

Hemokultivace

Zpracoval: prim. RNDr. Roman Jirsa, Oddělení klinické mikrobiologie ONMB

Oponoval: prim. MUDr. Ivan Herold, Anestesiologicko-resuscitační oddělení ONMB

Indikace:

Hemokultivace mají význam zejména u pacientů se známkami těžké sepse a sepse, u pacientů s infekčním procesem nejasné lokalizace a u infekčních procesů z nichž je nemožné či obtížné odebrat přímý materiál k mikrobiologickému vyšetření.

Záchyt klíčového patogena hemokultivací je obecně nejvyšší u infekčních procesů lokalizovaných či komunikujících s krevním řečištěm a u infekcí spojených se vznikem septického stavu.

Očekávaná průměrná záchytnost původce u vybraných infekčních procesů:

Katetrové infekce krevního řečiště: >90%

Endokarditida: - bakteriální: 85-95%

- candidová: 50%

Pyelonefritida: 40%

Septická artritida: 10-20%

Pneumonie: - G+ a G- neventilátorové: 30 - 40%

- ventilátorové: 10%

Abscesy:- hepatální, sleziny, perinefritický, itrarenální, plicní: 30 -50 %

- retroperitoneální: 25%

- pankreatu: asi jen zřídka

Poznámka: Většina abscesů je polymikrobiálních ale v hemokultuře se obvykle zachytí jen jedna či dvě bakterie. Předpokládaný patogení podíl těchto bakterií je třeba zvážit – doporučujeme případnou individuální mikrobiologickou konzultaci.

Spontánní bakteriální peritonitida: 25%

Osteomyelitida: - v důsledku hematogenního rozsevu: 50%

- vertebrální: 20-50%

- ostatní formy: Obvykle nízká záchytnost (zejména v chronické fázi)

Systémové candidosy: 10-40%

Hemokultivací lze prokázat infekce vyvolané většinou klinicky relevantních druhů bakterií, kvasinek a hub, včetně řady růstově náročných patogenů.

Někteří vzácnější obtížně kultivovatelní patogenové jsou hemokultivací obtížně prokazatelní, nebo je třeba trvání hemokultivace prodloužit, hemokultivační médium v laboratoru obohatit růstovými suplementy, případně zvolit jiný způsob odečtu hemokultivační lahvičky. **Při suspekci na infekci vyvolanou méně běžnými a růstově náročnými mikroby upozorněte na žádance, či lépe konzultujte odběr dopředu s klinickým mikrobiologem.**

Hemokultivací nejsou z bakteriálních patogenů zachytitelná mmj. mykoplasmata, chlamydie, Legionella pneumophilla, Coxiella burnetti.

Odběr materiálu:

1. Kdy a kolik hemokultur odebrat

Infekce vzniklé v průběhu hospitalizace, akutní a subakutní komunitní infekce

Hemokultury je optimální odebrat **na počátku vzestupu tělesné teploty, respektivě za prvních příznaků horečky** (třesavka, zimnice). Provádějí se **dva odběry** ze dvou různých míst krevního řečiště (ze dvou různých vpichů) s odstupem **20 – 30 minut**.

Odběr třetí hemokultury v rámci jedné série odběrů bývá obvykle málo přínosný a nedoporučujeme jej rutinně provádět: Vhodnější je, nejsou-li odebrané hemokultury pozitivní do 24 hodin (hlásíme na oddělení) a známky infekce u pacienta přetrvávají, provést nový odběr následující den při nástupu další febrilní špičky.

Chronický febrilní stav u komunitních pacientů (suspekce na chronickou endokarditidu, apod.)

Celkem minimálně tři odběry, provést vždy jen jeden odběr denně. Na žádanku napsat, že se jedná o dlouhodobé febrilie (v laboratoři bude zpracováno odlišným způsobem).

2. Do jakých lahviček a jaké množství krve odebrat

Na oddělení jsou distribuovány lahvičky pro aerobní a anaerobní kultivaci krve.

Aerobní lahvičky jsou BactAlert FA, BactAlert SA. **Anaerobní lahvičky** jsou BactAlert FN, BactAlert SN. .

Na základě soudobých literárních údajů a vlastní dlouhodobé analýzy výsledků hemokultivací v ONMB doporučujeme použít těchto lahviček následovně:

- 1. Při prvním odběru krve odebrat 16-20 mililitrů a rovnoměrně ji rozdělit do jedné aerobní a jedné anaerobní lahvičky.**
- 2. Při druhém a dalších odběrech stačí odebrat pouze 8-10 ml krve a vstříknout ji pouze do aerobní lahvičky (BactAlertFA). To neplatí, jedná-li se o chronické komunitní febrilie – v tomto případě vždy odebrat 16-20 mililitrů krve a rozdělit rovnoměrně do aerobní i anaerobní lahvičky.**

Ve výjimečných případech lze provést hemokultivaci z množství krve menšího než 8 ml, ne však méně než ze 3 ml odebrané krve (**nepodkročitelné minimum**). **V takovémto případě se celé odebrané množství vstříkne pouze do aerobní lahvičky.**

U malých dětí případně u pacientů s obtížným odběrem lze použít **pediatrické lahvičky** BactAlert PF. Do těchto lahviček se dává optimálně 4 ml krve, lze kultivovat i menší množství. BactAlert PF neumožňují záchyt anaerobních bakterií.

Obecně platí, že pravděpodobnost záchytu mikroba se významně snižuje s množstvím odebrané krve.

Odběr u pacientů s probíhající antibiotickou terapií:

Složení obsahu hemokultivačních lahviček částečně eliminuje účinek některých antibiotik, přesto však antibiotická terapie může vést k falešně negativním výsledkům. Je-li u pacienta ATB terapie, doporučujeme provést odběr bezprostředně před podáním další dávky (minimální koncentrace antibiotika v krvi), bez ohledu na denní rozložení febrilních špiček.

3. Desinfekce místa venepunkce

Vhodnými prostředky pro desinfekci místa venepunkce jsou např. jodofory, jodová tinktura a spitalderm.

Kvalitní desinfekce místa vpichu je často velmi důležitá pro interpretaci nálezu v hemokultuře. Pro účinnou desinfekci je klíčový čas, po který desinfekční látka působí, účinnost desinfekce je též výrazně ovlivněna smegmatickou vrstvou na pokožce.

Lze proto doporučit postup, kdy se na pokožku nejprve nastříkne vrstva desinfekce, ta se vzápětí setře kouskem sterilní gázy (**odstranění smegmatu**), desinfekce se znovu nastříkne a nechá na pokožce zaschnout (vlastní desinfekce). Vhodnými prostředky pro desinfekci místa venepunkce jsou chlorhexidin, jodofory, jodová tinktura a polyalkoholové přípravky, případně jiné přípravky pro desinfekci rukou. **Desinfekci je nutné nechat působit po dobu doporučenou výrobcem, resp. nechat ji zaschnout na pokožce.** Teprve poté se provede bez další zbytečné prodlevy venepunkce.

Odběr se provádí ve sterilních rukavicích po předchozí dezinfekci rukou. Po provedené desinfekci místa venepunkce je zcela nevhodné nahmatávat místo vpichu (žilou) – riziko kontaminace odebrané hemokultury.

Nevhodný postup při provádění desinfekce místa vpichu se projeví zvýšeným počtem kožních kontaminantů v hemokulturách (*S. epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, viridující streptokoky, sporulující mikrobi). Zvýšený výskyt gram-negativních nefermentujících tyčků ve stěrech či samotných hemokulturách může upozornit na kontaminaci samotného desinfekčního roztoku, mýdel, apod.

4. Odběr u pacientů se zavedeným žilním katetrem:

A. Pacienti bez podezření na katetrovou infekci krevního řečiště:

Není-li u pacienta podezření na katetrovou infekci upřednostněte pokud možno periferní odběr krve (vpichem) před odběrem krve pomocí zavedeného katetru. Odběr hemokultur prostřednictvím zavedených katetrů bývá obecně zatížen větší četností výskytu kontaminujících bakterií.

V případě, že je odběr přesto proveden prostřednictvím zavedeného katetru, je třeba nález interpretovat velmi opatrně zejména v případech, kdy je pozitivita hemokultury zaznamenána za více než 24 hodin po vložení do přístroje.

B. Pacienti se suspektní katetrovou infekcí krevního řečiště:

Katetrovou infekci krevního řečiště lze bez vynětí žilního katetru laboratorně odhladnout pomocí rozdílu v časech pozitivit párovaných odběrů z CŽK versus periferní krve:

Párovaný odběr z katetru a periferie:

Nejprve odeberte standardní množství krve z periferie a rozdělte ji rovnoměrně do aerobní a anaerobní lahvičky. Poté bez zbytečného prodloužení odeberte stejné množství krve z katetru a rozvněž ji rovnoměrně rozdělte do aerobní a anaerobní lahvičky. Za 30 minut pak proveďte nepárovaný odběr hemokultury (z CŽK nebo periferie – stačí pouze do aerobní lahvičky).

Důležité je, aby množství krve v párovaných lahvičkách bylo zhruba stejné. Nemůžete-li například z periferie odebrat více než 10 ml krve, vstříknete celé odebrané množství do aerobní lahvičky a anaerobní lahvičku vůbec nepoužijte. Krev z katetru pak odeberte v takovém množství, aby jste do aerobní lahvičky mohli vstříknout stejné množství jako z periferního odběru a zbytek krve odebrané z katetru vstříknete do anaerobní lahvičky.

Má-li pacient zaveden vícepramenný katetr, odeberte krev pokud možno ze středového lumen.

5. Očkování hemokultur

Krytka hemokultury se sejme před odběrem hemokultury a na zátku se nanese desinfekce, která se nechá zaschnout. Vhodnou desinfekcí jsou např. polyalkoholy a spitaderm. K desinfekci víčka hemokultury nepoužívejte desinfekční prostředky obsahující jod!

Zdrojem kontaminací mohou být částičky kůže zachycené v injekční jehle. Před očkovaním hemokultury do lahvičky je proto vhodné vyměnit jehlu na injekční stříkačce.

Vršek hemokultury ponechte volný – pokud možno jej nepřelepujte isolepou ani ničím jiným. Štítek se jménem nalepte na libovolné místo lahvičky, **nepřelepujte však čárové kody na štítku hemokultury!!!**

6. Označení žádanky

Na žádance by kromě standardních údajů měly být uvedeny zejména následující skutečnosti:

- a. jedná-li se o odběr z katetru nebo z periferie. Při párovaných odběrech katetr-periferie rovněž liší-li se některá lahvička množstvím vstříknuté krve od ostatních (o více než 2 ml).
- b. správná diagnosa a významné predispoziční faktory (onkologické diagnosy, diabetes, chronický alkoholismus, přítomnost cizích těles v organismu – chlopenní náhrady, centrální žilní katetry či jiné venosní katetry, intraperitoneální dialýza apod.).
- c. Podezření na určitý typ infekce
- d. Teplota ve febrilní špičce
- e. **Přesný čas odběru hemokultury** – podstatným způsobem ovlivňuje zpravování v laboratoři a následně záchytnost bakterií!!!

Všechny výše uvedené údaje mohou významným způsobem zpřesnit a urychlit identifikaci zachyceného mikroba.

7. Odběr kožních stěrů pro kontrolu kontaminace

Stěr z místa venepunkce se provádí po zaschnutí desinfekce sterilní výtěrovkou, zásadně se neprovádí pokud desinfekce ještě nezaschla.

Na stěrech vyznačte, ke kterému odběru v rámci dané série odběrů stěr patří.

8. Transport odebraných hemokultur do laboratoře

Odebrané hemokultury je třeba dopravit do naší laboratoře co nejdříve, pokud možno do tří hodin po odebrání hemokultury.

Je-li hemokultura odebrána mimo naší pracovní dobu, předejte odebrané hemokultury na Oddělení klinické biochemie (budou zde předinkubovány v termostatu a ráno předány na OKM – zkrácení času kultivace). **Na žádanku uveďte čas odběru hemokultury** (s přesností na hodiny).

Nemůžete-li hemokulturu předat na OKB k předinkubování, ponechte ji přes noc na oddělení při pokojové teplotě a zašlete do naší laboratoře druhý den.

Základní interpretace výsledku hemokultivace:

Kdy lze hemokultivaci považovat za negativní?

Naprostá většina infekcí krevního řečiště je pozitivních do 48 hodin, většinou ale již do 24 hodin. Naproti tomu někteří vzácní bakteriální původci a mykotické organismy mohou být zachyceny teprve prodlouženou kultivací.

Pokud není pozitivita hemokultury hlášena laboratoří do 24 resp. 48 hodin od odběru, lze odběr považovat za vysoce pravděpodobně negativní a podle potřeby provést nové odběry.

Rozlišení mezi infikujícími a kontaminujícími bakteriemi:

Kožními či jinými kontaminantami bez klinického významu jsou téměř vždy mmj.:

1. Propionibacterium acnes
2. Staphylococcus epidermidis a ostatní koaguláza negativní stafylokoky, nemá-li pacient zaveden CŽK či jiný intravenózní vstup, nemá-li srdeční chlopenní náhradu, popřípadě není-li peritoneálně dialyzován.
3. Viridující streptokoky (s výjimkou streptokoků ze skupiny Milleri), nemá-li pacient zaveden CŽK (popřípadě jiný dlouhodobější intravenózní vstup), či není-li u něho podezření na bakteriální endokarditidu.
4. Sporující mikrobi
5. Řada druhů environmentálních gram-negativních nefermentujících tyček, nemá-li pacient zaveden CŽK (popřípadě jiný dlouhodobější intravenózní vstup), či není-li výrazně imunosuprimován, či nemá-li srdeční chlopenní náhradu.

Kožními či jinými kontaminantami obvykle nejsou mmj.:

Většina gram-negativních tyček, S. aureus, Enterokoky, Candida sp., streptokoky ze skupiny Milleri.

Kožními či jinými kontaminantami prakticky nikdy nejsou mmj. :

Streptococcus beta hemolytický skupiny A, další beta-hemolytické streptokoky, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, anaerobní bakterie.

Další laboratorní kritéria pro odlišení infikujících bakterií od kožních kontaminací:

1. Infikující bakterie vyrůstají v hemokultuře v 95% případů do 48 hodin, nejčastěji ale do 24 hodin. Kontaminující bakterie vyrůstají obvykle po delší době než 24 hodin.
2. Infikující bakterie jsou častěji přítomny ve všech odběrech respektive ve většině hemokultivačních lahvíček z dané série odběrů. Kontaminující bakterie jsou častěji přítomny jen v jednom odběru respektive v menšině lahvíček odebraných v rámci série odběrů.
3. Bakterie zachycená v hemokultuře nebyla zachycena ve stěru před hemokulturou.

Žádné z těchto kritérií není stoprocentně spolehlivé a jejich vypovídací hodnotu je třeba zvážit individuálně. Sporné případy konzultujte s námi.

Diagnostika katetrové infekce krevního řečiště z odebraných hemokultur:

Za předpokladu dodržení postupu pro párování odběr CŽK-periferie uvedeného výše lze z časového rozdílu mezi detekcí pozitivit párovane odebraných hemokultur usoudit, jedná-li se o katetrový či jiný zdroj infekce.

V případě katetrových infekcí bývají hemokultury odebrané z CŽK pozitivní o více než **2-3 hodiny** dříve nežli párovaně odebrané hemokultury z periferie. V případě odběrů z několika pramenů vícepramenného katetru postačuje je-li toto časové kritérium splněno u odběru byť z jednoho jediného pramene. Má-li **infekce jiný zdroj než katetr**, bývá rozdíl mezi časy detekce positivity u párovaných hemokultivačních lahviček z CŽK versus periferie kratší než **2-3 hodiny**.

Toto kritérium nelze použít je-li hemokultura pozitivní za příliš dlouhou (více než 36-48 hodin), či příliš krátkou (méně než cca 5 hodin) dobu po vložení do přístroje.

Je-li pozitivní pouze hemokultura odebraná z CŽK ale ne hemokultura odebraná z periferie, jedná se nejspíše o kontaminaci bakteriemi rostoucími v okolí katetru či kolonizujícími katetr v malém množství, a to zejména je-li pozitivita hemokultury detegována za déle než 24 hodin po vložení do přístroje (v případě kvasinek za déle než 48 hodin).

Sporné případy doporučujeme konzultovat s klinickým mikrobiologem!!