

Rekommenderade metoder:

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

Version 1.0 December 2021



För Föreningen i Klinisk Mikrobiologi

Claes Henning, Borås

Bodil Jönsson, Göteborg

Tor Monsen, Umeå

Karin Wallgren, Stockholm

Anna Åkerlund, Jönköping/Linköping

Volkan Özenci, Stockholm

## Bakgrund

Föreningen för Klinisk Mikrobiologi (FKM) har sedan 1990-talet samordnat arbetet 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 har ett arbete påbörjats med att modernisera Referensmetodiken och vid FKMs årsmöte har, baserat på nya behov inom Klinisk Mikrobiologi, beslutats om en förändrad inriktning vid framtagandet av ny metodik. Det nya formatet, som går under namnet ”Föreningen för Klinisk Mikrobiologis rekommenderade metoder”, är att fokusera på de viktigaste delarna i metodiken som rekommenderas (preanalys, analys och postanalys). Rekommendationerna ska vara ett stöd för vården vid val av metodik, diskussioner kring arbetsflöde och tvärprofessionella diskussioner kring mikrobiologisk diagnostik. För bästa patientnytta krävs konsensus mellan laboratoriet och lokala kliniska beslutsfattare om betydelsen av god, men också snabb diagnostik, då organisatoriska förändringar vanligen krävs för att minska ledtider i alla led, från patient till mikrobiologiskt svar.

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.

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.

Den första delen är nu färdigställd och jag som huvudredaktör vill rikta ett stort tack till hela arbetsgruppen och särskilt till Anna Åkerlund för allt det jobb som lagts ned på att ta fram underlag, granska och sammanställa den nya rekommendationen.

Martin Sundqvist, Huvudredaktör, Örebro, December 2021.

## Allmänt

Denna rekommendation är en generell uppdatering och ersätter nu ”Referensmetodik för laborierediagnostik vid kliniskt mikrobiologiska laboratorier. I. Infektionsdiagnostik. I. 4 Bakteriemi-diagnostik” från 1993.

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 kärlkatetrar. 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 de nya 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 odlings sensitivitet 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

Bakgrund .....	2
Allmänt .....	4
Innehållsförteckning.....	5
Definitioner .....	7
1. BLODODLING .....	8
1.1 PREANALYS .....	8
1.1.1 Indikation .....	8
1.1.2 Remissuppgifter .....	9
1.1.3 Provtagning .....	9
1.1.3.1 Provmaterial .....	9
1.1.3.2 Inför provtagning.....	9
1.1.3.3 Blododlingsflaskor .....	10
1.1.3.4 Provtagningslokal .....	10
1.1.3.5 Desinfektion .....	10
1.1.3.6 Blodvolym och turordning.....	11
1.1.3.7 Provtagning vid blododling av barn.....	11
1.1.4 Transport efter provtagning.....	12
1.2 ANALYS .....	14
1.2.1 Remissregistrering.....	14
1.2.2 Blododlingssystem.....	14
1.2.3 Inkubationstid .....	14
1.2.4 Tid till omhändertagande av positiv flaska .....	15
1.2.5 Omhändertagande av positiv flaska.....	15
1.2.5.1 Snabb artbestämning .....	16
1.2.5.2 Direkt resistensbestämning.....	16
1.2.5.3 Utodling .....	17
1.2.5.4 Hjälpmetoder för artidentifiering.....	17
1.2.5.5 Larm om växt, positiv direktmikroskopi men utebliven växt efter vidare odling .....	21
1.2.5.6 Larm om växt men negativ i direktmikroskopi.....	21
1.2.5.7 Polymikrobiell blododling.....	21
1.3 POSTANALYS.....	23
1.3.1 Preliminärsvår .....	23

1.3.2 Slutsvar .....	26
1.4. ÖVRIGA ASPEKTER PÅ BLODODLING .....	27
1.4.1 Särskilda aspekter avseende diagnostik av fungemi .....	27
1.4.2 Anmälningssplikt .....	28
1.4.3 Frysning av stammar .....	28
1.4.4 Kvalitetssäkring .....	28
2 SPECIALAVSNITT .....	29
2.1 DIAGNOSTIK VID MISSTÄNKT KATETERRELATERAD INFEKTION I BLODBANAN (CRBSI) .....	29
2.1.2 Metoder .....	30
2.1.2.1 Metoder för extraherad kateter .....	30
2.1.2.2 Metod vid kvarvarande kateter .....	31
2.1.2.3 Odling av implanterad venös kateter (t. ex. Porta Cath) .....	32
2.2 DIAGNOSTIK AV INFEKTIÖS ENDOKARDIT (IE) .....	32
2.2.1 Art- och resistensbestämning vid infektiös endokardit .....	33
2.2.2 Blododlingsnegativ infektiös endokardit .....	33
2.2.3 Mikrobiologisk diagnostik av biologisk hjärtklaff .....	33
2.2.4 Histopatologi .....	34
2.2.5 Mikrobiologisk diagnostik av kablar och icke-biologisk hjärtklaff .....	34
3 Förtydliganden och kommentarer .....	35
3.1 Blododling allmänt .....	33
3.2 Desinfektion .....	35
3.3 Avskiljning av första portionen blod .....	36
3.4 Blodvolym .....	36
3.5 Blododlingsflaskor .....	36
3.6 Transport efter provtagning .....	37
3.7 Larm om växt .....	35
3.8 Tid till omhändertagande av positiv flaska .....	38
3.9 Blododling från barn .....	38
3.10 Fungemi .....	39
3.11 Direktpåvisning av bakterier och jästsvamp i blod .....	39
Referenser .....	41

## 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 (Porth-A-Cath) och peripheral inserted central catheter-line ("picc-line").

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

**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.

**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.

# 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
- Avskiljande av första portionen blod minskar risken för kontamination av blododlingen
- 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 och remitterande klinik.

Flaskor från vissa leverantörer kräver 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 minst två flaskpar med sammanlagt minst 40 mL blod (minst 10 mL/flaska). För provtagning på små barn rekommenderas användandet av särskilda pediatrika flaskor, vilka är avsedda för mindre blodvolym. Se särskilda anvisningar i stycket ”Provtagning vid blododling av barn”.

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 ”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.

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 kompletteras med odling perifert. Blododling endast från central infart kan dock vara ett måste om perifer provtagning inte är möjlig. Se särskilda anvisningar i stycket ”Kateterrelaterad infektion”. 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/>

Före prov tas till odlingsflaskor bör de första 3-5 mL blod 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 (5-10 mL) kasseras.

#### 1.1.3.6 Blodvolym och turordning

Samtliga odlingsflaskor för blododling fylls i följd från samma venpunktion 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. Aerob flaska fylls först då inokulering av syre i anaerob flaska annars har negativa konsekvenser för tillväxten av strikt anaeroba bakterier. 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.

#### 1.1.3.7 Provtagning vid blododling av barn

Sensitiviteten är avhängig den volym blod som odlas men hos neonatala/mindre barn är en praktisk avvägning att odlad volym ska uppgå till högst 4 % av den totala blodvolymen hos barnet (Tabell 1). Odlad volym ska dock vara minst 1 mL. Liksom hos vuxna rekommenderas venös provtagning. Vid odling från kärlkateter bör detta om möjligt kombineras med venprov för att utesluta kateterkolonisation. Blod från navelkatetrar ska generellt 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, efter byte till ren kanyl och desinfektion av flaskans membran, till odlingsflaskan.

För att minska risk för kontamination av blododling kan man hos större barn, likt vuxna, avskilja den första portionen blod vid provtagning och kassera/använda till kemiska analyser. Som riktmärke kan 3 mL avskiljas vid vikt >13 kg och 3-5 mL vid vikt >36 kg.

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

<b>Vikt barn (kg)</b>	<b>Total blodvolym barn (mL)</b>	<b>Motsvarar % av total blodvolym</b>	<b>Rekommenderad totalvolym för blododling (mL), fördelas beroende på mängd och flasktyp</b>	<b>Rekommenderad flasktyp</b>
<1	50 – 99	<4	1 – 2	barnflaska*
1 - 2	100 – 200	4	4	barnflaska*
>2 - <13	>200	3	6	barnflaska* x 2
13 - 36	>800	2,5	20	aerob + anaerob
>36	>2 200	1,8 - 2,7	40 - 60	aerob + anaerob x 2-3

\*Observera att barnflaskan är en aerob odlingsflaska. Vid misstanke om växt av anaeroba bakterier bör komplettering med anaerob odling i vuxenflaska övervägas. Exempel på anaeroba infektioner hos barn är bukinfektion, abscesser, Lemierres syndrom, protesendokardit, misstänkt sepsis hos neonatala barn som erhållit profylaktiskt probiotika etc.).

#### 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).



## 1.2 ANALYS

### Huvudbudskap analys

- Semiautomatiserade blododlingssystem ska användas
- 5 dagars inkubationstid är tillräcklig i normalfallet
- Förlängd odling krävs vid misstanke om protesendokardit, 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 målvolymer.

#### 1.2.2 Blododlingssystem

Kommersiella semiautomatiserade blododlingssystem rekommenderas. Dessa system använder buljongflaskor med atmosfäriskt undertryck. Odlingsskåpen 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, 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 klädrutin 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.

- 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), objektsglas 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 omhändertagandet ske i mikrobiologisk säkerhetsbänk inom laboratorium med minst skyddsnivå 3 enligt Arbetsmiljöverkets författningssamling AFS 2018:4 om smittrisker alternativt skickas till laboratorium med möjlighet för sådan diagnostik. Proverna ska då packas och transporteras enligt särskilt regelverk; se ”Packa provet rätt” på [www.folkhalsomyndigheten.se](http://www.folkhalsomyndigheten.se). Relativt ofta uppkommer en svag misstanke om växt av ovanstående agens p.g.a. av larmtid överstigande 72 timmar i aeroba flaskor. 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.

#### 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 Preliminärsvär”.

#### 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 resistent 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 2).

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 (10 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 2.

#### **Tabell 2 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- (10 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 artidentifiering

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 3.

### 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 *Campylobacter jejuni/coli* (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 3 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- (10 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 2) 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 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.

## 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 bakteriart/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.

Utförd åtgärd 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 stafylokock
- 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.

### Artbestämning från koloni

Alla fynd som bedöms kliniskt relevanta bör artbestämmas. Om isolatens koloniutseende är samstämmigt i samtliga positiva flaskor kan artbestämning från en flaska 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. Alfastreptokocker (viridans) besvaras minst med grupptillhörighet. Efter artbestämning skickas nytt preliminärsvår och om fyndet kräver justering av antibiotikabehandling eller tydligt påverkar handläggningen kommuniceras fyndet även per telefon.

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”.

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”.

### 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 resistensbestämning utföras från båda lokalerna.

Nytt svar skickas 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.

### 1.3.2 Slutsvar

Slutsvar 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.

## 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. 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 2)

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 infekterade. 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: <https://infektion.net/wp-content/uploads/2021/08/ram-laboriediagnostik-och-farmakologisk-monitorering-av-invasiva-svampinfektioner-i-sverige.pdf>.

#### 1.4.2 Anmälningssplikt

Vissa invasiva isolat ska anmälas enligt smittskyddslagen. Flera av dessa ska också skickas till Folkhälsomyndigheten för nationell övervakning. Se <https://www.folkhalsomyndigheten.se/>

#### 1.4.3 Frysning av stammar

Alla blododlingsfynd från ny episod som bedöms kliniskt relevanta, bör sparas frysta i  $-70^{\circ}\text{C}$  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.

#### 1.4.4 Kvalitetssäkring

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.
  - a. Måltal  $<3\%$

4. Tid från larm om växt till första preliminärsvär (se kommentar under stycke 2.2.4 ”Tid till omhändertagande av positiv flaska”, gällande förutsättningar och logistik att väga in i uppfyllelsen av måltalet).
  - a. Måltal 95 % inom 2 h

## 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 laboriefynd 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 om möjligt 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.

### 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 laboratoriet 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 ("Differential time to positivity (DTTP)") baseras på att blodet i 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 CVI.
- Blodvolymerna är identiska (10 mL/blododlingsflaska från CVI respektive perifert stick).
- Flaskaren följs åt från provtagning till inkubering och snarast möjligt transporteras till mikrobiologiskt laboratorium.
- Blododlingen inte uppvisar polymikrobiell växt.

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

### 3.1.2.3 Odling av implanterad venös kateter (t. ex. Porta Cath)

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.

## 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. Alfastreptokocker (viridans) besvaras med gruppstillhörighet. Resistensbestämning utförs på alla fynd och vid endokardit kan särskilda krav på resistens-/MIC-bestämning 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 19-27 % 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 lågpatogena fynd. Samtliga ovanstående provtagnings sätt är dock kopplade med risk för kontamination vilket bör beaktas. Odlingsfynd bör vägas samman med fynd i andra odlingar.

## 3 Förtydliganden och kommentarer

### 3.1 Blododling allmänt

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.

### 3.2 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 steriltförpackade 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.

### 3.3 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.

### 3.4 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. 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 provtagningsstillfälle 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.

### 3.5 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 venpunktion. 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.

### 3.6 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.

### 3.7 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.

### 3.8 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, 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 ambulera och kontinuerligt verkande antibiotika-rådgivnings/STRAMA-team.

### 3.9 Blododling från barn

Liksom hos vuxna är den enskilt viktigaste parametern, vid blododling av barn, 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.

- Använd helst speciella barn-/lågvolymflaskor för små blodmängder, då de är anpassade för att upprätthålla ett bra blod/medium-ratio.
- Om barnflaskor inte är tillgängliga används aerob vuxenflaska. Anaerob vuxenflaska bör övervägas vid misstänkt anaerob infektion.
- 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.

### 3.10 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 ”Laboriediagnostik och farmakologisk monitorering av invasiva svampinfektioner i Sverige”, författat av Referensgruppen för Antimykotika (RAM): <https://infektion.net/wp-content/uploads/2021/08/ram-laboriediagnostik-och-farmakologisk-monitorering-av-invasiva-svampinfektioner-i-sverige.pdf>.

### 3.11 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. Det finns för närvarande bara en enda FDA-godkänt metod, T2 Dx. 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 Molzym, 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

1. World Health Organization. Laboratory biosafety manual. Third edition. Geneva, WHO. 2004.  
<https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1>
2. Principles and procedures for blood cultures; approved standard—1st ed. CLSI document M47-A.: Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA., 2007.
3. 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; 269-89.
4. Public Health England. (2017). Investigation of intravascular cannulae and associated specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. B 20 Issue 6.1. London: National Health Service (NHS), 2017; 1-24.  
<https://www.gov.uk/government/collections/standards-for-microbiology-investigations-smi>
5. Public Health England. (2019). Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species). UK Standards for Microbiology Investigations. B 37 Issue 8.2. London: National Health Service (NHS), 2019; 1-51.  
<https://www.gov.uk/government/collections/standards-for-microbiology-investigations-smi>
6. Vårdprogram, Infektiös endokardit, rev 2021. Svenska infektionsläkarföreningen, 2021.
7. Acuña M, O’Ryan M, Cofré J 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**: 681-5.
8. Alestig K, Hogevik H, Olaison L. Infective endocarditis: a diagnostic and therapeutic challenge for the new millennium. *Scand J Infect Dis* 2000; **32**: 343-56.
9. Almuhayawi M, Altun O, Abdulmajeed AD et al. 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**: e0142398.
10. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M et al. 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**: 4130-6.
11. Altun O, Botero-Kleiven S, Carlsson S et al. 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**: 1346-52.
12. Arbetsmiljöverket. Smittrisker (AFS 2018:4). <https://www.av.se>
13. 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**: 609-14.
14. Baddour LM, Epstein AE, Erickson CC et al. Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010; **121**: 458-77.
15. Baddour LM, Epstein AE, Erickson CC et al. A summary of the update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *J Am Dent Assoc* 2011; **142**: 159-65.
16. 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**: 1332-9.

17. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *American journal of clinical pathology* 2008; **130**: 870-6.
18. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP 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**: e22-e121.
19. 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**: 1677-80.
20. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC et al. Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol* 2003; **41**: 3119-25.
21. Ben-Ami R, Weinberger M, Orni-Wasserlauff R et al. Time to blood culture positivity as a marker for catheter-related candidemia. *J Clin Microbiol* 2008; **46**: 2222-6.
22. Binkhamis K, Forward K. Effect of the initial specimen diversion technique on blood culture contamination rates. *J Clin Microbiol* 2014; **52**: 980-1.
23. Bouza E, Alcalá L, Muñoz P et al. Can microbiologists help to assess catheter involvement in candidaemic patients before removal? *Clin Microbiol Infect* 2013; **19**: E129-35.
24. Bouza E, Alvarado N, Alcalá L 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**: 1096-100.
25. 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**: 265-74.
26. Bouza E, Burillo A, Muñoz P et al. Mixed bloodstream infections involving bacteria and *Candida* spp. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 2013; **68**: 1881-8.
27. Bouzidi H, Emirian A, Marty A et al. 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**: 192-9.
28. Brun-Buisson C, Abrouk F, Legrand P et al. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Arch Intern Med* 1987; **147**: 873-7.
29. Calabrese F, Carturan E, Thiene G. Cardiac infections: focus on molecular diagnosis. *Cardiovasc Pathol* 2010; **19**: 171-82.
30. Cardoso CL, Muraro CB, Siqueira VL et al. Simplified technique for detection of significant bacteriuria by microscopic examination of urine. *J Clin Microbiol* 1998; **36**: 820-3.
31. Cascone VJ, Cohen RS, Dodson NP et al. Implications of culture collection after the first antimicrobial dose in septic emergency department patients. *The American journal of emergency medicine* 2019; **37**: 947-51.
32. Catton JA, Dobbins BM, Kite P 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**: 787-91.

33. Chaiyakunapruk N, Veenstra DL, Lipsky BA et al. 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**: 764-71.
34. 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**.
35. 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**.
36. Cheng MP, Stenstrom R, Paquette K 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**: 547-54.
37. Chung Y, Kim IH, Han M et al. A comparative evaluation of BACT/ALERT FA PLUS and FN PLUS blood culture bottles and BD BACTEC Plus Aerobic and Anaerobic blood culture bottles for antimicrobial neutralization. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 2019; **38**: 2229-33.
38. 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**: 1284-92.
39. Clancy CJ, Nguyen MH. Diagnosing Invasive Candidiasis. *J Clin Microbiol* 2018; **56**.
40. Cockerill FR, 3rd, Wilson JW, Vetter EA et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2004; **38**: 1724-30.
41. Collin J. Svårigheter i att detektera *Candida albicans* i blododling vid samtidig bakteriemi. . *Examensarbete BMA062 Sahlgrenska akademien* 2019.
42. Connell TG, Rele M, Cowley D et al. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for culture in routine practice in a children's hospital. *Pediatrics* 2007; **119**: 891-6.
43. Dawson S. Blood culture contaminants. *J Hosp Infect* 2014; **87**: 1-10.
44. Dayer MJ, Jones S, Prendergast B et al. Incidence of infective endocarditis in England, 2000-13: a secular trend, interrupted time-series analysis. *Lancet* 2015; **385**: 1219-28.
45. Diekema D, Arbefeville S, Boyken L et al. The changing epidemiology of healthcare-associated candidemia over three decades. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2012; **73**: 45-8.
46. Dien Bard J, McElvania TeKippe E. Diagnosis of Bloodstream Infections in Children. *J Clin Microbiol* 2016; **54**: 1418-24.
47. 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**: 203-6.
48. 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**: 200-9.

49. Dwivedi S, Bhalla R, Hoover DR et al. Discarding the initial aliquot of blood does not reduce contamination rates in intravenous-catheter-drawn blood cultures. *J Clin Microbiol* 2009; **47**: 2950-1.
50. 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**: 202-7.
51. Erb S, Frei R, Schregenberger K et al. 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**: 541-4.
52. Ericson EL, Klingspor L, Ullberg M et al. 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**: 153-6.
53. ESCMID. European Manual of Clinical Microbiology. 1st edition. 2012.
54. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive care medicine* 2021; **47**: 1181-247.
55. 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**: 683-6.
56. Fang H, Ohlsson AK, Ullberg M et al. 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**: 3073-7.
57. Fernández-Cruz A, Martín-Rabadán P, Suárez-Salas M et al. Is it feasible to diagnose catheter-related candidemia without catheter withdrawal? *Medical mycology* 2014; **52**: 491-7.
58. Folkhälsomyndigheten. Packa provet rätt. 2020; 22.
59. Gahlot R NC, Kumar V, Yadav G, Anupurba S. Catheter-related bloodstream infections. *Int J Crit Illn Inj Sci* 2014; **4**: 162-7.
60. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry J 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**: 1222-37.
61. Gonsalves WI, Cornish N, Moore M et al. Effects of volume and site of blood draw on blood culture results. *J Clin Microbiol* 2009; **47**: 3482-5.
62. Gowardman JR, Jeffries P, Lassig-Smith M et al. A comparative assessment of two conservative methods for the diagnosis of catheter-related infection in critically ill patients. *Intensive care medicine* 2013; **39**: 109-16.
63. Greub G, Lepidi H, Rovey C et al. Diagnosis of infectious endocarditis in patients undergoing valve surgery. *Am J Med* 2005; **118**: 230-8.
64. 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**: 264-73.
65. Guembe M, Martín-Rabadán P, Cruces R et al. 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.

66. Guembe M, Martin-Rabadan P, Cruces R et al. 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.
67. Haimi-Cohen Y, Shafinoori S, Tucci V et al. 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**: 968-74.
68. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clinical microbiology reviews* 2006; **19**: 788-802.
69. Hamed A, Mamoury GA, Akhlaghi F. A comparative study of blood culture sampling from umbilical catheter line versus peripheral site. *Acta medica Iranica* 2010; **48**: 231-3.
70. Hockey LJ, Fujita NK, Gibson TR et al. Detection of fungemia obscured by concomitant bacteremia: in vitro and in vivo studies. *J Clin Microbiol* 1982; **16**: 1080-5.
71. Hogevik H, Olaison L, Andersson R et al. Epidemiologic aspects of infective endocarditis in an urban population. A 5-year prospective study. *Medicine (Baltimore)* 1995; **74**: 324-39.
72. Hoiby N, Bjarnsholt T, Moser C 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.
73. Humphries RM, Kircher S, Ferrell A et al. 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**.
74. Isaacman DJ, Karasic RB, Reynolds EA et al. Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. *The Journal of pediatrics* 1996; **128**: 190-5.
75. 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.
76. Kaasch AJ, Rieg S, Hellmich M et al. Differential time to positivity is not predictive for central line-related Staphylococcus aureus bloodstream infection in routine clinical care. *J Infect* 2014; **68**: 58-61.
77. 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**: 2181-5.
78. Klingspor L, Lindback E, Ullberg M et al. Seven years of clinical experience with the Yeast Traffic Light PNA FISH: Assay performance and possible implications on antifungal therapy. *Mycoses* 2018; **61**: 179-85.
79. 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**: 2983-7.
80. Klingspor LH, J. Svampinfektioner (invasiva), diagnostik. Stockholm: Internetmedicin.se, [uppdaterad 2018-01-21]. <https://www.internetmedicin.se>
81. Klotz SA, Chasin BS, Powell B et al. Polymicrobial bloodstream infections involving Candida species: analysis of patients and review of the literature. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2007; **59**: 401-6.

82. Kumar A, Sharma RM, Jaideep CN et al. Diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infection without catheter removal: A prospective observational study. *Med J Armed Forces India* 2014; **70**: 17-21.
83. Lalezari A, Cohen MJ, Svinik O et al. A simplified blood culture sampling protocol for reducing contamination and costs: a randomized controlled trial. *Clin Microbiol Infect* 2020; **26**: 470-4.
84. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC et al. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections? A State-of-the Art. *Front Microbiol* 2016; **7**: 697.
85. Lamy B, Roy P, Carret G et al. 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**: 842-50.
86. Lancaster DP, Friedman DF, Chiotos K et al. 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**: 3609-13.
87. Lee A, Mirrett S, Reller LB et al. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *Journal of clinical microbiology* 2007; **45**: 3546-8.
88. Leyssene D, Gardes S, Vilquin P et al. 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**: 1537-41.
89. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *Journal of clinical microbiology* 1994; **32**: 2829-31.
90. Li JS, Sexton DJ, Mick N 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**: 633-8.
91. Liesman RM, Pritt BS, Maleszewski JJ et al. Laboratory Diagnosis of Infective Endocarditis. *Journal of clinical microbiology* 2017; **55**: 2599-608.
92. Lin JN, Lai CH, Chen YH 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**: 1072-9.
93. Liumbruno GM, Catalano L, Piccinini V et al. 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 transfusion = Trasfusione del sangue* 2009; **7**: 86-93.
94. Lobmaier IV, Vege A, Gaustad P et al. 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**: 1191-8.
95. Läkemedelsverket. Neonatal sepsis – ny behandlingsrekommendation. Information från Läkemedelsverket. 2013;24(3):15–25.
96. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med* 1977; **296**: 1305-9.
97. Melhus Å. Bakteriologisk diagnostik i neonatalperioden. Information från läkemedelsverket 2013;24(3):44-47.
98. Mellinghoff SC, Cornely OA, Jung N. Essentials in Candida bloodstream infection. *Infection* 2018; **46**: 897-9.

99. Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B et al. In vitro Evaluation of BACT/ALERT® VIRTUO®, BACT/ALERT 3D®, and BACTEC™ FX Automated Blood Culture Systems for Detection of Microbial Pathogens Using Simulated Human Blood Samples. *Front Microbiol* 2019; **10**: 221.
100. Mermel LA, Maki DG. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med* 1993; **119**: 270-2.
101. Mitteregger D, Barousch W, Nehr M et al. Neutralization of antimicrobial substances in new BacT/Alert FA and FN Plus blood culture bottles. *J Clin Microbiol* 2013; **51**: 1534-40.
102. Monsen T, Lövgren E, Widerström M et al. In Vitro Effect of Ultrasound on Bacteria and Suggested Protocol for Sonication and Diagnosis of Prosthetic Infections. *Journal of Clinical Microbiology* 2009; **47**: 2496-501.
103. Morris AJ, Drinkovic D, Pottumarthy S et al. 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**: 697-704.
104. Munoz P, Bouza E, Marin M et al. Heart valves should not be routinely cultured. *Journal of clinical microbiology* 2008; **46**: 2897-901.
105. Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE et al. Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol* 2003; **41**: 495-7.
106. 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**: 858-62.
107. Orihuela-Martín J, Rodríguez-Núñez O, Morata L 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**: 383.e1-e7.
108. Ortiz C, Lopez J, Garcia H et al. Clinical classification and prognosis of isolated right-sided infective endocarditis. *Medicine (Baltimore)* 2014; **93**: e137.
109. Ozenci V, Tegmark-Wisell K, Lundberg C et al. Rapid culture and identification: a practical method for early preliminary laboratory diagnosis of sepsis. *Clin Microbiol Infect* 2008; **14**: 177-80.
110. Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC et al. Invasive candidiasis. *Nature reviews Disease primers* 2018; **4**: 18026.
111. Parienti JJ, du Cheyron D, Ramakers M et al. Alcoholic povidone-iodine to prevent central venous catheter colonization: A randomized unit-crossover study. *Critical care medicine* 2004; **32**: 708-13.
112. Patton RG, Schmitt T. Innovation for reducing blood culture contamination: initial specimen diversion technique. *J Clin Microbiol* 2010; **48**: 4501-3.
113. Pavlaki M, Poulakou G, Drimousis P et al. Polymicrobial bloodstream infections: Epidemiology and impact on mortality. *Journal of global antimicrobial resistance* 2013; **1**: 207-12.
114. Péan de Ponfilly G, Benmansour H, Manda V 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.
115. Petti CA, Bhally HS, Weinstein MP et al. 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**: 257-9.
116. Quittnat Pelletier F, Joarder M, Poutanen SM et al. Evaluating Approaches for the Diagnosis of Hemodialysis Catheter-Related Bloodstream Infections. *Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN* 2016; **11**: 847-54.
117. Raad I, Hanna H, Maki D. Intravascular catheter-related infections: advances in diagnosis, prevention, and management. *The Lancet Infectious diseases* 2007; **7**: 645-57.
118. Raad I, Hanna HA, Alakech B et al. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. *Ann Intern Med* 2004; **140**: 18-25.
119. Rand KH, Beal SG, Rivera K et al. Hourly Effect of Pretreatment With IV Antibiotics on Blood Culture Positivity Rate in Emergency Department Patients. *Open Forum Infect Dis* 2019; **6**: ofz179.
120. Razimi R. MP. ABC om Infektiös endokardit. *Läkartidningen* 2019; **116**: 1-5.
121. Riedel S. The value of postmortem microbiology cultures. *J Clin Microbiol* 2014; **52**: 1028-33.
122. Ronnberg C, Mildh M, Ullberg M et al. Transport time for blood culture bottles: underlying factors and its consequences. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2013; **76**: 286-90.
123. Roth A, Wiklund AE, Pålsson AS et al. Reducing blood culture contamination by a simple informational intervention. *J Clin Microbiol* 2010; **48**: 4552-8.
124. Roveery C, Greub G, Lepidi H et al. PCR detection of bacteria on cardiac valves of patients with treated bacterial endocarditis. *Journal of clinical microbiology* 2005; **43**: 163-7.
125. Rupp ME, Cavalieri RJ, Marolf C et al. 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**: 201-5.
126. Ruus CS, S. Magnusson, T. Snygg-Martin, U. Studahl, M. Andersson, L-M. Tidig infektionskonsult gav effect vid Staphylococcus aureus-bakteriemi. *Läkartidningen* 2018; **3**: 88-91.
127. Sarkar S, Bhagat I, DeCristofaro JD et al. 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**: 18-22.
128. Sautter RL, Bills AR, Lang DL et al. 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**: 1245-9.
129. Savage TJ, Rao S, Joerger J et al. 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**.
130. Scheer CS, Fuchs C, Grundling M 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**: 326-31.
131. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA et al. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *The Journal of pediatrics* 1996; **129**: 275-8.
132. Sherertz RJ, Raad, II, Belani A et al. Three-year experience with sonicated vascular catheter cultures in a clinical microbiology laboratory. *Journal of clinical microbiology* 1990; **28**: 76-82.



133. Silver H SA. A practical and efficacious method for obtaining significant postmortem blood cultures. *American journal of clinical pathology* 1969; **52**: 433-7.
134. Sjölin J HL. Svampinfektioner (invasiva), behandling. Göteborg. [uppdaterad 2021-10-12]. <https://www.internetmedicin.se>.
135. Stempel JM, Farmakiotis D, Tarrand JJ et al. 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**: 391-3.
136. Syed S, Liss DT, Costas CO et al. Diversion Principle Reduces Skin Flora Contamination Rates in a Community Hospital. *Archives of pathology & laboratory medicine* 2020; **144**: 215-20.
137. Taniguchi T, Tsuha S, Shiiki S et al. 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.
138. Towns ML, Jarvis WR, Hsueh PR. Guidelines on blood cultures. *J Microbiol Immunol Infect* 2010; **43**: 347-9.
139. Venturelli C, Righi E, Borsari L 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**: e0169466.
140. Vondracek M, Sartipy U, Aufwerber E et al. 16S rDNA sequencing of valve tissue improves microbiological diagnosis in surgically treated patients with infective endocarditis. *The Journal of infection* 2011; **62**: 472-8.
141. Werner M, Andersson R, Olaison L et al. A 10-year survey of blood culture negative endocarditis in Sweden: aminoglycoside therapy is important for survival. *Scand J Infect Dis* 2008; **40**: 279-85.
142. Yu D, Larsson A, Parke Å et al. Single-Sampling Strategy vs. Multi-Sampling Strategy for Blood Cultures in Sepsis: A Prospective Non-inferiority Study. *Front Microbiol* 2020; **11**: 1639.
143. Zaidi AK, Knaut AL, Mirrett S et al. Value of routine anaerobic blood cultures for pediatric patients. *The Journal of pediatrics* 1995; **127**: 263-8.
144. Zimmerman FS, Karamah H, Ben-Chetrit E et al. 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.