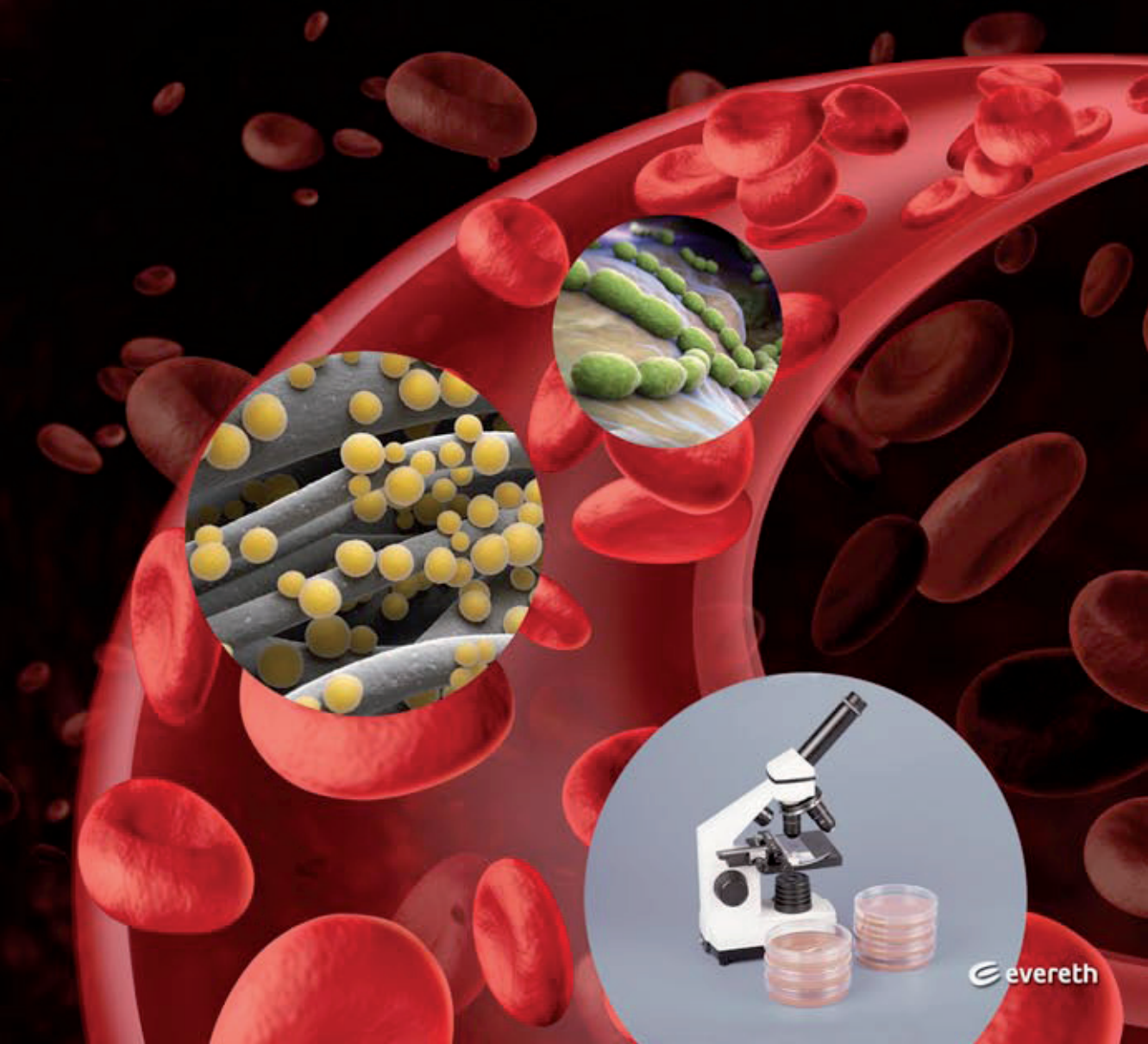
ZASADY DIAGNOSTYKI ZAKAŻEŃ KRWI

REKOMENDACJE GRUPY EKSPERTÓW POD REDAKCJĄ MARZENNY BARTOSZEWICZ



evereth

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

Rekomendacje Grupy Ekspertów pod redakcją Marzenny Bartoszewicz

ZASADY DIAGNOSTYKI ZAKAŻEŃ KRWI

evereth

Warszawa, 2020

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Wydanie pierwsze
Warszawa, 2020
© Evereth Publishing Sp. z o.o., 2020

Kierownik wydania: Mariola Piotrowska
Redaktor wydania: Dorota Zwierzchowska
Redakcja techniczna: Daniel Piotrowski

Opracowanie graficzne:

inversa
CUSTOM PUBLISHING

inversa@inversa.pl
ul. Wał Miedzeszyński 414/11
03-994 Warszawa

Wydawca:
Evereth Publishing Sp. z o.o.
ul. Wał Miedzeszyński 414/11
03-994 Warszawa
www.evereth.pl

evereth

ISBN: 978-83-62342-15-0

Nakład: 1000 egz.

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

Spis treści

1. Wstęp 5
2. Wskazania do mikrobiologicznego badania krwi 6
3. Czynniki etiologiczne zakażeń krwi 8
4. Diagnostyka zakażeń krwi 9
4.1. Mikrobiologiczna diagnostyka zakażeń krwi 10
4.1.1. Procedura pobrania krwi do badań mikrobiologicznych oraz warunki transportu materiału do laboratorium 13
4.1.1.1. Wypełnienie skierowania 13
4.1.1.2. Przygotowanie pomieszczenia 13
4.1.1.3. Przygotowanie zestawu do pobierania krwi 15
4.1.1.4. Wybór igły do pobierania krwi 15
4.1.1.5. Opisanie butelek hodowlanych 16
4.1.1.6. Przygotowanie personelu 17
4.1.1.7. Przygotowanie pacjenta 19
4.1.1.8. Technika pobrania krwi 19
4.1.1.9. Rodzaje butelek z podłożami hodowlanymi 26
4.1.1.10. Transport próbek do laboratorium 27
4.1.2. Monitorowanie stanu pacjenta 28
5. Diagnostyka dodatnich próbek krwi 28
5.1. Laboratoryjna kontrola jakości 28
5.2. Systemy automatyczne do hodowli drobnoustrojów we krwi 29
5.3. Zasady diagnostyki dodatnich posiewów krwi 30
5.4. Technika posiewu krwi 31
5.5. Posiew końcówki cewnika – metodyka 32
5.6. Określenie lekowrażliwości wyhodowanych szczepów 32
5.7. Interpretacja wyniku – wyniki fałszywie dodatnie i ujemne 34
6. Perspektywy w diagnostyce sepsy 35
Załącznik A 36
Załącznik B 37
Spis skrótów 38
Bibliografia 39

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

GRUPA ROBOCZA EKSPERTÓW W SKŁADZIE:

Prof. dr hab. n. med. Marzenna Bartoszewicz konsultant wojewódzki w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej; Towarzystwo Mikrobiologii Klinicznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Dr n. med. Beata Kowalska-Krochmal Towarzystwo Mikrobiologii Klinicznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat konsultant krajowy w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej; Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka" w Warszawie

Prof. dr hab. n. med. Radosław Owczuk konsultant krajowy w dziedzinie anestezjologii i intensywnej terapii; Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Dr n. med. Urszula Zielińska-Borkowska konsultant wojewódzki w dziedzinie anestezjologii i intensywnej terapii; Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego im. prof. W. Orłowskiego Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Prof. dr hab. n. med. Jerzy Strużyna konsultant krajowy w dziedzinie chirurgii plastycznej; Wschodnie Centrum Leczenia Oparzeń i Chirurgii Rekonstrukcyjnej, Szpital Powiatowy w Łęcznej

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Kübler Stowarzyszenie na Rzecz Badania i Leczenia Sepsy „Pokonać Sepsę", Centrum ds. Leczenia Bólu i Opieki Paliatywnej, Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Prof. dr hab. n. med. Ryszard Lauterbach konsultant wojewódzki w dziedzinie neonatologii; Polskie Towarzystwo Neonatologiczne, Katedra Ginekologii i Położnictwa Kliniki Neonatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

Dr hab. n. med. Anna Chrapusta konsultant wojewódzki w dziedzinie chirurgii plastycznej; Małopolskie Centrum Oparzeniowo-Plastyczne, Replantacji Kończyn z Ośrodkiem Terapii Hiperbarycznej Szpitala im. L. Rydygiera w Krakowie

Dr hab. n. med. Jacek Karoń, prof. UM konsultant wojewódzki w dziedzinie chirurgii ogólnej; Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej i Kolorektalnej Wielospecjalistycznego Szpitala Miejskiego im. J. Strusia Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Prof. dr hab. n. med. Brygida Knysz Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Dr hab. n. med. Aleksander Deptuła, prof. UMK konsultant wojewódzki w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej; Katedra Propedeutyki Medycyny Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu M. Kopernika w Toruniu, Sekcja Antybiotykoterapii i Kontroli Zakażeń Szpitalnych Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy

Dr n. med. Joanna Jursa-Kulesza konsultant wojewódzki w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej; Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Katedry Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Dr hab. n. med. Marzena Zielińska Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Oddział Kliniczny Anestezjologii i Intensywnej Terapii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. J. Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu

Dr n. med. Mirosława Malara Europejskie Stowarzyszenie Czyste Leczenie; Dział Epidemiologii i Higieny Szpitalnej Górnośląskiego Centrum Zdrowia Dziecka im. Jana Pawła II, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 6 Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Mgr Zuzanna Konrady Wielkopolski Oddział Polskiego Towarzystwa Pielęgniarek Anestezjologicznych i Intensywnej Opieki, Oddział Anestezjologii i Intensywnej Terapii Szpitala Miejskiego im. F. Raszei w Poznaniu

Dr n. med. Ewa Lewczyk Laboratorium Mikrobiologiczne Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego im. J. Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu

Dr n. med. Beata Mączyńska Towarzystwo Mikrobiologii Klinicznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Mgr Karolina Dydak Towarzystwo Mikrobiologii Klinicznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Dr n. farm. Monika Oleksy-Wawrzyniak Towarzystwo Mikrobiologii Klinicznej, Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

1. WSTĘP

Zakażenia krwi (ang. bloodstream infections – BSI) stanowią istotne zagrożenie dla życia pacjenta. Pod względem etiopatogenezy dzielą się na pierwotne i wtórne. Zakażenia pierwotne spowodowane są przedostaniem się do krwi własnej mikrobioty pacjenta lub drobnoustrojów ze środowiska zewnętrznego. Najczęściej dochodzi do nich w wyniku stosowania inwazyjnych procedur diagnostycznych i leczniczych, wykonywanych bez zachowania zasad aseptyki, oraz w przypadku zakażenia miejsca wkłucia – na skutek niedostatecznej opieki. Zakażenia wtórne mają swój początek w infekcjach miejscowych i narządowych, gdzie drobnoustroje z miejsca zakażenia przedostają się do krwi i rozsiewają po całym organizmie [32, 157]. Przedostanie się mikroorganizmów do krwi określa się mianem bakteriemii (w przypadku bakterii), fungemii (grzyby), wiremii (wirusy) lub parazytemii (pasożyty). Obecność drobnoustrojów we krwi może doprowadzić do rozwoju sepsy. Według najnowszej definicji z 2016 roku (Tabela 1) sepsa jest określana jako zagrażająca życiu dysfunkcja narządów, spowodowana niewłaściwą (rozregulowaną) reakcją układu immunologicznego na zakażenie. Konsekwencją sepsy może być wstrząs septyczny, w którym dochodzi do zaburzeń metabolicznych na poziomie komórkowym, czego wynikiem są zaburzenia w układzie krążenia. Konieczne

Tabela 1. Zmiany w definicjach oraz kryteriach oceny i rozpoznania dotyczących sepsy. Opracowano na podstawie [138, 147].

Termin	Nieaktualne definicje	Definicje obowiązujące od 2016 roku [138]
Sepsa	Zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (SIRS[1]) powstały w wyniku zakażenia	Zagrażająca życiu dysfunkcja narządowa spowodowana zaburzoną regulacją odpowiedzi ustroju na zakażenie. Odpowiedź ta powoduje uszkodzenie tkanek i narządów
Ciężka sepsa	Sepsa powodująca niewydolność bądź poważne zaburzenie czynności narządów	BRAK wyszczególnienia ciężkiej sepsy według nowych definicji
Wstrząs septyczny	Postać ciężkiej sepsy z ostrą niewydolnością krążenia, która charakteryzuje się uporczywą hipotensją pomimo właściwej resuscytacji płynowej, wymagającą zastosowania leków obkurczających naczynia krwionośne[2]	Sepsa, w której zaburzenia krążenia, metaboliczne i komórkowe są tak głębokie, że znacząco zwiększają śmiertelność. Utrzymująca się mimo właściwej resuscytacji płynowej hipotensja oraz podwyższone stężenie mleczanów[3], wymagające podania leków obkurczających naczynia krwionośne
Kryteria rozpoznania zaburzeń czynności narządów	Klasyczne kryteria rozpoznawania dysfunkcji narządowej: hipoperfuzja tkankowa lub zaburzenia czynności narządów wywołane zakażeniem i powodujące minimum 2 dysfunkcje[4]	Wzrost o 2 lub więcej punktów w skali SOFA
Wczesne wyodrębnianie chorych z wysokim ryzykiem zgonu	Brak doprecyzowania. Wykorzystywane kryteria SIRS oraz klasyczne i rozszerzone kryteria rozpoznawania sepsy	Wystąpienie 2 lub więcej objawów w skali qSOFA[5]
Ocena nasilenia reakcji zapalnej	SIRS, co najmniej dwa jednocześnie występujące objawy reakcji zapalnej[6]	Nie określono. Uznano, że reakcja zapalna jest jednym z wielu elementów odpowiedzi ustroju na zakażenie. Podkreślono, że zaburzenia czynności narządów zwiększają istotnie ryzyko zgonu

[1] – SIRS (ang. systemic inflammatory response syndrome) – zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej;
[2] – skurczowe ciśnienie tętnicze poniżej 90 mmHg, średnie ciśnienie tętnicze poniżej 65 mmHg lub obniżenie skurczowego ciśnienia tętniczego o ponad 40 mmHg;
[3] – średnie ciśnienie tętnicze poniżej 65 mmHg, stężenie mleczanów powyżej 2 mmol/l;
[4] – hipotensja, stężenie mleczanów powyżej górnej granicy przedziału referencyjnego, diureza poniżej 0,5 ml/kg masy ciała/godzinę przez ponad 2 godziny pomimo właściwej resuscytacji płynowej, pO_2/FiO_2 poniżej 250 mmHg, jeśli płuca nie są ogniskiem zakażenia, albo poniżej 200 mmHg, jeśli płuca są ogniskiem zakażenia, stężenie kreatyniny we krwi ponad 2 mg/dl, bilirubinemia ponad 2 mg/dl, liczba płytek krwi poniżej 100 000/µl, koagulopatia (INR ponad 1,5);
[5] – częstość oddechów ponad 22/minutę, zaburzenia świadomości, skurczowe ciśnienie tętnicze poniżej 100 mmHg;
[6] – temperatura ciała ponad 38°C lub poniżej 36°C, częstość tętna ponad 90/minutę, częstość oddechu ponad 20/minutę lub pCO_2 poniżej 32 mmHg, leukocytoza ponad 12000/µl, poniżej 4000/µl lub ponad 10% niedojrzałych postaci neutrofilów.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

jest włączenie amin presyjnych w celu utrzymania średniego ciśnienia na poziomie >65 mmHg. Wystąpienie wstrząsu septycznego jest związane z podwyższonym ryzykiem zgonu [133, 138]. Sepsa może się rozwinąć u każdego, jednak są pewne grupy szczególnie narażone na jej wystąpienie. Należą do nich: noworodki (zwłaszcza przedwcześnie urodzone), niemowlęta w pierwszych 6 miesiącach życia, osoby po 65. roku życia, pacjenci z upośledzoną odpornością, po splenektomii, w trakcie steroidoterapii oraz cierpiący na choroby przewlekłe. Sepsa jest wiodącym czynnikiem zgonu pacjentów oparzonych. Ta grupa chorych, z uwagi na hipermetaboliczną reakcję organizmu na oparzenie i wynikające z tego trudności w interpretacji objawów fizykalnych i laboratoryjnych, została wyłączona z badań komisji opracowującej definicję sepsy w 2016 roku [90]. Szczególną grupą chorych, narażonych na wystąpienie sepsy, są pacjenci ze źle uregulowaną cukrzycą. Ze względu na brak wymogu rejestracji przypadków sepsy przez szpitale i oddziały intensywnej terapii (OIT) dane na temat częstości jej występowania w Polsce są bardzo niedoszacowane. Zgodnie z założeniami Światowej Deklaracji w Sprawie Sepsy, do 2020 roku systemy opieki zdrowotnej powinny wdrożyć rejestry przypadków sepsy do obowiązkowego systemu gromadzenia danych. W systemie kodowania chorób ICD 11, obowiązującym na świecie od 2019 roku, występują kody 1G40 i 1G41 rejestrujące odpowiednio sepsę bez i ze wstrząsem septycznym. W Polsce nadal obowiązuje przestarzały system ICD 10. Na podstawie danych zebranych na przestrzeni lat z różnych OIT w Polsce szacuje się, że częstość występowania sepsy wzrasta (z 16% w 2007 roku do 25% w 2012 roku). Przyczyną takiego stanu rzeczy może być wzrost liczby zabiegów wszczepiania endoprotez, wzrost średniej długości życia oraz zmiany w diagnostyce i definicji sepsy. Jednym z ważniejszych powodów zwiększenia częstości występowania sepsy w populacji jest także poprawa przeżywalności noworodków skrajnie niedojrzałych, z masą urodzeniową ciała poniżej 1000 g. U dzieci tych w trakcie kilkumiesięcznej hospitalizacji po urodzeniu nierzadko rozpoznaje się sepsę kilka razy [74, 75, 118, 157, 159]. Według światowych danych w 2017 roku zanotowano od 38,0 do 62,9 milionów przypadków sepsy (w zależności od regionu), z czego 11 milionów (10–12 milionów) zakończyło się śmiercią. Śmiertelność waha się w zależności od kraju – od 8 do 65%. Nawrót w przypadku sepsy do pół roku po wyzdrowieniu występuje często i może dotyczyć aż 50% pacjentów, z czego u około 25% sepsa może powracać wielokrotnie [41, 49, 52, 122, 129].

2. WSKAZANIA DO MIKROBIOLOGICZNEGO BADANIA KRWI

U pacjenta dorosłego krew na posiew powinna być pobrana niezwłocznie w sytuacji podejrzenia zakażenia łożyska naczyniowego, kiedy [13, 60, 156]:

- pacjent ma założony cewnik naczyniowy centralny lub dotętniczy [60, 156];
- istnieje podejrzenie bakteryjnego zapalenia wsierdzia [13, 60, 156];
- ciepłota ciała przekracza 38°C lub jest niższa niż 36°C oraz występują co najmniej dwa z następujących objawów/parametrów [60, 134, 156]:
  - wiek powyżej 65 lat,
  - dreszcze,
  - wymioty,
  - spadki ciśnienia,
  - liczba leukocytów >18 000/µl,
  - odsetek granulocytów >80%,
  - liczba płytek krwi <150 000/µl,
  - stężenie kreatyniny we krwi powyżej 2 mg/dl,
  - objawy niewydolności oddechowej;

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

- pacjent z ciężkim zapaleniem płuc wymaga przyjęcia na OIT lub występują u niego: asplenia, neutropenia, wysięk opłucnowy, wytworzenie jamy w płucach w przebiegu zakażenia oraz przy współistnieniu alkoholizmu lub ciężkiego, przewlekłego schorzenia wątroby [60];
- podejrzewa się urosepsę u chorych z nawracającymi zakażeniami układu moczowego (ZUM) lub niepowodzeniami terapeutycznymi [60];
- występuje ZUM z zaburzeniami czynnościowymi lub anatomicznymi układu moczowego oraz u pacjenta starszego [60];
- objawy odmiedniczkowego zapalenia nerek u kobiet w okresie przedmenopauzalnym, niebędących w ciąży, nie ustępują bądź nawracają mimo leczenia lub są atypowe [60];
- u pacjentów z cewnikiem moczowym lub innym cewnikiem wprowadzonym do pęcherza obserwuje się objawy septyczne [60];
- występuje zapalenie otrzewnej z objawami septycznymi lub u pacjenta w immunosupresji [60];
- podejrzewa się zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR) [13, 60, 156];
- występuje zapalenie stawów, kości lub szpiku [13, 156];
- występuje co najmniej jeden z objawów/parametrów, niedający się wytłumaczyć inną przyczyną [103, 102]:
  - tętno >130/minutę,
  - nagła zmiana zachowania,
  - częstość oddechu >25/minutę,
  - potrzeba podania minimum 40% tlenu, aby utrzymać saturację na poziomie 92% (lub 88% w przypadku pacjentów z POChP) w sytuacji, gdy nie można wykonać badania gazometrycznego,
  - skurczowe ciśnienie krwi <90 mmHg lub obniżone o >40 mmHg w stosunku do normy dla pacjenta,
  - anuria przez co najmniej 18 godzin lub oddanie <0,5 ml/kg masy ciała moczu na godzinę w przypadku pacjentów cewnikowanych,
  - zsinienie skóry, warg lub języka,
  - niebledn ąca wysypka skórna.

W przypadku pacjentów pediatrycznych w wieku 12 lat i starszych obowiązują kryteria takie jak dla osób dorosłych. U młodszych dzieci i pacjentów neonatologicznych dodatkowymi wskazaniami do pobrania krwi do badań mikrobiologicznych są [4, 58, 60]:

- u noworodków z oddziałów intensywnej terapii neonatologicznej (OITN), urodzonych przedwcześnie [60, 115]:
  - podejrzenie zakażenia,
  - wystąpienie u matki zapalenia błon płodowych i łożyska,
  - brak wdrożenia profilaktyki zakażenia GBS mimo wskazań i jednoczesne odejście wód płodowych ponad 18 godzin przed porodem lub poród przed 37. tygodniem ciąży,
  - podejrzenie wczesnej lub późnej sepsy albo zakażenia uogólnionego związanego z centralną linią naczyniową;
- u niemowląt do 90. dnia życia, urodzonych w terminie – temperatura ciała 38°C i wyższa oraz wystąpienie jednego z czynników [17, 51, 60]:
  - wiek poniżej 28 dni,
  - liczba białych krwinek poniżej 5000/µl lub powyżej 15 000/µl,
  - liczba neutrofilów z jądrem pałeczkowatym powyżej 1500/µl,
  - ponad 10 leukocytów w polu widzenia w mikroskopowym badaniu osadu moczu,
  - częstość tętna:

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

  - ► powyżej 180/minutę lub poniżej 100/minutę u niemowląt do 1. miesiąca życia,
  - ► powyżej 180/minutę lub poniżej 90/minutę u niemowląt pomiędzy 1. a 3. miesiącem życia,
- częstość oddechów większa niż:
  - ► 50/minutę u noworodków do 1. tygodnia życia,
  - ► 40/minutę u niemowląt od 1. tygodnia do 1. miesiąca życia,
  - ► 34/minutę u niemowląt po 1. miesiącu życia,
- objawy niespecyficzne dla sepsy, np.: senność, niechęć do jedzenia, bezdechy, wzrost zapotrzebowania na tlen;

- u dzieci w wieku od 3. miesiąca do 12. roku życia wystąpienie jednego lub więcej z poniższych objawów/parametrów [51, 52, 154]:
  - gorączka >38°C lub hipotermia <36°C,
  - zmiana w zachowaniu, przejawianie zachowań nietypowych (nadmierne pobudzenie lub apatia, problemy z dobudzeniem dziecka),
  - wysypka na skórze towarzysząca objawom infekcji,
  - częstość tętna:
    - ► powyżej 180/minutę lub poniżej 90/minutę u niemowląt w wieku 3–12 miesięcy,
    - ► powyżej 140/minutę u dzieci w wieku 2–5 lat,
    - ► powyżej 130/minutę u dzieci w wieku 6–12 lat,
  - częstość oddechów większa niż:
    - ► 34/minutę u niemowląt w wieku 3–12 miesięcy,
    - ► 22/minutę u dzieci w wieku 2–5 lat,
    - ► 18/minutę u dzieci w wieku 6–12 lat;
- u wszystkich pacjentów pediatrycznych, bez względu na wiek [60]:
  - bakteryjne zapalenie płuc o umiarkowanym lub ciężkim przebiegu oraz powikłane,
  - objawy ZUM, w przypadku kiedy badanie ogólne moczu nie jest wystarczające do potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia.

3. CZYNNIKI ETIOLOGICZNE ZAKAŻEŃ KRWI

Każdy drobnoustrój może być przyczyną sepsy. Dominującymi czynnikami etiologicznymi zakażeń krwi są bakterie, rzadziej grzyby, natomiast etiologia wirusowa odnotowywana jest sporadycznie. Najczęściej występujące czynniki etiologiczne zakażeń krwi są zróżnicowane w zależności od grupy wiekowej.

U noworodków wyróżnia się dwa rodzaje sepsy: wczesną (ang. early-onset sepsis – EOS) i późną (ang. late-onset sepsis – LOS) [110, 161]:

- EOS – objawy pojawiają się do 72 godzin po urodzeniu, a głównymi czynnikami etiologicznymi są drobnoustroje kolonizujące drogi rodne kobiety [110, 136, 161]:
  - *Streptococcus agalactiae* (ang. group B *Streptococcus* – GBS),
  - *Escherichia coli*,
  - *Klebsiella pneumoniae*,
  - *Enterobacter* spp.,
  - *Haemophilus influenzae* (rzadko),
  - *Listeria monocytogenes* (rzadko),
  - *Staphylococcus aureus* (rzadko),
  - *Candida albicans*;

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

- LOS – drobnoustrojami wywołującymi zakażenie są te obecne w środowisku szpitalnym, kolonizujące skórę i przewód pokarmowy noworodka, m.in. [33, 110, 161]:
  - gronkowce koagulazo-ujemne (ang. coagulase-negative staphylococci – CoNS),
  - *Escherichia coli*,
  - *Klebsiella pneumoniae*,
  - *Acinetobacter baumannii*,
  - inne pałeczki Gram-ujemne,
  - *Candida albicans*.

Sepsa u starszych dzieci i osób dorosłych powodowana jest często przez [42, 63, 83, 146, 148]:

- *Staphylococcus aureus*;
- *Staphylococcus epidermidis*;
- inne koagulazo-ujemne gronkowce;
- *Streptococcus pneumoniae*;
- *Enterococcus* spp.;
- *Escherichia coli*;
- *Pseudomonas aeruginosa*;
- *Acinetobacter baumannii*;
- *Klebsiella pneumoniae*;
- *Neisseria meningitidis*;
- *Candida* spp.

4. DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ KRWI

Według najnowszych wytycznych wstępne rozpoznanie sepsy jako dysfunkcji narządowej opiera się na skali SOFA (ang. The Sequential Organ Failure Assessment score) (Tabela 2), natomiast do wczesnej selekcji pacjentów ze zwiększonym ryzykiem rozwinięcia sepsy rekomendowana jest skala qSOFA (ang. quick SOFA score), przy czym należy pamiętać, że nie służy ona do rozpoznawania

Tabela 2. Skala SOFA służąca do rozpoznania sepsy (z wyjątkiem dzieci i noworodków) [138].

	Punktacja				
Parametry	0	1	2	3	4
pO_2/FiO_2 mmHg	≥400	<400	<300	<200*	<100*
Liczba płytek krwi ($\times 10^3$/µl)	≥150	<150	<100	<50	<20
Bilirubina (mg/dl)	<1,2	1,2–1,9	2,0–5,9	6,0–11,9	>12
Średnie ciśnienie tętnicze, dawki katecholamin (µg/kg masy ciała/minutę) podawane przez co najmniej godzinę	≥70 mmHG	<70 mmHg	Dobutamina (każda dawka) Dopamina <5	Norepinefryna ≤0,1 Epinefryna ≤0,1 Dopamina 5,1–15	Norepinefryna >0,1 Epinefryna >0,1 Dopamina >15
Skala śpiączki Glasgow	15	13–14	10–12	6–9	<6
Kreatynina (mg/dl)	<1,2	1,2–1,9	2,0–3,4	3,5–4,9	>5,0
Diureza (ml/dobę)	–	–	–	<500	<200

* – wspomagane sztuczną wentylacją.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

sepsy. Punktacja ≥2 w skali SOFA oznacza około 10% ryzyko zgonu pacjenta (dla porównania ryzyko zgonu przy zawale mięśnia sercowego z uniesieniem załamka ST wynosi 8,1%). Ryzyko śmierci u chorych z punktacją ≥2 jest od 2 do 25 razy wyższe niż u pacjentów z <2 punktami. Skala SOFA jest narzędziem najbardziej przydatnym na oddziałach, zwłaszcza OIT, gdzie wykorzystuje się ją do oceny chorego w kolejnych dniach, aż do ustabilizowania lub poprawy stanu klinicznego. Do szybkiej oceny stanu pacjenta, np. w szpitalnych oddziałach ratunkowych (SOR) albo w warunkach ambulatoryjnych, do określenia ryzyka wystąpienia sepsy, wykorzystuje się skalę qSOFA. W skali qSOFA ocenia się 3 objawy:

- zaburzenia świadomości;
- częstość oddechów ≥22/minutę;
- skurczowe ciśnienie tętnicze ≤100 mmHg.

Wystąpienie 2 z 3 objawów kwalifikuje pacjenta do wzmożonej obserwacji oraz dalszej diagnostyki, w tym laboratoryjnej i mikrobiologicznej, jako osobę z wysokim ryzykiem wystąpienia sepsy. Skale SOFA i qSOFA zostały opracowane dla pacjenta dorosłego. Podejmowano próby adaptacji skal do wieku dzieci, jednak nie otrzymano dotychczas zadowalających rezultatów. W związku z tym skale SOFA i qSOFA nie są wykorzystywane przy ocenie wystąpienia sepsy u dzieci i noworodków [138].

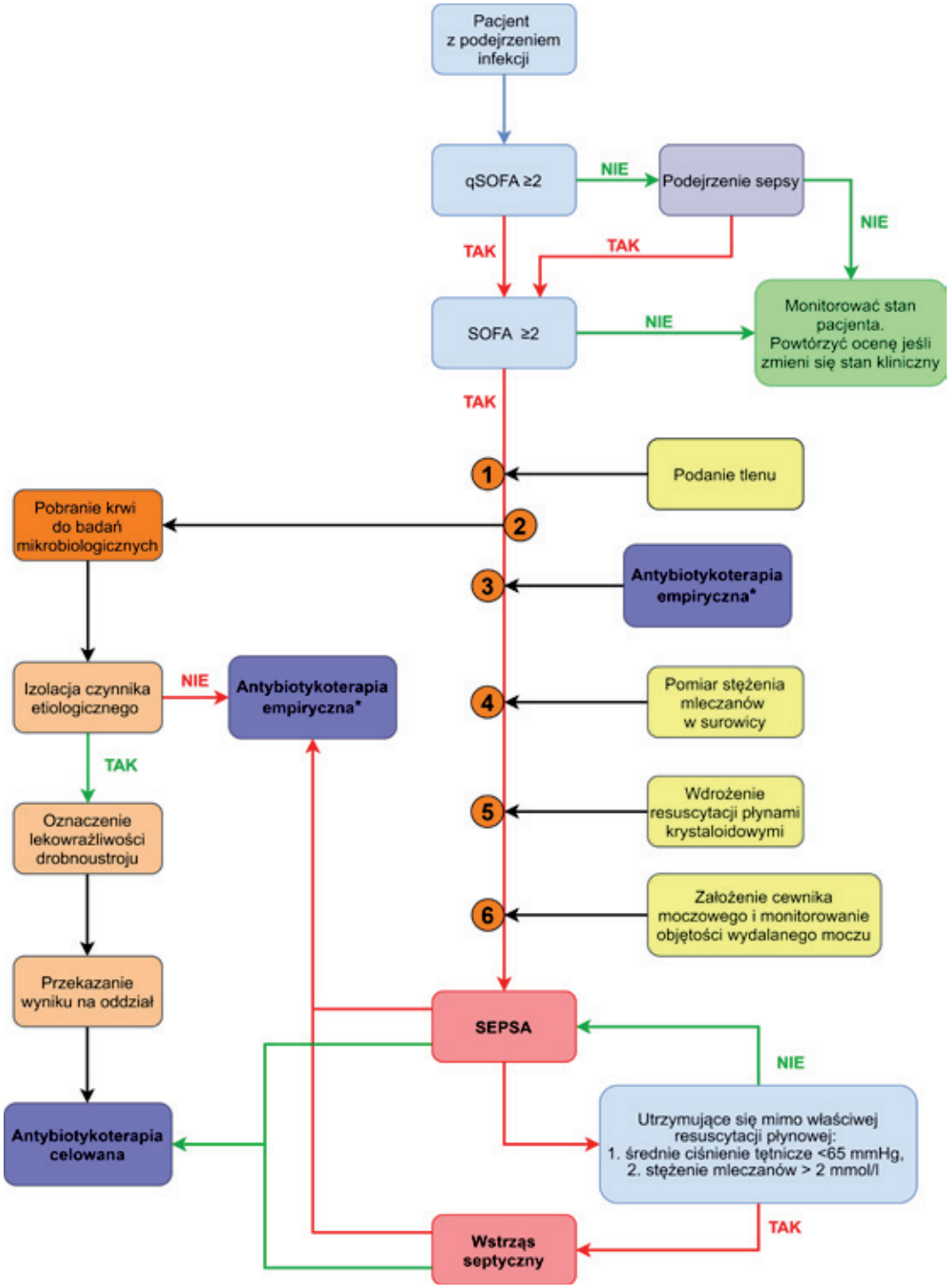
4.1. MIKROBIOLOGICZNA DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ KRWI

Przy podejrzeniu sepsy niezwykle istotne jest jak najszybsze wdrożenie postępowania umożliwiającego dokładną diagnostykę mikrobiologiczną, utrzymanie funkcji życiowych pacjenta oraz jego leczenie (Ryc. 1). Stosowanie skal SOFA i qSOFA, wdrożenie zaproponowanej przez The UK Sepsis Trust strategii „Sepsis Six" oraz szybka i odpowiednio przeprowadzona diagnostyka mikrobiologiczna zwiększają szanse chorego na powrót do zdrowia [28, 125, 143]. Strategia „Sepsis Six" obejmuje 6 zaleceń dotyczących diagnostyki oraz interwencji terapeutycznych (strategia nie dotyczy noworodków):

1. Dostarczenie tlenu.
2. Pobranie krwi na posiew.
3. Wdrożenie dożylnej antybiotykoterapii empirycznej.
4. Pomiar stężenia mleczanów w surowicy krwi.
5. Wdrożenie resuscytacji płynami krystaloidowymi.
6. Założenie cewnika moczowego i monitorowanie objętości wydalanego moczu.

Zaleca się wdrożenie szerokospektralnej antybiotykoterapii empirycznej jak najszybciej, nie później niż 60 minut od rozpoznania sepsy lub wstrząsu septycznego. Pobranie krwi na posiew powinno nastąpić przed podaniem antybiotyków. Jeśli z jakichkolwiek przyczyn pobranie krwi do badań mikrobiologicznych przed wdrożeniem antybiotykoterapii nie jest możliwe lub mogłoby znacznie opóźnić (sugeruje się przyjęcie maksymalnego opóźnienia do 45 minut) podanie antybiotyku, dopuszcza się pobranie krwi bezpośrednio przed podaniem kolejnej dawki leku. Działania zalecane w strategii „Sepsis Six" powinny być wykonane w ciągu godziny od momentu podejrzenia sepsy. Wyniki badań wskazują, że wypełnienie wszystkich 6 punktów „Sepsis Six" zmniejsza względne ryzyko zgonu pacjenta o 55%. Po uzyskaniu wyników badania mikrobiologicznego, wskazujących na czynnik etiologiczny sepsy, powinno się niezwłocznie przejść z terapii empirycznej na optymalnie dobraną dla drobnoustroju i pacjenta terapię celowaną [28, 76, 123, 125].

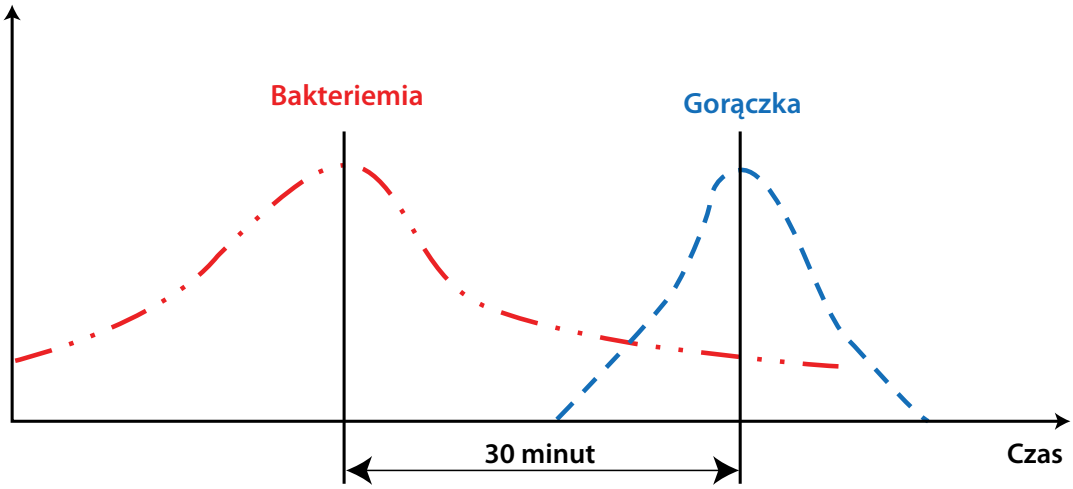
Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.



Ryc. 1. Schemat postępowania przy podejrzeniu infekcji łożyska naczyniowego u pacjenta. Wypełnienie punktów oznaczonych cyframi 1–6 powinno nastąpić w ciągu maksymalnie 60 minut. Opracowano na podstawie [28, 76, 125, 138].

* – antybiotykoterapia empiryczna powinna być możliwie szerokospektralna. Lek powinien być dobrany z uwzględnieniem stanu klinicznego pacjenta oraz spodziewanego czynnika etiologicznego sepsy.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.



Ryc. 2. Wykres przedstawiający rozkład ilości bakterii we krwi w stosunku do wystąpienia gorączki. Zmodyfikowano na podstawie [71].

Tabela 3. Interpretacja wyników posiewów krwi. Opracowano według [56, 73, 109, 128, 153].

Wynik		Interpretacja	Wskazanie
Próbka 1.	Próbka 2.		
Posiew jałowy	Posiew jałowy	• brak zakażenia • czynnik chorobotwórczy niemożliwy do wyhodowania metodami klasycznymi lub • nieodpowiednia objętość próbki albo czas pobrania	Powtórne badanie mikrobiologiczne krwi z uwzględnieniem wirusowych lub niemożliwych do hodowli w normalnych warunkach czynników etiologicznych**
Izolacja drobnoustroju z grupy wysokiego ryzyka*	Posiew jałowy	Prawdopodobny czynnik etiologiczny zakażenia krwi	Wdrożenie antybiotykoterapii celowanej**
Izolacja drobnoustroju z grupy wysokiego ryzyka*	Izolacja tego samego drobnoustroju z grupy wysokiego ryzyka*, co w próbce 1.	Czynnik etiologiczny zakażenia krwi	Wdrożenie antybiotykoterapii celowanej**
Izolacja drobnoustroju z grupy niskiego ryzyka***	Posiew jałowy	Możliwa kontaminacja	Powtórne badanie mikrobiologiczne krwi
Izolacja drobnoustroju z grupy niskiego ryzyka***	Izolacja tego samego drobnoustroju z grupy niskiego ryzyka***, co w próbce 1.	Czynnik etiologiczny zakażenia krwi	Wdrożenie antybiotykoterapii celowanej**
Izolacja więcej niż jednego drobnoustroju, takich samych w obu próbkach	Izolacja więcej niż jednego drobnoustroju, takich samych w obu próbkach	Możliwe czynniki etiologiczne zakażenia krwi****	Wdrożenie antybiotykoterapii celowanej**

* – do grupy należą: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* β-hemolizujące, *Enterococcus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Enterobacteriaceae* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus* spp., *Neisseria meningitidis*, *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., *Pasteurella* spp., bakterie beztlenowe, bakterie z grupy HACEK *(Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus paraphrophilus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*, *Kingella denitrificans*, *Suttonella indologenes)* oraz *Candida* spp.;
** – jeżeli stan kliniczny pacjenta wskazuje na zakażenie krwi;
*** – do grupy należą drobnoustroje będące częstą przyczyną kontaminacji próbek krwi: gronkowce koagulazo-ujemne (60–70% przypadków ich izolacji jest wynikiem fałszywie dodatnim), *Micrococcus* spp., *Streptococcus* α-hemolizujące, *Enterococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Clostridium perfringens*, *Bacillus* spp.;
**** – w niektórych przypadkach możliwe jest zakażenie wywołane przez więcej niż jeden czynnik etiologiczny, np. u pacjentów z niedoborami odporności, po transplantacjach, w przypadku infekcji jamy brzusznej.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Podejmowano próby wyboru najbardziej optymalnego momentu pobrania krwi, w którym prawdopodobieństwo izolacji drobnoustrojów we krwi jest największe. Zaobserwowano, że szczytowa ilość drobnoustrojów we krwi występuje na około 30–60 minut przed pojawieniem się gorączki i dreszczy (Ryc. 2). Przyjmuje się, że jest to najlepszy moment na pobranie krwi na posiew, niemniej jednak dotychczas uzyskane dane nie pozwalają jednoznacznie ocenić w jak dużym stopniu moment pobrania krwi przyczynia się do wzrostu odsetka uzyskanych wyników dodatnich [69, 81, 86, 124]. Zgodnie z rekomendacjami towarzystw (The Society of Critical Care Medicine, Infectious Diseases Society of America, Surviving Sepsis Campaign, Clinical and Laboratory Standards Institute) parametr ten nie powinien wpływać na opóźnienie pobrania krwi na posiew. Natomiast może tłumaczyć wyniki fałszywie ujemne [99].

Niewątpliwie najważniejsze dla zwiększenia wykrywania drobnoustrojów we krwi są dwa parametry:

- objętość krwi wprowadzona do butelek hodowlanych;
- liczba pobranych próbek krwi.

Pobranie krwi na posiew polega na uzyskaniu odpowiedniej objętości krwi z co najmniej dwóch różnych wkłuć. Porównanie wyników otrzymanych w próbkach z każdego z wkłuć daje możliwość pewniejszej interpretacji wyników przy ewentualnym zanieczyszczeniu próbki (Tabela 3) [36, 81, 107]. Wadą przedstawionego postępowania jest narażenie pacjenta na dyskomfort związany z powtórnym wkłuciem do żyły. Niemniej jednak bilans korzyści płynących z zastosowania tej strategii przeważa nad stratami, w związku z czym jest to postępowanie rekomendowane [36, 81, 107].

4.1.1. PROCEDURA POBRANIA KRWI DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH ORAZ WARUNKI TRANSPORTU MATERIAŁU DO LABORATORIUM

4.1.1.1. WYPEŁNIENIE SKIEROWANIA

Niezwykle istotne jest dokładne wypełnienie skierowania do laboratorium. Na skierowaniu należy umieścić poniższe informacje:

- dane identyfikacyjne pacjenta (imię, nazwisko, pesel, indywidualny kod pacjenta);
- data pobrania krwi;
- godzina pobrania krwi;
- imię i nazwisko osoby pobierającej;
- oddział, z którego próbki są kierowane do badania;
- wiek pacjenta;
- rozpoznanie lub podejrzenie rozpoznania stanu pacjenta;
- stosowane przez pacjenta antybiotyki, dawka i częstość podawania;
- kierunek badania: badanie mikrobiologiczne krwi.

4.1.1.2. PRZYGOTOWANIE POMIESZCZENIA

Pierwszym etapem procedury pobrania krwi na posiew jest przygotowanie pomieszczenia, w którym nastąpi pobranie, niezależnie od tego, czy jest to osobny pokój zabiegowy, czy sala pacjentów. W pomieszczeniu należy zamknąć okna oraz drzwi, aby zminimalizować ruch powietrza wewnątrz. Idealnym pomieszczeniem do pobrania krwi na posiew jest izolatka, w której przebywa tylko jeden pacjent, jeśli jednak nie ma możliwości odosobnienia chorego na czas pobrania, a na sali przebywa więcej niż jedna osoba, należy w miarę możliwości odgrodzić przestrzeń, w której będzie się odbywało pobranie krwi, np. parawanem. Pozwoli to na zminimalizowanie dostępu mikrobioty pozostałych pacjentów do stanowiska pobrania krwi i zapewni prywatność podczas zabiegu. Należy się upewnić,

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Ryc. 3. Zestaw do pobierania krwi: rękawiczki (1), pojemnik twardościenny na zużyte igły (2), worek na odpady medyczne (3), staza (4), butelki do hodowli tlenowej (5), butelki do hodowli beztlenowej (6), środek do dezynfekcji skóry (7) i jałowe gaziki (8) lub gaziki nasączone alkoholowym roztworem do dezynfekcji skóry (9), igły motylkowe (10) lub igły standardowe z zabezpieczeniem (11) i strzykawki (12). W ostateczności można skorzystać z igły starego typu (13), aczkolwiek jest to niewskazane. Adaptery do pobierania bezpośrednio do butelek hodowlanych (14), plaster z opatrunkiem (15) lub jałowy kompres (16) i plaster (17).

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

że osoba pobierająca będzie miała swobodny dostęp do pacjenta podczas wykonywania pobrania (zwłaszcza w przypadku chorych nieprzytomnych lub o ograniczonych możliwościach ruchu) oraz że jest możliwość rozłożenia zestawu do pobierania krwi w miejscu, do którego osoba pobierająca będzie mogła swobodnie sięgnąć w trakcie procedury. Jeżeli w pomieszczeniu nie ma pojemnika twardościennego na zużyte ostre materiały zakaźne i czerwonego worka na odpady medyczne, należy je dostarczyć na czas wykonania pobrania krwi na posiew [137, 155].

4.1.1.3. PRZYGOTOWANIE ZESTAWU DO POBIERANIA KRWI

Przed przystąpieniem do pracy konieczne jest umycie rąk wodą z mydłem. Następnie należy skompletować zestaw do pobierania krwi (Ryc. 3), w skład którego wchodzą:

- rękawiczki jednorazowe (niejałowe);
- taca;
- igły;
- strzykawki (jeśli nie ma możliwości bezpośredniego pobrania krwi do butelek hodowlanych poprzez system zamknięty);
- system zamknięty do bezpośredniego pobierania krwi do butelek hodowlanych;
- butelki z podłożami hodowlanymi;
- preparat do dezynfekcji skóry;
- jałowe gaziki;
- staza;
- plaster z opatrunkiem;
- pojemnik twardościenny na zużyte igły;
- worek na zużyte rękawiczki.

Zestaw narzędzi niezbędnych do pobrania krwi powinien znajdować się w zasięgu rąk osoby pobierającej i być ustawiony w sposób umożliwiający komfortowe oraz bezpieczne dla obu stron wykonanie procedury.

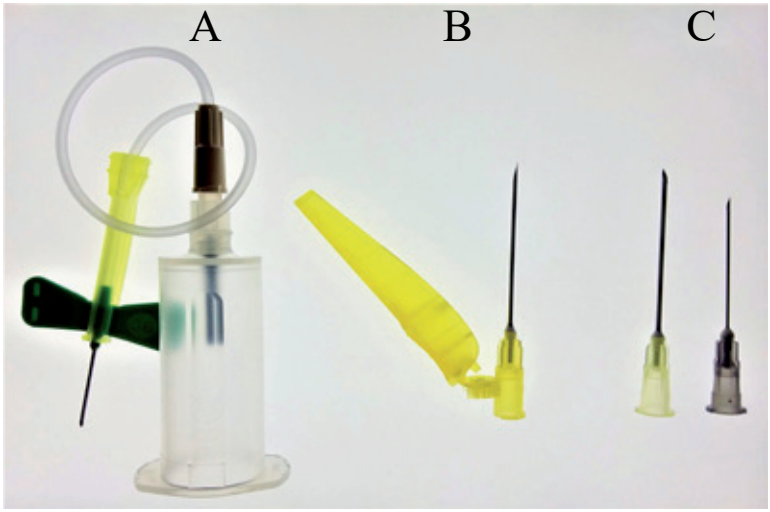
4.1.1.4. WYBÓR IGŁY DO POBIERANIA KRWI[1]

Krew na posiew należy pobierać systemem zamkniętym, bezpośrednio do butelek hodowlanych, z użyciem igieł motylkowych i specjalnych adapterów udostępnianych przez producentów butelek hodowlanych. Butelki powinny być ustawione w pozycji pionowej podczas całej procedury pobierania krwi. W szczególnych przypadkach dopuszcza się wykorzystanie zwykłej igły oraz strzykawki (Ryc. 4). Należy wówczas pobrać odpowiednią objętość krwi do strzykawki i przenieść krew do butelek, wykorzystując adaptery. Pobieranie krwi igłą i strzykawką w systemie otwartym jest obarczone wysokim ryzykiem kontaminacji próbki oraz przypadkowego zakłucia personelu [35, 137].

W przypadku pobierania krwi u noworodków grubość igły jest dobierana pod względem masy ciała dziecka, a także średnicy żyły. Nie zaleca się stosowania bardzo cienkich igieł (cieńszych niż 25G), ponieważ mogą prowadzić do wystąpienia hemolizy próbki (co jest istotne w przypadku pobierania krwi do większej liczby badań, nie tylko na posiew). W przypadku problemu z szybkim krzepnięciem krwi u noworodków można wykorzystać specjalne igły heparynizowane [79, 155].

[1] Informacje zawarte w tym podrozdziale pochodzą częściowo z materiałów handlowych udostępnianych przez producentów automatycznych systemów hodowlanych.

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*



Ryc. 4. Rodzaje igieł do pobierania krwi – przykłady.

A – igła motylkowa;
B – igła standardowa z zabezpieczeniem;
C – igła standardowa starego typu.

Do pobierania krwi należy wykorzystywać bezpieczne igły, które są wyposażone w automatycznie aktywowany mechanizm zabezpieczający, możliwy do uruchomienia jedną ręką. Zabezpieczenie powinno być niezawodne, łatwe i intuicyjne w obsłudze, mechanizm ochronny powinien tworzyć skuteczną, trwałą i nieodwracalną barierę między ostrym elementem a pracownikiem, nie może mieć opcji dezaktywacji, a jego właściwości ochronne muszą być zachowane również po wyrzuceniu. Aktywacja mechanizmu ochronnego powinna być łatwo zauważalna dla użytkownika. Mechanizm ochronny musi być integralną częścią wyrobu medycznego i nie może generować dodatkowego ryzyka dla pracownika, ani w żaden sposób narażać bezpieczeństwa pacjenta i jakości wykonywanej procedury. Mechanizm powinien zostać aktywowany jak najwcześniej, a ręce pracownika muszą znajdować się zawsze za ostrym elementem igły [34, 151].

4.1.1.5. OPISANIE BUTELEK HODOWLANYCH

Każda butelka powinna zostać dokładnie opisana z użyciem nierozmazującego się markera bądź długopisu. Na butelce powinny się znaleźć dane pacjenta, takie jak:

- imię i nazwisko;
- data i godzina pobrania krwi;
- miejsce pobrania materiału (np. ręka lewa, ręka prawa);
- indywidualny kod badania.

Jeśli placówka korzysta z systemu informatycznego, należy na każdej butelce umieścić kod badania, który umożliwi identyfikację pacjenta oraz połączenie butelki ze zleceniem w systemie. Każda butelka ma na etykiecie kod kreskowy, który jest odczytywany przez aparat w celu identyfikacji rodzaju butelki. Dodatkowo na butelkach są umieszczone specjalne znaczniki wskazujące wymagany poziom pobieranej krwi, które również są skanowane przez aparaty i dostarczają cennych danych do baz epidemiologicznych. Niezwykle istotne jest, aby nie umieszczać żadnych napisów oraz nie naklejać niczego na kody kreskowe i znaczniki poziomu umieszczone na etykietach butelek. Zakrycie kodów bądź znacznika spowoduje, że butelka nie będzie mogła być odczytana przez aparat i nie będzie nadawała się do dalszej pracy. Obecnie systemy hodowlane są wysoce zautomatyzowane, co znacząco przyspiesza otrzymanie wyniku, jednak trzeba pamiętać o wspomnianych powyżej elementach, które nie mają znaczenia diagnostycznego, natomiast są kluczowe do prawidłowej pracy aparatu [137].

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

4.1.1.6. PRZYGOTOWANIE PERSONELU

A. DEZYNFEKCJA RĄK

Przed przystąpieniem do pracy z pacjentem należy umyć ręce wodą z mydłem i wytrzeć do sucha, a następnie zdezynfekować środkiem zawierającym alkohol. Umycie rąk ma na celu pozbycie się ze skóry zabrudzeń oraz drobnoustrojów, które dostały się na dłonie (mikrobiota przejściowa), natomiast dezynfekcja pozwala na czasowe ograniczenie/zmniejszenie ilości własnej mikrobioty. Zarówno mycie, jak i dezynfekcja mają na celu zminimalizowanie ryzyka kontaminacji próbek. Według wytycznych WHO ręce należy myć po przyjściu do pracy, po wyjściu z toalety, zawsze kiedy są widocznie zabrudzone, kiedy miały kontakt z płynami ustrojowymi lub krwią pacjenta oraz zawsze w przypadku ekspozycji na organizmy przetrwalnikujące, np. *Clostridioides difficile*. W pozostałych przypadkach, w tym obligatoryjnie przed i po kontakcie z pacjentem bądź jego otoczeniem, ręce należy dezynfekować środkiem na bazie alkoholu [158].

B. STOSOWANIE RĘKAWICZEK MEDYCZNYCH

Po dezynfekcji rąk, gdy środek dezynfekujący wyschnie, należy założyć rękawiczki. Zakładanie rękawiczek medycznych na zdezynfekowane dłonie, na czas kontaktu z pacjentem, dodatkowo ogranicza ryzyko kontaminacji pobieranego materiału biologicznego, a także ryzyko przenoszenia patogenów na pacjentów, w porównaniu do samej dezynfekcji rąk. Ponadto rękawiczki redukują ryzyko kontaminacji skóry pracownika medycznego materiałem biologicznym, zwiększając bezpieczeństwo pracy [54, 116, 145]. Niezwykle istotne w kontekście ograniczania rozprzestrzeniania się drobnoustrojów wysoce patogennych oraz bezpieczeństwa chorego i personelu medycznego jest prawidłowe korzystanie z rękawiczek medycznych. Rękawiczki powinny być dobrze dobrane pod kątem rozmiaru oraz materiału, z jakiego są wykonywane (ograniczenie reakcji alergicznych i podrażnień skóry). Ręce przed założeniem rękawiczek, a także po ich ściągnięciu powinny być dezynfekowane. Istotne jest dokładne wysuszenie dłoni po myciu i dezynfekcji, nie tylko z uwagi na utrudnione zakładanie rękawiczek na wilgotną skórę, lecz także na to, że wilgotne i ciepłe środowisko stwarza idealne warunki do rozwoju drobnoustrojów. W przypadku obecności zranień i widocznych uszkodzeń skóry należy zastosować opatrunek przed założeniem rękawiczek [43, 48].

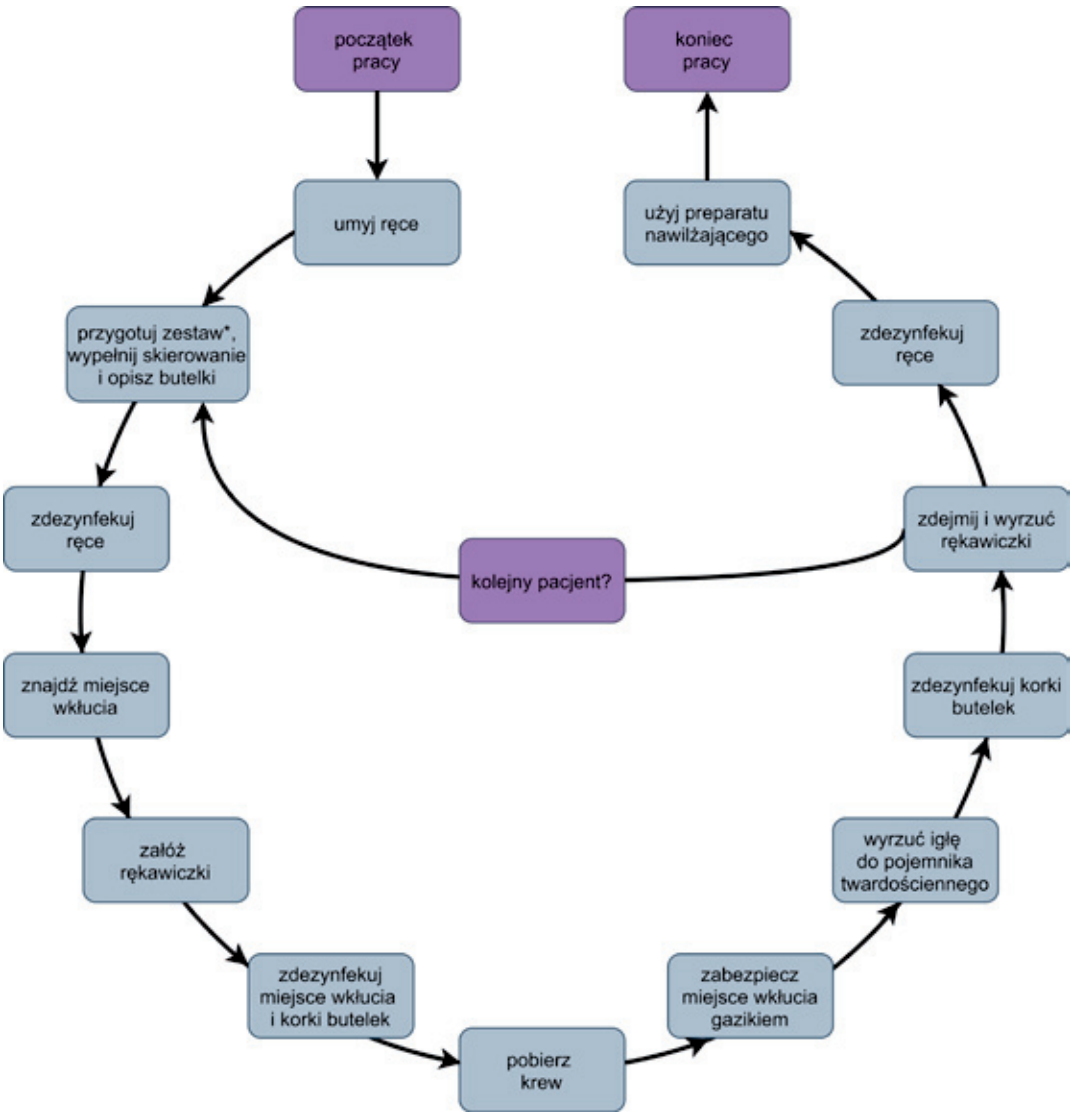
Zakładając i ściągając rękawiczki należy [43]:

- unikać dotykania opakowania, w którym znajdują się rękawiczki;
- założyć jedną rękawiczkę, dotykając jedynie fragmentu rękawiczki najbliższego nadgarstkowi – uniknięcie kontaminacji rękawiczek mikrobiotą skóry;
- wyjąć drugą rękawiczkę z opakowania, używając niezabezpieczonej ręki;
- podczas nakładania drugiej rękawiczki unikać dotykania skóry – mankiet rękawiczki należy wykręcić do zewnątrz i naciągnąć rękawiczkę na dłoń;
- po założeniu rękawiczek unikać dotykania czegokolwiek poza zestawem do pobierania krwi i skórą pacjenta w miejscu wkłucia;
- przy ściąganiu pierwszej rękawiczki unikać dotykania skóry;
- przy ściąganiu drugiej rękawiczki unikać dotykania zewnętrznej powierzchni rękawiczki – należy wsunąć palce za mankiet rękawiczki i odwijając mankiet na zewnątrz, zsunąć rękawiczkę z dłoni;
- trzymając rękawiczki za wewnętrzną stronę mankietów, wyrzucić je do odpowiedniego pojemnika na odpady medyczne.

Przygotowanie pomieszczenia, zestawu do pobierania krwi, wypełnienie skierowania oraz opis butelek powinny mieć miejsce przed założeniem rękawiczek [43, 48]. Pierwszorazowo przed założeniem rękawiczek należy dokładnie umyć, osuszyć i zdezynfekować ręce – pomiędzy pacjentami wymagana jest zmiana rękawiczek i obligatoryjnie ponowna dezynfekcja. Po założeniu rękawiczek należy jak

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

najbardziej ograniczyć kontakt z przedmiotami z otoczenia, np.: nie otwierać opakowań zbiorczych z gazikami, nie otwierać szafek, szuflad, nie podpisywać butelek i probówek, nie zmieniać ustawienia wysokości krzesła itp. Po pobraniu krwi do butelek należy aktywować mechanizm zabezpieczający igłę i wyrzucić ją do twardościennego pojemnika na odpady biologiczne. W związku ze stosowaniem środków dezynfekcyjnych należy pamiętać o częstym nawilżaniu dłoni specjalnymi preparatami nawilżającymi i natłuszczającymi, najlepiej przeznaczonymi dla osób pracujących w laboratoriach i w sektorze medycznym. Pozwoli to zapobiec wysuszaniu, łuszczeniu się skóry i powstawaniu mikrourazów stanowiących wrota zakażenia [43, 77, 78].



Ryc. 5. Schemat bezpiecznego postępowania podczas pobierania krwi. Opracowanie na podstawie [43, 48].

* – w skład zestawu do pobierania krwi wchodzą: taca, igły, strzykawki, adaptery, butelki z podłożem hodowlanym, preparat do dezynfekcji skóry, jałowe gaziki, rękawiczki, pojemnik twardościenny, plaster z opatrunkiem, worek na zużyte rękawiczki oraz staza.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Rękawiczki medyczne są wyrobem jednorazowym, konieczna jest ich zmiana po każdym pacjencie i wyrzucanie do odpowiedniego pojemnika na odpady medyczne. Następnie obowiązkowo należy zdezynfekować ręce alkoholowym środkiem do dezynfekcji rąk (Ryc. 5) [137]. W przypadku konieczności oklepywania żyły przed wkłuciem trzeba stosować rękawiczki jałowe.

4.1.1.7. PRZYGOTOWANIE PACJENTA

Tożsamość pacjenta należy potwierdzić przed rozpoczęciem procedury pobierania krwi. Pacjent w czasie trwania całej procedury pobrania krwi na posiew powinien leżeć bądź siedzieć w stabilnej pozycji, która gwarantuje bezpieczeństwo w przypadku utraty przytomności. Jeśli pobranie będzie odbywało się w pozycji siedzącej, należy zadbać o to, aby oparcia były stabilne i chroniły przed osunięciem się z siedziska w przypadku omdlenia. Ręka pacjenta powinna swobodnie i stabilnie leżeć na kozetce, podłokietniku bądź blacie. Jeżeli krew ma być pobierana bezpośrednio do butelek z podłożem hodowlanym, trzeba zadbać o możliwość umieszczenia ich poniżej ręki chorego w trakcie pobrania krwi. Jeśli kontakt z pacjentem jest zachowany, należy go poinformować o tym jak będzie wyglądała procedura oraz o czynnościach, które w danym momencie są przy pacjencie wykonywane. Pobranie krwi powoduje u niektórych omdlenia, zwłaszcza u osób osłabionych chorobą, w związku z czym należy być czujnym na zmiany w wyglądzie pacjenta (nagła bladość, potliwość, drżenie rąk, spłycony oddech), a także nie ignorować uwag chorego na temat jego samopoczucia. W przypadku, kiedy zasłabnięcie pacjenta może spowodować zagrożenie dla niego samego bądź osoby pobierającej, należy przerwać pobieranie krwi i powtórzyć je po zapewnieniu pacjentowi bezpieczeństwa [137, 155].

W przypadku kiedy pacjentem jest małe dziecko bądź noworodek, nie powinno się pobierać krwi bez pomocy drugiej osoby. Najlepiej jeśli jest to pracownik ochrony zdrowia, jednak jeśli nie ma takiej możliwości, należy poprosić o pomoc rodzica bądź opiekuna dziecka. W przypadku noworodków, niemowląt i małych dzieci pacjent może mieć kontakt z rodzicem podczas trwania całej procedury (jeśli jest taka możliwość). Pomoc dodatkowej osoby powinna skupiać się na unieruchomieniu ręki dziecka podczas pobrania krwi oraz na odwróceniu jego uwagi od zabiegu. Noworodek przed wykonaniem wkłucia powinien mieć podane 1–1,5 ml roztworu glukozy lub sacharozy bezpośrednio na język [127, 137, 155].

Przed wkłuciem igły do żyły należy zdezynfekować skórę pacjenta w miejscu wkłucia. Procedura dezynfekcji opisana jest w dalszej części tekstu.

4.1.1.8. TECHNIKA POBRANIA KRWI

A. MIEJSCE WKŁUCIA

Standardem w zakresie pobierania krwi do badań mikrobiologicznych jest pobranie krwi z naczynia obwodowego. Krew powinno się pobrać z dwóch różnych żył, najlepiej z oddalonych od siebie miejsc, np. z dwóch różnych kończyn górnych. Jest to niezwykle istotne z uwagi na ograniczenie ryzyka kontaminacji próbki. Do pobrania krwi na posiew nie należy wykorzystywać już utworzonych dostępów naczyniowych, tylko wykonać świeże wkłucia. W przypadku utrudnień lub braku możliwości pobrania krwi żylnej dopuszcza się pobranie krwi tętniczej, co nie wpływa na czułość i jakość badania [16, 25, 139].

Jedyną sytuacją, w której dopuszcza się pobranie krwi przez cewnik naczyniowy, jest podejrzenie zakażenia związanego z założonym cewnikiem. W takim przypadku, poza próbkami pobranymi przez cewnik, konieczne jest pobranie dodatkowych próbek ze świeżego wkłucia [12, 21, 40]. Próbki ze świeżego wkłucia i pobrane przez cewnik umożliwiają potwierdzenie tzw. zakażenia odcewnikowego [19, 21].

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

U noworodków istotny jest wybór naczynia krwionośnego do pobrania materiału. Krew na posiew musi być pobrana z żyły bądź tętnicy. Żyła wybrana do nakłucia powinna być położona jak najbardziej obwodowo. Przeciwwskazaniem do nakłucia danej żyły są uszkodzenia skóry oraz odczyny zapalne w miejscu nakłucia, a także skaza krwotoczna i silne zaburzenia krzepnięcia. Nie należy nakłuwać dużych żył (udowa, szyjna) jedynie w celu pobrania krwi na posiew, ponieważ nakłucie tych naczyń jest związane z dużym ryzykiem wystąpienia niepożądanych skutków oraz są one przeznaczone do kaniulacji żył centralnych noworodków, jeśli zachodzi taka konieczność.

Przyjmuje się następującą kolejność w wyborze żył do wkłucia [24, 79, 89, 155]:

- żyły grzbietu ręki;
- żyły grzbietu stopy;
- żyły nadgarstka;
- żyły dołu łokciowego;
- żyły powierzchowne skóry głowy;
- żyły okolicy kostki przyśrodkowej.

W przypadku kiedy pobranie krwi z żyły jest niemożliwe, dopuszcza się pobranie krwi tętniczej. Do nakłucia należy wybierać jedynie tętnice obwodowe. Kolejność wyboru tętnic przedstawia się następująco [24, 79, 89]:

- tętnica promieniowa;
- tętnica grzbietowa stopy;
- tętnica piszczelowa tylna;
- tętnica skroniowa;
- tętnica ramienna – wyjątkowo, jedynie w sytuacji zagrożenia życia.

Przed pobraniem krwi z tętnicy promieniowej bezwzględnie należy wykonać test Allena, który określa funkcjonowanie krążenia obocznego okolicy zaopatrywanej przez tętnicę łokciową. Tętnicę promieniową można nakłuć jedynie w sytuacji, kiedy czas powrotu ukrwienia w teście Allena nie przekroczy 15 sekund. W innym wypadku jest to wysoce przeciwwskazane. U noworodków należy unikać nakłuwania tętnicy udowej. Przeciwwskazaniami do pobrania krwi z tętnicy są: zaburzenia krzepnięcia, zaburzenia ukrwienia okolicy zaopatrywanej przez wybraną tętnicę, planowana w przyszłości kaniulacja danej tętnicy oraz uszkodzenia skóry i odczyny zapalne występujące w miejscu nakłucia. U noworodków urodzonych przedwcześnie dodatkowym czynnikiem, który należy brać pod uwagę, wybierając miejsce wkłucia, jest odległość naczynia od ośrodkowego układu nerwowego. Im bardziej dystalnie w stosunku do mózgu znajduje się naczynie krwionośne, które zostało wybrane do ukłucia, tym jest mniejsza szansa na działanie hamujące ból, które zależne jest od dróg hamujących ból, rozrastających się od głowy do obwodu. Oznacza to miedzy innymi, że nakłucie naczynia krwionośnego na kończynie górnej będzie u wcześniaka urodzonego w 32. tygodniu ciąży mniej bolesne od nakłucia podobnego naczynia na kończynie dolnej [24, 79, 89, 155].

B. DEZYNFEKCJA MIEJSCA WKŁUCIA

Przed wkłuciem igły do żyły pacjenta należy zdezynfekować skórę w miejscu wkłucia oraz korki butelek do hodowli krwi. Prawidłowa dezynfekcja pozwala na ograniczenie kontaminacji próbek i tym samym redukuje ryzyko otrzymania wyniku fałszywie dodatniego [2, 131]. Preparat do dezynfekcji powinien być nałożony na skórę bezpośrednio przed pobraniem i wyschnąć przed wkłuciem igły. Po dezynfekcji miejsce wkłucia nie powinno być dotykane. Do dezynfekcji skóry należy użyć preparatu na bazie alkoholu, alkoholowego roztworu powidonu jodu lub wodnego PVP-jod, jeżeli wskazania preparatu alkoholowego nie pozwalają na jego użycie. W przypadku użycia preparatu z powidonem jodu zmiana barwy z ciemnobrązowej na matową jasnobrązową świadczy o wyschnięciu preparatu. W aktualnym

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

stanie prawnym preparat ten musi być produktem leczniczym o wskazaniach do dezynfekcji skóry. Wymagana jest skuteczność wobec bakterii, grzybów, prątków gruźlicy oraz wirusów w czasie kontaktu do 1 minuty. Ze względu na wysoką skuteczność drobnoustrojobójczą oraz praktyczne cechy użytkowe, w kluczowych światowych rekomendacjach do preparatów pierwszego wyboru zaliczane są alkoholowe roztwory PVP-jod. Szybkie działanie, odtłuszczanie skóry oraz precyzyjne oznaczenie dezynfekowanego pola tworzą podstawowe kryteria stosowania produktu do dezynfekcji skóry. Za istotne uznać należy również czasowy charakter przebarwienia spowodowanego przez PVP-jod. Wyschnięcie wiąże się z widoczną zmianą barwy (przejaśnieniem), co stanowi praktyczny parametr kontroli czasu dezynfekcji. Warto podkreślić, że jest to jeden z niewielu możliwych do zastosowania wskaźników bezpieczeństwa dla tej obarczonej dużym ryzykiem błędu procedury medycznej [18, 87, 91, 92, 150].

Do dezynfekcji skóry przed pobraniem krwi na posiew nie powinny być stosowane preparaty zawierające substancje bakteriostatyczne, takie jak: difenylol, alkohol benzylowy lub dichlorowodorek oktenidyny, ze względu na możliwość wyniku fałszywie ujemnego.

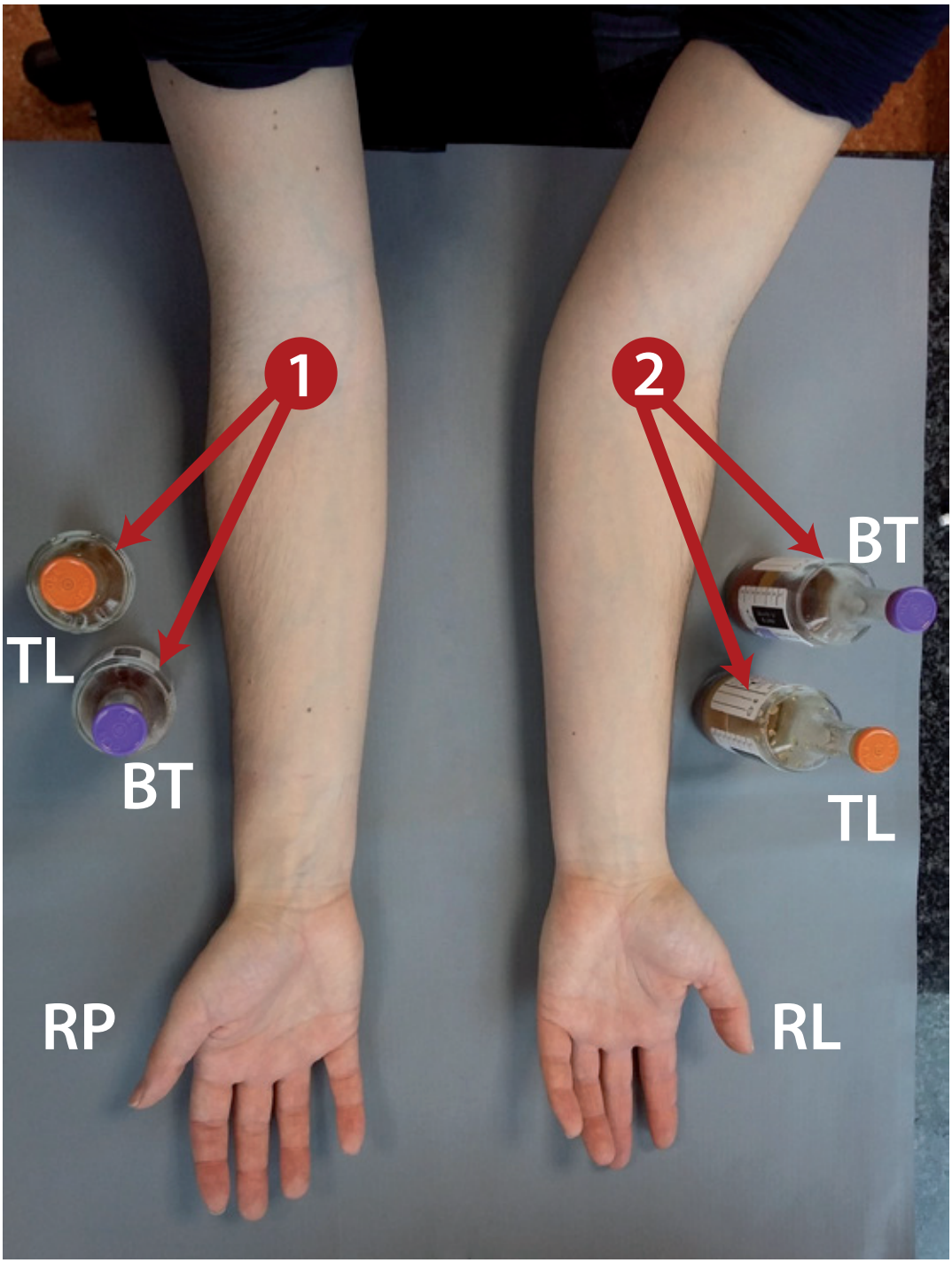
W przypadku noworodków i wcześniaków urodzonych przed 27. tygodniem ciąży, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) zaleca stosowanie wodnych roztworów powidonu jodu, które są skuteczne wobec wegetatywnych i przetrwalnikowych form drobnoustrojów, wirusów i grzybów oraz są nietoksyczne. Jod cząsteczkowy jest substancją przechodzącą przez błony półprzepuszczalne, co zwiększa skuteczność dezynfekcji poprzez penetrację do skóry i tkanki podskórnej [31, 130]. Ze względu na zwiększoną wchłanialność i ryzyko podrażnień nie zaleca się wykorzystywania roztworów alkoholowych do dezynfekcji skóry u noworodków i niemowląt. Wykonywanie dezynfekcji podwójnej – wykorzystanie alkoholu izopropylowego oraz dodatkowego antyseptyku jedno po drugim – nie jest rekomendowane z uwagi na brak istotnego wpływu na skuteczność dezynfekcji oraz generowanie dodatkowych kosztów [9, 70, 152]. Prawidłowa dezynfekcja skóry pacjenta jest kluczowym czynnikiem redukowania fałszywie dodatnich wyników posiewów krwi. Równie istotna jest dezynfekcja korka butelki hodowlanej – tak, aby nie stał się źródłem zanieczyszczenia próbki krwi. Korek należy zdezynfekować zarówno przed pobraniem krwi, jak i po przeniesieniu krwi, po wyjęciu igły z korka butelki, przy użyciu bezbarwnego preparatu alkoholowego, niezawierającego substancji bakteriostatycznych [35].

C. LICZBA POBRANYCH PRÓBEK I UŻYTYCH BUTELEK Z PODŁOŻEM HODOWLANYM

Krew na posiew należy pobrać z dwóch osobnych wkłuć. Z każdego wkłucia, u pacjenta dorosłego i u dziecka o masie ciała większej niż 36,3 kg, krew pobiera się do dwóch butelek hodowlanych – do hodowli tlenowej oraz beztlenowej (Ryc. 6). W miarę potrzeby można dołożyć dodatkowe butelki – do hodowli grzybów bądź prątków. Krew pobraną z jednego wkłucia określa się mianem jednej próbki krwi (zestaw dwóch butelek). Należy pamiętać, żeby dla każdej pobranej próbki krwi użyć takich samych butelek. Dla przykładu, jeśli z pierwszego wkłucia pobrano krew do butelek, np.: tlenowej, litycznej i do hodowli grzybów, to z drugiego wkłucia trzeba pobrać krew również do butelki tlenowej, litycznej i do hodowli grzybów. W niektórych przypadkach, np. przy podejrzeniu infekcyjnego zapalenia wsierdzia oraz gorączki o nieznanym pochodzeniu, zaleca się pobranie 3 próbek krwi z osobnych wkłuć (6 butelek, po 2 butelki na próbkę krwi) [46, 81, 156]. Rekomendowane jest użycie butelek z podłożem litycznym do hodowli beztlenowych oraz butelek z inaktywatorem antybiotyku i adsorbentem do hodowli tlenowych[2]. Te dwa rodzaje butelek hodowlanych, w porównaniu ze standardowymi podłożami do hodowli tlenowej i beztlenowej, charakteryzują się większym odzyskiem drobnoustrojów, możliwością izolacji patogenów wewnątrzkomórkowych oraz inaktywacją leków

[2] Szczegółowe informacje na temat rodzajów butelek hodowlanych znajdują się w podrozdziale 4.1.1.5.

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*



Ryc. 6. Przykładowy wybór miejsca wkłucia i butelek hodowlanych dla pacjenta o masie ciała większej niż 36,3 kg.

Próbka (1) – krew z ręki prawej (RP), rozdysponowana po 10 ml do butelek do hodowli tlenowej (TL) i beztlenowej (BT).
Próbka (2) – krew z ręki lewej (RL), rozdysponowana po 10 ml do butelek do hodowli tlenowej (TL) i beztlenowej (BT).

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

przeciwdrobnoustrojowych. Przekłada się to na zmniejszenie odsetka wyników fałszywie ujemnych oraz na krótszy czas oczekiwania na wynik badania mikrobiologicznego. Nie należy pobierać niepełnych zestawów ani pojedynczego zestawu butelek [85, 93, 97, 111, 120, 126].

Od pacjentów pediatrycznych o masie ciała większej niż 1,1 kg również pobiera się krew z dwóch osobnych wkłuć:

- u dzieci o masie ciała 12,8–36,3 kg z jednego wkłucia pobiera się krew tylko do jednej butelki do hodowli tlenowej;
- u dzieci o masie ciała większej niż 36,3 kg z jednego wkłucia pobiera się krew do dwóch butelek, tak jak u pacjenta dorosłego;
- dla pacjentów o masie ciała niższej niż 12,8 kg przeznaczone są specjalne butelki pediatryczne o zmniejszonej pojemności;
- od dzieci o masie ciała <12,8 kg krew z jednego wkłucia pobiera się do jednej butelki pediatrycznej;
- u dzieci o masie ciała niższej niż 1 kg wykonuje się tylko jedno wkłucie i pobiera jedną próbkę do jednej butelki pediatrycznej.

W odróżnieniu od pacjentów dorosłych, u dzieci nie korzysta się z butelek do hodowli beztlenowych. Jest to podyktowane tym, że drobnoustroje beztlenowe wywołują tylko około 0,5–4,8% zakażeń krwi u małych dzieci [55, 61]. Niemniej jednak w niektórych przypadkach warto rozważyć wykorzystanie butelki z podłożem litycznym, ponieważ część drobnoustrojów względnie beztlenowych rozwija się jedynie w podłożach przystosowanych do hodowli beztlenowców. Dodanie butelki z podłożem litycznym można rozważyć, jeśli pacjent jest obarczony wysokim ryzykiem infekcji wywoływanych przez beztlenowce (np. w przypadku: problemów z uzębieniem, zapalenia błony śluzowej jamy ustnej, przewlekłego zapalenia zatok, patologii w obrębie jamy brzusznej, neutropenii, odleżyn, ukąszenia przez człowieka, po zmiażdżeniach czy w trakcie terapii steroidowej) oraz gdy nie ma problemu z pobraniem większej objętości krwi, dlatego że nie ma pediatrycznego odpowiednika dla tego rodzaju butelek [55, 61, 94, 98].

W przypadku podejrzenia tzw. zakażenia odcewnikowego ze świeżego wkłucia pobiera się jedną próbkę, natomiast druga powinna zostać pobrana przez światło cewnika. W sytuacji, kiedy cewnik naczyniowy jest wieloświatłowy, należy pobrać próbki z najczęściej wykorzystywanego światła, a jeśli jest taka możliwość – z więcej niż jednego światła. Pobranie krwi do badania tylko z jednego ze świateł cewnika zwiększa ryzyko otrzymania wyniku fałszywie ujemnego ze względu na nieregularne rozmieszczenie biofilmu bakteryjnego na cewniku oraz możliwą kontaminację tylko jednego ze świateł cewnika [21, 59]. Do pobrania krwi przez port naczyniowy należy użyć specjalnej igły (igła Hubera z wielopłaszczyznowym, łyżeczkowatym szlifem), ponieważ stosowanie igieł do iniekcji może uszkodzić port. Nie należy przepłukiwać portu przed pobraniem krwi. Po pobraniu materiału port przepłukuje się 10 ml fizjologicznego roztworu soli, opcjonalnie heparynizowanego (tzw. korek heparynowy). W przypadku podejrzenia zakażenia odcewnikowego należy zmniejszyć objętość korka heparynowego i nie należy używać portu do prowadzenia wlewów, aż do momentu potwierdzenia/wykluczenia zakażenia [53]. Jeśli istnieje możliwość usunięcia cewnika, do badania można przesłać również jego końcówkę. W tym celu, pamiętając o zachowaniu zasad aseptyki, należy:

- usunąć cewnik ze światła naczynia;
- odciąć w warunkach aseptycznych około 5 cm fragmentu końcowego cewnika;
- umieścić odcięty fragment w sterylnym pojemniku.

Dokładnie opisany pojemnik należy przesłać do laboratorium wraz z próbkami krwi. Pomocniczo dopuszcza się dodatkowe pobranie wymazu z okolicy miejsca wkłucia, szczególnie jeśli skóra wokół cewnika przejawia oznaki stanu zapalnego [21, 40].

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Przy korzystaniu z różnych rodzajów igieł do pobierania krwi na posiew należy pamiętać o zachowaniu prawidłowej kolejności pobrania materiału. W przypadku igły motylkowej w systemie zamkniętym producent zaleca w pierwszej kolejności napełnić butelkę tlenową, a następnie beztlenową i ewentualne dodatkowe, natomiast przy wykorzystaniu igły ze strzykawką jako pierwszą należy napełnić butelkę beztlenową, a później tlenową i pozostałe. Odwrotna kolejność w przypadku użycia systemu otwartego wynika z wrażliwości drobnoustrojów beztlenowych na obecny w powietrzu tlen, który mógłby się dostać do strzykawki. Jeśli zachodzi potrzeba wykonania innych badań, krew można pobrać z wkłucia wykonanego w celu poboru materiału do badań mikrobiologicznych, po napełnieniu wszystkich butelek hodowlanych oraz zachowując prawidłową kolejność pobrania [35, 137].

D. OBJĘTOŚĆ POBRANEJ KRWI

Najistotniejszym aspektem przy pobieraniu krwi do badań mikrobiologicznych jest objętość pobranego materiału. U dorosłych i dzieci o masie ciała >36,3 kg jedna próbka krwi (zestaw) powinna mieć objętość 20–30 ml (po 10 ml do butelki hodowlanej). W przypadku pacjentów pediatrycznych o masie ciała <36,3 kg główną determinantą całkowitej objętości krwi pobranej do badania jest masa ciała pacjenta. Pobrana krew nie powinna przekraczać 5% całkowitej objętości krwi krążącej (Tabela 4). Zaleca się pobranie maksymalnej w stosunku do wieku objętości krwi [61, 65, 107, 156].

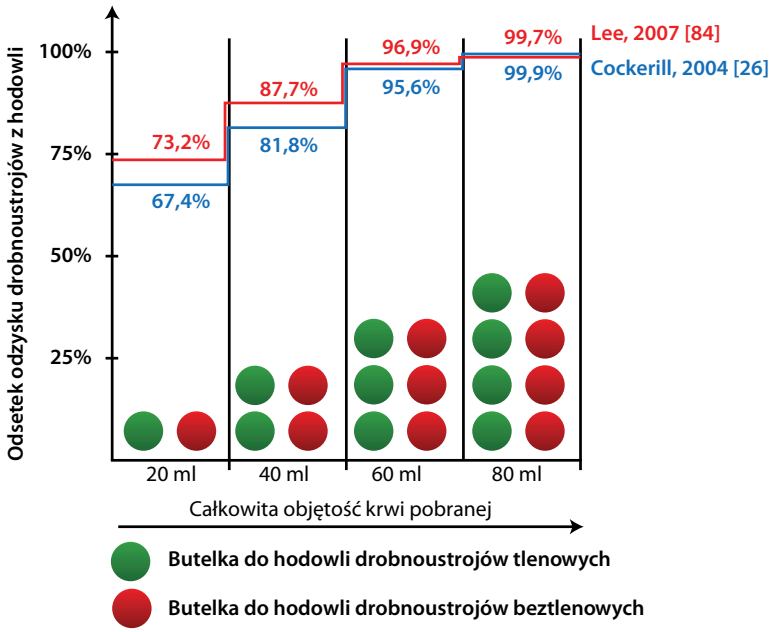
Dotychczas przeprowadzono wiele badań, które jednoznacznie potwierdziły, że wzrost łącznej objętości pobranego materiału wiąże się z większym odzyskiem drobnoustrojów w ciągu 24 godzin (Ryc. 7). Do butelek hodowlanych należy pobierać zawsze maksymalną, dozwoloną przez producenta objętość materiału (dorośli 10 ml, do butelek pediatrycznych od 0,5 do 4–5 ml, w zależności od producenta). Pobranie prawidłowej objętości krwi wpływa na wzrost odsetka uzyskiwanych wyników. Każdy ml krwi mniej w butelce wpływa na obniżenie szans na wyhodowanie patogenu o około 3%. Udowodniono, że przy całkowitej objętości krwi pobranej, równej 20 ml (jedna próbka – 2 butelki), wykorzystując automatyczne systemy do hodowli, wynik pozytywny w ciągu 24 godzin można uzyskać jedynie w około 70% przypadków pacjentów z sepsą. Zwiększając objętość pobranego materiału do 40 ml (2 próbki – 4 butelki), odsetek pozytywnych wyników zwiększa się o 15%, a przy 60 ml (3 próbki – 6 butelek) – o kolejne 10%. Pobierając 80 ml krwi (4 próbki – 8 butelek), można zwiększyć odzysk hodowli pozytywnych do >99% [3, 26, 81, 82, 84, 132].

Obliczono, że w trakcie infekcji w 1 ml krwi znajduje się jedynie 1–10 CFU (ang. colony forming units) bakterii. Dla porównania 1 ml krwi zawiera średnio 4–6 miliarda erytrocytów, minimum 16 milionów leukocytów oraz 150–350 tysięcy trombocytów. Komórki bakterii stanowią jedynie niewielki odsetek we krwi, w związku z czym pobranie mniejszej niż rekomendowana objętości krwi zmniejsza szanse na wyhodowanie drobnoustrojów (Ryc. 8) [108].

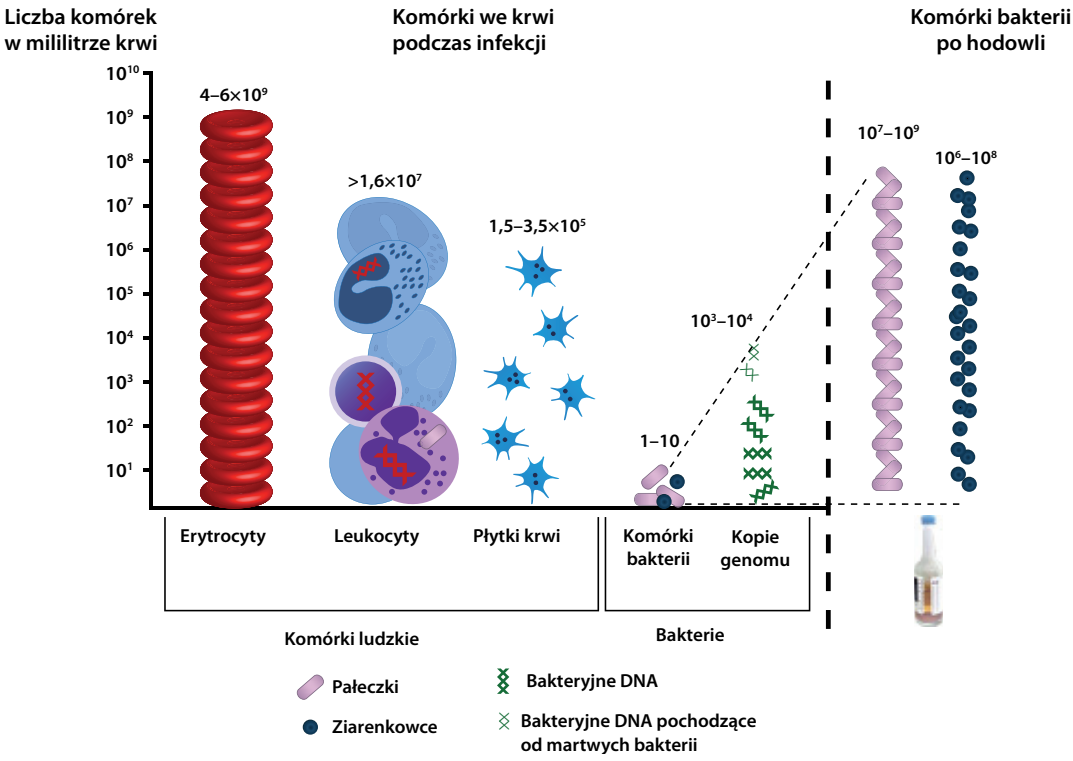
Tabela 4. Rekomendowana objętość krwi pobieranej do badań mikrobiologicznych w zależności od wagi pacjenta pediatrycznego. Opracowano na podstawie [65, 107].

Masa ciała pacjenta	Całkowita objętość krwi krążącej	Całkowita objętość pobranej krwi	Objętość pobranej krwi z poszczególnych wkłuć		Odsetek całkowitej objętości pobranej krwi
			Wkłucie 1.	Wkłucie 2.	
≤1 kg	50–99 ml	1–1,5 ml	1–1,5 ml	–	4%
1,1–2 kg	100–200 ml	4 ml	2 ml	2 ml	4%
2,1–12,7 kg	>200 ml	6 ml	4 ml	2 ml	3%
12,8–36,3 kg	>800 ml	20 ml	10 ml	10 ml	2,5%
>36,3 kg	>2200 ml	40–60 ml	20–30 ml	20–30 ml	1,8–2,7%

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*



Ryc. 7. Zmiany odsetka odzysku drobnoustrojów z hodowli w zależności od całkowitej objętości krwi pobranej [26, 81, 84].



Ryc. 8. Średnie liczby elementów morfotycznych oraz komórek bakterii w 1 ml krwi podczas infekcji. Zmodyfikowano na podstawie [108].

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

4.1.1.9. RODZAJE BUTELEK Z PODŁOŻAMI HODOWLANYMI[3]

A. Podłoża do hodowli drobnoustrojów tlenowych:

A.1. Standardowe – butelka zawiera wzbogacone podłoże kazeinowo-sojowe. Podłoże przeznaczone jest do wzrostu bakterii tlenowych oraz grzybów.

A.2. Z inaktywatorem antybiotyków – butelka zawiera wzbogacone podłoże kazeinowo-sojowe z dodatkiem inaktywatora antybiotyków. Pozwala na wzrost bakterii tlenowych oraz grzybów w próbkach krwi pobranych w trakcie antybiotykoterapii. Dodatek żywic adsorpcyjnych umożliwia zwiększenie ilości odzyskanych drobnoustrojów. Ze względu na zwiększony odzysk oraz na inaktywację antybiotyków podłoże to jest rekomendowane do wykorzystania w podstawowym zestawie butelek do pobrania krwi na posiew [85, 88, 93, 126].

B. Podłoża do hodowli drobnoustrojów beztlenowych:

B.1. Standardowe – butelki zawierają wzbogacone podłoża kazeinowo-sojowe ze wstępnie zredukowanym CO_2 i N_2. Przeznaczone są do hodowli drobnoustrojów beztlenowych.

B.2. Lityczne – butelki zawierają wzbogacone podłoża kazeinowo-sojowe ze wstępnie zredukowanym CO_2 i N_2 oraz dodatkiem saponiny – czynnika lizującego komórki krwi. Czynnik lizujący umożliwia uwolnienie patogenów wewnątrzkomórkowych i zwiększa odzysk drobnoustrojów z próbki. Podłoże pozwala na wzrost nie tylko drobnoustrojów beztlenowych, lecz także mikroaerofilnych oraz względnie beztlenowych. Ze względu na wydajniejszy wzrost i lepszy odzysk wielu patogenów (np.: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Bacteroides* spp., *Candida* spp.), w porównaniu do standardowego podłoża beztlenowego, zaleca się wykorzystywanie podłoży litycznych w podstawowym zestawie butelek przy pobieraniu krwi na posiew [20, 47, 97, 111, 120, 126].

B.3. Z inaktywatorem antybiotyków – butelka zawiera wzbogacone podłoże kazeinowo-sojowe ze wstępnie zredukowanym CO_2 i N_2 oraz dodatkiem inaktywatora antybiotyków. Podłoże pozwala na wzrost drobnoustrojów beztlenowych w próbkach pobranych w trakcie antybiotykoterapii. Dodatek żywic adsorpcyjnych umożliwia zwiększenie odzysku drobnoustrojów [22, 85].

C. Podłoże pediatryczne – podłoże umożliwiające pobranie mniejszej objętości krwi przy zachowaniu pożądanej wartości diagnostycznej, przeznaczone dla pacjentów pediatrycznych o masie ciała <36,3 kg. Służy do tlenowej hodowli drobnoustrojów. Zawiera w swoim składzie wzbogacone podłoże kazeinowo-sojowe z dodatkiem inaktywatora antybiotyków. Pozwala na wzrost bakterii tlenowych i grzybów. Dodatek żywic adsorpcyjnych umożliwia zwiększenie ilości odzyskanych drobnoustrojów [1, 62, 142, 144].

D. Podłoże do hodowli grzybów – podłoże selektywne przeznaczone do odzysku grzybów z krwi w hodowli tlenowej. Butelki zawierają bulion kazeinowo-sojowy, wyciąg mózgowo-sercowy oraz cukry wspomagające rozwój grzybów. Zawarte w podłożu chloramfenikol i tobramycyna hamują wzrost bakterii, a dodatek saponiny umożliwia lizę komórek. W przypadku podejrzenia grzybiczej etiologii zakażenia warto rozważyć wykorzystanie podłoża do hodowli grzybów, aby skrócić czas uzyskania wyniku [50, 95, 105]. Jak wcześniej wspomniano, w przypadku ograniczeń możliwości pobrania odpowiedniej objętości krwi należy użyć butelki tlenowej lub pediatrycznej.

[3] Informacje pochodzą z ulotek handlowych różnych rodzajów butelek hodowlanych.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

E. Podłoże do hodowli prątków gruźlicy – podłoże nieselektywne zawierające pożywkę Middlebrooka, wyciąg mózgowo-sercowy oraz suplementy niezbędne do wzrostu prątków. Przeznaczone do tlenowych posiewów krwi, pozwala na odzyskanie z krwi prątków oraz grzybów. Dodatek saponiny umożliwia lizę komórek krwi, a tym samym zwiększenie odzysku drobnoustrojów oraz odzysk patogenów wewnątrzkomórkowych. Podłoże może być wykorzystane również do hodowli drobnoustrojów w płynach ustrojowych przy podejrzeniu grzybiczej etiologii infekcji. Rutynowy czas inkubacji wynosi 7 dni dla grzybów drożdżopodobnych, 30 dni dla pozostałych grzybów oraz 42 dni dla prątków. W podłożu wzrastają również bakterie tlenowe inne niż prątki, których obecność może zakłócić odzysk wolniej wzrastających prątków i grzybów [68, 149].

F. Suplement do podłoża dla drobnoustrojów wymagających – specjalnie skomponowany dodatek, zawierający dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD) oraz heminę, które są składnikami niezbędnymi do wzrostu dla drobnoustrojów wymagających (np. *Haemophilus* spp. czy *Neisseria* spp.). Dodatek zawiera również składniki zobojętniające polianetosulfonian sodowy (SPS, składnik podłoży hodowlanych), zwiększając w ten sposób wzrost drobnoustrojów wrażliwych na SPS, takich jak *Neisseria* spp. Przygotowanie suplementu oraz dodanie go do butelki hodowlanej powinno przebiegać ściśle według instrukcji dostarczonej przez producenta. W przypadku pobierania krwi bezpośrednio do butelek hodowlanych najpierw należy pobrać krew, a następnie dodać suplement [44, 106].

4.1.1.10. TRANSPORT PRÓBEK DO LABORATORIUM[4]

Przed wysłaniem butelek do laboratorium należy się upewnić, że są one właściwie opisane oraz że dołączono do każdej z nich odpowiednie skierowanie. Butelki dostępne obecnie na rynku są wyposażone w specjalny gumowy korek, którego zadaniem jest minimalizacja ryzyka kontaminacji próbki oraz ochrona przed wylaniem się krwi poza butelkę. Gumowa membrana jest wystarczającą ochroną dla próbki.

UWAGA: nie należy owijać butelek bandażami, folią, papierem, umieszczać butelek w rękawiczkach ani oklejać wlotów plastrami i gazikami.

Dodatkowe, zbędne zabezpieczenia generują jedynie dodatkowy czas, jaki pracownicy mikrobiologicznego laboratorium medycznego muszą poświęcić na rozpakowanie butelek oraz zwiększają ryzyko uszkodzenia próbki (butelki szklane) poprzez konieczność manipulacji przy butelce. Butelki powinny być przesyłane do laboratorium w szczelnie zamkniętych opakowaniach [137].

Uzyskanie miarodajnych i niezafałszowanych wyników badania mikrobiologicznego krwi w dużej mierze zależy od zachowania standardów w zakresie transportu próbki między oddziałem/punktem pobrań a laboratorium. Zgodnie z zaleceniami CLSI butelki z pobraną krwią powinny dotrzeć do laboratorium mikrobiologicznego w ciągu 2 godzin od momentu pobrania. Jako maksymalny czas transportu próbek podaje się 4 godziny [25]. Jest to istotne, ponieważ działanie automatycznych systemów do hodowli opiera się na pomiarze zmian pH, będących wynikiem wytwarzania przez drobnoustroje dwutlenku węgla, między stanem początkowym a aktualnym w danej butelce. Przetrzymanie butelek z pobraną krwią poza aparatem może skutkować namnożeniem się drobnoustrojów, co po włożeniu do aparatu zostanie odczytane jako stan początkowy.

[4] Informacje zawarte w tym podrozdziale pochodzą częściowo z materiałów handlowych udostępnianych przez producentów automatycznych systemów hodowlanych.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Dalsze namnażanie mikroorganizmów może być niewystarczające lub zahamowane na skutek zużycia się składników odżywczych medium i nagromadzenia produktów przemian metabolicznych, w związku z czym aparat nie zasygnalizuje wzrostu w butelce. W przypadku drobnoustrojów wrażliwych na zmiany warunków środowiska może dojść do ich śmierci zanim butelki dotrą do laboratorium. Szybki transfer butelek między miejscem pobrania a laboratorium wymaga odpowiedniej organizacji i współpracy między personelem pielęgniarskim a pracownikami laboratoriów mikrobiologicznych. W przypadkach, kiedy laboratorium nie działa przez całą dobę albo oddział nie ma możliwości dostarczenia butelek w ciągu godziny od pobrania, należy rozważyć wprowadzenie satelitarnych systemów do hodowli drobnoustrojów na oddziałach. Aparaty takie są skomunikowane z aparatem centralnym znajdującym się w laboratorium, dzięki czemu diagnosta ma ciągłą kontrolę nad stanem butelki, a butelka trafia do laboratorium dopiero po raporcie aparatu o dodatnim wyniku hodowli. Butelki z krwią powinny być przechowywane w temperaturze pokojowej (maksymalnie 30°C). Butelek z krwią nie należy przetrzymywać w lodówce ani zamrażać, ponieważ drobnoustroje wrażliwe na niższe temperatury mogą w takich warunkach zginąć. Jeśli do badania zostaje pobrana końcówka cewnika, należy ją niezwłocznie dostarczyć do laboratorium razem z próbką krwi pobraną ze świeżego wkłucia. W przypadku, kiedy materiał nie jest transportowany bezpośrednio po pobraniu, końcówka cewnika powinna być przechowywana w temperaturze 4–8°C (maksymalnie 2 godziny) [6, 21, 25, 40, 66, 69].

4.1.2. MONITOROWANIE STANU PACJENTA

Nie zaleca się pobierania pojedynczych próbek kontrolnych (jedna butelka z jednego wkłucia) w celu monitorowania stanu pacjenta. Próbki takie nie mają wystarczającej wartości diagnostycznej, są obarczone wysokim ryzykiem uzyskania fałszywie ujemnych wyników, a także generują dodatkowe koszty. Należy wziąć pod uwagę fakt, że dodatni wynik badania mikrobiologicznego w przypadku podejrzenia zakażenia krwi ma dla pacjenta szczególnie dużą wartość kliniczną, a w pojedynczych próbkach patogen może zostać niewykryty [81]. W przypadku pacjentów z bakteriemią gronkowcową, fungemią oraz sepsą, której czynnikiem etiologicznym jest wielooporny patogen, a także w przypadkach, w których brak jest optymalnej terapii, zaleca się kontrolne pobranie zestawu dwóch butelek na posiew.

5. DIAGNOSTYKA DODATNICH PRÓBEK KRWI

Rzetelność badania posiewu krwi zależy od wielu istotnych czynników przedlaboratoryjnych. Do najważniejszych należą jakość i ilość pobranych próbek, zachowanie standardów podczas pobrania oraz czas i warunki transportu do laboratorium. Tylko materiały uzyskane w prawidłowy sposób i dostarczone do laboratorium w możliwie jak najkrótszym czasie stanowią odpowiednią podstawę do przeprowadzenia właściwej diagnostyki mikrobiologicznej, która pozwala na określenie czynnika etiologicznego oraz profilu jego lekowrażliwości.

5.1. LABORATORYJNA KONTROLA JAKOŚCI

Laboratoryjna faza mikrobiologicznego badania krwi, tak jak każde inne badanie, powinna rozpocząć się kontrolą jakości fazy przedanalitycznej. Przed przystąpieniem do procedur laboratoryjnych należy upewnić się, że:

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

- do próbek zostały dołączone stosowne zlecenia zawierające dane niezbędne do identyfikacji pacjenta;
- butelki z krwią są nieuszkodzone i właściwie opisane, a kody kreskowe widoczne;
- dane na próbkach i skierowaniu są zgodne;
- ilość kompletów butelek z krwią jest prawidłowa i zgodna ze skierowaniem;
- w każdej z butelek umieszczono odpowiednią, wymaganą przez producenta objętość krwi;
- wygląd zawartości butelek nie budzi podejrzeń, np. nie zawiera skrzepów.

Jeżeli próbka spełnia określone wymogi należy przyjąć zlecenie i niezwłocznie umieścić butelkę w aparacie z automatycznym systemem do hodowli drobnoustrojów (po wcześniejszej rejestracji, jeżeli jednostka wykonująca badanie nie posiada zintegrowanego systemu z jednostką je zlecającą), a materiały w postaci końcówki cewnika przekazać do wykonania posiewów. W przypadku jakichkolwiek wątpliwości należy skontaktować się z lekarzem zlecającym badanie. Umieszczenie na zleceniu informacji dodatkowych o stanie klinicznym pacjenta oraz przyjmowanych ewentualnie lekach przeciwdrobnoustrojowych skraca czas oczekiwania na wynik [29].

5.2. SYSTEMY AUTOMATYCZNE DO HODOWLI DROBNOUSTROJÓW WE KRWI[5]

Obecnie na polskim rynku dostępnych jest kilka systemów do automatycznej hodowli krwi, proponowanych przez różne firmy. Zaletą tego typu aparatów jest przede wszystkim krótki czas oczekiwania na wynik oraz niewątpliwie wysoka czułość, wygoda i prostota obsługi. Wewnątrz komory inkubatora utrzymywana jest stała temperatura 37°C, a umieszczone w indywidualnych łuzach butelki z krwią poddawane są ustawicznemu mieszaniu. Wzrostowi drobnoustrojów towarzyszą zmiany potencjału red-ox i w konsekwencji zmiany pH środowiska. Na tej podstawie w aparatach co 10 minut dokonywany jest odczyt i sygnalizacja próbki dodatniej. Kolorymetryczna zmiana zabarwienia czujnika na dnie butelki lub proporcjonalny do stężenia CO_2 w środowisku wzrost emitowanej fluorescencji świadczą o obecności żywych drobnoustrojów. Aparat wysyła sygnał dźwiękowy oraz lokalizuje łuzę, w której znajduje się dodatnia butelka za pomocą sygnału świetlnego [27, 160].

Czas inkubacji butelek z krwią wynosi maksymalnie 5 dni, po tym czasie butelki, w których nie wykryto zmian, uznawane są za ujemne i usuwane z aparatu z wynikiem „ujemne”*. Nowoczesne systemy skróciły czas oczekiwania na wynik – zgodnie z aktualnymi badaniami w ciągu pierwszych 24 godzin inkubacji w systemach automatycznych uzyskuje się 85,3% odzysk dodatnich posiewów krwi, natomiast prawdopodobieństwo bakteriemii, jeśli próbki pozostały ujemne przez 24 godziny, wynosi zaledwie 1,8%. W obecnej praktyce klinicznej bakteriemia jest uważana za mało prawdopodobną, jeśli posiewy krwi były ujemne przez 48–72 godzin. Ponadto wykorzystanie automatycznych systemów ciągłego monitorowania przekłada się na wykrycie epizodów zapaleń wsierdzia i innych zakażeń krwi w ciągu 5 dni. Nie stwierdza się zatem potrzeby przedłużania czasu inkubacji w przypadku podejrzenia zakażenia drobnoustrojami wymagającymi [7, 8, 14, 26, 80].

Butelki uznane za dodatnie poddaje się dalszej diagnostyce opartej na hodowlach na stałych podłożach oraz mikroskopowej ocenie preparatu barwionego metodą Grama. Informacja o dodatnim wyniku oraz obrazie wybarwionego rozmazu krwi powinna być niezwłocznie przekazana do jednostki kierującej [5, 114].

Konieczność minimalizacji czasu oczekiwania na wynik wymusiła na producentach uproszczenie obsługi opisywanych aparatów. Dostępne są systemy, w których możliwe jest umieszczenie butelki

[5] Informacje o aparatach zawarte w tym podrozdziale pochodzą częściowo z materiałów handlowych udostępnianych przez producentów.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

w komorze inkubacyjnej przez dowolną osobę w każdej chwili. Dzięki temu personel całodobowych laboratoriów analitycznych, bezpośrednio po otrzymaniu próbki w trybie dyżurowym, może umieścić ją w aparacie, skracając w ten sposób czas wykrycia ewentualnego patogenu. W ofercie dostępne są także aparaty w pełni zautomatyzowane, które same dokonują odczytu kodów z butelki, przypisując je konkretnym łuzom w komorze inkubacyjnej, a po otrzymaniu wyniku dodatniego lub po upływie czasu inkubacji automatycznie usuwają butelki, umieszczając je we właściwym pojemniku – do utylizacji (ujemne)* lub dalszej diagnostyki (próbki dodatnie). Niezwykle innowatorskim i skutecznym rozwiązaniem są satelitarne systemy do automatycznej hodowli krwi. Niewielkich rozmiarów aparaty rozmieszone na oddziałach pozwalają na natychmiastowe umieszczenie butelki z materiałem tuż po inokulacji. Przyspiesza to diagnostykę i skraca czas oczekiwania na wynik. Zaletą tego typu aparatów jest możliwość umieszczenia butelki w komorze inkubacyjnej przez dowolną osobę z oddziału, przy jednoczesnym stałym monitoringu próbki lokalnie i w systemie centralnym również z poziomu laboratorium [67].

***UWAGA: Jeśli po zakończeniu okresu inkubacji ujemna butelka oceniana wzrokowo wydaje się dodatnia (np.: krew czekoladowa, uwypuklona przegroda, liza i/lub znaczne przyciemnienie barwy krwi w podłożu), próbka powinna zostać poddana 3-dniowej hodowli w podłożu tioglikolanowym, wybarwiona metodą Grama i traktowana jako przypuszczalnie dodatnia [114].**

5.3. ZASADY DIAGNOSTYKI DODATNICH POSIEWÓW KRWI[6]

Butelki, które w czasie inkubacji w automatycznych systemach wykazały zmiany świadczące o obecności żywych drobnoustrojów, powinno się niezwłocznie przekazać do dalszej diagnostyki. Nowoczesne laboratoria wyposażone w systemy do identyfikacji typu MALDI-TOF MS oparte na spektrometrii mas są w stanie zminimalizować czas identyfikacji czynnika etiologicznego (poniżej 1 godziny) dzięki możliwości bezpośredniej analizy dodatniej próbki krwi [23]. Standardem pozostaje jednak hodowla na stałe podłoża agarowe i preparat mikroskopowy. Jako że jedynie klasyczne metody hodowli pozwalają na uzyskanie wyników lekowrażliwości, krew powinna być posiana na zestaw podłoży zapewniających wzrost bakterii tlenowych, a także beztlenowych, o ile wysiew następuje z butelki w kierunku drobnoustrojów beztlenowych. Wybór odpowiednich podłoży zależny jest od spodziewanych możliwych czynników etiologicznych. W tej sytuacji niezwykle istotna jest znajomość prawidłowej mikrobioty człowieka, wiedza z zakresu epidemiologii zakażeń krwi oraz informacje o pacjencie – przede wszystkim wiek, płeć i choroby towarzyszące, w tym ewentualne infekcje pierwotne. Do podstawowych podłoży mikrobiologicznych, na których powinna być prowadzona hodowla dodatniej próbki krwi, należą [114]:

- podłoże agarowe wzbogacone 5% krwią baranią (dla Gram-dodatnich i Gram-ujemnych bakterii oraz dla grzybów z rodzaju *Candida*);
- podłoże MacConkey'a (dla Gram-ujemnych pałeczek);
- agar czekoladowy (dla bakterii wymagających);
- podłoże Schaedlera (dla bakterii beztlenowych);
- podłoże Sabourauda (dla grzybów).

Obraz preparatu mikroskopowego może dodatkowo ukierunkowywać diagnostykę, zawężając identyfikację do bakterii Gram-ujemnych/Gram-dodatnich kulistych lub podłużnych czy też do grzybów.

Zaobserwowanie w preparacie charakterystycznych komórek oraz dodatkowa wiedza na temat objawów klinicznych i stanu pacjenta niekiedy sugerują potrzebę zastosowania dodatkowych podłoży

[6] Informacje zawarte w tym podrozdziale pochodzą częściowo z materiałów handlowych udostępnianych przez producentów podłoży hodowlanych.

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

specjalistycznych wybiórczo-namnażających, takich jak: podłoże MTM (zmodyfikowane Martina-Thayera) przy podejrzeniu infekcji meningokokowej, podłoże Loefflera lub Tinsdale'a przy podejrzeniu *Corynebacterium* sp. czy podłoże Chapmana dla *Staphylococcus* sp. [96]. Pomocne jest również wykorzystanie diagnostycznych podłoży chromogennych [30, 58, 100, 113, 140].

Należy mieć na uwadze, że w przypadku mikrobiologicznych badań krwi identyfikacja patogenu nie może opierać się jedynie na hodowlach na podłożach chromogennych. Wyniki uzyskane na tej podstawie mogą natomiast przyspieszyć przekazanie wstępnej informacji na oddział. Identyfikacja wyhodowanego na podłożach stałych drobnoustroju wymaga potwierdzenia w testach opartych o profil biochemiczny. Warto również korzystać z metod biologii molekularnej, które cechują się wysoką czułością i specyficznością analizy. W sytuacjach, gdy z różnych powodów określenie przynależności gatunkowej drobnoustroju nie jest możliwe metodami biochemicznymi lub stan pacjenta nie pozwala na przedłużone oczekiwanie, znajdują zastosowanie testy molekularne, które w krótkim czasie dają pewny i rzetelny wynik. Metody identyfikacji drobnoustrojów z wykorzystaniem biologii molekularnej są obecnie jedną z najszybciej rozwijających się gałęzi nauki. Szczególnie często wykorzystywane są w diagnostyce infekcji grzybiczych, w tym fungemii.

Warunki prowadzenia hodowli na podłożach stałych muszą być dostosowane do rodzaju spodziewanego patogenu. Konieczna jest inkubacja podłoży zarówno w warunkach tlenowych, jak i mikroaerofilnych (drobnoustroje wymagające), ale również beztlenowych – jeżeli istnieją wskazania. Temperatura i czas hodowli także mają istotne znaczenie. Rutynowo hodowlę zaleca się prowadzić 24–48 godzin w temperaturze 37°C, z ewentualnym przedłużeniem do 72 godzin w sytuacji prowadzenia diagnostyki w kierunku bakterii beztlenowych. Diagnostyka w kierunku zakażeń o etiologii grzybiczej może wymagać modyfikacji w postaci obniżenia temperatury hodowli bądź wydłużenia jej czasu [139, 141].

5.4. TECHNIKA POSIEWU KRWI

Przed wykonaniem hodowli z dodatniej butelki należy zwrócić szczególną uwagę na bezpieczeństwo personelu laboratoryjnego. Ilość wyprodukowanego przez drobnoustroje obecne w butelce gazu może być widoczna makroskopowo. Należy zachować szczególną ostrożność podczas pobierania próbki z butelki. Zaleca się wykonanie tej procedury w komorze laminarnej. Dodatkowo personel powinien posiadać zabezpieczenie w postaci okularów ochronnych lub przyłbicy i rękawiczek.

Materiał z wnętrza butelki należy pobrać jałową igłą i strzykawką. W tym celu:

- butelkę należy ustawić pionowo i zdezynfekować wieczko za pomocą wacika nasączonego alkoholem;
- pamiętając o możliwości zwiększonego ciśnienia w butelce, ostrożnie wprowadzić pionowo igłę w celu usunięcia nadmiaru zgromadzonego wewnątrz gazu;
- po obniżeniu ciśnienia w butelce niezwłocznie podłączyć do igły strzykawkę i pobrać niewielką ilości krwi;
- przenieść po kropli na wybrane podłoża stałe oraz na jałowe szkiełko podstawowe w celu wykonania rozmazu do preparatu mikroskopowego.

W celu zwiększenia bezpieczeństwa personelu laboratorium zaleca się korzystanie ze specjalnych nakładek na butelki, które umożliwiają nanoszenie próbek bezpośrednio z butelki, bez użycia igły i strzykawki. Materiał na podłożach agarowych należy natychmiast rozprowadzić redukcyjnie jałową ezą i pozostawić do inkubacji w odpowiednich warunkach. Po wysuszeniu i utrwaleniu rozmazu preparat barwić metodą Grama i oceniać w powiększeniu 1000× (obiektyw o powiększeniu 100×) z użyciem olejku immersyjnego. Na podstawie obrazu mikroskopowego możliwe jest podjęcie ewentualnej decyzji o wykonaniu następnych kroków diagnostycznych, w tym dodatkowych hodowli czy bezpośredniego antybiogramu.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Wszelkie skażone materiały po wykonaniu procedury należy umieścić w bezpiecznym pojemniku do utylizacji, a dodatnią butelkę z krwią przechowywać w warunkach pokojowych do czasu zakończenia procesu diagnostycznego [114, 141].

5.5. POSIEW KOŃCÓWKI CEWNIKA – METODYKA

Posiew końcówki cewnika należy wykonać tylko w przypadku podejrzenia tzw. odcewnikowego zakażenia krwi. Rutynowe posiewy usuwanych cewników nie są zalecane. Badanie powinno zawsze obejmować ocenę półilościową – wykrywanie kolonizacji zewnętrznej powierzchni – oraz ilościową, która pozwala wykryć drobnoustroje wewnątrz kaniuli. W badaniu półilościowym według Maki posiew przeprowadza się metodą toczenia po podłożu Columbia Agar z dodatkiem 5% krwi baraniej poprzez 5-krotne rolowanie fragmentu biomateriału po powierzchni medium od ścianki do ścianki. W celu ilościowej oceny drobnoustrojów obecnych w świetle cewnika należy umieścić otrzymany fragment w jałowej probówce i dodać 5 ml jałowego roztworu 0,9% NaCl, a następnie intensywnie worteksować przez 1 minutę. Z otrzymanej zawiesiny przenieść ilościowo i równomiernie rozprowadzić po 100 µl na podłoże Columbia z 5% krwią baranią oraz stałe podłoża MacConkey i Sabouraud. Zarówno w metodzie półilościowej, jak i ilościowej inkubację wysianych podłoży należy prowadzić 18–24 godziny w warunkach tlenowych i temperaturze 37°C. Po zakończeniu inkubacji zlicza się wyrosłe kolonie na poszczególnych płytkach. Z wyników otrzymanych na podłożach, na których prowadzono badanie ilościowe, wylicza się wartość CFU/ml poprzez pomnożenie liczby wyrosłych na każdej płytce kolonii przez 10. Interpretacji otrzymanych wyników należy dokonywać zawsze w połączeniu z wynikami posiewów krwi. Warunkiem niezbędnym do rozpoznania zakażenia krwi związanego z obecnością cewnika jest uzyskanie wzrostu tego samego drobnoustroju zarówno z końcówki cewnika, jak i z próbki krwi pobranej z żyły [40]. Zasady interpretacji wyników posiewu przedstawiono w podrozdziale 4.1.

5.6. OKREŚLENIE LEKOWRAŻLIWOŚCI WYHODOWANYCH SZCZEPÓW

Diagnostyka mikrobiologiczna ma na celu jak najszybsze ustalenie czynnika etiologicznego infekcji oraz wskazanie optymalnej opcji terapeutycznej. W wyborze antybiotyków do oznaczania lekowrażliwości należy kierować się nie tylko przynależnością gatunkową wyizolowanego czynnika, lecz także źródłem ewentualnej infekcji pierwotnej oraz wiekiem pacjenta.

Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości (ang. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST) co roku wydaje bieżące rekomendacje dotyczące oznaczania i interpretacji testów lekowrażliwości [37]. Jednocześnie ustawicznie aktualizowane są amerykańskie wytyczne CLSI, z których korzystanie wskazane jest w przypadku braku rekomendacji EUCAST [112]. W Polsce aktualizacją bieżących komunikatów i standardów dotyczących oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów zajmuje się Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (KORLD), który w ramach Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków wydaje rekomendacje dotyczące diagnostyki i terapii zakażeń układowych [72, 101]. Prawidłowe działania związane z określaniem lekowrażliwości wyhodowanych drobnoustrojów powinny opierać się na wypadkowej wszystkich powyższych.

Oznaczenie profilu lekowrażliwości drobnoustroju jest ostatnim etapem badania mikrobiologicznego. Jeżeli w procesie diagnostycznym nie został zastosowany gotowy panel identyfikacyjny z kompartmentem do antybiogramu, po właściwej identyfikacji wyhodowanego drobnoustroju należy w pierwszej kolejności dokonać interpretacji otrzymanych wyników pod kątem ich wiarygodności i spójności. Analiza butelek ze wszystkich przyjętych do badania kompletów pozwala podjąć decyzję

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

o konieczności wykonania antybiogramu, jeżeli wyhodowany drobnoustrój jest istotny diagnostycznie i nie świadczy o zanieczyszczeniu materiału.

Procedury manualnego wykonania antybiogramów opisane w dokumentach dostępnych na stronie KORLD uwzględniają rodzaj podłoży i wartości stosowanych inokulum w zależności od badanego drobnoustroju [72]. Wybór antybiotyków powinien korelować z gatunkiem izolowanego patogenu, jak wcześniej wspomniano, warto jednak również zwrócić uwagę na ewentualne pierwotne źródło infekcji (jeżeli istnieje) i dobrać antybiotyk o dobrej penetracji zarówno ogólnoustrojowej, jak i narządowej. W rekomendacjach KORLD zaleca się również rutynowe wykonywanie fenotypowego testu wykrywania produkcji β-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym przez Gram-ujemne pałeczki z rzędu *Enterobacter*ales w ramach podstawowego antybiogramu [72].

Zgodnie z najnowszymi rekomendacjami EUCAST w krytycznych przypadkach zaleca się wykonywanie antybiogramu bezpośrednio z dodatniej butelki, traktując zawartość jako inokulum. Procedura dopuszczona jest dla zakażeń o etiologii:

- *Escherichia coli*;
- *Klebsiella pneumoniae*;
- *Pseudomonas aeruginosa*;
- *Staphylococcus aureus*;
- *Streptococcus pneumoniae*;
- *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium*;
- *Acinetobacter baumannii*.

Metoda opiera się na rozprowadzeniu na podłożu Mueller-Hinton bądź Mueller-Hinton z krwią (dla *S. pneumoniae*) 100–150 µl krwi z dodatniej butelki i ułożeniu krążków antybiotykowych (podobnie jak w standardowej metodzie krążkowo-dyfuzyjnej). Płytki inkubuje się w 35°C w warunkach tlenowych za wyjątkiem pneumokoków, odnośnie których wymagana jest zawartość 4–6% CO_2 w środowisku. Odczytu średnic stref zahamowania wzrostu dokonuje się co 4, 6 i 8 godzin (dla *P. aeruginosa* co 6 i co 8 godzin) od przodu płytki przy ściągniętym wieczku, a punkty odcięcia dostępne są w specjalnych dla tej metody tabelach dostępnych na stronie EUCAST. Niedopuszczalne jest wykorzystywanie w tej sytuacji tabel dla regularnie stosowanych metod [38].

W przypadku *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae* EUCAST zaleca również wykonywanie szybkich testów przesiewowych wykrywania mechanizmów oporności bezpośrednio z dodatnich butelek z krwią. Do wykrywania β-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESβL) należy stosować krążki nasączone cefotaksymem (5 µg) i/lub ceftazydymem (10 µg), natomiast do wykrywania produkcji karbapenemaz przez badany szczep powinno się stosować krążek z 10 µg meropenemu. Interpretacja wyników dostępna jest na stronach EUCAST [39].

Mikrobiologiczny proces diagnostyczny, w porównaniu do innych kierunków badawczych, trwa dość długo, dlatego należy dążyć do możliwie jak najszybszego zakończenia analiz i maksymalnego skrócenia czasu oczekiwania na wynik. Sprawnie wykonane badanie mikrobiologiczne przyspiesza wdrożenie racjonalnej antybiotykoterapii celowanej i tym samym skraca czas hospitalizacji, minimalizuje ryzyko wystąpienia powikłań oraz obniża koszty terapii. Należy pamiętać, że przedłużająca się szerokozakresowa terapia empiryczna indukuje spadek lekowrażliwości drobnoustrojów szpitalnych oraz przyspiesza selekcję szczepów opornych.

Dostępne na rynku aparaty do automatycznej identyfikacji drobnoustrojów w znakomitej większości są wyposażone w panele z kompartmentem do antybiogramu – oznacza to, że wynik lekowrażliwości jest dostępny równoczasowo z identyfikacją patogenu. Systemy przystosowane do bezpośrednich analiz próbek dodatnich, razem z wynikiem przynależności gatunkowej, wykonują testy

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

lekowrażliwości drobnoustroju. Takie rozwiązania skutecznie przyspieszają przekazanie ostatecznego wyniku na oddział, jednakże na chwilę obecną nie są one jeszcze wykorzystywane powszechnie. Laboratoria wykonujące testy lekowrażliwości standardowymi metodami manualnymi powinny dołożyć wszelkich starań, by badanie antybiogramu wykonane było możliwie jak najszybciej.

5.7. INTERPRETACJA WYNIKU – WYNIKI FAŁSZYWIE DODATNIE I UJEMNE

Interpretacja wyników badań mikrobiologicznych krwi jest szczególnie istotnym zagadnieniem. Pomimo ciągłego doskonalenia procedur, technik pobierania, sprzętu, narzędzi i nieustannej edukacji personelu nie jest możliwa całkowita redukcja odsetka próbek zanieczyszczonych [43]. Laboratoryjna kontrola jakości powinna uwzględniać monitorowanie odsetka próbek z wynikami fałszywie dodatnimi i ujemnymi [8, 159].

Interpretacja wyników posiewów krwi, opisana we wcześniejszych częściach dokumentu (Tabela 3), powinna być rozpatrywana w połączeniu z wynikami ewentualnych innych posiewów (końcówka cewnika, wymaz z okolicy wkłucia). Hodowla tego samego drobnoustroju z próbki pobranej ze świeżego wkłucia oraz z próbki pobranej ze światła cewnika wskazuje na etiologię odcewnikową zakażenia [10, 11, 15, 19, 21, 117].

Wiele badań wskazuje na wysoką przydatność diagnostyczną pomiaru różnicy w czasie wzrostu (ang. differential time to positivity – DTP) pomiędzy próbkami pobranymi przez cewnik a pobranymi ze świeżego wkłucia do żyły. Różnica DTP ≥120 minut (czyli wzrost drobnoustrojów następuje co najmniej 120 minut wcześniej w próbkach krwi pobranej przez cewnik niż w próbkach krwi z żyły) pozwala z wysoką czułością (72–96,4%) i swoistością (90,3–95%) stwierdzić odcewnikową przyczynę zakażenia [19, 117]. W badaniu mikrobiologicznym końcówki cewnika za wartości odcięcia, powyżej których mówi się o tzw. zakażeniu odcewnikowym, przyjmuje się: ≥15 CFU w metodzie półilościowej, 10^3 CFU/ml w metodzie ilościowej z worteksowaniem i 10^2 CFU w metodzie ilościowej z wykorzystaniem ultradźwięków. Warunkiem jest hodowla tego samego drobnoustroju zarówno z fragmentu cewnika, jak i z krwi żylnej [21, 40].

Na uzyskiwanie fałszywie dodatnich i ujemnych wyników posiewów krwi wpływ mają przede wszystkim przedlaboratoryjne etapy tej procedury. Wśród najważniejszych wymienić należy:

- zbyt małą objętość próbki – niewystarczająca produkcja CO_2;
- niewystarczającą ilość próbek/kompletów butelek – obniżenie stopnia odzysku;
- niewłaściwy czas pobrania – za wcześnie lub za późno, szczególnie istotne u pacjentów przyjmujących leki przeciwdrobnoustrojowe;
- niewłaściwy sposób pobrania, brak/niewłaściwa dezynfekcja miejsca pobrania/korka butelki oraz rąk personelu – zanieczyszczenie próbki;
- niewłaściwe warunki transportu i przechowywania – zbyt niska/wysoka temperatura (zniszczenie drobnoustrojów);
- zbyt długi czas pomiędzy pobraniem a rozpoczęciem inkubacji w systemie automatycznym – namnożenie drobnoustrojów przed umieszczeniem butelki w komorze inkubującej (niewielki przyrost CO_2 podczas odczytów w aparacie – brak sygnału wzrostu);
- niewłaściwe podłoże hodowlane – brak odpowiednich warunków do wzrostu;
- obecność we krwi czynników hamujących wzrost drobnoustrojów (np. wysokie stężenie antybiotyku);
- obecność w próbce drobnoustrojów nieprodukujących wystarczających ilości CO_2.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Przestrzeganie procedur i stosowanie aktualnych standardów ma na celu podniesienie jakości wykonywanych badań, optymalizację terapii pacjentów i obniżenie kosztów opieki medycznej. Stały nadzór i dokumentacja prowadzonych działań, z uwzględnieniem odsetka wyników fałszywych i prawdziwych (w tym prowadzenie statystyk hodowanych czynników etiologicznych oraz monitorowanie profili lekowrażliwości), stanowią niezwykle ważny element strategii zarządzania jakością.

6. PERSPEKTYWY W DIAGNOSTYCE SEPSY

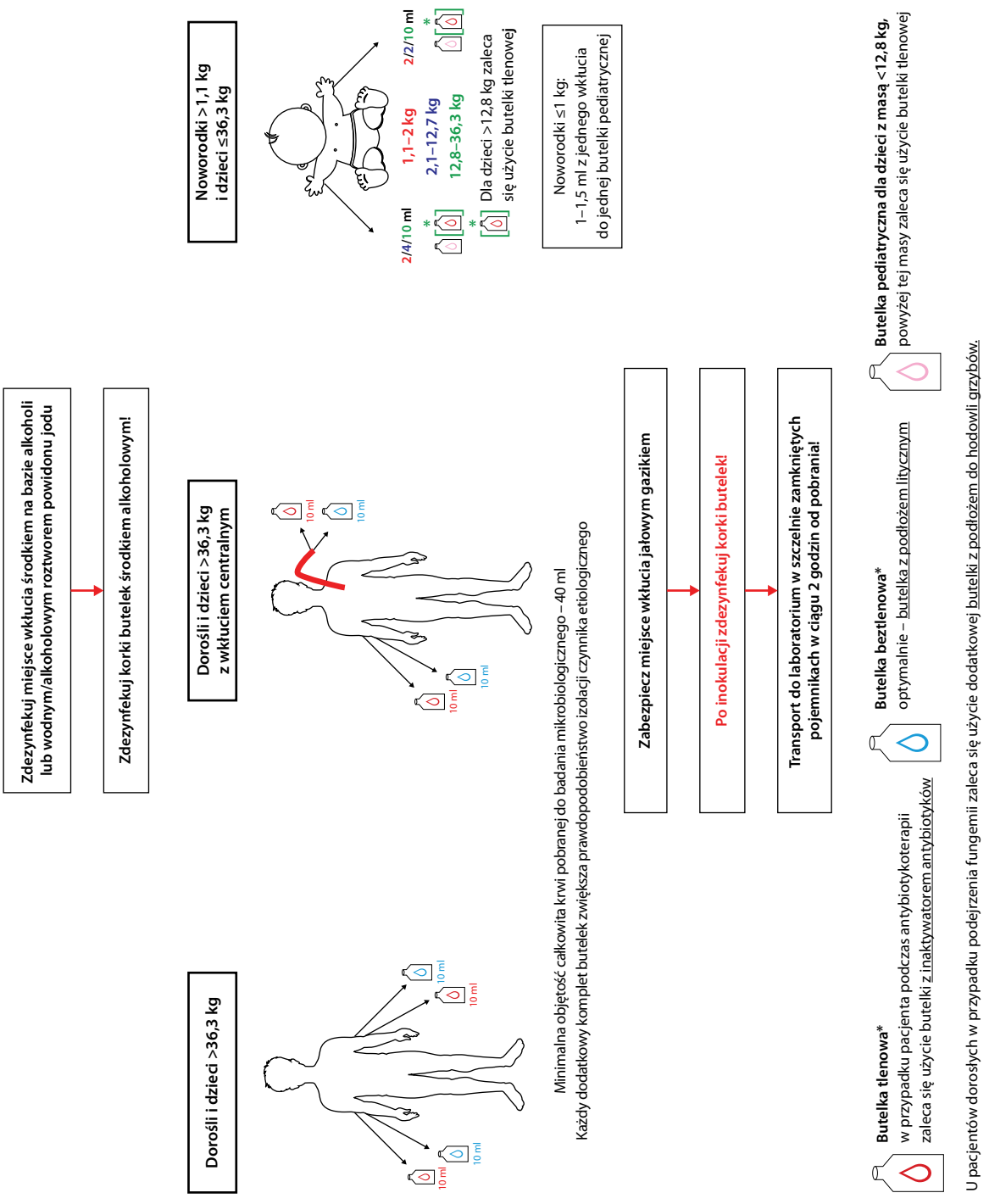
W diagnostyce chorób infekcyjnych, w tym sepsy, standardem pozostaje hodowla drobnoustrojów, jest to jednak metoda czasochłonna i nie zawsze efektywna. Problemy z diagnostyką mikrobiologiczną zakażeń krwi wynikają głównie z tego, że szereg możliwych czynników etiologicznych jest trudnych bądź niemożliwych do wyhodowania w standardowych warunkach laboratoryjnych. Dodatkowo każde niedopełnienie procedur (zbyt mała ilość/objętość próbek, niewłaściwy czas/sposób pobrania lub transportu do laboratorium, nieodpowiedni dobór podłoży i/lub warunków hodowli, możliwość kontaminacji próbki) obniża szanse na wyizolowanie drobnoustroju odpowiedzialnego za zakażenie. Pomocne i coraz częściej wykorzystywane w diagnostyce są czułe i specyficzne metody biologii molekularnej. W przypadku sepsy szybka diagnostyka jest kluczowa dla przeżycia pacjenta, w związku z czym diagnoza musi być postawiona na długo przed otrzymaniem wyników z laboratorium mikrobiologicznego. Mimo opracowania skal do szybkiej oceny występowania i ryzyka wystąpienia sepsy wciąż poszukuje się biomarkera, który umożliwiłby jeszcze szybszą ocenę stanu zdrowia pacjenta oraz stanowiłby czynnik predykcyjny rozwoju sepsy i wstrząsu septycznego [119, 121]. Idealny marker sepsy powinien być wiarygodny i precyzyjny, mieć krótki okres półtrwania oraz wysoką wartość prognostyczną, jak również powinien cechować się wysoką czułością i swoistością. Czas oczekiwania na wynik oznaczenia powinien być krótki, a cena niska. Dodatkowo idealny parametr pomocny w diagnostyce sepsy nie powinien wzrastać w innych stanach patologicznych, a jego stężenie przy zakażeniu łożyska naczyniowego powinno rosnąć od początku zaistnienia infekcji i korelować z jej fazą oraz ciężkością. Dodatkowym atutem byłaby możliwość określenia etiologii sepsy, a także wykorzystanie oznaczenia przy wdrażaniu antybiotykoterapii [64, 135]. Pomimo że do tej pory nie udało się znaleźć jednego biomarkera, który spełniałby wszystkie lub chociaż większość wymagań, niektóre z dostępnych badań laboratoryjnych mogą być pomocne w szybkim postawieniu diagnozy. Wśród parametrów wspierających, możliwych do wykorzystania, należy wymienić: białko ostrej fazy (CRP), prokalcytoninę (PCT), interleukiny, presepsynę, receptory CD64 oraz rozpuszczalny receptor dla urokinazowego aktywatora plazminogenu, mikro-RNA i pozakomórkowe DNA, a także środkowy region pro-adrenomeduliny [64]. Żaden ze wspomnianych biomarkerów nie jest wystarczający w pojedynczym oznaczeniu, bardziej efektywne jest oznaczenie kilku z nich jednocześnie, jednakże szybkość i prostota wykonania badania z małej objętości próbki skłaniają do wykorzystania tych możliwości w celu skrócenia czasu oczekiwania na diagnozę.

W przypadku podejrzenia sepsy, kiedy szybkie postawienie właściwej diagnozy przekłada się na szansę przeżycia pacjenta, warto sięgać po wszelkie możliwe narzędzia diagnostyczne, w miarę możliwości sprzętowych i finansowych jednostki leczniczej, nie zapominając przy tym o standardzie, jakim jest klasyczna diagnostyka mikrobiologiczna, jedyna w tym momencie, która daje możliwość oznaczenia lekowrażliwości drobnoustroju, a tym samym wdrożenia racjonalnej terapii celowanej.

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

Załącznik A. Procedury przygotowawcze przed pobraniem krwi do badań mikrobiologicznych.

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*



Załącznik B. Procedura pobrania krwi do badań mikrobiologicznych.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

SPIS SKRÓTÓW

- **BSI** – ang. bloodstream infections, zakażenie krwi
- **CDC** – Centers for Disease Control and Prevention, Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób
- **CFU** – ang. colony forming units, jednostka tworząca kolonię
- **CLSI** – ang. Clinical and Laboratory Standards Institute, Instytut Norm Klinicznych i Laboratoryjnych
- **CoNS** – ang. coagulase-negative staphylococci, gronkowce koagulazo-ujemne
- **CRP** – ang. C reactive protein, białko ostrej fazy
- **DTP** – ang. differential time to positivity, pomiaru różnicy w czasie wzrostu
- **EOS** – ang. early-onset sepsis, sepsa wczesna
- **ESβL** – ang. extended-spectrum β-lactamases, β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym
- **EUCAST** – ang. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości
- **GBS** – ang. group B *Streptococcus*, grupa B *Streptococcus*
- **KORLD** – Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów
- **LOS** – ang. late-onset sepsis, sepsa późna
- **NAD** – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy
- **OIT** – oddział intensywnej terapii
- **OITN** – oddział intensywnej terapii neonatologicznej
- **PCT** – prokalcytonina
- **POChP** – przewlekła obturacyjna choroba płuc
- **SIRS** – ang. systemic inflammatory response syndrome, zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej
- **SOFA** – ang. The Sequential Organ Failure Assessment score
- **SOR** – szpitalny oddział ratunkowy
- **SPS** – polianetosulfonian sodowy
- **ZOMR** – zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
- **ZUM** – zakażenie układu moczowego

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

BIBLIOGRAFIA

1. Ahmad A, Iram S, Hussain S, Yusuf NW. Diagnosis of paediatric sepsis by automated blood culture system and conventional blood culture. JPMA 2017;67(2):192–195.
2. Altindis M, Koroglu M, Demiray T et al. A multicenter evaluation of blood culture practices, contamination rates, and the distribution of causative bacteria. Jundishapur J Microbiol 2016;9(1).
3. Antillon M, Saad NJ, Baker S, Pollard AJ, Pitzer VE. The relationship between blood sample volume and diagnostic sensitivity of blood culture for typhoid and paratyphoid fever: a systematic review and meta-analysis. J Infect Dis 2018;218(Suppl. 4):S255–S267.
4. Astete JA, Batlle A, Hernandez-Bou S, Trenchs V, Gené A, Luaces C. Blood culture diagnostic yield in a paediatric emergency department. Eur J Emerg Med 2014;21(5):336–340.
5. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L et al. Decreased mortality associated with prompt gram staining of blood cultures. Am J Clin Pathol 2008;130(6):870–876.
6. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013. Clin Infect Dis 2013;57(4):e22–e121.
7. Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. Clin Infect Dis 2005;41(11):1677–1680.
8. Baron EJ, Wienstein MP, Dunne WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. Cumitech 1C. Blood Cultures IV. ASM Press, Washington, D.C., 2005.
9. Benjamin RJ, Dy B, Warren R, Lischka M, Eder AF. Skin disinfection with a single-step 2% chlorhexidine swab is more effective than a two-step povidone-iodine method in preventing bacterial contamination of apheresis platelets. Transfusion 2011;51:531–538.
10. Blot F, Nitenberg GE, Chachaty E et al. Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood versus peripheral-blood cultures. Lancet 1999;354(9184):1071–1077.
11. Blot F, Schmidt E, Nitenberg G et al. Earlier positivity of central-venous-*versus* peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. J Clin Microbiol 1998;36(1):105–109.
12. Böhlke M, Uliano G, Barcellos FC. Hemodialysis catheter-related infection: prophylaxis, diagnosis and treatment. J Vasc Access 2015;16(5):347–355.
13. Borde JP, Ruhnke M, Küpper MF, Hübner J, Kern WV. Abnahme von Blutkulturen. Dtsch Medizinische Wochenschrift 2015;140(9):666–669.
14. Bourbeau PP, Foltzer M. Routine incubation of BacT/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. J Clin Microbiol 2005;43(5):2506–2509.
15. Bouza E, Alvarado N, Alcala L, Perez MJ, Rincon C, Munoz P. A randomized and prospective study of 3 procedures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infection without catheter withdrawal. Clin Infect Dis 2007;44(6):820–826.
16. Boyce JM, Nadeau J, Dumigan D et al. Obtaining blood cultures by venipuncture versus from central lines: impact on blood culture contamination rates and potential effect on central line-associated bloodstream infection reporting. Infect Control Hosp Epidemiol 2013;34(10):1042–1047.
17. Byington CL, Reynolds CC, Korgenski K et al. Costs and infant outcomes after implementation of a care process model for febrile infants. Pediatrics 2012;130(1):e16–e24.
18. Caldeira D, David C, Sampaio C. Skin antiseptics in venous puncture-site disinfection for prevention of blood culture contamination: systematic review with meta-analysis. J Hosp Infect 2011;77(3):223–232.
19. 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. Crit Care Med 2005;33(4):787–791.
20. Cermák P, Förstl M. Comparison of the detection of anaerobic bacteria in haemoculture systems BACTEC Lytic/10 anaerobic/F, BacT/Alert FAN anaerobic and BacT/Alert FN anaerobic. Klin Mikrobiol Infekc Lek 2005;11:100–104.
21. Chaves F, Garnacho-Montero J, del Pozo JL et al. Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine. Med Intensiva 2018;42(1):5–36.
22. Chen IH, Nicolau DP, Kuti JL. Effect of clinically meaningful antibiotic concentrations on the recovery of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from anaerobic blood culture bottles with and without antibiotic binding resins. J Clin Microbiol 2019;57(12).
23. Cieślik J, Wróblewska M. MALDI TOF MS – nowe możliwości w rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej. Diagn Lab 2018;54(2):99–104.
24. Cloherty JP, Eichenwald EC, Hansen AR, Stark AR. Manual of Neonatal Care. 7th edn. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2012.
25. CLSI. M47-A Principles and procedures for blood cultures. Approved Guideline, 2007. CLSI (online) 2007; https://clsi.org/media/1448/m47a_sample.pdf
26. Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA et al. Optimal testing parameters for blood cultures. Clin Infect Dis 2004;38:1724–1730.
27. Coorevits L, Van den Abeele AM. Validation of the module for blood volume monitoring on the BD Epicenter™ system as a continuous quality improvement measure. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2015;34:1459–1466.
28. Daniels R, Nutbeam T, McNamara G, Galvin C. The sepsis six and the severe sepsis resuscitation bundle: a prospective observational cohort study. Emerg Med J 2011;28(6):507–512.
29. De Plato F, Fontana C, Gherardi G et al. Collection, transport and storage procedures for blood culture specimens in adult patients: recommendations from a board of Italian experts. Clin Chem Lab Med 2019;57(11):1680–1689.
30. Denis O. Route of transmission of *Staphylococcus aureus*. Lancet Infect Dis 2017;17(2):124–125.
31. Directorate Neonatal. Clinical Practice Guideline. Sepsis: Neonatal, 2019; https://www.kemh.health.wa.gov.au/~/media/Files/Hospitals/WNHS/For%20health%20professionals/Clinical%20guidelines/NEO/WNHS.NEO.Sepsis_Neonatal.pdf

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

32. Dobrosielska-Matusik KM, Pilecki W. Problem szpitalnych zakażeń krwi u pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej terapii. Nurs Public Heal 2019;9(1):63–70.
33. Dong Y, CP Speer. Late-onset neonatal sepsis: recent developments. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2015;100(3):F257–F263.
34. Dyrektywa Rady 2010/32/UE z dnia 10 maja 2010 roku w sprawie wykonania umowy ramowej dotyczącej zapobiegania zranieniom ostrymi narzędziami w sektorze szpitali i opieki zdrowotnej zawartej między HOSPEEM a EPSU.
35. Dzierżanowska D, Semczuk K, Pawińska A, Grochowska M. Pobieranie krwi w celu posiewu. Medycyna Praktyczna Pediatra (online) 2017; https://www.mp.pl/pediatria/praktyka-kliniczna/procedury/15069,pobieranie-krwi-na-posiew
36. Elantamilan D, Lyngdoh V, Khyriem A et al. Comparative evaluation of the role of single and multiple blood specimens in the outcome of blood cultures using BacT/ALERT 3D (automated) blood culture system in a tertiary care hospital. Indian J Crit Care Med 2016;20(9):530–533.
37. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, valid from 2020-01-01, 2020. EUCAST (online); https://www.eucast.org/
38. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Methodology – EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles, 2019. EUCAST (online); https://www.eucast.org/
39. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Screening for ESBL and carbapenemases in *E. coli* and *K. pneumoniae* for epidemiological purposes as part of the RAST procedure, 2019. EUCAST (online); https://www.eucast.org/
40. Ferreira J, Camargos PAM, Clemente WT, de Romanelli RM. Clinical usefulness of catheter-drawn blood samples and catheter tip cultures for the diagnosis of catheter-related bloodstream infections in neonatology: a systematic review. Am J Infect Control 2018;46(1):P81–P87.
41. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis current estimates and limitations. Am J Respir Crit Care Med 2016;193:259–272.
42. Florio W, Morici P, Ghelardi E, Barnini S, Lupetti A. Recent advances in the microbiological diagnosis of bloodstream infections. Crit Rev Microbiol 2018;44(3):351–370.
43. Ford C, Park LJ. How to apply and remove medical gloves. Br J Nurs 2019;28(1):26–28.
44. Fuller DAD, Davis TE. Comparison of BACTEC plus Aerobic/F, Anaerobic/F, eds Plus/F, and Lytic/F media with and without fastidious organism supplement to conventional methods for culture of sterile body fluids. Diagn Microbiol Infect Dis 1997;29(4):219–225.
45. Gander RM, Byrd L, DeCrescenzo M, Hirany S, Bowen M, Baughman J. Impact of blood cultures drawn by phlebotomy on contamination rates and health care costs in a hospital emergency department. J Clin Microbiol 2009;47(4):1021–1024.
46. Garcia RA, Spitzer ED, Beaudry Jet 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-a. Am J Infect Control 2015;43(1):1222–1237.
47. Garfoot AL, Rappleye CA. Histoplasma capsulatum surmounts obstacles to intracellular pathogenesis. FEBS J 2016;283(4):619–633.
48. Garus-Pakowska A, Sobala W, Szatko F. The use of protective gloves by medical personnel. Int J Occup Med Environ Health 2013;26(3):423–429.
49. Global Sepsis Alliance; http://globalsepsisalliance.com/
50. Gokbolat E, Oz Y, Metintas S. Evaluation of three different bottles in BACTEC 9240 automated blood culture system and direct identification of *Candida* species to shorten the turnaround time of blood culture. J Med Microbiol 2017;66(4):470–476.
51. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. Pediatr Crit Care Med 2005;2–8.
52. Goodwin AJ, Rice DA, Simpson KN, Ford DW. Frequency, cost, and risk factors of readmissions among severe sepsis survivors. Crit Care Med 2015;43(4):738–746.
53. Góraj E, Lipiec M. Long-term intravenous access in cancer patients. Oncol Clin Pract 2018;14(5):257–271.
54. Goślińska-Kuźniarek O, Karpiński TM. Znaczenie higieny rąk u pracowników służby zdrowia. Forum Zakażeń 2014;5(2):79–84.
55. Gross I, Gordon O, Abu Ahmad W et al. Yield of anaerobic blood cultures in pediatric emergency department patients. Pediatr Infect Dis J 2018;37(4):281–286.
56. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. Clin Microbiol Rev 2006;19:788–802.
57. Hedin G, Fang H. Evaluation of two new chromogenic media, CHROMagar MRSA and *S. aureus* ID, for identifying *Staphylococcus aureus* and screening methicillin-resistant *S. aureus*. J Clin Microbiol 2005;43(8):4242–4244.
58. Hernández-Bou S, Álvarez Álvarez C, Campo Fernández MNet al. Blood cultures in the paediatric emergency department. Guidelines and recommendations on their indications, collection, processing and interpretation. An Pediatr 2016;84(5):294.e1–294.e9.
59. Herrera-Guerra AS, Garza-González E, Martínez-Resendez MF, Llaca-Díaz JM, Camacho-Ortiz A. Individual *versus* pooled multiple-lumen blood cultures for the diagnosis of intravascular catheter-related infections. Am J Infect Control 2015;43:715–718.
60. Hryniewicz W, Ozorowski T, Pawlik K, Stefaniuk E. Wskazania do wykonywania badań mikrobiologicznych u pacjentów hospitalizowanych. Narodowy Program Ochrony Antybiotyków (online) 2015; http://antybiotyki.edu.pl/wp-content/uploads/dokumenty/wskazania_do_badan_okladka_int.pdf
61. Huber S, Hetzer B, Crazzolara R, Orth-Höller D. The correct blood volume for pediatric blood cultures: a conundrum? Clin Microbiol Infect 2020;26(2):168–173.
62. Hughes JG, Vetter EA, R Patel Ret al. Culture with BACTEC Peds Plus/F bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. J Clin Microbiol 2001;39(12):4468–4471.
63. Jackowska T, Wagiel E. Inwazyjna choroba meningokokowa – praktyczne wskazówki dla lekarzy. Post Nauk Med 2014;27(10B):44–50.
64. Jensen JU, Bouadma L. Why biomarkers failed in sepsis. Intensive Care Med 2016;42(12):2049–2051.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

65. Kellogg JA, Manzella JP, Bankert DA Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. J Clin Microbiol 2000;38(6):2181–2185.
66. Kerremans JJ, Van Der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Needle-to-incubator transport time: logistic factors influencing transport time for blood culture specimens. J Clin Microbiol 2009;47(3):819–822.
67. Kerremans JJ, Van Der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. J Clin Microbiol 2009;47(11):3520–3523.
68. Kirby JE, Delaney M, Qian Q, Gold HS. Optimal use of Myco/F Lytic and standard BACTEC blood culture bottles for detection of yeast and mycobacteria. Arch Pathol Lab Med 2009;133(1):93–96.
69. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. Clin Microbiol Infect 2013;19(6):513–520.
70. Kiyoyama T, Tokuda Y, Shiiki S, Hachiman T, Shimasaki T, Endo K. Isopropyl alcohol compared with isopropyl alcohol plus povidone-iodine as skin preparation for prevention of blood culture contamination. J Clin Microbiol 2009;47(1):54–58.
71. Kothalawala M. Septiceamia and blood culture. SlideShare (online); https://www.slideshare.net/MahenKothalawala/septiceamia-and-blood-culture
72. Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów; http://korld.nil.gov.pl/
73. Kristóf K, Pongrácz J. Interpretation of blood microbiology results – function of the clinical microbiologist. EJIFCC 2016;27(2):147–55.
74. Kübler A, Adamik B, Ciszewicz-Adamiczka B, Ostrowska E. Severe sepsis in intensive care units in Poland – a point prevalence study in 2012 and 2013. Anaesthesiol Intensive Ther 2015;47(4):315–319.
75. Kübler A, Adamik B, Durek G et al. Results of the severe sepsis registry in intensive care units in Poland from 2003–2009. Anaesthesiol Intensive Ther 2015;47(1):7–13.
76. Kumar P, Jordan M, Caesar J, Miller S. Improving the management of sepsis in a district general hospital by implementing the "Sepsis Six" recommendations. BMJ Qual. Improv Reports 2015;4(1):u207871.w4032.
77. Kurpiewska J, Liwkowicz J, Benczek K, Padlewska K. A survey of work-related skin diseases in different occupations in poland. Int J Occup Saf Ergon 2011;17(2):207–214.
78. Kurpiewska J, Liwkowicz J, Nowak B. Ocena skuteczności stosowania środków ochrony skóry przez pracowników służby zdrowia. Przegl Dermatol 2012;99:195–201.
79. Kwinta P, Mitkowska Z. Pobieranie krwi do badań u noworodków. Medycyna Praktyczna Pediatria 2017.
80. Lambregts MMC, Bernards AT, van der Beek MT, Visser LG, de Boer MG. Time to positivity of blood cultures supports early re-evaluation of empiric broad-spectrum antimicrobial therapy. PLoS One 2019;14(1):e0208819.
81. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art. Front Microbiol 2016;7:697.
82. Lancaster DP, Friedman DF, Chiotos K, Sullivan KV. Blood volume required for detection of low levels and ultralow levels of organisms responsible for neonatal bacteremia by use of bactec peds plus/F, plus aerobic/F medium, and the BD bactec FX system: an *in vitro* study. J Clin Microbiol 2015;53(11):3609–3613.
83. Laupland KB, Church DL. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. Clin Microbiol Rev 2014;27(4):647–664.
84. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? J Clin Microbiol 2007;45:3546–3548.
85. Lelièvre H, Gimenez M, Vandenesch F et al. Multicenter clinical comparison of resin-containing bottles with standard aerobic and anaerobic bottles for culture of microorganisms from blood. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997;16(9):669–674.
86. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. J Clin Microbiol 1994;32(2):2829–2831.
87. Liu W, Duan Y, Cui W et al. Skin antiseptics in venous puncture site disinfection for preventing blood culture contamination: a Bayesian network meta-analysis of randomized controlled trials. Int J Nurs Stud 2016;59:156–162.
88. Lovern D, Katzin B, Johnson K et al. Antimicrobial binding and growth kinetics in BacT/ALERT® FA Plus and BACTEC® Aerobic/F Plus blood culture media. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2016;35:2033–2036.
89. MacDonald MG, Ramasethu J, Rais-Bahrami K. Atlas of Procedures in Neonatology. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2013.
90. Makowska M, Wach R, Chrapusta A. Sepsa u pacjenta oparzonego – trudności i wyzwania. Chirurgia Plastyczna i Oparzenia 2019;7(4):181–189.
91. Malani A, Trimble K, Parekh V, Chenoweth C, Kaufman S, Saint S. Review of clinical trials of skin antiseptic agents used to reduce blood culture contamination. Infect Control Hosp Epidemiol 2007;28(7):892–895.
92. Martínez J, Macías JH, Arreguín V, Álvarez JA, Macías AE, Mosqueda-Gómez JL. Isopropyl alcohol is as efficient as chlorhexidine to prevent contamination of blood cultures. Am J Infect Control 2017;45(4):350–353.
93. Menchinelli G, Liotti FM, L Giordano L et al. Efficient inactivation of clinically relevant antimicrobial drug concentrations by BacT/Alert or Bactec resin-containing media in simulated adult blood cultures. Antimicrob Agents Chemother 2019;63(7).
94. Messbarger N, Neemann K. Role of anaerobic blood cultures in neonatal bacteremia. J Pediatric Infect Dis Soc 2018;7(3):e65–e69.
95. Meyer MH, Letscher-Bru V, Jaulhac B, Waller J, Candolfi E. Comparison of mycosis IC/F and plus aerobic/F media for diagnosis of fungemia by the bactec 9240 system. J Clin Microbiol 2004;42:773–777.
96. Mikołajczyk A, Stefaniuk E, Bosacka K, Hryniewicz W. Właściwości i zastosowanie podłoży bakteriologicznych. Post Mikrobiol 2016;55(3):320–329.
97. Mitchell G, Chen C, Portnoy DA. Strategies used by bacteria to grow in macrophages. Microbiol Spectr 2016;4(3).
98. Monsonís Cabedo M, Rives Solá S, Noguera-Julian A, Urrea Ayala M, Cruz Martinez O, Gené Giralt A. Valoración del hemocultivo anaerobio en pacientes oncológicos pediátricos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2017;35(1):33–36.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

99. Murray PR, Masur H. Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit. Crit Care Med 2012;40(12):3277–3282.
100. Nadeem SG, Hakim ST, Kazmi SU. Use of CHROMagar *Candida* for the presumptive identification of *Candida* species directly from clinical specimens in resource-limited settings. Libyan J Med 2010;5:1–6.
101. Narodowy Program Ochrony Antybiotyków; http://antybiotyki.edu.pl
102. National Institute for Health and Care Excellence. Sepsis: recognition, diagnosis and early management. NICE (online) 2018; https://www.nice.org.uk/
103. National Institute for Health and Care Excellence. Sepsis: risk stratification tools: people aged 18 and over in hospital, 2017. NICE (online); https://www.nice.org.uk/
104. National Institute for Health and Care Excellence. Sepsis: risk stratification tools: children aged 5–11 years in hospital, 2017. NICE (online); https://www.nice.org.uk/
105. Nawrot U, Kowalska-Krochmal B, Sulik-Tyszka B et al. Evaluation of blood culture media for the detection of fungi. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2014;34(1):161–167.
106. Nylén T, Saeedi B, Borg C, Ullberg M, Özenci V. The performance of 4 different supplements and 5 blood culture bottles types in detection of bacteria and *Candida* spp. in simulated sterile body fluid cultures. Diagn Microbiol Infect Dis 2013;77(1):1–4.
107. Ombelet S, Barbé B, Affolabi Det al. Best practices of blood cultures in low- and middle-income countries. Front Med 2019;6.
108. Opota O, Jaton K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. Clin Microbiol Infect 2015;21(4):323–331.
109. Pammi M, Zhong D, Johnson Y, Revell P, Versalovic J. Polymicrobial bloodstream infections in the neonatal intensive care unit are associated with increased mortality: a case-control study. BMC Infect Dis 2014;14:390.
110. Paolucci M, Landini MP, Sambri V. How can the microbiologist help in diagnosing neonatal sepsis? Int J Pediatr 2012;2012:1–14.
111. Park SH, Shim H, Yoon NS, Kim MN. Clinical relevance of time-to-positivity in BACTEC9240 blood culture system. Korean J Lab Med 2010;30(3):276–283.
112. Patel JB, Eliopoulos GM, Jenkins SG et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI (online) 2016; https://clsi.org/
113. Poisson DM, Chandemerle M, Guinard J, Evrard ML, Naydenova D, Mesnard L. Evaluation of CHROMagarTM StrepB: a new chromogenic agar medium for aerobic detection of group B streptococci in perinatal samples. J Microbiol Methods 2010;82(3):238–242.
114. Przondo-Mordarska A. Podstawowe Procedury Laboratoryjne w Bakteriologii Klinicznej. 1st edn. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2005.
115. Puopolo KM, RLynfield R, Cummings JJ. Management of infants at risk for group B streptococcal disease. Pediatrics 2019;144.
116. Puro V, De Carli G, Segata A et al. Update on the subject of epidemiology of blood-transmitted occupational infections. G Ital Med Lav Ergon 2010;32(3):235–239.
117. Raad I, Hanna HA, Alakech B, Chatzinikolaou I, Johnson MM, Tarrand J. Differential time to positivity: a useful method for diagnosing catheter-related bloodstream infections. Ann Intern Med 2004;140(1):18–25.
118. Raport NIK (nr ewid. 13/2018/P/17/060/KZD). Zakażenia w podmiotach leczniczych. NIK (online); https://www.nik.gov.pl/
119. Raveendran AV, Kumar A, Gangadharan S. Biomarkers and newer laboratory investigations in the diagnosis of sepsis. J R Coll Physicians Edinb 2019;49(3):207–216.
120. Reller ME, Zaidi AKM, Sultana Set al. Controlled evaluation of bactec Peds Plus/F and bactec lytic/10 anaerobic/F media for isolation of *Salmonella enterica* serovars typhi and paratyphi a from blood. J Clin Microbiol 2009;47:245–246.
121. Rello J, Valenzuela-Sánchez F, Ruiz-Rodriguez M, Moyano S. Sepsis: a review of advances in management. Adv Ther 2017;34(11):2393–2411.
122. Rhee C, Jones TM, Hamad Y et al. Prevalence, underlying causes, and preventability of sepsis-associated mortality in US acute care hospitals. JAMA Netw Open 2019;2(2):e187571.
123. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. Intensive Care Med 2017;43:304–377.
124. Riedel S, Bourbeau P, Swartz B et al. Timing of specimen collection for blood cultures from febrile patients with bacteremia. J Clin Microbiol 2008;46(4):1381–1385.
125. Robson WP, Daniel R. The Sepsis Six: helping patients to survive sepsis. Br J Nurs 2008;17(1):16–21.
126. Rocchetti A, Di Matteo L, Bottino P et al. Prospective study of the clinical performance of three BACTEC media in a modern emergency department: plus Aerobic/F, Plus Anaerobic/F, and Anaerobic Lytic/F. J Microbiol Methods 2016;130:129–132.
127. Roshanray A, Rayyani M, Dehghan M, Faghih A. Comparative effect of mother's hug and massage on neonatal pain behaviors caused by blood sampling: a randomized clinical trial. J Trop Pediatr 2020.
128. Royo-Cebrecos C, Gudiol C, Ardanuy C, Pomares H, Calvo M, Carratalà J. A fresh look at polymicrobial bloodstream infection in cancer patients. PLoS One 2017;12(10):e0185768
129. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. Lancet 2020;395(10219):200–211.
130. Rutala W, Weber D; HICPAC. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008, http://dental.nv.gov/uploadedFiles/dentalnvgov/content/Licensure/CDC%20Guidelines%20for%20Disinfection%20and%20Sterilization%20in%20Healthcare%20Facilities%20-%202008.pdf
131. Sánchez-Sánchez MM, Arias-Rivera S, Fraile-Gamo P et al. Efecto de una acción formativa en cuidados intensivos sobre la tasa de contaminación de hemocultivos. Enferm Intensiva 2018.
132. Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. J Pediatr 1996;129(2):275–278.

Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

133. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML et al. Developing a newdefinition and assessing newclinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). JAMA 2016;315:775–787.
134. Shapiro NI, Wolfe RE, Wright SB, Moore R, Bates DW. Who needs a blood culture? A prospectively derived and validated prediction rule. J Emerg Med 2008;35(3):255–264.
135. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis: a literature review. J Matern Neonatal Med 2018;31(12):1646–1659.
136. Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF, Dele Davies H. Early-onset neonatal sepsis. Clin Microbiol Rev 2014;27(1):21–47.
137. Simundic AM, Bölenius K, Cadamuro J et al. Wspólne zalecenia EFLM-COLABIOCLI dotyczące pobierania krwi żylnej. J Lab Diagnostics 2018;54(4):291–312.
138. Singer M, Deutschman CS, Seymour C et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). JAMA 2016;315(8):801–810.
139. Snyder SR, Favoretto AM, Baetz RA et al. Effectiveness of practices to reduce blood culture contamination: a Laboratory Medicine Best Practices systematic review and meta-analysis. Clin Biochem 2012;45:999–1011.
140. Stamper PD, S Shulder, P Bekalo et al. Evaluation of BBL CHROMagar VanRE for detection of vancomycin-resistant enterococci in rectal swab specimens. J Clin Microbiol 2010;48(11):4294–4297.
141. Szewczyk E. Diagnostyka Bakteriologiczna. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2019.
142. Tabatabaei SA, Tabatabaei SM, Soleimani M et al. Comparison between bactec peds plus F broth and conventional medium for vitreous culture. Ocul Immunol Inflamm 2018;27(5):813–816.
143. The UK Sepsis Trust; https://sepsistrust.org/
144. Totty H, Ullery M, Spontak J et al. A controlled comparison of the BacT/ALERT® 3D and VIRTUOTM microbial detection systems. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2017;36(10):1795–1800.
145. Trzcińska A. Ekspozycja zawodowa – problem wciąż aktualny. Forum Nefrol 2016;9(1):66–71.
146. Vendemiato AVR, von Nowakonski A, de L Marson FA, Levy CE. Microbiological characteristics of sepsis in a University hospital. BMC Infect Dis 2015;15.
147. Wadełek J. Sepsa i wstrząs septyczny u pacjentów w podeszłym wieku. Geriatria 2018;12:35–43.
148. Wałaszek M, Różańska A, Bulanda M, Wojkowska-Mach J. Alarming results of nosocomial bloodstream infections surveillance in Polish intensive care units. Przegl Epidemiol 2018;72(1):33–44.
149. Wang G, Yang X, Zhu J et al. Evaluation of the efficacy of Myco/F lytic system, MGIT960 system and Lowenstein-Jensen medium for recovery of *Mycobacterium tuberculosis* from sterile body fluids. Sci Rep 2016;6.
150. Washer LL, Chenoweth C, Kim HW et al. Blood culture contamination a randomized trial evaluating the comparative effectiveness of 3 skin antiseptic interventions. Infect Control Hosp Epidemiol 2013;34(1):15–21.
151. Watson A. Guidance for industry and FDA staff medical devices with sharps injury prevention features. FDA (online); https://www.fda.gov/files/medical%20devices/published/Medical-Devices-with-Sharps-Injury-Prevention-Features---Guidance-for-Industry-and-FDA-Staff-%28PDF%29.pdf
152. Webster J, Bell-Syer SEM, Foxlee R. Skin preparation with alcohol *versus* alcohol followed by any antiseptic for preventing bacteraemia or contamination of blood for transfusion. Cochrane Database Syst Rev 2015;2:CD007948.
153. Weinstein M. Contaminated or not? Guidelines for interpretation of positive blood cultures. AHRQ WebM&M (online) 2008; https://psnet.ahrq.gov/web-mm/contaminated-or-not-guidelines-interpretation-positive-blood-cultures
154. Weiss SL, Peters MJ, Alhazzani W et al. Surviving Sepsis Campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children. Pediatr Crit Care Med 2020;21(2):e52–e106.
155. WHO. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. World Heal Organ 2010;1–105.
156. Willems E, Smismans A, Cartuyvels R et al. The preanalytical optimization of blood cultures: a review and the clinical importance of benchmarking in 5 Belgian hospitals. Diagn Microbiol Infect Dis 2012;73:1–8.
157. Wójkowska-Mach J, Siewierska M, Bulanda M, Różańska A, Grabowski M, Heczko P. Epidemiologia zakażeń krwi w polskich szpitalach. Przegl Epidemiol 2004;58(2):253–264.
158. World Health Organization. Wytyczne WHO dotyczące higieny rąk w opiece zdrowotnej – podsumowanie Pierwsza Światowa Inicjatywa na rzecz Bezpieczeństwa Pacjenta „Higiena rąk to bezpieczna opieka ". WHO (online) 2009; https://www.cmj.org.pl/clean-care/higiena-rak-wytyczne-who-draft.pdf
159. World Sepsis Day; https://www.worldsepsisday.org/
160. Zadroga R, Williams DN, Kuskowski M, Hansen GT. Selection of blood culture media matters-antibiotic prescribing and de-escalation are inflienced by recovery rate differences between blood culture media. Oral Session: Non-molecular diagnosis of central nervous system and bloodstream infections, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain 10–13 May 2014.
161. Zhou B, Liu X, Bin Wu J, Jin B, Zhang YY. Clinical and microbiological profile of babies born with risk of neonatal sepsis. Exp Ther Med 2016;12:3621–3625.

ISBN 978-83-62342-15-0