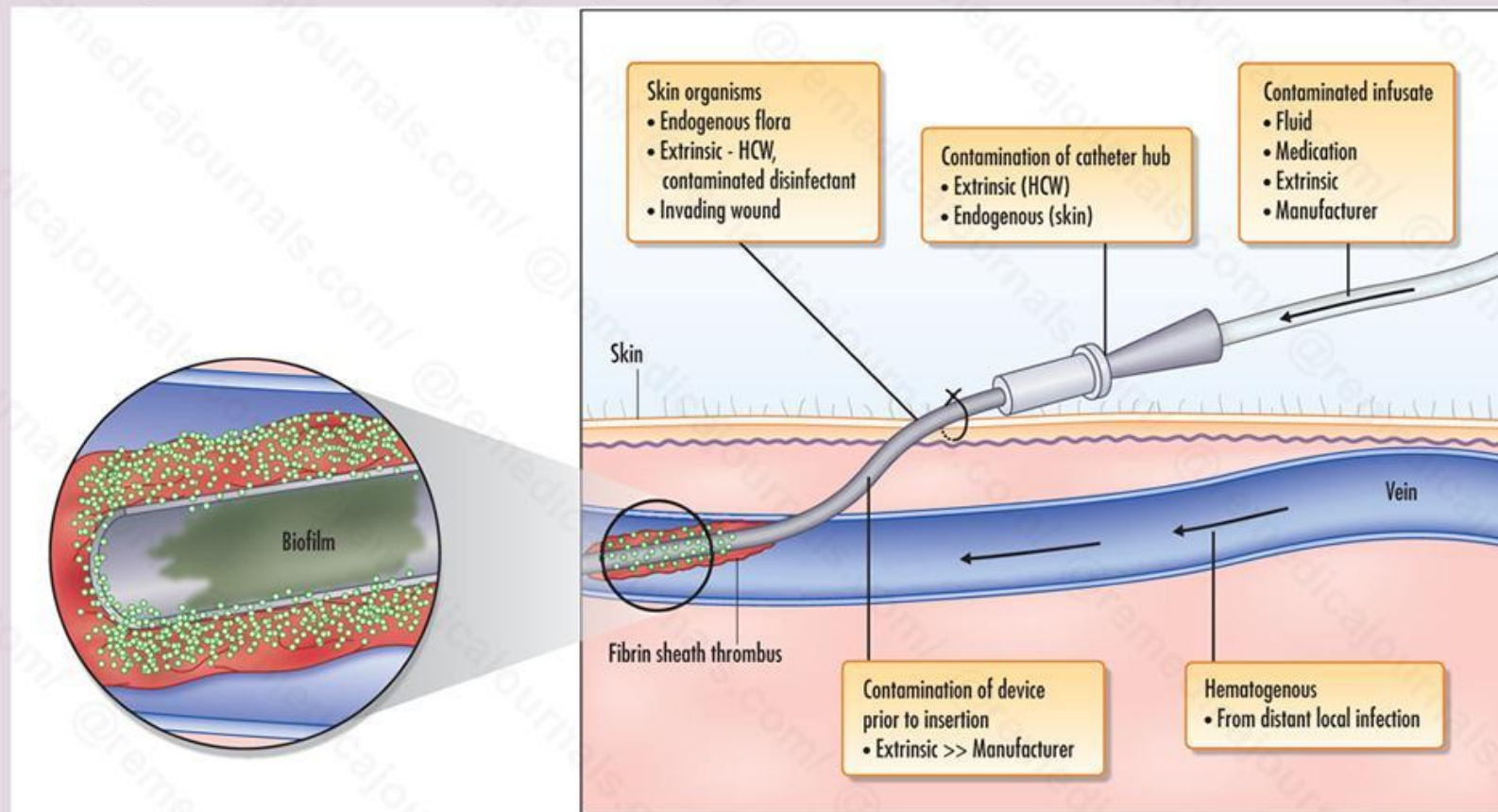
채혈 술식

1. 정맥을 만져보고 채혈할 부위를 결정
2. 피부 소독
 - 원칙: 중심에서 밖으로 지름 5cm의 동심원을 그리며 시행
 - 알코올 → 베타딘 순서로 소독 (알코올로 유기 물질 제거)
 - 완전히 건조: 베타딘 2분, 클로르 헥시딘 30초
 - 소독 후 채혈 부위 접촉 금지
3. 채혈: 성인 20 cc, 소아 1-5 cc
4. 배지 병마개 소독: 70% 알코올
5. 베타딘 소독 금지: 접종 시 배지 내로 유입, 소독 효과 잔류
6. 배지 접종: 혐기성 배지, 호기성 배지 순서로 접종
7. 진단검사의학과 접수: 냉장 보관 금지



Central line-associated bloodstream infection

Figure 2. Diagram of an intravenous catheter with biofilm growth.



HCW: healthcare worker.

Image courtesy of Remedica Journals

<http://www.remedicajournals.com/The-Journal-of-Invasive-Fungal-Infections/Browse/Issues/Volume-5-Issue-2/Article-The-Story-of-Biofilms>



제거 가능한 카테터 연관 혈류 감염

- 일반적인 catheter: arterial catheter, etc
- 진단 방법
 - 2회의 혈액 배양
 - 제거한 catheter로 정량 또는 반정량 배양
- 해석
 - 1회 이상의 혈액 배양 양성
 - Catheter 에서 혈액 배양 동일 균주가 15 집락 이상 증식



제거가 어려운 카테터 연관 혈류 감염

- 중심정맥관 또는 Venous access ports
- 진단 방법
 - 2회의 혈액 배양 시행
 - 1회의 말초 혈액 배양, 1회의 catheter 무균 채혈
- 해석
 - 2회의 혈액 배양에서 동일 균주 증식
 - Catheter 배양이 2시간 먼저 검출 또는 5배 이상 증식

05

객담 배양



하부호흡기 감염의 원인균

- 원외감염

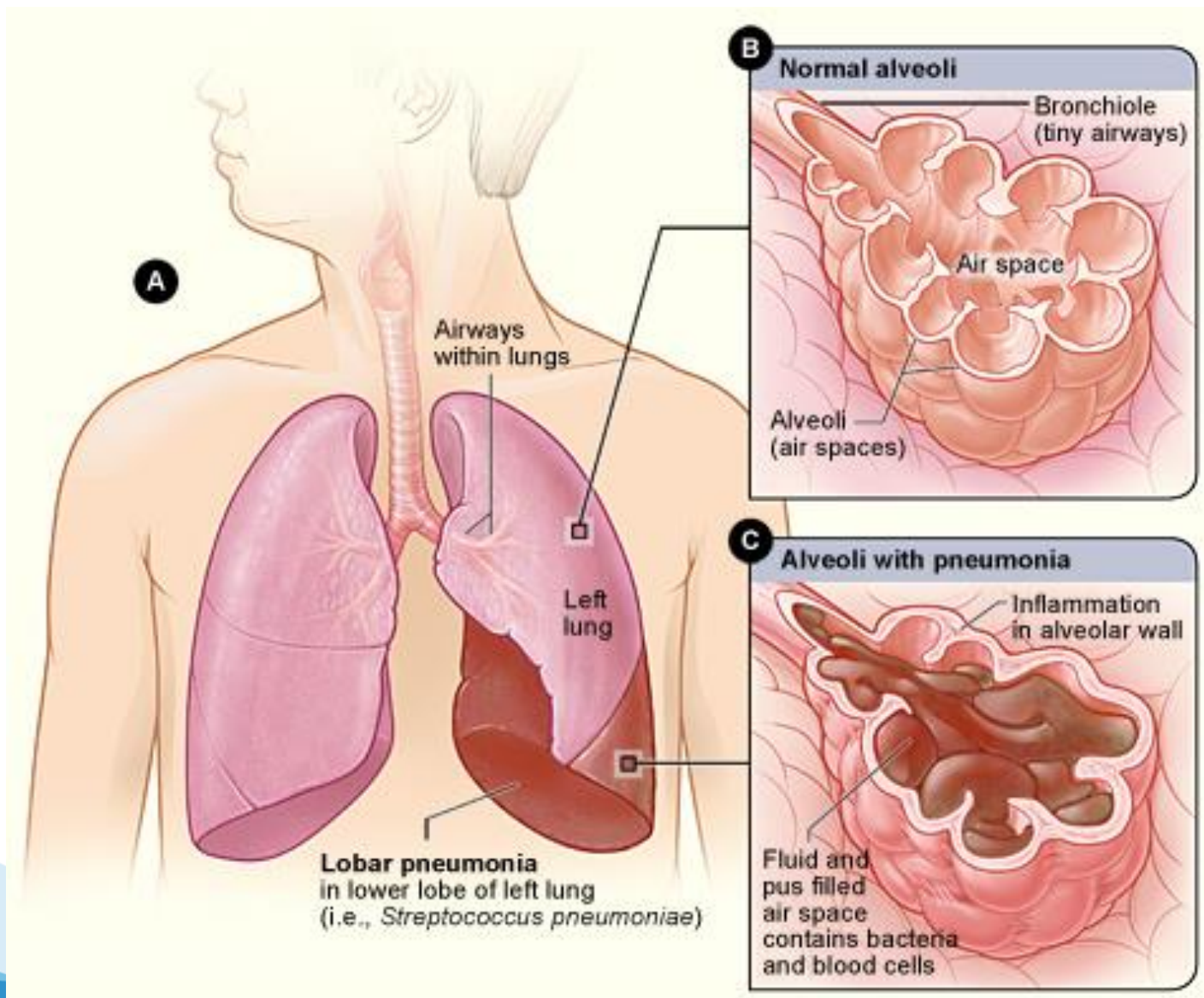
- 2개월 – 5세: virus (m/c)
- 30세 이하: *M. pneumoniae*
- 노년층: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*
- Aspiration pneumonia: 구강내 혐기성 세균,
S. aureus, *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*

- 원내 감염

- *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterobacteriaceae*

폐렴 감염의 진단

감염의 종류	지역 사회 폐렴					원내 폐렴
연령	5세 미만	5-30세	>60세	전연령		전연령
병원체	바이러스	Mycoplasma	세균 (SPN, HIN, MCA)	Chlamydia	결핵균	세균
검사 종류						
특수 염색	Δ	Δ	O	Δ	O	O
항체 검사	O	O	O	O	X	O
일반 배양	X	X	O	X	X	O
특수 배양	O	O	O	O	O	O (LG)
분자 진단	O	O	O	O	O	O
검체 종류	Aspirate (NP) Swab (NP, N, P)	객담, swab, aspirate	객담	NP swab, sputu m	객담	객담





Normal flora in respiratory system

- **Bacterial load in pneumonia**
 - 10^5 - 10^6 CFU/1mL of alveoli secretion
- **Oral normal flora**
 - Total bacterial count: 10^{10} - 10^{12} CFU/mL of saliva
 - Aerobe:Anaerobe=1:10
 - Aerobic bacterial load: 10^9 - 10^{11} CFU/mL of saliva
 - Lung secretion 1mL:Saliva 1mL
 - =Pathogen 10^6 CFU/Normal flora 10^{9-11} CFU
 - =Pathogen 1 CFU/Normal flora 10^{3-5} CFU



검체의 채취

- 폐렴의 원인균을 찾기 객담 배양: 폐렴 진단 x
- 상재균이 많은 상부기도를 통과한 검체 채취
 - 상부기도 오염 최소화 (상피세포 ↓)
 - 감염 부위 검체 채취 (백혈구 ↑)
 - 객담배양: 낮은 특이도
- 채취방법
 - 침이 섞이지 않게 깊은 기침으로 객담 1-3 ml를 채취
 - 여러 번 모은 검체는 부적절(상재균의 증식)

• 객담의 농부분을 선택 → 그람염색 후 관찰

표 1-11. 객담의 정도관리 (Bartlett법)

100배 시야당 (20-30시야의 평균)		점수
호중구	10	0
	10-25	+1
	>25	+2
점액		+1
상피세포	10-25	-1
	>25	-2
		점수의 합계 ^a

^a 점수의 합계가 0 이하인 검체는 검사할 가치가 없다.

표 1-12. 객담의 정도관리 (Washington의 변법)

100배 시야당		Group ^a
상피세포	호중구와 대식세포	
>25	<10	1
>25	10-25	2
>25	>25	3
10-25	>25	4
<10	>25	5
<10	<10	6

^a 1-3군인 검체는 검사할 가치가 없다.



객담 배양의 해석 원칙

- 상부 기도 상재균은 무시
 - α/γ -Streptococcus
 - Enterococcus
 - Yeast
 - Non-pathogenic Neisseria species
 - Diphtheroides (gram-positive rod)
- 상재균보다 우세하게 증식/반복 분리 세균
- 병원균



객담 배양의 결과 해석 I

Gram stain

WBC	Many
-----	------

Epithelial cell	Few
-----------------	-----

Sputum group	5
--------------	---

Culture & ID

Predominant	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
-------------	-------------------------------

Many	<i>α-Streptococcus</i>
------	------------------------

Some	<i>Staphylococcus aureus</i>
------	------------------------------



객담 배양의 결과 해석 II

Gram stain

WBC **Many**

Epithelial cell **Few**

Sputum group **5**

Culture & ID

Predominant ***α-Streptococcus***

Many ***Staphylococcus aureus***

Some ***Pseudomonas aeruginosa***

06

요배양



요로 감염 (Urinary tract infection)

- 가장 흔한 감염 중의 하나
- 요도, 방광, 신장 및 전립선 등의 감염
- 요배양으로 진단
- 상부 요로 감염과 하부 요로 감염
- 위험 인자: 여성, 비뇨기계 이상, 기전 질환

- 정상인의 방광 안에 있는 요는 무균
 - 채취할 때 요도의 상재균에 의해 오염
 - 중간뇨 채취
- 가능하면 아침 첫 요를 채취
 - 위음성 감소
- 요를 본 후, 적어도 4시간이 지난 후 채취
 - 과도한 수분 섭취 주의
 - 요를 희석하여 정량배양의 해석이 어려움

- 검체 용기에 직접 채취
 - 개인용 소변기나 공용 변기 채취 금지
 - 소아의 경우 기저귀에 묻은 검체 채취 금지
- 검체의 오염을 최소화
 - 방광 안의 요는 무균 검체
 - 배뇨 중 오염: 요도, 전립선, 피부 등
- 중간뇨 채취



Catheter urine

- **Straight catheter (Nelaton)**
 - 무균적 방법 (Aseptic technique)으로 시행
 - 첫 15-30mL는 버리고 다음 요를 채취
- **Foley catheter**
 - Kelly 등으로 catheter tube 차단
 - 70% alcohol ball 등으로 catheter port 부위 소독
 - 주사기 이용하여 요 채취
 - Catheter bag에 들어 있는 요는 배양 금지



요 검체의 보관 및 운송

- 요 검체용 채취 즉시 운송 및 접종
- 접종 지연 시
 - 2시간 까지 실온 보관
 - 24시간 까지 냉장 보관
 - 냉동 (freeze) 금지
- *E. coli* doubling time: 20min
 - 2시간: 6번의 doubling time → 2^6 증가 (64배)



요배양의 결과 해석

요 검체	환자	감염균 가능성 (+)		감염균 가능성 (-)	감염균 가능성 추정 소견
		PP (CFU/mL)	LE		
중간뇨	여자, 방광염	$>10^2$	+	PP < PC	
	여자, 신우신염	$>10^5$	+	PP < PC	PP in neutrophils
	남자, 요로감염	$>10^5$	+	PC > PP $>10^3$	PP in neutrophils
	무증상 균뇨증	$>10^5$	-	PP $<10^5$ & PP < PC	새검체로 재검
Straight 카테터	모든 환자	$>10^2$	+, Sx (+)	PP $<10^2$, LE (-)	PP in neutrophils
유치 카테터	모든 환자	$>10^3$ (여러 균종 분리 가능)		Sx (-)	증상 없으면 배양 가치 없음

07

창상 배양



창상감염의 원인균

- 수술이나 부상으로 인한 피부 또는 점막의 손상 → 감염, 농양
- 병원체의 종류는 감염 원인 또는 부위에 따라 다름
 - *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Enterobacteriaceae* (개방성 궤양),
 - *P. aeruginosa*, *Anaerobes*
 - *Vibrio vulnificus* (Bulla), *Clostridium spp.* (Myositis)

STEP 4:
*Use curette to obtain
tissue from base of
decontaminated ulcer.*



**LESS RECOMMENDED
ALTERNATIVE:** *Use
swab to obtain specimen
from base of
decontaminated ulcer,
avoiding contact with
skin.*



Figure 2-2. Obtaining specimen from contaminated surface wound or ulcer when aspiration is not possible. (From Finegold, Baron, and Wexler, *A Clinical Guide to Anaerobic Infections*, 1992. Courtesy Princeton Scientific Productions, Inc. and Star Publishing Co.)

- 감염이 있는 바로 그 부위
- 적절한 시기
- 충분한 양
- 적당한 채취기구, 용기 및 배지
- 가능하면 항균제 투여 이전
- 용기에 환자의 정보를 정확하게 기록