

# Rekommenderade metoder

## Diagnostik av infektioner i blod orsakade av bakterier och svamp

Version 2.0 februari 2024



För Föreningen i Klinisk Mikrobiologi

Claes Henning, Sundsvall

Bodil Jönsson, Göteborg

Tor Monsen, Umeå

Karin Wallgren, Stockholm

Anna Åkerlund, Linköping

Volkan Özenci, Stockholm

Martin Sundqvist, Örebro

## Bakgrund

Föreningen för Klinisk Mikrobiologi (FKM) har sedan 1990-talet arbetat med att ta fram referensmetodik i Klinisk Mikrobiologi (Gula Böckerna, senare även tillgängligt i Wiki-format). Tidigare gjordes detta i samarbete med Folkhälsomyndighetens föregångare (Statens Bakteriologiska Laboratorium och Smittskyddsinstitutet). Referensmetodiken var som namnet antyder en referens för de mikrobiologiska laboratorerna i en tid då många laboratorier ackrediterades. Referensmetodiken har sedan dess varit den referens som funnits tillgänglig för svensk mikrobiologi och granskande organisationer.

Sedan 2013 så pågår ett arbete med att modernisera Referensmetodiken och vid FKMs årsmöte har, baserat på nya behov inom Klinisk Mikrobiologi, beslutats om en förändrad inriktning. Det nya formatet går under namnet ”Föreningen för Klinisk Mikrobiologis rekommenderade metoder” och fokuserar på preanalys, analys och postanalys, och ska vara ett stöd vid val av metodik, diskussioner kring arbetsflöde och tvärprofessionella diskussioner kring mikrobiologisk diagnostik.

Rekommendationerna är baserade på internationella riktlinjer och vid skrivandet tillgänglig relevant vetenskaplig litteratur. Där det finns dåligt vetenskapligt stöd har arbetsgruppen antingen avstått från en rekommendation eller givit en rekommendation baserat på de ingående medlemmarnas erfarenheter och kunskaper. I dessa fall vill gruppen uppmuntra kliniska mikrobiologer till att aktivt delta i eller driva forskning för att öka på det samlade vetenskapliga underlaget.

Helt nya delar av ”Rekommenderade metoder” läggs ut för konsultation på [www.mikrobiologi.net](http://www.mikrobiologi.net) under en månad varefter arbetsgruppen diskuterar inkomna förslag till ändringar och sedan fastställer den slutliga rekommendationen. Revisioner läggs vanligen inte ut på remiss. Den första delen om infektioner i blodbanan färdigställdes mars 2022 och detta är den första revisionen, publicerad februari 2024. Som huvudredaktör vill jag rikta ett stort tack till hela arbetsgruppen och särskilt till Anna Åkerlund för det jobb som lagts ned på att uppdatera rekommendationen.

Martin Sundqvist, Huvudredaktör, Örebro, februari 2024

## Versionshistorik

Version 1.0	December 2021	Nytt dokument utarbetat som gick på remiss
Version 1.1	Mars 2022	Publicering av den första versionen efter remisskommentarer
Version 2.0	Februari 2024	<ul style="list-style-type: none"><li>• Större revidering av avsnittet rörande blododling av barn (1.1.5 Provtagning vid blododling av barn), ffa gällande volyms-rekommendationerna. Utfört i samråd med pediatrik expertis.</li><li>• Mindre revidering av:<ul style="list-style-type: none"><li>• rekommendationen kring resistensbestämning från fynd i odling från kontinuerlig infart</li><li>• blododling från kontinuerlig infart utgör, i förekommande fall, komplement till perifert tagen blododling</li><li>• föreslagen kvalitetsindikator för kontamination</li></ul></li><li>• Uppdelning av referenser till respektive stycke</li></ul>

## Allmänt

I detta dokument beskrivs rekommenderade metoder för blododling inkluderat fungemi (svampinfektion i blod) samt metodik för diagnostik av endokardit och misstanke om infektion relaterad till kärllkatetrar. Rekommendationerna är baserade på internationella riktlinjer och relevant vetenskaplig litteratur. Där det finns icke tillräcklig vetenskapligt stöd har arbetsgruppen antingen avstått från en rekommendation eller givit en rekommendation baserad på de ingående medlemmarnas erfarenhet och kunnande.

### **Huvudbudskap i rekommendationerna om blododling**

- Blododling ska alltid tas innan insättande av intravenös antibiotikaterapi.
- För bästa möjliga prestanda krävs sammanlagt 40-60 mL blod hos vuxen.
- Alla flaskor i en blododlingsomgång fylls vid samma tidpunkt från samma perifera stick.
- Noggrann desinfektion och avskiljande av första portionen blod minskar risken för kontamination av blododlingen.
- För bibehållen odlingssensitivitet samt förbättrat utfall för patienten bör korta ledtider eftersträvas i alla led:
  - Tid från provtagning till inkubation.
  - Tid från odlings-positivitet till omhändertagande av positiv odling.
  - Tid från omhändertagande av positiv odling till remissvar (innehållande gramfärg och/eller art- och resistensbestämning).

# Innehållsförteckning

<b>Rekommenderade metoder</b> .....	1
<b>Diagnostik av infektioner i blod orsakade av bakterier och svamp</b> .....	1
Bakgrund .....	2
Versionshistorik.....	3
Allmänt .....	4
Innehållsförteckning.....	5
Definitioner .....	8
1. BLODODLING .....	9
1.1 PREANALYS .....	9
1.1.1 Indikation .....	9
1.1.2 Remissuppgifter .....	10
1.1.3 Provtagning .....	10
1.1.3.1 Provmaterial .....	10
1.1.3.2 Inför provtagning.....	10
1.1.3.3 Blododlingsflaskor .....	11
1.1.3.4 Provtagningslokal .....	11
1.1.3.5 Desinfektion .....	11
1.1.3.6 Blodvolym och turordning, vuxna .....	12
1.1.4 Transport efter provtagning.....	12
Referenser Preamalys:.....	12
1.1.5 Provtagning vid blododling av barn .....	16
Referenser Provtagning vid blododling av barn:.....	17
1.2 ANALYS .....	19
1.2.1 Remissregistrering.....	19
1.2.2 Blododlingssystem.....	19
1.2.3 Inkubationstid .....	19
1.2.4 Tid till omhändertagande av positiv flaska .....	20
1.2.5 Omhändertagande av positiv flaska.....	20
1.2.5.1 Snabb artbestämning .....	21
1.2.5.2 Direkt resistensbestämning.....	22
1.2.5.3 Utodling.....	22
1.2.5.4 Hjälpmetoder för artbestämning .....	23
1.2.5.5 Larm om växt, positiv direktmikroskopi men utebliven växt efter vidare odling .....	24
1.2.5.6 Larm om växt men negativ i direktmikroskopi.....	25
1.2.5.7 Artbestämning.....	25

1.2.5.8 Resistensbestämning.....	25
1.2.5.9 Polymikrobiell blododling.....	26
Referenser Analys.....	26
1.3 POSTANALYS.....	29
1.3.1 Preliminärsvår .....	29
1.3.2 Slutsvår .....	31
Referenser Postanalys:.....	31
1.4. ÖVRIGA ASPEKTER PÅ BLODODLING.....	33
1.4.1 Särskilda aspekter avseende diagnostik av fungemi.....	33
1.4.2 Anmälningsplikt och insamling för nationell mikrobiell övervakning.....	34
1.4.3 Frysning av stammar .....	34
Referenser Övriga aspekter på blododling.....	35
2 SPECIALAVSNITT .....	37
2.1 DIAGNOSTIK VID MISSTÄNKT KATETERRELATERAD INFEKTION I BLODBANAN (CRBSI) .....	37
2.1.2 Metoder .....	38
2.1.2.1 Metoder för extraherad kateter.....	38
2.1.2.2 Metod vid kvarvarande kateter.....	38
2.1.2.3 Odling av implanterad venös kateter .....	40
Referenser Diagnostik vid misstänkt kateterrelaterad infektion i blodbanan:.....	40
2.2 DIAGNOSTIK AV INFEKTIÖS ENDOKARDIT (IE).....	44
2.2.1 Art- och resistensbestämning vid infektiös endokardit .....	44
2.2.2 Blododlingsnegativ infektiös endokardit.....	45
2.2.3 Mikrobiologisk diagnostik av biologisk hjärtklaff.....	45
2.2.4 Histopatologi .....	45
2.2.5 Mikrobiologisk diagnostik av kablar och icke-biologisk hjärtklaff.....	46
Referenser Diagnostik av infektiös endokardit:.....	46
3 Förtydliganden och kommentarer .....	49
3.1 BLODODLING .....	49
3.1.1 Desinfektion .....	49
3.1.2 Avskiljning av första portionen blod .....	50
3.1.3 Blodvolym.....	50
3.1.4 Blododlingsflaskor .....	50
3.1.5 Transport efter provtagning.....	51
3.1.7 Tid till omhändertagande av positiv flaska .....	52
Referenser Förtydliganden och kommentarer – Blododling:.....	52
3.2 FUNGEMI.....	55

Referenser Förtydliganden och kommentarer – Fungemi:.....	55
3.3 DIREKTPÅVISNING AV BAKTERIER OCH JÄSTSVAMP I BLOD .....	57
Referenser Direktpåvisning av bakterier och jästsvamp i blod:.....	57

## Definitioner

**Bakteremi** = Bakterier i blodbanan

**Blododling** = Minst 2 flaskpar. För små barn = 1 Pediatrik blododlingsflaska (PEDs).

**BSI** = Bloodstream infection (Infektion i blodbanan)

**Central venös infart (CVI)** = Ett begrepp som innefattar tunnelerad och icke-tunnelerad central venkateter (CVK), central dialyskateter (CDK), subkutan venport, midline kateter och peripheral inserted central catheter-line ("picc-line").

**CIED** = Cardiovascular Implantable Electronic Device

**CRBSI** = Catheter-related bloodstream infection (Kateterrelaterad infektion i blodbanan)

**dTTP** = differential Time To Positivity, se TTD nedan

**Flaskpar** = 1 aerob + 1 anaerob blododlingsflaska, fyllda med minst 10 mL blod per flaska.

**Fungemi** = Svamp i blodbanan

**HACEK** = *Haemophilus* spp, *Aggregatibacter* spp, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*. Grupp av bakteriearter associerade med infektiös endokardit.

**MALDI-TOF** = Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time Of Flight Mass Spectrometry

**Parad blododling** = Blododling där de tillhörande flaskparen tas vid samma odlingstillfälle men från olika provtagningslokaler; oftast flaskpar från centralvenös infart parat med flaskpar från perifert stick.

**Perifer infart** = Perifer venkateter (PVK)

**Sepsis** = Livshotande organdysfunktion, orsakat av ett stort systemiskt svar på infektion.

**TTD** = Time to Detection, Tid från inkubation i blododlingsskåp till positiv signal.



# 1. BLODODLING

## 1.1 PREANALYS

### Huvudbudskap preanalys

- Blododling ska alltid tas innan insättande av intravenös antibiotikaterapi.
- För bästa möjliga prestanda krävs sammanlagt 40-60 mL blod hos vuxen.
- Alla flaskor i en blododlingsomgång fylls vid samma tidpunkt från samma perifera stick.
- Noggrann desinfektion samt avskiljning av första portionen blod minskar risken för kontamination.
- Start av inkubation av flaskor bör påbörjas inom 2 h efter provtagning.

#### 1.1.1 Indikation

Blododling bör tas på vida indikationer på patienter med feber/hypotermi och allmänpåverkan samt vid misstanke om allvarlig infektionssjukdom. Blododling ska tas på patienter som avses erhålla behandling med intravenös antibiotika och bör övervägas vid byte av intravenös antibiotikaregim. Blododling kan även vara aktuell som uppföljning vid pågående behandling.

Att blododla efter påbörjad antimikrobiell behandling påverkar sensitiviteten negativt, trots neutraliserande ämnen (t.ex. resiner) i flaskan. Blododling ska därför tas före administrering av antimikrobiell behandling och om detta inte är möjligt, precis före nästa antibiotikados.

Att odla utan misstanke om bakteremi/fungemi rekommenderas inte, då det alltid föreligger risk för kontamination av odlingen som bland annat kan leda till onödig antimikrobiell behandling.

För identifiering av de patienter som har en misstanke om bakterier i blodbanan, såsom vid sepsis, meningit, och endokardit inklusive handläggning/behandling av dessa tillstånd, hänvisas till Infektionsläkarföreningens vårdprogram ([www.infektion.net](http://www.infektion.net)).

### 1.1.2 Remissuppgifter

Vårdgivare och laboratorium bör ha ett system för elektroniska remisser och svar.

Remissuppgifter som bör framgå vid blododling:

- Provtagningslokal: Perifert eller via centralvenös infart. Vid parad blododling ska det tydligt framgå vilka flaskor som är tagna från respektive provtagningslokal (från centralvenös infart respektive perifer ven).
- Förlängd inkubationstid: Anamnes/information som föranleder förlängd inkubation ska framgå. Se ”1.2.3 Inkubationstid”.
- Eventuell klinisk/epidemiologisk misstanke om infektion kopplat till risk för laboratoriesmitta: Provtagaren ska göras medveten om och beredas möjlighet till att meddela laboratoriet om sådan infektionsmisstanke föreligger. Exempel på de vanligast förekommande infektiösa agens tillhörande riskklass 3 som isoleras i blododling i Sverige är: *Brucella* spp, *Francisella tularensis* och *Burkholderia pseudomallei/mallei*.

### 1.1.3 Provtagning

#### 1.1.3.1 Provmaterial

Venöst blod rekommenderas. Odling från artärblod ger inga fördelar framför venöst blod, men kan användas om venöst blod inte kan erhållas.

Postmortal blododling kan vara av värde i utredning av oväntad plötslig död. Prov tas så tidigt som möjligt men senast inom 48 h, om kroppen kylförvarats. Odlingsfynd ska tolkas med försiktighet.

#### 1.1.3.2 Inför provtagning

Före provtagning märks blododlingsflaskorna med etiketter från det elektroniska remisshanteringsystemet inkluderat patientidentitet, tid för provtagning, provtagarens identitet, provtagande enhet och remitterande klinik.

Vissa leverantörer rekommenderar att en markering görs på flaskan (med hjälp av en skala på flaskans etikett) för att säkra att korrekt blodvolym (minst 10 mL) dras från patienten.

#### 1.1.3.3 Blododlingsflaskor

Vid ett blododlingstillfälle tas, hos vuxna, minst två flaskpar med sammanlagt minst 40 mL blod (minst 10 mL/flaska). För provtagning och volymsrekommendation hos barn, se särskilda anvisningar i stycket ”Provtagning vid blododling av barn” (inklusive rekommendation om pediatrika flaskor, avsedda för mindre blodvolym.)

Vid misstanke på svampinfektion kan särskilda odlingsflaskor användas innehållande substrat som befrämjar svamptillväxt och antibiotika som förhindrar samtidig bakterieväxt. De används då som tillägg till den ordinarie blododlingen och är av störst betydelse vid polymikrobiell infektion (se även stycket 1.4.1 ”Särskilda aspekter avseende diagnostik av fungemi”).

#### 1.1.3.4 Provtagningslokal

Prov för blododling tas med ett provtagnings-set från en perifer ven i armbågsvecket, eller annan större perifer ven, efter desinfektion (se nedan). Perifer venkateter (PVK) kan användas för provtagning i samband med att PVK sätts. För tillvägagångssätt hänvisas till Vårdhandbokens kapitel om blododling, venös provtagning (<https://www.vardhandboken.se/>). Arbeta enligt basala hygienrutiner och med säkra arbetsmetoder för att undvika stick- och skärskador.

Prov från centralvenös infart (t.ex. CVK) rekommenderas inte som rutinmässig provtagningslokal. Odling från central infart rekommenderas endast vid frågeställning om kolonisation eller misstanke om kateterrelaterad bakteremi/fungemi och ska då utgöra ett komplement till ordinarie perifer odling. Blododling endast från central infart kan dock vara ett måste om perifer provtagning inte är möjlig. För mer information se stycke 2.1. På barn under neonatalperioden kan spruta och spets användas vid provtagning via navelkateter. Se särskilda anvisningar i stycket ”Provtagning vid blododling av barn”.

#### 1.1.3.5 Desinfektion

Noggrann desinfektion av stickstället är av största vikt för att minska kontamination av blododlingen. För desinfektion vid perifer odling liksom vid odling från central infart, rekommenderar expertgruppen att följa de råd som anges i Vårdhandboken:

<https://www.vardhandboken.se/>

Innan prov tas till odlingsflaskor bör den första portionen blod (vuxna: 3-5 mL; barn: se 1.1.3.7) dras i ett rör, vilket används till kemiska analyser (förutsatt att detta lämpar sig för den kemiska analysen) eller kasseras. Att inte använda första portionen blod till blododling minskar risken för kontamination med hudbakterier, på grund av ursköljningseffekten och rekommenderas vid blododling tagen både perifert via färskt stick eller PVK liksom från central infart (t.ex. CVK).

Vid provtagning från central infart rekommenderas att en något större volym kasseras.

#### 1.1.3.6 Blodvolym och turordning, vuxna

Samtliga odlingsflaskor för blododling fylls i följd från samma venpunkt till minst 10 mL blod/flaska. Undertrycket i flaskorna tillåter större volymer (15-20 mL). Flaskorna fylls i ordningsföljden: 1 aerob, 2 anaerob, 3 aerob, 4 anaerob. Risken att kontaminera odlingen med hudbakterier avtar för varje flaska som fylls i en serie. En tillräckligt stor blodvolym är den viktigaste faktorn för en hög sensitivitet vid blododling. Rekommenderad blododlingsvolym hos vuxna är 40 - 60 mL (dvs. 2-3 flaskpar) vid varje odlingstillfälle.

#### 1.1.4 Transport efter provtagning

Efter provtagning ska transport till blododlingsskåp och start av inkubering av flaskorna ske snarast; helst inom 2 h efter provtagning. Detta innebär att inkubation av blododlingsflaskor ska kunna ske dygnet runt. Vårdgivare som utför blododling behöver säkerställa placering av blododlingsskåp nära verksamheten och optimera transportkedjorna till laboratoriet.

Innan inkubation ska flaskorna förvaras i rumstemperatur.

Vid eventuellt dröjsmål till inkubering, överskridande 12 h, eller vid tecken på misstänkt växt (såsom omslag av flaskbottens sensorfärg, hemolys, gasutveckling eller grumlig buljong) bör utodling ske före påbörjad inkubering. Detta för att minska risken för uteblivet larm om växt i blododlingsskåpet (falskt negativ odling).

#### Referenser Preanalys:

1. Akerlund A, Sundqvist M, Hanberger H, Ahren C, Serrander L, Giske CG. [Response times can be shortened in microbiological diagnosis of sepsis. Better opening hours in laboratories and active advice enables faster therapy]. *Lakartidningen*. 2015;112.
2. Arendrup M, Jensen IP, Justesen T. Diagnosing bacteremia at a Danish hospital using one early large blood volume for culture. *Scand J Infect Dis*. 1996;28(6):609-14.

3. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC, Doern GV. Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol.* 2003;41(7):3119-25.
4. Binkhamis K, Forward K. Effect of the initial specimen diversion technique on blood culture contamination rates. *J Clin Microbiol.* 2014;52(3):980-1.
5. Bouza E, Burillo A, Muñoz P, Guinea J, Marín M, Rodríguez-Créixems M. Mixed bloodstream infections involving bacteria and *Candida* spp. *The Journal of antimicrobial chemotherapy.* 2013;68(8):1881-8.
6. Cascone VJ, Cohen RS, Dodson NP, Cannon CM. Implications of culture collection after the first antimicrobial dose in septic emergency department patients. *Am J Emerg Med.* 2019;37(5):947-51.
7. Cattoir L, Claessens J, Cartuyvels R, Van den Abeele AM. How to achieve accurate blood culture volumes: the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a measuring instrument and educational tool. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology.* 2018;37(9):1621-6.
8. Chen IH, Nicolau DP, Kuti JL. Effect of Clinically Meaningful Antibiotic Concentrations on Recovery of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Anaerobic Blood Culture Bottles with and without Antibiotic Binding Resins. *J Clin Microbiol.* 2019;57(12).
9. Chen IH, Nicolau DP, Kuti JL. Recovery of Gram-Negative Bacteria from Aerobic Blood Culture Bottles Containing Antibiotic Binding Resins after Exposure to beta-Lactam and Fluoroquinolone Concentrations. *J Clin Microbiol.* 2019;57(10).
10. Cheng MP, Stenstrom R, Paquette K, Stabler SN, Akhter M, Davidson AC, et al. Blood Culture Results Before and After Antimicrobial Administration in Patients With Severe Manifestations of Sepsis: A Diagnostic Study. *Ann Intern Med.* 2019;171(8):547-54.
11. Chung Y, Kim IH, Han M, Kim HS, Kim HS, Song W, Kim JS. A comparative evaluation of BACT/ALERT FA PLUS and FN PLUS blood culture bottles and BD BACTEC Plus Aerobic and Anaerobic blood culture bottles for antimicrobial neutralization. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology.* 2019;38(12):2229-33.
12. Collin J. Svårigheter i att detektera *Candida albicans* i blododling vid samtidig bakteriemi. Examensarbete BMA062. Sahlgrenska akademien. 2019.
13. Dawson S. Blood culture contaminants. *J Hosp Infect.* 2014;87(1):1-10.
14. Dwivedi S, Bhalla R, Hoover DR, Weinstein MP. Discarding the initial aliquot of blood does not reduce contamination rates in intravenous-catheter-drawn blood cultures. *J Clin Microbiol.* 2009;47(9):2950-1.
15. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Critical care medicine.* 2021;49(11):e1063-e143.
16. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control.* 2015;43(11):1222-37.
17. Henning C, Aygül N, Dinnétz P, Wallgren K, Özenci V. Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol.* 2019;57(8).
18. Klingspor L, Muhammed SA, Ozenci V. Comparison of the two blood culture systems, Bactec 9240 and BacT/Alert 3D, in the detection of *Candida* spp. and bacteria with

- polymicrobial sepsis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2012;31(11):2983-7.
19. Lalezari A, Cohen MJ, Svinik O, Tel-Zur O, Sinvani S, Al-Dayem YA, et al. A simplified blood culture sampling protocol for reducing contamination and costs: a randomized controlled trial. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(4):470-4.
  20. Lamy B, Dargere S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol*. 2016;7:697.
  21. Lamy B, Roy P, Carret G, Flandrois JP, Delignette-Muller ML. What is the relevance of obtaining multiple blood samples for culture? A comprehensive model to optimize the strategy for diagnosing bacteremia. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2002;35(7):842-50.
  22. Leyssene D, Gardes S, Vilquin P, Flandrois JP, Carret G, Lamy B. Species-driven interpretation guidelines in case of a single-sampling strategy for blood culture. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2011;30(12):1537-41.
  23. Meessen NEL, Jacobs JA. Blood volume in BACTECPLUS/F culture bottles sampled using the direct-draw technique. *Clinical Microbiology and Infection*. 1998;4(8):471-2.
  24. Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B, De Angelis G, D'Inzeo T, Giordano L, et al. In vitro Evaluation of BACT/ALERT(R) VIRTUO(R), BACT/ALERT 3D(R), and BACTEC FX Automated Blood Culture Systems for Detection of Microbial Pathogens Using Simulated Human Blood Samples. *Front Microbiol*. 2019;10:221.
  25. Patton RG, Schmitt T. Innovation for reducing blood culture contamination: initial specimen diversion technique. *J Clin Microbiol*. 2010;48(12):4501-3.
  26. Péan de Ponfilly G, Benmansour H, Manda V, Lecorche E, Mougari F, Munier AL, et al. Impact of 24/7 loading of blood culture bottles in a new automated incubator on the diagnosis of bloodstream infections. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2021;40(12):2639-43.
  27. Pien BC, Mirrett S, Crews BR, Reller LB, Woods CW. Controlled clinical comparison of BacT/ALERT standard aerobic and standard anaerobic blood culture bottles inoculated directly or after transport in sodium polyanethol sulfonate tubes. *J Clin Microbiol*. 2007;45(4):1357-9.
  28. Rand KH, Beal SG, Rivera K, Allen B, Payton T, Lipori GP. Hourly Effect of Pretreatment With IV Antibiotics on Blood Culture Positivity Rate in Emergency Department Patients. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(5):ofz179.
  29. Riedel S. The value of postmortem microbiology cultures. *J Clin Microbiol*. 2014;52(4):1028-33.
  30. Ronnberg C, Mildh M, Ullberg M, Ozenci V. Transport time for blood culture bottles: underlying factors and its consequences. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2013;76(3):286-90.
  31. Roth A, Wiklund AE, Pålsson AS, Melander EZ, Wullt M, Cronqvist J, et al. Reducing blood culture contamination by a simple informational intervention. *J Clin Microbiol*. 2010;48(12):4552-8.
  32. Rupp ME, Cavalieri RJ, Marolf C, Lyden E. Reduction in Blood Culture Contamination Through Use of Initial Specimen Diversion Device. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2017;65(2):201-5.

33. Sautter RL, Bills AR, Lang DL, Ruschell G, Heiter BJ, Bourbeau PP. Effects of delayed-entry conditions on the recovery and detection of microorganisms from BacT/ALERT and BACTEC blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2006;44(4):1245-9.
34. Scheer CS, Fuchs C, Grundling M, Vollmer M, Bast J, Bohnert JA, et al. Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(3):326-31.
35. Silver H SA. A practical and efficacious method for obtaining significant postmortem blood cultures. *American journal of clinical pathology.* 1969;52(4):433-7.
36. Syed S, Liss DT, Costas CO, Atkinson JM. Diversion Principle Reduces Skin Flora Contamination Rates in a Community Hospital. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2020;144(2):215-20.
37. Taniguchi T, Tsuha S, Shiiki S, Narita M. High positivity of blood cultures obtained within two hours after shaking chills. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases.* 2018;76:23-8.
38. Yu D, Larsson A, Parke Å, Unge C, Henning C, Sundén-Cullberg J, et al. Single-Sampling Strategy vs. Multi-Sampling Strategy for Blood Cultures in Sepsis: A Prospective Non-inferiority Study. *Front Microbiol.* 2020;11:1639.
39. Zimmerman FS, Karamah H, Ben-Chetrit E, Zalut T, Assous M, Levin PD. Modification of blood test draw order to reduce blood culture contamination: a randomized clinical trial. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2019.
40. Åkerlund A, Petropoulos A, Malmros K, Tängdén T, Giske CG. Blood culture diagnostics: a Nordic multicentre survey comparison of practices in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(5):731.e1-.e7.

### 1.1.5 Provtagning vid blododling av barn

Vid blododling av barn är den enskilt viktigaste parametern, liksom hos vuxna, att erhålla tillräcklig blodvolym. Optimal provvolym blod är sämre undersökt hos barn jämfört med vuxna. Kliniska studier har visat att en låg nivå av bakterier i blodet är vanligt förekommande även hos små barn. Tas en för liten blodmängd riskerar blododlingen att bli falskt negativ. Kriterier för att räkna ut tillräcklig blodvolym bör baseras på vikt, inte ålder, och relateras till total blodvolym, se tabell 1.

Det finns ett fåtal studier där man undersökt hur stor mängd blod man kan ta från barn/24h (inkluderat all blodprovstagning) utan att det medför risker (ffa anemi). Baserat på dessa studier anger internationella riktlinjer maximalt dragen provvolym till mellan 1-5% av den totala blodvolymen (<10% under en period av 8 veckor). Hos mycket prematura eller sjuka barn återskapas sannolikt inte dragen blodvolym och Hb i samma takt som hos ett i övrigt friskt barn. Dessa barn kan ofta dessutom vara föremål för återkommande blodprovstagning för andra ändamål än odling.

En praktisk avvägning vid blododling är att sikta på en odlad volym till 1% av den totala blodvolymen.

Liksom hos vuxna rekommenderas venös provtagning. Kapillär provtagning rekommenderas ej. Vid liten blodvolym (<5 mL) rekommenderas att prov tas med steril spruta och inokuleras, efter byte till ren kanyl och desinfektion av flaskans membran, till odlingsflaskan.

Vid odling från kärlkateter bör detta om möjligt kombineras med venprov för att utesluta kateterkolonisation. Navelkatetrar ska normalt inte användas för blododling på grund av risk för kontamination men kan vara den enda utvägen om perifer provtagning inte är möjlig. Blod aspireras då med steril spruta och inokuleras på samma sätt som ovan.

För att minska risk för kontamination av blododling kan man hos större barn, liksom vuxna, avskilja den första portionen blod vid provtagning och kassera/använda till kemiska analyser. Som riktmärke kan 2-3 mL avskiljas vid vikt 15-40 kg och 3-5 mL vid vikt >40 kg.

**Tabell 1 Rekommenderad blodvolym för odling, barn**

Vikt (kg)	≤1	2	3	5	10	15	20	25	30	40	50
Rekommenderad (mL)	(0,5-)-1	1-2	2-3	3-5	5-10	10-15	15-20	20-25	25-30	30-35	35-40
Rekommenderad flasktyp* Pf/Ae/An =	Pf	Pf	Pf	Pf	Ae x 1	Ae x 1- 2 alt.	Ae + An	Ae x 1-	Ae x 2	Ae x 2 +	Ae x 2 +



<b>Barnflaska/ Aerob flaska/ Anaerob flaska</b>						Ae + An		2 + An	+ An	An x 2	An x 2
---	--	--	--	--	--	------------	--	-----------	---------	-----------	-----------

\*Observera att barnflaskan (Pf = pediatrik flaska) är en aerob odlingsflaska.

Vid misstanke om växt av anaeroba bakterier bör komplettering med/fördelning i anaerob vuxenflaska övervägas. Exempel på anaeroba infektioner hos barn är bukinfektion, abscesser, Lemierres syndrom, protesendokardit, NEC/misstänkt sepsis hos neonatala barn som erhållit profylaktiskt probiotika, nekrotiserande fasciit/cellulit.

**Tabell 2 Underlag för beräkning av rekommenderad blodvolym (tabell 1)**

<b>Vikt (kg)</b>	<b>≤1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>40</b>	<b>50</b>
<b>Blodvolym (mL/kg)</b>	85-100	85-100	80	80	80	80	80	80	80	80	70
<b>Total blodvolym (mL)</b>	85-100	170-200	240	400	800	1200	1600	2000	2400	3200	3500
<b>1% av total blodvolym (mL)</b>	0,85-1,0	1,7-2,0	2,4	4	8	12	16	20	24	32	35
<b>% av blodvolym (mL)</b>	0,5-1,2	0,5-1,2	0,8-1,25	0,8-1,25	0,6-1,25	0,8-1,25	0,9-1,25	1-1,25	1-1,25	0,9-1,1	1-1,1

- Använd helst speciella barn-/lågvolymflaskor för små blodmängder, då de är anpassade för att upprätthålla en bra blod/medium-ratio. Rekommenderad mängd Bactec 1-3 mL/ BacT/ALERT 0,5-4 mL.
- Om barnflaskor inte är tillgängliga används aerob vuxenflaska. Anaerob vuxenflaska bör övervägas vid misstänkt anaerob infektion. Rekommenderad mängd 8-10 mL, minsta mängd 3 mL.
- Det är rekommenderat att hellre inokulera en större volym i en flaska än att dela upp blodet i flera flaskor. Anpassa mängd enligt tillverkare och respektive flasktyp.
- Hos barn med tydligt infektionsfokus är det inte alltid nödvändigt med blododling. Här kan sjukvården i stället vara generös med att ta andra odlingar för att säkra diagnos och få bakterieisolat för resistensbestämning.

**Referenser Provtagning vid blododling av barn:**

1. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB, Jr.,

- et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2013;57(4):e22-e121.
2. Connell TG, Rele M, Cowley D, BATTERY JP, Curtis N. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for culture in routine practice in a children's hospital. *Pediatrics*. 2007;119(5):891-6.
  3. Dien Bard J, McElvania TeKippe E. Diagnosis of Bloodstream Infections in Children. *J Clin Microbiol*. 2016;54(6):1418-24.
  4. Dunne WM, Jr., Tillman J, Havens PL. Assessing the need for anaerobic medium for the recovery of clinically significant blood culture isolates in children. *The Pediatric infectious disease journal*. 1994;13(3):203-6.
  5. Howie SR. Blood sample volumes in child health research: review of safe limits. *Bull World Health Organ*. 2011;89(1):46-53.
  6. Huber S, Hetzer B, Crazzolara R, Orth-Höller D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: a conundrum? *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(2):168-73.
  7. Isaacman DJ, Karasic RB, Reynolds EA, Kost SI. Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. *The Journal of pediatrics*. 1996;128(2):190-5.
  8. Kellogg JA, Ferrentino FL, Goodstein MH, Liss J, Shapiro SL, Bankert DA. Frequency of low level bacteremia in infants from birth to two months of age. *The Pediatric infectious disease journal*. 1997;16(4):381-5.
  9. Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J Clin Microbiol*. 2000;38(6):2181-5.
  10. Lancaster DP, Friedman DF, Chiotos K, Sullivan KV. Blood Volume Required for Detection of Low Levels and Ultralow Levels of Organisms Responsible for Neonatal Bacteremia by Use of Bactec Peds Plus/F, Plus Aerobic/F Medium, and the BD Bactec FX System: an In Vitro Study. *J Clin Microbiol*. 2015;53(11):3609-13.
  11. Läkemedelsverket. Neonatal sepsis – ny behandlingsrekommendation. *Information från Läkemedelsverket* 2013;24:15-25.
  12. Melhus Å. Bakteriologisk diagnostik i neonatalperioden, *Information från Läkemedelsverket* 2013;24:44-8.
  13. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;67(6):813-6.
  14. Noel GJ, Laufer DA, Edelson PJ. Anaerobic bacteremia in a neonatal intensive care unit: an eighteen-year experience. *The Pediatric infectious disease journal*. 1988;7(12):858-62.
  15. Sarkar S, Bhagat I, DeCristofaro JD, Wiswell TE, Spitzer AR. A study of the role of multiple site blood cultures in the evaluation of neonatal sepsis. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2006;26(1):18-22.
  16. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *The Journal of pediatrics*. 1996;129(2):275-8.
  17. Zaidi AK, Knaut AL, Mirrett S, Reller LB. Value of routine anaerobic blood cultures for pediatric patients. *The Journal of pediatrics*. 1995;127(2):263-8.

## 1.2 ANALYS

### Huvudbudskap analys

- Semiautomatiserade blododlingssystem ska användas.
- 5 dagars inkubationstid är tillräcklig i normalfallet.
- Förlängd odling (10 dagar) rekommenderas vid misstanke om protesendokardit, CIED-infektion, kärldgraftsinfektion, tularemi, brucellos och fungemi.
- Snabbt omhändertagande av positiv flaska (<2 h efter larm om växt) bör eftersträvas.
- Snabb art- och resistensbestämning direkt från positiv flaska rekommenderas starkt.

### 1.2.1 Remissregistrering

Utöver normala rutiner för ankomstregistrering så bör remisstext/beställning granskas för att upptäcka önskemål eller behov av förlängd inkubation liksom risk för laboratoriesmitta, som gör att omhändertagandet av odlingen bör ske med särskild försiktighet. Om möjligt bör uppskattning av den ifyllda blodvolymen göras av laboratoriet och rapporteras/återkopplas till provtagaren med relation till målvolymen.

### 1.2.2 Blododlingssystem

Kommersiella semiautomatiserade blododlingssystem rekommenderas. Dessa system använder buljongflaskor med atmosfäriskt undertryck. Odlings-skåpen ger automatiskt signal vid bakterieväxt. Systemen bör via mellanmjukvara kopplas samman med Laboratoriernas informationssystem (LIS) för att underlätta snabb och säker svarshantering. Sammankoppling med moderna mellanmjukvaror erbjuder placering av externa blododlingsskåp och möjlighet till uppföljning på beställarnivå av blodvolym, ledtider, förekomst av kontaminationer med mera.

### 1.2.3 Inkubationstid

5 dagars inkubationstid är tillräcklig vid de flesta frågeställningarna rörande bakteremi, inklusive endokardit vid nativ klaff. Förlängd inkubation till 10 dagar rekommenderas vid misstanke om protesendokardit, CIED-infektion, kärldgraftsinfektion, fungemi, tularemi och

brucellos. Laboratoriet behöver göra remittenten medveten om och säkerställa rutiner för att dessa indikationer förmedlas och förlängd odling initieras.

#### 1.2.4 Tid till omhändertagande av positiv flaska

En larmad flaska ska omhändertas snarast möjligt, då långa ledtider kan medföra negativa konsekvenser för patienten. Omhändertagande av positiva flaskor kräver mikrobiologisk kompetens och arbetsmiljömässiga förutsättningar (se nedan). Lokala rutiner inom laboratorie- och transportorganisationen för flaskor som signalerat i decentraliserade blododlingsskåp, påverkar således hur snabb den diagnostiska processen kan vara. Expertgruppen uppfattar det som ett rimligt mål att omhänderta en positiv flaska inom 2 h efter larm, men för att tillse att detta kan ske dygnet runt krävs organisatoriska förändringar och resurser, som behöver vägas ihop med behov av andra analyser och ställas i relation till andra behov inom vården.

#### 1.2.5 Omhändertagande av positiv flaska

Omhändertagandet av flaskor ska alltid ske inom skyddsnivå 2 eller högre. Använd alltid handskar och i övrigt arbetskläder och eventuell annan skyddsutrustning enligt lokala hygienrutiner. Med tanke på risk för aerosolbildning vid punktering av positiv blododlingsflaska ska dessa alltid öppnas i mikrobiologisk säkerhetsbänk med HEPA-filtrerad frånluft eller motsvarande inneslutning. Använd säkra arbetsmetoder för att undvika stick- och skärskador.

- Vänd flaskan upp och ner någon gång för att blanda innehållet.
- Desinficera flaskans membran med t.ex. 70 % etanol och låt torka.
- Penetrera membranet med steril kanyl och dra upp blododlingsmedium med steril spruta eller använd annat system tillgängligt på marknaden för att fördela lämplig mängd till avsedda agarplattor (1-3 droppar), objektglas och eventuella snabbanalyser. Observera att övertryck kan vara särskilt betydande om flaskmembranet buktar utåt. Särskilt vid dessa tillfällen hålls med fördel en steril/etanoldränkt bomullstuss över korken i samband med att flaskmembranet penetreras.
- Utför gramfärgning och identifiera färg och morfologi i direktmikroskopi.
- Utför eventuell snabb art- och resistensbestämning.

Observera att punktion av blododlingsflaska, introducerar syre i odlingen. Buljong från anaerob flaska bör därför snarast odlas ut och plattor inkuberas anaerobt för att tillväxten ej ska påverkas.

Vid grundad misstanke om växt av riskklass 3-agens (*Brucella* spp., *Francisella tularensis* och *Burkholderia pseudomallei/mallei*) ska blododlingsflaskor primärt inkuberas i blododlingsskåp vid det lokala laboratoriet. Omhändertagandet av positiv flaska ska ske i mikrobiologisk säkerhetsbänk inom laboratorium med minst skyddsnivå 3 enligt Arbetsmiljöverkets författningssamling AFS 2018:4/2021:1 om smittrisker alternativt skickas till laboratorium med möjlighet för sådan diagnostik. Om mer än en flaska från samma patient signalerar positivt bör en aerob flaska skickas till skyddsnivå 3-laboratorium och övriga flaskor sparas på laboratoriet. Proverna ska då packas och transporteras enligt särskilt regelverk; se ”Packa provet rätt” på [www.folkhalsomyndigheten.se](http://www.folkhalsomyndigheten.se). Vid erhållet negativt svar på analys för riskklass 3-agens på den skickade flaskan kan fortsatt omhändertagande av sparade flaskor ske vid det lokala laboratoriet.

Relativt ofta uppkommer en svag misstanke om växt av ovanstående agens p.g.a. av larm i enbart aerob odlingsflaska med larmtid överstigande 48 timmar. Observera att denna gräns inte är absolut då *B.pseudomallei/mallei* kan larma lika snabbt som Enterobacterales, *Brucella* spp. så tidigt som efter drygt 40 timmar medan *F.tularensis* oftast har en larmtid som väl överstiger 72h) I dessa fall behöver laboratoriet säkerställa rutiner för att, genom kontakt med remitterande och bedömning av anamnestext, säkerställa en rimlig hantering av flaskorna som balanserar det medicinska behovet av snabb diagnostik med risk för exposition av laboratoriepersonal. Om flaskor med låg risk omhändertas i HEPA-filtrerad säkerhetsbänk (klass 1 eller 2) inom skyddsnivå 2 så är erfarenheten att det är mycket liten risk för exposition för laboratoriets medarbetare i de första stegen av identifieringsprocessen (Gramfärgning och ev. Direkt ID).

#### 1.2.5.1 Snabb artbestämning

Snabbanalys för artbestämning rekommenderas direkt på positivt blododlingsmaterial alternativt efter kort inkubation (2-4 h). För snabb artbestämning kan t.ex. MALDI-TOF, multiplex PCR, antigen- och agglutinationstester eller en kombination av dessa användas. Det enskilda laboratoriet bör välja en metod som passar dess logistik.

För mer information se ”Artbestämning från koloni” under rubriken ”2.3.1 Preliminärsvår”.

### 1.2.5.2 Direkt resistensbestämning

Direkt resistensbestämning bör användas för att så snart som möjligt kunna rapportera resultat avseende antibiotikakänslighet, men också för att visualisera blandflora eller resistenta kloner. För direkt resistensbestämning rekommenderas en metod med kort inkubationstid, t.ex. den av EUCAST framtagna lappdiffusionsmetoden ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)) eller en kommersiell metod. Då en snabbmetod inte finns tillgänglig för alla antibiotika/arter eller vid metodologiska svårigheter, blandflora mm, behöver snabbresistensbestämningen ofta kompletteras med en standardiserad resistensbestämning. För mer information se ”Resistensbestämning” under rubriken ”2.3.1 Preliminärsvär”.

### 1.2.5.3 Utodling

Rekommenderad standarduppsättning av odlingsplattor (Tabell 3).

Som standard rekommenderas utodling på hematin- och blodagar eller motsvarande substrat. Vid växt i anaerob flaska sker utodling i tillägg på anaerob blodagar med efterföljande anaerob inkubering. Utodling med primär-, sekundär och tertiärstryk rekommenderas för att möjliggöra framväxt av isolerade kolonier och identifiera eventuell blandflora/olika koloniutseende.

För identifiering av anaerober i en blandflora appliceras antibiotikalappar med gentamicin (30 µg) och metronidazol (5 µg) i primärstryket på den anaeroba blodplattan. (Anaerober är naturligt resistenta mot aminoglykosider och de allra flesta känsliga för metronidazol.) För rekommenderad inkubationstid och miljö, vg se tabell 3.

#### **Tabell 3 Utodling standardmedier, inkubationsmiljö och -tid**

Angivna tider ska ses som längsta inkubationstid om växt dessförinnan ej visualiserats.

Substrat	Inkubationsmiljö och -tid		
	Temperatur	Miljö	Tid
Hematinagar	35-37 °C	5 % CO <sub>2</sub>	2 dygn
Blodagar <sup>1</sup>	35-37 °C	5 % CO <sub>2</sub>	2 dygn
Anaerob blodagar <sup>2</sup>	35-37 °C	Anaerobt	2* dygn

<sup>1</sup>Optochin-lapp appliceras i primärstryket vid misstänkt växt av pneumokock.

<sup>2</sup>Utodling på anaerob blodagar görs vid växt i anaerob blododlingsflaska. Metronidazol- (5 µg) och gentamicinlapp (30 µg) appliceras i primärstryket.

\*Observera att plattan snarast ska reinkuberas anaerobt om ingen växt noteras dag 1.

#### 1.2.5.4 Hjälpmetoder för artbestämning

Som komplement till standarduppsättning vid utodling kan tillägg av olika agarplattor, diagnostiska diskar och antibiotikalappar övervägas för snabbare artidentifiering. Val av hjälpmetod baseras på gramfärgningsresultat, direkt artbestämning och/eller kliniska uppgifter.

För rekommenderad inkubationstid och miljö, vg se tabell 4.

#### Nödvändiga hjälpmetoder

- Optochin-lapp: Appliceras i primärstryket på blodagar eller streptokock-agar vid misstanke om växt av pneumokocker.
- Agarplatta selektiv för svamp: Vid misstanke om fungemi (t.ex. Sabouraud-agar (SAB) och/eller kromogen svampagar).
- Agarplatta selektiv för Campylobacter: Vid misstanke om tarmpatogena Campylobacter (t.ex. charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar (CCDA)).

#### Hjälpmetoder för selektion/identifiering av Gramnegativer

- Agarplatta selektiv för aeroba gramnegativa stavar vid misstänkt blandflora. (T.ex. MacConkey-, Cystine-lactose-electrolyte-deficient- (CLED) eller kromogen agar).
- Agarplatta selektiv för multiresistenta bakterier (t.ex. ESBL/ESBL-carba).
- Blodagarplatta selektiv för anaeroba gramnegativer vid misstänkt blandflora (t.ex. fastidious anaerobe agar (FAA) med neomycin eller vankomycin/nalidixinsyra.)

#### Hjälpmetoder för selektion/identifiering av Grampositiver

- Agarplatta selektiv för streptokocker vid misstänkt blandflora. Visualiserar även hemolys (t.ex. Gentiana-agar).
- Kromogen agar för snabbare identifiering av vissa bakteriearter (t.ex. *S. aureus*).
- Agarplatta selektiv för multiresistenta bakterier (t.ex. MRSA och VRE).
- Agarplatta selektiv för grampositiva bakterier vid misstänkt blandflora (t.ex. Columbia Nalidixic Acid Agar (CNA)).

- Anrikningsbuljong: Vid risk för svag/ingen växt av misstänkta pneumokocker inkuberas 2-5 droppar positiv blododling i anrikningsbuljong över natt, med efterföljande utodling.
- Aztreonamlapp (30 µg) i primärstryk, för selektion av grampositiver i en blandflora.
- Agglutinationsmetoder för identifiering av t.ex. Grupp A, C och G streptokocker, pneumokocker och *S. aureus*.
- Antigentester för identifiering av t.ex. pneumokocker.

**Tabell 4 Utodling hjälpmetoder, inkubationsmiljö och -tid**

Angivna tider ska ses som längsta inkubationstid om växt dessförinnan ej visualiserats.

Substrat	Inkubationsmiljö och -tid		
	Temperatur	Miljö	Tid
Gramnegativt selektiv agar (MacConkey/CLED)	35-37 °C	Luft	1 dygn
Kromogen agar	35-37 °C	Luft	1 dygn
Grampositivt selektiv agar (CNA/Gentiana)	35-37 °C	5% CO <sub>2</sub>	1 dygn
Svampagar (SAB/Kromogen svampagar)	28-30 °C	Luft	2 dygn
Blodagar selektiv för anaeroba gramnegativer <sup>1</sup>	35-37 °C	Anaerobt	2* dygn
Campylobacter-selektiv agar (CCDA)	(37)-42 °C	Mikroaerofilt	2 dygn
Anrikningsbuljong	35-37 °C	Luft	1 dygn

<sup>1</sup>Metronidazol- (5 µg) och gentamicinlapp (30 µg) appliceras i primärstryket.

\*Observera att plattan snarast ska reinkuberas anaerobt om ingen växt noteras dag 1.

#### 1.2.5.5 Larm om växt, positiv direktmikroskopi men utebliven växt efter vidare odling

Detta kan ske t.ex. vid växt av *Abiotrophia/Granulicatella*-arter (vitamin B6-beroende streptokock, tidigare känd som "Nutritionally variant streptococci" (NVS)), *Streptococcus pneumoniae* (p.g.a. autolys) och andra krävande och långsamväxande arter (*Campylobacter*



spp., *Corynebacterium* spp., *Cutibacterium* spp., kapnofila arter, etc.). Om kliniskt motiverat kan olika åtgärder vidtas i försök att få växt. Val av åtgärd görs utifrån gramfärgningsfynd och anamnes:

- Förläng inkubationstiden av plattorna.
- Odlas ut odlingsflaskan igen på mer näringsrika/anpassade odlingsmedier.
- Odlas ut odlingsflaskan igen i annan inkuberingsatmosfär.
- För över 0,5-1 mL material från odlingsflaskan till anrikningsbuljong eller inokulera ursprungsmaterial i ny blododlingsflaska.
- Överväg molekylärbiologisk analys (t.ex. riktad mot 16s rRNA genen) på positivt blododlingsmaterial.

#### 1.2.5.6 Larm om växt men negativ i direktmikroskopi

Falskt larm kan ha många orsaker, exempelvis lågt satt tröskelvärde, för stor blodvolym eller högt antal leukocyter. Värdera i dessa fall alltid tillväxtkurvan från blododlingsinstrumentet. Frånvaro av tydligt exponentiell kurva stärker en eventuell misstanke om falskt larm, särskilt om övriga flaskor förblir negativa eller positiv blododling i närtid saknas.

Förnya gramfärgning med mer material eller komplettera med annan färgningstyp för att påvisa morfologi, t.ex. acridinorange eller metylenblått. Odlas ut enligt standardprotokoll (Tabell 3) och sätt därefter åter in flaskan i inkubatorn enligt leverantörens instruktioner.

Om tillväxtkurvan uppvisar profil som vid växt i flaskan men ingen växt kan detekteras på plattor eller i mikroskopi kan molekylärbiologisk analys (t.ex. riktad mot 16s RNA genen) från positivt blododlingsmaterial övervägas.

#### 1.2.5.7 Artbestämning

Alla fynd som bedöms kliniskt relevanta bör artbestämmas. Om isolatens koloniutseende är samstämmigt i samtliga positiva flaskor kan artbestämning från en flaskas var tillräcklig. Vid växt av KNS i flertalet flaskor bör artbestämning ske som hjälp i bedömningen avseende kontamination. Vid fynd där artbestämning med standardmetod är svår kan bestämning till genusnivå vara tillräcklig. Viridans-streptokocker (alfastreptokocker) besvaras minst med gruppstillhörighet

#### 1.2.5.8 Resistensbestämning

Alla kliniskt relevanta fynd ska resistensbestämmas. För närmare uppgifter gällande miniminivå av resistensbestämning hänvisas till “Minimiurval för resistensbesked” respektive “Minimiurval för resistensövervakning” på RAFs hemsida (Referensgruppen för antibiotikafrågor) <https://www.sls.se/raf/>. I normalfallet görs resistensbestämning från en av fyra flaskor om samtliga flaskors gramfärgning, koloniutseende och ev. artbestämning visar samstämmigt resultat. Om perifer odling är kompletterad med odling från central infart, bör man överväga att utföra resistensbestämning från båda lokalerna.

#### 1.2.5.9 Polymikrobiell blododling

Polymikrobiell blododling i samma flaska kan ibland upptäckas redan vid gramfärgning, men ibland först efter utodling eller direkt resistensbestämning. Om en odlingsflaska innehåller bakterier med olika tillväxthastighet (t.ex. snabbväxande bakterie och jästsvamp och/eller långsamväxande anaerob bakterie) finns risk för att den mer långsamväxande arten inte kommer fram i odlingen. Om klinisk information finns som ger misstanke om t.ex. svampinfektion eller anaerob infektion så bör detta tas i beaktande i samband med utodling av positiv odlingsflaska och selektiva medier användas om möjligt för att gynna detektion av flera arter (se ovan).

Det är viktigt att laboratoriet i t.ex. provtagningsanvisningar och vid undervisning kommunicerar till beställarna att blododling har tydliga begränsningar i detektion av långsamväxande arter och jästsvamp om det samtidigt växer snabbväxande bakterier i odlingen

#### Referenser Analys:

1. Akerlund A, Sundqvist M, Hanberger H, Ahren C, Serrander L, Giske CG. [Response times can be shortened in microbiological diagnosis of sepsis. Better opening hours in laboratories and active advice enables faster therapy]. *Lakartidningen*. 2015;112.
2. Almuhayawi M, Altun O, Abdulmajeed AD, Ullberg M, Ozenci V. The Performance of the Four Anaerobic Blood Culture Bottles BacT/ALERT-FN, -FN Plus, BACTEC-Plus and -Lytic in Detection of Anaerobic Bacteria and Identification by Direct MALDI-TOF MS. *PloS one*. 2015;10(11):e0142398.
3. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Ozenci V. Clinical evaluation of the FilmArray blood culture identification panel in identification of bacteria and yeasts from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol*. 2013;51(12):4130-6.
4. Altun O, Botero-Kleiven S, Carlsson S, Ullberg M, Ozenci V. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by MALDI-TOF MS following short-term incubation on solid media. *J Med Microbiol*. 2015;64(11):1346-52.
5. Arbetsmiljöverket. AFS 2018:4. Smittrisker. Arbetsmiljöverkets föreskrifter och allmänna råd om smittrisker.

6. Arbetsmiljöverket. AFS 2021:1. Smittrisker. Arbetsmiljöverkets föreskrifter om ändring i Arbetsmiljöverkets föreskrifter (AFS 2018:4) och allmänna råd om smittrisker.
7. Banerjee R, Ozenci V, Patel R. Individualized Approaches Are Needed for Optimized Blood Cultures. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2016;63(10):1332-9.
8. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *American journal of clinical pathology*. 2008;130(6):870-6.
9. Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2005;41(11):1677-80.
10. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC, Doern GV. Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol*. 2003;41(7):3119-25.
11. Cornaglia G, Courcol R, Herrmann JL. *European Manual of Clinical Microbiology* 1st ed: European Society for Clinical Microbiology and Infections Diseases (ESCMID), Basel; 2012.
12. Edelmann A, Pietzcker T, Wellinghausen N. Comparison of direct disk diffusion and standard microtitre broth dilution susceptibility testing of blood culture isolates. *J Med Microbiol*. 2007;56(Pt 2):202-7.
13. Ekwall-Larson A, Fröding I, Mert B, Åkerlund A, Özenci V. Analytical Performance and Potential Clinical Utility of EUCAST Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing in Blood Cultures after Four Hours of Incubation. *Microbiol Spectr*. 2023;11(2):e0500122.
14. Folkhälsomyndigheten. Packa provet rätt. 2020. Available from: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/>
3. International Organization for Standardization. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices—Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. 20776-1. 2019.
15. Johnsson ATA, Wong AYW, Özenci V. The impact of delayed analysis of positive blood cultures on the performance of short-term culture followed by MALDI-TOF MS. *J Microbiol Methods*. 2020;177:106027.
16. Jonasson E, Matuschek E, Kahlmeter G. The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2020.
17. Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections - Standard and progress in pathogen diagnostics. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(2):142-50.
4. Leber A. L. (Ed.) *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 4th ed: American Society for Microbiology; 2016.
18. Lin JN, Lai CH, Chen YH, Chang LL, Lu PL, Tsai SS, et al. Characteristics and outcomes of polymicrobial bloodstream infections in the emergency department: A matched case-control study. *Academic emergency medicine* : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine. 2010;17(10):1072-9.
19. Matuschek E, Brown D, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2014 Apr;20(4):O255-66.

20. Pavlaki M, Poulakou G, Drimousis P, Adamis G, Apostolidou E, Gatselis NK, et al. Polymicrobial bloodstream infections: Epidemiology and impact on mortality. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2013;1(4):207-12.
21. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, Carroll KC. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, and *Kingella* organisms: a retrospective multicenter evaluation. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(1):257-9.
22. Public Health England. (2019). Investigation of blood cultures (for organisms other than *Mycobacterium* species). UK Standards for Microbiology Investigations. B 37 Issue 8.2. Available from: <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. London: National Health Service (NHS). p. 1-51.
23. Savage TJ, Rao S, Joerger J, Ozonoff A, McAdam AJ, Sandora TJ. Predictive Value of Direct Disk Diffusion Testing from Positive Blood Cultures in a Children's Hospital and Its Utility in Antimicrobial Stewardship. *J Clin Microbiol*. 2021;59(6).
24. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 12.0 (January 2024). Available at: [www.eucast.org](http://www.eucast.org).
25. World Health Organization. *Laboratory biosafety manual*. Geneva, WHO. 2020. Available from: <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1>.
26. Åkerlund A, Jonasson E, Matuschek E, Serrander L, Sundqvist M, Kahlmeter G. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2020;75(11):3230-8.
27. Åkerlund A, Petropoulos A, Malmros K, Tängdén T, Giske CG. Blood culture diagnostics: a Nordic multicentre survey comparison of practices in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(5):731.e1-.e7.

## 1.3 POSTANALYS

### Huvudbudskap postanalys

- Art/genus eller morfologi preliminärsvaras snarast möjligt efter att flaskan tagits ur inkubatorn.
- Odlingsfyndet ska snarast möjligt muntligt kommuniceras med ansvarig läkare/sjuksköterska. Detta kan frångås om annat tillvägagångssätt kan tillse att patienten är adekvat behandlad.
- Vid påvisad resistens mot pågående behandling ska behandlande läkare uppmärksammas snarast.
- Smittskyddsanmälan ska utföras och ansvarig läkare uppmärksammas i händelse av anmälnings/smittspårningspliktigt fynd.

### 1.3.1 Preliminärsvär

Preliminärsvär lämnas i normalfallet efter gramfärgning. Om snabb artbestämning utförs direkt på positivt blododlingsmaterial, kan preliminärsvär i stället lämnas efter den direkta artbestämningen, förutsatt att svaret inte påtagligt fördröjs av en sådan rutin.

Preliminärsväret bör innehålla följande information:

- Bakterieart/genus, om snabb artidentifiering medger angivande av det.  
Om bakterieart/genus inte kan rapporteras så rapporteras vad som ses i mikroskopin:
  - Grampositiv eller gramnegativ, kock eller stav, eller jästsvamp.
    - Kock i kedjor svaras "Misstänkt enterokock, pneumokock eller streptokock".
    - Kock i hopar svaras "Misstänkt stafylokock".
- Flasktyp (aerob eller anaerob) där växten föreligger kan eventuellt rapporteras, då denna information kan vara viktig innan artbestämningen är utförd.
- Antal flaskor med växt av totalantalet flaskor från samma provomgång kan rapporteras, då denna information har betydelse framför allt vid växt av misstänkt kontamination.

Angivande av tid till detektion (TTD) kan övervägas i vissa situationer, t.ex. vid bedömning av klinisk relevans eller misstänkt kontamination. Vid användning av TTD, som del av denna

bedömning, krävs att de egna arbetsrutinerna är verifierade lokalt och formulerade tillsammans med relevanta kliniker. Hänsyn till faktorer (t.ex. blodvolym, transporttid och antibiotikabehandling) som påverkar TTD ska vara välkända. För mer information och mer noggrann genomgång av begränsningar med metoden, se stycket om ”Kateterrelaterad bakteremi”.

Det är av stor vikt att fynd av positiv blododling kommuniceras så att patientens behandling och fortsatta vård optimeras. Svar förmedlas alltid skriftligt/elektroniskt och i tillägg bör alla nya, kliniskt relevanta fynd snarast möjligt, men senast inom två timmar från att flaskan tagits ur instrumentet, besvaras via telefon till ansvarig sköterska eller läkare på patientens vårdavdelning. Denna rutin kan frångås om det finns ett alternativt tillvägagångssätt som omhändertar att patienten har adekvat behandling.

Om första preliminärsvaret inte innehåller information om bakterieart/genus skickas nytt svar när sådan information finns och om fyndet kräver justering av antibiotikabehandling eller tydligt påverkar handläggningen kommuniceras fyndet även per telefon.

Nytt svar skickas även när svar på resistensbestämning finns. Om det empiriska antibiotikavalet är olämpligt ska det finnas lokala rutiner för att detta snarast meddelas till enheten där patienten vårdas.

Utförda åtgärder dokumenteras i LIS (Laboratorieinformationssystemet); datum, vårdavdelning, vald antibiotikabehandling och mottagare av eventuellt telefonbesked. Om den som muntligt förmedlar svar inte har tillräcklig medicinsk kompetens för att ge behandlingsvägledning så ska det finnas rutiner för att hänvisa t.ex. antibiotikafrågor till klinisk mikrobiolog eller infektionsläkare.

Vid misstänkt förorening kan kommunikation av fynd i blododling skjutas upp enligt lokala rutiner och telefonsvar uteslutas. Detta kan med fördel gälla växt i 1 av 2 eller 1-2 av 4 flaskor (fynd i enskild PED-flaska således undantagen) av följande arter:

- Koagulasnegativa stafylokocker (KNS)
- *Corynebacterium* spp.
- *Cutibacterium* spp.
- *Bacillus* spp.
- *Micrococcus* spp.

Eller följande gramfärgningsresultat:

- Grampositiv kock, misstänkt stafylokok
- Grampositiv stav, misstänkt *Corynebacterium* eller *Cutibacterium*

Undantag: Fynd av ovanstående bakteriearter i enstaka flaska hos vissa patientgrupper kan ha klinisk relevans och kan därför behöva kommuniceras. Här uppmuntras till lokal diskussion så att det finns en samsyn mellan det mikrobiologiska laboratoriet, infektionskliniken och ev. andra relevanta kliniker.

Vid misstanke om provtagningsförorening: Ange i kommentar om fyndet tolkas som misstänkt förorening (se ovan). Förslag på kommentar: ”Misstänkt provtagningsförorening. Kontakta laboratoriet vid önskemål om resistensbestämning”.

Vid fynd av *S. aureus* eller jästsvamp i blododling bör laboratoriet ha utarbetat rutiner tillsammans med infektionskliniken för optimering av patientens utredning och behandling. Även andra fynd bör föranleda särskilt utarbetade rutiner, till exempel vid fynd som inger misstanke om endokardit.

Vid anmälnings- och smittspårningspliktiga sjukdomar ska laboratoriet, i tillägg till egen laboratorieanmälan till SmiNet, lämna skriftlig kommentar på svaret snarast möjligt. Laboratoriet påminner här remitterande läkare om att utan dröjsmål anmäla fyndet till smittskyddsläkaren i det landsting där den anmälade läkaren har sin yrkesverksamhet via SmiNet. Förslag på kommentar: ”Anmälningspliktigt enligt Smittskyddslagen”.

### 1.3.2 Slutsvär

Slutsvär skickas när samtliga odlingsflaskor inom remissen har ett resultat och ev. uppföljande analyser är klara. Om man upptäcker att ett felaktigt svar tidigare rapporterats, och om detta riskerar att få kliniska konsekvenser, ska telefonkontakt med behandlande avdelning alltid tas.

#### Referenser Postanalys:

1. Akerlund A, Sundqvist M, Hanberger H, Ahren C, Serrander L, Giske CG. [Response times can be shortened in microbiological diagnosis of sepsis. Better opening hours in laboratories and active advice enables faster therapy]. *Lakartidningen*. 2015;112.
2. Banerjee R, Ozenci V, Patel R. Individualized Approaches Are Needed for Optimized Blood Cultures. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016;63(10):1332-9.

3. Fang H, Ohlsson AK, Ullberg M, Ozenci V. Evaluation of species-specific PCR, Bruker MS, VITEK MS and the VITEK 2 system for the identification of clinical *Enterococcus* isolates. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2012;31(11):3073-7.
4. Haimi-Cohen Y, Shafinoori S, Tucci V, Rubin LG. Use of incubation time to detection in BACTEC 9240 to distinguish coagulase-negative staphylococcal contamination from infection in pediatric blood cultures. *The Pediatric infectious disease journal*. 2003;22(11):968-74.
5. Humphries RM, Kircher S, Ferrell A, Krause KM, Malherbe R, Hsiung A, Burnham CA. The Continued Value of Disk Diffusion for Assessing Antimicrobial Susceptibility in Clinical Laboratories: Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microbiol*. 2018;56(8).
6. Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Doern GV. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol*. 2003;41(1):495-7.
7. Ozenci V, Tegmark-Wisell K, Lundberg C, Wretling B. Rapid culture and identification: a practical method for early preliminary laboratory diagnosis of sepsis. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(2):177-80.
8. Public Health England. (2019). Investigation of blood cultures (for organisms other than *Mycobacterium* species). UK Standards for Microbiology Investigations. B 37 Issue 8.2. Available from: <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. London: National Health Service (NHS). p. 1-51.
9. Ruus C, Skovbjerg S, Magnusson T, Snygg-Martin U, Studahl M, Andersson L-M. Tidig infektionskonsult gav effect vid *Staphylococcus aureus*-bakteriemi. *Läkartidningen*. 2018;3:88-91.
10. Smittskyddsförordning (2004:255). Stockholm: Socialdepartementet. Hämtad från: <http://rkrattsbaser.gov.se/sfst?bet=2004:255>.
11. Smittskyddslag (2004:168). Stockholm: Socialdepartementet. Hämtad från: <http://rkrattsbaser.gov.se/sfst?bet=2004:168>.
12. Åkerlund A, Petropoulos A, Malmros K, Tängdén T, Giske CG. Blood culture diagnostics: a Nordic multicentre survey comparison of practices in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect*. 2022;28(5):731.e1-.e7.



## 1.4. ÖVRIGA ASPEKTER PÅ BLODODLING

### 1.4.1 Särskilda aspekter avseende diagnostik av fungemi

Blododlingar med svampfrågeställning skall tas vid misstanke om invasiv svampinfektion/fungemi. Prov bör om möjligt tas innan insättning av antifungal behandling (ej profylax). Tillgängliga kommersiella blododlingssystem har likvärdig prestanda för detektion av svamp. Vanliga aeroba och anaeroba blododlingsflaskor används i rutindiagnostiken. Aeroba blododlingsflaskor är generellt sett överlägsna anaeroba flaskor för detektion av jästsvamp. I tillägg finns selektiv svampflaska hos vissa leverantörer. Dessa kan uppvisa fördelar gentemot vanliga blododlingsflaskor vid misstänkt polymikrobiell infektion, då dessa flaskor innehåller antibiotika som hämmar eventuell samtidig bakterieväxt.

Blododlingar med angiven svampfrågeställning ska inkuberas i 10 dagar innan de besvaras med ”Ingen växt”. Laboratoriet bör informera remittenter om vikten av att ange ”misstanke om svampinfektion” på remissen alternativt använda speciell beställning för denna frågeställning.

Vid positiv blododling med fynd av eller frågeställning om svamp, rekommenderas standardutodling med tillägg av SAB- och kromogen svampagar. (Tabell 3)

Alla isolerade svamparter skall identifieras till artnivå. För svåridentifierade isolat i MALDI-TOF kan jäsningsbaserad artbestämning och/eller sekvensering användas.

Resistensbestämning av svamp som växer i blododlingar ska alltid utföras första gången den aktuella arten växer fram. Vid upprepade positiva odlingar utförs resistensbestämning om det är kliniskt motiverat. För resistensbestämning används i första hand buljongspädningsmetod.

Vid växt av *Candida* spp. i blododling är det en överhängande risk att kvarliggande katetrar är koloniserade. Hos en patient med kvarvarande kärlkateter och misstänkt candidemi, bör blododling därför tas både perifert och från katetern. Vid växt i odlingen tagen genom kärlkateter bör man överväga kateterbyte, även om den perifera odlingen förblir negativ.

Icke odlingsbaserade metoder är viktiga komplement i diagnostiken av invasiv svampinfektion/candidemi. Det rekommenderas att man lokalt kompletterar blododlingen med sådana metoder. Nyligen har Referensgruppen för antimykotika (RAM) sammanfattat

dessa metoder i ett dokument: ”Laborierediagnostik och farmakologisk monitorering av invasiva svampinfektioner i Sverige”. Se [https://infektion.net/wp-content/uploads/2023/06/laborierediagnostik\\_farmakologisk\\_monitorering\\_av\\_invasiva\\_sva mpinfektioner\\_i\\_sverige\\_2022.pdf](https://infektion.net/wp-content/uploads/2023/06/laborierediagnostik_farmakologisk_monitorering_av_invasiva_sva mpinfektioner_i_sverige_2022.pdf)

#### 1.4.2 Anmälningsplikt och insamling för nationell mikrobiell övervakning

Vissa invasiva isolat ska anmälas enligt smittskyddslagen. Flera av dessa, samt ytterligare utvalda smittämnen vilka saknar anmälningsplikt, ska skickas till Folkhälsomyndigheten. Utformningen av Folkhälsomyndighetens mikrobiella övervakningsprogram uppdateras årligen. För information om aktuell insamling se <https://www.folkhalsomyndigheten.se/>

#### 1.4.3 Frysning av stammar

Alla blododlingsfynd från ny episod som bedöms kliniskt relevanta, bör sparas frysta i -70°C i minst ett år för eventuell utökad analys, t.ex. ytterligare resistensbestämning, subtypning eller toxintest. Det kan därtill finnas goda skäl att spara alla eller utvalda isolat längre för framtida verifieringar/valideringar på laboratoriet och forskning.

#### 1.4.5 Kvalitetssäkring inklusive kvalitetsindikatorer

Varje laboratorium har enligt lag skyldighet att utföra sin verksamhet med hög kvalitet och ska se till att verksamheten fortlöpande utvecklas och kvalitetssäkras. Ett bra sätt att kvalitetssäkra delar av sin metod är genom deltagande i externa kvalitetssäkringsprogram. Blododlingsdiagnostiken lämpar sig också väl för kvalitetsindikatorer som kan följas över tid. Baserat på de rekommendationer som lämnats i detta dokument lämnar expertgruppen följande förslag på kvalitetsindikatorer:

1. Tid från provtagning till inkubation i blododlingsskåp.
  - a. Måltal >95 % inom 2 h, acceptabel nivå 95 % inom 4 h.
2. Andel aeroba/anaeroba flaskor med  $\geq 8$  mL/flaska eller blododling (4 flaskor) med  $\geq 35$  mL.
  - a. Måltal: >95 % ska uppfylla uppsatta volymsgränser.

3. Andel prover med fynd av koagulasnegativa stafylokocker i  $\leq 2$  flaskor (per fyra flaskor) alternativt som bedömts som provtagningskontamination, (vilket kan inbegripa koagulasnegativa stafylokocker i fler flaskor än ovan angivet alternativt andra bakterie-arter).
  - a. Måltal  $< 3$  %
4. Tid från larm om växt till första preliminärsvär (se kommentar under stycke 1.2.4 "Tid till omhändertagande av positiv flaska", gällande förutsättningar och logistik att väga in i uppfyllelsen av måttalet).
  - a. Måltal 95 % inom 2 h

#### Referenser Övriga aspekter på blododling

För referenser tillhörande rubriken "Särskilda aspekter avseende diagnostik av fungemi", vgs se "3.2 Fungemi"

1. Banerjee R, Ozenci V, Patel R. Individualized Approaches Are Needed for Optimized Blood Cultures. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016;63(10):1332-9.
2. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *American journal of clinical pathology*. 2008;130(6):870-6.
3. Cattoir L, Claessens J, Cartuyvels R, Van den Abeele AM. How to achieve accurate blood culture volumes: the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a measuring instrument and educational tool. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2018;37(9):1621-6.
4. Lamy B, Dargere S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol*. 2016;7:697.
5. Lamy B, Ferroni A, Henning C, Cattoen C, Laudat P. How to: accreditation of blood cultures' proceedings. A clinical microbiology approach for adding value to patient care. *Clinical Microbiology and Infection*. 2018;24(9):956-63.
6. Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA. Bloodstream infections - Standard and progress in pathogen diagnostics. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(2):142-50.
7. Péan de Ponfilly G, Benmansour H, Manda V, Lecorche E, Mougari F, Munier AL, et al. Impact of 24/7 loading of blood culture bottles in a new automated incubator on the diagnosis of bloodstream infections. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2021;40(12):2639-43.
8. Public Health England. (2019). Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species). UK Standards for Microbiology Investigations. B 37 Issue 8.2. Available from: <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. London: National Health Service (NHS). p. 1-51.

9. Sautter RL, Bills AR, Lang DL, Ruschell G, Heiter BJ, Bourbeau PP. Effects of delayed-entry conditions on the recovery and detection of microorganisms from BacT/ALERT and BACTEC blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2006;44(4):1245-9.
10. Venturelli C, Righi E, Borsari L, Aggazzotti G, Busani S, Mussini C, et al. Impact of Pre-Analytical Time on the Recovery of Pathogens from Blood Cultures: Results from a Large Retrospective Survey. *PloS one.* 2017;12(1):e0169466.
11. Åkerlund A, Petropoulos A, Malmros K, Tängdén T, Giske CG. Blood culture diagnostics: a Nordic multicentre survey comparison of practices in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(5):731.e1-.e7.

## 2 SPECIALAVSNITT

I avsnitten nedan beskrivs diagnostik som kan användas vid misstanke om kateterrelaterad infektion i blodbanan (CRBSI) och infektiös endokardit. I vissa fall finns vid dessa tillstånd inte tillräcklig evidens för att bara rekommendera en metod. Flera alternativa metoder finns därför beskrivna.

### 2.1 DIAGNOSTIK VID MISSTÄNKT KATETERRELATERAD INFEKTION I BLODBANAN (CRBSI)

#### **Huvudbudskap kateterrelaterad infektion i blodbanan**

- Odling från kateterspets ska bara utföras när en kateter avlägsnas p.g.a. misstanke om infektion.
- Kvantitativa/semikvantitativa odlingar av kateterspets (Sonikeringsmetoden eller Maki-metoden) rekommenderas.
- Blododling med tidsskillnad är svårtolkat p.g.a. av flera metodologiska svårigheter och bör därför tolkas med försiktighet.

Diagnostik av CRBSI bygger på klinik och laboratoriefynd och kan misstänkas hos en patient med kontinuerlig centralvenös infarkt (CVI) där annan förklaring till infektionen saknas.

I dag finns flera mikrobiologiska metoder för diagnostik vid misstänkt CRBSI men ingen metod anses vara "Gold standard", varför val av metod väljs utifrån metodens prestanda och laboratoriets förutsättningar. Diagnostiken vid CRBSI bygger på att samma mikroorganism (överensstämmande avseende både art- och resistensmönster) återfinns både i CVI/CVI spets och i perifer blododling, alternativt att en behandlingsresistent BSI läker först efter borttagande av misstänkt infekterad CVI.

Oavsett odlingsmetod rekommenderar expertgruppen att tröskeln för att artbestämma och rapportera även lågpatogeta fynd bör vara låg. Samtliga provtagnings sätt är dock kopplade med risk för kontamination vilket bör beaktas och kommenteras i svar. Odlingsfynd bör vägas samman med klinik och övriga laboratorie-/odlingsfynd.

Vid påvisad växt av svamp i CVI bör alltid byte/borttagande av CVI utföras, även om en samtidig perifer blododling förblir negativ.

## 2.1.2 Metoder

Mikrobiologisk diagnostik vid misstanke om CRBSI baseras på två skilda principer; den ena gäller för extraherad kateter, den andra för kvarvarande kateter. Vid misstanke om CRBSI ska alltid blododling från den misstänkt infekterade infarten och perifer odling tas. Odling från extraherad kateter ska bara utföras vid misstanke om CRBSI.

### 2.1.2.1 Metoder för extraherad kateter

#### Semikvantitativ odling av kateterspets (Maki-metoden)

Maki-metoden är idag en väletablerad metod. Hud och instickställe lufttorkas efter noggrann desinfektion med 5 mg/mL klorhexidinlösning eller motsvarande. Efter avveckling av katetern frigörs den distala kateterdelen (5 cm) med steril teknik och läggs i sterilt rör. Transport sker därefter snarast möjligt till mikrobiologiskt laboratorium för analys. På laboriet rullas kateterspetsen (5 cm) minst 3 gånger fram och tillbaka över en blodagaryta följt av inkubering aerobt i 37°C under 48 timmar.

Fynd av  $\geq 15$  CFU av samma art anses signifikant för kolonisation. Metoden upptäcker endast distal och extraluminal kolonisation. Metoden är snabb, enkel, kostnadseffektiv och har låg risk för kontamination jmf med sonikering (se nedan). Metoden kan ge falskt negativt resultat då den inte fångar eventuell växt inne i kateterlumen.

#### Kvantitativ sonikeringsodling

Sonikering är en metod där man med hjälp av ultraljud frigör bakterier som vidhäftat till ytor, både endo- och extraluminalt. Denna metod har fördelen att den bättre kan erbjuda påvisning av bakterier i biofilm i kateterlumen jämfört med konventionell odling enligt Maki-metoden. Alternativa metoder med samma princip som sonikerings-baserad odling finns beskrivna, till exempel vortex av kateterspets i fysiologisk koksaltlösning.

### 2.1.2.2 Metod vid kvarvarande kateter

#### Blododling med tidsskillnad

Blododling med tidsskillnad (DTTP) baseras på att blod tas både från misstänkt infekterad infart och perifert och att det flaskpar som är draget ur en infekterad CVI vid CRBSI,

teoretiskt innehåller högre bakteriehalter (CFU/mL) än blodet i det flaskpar som är taget från en perifer ven och därmed signalerar växt *minst* 2 timmar tidigare än det perifera blodet. För att den teoretiska modellen ska möjliggöra jämförelse av de parade flaskorna krävs att:

- Blododlingen tas under antibiotikafritt intervall.
- Provtagning ur CVI och perifer ven båda fullföljs inom 15 minuter. För att undvika risken att överstiga dessa 15 minuter rekommenderas att flaskparet från perifert stick fylls före flaskparet från CVIn.
- Blodvolymerna är identiska (10 mL/blododlingsflaska från CVI respektive perifert stick).
- Flaskparen följs åt från provtagning till inkubering och snarast möjligt transporteras till mikrobiologiskt laboratorium.
- Blododlingen inte uppvisar polymikrobiell växt.
- Att det är samma art med samma resistensmönster som påvisas i båda flaskparen

Metodens tillförlitlighet har ifrågasatts och finns inte längre med i de engelska blododlingsrekommendationerna från 2019 (National Health Service; NHS).

P.g.a. svårigheten att fylla flaskparen med identiska blodvolymmer inom 15 minuter och snabb transport till laboratoriet liksom det varierande stödet i den vetenskapliga litteraturen anser expertgruppen att metoden bör användas med försiktighet. Sensitivitet och specificitet har i studierna varierat mellan 25-100 % respektive 33-100 %, med lägst stöd vid fungemier respektive *S. aureus*-bakteremier. Bäst förankring i litteraturen bedöms metoden ha vid KNS-bakteremi, men tidsgränsen om 2 h bör ses som en del bland flera faktorer att väga samman till en helhetsbedömning.

Rekommendation avseende kassering av den första portionen blod i samband med provtagningen vid DTTP saknas. Dock anser expertgruppen att antibakteriella substanser ("antibiotikalås") eller andra vätskor som medför utspädningseffekt bör avskiljas/kasseras innan blododling tas.

Vid CVI med multilumen bör ett flaskpar tas från varje lumen

### 2.1.2.3 Odling av implanterad venös kateter

Konsensus saknas hur provtagning och odling av port reservoar eller septum bäst utförs. De senaste europeiska riktlinjerna (ESCMID) föreslår odling från extraherat septum vortexat i 0,85 % NaCl-lösning och/eller provtagning av makroskopisk debris från septum eller ”svabbning” av portens inre delar. Sonikering av extraherat material kan vara ett alternativt tillvägagångssätt.

#### Referenser Diagnostik vid misstänkt kateterrelaterad infektion i blodbanan:

1. Acuña M, O’Ryan M, Cofré J, Alvarez I, Benadof D, Rodríguez P, et al. Differential time to positivity and quantitative cultures for noninvasive diagnosis of catheter-related blood stream infection in children. *The Pediatric infectious disease journal*. 2008;27(8):681-5.
2. Afshari A, Schrenzel J, Ieven M, Harbarth S. Bench-to-bedside review: Rapid molecular diagnostics for bloodstream infection--a new frontier? *Crit Care*. 2012;16(3):222.
3. Armstrong CW, Mayhall CG, Miller KB, Newsome HH, Jr., Sugerman HJ, Dalton HP, et al. Clinical predictors of infection of central venous catheters used for total parenteral nutrition. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1990;11(2):71-8.
4. Ben-Ami R, Weinberger M, Orni-Wasserlauff R, Schwartz D, Itzhaki A, Lazarovitch T, et al. Time to blood culture positivity as a marker for catheter-related candidemia. *J Clin Microbiol*. 2008;46(7):2222-6.
5. Bong JJ, Kite P, Ammori BJ, Wilcox MH, McMahon MJ. The use of a rapid in situ test in the detection of central venous catheter-related bloodstream infection: a prospective study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2003;27(2):146-50.
6. Bouza E, Alcalá L, Muñoz P, Martín-Rabadán P, Guembe M, Rodríguez-Creixems M. Can microbiologists help to assess catheter involvement in candidaemic patients before removal? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2013;19(2):E129-35.
7. Bouza E, Alvarado N, Alcalá L, Sánchez-Conde M, Pérez MJ, Muñoz P, et al. A prospective, randomized, and comparative study of 3 different methods for the diagnosis of intravascular catheter colonization. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;40(8):1096-100.
8. Bouza E, Burillo A, Muñoz P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2002;8(5):265-74.
9. Bouzidi H, Emirian A, Marty A, Chachaty E, Laplanche A, Gachot B, Blot F. Differential time to positivity of central and peripheral blood cultures is inaccurate for the diagnosis of *Staphylococcus aureus* long-term catheter-related sepsis. *J Hosp Infect*. 2018;99(2):192-9.
10. Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand P, Huet Y, Larabi S, Rapin M. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Arch Intern Med*. 1987;147(5):873-7.
11. Catton JA, Dobbins BM, Kite P, Wood JM, Eastwood K, Sugden S, et al. In situ diagnosis of intravascular catheter-related bloodstream infection: a comparison of quantitative culture, differential time to positivity, and endoluminal brushing. *Critical care medicine*. 2005;33(4):787-91.



12. Chaiyakunapruk N, Veenstra DL, Lipsky BA, Sullivan SD, Saint S. Vascular catheter site care: the clinical and economic benefits of chlorhexidine gluconate compared with povidone iodine. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2003;37(6):764-71.
13. Erb S, Frei R, Schreggenberger K, Dangel M, Nogarth D, Widmer AF. Sonication for diagnosis of catheter-related infection is not better than traditional roll-plate culture: a prospective cohort study with 975 central venous catheters. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014;59(4):541-4.
14. Falagas ME, Ierodiakonou V, Alexiou VG. Clinical practice of obtaining blood cultures from patients with a central venous catheter in place: an international survey. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2009;15(7):683-6.
15. Fenollar F, Raoult D. Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30 Suppl 1:S7-15.
16. Fernández-Cruz A, Martín-Rabadán P, Suárez-Salas M, Rojas-Wettig L, Pérez MJ, Guinea J, et al. Is it feasible to diagnose catheter-related candidemia without catheter withdrawal? *Med Mycol*. 2014;52(5):491-7.
17. Gahlot R NC, Kumar V, Yadav G, Anupurba S. Catheter-related bloodstream infections. *Int J Crit Illn Inj Sci*. 2014;4(2):162-7.
28. Garrison RN, Wilson MA. Intravenous and central catheter infections. *Surg Clin North Am*. 1994;74(3):557-70.
19. Gominet M, Compain F, Beloin C, Lebeaux D. Central venous catheters and biofilms: where do we stand in 2017? *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2017;125(4):365-75.
20. Gowardman JR, Jeffries P, Lassig-Smith M, Stuart J, Jarrett P, Deans R, et al. A comparative assessment of two conservative methods for the diagnosis of catheter-related infection in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2013;39(1):109-16.
21. Gristina AG, Costerton JW. Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis. *J Bone Joint Surg Am*. 1985;67(2):264-73.
22. Gueembe M, Martin-Rabadan P, Cruces R, Perez-Granda MJ, Bouza E. Corrigendum to "Sonicating multi-lumen sliced catheter tips after the roll-plate technique improves the detection of catheter colonization in adults" [*J. Microbiol. Methods* 122 (2016) 20-22]. *Journal of microbiological methods*. 2016;127:242.
23. Gueembe M, Martin-Rabadan P, Cruces R, Perez Granda MJ, Bouza E. Sonicating multi-lumen sliced catheter tips after the roll-plate technique improves the detection of catheter colonization in adults. *Journal of microbiological methods*. 2016;122:20-2.
24. Hamedi A, Mamoury GA, Akhlaghi F. A comparative study of blood culture sampling from umbilical catheter line versus peripheral site. *Acta medica Iranica*. 2010;48(4):231-3.
25. Hammarskjöld F, Berg S, Hanberger H, Taxbro K, Malmvall BE. Sustained low incidence of central venous catheter-related infections over six years in a Swedish hospital with an active central venous catheter team. *American journal of infection control*. 2014;42(2):122-8.
26. Hansen S SF, Behnke M, Carsaw H, Heczko P, Klavs I, Lyytikäinen O, Palomar M, Riesenfeld Orn I, Savey A, Szilagyi E, Valinteliene R, Fabry J, Gastmeier P. National influences on catheter-associated bloodstream infection rates: practices among national surveillance networks participating in the European HELICS project. *J Hosp Infect*. 2009;1(1):66-73.

27. Hoiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, Coenye T, Donelli G, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2015;21 Suppl 1:S1-25.
28. Hollenbeak CS. The cost of catheter-related bloodstream infections: implications for the value of prevention. *J Infus Nurs*. 2011;34(5):309-13.
29. Kaasch AJ, Rieg S, Hellmich M, Kern WV, Seifert H. Differential time to positivity is not predictive for central line-related *Staphylococcus aureus* bloodstream infection in routine clinical care. *J Infect*. 2014;68(1):58-61.
30. Kumar A, Sharma RM, Jaideep CN, Hazra N. Diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infection without catheter removal: A prospective observational study. *Med J Armed Forces India*. 2014;70(1):17-21.
31. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med*. 1977;296(23):1305-9.
32. Monsen T, Lövgren E, Widerström M, Wallinder L. In Vitro Effect of Ultrasound on Bacteria and Suggested Protocol for Sonication and Diagnosis of Prosthetic Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009;47(8):2496-501.
33. Murray PR, Masur H. Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit. *Critical care medicine*. 2012;40(12):3277-82.
34. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1990-May 1999, issued June 1999. A report from the NNIS System. *American journal of infection control*. 1999;27(6):520-32.
35. O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;52(9):e162-93.
36. Orihuela-Martin J, Rodriguez-Nunez O, Morata L, Cardozo C, Puerta-Alcalde P, Hernandez-Meneses M, et al. Performance of differential time to positivity as a routine diagnostic test for catheter-related bloodstream infections: a single-centre experience. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(3):383.e1-e7.
37. Parienti JJ, du Cheyron D, Ramakers M, Malbruny B, Leclercq R, Le Coutour X, Charbonneau P. Alcoholic povidone-iodine to prevent central venous catheter colonization: A randomized unit-crossover study. *Critical care medicine*. 2004;32(3):708-13.
38. Public Health England. (2017). Investigation of intravascular cannulae and associated specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 20 Issue 6.1. Available from: <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. London: National Health Service (NHS). p. 1-24
39. Quittnat Pelletier F, Joarder M, Poutanen SM, Lok CE. Evaluating Approaches for the Diagnosis of Hemodialysis Catheter-Related Bloodstream Infections. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11(5):847-54.
40. Raad I, Hanna H, Maki D. Intravascular catheter-related infections: advances in diagnosis, prevention, and management. *The Lancet Infectious diseases*. 2007;7(10):645-57.
41. Raad I, Hanna HA, Alakech B, Chatzinikolaou I, Johnson MM, Tarrand J. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. *Ann Intern Med*. 2004;140(1):18-25.
42. Sherertz RJ, Raad, II, Belani A, Koo LC, Rand KH, Pickett DL, et al. Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. *Journal of clinical microbiology*. 1990;28(1):76-82.

43. Siegman-Igra Y, Anglim AM, Shapiro DE, Adal KA, Strain BA, Farr BM. Diagnosis of vascular catheter-related bloodstream infection: a meta-analysis. *Journal of clinical microbiology*. 1997;35(4):928-36.
44. Stempel JM, Farmakiotis D, Tarrand JJ, Kontoyiannis DP. Time-to-reporting of blood culture positivity and central venous catheter-associated *Candida glabrata* fungemia in cancer patients. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2016;85(3):391-3.
45. Tighe MJ, Kite P, Thomas D, Fawley WN, McMahon MJ. Rapid diagnosis of catheter-related sepsis using the acridine orange leukocyte cytospin test and an endoluminal brush. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1996;20(3):215-8.
46. Towns ML, Jarvis WR, Hsueh PR. Guidelines on blood cultures. *J Microbiol Immunol Infect*. 2010;43(4):347-9.
47. von Baum H, Philippi P, Geiss HK. Acridine-orange leucocyte cytospin (AOLC) test as an in-situ method for the diagnosis of central venous catheter (CVC)-related sepsis in adult risk patients. *Zentralbl Bakteriol*. 1998;287(1-2):117-23.
48. Wu H, Moser C, Wang HZ, Hoiby N, Song ZJ. Strategies for combating bacterial biofilm infections. *Int J Oral Sci*. 2015;7(1):1-7.
49. Yousif A, Jamal MA, Raad I. Biofilm-based central line-associated bloodstream infections. *Adv Exp Med Biol*. 2015;830:157-79.

## 2.2 DIAGNOSTIK AV INFEKTIÖS ENDOKARDIT (IE)

### Huvudbudskap infektiös endokardit (IE)

- Blododling från ett stick rekommenderas vid endokardit liksom vid övrig blododling.
- Den större volymen blod (60 mL) rekommenderas; särskilt vid förekomst av klaffprotes.
- 5 dagars inkubationstid är tillräckligt i normalfallet.
- Förlängd odling (10 dagar) krävs vid klaffprotes och vid misstanke om långsamväxande bakterier (t.ex. *Cutibacterium acnes*).

Blododling är ett av de viktigaste verktygen för diagnos av IE samt för säkerställande av effektiv behandling av patienten. Vid de flesta infektionstillstånd med bakterier i blodbanan är bakteremin kontinuerlig varför blododlingar separerade i tid inte är viktiga, som man tidigare trott. Samtliga flaskor tas därför från ett och samma stick även vid misstanke om endokardit. Dock är adekvat blodvolym av stor vikt, då bakteriehalten i blodet kan vara mycket låg. Därför rekommenderas, särskilt vid subakut endokardit och vid förekomst av klaffprotes, den större volymen blod till odling; dvs. tre flaskpar (2 x 3 flaskor, minst 10 mL blod/flaska, totalt minst 60 mL).

5-dagars inkubationstid är tillräckligt i de allra flesta endokarditfall (inklusive arterna tillhörande HACEK-gruppen) men förlängd inkubation till 10 dagar rekommenderas vid förekomst av främmande material och vid misstanke om särskilt långsamväxande bakterier såsom *Cutibacterium* spp.

### 2.2.1 Art- och resistensbestämning vid infektiös endokardit

Alla fynd artbestäms. Viridans-streptokocker (alfastreptokocker) besvaras med gruppstillhörighet. Resistensbestämning utförs på alla fynd och vid endokardit kan särskilda krav på resistensbestämning föreligga (se NordicASTs brytpunktstabell <http://www.nordicast.org/> samt infektionsläkarföreningens vårdprogram för endokardit [www.infektion.net](http://www.infektion.net)).

### 2.2.2 Blododlingsnegativ infektiös endokardit

Blododlingsnegativa endokarditer utgör ca 10-30 % av alla infektiösa endokarditer i Sverige. Den vanligaste orsaken till odlingsnegativ endokardit är pågående eller nyligen avslutad antibiotikabehandling och är störst vid nyligen avslutad (upp till två veckor) behandling med betalaktamantibiotika med påverkan främst på alfastreptokocker. Vid negativ odling men kvarvarande misstanke rekommenderas ny odling i antibiotikafritt intervall med adekvat volym (60 mL) och förlängd inkubation. En odlingsnegativ endokardit kan också orsakas av ett infektiöst agens som inte är odlingsbart med konventionella metoder såsom *Coxiella burnetii*, *Bartonella* spp, *Treponema whipplei*, *Mycoplasma* spp. (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*), *Legionella* spp och *Chlamydia/Chlamydophila* spp. I dessa fall ska kompletterande analyser med t.ex. specifika molekylärbiologiska metoder eller serologi övervägas. För närvarande rekommenderas inte rutinmässig analys med molekylärbiologisk metod på flaskor som inte larmat om växt.

### 2.2.3 Mikrobiologisk diagnostik av biologisk hjärtklaff

Vid operativ åtgärd av endokardit rekommenderas att minst två klaffbiopsier säkras för i första hand odling men även för möjlighet till analys med molekylärbiologiska metoder, såsom detektion av specifikt 16S/18S DNA (bakterier/svamp). Observera att risken för kontamination vid provtagning är stor. Biopsi ska tas med sterila instrument som bytas mellan varje biopsi. Transport sker skyndsamt till laboratoriet i sterila rör enligt lokala riktlinjer. Odling från klaffvävnad har låg sensitivitet (6-26 %), delvis beroende på att patienten oftast står på antibiotika i samband med operation, och rekommenderas därför inte som enda metod om patienten står på antibiotika. Molekylärbiologisk analys är framför allt viktig vid odlingsnegativ biopsi och rekommenderas framför odling vid otillräcklig mängd/material. Molekylärbiologiska metoder har högre sensitivitet och specificitet jämfört med klaffodling men även här föreligger risk för påvisande av eventuella kontaminerande mikroorganismer. Molekylärbiologiska metoder ger oftast inget besked om eventuell antibiotikaresistens och kan inte ge ett komplett resistensbesked. Observera också att bakteriellt DNA kan påvisas lång tid efter utläkning. Odlingsfynd/molekylärbiologiska fynd ska alltid relateras till fynd i blododling och/eller andra kompletterande analyser samt klinisk bild.

### 2.2.4 Histopatologi

Histopatologi kan övervägas för att utesluta bakteriell endokardit om övriga metoder utfallit

negativa. Metoden används inte regelmässigt i Sverige. För denna analys krävs ytterligare en biopsi som då hanteras enligt lokala rutiner för histopatologiska undersökningar.

### 2.2.5 Mikrobiologisk diagnostik av kablar och icke-biologisk hjärklaff

Om möjligt delas materialen upp i två delar på operation; en för odling och en för molekylärbiologisk diagnostik. Kabel och icke-biologisk klaff kan odlas enligt sonikeringsmetoden (se ”3.1.2.1.2 Kvantitativ sonikeringsodling”). Om laboratoriet saknar tillgång till sonikering kan man svabba materialet med steril pinne varefter kabeln eller klaffen läggs i anaerob anrikningsbuljong och vortexas. Den sterila pinnen stryks på både aeroba och anaeroba näringsrika fasta substrat som inkuberas i minst 2 dygn (anaerobplatta minst 5 dygn för att gynna växt av t.ex. *Cutibacterium* spp). Buljongen bör inkuberas minst 7 dagar. Eventuell växt bedöms med jämna mellanrum och buljongen odlas ut på aeroba och anaeroba näringsrika fasta substrat vid synlig växt (inkuberas två dygn). Om ingen växt syns bör material från buljongen ändå odlas ut efter hela inkubationstiden.

Oavsett odlingsmetod rekommenderar expertgruppen att art- och resistensbestämning ska utföras på all växt och rapportering ska ske även av lågpatogeta fynd. Samtliga ovanstående provtagnings sätt är dock kopplade med risk för kontamination vilket bör beaktas. Odlingsfynd bör vägas samman med fynd i andra odlingar.

#### Referenser Diagnostik av infektiös endokardit:

1. Alestig K, Hogevis H, Olaison L. Infective endocarditis: a diagnostic and therapeutic challenge for the new millennium. *Scand J Infect Dis.* 2000;32(4):343-56.
2. Baddour LM, Epstein AE, Erickson CC, Knight BP, Levison ME, Lockhart PB, et al. Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2010;121(3):458-77.
3. Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2005;41(11):1677-80.
4. Cahill TJ, Prendergast BD. Infective endocarditis. *Lancet.* 2016;387(10021):882-93.
5. Calabrese F, Carturan E, Thiene G. Cardiac infections: focus on molecular diagnosis. *Cardiovasc Pathol.* 2010;19(3):171-82.
6. Cockerill FR, 3rd, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2004;38(12):1724-30.

7. Dayer MJ, Jones S, Prendergast B, Baddour LM, Lockhart PB, Thornhill MH. Incidence of infective endocarditis in England, 2000-13: a secular trend, interrupted time-series analysis. *Lancet*. 2015;385(9974):1219-28.
8. Durack DT, Lukes AS, Bright DK. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med*. 1994;96(3):200-9.
9. Fowler VG, Durack DT, Selton-Suty C, Athan E, Bayer AS, Chamis AL, et al. The 2023 Duke-International Society for Cardiovascular Infectious Diseases Criteria for Infective Endocarditis: Updating the Modified Duke Criteria. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2023;77(4):518-26.
10. Gould FK, Denning DW, Elliott TS, Foweraker J, Perry JD, Prendergast BD, et al. Guidelines for the diagnosis and antibiotic treatment of endocarditis in adults: a report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2012;67(2):269-89.
11. Greub G, Lepidi H, Rovey C, Casalta JP, Habib G, Collard F, et al. Diagnosis of infectious endocarditis in patients undergoing valve surgery. *Am J Med*. 2005;118(3):230-8.
12. Hogevis H, Olaison L, Andersson R, Lindberg J, Alestig K. Epidemiologic aspects of infective endocarditis in an urban population. A 5-year prospective study. *Medicine (Baltimore)*. 1995;74(6):324-39.
13. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *Journal of clinical microbiology*. 2007;45(11):3546-8.
14. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *Journal of clinical microbiology*. 1994;32(11):2829-31.
15. Li JS, Sexton DJ, Mick N, Nettles R, Fowler VG, Jr., Ryan T, et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2000;30(4):633-8.
16. Liesman RM, Pritt BS, Maleszewski JJ, Patel R. Laboratory Diagnosis of Infective Endocarditis. *Journal of clinical microbiology*. 2017;55(9):2599-608.
17. Lobmaier IV, Vege A, Gaustad P, Rognum TO. Bacteriological investigation--significance of time lapse after death. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2009;28(10):1191-8.
18. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med*. 1993;119(4):270-2.
19. Morris AJ, Drinkovic D, Pottumarthy S, Strickett MG, MacCulloch D, Lambie N, Kerr AR. Gram stain, culture, and histopathological examination findings for heart valves removed because of infective endocarditis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2003;36(6):697-704.
20. Munoz P, Bouza E, Marin M, Alcalá L, Rodríguez Creixems M, Valerio M, Pinto A. Heart valves should not be routinely cultured. *Journal of clinical microbiology*. 2008;46(9):2897-901.
21. Ortiz C, Lopez J, Garcia H, Sevilla T, Revilla A, Vilacosta I, et al. Clinical classification and prognosis of isolated right-sided infective endocarditis. *Medicine (Baltimore)*. 2014;93(27):e137.
22. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP, Joho K, Wakefield T, Reller LB, Carroll KC. Utility of extended blood culture incubation for isolation of *Haemophilus*,

- Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella, and Kingella organisms: a retrospective multicenter evaluation. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(1):257-9.
23. Public Health England. (2019). Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species). UK Standards for Microbiology Investigations. B 37 Issue 8.2. Available from: <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. London: National Health Service (NHS). p. 1-51.
  24. Razimi R. MP. ABC om Infektiös endokardit. *Läkartidningen*. 2019;116:1-5.
  25. Röver C, Greub G, Lepidi H, Casalta JP, Habib G, Collart F, Raoult D. PCR detection of bacteria on cardiac valves of patients with treated bacterial endocarditis. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(1):163-7.
  26. Silver H SA. A practical and efficacious method for obtaining significant postmortem blood cultures. *American journal of clinical pathology*. 1969;52(4):433-7.
  27. Svenska infektionsläkarföreningen. Programgruppen för endokardit 2019–2021. Vårdprogram, Infektiös endokardit version 7, 2021. Available from: [http://infektion.net/wp-content/uploads/2017/05/vardprogram\\_infektios\\_endokardit.pdf](http://infektion.net/wp-content/uploads/2017/05/vardprogram_infektios_endokardit.pdf)
  28. Ternhag A, Cederstrom A, Torner A, Westling K. A nationwide cohort study of mortality risk and long-term prognosis in infective endocarditis in Sweden. *PloS one*. 2013;8(7):e67519.
  29. Vondracek M, Sartipy U, Aufwerber E, Julander I, Lindblom D, Westling K. 16S rDNA sequencing of valve tissue improves microbiological diagnosis in surgically treated patients with infective endocarditis. *The Journal of infection*. 2011;62(6):472-8.
  30. Werner M. Blood culture negative endocarditis. Göteborg: Göteborg University; 2006.
  31. Werner M, Andersson R, Olaison L, Hogevik H. A 10-year survey of blood culture negative endocarditis in Sweden: aminoglycoside therapy is important for survival. *Scand J Infect Dis*. 2008;40(4):279-85.
  32. Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. Guidelines for the diagnosis and antibiotic treatment of endocarditis in adults: a report of the Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J Antimicrob Chemother* 67: British Society for Antimicrobial Chemotherapy. 2012. p. 269-89.



## 3 Förtydliganden och kommentarer

### 3.1 BLODODLING

Blododling är standardmetoden för att hitta etiologiskt agens hos patienter med sepsis och andra allvarliga infektioner med misstanke om förekomst av bakterier i blodbanan (bakteremi). Extracellulära bakterier i infekterad vävnad dräneras via lymfcirkulationen till blodet och elimineras till största delen vid passage genom lever och mjälte. I mindre utsträckning kan bakterier som överlevt i fagocyter spridas med blodet till andra delar av kroppen. Blododling har en låg sensitivitet även hos patienter med kliniskt verifierad sepsis. Studier har visat att det saknas korrelation mellan febertoppar och odlingspositivitet men att blododlingar tagna inom 2 h före till 2 h efter frossa ökar sannolikheten för positiv odling.

#### 3.1.1 Desinfektion

Koagulasnegativa stafylokocker (KNS) är det vanligaste fyndet vid blododling men också den bakteriegrupp från huden som oftast kontaminerar odlingen, vilket leder till problem vid tolkning av fyndets kliniska relevans. Trots att KNS är den vanligaste kontaminanten vid blododling utgör KNS tillsammans med *Cutibacterium* spp <5 % av hudens mikrobiota. Antalet CFU av KNS på huden i armbågsvecket är i medeltal 1,7 CFU/cm<sup>2</sup> (0,1 – 30 CFU/cm<sup>2</sup>) vilket betyder att risken att träffa en mikrokoloni är 1-8 % med en nål med ytterdiametern 0,5 mm och stickvinkeln 45° mot huden.

Huddesinfektion minskar mängden bakterier på hudytan men bakteriekolonier finns kvar inne i stratum corneum och i hårfolliklar varför hudfloran inte helt kan elimineras. Noggrann huddesinfektion kan minska risken att träffa en mikrokoloni KNS med häften och samma minskade risk uppnås vid provtagning genom ett stick jämfört med två.

Flera studier har visat att rätt teknik med rent handhavande vid blododling minskar antalet kontaminationer av blododlingar. Användning av särskilda sterilförpackade blododlingskit har inte någon effekt på kontaminationsgraden. Utbildning av personal till att utföra korrekt huddesinfektion och odla endast från ett stick är därför av stor vikt för att få ner frekvensen av framodlad hudflora.

### 3.1.2 Avskiljning av första portionen blod

Den största mängden hudbakterier, som fångas upp av provtagningsnålen vid en blododling, återfinns i de första 3-5 mL blod som tappas. Genom att börja en blododling med att avskilja denna första blodportion, minskas antalet blododlingsflaskor med hudkontaminationer.

Kassering av första blodportionen vid odling dragen ur en CVI (t.ex. CVK) minskar inte kontaminationsfrekvensen av blododlingar men väl bakteriehalten som följer med blodet från en kontaminerad kateter ner i flaskan. Avskiljning av första blodportionen (5-10 mL) rekommenderas för att inte få med antibakteriella vätskor (heparin, alkohol mm) eller NaCl i blododlingsflaskan.

### 3.1.3 Blodvolym

Det har länge varit känt att bakteriemängden (CFU/ml) är låg i blodet vid svåra infektioner och sepsis. Studier har visat att bakteriehalten kan vara så låg som 0,1-2 CFU/mL i 53 % av alla positiva blododlingar vid sepsis och dessa siffror ligger till grund för rekommendationen att 40-60 mL blod ska tas vid varje undersökningstillfälle hos vuxna. De bakterier som kommer ut i blodet elimineras snabbt. För att alltid få ett positivt utfall krävs minst 5 enheter (CFU) per undersökt mängd blod; vilket betyder att vid 1 CFU/mL blod krävs 5 mL och vid 0,1 CFU/mL blod krävs 50 mL för att alltid få en positiv odling. Äldre studier visade att upprepade blododlingar av små volymer inte alltid ledde till växt i varje odling och man trodde då att bakterieförekomsten i blodet var intermittent. Senare studier har dock visat att om samma blodvolym tas direkt vid ett och samma provtagningstillfälle istället för uppdelat på flera upprepade provtagningar (med 0,5-1 h mellanrum) så erhålls samma resultat. Blododling från ett och samma stick minskar därtill risken för kontamination av odlingen.

### 3.1.4 Blododlingsflaskor

I Sverige används två olika kommersiella halvautomatiska system för att påvisa bakterieväxt i blod. Internationellt finns ytterligare ett kommersiellt system. Båda systemen som används i Sverige har slutna flaskor med buljong och undertryck som tillåter fyllning av blod direkt från en venpunkt. Bakterieväxt upptäcks genom den färgförändring som sker i en indikator pga. CO<sub>2</sub> utveckling och pH-sänkning i mediet vid bakterietillväxt. Några säkra skillnader i detektion av bakterier som får klinisk betydelse bedöms inte finnas mellan de två fabrikaten.

Den näringsrika odlingsbuljongen, med SPS och tillväxtfaktorer (hemin, NAD, L-cystein, aminosyror och vitaminer) befrämjar växt av flertalet bakterier och jästsvampar och har inte ändrats väsentligt de senaste 30 åren. Natriumpolyanetholsulfonat (SPS) inaktiverar i tillägg komplement och hämmar därmed fagocytos. Då allt för koncentrerad SPS hämmar tillväxt av vissa bakterier så är det viktigt att rätt mängd blod tas. I vissa flasktyper finns även tillsatts av saponiner som lyserar blodceller och möjliggör för fagocyterade, men ej avdödade, bakterier att växa till.

En engångsdos antibiotika minskar möjligheten att odla fram bakterier till omkring hälften under minst 24 timmar. Om patienten står på antibiotika så ska ev. blododling därför tas strax före nästa dos. För att minska effekten av eventuell antibiotika i blodet så innehåller de blododlingsflaskor som nu används även resiner (plastkulor) som binder upp antibiotika. Pediatriska flaskor är avsedda för att med mindre mängder blod ge tillräcklig mängd NAD och hemin för tillväxt.

### 3.1.5 Transport efter provtagning

Blododlingsflaskor ska inkuberas så snart som möjligt av två skäl. Dels att en snabb inkubation kan resultera i ett snabbare svar vilket i sin tur kan ge vården bättre förutsättningar att ge patienten en korrekt antibiotikabehandling. Dels så innebär förlängd transporttid risk för försämrad detektion.

### 3.1.6 Larm om växt

Under bakterietillväxt bildas CO<sub>2</sub> som produkt av dess metabolism. I blododlingsflaskan löser sig koldioxiden i buljongen, påverkar dess pH och därmed färgen på den pH-indikator som finns i flaskans botten. Färgen på pH-indikatorn avläses kontinuerligt av inkubatorn och vid en fastställd ändring av färgen över tid, signalerar flaskan positivt. Risk för falskt positiv signal om växt föreligger vid blodmaligniteter med högt antal leukocyter (i blaststadium).

Risk för falskt negativ blododling kan ske om flaskor förvarats för varmt eller i ljus innan användning. Värme/ljus kan få pH-indikatorn i flaskbotten att ändra färg så att det färgomslag, som annars sker tack vare koldioxidproduktion vid växt, inte kan upptäckas. Det är därför av största vikt att odlingsflaskorna förvaras enligt tillverkarens instruktion.

### 3.1.7 Tid till omhändertagande av positiv flaska

Enligt UK Standards for Microbiology Investigations ska resultat av gramfärgning rapporteras inom 2 h, dygnet runt, efter signal för bakterieväxt. Sverige har som mål att erbjuda en jämlik sjukvård enligt hälso- och sjukvårdslagen (HSL, SFS 2017:30) 1§ kap 3. Det innebär bland annat att alla patienter ska få samma kvalitativa vård oavsett vart de befinner sig i Sverige. Ett personcentrerat och sammanhållet vårdförlopp för sepsis är därtill under implementering vilket ytterligare kommer ställa krav på jämlik vård i landet för septiska patienter. Att snabb mikrobiologisk diagnostik leder till ökat antal adekvat behandlade patienter, minskad vårdtid och antal överflyttningar till intensivvård liksom minskad mortalitet är visat i flertalet studier. Störst genomslagskraft får snabb diagnostik om den kombineras med svarsrapportering till ett ambuleraande och kontinuerligt verkande antibiotika-rådgivnings/STRAMA-team.

#### Referenser Förtydliganden och kommentarer – Blododling:

1. Banerjee R, Ozenci V, Patel R. Individualized Approaches Are Needed for Optimized Blood Cultures. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016;63(10):1332-9.
2. Bell M, Bogar C, Plante J, Rasmussen K, Winters S. Effectiveness of a Novel Specimen Collection System in Reducing Blood Culture Contamination Rates. *J Emerg Nurs*. 2018;44(6):570-5.
3. Binkhamis K, Forward K. Effect of the initial specimen diversion technique on blood culture contamination rates. *J Clin Microbiol*. 2014;52(3):980-1.
4. Brown E, Wenzel RP, Hendley JO. Exploration of the microbial anatomy of normal human skin by using plasmid profiles of coagulase-negative staphylococci: search for the reservoir of resident skin flora. *J Infect Dis*. 1989;160(4):644-50.
5. Cascone VJ, Cohen RS, Dodson NP, Cannon CM. Implications of culture collection after the first antimicrobial dose in septic emergency department patients. *Am J Emerg Med*. 2019;37(5):947-51.
6. Cattoir L, Claessens J, Cartuyvels R, Van den Abeele AM. How to achieve accurate blood culture volumes: the BD BACTEC FX blood volume monitoring system as a measuring instrument and educational tool. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2018;37(9):1621-6.
7. Chen IH, Nicolau DP, Kuti JL. Effect of Clinically Meaningful Antibiotic Concentrations on Recovery of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolates from Anaerobic Blood Culture Bottles with and without Antibiotic Binding Resins. *J Clin Microbiol*. 2019;57(12).
8. Chen IH, Nicolau DP, Kuti JL. Recovery of Gram-Negative Bacteria from Aerobic Blood Culture Bottles Containing Antibiotic Binding Resins after Exposure to beta-Lactam and Fluoroquinolone Concentrations. *J Clin Microbiol*. 2019;57(10).
9. Cheng MP, Stenstrom R, Paquette K, Stabler SN, Akhter M, Davidson AC, et al. Blood Culture Results Before and After Antimicrobial Administration in Patients With Severe Manifestations of Sepsis: A Diagnostic Study. *Ann Intern Med*. 2019;171(8):547-54.
10. Chung Y, Kim IH, Han M, Kim HS, Kim HS, Song W, Kim JS. A comparative evaluation of BACT/ALERT FA PLUS and FN PLUS blood culture bottles and BD

- BACTEC Plus Aerobic and Anaerobic blood culture bottles for antimicrobial neutralization. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2019;38(12):2229-33.
11. Dwivedi S, Bhalla R, Hoover DR, Weinstein MP. Discarding the initial aliquot of blood does not reduce contamination rates in intravenous-catheter-drawn blood cultures. *J Clin Microbiol.* 2009;47(9):2950-1.
  12. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J, Beck C, Diblasi R, Gilleeny-Blabac M, et al. Multidisciplinary team review of best practices for collection and handling of blood cultures to determine effective interventions for increasing the yield of true-positive bacteremias, reducing contamination, and eliminating false-positive central line-associated bloodstream infections. *Am J Infect Control.* 2015;43(11):1222-37.
  13. Gonsalves WI, Cornish N, Moore M, Chen A, Varman M. Effects of volume and site of blood draw on blood culture results. *J Clin Microbiol.* 2009;47(11):3482-5.
  14. Grice EA, Kong HH, Renaud G, Young AC, Bouffard GG, Blakesley RW, et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Res.* 2008;18(7):1043-50.
  15. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clinical microbiology reviews.* 2006;19(4):788-802.
  16. Henning C, Aygül N, Dinnétz P, Wallgren K, Özenci V. Detailed Analysis of the Characteristics of Sample Volume in Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol.* 2019;57(8).
  17. Jonsson B, Nyberg A, Henning C. Theoretical aspects of detection of bacteraemia as a function of the volume of blood cultured. *Apmis.* 1993;101(8):595-601.
  18. Lalezari A, Cohen MJ, Svinik O, Tel-Zur O, Sinvani S, Al-Dayem YA, et al. A simplified blood culture sampling protocol for reducing contamination and costs: a randomized controlled trial. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(4):470-4.
  19. Lamy B, Dargere S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol.* 2016;7:697.
  20. Lamy B, Roy P, Carret G, Flandrois JP, Delignette-Muller ML. What is the relevance of obtaining multiple blood samples for culture? A comprehensive model to optimize the strategy for diagnosing bacteremia. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2002;35(7):842-50.
  21. Leysse D, Gardes S, Vilquin P, Flandrois JP, Carret G, Lamy B. Species-driven interpretation guidelines in case of a single-sampling strategy for blood culture. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2011;30(12):1537-41.
  22. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *Journal of clinical microbiology.* 1994;32(11):2829-31.
  23. Liumbruno GM, Catalano L, Piccinini V, Pupella S, Grazzini G. Reduction of the risk of bacterial contamination of blood components through diversion of the first part of the donation of blood and blood components. *Blood Transfus.* 2009;7(2):86-93.
  24. Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK. Bacteremia associated with toothbrushing and dental extraction. *Circulation.* 2008;117(24):3118-25.
  25. Meessen NEL, Jacobs JA. Blood volume in BACTECPLUS/F culture bottles sampled using the direct-draw technique. *Clinical Microbiology and Infection.* 1998;4(8):471-2.
  26. Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B, De Angelis G, D'Inzeo T, Giordano L, et al. In vitro Evaluation of BACT/ALERT(R) VIRTUO(R), BACT/ALERT 3D(R), and BACTEC FX Automated Blood Culture Systems for Detection of Microbial Pathogens Using Simulated Human Blood Samples. *Front Microbiol.* 2019;10:221.

27. Mitteregger D, Barousch W, Nehr M, Kundi M, Zeitlinger M, Makristathis A, Hirschl AM. Neutralization of antimicrobial substances in new BacT/Alert FA and FN Plus blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2013;51(5):1534-40.
28. Palarasah Y, Skjoedt MO, Vitved L, Andersen TE, Skjoedt K, Koch C. Sodium polyanethole sulfonate as an inhibitor of activation of complement function in blood culture systems. *J Clin Microbiol.* 2010;48(3):908-14.
29. Patton RG, Schmitt T. Innovation for reducing blood culture contamination: initial specimen diversion technique. *J Clin Microbiol.* 2010;48(12):4501-3.
30. Pien BC, Mirrett S, Crews BR, Reller LB, Woods CW. Controlled clinical comparison of BacT/ALERT standard aerobic and standard anaerobic blood culture bottles inoculated directly or after transport in sodium polyanethol sulfonate tubes. *J Clin Microbiol.* 2007;45(4):1357-9.
31. Rand KH, Beal SG, Rivera K, Allen B, Payton T, Lipori GP. Hourly Effect of Pretreatment With IV Antibiotics on Blood Culture Positivity Rate in Emergency Department Patients. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(5):ofz179.
32. Roth A, Wiklund AE, Pålsson AS, Melander EZ, Wullt M, Cronqvist J, et al. Reducing blood culture contamination by a simple informational intervention. *J Clin Microbiol.* 2010;48(12):4552-8.
33. Rupp ME, Cavalieri RJ, Marolf C, Lyden E. Reduction in Blood Culture Contamination Through Use of Initial Specimen Diversion Device. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2017;65(2):201-5.
34. Syed S, Liss DT, Costas CO, Atkinson JM. Diversion Principle Reduces Skin Flora Contamination Rates in a Community Hospital. *Archives of pathology & laboratory medicine.* 2020;144(2):215-20.
35. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Critical care medicine.* 2006;34(2):344-53.
36. Yu D, Larsson A, Parke Å, Unge C, Henning C, Sundén-Cullberg J, et al. Single-Sampling Strategy vs. Multi-Sampling Strategy for Blood Cultures in Sepsis: A Prospective Non-inferiority Study. *Front Microbiol.* 2020;11:1639.
37. Zimmerman FS, Karamah H, Ben-Chetrit E, Zalut T, Assous M, Levin PD. Modification of blood test draw order to reduce blood culture contamination: a randomized clinical trial. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2019.

## 3.2 FUNGEMI

Invasiv svampinfektion är relaterad till hög mortalitet och morbiditet. Vanligaste formen av invasiv svampinfektion är candidemi. Candidemi förekommer framför allt hos patienter som: (i) är immunsupprimerade, (ii) genomgår avancerad medicinsk behandling (dialys, antibiotikaterapi, intravenös nutrition) eller (iii) genomgått stor kirurgi. Det finns ingen klinisk bild eller symptom som är specifik för candidemi. Därför bör invasiv candidainfektion misstänkas hos patienter med kända riskfaktorer, som har en oförklarlig feber och som inte svarar på antibakteriell behandling.

Polymikrobiell infektion i blodbanan med jästsvamp och bakterier eller med två olika jästsvampar ökar i allt högre grad. Det finns beskrivet att 18-27 % av alla patienter med candidemi samtidigt har bakterier i blodet. Det är därför viktigt att ha candidemi i åtanke vid blododlingsdiagnostik hos svårt sjuka patienter och, där möjligheten finns, komplettera den vanliga blododlingen med selektiv svampflaska.

Blododling har låg känslighet (21–71 % sensitivitet vid obduktionsbekräftad invasiv candidainfektion), vilket ökar vikten av upprepad blododling med stor volym ( $\geq 40$ –60 mL dagligen) vid kliniskt misstänkt candidemi.

För icke-odlingsbaserade metoder som komplement till blododling (inklusive metabola och molekylärbiologiska metoder) hänvisas till ”Laboratoriediagnostik och farmakologisk monitorering av invasiva svampinfektioner i Sverige”, författat av Referensgruppen för AntiMykotika (RAM): <https://infektion.net/wp-content/uploads/2021/08/ram-laboratoriediagnostik-och-farmakologisk-monitorering-av-invasiva-svampinfektioner-i-sverige.pdf>.

Referenser Förtydliganden och kommentarer – Fungemi:

1. Collin J. Svårigheter i att detektera *Candida albicans* i blododling vid samtidig bakteriemi. Examensarbete BMA062. Sahlgreiska akademien. 2019.
2. Bouza E, Burillo A, Muñoz P, Guinea J, Marín M, Rodríguez-Crèixems M. Mixed bloodstream infections involving bacteria and *Candida* spp. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2013;68(8):1881-8.
3. Clancy CJ, Nguyen MH. Diagnosing Invasive Candidiasis. *J Clin Microbiol*. 2018;56(5).
4. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform

patient care. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2013;56(9):1284-92.

5. Diekema D, Arbefeville S, Boyken L, Kroeger J, Pfaller M. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2012;73(1):45-8.
6. Ericson EL, Klingspor L, Ullberg M, Ozenci V. Clinical comparison of the Bactec Mycosis IC/F, BacT/Alert FA, and BacT/Alert FN blood culture vials for the detection of candidemia. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2012;73(2):153-6.
7. Hockey LJ, Fujita NK, Gibson TR, Rotrosen D, Montgomerie JZ, Edwards JE, Jr. Detection of fungemia obscured by concomitant bacteremia: in vitro and in vivo studies. *J Clin Microbiol*. 1982;16(6):1080-5.
8. Klingspor L. Svampinfektioner (invasiva), diagnostik. Stockholm: Internetmedicin.se, [uppdaterad 2018-01-21; citerad 2019-09-04]. Available from: <https://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=615>
9. Klingspor L, Lindback E, Ullberg M, Ozenci V. Seven years of clinical experience with the Yeast Traffic Light PNA FISH: Assay performance and possible implications on antifungal therapy. *Mycoses*. 2018;61(3):179-85.
10. Klingspor L, Muhammed SA, Ozenci V. Comparison of the two blood culture systems, Bactec 9240 and BacT/Alert 3D, in the detection of *Candida* spp. and bacteria with polymicrobial sepsis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2012;31(11):2983-7.
11. Klingspor L, Ullberg M, Rydberg J, Kondori N, Serrander L, Swanberg J, et al. Epidemiology of fungaemia in Sweden: A nationwide retrospective observational survey. *Mycoses*. 2018;61(10):777-85.
12. Klotz SA, Chasin BS, Powell B, Gaur NK, Lipke PN. Polymicrobial bloodstream infections involving *Candida* species: analysis of patients and review of the literature. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2007;59(4):401-6.
13. Mellinghoff SC, Cornely OA, Jung N. Essentials in *Candida* bloodstream infection. *Infection*. 2018;46(6):897-9.
14. Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. *Nature reviews Disease primers*. 2018;4:18026.
15. Public Health England. (2019). Investigation of blood cultures (for organisms other than *Mycobacterium* species). UK Standards for Microbiology Investigations. B 37 Issue 8.2. Available from: <https://www.gov.uk/guidance/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. London: National Health Service (NHS). p. 1-51.
16. Referensgruppen för Antimykotika. Laboratoriediagnostik och farmakologisk monitorering av invasiva svampinfektioner i Sverige 2022. Available from: <https://infektion.net/wp-content/uploads/2021/08/ram-laboratoriediagnostik-och-farmakologisk-monitorering-av-invasiva-svampinfektioner-i-sverige.pdf>.
17. Sjölin J HL. Svampinfektioner (invasiva), behandling [Internet]. Göteborg Internetmedicin.se, [uppdaterad 2018-01-14; citerad 2019-08-30]. Available from: <https://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=614>.
18. Stempel JM, Farmakiotis D, Tarrand JJ, Kontoyiannis DP. Time-to-reporting of blood culture positivity and central venous catheter-associated *Candida glabrata* fungemia in cancer patients. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2016;85(3):391-3.



### 3.3 DIREKTPÅVISNING AV BAKTERIER OCH JÄSTSVAMP I BLOD

Under de senaste två decennierna har molekylära metoder såsom PCR utvecklats för detektion av bakterier och jästsvampar direkt från patientens blod. Dessa metoder har generellt högre eller lika hög känslighet jämfört med blododling men kräver utrustning och är mycket mer kostsamma jämfört med blododling. Tabell 5 sammanfattar de metoder som finns tillgängliga idag:

**Tabell 5. Metoder för diagnostik på blod före inkubering**

System	Metod	Tid till svar (timmar)	Täckning mikroorganismer
SepsiTest Molzylm, Bremen, Tyskland	Bredspektrum PCR + sekvensering	6	>345 bakterier (grampositiva och gramnegativa), svamp
MagicPlex Seegene, Seoul, Korea	Multiple PCR + multiplex RT PCR	3–5	21 bakterier (grampositiva och gramnegativa) speciesnivå (90 genusnivå), 6 svamp
T2Dx, T2 Biosystems, Lexington, MA, USA	Magnetisk resonansteknologi	3–5.5	6 bakterier (grampositiva, gramnegativa) eller 5 jästsvamp

#### Referenser Direktpåvisning av bakterier och jästsvamp i blod:

1. Clancy CJ, Nguyen MH. T2 magnetic resonance for the diagnosis of bloodstream infections: charting a path forward. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2018;73(suppl\_4):iv2-iv5.
2. Krifors A, Ullberg M, Castegren M, Petersson J, Sparrelid E, Hammarström H, et al. T2Candida Assay in the Diagnosis of Intraabdominal Candidiasis: A Prospective Multicenter Study. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(1).

3. Krifors A, Ullberg M, Castegren M, Petersson J, Sparrelid E, Özenci V, Blennow O. Combining T2Bacteria and T2Candida Panels for Diagnosing Intra-Abdominal Infections: A Prospective Multicenter Study. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(8).
4. Nieman AE, Savelkoul PHM, Beishuizen A, Henrich B, Lamik B, MacKenzie CR, et al. A prospective multicenter evaluation of direct molecular detection of blood stream infection from a clinical perspective. *BMC Infect Dis*. 2016;16:314.
5. Zboromyrska Y, Cillóniz C, Cobos-Trigueros N, Almela M, Hurtado JC, Vergara A, et al. Evaluation of the Magicplex™ Sepsis Real-Time Test for the Rapid Diagnosis of Bloodstream Infections in Adults. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:56.