

**EKSTERNE KVALITETSVURDERINGER I BAKTERIOLOGI, MYKOLOGI OG  
PARASITTOLOGI**

**Rapport fra strategimøte**

**Hovedredaktører: Jørgen Lassen og Per Sandven**

Strategimøte nr 16, 2002

# ***Blodkultur***

Redaktører:

Nils Olav Hermansen, Reidar Hjetland, Fredrik Müller

# **INNHOLDSFORTEGNELSE**

<b>Forord</b>	<b>3</b>
<b>Program for møtet</b>	<b>4</b>
<b>Deltakeroversikt</b>	<b>5</b>
<b>DEL 1 OPPSUMMERING OG ANBEFALINGER</b>	<b>6</b>
<b>Indikasjoner for anleggelse av blodkultur</b>	<b>7</b>
<b>Prøvetaking, oppbevaring og transport</b>	<b>8</b>
<b>Blodkultursystemer</b>	<b>10</b>
<b>Hurtigdiagnostikk direkte fra blodkulturbuljong</b>	<b>11</b>
<b>Inkubering og rutiner ved videre arbeid med positive blodkulturer</b>	<b>12</b>
<b>Vurdering av funn som kan være kontaminanter</b>	<b>14</b>
<b>Sopp i blodkultur</b>	<b>16</b>
<b>DEL 2 SAMMENDRAG AV INNLEGGENE</b>	<b>17</b>
<b>Indikasjon for anleggelse av blodkultur hos voksne</b>	<b>18</b>
<b>Indikasjon for anleggelse av blodkultur hos barn</b>	<b>20</b>
<b>Prøvetaking</b>	<b>21</b>
<b>Blodkultursystem</b>	<b>25</b>
<b>Blodkulturrutiner ved mikrobiologiske avdelinger i Norge 2002</b>	<b>28</b>
<b>Inkubering og rutiner ved videre arbeid med positive blodkulturer</b>	<b>34</b>
<b>Blodkulturer: Metoder for rask identifikasjon og resistensbestemmelse av bakterier</b>	<b>36</b>
<b>Vurdering av funn som kan være kontaminanter.</b>	<b>43</b>
<b>Sopp i blodkultur</b>	<b>52</b>
<b>DEL 3 ENDRINGER</b>	<b>59</b>

## **FORORD**

Referansegruppen for eksterne kvalitetsvurderinger i bakteriologi, mykologi og parasittologi arrangerte 01.11.02 det 16. strategimøte for deltagerne i det nasjonale "ringtestprogrammet". Temaet var denne gang "blodkultur" og ansvarlig programkomité besto av Nils Olav Hermansen, leder, Reidar Hjetland, og Fredrik Müller. Den samme gruppen har hatt det redaksjonelle ansvaret for nærværende rapport.

Rapporten er som vanlig inndelt i en innledende og oppsummerende del som er ført i pennen av redaksjonskomitéen, samt en del hvor de enkelte innleggene under møtet er sammenfattet. Ansvaret for disse innleggene er overlatt til den enkelte innleder.

Alle tilbakemeldinger tyder på at møtet ble oppfattet som meget konstruktivt og nyttig. Diskusjonene til hvert innlegg var livlige og omfattende og ble oppsummert og konkludert av møtelederne. Disse oppsummeringene kan anses som langt på vei å representere konsensus i det norske mikrobiologiske miljøet og gjenspeiles i den foreliggende rapporten. Vi derfor både håper og regner med at rapporten vil komme deltagerne til nytte.

*Oslo, mai 2003*

*For Referansegruppen*

*Jørgen Lassen*

*Per Sandven*

## PROGRAM FOR MØTET

Indikasjon for anleggelse av blodkultur hos voksne.	E. von der Lippe.
Indikasjon for anleggelse av blodkultur hos barn.	T. Abrahamsen.
Prøvetaking.	Y. Tveten.
Blodkultursystemer.	E. Haarr.
Blodkulturrutiner ved norske sykehus. Resultat av spørreundersøkelse.	N.O. Hermansen
Inkubering og rutiner ved videre arbeid med positive blodkulturer.	A. Digranes.
Metoder for rask identifikasjon og resistensbestemmelse.	F. Müller.
Vurdering av funn som kan være kontaminanter.	M. Steinbakk.
Sopp i blodkultur.	P. Sandven.

## DELTAKEROVERSIKT

Tore G. Abrahamsen  
Barneklirikken  
Rikshospitalet HF  
0027 Oslo

Asbjørn Digranes  
Avd. for mikrobiologi og  
immunologi  
Haukeland sykehus  
5021 Bergen

Elisabet Haarr  
Mikrobiologisk laboratorium  
Sentralsjukehuset i Rogaland  
4011 Stavanger

Gorm Hansen  
Mikrobiologisk institutt  
Rikshospitalet HF  
0027 Oslo

Nils Olav Hermansen  
Mikrobiologisk avdeling  
Ullevål universitetssykehus HF  
0407 Oslo

Reidar Hjetland  
Mikrobiologisk avdeling  
Helse Førde HF, Sentralsjukehuset  
6800 Førde

Berit Hovig  
Mikrobiologisk institutt  
Rikshospitalet HF  
0027 Oslo

Dag Hvidsten  
Mikrobiologisk avdeling  
Universitetssykehuset Nord-Norge  
9038 Tromsø

Hjørdis Iveland  
Mikrobiologisk avdeling  
Sykehuset Buskerud HF  
3004 Drammen

Trond Jacobsen  
Mikrobiologisk avdeling  
St. Olavs Hospital HF  
7006 Trondheim

Pål A. Jenum  
Mikrobiologisk seksjon,  
Sentrallaboratoriet  
Bærum sykehus HF  
1306 Bærum postterminal

Jørgen Lassen  
Divisjon for smittevern  
Nasjonalt folkehelseinstitutt  
P.b. 4404 Nydalen,  
0403 Oslo

Elisabeth von der Lippe  
Infeksjonsmedisinsk avdeling  
Ullevål universitetssykehus HF  
0407 Oslo

Turid Mannsåker  
Mikrobiologisk avdeling  
Ullevål universitetssykehus HF  
0407 Oslo

Liisa Mortensen  
Mikrobiologisk avdeling  
Nordland Sentralsykehus  
8092 Bodø

Fredrik Müller  
Mikrobiologisk institutt  
Rikshospitalet HF  
0027 Oslo

Olav Natås  
Mikrobiologisk laboratorium  
Sentralsjukehuset i Rogaland  
4011 Stavanger

Sølvi Noraas  
Mikrobiologisk avdeling  
Vest-Agder Sykehus HF  
Serviceboks 416,  
4604 Kristiansand S

Eivind Ragnhildstveit  
Mikrobiologisk avdeling  
Sykehuset Østfold Fredrikstad  
1603 Fredrikstad

Per Sandven  
Divisjon for smittevern  
Nasjonalt folkehelseinstitutt  
P.b. 4404 Nydalen,  
0403 Oslo

Rolf Schøyen  
Mikrobiologisk laboratorium  
Sentralsjukehuset i Vestfold,  
Tønsberg  
3117 Tønsberg

Martin Steinbakk  
Mikrobiologisk avdeling  
Akershus universitetssykehus  
1474 Nordbyhagen

Tone Skarpaas  
Mikrobiologisk avdeling  
Vest-Agder Sykehus HF  
Serviceboks 416,  
4604 Kristiansand S

Liv Jorunn Sønsteby  
Sentrallaboratoriet  
Haugesund sjukehus  
Karmsundsgt. 120,  
5513 Haugesund

Yngvar Tveten  
Telelab as  
P.b. 1868 Gulset,  
3703 Skien

Einar Vik  
Mikrobiologisk laboratorium  
Helse Nordmøre og Romsdal HF,  
Molde sjukehus  
6400 Molde

Astrid Wester  
Bakteriologisk laboratorium  
Aker universitetssykehus HF  
0514 Oslo

Einar Aandahl  
Avdeling for mikrobiologi  
Oppland sentralsykehus  
Lillehammer  
Anders Sandvigs gt. 17,  
2629 Lillehammer

## **DEL 1    OPPSUMMERING OG ANBEFALINGER**

---

## **INDIKASJONER FOR ANLEGGELSE AV BLODKULTUR**

---

Mikrobiologisk avdeling bør i samarbeid med kliniske avdelinger utarbeide skriftlige indikasjoner for taking av blodkulturer.

### **Voksne**

Blodkulturer er indisert når det er grunn til å mistenke klinisk signifikant bakteriemi eller fungemi. De viktigste indikasjonene er mistanke om:

- Feber antatt forårsaket av systemisk bakterie- eller soppinfeksjon
- Septikemi
- Vaskulære infeksjoner: endokarditt, mykotisk aneurysme, suppurativ tromboflebitt, a.v.fistel
- Bakteriell meningitt
- Purulent artritt
- Abscess
- Pneumoni
- Pyelonefritt
- Akutt osteomyelitt
- Fremmedlegemeinfeksjon- i.v. katetre, proteser

### **Barn**

Prinsipielt er det liten forskjell mellom barn og voksne når det gjelder indikasjon for anleggelse av blodkultur. Jo yngre barnet er, jo vanskeligere har det imidlertid for å avgrense infeksjonen til ett organsystem, slik at det også er en sepsiskomponent i den invasive infeksjonen. Eksempler er urosepsis og meningitt/sepsis. Det kan derfor lønne seg å ha en liberal holdning til indikasjon for anleggelse av blodkultur. På samme måte vil utvikling av septisk sjokk hos barn ofte være meget rask, hvilket er en grunn til at det er viktig å komme igang med antibiotikabehandling raskt.

De fleste barneavdelinger praktiserer følgende indikasjoner:

- Mistanke om invasiv infeksjon der det kan bli aktuelt å starte intravenøs antibiotikabehandling. Aktuelle infeksjoner vil være pneumoni, pyelonefritt, meningitt, osteomyelitt/artritt etc.
- Symptomer på klinisk sepsis
- Svingende feber av ukjent årsak

### **Anleggelse av blodkultur utenfor sykehus**

Det bør tas blodkultur i de tilfeller man velger å starte parenteral antibiotikabehandling før pasienten når sykehuset. Det vil i hovedsak dreie seg om mistanke om akutt, alvorlig sepsis, for eksempel meningokokksepsis eller nekrotiserende fasciitt. Blodkulturen sendes med pasienten til sykehuset. Blodkulturmedier bør derfor være lett tilgjengelig for vakthavende leger, ambulanser og ambulanshelikoptre der denne problemstillingen er aktuell.

## PRØVETAKING, OPPBEVARING OG TRANSPORT

---

Alle sykehus bør ha skriftlige prosedyrer for taking av blodkulturer.

### Prøvetakingsprosedyre

1. Personlig beskyttelsesutstyr benyttes i henhold til lokale retningslinjer.
2. Pasientens navn sjekkes og flaskene merkes
3. Etter palpasjon desinfiseres prøvetakingsstedet. Man vasker i spiral ut fra sentrum til en diameter på 5-6 cm. Det er viktig at det benyttede desinfeksjonsmiddel får tid til å utøve sin effekt (minimum 30 sekunder).
4. Metallfliken fjernes fra flaskene og gummimembranen desinfiseres. La tørke i 30 sek. Jodholdige desinfeksjonsmidler skal *aldri* benyttes på blodkulturflaskenes membran.
5. Hvis det er nødvendig med ytterligere palpasjon, desinfiseres fingertuppen. Utfør punksjonen

### Valg av desinfeksjonsmiddel

70 % etanol eller klorheksidinsprit anbefales. Tørketid minimum 30 sekunder.

### Prøvetakingssted

- Anbefalt prøvetakingssted er perifer vene
- Prøvetaking gjennom perifere katetre skal unngås fordi blodet lett forurenses med bakterier som har kolonisert katetret. Hvis annet prøvetakingssted ikke er mulig, kan perifere katetre benyttes. Informasjon om slik prøvetaking må alltid fremkomme på remissen til laboratoriet. Hvis det er ønskelig spesifikt å evaluere kateterrelatert infeksjon, kan blodkulturer tas på samme tidspunkt fra kateteret og fra perifer vene
- Prøvetaking fra benmarg er indisert ved tyfoid feber, histoplasmose og brucellose hvis dyrkningene fra perifert blod har vært negative. Dyrkning fra benmarg kan også være til nytte ved subakutt endokarditt

Hvis det skal tas flere ulike prøver på samme tidspunkt, skal blodkultur tas først. Hvis det benyttes "butterfly" skal aerob flaske tas først pga luft i slangen.

### Blodkultursett

Ett blodkultursett defineres som blodkultur (en eller flere flasker) tatt ved ett innstikk. Som hovedregel anbefales 1 aerob og 1 anaerob flaske i hvert blodkultursett. Hos barn er det sjelden indikasjon for bruk av anaerobe flasker.

### Blodvolum

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. Det anbefales i litteraturen 20-30 ml per sett hos voksne. Ut fra en samlet vurdering anbefaler vi 2 flasker per sett (15-20 ml). Hos barn er antall cfu/ml ofte betydelig høyere, og hos disse kan betydelig mindre volum aksepteres (1-2 ml).



## **Tidspunkt for prøvetaking og antall blodkultursett - generelle retningslinjer**

Antall mikroorganismer i blodet er på topp 1-2 timer før symptomer med feber og frysninger oppstår. Blodkulturer bør derfor anlegges så snart som mulig etter symptomdebut. Siden blodkulturer skal tas før oppstart av antimikrobiell behandling, anbefales det at det tas 2 blodkultursett i forbindelse med symptomdebut. Disse kan tas samtidig (men ved to ulike innstikk), da det ikke er funnet forskjell i utbytte i forhold til prøvetaking med en tids mellomrom.

For større barn (over ca. 12 år) anbefales samme fremgangsmåte som for voksne. For mindre barn kan spesielle aerobe barneflasker som tar 1-3 ml blod (Bactec) benyttes, en eller flere flasker alt etter alder, alternativt tilsvarende volum på andre aerobe blodkulturflasker. Hos barn anvendes anaerob flaske kun på særskilte indikasjoner.

## **Endokarditt**

Ved endokarditt anbefales å ta 3 sett initialt (her kan 2 sett tas fra to ulike innstikk på ett tidspunkt, og det siste 1-2 timer senere). Hvis diagnosen ikke er klarlagt ved andre metoder og blodkulturene er negative etter 24 timer, tas 2 nye sett.

## **Anleggelse av blodkultur under antibiotikabehandling**

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
- 2 sett blodkulturer like før ny dosering, når antibiotikakonsentrasjonen er på sitt laveste

## **Oppbevaring og transport**

Kommersielle automatiserte blodkultursystemer benytter flasker som skal oppbevares i romtemperatur før forsendelse til mikrobiologisk laboratorium. Dette gjøres for å hindre at flasken er ”utvokst” før ankomst til laboratoriet og at vekst dermed ikke kan detekteres i systemet.

Alle kommersielle systemer har grenser for hvor lenge flaskene kan oppbevares før de settes inn i skapet. Hvis grensen er overskredet gjøres det blindutsed før flasken anbringes i skapet.

Ved sykehus uten mikrobiologisk avdeling kan personalet opplæres i bruk av automatiserte blodkultursystemer slik at deteksjon ved plassering i blodkulturskap kan skje uten tidsspille. ”Positive” flasker sendes laboratorium med kompetanse for håndtering av blodkultur. Evt. lokalt viderearbeid av positive blodkulturer som Gram-preparat og lignende, er avhengig av tilstrekkelig kompetent og opplært personell.

## **BLODKULTURSYSTEMER**

---

Manuelle metoder med buljongmedier og bifasiske systemer med en kombinasjon av buljong- og agarmedier ble tidligere mye brukt i Norge, men er nå erstattet av automatiserte systemer.

Lysis sentrifugering (Isolator blodkultursystem) er et manuelt, ikke buljongbasert system, der Isolator-rør som inneholder lyserende væske blir inokulert med blod og sentrifugert. Etter sentrifugering sår man ut bunnfallet på skåler. Dette er en god metode til å påvise sopp, og gir med visse unntak akseptabel deteksjon av aerobe bakterier, men er ikke optimal for anaerobe bakterier. Metoden er arbeidskrevende, og kan være mer utsatt for kontaminasjon enn andre systemer. Den benyttes nå ikke lenger i Norge.

Nyere kommersielle blodkultursystemer har automatisert og kontinuerlig overvåking av tegn til mikrobevekst (vanligvis CO<sub>2</sub>). Slike systemer er nå i bruk ved alle mikrobiologiske avdelinger her i landet. I følge en spørreundersøkelse i forbindelse med strategimøtet ble det i Norge i februar 2002 benyttet BACTEC (Becton Dickinson Microbiology Systems) ved 12 avdelinger, BacT/Alert (bioMerieux, tidligere Organon Teknika Corp) ved 6, og Vital (bioMerieux) ved 2 avdelinger. I følge litteraturen ser det ut som BacT/Alert og BACTEC påviser mikrober omtrent like godt, mens Vital i følge flere nyere publikasjoner detekterer færre mikrober enn disse.

## **HURTIGDIAGNOSTIKK DIREKTE FRA BLODKULTURBULJONG**

---

### **Generelt**

Metoder for identifikasjon og resistensbestemmelse direkte fra blodkulturbuljong kan gi raske svar, men mangel på standardisert inokulat og mulighet for interfererende substanser i buljongen, gjør at metodene til dels er beheftet med betydelig usikkerhet. Laboratoriet bør derfor ha validert metoder som brukes til hurtigdiagnostikk fra blodkulturbuljong.

### **Identifikasjon**

Koagulase i rør kan anvendes for påvisning av gule stafylokokker. Vær oppmerksom på mulighet for falsk positiv reaksjon ved bakterier som metaboliserer citrat (bl.a. enterokokker). Agglutinasjonstester synes lite egnet. Rapidec Staph anbefales i flere publikasjoner for påvisning av gule stafylokokker.

Serogruppering av streptokokker synes velegnet for påvisning av gruppe A, B og G streptokokker, mens testing for serogruppe C og D er beheftet med betydelig usikkerhet. Agglutinasjonstester for påvisning av pneumokokker anbefales i flere publikasjoner, men kryssreaksjoner kan forekomme.

Direkte påvisning av meningokokker ved agglutinasjon anvendes mange steder, men gode referanser foreligger ikke.

Kommersielle systemer, både manuelle og automatiserte, har vært anvendt for direkte identifikasjon, særlig av Gramnegative bakterier. 3-rørsforgjæring anvendes ved en del laboratorier.

### **Resistensbestemmelse**

Resultater fra agardiffusjon satt opp direkte fra blodkulturbuljong kan gi viktig informasjon. Imidlertid må resultatene anses som foreløpige og tolkes med varsomhet. Resistensoppsett må gjentas under standardiserte betingelser.

Ved undersøkelse av hurtigvoksende bakterier har studier vist at avlesning av agardiffusjon etter 8 timer gir relativt god overensstemmelse med avlesning etter 18 timer.

# INKUBERING OG RUTINER VED VIDERE ARBEID MED POSITIVE BLODKULTURER

---

## Inkuberingstid

Ved bruk av automatisert blodkultursystem inkuberes flaskene rutinemessig i 5 døgn. Ved mistanke om eller holdepunkter for endokarditt eller soppinfeksjon anbefales en inkuberingstid på 7 døgn.

I helt spesielle tilfelle (mistanke om spesielt langsomtvoksende bakterier, f eks *Brucella*) kan lengre tids inkubering (flere uker) være aktuelt.

## Farging av preparat fra positiv blodkulturflaske

Akridinoransjefarging er mer sensitiv enn Gramfarging. På den annen side gir Gramfarging tilleggsinformasjon i forhold til akridinoransjefarging.

Hvis mulig bør både akridinoransje- og Gramfarging utføres.

## Dyrkningsmedier ved utsæd fra positiv flaske

Følgende medier anbefales rutinemessig:

Fra aerob flaske: Blodagar, sjokoladeagar (brunskål) og laktoseagar.

Fra anaerob flaske: anrikt blodagar til anaerob dyrkning samt blodagar og sjokoladeagar (brunskål) som inkuberes aerobt.

På basis av funn ved mikroskopi og/eller kliniske opplysninger kan det være aktuelt å supplere standardoppsettet med medier for påvisning av *Listeria*, sopp og eventuelt *Francisella*.

## Inkubering av skåler

Laktoseskål: to døgn i vanlig atmosfære.

Øvrige aerobe skåler: to døgn i CO<sub>2</sub>-atmosfære.

Anaerobe skåler: to døgn.

Soppskåler: to døgn.

Forlenget inkuberingstid av skåler kan unntaksvis være nødvendig.

## Diagnostiske lapper

På basis av funn ved mikroskopi kan diagnostiske lapper gi nyttig informasjon. Mest aktuelt er optochin, bacitracin, telluritt, metronidazol og galle (de to siste på anaerobt medium). Ved usikkerhet om det er vekst av Grampositive eller Gramnegative bakterier, kan lapper med henholdsvis vankomycin og aztreonam være til hjelp.

## Mikroorganismer som det er vanskelig eller umulig å påvise ved konvensjonell blodkulturdiagnostikk

Mikroorganismer som *Campylobacter* spp., *Abiotrophia* spp., *Mycoplasma* spp., *Bartonella* spp. og mykobakterier kan være vanskelig eller umulig å isolere fra blod ved konvensjonelle metoder. Spesielt kan *Campylobacter*-infeksjon overses. Ved mistanke om *Campylobacter*-infeksjon bør det tas blindutsæd på blodagar som inkuberes i mikroaerob atmosfære ved 35 °C i 2 døgn.

## ”Utflagging” av positiv blodkulturflaske med negativ mikroskopi

Utsæd bør gjøres på standardmedier og eventuelt på spesialmedier etter spesiell vurdering. Blodkulturflasken bør reinkuberes og vekstkurven vurderes.

### **”Residiv” med antatt samme funn i blodkulturer**

Når det hos pasienter med påvist bakteriemi isoleres bakterier under pågående antibiotikabehandling, bør det allerede etter få dager utføres ny resistensbestemmelse, eventuelt også identifikasjon.

### **Rutiner for identifikasjon av bakterieisolater fra blodkultur**

Som hovedregel bør alle blodkulturisolater som tillegges klinisk betydning, identifiseres til artsnivå.

### **Retningslinjer for nedfrysing av isolater**

Det anbefales at alle isolater som tillegges klinisk betydning blir frosset ned, dog slik at et gitt isolat kun fryses ned en gang for hver episode. Det siste for å unngå å fryse ned repeterte isolater fra samme pasient.

### **Innsending av isolater til nasjonal stammebank**

Bakterieisolater sendes inn til nasjonal stammebank etter gjeldende retningslinjer. Soppisolater sendes inn til nasjonal stammebank.

## VURDERING AV FUNN SOM KAN VÆRE KONTAMINANTER

---

### Generelt

Den viktigste feilkilde ved fortolkning av funn i blodkultur, er kontaminering av mikrober fra hudfloraen. Problemet kan reduseres ved å følge gjeldende anbefaling for prøvetaking.

De mikrober som hyppigst kan være kontaminanter er hvite stafylokokker, aerobe og anaerobe ”difteroider”, *Bacillus species* samt viridans streptokokker.

Hvite stafylokokker samt difteroider representerer vanligvis forurensning, men kan også gi septikemi. Propionebakterier er oftest kontaminant fra hud. *Bacillus* arter er som oftest kontaminanter med unntak av *Bacillus anthracis* som alltid anses som patogen.

Generelt gjelder at jo flere positive sett blodkulturer, jo større er sannsynligheten for at funnet representerer en reell bakteriemi. Ved tilstander hvor potensielle kontaminanter er årsak til bakteriemi, vil man nesten alltid få oppvekst i flere sett.

Alle funn søkes identifisert til genus-, eventuelt til species nivå. Gram preparat, katalase- og oksidase-reaksjon utføres på alle funn og eventuelle biokjemiske tester. Krav til identifikasjon vil avhenge av om mikroben finnes i mer enn ett sett og de gitte kliniske opplysninger.

### Nyfødte

Hos nyfødte vil det oftest kun være anlagt en blodkultur, og funn må derfor vurderes annerledes enn hos voksne.

Alle funn må vurderes som mulig klinisk signifikante og identifiseres.

#### A. Funn av hvite stafylokokker.

Identifikasjon med Staph. API eller tilsvarende kommersielt testsystem.

Resistensbestemmelse utføres.

#### B. Funn av gram positive staver. Identifikasjon ved hjelp f. eks. av flytdiagram. (Bailey & Scott s. 46, eller ASM-manual)

Eventuelt supplert med kommersielt testsystem.

Resistensbestemmelse utføres. MIC bestemmelse kan være nødvendig.

I enkelte tilfeller vil sikker identifikasjon kreve genotypisk identifikasjon.

### Voksne

Betydningen av potensielle kontaminanter er vanskelig å vurdere. Et flytdiagram (modifisert etter Richter et al, se side 49) kan være til nytte. Oppstillingen under bygger på dette flytdiagrammet.

#### 1. Funn av potensiell kontaminant.

Vurder kliniske opplysninger.

Sjekk om det er tatt flere sett siste 48 timer.

Dersom det ikke er tatt flere sett siste 48 timer, må man vurdere å anbefale ytterligere kulturer ut fra de kliniske opplysninger.

#### 2. Dersom det er anlagt flere blodkultursett siste 48 timer foreligger følgende muligheter:

i) Andre sett tatt siste 48 timer er negative: Konkluder med sannsynlig forurensning av prøven.

Resistensbestemmelse er ikke nødvendig.

- ii) Ett eller flere sett er positive, men funn av potensiell kontaminant er forskjellig fra første funn. Det er rimelig å konkludere med at begge funn er forurensing. Resistensbestemmelse utføres vanligvis ikke, men kan utføres for å sannsynliggjøre forskjell mellom mikrobene.
- iii) Ett eller flere sett er positive med samme mikrobe:
  - Dersom det er funnet viridans streptokokker representerer funnet sannsynlig patogen mikrobe. Funn rapporteres med resistensbestemmelse.
  - Dersom det ikke er viridans streptokokker, vurderes funnet ut fra kliniske opplysninger. Funnet rapporteres eventuelt med resistensbestemmelse, dersom man vurderer at pasienten har en tilstand som sannsynliggjør at funnet kan være reelt.

# SOPP I BLODKULTUR

---

## Generelt

Blodkultur har lav sensitivitet med hensyn til å påvise fungemi. På klinisk grunnlag er det vanskelig å forutsi hvilke pasienter som har fungemi.

## Blodkultursystemer

Anbefalt system: Bactec eller BacT/Alert

Forskjellen mellom disse ulike systemene ser ut til å være forholdsvis liten.

Helautomatiske systemer er svært arbeidsbesparende sammenlignet med manuelle systemer.

Nytten av et manuelt system som Isolator synes liten, selv om dette systemet kommer noe bedre ut enn automatiske blodkultursystemer. Isolator er klart best når det gjelder påvisning av Histoplasma.

Anbefalt blodkulturmedier: aerob blodkulturflaske.

I Norge (lav forekomst av fungemi) synes det å være begrenset nytte av rutinemessig bruk av eget soppmedium.<sup>1</sup>

## Inkuberingstid

Anbefalt inkuberingstid for flasker: 7 døgn, men lengre inkubering kan unntaksvis være nødvendig.

Anbefalt inkuberingstid for soppskåler: vanligvis 2 døgn.

## Identifikasjon

Gjærsopp isolert fra blodkultur bør identifiseres til artsnivå.

## Resistensbestemmelse

Agar diffusjonstest benyttes som en screening test for å påvise resistens. Dersom en finner nedsatt følsomhet, bør resultatet kontrolleres med en annen metode.

## Innsending av soppisolater

Soppisolater innsendes til den nasjonale stammebanken.

---

<sup>1</sup> Endret 21.09.2004: ” *Anbefalt blodkulturmedier: Anbefalt blodkulturmedier: Aerob blodkulturflaske. Bactec blodkultursystem har i tillegg egne soppmedier. To medier er tilgjengelig (Myco/F Lytic og Mycosis-IC/F). Begge mediene inneholder saponin (lyserer), gjærekstrakt og karbohydrater. Mycosis-IC/F inneholder i tillegg tobramycin og kloramfeniklol. Myco/F Lytic kan være av nytte også for påvisning av bakterier. Soppmediene ser ut til å være klart bedre enn det aerobe mediet for påvisning av Candida glabrata. Deteksjonstiden er også kortere. Disse mediene bør derfor benyttes dersom det foreligger klinisk mistanke om soppinfeksjon.* ”

Se forørig Del 3 - endringer



## **DEL 2 SAMMENDRAG AV INNLEGGENE**

---

## **INDIKASJON FOR ANLEGGELSE AV BLODKULTUR HOS VOKSNE**

---

E. von der Lippe, Infeksjonsmedisinsk avdeling, Ullevål Universitetssykehus HF, Oslo

Kliniske symptomer og funn for mikrobiell infeksjon eller sepsis er uspesifikke, som feber, tachypnoe, tachycardi, blodtrykksfall, leukocytose/leukopeni og økte akutfaseparametre. Lokalfunn kan gi mistanke om organmanifestasjoner.

### **Bakteriemier - ulike patofysiologiske årsaker:**

Transitorisk-	instrumentering, hverdagslige traumer
Intermitterende-	lokaliserede infeksjoner
Kontinuerlig-	intravaskulære infeksjoner
Rekurrent-	malignitet, nedsatt infeksjonsforsvar
Gjennombrudd-	utilfredsstillende drenering, malignitet

Funn og identifikasjon av mikrober i blodkultur formidler konkrete opplysninger om infeksjonsfokus, infeksjonens alvorlighetsgrad og adekvat antimikrobiell behandling.

### **Vekst av bakterier i blodkultur-relasjon til infeksjonsfokus:**

E. coli -	urinveier
S. aureus -	diabetes, hud, katetre
S. epidermidis -	kontaminering, katetre
GAS -	fasciitt, faryngotonsillitt, sår
Enterokokker -	Uvi, endokarditt, nosokomial
Viridans streptokokker-	endokarditt, tannrotabscess
Pseudomonas -	nosokomial, malignitet
Cl. septicum -	malignitet
Gjærsopp -	nosokomial, katetre, malignitet

Indikasjoner for anleggelse av blodkulturer er gitt i kliniske situasjoner der man forventer- eller ønsker å utelukke - vekst av mikrober i blodkultur. Antallet blodkulturer som bør tas, og tidspunktet for prøvetaking er avhengig av den mistenkte diagnosen og sykdommens alvorlighetsgrad.

### **Indikasjoner for anleggelse av blodkulturer:**

Feber antatt forårsaket av systemisk bakterie eller soppinfeksjon

Septikemi

Vaskulære infeksjoner: endokarditt, mykotisk aneurysme, suppurativ tromboflebit, a.v.fistel abscess

Pneumoni

Pyelonefritt

Akutt osteomyelitt

Fremmedlegemeinfeksjon- i.v. katetre, proteser

## **Anleggelse av blodkulturer:**

### **Akutt, alvorlig eller fulminant meningitt, septikemi, endokarditt**

#### Fulminant forløp:

2 sett blodkulturer fra 2 ulike perifere venepunksjonssteder anlegges med få minutters intervall **før** behandlingsstart med antimikrobielle midler.

#### Akutt, alvorlig, men ikke fulminant forløp:

2, ved endokarditt 3 sett blodkulturer fra 2 ulike perifere venepunksjonssteder anlegges med opptil 1-2 timers intervall **før** behandlingsstart med antimikrobielle midler

### **Subakutt eller kronisk infeksjon:**

2 sett blodkulturer med 1-3 timers intervall anlegges **før** behandlingsstart med antibiotika. Ved nytt frostanfall anlegges 1- 2 nye sett blodkulturer snarest etter frostanfallet har startet

### **Mistanke om subakutt endokarditt:**

3 sett blodkulturer første døgn.

2 nye sett blodkulturer påfølgende dag ved manglende vekst og før behandlingsstart med antibiotika

### **Anleggelse av blodkultur utenfor sykehuset:**

Mistanke om akutt, alvorlig sepsis, for eksempel meningokokksepsis, nekrotiserende fasciitt  
Blodkulturen sendes med pasienten til sykehuset.

Ved febertilstander under antibiotikabehandling er anleggelse av blodkultur ofte aktuell. Det er en generell oppfatning at pågående antibiotikabehandling supprimerer vekst av bakterier i kunstige medier. Noen ferske studier har vist andre resultater. Som regel vil følgende fremgangsmåte allikevel være korrekt:

### **Anleggelse av blodkultur under antibiotikabehandling:**

Revurder diagnosen

Kontroller ev. intravasale katetre og urinkateter

Revurder antibiotikabehandling og muligheten for seponering i minst 1 døgn

2 sett blodkulturer

## **Litteratur**

Bryan Ch. Clinical implications of positive blood cultures. Microbiol Rev 1989;vol 2(4):329-353

PHLS standard operating procedures. Investigation of blood cultures (for organisms other than mycobacterium species)2002;2:1-28

Gutschik E et al. Microbiological recommendations for the diagnosis and follow-up of infective endocarditis. Clin Microbiol Infect 1998;4:3S10-16

Durack DT et al. Approach to diagnosis of infective endocarditis. Clin Microbiol Infect 1998;4:3S3-9

Heym B et al. Blood culture: efficacy of the specimens for the analysis of bacteremia and sepsis. Immun Infekt 1986;14(1):18-21

Schermer R et al. Blood culturing in a trauma intensive care unit: Does concurrent antibiotic use make a difference? J Trauma 2002;52:463-68

# Indikasjon for anleggelse av blodkultur hos barn

---

T. Abrahamsen, Barneklubben, Rikshospitalet HF, Oslo

Prinsipielt er det vel ingen forskjell mellom barn og voksne når det gjelder indikasjon for blodkultur. Imidlertid, jo yngre barnet er jo vanskeligere har det for å avgrense infeksjonen til et organsystem slik at det også er en sepsiskomponent i den invasive infeksjonen. Eksempler er urosepsis, meningitt/sepsis. Det vil si at det kan lønne seg å ha en liberal holdning til indikasjon for blodkultur. På samme måte vil utvikling av septisk sjokk hos barn ofte være meget rask hvilket er en grunn til at det er viktig å komme igang med antibiotikabehandling raskt.

De fleste barneavdelinger praktiserer følgende **blodkulturindikasjoner**:

- Mistanke om invasiv infeksjon der det kan bli aktuelt å starte intravenøs antibiotikabehandling. Aktuelle infeksjoner vil være pneumoni, pyelonefritt, meningitt, osteomyelitt/artritt etc.
- Mistanke om sepsis, d.v.s. symptomer på klinisk sepsis
- Svingende feber av ukjent årsak.

## Problemer:

### Blodkulturtaking:

- Hvor mange blodkulturer skal tas, før behandling startes?
- Hvor stor mengde blod per blodkultur?
- Skal det tas anaerobe kulturer?
- Når er det indisert med soppkulturer?

### Før blodkulturresultatet foreligger:

- Optimal transport og oppbevaring.
- Jo raskere svar jo kortere tid med empirisk, vanligvis bredspektret, antibiotika behandling.

### Når blodkulturresultatet foreligger:

- Å ta konsekvensen av isolat/resistens funn.
- Avveining kolonisering/infeksjon, særlig ved funn av *S. epidermidis*, spesielt hos nyfødte?
- Betydning av bakteremi hos barn?

Det er sjeldent aktuelt å ta blodkultur utenfor sykehus fordi transporttiden med moderne kommunikasjonsmidler til sykehus vanligvis er kort. Indikasjonen må være hvis man vil starte antibiotikabehandling før barnet sendes til sykehus.

# Prøvetaking

---

Y. Tveten, Telelab as, Skien

Mikroorganismer kommer vanligvis inn i blodbanen via lymfatiske årer. Direkte invasjon i blodbanen skjer i forbindelse med intravaskulære infeksjoner som ved endokarditt, infiserte A-V fistler, mykotiske aneurysmer samt infiserte venøse og arterielle intravaskulære katetre.

Utgangspunktet til bakteremien er å finne i urogenitaltraktus (25%), respirasjonstraktus (20%), abcesser (10%), postoperative sårinfeksjoner (5%), galleveier (5%), andre med kjent utgangspunkt (5%) og ukjent utgangspunkt (25%) (1).

## BAKTEREMITYPER

1. Forbigående bakteremier forekommer etter manipulering av infisert vev, instrumentering på kontaminerte slimhinner og kirurgi i infiserte områder. Forbigående bakteremier forekommer også tidlig i forløpet av mange systemiske og lokaliserte infeksjoner (meningitt, pneumoni, athritt, osteomyelitt).
2. Intermitterende bakteremier er hyppigst assosiert med abcesser som ikke er erkjent og drenert. Viktig årsak til feber av ukjent årsak.
3. Kontinuerlig bakteremier er typisk ved endokarditt og ved andre intravaskulære infeksjoner. Kontinuerlig bakteremi finnes også i første sykdomsuker ved tyfoide feber og brucellose.
4. "Breakthrough" bakteremier kan forekomme i starten på behandlingen fordi antibiotika konsentrasjonen enda ikke er høy nok. "Breakthrough" senere i forløpet kan skyldes at mikroben er resistent for midlet som benyttes i behandlingen, eller et ikke erkjent og behandlet fokus.

## PRØVETAKINGPROSEDYRE

Påvisning av mikrober fra vanlig hudflora skaper problemer ved tolkning av funn i blodkulturer. Akseptert kontaminasjonsrate publisert av ASM er 3% (2). Enkelte anbefaler bruk av såkalte blodkulturteam for å redusere antall kontaminerte flasker. Det er beregnet at "pseudobakteremier" kostet USA 22 millioner \$ i 1984 (1). Rutiner for prøvetaking derfor særdeles viktig.

1. Hansker skal benyttes ved prøvetaking av blodkulturer. Årsaken er todelt; hindre kontaminasjon av blodkulturflaskene og å beskytte prøvetakeren. Ved sterk mistanke eller bekreftet infeksjon med mikroorganismer som smitter via blod (Brucella, Francisella, HIV, HBV, HCV, viral hemorrahgisk feber) anbefales smittefrakk og øyebeskyttelse i den svenske referansemotodikken (3).
2. Pasientens navn sjekkes og flaskene merkes

3. Etter palpasjon desifiseres prøvetakingsstedet med desinfeksjonsmiddel. Man vasker i spiral ut fra sentrum til en diameter på 5-6 cm. Det er viktig at det benyttede desinfeksjonsmiddel får tid til å utøve sin effekt.
4. Metallfliken fjernes fra flaskene og gummimembranen desinfiseres. La tørke i 30 sek. Jod holdige desinfeksjonsmidler skal aldri benyttes på blodkulturflaskenes membran (1).
5. Hvis det er nødvendig med ytterligere palpasjon, desinfiseres fingertuppen på hansken.
6. Utfør punksjonen

## VALG AV DESINFEKSJONSMIDDEL

Ulike forfattere og retningslinjer anbefaler ulike desinfeksjonsprosedyrer. Cumitech anbefaler 70% alkohol i 30 sek fulgt av 1-2% jodtinktur i 30 sek eller 10% povidone-iodine i 60 sek. Svensk referansemetodikk anbefaler alkoholholdig desinfeksjonsmiddel, f.eks. 70% etanol (3). PHLSSop anbefaler enten etanol eller isopropyl alkohol (4). Weinstein (5) og Mylotte (6) følger de amerikanske retningslinjer. Reimer anbefaler jodholdig desinfeksjonsmiddel (7).

Calfee konkluderer med at isopropylalkohol er bedre enn jodholdige desinfeksjonsmidler (8). Mimos viste i et randomisert, kontrollert forsøk at klorheksidinsprit var bedre enn vandig povidone-iodine (9). Maki (og andre) har vist at klorheksidin er bedre enn etanol og jodholdige desinfeksjonsmidler for å hindre kateterrelatert sepsis (10). Ved punksjon for taking av blodkultur ønskes rask, men ikke vedvarende effekt. Ved punksjon for innleggelse av mer eller mindre permanente katetre ønskes også langvarig effekt slik at us. utført for å studere effekten på kateterrelatert sepsis ikke uten videre bør overføres til prosedyrer for anleggelse av blodkultur.

Anbefaling: 70% etanol eller isopropylalkohol

## PRØVETAKINGSSTED

Anbefalt prøvetakingsted er perifer vene. Det er ingen studier som tilsier at det er bedre å benytte arterieblod.

Prøvetaking gjennom perifer katetre skal unngås fordi blodet lett forurenses med bakterier som har kolonisert katetret. Hvis annet prøvetakingsted ikke er mulig, kan perifere katetre benyttes. Informasjon om slik prøvetaking må alltid fremkomme på remissen til laboratoriet. Hvis det er ønskelig spesifikt å evaluere kateter relatert infeksjon, kan blodkulturer tas på samme tidspunkt fra kateteret og fra perifer vene.

Prøvetaking fra benmarg er indisert ved tyfoid feber, histoplasmose og brucellose hvis dyrkningene fra perifert blod har vært negative. Dyrkning fra benmarg kan også være til nytte ved subakutt endokarditt.

Hvis det skal tas flere ulike prøver på samme tidspunkt, skal blodkultur tas først. Hvis det benyttes "butterfly" skal aerob flaske tas først pga luft i slangen.

## TIDSPUNKT FOR PRØVETAKING OG ANTALL BLODKULTURSETT

Antall mikroorganismer i blodet er på topp 1-2 timer før symptomer med feber og frysninger oppstår. Blodkulturer bør derfor anlegges så snart som mulig etter symptomdebut. Siden blodkulturer skal tas før oppstart av antimikrobiell behandling, anbefales det at det tas 2 eller 3 blodkultursett i forbindelse med symptomdebut. Hvert sett skal tas med ulikt innstikk. Det er ikke funnet forskjell i utbytte fra blodkulturene ved å anlegge blodkultursett samtidig eller etter et tidsintervall.

Unntaket kan være endokarditt hvor det anbefales å ta 3 sett initialt. Hvis diagnosen ikke er klarlagt ved andre metoder og blodkulturene er negative etter 24 timer, tas 3 nye sett (11).

Under pågående antibiotikabehandling er utbyttet svært usikkert til tross for at mediene inneholder nøytralisasjonsstoffer. Hvis blodkulturer skal tas under pågående antibiotikabehandling vil det være naturlig å anbefale prøvetaking rett før ny dosering da antibiotikakonsentrasjon er på sitt laveste.

## BLODVOLUM

Antall mikroorganismer i blodet hos voksne under en bakteremi er oftest lavt (<1-10 cfu/ml). Hos barn er antall cfu i gjennomsnitt betydelig høyere.

Siden bakteriantallet er lavt vil blodmengden ha stor betydning for det endelige resultat. De fleste anbefaler 20-30 ml per sett. Hos voksne er 10 ml absolutt minimum, mens volum >30 ml ikke øker utbyttet i vesentlig grad. Ved å øke mengden fra 10 til 20 eller fra 10 til 30 ml, øker utbyttet med henholdsvis 38 og 62%. Hos barn kan betydelig mindre volum aksepteres (1-2 ml).

## BLODKULTURSETT

Tradisjonelt har ett blodkultursett bestått av 1 aerob og 1 anaerob flaske. Antall anaerobe bakteremier har totalt sett gått ned samtidig som antall fungemier har økt. Både Cumitech (1) og PHLSsop (4) diskuterer å endre praksis fra 1 aerob og 1 anaerob til å benytte 2 aerobe flasker. Anaerobe flasker benyttes da bare hos pasienter hvor en kan mistenke anaerob infeksjon. Ingen av disse to går imidlertid så langt at de anbefaler en slik endring. Bruk av 2 aerobe flasker øker isolasjonsfrekvensen av Enterobacteriaceae og sopp, mens fakultativt anaerobe gram positive bakterier eller andre kravfulle mikrober kan unngå deteksjon. Mylotte anbefaler bruk av 2 aerobe flasker pr.sett med klare kriterier for de tilfeller hvor en også skal benytte en anaerob flaske(6). Konklusjonen bygger egentlig på Morris som har vist at bruk av 2 aerobe flasker i ett blodkultursett + selektiv bruk av 1 anaerob flaske øker antallet signifikante bakteremier som påvises med 6% (12). Goldstein angir at anaerobe bakteremier er redusert fra 20 til 4 % og oppfordrer enhver avdeling til å lage retningslinjer for når anaerobe flasker skal benyttes (13). I en gjennomgang av 281,797 blodkulturer konkluderer Cockerill med at på deres sykehus fungerer ikke selektiv bruk av anaerobe flasker og anbefaler derfor rutinemessig bruk av 1 anaerob og 2 aerobe flasker, og kunne dermed øke utbyttet av fakultativt anaerobe gram positive bakterier i tillegg til funn av strikt anaerobe mikrober (14).

Hos barn angir alle at det sjelden er indikasjon for bruk av anaerobe flasker.

Konklusjon: Fortsatt bruk av 1 aerob og 1 anaerob flaske i et blodkultursett?

## OPPBEVARING OG TRANSPORT

Kommersielle blodkultursystemer benytter flasker som skal oppbevares i romtemperatur før forsendelse til mikrobiologisk laboratorium. Dette gjøres for å hindre at flasken er ”utvokst” før ankomst til laboratoriet og at vekst dermed ikke kan detekteres i systemet.

Alle kommersielle systemer har grenser for hvor lenge flaskene kan oppbevares før de settes inn i skapet. Hvis grensen er overskredet gjøres det blindutsed før flasken anbringes i skapet.

Ved sykehus uten mikrobiologisk avdeling kan personalet opplæres i bruk av automatiserte blodkultursystemer slik at deteksjon ved plassering i blodkulturskap kan skje uten tidsspille. Gram preparat og foreløpig resistensbestemmelse bør også kunne utføres.

## REFERANSER

1. Cumitech 1B. Blood Cultures III. ASM Press. 1997.
2. Weinbaum FI, Lavie S, Danek M., Sixsmith D., Heinrich GF, Mills SS. Doing it right the first time: Quality improvement and the contaminant blood culture. *J Clin Microbiol* 1997;3:563-5.
3. Referensmetodikk. I. Infeksjonsdiagnostikk. 4. Bakteriemi diagnostikk. Svenska Läkarsällskapetets sektion för medicinsk mikrobiologi, referensgruppen för klinisk bakteriologi i samverkan med Statens Bakteriologiska Laboratorium. 1993.
4. PHLS B.SOP 37. Investigation of blood cultures. Issue no:2. Issue date: 29.01.02. Issued by Technical Services, PHLS HQ
5. Weinstein, MP. Current blood culture methods and systems: Clinical concepts, technology and interpretation of results. *Clin Infect Dis* 1996;23:40-6.
6. Mylotte JM, Tayara A. Blood Cultures. Clinical Aspects and Controversies. 2000. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:157-63.
7. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rew* 1997;3:444-65.
8. Calfee DP, Farr BM. Comparison of four antiseptic preparations for skin in the prevention of contamination of percutaneously drawn blood cultures: a randomized trial. *J Clin Microbiol* 2002;5:1660-5.
9. Mimoz O et al. Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture. *Ann Intern Med* 1999;131:834-7.
10. Maki DG, Ringer M, Alvarado CJ. Prospective randomised trial of povidone-iodine, alcohol, and chlorhexidine for prevention of infection associated with central venous and arterial catheters. *The Lancet* 1991;338:339-43.
11. Endocarditis. *Clinical Microbiology and Infection*. 1998;4:Supplement 3.
12. Morris AJ, Wilson ML, Mirrett S, Reller LB. Rationale for selective use of anaerobic blood cultures. *J Clin Microbiol* 1993;8:2110-13
13. Goldstein EJ. Anaerobic bacteremiae. *Clin Infect Dis* 1996;23(Suppl 1):S97-101.
14. Cockerill III FR et al. Analysis of 281,797 consecutive blood cultures performed over an eight-year period: Trends in microorganisms isolated and the value of anaerobic culture of blood. *Clin Infect Dis* 1997;24:403-18



# Blodkultursystem

---

E. Haarr, Mikrobiologisk laboratorium, Sentralsjukehuset i Rogaland

## 1. Manuelle metodar med buljongmedier:

Flasker fylte med buljongmedium vert inokulerte med blod. I toppen av flaskene er det delvis vakuum. Flaskene vert gjort aerobe ved ventilering etter inokulering med blod. Ikkje ventilerte flasker held seg anaerobe.

Inkubasjon i 35-37°C i 7 dagar. Flaskene må inspiserast regelmessig for synlege teikn til vekst, som til dømes blakking og hemolyse. Blind utsæd av flaskene er nødvendig før svar går ut for å vera sikker på at ein ikkje overser mikrobevekst.

Manuelle system er arbeidskrevjande og lite praktiske ved handtering av mange blodkulturar. Ein fordel med desse systema er at dei er enkle å bruka, og ein treng bare inkubator, og ikkje dyre, avanserte instrument. Manuelle system kan vera praktisk der talet på blodkulturar er lite. (1,2) Slike manuelle system var vanlege på dei mikrobiologiske avdelingane her i landet fram til for ca 10 år sidan.

## 2. Bifasiske system:

Manuelle system som kombinerer buljong og fast medium. Etter inokulering med blod, vender ein flaska slik at blandinga av blod og buljong kjem i kontakt med det faste mediet. Inkubering i 35-37°C med dagleg inspeksjon. Ein fordel med denne metoden er at ein kan detektera synleg vekst via det faste mediet, og gå vidare med identifisering frå koloniar som veks på den faste overflata i det bifasiske mediet. Flaskene treng ikkje ventilerast. Desse systema er heller ikkje særleg praktiske for laboratorier som handterer større mengder blodkulturar. (1,2)

## 3. Lysis sentrifugering:

Isolator blodkultursystem: Manuelt, ikkje buljongbasert system. Kommersielt tilgjengeleg. Isolator-røyr som inneheld lyserande væske, vert inokulert med blod og sentrifugert. Etter sentrifugering sår ein ut botnfallet, som inneheld eventuelle mikrobar, på skåler. Svært god metode til å påvisa sopp. Ikkje optimal til deteksjon av anaerobe bakteriar. Akseptabel deteksjon av aerobe bakteriar, med unntak av pneumokokkar andre streptokokkar og *Pseudomonas aeruginosa*. (1,2,)

Arbeidskrevjande metode. Dyr (?) Meir utsett for kontaminasjon enn andre system? (1,2)

## 4. Automatiserte metodar.

Nyare kommersielle blodkultursystem har automatisert og kontinuerleg overvaking av teikn til mikrobevekst. Inkubator, detektorsystem og dataeining er integrert.

Instrumenta overvaker blodkulturflaskene elektronisk, nærast kontinuerleg, til dømes kvart 10. minutt. Data frå monitoreringa vert overførte til ein datamaskin, der dei vert lagra og analyserte. Bakterievekst i flaskene fører til auke av CO<sub>2</sub>, og dette vert detektert av dei automatiske blodkultursystema på ulike måtar, til dømes fluorescens-metode, manometrisk og kolorimetrisk metode. Automatiserte system med kontinuerleg overvaking gir raskare deteksjon av mikrobevekst enn manuelle system. Mykje arbeid vert dessutan spart sidan det ikkje er nødvendig med blindutsæd og dagleg inspeksjon av alle flaskene. (1,2).

Kommersielle system med automatisk overvaking er nå i bruk på dei mikrobiologiske avdelingane her i landet.

Automatiserte system er: BACTEC (Becton Dickinson Microbiology Systems), BacT/Alert (tidlegare Organon Teknika Corp, nå bioMerieux), Vital (bioMerieux), ESP (Difco)

laboratories) og Oxoid Automated Septicaemia Investigation System. Så vidt eg kjenner til, er det dei tre første som er i bruk her i landet, og artiklane i referanselista omhandlar stort sett desse tre systema.

### **Er dei kommersielle systema likeverdige?**

Det er publisert mange artiklar om samanlikning av ulike blodkultursystem og ulike flasketypar. (2-14)

Samla sett ser det ut som BacT/Alert og BACTEC påviser mikrobar omtrent like godt. (2,3,4,5)

Når det gjeld Vital automatiske blodkultursystem, er det publisert fleire artiklar dei seinare åra som konkluderer med at Vital detekterer færre mikrobar enn BacT/Alert og BACTEC, medan tidlegare studiar konkluderte med at Vital er likeverdig. (2,9,10,11,13,14)

Når det gjeld påvisning av sopp, har nokre undersøkingar vist at selektivt sopp-blodkulturmedium (BACTEC) og isolatorsystem detekterer meir sopp enn standard aerobe flasker. Andre hevdar at vanleg aerob blodkulturflaske er tilstrekkeleg også til påvisning av sopp. Om ein skal ha tilleggsflasker eller –røyr for å auka deteksjon av sopp, må vurderast ut frå kostnad og nytte. Lysis sentrifugering med inokulering på fast soppmedium er best når det gjeld påvisning av dimorfe sopptypar og *Cryptococcus neoformans*. Dei fleste soppisolata frå blodkulturar er *Candida*-species, og desse vert funne like bra med vanlege blodkulturmedier som med isolatorsystem (2,6,7,8) For pasientar med alvorleg immunsvekking, slik som avansert HIV-infeksjon, er lysis sentrifugering viktigare enn i andre tilfelle. Det same gjeld i område der *Histoplasma capsulatum* og *Coccidioides immitis* er endemisk (ikkje her i landet). (2).

### **Referansar:**

1. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): Manual of Clinical Microbiology. 1999.
2. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on Detection of Bacteremia and Fungemia. *Clinical Microbiology Reviews* 1997; 10: 444-65.
3. Jorgensen JH, Mirrett S, McDonald LC, Murray PR, Weinstein MP, Fune J et al. Controlled clinical laboratory comparison of BACTEC plus aerobic/F resin medium with BacT/Alert aerobic FAN medium for detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 53-8.
4. Ziegler R, Johnscher I, Martus P, Lenhardt D, Just HM. Controlled Clinical Laboratory Comparison of Two Supplemented Aerobic and Anaerobic Media Used in Automated Blood Culture Systems To Detect Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 657-61.
5. Riest G, Linde HJ, Shah PM. Comparison of BacT/Alert and BACTEC NR 860 blood culture systems in a laboratory not continuously staffed. *Clin Microbiol Infect* 1997; 3: 345-51.
6. Vetter E, Torgerson C, Feuker A, Hughes J, Harmsen S, Schleck C et al. Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic bottle to the isolator tube, BACTEC Plus Aerobic F/bottle, and BACTEC Anaerobic Lytic/10 bottle and comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/bottle to the Isolator tube for recovery of bacteria, mycobacteria, and fungi from blood. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4380-6.

7. McDonald LC, Weinstein MP, Fune J, Mirrett S, Reimer LG et al. Controlled Comparison of BacT/ALERT FAN Aerobic Medium and BACTEC Fungal Blood Culture Medium for Detection of Fungemia. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 622-4.
8. Petti CA, Zaidi AK, Mirrett S, Reller LB. Comparison of Isolator 1.5 and BACTEC NR660 aerobic 6A blood culture systems for detection of fungemia in children. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1877-79.
9. Zaidi AK, Mirrett S, McDonald JC, Rubin EE, McDonald LC, Weinstein MP et al. Controlled comparison of bioMerieux VITAL and BACTEC NR-660 systems for detection of bacteremia and fungemia in pediatric patients. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2007-12.
10. Fontanals D, Sanfeliu E, Pons I, Mariscal D, Torra M. Evaluation of the BacT/Alert and VITAL blood culture systems for the diagnosis of bacteremia. *Clin Microbiol Infect* 1998 Feb;4 (2): 88-93.
11. Wilson ML, Mirrett S, McDonald LC, Weinstein MP, Fune J, Reller LB. Controlled clinical comparison of bioMerieux VITAL and BACTEC NR-660 blood culture systems for detection of bacteremia and fungemia in adults. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1709-13.
12. (McDonald LC, Fune J, Gaido LB, Weinstein MP, Reimer LG, Flynn TM et al. Clinical importance of increased sensitivity of BacT/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2180-4.) ha med?
13. Spanjaard L, Kuijper EJ, Dankert J. Clinical Comparison of two Commercial blood culture systems. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000.Nov; 19 (11): 881-5
14. Lelievre H, Gimenez M, Vandenesch F, Reinhardt A, Lenhardt D, Just HM et al. Multicenter clinical comparison of resin-containing bottles with standard aerobic and anaerobic bottles for culture of microorganisms from blood. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; Sept; 16 (9) : 669-74

# Blodkulturrutiner ved mikrobiologiske avdelinger i Norge 2002

---

Nils Olav Hermansen, Mikrobiologisk avdeling , Ullevål Universitetssykehus HF, Oslo.

Programkomiteen for strategimøtet 2002 sendte i februar ut et spørreskjema vedrørende blodkulturrutiner. Alle 20 mikrobiologiske avdelinger/laboratorier svarte på henvendelsen. Her presenteres et sammendrag av svarene.

10 av 20 avdelinger har utarbeidet prosedyrer for når det er indisert å anlegge blodkultur.  
17 av 20 avdelinger har utarbeidet prosedyre for prøvetaking.

## Blodkultursystem som benyttes:

Bactec 12 avd.  
Bactalert 6 avd.  
Vital 2 avd.

## Mønster for anleggelse av blodkultur.

ANTALL AVDELINGER	ANTALL BLODKULTURSETT	ANTALL FLASKER	TIDSPUNKT	AEROBE FLASKER	ANAEROBE FLASKER
2	1	3	S	2	1
1	2	3	S	2	1
1	2	3	U	2	1
10	2	4	U	2	2
3	2	4	S	2	2
1	2	6	U	4	2
1	3	5	U	3	2
1	3	6	U	3	3

S : Tatt samtidig

U : Tatt ved ulike tidspunkt

Ett blodkultursett menes her blodkultur tatt i samme stikk. Kulturer tatt i nytt stikk er et nytt sett, selv om de tas på samme tidspunkt.

Ingen avdelinger bruker soppflasker rutinemessig.

Anaerobe kulturer inngår rutinemessig hos alle avdelinger. (unntatt barn)

6 avdelinger benytter anaerobe flasker til barn.

En av disse avdelingene angir spesifikt at de bare benytter ANA flasker på barn > 5 kg.

Inkuberingstid av blodkulturflasker:

5 døgn : 13 avd.

6 døgn : 4 avd.

7 døgn : 3 avd.

Forlenget inkuberingstid benyttes ved:

Endokarditt	18 avd.
Hjerteklaffefeil	11 avd.
Mistanke soppinfeksjon	11 avd.
Hjerteklaffoperert	10 avd.
Bilyd over cor	7 avd.
Tidligere giktfeber	5 avd.
Brucella	5 avd.
Bartonella	1 avd.
AML	1 avd.
Aldri	1 avd.

Forlenget inkuberingstid på blodkulturflasker:

21 døgn: 1 avd.

14 døgn: 15 avd.

12 døgn: 1 avd.

10 døgn: 2 avd.

Barneflasker.

15 avdelinger benytter egne barneflasker.

3 avdelinger betjener ikke barneavdelinger.

Fargemetode av direktepreparat fra blodkulturflaske.

Gram 14 avd.

Gram og acridin 6 avd.

Ingen avdelinger benytter andre fargemetoder.

”Blindutsæd” fra blodkulturflasker uten positivt signal om vekst i flasken.

Aldri 9 avd.

Meningokokksykdom 4 avd.

> 48 t. før inkubering i maskin 4 avd.

Epiglotitt 2 avd.

Osteomyelitt < 15 år 2 avd.

Brucella 1 avd.

> 20 t. før inkubering i maskin 1 avd.

Pneumokokksepsis 1 avd.

Bunnfall i flasken 1 avd.

Fargeendring i mediet 1 avd.

Antibiotikabehandling før prøvetaking 1 avd.

Faste medier som benyttes ved utsæd fra positiv blodkulturflaske.

Det er stor variasjon i bruk av faste medier ved utsæd fra positiv blodkulturflaske.

16 avdelinger praktiserer lik/tilnærmet lik utsæd uavhengig av funn i direkte preparat.

ANTALL AVDELINGER	BRUN-SKÅL	BLOD-SKÅL	LAKTOSE-SKÅL
9	X	X	X
3	X	X	X V/STORE OG SMÅ GR. NEG.STAVER
3	X	X	X V/STORE GRAM NEG. STAVER
1	X	X	

4 avdelinger praktiserer differensiert utsæd etter funn i direktepreparat.  
Resultater fra disse avdelinger er ikke presentert i tabellen over.

6 avdelinger benytter stafylokokkstrekk på blodskål ved funn av små gram negative staver.

2 avdelinger benytter aztreonamlapp på brunskål ved funn av store gram negative staver.

3 avdelinger bruker bacitracin high tablett på en brunskål ved funn av små gram negative staver.

2 avdelinger bruker bacitracin tablett ved funn av gram negative kokker og gram positive kjedekokker.

Tabletter/lapper som brukes ved funn av streptokokker ved mikroskopi.

Optochin-bacitracin low:	7 avd.
Optochin:	2 avd.
Optochin-OXA 1-tellur-bacitracin low:	2 avd.
Optochin-tellur-bacitracin low:	1 avd.
Optochin-tellur:	1 avd.
Optochin-OXA1:	1 avd.

Skåler/tabletter/lapper som benyttes ved funn av stafylokokker ved mikroskopi.

MH skål med OXA 0,5 og 4 mg/l : 2 avd.  
OXA lapp: 1 avd.  
Novobiocin lapp : 1 avd.  
Mannitol skål : 1 avd.

Inkuberingstid av skåler.

24 timer : 2 avd.  
24 til 48 timer : 4 avd.  
48 timer: 12 avd.  
72 timer : 1 avd.

Inkuberingsatmosfære.

Brun/blod-skål i CO<sub>2</sub> : 14 avd.  
Brun-skål i CO<sub>2</sub> : 3 avd.  
Differensiert : 1 avd.

Spesialskåler.

Sopp skål: 7 avd.  
Campylobact skål: 3 avd.  
Listeria skål: 3 avd.  
Selektiv gram positiv skål: 1 avd.

ANAEROB DIAGNOSTIKK.

Mangelfulle angivelser i svarene fra noen av avdelingene.

8 avdelinger angir at de ALLTID sår ut blodkulturer anaerobt uavhengig av mikroskopifunn/ om det er en aerob eller anaerob flaske som har flagget ut positivt.

### Anaerobe dyrkningsmedier/tabletter/lapper.

Blodskål:	5 avd.
FFA skål:	2 avd.
HMO/K/KV skål:	2 avd.
HMO skål:	1 avd.
HMO/KV skål:	1 avd.
K skål:	1 avd.
KV skål :	2 avd.

Genta/metro tabl./lapp:	4 avd.
Penicillin/metro tabl.:	1 avd.
Genta tabl.:	1 avd.
Neomycin lapp:	1 avd.
Netilmicin tabl.:	1 avd.
Metro. lapp:	1 avd.

### Fenotypiske tester som benyttes direkte fra positiv blodkulturbuljong.

Pneumokokk antigen test:	15 avd.
Streptokokk antigen test:	10 avd.
Meningokokk antigen test:	4 avd.
Beta-haem. str. gr. B antigen test:	4 avd.
H. influenzae type A,B:	3 avd.
Stafylokokk agglutinasjon:	3 avd.
“3-rør” forgjæring:	2 avd.
TNA'se test:	1 avd.
API uspesifisert:	1 avd.
Bakterieantigen uspesifisert:	1 avd.
Aldri:	2 avd.

### Genteknologiske metoder som benyttes på blodkulturbuljong:

1 avdeling benytter PCR direkte på blodkulturbuljong.

PCR benyttes ved positiv mikroskopi uten etterfølgende vekst på faste medier.

### Direkte resistensbestemmelse.

20 av 20 avdelinger utfører direkte resistensbestemmelse fra blodkulturbuljong.

### Metode.

Agardiffusjon:	16 avd.
E-test:	3 avd.
MAST:	1 avd.
VITEC:	1 avd.



10/20 kontrollerer resistensbestemmelse med nytt standardisert resistensoppsett.

8/20 kontrollerer resistensbestemmelse med nytt standardisert resistensoppsett v/behov.  
(eks. problem ved tykkelse).

2/20 kontrollerer ikke direkte resistensbestemmelse med nytt standardisert resistensoppsett.

#### Soppflasker.

5 av 20 avdelinger har egne soppflasker.

#### Mykobakterieflasker.

7 av 20 avdelinger har egne mykobakterieflasker.

#### Frysing av blodkulturisolat.

18 av 20 avdelinger fryser alle blodkulturisolat.

1 av 20 avdelinger fryser utvalgte blodkulturisolat.

1 av 20 avdelinger fryser kun unntaksvis blodkulturisolat.

#### Innsending av blodkulturer fra andre sykehus.

11 av 20 avdelinger mottar blodkulturer fra andre sykehus, uten at flaskene er inkubert.

5 av 20 avdelinger mottar positive blodkulturer, hvor flaskene er inkubert i kommersielt blodkultursystem ved det lokale sykehus.

4 av 20 avdelinger mottar kun blodkulturer fra eget sykehus.

#### Avlesning av blodkulturer.

Kveld: 2 avdelinger

Lørdag: 20 avdelinger

Søndag: 16 avdelinger.

# Inkubering og rutiner ved videre arbeid med positive blodkulturer

---

Asbjørn Digranes, Avdeling for mikrobiologi og immunologi, Gades institutt, Haukeland sykehus, Bergen

## Inkuberingstid

Ved bruk av manuelt system anbefales at flaskene rutinemessig inkuberes i 7 døgn. For automatiserte systemer anbefales inkubering i 5-7 døgn. Flere undersøkelser tyder på at det er tilstrekkelig å inkubere flaskene i 5 døgn, og at de bakteriene som først påvises etter 6-7 døgn stort sett representerer kontaminasjon fra huden, særlig Propionibacterium acnes. Imidlertid er det nokså sparsom dokumentasjon for de ulike flasketyper, og det anbefales derfor at det enkelte laboratorium foretar en registrering av hvilke bakterier som påvises dag 6 og 7 før man bestemmer seg.

Det er vanlig praksis å forlenge inkuberingen av blodkulturer fra pasienter med endokarditt til 2, eventuelt 3 uker. Dokumentasjonen for at dette er nødvendig ved bruk av automatiserte systemer er imidlertid sparsom. Selv bakterier som tilhører HACEK-gruppen vil som regel bli påvist i løpet av 7 dager.

Også langsomtvoksende bakterier som Brucella vil ofte bli påvist i løpet av de første 7 døgn. Likevel anbefales å inkubere flaskene i opptil 4 uker ved mistanke om brucellose.

De fleste gjærsopper trenger bare 2-3 døgn inkubering, men for andre sopper kan det være nødvendig å inkubere flaskene vesentlig lenger. Det henvises her til eget innlegg om diagnostikk av fungemi.

Hvis det benyttes egne flasker for mykobakterier, bør disse inkuberes i opptil 6 uker.

## Fargemetoder

De mest aktuelle fargemetoder er akridinoransje og Gram. Akridinoransje er den mest sensitive metoden, men bør suppleres av Gram-farging som et første ledd i identifikasjonen av bakteriene.

For mykobakterier brukes (selvsagt) Ziehl-Neelsen.

## Medier

Aerobe bakterier: Standardmedier er blodagar og laktoseagar, eventuelt også "sjokolade"-agar.

Anaerobe bakterier: Blodagar og blodagar med kanamycin og vankomycin (KV-skål).

Blodkulturer som "flagger" ut som positive, bør etter min oppfatning sås ut på alle standardmedier; valg av medier bør ikke utelukkende baseres på mikroskopifunn. Et Gram-

preparat kan være vanskelig å vurdere, og det kan finnes andre bakterier i blodkulturen enn dem som er påvist ved mikroskopi. Dessuten: I enkelte automatiserte systemer vil også anaerobe bakterier vokse i den aerobe flasken, og enkelte fakultative bakterier vokser best i den anaerobe flasken.

På grunnlag av Gram-preparat kan det imidlertid være aktuelt å supplere standardoppsettet med spesialmedier for Listeria, Campylobacter, sopp og eventuelt Francisella.

Laktoseskålen inkuberes to døgn i vanlig atmosfære, de øvrige aerobe skåler i CO<sub>2</sub>-atmosfære i 2 døgn. Anaerobe skåler inkuberes også i 2 døgn. Forlenget inkubering kan undertiden være nødvendig (klinisk problemstilling, manglende vekst på skålene på tross av "positiv" mikroskopi).

Avhengig av mikroskopifunn kan ulike diagnostiske lapper gi nyttig informasjon. De mest aktuelle er lapper med optochin, bacitracin, telluritt, metronidazol og galle (de to siste på de anaerobe mediene).

Hvis man er usikker på om det er vekst av Gram-positive eller Gram-negative bakterier i blodkulturflasken, kan lapper med henholdsvis vankomycin og aztreonam være til hjelp.

### **"Utflagging" av positiv blodkulturflaske, men negativ mikroskopi**

Hvis det ikke påvises bakterier ved mikroskopi av preparat fra blodkulturflaske som er "flagget ut" som positiv, bør det likevel foretas utsæd på standardmediene, eventuelt også på spesialmedier (se nedenfor). Selv ved undersøkelse av akridinoransjefarget preparat er deteksjongrensen ca. 10<sup>4</sup> bakterier pr. ml, og for Gram-preparat er den enda høyere. Hvis bare Gram-preparat undersøkes, må dessuten muligheten for vekst av bakterier som kan være vanskelig å påvise i Gram-preparat, f.eks. *Campylobacter*, vurderes.

Blodkulturflasken bør i slike tilfeller reinkuberes, og vekstkurven vurderes.

### **"Residiv"/antatt samme funn i blodkultur etter f.eks. 1 uke**

Ved vekst av antatt samme bakteriestamme i blodkultur tatt en ukes tid etter at det første isolatet ble påvist, bør identifikasjon og resistensbestemmelse utføres på nytt.

Hvis det fortsatt isoleres bakterier fra blodkulturer på tross av pågående antibiotikabehandling, bør ny resistensbestemmelse utføres allerede etter få dager. I slike tilfeller er imidlertid kontakt med behandlende lege/sykepost avgjørende

### **Skal bakterieisolater i blodkulturer alltid identifiseres til artsnivå ?**

Som hovedregel bør alle blodkulturisolater som tillegges klinisk betydning, identifiseres til artsnivå. Dette gjelder imidlertid ikke ved funn av samme bakteriestamme i flere blodkulturer hvis ekstraundersøkelser er nødvendig for å komme fram til artsdiagnosen.

# Blodkulturer: Metoder for rask identifikasjon og resistensbestemmelse av bakterier

---

F. Müller, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet HF, Oslo

Ved bruk av moderne blodkultursystemer vil bakterievekst detekteres automatisk med beskjed om at blodkulturflasken er positiv. Mikroskopi av buljong fra flasken sammenholdt med om det er vekst i aerob og/eller anaerob flaske gir en viss informasjon om hvilken bakterie som vokser i flasken. Rutinemessig vil buljongen bli sådd ut på faste medier. Med utgangspunkt i vekst på fast medium vil bakterien bli identifisert og resistensbestemt. Ved identifikasjon og resistensbestemmelse direkte fra blodkulturbuljong kan tid til svar foreligge kortere betydelig inn. Dette innlegget tar opp aktuelle metodikker for rask identifikasjon og resistensbestemmelse direkte fra positiv blodkulturflaske.

Metodene kan enten ta utgangspunkt i blodkulturbuljong uten spesiell forbehandling, alternativt kan det prepareres en bakteriesuspensjon fra buljongen ved hjelp av sentrifugering (1;2). Praktisk talt all litteratur som er omtalt tar utgangspunkt i buljong fra positiv flaske uten spesiell forbehandling.

## 1. Har rask diagnostikk noen hensikt?

Eventuelle kliniske og økonomiske fordeler ved en raskere blodkulturdiagnostikk er komplisert å dokumentere. Norsk dokumentasjon foreligger ikke. Amerikanske studier har dokumentert at det tar kortere tid før overgang til optimal antibiotikabehandling samt betydelige økonomiske besparelser ved innføring av raskere identifikasjon og resistensbestemmelse (3;4).

## 2. Hva gjøres ved norske laboratorier?

Programkomitéen for strategimøtet i bakteriologi sendte i februar i år ut et spørreskjema til 20 mikrobiologiske avdelinger og mottok svar fra samtlige. Atten laboratorier utførte en eller flere fenotypiske tester for identifikasjon av bakterier. Hovedsakelig var dette agglutinasjonstester for påvisning av pneumokokker, meningokokker, gule stafylokokker og gruppeantigen hos streptokokker. Kun ett laboratorium anvendte genotypiske tester for bakterieidentifikasjon i form av PCR-undersøkelse.

Alle laboratoriene utførte direkte resistensbestemmelse fra blodkulturbuljong. Seksten anga bruk av agardiffusjon, 3 brukte Etest, 1 brukte MAST og 1 brukte Vitek 2.

Ti laboratorier kontrollerte resistensbestemmelsen rutinemessig med nytt standardisert oppsett, 8 gjorde dette kun ved behov mens 2 laboratorier ikke utførte noen slik kontroll.

## 3. Identifikasjon

Et stort antall publikasjoner omhandler metoder for direkte påvisning av bakterier fra blodkulturbuljong, til dels med oppløftende resultater. Imidlertid må resultatene tolkes med forsiktighet. Faktorer som blodkulturmedium, inokulum og inkuberingsbetingelser ved utførelse av de ulike tester varierer og ofte er det et relativt lavt antall isolater som er undersøkt. Ved bruk av kommersielle tester vil undersøkelse av blodkulturbuljong ofte ikke være validert av produsenten. Det enkelte laboratorium må derfor forsikre seg om at tester som tas i bruk er tilstrekkelig validert.

For øvrig vil direkte identifikasjon av bakterier i blodkulturbuljong være problematisk i polymikrobielle kulturer. En bør avstå fra slik diagnostikk der mikroskopi av buljong gir holdepunkt for blandingskultur.

### 3a. Fenotypiske metoder

Bruk av biokjemiske tester ved testing av bakterier i blodkulturbuljong ble undersøkt allerede i 1971 (5). Av et panel på 114 blodkulturisolater ble 112 isolater identifisert korrekt.

#### **Stafylokokker**

Påvisning av gule stafylokokker i blodkulturbuljong har vært undersøkt med ulike metodikk som lysostafin følsomhet (6), termonuklease (7-9) og koagulase (10;11). Enkelte forfattere har rapportert problemer ved bruk av termonuklease og DNase for påvisning av gule stafylokokker (12-14).

Flere forfattere har funnet relativt lav sensitivitet, men høy spesifisitet, ved undersøkelse av forskjellige kommersielle agglutinasjonstester (10;15-17). Imidlertid har koagulase i rør vist seg å ha høy sensitivitet (~ 85-90 %) og høy spesifisitet (~ 100 %) (10;13;17). Speers og medarbeidere fant en sensitivitet og spesifisitet for påvisning av gule stafylokokker på henholdsvis 23 % og 99 % for Staphaurex plus agglutinasjon, 92 % og 100 % for koagulase i rør og 98 % og 100 % for Rapidec Staph (2 timers inkubering) (11). Van Griethuysen og medarbeidere fant tilsvarende høye tall for sensitivitet og spesifisitet når det gjelder anvendelse av Rapidec Staph for påvisning av gule stafylokokker (18).

#### **Streptokokker og enterokokker**

Serogrupping av streptokokker i blodkultur ved hjelp av agglutinasjon har vist seg å være relativt sensitivt og spesifikt for serogruppe A, B og G, resultatene har vært varierende med hensyn på serogruppe D, mens testing for serogruppe C har gitt en del falskt positive reaksjoner (15;19-23).

Forøvrig har pyrrolidonyl- $\beta$ -naftylamid hydrolyse (PYR) testen vist seg å være anvendbar ved direkte diagnostikk av enterokokker og gruppe A streptokokker (15;22).

Agglutinasjonstester for påvisning av pneumokokker har også vist seg å være anvendelige med både høy sensitivitet og spesifisitet (13;19-21;24).

#### **Gram-negative stavbakterier**

*Haemophilus influenzae* har vært påvist ved agglutinasjon direkte fra blodkulturbuljong av Flejzor & Bokkenheuser, men kun et lite antall isolater ble undersøkt (24).

Biokjemisk påvisning av *Enterobacteriaceae* ved hjelp av API 20E og relativt kort inkubasjonstid (5-8 timer) har vært utført med noe varierende resultat (60-100% overensstemmelse med standard metodikk) (25;26). Ellers har ulike automatiserte systemer, bl.a. BioMerieux Vitek og Vitek 2, vært anvendt for identifikasjon av Gram-negative stavbakterier med 75-90 % overensstemmelse med standard metodikk (1;27;28).

### 3b. Genotypiske metoder

Identifisering ved hjelp av fluorescens in situ hybridisering (FISH) er en rask og lovende metode som i forskningssammenheng har vært anvendt til identifikasjon av bakterier direkte fra blodkulturbuljong (29-31). Probenes antall og spesifisitet er avgjørende for hvor godt metodikken fungerer.

Identifikasjon basert på amplifisering av bakterie-DNA med påfølgende hybridisering til et utvalg av oligonukleotidprober har også vist seg å være lovende (32).

En videreutvikling av disse metodikkene i form av mikromatrise-teknologi med automatisert avlesning vil i fremtiden sannsynligvis bidra til en betydelig raskere blodkulturdiagnostikk.

#### **4. Resistensbestemmelse**

##### **Fenotypiske metoder**

Som tidligere nevnt utfører de aller fleste norske laboratoriene direkte resistensbestemmelse i form av agardiffusjon med utgangspunkt i positiv blodkulturbuljong. En rekke studier, flere fra 70- og 80-tallet, har vist god overensstemmelse mellom slik direkte resistensbestemmelse og agardiffusjon utført under standardiserte betingelser (33-38). Imidlertid kan det ved buljongutsæd være vanskelig å oppnå bakterievekst av ønsket tetthet. I retningslinjer fra NCCLS er man tilbakeholdne med å tilråde bruk av direkte resistensbestemmelse (kun i "clinical emergencies") og anbefaler at når dette gjøres skal det etterprøves ved standardisert metodikk (39). Blant de aktuelle norske leverandører, anbefaler AB Biodisk ikke utførelse av agardiffusjon direkte fra buljong (Laboratoriesjef Åsa Karlsson, AB Biodisk, personlig meddelelse), mens Rosco anbefaler at når direkte agardiffusjon settes opp, må den etterfølges av nytt oppsett under standardiserte betingelser (40).

En annen måte å korte ned svartiden ved resistensbestemmelse er å lese av skålene på et tidligere tidspunkt enn det som rutinemessig gjøres. Midtvedt & Midtvedt har vist at avlesning etter 8 timer gir relativt god overensstemmelse med avlesning etter 18 timer (41). Tilsvarende funn er publisert av Coyle og medarbeidere, som sammenliknet inkubering i 6 timer og "over natt" (34).

Når det gjelder bruk av Etest har AB Biodisk publisert en prosedyre med utgangspunkt i positiv blodkulturbuljong og med avlesning etter 6-8 timer for hurtigvoksende, aerobe bakterier (42). Det understrekes at resultatene må konfirmeres med standard metodikk. Påvisning av meticillinresistens hos gule stafylokokker ble undersøkt av Kubina og medarbeidere ved hjelp av BBL Crystal MRSA ID test, de fant en sensitivitet på 84 % og en spesifisitet på 100 % (43).

Ved anvendelse av automatiserte systemer som BioMerieux Vitek og Vitek 2 har flere forfattere anvendt forbehandling av den positive blodkulturbuljongen i form av sentrifugering og vask av bakteriene før resistensbestemmelse ble utført (2;27;44;45). Resultatene viser stort sett god overensstemmelse med standard metodikk, med et unntak for påvisning av ett MRSA isolat i Vitek.

##### **Genotypiske metoder**

Påvisning av resistensgener direkte fra positiv blodkultur er en viktig utfordring, men lite er publisert. *mecA* genotyper har vært undersøkt i ekstrahert DNA fra blodkulturbuljong med godt resultat (46;47).

##### **Konklusjon**

Enkelte fenotypiske metoder synes velegnet til identifikasjon av bakterier direkte fra blodkulturbuljong. Metodene må valideres ved det enkelte laboratorium før de tas rutinemessig i bruk.

Genotypisk identifikasjon fra blodkulturbuljong anvendes i dag i svært lite omfang, men vil sannsynligvis finne økende utbredelse de kommende år.

Agardiffusjon med direkte utsæd fra blodkulturbuljong ("direkte resistensbestemmelse") utføres av de fleste norske laboratorier. Slik agardiffusjon bør kontrolleres med nytt resistensoppsett under standardiserte betingelser.

### **Referanser**

1. Hansen DS, Jensen AG, Norskov-Lauritsen N, Skov R, Bruun B. Direct identification and susceptibility testing of enteric bacilli from positive blood cultures using VITEK (GNI+/GNS-GA). *Clin Microbiol Infect* 2002; 8(1):38-44.
2. Buck LL, Hermann AM, Young SA, Overturf G. Direct susceptibility testing of Gram negative rods from Bactec 9240 blood culture bottles in the Vitek 2. Abstract. American Society of Microbiology (ASM) General Meeting 2002 .
3. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 1999; 37(5):1415-1418.
4. Trenholme GM, Kaplan RL, Karakusis PH, Stine T, Fuhrer J, Landau W et al. Clinical impact of rapid identification and susceptibility testing of bacterial blood culture isolates. *J Clin Microbiol* 1989; 27(6):1342-1345.
5. Wasilaukas BL, Ellner PD. Presumptive identification of bacteria from blood cultures in four hours. *J Infect Dis* 1971; 124(5):499-504.
6. Severance PJ, Kauffman CA, Sheagren JN. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* by using lysostaphin sensitivity. *J Clin Microbiol* 1980; 11(6):724-727.
7. Madison BM, Baselski VS. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by thermonuclease testing. *J Clin Microbiol* 1983; 18(3):722-724.
8. Rigby A. Thermonuclease testing: the rapid identification of *Staphylococcus aureus* in blood culture. *Med Lab Sci* 1986; 43(2):196-198.
9. Brakstad OG, Maeland JA. Direct identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures by detection of the gene encoding the thermostable nuclease or the gene product. *APMIS* 1995; 103(3):209-218.
10. Cooke RP, Jenkins CT. Comparison of commercial slide agglutination kits with a tube coagulase test for the rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood culture. *J Clin Pathol* 1997; 50(2):164-166.
11. Speers DJ, Olma TR, Gilbert GL. Evaluation of four methods for rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1998; 36(4):1032-1034.
12. Megson GM, Law D, Ganguli LA. Problems of thermonuclease detection for identifying *Staphylococcus aureus* in blood culture broths. *J Clin Pathol* 1991; 44(9):772-774.
13. Davis TE, Fuller DD, Aeschleman EC. Rapid, direct identification of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* from blood cultures using commercial immunologic kits and modified conventional tests. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15(4):295-300.

14. Faruki H, Murray P. Medium dependence for rapid detection of thermonuclease activity in blood culture broths. *J Clin Microbiol* 1986; 24(3):482-483.
15. Rappaport T, Sawyer KP, Nachamkin I. Evaluation of several commercial biochemical and immunologic methods for rapid identification of gram-positive cocci directly from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1988; 26(7):1335-1338.
16. Hamoudi AC, Hribar MM. Evaluation of a direct identification method for *Staphylococcus aureus* from blood culture broth. *J Clin Microbiol* 1988; 26(7):1404-1405.
17. McDonald CL, Chapin K. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood culture bottles by a classic 2-hour tube coagulase test. *J Clin Microbiol* 1995; 33(1):50-52.
18. van Griethuysen A, Buiting A, Goessens W, van Keulen P, Wintermans R, Kluytmans J. Multicenter evaluation of a modified protocol for the RAPIDEC staph system for direct identification of *Staphylococcus aureus* in blood cultures. *J Clin Microbiol* 1998; 36(12):3707-3709.
19. Wellstood S. Evaluation of Phadebact and Streptex Kits for rapid grouping of streptococci directly from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1982; 15(2):226-230.
20. Kristensen B, Hojbjerg T, Schonheyder HC. Rapid immunodiagnosis of streptococci and enterococci in blood cultures. *APMIS* 2001; 109(4):284-288.
21. Wetkowski MA, Peterson EM, de la Maza LM. Direct testing of blood cultures for detection of streptococcal antigens. *J Clin Microbiol* 1982; 16(1):86-91.
22. Gordon LP, Damm MA, Anderson JD. Rapid presumptive identification of streptococci directly from blood cultures by serologic tests and the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide reaction. *J Clin Microbiol* 1987; 25(2):238-241.
23. Lee PC, Wetherall BL. Cross-reaction between *Streptococcus pneumoniae* and group C streptococcal latex reagent. *J Clin Microbiol* 1987; 25(1):152-153.
24. Flejzor B, Bokkenheuser VD. Use of Directigen and acridine orange for rapid identification of human blood culture isolates. *J Clin Microbiol* 1984; 20(3):587-588.
25. Malloy PJ, Ducate MJ, Schreckenberger PC. Comparison of four rapid methods for identification of Enterobacteriaceae from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1983; 17(3):493-499.
26. Hicock PI, Marshall KE. Rapid identification of Enterobacteriaceae associated with bacteremia: a preliminary report. *Am J Med Technol* 1980; 46(10):776-778.
27. Brunet P, Casado C. Study of performance for direct identification and susceptibility testing with Vitek 2 using positive Vital blood culture bottles. Abstract. 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2001.
28. Stevens M, Parish GT. Rapid identification of gram-negative bacilli from blood cultures. *J Med Microbiol* 1986; 21(3):215-218.



29. Kempf VA, Trebesius K, Autenrieth IB. Fluorescent In situ hybridization allows rapid identification of microorganisms in blood cultures. *J Clin Microbiol* 2000; 38(2):830-838.
30. Oliveira K, Procop GW, Wilson D, Coull J, Stender H. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* directly from blood cultures by fluorescence in situ hybridization with peptide nucleic acid probes. *J Clin Microbiol* 2002; 40(1):247-251.
31. Jansen GJ, Mooibroek M, Idema J, Harmsen HJ, Welling GW, Degener JE. Rapid identification of bacteria in blood cultures by using fluorescently labeled oligonucleotide probes. *J Clin Microbiol* 2000; 38(2):814-817.
32. Anthony RM, Brown TJ, French GL. Rapid diagnosis of bacteremia by universal amplification of 23S ribosomal DNA followed by hybridization to an oligonucleotide array. *J Clin Microbiol* 2000; 38(2):781-788.
33. Mirrett S, Reller LB. Comparison of direct and standard antimicrobial disk susceptibility testing for bacteria isolated from blood. *J Clin Microbiol* 1979; 10(4):482-487.
34. Coyle MB, McGonagle LA, Plorde JJ, Clausen CR, Schoenknecht FD. Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests. *J Clin Microbiol* 1984; 20(3):473-477.
35. Fay D, Oldfather JE. Standardization of direct susceptibility test for blood cultures. *J Clin Microbiol* 1979; 9(3):347-350.
36. Doern GV, Scott DR, Rashad AL, Kim KS. Evaluation of a direct blood culture disk diffusion antimicrobial susceptibility test. *Antimicrob Agents Chemother* 1981; 20(5):696-698.
37. Yumuk Z, Dundar V. Comparison of direct and standard antimicrobial disk susceptibility testing with positive Bactec aerobic plus/F blood culture bottles: evaluation of clinical and financial benefits. Abstract. 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2001.
38. Giannini MA, Boudreaux JW, Hayden RT. Direct inoculation of Kirby-Bauer antimicrobial susceptibility plates from positive blood culture bottles. ASM 2002 General Meeting.
39. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. M2-A7. 2000.
40. Rosco. Neo-Sensitabs: Primary vs. Pure Culture Susceptibility Testing. Early Reading of the Antibiogramme. 11th edition. 2000.
41. Midtvedt K, Midtvedt T. Rapid determination of antibiotic susceptibility by a disc diffusion test for urgent clinical situations. *Scand J Infect Dis* 1985; 17(1):131-132.
42. AB Biodisk. Direct specimen MIC testing. AB Biodisk Etest procedure. 2000.

43. Kubina M, Jaulhac B, Delabranche X, Lindenmann C, Piemont Y, Monteil H. Oxacillin susceptibility testing of staphylococci directly from Bactec Plus blood cultures by the BBL Crystal MRSA ID system. *J Clin Microbiol* 1999; 37(6):2034-2036.
44. Putnam LR, Howard WJ, Pfaller MA, Koontz FP, Jones RN. Accuracy of the Vitek system for antimicrobial susceptibility testing Enterobacteriaceae bloodstream infection isolates: use of "direct" inoculation from Bactec 9240 blood culture bottles. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997; 28(2):101-104.
45. Howard WJ, Buschelman BJ, Bale MJ, Pfaller MA, Koontz FP, Jones RN. Vitek GPS card susceptibility testing accuracy using direct inoculation from BACTEC 9240 blood culture bottles. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 24(2):109-112.
46. Lee YC, Wu F, Dutta S, Della-Platta P. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from blood cultures using multiplex PCR. Abstract no. 896. 40th ICAAC. 2000.
47. Jaffe RI, Lane JD, Albury SV, Niemeyer DM. Rapid extraction from and direct identification in clinical samples of methicillin-resistant staphylococci using the PCR. *J Clin Microbiol* 2000; 38(9):3407-3412.

## **VURDERING AV FUNN SOM KAN VÆRE KONTAMINANTER.**

---

Martin Steinbakk, Mikrobiologisk avd., Ahus

Den viktigste feilkilde ved fortolkning av funn i blodkultur er kontaminering av kulturen med mikrober fra hudfloraen.

Ved nøye å følge angitt prosedyre kan problemet reduseres betydelig. Særlig viktig er grundig preparering av huden med et baktericid middel, klorhexidin-sprit eller jod-løsning (se Tveten: Prøvetakning). Da bakteriell endokarditt, spesielt ved kunstige hjerteklaffer, ofte forårsakes av mikrober som normalt finnes på huden (e.g. *Staphylococcus epidermidis* og ”difteroider”), må prosedyre følges nøyaktig. Derved kan kontamineringen av kulturene reduseres til et minimum, ideelt sett < 3 % av alle kulturer som anlegges. Kultur må ikke anlegges gjennom inneliggende kateter med mindre dette er eneste utvei (anfør i så fall dette på henvisningen).

Vurdering av funn som kan være kontaminanter avhenger av flere faktorer hvorav de viktigste er:

1. Klinisk diagnose
2. Korrekt identifikasjon av mikroben
3. Antall positive blodkultursett

### **1) Klinisk diagnose.**

Enkelte mikrober forekommer hyppigere ved enkelte kliniske tilstander enn andre. F. eks. forekommer *E. coli* hyppig ved pyelonefritt, men er svært sjelden ved endocarditt. Omvendt er funn av mikrober i HACEK-gruppen assosiert med endocarditt, men forekommer ikke ved pyelonefritt.

*S. aureus* er vanligste årsak til osteomyelitt og septisk artritt. Hvite stafylokokker er en hyppig årsak til fremmedlegeme-infeksjon knyttet til osteosyntesmateriale, men septikemi og positiv blodkultur er meget sjelden.

Eksempel 1: Pasient innlagt nefrologisk seksjon etter 4 uker sykehistorie, tiltagende slapp og subfebrilia med mistanke om glomerulonefritt pga. hematuri. Funn av *Actinobacillus actinomycetemcomitans* i blodkultur gir mistanke om endocarditt. Pasienten overflyttes infeksjonsmedisinsk avdeling og etter gjentatte utredninger påvises endelig vegetasjoner på mitralklaffer.

### **2) Korrekt identifikasjon av mikroben.**

Hudflora som *Staph. epidermidis* og andre koagulase-negative (hvite) stafylokokker samt ”difteroider” representerer vanligvis fourensning, men kan også gi septikemi. *S. lugdunensis* er rapportert å kunne gi raskt forløpende endokarditt ved native hjerteklaffer, mens andre hvite stafylokokker meget sjelden gir infeksjon i native klaffer. *Propionibacterium acnes* er oftest kontaminant fra hud. Ulike aerobe ”difteroider” omfatter en ”sekkediagnose” av ulike bakterier med uklar identitet og oppfattes oftest som kontaminant fra hud. Enkelte

Actinomyces-arter kan være årsak til septikemi. F. eks. er *Actinomyces neuii* en aerob aktinomyces-art som er assosiert med septikemi hos nyfødte. *Actinomyces meyeri* er en av de strikt anaerobe aktinomyces-arter som meget sjelden isoleres fra hud.

*Bacillus anthracis* anses alltid som patogen, mens andre Bacillus-arter oftest er kontaminanter, men kan gi fremmedlegeme-infeksjon (CVK).

Bruk av gode flytdiagrammer kan lette artsdiagnosen ved funn i blodkultur. Se fig 1 (Figur 34.1 fra Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, se s. 46)

Eksempel 2: Kvinne 45 år innlagt medisinsk avdeling høyfebril. Hun utvikler etter noen timer i avdelingen betydelig pustevansker og må legges på respirator. Diagnosen er pneumoni. Etter 1 døgn oppvekst av *Streptococcus milleri* (med gruppeantigen A). Funnet er normalt ikke forenelig med akutt pneumoni og man starter søk etter abscess og finner en svær sådan i sakralområdet som dreneres kirurgisk. Pasientens lungesyntomer skyldes ARDS.

Eksempel 3: 50 år gammel mann med leukemi. Oppvekst av Gram-positiv stavbakterie i 1 av 2 sett. Katalase +, Oksydase – og beta-hemolytisk. Mikroben vokste godt på sjokoladeagar, men meget dårlig på blodagar. Mikroben ble forsøkt identifisert direkte med kommersielle systemer uten bruk av mer konvensjonelle flytdiagram. BBL Crystal GP ga til svar *Bacillus megaterium*, mens API Coryne ikke ga noen diagnose. Ved resistensbestemmelse var mikroben følsom for ampicillin og resistent for cefalosporiner. Til tross for at mikroskopi ikke var forenelig med *B. megaterium*, var foreløpig konklusjon Gram-positiv stavbakterie; Bacillus spp.? Mikroben ble også identifisert med sekvensering av 16S rDNA: *Listeria monocytogenes*.

Mikroben ble så undersøkt på nytt og hadde nå typisk vekstmønster og kolonimorfologi. Bruk av konvensjonelt flytdiagram fra Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology ga Listeria. Strept API: *Listeria monocytogenes*. Problemene med identifikasjonen skyldtes at det ble brukt en batch med dårlige blodskåler ved primær isolasjon og identifikasjon, samt at man benyttet kommersielle system som ikke var optimalisert for diagnostikk av aktuell mikrobe.

Diagram 1. Flytdiagram fra Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.

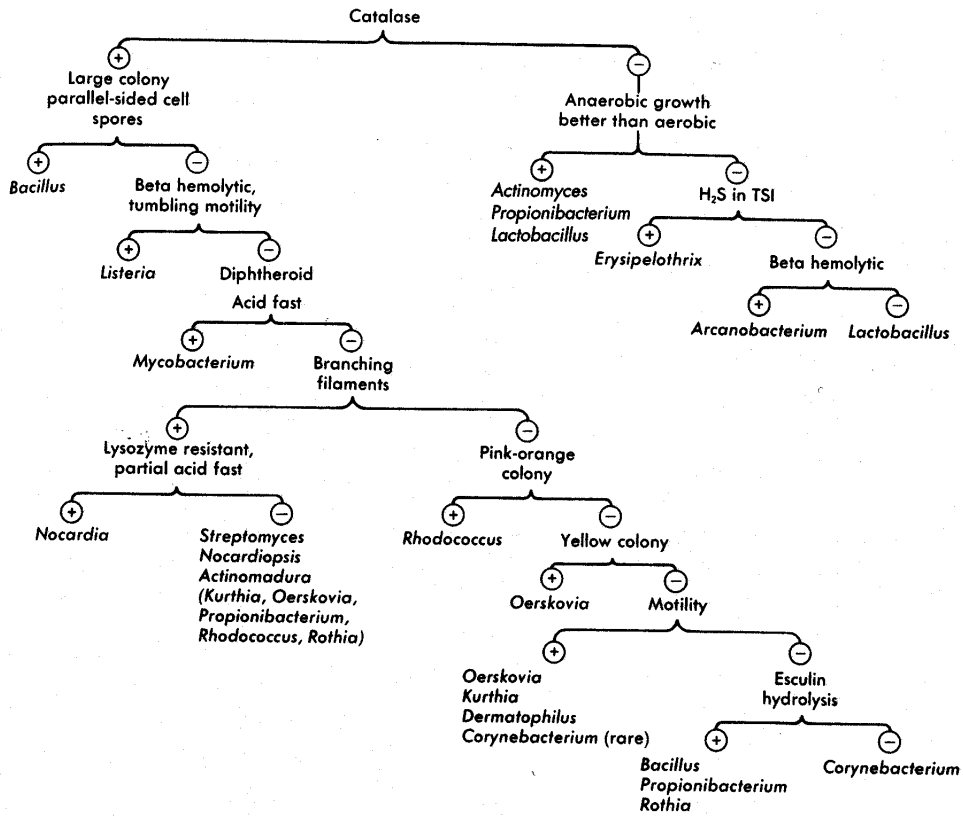


FIGURE 34.1  
Flow chart for preliminary identification of aerobically-growing, gram-positive, non-spore-forming bacilli.

### 3) Antall positive blodkultursett.

Generelt gjelder at jo flere positive sett blodkulturer jo større er sannsynligheten for at funnet representerer en reell bakteriemi. **Ved tilstander hvor potensielle kontaminater er årsak til bakteriemi vil man nesten alltid få oppvekst i flere sett.** For å sikre korrekt etiologisk diagnose er det derfor meget viktig at det tas flere sett blodkulturer. Merk at det kan være vanskelig å få flere sett fra små barn og i enkelte andre kliniske situasjoner.

Funn av viridans streptokokker oppfattes ofte som kontaminanter, de passerer over i blodbanen og gir kortvarig bakteriemi etter manipulering av slimhinne (særlig i munnhulen) og kan da lett påvises i blodkultur. Ved endokarditt vil > 90% av pasientene ha flere positive blodkulturer (dersom de ikke nylig har fått antibiotika) og sannsynligheten for at funnet er reelt øker fra 10-15% ved en enkelt positiv flaske til 40-80% ved gjentatte funn.

*Hvor ofte er blodkulturer falskt positive?*

Mellom 1 og 4,5% av blodkulturer er falskt positive (antakelig atskillig høyere hos nyfødte). Ved funn av *Staph. epidermidis* og andre koagulase-negative (hvite) stafylokokker utgjør hele 94% forurensning. Tilsvarende tall for difteroider er 92% og for *Bacillus* 94%. Se nedenfor om positiv og negativ prediktiv verdi. Omvendt representerer funn av pneumokokker,  $\beta$ -hemolytiske streptokokker, *H. influenzae*, enterobakterier, *S. aureus* og sopp alltid eller nesten alltid sann bakteriemi eller fungemi.

Vær oppmerksom på at antibiotikabehandling før blodkultur anlegges er en meget viktig kilde til falske negative kulturer.

*Hvor sannsynlig er det at en pasient med negativ blodkultur likevel har bakteriemi?*

Dette problem er ikke enkelt å besvare, men en viss tilnærming kan gjøres. Svaret avhenger av sannsynligheten for at en pasient med tilsvarende symptomer har bakteriemi (før kultur anlegges, pretest sannsynlighet). Ved sensitivitet på 99% (et resultat vår anbefaling tar sikte på å nå) vil sannsynligheten for falskt negativt resultat være 0.3-0.1% når sannsynlighet for bakteriemi er fra 5-22% ved tilsvarende symptomer (Aronson MD & Bor DH 1987, Altman 1991). Ved riktig tatt prøve er det med andre ord meget liten sannsynlighet for falske negative resultater.

Forslag til minimering av arbeid med kontaminanter i blodkulturer (modifisert etter Richter et al 2002).

Basert på antall positive sett og påvist mikrobe anbefaler de følgende flytdiagram for å evaluere betydningen ved funn av potensielle kontaminanter som hvite stafylokokker, aerobe og anaerobe "difteroider", *Bacillus* spp. samt viridans streptokokker.

Alle funn søkes identifisert til genus- eventuelt til speciesnivå (Gram, katalase, oxidase utføres på alle funn) og eventuelle biokjemiske tester. Krav til identifikasjon vil avhenge om mikroben finnes i mer enn ett sett og gitte kliniske opplysninger.

Ved funn av hvite stafylokokker i flere sett vil kolonimorfologi, biokjemi og resistensbestemmelse (ART) relativt pålitelig diskriminere mellom ulike arter. Merk at ved identisk biokjemi og ART er det fortsatt om lag 15% sanns. for at mikrobene likevel er ulike. Hos pasienter med intravasale fremmedlegemer er det ikke uvanlig med til dels betydelig kolonivariasjon (inklusive islett av "small colony variants").

Funn av viridans streptokokker i flere sett skal gi mistanke om endocarditt, mens funn av *S. bovis* type II er assosiert med malign tarmsykdom.

Funn av aerobe og anaerobe Gram-positive staver ("difteroider") representerer en stor utfordring fordi sikker species-diagnose er vanskelig og ofte avgjørende for tolkning av funnets kliniske betydning.

- 1) Funn av potensiell kontaminant (det forutsettes god identifikasjon). Vurder kliniske opplysninger
- 2) Det er tatt flere flasker siste 48 timer og alle sett er negative. Konkluder med sanns. forurensning. Resistensbestemmelse (ART) er ikke nødvendig. Dersom det ikke er tatt flere sett må man vurdere å anbefale ytterligere kulturer ut fra kliniske opplysninger.
- 3) Det er tatt flere flasker siste 48 timer og ett eller flere sett er positive. Dersom nytt funn av potensiell kontaminant er forskjellig fra første funn er det rimelig å konkludere med at begge (alle) funn er forurensning. ART utføres vanligvis ikke, men kan utføres for å sannsynliggjøre forskjell mellom mikrobene.
- 4) Det er tatt flere flasker siste 48 timer og et eller flere sett er positive med samme mikrobe. Dersom det er funnet viridans streptokokker representerer funnet sanns. patogen mikrobe. Funn rapporteres med ART. Dersom det ikke er viridans streptokokker, vurder funnet ut fra kliniske opplysninger. Funnet rapporteres (eventuelt med ART) dersom man vurderer at pasienten har en tilstand som sannsynliggjør at funnet kan være reelt.

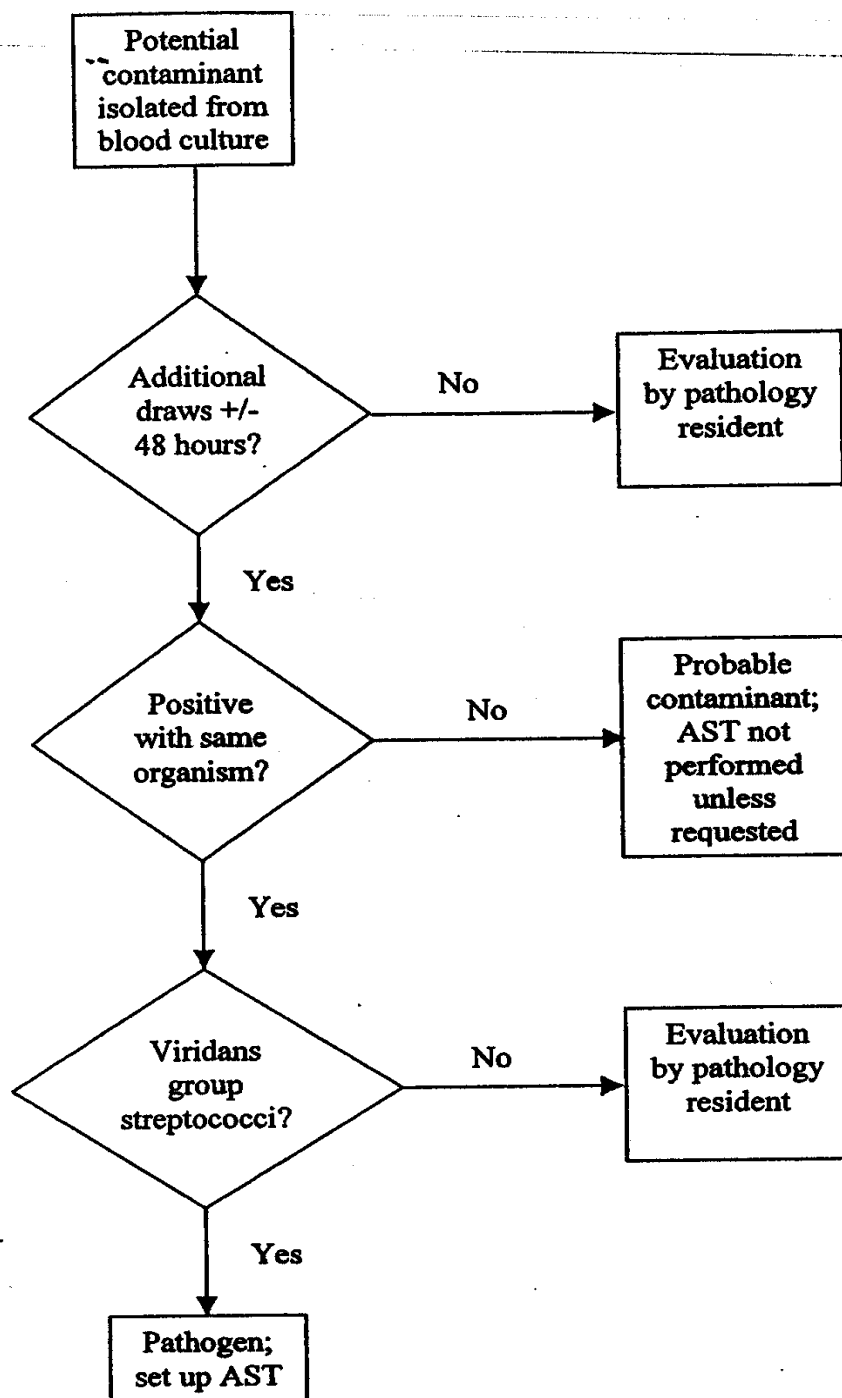


FIG. 1. Overview of the laboratory-based algorithm used in this study.



**Oppsummering:** Krav til identifikasjon av mikrober som kan være kontaminanter avhenger dels av funn (Gram-positive kokker eller Gram-positive staver), dels av antall positive sett blodkulturer og dels av klinisk problemstilling.

**Nyfødte** hvor man bare kan få 1 flaske - Alle funn må vurderes som mulig klinisk signifikante og identifiseres.

Hvite stafylokokker

Identifikasjon med Staph API eller tilsvarende samt resistensbestemmelse.

Gram-positive staver

Identifikasjon ved hjelp av flytdiagram og eventuelle kommersielle testsystem samt resistensbestemmelse. Siden det ikke er etablert brytningspunkt for mange arter, vil MIC-bestemmelse ofte være nødvendig. I enkelte tilfeller vil sikker identifikasjon kreve sekvensering eller lignende genteknologiske metoder.

**Voksne** hvor man (oftest) har oppvekst i flere sett blodkultur. Følg diagram etter Richter (side 49).

1. Funn av potensiell kontaminant (det forutsettes god identifikasjon). Vurder kliniske opplysninger.
2. Det er tatt flere flasker siste 48 timer og alle sett er negative. Konkluder med sanns. forurensning. Resistensbestemmelse (ART) er ikke nødvendig. Dersom det ikke er tatt flere sett må man vurdere å anbefale ytterligere kulturer ut fra kliniske opplysninger.
3. Det er tatt flere flasker siste 48 timer og ett eller flere sett er positive. Dersom nytt funn av potensiell kontaminant er forskjellig fra første funn er det rimelig å konkludere med at begge (alle) funn er forurensning. ART utføres vanligvis ikke, men kan utføres for å sannsynliggjøre forskjell mellom mikrobene.
4. Det er tatt flere flasker siste 48 timer og et eller flere sett er positive med samme mikrobe. Dersom det er funnet viridans streptokokker representerer funnet sanns. patogen mikrobe. Funn rapporteres med ART. Dersom det ikke er viridans streptokokker, vurder funnet ut fra kliniske opplysninger. Funnet rapporteres (eventuelt med ART) dersom man vurderer at pasienten har en tilstand som sannsynliggjør at funnet kan være reelt.

### **Funn av Gram-positive staver.**

Identifikasjon etter algoritme (fra Bailey & Scott eller ASM Manual).

**Bacillus spp.** (fra første flaske/sett). Her må man skille *B. anthracis* fra andre Bacillus-arter. Hemolyse og motilitet. (*B. anthracis* er non-hemolytisk og ubevelig i motsetning til de fleste andre Bacillus-arter.)

**Andre Gram-positive staver** (funn i flere sett). Her må vi sannsynliggjøre genus og art ved nøkkelreaksjoner etter flytdiagram eventuelt kombinert med kommersielle testsystemer.

Gram, katalase, oksydase, vekstmønster (aerob, anaerob, CO<sub>2</sub>, medier etc.)

Biokjemiske tester

Nøkkelreaksjoner etter flytdiagram

Kommersielle kit (svært varierende kvalitet, valg av kit kan avhenge av mistenkt genus)

Noen betraktninger om sensitivitet, spesifisitet samt positiv og negativ prediktiv verdi.

Tolkningen av resultatet av en test er avhengig av forekomst av sykdom i pasientpopulasjonen samt testens sensitivitet og spesifisitet. I tillegg må prøven være tatt fra riktig sted (representativt materiale), til riktig tid, på riktig måte og sendt med optimal transport (preanalytiske forhold).

### **Sensitivitet**

Andel av pasienter med sykdom som testet positivt. Dvs. antall sant positive tester i forhold til alle pasienter med sykdom (sanne positive testresultat + falske negative testresultat)

$(\text{Antall sanne positive}) / (\text{Ant sanne positive} + \text{ant falske negative})$

### **Spesifisitet**

Andel av pasienter uten sykdom som testet negativt, dvs. antall sanne negative testresultat hos pasienter uten sykdom (= sanne negative testresultat + falske positive testresultat)

$(\text{Ant sanne negative}) / (\text{Ant sanne negative} + \text{ant falske positive})$

### **Positiv prediktiv verdi – PPV**

Sannsynlighet for at en pasient med positiv test har sykdom.  $(\text{Ant. sanne pos}) / (\text{Ant. sanne pos} + \text{ant. falske pos})$

### **Negativ prediktiv verdi – NPV**

Sannsynlighet for at en pasient med negativt testresultat ikke har sykdom. Ant sanne negative testresultat i forhold til alle negative test resultat.  $(\text{Ant. sanne neg}) / (\text{Ant. sanne neg} + \text{ant. falske neg})$

Utrekningene baserer seg på Bayes teorem og kan omskrives til en funksjon av prevalens (pretest sannsynlighet) og testens sensitivitet og spesifisitet.

### **PPV og NPV avhenger av forekomst (prevalens) av sykdom**

#### **PPV**

$$\frac{\text{Prevalens} * \text{Sensitivitet}}{(\text{Sensitivitet}) * (\text{Prevalens}) + (1 - \text{Prevalens}) * (1 - \text{Spesifisitet})}$$

#### **NPV**

$$\frac{(1 - \text{Prevalens}) * \text{Spesifisitet}}{(\text{Prevalens}) * (1 - \text{Sensitivitet}) + (1 - \text{Prevalens}) * (\text{Spesifisitet})}$$

Tabell med PPV og NPV for ulike pretest sannsynligheter (prevalens av sykdom) og sensitivitet og spesifisitet på fra 95% til 99%.

Prevalens	Sensitivitet	Spesifisitet	PPV	NPV
0,01	0,95	0,95	0,161	0,999
0,05	0,95	0,95	0,500	0,997
0,1	0,95	0,95	0,679	0,994
0,25	0,95	0,95	0,864	0,983
0,5	0,95	0,95	0,950	0,950
0,01	0,95	0,99	0,490	0,999
0,05	0,95	0,99	0,833	0,997
0,1	0,95	0,99	0,913	0,994
0,25	0,95	0,99	0,969	0,983
0,5	0,95	0,99	0,990	0,952
0,01	0,99	0,95	0,167	1,000
0,05	0,99	0,95	0,510	0,999
0,1	0,99	0,95	0,688	0,999
0,25	0,99	0,95	0,868	0,997
0,5	0,99	0,95	0,952	0,990
0,01	0,99	0,99	0,500	1,000
0,05	0,99	0,99	0,839	0,999
0,1	0,99	0,99	0,917	0,999
0,25	0,99	0,99	0,971	0,997
0,5	0,99	0,99	0,990	0,990

### Litteratur.

1. Altman DG (1991). Practical Statistics for medical research. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton, London, New York, Washington DC, p 413-7.
2. Aronsen MD & Bor DH (1987). Blood cultures. Ann Int Med 106: 246-253.
3. Richter SS, Beekmann SE, Croco JL, Diekema DJ, Koontz FP, Pfaller MA and Doern GV (2002). Minimizing the Workup of Blood Culture Contaminants: Implementation and Evaluation of a Laboratory-Based Algorithm. 40: 2437-44.
4. Steinbakk, Hellum og Fjærli. Blodkulturmetodikk for Ahus 2002.

## Sopp i blodkultur

---

P. Sandven, Avdeling for infeksjoner som smitter via luftveiene, Nasjonalt folkehelseinstitutt, Oslo

I løpet av de senere år har betydningen av gjæringsoppinfeksjoner økt i mange land. Dette har man sett tydeligst i USA der gjæringsopp i de fleste sykehus utgjør nærmere 10% av alle blodkulturisolat og i noen større, spesialiserte sykehus nærmer 15%. I Norge har vi foreløpig ikke sett en tilsvarende økning.

Diagnostikken av alvorlige soppinfeksjoner er vanskelig. God blodkulturteknikk er derfor viktig, men selv om dette utføres på best mulig måte har blodkultur lav sensitivitet og mange pasienter med alvorlig, livstruende soppinfeksjon har negative blodkulturer.

I studier der man har sett på ulike faktorerens betydning for påvisning av mikroorganismer (f.eks. blodvolum, forholdet mellom volumet av blod og buljong) har antall soppisolat vanligvis vært lavt. Det er imidlertid rimelig å anta at de samme faktorer som har betydning for påvisning av bakterier også vil ha betydning når det gjelder sopp. Flere studier har vist at aerob inkubasjon (ventilering av blodkulturflasken) og risting gir økt deteksjon av sopp. Optimal inkubasjonstemperatur kan variere fra en art til en annen. De arter som hyppigst forårsaker alvorlig infeksjon i Norge (ulike gjæringsopparter) vokser imidlertid godt ved 35°C.

*Kan man på klinisk grunnlag forutsi hvilke pasienter som har fungemi?*

Et viktig spørsmål er om det er mulig ut i fra kliniske kriterier å forutsi hvilke pasienter som har en soppinfeksjon. Man kjenner mange ulike risikofaktorer som predisponerer for soppinfeksjon, men disse faktorene er forholdsvis generelle og omfatter en stor gruppe pasienter. Det kliniske bilde er også uspesifikt. I en nylig publisert studie undersøkte man om det var noen forskjell på forekomst av fungemi hos pasienter der kliniker spesifikt har mistenkt soppinfeksjon og andre pasienter (10). Hos 110 pasienter med positiv blodkultur og med klinisk mistenkt fungemi fant man gjæringsopp hos 17% av pasientene. Hos 226 pasienter med positiv blodkultur, men *uten* klinisk mistenkt fungemi fant man gjæringsopp hos 15% av pasientene. I henhold til disse resultatene kan det derfor være vanskelig eller umulig å skille mellom pasienter med bakteriell infeksjon og soppinfeksjon. Skal man ha full nytte av egne soppmedier eller særskilt metodikk for påvisning av sopp bør dette derfor benyttes rutinemessig for alle pasienter.

*Metoder*

I Norge anvender de mikrobiologiske laboratoriene automatiske blodkultursystem (BacT/Alert (Organon Teknika/ bioMérieux), BACTEC(Becton Dickinson), ESP (Trek Diagnostic Systems) og Vital (bioMérieux)). Mest anvendt i Norge er BacT/Alert og BACTEC. Vital benyttes av et mindre antall laboratorier. Disse helautomatiske systemene er svært arbeidsbesparende sammenlignet med tidligere manuelle system. Det vil derfor kreves god dokumentasjon for nytte av ikke-automatiske system for påvisning av sopp for å ta dette i bruk. Når det gjelder påvisning av sopp har det imidlertid vært to manuelle systemer (Isolator og bifasiske medier) som har vært fremhevet.

### Sammenligning mellom manuelle og automatiske blodkultursystemer

Manuelle blodkultursystem har vært sammenlignet med helautomatiske blodkultursystem i en rekke studier. I tabellen nedenfor er resultat fra en del studier sammenfattet når det gjelder påvisning av sopp. Tabellen gir en forholdsvis ”grov” oversikt (tallene angir antall positive gjæringsoppkulturer av totalt antall gjæringsopp påvist). For en mer detaljert sammenligning henvises det til originalartiklene.

Ref	År	Sopp	BacT/Alert	Bactec	Esp	Isolator	Septi-Chek
(9)	1995	Candida spp	15/22			22/22	
		Histoplasma	0/64			64/64	
		C. neoformans	7/11			10/11	
(3)	1996	Candida spp			40/72	61/72	44/72
(11)*	1996	Candida spp		NR6A: 25/34		31/34	
(20)	2001	Candida spp		Myco/F Lytic: 14/26 Plus Aerobic F: 15/26		18/26	
		Histoplasma		0/2		2/2	
(4)	1998	Candida spp		NR6A: 16/18		12/18	
(2)	1986	Gjæringsopp		Resin: 19/29		25/29	
(13)	1995	Gjæringsopp		Plus Aerobic F: 90/112		93/112	
(22)	1993	Gjæringsopp		Plus 26: 39/57		47/57	
		Histoplasma		Plus 26: 1/26		26/26	
		Gjæringsopp		Fungal medium: 58/64		48/64	
		Histoplasma		Fungal medium: 0/25		25/25	
(7)	1996	Gjæringsopp	47/71			61/71	
<b>SUM</b>		Gjæringsopp	69/104 (66%)	273/366 (75%)	40/72 (56%)	428/516 (83%)	44/72 (61%)
		Histoplasma	0/64 (0%)	1/53 (1,9%)		117/117 (100%)	

\* Undersøkelse på barn: Isolator 1.5 (blodvolum 1-1.5 ml) og Bactec NR6a (blodvolum 1-5 ml)

Isolator kommer ofte noe bedre ut enn automatiske blodkultursystem når det gjelder påvisning av sopp og *er klart best når det gjelder påvisning av Histoplasma*. Trolig er Isolator også noe bedre når det gjelder Candida artene, men i flere studier er forskjellen ikke statistisk signifikant.

Det blir ofte påpekt at forurensning er et stort problem ved bruk av Isolator (3, 4). Cregor et al. (4) fant f.eks. at hele 41 (62%) av 66 blodkulturer som var positive mhp sopp ved bruk av Isolator representerte en forurensing!. Dette må selvsagt også tas med i betraktningen ved valg av blodkultursystem.

*Er bruk av eget blodkulturmedium for sopp nødvendig?*

Becton Dickinson er den eneste produsenten som har utviklet et eget soppmedium. Et medium ble laget for bruk med de tidligere versjonene av Bactec systemet (Fungal medium). Senere er mediet modifisert for bruk med siste generasjons maskiner (Mycosis IC/F). Dette siste mediet markedsføres ikke i USA. Fungal mediet har vært evaluert i noen få studier (se tabell nedenfor), men det foreligger ingen gode studier med Mycosis IC/F mediet.

Mycosis IC/F ble anvendt rutinemessig ved Det Norske Radiumhospital i perioden 1998 til oktober 2001. Den diagnostiske nytten var imidlertid svært begrenset og fra høsten 2001 ble soppflasken derfor erstattet med en aerob flaske.

*Sammenligning mellom ulike automatiske blodkultursystem vedr påvisning av sopp*

De automatiske blodkultursystemene anvender ulike deteksjonsprinsipp og medier. I tabellen nedenfor er vist resultat av noen sammenlignende undersøkelser.

Ref	År	Sopp	ESP 80A	Bact/Alert					BACTEC				Vital Aer	
				Standard Anaer	Standard Aer	FAN Aer	FAN Anaer	FAN (Aer + An)	Plus F (Aer+AN)	Fungal	Plus Aerobic F Aer			
(5)	1998	Gjærsopp	30/42 (71)*			32/42 (76)								
(25)	1998	Candida spp						21/25 (84)	20/25 (80)					
(10)	2001	Gjærsopp				59/86 (67)				74/86 (86)				
(22)	1993	Gjærsopp								56/66 (85)		41/66 (62)		
(21)	1995	Gjærsopp			27/47 (57)	41/47 (87)								
(24)&	1997	Gjær+mugg									50/55 (91)		39/55 (71)	
(23)	1999	Gjærsopp										71/75 (95)	38/75 (51)	
(18)	2000	Gjærsopp				7/7 (100)								2/7 (29)
(8)	1997	Gjærsopp				71/92 (77)						65/92 (71)		
		Histoplasma				0/10 (0)						10/10 (100)		
(12)	1995	Candida spp				50/69 (72)						51/69 (74)		
		C. neoformans				44/61 (72)						47/61 (77)		
SUM		Gjærsopp	30/42 (71%)		27/47 (57%)	304/404 (75%)		21/25 (84%)	20/25 (80%)	130/152 (86%)	213/277 (77%)	112/141 (79%)	79/137 (58%)	
			30/42 (71%)		352/476 (74%)					475/595 (80%)			79/137 (58%)	

\* Antall påvist/antall påvist totalt (%)

& Undersøkelse på barn

Forskjellen mellom de ulike system/medier ser ut til å være forholdsvis liten. Det eneste mulige unntaket er for Vital (se nedenfor) som synes å ha en redusert sensitivitet i denne sammenhengen.

*Inkubasjonstid:*

Gjærsopp kan vanligvis påvises etter 2-3 dagers inkubasjon mens det kan ta 3-6 uker før det kommer oppvekst av f.eks. dimorfe sopper. I en studie med BACTEC 9240 systemet og Plus Aerobic F flaskene ble deteksjonstiden for ulike mikroorganismer bestemt (7 døgns protokoll) (14). For 88 gjærsoppisolat var deteksjonstiden: 1 døgn – 21%, 2 døgn – 61%, 3 døgn – 85%, 4 døgn – 89%, 5 døgn – 94%, 6 døgn – 97%, 7 døgn – 100%. I en studie med BacT/alert og FAN aerobe flaske ble tiden for deteksjon av første flaske i et sett registrert (trolig 5 døgns protokoll) (1). For 40 positive blodkultursett med gjærsopp var deteksjonstiden: 1 døgn – 23%, 2 døgn – 88%, 3 døgn – 98%, 5 døgn – 100%. *Terminal subkultur* Det er selvsagt en forutsetning for bruk av helautomatiske blodkultursystem at deteksjonssystemet er så godt at vekst av alle ulike typer mikroorganismer i buljongen oppdages. Dette kan kontrolleres ved å utføre ”blind” subkultur av negative flasker ved inkuberings avslutning. I tabellen nedenfor er vist resultater fra en del studier:

Ref	År	System	Totalt antall pos. (bakt + sopp)	Falsk negative kulturer (bare påvist ved blindutsæd)	
				Totalt (bakt + sopp)	Gjærsopp (tot)
				(25)	1998
		BacT/Alert	523	14	2
(24)*	1997	Vital Aer		14	7
		Bactec Peds Plus		0	
(13)	1995	BACTEC	112	12	C. glabrata: 8 C. neoformans: 1
(12)	1995	BACTEC		6	C.albicans: 1 C. neoformans: 1
		BacT/Alert (FAN)		3	C.albicans: 2 C. neoformans: 2
(19)	1995	ESP 384		16	C. albicans: 1 C. neoformans: 8
(6)	2002	Vital		51	Tot: 30, Aer: 13, Anaer: 30. Kun 41% av gjærisolat påvist av maskinen.
(23)*	1999	Bactec Aer		17	5 (av totalt 31 positive (16%))
		Vital Aer		57	22 (av totalt 31 positive (71%)) C. albicans: 12 C. glabrata: 10 C. tropicalis: 8 C. parapsilosis: 1
(19)	1995	BACTEC	853	17	7 tot C. albicans: 1 C. neoformans: 3 Andre: 3

Ingen av systemene ser ut til å detektere alle flasker med vekst av mikroorganismer og det kan se ut til at det er vanskeligere å oppdage vekst av gjærsopp enn av bakterier. Mest uttalt er dette når det gjelder Vital.

#### Undersøkelserutiner ved funn av sopp i blodkultur

Gjærsopp isolert fra blodkultur bør identifiseres til artsnivå. Dette er viktig fordi de ulike species som isoleres fra blodkultur har et relativt forutsigbart resistensmønster overfor antimykotika:

##### **Amfotericin B:**

De aller fleste isolat er følsomme

##### **Fluconazol:**

*C. albicans*: Følsom

*C. glabrata*: Nedsatt følsomhet

*C. krusei* og *C. norvegensis*: Resistent

De fleste andre Candida arter: Følsom

##### **Flucytosin:**

Brukes svært lite og bare i kombinasjon med andre antimykotika

De fleste stammer isolert i Norge er følsomme

I tillegg til artsidentifikasjon kan en agar diffusjonstest (Rosco) benyttes som en screening test for å påvise resistens (16). Dersom man finner nedsatt følsomhet bør resultatet kontrolleres med en annen metode. Etest kan også benyttes, men kan av og til være vanskelig å avlese. Det er derfor viktig at metoden er godt innarbeidet før den tas i bruk rutinemessig.



Alle gjærsoppstammer isolert i Norge skal sendes til referanselaboratorium for oppbevaring i stammebank. En slik innsamling har pågått i Norge siden 1991 og har gitt verdifull informasjon vedr. epidemiologi og resistensforhold (15).

### Referanser:

1. **Bourbeau, P. P. and J. K. Pohlman.** 2001. Three days of incubation may be sufficient for routine blood cultures with BacT/Alert FAN blood culture bottles. *J.Clin.Microbiol.* **39**:2079-2082.
2. **Brannon, P. and T. E. Kiehn.** 1986. Clinical comparison of lysis-centrifugation and radiometric resin systems for blood culture. *J.Clin.Microbiol.* **24**:886-887.
3. **Cockerill, F. R., III, C. A. Torgerson, G. S. Reed, E. A. Vetter, A. L. Weaver, J. C. Dale, G. D. Roberts, N. K. Henry, D. M. Ilstrup, and J. E. Rosenblatt.** 1996. Clinical comparison of difco ESP, Wampole isolator, and Becton Dickinson Septi-Chek aerobic blood culturing systems. *J.Clin.Microbiol.* **34**:20-24.
4. **Creger, R. J., K. E. Weeman, M. R. Jacobs, A. Morrissey, P. Parker, R. M. Fox, and H. M. Lazarus.** 1998. Lack of utility of the lysis-centrifugation blood culture method for detection of fungemia in immunocompromised cancer patients. *J.Clin.Microbiol.* **36**:290-293.
5. **Doern, G. V., A. Barton, and S. Rao.** 1998. Controlled comparative evaluation of BacT/Alert FAN and ESP 80A aerobic media as means for detecting bacteremia and fungemia. *J.Clin.Microbiol.* **36**:2686-2689.
6. **Gimenez, M., C. Prat, X. Valles, L. Matas, J. Arnal, and V. Ausina.** 2002. Evaluation of the VITAL (bioMerieux) automated blood culture system using blind subculture. *Clin.Microbiol.Infect.* **8**:222-228.
7. **Hellinger, W. C., J. J. Cawley, S. Alvarez, S. F. Hogan, W. S. Harnesen, D. M. Ilstrup, and F. R. Cockerill, III.** 1996. Assessment of routine use of an anaerobic bottle in a three-component, high-volume blood culture system. *J.Clin.Microbiol.* **34**:2544-2547.
8. **Jorgensen, J. H., S. Mirrett, L. C. McDonald, P. R. Murray, M. P. Weinstein, J. Fune, C. W. Trippy, M. Masterson, and L. B. Reller.** 1997. Controlled clinical laboratory comparison of BACTEC plus aerobic/F resin medium with BacT/Alert aerobic FAN medium for detection of bacteremia and fungemia. *J.Clin.Microbiol.* **35**:53-58.
9. **Lyon, R. and G. Woods.** 1995. Comparison of the BacT/Alert and Isolator blood culture systems for recovery of fungi. *Am.J.Clin.Pathol.* **103**:660-662.
10. **McDonald, L. C., M. P. Weinstein, J. Fune, S. Mirrett, L. G. Reimer, and L. B. Reller.** 2001. Controlled comparison of BacT/ALERT FAN aerobic medium and BATEC fungal blood culture medium for detection of fungemia. *J.Clin.Microbiol.* **39**:622-624.
11. **Petti, C. A., A. K. Zaidi, S. Mirrett, and L. B. Reller.** 1996. Comparison of Isolator 1.5 and BACTEC NR660 aerobic 6A blood culture systems for detection of fungemia in children. *J.Clin.Microbiol.* **34**:1877-1879.
12. **Pohlman, J. K., B. A. Kirkley, K. A. Easley, B. A. Basille, and J. A. Washington.** 1995. Controlled clinical evaluation of BACTEC Plus Aerobic/F and BacT/Alert Aerobic FAN bottles for detection of bloodstream infections. *J.Clin.Microbiol.* **33**:2856-2858.
13. **Pohlman, J. K., B. A. Kirkley, K. A. Easley, and J. A. Washington.** 1995. Controlled clinical comparison of Isolator and BACTEC 9240 Aerobic/F resin bottle for detection of bloodstream infections. *J.Clin.Microbiol.* **33**:2525-2529.
14. **Reisner, B. S. and G. L. Woods.** 1999. Times to detection of bacteria and yeasts in BACTEC 9240 blood culture bottles. *J.Clin.Microbiol.* **37**:2024-2026.
15. **Sandven, P., L. Bevanger, A. Digranes, P. Gaustad, H. H. Haukland, and M. Steinbakk.** 1998. Constant low rate of fungemia in Norway, 1991 to 1996. *J.Clin.Microbiol.* **36**:3455-3459.
16. **Sandven, P.** 1999. Detection of fluconazole-resistant *Candida* strains by a disc diffusion screening test. *J.Clin.Microbiol.* **37**:3856-3859.

17. **Shigei, J. T., J. A. Shimabukuro, M. T. Pezzlo, L. M. de la Maza, and E. M. Peterson.** 1995. Value of terminal subcultures for blood cultures monitored by BACTEC 9240. *J.Clin.Microbiol.* **33**:1385-1388.
18. **Spanjaard, L., E. J. Kuijper, and J. Dankert.** 2000. Clinical comparison of two commercial blood culture systems. *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* **19**:881-885.
19. **Tinghitella, T. J. and M. D. Lamagdeleine.** 1995. Assessment of Difco ESP 384 blood culture system by terminal subcultures: failure to detect *Cryptococcus neoformans* in clinical specimens. *J.Clin.Microbiol.* **33**:3031-3033.
20. **Vetter, E., C. Torgerson, A. Feuker, J. Hughes, S. Harmsen, C. Schleck, C. Horstmeier, G. Roberts, and F. Cockerill, III.** 2001. Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic bottle to the isolator tube, BACTEC Plus Aerobic F/bottle, and BACTEC Anaerobic Lytic/10 bottle and comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/bottle to the Isolator tube for recovery of bacteria, mycobacteria, and fungi from blood. *J.Clin.Microbiol.* **39**:4380-4386.
21. **Weinstein, M. P., S. Mirrett, L. G. Reimer, M. L. Wilson, S. Smith-Elekes, C. R. Chuard, K. L. Joho, and L. B. Reller.** 1995. Controlled evaluation of BacT/Alert standard aerobic and FAN aerobic blood culture bottles for detection of bacteremia and fungemia. *J.Clin.Microbiol.* **33**:978-981.
22. **Wilson, M. L., T. E. Davis, S. Mirrett, J. Reynolds, D. Fuller, S. D. Allen, K. K. Flint, F. Koontz, and L. B. Reller.** 1993. Controlled comparison of the BACTEC high-blood-volume fungal medium, BACTEC Plus 26 aerobic blood culture bottle, and 10-milliliter isolator blood culture system for detection of fungemia and bacteremia. *J.Clin.Microbiol.* **31**:865-871.
23. **Wilson, M. L., S. Mirrett, L. C. McDonald, M. P. Weinstein, J. Fune, and L. B. Reller.** 1999. Controlled clinical comparison of bioMerieux VITAL and BACTEC NR-660 blood culture systems for detection of bacteremia and fungemia in adults. *J.Clin.Microbiol.* **37**:1709-1713.
24. **Zaidi, A. K., S. Mirrett, J. C. McDonald, E. E. Rubin, L. C. McDonald, M. P. Weinstein, M. Gupta, and L. B. Reller.** 1997. Controlled comparison of bioMerieux VITAL and BACTEC NR-660 systems for detection of bacteremia and fungemia in pediatric patients. *J.Clin.Microbiol.* **35**:2007-2012.
25. **Ziegler, R., I. Johnscher, P. Martus, D. Lenhardt, and H. M. Just.** 1998. Controlled clinical laboratory comparison of two supplemented aerobic and anaerobic media used in automated blood culture systems to detect bloodstream infections. *J.Clin.Microbiol.* **36**:657-661.

## DEL 3 ENDRINGER

---

### Endringer i rapporten

Dato for endring	Side	Fot-note	Ny tekst
21.09.2004	17	1	Anbefalt blodkulturmedier: Aerob blodkulturflaske. Bactec blodkultursystem har i tillegg egne soppmedier. To medier er tilgjengelig (Myco/F Lytic og Mycosis-IC/F). Begge mediene inneholder saponin (lyserer), gjærekstrakt og karbohydrater. Mycosis-IC/F inneholder i tillegg tobramycin og kloramfeniklol. Myco/F Lytic kan være av nytte også for påvisning av bakterier. Soppmediene ser ut til å være klart bedre enn det aerobe mediet for påvisning av <i>Candida glabrata</i> . Deteksjonstiden er også kortere. Disse mediene bør derfor benyttes dersom det foreligger klinisk mistanke om soppinfeksjon.

Begrunnelse for endringen: I henhold til nyere studier med BACTEC blodkultursystem ser det ut til at det aerobe rutinemedier som benyttes i Norge (Plus Aerobic/F) gir dårligere vekst av *Candida glabrata* (lenge deteksjonstid og færre isolat) enn soppmediene (Mycosis-IC/F og Myco/F Lytic).

#### Referanser:

1. Horvath, L. L., B. J. George, C. K. Murray, L. S. Harrison, and D. R. Hospenthal. 2004. Direct comparison of the BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D automated blood culture systems for candida growth detection. *J.Clin.Microbiol.* 42:115-118.
2. Horvath, L. L., D. R. Hospenthal, C. K. Murray, and D. P. Dooley. 2003. Detection of simulated candidemia by the BACTEC 9240 system with plus aerobic/F and anaerobic/F blood culture bottles. *J.Clin.Microbiol.* 41:4714-4717.
3. Meyer, M. H., V. Letscher-Bru, B. Jaulhac, J. Waller, and E. Candolfi. 2004. Comparison of Mycosis IC/F and plus Aerobic/F media for diagnosis of fungemia by the bactec 9240 system. *J.Clin.Microbiol.* 42:773-777.
4. Vetter, E., C. Torgerson, A. Feuker, J. Hughes, S. Harmsen, C. Schleck, C. Horstmeier, G. Roberts, and F. Cockerill, III. 2001. Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic bottle to the isolator tube, BACTEC Plus Aerobic F/bottle, and BACTEC Anaerobic Lytic/10 bottle and comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/bottle to the Isolator tube for recovery of bacteria, mycobacteria, and fungi from blood. *J.Clin.Microbiol.* 39:4380-4386.
5. Fuller, D. D., T. E. Davis, Jr., G. A. Denys, and M. K. York. 2001. Evaluation of BACTEC MYCO/F Lytic medium for recovery of mycobacteria, fungi, and bacteria from blood. *J.Clin.Microbiol.* 39:2933-2936.