

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.21.003

血培养阳性菌落质谱鉴定与生化鉴定的比较^{*}

王军杰¹, 马冰², 李轶², 闫文娟², 王山梅², 马琼², 张江峰², 许俊红², 袁有华^{2△}

1. 鹿邑真源医院检验科, 河南周口 477200; 2. 河南省人民医院检验科, 河南郑州 450003

摘要:目的 探讨质谱仪与 BD 鉴定仪在鉴定菌落之间结果的一致性。方法 收集河南省人民医院 2018 年 7—9 月血培养仪报警的非重复性血培养瓶 291 个。首先转种于固态培养基培养 24 h, 真菌、苛氧菌则需继续延长培养时间, 然后分别采用质谱仪、BD 鉴定仪对固态培养基阳性菌落进行直接生化鉴定, 其中不符合的部分通过序列分型明确, 以期比较质谱鉴定与生化鉴定的一致性。结果 291 份血培养标本中排除 5 个假阳性血瓶, 质谱鉴定细菌在属以上水平和种水平上, 一致性结果是革兰阴性菌为 83.5%, 革兰阳性菌为 68.2%, 真菌为 70.0%, 少见菌为 58.3%。结论 通过质谱能够快速、准确地鉴定出血流感染的常见细菌, 并做临床二级报告, 用 BD 鉴定仪做最终报告, 为临床快速、合理地应用抗生素提供依据。

关键词:血培养; 细菌; 质谱; 生化鉴定

中图法分类号: R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)21-3081-05

Comparison between mass spectrometry and biochemistry identification of blood culture positive bacterial colony^{*}

WANG Junjie¹, MA Bing², LI Yi², YAN Wenjuan², WANG Shanmei²,

MA Qiong², ZHANG Jiangfeng², XU Junhong², YUAN Youhua^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, Luyi Zhenyuan Hospital, Zhoukou, Henan

477200, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Henan Provincial

People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China

Abstract: Objective To explore the consistence of mass spectrometry (MS) and BD identification instrument for identifying the bacterial colony. **Methods** Two hundreds and ninety-one non-repeated blood culture bottles alarmed by the blood culture instrument in the Henan Provincial People's Hospital from July to September 2018 were collected. Then they were firstly sub-cultivated to solid medium to culture for 24 h, whereas the fungus and heavy oxygen bacterium were continuously extended the culture time. Then, MS and BD were adopted to directly identify the positive bacteria colonies in solid culture medium, in which the non-conformance part was determined by sequential typing in order to compare the consistence of MS identification. **Results**

Two hundreds and ninety-one non-repeated blood culture samples were collected in this study, 5 bottles of false positive were excluded, in the level above genus and species level of bacterium identified by MS, the consistence results were that Gram negative bacteria was 83.5%, Gram positive bacteria was 68.2%, fungi was 70.0% and rare bacteria was 58.3%. **Conclusion** MS can rapidly and accurately identify the common bacteria in blood stream infection and make clinical second level report. Conducting the final report by the BD identification instrument provides the basis for rapid and rational antibiotics in clinic.

Key words: blood culture; bacteria; MS; biochemical identification

血流感染是临床上严重危及患者生命的感染性疾病, 因发展迅速、病死率高受到越来越多的关注。据统计, 全球每年约发生 200 000 例血流感染, 病死率为 20%~50%^[1]。国外文献报道, 血流感染患者抗菌药物治疗每延迟 1 h, 其平均存活率下降 7.6%^[2]。因此, 准确、快速地鉴定血液中的病原菌, 对血流感染的诊断和治疗尤为重要。而血培养被公认为是诊断血

流感染的金标准, 及时、准确地鉴定出病原菌, 及早地报告药敏结果, 一直是微生物专业人员关注的热点问题。对于阳性血培养, 传统实验室报告流程为革兰染色涂片鉴定, 次代分离培养, 基于表型的生化鉴定和抗菌药物敏感试验等步骤, 实验室报告需要 48~72 h。如果病原菌生长条件苛刻或生化惰性, 则周期更长。近年来, 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱

^{*} 基金项目: 河南省科技攻关项目(182102310576; 182102310097); 河南省医学科技攻关项目(201702198)。

作者简介: 王军杰, 男, 技师, 主要从事微生物检验研究。 △ 通信作者, E-mail: yyhnice@163.com。

(MALDI-TOF MS)在临床微生物领域的应用日益广泛^[3]。使用质谱仪能快速、准确地鉴定病原菌,有利于及时进行合理的抗菌药物治疗,从而降低患者的病死率。为了探讨质谱对纯培养菌落快速鉴定方法的准确性,笔者收集了河南省人民医院 2018 年 7—9 月 291 份血培养阳性标本,培养 24 h 后,应用质谱对菌落进行鉴定,且与传统细菌培养进行常规生化鉴定对比,比较二者结果的一致性,评估质谱在血流感染诊断中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 标本来源 回顾性收集 2018 年 7—9 月河南省人民医院临床送检的 291 瓶阳性血培养标本。入选标准:BD 全自动血培养系统发出阳性报警,取出阳性瓶经常规涂片革兰染色镜检确认。排除标准:报阳培养物经常规涂片革兰染色镜检发现 2 种或以上细菌生长。如同一患者同时或先后送检多瓶血培养,取最先报阳的血培养标本进行试验,以避免重复。

1.2 仪器与设备 BACTECTMFX 血培养系统、需氧和厌氧血培养瓶、BD PhoenixTM_100 全自动微生物分析系统和鉴定药敏板条(BD 公司,美国);Bact/Alert 3D 全自动结核分枝杆菌培养检测系统、需氧和厌氧血培养瓶;Microflex LT/SH 全自动快速生物质谱检测系统、MSP96 孔靶板和 α-氰基-4-羟基肉桂酸(HCCA, Bruker Daltonik 公司,德国),甲酸与乙腈(Sigma-Aldrich 公司,美国);血平板、麦康凯平板和巧克力平板以及厌氧袋、科马嘉平板、土豆培养基(安图公司,郑州);MC0-20AIC 二氧化碳培养箱(日本)。

1.3 方法

1.3.1 常规生化鉴定 阳性培养物同时转种于血平板、巧克力平板、麦康凯平板,获得纯菌落进行常规生化鉴定(CLSI2018)。常规生化鉴定采用 Phoenix100 全自动生化鉴定药敏系统。

1.3.2 质谱法鉴定 取 1 μL 标本提取物重复点样于 96 孔不锈钢质谱靶板(Bruker, Bremen, Germany),待干燥后再覆以 1 μL 甲酸(Bruker Daltonics)自然晾干。待干燥后再覆以 1 μL 基质液(HCCA, Bruker Daltonics)自然晾干。完全干燥后,将靶板放入 Bruker Microflex LT/SH MS 质谱仪鉴定,其中,分值>2.000 者,认为能有效鉴定至种水平,分值在 1.700~2.000 者有效鉴定至属水平,而分值<1.700 者则认为鉴定结果不可靠。

1.4 统计学处理 FlexControl 3.0 软件、Biotype 3.0 软件、ChinProTool 3.0 软件(德国 Bruker 公司)用于自动输出质谱可信度分值。Whonet 5.6、SPSS20.0 软件用于统计菌株的分类。

2 结果

2.1 病原菌的分布 排除 5 个假报阳血培养瓶,阳性培养物共分离出 286 株细菌,其中革兰阳性菌 107 株(37.41%),革兰阴性菌 145 株(50.7%),真菌 20

株(7.0%),厌氧菌 2 株(0.7%),少见菌 12 株(4.2%),所有标本均采用 Microflex LT/SH MS 进行了鉴定,详情见表 1。

表 1 Microflex LT/SH MS 鉴定纯菌落结果

病原菌	检测株数	可信度分值		
		1.700~2.000 [株数(分布率)]	>2.000 [株数(分布率)]	<1.700 [株数(分布率)]
革兰阳性菌	107	83(77.6)	64(59.8)	24(22.4)
革兰阴性菌	145	125(86.2)	103(71.0)	20(13.8)
真菌	20	9(45.0)	1(5.0)	11(55.0)
厌氧菌	2	1(50.0)	1(50.0)	1(50.0)
少见菌	12	7(58.3)	5(41.7)	5(41.7)

2.2 革兰阳性菌鉴定结果 107 株革兰阳性菌中 73 株(68.2%)鉴定一致,其中 72 株葡萄球菌属中 45 株(62.5%)鉴定一致,头状葡萄球菌、木糖葡萄球菌鉴定一致率为 100.0%,其次为表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌,而人葡萄球菌、科氏葡萄球菌、缓慢葡萄球菌鉴定一致率仅为 70.8%、42.9%、14.3%,腐生葡萄球菌和沃氏葡萄球菌鉴定一致率仅为 0.0%,一致率欠佳;9 株链球菌属中 6 株(66.7%)鉴定一致,其中咽峡链球菌、缓症链球菌鉴定一致率为 100.0%,而口腔链球菌鉴定一致率为 50.0%,血液链球菌、副血链球菌鉴定一致率为 0.0%,一致率欠佳;21 株肠球菌属中 17 株(81.0%)鉴定一致,其中屎肠球菌、棉子糖肠球菌鉴定一致率为 100.0%,其次为粪肠球菌(83.3%),而鹌鸡肠球菌鉴定一致率为 40.0%,效果不理想;5 株阳性杆菌中 5 株(100.0%)鉴定完全一致。见表 2。

2.3 革兰阴性菌鉴定结果 145 株革兰阴性菌中 121 株(83.5%)鉴定一致,其中 128 株肠杆菌科中 109 株(85.2%)鉴定一致,奇异变形杆菌鉴定一致率为 100.0%,其次为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、黏质沙雷菌、产气肠杆菌,而沙门氏菌属鉴定一致率仅为 50.0%,而霍氏肠杆菌、产酸克雷伯菌为 0.0%,一致率欠佳;17 株非发酵菌中 12 株(70.6%)鉴定一致,其中嗜水气单胞菌、洋葱伯克霍尔德菌鉴定一致率为 100.0%,其次为铜绿假单胞菌、嗜麦芽寡养单胞菌,而鲍曼不动杆菌以及不动杆菌某些种鉴定一致率为 50.0%,豚鼠气单胞菌鉴定一致率为 0.0%,一致率欠佳。见表 3。

2.4 真菌鉴定结果 20 株真菌中 14 株(70.0%)鉴定一致,其中近平滑念珠菌、光滑念珠菌鉴定一致率为 100.0%,而白色假丝酵母菌、热带假丝酵母菌鉴定一致率分别为 50.0%、33.3%,一致率欠佳。见表 4。

2.5 厌氧菌和少见菌鉴定结果 2 株厌氧菌中 2 株(100.0%)鉴定一致,12 株少见菌中 7 株(58.3%)鉴定一致,其中,放射形根腐菌、融白魏斯菌、人苍白杆菌、干酪乳杆菌、非发酵棒杆菌以及藤黄微球菌鉴定一致率为 100.0%,而脑膜脓毒性金黄杆菌/脑膜败血

金黄杆菌、鞣丸酮丛毛单胞菌、短杆菌属以及卡他布兰汉菌鉴定一致率均为 0.0%，一致率欠佳。见表 5。

表 2 革兰阳性菌生化鉴定和 Microflex LT/SH MS 鉴定比较[n(％)]

革兰阳性菌	检测株数	可信度分值			
		1.700~2.000[株数(分布率)]	>2.000[株数(分布率)]	<1.700[株数(分布率)]	一致数(一致率)
葡萄球菌属					
金黄色葡萄球菌	17	16(94.1)	15(88.2)	1(5.9)	14(82.4)
表皮葡萄球菌	24	16(66.7)	9(37.5)	8(33.3)	17(70.8)
溶血葡萄球菌	5	3(60.0)	1(20.0)	2(40.0)	3(60.0)
人葡萄球菌	4	4(100.0)	2(50.0)	0(0.0)	2(50.0)
头状葡萄球菌	4	4(100.0)	3(75.0)	0(0.0)	4(100.0)
腐生葡萄球菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
耳葡萄球菌	1	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
缓慢葡萄球菌	7	6(85.7)	5(71.4)	1(14.3)	1(14.3)
沃氏葡萄球菌	1	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
科氏葡萄球菌	7	1(14.3)	0(0.0)	6(85.7)	3(42.9)
木糖葡萄球菌	1	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(100.0)
总	72	54(75.0)	36(50.0)	18(25.0)	45(62.5)
链球菌属					
咽峡链球菌	4	4(100.0)	4(100.0)	0(0.0)	4(100.0)
血液链球菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
缓症链球菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
口腔链球菌	2	1(50.0)	1(50.0)	1(50.0)	1(50.0)
副血链球菌	1	0(0.0)	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)
总	9	7(77.8)	7(77.8)	2(22.2)	6(66.7)
肠球菌					
屎肠球菌	9	8(88.9)	7(77.8)	1(11.1)	9(100.0)
粪肠球菌	6	6(100.0)	6(100.0)	0(0.0)	5(83.3)
鹌鸡肠球菌	5	2(40.0)	2(40.0)	3(60.0)	2(40.0)
棉子糖肠球菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
总	21	17(81.0)	16(76.2)	4(19.1)	17(81.0)
杆菌					
纹带棒状杆菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
蜡样芽孢杆菌	2	2(100.0)	2(100.0)	0(0.0)	2(100.0)
产单核李斯特菌	2	2(100.0)	2(100.0)	0(0.0)	2(100.0)
总	5	5(100.0)	5(100.0)	0(0.0)	5(100.0)
合计	107	83(77.6)	64(59.8)	24(22.4)	73(68.2)

表 3 革兰阴性菌生化鉴定和 Microflex LT/SH MS 鉴定比较

革兰阴性菌	检测株数	可信度分值			
		1.700~2.000[株数(分布率)]	>2.000[株数(分布率)]	<1.700[株数(分布率)]	一致数(一致率)
肠杆菌科					
大肠埃希菌	64	56(87.5)	43(67.2)	8(12.5)	56(87.5)
肺炎克雷伯菌	41	35(85.4)	31(75.6)	6(14.6)	38(92.7)
阴沟肠杆菌	4	3(75.0)	2(50.0)	1(25.0)	3(75.0)
沙门氏菌属	6	5(83.3)	5(83.3)	1(16.7)	3(50.0)
奇异变形杆菌	5	5(100.0)	5(100.0)	0(0.0)	5(100.0)
黏质沙雷菌	3	2(66.7)	1(33.3)	1(33.3)	2(66.7)
霍氏肠杆菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
产酸克雷伯菌	1	0(0.0)	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)
产气肠杆菌	3	3(100.0)	3(100.0)	0(0.0)	2(66.7)

续表 3 革兰阴性菌生化鉴定和 Microflex LT/SH MS 鉴定比较					
革兰阴性菌	检测株数	可信度分值			
		1.700~2.000[株数(分布率)]	>2.000[株数(分布率)]	<1.700[株数(分布率)]	一致数(一致率)
总	128	110(85.9)	91(71.1)	18(14.1)	109(85.2)
非发酵					
单胞菌属					
铜绿假单胞菌	6	4(66.7)	3(50.0)	2(33.3)	5(83.3)
嗜麦芽寡养单胞菌	4	4(100.0)	3(75.0)	0(0.0)	3(75.0)
嗜水气单胞菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
豚鼠气单胞菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
洋葱伯克霍尔德菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
不动杆菌属					
鲍曼不动杆菌	2	2(100.0)	1(50.0)	0(0.0)	1(50.0)
不动杆菌某些种	2	2(100.0)	2(100.0)	0(0.0)	1(50.0)
总	17	15(88.2)	12(70.6)	2(11.7)	12(70.6)
合计	145	125(86.2)	103(71.0)	20(13.8)	121(83.5)

表 4 真菌生化鉴定和 Microflex LT/SH MS 鉴定比较					
真菌	检测株数	可信度分值			
		1.700~2.000[株数(分布率)]	>2.000[株数(分布率)]	<1.700[株数(分布率)]	一致数(一致率)
近平滑念珠菌	7	3(42.9)	1(14.3)	4(57.1)	7(100.0)
白色假丝酵母菌	8	3(37.5)	1(12.5)	5(62.5)	4(50.0)
热带假丝酵母菌	3	2(66.7)	0(0.0)	1(33.3)	1(33.3)
光滑念珠菌	2	2(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(100.0)
合计	20	10(50.0)	2(10.0)	10(50.0)	14(70.0)

表 5 厌氧菌和少见菌生化鉴定和 Microflex LT/SH MS 鉴定比较					
病原菌	检测株数	可信度分值			
		1.700~2.000[株数(分布率)]	>2.000[株数(分布率)]	<1.700[株数(分布率)]	一致数(一致率)
厌氧菌					
缺陷乏养菌	1	0(0.0)	0(0.0)	1(100.0)	1(100.0)
脆弱拟杆菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
合计	2	1(50.0)	1(50.0)	1(50.0)	2(100.0)
少见菌					
脑膜脓毒性金黄杆菌/脑膜败血金黄杆菌	1	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
放射形根腐菌	2	1(50.0)	1(50.0)	1(50.0)	2(100.0)
鞣丸酮丛毛单胞菌	2	1(50.0)	0(0.0)	1(50.0)	0(0.0)
融白魏斯菌	1	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(100.0)
人苍白杆菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
干酪乳杆菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
非发酵棒杆菌	1	0(0.0)	0(0.0)	1(100.0)	1(100.0)
短杆菌属	1	0(0.0)	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)
卡他布兰汉菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)
藤黄微球菌	1	1(100.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
合计	12	8(66.7)	5(41.7)	4(33.3)	7(58.3)

2.6 不同培养瓶的鉴定结果 291 个阳性血培养瓶中,排除 5 个假报阳血培养瓶(3 个需氧瓶,2 个厌氧瓶)。286 个阳性瓶中,191 个为需氧瓶,95 个为厌氧瓶;其中 143 个(74.9%)需氧瓶、85 个(89.5%)厌氧瓶获得的细菌鉴定可信度分值均 >1.700 ,鉴定到了属以上水平;其中 104 个(54.5%)需氧瓶、71 个(74.7%)厌氧瓶获得的细菌鉴定可信度分值 >2.000 ,鉴定到种水平。

3 讨论

血流感染严重危及患者的生命,传统的培养鉴定方法耗时长,无法满足临床需要,而血流感染确诊又依赖于血培养标本的实验室检测。因此,如何对血培养阳性标本进行快速、准确的菌种鉴定已经成为重中之重。国内外不少学者为此不断进行实验,以攻克这一难题。近年来,临床微生物实验室中,MALDI-TOF MS 在单菌落上应用快速、准确、操作简单而迅速得到推广。对于临床常见菌,MALDI-TOF MS 可将 84.1%~93.6% 的细菌准确鉴定至菌种水平^[4]。而对于临床难培养的细菌以及少见菌,MALDI-TOF MS 更展现出常规生化反应无法企及的优势^[5]。本研究发现,质谱可信度 >2.000 分值排行以革兰阴性菌(71.0%)为首,其次是革兰阳性菌(59.8%),厌氧菌(50.0%),少见菌(41.7%),真菌(10.0%);且质谱鉴定结果一致性结果是革兰阴性菌为 83.5%,革兰阳性菌为 68.2%,真菌为 70.0%,厌氧菌为 100.0%,少见菌为 58.3%,这与以往报道质谱对革兰阴性菌鉴定准确率高于革兰阳性菌相同^[6];而在常见革兰阳性菌诸如金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、纹带棒状杆菌、粪肠球菌,尤其是屎肠球菌鉴别中,以及常见革兰阴性菌诸如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、奇异变形杆菌等的鉴别中,质谱的准确率呈现,相当高的现象。本研究发现,在真菌诸如近平滑念珠菌以及光滑念珠菌等,厌氧菌诸如脆弱拟杆菌等,以及少见菌藤黄微球菌等,质谱依然呈现出非常高的一致性;对于葡萄球菌属主要目的在于区分金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌,而质谱对两者的鉴别诊断较为准确。本研究挑取单个纯培养菌落快速鉴定得到种、属水平的鉴定报告,从而上报临床二级报告,仅仅需要几分钟,而目前实验室常规仅能报告革兰染色结果,种属鉴定还需要额外的 24~48 h。而时间对于血流感染,尤其是对重症患者非常关键^[7]。因此,在血流感染诊疗中如果采用本技术,结合当地的耐药性检测数据,就能合理选择抗感染治疗方案,即能够覆盖可能的病原体,又可以防止广谱抗菌药物的过度使用。

本研究仍存在不足之处,如果由于成本原因,对

于两种方法鉴定一致的结果并未采用第 3 种方法确认;由于厌氧菌数量较少(2 株),虽鉴定完全一致,但不足以说明大范围情况。然而,本研究结果支持质谱法能直接准确、快速鉴定单个纯培养细菌。总之,采用质谱法能快速、简便、准确地鉴定血培养中的常见菌,可满足临床对血流感染常见病原菌快速诊断的需求,为临床早期开展合理的抗菌药物治疗,从而提高血流感染患者的生存率。质谱操作简单,实用性强,适合在临床微生物实验室中推广应用。

参考文献

- [1] GREENBERG J A, DAVID M Z, PITRAK D L, et al. Prior infections are associated with increased mortality from subsequent blood-stream infections among patients with hematological malignancies[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014, 33(9): 1615-1621.
- [2] SEBOXA T, AMOGNE W, ABEBE W A, et al. High mortality from blood stream infection in Addis Ababa, Ethiopia, is due to antimicrobial resistance[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144944.
- [3] WATTAL C, OBEROI J K. Microbial identification and automated antibiotic susceptibility testing directly from positive blood cultures using MALDI-TOF MS and VITEK 2[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016, 35(1): 75-82.
- [4] WANG M C, LIN W H, YAN J J, et al. Early identification of microorganisms in blood culture prior to the detection of a positive signal in the BACTEC FX system using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2015, 48(4): 419-424.
- [5] RODRIGUEZ-LUCAS C, RODICIO M R, COSTALES I. Evaluation of sepsis flow chip for identification of gram-negative bacilli and detection of antimicrobial resistance genes directly from positive blood cultures[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2018, 91(3): 205-209.
- [6] LI C, DING S, HUANG Y, et al. Detection of AmpC beta-lactamase-producing Gram-negative bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Hosp Infect*, 2018, 99(2): 200-207.
- [7] JEON Y D, SEONG H, KIM D, et al. Impact of matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometric evaluation on the clinical outcomes of patients with bacteremia and fungemia in clinical settings lacking an antimicrobial stewardship program: a pre-post quasi experimental study[J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1): 385-391.