

RAPPORT

2022

STRATEGIMØTE 2019

Diagnostikk av blodkultur

Program • Oppsummering • Bakgrunnsinformasjon

Programkomité:

Mina Øydis Høie

Christoffer Lindemann

Einar Nilsen

Aasmund Fostervold (leder)

Strategimøte 33, 2019
Diagnostikk av blodkultur

30.OKTOBER 2019, KL 09.30-16.00
Gjestehuset Lovisenberg

Programkomité:

Mina Øydis Høie, Christoffer Lindemann, Einar Nilsen
Aasmund Fostervold (leder)

Utgitt av Folkehelseinstituttet
Område for smittevern
Avdeling for bakteriologi
November 2021
Tittel: Diagnostikk av blodkultur

Forfatter(e):

Aasmund Fostervold
Mina Øydis Høie
Christoffer Lindemann
Einar Nilsen

Redaktør:

Astrid Louise Wester

Publikasjonstype:

Strategirapport medisinsk mikrobiologi

Oppdragsgiver:

Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi ved Referansegruppen for ekstern kvalitetsvurdering i bakteriologi, mykologi og parasittologi

Bestilling:

Rapporten kan lastes ned som pdf
på Folkehelseinstituttets nettsider: www.fhi.no

Grafisk designmal:

Per Kristian Svendsen og Grete Sømmer

Grafisk design omslag:

Fete Typer

ISBN elektronisk utgave 978-82-8406-272-3

Sitering: Fostervold A, Høie MØ, Lindemann C, Nilsen E. Diagnostikk av blodkultur. Rapport 2021. Oslo: Folkehelseinstituttet.

Forord

Det 33. strategimøtet i regi av Referansegruppen for eksterne kvalitetsvurderinger i bakteriologi, mykologi og parasittologi ble gjennomført den 30. oktober 2019 på Gjestehuset Lovisenberg i Oslo, og handlet om diagnostikk av blodkultur. På møtet deltok 50 personer fra landets medisinsk-mikrobiologiske laboratorier.

Ansvarlig programkomité, som også har ferdigstilt denne avsluttende rapporten, besto av Aasmund Fostervold (leder), Christoffer Lindemann, Einar Nilsen og Mina Øydis Høie. Strategirapporten inneholder en oppsummering med anbefalinger formulert som spørsmål og svar, basert på innlegg og etterfølgende diskusjoner. Oppsummeringen er utarbeidet av programkomitéen i forståelse med innlederne. Rapporten inneholder også sammendrag av alle innleggene (distribuert før møtet), samt resultater av en spørreundersøkelse utført før møtet.

Programkomiteen arbeidet på oppdrag fra Referansegruppen for ringtester og strategimøter i bakteriologi, mykologi og parasittologi. Bak sistnevnte står Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi, som er et kollegialt forum for mikrobiologer med medisinsk ansvar ved landets laboratorier, forankret i avtaler om nasjonalt samarbeid mellom Folkehelseinstituttet og de enkelte mikrobiologiske laboratoriene i Norge.

Rapporten gjenspeiler det samlede norske medisinsk-mikrobiologiske miljøets beste kunnskap og praksis for å sikre god kvalitet og klinisk tidsrelevans for blodkulturdiagnostikk i Norge. Rapporten er å anse som veiledende for laboratorienes arbeid innen blodkulturdiagnostikk.

Oslo, 20.01.2022

For Referansegruppen i bakteriologi, mykologi og parasittologi
Astrid Louise Wester

Innhold

Del I - SAMMENDRAG OG ANBEFALINGER	6
1 Resultater fra questback utført oktober 2019	6
2 Indikasjon for blodkultur	10
3 Prøvetaking, oppbevaring og transport	11
4 Logistikk	14
5 Standarddiagnostikk	15
6 Hurtigdiagnostikk fra positive blodkulturer	18
7 Rapportering, rådgivning og kommunikasjon av prøvesvar	20
8 Vurdering av funn som kan være kontaminanter	21
9 Bruk av blodkulturmedier til annet enn blod	23
10 Kvalitetsindikatorer ved blodkulturdiagnostikk	25
11 Biosikkerhet («Biosafety»)	26
Del II – VEDLEGG	26
V1 Program	27
V2 Innlegg til Strategimøte blodkultur (sendt ut på forhånd)	28
V3 Deltakerliste	77

Forkortelser

ASP	Antimicrobial Stewardship Program
AST	Antimicrobial Susceptibility Testing
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (USA)
CEN	Committee for European Standardization
CFU	Colony Forming Unit
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute (USA)
CNS	Central Nervous System
EPJ	Elektronisk pasientjournal
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
HACEK	<i>Haemophilus, Aggregatibacter, Cardiobacterium, Eikenella, Kingella</i>
IDSA	Infectious Diseases Society of America
ID	Identifikasjon
IVD	In vitro-diagnostisk utstyr
ISO	International Organization for Standardization (USA)
KAD	Kommunal akutt døgnenhet
KNST	Koagulase-negative stafylokokker
LIS	Lege i spesialisering
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight
NORM	Norsk overvåkningssystem for antibiotikaresistens hos mikrober
PFGE	Pulse Field Gel Electrophoresis
PPV	Positiv prediktiv verdi
RAST	Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing
SLP	Sammenliknende laboratorieprøving
SVK	Sentralt venekateter
TTP	Time To Positivity
VK	Vaskulært kateter
WHO	World Health Organization

Del I - SAMMENDRAG OG ANBEFALINGER

1 Resultater fra questback utført oktober 2019

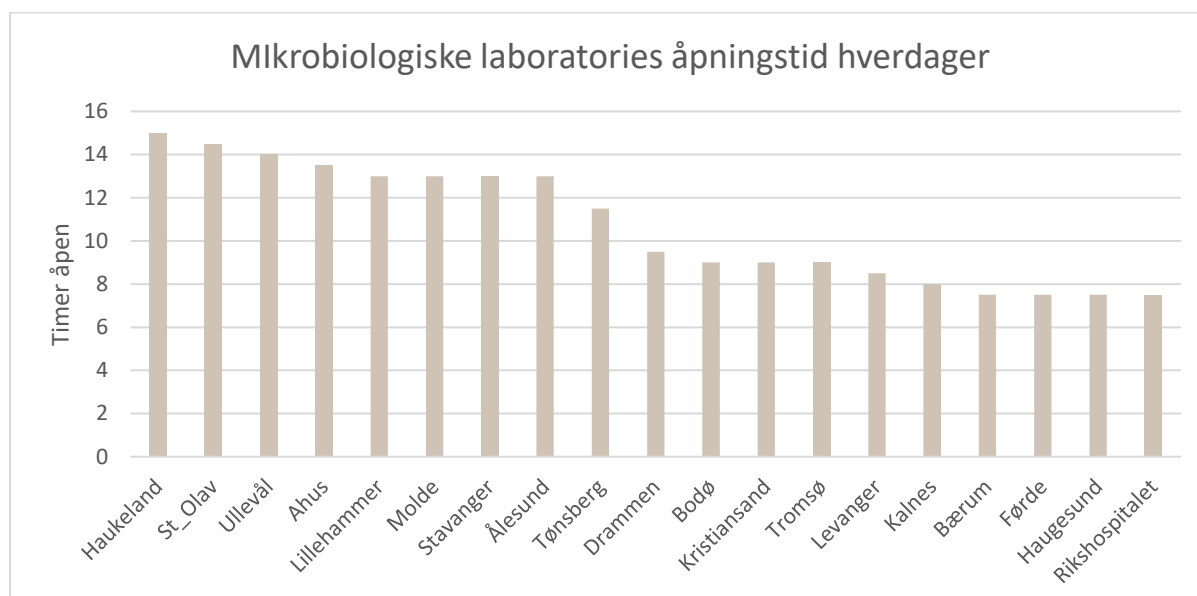
Questbacken i forkant av møtet hadde som formål å vise noen sentrale elementer relevante for blodkulturdiagnostikken, 19 laboratorier har levert besvarelse.

1.1 Generelt

MALDI-TOF finnes nå i 17 av 19 laboratorier (15 har BRUKER, 2 VITEK MS). 14 av 19 oppgir at de er akkrediterte.

1.2 Åpningstider og tilgjengelighet

Av 19 laboratorier er 17 åpne 7 dager i uken, mens to 2 er stengt søndager. Åpningstiden spenner fra 7,5 til 15 timer på hverdager, mens det for helg ligger fra 6 til 8 timer. Universitetslaboratoriene (svarte søyler) har i hovedsak de lengste åpningstidene.



Figur 1. Åpningstid på hverdag for mikrobiologiske laboratorier. Universitetssykehus vist med svarte søyler.

Ni laboratorier (5 av 7 universitetssykehus) har etablert en eller annen form for hjemmevakt, hvor 6 har utrykningsplikt. Åtte av 9 har tilgang til LIS hjemme, mens 7 av 9 har tilgang til elektronisk pasientjournal.

1.3 Inkubering av blodkulturflasker

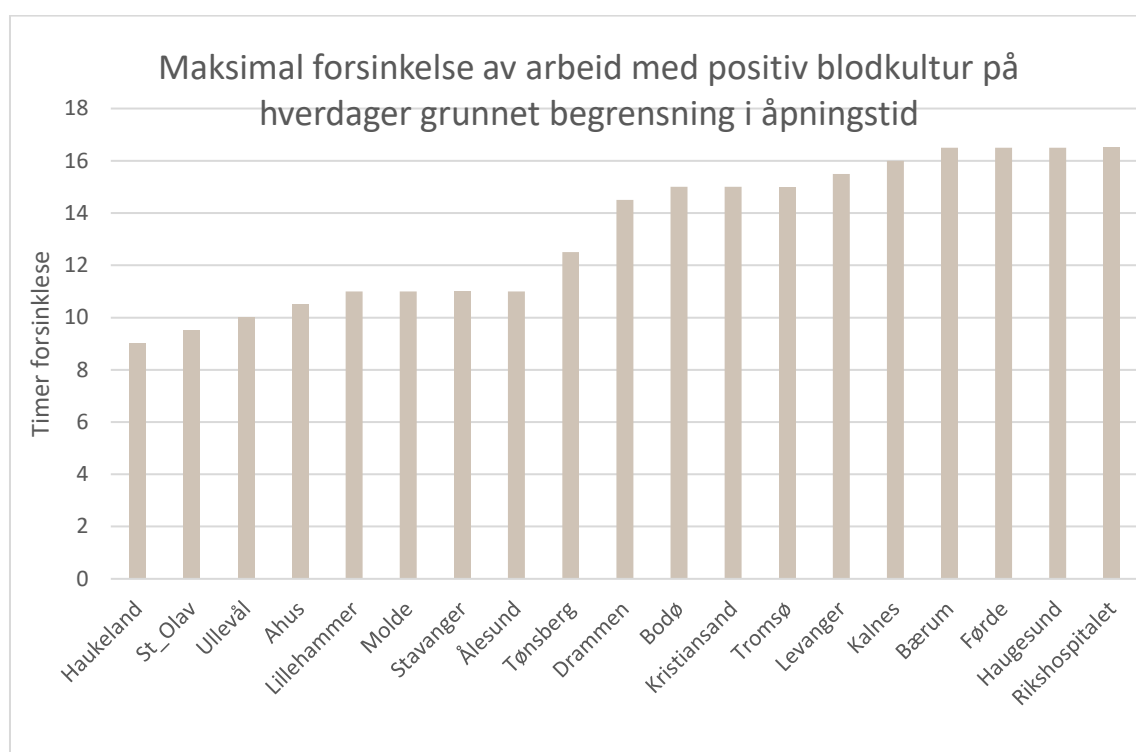
Alle laboratoriene har avtale med en annen avdeling, i hovedsak medisinsk biokjemi, om innsetting av flasker i inkubatorskap når laboratoriet ikke er betjent. I noen tilfeller er inkubatorskap plassert utenfor laboratoriet, f.eks. i akuttmottak. Det er flere ulike avtalevarianter; kontinuerlig innsetting, innsetting på faste tidspunkt eller innsetting frem til gitt tidspunkt på kvelden. I det siste tilfellet blir flasker tatt senere på natten stående på benk til

neste dag. To laboratorier angir at avtalen kun gjelder for noen av sykehusets avdelinger, og at flasker fra andre avdelinger blir stående på benk til neste dag.

1.4 Håndtering av positive flasker

Ved 17 laboratorier blir flasker som flagger ut som positiv stående i inkubatorskapet til laboratoriet åpner. Hos de to siste sår ett laboratorium ut flasker frem til kl.24 og ett sår ut første positive flaske fra pasient og lager mikroskopipreparat utenfor laboratoriets åpningstid.

Begrensninger i åpningstid gir en forsinkelse i videre håndtering av flasker som blir positive. Maksimal forsinkelse på hverdager, som følge av åpningstid er vist nedenfor, universitetslaboratoriene er vist med svarte søyler. For helgedagene er maksimal forsinkelse for alle laboratoriene 16-18 timer. De to søndagsstengte laboratoriene har en maksimal forsinkelse fra lørdag til mandag på 41 timer.



Figur 2. Maksimal forsinkelse (timer) i prøvebehandling på hverdager på grunn av begrenset åpningstid for mikrobiologiske laboratorier. Universitetssykehus vist med svarte søyler.

1.5 Blodkulturdiagnostikk ved sykehus uten mikrobiologisk laboratorium

Alle laboratorier unntatt ett betjener fra en til fem andre sykehus. Av 37 sykehus uten eget mikrobiologisk laboratorium, har 35 egne inkubatorskap. Fire av disse 35 sykehusene gjør mikroskopi, en gjør tillegg direkte rør-koagulase og pneumokokk-antigentest, og en i tillegg utsæd, identifikasjon og resistensbestemmelse. De resterende 29 sender positive flasker til det mikrobiologiske laboratoriet uten videre undersøkelse.

1.6 Inkuberingsvarighet

16 laboratoriene har 5 døgn som standard inkuberingstid og rutiner for forlenget inkubering. Tre laboratorier har 6 døgn standard inkubering, hvorav to ikke har rutiner for forlenget inkubering.

Inkuberingsvarighet			
Indikasjon	7 dager	10 dager	14 dager
Sopp	10	1	
Endokarditt	10		3
Septisk artritt	1		
<i>Bartonella</i>	1		
<i>Brucella</i>	1	1	4*
<i>Fransicella</i>			2
Bitt	2		
Nyfødtintensiv/prematur	2		

*ett laboratorium inkuberer i 12 dager

1.7 Bruk av hurtigtester

Alle laboratoriene angir at de benytter en eller annen form for hurtigtest.

	Fenotypisk hurtig test	Molekylær hurtigtest
Identifikasjon	MaldiTOF: 11 Aggl.test: 6	PCR: 2
Resistensbestemmelse	MIC-strip: 2 Disk diff.: 6 RAST: 0 Vitek:1 Ikke angitt:1	PCR: 1

1.8 Formidling av foreløpige resultater

a) Hvordan formidles foreløpige svar:

	Kun muntlig	Kun skriftlig	Skriftlig og muntlig
Mikroskopi	1	1	17
Identifikasjon			19
Resistensbestemmelse		7*	12

*3 laboratorier angir at de gir muntlig svar ved spesielle problemstillinger

b) Hvem formidler og tar imot muntlige svar:

Formidler muntlige svar	Tar imot muntlige svar ved pasientens avdeling
Bioingeniør: 2 Bioingeniør eller lege: 11 Lege: 6	Alle ansatte ved pasientens avdeling: 3 Lege, sykepleier eller adm.personell : 3 Lege eller sykepleier: 13 (5 angir at de primært søker lege)

1.9 Gis det aktivt råd om behandling eller diagnostikk ved formidling av resultater?

Aktivt råd?	Antall
Alltid	7
Bare for predefinerte problemstillinger eller når besvarer eller mottaker anser det nødvendig	11
Bare når besvarer eller mottaker anser det nødvendig	1

1.10 Kvalitetskontroll

Ni av 19 laboratorier angir at de følger kvaliteten på blodkulturdiagnostikken med egne kvalitetsindikatorer (når en ser bort fra SLP og ringtester knyttet til identifikasjon og resistensbestemmelse). Fire kontrollerer jevnlig flasker for vekst av vanlige mikrober. Seks angir at de regelmessig måler tid til identifikasjon, resistensbestemmelse eller lignende. En lab følger fyllingsvolum.

2 Indikasjon for blodkultur

2.1 Hva er indikasjonene for å ta blodkultur?

Indikasjon for å anlegge blodkultur er mistanke om alvorlig infeksjon. Detaljerte prosedyrer med hensyn til indikasjon bør ta hensyn til lokale forhold og utarbeides i tett samarbeid med klinikere for å balansere overforbruk mot faren for å overse syke pasienter.

Ved (mistanke om) følgende tilstander bør blodkultur tas:

- a) Sepsis / septisk sjokk
- b) Nøytropen feber
- c) Vaskulære infeksjon (f.eks. endokarditt)
- d) Bakteriell meningitt
- e) Akutt osteomyelitt
- f) Fremmedlegemeinfeksjoner (intravasale katetre, proteser)

Ved følgende tilstander bør blodkultur overveies basert på klinikk:

- g) Pyelonefritt
- h) Pneumoni
- i) Alvorlige hud- /bløtvevsinfeksjoner

2.2 Kan blodkultur erstatte prøvetaking fra infeksjonsfokus?

Nei, men blodkultur kan være et supplement:

- a) Ved dyp infeksjon og manglende tilgang til adekvat prøvemateriale.
- b) Der økt sensitivitet kan oppnås ved å kombinere venøs blodkulturtaking med biopsihøsting, f.eks. ved spondylodiskitt.

2.3 Bør blodkulturer tas utenfor sykehus?

- a) Ja, i de tilfeller der det er aktuelt med oppstart av antibiotikabehandling før transport til sykehus (f.eks. ved oppstart av sepsisbehandling før transport).
- b) Generell bruk i sykehjem, kommunal akutt døgnetenhet (KAD) og sengeplasser ved legevakt er av tvilsom nytte. Dersom det av lokale hensyn er aktuelt må det i samarbeid med klinikere og lokalt personell utarbeides gode prosedyrer som ivaretar indikasjonsstilling og korrekt prøvetaking. Likeledes må det finnes plan for rask transport av blodkulturer til laboratoriet og hvem som kan ta imot og håndtere et positivt svar.

3 Prøvetaking, oppbevaring og transport

Alle sykehus bør ha skriftlige prosedyrer for taking av blodkulturer. En nasjonal prosedyre for prøvetaking av blodkultur er utarbeidet i regi av Bioingeniørfaglig institutt/NITO. <https://www.helsebiblioteket.no/fagprosedyrer/ferdige/blodkultur-provetaking>

3.1 Hvilket anatomisk prøvetakingssted bør benyttes?

Anbefalt prøvetakingssted er perifer vene.

3.2 Kan arteriell prøvetaking benyttes?

Ja, dersom det er hensiktsmessig. Om mulig bør prøven tas ved nytt innstikk og ikke fra inneliggende arteriekran.

3.3 Kan alle blodkulturflaskene tas fra samme stikk?

- a) Ny dokumentasjon tyder på at dette kan gjennomføres, men flere studier trengs før en kan komme med en klar anbefaling.
- b) Der pasienten er vanskelig å stikke bør totalt blodvolum prioriteres over multiple stikk.

3.4 Kan blodkulturer tas fra vaskulære kateter?

Ja, men bør suppleres med prøvetakning fra perifer vene for å ta høyde for evt. koloniserende flora på kateteret som ikke representerer bakteriemi. Skylling av kateter eller kasting av det første blodet som aspireres gjennom kateteret anbefales ikke.

3.5 Hva slags desinfeksjonsmiddel bør bruke før prøvetaking?

Klorheksidinsprit er førstevalg, unntatt hos små barn (< 2 mnd) hvor 70% etanol anbefales. Desinfeksjonsmiddelet må appliseres i rikelig mengde og får tid til å tørke, minimum 30 sekunder.

3.6 Kan blodkulturer tas dersom det er startet antibiotikabehandling?

- a) Ja, men prøvetaking bør skje like før neste antibiotikadose, når antibiotikakonsentrasjonen er på sitt laveste.
- b) Dersom det kun er gitt en dose ved oppstart av behandling bør prøvetaking skje så raskt som mulig.

3.7 Kan blodkulturer tas under pågående infusjon?

- a) Prøvetaking bør om mulig gjøres i ekstremitet uten pågående infusjon.
- b) Dersom det ikke kan tas prøve fra annen lokalisasjon bør venøs prøvetaking skje distalt for infusjonsinngangen.

3.8 Hvordan kan blodkultur tas for å påvise blodbaneinfeksjon med utgangspunkt i intravasalt kateter?

En bør vurdere samtidig prøvetaking fra kateter (1 sett) og perifer vene. Forskjell i «tid til positiv blodkultur» på over 2 timer mellom kateter og perifer prøve kan indikere kateterrelatert infeksjon.

3.9 På hvilket tidspunkt bør blodkulturer tas?

Blodkulturer bør anlegges så snart som mulig etter symptomdebut, og blodkultursettene kan tas samtidig. Det er ikke holdepunkt for å anpasse prøvetaking til frysninger og febertopper, eller ha periodisert prøvetaking (f.eks. 1 sett hver 6. time) for å påvise en transient bakteriemi. For prøvetaking ved pågående antibiotikabehandling, se punkt 3.6.

Selv for endokarditt er det ikke vist at periodisert prøvetaking gir økt sensitivitet, men i de tilfeller hvor det er viktig å demonstrere persisterende bakteriemi over tid, kan repetert prøvetaking være aktuelt. Se også punkt 3.12 om endokarditt.

3.10 Hvor mange blodkulturflasker bør tas hos voksne?

Som hovedregel anbefales 2 blodkultursett, der hvert sett består av aerob og anaerob flaske, totalt 4 flasker. Flaskene bør fylles opp til leverandørens anbefalte maksimale volum, og totalvolum bør være rundt 40 ml. Et ekstra sett kan vurderes for å øke sensitiviteten.

Ved mistanke om invasiv soppinfeksjon, se «Strategirapport om soppinfeksjoner» fra 2013, for endokarditt: Se punkt 3.12

3.11 Hvor mange blodkulturflasker bør tas hos barn?

Hos pediatriske pasienter tilpasses flaskevalg og anbefalt volum kroppsvekt, etter veileder utarbeidet av pediatriforeningen.

<https://www.helsebiblioteket.no/pediatriveiledere?menuitemkeylev1=5962&menuitemkeylev2=5965&key=144441>)

3.12 Hvor mange blodkulturflasker bør tas ved diagnostikk av endokarditt?

Ved mistanke om endokarditt bør det tas 3 blodkultursett i løpet av en time før oppstart av behandling. Hvis behandlingsstart avventes, og blodkulturene er foreløpig negative, anbefales 1-2 nye sett neste dag.

Ytterligere prøvetaking kan være aktuelt for å demonstrere persisterende bakteriemi (Duke major kriterium)], da fortrinnsvis neste dag. Lokal prosedyre for endokardittdiagnostikk bør etableres i tett samarbeid med lokale klinikere.

3.13 Er blodkultur aktuelt som kontroll av behandlingseffekt?

Ja, i noen tilfeller. Dette kan gjelde tilstander hvor behandlingsslengde beregnes fra første negative blodkultur eller hvor det ikke er tilstrekkelig effekt av pågående behandling. Se for øvrig bakgrunnsmateriale, listen er ikke uttømmende.

3.14 Oppbevaring og transport

- a) Blodkulturflaskene må settes til inkubering så raskt som mulig etter prøvetaking. På alle sykehus som har blodkulturskap bør det derfor være mulighet for å legge inn flasker gjennom hele døgnet, også utenom åpningstidene til det mikrobiologiske laboratoriet.
- b) Blodkulturflasker med prøvemateriale kan dersom nødvendig, oppbevares utenfor inkubator innenfor leverandørens tid og temperaturgrenser. Dersom disse fravikes, bør det gjøres blindutsæd før flasken anbringes i inkubatorskapet.

4 Logistikk

4.1 Hvor lang tid bør det maksimalt gå fra blodkultur er tatt til den er satt i inkubatorskap?

Mindre enn 4 timer. Dette innebærer at alle sykehus som behandler pasienter med infeksjonstilstander må ha automatiserte inkubatorsystemer tilgjengelig for inkubering av blodkulturflasker hele døgnet.

4.2 Hva slags tidsmaal bør gjelde for videre analyser på positive blodkultur, målt fra tidspunkt for utflagging som positiv til svar foreligger?

Test/Analyse	Tid til svar, målt fra tid for positiv flaske
a) Gram-farging	≤ 2 timer
b) Artsidentifikasjon direkte fra BLK-flaske	≤ 4 timer
c) ID fra mikrobeisolat fra skål	≤ 24-48 timer
d) Hurtigresistensbestemmelse direkte fra flaske	≤ 10 timer
e) Resistensbestemmelse direkte fra flaske	≤ 24 timer
f) Resistensbestemmelse mikrobeisolat fra skål	≤ 24-48 timer

Valg av metoder må avgjøres utfra lokal epidemiologi og ressurstilgang.

4.3 Hvordan bør ansvarsforhold organiseres for blodkulturdiagnostikk på sykehus uten mikrobiologisk laboratorium?

Ansaret bør ligge på så få hender som mulig. Teknisk utstyr vil normalt måtte eies av det lokale helseforetaket, men den mikrobiologisk avdeling (eller avdeling som mikrobiologisk diagnostikk normalt hører til) bør ha ansvar for opplæring av lokale bioingeniører, verifisering, organisering, system for rapportering og opplegg for kjøring av kontroller samt deltakelse i SLP-program ved de enkelte analyser.

5 Standarddiagnostikk

5.1 Hvor lenge bør blodkulturer inkuberes?

- a) Anbefalt standard inkubasjonstid for blodkulturer er 5 dager
- b) Mistanke om endokarditt er ikke indikasjon for forlenget inkubasjonstid.
- c) Ved mistanke om infeksjon med *Brucella spp.* eller *Francisella*, anbefales forlenget inkubasjonstid til minimum 7 dager.

5.2 Håndtering av positiv blodkulturflaske - mikroskopi

- a) Første undersøkelse bør være av mikroskopi av Gram-preparat.
- b) Dersom flere positive flasker fra samme pasient bør alle flasker undersøkes med mikroskopi av Gram-preparat.

5.3 Hvordan bør positive flasker med negativt grampreparat håndteres videre?

- a) Utfør mikroskopi av Acridin-preparat. Små Gram-negative staver er vanligste mikrober som overses ved Gram-farging. Både *Brucella spp.* og *Francisella spp.* overses derfor hyppig ved initial vurdering av Gram-preparat. Vurder evt. Calcofluor-white eller Blankophor-mikroskopi ved mistanke om sopp. Se for øvrig Strategirapport om invasive soppinfeksjoner (<https://www.fhi.no/publ/strategimoter/strategimote-nr-27-2013-soppinfeksjoner/>).
- b) Vurder inkubasjonslengde til positivitet. Kort inkubasjonstid (få timer) kan gi mistanke om falsk positiv flaske. Flasker fylt med vesentlig mer blod enn produsentens anbefaling vil oftere flagge ut falsk positiv etter 3- til 6 timer.
- c) Flasker som ikke sikkert kan ansees som falske positive sås ut som vanlig på standard skåler inkludert Sabouraudskål, avleses etter 24 og 48 timer. Ved klinisk mistanke om soppinfeksjon anbefales i tillegg kromogen soppskål. Se for øvrig Strategirapport om invasive soppinfeksjoner (lenke gitt over).
- d) Flaskene inkuberes videre i blodkulturskapet hvis mulig, eller i vanlig inkubatorskap 35°C, men bør da sås ut «blindt» på dag 5.

5.4 Hvilke medier og inkubasjon bør brukes for subkultur av positive blodkulturer?

- a) Standard skåler uansett Gram-funn:
 - a. Aerobe flaske: blodskål (35°C, 5% CO₂), brunskål (35°C, 5% CO₂). *Laktoseskål/ McConkey (35°C, aerob eller 5% CO₂ inkubering) kan velges som standard, eller som tillegg ved gram-negative bakterier i Gram.*
 - b. Anaerob flaske: Uselektiv anaerob skål eks; FAA (Fastidious Anaerobe Agar; anaerob inkubering), blodskål, brunskål. *Laktoseskål/ McConkey (35°C, aerob eller 5% CO₂ inkubering) kan velges som standard, eller som tillegg ved funn av Gram-negative bakterier i Gram-preparat.*
- b) Ved gram funn som tyder på Gram-positiv/Gram-negativ blandingsflora: Tillegg av selektiv Gram positiv skål (35°C, 5% CO₂).

- c) Ved funn som tyder på oppvekst av sopp: Tillegg av Sabouraudskål og kromogen gjærsopp-skål. (35°C, aerob inkubering). Se for øvrig Strategirapport om invasive soppinfeksjoner (lenke gitt over).

5.5 Hvor lenge bør skåler inkuberes?

- a) Skåler avleses med daglig i 3 dager, eller inntil oppvekst av mikrober som passer med gramfunn. Ved mistanke om kravstore mikrober kan avlesning i opptil 5 dager vær indisert før man konkluderer med at mikroben ikke vokser.
- b) Dersom positiv mikroskopi og manglende oppvekst innen 2 døgn:
 - a. Gir klinikk og Gram-funn mistanke om saktevoksende mikrober/mikrober med spesielle vekstkrav?
 - b. Vurder nytt utsæd, evt. på spesialmedier ut fra mistenkt mikrobe.

5.6 Hva slags presisjonsnivå bør endelig identifikasjon ha?

- a) I endelig svar bør man tilstrebe identifikasjon på artsnivå.
- b) Angivelse av serovariant eller virulensegenskaper kan være aktuelt i gitte tilfeller: f.eks. meningokokker.

5.7 Hva slags metode bør endelig identifikasjon være basert på?

- a) MALDI-TOF og molekylære tester utført på kultur kan være eneste identifikasjonsmetode. Annen fenotypisk artsidentifikasjon bør som hovedregel baseres på >1 metode.
- b) Det ble ikke oppnådd konsensus på møte vedrørende behov for verifikasjon av MALDI-TOF identifikasjon utført direkte på blodkultur Se også pkt.6.5
- c) Ved bruk av MALDI-TOF eller molekylær identifikasjon (f.eks. 16S rDNA) bør man vurdere tilleggsmetoder for kjente «problem-mikrober» der definitiv spesiesidentifikasjon er avgjørende for valg av behandling eller epidemiologisk overvåkning. (F.eks *Burkholderia spp.*, *Bacillus spp.* og *Streptococcus spp.*).

5.8 Hvor mange blodkulturflasker bør det gjøres identifikasjon fra?

- a) Ved funn i flere flasker kan det være tilstrekkelig med identifikasjon til artsnivå i en av flaskene dersom alle understående kriterier er oppfylt:
 - a. Flaskene er tatt innenfor samme døgn.
 - b. Det er tydelig morfologisk likhet mellom funn på skål
 - c. Ingen mistanke om polymikrobiell infeksjon, f.eks. intraabdominal infeksjon eller nekrotiserende bløtdelsinfeksjon.
- b) Ved funn i flere flasker med mulig kontaminant(er) anbefales identifikasjon til artsnivå i alle flasker.

5.9 Hva bør resistensbestemmelse i endelig svar være basert på?

Endelig svar bør være basert på standardisert EUCAST- metode, eller i henhold til produsentens CE/IVD godkjente metode. Se også kapittel 6.10.

5.10 Hvor mange flasker bør det gjøres resistensbestemmelse fra?

- a) Ved funn av samme mikrobe i flere flasker tatt innenfor < 24 timer er det tilstrekkelig med resistensbestemmelse i én av flaskene.
- b) Ved manglende behandlingsrespons tross bruk av virksomt middel kan resistensbestemmelse fra mer enn en flaske være aktuelt.

5.11 Må kontaminanter resistensbestemmes?

- a) Ved funn av sannsynlig kontaminant i enkeltflaske anbefales det ikke rutinemessig resistensbestemmelse.
- b) Ved funn i flere flasker av samme 'mulig kontaminant(er)' anbefales resistensbestemmelse av en flaske fra hvert innstikk. Alternativt kan en velge å utføre resistensbestemmelse etter nærmere klinisk vurdering.

5.12 Hvilke midler bør det utføres resistensbestemmelse for?

Antatt reelle funn bør som et minimum resistensbestemmes etter AFAs gjeldende resistenspaneler.

5.13 Hvordan bør repeterte funn håndteres?

Det anbefales ny ID og resistensbestemmelse ved nye positive blodkulturer tatt med >24 timers intervall.

5.14 Hvilke mikrober bør lagres i frysearkiv?

Generelt anbefales det å fryse alle funn i blodkultur med unntak av:

- a) Funn som er vurdert som sikre kontaminanter
- b) Repeterte funn med uendret resistensbestemmelse og fenotypi innenfor samme kliniske episode.

6 Hurtigdiagnostikk fra positive blodkulturer

6.1 Hvem bør tilby hurtig/direkte identifikasjon av mikrober på positive blodkulturer?

- a) Alle mikrobiologiske laboratorier bør utføre direkte/hurtig identifikasjon fra positive blodkulturer.
- b) Lokalsykehus uten mikrobiologisk laboratorium bør utføre hurtig/direkte identifikasjon før sending av positive flasker dersom transport/logistikk som hovedregel forsinker svar til neste dag.

6.2 Hvilke metoder for hurtig identifikasjon direkte fra positive flasker bør brukes av mikrobiologiske laboratorier?

- a) For laboratorier som har MALDI-TOF anbefales bruk av kommersiell eller egenutviklet og validert metode for direkte MALDI-TOF identifikasjon. En kan med fordel vurdere å selv validere lavere score-grenser. Se bakgrunnsinformasjon for referanser som har validert metoder med lave score-grenser.
- b) For laboratorier uten MALDI-TOF anbefales bruk av manuelle eller automatiserte genotypiske eller fenotypiske metoder. Eks: PCR, Vitek2, pneumokokk-antigen.

6.3 Hvilke metoder for hurtig identifikasjon direkte fra positive flasker bør brukes ved lokalsykehus uten mikrobiologiske laboratorier?

- a) Dersom transport til mikrobiologisk laboratorium som hovedregel IKKE medfører forsinkelse av svar til neste dag, anbefales kun bruk av Gram-preparat dersom man velger å utføre hurtigdiagnostikk.
- b) Dersom transport til mikrobiologisk laboratorium som hovedregel forsinker svar til neste dag anbefales bruk av kommersielle helautomatiske systemer som setter lite krav til operatørens kompetanse eller til sikring av analysens sporbarhet.

6.4 Hva gjør man dersom funn ved mikroskopi, men negativt resultat ved første forsøk på direkte MALDI-TOF identifikasjon?

- a) Ved rikelig pellet etter sentrifugering: Utsæd på egnet skål og inkubasjon i 2 – 4 timer før forsøk på MALDI-TOF ID fra slørvekst.
- b) Dersom liten/ingen pellet etter sentrifugering: Videre inkubasjon av flaske i varmeskap i 2-4 timer før nytt forsøk på direkte metodikk.

6.5 Må resultatet av direkte/hurtig identifikasjon bekreftes?

Ved bruk av metode uten CE/IVD-godkjenning, eller dersom metoden ikke gir tilfredsstillende identifikasjon til artsnivå, bør hurtig/direkte identifikasjon gis ut som et foreløpig svar, og bekreftes med CE/IVD godkjente eller standard fenotypiske metoder fra koloni. (Se også pkt. 5.7 vedr. manglende konsensus for direkte MALDI-TOF).

6.6 Bør man utføre direkte/hurtig resistensbestemmelse direkte fra blodkultur?

Det bør utføres direkte resistensbestemmelse for mikrober hvor resistensmønsteret ikke lar seg forutsi ut fra identifikasjon alene.

6.7 Hvem bør tilby hurtig/direkte resistensbestemmelse av mikrober på positive blodkulturer?

- a) Alle mikrobiologiske laboratorier bør utføre hurtig/direkte resistensbestemmelse fra positive blodkulturer.
- b) Lokalsykehus uten mikrobiologisk laboratorium anbefales per i dag ikke å utføre direkte resistensbestemmelse da man anser dagens løsninger som lite egnet i laboratorier uten bred mikrobiologisk kompetanse. Ved nye løsninger som stiller mindre krav til kompetanse, og som sikrer god sporbarhet av resultater, bør dette vurderes ved lokalsykehus hvor transport og logistikk regelmessig forsinker svar til neste dag.

6.8 Bør man bruke fenotypisk eller genotypisk metode for direkte resistensbestemmelse?

Bruk av genotypiske metoder kan gi logistikk og tidsmessige fordeler fremfor fenotypiske metoder, men stiller større krav til egenvalidering og kontinuerlig overvåkning av metodens prediktive verdier, særlig der metoden antyder følsomhet for et antibiotikum.

Fenotypiske metoder anses derfor å være enklere å etablere og kvalitetssikre over tid.

6.9 Hvilken fenotypisk metode bør brukes?

Fenotypiske metoder bør enten være basert på EUCAST metode for avlesning av diskdiffusjon (RAST) etter et gitt antall timer eller publiserte/egenvaliderte metoder.

6.10 Må resultatet av direkte/hurtig resistensbestemmelse bekreftes?

Som hovedregel bør hurtig/direkte resistensbestemmelse gis ut som et foreløpig svar og bekreftes med en EUCAST-anbefalt metode fra koloni. Direkte resistensbestemmelse kan også ha begrenset utvalg av midler som medfører behov for standard resistensbestemmelse. Mange blodkulturisolater registreres inn i NORM og har i derfor behov for standard resistensbestemmelse.

7 Rapportering, rådgivning og kommunikasjon av prøvesvar

Det må her differensieres mellom ren rapportering av funn og faktiske råd om behandling og videre diagnostikk.

7.1 Bør funn gjort med hurtigdiagnostikk alltid kombineres med rådgivning?

Ja, det gir den klart største gevinsten med kortere tid til effektiv terapi, kortere sykehusopphold og redusert mortalitet. I Norge kan det i stor grad bidra til nedskalering av terapi. Det gir også kortere behandlingstid ved oppvekst av kontaminanter.

7.2 Hvem bør gi råd til hvem?

Lege med kompetanse i medisinsk mikrobiologen bør tilstrebe å ringe til behandlende lege.

7.3 Hva bør det gis råd om?

- a) Valg av antimikrobiell terapi.
- b) Mulig infeksjonsfokus, behov for sanering for infeksjonskontroll.
- c) Videre diagnostikk.

7.4 Hvordan bør rådene dokumenteres?

Råd som er gitt må alltid dokumenteres skriftlig, fortrinnsvis i laboratoriets datasystem. Her bør det stå tidspunkt (dato), hvem man har snakket med, evt. hvilke antibiotika pasienten står på, hvilke råd som blir gitt angående antibiotika og evt. antatt infeksjonsfokus. Rådene skrives som en kommentartekst til det foreløpige svaret som gis ut, evt. som et notat i pasientens journal.

7.5 Hvordan kan man sikre at rutinen for rådgivning passer best mulig inn i det kliniske arbeidet?

Laboratoriet bør sammen med kliniske enheter utarbeide en prosedyre for hvordan prøvesvarene skal formidles, til hvem og hvordan dette skal dokumenteres. Sykehusenes antibiotika-team kan være nyttige samarbeidspartnere.

8 Vurdering av funn som kan være kontaminanter

Det er ingen funn eller vekstmønster der man med full sikkerhet kan avgjøre at det dreier seg om kontaminasjon. Klinisk vurdering bør alltid være avgjørende.

8.1 Hvilke bakterier kan gi mistanke om kontaminasjon hos voksne?

- a) De vanligste kontaminantene er: koagulase negative stafylokokker (KNST) (unntatt *S. lugdunensis*), *Micrococcus spp.*, *Cutibacterium spp.*, *Bacillus spp.* (unntatt *B. anthracis*), *Corynebacterium spp.* (unntatt *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* og *C. pseudotuberculosis*) og viridans-streptokokker.
- b) Erfaringsmessig mulig kontaminanter: *Lactobacillus spp.*, *Neisseria spp.* (unntatt *N. meningitidis* og *N. gonorrhoeae*), *Moraxella spp.*, *Abiotrophia spp.* og *Granulicatella spp.*

8.2 Hvilke bakterier kan gi man mistanke om kontaminasjon hos barn?

Kategorisering av funn som kan være kontaminanter er betydelig usikker hos pediatriske pasienter, og bør alltid gjøres i kombinasjon med klinisk vurdering.

8.3 Hvordan påvirker antall positive flasker og pasientens kliniske tilstand sannsynligheten for kontaminasjon?

- a) En enkelt positiv blodkulturflaske med mikrobe nevnt ovenfor vurderes som sannsynlig kontaminasjon.
- b) Dersom man får vekst av samme bakterie nevnt ovenfor i 2 eller flere flasker, er sannsynligheten for at det dreier seg om en reell bakteriemi større.
- c) Tilstedeværelse av fremmedlegemer, enten permanente (proteser/implantater) eller temporære (f.eks. vaskulære kateter) må avklares før man tar endelig stilling til om funnet skal tolkes som kontaminasjon. Ved fravær av fremmedlegemer vil også funn i flere enn en flaske kunne tolkes som kontaminasjon.

8.4 Kan resistensmønster eller annen fenotypi brukes til å avgjøre om det er samme stamme av KNST i de ulike blodkulturflaskene?

Ulikt resistensmønster, utseende på kolonier eller annen fenotypi øker sannsynligheten for at det dreier seg om kontaminasjon, med stammer med ulikt resistensmønster kan være genotypisk like og pasientens kliniske tilstand og må tas med i vurdering. Tilstedeværelse av fremmedlegemer må også veie tungt i denne vurderingen.

8.5 Kan tid til positivitet brukes til å diskriminere mellom kontaminasjon og bakteriemi?

Oppvekst av mikrober nevnt i pkt. 8.1. etter ≥ 3 dagers inkubasjon har større sannsynlighet for å representere kontaminasjon.

8.6 Kan sammenligning av vekst i blodkultur tatt fra inneliggende vaskulært kateter (VK) og perifer vene skille mellom blodbaneinfeksjon og kontaminasjon?

- a) Blodkultur tatt perifert OG blodkultur(ene) fra VK er positive med samme mikrobe gir mistanke om blodbaneinfeksjon.

- b) Blodkultur(ene) tatt perifert er negative OG blodkultur(ene) tatt fra VK er positive gir mistanke om kateter-kolonisering/infeksjon.

8.7 Hvor mye arbeid bør man gjøre med sikre kontaminanter?

- a) Oppvekst som med sikkerhet skyldes forurensing i laboratoriet, f.eks «nedfall» på skålen under avlesning eller videre arbeid, bør ikke rapporteres ut.
- b) Sikre kontaminanter vurdert ut fra mikrobe og klinikk bør, dersom de rapporters ut, merkes tydelig med «Sannsynlig forurensing» for å unngå usikkerhet hos kliniker.
- c) Resistensbestemmelse og nedfrysning er som hovedregel ikke nødvendig, men kan gjøres dersom det er en tidsbegrenset usikkerhet om funnets tolkning (f.eks. mens man venter på om flere flasker blir positive).

9 Bruk av blodkulturmedier til annet enn blod

9.1 Når kan det være aktuelt å benytte blodkulturmedier for andre materialer enn blod?

Blodkulturmediet kan være et supplement til tradisjonell diagnostikk for prøvematerialer fra normalt sterile områder. Eks:

- a) Pleuravæske
- b) Ascitesvæske
- c) Spinalvæske
- d) Leddvæske
- e) Periprostetiske biopsier.
- f) Peritoneal dialysevæske

9.2 Hvilke fordeler og ulemper er det ved å benytte blodkulturflasker til annet prøvemateriale enn blod?

1. Fordeler:

- a) Enklere og tidsbesparende – Behov for utsæd kun ved positivt signal, og negative kulturer kan rapporteres direkte.
- b) De fleste flaskene inneholder kull/resiner som nøytraliserer en rekke antibiotika.
- c) Kan gi hurtigere diagnostikk.
- d) Kan gi mer sensitiv diagnostikk.
- e) Man oppnår raskere anaerobe forhold dersom materialet blir applisert pasientnært.

2. Ulemper:

- a) Blodkulturmediet er uegnet til mange PCR-analyser, inkludert 16S rDNA.
- b) Ved polymikrobielle infeksjoner kan man potensielt miste saktevoksende mikrober.
- c) Den økte sensitiviteten kan gi utfordringer med kontaminasjon, både ved tolkning av vekst og potensielt større fare for forurensing ved håndtering av flaskene før inkubering.
- d) Mer kostbart enn konvensjonelle dyrkningsmedier.
- e) Kapasitetsproblemer i blodkulturinkubatorskap.

9.3 Hvilke(n) blodkulturflaske bør benyttes?

- a) Normalt bør både aerob og anaerob blodkulturflaske benyttes.
- b) Dersom det ikke er tilstrekkelig med materiale til å bruke begge flasker, må valget baseres på hva som er forventet å finne utfra aktuell problemstilling.
- c) Det er usikkert om pediatrik flaske er mere gunstig ved små volumer., disse er i tillegg kun aerobe.

9.4 Kan blodkulturmedier erstatte tradisjonell anrikningsbuljong (serumbuljong)?

Det er sprikende dokumentasjon om hvorvidt blodkulturmedium kan erstatte tradisjonell anrikningsbuljong (serumbuljong).

9.5 Hvor mye materiale bør benyttes?

Man bør ha minimum 1 mL prøvemateriale per blodkulturflaske.

9.6 Bør det benyttes tilsetninger?

For materialer som ikke er blodtilblandet, bør det tilsettes næringsstoffer dersom anbefalt av produsenten (f.eks. hesteblood eller FOS).

9.7 Hvor lang inkubasjonstid bør brukes?

- a) For standard inkubasjonstid av sterile væsker er det tilstrekkelig med 5 dagers.
- b) Det er sprikende anbefalinger når det gjelder indikasjoner med behov for forlenget inkubasjonstid, eksempelvis
 - 1) For periprostetisk vev kan det være indikasjon for 7 eller flere dagers inkubasjonstid for anaerob flaske.
 - 2) Ved mistanke om HACEK-mikrober, anbefaler noen 7 dagers inkubasjonstid.

9.8 Hvor og hvordan bør deponering av prøvematerialet på blodkulturflasken gjennomføres?

- a) Deponering på blodkulturflasker, og eventuelt forutgående homogenisering, må foregå under sterile forhold for å minske faren for kontaminasjon.
- b) Pasientnær deponering på blodkulturflasker gir sannsynligvis høyest sensitivitet, men kan ha praktiske utfordringer.
- c) Laboratoriet bør vurdere deponering på blodkulturflasker der det ikke er utført pasientnært og det er rikelig med egnet materiale.

10 Kvalitetsindikatorer ved blodkulturdiagnostikk

10.1 Bør laboratoriene benytte indikatorer for å måle kvalitet av egen blodkulturdiagnostikk?

Det finnes ingen europeisk standard som setter fullstendige krav til blodkulturdiagnostikk. Likevel er det bred enighet om at denne diagnostikken bør være gjenstand for en eller flere kvalitetsindikatorer.

10.2 Hvilke krav stilles til en kvalitetsindikator?

- En kvalitetsindikator må være målbar, og man må vite hva man skal sammenligne med.
- En kvalitetsindikator må følges jevnlig og det anbefales bruk av Demings sirkel i forbedringsarbeidet (Planlegg-Utføre-Kontrollere-Korrigere)

10.3 Hvilke kvalitetsindikatorer er aktuelle for blodkulturdiagnostikk?

Tabellen under er forslag til aktuelle kvalitetsindikatorer i prioritert rekkefølge:

	Kvalitetsindikator	Forslag til måltall	Prioritet	Frekvens ^A
Preanalytisk	Blodvolum per flaske (Automatisert eller ved veiing av flaske)	8-10 mL > 80 % aerobe flasker	1	Månedlig
Preanalytisk	Kun ett sett tatt i løpet av 24 timer	< 10 %	2	Kvartal
Postanalytisk	Tid fra flaske tas ut av skap til foreløpig identifikasjon /resistensbestemmelse	< 2 timer	3	Kvartal?
Preanalytisk	Tid til flaske i skap etter prøvetaking	< 4 timer	4	Kvartal?
Preanalytisk	Kontamineringsrate (andel blodkultursett)	< 3 %	5	Årlig
Postanalytisk	Tid fra foreløpig identifikasjon eller resistensbestemmelse til foreløpig rapport	< 2 timer (kan evt. slås sammen med prioritet 3)	6	Kvartal?
Analytisk	% positive blodkultursett	6-12 %	7	Årlig
Postanalytisk	Tid fra flaske flagger ut til den tas ut av skap	2 timer? Måltall må baseres på lokale forhold, inkludert åpningstider.	8	Kvartal?

^A Frekvens vurderes i henhold til lokale forhold. Der kvalitetsindikator er akseptabel over tid, kan det vurderes å forlenge tid mellom målepunktene.

11 Biosikkerhet («Biosafety»)

All håndtering av potensielt smittefarlig materiale, spesielt prosedyrer som øker sjansen for smittespredning som følge av aerosoldannelse, skal være gjenstand for regelmessig risikovurdering på det enkelte laboratoriet. Risikovurdering bør foretas regelmessig, men særlig ved planlegging av nye laboratorier, oppussing av laboratorier, etablering av ny metodikk og endring i prosedyrer, samt etter uhell og hendelser på laboratoriet. Det er viktig å ha en "risk management flow" på laboratoriet. Se bakgrunns materialet for liste over relevant lovgiving og litteratur.

11.1 Er blodkulturdiagnostikk beheftet med risiko for eksponering av smittsomme mikrober i smitterisikogruppe 3?

- a) Ja, blodkulturflasker vil kunne inneholde oppdyrkede mikrober i smitterisikogruppe 3 og blodbårne patogener. (Eksempelvis *F. tularensis*, *Brucella spp.*, *Burkholderia mallei*, *B. pseudomallei*)
- b) Håndtering av positive blodkulturflasker bør foregå i klasse II sikkerhetskabinett.

11.2 Er det spesielle situasjoner der man bør håndtere positive blodkulturflasker i inneslutningsnivå 3 eller sende til beredskapslaboratoriet ved FHI?

- a) Konkret mistanke om infeksjon forårsaket av mikrober i smitterisikogruppe 3 må baseres på kliniske opplysninger gitt av rekvirent, eventuelt basert på tidligere funn eller annen diagnostikk hos den aktuelle pasienten.
- b) Ved mistanke om infeksjon forårsaket av mikrober i smitterisikogruppe 3 må behov for skjerpet håndtering vurderes, gjerne i samråd med ekspertise ved FHI.
- c) Ved klinisk eller mikrobiologisk mistanke om agens i smitterisikogruppe 3, skal ikke arbeid utføres utenfor sikkerhetskabinett, og stammen bør sendes videre til Beredskapslaboratoriet ved FHI for nærmere karakterisering og resistenstesting. Ved sterk klinisk mistanke kan man vurdere å sende prøve direkte for analyse ved Beredskapslaboratoriet. Laboratoriet beholder en delprøve selv for videre analyse dersom det avklares at det ikke foreligger agens smitterisikogruppe 3.
- d) Mikrobiologisk beredskapsvakt FHI må alltid kontaktes per telefon før sending av prøve/isolat.

11.3 Er det særskilte mikroskopifunn som bør medføre skjerpet håndtering av positive blodkulturflasker?

- a) Ved funn av små Gram-negative staver, bør det gjøres en vurdering om sykdomshistorie, inkludert reiseanamnese og mistanke om zoonose, tilsier økt sannsynlighet for at vekst kan være av en mikrobe i smitterisikogruppe 3. (*F. tularensis*, *Brucella spp.*)
- b) Ved funn av store Gram-positive staver, bør det gjøres en vurdering om sykdomshistorie tilsier økt fare for at sykdom skyldes infeksjon med *Bacillus anthracis*.

DEL II - VEDLEGG

V1 Program

Strategimøte om Blodbaneinfeksjoner (bakterier)

Dato: onsdag 30. oktober 2019

Sted: Gjestehuset, Lovisenberg sykehus, Oslo

Programkomite: Einar Nilsen, Mina Øydis Høye, Christoffer Lindemann og Aasmund Fostervold (leder)

Program

Klokkeslett	Tid [min]	Tema	Innleder
09.30		Registrering	
10.00	10	Velkomst	Heidi C. Villmones Aasmund Fostervold
		Møteleder: Mina Høie	
10.10	15	Indikasjon for blodkultur	Christoffer Lindemann
10.25	15	Prøvetaking	Astrid L. Larsen
10.40	15	Prøvelogistikk – valg av strategi	Karina Olsen
10.55	15	PAUSE	
11.10	25	Standarddiagnostikk – en oppdatering	Roar Magne Bævre Jensen
11.35	50	Hurtigdiagnostikk - Fenotypiske metoder - Molekylære metoder	Einar Weme Øyvind Kommedal
12.25	45	LUNSJ	
		Møteleder: Einar Nilsen	
13.10	30	Rapportering, rådgivning og kommunikasjon av prøvesvar	Kristine Berg Brita Skodvin (Skype)
13.40	20	Vurdering av funn som kan være kontaminanter	Aleksandra Jakovljevic
14.00		PAUSE	
14.15	15	Kvalitetsindikatorer	Fredrik Müller
14.30	15	Bruk av blodkulturmedier til annet enn blod	Karianne W. Gammelsrud
14.45	15	Biosafety	Beredskapslaboratoriet
15.00	60	Oppsummering/Tidsbuffer	Programkomiteen
16.00		SLUTT	

V2 Innlegg til Strategimøte blodkultur (sendt ut på forhånd)

V1.1 Indikasjon for blodkultur

(Christoffer Lindeman, Mikrobiologisk avdeling, Haukeland universitetssykehus, Helse Bergen)

Det primære formålet ved bruk av blodkultur som diagnostisk metode er å identifisere pasienter med bakteriemi og fungemi, og videre kunne identifisere og resistensbestemme påviste mikrober[1]. En rekke studier har vist at det å klinisk predikere pasienter med bakteriemi, er vanskelig. Dette gjenspeiles blant annet i den lave positivitetsraten man ser ved blodkulturer (5-10%). Det foreligger flere studier der man har forsøkt å sette spesifikke indikasjonskriterier med det formål å bedre positivitetsraten. Resultatene av disse er svært varierende, men med positivitetsrater opp mot 20% i enkelte grupper[2-5]. Samtidig kan det nevnes at kriteriene «feber og leukocytose» ga en signifikant redusert positivitetsrate (3%) hos en kohort av indremedisinske pasienter[6].

Oppvekst i blodkultur vil ikke bare kunne identifiserer pasienter med bakteriemi, men kan i mange tilfeller også være en hjelp til å identifisere infeksjonsfokus basert på mikrobefunn. Likevel vil ~30% av positive blodkulturer forbli uten identifiserbart infeksjonsfokus[1, 7]. Flere studier har også sett på bakteriemi hos ikke hospitaliserte pasienter med mildere infeksjoner av pyelonefritt og cellulitt med tanke på indikasjon for blodkultur som diagnostisk hjelpemiddel. Studiene viser imidlertid at funn i blodkulturer hos disse pasienten ikke bidrar til riktigere behandling eller diagnose, eller økt overlevelse[8, 9]. Blodkultur hos pasienter med samfunnservervet pneumoni, også hospitaliserte, har også vist å gi dårlig utbytte[4]. Resultatene av disse studiene er summert i Tabell 1.

Tabell 1 Betydning av blodkulturfunn ved ulike diagnoser

Diagnose	Andel med positiv blodkultur	Betydning av funn i blodkultur	Referanse
Akutt pyelonefritt	18-36% (n=657, ~14% menn)	Kun sporadisk ved manglende vekst i urin.	[9]
Cellulitt	4,8% (n=250)	Vekst kun av streptokokker og <i>S. aureus</i> dekket av empirisk behandling.	[8]
Samfunnservervet pneumoni	Inkludert kun pasienter med positiv blodkultur, n=785	4,5% klassifisert som «ekte bakteriemi», hvorav 28% (1,2% av totalen) medførte endring i behandling. 95,4% av blodkulturfunn klassifisert som kontaminant/negativ.	[4]

Foreslått anbefaling/oppsummering indikasjoner

Indikasjon for å anlegge blodkultur er mistanke om alvorlig infeksjon og sepsis. De mikrobiologiske laboratoriene bør være spesielt kritisk til blodkultur som del av diagnostiske pakker, der resultatet kan være villedende og medføre overbehandling. Blodkulturer fra ikke-hospitaliserte pasienter (f.eks. fra KAD-enheter og sengeplasser på legevakter) er av tvilsom nytte, men skal selvsagt tas dersom oppstart av antibiotikabehandling er påkrevet før transport til sykehus.

Referanser indikasjoner

1. Kirn, T.J. and M.P. Weinstein, *Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret*. Clin Microbiol Infect, 2013. **19**(6): p. 513-20.
2. Jin, S.J., et al., *A new statistical approach to predict bacteremia using electronic medical records*. Scand J Infect Dis, 2013. **45**(9): p. 672-80.
3. Laukemann, S., et al., *Can We Reduce Negative Blood Cultures With Clinical Scores and Blood Markers? Results From an Observational Cohort Study*. Medicine (Baltimore), 2015. **94**(49): p. e2264.
4. Lee, J.H. and Y.H. Kim, *Predictive factors of true bacteremia and the clinical utility of blood cultures as a prognostic tool in patients with community-onset pneumonia*. Medicine (Baltimore), 2016. **95**(41): p. e5058.
5. Shapiro, N.I., et al., *Who needs a blood culture? A prospectively derived and validated prediction rule*. J Emerg Med, 2008. **35**(3): p. 255-64.
6. Linsenmeyer, K., et al., *Culture if spikes? Indications and yield of blood cultures in hospitalized medical patients*. J Hosp Med, 2016. **11**(5): p. 336-40.
7. Pien, B.C., et al., *The clinical and prognostic importance of positive blood cultures in adults*. Am J Med, 2010. **123**(9): p. 819-28.
8. Bauer, S., et al., *Blood cultures in the evaluation of uncomplicated cellulitis*. Eur J Intern Med, 2016. **36**: p. 50-56.
9. Mills, A.M. and E.H. Chen, *Are blood cultures necessary in adults with cellulitis?* Ann Emerg Med, 2005. **45**(5): p. 548-9.

V1.2 Prøvetaking, oppbevaring og transport

(Astri Lervik Larsen, Avdeling for mikrobiologi og smittevern, Akershus Universitetssykehus)

Prøvetakingsprosedyre

Alle sykehus bør ha skriftlige prosedyrer for taking av blodkulturer. En nasjonal prosedyre for prøvetaking av blodkultur er under arbeid i regi av Bioingeniørfaglig institutt/NITO.

Ved pågående antibiotisk behandling

Under pågående antibiotikabehandling kan utbyttet være svært usikkert til tross for at mediene inneholder nøytralisasjonsstoffer. Følgende forholdsregler anbefales:

- Revurder diagnosen
- Kontroller ev. intravasale katetre og urinkateter
- Revurder antibiotikabehandling og muligheten for seponering i minst 1 døgn

Internasjonalt anbefales at nye blodkulturer tas når antibiotikakonsentrasjonen er på det laveste.

Forslag til anbefaling: 2 sett blodkulturer like før ny dosering, når antibiotikakonsentrasjonen er på sitt laveste

Ved pågående infusjon

Det er lite å finne om dette i litteraturen. I Clinical Microbiology Procedures Handbook anbefales det at man ikke tar blodkultur fra vene med pågående infusjon, uten at dette utdypes eller begrunnes.

Forslag til anbefaling: Blodkultur bør ikke tas fra vene med pågående infusjon

Ved mistanke om infeksjon i intravasalt fremmedlegeme

I en del internasjonale retningslinjer anbefales det at blodkultur tas fra samme tidspunkt fra kateter og perifer vene ved mistanke om kateterrelatert infeksjon. De fleste anbefaler også på denne indikasjonen å måle TTP (Time To Positivity). Dersom blodkultur fra kateter blir positiv minst 2 timer før blodkultur fra venepunksjon, kan dette tolkes som at kateteret er kilde til infeksjon. Litteraturen er imidlertid ikke entydig, og en del studier finner ikke signifikante forskjeller i TTP. I siste utgave av UK Standards for Microbiology Investigations er derfor anbefalingen om TTP tatt bort.

Forslag til anbefaling: Hvis det er ønskelig spesifikt å evaluere kateterrelatert infeksjon, kan blodkulturer tas på samme tidspunkt fra kateteret og fra perifer vene. Ved flerlumen kateter kan det være en fordel å ta prøve fra alle lumen. Dersom blodkultur fra kateter blir positiv minst 2 timer før blodkultur fra venepunksjon, kan dette være en indikasjon på kateterrelatert infeksjon. Manglende forskjell i TTP kan imidlertid ikke utelukke denne tilstanden.

Prøvetaking fra sentralvenøse katetre (skylling/kasteblood?)

Dette temaet er ikke omtalt i forrige strategirapport. I Clinical Microbiology Procedures Handbook anbefales kasteblood, mens det i en artikkel fra 2009 (Dwivedi S et al) konkluderes med at kasteblood ikke reduserer kontaminasjonsraten. UK Standards for Microbiology

Investigations anbefaler ikke kasteblod, og benytter artikkelen fra Dwivedi som referanse. I utkast til ny nasjonal prøvetakingsprosedyre legges det opp til at kasteblod ikke er nødvendig.

Forslag til anbefaling: Kasteblod anbefales ikke, da det ikke foreligger dokumentasjon på at dette reduserer kontaminasjonsraten.

Valg av desinfeksjon

I de fleste retningslinjer anbefales 70% etanol eller klorheksidinsprit. Det er viktig at desinfeksjonsmiddelet får tid til å tørke, minimum 30 sekunder. Jodholdig desinfeksjon er et alternativ, men skal ikke benyttes på blodkulturflaskens membran. Klorheksidinsprit kan være toksisk for små barn.

Forslag til anbefaling: Desinfeksjon av prøvetakingssted med 70% etanol eller klorheksidinsprit anbefales. Klorheksidinsprit frarådes ved prøvetaking av små barn (< 2 måneder).

Anatomisk prøvetakingssted

Internasjonale retningslinjer er samstemte i at anbefalt prøvetakingssted er perifer vene. Det er ikke vist at arterieblod skulle gi bedre utbytte, kanskje med unntak av ved disseminert soppinfeksjon. Prøvetaking fra lyske bør unngås ettersom tilstrekkelig desinfeksjon er vanskelig fra dette området. Prøvetaking gjennom kateter skal som hovedregel unngås fordi blodet lett forurenses med bakterier som har kolonisert katetret. Prøvetaking fra kateter kan imidlertid være aktuelt ved mistanke om kateterrelatert infeksjon (se over), eller dersom annet prøvetakingssted ikke er mulig. Informasjon om slik prøvetaking må alltid fremkomme på rekvisisjonen til laboratoriet.

Prøvetaking fra benmarg kan være aktuelt, for eksempel ved mistanke om tyfoidfeber, brucellose, soppinfeksjon eller infeksjon med mykobakterier. Dyrkning fra benmarg kan også være til nytte ved subakutt endokarditt

Forslag til anbefaling: Anbefalt prøvetakingssted er perifer vene.

Tidspunkt

Det er etter hvert mye dokumentasjon på at tidspunkt i forhold til frysninger og febertopper har liten betydning. Ettersom det ikke er funnet forskjell i utbytte i forhold til prøvetaking med en tids mellomrom anbefaler de fleste retningslinjer at flere sett tas samtidig eller i løpet av kort tid, bortsett fra dersom dokumentasjon på kontinuerlig bakteriemi er nødvendig. Dette er også et poeng i forhold til økt fokus på viktighet av rask oppstart med antibiotika.

Forslag til anbefaling: Blodkulturer bør anlegges så snart som mulig etter symptomdebut, og blodkultursettene kan tas samtidig.

Antall blodkultursett og volum

Antall mikroorganismer i blodet hos voksne under en bakteriemi er oftest lavt (<1-10 cfu/ml). Siden bakterietallet er lavt, vil blodmengden ha stor betydning for det endelige resultat. Nyere studier bekrefter at sensitiviteten øker med økende volum. I ulike europeiske og amerikanske retningslinjer anbefales ofte 40-60 ml blod fordelt på 2-3 blodkultursett. Det refereres til at 40 ml blod gir en sensitivitet på rundt 85%, mens man ved å tappe 60 ml blod kan oppnå en sensitivitet på minst 95%. Det er viktig at flaskene ikke underfylles. Det anbefales vanligvis

aerob og anaerob flaske i hvert sett, og på grunn av små mengder luft i prøvetakingsutstyret bør aerob flaske fylles først.

De senere årene har det vært publisert en del studier der man har undersøkt om hele blodvolumet kanskje kan tappes fra samme venepunksjon, i stedet for å fordeles på to eller flere punksjoner. Fordeler med dette kan være en reduksjon i antallet forurensete flasker, forenklet prøvetaking med redusert risiko for stikkskader, samt mindre ubehag for pasienten. Foreløpig er det imidlertid lite dokumentasjon på at man oppnår samme deteksjonsgrad med denne metoden som når flere punksjoner utføres.

Forslag til anbefaling: Som hovedregel anbefales 2 blodkultursett, der hvert sett består av aerob og anaerob flaske. Flaskene bør fylles opp til leverandørens anbefalte maksimale volum, og totalvolum bør være rundt 40 ml. Et ekstra sett kan vurderes for å øke sensitiviteten.

- **Endokarditt**

Bakteriemi ved endokarditt vil som regel være kontinuerlig. De fleste retningslinjer anbefaler at det tas minst 3 blodkultursett i løpet av en time før oppstart av behandling. Hvis behandlingsstart kan avvendes og blodkulturene er foreløpig negative anbefales ofte 1-2 nye sett neste dag eller etter for eksempel 6 timer. I «Nasjonal faglig retningslinje for bruk av antibiotika i sykehus» presiseres det at behandlingsstart ikke skal avvendes ved mistanke om infeksjon med stafylokokker.

Forslag til anbefaling: Ved mistanke om endokarditt bør det tas 3 blodkultursett i løpet av en time før oppstart av behandling. Hvis behandlingsstart kan avvendes og blodkulturene er foreløpig negative anbefales 1-2 nye sett neste dag.

- **Sopp**

Her henvises det til detaljerte anbefalinger i strategirapport om soppinfeksjoner fra 2013, som vurderes som oppdatert.

- **Barn**

For mindre barn kan spesielle aerobe barneflasker som tar 1-3 ml blod benyttes, en eller flere flasker alt etter alder. For større barn (over ca. 12 år) anbefales i mange veiledere samme fremgangsmåte som for voksne. Hos barn er det sjelden indikasjon for bruk av anaerobe flasker, kanskje med unntak av ved bukinfeksjoner. I noen publikasjoner hevdes det at ikke mer enn 1% av barnets blodvolum bør tappes i forbindelse med prøvetaking, men andre finner at så mye som 4-4,5% bør dyrkes for å oppnå tilstrekkelig sensitivitet ved lavgradig bakteriemi.

Anbefalingen fra IDSA er oppsummert i tabellen under:

Vekt (kg)	Totalvolum (ml)	Antall sett	Kommentar
≤ 1	1-2	1	1 ped.flaske
1,1-2	2-4	1-2	1-2 ped.flasker
2,1-12	6	2	2 ped.flasker
12-36	20	2	Vanligvis 2 aerobe flasker

UpToDate har en tabell som er basert på denne, og anbefalingene er stort sett samsvarende.

Barnelegeforeningen har i sin pediatriveileder følgende anbefaling:

- **Nyfødte og premature (< 2,5 kg):** Ett sett består av en aerob barneflaske med 1-3 ml blod avhengig av barnets vekt og kliniske tilstand.

- **Små barn (2,5–10 kg):** Ett sett består av 3–5 ml blod på 1 aerob barneflaske.
- **Større barn (10–30 kg):** Ett sett består av 5–15 ml blod tatt ved en venepunksjon og fordelt på 1 aerob barneflaske (5 ml) og hvis forsvarlig en anaerob flaske (5–10 ml).
- **Store barn (> 30 kg) som voksne:** Ett sett 15–20 ml blod tatt ved en venepunksjon og fordelt på 2 flasker (1 aerobe og 1 anaerob).

Det står også i pediatriveilederen at det anbefales 2 sett hos «større barn», uten at begrepet defineres nærmere.

Forslag til anbefaling: Anbefalingene er stort sett samsvarende. Volumene som angis i tabellen fra IDSA er bedre tilpasset det som anbefales for barneflasker. Foreslår derfor for strategimøtet å adaptere denne tabellen.

Prøvetaking som kontroll av behandling

- **Sopp:** Her henvises det til detaljerte anbefalinger i strategirapport om soppinfeksjoner fra 2013, som vurderes som oppdatert.
- **Endokarditt:** American Heart Association/IDSA anbefaler å ta minst 2 blodkultursett hver 24-48 timer inntil negative blodkulturer. Det anbefales også at man regner varighet av antibiotikabehandling fra den dagen blodkulturene blir negative. Det anbefales ikke å rutinemessig ta nye blodkulturer etter gjennomført behandling. I europeiske retningslinjer anbefales det kontroll av blodkultur 48-72 timer etter oppstart av behandling.

Forslag til anbefaling: Det anbefales 2 sett blodkulturer ca. 48 timer etter oppstart av antibiotikabehandling. Dette bør gjentas etter 48 timer inntil negative blodkulturer.

- **Generelt**

UpToDate anbefaler kontroll av blodkultur 24-48 timer etter oppstart av antibiotika på følgende indikasjoner:

- o *S. aureus* bakteriemi
- o Erkjent eller mistenkt endokarditt
- o Feber, leukocytose eller andre tegn på infeksjon mer enn 72 timer etter oppstart av antibiotikabehandling
- o Infeksjonsfokus med dårlig antibiotikapenetrasjon
- o Infeksjonssted i buk eller CNS
- o Graft, intravaskulære katetre eller pacemaker
- o Erkjent eller mistenkt multiresistens
- o Usikkert infeksjonsfokus

Forslag til anbefaling: Det anbefales å kontrollere blodkultur 24-48 timer etter oppstart av antibiotika etter indikasjonene som er angitt over.

Oppbevaring og transport

Kommersielle automatiserte blodkultursystemer benytter flasker som skal oppbevares i romtemperatur før forsendelse til mikrobiologisk laboratorium, for å sikre at eventuell vekst detekteres i blodkulturskapet. Alle kommersielle systemer har grenser for hvor lenge flaskene

kan oppbevares før de settes inn i skapet. Hvis grensen er overskredet gjøres det blindutsæd før flasken anbringes i skapet.

Viktighet av tidlig oppstart med antibiotika for pasienter med sepsis er presisert bl.a. i «Surviving sepsis» kampanjen og i Helsetilsynets rapport etter tilsyn med spesialisthelsetjenesten 2016-2018 «Sepsis – ingen tid å miste». I begge disse rapportene understrekes det at forsinket oppstart med virksomt antibiotikum er assosiert med både økt morbiditet og mortalitet. Av denne grunn er det viktig at alle ledd i diagnostikken effektiviseres i størst mulig grad. Et viktig poeng i denne sammenheng er at blodkulturflaskene settes til inkubering så raskt som mulig etter prøvetaking. På alle sykehus som har blodkulturskap bør det derfor være mulighet for å legge inn flasker gjennom hele døgnet, også utenom åpningstidene til Mikrobiologisk avdeling

Referanser prøvetaking, oppbevaring og transport

- **UK Standards for Microbiology Investigations: Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species).** Public Health England.
https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/829758/B_37i8.2.pdf
- **Taking Blood Cultures. A summary of Best Practice.** Public Health England.
https://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20120118171812/http://hcai.dh.gov.uk/files/2011/03/Document_Blood_culture_FINAL_100826.pdf
- **Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art.** Opota O et al. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 313-322.
- **Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret.** Kirn TJ et al. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 513-520
- **How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream Infections? A-state-of-the-art.** Lamy et al. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 697.
- **Discarding the initial aliquot of blood does not reduce contamination rates in intravenous-catheter-drawn blood cultures.** Dwivedi S, Bhalla R, Hoover DR, Weinstein MP. *J Clin Microbiol* 2009;47:2950-1.
- **Infective endocarditis in adults: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications.** A scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Endorsed by the Infectious Diseases Society of America. *Circulation.* 2015; 132: 1435-1486.
- **2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC).** Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *European Heart Journal, Volume 36, Issue 44, 21 November 2015, Pages 3075–3128*
- **Pediatriveiledere: Generell veileder, Infeksjoner, vaksiner og undersøkelse av adoptivbarn, Mikrobiologiske prøver, Blod – direkte på visning av agens med dyrkning, nukleinsyrbaserte teknikker (PCR eller andre teknikker).**
<https://www.helsebiblioteket.no/pediatriveiledere?menuitemkeylev1=5962&menuitemkeylev2=5965&key=144441>
- **Yield of positive blood cultures in pediatric oncology patients by a new method of blood culture collection.** Kaditis AG, O'Marcaigh AS, Rhodes KH, Weaver AL, Henry NK. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:615-20.
- **Effects of volume and site of blood draw on blood culture results.** Gonsalves WI, Cornish N, Moore M, Chen A, Varman M. *J Clin Microbiol* 2009;47:3482-5.
- **Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age.** Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA. *J Clin Microbiol* 2000;38:2181-5.
- **Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients: 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America.** O'Grady NP¹, Barie PS, Bartlett JG, Bleck T, Carroll K, Kalil AC, Linden P, Maki DG, Nierman D, Pasculle W, Masur H; American College of Critical Care Medicine; Infectious Diseases Society of America. *Crit Care Med.* 2008 Apr;36(4):1330-49.
- **Referensmetodik för laborierdiagnostik vid kliniskt mikrobiologisk laboratorier: Bakteriemi-diagnostik.**
<http://referensmetodik.folkhalsomyndigheten.se/w/Referensmetodik:Bakteriemi-diagnostik>
- **IDSA: 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 Michael Miller et al. *Clin Infect Dis.* (2013) 57 (4): e22-e121 doi:10.1093/cid/cit278
- **Principles and Procedures for Blood Cultures.** CLSI M47-A. First Edition.
<https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m47/>
- **Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia.** Riedel et al. *J Clin Microbiol.* 2008 Apr;46(4):1381-5.
- **Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016.** Rhodes A, Evans LE, Dellinger RP. *Int Care Medicine* 2017;43(3):304–377
- **Sepsis – ingen tid å miste. Oppsummering av landsomfattende tilsyn i 2016-2018 med spesialisthelsetjenesten: helseforetakenes somatiske akuttinntak og deres identifisering og behandling av pasienter med sepsis.** Helsetilsynet 2018.

V1.3 Logistikk – valg av strategi

(Karina Olsen, Avdeling for mikrobiologi og smittevern UNN, Tromsø).

Bakgrunn:

Sepsis representerer en viktig årsak til både økt morbiditet og mortalitet. Blodkulturer er regnet som gullstandarden for å detektere bakterier og sopp i blodet noe som er helt essensielt for å diagnostisere agens som årsak til bakteriemier og fungemier ved en rekke viktige infeksjonstilstander som f. eks endokarditter, intravasal kateter-sepsis, urosepsis, pneumonier, septiske artrittter og osteomyelitter. Muligheten for konkret å påvise mikroorganismer og resistensbestemme dem er viktige diagnostiske verktøy for å kunne justere og målrette antibiotikabehandlingen [1]. Dette vil kunne redusere morbiditet, mortalitet samt kostnader for helsetjenesten med redusert liggetid i sykehus [1]. Derfor er det av betydelig interesse å redusere tiden fra blodkulturene tas til resultater kan rapporteres [2]. En optimal logistikk for håndtering av dette prøvemateriale har derfor en høy grad av viktighet.

Valg av strategi for logistikk:

1. Hva er akseptabel tid fra prøvetakning til første svar til kliniker for de vanligste mikrobenene?

(Med dette forstås: Hva er akseptabel tid fra prøvetaking til svar til kliniker på direkte mikroskopi av grampreparat og evt. supplerende diagnostiske tester utført direkte fra positiv blodkultur?)

a. På et lokalsykehus uten eget mikrobiologisk laboratorium.

Automatiserte blodkultursystemer bør være plassert på alle sykehus uavhengig av om sykehusene har mikrobiologiske laboratorier eller ikke. Ved sykehus uten mikrobiologisk laboratorium kan bioingeniører på generelle laboratoriemedisinske avdelinger og annet personell som f. eks sykepleiere læres opp i bruk av automatiserte blodkultursystemer slik at plassering av blodkulturflasker i inkubator kan skje uten tidsspille etter at blodkulturene er tatt. "Positive" flasker kan enten sendes laboratorium med mikrobiologisk kompetanse for videre diagnostikk eller hvis slik kompetanse finnes lokalt kan det videre analysearbeid utføres der. I begge tilfellene bør blodkulturer plasseres i automatiserte blodkulturskap uten tidsspille gjennom hele døgnet. Når en blodkultur registreres som positiv, bør det gå ut et svar til kliniker om at blodkulturen er positiv enten automatisk/elektronisk i det elektroniske pasient journalsystemet (EPJ) eller at bioingeniør gir ut et slikt svar manuelt i dette systemet [1]. Bioingeniøren som gir ut svaret manuelt, vil stå som ansvarlig for utsvaringen.

Tid fra taking av blodkulturer til inkubasjon anbefales å ta ≤ 4 timer [1, 3]. Tid fra inkubasjon av blodkulturflaskene til signal om positiv flaske vil avhenge av type mikrobe, og mengde blod tatt. For vanlige bakterielle agens vil det vanligvis ta fra 12-36 timer. For mere kravfulle aerobe og anaerobe bakterier samt sopp, vil denne tiden øke og kan nå opptil 5-7 dager [4-6].

Den øvrige tidsbruk i analysearbeidet vil avhenge av om lokalsykehuset har godt opplærte bioingeniører som kan utføre direkte mikroskopi av grampreparat og evt andre supplerende diagnostiske tester som Pneumokokk antigen-test, rørkoagulase og evt FilmArray direkte fra positive blodkulturflasker samt varslingsrutiner til kliniker/pasientansvarlig lege/rekvirent om funn, eller om de positive blodkulturene må sendes til sykehus med mikrobiologisk laboratorium.

På lokalsykehus uten eget mikrobiologisk laboratorium, vil aktuelt personell som må gis ekstra opplæring i mikrobiologisk diagnostikk i de fleste tilfellene være bioingeniører som arbeider på avdelinger for medisinsk biokjemi.

Anbefalt tid fra blodkulturene er flagget positive ut til resultatet av direkte mikroskopi av gramfarging og evt. supplerende tester gis til kliniker bør være ≤ 2 timer [1, 3].

For sykehus uten kompetanse til videre diagnostikk av positive blodkulturer må de positive blodkulturflaskene sendes til sykehus med egen mikrobiologisk avdeling. I disse tilfellene vil transporttid til aktuelt sykehus med mikrobiologisk laboratorium samt dette laboratoriets åpningstid komme i tillegg.

b. På sykehus med mikrobiologisk laboratorium

Ved sykehus med mikrobiologisk laboratorium utføres direkte mikroskopi av gram-preparat. Anbefalt tid fra en blodkultur er positiv til varsling til kliniker om resultatet av direkte mikroskopi anbefales å ta ≤ 2 timer [1, 3].

Ytterligere identifikasjon av mikroben utføres ved ulike metoder der bruk av Maldi-ToF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight) enten direkte fra blodkulturflaskene eller fra begynnende slørvekst på skål, nå står helt sentralt. Hvis det utføres direkte Maldi-ToF fra positive blodkulturer er det som regel hensiktsmessig å ringe ut svar når denne identifikasjonen er ferdig dvs man ringer ut både gramfunn og funn fra direkte Maldi-ToF samtidig. Det samme vil også gjelde for resultat av andre hurtigtester utført direkte fra positiv blodkulturflaske (f.eks Pneumokokk-agglutinasjonstest).

2. Hvordan oppnår man akseptabel svartid?

a) Det mikrobiologiske laboratoriets åpningstider

De fleste mikrobiologiske laboratorier, har ikke et døgnåpent tilbud. Arbeidet med blodkulturer utføres som oftest innenfor de respektive laboratoriers åpningstider som varierer fra sted til sted. Åpningstiden kan variere fra en vanlig arbeidsdag fra 08-15.30 til en åpningstid på kveldstid frem til ca kl. 21-22 der man utfører noen begrensede analyser. Det er klart ønskelig at åpningstiden utvides så mye som mulig og at man har tilgjengelig kvalifisert personell som bioingeniører og lege på vakt som er opplært i diagnostikk av positive blodkulturer, utsvaring av funn inkludert vurdering av relevansen av funn i forhold til den aktuelle pasient samt råd om antimikrobiell behandling [1]. Man bør ha som mål å utvide åpningstiden til å omfatte tidsrommet der hovedtyngden av den mikrobiologiske pasientdiagnostikken foregår ut i de kliniske avdelingene og akuttmottakene. Endel mikrobiologiske laboratorier i Norge har nå en åpningstid frem til kl 21-22. Det er mulig at en åpningstid frem til kl 22 om kvelden bemannet med bioingeniører og lege med mikrobiologisk kompetanse på vakt kan være et akseptabelt mål? Det er imidlertid viktig at de lokale forholdene og behovene vurderes og tilpasses individuelt.

Selv om man igangsetter antibiotisk sepsisbehandling på empirisk grunnlag ut ifra nasjonale faglige retningslinjer raskt etter at pasient med klinisk mistenkt sepsis har ankommet akuttmottaket, vil antibiotikavalget i noen tilfeller ikke dekke optimalt for den/de agens som er årsak til sepsisen [7]. Tidlige svar på funn i blodkultur kan derfor ha avgjørende betydning for optimalisering av behandlingen. På den andre side må de diagnostiske metodene brukt samt tolkningen av de funn man gjør, være robuste. Dette krever grundige prosesser med lokale tilpasninger av hva som er realistisk ved det enkelte sykehus. Feilaktige vurderinger av mulige funn i blodkultur med påfølgende endringer av antibiotikaregime kan få alvorlige konsekvenser. Da vil som regel et empirisk valgt sepsisregime være å foretrekke inntil et sikkert svar på mikrobiologisk agens foreligger.

b) Transporttid til nærmeste laboratorium med kompetanse i mikrobiologisk diagnostikk

Dette punktet er selvfølgelig også svært viktig for raskest mulige svar for de pasienter som er innlagt på mindre lokalsykehus med svært begrenset mulighet for å ha bred kompetanse i mikrobiologisk diagnostikk. I regionen Troms og Finnmark har man 4 lokalsykehus uten mikrobiologisk laboratorium og transporttiden til Universitetssykehuset med mikrobiologisk laboratorium er i helger og høytider lang, f. eks ingen transport fra lørdags morgen til mandag morgen.

c) Hvor er inkubatorene plassert? Umiddelbar innsetting hele døgnet på alle sykehus?

Det anbefales at automatiserte inkubatorer er plassert på alle sykehus fortrinnsvis enten ved avdelinger for klinisk biokjemi, akuttmottakene i tillegg til de mikrobiologiske avdelinger. De ulike sykehus må ha opplært personell som kan inkubere blodkulturflaskene hele døgnet så snart som mulig etter at de er tatt og senest innenfor 4 timer etter taking. Aktuelt personell med slik opplæring vil mest naturlig være bioingeniører ved generelle laboratoriemedisinske avdelinger og evt. sykepleiere i akuttmottakene [1, 3].

d) Bør flaskene håndteres direkte etter at de blir positive eller kan man «batche» utover dagen?

Batching av håndtering av positive blodkulturer, vil som regel medføre en viss forsinkelse av i hvert fall foreløpige prøvesvar til rekvirent [1]. Likevel vil batching av visse deler av håndteringen av positive blodkulturer være helt nødvendig av praktiske og ressursbesparende årsaker.

Batching av gram og utsæd: Diagnostikk med gramfarging og utsæd bør gjøres så snart som mulig etter signal om positiv blodkultur.

Batching av direkte identifikasjon (ID)/resistensbestemmelse: Når det gjelder direkte ID avhenger det av type identifikasjonsmetode. Enkle agglutinasjonstester direkte fra blodkulturflaske utføres oftest i tilknytning til gramfarging. Utførelse av direkte Maldi-ToF eller Maldi-ToF fra slørvekst på skål, er mere ressurskrevende og må som regel i noen grad utføres samlet. Utførelse av resistensbestemmelse må utføres på spesielle tidspunkter som er forenlig med avlesning etter korrekt inkubasjonstid. Dette vil som regel innebære at oppsett av resistensbestemmelser utføres samlet.

e) Tilgjengelig hurtigdiagnostikk på sykehus uten mikrobiolog, men med inkubator

De vanligste aktuelle hurtigtester er: Pneumokokk antigen-tester direkte fra positiv blodkultur samt rørkoagulase. Dette kan utføres på sykehus uten eget mikrobiologisk laboratorium, men det forutsetter opplært personell. Funn bør varsles telefonisk umiddelbart til rekvirent av bioingeniør som utfører testene. Funnet bør også svares ut i det elektroniske pasientjournalssystemet (EPJ) av bioingeniør som har utført testen. Enkelte genteknologiske tester som relativt nylig har kommet inn på markedet kan også være aktuelle metoder for hurtigdiagnostikk ved lokalsykehus uten mikrobiologisk laboratorium. FilmArray er den mest aktuelle av disse. FilmArray gir en mulighet for identifikasjon av bakterier og sopp direkte fra positive blodkulturer. FilmArray benytter en multiplex-PCR og har muligheten til å identifisere til sammen 24 mulige agens direkte fra positiv blodkultur (8 gram positive- og 11 gram negative bakteriespecies samt 5 typer gjærsopp) i tillegg til noen resistensgener. Selve «hands-on tiden» er kort, et par minutter, og den er i tillegg enkel. Analysetiden er på ca. 1 time. Det å ta i bruk et slikt analyseverktøy vil gi muligheten for langt hurtigere diagnostikk av agens som årsak til pasientens septiske tilstand sammenliknet med konvensjonelle metoder som mikroskopi av grampreparat samt sending til sentralt laboratorium for videre identifikasjon og

resistensbestemmelse [8]. Muligheten for å benytte et slikt diagnostisk verktøy på lokalsykehus må nøye vurderes ut ifra hvilke lokale muligheter og tilpasninger man kan iverksette. Der er noen viktige momenter som bør vurderes. Instrumentet bør være plassert ved det lokale sykehus' biomedisinske laboratorium og analysen bør utføres av opplært bioingeniør. Dette anbefales for å sikre en god og sikker arbeidsflyt under analysen og minimere risikoen for kontaminering. Prøveresultatet bør vurderes og tolkes i samråd med mikrobiolog ved nærmeste sykehus som innehar slik kompetanse.

Prøvesvaret må varsles kliniker som har ansvar for pasienten/rekvirenten av enten aktuell bioingeniør eller mikrobiolog. Prøvesvaret må i tillegg svares ut skriftlig i det lokale elektroniske EPJ. Utsvaring i Laboratorieinformasjonssystemet (LIS) kan også gjøres såfremt dette er koblet til EPJ. Det er viktig at det skriftlige svaret når ut til pasientansvarlig lege. Andre forhold som må organiseres er opplegg for kjøring av kontroller samt inkludering i SLP-program. Det er viktig at ansvarlig sykehus/foretak med eget mikrobiologisk laboratorium har ansvaret sammen med medisinsk teknisk avdeling for valg av utsyr og innstallering. Sykehus med mikrobiologisk laboratorium må stå ansvarlig for verifisering, opplæring av lokale bioingeniører, organisering og opplegg for kjøring av kontroller samt deltakelse i SLP-program. Igangsetting av bruk av FilmArray til agenspåvisning direkte fra blodkultur vil kreve mye forarbeid samt godt opplærte bioingeniører og i hvert fall telefonisk tilgang til mikrobiolog for vurdering av resultatet. Lokale tilpasninger og vurdering av muligheter blir derfor viktig.

Vitek 2 kan identifisere og resistensbestemme en rekke bakterier og sopp både ved hjelp av mikrobepensjoner men også direkte fra positiv blodkulturflaske [9]. Vitek 2 bruker kolorimetriske avlesninger til å avgjøre om bakterier og sopp har bestemte forgjæringsevner/enzymproduksjoner til identifisering av bakterie- eller soppgenus og evt. også species. Dette gjøres ved hjelp av identifikasjonskort. Resistensbestemmelse gjøres på samme måte med kort som inneholder ulike antibiotika/antimykotika og maskinen beregner ut fra vekstkurver hvilket MIC-område som mikroben ligger i. Analysetiden ligger på 5-8 timer for identifikasjon av mikroben og litt lengre tid for resistensbestemmelse. Den praktiske gjennomføringen av analysen for identifikasjon og resistensbestemmelse krever god opplæring og erfaring fra en bioingeniør. I tillegg vil vurderingen av resultatet både med hensyn på identifikasjon og resistensbestemmelse kreve meget god opplæring og erfaring. Alt i alt vil denne analysemetoden i de fleste tilfellene kreve så vidt mye opplæring, erfaring og grunnforståelse i mikrobiologisk diagnostikk at mange lokalsykehus uten egen mikrobiologisk avdeling ikke vil kunne benytte den.

f) Hvem bør eie analysen/maskinen plassert på sykehus uten mikrobiolog?

Instrumentene/maskinene eies normalt av hvert enkelt sykehus/foretak. Det er som regel også slik at det er det enkelte sykehus som skal følge opp instrumentene sine selv, men få faglig bistand og hjelp fra ansvarlig sykehus/foretak med eget mikrobiologisk laboratorium. I vår region Troms og Finnmark har Avdeling for mikrobiologi og smittevern (AMS) ved Universitetssykehuset Nord-Norge (UNN) et spesielt ansvar for å gi faglig bistand og hjelp til de respektive lokalsykehus i regionen.

Når det gjelder analysene er det naturlig at faglig bistand og opplæring utføres av bioingeniører og mikrobiologer ved de sykehus som har egne mikrobiologiske laboratorier. Sykehus/foretak med mikrobiologisk laboratorium må stå ansvarlig for verifisering, organisering og opplegg for kjøring av kontroller samt deltakelse i SLP-program. Det synes likevel naturlig at de opplærte bioingeniørene ved lokalsykehusene uten mikrobiologisk laboratorium utfører selve arbeidet. I vår region er det slik at bioingeniører og mikrobiologer ved AMS (UNN) er pådriver og yter faglig bistand/opplæring ved å reise rundt til de lokale sykehusene i Troms og Finnmark.

g) Svarhåndtering- ved lokalsykehus uten mikrobiolog, men med inkubator:

Det er viktig at de analyser og funn som utføres ved lokalsykehus uten mikrobiolog dokumenteres med svar som går ut til rekvirenten. Ved utflagging av positive blodkulturer bør det gå ut svar enten elektronisk eller manuelt til rekvirenten i EPJ eller via LIS forutsatt at LIS er koblet opp mot EPJ, om at en eller flere blodkulturer er registrert positive. Man kan i tillegg angi at funnet kan representere vekst av bakterier eller sopp og at endelig svar vil komme seinere. Det synes mest hensiktsmessig at ved manuell utsvaring, er det bioingeniør ved det biomedisinske laboratorium som står som ansvarlig for utsvaringen.

Mikroskopi av funn i grampreparat og resultat av enkle hurtigtester som pneumokokk-antigentester og rørkoagulase ringes til rekvirent og svares elektronisk/manuelt i EPJ/LIS av bioingeniør der man dokumenterer dato for utringing, hvem man har snakket med og eget navn.

Hvis FilmArray er benyttet som hurtigdiagnostisk metode, blir det viktig å finne lokale ordninger slik at tolkning og vurdering av resultatet gjøres av kompetent lege (vanligvis mikrobiolog). I disse tilfellene kan det være naturlig at denne legen også ringer ut svaret til pasientansvarlig lege fordi det samtidig vil være aktuelt å diskutere tolkningen og den kliniske relevansen av resultatet samt gi råd om antibiotikavalg. Her må man finne lokale løsninger. Resultatet må også svares skriftlig i EPJ av aktuell ansvarlig lege/bioingeniør. Øvrig arbeid med positive blodkulturer vil vanligvis foregå ved sykehus med mikrobiologisk laboratorium.

Hvis flaskene ikke «flagger ut positive», bør de svares ut som negative elektronisk eller manuelt i EPJ/LIS ved de respektive lokalsykehusene. Manuell utsvaring bør utføres av bioingeniør ved de biomedisinske laboratorier.

Oppsummering svartid

Svartiden vil avhenge av:

- Det stedlige laboratoriums kompetanse og åpningstid.
- Transporttid til nærmeste laboratorium med kompetanse i mikrobiologisk diagnostikk samt dets åpningstider.
- Hvorvidt automatiserte inkubatorer er plassert ved alle sykehus både ved lokal- og universitetssykehus slik at man kan plassere blodkulturer inn i inkubatoren gjennom hele døgnet.
- Varslingsrutiner til rekvirent om at en eller flere blodkulturer er positiv(e) enten elektronisk eller manuelt når blodkulturen(e) flagger ut.
- Hvilke diagnostiske tester som utføres direkte fra positive blodkulturer f. eks, mikroskopi av grampreparat, direkte Maldi-ToF, Maldi-ToF fra slørvekst på skål, andre hurtigtester som rør-koagulase, pneumokokk-antigentester, FilmArray o.a samt varslingsrutiner av resultatene av disse.
- Håndtering av de positive blodkulturene ved det enkelte laboratorium. Utføres det batching eller ikke?
- Hvilken metode som utføres for direkte resistensbestemmelse fra positiv blodkulturflaske:
 - Inkubasjon i 16-20 timer før avlesning?
 - Hurtigresistensbestemmelse med avlesning etter 4, 6, eller 8 timers inkubering?

Forslag til anbefalinger/mål valg av logistikkstrategi: Se tabeller nedenfor.

Tabell 1. Pre-analytisk anbefaling

Preanalytisk diagnostikk	Anbefalt tidsperiode
Tid fra blodkulturtaking til inkubasjon	≤ 4 timer

Tabell 2. Mål for gjennomføring av analytisk diagnostikk

Analytisk diagnostikk	Test	Anbefalt tidsperiode for utførelse og svaring
Fra utflagging av positiv flaske til ulike tester/analyser utføres og svares.	Gram-farging	≤ 2 timer *
	Hurtigdiagnostikk direkte fra blodkulturflaske (Pneumokokk agglutinasjonstest, Rør-koagulase, Maldi-ToF, FilmArray o.l)	≤ 4 timer *
	ID av mikrobeisolat (fra skål)	≤ 24-48 timer
	Hurtig resistensbestemmelse direkte fra blodkulturflaske	≤ 10 timer
	Resistensbestemmelse direkte fra blodkulturflaske	≤ 24 timer
	Resistensbestemmelse fra mikrobeisolat (fra skål)	24-48 timer
*Lokale tilpasninger kan bli nødvendige		

Tabell 3: Anbefaling angående utsvaring

Utsvaring	Utsvaringstype	Anbefalt tidsperiode for svar til rekvirent
Ved negativt svar (ingen utflagging)	Preliminært negativt resultat	Etter 48 timers dyrkning
	Endelig negativt resultat	Etter 5-7 dagers dyrkning av flasken, evt. lengre ved lengre tids dyrkning
Ved negativt svar (falsk positiv utflagging)	Gramfarging (neg. mikroskopi)	≤ 2 timer
	Preliminært negativt svar	Etter 48 timers dyrkning
	Endelig negativt svar	Etter 5-7 dagers dyrkning, evt. lengre ved lengre tids dyrkning
Ved positivt svar	Elektronisk/manuell svaring at blodkultur er positiv	Umiddelbart/snarlig
	Utsvaring/varsling av foreløpige analyseresultater.	Se tabell 2
	Endelig svarrapport	≤ 5-7 dager

Referanser valg av logistikkstrategi

1. **UK Standards for Microbiology Investigations. Investigations of Blood Cultures (for organisms other than Mycobacterium species).** In.: Issued by the Standards Unit, Microbiology Services, PHE; 2018.
2. Stefani S: **Diagnostic techniques in bloodstream infections: where are we going?** *Int J Antimicrob Agents* 2009, 34 Suppl 4:S9-12.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI document M47-A. 2007. In.**

4. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP: **Update on detection of bacteremia and fungemia.** *Clin Microbiol Rev* 1997, **10**(3):444-465.
5. Masterson KC, McGowan JE, Jr.: **Detection of positive blood cultures by the Bactec NR660. The clinical importance of five versus seven days of testing.** *Am J Clin Pathol* 1988, **90**(1):91-94.
6. Hardy DJ, Hulbert BB, Migneault PC: **Time to detection of positive Bact/Alert blood cultures and lack of need for routine subculture of 5- to 7-day negative cultures.** *J Clin Microbiol* 1992, **30**(10):2743-2745.
7. **Nasjonal faglig retningslinje for bruk av antibiotika i sykehus, januar 2018.**
<https://www.helsedirektoratet.no/Retningslinjer/Antibiotika-i-sykehus>. In.
8. Fiori B, D'Inzeo T, Giaquinto A, Menchinelli G, Liotti FM, de Maio F, De Angelis G, Quaranta G, Nagel D, Tumbarello M *et al*: **Optimized Use of the MALDI BioTyper System and the FilmArray BCID Panel for Direct Identification of Microbial Pathogens from Positive Blood Cultures.** *J Clin Microbiol* 2016, **54**(3):576-584.
9. Bazzi AM, Rabaan AA, Fawarah MM, Al-Tawfiq JA: **Direct identification and susceptibility testing of positive blood cultures using high speed cold centrifugation and Vitek II system.** *J Infect Public Health* 2017, **10**(3):299-307.

V1.4 Blodkultur standarddiagnostikk

(Roar Magne Bævre-Jensen, Vestre Viken HF Drammen)

Definering av problemstilling

Overordnede prinsipper for standarddiagnostikk blodkultur. Dette inkludert inkubering (volum, lengde, intervall), dyrkning fra positive blodkulturflasker, mikroskopi, identifikasjon, resistensbestemmelse og frysing/arkiv.

Forslag til anbefalinger

Inkubering volum/lengde/intervall:

- Totalt 40 ml blod (voksne) høstes i 2 blodkultursett (<30 minutters mellomrom)
 - Ett blodkultursett defineres som blodkultur tatt i ett stikk, og som hovedregel anbefales det at blodet fordeles på 1 aerob og 1 anaerob flaske.
 - Totalt volum blir i praksis 32-40 ml da hver flaske inneholder 8-10 ml blod.
- Hos barn anbefales blodvolum ift pasientens vekt jfr pediatriveilederen.
- Ytterligere 1-2 blodkultursett (1-2x20 ml) høstes i løpet av 24 timer (ikke samtidig) hvis symptomer på sepsis persisterer, og primær blodkultur ikke har flagget ut positiv.
- Inkuberingsvarighet på 5 dager er tilstrekkelig (også ved endokarditt).
 - Mulige unntak er konkrete opplysninger om intravaskulære fremmedlegemer som for eksempel mekanisk ventil (7-14 dager) evt sterk mistanke om Brucella (7 dager)?

Mikroskopi fra positiv blodkulturflaske:

- Mikroskopi av grampreparat så snart som mulig etter utflagging av positiv flaske.
- Resultat rapporteres muntlig til kliniker uten forsinkelse, evt sammen med svar på hurtig-ID hvis det ikke gir forsinkelse av betydning. Muntlig rapporterte svar må dokumenteres.
- Ved manglende funn i grampreparat anbefales vurdering av vekstkurve og acridinoransjefarging i tillegg til utsæd av positiv flasker og reinkubering av flasker.

Dyrkning fra positiv blodkulturflaske:

Tilpasses i forhold til funn i grampreparat. Rutinemessig foreslås:

- Fra aerobe flasker blodskål (35°C, 5% CO₂), brunskål (35°C, 5% CO₂) og laktoseskål/McConkey (35°C, aerob inkubering)
- Fra anaerobe flasker uselektiv anaerob skål (anaerob inkubering) i tillegg til blodskål og laktoseskål / McConkey.
- Ved «ingen sikre mikrober» (negativ mikroskopi) anbefales tillegg av Sabouraudskål (28°C, aerob inkubering).
- Ved funn av både staver og kokker anbefales tillegg av selektiv gram positiv skål (for eksempel CNA-skål, 35°C, 5% CO₂)

Diagnostiske lapper kan være nyttig. Mest aktuell er optokinlapp ved gram positive diplokokker/kokker i kjeder (pneumokokk). Andre eksempler er aztreonamlapp ved Gram negative staver (blanding?), metronidazol + gentamycin ved anaerob utsæd, vancomycin ved gram positive stavbakterier.

Opptil 2 døgns inkubering anbefales. Ved manglende vekst og positiv mikroskopi vil forlenget inkubering være aktuelt mhp sentvoksende mikrober/mikrober med spesielle krav. I tillegg bør evt ny utsæd vurderes.

Identifikasjon: Som generell regel bør alle funn i blodkultur identifiseres til og besvares med artsnivå.

- Ved funn som klassifiseres som «sannsynlig forurensing» vil det likevel være hensiktsmessig å rapportere funnet på genusnivå slik at funnets betydning ikke overestimeres.
- Ved funn i flere flasker (tatt samtidig) med en sannsynlig patogen mikrobe, vil det være tilstrekkelig med identifikasjon til artsnivå i en av flaskene. Dette forutsetter en tydelig morfologisk likhet mellom funn.
- Ved funn i flere flasker av mulig kontaminant(er) anbefales identifikasjon til artsnivå i alle flasker, fortrinnsvis fra ulike stikk.
- Ved funn i flere blodkultursett av mulig kontaminant av samme art, øker sannsynligheten for at funnet representerer en reell infeksjon

Ved pålitelig identifikasjon vha Maldi-TOF er det som regel ikke nødvendig med andre tester for å bekrefte funnet. Dette forutsetter at det ikke er en mikrobe hvor Maldi-TOF har vansker med å skille genus/art, eller hvor enkelte serovarianter er av betydning. I slike tilfeller kan tilleggsmetoder være aktuelle, både fenotypiske og genotypiske. Vanlige eksempler på dette kan være pneumokokker, serotyping av meningokokker, *Shigella sp* og *Salmonella sp*. I tilfeller hvor Maldi-TOF sliter med å skille art er det viktig å sikre en konsistent besvarelse slik at det ikke gir unødvendig forvirring.

Resistensbestemmelse:

- Ethvert funn i blodkultur bør som hovedregel resistensbestemmes etter AFAs gjeldende resistenspaneler.
- Ved funn i flere flasker (<24 timer intervall) med en sannsynlig patogen mikrobe, vil det være tilstrekkelig med resistensbestemmelse i en av flaskene.
- Ved funn i flere flasker av mulig kontaminant(er) anbefales resistensbestemmelse i minst 1 flaske fra hvert stikk.
- Det anbefales at alle signifikante funn resistensbestemmes med >1 metode der det er mulig, hvorav minst en metode er standardisert EUCAST-metode hvis mulig.
 - Ved funn hvor resistens er meget sjelden er det tilstrekkelig med 1 metode.

Repeterte funn:

- Generelt anbefales ny ID og resistensbestemmelse ved positive blodkulturer tatt med >24 timers intervall.
 - Ved repetert resistensbestemmelse kan det være tilstrekkelig med 1 metode, og da standardisert EUCAST-metode hvis mulig.

Frysearkiv:

- Generelt anbefales det å fryse alle funn i blodkultur.
- Repeterte isolat i samme episode trenger ikke fryses, med unntak av de tilfeller hvor resistensbestemmelsen endrer seg.
- Oppbevaringstid bør være lang nok til å være nyttig ved behov for ytterligere undersøkelse under gjeldende infeksjon, evt recidiv av infeksjon, avdekking av utbrudd, epidemiologiske data (NORM) etc? 10 år?

Bakgrunn

Inkubering: Økende volum i primær blodkultur gir høyere deteksjonsrate av patogene mikrober³. Effekten sees opp til et volum på 40 ml, og er større ved ikke-endokarditt enn ved endokarditt. Inadekvate volum ved høsting av blodkultur er et reelt problem hos både barn og voksne, og fører til falske negative blodkulturer og økt andel kontaminanter^{3,7,8}. Både Cockerill *et al.*³ og Lee *et al.*⁶ viser en betydelig effekt av ytterligere blodkulturer i løpet av 24 timer etter primær høsting av 40 ml. Resultatene viser at 80-90 % av mikrobenes påvises ved de to første blodkultursettene, og at 4 blodkultursett var nødvendig for å oppnå en sensitivitet på >99 %. Økt inkubasjonslengde ut over 5 dager gir liten nytte, inkludert infeksjoner med HACEK og ved pasienter med endokarditt^{1,2,3,4,9}. Et mulig unntak er infeksjoner med *Propionibacterium acnes* relatert til fremmedlegemeinfeksjoner, og da især intravaskulære fremmedlegemer¹². Median tid-til-positiv kultur er her mer enn 5 dager, og en økning til 14 dagers inkubasjon ser ut til å øke sensitiviteten fra 12,5% til 75%. Da denne mikroben som regel vil representere en forurensning bør indikasjonen for å evt forlenge inkuberingen være streng, dvs at det spesifikt er angitt intravaskulære fremmedlegemer som for eksempel mekanisk ventil. Dagens automatiserte blodkultursystemer vil avdekke en stor andel av *Brucella sp.* i løpet av standard inkubasjonsperiode på 5 dager. En økning i inkubasjonslengde til 7 dager vil øke sensitivitet for påvisning fra ca 75% til ca 95%¹⁰. Nyttan kan likevel diskuteres, da resistensforekomsten er liten og de fleste vil kunne diagnostiseres med serologiske metoder og respondere godt på standard behandling¹¹. Ved spesielle tilfeller kan likevel forlenget inkubering potensielt være indisert, og bør da kunne avtales spesifikt og ikke være en del av rutinediagnostikken. En rekke andre agens, som for eksempel *Legionella species*, *Bartonella species* og *Malassezia furfur* med mer, har gjerne utløst ønske fra klinikere om forlenget inkubering. Her vil som regel andre metoder være overlegen mhp påvisning/sensitivitet¹. Tidligere anbefalinger om forlenget inkubering er i stor grad basert på eldre metoder for blodkulturdyrking, og er mindre relevant ift. automatiserte blodkultursystemer som er standard i dag. Evt. veiing av flasker er en mulig metode for å vurdere om adekvat blodvolum er tilført flasken, men har liten praktisk betydning i rutinediagnostikken.

Mikroskopi: Hurtig utføring av gramfarging/mikroskopi samt hurtig rapportering av resultat til kliniker er vist å redusere mortalitet⁵. Dette antas å være relevant også etter innføring av hurtig-ID, spesielt mhp. muligheten til å avdekke polymikrobielle infeksjoner. Hurtig-ID kan foreløpig ikke erstatte gram-farging, derimot kan man si at metodene utfyller hverandre. Acridinoransjefarging er en mer sensitiv metode enn gramfarging, og er nyttig når gramfarging ikke fører frem. For eksempel kan små Gram-negative staver og soppelenter være vanskelig å avdekke i et grampreparat, og manglende Acridinoransjefarging kan i verste fall forsinke relevant behandling i ett eller flere døgn. Vurdering av vekstkurve er kun en tilleggsfaktor som ikke kan ilegges vekt alene, men en suspekt vekstkurve fordrer nøyere undersøkelser.

Dyrkning fra blodkulturflaske: Praktisk tilnærming basert på empiri, og ment som et utgangspunkt til diskusjon. Primært bør rike og lite selektive medier benyttes for først og fremst å sikre vekst. Bruk av selektive medier bør alltid være et supplement til ovennevnte. Bruk av Maldi-TOF har de senere årene gjort diagnostiske lapper og selektive medier mindre sentrale, men de har fremdeles en viktig rolle ved funn som pneumokokker og blandingsinfeksjoner.

Blindkulturer fra negative blodkulturflasker i rutinediagnostikk er ressurskrevende og gir liten nytte⁹. Kan være aktuelt ved spesifikke problemstillinger, for eksempel ved mistanke om *Campylobacter*-infeksjon hvor det anbefales blindutsæd i mikroaerofilt miljø. Dette kan dog som regel avklares tidligere ved andre metoder.

Identifikasjon/resistensbestemmelse/repeterte funn: Praktisk tilnærming basert på empiri, og ment som et utgangspunkt til diskusjon.

Maldi-TOF er en pålitelig, enkel og billig metode for identifisering ved mikrobiologisk rutinediagnostikk. Det fremstår derfor hensiktsmessig ved signifikante funn å identifisere til artsnivå der det er mulig. Opp til 30% av alle funn av potensielle kontaminanter vurderes å være signifikante funn. Det er meget vanskelig å skille kontaminanter fra signifikante funn, og de beste metodene kan synes å være vurdering av repeterte funn fra ulike stikk samt vurdering av om pasientens klinikk er forenelig med aktuelle funn.

Ulike ID på artsnivå ved funn i flere flasker fra ulikt stikk av potensielle kontaminanter tyder sterkt på forurensing. Ulike resistensbestemmelse kan ikke brukes like sikkert, da for eksempel infeksjoner med biofilm kan gi ulikt fenotypisk uttrykk i mikrober med samme genotype. Det vil også kunne foreligge feil i resistensbestemmelsen. Det vil dog kunne være til støtte i vurderingen mhp. om funnet er signifikant.

Ved nye funn under pågående behandling vil ny resistensbestemmelse kunne avdekke blant annet seleksjon av resistente subpopulasjoner, aktivering av latente resistensgener, erverving av nye resistensegenskaper etc.

Referanser

1. Ellen Jo Baron, John D. Scott, Lucy S. Tompkins, Prolonged Incubation and Extensive Subculturing Do Not Increase Recovery of Clinically Significant Microorganisms from Standard Automated Blood Cultures, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 41, Issue 11, 1 December 2005, Pages 1677–1680
2. Cathy A. Petti, Hasan S. Bhalley, Melvin P. Weinstein, Kim Joho, Teresa Wakefield, L. Barth Reller, Karen C. Carroll. Utility of Extended Blood Culture Incubation for Isolation of Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella, and Kingella Organisms: a Retrospective Multicenter Evaluation. *Journal of Clinical Microbiology* Jan 2006, 44 (1) 257-259
3. F. R. Cockerill, J. W. Wilson, E. A. Vetter, K. M. Goodman, C. A. Torgerson, W. S. Harmsen, C. D. Schleck, D. M. Ilstrup, J. A. Washington, W. R. Wilson, Optimal Testing Parameters for Blood Cultures, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 38, Issue 12, 15 June 2004, Pages 1724–1730
4. Kevin R Forward, "An Evaluation of Extended Incubation Time with Blind Subculture of Blood Cultures in Patients with Suspect Endocarditis," *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, vol. 17, no. 3, pp. 186-188, 2006.
5. Joan Barenfanger, Donald R. Graham, Lavanya Kolluri, Gaurav Sangwan, Jerry Lawhorn, Cheryl A. Drake, Steven J. Verhulst, Ryan Peterson, Lauren B. Moja, Matthew M. Ertmoed, Ashley B. Moja, Douglas W. Shevlin, Robert Vautrain, Charles D. Callahan, Decreased Mortality Associated With Prompt Gram Staining of Blood Cultures, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 130, Issue 6, December 2008, Pages 870–876
6. Andrew Lee, Stanley Mirrett, L. Barth Reller, Melvin P. Weinstein Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? *Journal of Clinical Microbiology* Nov 2007, 45 (11) 3546-3548; DOI: 10.1128/JCM.01555-07

7. Riedel, S. & Carroll, K.C. Blood cultures: key elements for best practices and future directions. *J Infect Chemother* (2010) 16: 301.
8. Harewood, F. C., Curtis, N., Daley, A. J., Bryant, P. A., Gwee, A., & Connell, T. G. (2018). Adequate or Inadequate? The Volume of Blood Submitted for Blood Culture at a Tertiary Children's Hospital. *Clinical Pediatrics*, 57(11), 1310–1317.
9. Ellen Jo Baron, John D. Scott, Lucy S. Tompkins, Prolonged Incubation and Extensive Subculturing Do Not Increase Recovery of Clinically Significant Microorganisms from Standard Automated Blood Cultures, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 41, Issue 11, 1 December 2005, Pages 1677–1680
10. P. Yagupsky Detection of Brucellae in Blood Cultures. *Journal of Clinical Microbiology* Nov 1999, 37 (11) 3437-3442
11. Z. Memish, M.W. Mah, S.Al Mahmoud, M.Al Shaalan, M.Y. Khan, Brucella Bacteraemia: Clinical and Laboratory observations in 160 Patients, *Journal of Infection*, Volume 40, Issue 1, 2000, Pages 59-63, ISSN 0163-4453
12. J.M. Banzon, S.J. Rehm, S.M. Gordon, S.T. Hussain, G.B. Pettersson, N.K. Shrestha, Propionibacterium acnes endocarditis: a case series, *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 23, Issue 6, 2017, Pages 396-399, ISSN 1198-743X
13. Abdulmassih R, Makadia J, Como J, Paulson M, Min Z, Bhanot N. *Propionibacterium acnes*: Time-to-Positivity in Standard Bacterial Culture From Different Anatomical Sites. *J Clin Med Res*. 2016;8(12):916–918. doi:10.14740/jocmr2753w

V1.5 Hurtigdiagnostikk av blodkultur – fenotypiske metoder

(Einar Tollaksen Weme, Vestre Viken HF, Drammen)

Definering av problemstilling: Hvilke hurtigmetoder finnes, og hvilke anbefales? Må man teste på nytt fra vekst? Hva er kost/nytte? Kun metoder som gir svar samme dag omtales.

Forslag til anbefalinger

- Alle laboratorier som tilbyr blodkulturdiagnostikk bør ha metode for hurtig identifikasjon og resistensbestemmelse direkte fra positiv blodkulturflaske.
 - Nytten er dokumentert, og kostnaden for de rimeligste metodene er svært lav (forutsatt at man uansett har instrument tilgjengelig).
- MALDI-TOF direkte fra blodkulturbuljong er enkelt, rimelig og pålitelig for identifikasjon:
 - MALDI-TOF fra Bruker Daltonics:
 - Ved score $\geq 1,4$, samme ID blant de tre alternativene med høyest score og samsvar med grampreparat kan identifikasjon vanligvis utgis som et foreløpig svar. Forsiktighet ved mikrober MALDI-TOF vanskelig skiller (f. eks. viridansstreptokokker) eller klinikk som ikke passer.
 - Ved score $\geq 2A$ er det ikke nødvendig å gjenta ID fra vekst.
 - MALDI-TOF fra bioMérieux:
 - Kan benyttes for direkte identifikasjon, men det er ikke tilstrekkelig litteratur til å anbefale lavere krav til score enn produsentens anbefaling.
- For mikrober MALDI-TOF har vanskelig for å skille trengs tilleggs-identifikasjon. Agglutinasjon direkte fra blodkulturbuljong kan skille *S. pneumoniae* fra andre viridansstreptokokker.
- Hurtig resistensbestemmelse bør som et minimum gjøres for antibiotika/mikrober som oppfyller alle punkter:
 - Anbefalt antibiotikum i empirisk behandling av sepsis med aktuelle mikrobe.
 - Resistensmønster ikke forutsigbart fra ID alene.
 - Vanlig forekommende mikrobe.
- Det er ikke grunnlag for å anbefale en foretrukken metode for hurtig resistensbestemmelse, men det bør velges en metode som gir svar i løpet av samme arbeidsdag for flasker som er positive på morgenen. Mulighet for avlesning fra hjemmevakt kan gi hurtig svar også på blodkulturer som slår ut nærmere arbeidssdagens slutt.
- Resultatet av hurtig resistensbestemmelse bør bekreftes med standardisert metode fra vekst.

Bakgrunn – identifikasjon

MALDI-TOF

MALDI-TOF gir pålitelig identifikasjon fra positive blodkulturflasker på under 1 time. Begrensninger ved metoden kan være blandingsinfeksjoner, manglende identifikasjon og problem-mikrober som MALDI-TOF vanskelig skiller fra hverandre, eksempelvis viridansstreptokokker¹. For MALDI-TOF fra Bruker Daltonics er det i flere studier vist at man kan sette lavere krav til score enn produsentens anvisning og opprettholde høy andel korrekt identifikasjon. For MALDI-TOF fra BioMérieux er dokumentasjonen mer begrenset. Studier varierer med ekstraksjonsprotokoll, andel gram positive og andel problem-mikrober hvilket ventelig gir ulikt resultat:

- Christner²: Inkludert 304 prøver. MALDI-TOF fra Bruker Daltonics.
 - o Krav til score $\geq 1,3$: 95 % identifisert til artsnivå. 11 feilidentifisert.
 - o Krav til score $\geq 1,4$: 95 % identifisert til artsnivå. 3 uvanlige arter ble feilidentifisert.
 - o Krav til score $\geq 1,5$: 92 % identifisert til artsnivå, ingen feil identifiserte.
- Buchan³: Inkludert 164 prøver. MALDI-TOF fra Bruker Daltonics. Krav til score $\geq 1,7$: 80 % gram positive og 98 % gram negative identifisert. 98 % korrekt identifikasjon til slekt og 94 % til art. Feil identifikasjon var mellom viridans-streptokokker, samt én Enterobacter med feil art.
- Wüppenhorst⁴: Inkludert 212 prøver. MALDI-TOF fra Bruker Daltonics. Krav til score $\geq 1,4$ og samme species på tre første plasser: 78 % korrekt identifikasjon til art. 1,4 % feil ID på første plass, men ingen av disse hadde samme ID blant tre beste alternativer.
- Martiny⁵: Inkludert 66 prøver. MALDI-TOF fra Bruker Daltonics. Krav til score $\geq 1,4$ for slektsnivå og $\geq 1,6$ for artsnivå, samt krav om minst 0,3 forskjell i score fra beste score til første ulike resultat. 86 % korrekt identifikasjon til slektsnivå og 74 % til artsnivå. Én *S. mitis/oralis* ble feilidentifisert. Denne artikkelen oppsummerer også en rekke andre studier med lignende resultater.
- Chen⁶: Inkludert 181 prøver. MALDI-TOF fra bioMérieux. Krav til score > 90 % og alle treff samme slekt for ID på slektsnivå, og > 98 % og alle treff samme art for artsnivå. Eneste feil var to viridansstreptokokker med feil art.

Det finnes ulike metoder for ekstraksjon med ulike kostnader og tidsbruk; raskeste ekstraksjon tar 10 min og koster EUR 0,05/prøve⁷. Det finnes kommersielle metoder, og langt rimeligere in-house metoder med tilsvarende ytelse⁸.

Ved utilfredsstillende ID direkte fra blodkulturbuljong kan man gjøre nytt forsøk fra eventuell tidlig vekst på skål. Forvarmede skåler, og utsæd fra pellet, kan gi raskere svar⁹. Det er usikkert hvor egnet dette er for den seleksjonen av prøver der man mislykkes med ID direkte fra blodkulturbuljongen.

Vitek2

Vitek2 gir pålitelig identifikasjon av store Gram-negative staver fra positive blodkulturflasker etter 3,5 timer + tid for preparering av prøven (ikke angitt tid), med 82 % korrekt ID, 18 % manglende ID, ingen med feil ID¹⁰. Blandingskulturer og gram positive bakterier var ekskludert. En fordel med Vitek2 identifikasjon er mulighet for samtidig resistensbestemmelse. Ulempen er lengre svartid enn MALDI-TOF, uten høyere andel identifikasjon.

Agglutinasjon

Supernatanten fra en positiv blodkulturflaske kan undersøkes med agglutinasjon for påvisning av antigener. Studier er generelt små og fra 70/80-tallet. Welcogen (Remel, ThermoFisher) er latextester som er godkjent til bruk direkte på blodkultur for *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* type B og *N. meningitidis*. For *N. meningitidis* type B er sensitiviteten 71 %, for øvrig er sensitivitet og spesifisitet > 96 %¹¹. Metoden kan være aktuell som supplement.

Bakgrunn – direkte resistensbestemmelse

Lappediffusjon

EUCAST har publisert anbefalinger for resistenstesting med lappediffusjon direkte fra positive blodkulturflasker med avlesning etter 4, 6 og 8 timer¹². De fleste Gram-negative bakterier vil kunne avleses etter 4 timer.

En forenklet versjon kan pålitelig påvise resistens mot empirisk behandling av *Enterobacterales* og *S. aureus* etter 3-4 timer, uten å bruke tid på identifikasjon før resistensbestemmelsen påbegynnes¹³.

Gradientstrips

Enkelte norske laboratorier bruker gradientstrips for resistenstesting direkte fra positive blodkulturflasker med avlesning samme dag. Dette gjøres etter intern validering.

Resistensbestemmelse med MALDI-TOF

Påvisning av proteinsyntese: Denne metoden baserer seg på kortvarig (2,5-3 timer) inkubasjon av pelleten fra positive blodkulturflasker med og uten det aktuelle antibiotikum. MALDI-TOF påviser om det har tilkommet mindre proteiner der det var tilsatt antibiotika, som en markør på at antibiotika har hindret proteinsyntese/bakterievekst. Resultatet foreligger etter ca. 4 timer. En studie finner ingen feilklassifikasjoner for gentamicin og cefotaksim, 0,8 % for ciprofloksacin og 5,0 % for piperacillin-tazobactam¹⁴.

Påvisning av hydrolyse av betalaktamringen: Denne metoden utføres i prinsippet som beskrevet over, men inkubasjonstiden er kun 90 minutter, og MALDI-TOF brukes til å påvise om tilsatt antibiotikum har blitt hydrolysert av bakteriene; hydrolyserte antibiotika har andre peaks enn ikke-hydrolyserte. En studie finner 100 % sensitivitet og spesifisitet for *E. coli* og ampicillin, og *Enterobacteriaceae* og klasse C betalaktamaser. For klasse A betalaktamaser var sensitiviteten 100 %, men spesifisiteten 92 %. Svaret forelå innen 2,5 timer¹⁵. Denne metoden er begrenset til påvisning av betalaktamaser.

Påvisning av unike peaks: Enkelte resistensmekanismer medfører unike peaks ved identifikasjon med MALDI-TOF. Denne metoden kan automatiseres og gir da ingen ekstra kostnad eller arbeidsinnsats. Metoden begrenses ved at unike peaks kun er beskrevet ved enkelte resistensmekanismer, og at det kan være forskjell mellom kloner. En studie finner at denne metoden for påvisning av KPC hos *K. pneumoniae* har 100 % spesifisitet og 85 % sensitivitet¹⁶.

Resistensbestemmelse med Vitek2 og Phoenix

Vitek2 gir pålitelig resistensbestemmelse av store Gram-negative staver på 3,3 til 17,5 timer (noen antibiotika kan leses av tidligere enn andre) + tid til preparering (ikke angitt tid)¹⁰. Det var 0,2 % very major error, 0,4 % major error og 1,9 % minor error, beregnet mot organisme-antibiotika-kombinasjon¹⁰. Det er mulighet for fjernavlesning utenom åpningstid. Metoden kan også brukes for Gram-positive kokker, og med Phoenix¹⁷.

Andre metoder – foreløpig ikke aktuelle

Det finnes en rekke mindre utprøvede metoder der utviklingen vil avklare plassen i rutinediagnostikken. Eksempler er påvisning av vibrasjoner i metabolsk aktive bakterier med nanomekanisk sensor¹⁸ og påvisning av vekst i mikrodråper direkte på target med MALDI-TOF¹⁹. Syal *et al* har laget en oversiktsartikkel²⁰.

Med unntak av påvisning av spesifikke peaks med MALDI-TOF er foreløpig alle fenotypiske metoder for resistensbestemmelse basert på inkubasjon med antibiotika koblet med en lang rekke ulike metoder for påvisning av antibiotikaeffekt. Selv om mange av disse metodene er beregnet nettopp på meget raskt å avklare om antibiotika har hatt effekt, er en grunnleggende begrensning avhengighet av en viss inkubasjonstid.

Generelt

Hurtig identifikasjon er i USA vist å medføre raskere opptrapping av antibiotikabehandling, mens rask nedtrapping krever at rask identifikasjon kombineres med et effektivt antibiotikastyringsprogram²¹. Hurtig ID og resistensbestemmelse er vist å redusere mortalitet, intubasjonslengde, lengde på intensivopphold, laboratoriediagnostikk, billeddiagnostikk og kostnader²².

En begrensning for fenotypiske metoder er at ingen av metodene kan brukes på ukultiverte blodkulturflasker.

Referanser hurtigdiagnostikk

1. Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2010;48(2):444–447.
2. Christner M, Rohde H, Wolters M, Sobottka I, Wegscheider K, Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. *J Clin Microbiol.* 2010;48(5):1584–1591.
3. Buchan BW, Riebe KM, Ledebøer NA. Comparison of the MALDI Biotyper system using Sepsityper specimen processing to routine microbiological methods for identification of bacteria from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2012;50(2):346–352.
4. Wüppenhörst N, Consoir C, Lörch D, Schneider C. Direct identification of bacteria from charcoal-containing blood culture bottles using matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2012;31(10):2843–50.
5. Martiny D, Dediste A, Vandenberg O. Comparison of an in-house method and the commercial sepsityper(TM) kit for bacterial identification directly from positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption-ionisation time-of-flight mass spectrometry. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 2012;31(9):2269–81.
6. Direct Bacterial Identification in Positive Blood Cultures by Use of Two Commercial Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Systems. Jonathan H. K. Chen, Pak-Leung Ho, Grace S. W. Kwan, Kevin K. K. She, Gilman K. H. Siu, Vincent C. C. Cheng, Kwok-Yung Yuen, Wing-Cheong Yam. *Journal of Clinical Microbiology, May 2013, 51(6):1733–1739*;
7. Di Gaudio, Francesca & Indelicato, Serena & Indelicato, Sergio & Rita Tricoli, Maria & Stampone, Giuseppe & Bongiorno, David. (2018). Improvement of a rapid direct blood culture microbial identification protocol using MALDI-TOF MS and performance comparison with Sepsityper kit. *Journal of Microbiological Methods.* 155. 10.1016/j.mimet.2018.10.015.

8. Martiny, D., Dediste, A. & Vandenberg, O. Comparison of an in-house method and the commercial Sepsityper™ kit for bacterial identification directly from positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption-ionisation time-of-flight mass spectrometry *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2012) 31: 2269.
9. Bhatti MM, Boonlayangoor S, Beavis KG, Tesic V. Rapid identification of positive blood cultures by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry using prewarmed agar plates. *J Clin Microbiol*. 2014;52(12):4334–4338.
10. Ling TK, Liu ZK, Cheng AF. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from positive blood cultures. *J Clin Microbiol*. 2003;41(10):4705–4707
11. Wellcogen Bacterial Antigen Kit. <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFS-Assets%2FMBD%2FInstructions%2FX7713.pdf&title=V2VsbGNvZ2VuIEJhY3RlcmIhbCBBBnRpZ2VuIEtpdA==>
12. Rapid AST directly from blood culture bottles. http://www.eucast.org/rapid_ast_in_blood_cultures/
13. Weme ET. Rapid antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures by direct inoculation and reading of disc diffusion tests after 3–4 hours. *APMIS*. 2018;126:870–876.
14. Jung JS, Hamacher C, Gross B, Sparbier K, Lange C, Kostrzewa M, et al. Evaluation of a semiquantitative matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry method for rapid antimicrobial susceptibility testing of positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 2016;54:2820–4.
15. Jung JS, Popp C, Sparbier K, Lange C, Kostrzewa M, Schubert S. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid detection of β -lactam resistance in Enterobacteriaceae derived from blood cultures. *J Clin Microbiol*. 2014;52(3):924–930.
16. Cordovana M, Kostrzewa M, Glandorf J, Bienia M, Ambretti S, Pranada AB. A Full MALDI-Based Approach to Detect Plasmid-Encoded KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Front Microbiol*. 2018;9:2854.
17. Gherardi G, Angeletti S, Panitti M, Pompilio A, Di Bonaventura G, Crea F et al. Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012; 72(1):20–31.
18. Stupar P, Opota O, Longo G, Prod'hom G, Dietler G, Greub G, et al. Nanomechanical sensor applied to blood culture pellets: a fast approach to determine the antibiotic susceptibility against agents of bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect* 2017;23:400–5.
19. Idelevich EA, Storck LM, Sparbier K, Drews O, Kostrzewa M, Becker K. Rapid Direct Susceptibility Testing from Positive Blood Cultures by the Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry-Based Direct-on-Target Microdroplet Growth Assay. *J Clin Microbiol*. 2018;56(10):e00913–18. Published 2018 Sep 25.
20. Syal K, Mo M, Yu H, Iriya R, Jing W, Guodong S, Wang S, Gryns TE, Haydel SE, Tao N. Current and emerging techniques for antibiotic susceptibility tests. *Theranostics* 2017; 7(7):1795–1805.
21. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, et al. Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction-Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing. *Clin Infect Dis*. 2015;61(7):1071–1080.
22. Doern GV, Vautour R, Gaudet M, Levy B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. *J Clin Microbiol*. 1994;32(7):1757–1762.

V1.6 Direkte molekylærbiologiske metoder blodkultur

(Øyvind Kommedal Mikrobiologisk avdeling, Haukeland universitetssykehus, Helse Bergen)

Anbefaling: For laboratorier med tilgang til MaldiTOF-MS er genetiske analyser fra positive blodkulturflasker primært aktuelt for påvisning av resistensmarkører. Gevinsten av disse vil i stor grad avhenge av analysetid og laboratoriets åpningstider. Ved enhver genetisk analyse fra blodkulturflasker må man ta høyde for at buljongen ikke er DNA-fri, men inneholder dels høye bakgrunnsnivåer av mikrobielt DNA. De neste årene forventes flere leverandører å komme med helautomatiserte PCR-baserte tester til anvendelse direkte på fullblod. Laboratoriene bør følge denne utviklingen tett og aktivt forholde seg til om dette bør innføres for utvalgte pasientgrupper.

Ekstraksjon av mikrobielt DNA direkte fra positiv blodkulturflaske:

DNA kan ekstraheres direkte fra blodkulturmediet på standard kommersielle ekstraksjonsplattformer. DNA kan også ekstraheres fra pelleterte mikrobielle celler. Fra pellet vil det oftest være tilstrekkelig å ekstrahere DNA ved koking. For enkelte Gram-positive organismer kan det være nødvendig med et ekstra lyseringstrinn før både kommersiell ekstraksjon og koking.

PCR-basert identifikasjon direkte fra positiv blodkulturflaske:

Sant positive blodkulturflasker inneholder rikelig mikrobielt DNA, og identifikasjon av bakterier ved bruk av molekylærbiologiske metoder vil ha en utmerket sensitivitet.

Det finnes en rekke kommersielle tilbydere av automatiserte multiplex-PCR analyser som påviser og identifiserer de hyppigste bakterielle årsakene til sepsis/bakteriemi. Bruk av denne typen tester er i utgangspunktet ikke rasjonelt for laboratorier som har MaldiTOF-MS og kan benytte denne til raskere og billigere direkte identifikasjon fra pelleterte bakterieceller.

Helautomatiserte PCR-analyser kan være nyttig for å få rask identifikasjon på mindre sykehus uten mikrobiologisk laboratorium, eller dersom det mikrobiologiske laboratoriet har kort åpningstid/helgestengt. Dette forutsetter god opplæring av personalet som skal benytte instrumentet og tolke resultatene.

PCR-basert påvisning av resistensmarkører direkte fra positiv blodkulturflaske:

Påvisning av genetiske resistensmarkører er vist å kunne redusere tiden det tar å oppdage klinisk betydningsfull resistens mot empirisk behandling med nesten 50% sammenholdt med fenotypisk direkteresistens (1).

Det finnes flere kommersielle multiplex-PCR analyser for påvisning av genetiske resistensmarkører. Utvalget og sammensetningen av disse har så langt i liten grad vært tilpasset norsk epidemiologi og norske retningslinjer for antibiotikabehandling. De kan unntaksvis være nyttig, for eksempel dersom prøven er tatt fra en pasient som nylig har vært innlagt på sykehus i et land med høy forekomst av karbapenemaser. Siden dette vil gjelde få pasienter ansees det imidlertid relativt uproblematisk å dekke disse empirisk inntil vanlig direkteresistens foreligger.

Et alternativ er å etablere in-house PCR diagnostikk som dekker et mer relevant utvalg av resistensmarkører. Aktuelle markører kan være gener som koder for kefalosporin eller aminoglykosidresistens hos *Escherichia coli* og *Klebsiella* spp. og gener som koder for

vancomycin eller høygradig gentamicin-resistens hos *Enterococcus faecium* og *Enterococcus faecalis*. En forutsetning for at denne typen in-house diagnostikk skal være nyttig er at laboratoriet har utvidet åpningstid og kan tilby analysen størsteparten av døgnet.

Feilkilder knyttet til direkte PCR basert påvisning:

Blodkultur-medier er sterile, men ikke DNA-frie (1, 2). Buljongen hos eksisterende leverandører inneholder relativt mye bakterielt DNA, og amplifikasjon med universell 16S rRNA-PCR gir Ct-verdier rundt syklus 25-30. Selv om det meste av det mikrobielle DNAet kommer fra typiske miljø-mikrober kan det forekomme DNA fra potensielt klinisk relevante bakterier som for eksempel *Pseudomonas* eller enterokokk-arter. DNA-sammensetningen kan også variere fra batch til batch. I utgangspunktet skal en positiv blodkultur gi en sterkt positiv PCR (før Ct 25), og man bør være skeptisk til svakt positive resultat. Enkelte ganger kan man ønske å gjøre 16S rRNA sekvensering fra positive blodkulturer der man ved mikroskopi mistenker at der finnes bakterier eller rester av bakterier som ikke vokser på sekundærutsæd eller lar seg pelletere til MaldiTOF-MS. I så fall skal man alltid ta med en negativ kontroll fra ubrukt blodkulturflaske fra samme batch og kun sekvensere prøver som blir positiv på 16S rRNA PCR vesentlig før denne (f.eks minimum 5 sykluser), og uansett tolke alle funn kritisk.

Molekylærbiologisk påvisning og identifikasjon av bakterier direkte fra fullblod:

Molekylærbiologisk påvisning av bakterier direkte fra fullblod har i mange år vært en mikrobiologisk ønskedrøm. Industrien har hatt ulike satsninger som dels har resultert i kommersielle produkter. Dessverre har disse vært upraktiske i bruk, hatt altfor lang analysetid og dessuten en sensitivitet og spesifisitet som ikke har vært tilfredsstillende. Dette bildet er i ferd med å endre seg, og det er flere PCR-baserte produkter på vei inn i markedet som lover helautomatisk identifikasjon på rundt én time. Disse produktene har også dedikerte DNA-frie prøverør og er ikke beheftet med feilkildene beskrevet over. Både på grunn av utforming og kostnader er dette analyser som i første omgang ikke vil ha samme brede indikasjon som standard blodkultur, men være reservert utvalgte, alvorlig syke pasienter med høy pretest sannsynlighet. Disse instrumentene er helautomatiserte og utformet for å kunne plasseres pasientnært. Gitt sykdommens alvorlighetsgrad anbefales det at laboratorier som anskaffer denne typen diagnostikk tilstreber å finne løsninger som gjør at analysen er tilgjengelig på døgnbasis. Igjen forutsetter dette grundig opplæring av personell både i bruk og tolkning.

Referanser direkte molekylærbiologiske metoder

1. Kommedal O, Aasen JL, Lindemann PC. Genetic antimicrobial susceptibility testing in Gram-negative sepsis - impact on time to results in a routine laboratory. *APMIS*. 2016;124(7):603-10.
2. Ward C, Stocker K, Begum J, Wade P, Ebrahimsa U, Goldenberg SD. Performance evaluation of the Verigene(R) (Nanosphere) and FilmArray(R) (BioFire(R)) molecular assays for identification of causative organisms in bacterial bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34(3):487-96.

V1.7 Hvordan kan positive blodkulturer ha størst mulig betydning for pasientbehandlingen?

(Kristine Karlsrud Berg, Lege i spesialisering, Avdeling for medisinsk mikrobiologi, Helse Møre og Romsdal; Brita Skodvin, Overlege, Nasjonal Kompetansetjeneste for Antibiotikabruk i Spesialisthelsetjenesten)

Definering av problemstilling

1. Har det noen effekt på pasientbehandlingen å innføre hurtigdiagnostikk?
2. Har det noen effekt på pasientbehandlingen å kombinere hurtigdiagnostikk med rådgivning om behandling?
3. Hvordan bør rutinene for formidling av positive blodkulturer utformes?

Bakgrunn

De siste årene har mikrobiologisk metodikk og teknologi utviklet seg mye, og det er et stort fokus på å redusere tiden fra prøven er tatt til svaret er sendt ut til rekvirent. Spørsmålet er om innføring av ny og raskere mikrobiologisk metodikk og teknologi fører til bedre pasientbehandling og gir en god utnyttelse av helsevesenets ressurser.

En norsk kohortstudie viser at kun halvparten av aktuelle mikrobiologiske prøvesvar ble brukt til å optimalisere pasientenes antibiotikabehandling (1). Et neste spørsmål blir da hvorvidt det har effekt på pasientbehandlingen om laboratoriene ved muntlig formidling av prøvesvar også gir råd om antibiotikabehandling.

Studier viser også at kommunikasjonen mellom laboratoriet og de kliniske enhetene ofte er suboptimal, bl.a. er det rom for forbedring av kommunikasjon av kritiske prøvesvar som positive blodkulturer (2). Et tredje spørsmål blir da hva litteraturen sier om hvordan rutinene for formidling av kritiske prøvesvar bør utformes. Arbeid med å utbedre kommunikasjon av resultatet fra mikrobiologiske undersøkelser til klinisk personale er og i samsvar med den Nasjonale

handlingsplanen mot antibiotikaresistens i helsetjenesten, som har listet dette opp som et element i sykehusenes obligatoriske antibiotikastyringsprogram.

Status for problemstilling i dag

Effekt av hurtigdiagnostikk og rådgivning

Det er publisert en rekke studier på hurtigdiagnostikk direkte på blodkulturer med effektparametere som tid til effektiv terapi, tid til optimal terapi, liggedøgn og mortalitet. Det er en overvekt av studier som inkluderer aktiv rådgivning via et antibiotikastyringsprogram. Her har vi tatt med konklusjonen fra noen av de mest relevante studiene.

Hurtigdiagnostikk uten rådgivning

En sveitsisk studie sier noe om hvor stor betydning hurtigdiagnostikk har på valg av empirisk antibiotika ved blodbaneinfeksjoner. Den sammenlikner bruk av gram preparat med MALDI-TOF direkte fra blodkulturflaske. De fant at rapportering av gram-preparat alene førte til

endring av antibiotika i 20,8% av tilfellene, ved bruk av MALDI-TOF førte dette til en endring av empirisk terapi i 35,1% av tilfellene (3).

En systematisk review og metaanalyse fra 2017 ser på den kliniske betydningen av molekylær hurtigdiagnostikk på blodkulturer (inkludert MALDI-TOF). I 20 av de 31 inkluderte studiene er hurtigdiagnostikken kombinert med et antibiotikastyringsprogram. I studiene uten rådgivning er det en klar trend mot redusert mortalitet, men ikke statistisk signifikant. I de samme studiene er det også en trend mot kortere sykehusopphold og kortere tid til effektiv terapi (4).

Hurtigdiagnostikk med rådgivning

I metaanalysen som er referert ovenfor fant de en signifikant reduksjon i mortalitet kun når hurtigdiagnostikk var kombinert med et antibiotikastyringsprogram (OR 0,64 95%CI, 0,51-0,79)(4). Effekten var gjeldende både for gram positive-, gram negative- og infeksjoner med multiple mikroorganismer. En amerikansk studie fra 2017 har også funnet at hurtigdiagnostikk (MALDI TOF) med tillegg av aktiv rådgivning gav en signifikant reduksjon i tid til optimal terapi fra 75 til 43 timer, samt en signifikant reduksjon i liggedøgn (15 vs. 9 dager) og kortere liggetid på intensivavdeling for gram-negative infeksjoner (5,55 vs. 1,19 dager) (5).

De fleste studiene ser kun på effekten av hurtig identifikasjon. Perez et. al har imidlertid gjort flere studier hvor de i tillegg gjør direkte resistensbestemmelse ved hjelp av Phoenix system (BD Diagnostics) kombinert med rådgivning. De sammenlikner her med tradisjonell mikrobiologisk diagnostikk. I en av disse studiene inkluderte de kun pasienter med multiresistente og ESBL produserende gram-negative mikrober. De fant da en stor effekt både på tid til optimal terapi og antall liggedøgn, men også en tydelig effekt på mortalitet som ble redusert fra 21% til 9%. Etter multivariate analyser forble intervensjonen en signifikant prediktor for overlevelse (6).

Nedskalering av terapi

I Norge som har lav forekomst av antibiotikaresistens vil man kanskje ikke vente en stor effekt på mortalitet ved bruk av hurtigdiagnostikk, da de fleste har dekkende behandling med empiriske regimer. Derimot kan man nok bidra i stor grad til nedskalering av terapi. En studie utført i Molde med hurtig resistensbestemmelse på VITEK 2 viste at 20/69 pasienter med gram negativ bakteriemi fikk behandling med et tredjegerasjons cefalosporin eller karbapenem. Av disse 20 var 16 unødvendige og kunne nedskaleres etter resistensbestemmelse (7). Ved å ringe ut dette resultatet tidlig og sikre seg at det blir mottatt og forstått kan man redusere mange døgndoser med bredspektret behandling.

Effekt av rådgivning uten hurtigdiagnostikk

Den samlede effekten av hurtigdiagnostikk og aktiv antibiotikastyring er stor, men effekten av komponentene hver for seg er mer usikker. En studie har sett på effekten av å legge til MALDI-TOF direkte fra positive blodkulturer i et område hvor et aktivt antibiotikastyringsprogram allerede er godt etablert. De fant da at tillegg av MALDI-TOF gav kortere tid til aktiv behandling, færre hadde behov for intensivbehandling og det var kortere behandlingstid på kontaminanter (8).

Kostnadseffektivitet

En omfattende review fra 2018 har sett på kostnadseffektiviteten av ulike former for hurtigdiagnostikk på blodbaneinfeksjoner med og uten et antibiotikastyringsprogram. De konkluderer tydelig med at MALDI-TOF kombinert med et antibiotikastyringsprogram er den

mest kostnadseffektive strategien. I tillegg finner de at med denne strategien kan man forhindre ett dødsfall per hver 14. pasient med mistenkt blodbaneinfeksjon. Hurtigdiagnostikk uten antibiotikastyringsprogram var ikke kostnadseffektivt (9).

Konklusjon

Oppsummert viser litteraturgjennomgangen at hurtigdiagnostikk kombinert med et antibiotikastyringsprogram har den klart største gevinsten på de ulike effektparameterne. Dette samsvarer med Infectious Disease Society of America ASP guideline som anbefaler at det brukes hurtigdiagnostikk kombinert med et antibiotikastyringsprogram ved diagnostikk av blodbaneinfeksjoner (10).

Føringer for kompetanse hos mikrobiolog

I publikasjonene som er referert her er rådgivningen som er gitt som intervensjon utført som ledd i et antibiotikastyringsprogram. Dette består som regel av infeksjonsspesialiserte farmasøytter eller leger.

Rådene som blir gitt går på valg av behandling etter informasjon gitt fra mikrobiologisk avdeling. Intervensjonene er oftest de-eskalering av terapi, avslutte behandling (ved funn av kontaminanter) og i en del tilfeller gi bredere dekning. Intervensjonene blir som regel tatt til følge (ca. 90%). I Norge er per i dag antibiotika-teamene ikke rigget for denne type oppgaver, men vi mener at mikrobiologene bør ha kompetanse til å gi denne type råd. Ifølge læringsmål for leger i spesialisering innen mikrobiologi er det flere klare krav til dette:

- MMB 040 Læringsmål: Selvstendig kunne tolke bakteriologiske funn og gi råd og veiledning til kliniker.
- MMB 089 Læringsmål: Selvstendig kunne gi råd om antibiotikabehandling i henhold til nasjonale retningslinjer.

Dette krever at mikrobiologene har klinisk erfaring og noe infeksjonsmedisinsk kompetanse.

Utforming av rutiner for formidling av positive blodkulturer

Litteraturen på dette området er sparsom, og vi har ikke funnet kilder som belyser formidling av kritiske mikrobiologiske prøvesvar spesielt, men noen publikasjoner for formidling av kritiske laboratoriesvar generelt (11). For å oppnå effektiv kommunikasjon og adekvat oppfølging av prøvesvar, anbefales utvikling av prosedyrer lokalt gjennom et samarbeid mellom laboratoriet og brukerne (klinikerne). Dette samsvarer med generelle anbefalinger for kvalitetsforbedring, som angir at interessenter bør involveres og løsninger tilpasses den spesifikke kontekst. I norske sykehus vil organiseringen av avdelinger og vaktordninger, tilgjengelige fagpersoner, elektroniske løsninger osv.

varierte, og følgelig ha betydning for utforming av prosedyrene. I henhold til litteraturen bør prosedyrene angi (11):

1. Hvordan positive blodkulturer skal formidles (kanal(er))
2. Hvem som skal motta svar om positiv blodkultur
3. Hvilken informasjon som skal ledsage prøvesvaret
4. Hvordan mottakelse av prøvesvar skal bekreftes
5. Hvordan informasjonsoverføringen skal dokumenteres
6. Rutiner for å jevnlig evaluere prosedyrene (punktene 1-5 over)

I arbeidet med å utvikle disse prosedyrene kan sykehusenes antibiotika-team være nyttige samarbeidspartnere. I henhold til Nasjonal handlingsplan mot antibiotikaresistens i helsetjenesten skal antibiotika-teamene være forankret i sykehusledelsen, være tverrfaglige med kompetanse innen smittevern, infeksjonsmedisin, farmasi og mikrobiologi, samt ha kunnskap om forbedringsarbeid. Teamenes sammensetning og ressurser kan imidlertid variere.

Forslag til anbefalinger

- Laboratoriene bør tilby en form for hurtigdiagnostikk på blodkulturer
- Laboratoriene bør gi råd om valg av antibiotikabehandling når positive blodkulturer ringes ut
- Laboratoriet bør sammen med kliniske enheter utarbeide en prosedyre for hvordan prøvesvaret skal formidles, til hvem og hvordan dette skal dokumenteres

Referanser forbedret klinisk relevans

1. Skodvin B, Wathne JS, Lindemann PC, Harthug S, Nilsen RM, Charani E, et al. Use of microbiology tests in the era of increasing AMR rates- a multicentre hospital cohort study. *Antimicrobial resistance and infection control*. 2019;8:28 doi: 10.1186/s13756-019-0480-z.
2. Hawkins R. Managing the pre- and post-analytical phases of the total testing process. *Annals of laboratory medicine*. 2012;32(1):5-16.
3. Clerc O, Prod'homme G, Vogne C, Bizzini A, Calandra T, Greub G. 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. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2013;56(8):1101-7.
4. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2017;64(1):15-23.
5. Beganovic M, Costello M, Wiczorkiewicz SM. Effect of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Alone versus MALDI-TOF MS Combined with Real-Time Antimicrobial Stewardship Interventions on Time to Optimal Antimicrobial Therapy in Patients with Positive Blood Cultures. *Journal of clinical microbiology*. 2017;55(5):1437-45.
6. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Peterson LE, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. *The Journal of infection*. 2014;69(3):216-25.
7. Nilsen E. Automated identification and susceptibility determination directly from blood cultures facilitates early targeted antibiotic therapy. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2012;44(11):860-5.
8. Osthoff M, Gurtler N, Bassetti S, Balestra G, Marsch S, Pargger H, et al. Impact of MALDI-TOFMS-based identification directly from positive blood cultures on patient management: a controlled clinical trial. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2017;23(2):78-85.
9. Pliakos EE, Andreatos N, Shehadeh F, Ziakas PD, Mylonakis E. The Cost-Effectiveness of Rapid Diagnostic Testing for the Diagnosis of Bloodstream Infections with or without Antimicrobial Stewardship. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(3):e00095-17.
10. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, MacDougall C, Schuetz AN, Septimus EJ, et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(10):e51e77.
11. Lippi G, Mattiuzzi C. Critical laboratory values communication: summary recommendations from available guidelines. *Annals of translational medicine*. 2016;4(20):400.

V1.8 Vurdering av funn som kan være kontaminanter

(Aleksandra Jakovljević, Avdeling for medisinsk mikrobiologi, St. Olavs Hospital, Trondheim universitetssykehus)

Definering av problemstilling

Kontaminasjon av blodkulturflasker gir opphav til tvil om betydning av funn som kan medføre unødvendig bruk av antibiotika og økte pasient kostnader. Påvisning av vanlig blodkultur kontaminanter, som koagulase negative stafylokokker (KNS) og andre hudbakterier, og deres differensiering fra klinisk signifikant bakteriemi har blitt komplisert i de siste tiårene på grunn av økt forbruk av sentral venøs katetre (SVK) og andre intravaskulære katetre, samt implantater og proteser. Hos denne pasientgruppen er det registrert økt forekomst av klinisk signifikant bakteriemi forårsaket av de vanligste hudbakteriene, men funnene kan også representere kontaminasjon ved blodkultur prøvetaking eller koloniseringsflora på katetre (1-3).

Målet med dette sammendraget er å gi, basert på dagens kunnskap, anbefalinger som kan hjelpe med å differensiere mellom klinisk relevante funn og blodkulturkontaminanter. Anbefalingene er basert på litteratur søk og særlig fokus er satt på KNS som utgjør ca. 75-88% av funnene.

Bakgrunnsinformasjon

Blodkulturkontaminanter defineres som mikroorganismer påvist i ≥ 1 positiv blodkultur flaske, men som er uten klinisk signifikans for pasienten. Forekomst av kontaminasjon blant utførte blodkulturanalyser på et sykehus bør ligge mellom 2 til 3%, men i praksis varierer den mellom 0,6 og 6%.

Hovedkriterier som kan hjelpe med å differensiere mellom kontaminasjon og bakteriemi:

- **Sikker artsidentifikasjon av mikroorganismer:** Skiller sikre patogener fra sannsynlige kontaminanter. KNS, *Micrococcus spp*, *Cutibacterium spp*, *Bacillus spp* (unntatt *B. anthracis*), *Corynebacterium spp* og viridansstreptokokker er de vanligste kontaminanter. Blant KNS, bør *Staphylococcus lugdunensis* vurderes som et funn med sannsynlig klinisk signifikans. *Lactobacillus spp*, enterokokker, *Neisseria spp* (unntatt *N. meningitidis*), *Moraxella spp*, *Abiotrophia spp* og *Granulicatella spp* er empirisk rapportert som mulige kontaminanter (1-3). I en studie av Weinstein M.P. *et al* (4) ble *Clostridium perfringens* funnet å være kontaminant i 77% av tilfeller, mens andre *Clostridium spp.* var sikre patogener i mer enn 80% av bakteriemi episoder.
- **Antall positive blodkulturflasker med sannsynlige kontaminanter:**
 - a) Kun én positiv blodkulturflaske av 2 sett (aerob + anaerob flaske) tatt perifert via venepunksjon vurderes som sannsynlig kontaminasjon og besvares uten resistensbestemmelse. Tolkningen baseres på positiv prediktiv verdi (PPV) av ekte bakteriemi som påvirkes signifikant av antall blodkultursett. Tokars *et al* (5) fant i en modellstudie at PPV var 55%, 20% og 5% når KNS ble påvist i 1-2 flasker av hhv 1, 2 eller 3 blodkultursett tatt perifert. Tilsvarende tall for blodkulturer tatt fra SVK viste lavere PPV med hhv 39%, 14% og 3,6% (Tabell 1, ref. 5):

Table 1. Sensitivity and positive predictive value (PPV) of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci among patients with central vascular lines (CVLs) in place.

No. of cultures performed	No. of positive culture results	All cultures of samples obtained by vein		PPV, by no. of cultures of samples obtained by CVC, %		
		Sensitivity, % ^a	PPV, %	1	2	3
1	1	80.4	55.4	38.7
2	1	31.5	19.9	14.2	19.9	...
2	2	64.6	98.0	96.2	49.8	...
3	1	9.3	4.7	3.6	4.7	4.7
3	2	38.0	90.9	85.8	35.9	90.9
3	3	52.0	100.0	99.9	97.6	45.0
3	2 or 3	90.0	95.9	93.5	56.9	56.9

NOTE. Initial parameter values (bacteremia rate, 3%; contamination rate, 2%; detection rate, 80%; catheter colonization rate, 2%; risk ratio, 1; see Parameter Definitions and Values) were used for all calculations.

^a Equivalent to the percentage of true cases of bacteremia that will show the number of positive culture results among the number of cultures performed.

Optimal blodkultur diagnostikk krever alltid (minst) 2 blodkultur sett sendt til laboratoriet hvor minst 1 blodkultursett bør tas perifert.

b) Funn av ≥ 2 positive blodkulturer med samme mikrobe utelukker ikke kontaminasjon. *Souvenir et al* (6) samlet kliniske data fra 1433 pasienter med påvist isolasjon av KNS fra blodkultur for å differensiere mellom klinisk signifikant bakteriemi og pseudobakteriemi (kontaminasjon). Studien visste at 12% av pasienter i kontaminasjons kategori hadde to eller mer av positive blodkultur flasker og 35% av pasienter med signifikant bakteriemi hadde kun en singel positiv blodkultur.

- **Fenotypiske og genotypiske undersøkelser:** Resistensbestemmelse kan ikke brukes for differensiering mellom samme KNS species i ulike blodkulturflasker. Blant stammer med like MIC verdier forelå genotypisk ulike isolater hos 9 til 18% (7,8). Molekylære studier (PFGE) har bekreftet at multiple positive blodkulturer med isolasjon av samme KNS species sannsynligvis er klinisk signifikante, men at kontaminasjon ikke kan utelukkes (7,9). Generelt var genetisk identiske stammer hyppigere påvist hos pasienter med ekte bakteriemi, mens genotypisk ulike varianter av samme KNS species var vanligere ved kontaminasjon eller ved infeksjon forårsaket av multiple stammer med samme opphav (f.eks. biofilm på implantater med isolasjon av nært beslektede eller identiske PFGE isolater). PFGE eller annen genotyping utføres per i dag sjelden i rutinearbeid og fortrinnsvis ved ønske om avklaring ved residiverende bakteriemi episoder for å se om det foreligger reinfeksjon eller residiv med samme stamme.
- **Tid til positivitet og kvantitet av oppvekst:** Høyere bakterie inokulum ved bakteriemi enn ved kontaminasjon skulle teoretisk og empirisk gi tidligere positive blodkulturer. Blodkulturene som slår ut som positive etter 3 til 5 dagers inkubasjon er sannsynligvis kontaminanter når artsidentifikasjon bekrefter mistanke. Uansett, tid til positivitet (TTP) anses som en kontrastfull parameter for differensiering. Noen studier fant ingen signifikant tidsforskjell mellom blodkulturene som slo ut positive med KNS ved ekte bakteriemi eller kontaminasjon (6,8), mens andre studier klarte å sette grense til <16 timer for klinisk signifikant KNS bakteriemi (10). Påstanden av de siste baseres på kvantitativ måling av koloni forming units (CFU) fra positive blodkulturer og sammenligning med TTP. Høy CFU (>100) var assosiert med kortere TTP (<16 timer) og behandlings trengende pasienter (81%). Lav CFU (<10 kolonier) var assosiert med lengre TTP (>20 timer) og godt klinisk forløp uten antibiotika hos 71% av pasienter. Det var konkludert at blodkulturene som slår ut som positive etter >20 timer kan oppfattes

som sannsynlig kontaminasjon, men bør tolkes med forsiktighet hos høyrisiko grupper som hematologiske og pasienter med SVK. Moderat antall av CFU (30-100 kolonier) og TTP 16-20 timer representerer en «grå sone».

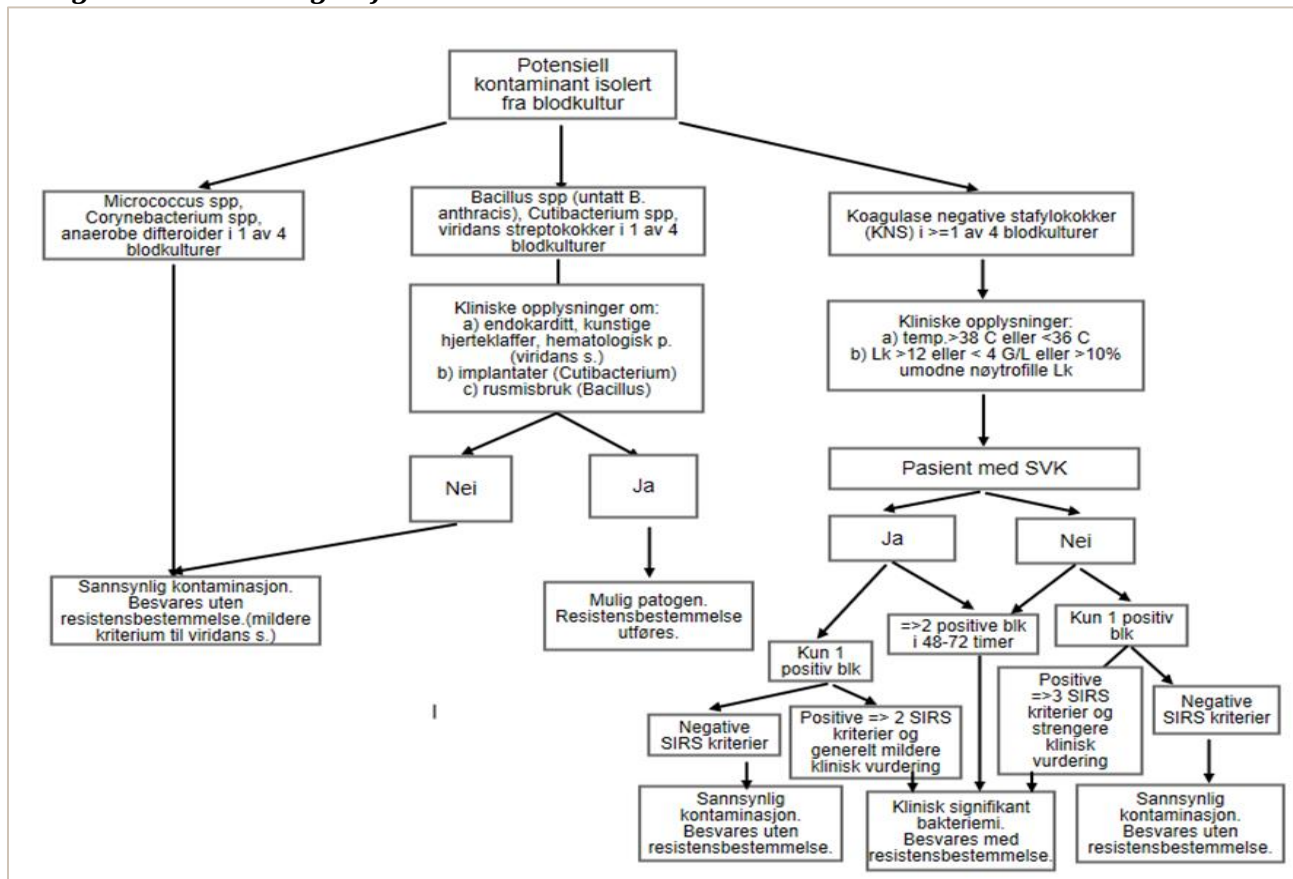
- **Blodkultur prøvetaking fra SVK eller fra perifer vene:** Tolkning av resultater fra blodkulturer tatt ved perifer venepunksjon er enklere enn disse som er tatt fra SVK eller andre intravaskulære katetre. Positive SVK funn krever vurdering av tilleggs opplysninger: type av katetre, lokalisasjon, innsettelses tid (kort- vs. langtids katetre), påvisning av isolatet kun fra blodkultur tatt fra SVK eller kun perifert, eller fra begge to steder. Det er publisert mange studier med varierende metodologier og tolkninger (11). Generelt anses CLSI kriterier for diagnostikk av kateter relaterte blodstrøm infeksjoner (KRBSI) veiledene (1,12). Dersom blodkulturene er tatt både fra SVK og perifert, gjelder følgende anbefaling:
 - En eller flere blodkulturer tatt perifert er positive OG blodkultur(ene) fra SVK er positive → suspekt KRBSI
 - En eller flere blodkulturer tatt perifert er positive OG blodkultur(ene) tatt fra SVK er negative → resultat uten konklusjon eller kan tolkes som mulig kontaminasjon
 - Begge to blodkulturene tatt perifert er negative OG blodkultur(ene) tatt fra SVK er positive → suspekt kolonisering av kateter
 - Begge to blodkulturene tatt perifert er negative OG blodkulturene tatt fra SVK er negative → lite mistanke om KRBSI

Algoritmer og klinisk vurdering

Laboratiebaserte algoritmer har blitt undersøkt i noen av kliniske studier med målet om å etablere enklere vurdering av blodkulturkontaminanter (13-15). *Richter et al* (13) undersøkte en algoritme for enkel vurdering av vanligste hudkontaminantene. Samsvar mellom automatisk klassifikasjon av isolater som kontaminanter på laboratoriet og etter klinisk vurdering av leger var opptil 85,8% når kontroll blodkulturene var negative. I studien av *Elzi et al* (14) var 654 KNS bakteriemi episoder undersøkt med en sammensatt algoritme som vurderte antall av positive blodkulturer, SIRS kriterier og tilstedeværelse av SVK. Algoritmen klassifiserte 35% av positive KNS blodkulturer, inklusiv en singel positiv blodkulturflaske, som klinisk signifikant bakteriemi når minst 3 SIRS kriterier var oppfylt eller minst 2 SIRS kriterier hos pasienter med SVK. Klinisk vurdering av mulige blodkulturkontaminanter basert kun på SIRS kriterier ble ikke anbefalt i andre publikasjoner (4,16). *Rahkonen et al* (16) fant at isolert bruk av SIRS kriterier som hjertefrekvens, blodtrykk og kroppstemperatur kunne ikke hjelpe med å differensiere mellom ekte KNS bakteriemi og kontaminasjon. I en annen studie som omfattet 707 septiske pasienter, fant *Weinstein et al* (4), ved bruk av utvidede kliniske kriterier, at kun 12,4% av KNS positive blodkulturer hadde klinisk signifikans.

Et forslag til modifisert algoritme er laget her basert på tidligere publikasjon (13-15). Vurdering av positiv KNS funn hos pasienter med SVK kan være utfordrende. Telefon kommunikasjon mellom mikrobiolog og klinikker, hvor man tar hensyn til klinisk status av pasienten og inflammasjonsmarkører, samt respons til eventuelt antibiotikabehandlingen, kan være hjelpfull i avklaring av klinisk signifikans av funnet.

Algoritme: Vurdering av funn som kan være blodkultur kontaminanter



Modifisert fra referanse 13-15.

Tolkning av mulige blodkultur kontaminanter hos pediatriske pasienter

Anbefalingene i dette sammendraget er rettet mot voksne pasienter. Singel blodkultur flaske og mindre blodvolum tatt fra pediatriske pasienter er en utfordring til tolkning ved funn av mulige kontaminanter. *Chappell-Campbell et al* fant i en stor metaanalysestudie (17) signifikant variasjon i rapportering av mulige kontaminanter og kontaminasjons nivå (mellom 0,5% og 22,8%). Kategorisering av bakterier som kontaminanter var usammenhengende mellom ulike studier, særlig ved klassifikasjon av Gram-positive kokker som patogener eller kontaminanter. Artsidentifikasjon av mikroorganisme, klinisk behandling og andre faktorer var anvendte kriterier for kategorisering av funn som mulig kontaminant. Det var få studier som rapporterte blodvolum av positive blodkulturer, en signifikant faktor i den populasjon, som skulle påvirke tolkning av resultatene i retning av ekte bakteriemi eller kontaminasjon. Forfattere konkluderte at kategorisering av funnene som mulige kontaminanter ved bruk av kun artsidentifikasjon er betydelig usikker hos pediatriske pasienter og bør alltid gjøres i kombinasjon med klinisk vurdering.

Referanser:

- Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DV. *Manual of Clinical Microbiology*, 11th Ed, 2015
- Hall KK and Lyman JA. Updated Review of Blood Culture Contamination. *Clin Micro Rev*, Oct. 2006, p. 788–802
- Dargère S, Cormier H, Verdon R. Contaminants in blood cultures: importance, implications, interpretation and prevention. *Clin Microbiol Infect*.2018;24: 964-969
- Weinstein MP et al. The Clinical Significance of Positive Blood Cultures in 1990s. *Clin Infect Dis* 1997; 24:584-602
- Tokars JI. Predictive Value of Blood Cultures Positive for Coagulase-Negative Staphylococci: Implications for Patient Care and Health Care Quality Assurance. *Clin Infect Dis* 2004; 39:333–41

- Souvenir D, Anderson DE Jr., Palpant S, Mroch H, Askin S, Anderson J et al. Blood Cultures Positive for Coagulase-Negative Staphylococci: Antisepsis, Pseudobacteremia and Therapy of Patients. *J Clin Microbiol* July 1998, p. 1923–1926
- Sharma M, Riederer K, Johnson LB and Khatib R. Molecular Analysis of Coagulase-Negative *Staphylococcus* Isolates from Blood Cultures: Prevalence of Genotypic Variation and Polyclonal Bacteremia. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1317–23
- Khatib R, Riederer KM, Clark JA, Khatib S, Briski LE and Wilson FM. Coagulase-Negative Staphylococci in Multiple Blood Cultures: Strain Relatedness and Determinants of Same-Strain Bacteremia. *J Clin Microbiol*, Apr. 1995, p. 816–820
- Seybold U, Reichardt C, Halvosa JS and Blumberg HM. Clonal diversity in episodes with multiple coagulase-negative staphylococcus bloodstream isolates suggesting frequent contamination. *Infection*, Vol 37, Issue 3, June 2009, Pages 256-260
- Kassis C, Rangaraj G, Jiang Y, Hachem RY and Raad I. Differentiating Culture Samples Representing Coagulase-Negative Staphylococcal Bacteremia from Those Representing Contamination by Use of Time-to-Positivity and Quantitative Blood Culture Methods. *J Clin Microbiol*, Oct. 2009, p. 3255–3260
- Falagas ME, Kazantzi MS and Bliziotis IA. Comparison of utility of blood cultures from intravascular catheters and peripheral veins: a systematic review and decision analysis. *J Med Microbiol* Jan 2008.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. Principles and Practice of Blood Cultures. Document M-47. *Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.*
- Richter SS, Beekmann SE, Croco JL, Diekema DJ, Koontz FP, Pfaller MA and Doern GV. Minimizing the Workup of Blood Culture Contaminants: Implementation and Evaluation of a Laboratory-Based Algorithm. *J Clin Microbiol*, July 2002, p. 2437–2444
- Elzi L, Babouee B, Vögeli N, Laffer R, Dangel M, Frei R, Battegay M and Widmer AF. How to discriminate contamination from bloodstream infection due to coagulase-negative staphylococci: a prospective study with 654 patients. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: E355–E361
- Schnell D, Lécuyer H, Geeraerts T, Dumenil AS, Bille E, Mercier FJ, Banhamou D and Zahar JR. Preliminary evaluation of a new clinical algorithm to interpret blood cultures growing coagulase-negative staphylococci. *Scand J Infect Dis*, 2013; 45:562-566
- Rahkonen M, Luttinen S, Koskela M and Hautala T. True bacteremias caused by coagulase negative *Staphylococcus* are difficult to distinguish from blood culture contaminants. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2012) 31:2639–2644
- Chappel-Campbell L, Schwenk HT, Capdarest-Arest N and Schroeder AR. Reporting and Categorization of Blood Culture Contaminants in Infants and Young Children: A Scoping Review. *J Pediatrics Infect Dis Society* Decemb 2018; DOI: 10.1093/jpids/piy125

V1.9 Blodkultur kvalitetsindikatorer

(Fredrik Müller, Avdeling for mikrobiologi, Oslo Universitetssykehus HF)

Bakgrunn

Generelt er det ingen europeisk standard som setter fullstendige krav til blodkulturdiagnostikk (1). Imidlertid foreligger det en betydelig litteratur og en rekke retningslinjer som er relevante. Flere av de andre innleggene på dette Strategimøtet er også viktige når ulike kvalitetsindikatorer skal vurderes.

Basert på dette vil aktuelle kvalitetsindikatorer bli diskutert.

Generelt om kvalitetsindikatorer (hensikt, oppfølging)

Hva er en kvalitetsindikator?

Begrepet «kvalitetsindikator» er avledet fra latin: qualis (beskaffenhet/egenskap) og indicare (angi/antype).

Det foreligger en rekke definisjoner på begrepet «kvalitetsindikator».

- NS-EN ISO 15189:2012:

- ✓ «mål for i hvilken grad en samling av iboende egenskaper oppfyller krav».

- Helsebiblioteket

(<https://www.helsebiblioteket.no/kvalitetsforbedring/kvalitetsmaling/norske-begreper-og-definisjoner>) angir også flere ulike definisjoner:

- ✓ «et observerbart fenomen som viser tilstanden vedrørende et annet, ikke direkte observerbart fenomen».
- ✓ «Målbare variabler som anvendes for å registrere viktige aspekter av tjenestenes kvalitet. Med hjelp av slike måleverktøy kan man identifisere forhold og områder som bør studeres nærmere når det gjelder årsakssammenhenger og muligheter for forbedring". Anvendt av kunnskapssenteret

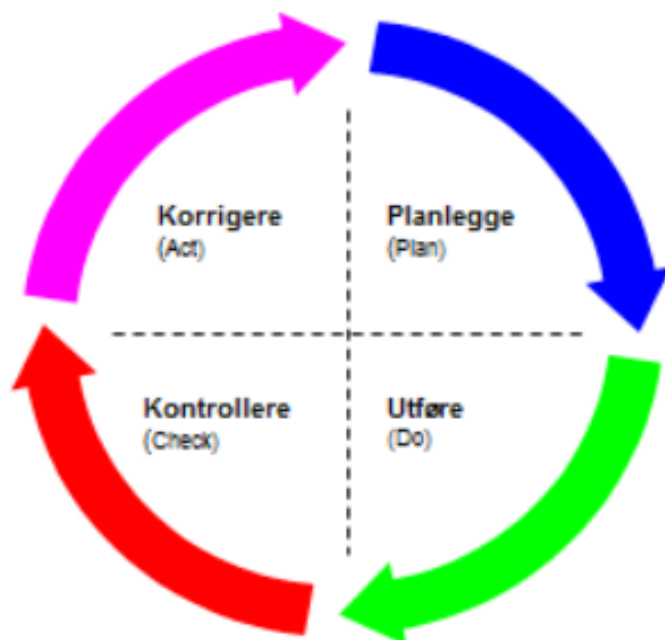
Etter egen vurdering er den siste av disse definisjonene best egnet for dette temaet.

Hvordan skal laboratoriet anvende kvalitetsindikatorer?

NS-EN ISO15189:2012 punkt 4.14.7 angir at: «Laboratoriet skal opprette kvalitetsindikatorer for å overvåke og evaluere kvaliteten på utførelsen av kritiske aspekter i preanalytiske, analytiske og postanalytiske prosesser»

Det er viktig at en kvalitetsindikator er målbar – like viktig er det å vite hva man skal sammenlikne med - hva er «godt nok»? Dessuten må en kvalitetsindikator følges jevnlig for å oppnå hensikten – at prosessen kan overvåkes, evalueres og ved behov forbedres. Bruk Demings sirkel i forbedringsarbeidet (se neste side).

Det foreligger flere nyere publikasjoner der det er gjort intervensjoner for å forbedre blodkulturdiagnostikken med hensyn på kontaminasjonsrate, blodvolum og positivrate (2-6). Stort sett påvises det gunstige effekter av de utførte intervensjonene. Erfaringsmessig kan det være vanskelig å få til varige endringer utover studieperioden.



Figur 1. Demings sirkel for kvalitetsforbedring

Kvalitetsindikatorer – viktige momenter

Kontaminasjonsrate

Korrekt huddesinfeksjon og prøvetaking er viktig for å holde forekomsten av kontaminanter (hudflora) på et lavt nivå. I henhold til (7) beregnes kontamineringsraten som følger: Opptelling av antall blodkultursett (1aerob flaske + 1 anaerob flaske) der det er vekst i flaske(r) av:

- ✓ Koagulase-negative stafylokokker
- ✓ *Bacillus* sp
- ✓ *Corynebacterium* sp
- ✓ *Cutibacterium* sp
- ✓ Alfa-hemolytiske streptokokker
- ✓ *Lactobacillus* sp

Kontamineringsrate: Alle blodkultursett med påvist kontaminant/alle blodkultursett som er tatt i en definert tidsperiode (f.eks. pr år).

Kvalitetsindikator: kontaminasjonsrate < 3 % (7-8)

Blodvolum

Ved blodbaneinfeksjoner er antallet mikroorganismer/ml blod lavt, ikke sjelden < 1 cfu/mL (9-10). Det er derfor anbefalt at det tas et tilstrekkelig blodvolum, vanligvis anbefales 40-60 ml blod (7, 8, 11, 12) fordelt på 4-6 flasker hos voksne. Det er vist at sensitiviteten øker fra 65-75,7 % (20 ml blod) til 80,4-89,2 % (40 ml blod) og videre til 95,7-97,7 % (60 ml blod) (9). I en annen studie (13) var blodvolum en signifikant prediktor for positivitet med en odds ratio på 1,01

(hver ekstra ml blod ga en økning på ca. 1 % i positivitet). Et klassisk arbeid fra 1970-tallet slo fast at «The higher the volume of blood cultured the higher the yield of blood cultures» (14). Dette holder fortsatt stikk.

Det er gode holdepunkter for at underfylling av flasker er vanlig. En ny studie fra Sverige fant at ca. 47 % av alle flasker hadde for lav fyllingsgrad (< 8 mL blod) (15), dette er i overensstemmelse med funn i tidligere studier (16-19).

Blodkultursystemer på markedet har forskjellige muligheter til å påvise fyllingsgraden i blodkulturflaskene. BioMerieux BACT/ALERT har en scanning stasjon som tar bilde av flaskene og angir fyllingsgrad i hver flaske. BD BACTEC beregner blodvolum i batcher på 25 aerobe, dyrkningsnegative flasker basert på erytrocyttmetabolismen i flaskene (18-20). En etablert, men tidkrevende metode er veiing av blodkulturflasker.

Kvalitetsindikator: > 80 % av aerobe blodkulturflasker skal inneholde 8-10 ml blod (21)

For lavt blodvolum/infeksjonsepisode kan også skyldes at det tas for få blodkulturflasker. Taking av kun ett blodkultursett er ikke uvanlig - studier har vist at det i 10 - 28 % av infeksjonsepisodene tas kun ett sett pr 24 timer (9). En slik praksis gir for lav sensitivitet og er derfor ikke akseptabel.

Kvalitetsindikator: Kun ett blodkultursett/24 timer hos < 10 % av pasienter over 18 år (21)

For anbefalt blodvolum hos barn henvises til Generell veileder i pediatri (22) og retningslinjer fra IDSA (Infectious Diseases Society of America) (11). Se også oversiktsartikkel om blodkulturer hos barn (23). Også hos barn er det påvist lavere blodvolum i ca. 50 % av blodkulturflaskene enn anbefalt (24).

Tas det et adekvat antall blodkulturer i sykehuset?

Antall blodkulturflasker pr 100 liggedøgn/år varierer betydelig i Europa (1). Det er anbefalt at det tas så mange blodkulturer i et sykehus at man oppnår en positivrate (positive blodkultursett/alle blodkultursett i en tidsperiode) på 6 - 12 % (7).

En positivrate > 12 % kan tyde på at indikasjonen for å ta blodkulturer er for streng og at det bør tas flere blodkulturflasker, mens en positivrate på < 6 % kan tyde på det motsatte.

Kvalitetsindikator: Positivrate 6- 12 % (7)

Kontroll av blodkulturflasker

Kontroll av hver batch av blodkulturflasker med referansestammer bør utføres, men dette vurderes ikke som et prioritert område for etablering av kvalitetsindikator.

Identifikasjon og resistensbestemmelse

Kvalitetsindikatorer knyttet til identifikasjon og resistensbestemmelse av blodkulturisolater kan tas inn i det generelle kvalitetsarbeidet knyttet til dyrkning, identifikasjon og resistensbestemmelse. Aktuelle indikatorer kan være prestasjoner ved SLP-deltakelse (identifikasjon, resistensbestemmelse), prestasjoner ved bruk av interne kontroller, mv. Da dette ikke er spesifikt for blodkulturer omtales det ikke ytterligere.

Håndtering av blodkulturer - tidsforløp

Tidsforløpet for en blodkultur er vist i figur 2. Kvalitetsindikatorer kan knyttes både til tidsbruk fra prøvetaking til plassering av flasker i blodkulturskap, og tidsbruk fra en flaske angis som positiv til foreløpig identifikasjon og resistensbestemmelse samt foreløpig (og endelig) svarrapportering. Begrenset åpningstid ved de mikrobiologiske laboratoriene utgjør en begrensning når det gjelder å oppnå optimal blodkulturdiagnostikk (1).

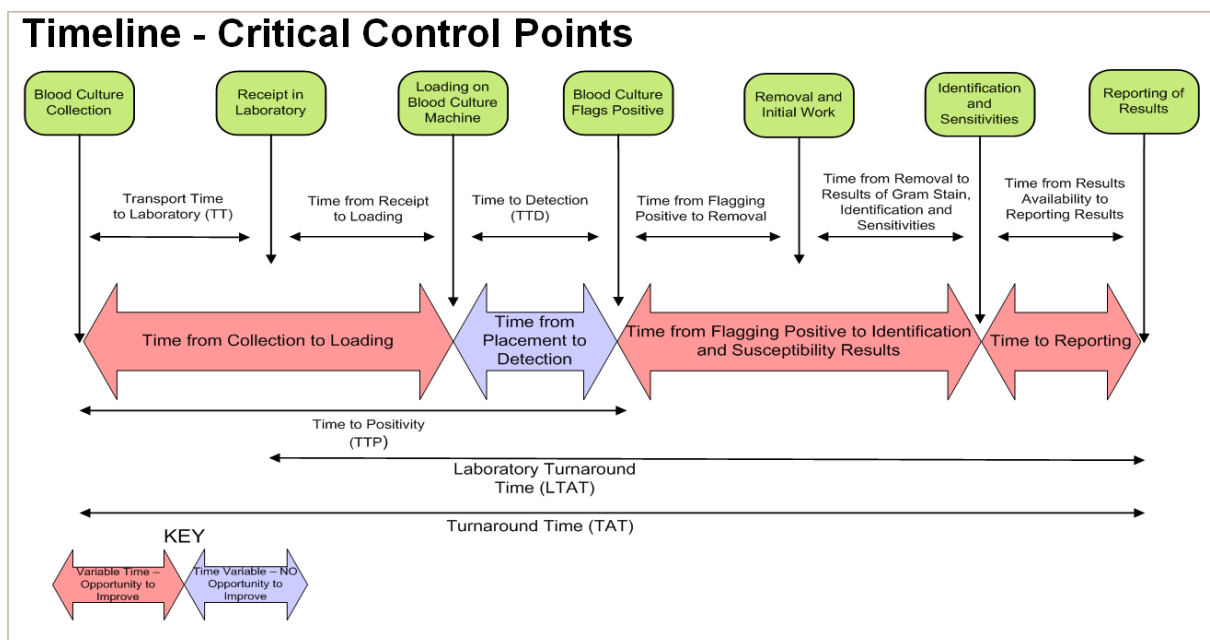
Det bør gå maksimalt 4 timer fra prøvetaking til blodkulturflaskene plasseres i blodkulturskap i henhold til internasjonale anbefalinger (7, 8). I dagens situasjon krever dette at annet personell plasserer flasker i blodkulturskap utenom laboratoriets åpningstid. Dette er et viktig tiltak for å forbedre blodkulturdiagnostikken.

Kvalitetsindikator: Tid fra prøvetaking til flasker er plassert i blodkulturskap < 4 timer (7-8)

Tid fra blodkulturflasken flagger positivt til den tas ut av skap er varierende og avhengig av tid på døgnet. I dagens situasjon er det vanskelig å etablere en god kvalitetsindikator for dette tidsintervallet, men tidsbruk kan med fordel kartlegges. Det kan imidlertid vurderes å lage en kvalitetsindikator for tidsbruk som tar høyde for den store variasjonen i tidsintervall.

Krav til tid fra positiv flaske tas ut av skap til foreløpig identifikasjon (mikroskopi, Maldi-tof mv) og foreløpig resistensbestemmelse (agardiffusjon, agargradientdiffusjon, automatiserte systemer) bør defineres og følges som en kvalitetsindikator. Dette bør defineres lokalt ut fra hvilke metoder som anvendes.

Tid fra foreløpig identifikasjon (og evt resistensbestemmelse) til foreløpig rapport til rekvirent bør følges som en kvalitetsindikator. Public Health England (8) angir < 2 timer fra resultat av foreløpig identifikasjon/resistensbestemmelse til foreløpig rapport til rekvirent.



Figur 2. Tidsforløpet for blodkultur (HPA).

Forslag til kvalitetsindikatorer – til diskusjon på Strategimøtet

	Kvalitetsindikator	Måltall	Prioritet	Frekvens
Preanalytisk	Blodvolum/flaske	8-10 mL; > 80 % aerobe flasker	1	Månedlig
Preanalytisk	Ett sett/24 t	< 10 %	2	Kvartal?
Preanalytisk	Tid til flaske i skap	< 4 timer	4	Kvartal?
Preanalytisk	Kontamineringsrate	< 3 %	5	Årlig
Analytisk	% positive sett	6-12 %	7	Årlig
Postanalytisk	Tid fra flaske flagger ut til den tas ut av skap	?	8	Kvartal?
Postanalytisk	Tid fra flaske tas ut av skap til foreløpig identifikasjon /resistensbestemmelse	< 2 timer	3	Kvartal?
Postanalytisk	Tid fra foreløpig identifikasjon /resistensbestemmelse til foreløpig rapport	< 2 timer	6	Kvartal?

Se referanse 7, 8, 21.

Referanser kvalitetsindikatorer

1. Idelevich EA, Seifert H, Sundqvist M et al. Microbiological diagnostics of bloodstream infections in Europe – an ESGBIES survey. *Clin Microbiol Infect* 2019; April 10
2. El Feghaly RE, Chatterjee J et al. A Quality Improvement Initiative: Reducing Blood Culture Contamination in a Children’s Hospital. *Pediatrics* 2018; 142: e20180244.
3. Yan YZ, Yang HZ, Zhao JX et al. A Quality Control Circle Process to Reduce Blood Culture Contamination Rates. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2019;40:119-120.
4. Sacco KA, Peterson JH, Libertin CR. Education and coaching to optimise blood culture volumes: continuous quality improvement in microbiology. *BMJ Open Qual.* 2018; 7:e000228.
5. Bae M, In Kim H, Park JH et al. Improvement of blood culture contamination rate, blood volume, and true positive rate after introducing a dedicated phlebotomy team. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019; 38:325-330.
6. Khare R, Kothari T, Castagnaro J et al. Active Monitoring and Feedback to Improve Blood Culture Fill Volumes and Positivity across a Large Integrated Health System. *Clin Infect Dis.* 2019 Mar 14. pii: ciz198.
7. Leber AM. *Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4th edition, ASM Press 2016. Chapter 3.4 Blood cultures.*
8. UK Standards for Microbiology Investigations – Investigation of Blood Cultures (for Organisms other than Mycobacterium species). Standards Unit, Microbiology Services, Public Health England, 2018. <https://www.gov.uk/government/publications/smi-b-37-investigation-of-blood-cultures-for-organisms-other-than-mycobacterium-species>
9. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC et al. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol.* 2016; 7:697.
10. Jonsson B, Nyberg A, Henning C. Theoretical aspects of detection of bacteraemia as a function of the volume of blood cultured. *APMIS.* 1993;101:595-601.
11. 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. *Clin Infect Dis.* 2018; 67:813-816.
12. Riedel S, Carroll KC. Blood cultures: key elements for best practices and future directions. *J Infect Chemother.* 2010;16:301-16
13. Neves L, Marra AR, Camargo TZ, et al. Correlation between mass and volume of collected blood with positivity of blood cultures. *BMC Res Notes.* 2015; 8:383.
14. Washington JA 2nd. Blood cultures: principles and techniques. *Mayo Clin Proc.* 1975; 50:91-8.

15. Henning C, Aygül N, Dinnézt P et al. Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol.* **2019**; 26;57(8). pii: e00268-19.
16. Donnino MW, Goyal N, Terlecki TM et al. Inadequate blood volume collected for culture: a survey of health care professionals. *Mayo Clin Proc.* 2007; 82:1069-72.
17. Gonsalves WI, Cornish N, Moore M et al. Effects of volume and site of blood draw on blood culture results. *J Clin Microbiol.* 2009; 47:3482-5
18. Chang J, Park JS, Park S, et al. Impact of monitoring blood volume in the BD BACTEC™ FX blood culture system: virtual volume versus actual volume. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015; 81:89-93.
19. Coorevits L, Van den Abeele AM. Evaluation of the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a continuous quality improvement measure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015; 34:1459-66.
20. Cattoir L, Claessens J, Cartuyvels R et al. How to achieve accurate blood culture volumes: the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a measuring instrument and educational tool. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018; 37:1621-1626.
21. Lamy B, Ferroni A, Henning C et al. How to: accreditation of blood cultures' proceedings. A clinical microbiology approach for adding value to patient care. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24:956-963.
22. Norsk barnelegeforening. *Generell veileder I pediatri.* 2018, <http://www.helsebiblioteket.no/pediatriveiledere?menumkeylev1=5962>
23. Bard JD, Mc Elvania TeKippe E. Diagnosis of Bloodstream Infections in Children. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 1418-24.
24. Connell TG, Rele M, Cowley D, et al. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for culture in routine practice in a children's hospital. *Pediatrics* 2007; 119:891-896.

V1.10 Bruk av blodkulturmedier til annet materiale enn blod

(Karianne W. Gammelsrud, Oslo Universitetssykehus, Ullevål)

Problemstilling:

Det kan være aktuelt å benytte blodkulturmedium for andre materialer enn blod, spesielt for sterile væsker og annet sterilt materiale. Dette er blitt en etablert metode innen diagnostikk av proteseinfeksjoner og peritonitt hos peritoneal dialysepasienter. Blodkulturmedier til sterile materialer bør imidlertid kanskje benyttes rutinemessig i større utstrekning enn det gjøres i dag?

Forslag til anbefalinger:

- Ved diagnostikk av proteseinfeksjoner og peritonitt hos peritoneal dialysepasienter bør hhv. leddvæske og dialysat settes på aerob og anaerob blodkulturflaske, i tråd med internasjonale anbefalinger.
- For noen materialer, særlig ved forutgående antibiotikabehandling, bør noe av materiale settes på aerob og anaerob blodkulturflaske, f.eks. pleuravæske og spinalvæske. I henhold til flere nye publikasjoner, kan blodkulturflasker også benyttes til homogenisert periprostetisk materiale for diagnostikk av proteseinfeksjoner.
- Blodkulturmediet skal være et supplement til diagnostikken og skal ikke erstatte tradisjonell dyrkning.
- Hvis mulig, anbefales det at deponering av sterilt, flytende prøvemateriale på blodkulturflasker utføres pasientnært av prøvetaker som del av en prøvetakningsprotokoll (f.eks. leddvæske ved proteseinfeksjoner). For materialer som må homogeniseres, må deponering på blodkulturflasker utføres på laboratoriet.
- Bruk av blodkulturmedium bør vurderes på laboratoriet der man har fått tilsendt rikelig med sterilt materiale og anser at anrikning på blodkulturmedium kan gi en tilleggsgvinst, for eksempel ved forutgående antibiotikabehandling eller ved mistanke om saktevoksende mikrober.
- Man bør ha minimum 1 ml prøvemateriale.
- For materialer som ikke er blodtilblandet, anbefales tilsetning av næringsstoffer, f.eks. hesteblood (4 ml) eller FOS (2 ml), i henhold til anbefaling fra blodkultur-produzenten.
- Det anbefales å benytte både aerob og anaerob blodkulturflaske.
- Det anbefales en standard inkubasjonstid på maks. 5 dager. Dersom det er stor mistanke om saktevoksende bakterier (f.eks. HASEK eller *Cutibacterium acnes*) bør man vurdere forlenget inkubasjonstid.

Punkter til diskusjon:

Inkubasjonstid

Flere studier konkluderer med at 5 dager er nok for både anaerob og aerob blodkulturflaske. Dette synes nok på sterile væsker. Når bør vi vurdere forlenget inkubasjonstid?

- Studier på bruk av blodkulturmedium på periprostetisk vev har benyttet både 5, 7 og 14 dagers protokoll. De fleste er utført med BD-BACTEC-systemet. 5 dager synes nok for aerob flaske, og kanskje 7 dager nok for anaerob flaske? Mulig dette er avhengig av type flaske og blodkultursystem.
- Bør man ved mistanke om HACEK-mikrober forlenge til 7 dagers inkubasjon?

- Prioritet av aerob eller anaerob blodkulturflaske ved lite materiale
 - Aerob der det er høy mistanke om HACEK-bakterier og/eller strikt aerobe bakterier?
 - Anaerob der det er høy mistanke om anaerobe, inkludert *C. acnes*? (GI-infeksjoner, proteseinfeksjoner, abscesser)
 - Er det holdepunkter for å anbefale barneflaske fremfor standard aerob flaske? Ingen studier har sammenliknet disse to; det finnes ingen evidens for at den ene er bedre enn den andre ved bruk av andre materialer enn blod.
- Bør abscessmateriale også vurderes for blodkulturmedier?
- Kan vi i enkelte tilfeller erstatte «tradisjonell» anrikningsbuljong med blodkulturmedier, eller bør vi benytte begge? Studier spriker noe i sine anbefalinger.

Innledning/bakgrunn:

Automatisert blodkulturdiagnostikk er en viktig og veletablert metode som utføres rutinemessig ved alle sykehus i Norge. Blodkulturmediene er i stadig utvikling for å gjøre blodkulturdiagnostikken både mer sensitiv og hurtig. Blodkulturmediene har også vist seg nyttig for andre materialer enn blod, og de første publikasjonene om nytteverdien av blodkulturmedier i diagnostikk av peritonitt og leddvæsker kom allerede på 1980-tallet.

Noe av utfordringen med litteraturgjennomgang (usystematisk sådan), er at studiene benytter flere ulike blodkulturmedier, noen med tilsetning av ekstra næringsstoffer, andre uten og ofte uspesifisert. I tillegg benyttes mange ulike kliniske prøvematerialer med ulikt inokulum og inkubasjonstid, og sammenlikningen mellom vekst fra blodkulturflasker og «standard dyrkning» varierer. Nedenfor presenteres et forsøk på systematisering av ulike aspekter ved bruk av blodkulturer til andre materialer enn blod.

Status for problemstilling i dag:

Indikasjon

Det har etter hvert kommet en rekke studier om nytteverdien av bruk av blodkulturmedier for sterile materialer, inkludert dialysevæske, peritonealvæske, pleuravæske, spinalvæske, leddvæske, periprostetisk vev, corpus vitreum m/m. Hovedbudskapet i publikasjonene er at sterilt prøvemateriale satt på blodkulturflaske anbefales; man finner flere mikrober og/eller diagnostikken blir raskere. Studiene viser imidlertid at man får den største gevinsten ved å benytte blodkulturmedium i tillegg til tradisjonell dyrkning. Noen studier har vist at man får størst sensitivitet ved å benytte både blodkultur, direkte utsæd på diverse agarskåler samt anrikningsbuljonger. Andre antyder at blodkulturflasken kan erstatte anrikningsbuljongene (aerob og anaerob). En ulempe ved bruk av blodkulturmedier, er at de egner seg dårlig til blandingskulturer som inneholder saktevoksende mikrober. Derfor bør bruk av direkte utsæd av prøvemateriale på rike og selektive skåler alltid inngå i dyrkningen. For noen typer infeksjoner har materiale satt på blodkulturmedium blitt en del av den standardiserte prøvetakningen, f.eks. diagnostikk av proteseinfeksjoner (leddvæske) og peritonitt hos peritoneal dialysepasienter (dialysat). Flere studier, inkludert en nylig publikasjon fra Norge, har også sett på nytteverdien av å inkubere homogenisert periprostetisk vev i blodkulturflasker. Foreløpig er publikasjonene samstemte i å anbefale denne metoden ved mistanke om proteseinfeksjoner. Publikasjoner om bruk av blodkulturmedier for abscessmaterialer, f.eks. hjerneabscess, har vært vanskelig å finne.

På strategimøtet bør vi vurdere om vi skal anbefale bruk av blodkulturflasker for andre materialer enn blod i større utstrekning enn vi gjør i dag. Dette bør i så fall inkluderes som

informasjon om prøvetakning i våre respektive, samt nært forestående nasjonale, brukerhåndbøker i mikrobiologi.

Praktisk utførelse – pasientnært eller på laboratoriet?

Flere studier mener at man optimalt bør tilsette prøvematerialet på blodkulturflaskene pasientnært, dvs. utført av prøvetaker. Det hevdes at dette kan redusere faren for kontaminasjon, uten at evidensen synes stor. En kanskje større effekt, er at diagnostikken blir raskere fordi materialet umiddelbart blir satt i flasken, og dette er kanskje særlig viktig med tanke på anaerob diagnostikk med rask tilførsel av anaerobe forhold. Nytteverdien vil selvfølgelig avhenge av transporttid til laboratoriet samt rutiner for prøvebehandling og åpningstid.

Siden bruk av blodkulturflasker ikke er fast rutine for de fleste prøvematerialer, blir det også viktig å kunne utføre deponering av prøvematerialer på blodkulturflasker på laboratoriet. Dersom laboratoriet ikke allerede har det, bør det innføres egne prosedyrer for praktisk gjennomføring. Det er svært viktig med mest mulig steril håndtering for å unngå unødvendig kontaminasjon. Dersom strategimøtet kommer med anbefalinger om materialer som rutinemessig bør settes på blodkulturflasker, må dette også inn i laboratoriets prosedyrer. Konferer forslag til anbefalinger og diskusjonspunkter ovenfor.

Type flasker

Valg av blodkulturflasker må i første omgang gjøres i henhold til hvilket blodkultursystem som er implementert lokalt. Her i Norge er de to vanligste blodkultursystemene BD BACTEC™ (Becton Dickinson Instrument Systems, Sparks, MD) og BacT/Alert® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Disse leverandørene har en rekke ulike blodkulturflasker med ulike egenskaper (og pris), for eksempel: BacT/Alert® Aerob/anaerob FAN® Plus (Fastidious Antimicrobial Neutralization Plus Media) og Aerob/anaerob FAN® (Fastidious Antimicrobial Neutralization Media) eller BD BACTEC™ Plus aerobic/anaerobic medium og BD BACTEC™ Lytic Anaerobic medium. For sterile materialer, er det fornuftig å velge blodkulturflasker som er beregnet på særlig kravstore bakterier innenfor laboratoriets blodkultursystem.

Der det er nok materiale, er det stor enighet om at man bør benytte både aerob og anaerob blodkulturflaske. De fleste studiene viser at det både er overlapp, men også noe diskrepans i hvilke ekstra mikrober som påvises i anaerob og aerob blodkulturflaske. Den største gevinsten får man ved å benytte begge. Dersom det er lite prøvemateriale, anbefaler flere av studiene å prioritere en aerob flaske, evt. barneflaske (aerob) fremfor en anaerob blodkulturflaske. Flere studier viser imidlertid, ikke uventet, at man da kan miste anaerobe bakterier, inkludert *Cutibacterium acnes*. Derfor bør man vurdere å prioritere anaerob flaske der det er høy mistanke om anaerobe bakterier. Dette blir et viktig diskusjonstema på strategimøtet.

Hvor mye og hvor lenge

Mange studier oppgir ikke i detalj hvilken mengde av materiale som har vært tilsatt blodkulturflaskene. Der det er angitt, tilsettes minst 1 ml sterilt materiale. Noen studier har vist dårlig sensitivitet ved lavere volum enn 1 ml, mens i hvert fall én studie har benyttet så lite som 0,5 ml med fortsatt god sensitivitet. Dersom det er lite materiale, har noen studier valgt å bruke barneflasken som er beregnet på mindre blodvolumer. Denne finnes dog kun som aerob flaske. Dessuten er det ingen studier som har direkte sammenliknet bruk av barneflaske og standard volum aerob flaske for små volumer av sterile væsker/materialer, så det er usikkert om det er noen gevinst i å bruke barneflaske fremfor vanlig aerob flaske.

Når det gjelder maksimalt prøvevolum, er ikke dette tatt opp som problemstilling i noen av studiene. Da alle blodkulturflaskene er tilpasset et visst prøvevolum, bør prøvematerialet, inkludert eventuelt tilsatt næringsstoff, ikke overstige øvre volumgrense angitt for den enkelte blodkulturflasken.

De fleste studiene har valgt å benytte samme inkubasjonsprotokoll som for blodkulturer, dvs. 5 dager. Dette synes å være tilstrekkelig, særlig for de aerobe bakteriene. Andre studier har valgt å inkubere inntil 7 dager, og noen studier, særlig på proteseinfeksjoner, anbefaler å inkubere de anaerobe blodkulturflaskene enda lengre, inntil 14 dager, særlig med tanke på *Cutibacterium acnes*. Her spriker anbefalingene noe.

Tilsetning av næring

Blodkulturmediet er tilpasset blod, og man bør derfor tilsette næringsstoffer i henhold til anbefaling av produsenten. Fastidious organisms supplement (FOS) er utviklet av BD (Becton Dickinson Instrument Systems) både for å anrike med X og V faktor, og for å nøytralisere eventuelle toksiske effekter av «sodium polyanethol sulfonate» som finnes i noen av BACTEC-flaskene. Fuller *et al.* viste at FOS forbedret sensitiviteten for funn, særlig fastidøse bakterier. Fuller og Davis utførte en ny, tilsvarende studie i 1997 som ikke klarte å vise at tilsetning av FOS hadde en klar fordel over ingen tilsetning. Andre eksempler på næringsstoffer er hesteblood, haemin isovitalex albumine (HIA) og brain heart infusion–haemin isovitalex albumine (BHI-HIA). Én har studie sammenliknet 4 ulike tilsetningsstoffer (hesteblood, FOS, HIA og BHI-HIA) i 5 ulike blodkulturflasker. De fant at hesteblood var best, etterfulgt av FOS og HIA når det gjaldt påvisning av bakterier. For funn av *Candida*, ga ikke tilsetning av næringsstoffer noen ekstra gevinst.

Svært mange studier oppgir ikke om de har tilsatt ekstra næringsstoffer. De fleste nyere studiene tilsetter 2 ml FOS ved bruk av BACTEC™-systemet, noe som er anbefalt av produsenten. For BACT/ALERT®, finnes ikke samme anbefaling fra produsenten. Sanabria *et al.* valgte likevel å tilsette 4 ml hesteblood i blodkulturflaskene (BACT/ALERT®) i sin studie på periprostetiske prøver.

Antimikrobiell nøytralisasjon

En fordel med blodkulturflaskene, er at mange av dem inneholder stoffer som fjerner antibiotika, for eksempel resiner, kull eller adsorberende polyeriske perler. Noen studier har sammenliknet ulike blodkulturflasker for å se på effektiviteten av den antimikrobielle nøytralisasjonen. Av de nyere flaskene, er det noen ulikheter, men dette kan variere mellom aerob og anaerob flaske innen samme produsent, så vel som mellom produsenter, og vil stort sett utjevne seg dersom man tar benytter både aerob og anaerob flaske. Flere studier har vist bedre oppvekst av mikrober etter påbegynt antibiotikabehandling ved bruk av blodkultur medium sammenliknet med andre anrikingsbuljonger. Hovedbudskapet er at ved forutgående antibiotikabehandling, bør man sterkt vurdere å tilsette noe av materialet på blodkulturflaske.

Oppsummering av fordeler og ulemper ved bruk av blodkulturmedier til annet enn blod

Fordeler:

- Enklere/tidsbesparende ved automatisert inkubering
 - Utsæd kun når positivt signal
 - Negative kulturer kan svares ut direkte uten utsæd
- Inneholder antibiotika-nøytraliserende stoffer som kan fremme vekst av bakterier også ved forutgående antibiotikabehandling

- Ofte hurtigere diagnostikk (tidligere vekst og ID av mikrober)
- Ofte mer sensitiv diagnostikk (vekst av flere mikrober)
- Raskere anaerobe forhold dersom materialet blir satt direkte in i blodkulturflaske pasientnært

Ulemper:

- Blodkulturmediet er uegnet for en rekke PCR-undersøkelser, f.eks. 16SrDNA
- Man kan miste saktevekstende mikrober i en blanding
- Økt sensitivitet gir også fare for økt funn av forurensende mikrober som bl.a. kan gi tolkningsutfordringer
- Fare for forurensning ved håndtering av blodkulturflasker og evt. tilsetning av ulike næringsstoffer
- Mer kostbart enn de andre mye brukte anrikningsbuljongene
- Økt bruk av blodkulturflasker kan gi kapasitetsproblemer i blodkulturskapet

Referanser

Bruk av tilsetning

- Fuller DD, Davis TE, Kibsey PC, et al. Comparison of BACTEC Plus 26 and 27 media with and without fastidious organism supplement with conventional methods for culture of sterile body fluids. *J Clin Microbiol* 1994. PMID:8077393
- Fuller DD, Davis TE. Comparison of BACTEC plus Aerobic/F, Anaerobic/F, Peds Plus/F, and Lytic/F media with and without fastidious organism supplement to conventional methods for culture of sterile body fluids. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997. PMID: 9458978
- Nylén T, Saeedi B, Borg C, Ullberg M, Özenci V. The performance of 4 different supplements and 5 blood culture bottles types in detection of bacteria and Candida spp. in simulated sterile body fluid cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013. PMID: 23867327

Antimikrobiell nøytralisasjon

- Chung Y, Kim IH, Han M, et al. A comparative evaluation of BACT/ALERT FA PLUS and FN PLUS blood culture bottles and BD BACTEC Plus Aerobic and Anaerobic blood culture bottles for antimicrobial neutralization. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019. PMID: 31375943
- Lovern D, Katzin B, Johnson K, et al. Antimicrobial binding and growth kinetics in BacT/ALERT® FA Plus and BACTEC® Aerobic/F Plus blood culture media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016. PMID: 27614748
- Chen IH et al. Recovery of Gram-Negative Bacteria from Aerobic Blood Culture Bottles Containing Antibiotic Binding Resins after Exposure to β -Lactam and Fluoroquinolone Concentrations. *J Clin Microbiol* 2019. PMID: 31340990

Periprostetisk vev

- Sanabria A, Røkeberg MEO, Johannessen M, Sollid JE et al. Culturing periprosthetic tissue in BacT/Alert® Virtuo blood culture system leads to improved and faster detection of prosthetic joint infections. *BMC Infect Dis* 2019. PMID: 31291897
- Minassian AM et al. Use of an automated blood culture system (BD BACTEC™) for diagnosis of prosthetic joint infections: easy and fast. *BMC Infect Dis*. 2014. PMID: 24885168
- van den Bijllaardt W et al. Culturing periprosthetic tissue in blood culture bottles results in isolation of additional microorganisms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019. PMID: 30430376
- Yan Q et al. Comparison of Diagnostic Accuracy of Periprosthetic Tissue Culture in Blood Culture Bottles to That of Prosthesis Sonication Fluid Culture for Diagnosis of Prosthetic Joint Infection (PJI) by Use of Bayesian Latent Class Modeling and IDSA PJI Criteria for Classification. *J Clin Microbiol* 2018. PMID: 29643202
- Peel TN et al. Improved Diagnosis of Prosthetic Joint Infection by Culturing Periprosthetic Tissue Specimens in Blood Culture Bottles. *MBio* 2016. PMID: 26733067
- National periprosthetic joint infection sampling and culture guide | Health Quality & Safety Commission 2018 (New Zealand): <https://www.hqsc.govt.nz/our-programmes/infection-prevention-and-control/publications-and-resources/publication/3207/>

Leddvæske

- von Essen R, Holtta A. Improved method of isolating bacteria from joint fluids by the use of blood culture bottles. *Ann Rheum Dis* 1986. *PMID: 3524479*
- Tande AJ, Patel R. Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev* 2014. *PMID: 24696437*
- B. Høst, H. Schumacher, J. Prag, M. Arpi. Isolation of *Kingella kingae* from Synovial Fluids Using Four Commercial Blood Culture Bottles. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000. *PMID: 11014623*
- Cohen D et al. Synovial fluid culture: agar plates vs. blood culture bottles for microbiological identification. *Clin Rheumatol* 2019. *PMID: 31489513*

Dialysevæske

- Woods GL, Washington JA 2nd. Comparison of methods for processing dialysate in suspected continuous ambulatory peritoneal dialysis-associated peritonitis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1987. *PMID: 3652654*
- Li PK, Szeto CC, Piraino B, et al. ISPD Peritonitis Recommendations: 2016 Update on Prevention and Treatment. *Perit Dial Int* 2016. *Erratum in: Perit Dial Int 2018 38:313. PMID: 27282851*

Diverse sterile væsker

- Runyon BA et al. Bedside inoculation of blood culture bottles with ascitic fluid is superior to delayed inoculation in the detection of spontaneous bacterial peritonitis. *J Clin Microbiol* 1990. *PMID: 2280015*
- Yoo IY et al. Comparison of BacT/Alert FAN and FAN Plus Bottles with Conventional Medium for Culturing Cerebrospinal Fluid. *J Clin Microbiol*. *PMID: 27629894*
- Heo EY et al. The effect of using blood culture bottle of bronchoalveolar lavage fluid in pneumonia. *BMC Infect Dis* 2016. *PMID: 27266871*
- Menzies SM et al. Blood culture bottle culture of pleural fluid in pleural infection. *Thorax* 2011. *PMID: 21459855*
- Tabatabaei SA et al. Comparison Between Bactec Peds Plus F Broth and Conventional Medium for Vitreous Culture. *Ocul Immunol Inflamm* 2019. *PMID: 29746802*
- Bourbeau P, Riley J, Heiter BJ, Master R, Young C, Pierson C. Use of the BacT/Alert blood culture system for culture of sterile body fluids other than blood. *J Clin Microbiol* 1998. *PMID: 9774578*
- Akcam FZ, Yayli G, Uskun E, Kaya O, Demir C. Evaluation of the Bactec microbial detection system for culturing miscellaneous sterile body fluids. *Res Microbiol* 2006. *PMID: 16364602*
- Udayan U, Dias M. Evaluation of BACTEC™ blood culture system for culture of normally sterile body fluids. *Indian J Crit Care Med* 2014. *PMID: 25538421*
- Akcam FZ et al. Evaluation of the Bactec microbial detection system for culturing miscellaneous sterile body fluids. *Res Microbiol* 2006. *PMID: 16364602*
- She RC et al. Performance of the BacT/Alert Virtuo Microbial Detection System for the culture of sterile body fluids: prospective multicentre study. *Clin Microbiol Infect* 2018. *PMID: 29274462*
- **IDSA/ASM-guidelines:** A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clinical Infectious Diseases* 2013. *Meningitis* (s 12-13) "Listeria monocytogenes Gram stain Cerebrospinal fluid, blood Sterile container, aerobic blood Aerobic bacterial culture culture bottle, RT, 2 h". *Bone and joint infections* (s.52---): "Joint fluids should have an aliquot injected into an aerobic blood culture bottle, preferably at the bedside, in addition to placing fluid in a sterile container for direct processing."

V1.11 Biosafety

(Tone B Johansen og Siri L Feruglio, Folkehelseinstituttet)

I Norge benyttes vanligvis engelske betegnelser når sikkerhet i laboratoriet omhandles. Biosafety og biosecurity henger tett sammen, og følgende definisjon er fra CEN workshop agreement CWA 5793:

Biosafety - laboratory biosafety describes the containment principles, technologies and practices that are implemented to prevent the unintentional exposure to biological agents and toxins, or their accidental release

Biosecurity - laboratory biosecurity describes the protection, control and accountability for biological agents and toxins within laboratories, in order to prevent their loss, theft, misuse, diversion of, unauthorized access or intentional unauthorized release

På norsk er dette en vanlig bruk av de engelske begrepene:

Biotrygghet ("Biosafety") - tiltak for å sikre at arbeid med mikroorganismer foregår på en måte som ikke medfører helsefare for de ansatte.

Biosikkerhet ("Biosecurity") = tiltak som skal forhindre at mikroorganismer blir misbrukt eller stjålet.

"The backbone to the practice of biosafety is risk assessment" WHO biosafety manual, 3rd ed.

Innen biosafety er det viktig med lokale risikoanalyser for aktiviteter som skal utføres ved de enkelte laboratoriene. Det er disse risikoanalysene, samt retningslinjer gitt i regelverket, som skal være førende for de beslutninger som tas med tanke på hvilke tiltak som må implementeres lokalt. Tiltakene skal sikre at arbeid med mikroorganismer og toksiner utføres på et tilstrekkelig sikkerhetsnivå. Det handler om å oppnå en god mikrobiologisk praksis, og at arbeid utføres i rett inneslutningsnivå og med adekvate beskyttelsestiltak. Dette skal gjelde ved alle steder hvor arbeid med biologisk materialet utføres, eller planlegges utført.

Risikoanalyser bør utføres før man tar i bruk nye fasiliteter, ved planlagte endringer i eksisterende fasiliteter, når nye metoder tas i bruk eller eksisterende metoder endres, ved bytte av utstyr og vesentlige endringer av prosedyrer. Det bør også være etablert risikoanalyser ved uventede hendelser, slik som uhell, brann eller liknende.

Det bør også foreligge en plan for utførelse av risikoanalyser, ansvarshavende og tidslinje for gjennomføring.

Her følger et utvalg av dokumenter som omhandler biosafety.

Norge

- Lov om arbeidsmiljø, arbeidstid og stillingsvern (Kap 4. Krav til arbeidsmiljøet §4-5. Særlig om kjemisk og biologisk helsefare)
- Arbeidstilsynet: Biologiske faktorer
- Arbeidsplassforskriften (Kapittel 8. Arbeid i omgivelser som kan medføre eksponering for biologiske faktorer)
- Forskrift om utførelse av arbeid (Andre del: Krav til arbeid med kjemiske og biologiske risikofaktorer)
- Arbeidstilsynet (2007): Orientering om åndedrettsvern
- Strategirapport nr 13 (1999) Sikkerhetsregler og smitteforebygging i medisinsk mikrobiologiske laboratorier
- CWA 1579

Et utvalg av internasjonale dokumenter som omhandler tematikken på en god måte finner dere her:

- CEN workshop agreement - Laboratory biorisk management standard - CWA 15793:2011
- Laboratory biorisk management - Guidelines for the implementation of CWA 15793:2008
- WHO: Laboratory Biosafety Manual - Third Edition
- WHO: Laboratory biosecurity manual
- WHO: Laboratory Biorisk Management - Strategic framework for action 2012-2016
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition, 2009
- CDC: Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets

V3 Deltakerliste

Strategimøte i bakteriologi, mykologi, parasittologi 30.oktober 2019

Programkomité

Aasmund	FOSTERVOLD	Stavanger Universitetssykehus	Aasmund.fostervold@sus.no
Christoffer	LINDEMANN	Haukeland Universitetssykehus	paul.christoffer.lindemann@helse-bergen.no
Einar	NILSEN	Molde Sjukehus	einar.nilsen@helse-mr.no
Mina Øydis	HØIE	Vestre Viken, Sykehuset Bærum	OYDMIN@vestreviken.no

Referansegruppen for Ringtester og strategimøter i bakteriologi, mykologi og parasittologi

Heidi Cecilie	VILLMONES	Sykehuset Vestfold	heivil@siv.no
Astri Lervik	LARSEN	Akershus Universitetssykehus	astri.lervik.larsen@ahus.no
Nils Olav	HERMANSEN	Oslo Universitets- sykehus, Ullevål	uxnirm@ous-hf.no

FHI-arbeidsgruppen for ringtester og strategimøter i bakteriologi, mykologi og parasittologi

Anne Torunn	MENGSHOEL	Folkehelseinstituttet	anne.torunn.mengshoel@fhi.no
Astrid Louise	WESTER	Folkehelseinstituttet	aswe@fhi.no
Didrik F.	WESTRHEIM	Folkehelseinstituttet	didrikfrimann.vestrheim@fhi.no
Polina	KATSIOLERI	Folkehelseinstituttet	polina.katsioulari@fhi.no
Siri Laura	FERUGLIO	Folkehelseinstituttet	siri.laura.feruglio@fhi.no

Innledere under møtet

Aleksandra	JAKOVLJEV	St. Olavs Hospital, Trondheim	aleksandra.jakovljev@stolav.no
Astri Lervik	LARSEN	Akershus Universitetssykehus	astri.lervik.larsen@ahus.no
Brita	SKODVIN	Haukeland Universitetssykehus	brita.skodvin@helse-bergen.no
Karina	OLSEN	Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø	Karina.Olsen@unn.no
Christoffer	LINDEMANN	Haukeland Universitetssykehus	paul.christoffer.lindemann@helse-bergen.no
Einar	WEME	Vestre Viken, Drammen	WEME@vestreviken.no
Fredrik	MÜLLER	Oslo Universitets- sykehus	fmuller@ous-hf.no

Strategimøte i bakteriologi, mykologi, parasittologi 30.oktober 2019
Innledere under møtet (forts.)

Karianne W.	GAMMELSRUD	Oslo Universitets- sykehus, Ullevål	UXRIWI@ouse-hf.no
Kristine K.	BERG	Sykehuset Sørlandet, Kristiansand	kristine.karlsrud.berg@sshf.no
Roar	BÆVRE-JENSEN	Vestre Viken HF, Drammen	rjense@vestreviken.no
Siri	FERUGLIO	Folkehelseinstituttet	siri.laura.feruglio@fhi.no
Tone	JOHANSEN	Folkehelseinstituttet	tone.johansen@fhi.no
Øyvind	KOMMEDAL	Haukeland Universitetssykehus	oyvind.kommedal@helse-bergen.no

Representanter fra landets medisinsk-mikrobiologiske laboratorier

Universitetssykehuset Nord-Norge	OLSEN	Karina	Karina.Olsen@unn.no
Nordlandssykehuset, Bodø	-	-	-
Sykehuset Levanger	ZARAGKOULIAS	Kyriakos	kyriakos.zaragkoulias@helse- nordtrondelag.no
St. Olavs Hospital, Trondheim	JAKOVljeV	Aleksandra	aleksandra.jakovljeV@stolav.no
Sykehuset Møre og Romsdal	NILSEN	Einar	einar.nilsen@helse-mr.no
Helse Førde	HJETLAND	Reidar	reidar.hjetland@helse-forde.no
Sykehuset Innlandet	NILSEN	Tine	tine.nilsen.dons@sykehuset- innlandet.no
Haukeland Universitetssykehus	SKARSTEIN	Ingerid	ingerid.skarstein@helse-bergen.no
Helse Fonna, Haugesund	CHEDID	Ghantous Milad	ghantous.milad.chedid@helse- fonna.no
Universitetssykehuset Stavanger	SYRE	Heidi	heidi.syre@sus.no
Sørlandet Sykehus, Kristiansand	TOFTELAND	Ståle	staale.tofteland@sshf.no
Unilabs, Skien	-	-	-
Sykehuset Vestfold, Tønsberg	MARVIK- RØDLAND	Åshild	aamarv@siv.no
Vestre Viken, Drammen	BÆVRE-JENSEN	Roar	rjense@vestreviken.no
Vestre Viken, Bærum	HØIE	Mina Øydis	OYDMIN@vestreviken.no
Oslo Universitets- sykehus, Rikshospitalet	BJØRNHOLT	Jørgen	joerbj@ous-hf.no

Strategimøte i bakteriologi, mykologi, parasittologi 30.oktober 2019
Representanter fra landets mikrobiologiske laboratorier (forts.)

Oslo Universitets- sykehus, Ullevål	TAXT	Arne	arntax@ous-hf.no
Akershus Universitetssykehus	NYQUIST	Nora E.	nora.elisabeth.nyquist@ahus.no
Fürst, Oslo	RANHEIM	Trond E.	teranheim@furst.no
Sykehuset Østfold	STEINBAKK	Martin	martin.steinbakk@so-hf.no
FHI-ref.lab. Pneumokokker, H. influenzae, GAS	VESTRHEIM	Didrik	didrikfrimann.vestrheim@fhi.no

Observatører (leger under utdanning, andre)

Bodil	PEDERSEN	Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø	bodil.pedersen@unn.no
Eirik J.	NYBAKKEN	Haukeland Universitetssykehus	eirik.jovall.nybakken@helse- bergen.no
Hanne Margrethe	GILBOE	Fürst	hmgilboe@furst.no
Johanne	HAUGEN	Sykehuset Innlandet, Lillehammer	johanne_haugen@hotmail.com
Kristine M.A.	LUND	Sykehuset Østfold	kristine.marie.aarberg.lund@so- hf.no
Marita H.	AUGUSTINUSSEN	Universitetssykehuset Nord-Norge, Tromsø	marita.helen.augustinussen@unn.no

Utgitt av Folkehelseinstituttet
Januar 2022
Postboks 4404 Nydalen
NO-0403 Oslo
Telefon: 21 07 70 00
Rapporten kan lastes ned gratis fra
Folkehelseinstituttets nettsider www.fhi.no