



MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT
INNSBRUCK



sektion für hygiene und
medizinische mikrobiologie

homepage: www3.i-med.ac.at/hygiene/

hmm-newsletter 15

(Juli 2018)

NEUES BLUTKULTUR-SYSTEM BD BACTEC™ FX

Dr. Bettina Kuppelwieser, Sektion HMM
bettina.kuppelwieser@i-med.ac.at

unter Mitwirkung von
Assoz. Prof. PD Dr. Dorothea Orth-Höller, Sektion HMM

FACT BOX

- Standard-Blutkulturpaar bestehend aus aerober und anaerober Flasche
- Optimales Probenvolumen: 8 – 10 ml pro Blutkulturflasche
- 2 bis 3 Blutkultursets abnehmen
- Zusätzlich Medium für pädiatrische Blutproben und Selektivmedium für Pilze bei Risikopatienten verfügbar

Neues Blutkultursystem BD Bactec™ FX

1. Einleitung

Die Blutkultur ist das wichtigste evidenzbasierte mikrobiologische Untersuchungsverfahren in der Sepsisdiagnostik. Kenntnis des Erregers und seiner Empfindlichkeit gegenüber Antimikrobiotika erlaubt eine gezielte antimikrobielle Therapie und stellt die Weichen für weitere diagnostische Maßnahmen. Dies verbessert nicht nur die Prognose und die Letalität, sondern verkürzt auch die Liegedauer und vermeidet antimikrobielle Übertherapie.

Heutzutage werden zur Blutkulturdiagnostik meist Geräte mit automatisiertem Detektionssystem verwendet, die sich durch eine verbesserte Sensitivität und kürzere Detektionszeit auszeichnen. Das Labor der Sektion für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Universität hat in der Blutkulturdiagnostik auf ein neues Blutkulturgerät umgestellt und arbeitet nun seit dem 11.6.2018 mit dem Blutkultursystem BD Bactec™ FX der Firma Becton-Dickinson.

2. Funktionsprinzip

Automatisierte Blutkultursysteme basieren auf dem Prinzip des kontinuierlichen Monitorings während der Bebrütung.

Der BD Bactec™ FX baut auf die Fluoreszenztechnologie. Mittels Fluoreszenzmarker erfolgt die Detektion eines Wachstums bzw. einer Änderung in der Fluoreszenzintensität.

Wenn Mikroorganismen in den Kulturflaschen vorhanden sind, verstoffwechseln diese die Nährstoffe des Kulturmediums und geben dabei Kohlendioxid in das Medium ab. Ein Sensor, der sich unterhalb der Flasche befindet, enthält einen Farbstoff, der mit CO₂ reagiert. Dies führt zu einer Modulierung der von einem fluoreszierenden Sensorbestandteil absorbierten Lichtmenge. Die Photodetektoren an den einzelnen Stationen des Geräts messen diesen Leuchtwert. Der Messwert wird anschließend vom System anhand vorprogrammierter Positivitätsparameter interpretiert (Abb. 1).

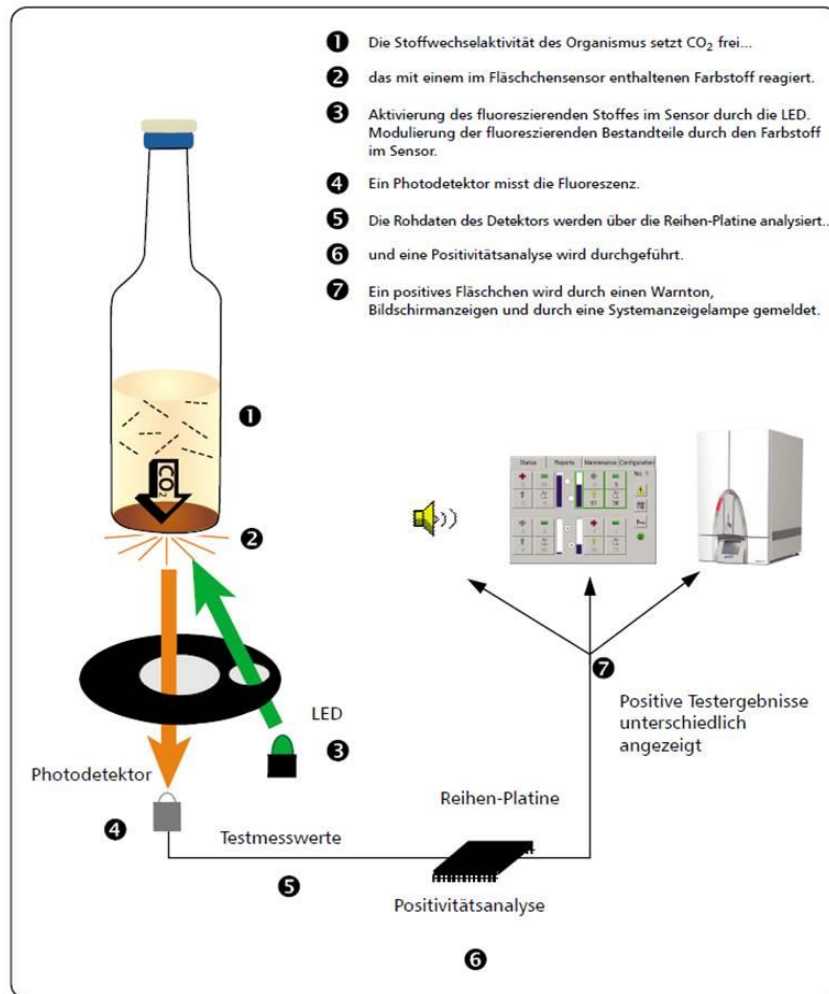


Abb. 1: Funktionsprinzip

3. Abnahme von Blutkulturen

Es ist eine strikt aseptische Punktionstechnik erforderlich:

- Hygienische Händedesinfektion
- Einmalhandschuhe (nicht steril)
- Zweimalige Hautdesinfektion für mindestens 1 Minute
- Punktion der Vene ohne erneute Palpation (Abb. 2 und 3)

Folgende Punkte sind zu beachten:

- Entnahme aus liegenden Kathetern vermeiden (Kontaminationsgefahr!)
- Ausnahme: Blutkulturset (aerob/anaerob) aus infektiösverdächtigem Katheter oder Port und aus peripherer Vene

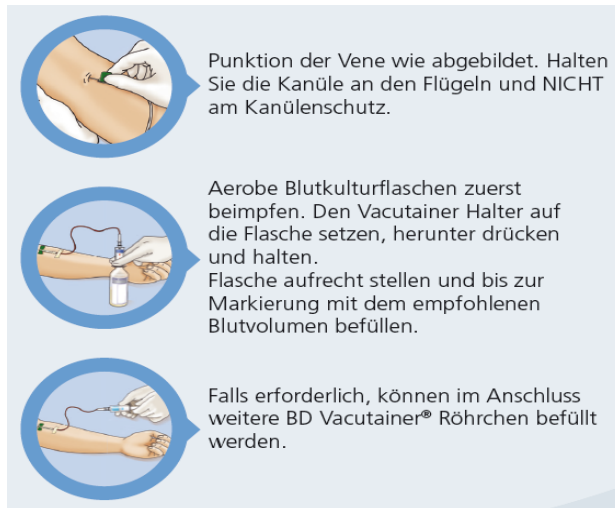


Abb. 2: Blutentnahme mit dem BD Vacutainer® Safety-Lok™ Blutentnahmeset

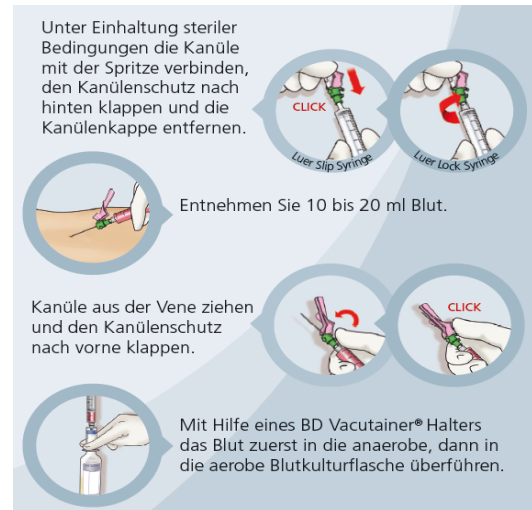


Abb. 3: Blutentnahme mit der Spritze, direkte Einspritzung

4. Medien

Für die Kultivierung und Identifikation aerober und anaerober Mikroorganismen aus dem Blut wird folgendes Standard-Blutkulturpaar verwendet:

BD BACTEC™ FX Plus Aerobic/F

BD BACTEC™ FX Lytic/10 Anaerobic/F

BD BACTEC™ FX Plus Aerobic/F

Die angereicherte Casein-Soja-Pepton-Broth enthält Kunstharze (Resine). Diese Kunstharze können schnell und effektiv die Konzentration einer großen Bandbreite der am meisten verabreichten Antibiotika und Antimykotika in Blutkulturen innerhalb von 1 – 2 Stunden nach Inkubation durchschnittlich um 90% verringern. Wichtig ist jedoch der Hinweis, dass nicht alle antimikrobiellen Substanzen gleich effektiv neutralisiert werden. Einige werden kaum oder gar nicht gebunden bzw. neutralisiert, z.B. Ceftazidim, Cefotaxim, Ceftriaxon, Cefepim, Meropenem, Amoxicillin/Clavulansäure, Ticarcillin/Clavulansäure, Gentamicin, Anidulafungin und Micafungin. Studien haben belegt, dass die Kunstharze ebenso in der Lage sind, die antibakterielle Wirkung von Zytostatika und Immunsuppressiva zu neutralisieren.



BD BACTEC™ FX Lytic/10 Anaerobic/F

Durch das in der vorreduzierten angereicherten Casein-Soja-Pepton-Broth enthaltende, lysierende Agens Saponin wird die Detektion von phagozytierten fakultativ und strikt anaerob wachsenden Mikroorganismen durch Lyse der Phagozyten erhöht. Die Lyse der Leukozyten führt dazu, dass deren metabolische Aktivität unterbunden wird. Durch die damit verbundene Reduktion von falsch-positiven Signalen erhöht sich die Spezifität des Mediums.



Dieses Medium enthält keine Kunstharze zur Neutralisierung antimikrobieller Substanzen, da das Saponin durch Resine gebunden und somit deaktiviert wird.

Als Ergänzung zum Standard-Blutkulturpaar stehen zwei weitere Blutkulturmedien zur Verfügung:

BD BACTEC™ FX Peds Plus/F

BD BACTEC™ Mycosis IC/F Medium

BD BACTEC™ FX Peds Plus/F

Die angereicherte Casein-Soja-Pepton-Broth wird zur Anreicherung und Kultivierung aerober Mikroorganismen aus pädiatrischen und anderen Blutproben mit einem Volumen von i.d.R. unter 5 ml verwendet.



BD BACTEC™ Mycosis IC/F Medium

Die mit Hefeextrakt und Hirn-Herz-Infusion-Bouillon (BHI) angereicherte Casein-Soja-Pepton-Broth ist ein selektives Medium zur Anzucht einer Vielzahl von Hefe- und Sprosspilzen. Es enthält Saponin zur Freisetzung phagozytierter Organismen in Leukozyten und Chloramphenicol und Tobramycin, um Bakterienwachstum zu unterdrücken. Dieses Medium wird als zusätzliche Blutkulturflasche zum Standard-Blutkulturpaar bei Risikopatienten (immunsupprimierte und neutropenische Patienten) empfohlen.



Alle genannten Blutkulturmedien sind mittels Anforderungsschein direkt bei der Anstaltsapothek bestellbar.

Tabelle 1. Übersicht über die verwendbaren Blutkulturmedien für den BD Bactec™ FX

Bezeichnung	Medium	Anwendung	Proben- volumen	Resine
Plus Aerobic/F	Angereicherte Casein- Soja-Pepton Broth Aerobe Atmosphäre angereichert mit CO ₂	Anzucht aerober Bakterien, Hefe- und Sprosspilze aus Blut oder sterilen Körperflüssigkeiten. Enthält Kunstharze, zu verwenden bei Patienten unter Antibiotikatherapie	3 – 10 ml optimal: 8 – 10 ml	Ja
Lytic/10 Anaerobic F	Vorreduzierte angereicherte Casein- Soja-Pepton Broth mit CO ₂ und N ₂ , enthält Saponin	Anzucht obligat und fakultativ anaerober Bakterien, Hefe- und Sprosspilzen aus Blut oder sterilen Körperflüssigkeiten. Forciert durch Lyse der Leukozyten die Freisetzung von phagozytierten Bakterien	3 – 10 ml optimal: 8 – 10 ml	Nein
PEDS PLUS/F	Angereicherte Casein- Soja-Pepton Broth Aerobe Atmosphäre angereichert mit CO ₂	Anzucht aerober Bakterien, Hefe- und Sprosspilze aus pädiatrischen Blut und/oder geringen Probenvolumina oder sterilen Körperflüssigkeiten	0,05 – 5 ml optimal: 1 – 3 ml	Ja
Mycosis MYCO/F	Casein-Soja-Pepton Broth angereichert mit Hefeextrakt und BHI Enthält Saponin und Chloramphenicol und Tobramycin Aerobe Atmosphäre angereichert mit CO ₂	Selektives Medium zur Anzucht von Hefe- und Sprosspilzen aus Blutproben immunsupprimierter oder neutropenischer Patienten. Forciert durch Lyse der Leukozyten die Freisetzung von phagozytierten Mikroorganismen	3 – 10 ml optimal: 8 – 10 ml	Nein

5. Inokulation der Blutkulturflaschen

- Ein Blutkulturset besteht aus einem aeroben und einem anaeroben Medium
- Kappen der Flaschen entfernen
- Für eine kontaminationsfreie Inokulation Desinfektion des Durchstichseptums mit einem alkoholischen Präparat
- Bei der Verwendung von BD Vacutainer® Safety-Lok™ Blutentnahmesets zuerst die aerobe Flasche und dann die anaerobe Flasche mit 3 – 10 ml (optimal 8 – 10 ml) Blut beimpfen
- Bei der Blutentnahme mit Spritze zuerst die anaerobe und dann die aerobe Flasche mit 3 – 10 ml (optimal 8 – 10 ml) beimpfen
- Blutkulturflaschen nicht belüften oder schütteln, sondern nur vorsichtig schwenken

6. Anzahl der Blutkulturen

- Generell wird empfohlen, zwei bis drei Blutkultursets zu beimpfen, da die Entnahme einer einzigen Blutkultur eventuell nicht ausreichend ist
- Ein negatives Ergebnis erlaubt evtl. keinen Ausschluss der vermuteten Infektion und der einmalige Nachweis von fakultativ pathogenen Erregern (z.B. Koagulase-negative Staphylokokken) keine sichere Unterscheidung zwischen Kontamination und Infektion
- Idealerweise Entnahme der Blutkultursets aus unterschiedlichen Punktionsstellen

7. Entnahmezeitpunkt

- Wenn möglich, zwei Blutkultursets vor Beginn der antibiotischen Therapie beimpfen
- Die Blutkulturen können zum gleichen Zeitpunkt aus zwei unterschiedlichen Entnahmestellen oder im Abstand von wenigen Minuten entnommen werden
- Entnahme der Blutkulturen unter laufender antibiotischer Therapie ist frühestens 72 Stunden nach Einleitung der empirischen Therapie sinnvoll. Der beste Zeitpunkt dafür ist am Ende des Dosierungsintervalls. Falls dies klinisch nicht möglich ist, sollte die Blutabnahme vor der nächsten Antibiotikagabe erfolgen
- Bei septischen Patienten ist der größte Erfolg vor Beginn der antibiotischen Therapie bzw. möglichst früh im Fieberanstieg zu erwarten
- Bei Patienten mit Fieberkontinua sind Zeitabstände von 1 – 2 Stunden zwischen den Blutentnahmen empfohlen

8. Entsorgung

- Geeigneter Abfallbehälter für scharfe und spitze Gegenstände sollte in Reichweite sein
- Verwerfen von allen verwendeten Materialien
- Anschließende Händedesinfektion nach geltenden Richtlinien

9. Beschriften der Blutkulturflaschen und Transport

- Um die Blutkulturflaschen den richtigen Patienten zuordnen zu können, müssen alle Flaschen mit Patientennamen, Datum und Uhrzeit der Blutentnahme beschriftet sein
- Den Barcode dabei nicht beschriften oder überkleben
- Ein zweiter Barcode zum Abziehen befindet sich auf dem Flaschenetikett und kann auf den Anforderungsschein geklebt werden
- Schnellstmöglicher Transport der Flaschen in das Labor

10. Anforderungsscheine

- Neben den persönlichen Patientendaten wie Name, Vorname, Geburtsdatum und Angaben des Einsenders muss der Anforderungsschein Datum und Uhrzeit der Blutentnahme, Angaben über den Entnahmeort wie z.B. periphere Vene, zentraler Venenkatheter, Portsystem usw. enthalten
- Klinische Hinweise auf eine mögliche prädisponierende Grunderkrankung sowie Angaben über die antibiotische Vorbehandlung angeben

11. Probenbearbeitung im Labor

- Bebrütungsdauer im Blutkulturgerät BD Bactec™ FX in der Regel 5 Tage
- Bei vom Einsender angeforderter Langzeitbebrütung, Verdacht auf Fungämie, Diagnose Endokarditis und Proben von der Station Haut V wird eine 7-tägige Bebrütungsdauer durchgeführt
- Bei Verdacht auf Infektion mit speziellen Erregern (z.B. *Brucella sp.*) kann eine deutlich längere Bebrütungsdauer erforderlich werden - individuell festzulegen!
- Punktate können für einen besseren Nachweis von Mikroorganismen in eine Blutkulturflasche überimpft werden
- Nach Detektion einer positiven Blutkulturflasche wird umgehend ein Gram-Präparat angefertigt, Subkulturen angelegt, eine Erregeridentifizierung und eine direkte Empfindlichkeitsprüfung durchgeführt
- Bei mikroskopischem Nachweis von gramnegativen Stäbchen und Hefepilzen im Gram-Präparat erfolgt eine unmittelbare telefonische Benachrichtigung des Einsenders
- In allen anderen Fällen findet die Befundübermittlung nach dem kulturellen Ergebnis statt

12. Referenzen

- Brunkhorst et al., Leitliniengerechte Blutkulturdiagnostik bei Sepsis und schweren Organinfektionen in der Intensivmedizin – ein unterschätztes Defizit. Deutscher Ärzteverlag, DIVI, 2010
- Becton Dickinson GmbH, Tullastr. 8-12, 69126 Heidelberg, Germany. www.bd.com
- <http://medlab-bochum.de/uploads/download/blutkulturen-mit-dem-bd-bactec-system.pdf>