

**Zalecenia grupy ekspertów dotyczące
diagnostyki zakażeń krwi
w laboratoriach mikrobiologicznych w Polsce
uwzględniające dostępność nowych technologii**

Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat¹

Dr hab. n. med. Aleksander Deptuła*²

Dr hab. n. med. Bonita Durnaś³

Dr hab. n. med. Edyta Podsiadły⁴

Dr n. med. Katarzyna Semczuk¹

Dr n. med. Agnieszka Żukowska⁵

* Konsultant krajowy w dz. mikrobiologii lekarskiej

¹ Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Dział Kontroli Zakażeń, Instytut – Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka, Warszawa

² Katedra Propedeutyki Medycyny i Profilaktyki Zakażeń, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, UMK w Toruniu; Sekcja Antybiotykoterapii i Kontroli Zakażeń Szpitalnych, Szpital Uniwersytecki nr 1 im. Dr. A. Jurasza w Bydgoszczy

³ Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach; Uniwersytet J. Kochanowskiego w Kielcach

⁴ Laboratorium Mikrobiologii UCML, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne WUM; Zakład Mikrobiologii Stomatologicznej, Wdział Lekarsko-Stomatologiczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁵ Samodzielny Publiczny Wielospecjalistyczny Zakład Opieki Zdrowotnej, Stargard

Warszawa, 31.07.2024

Szanowni Państwo,

W ciągu ostatnich kilku lat obserwujemy znaczący postęp technologiczny w mikrobiologii, który spowodował, że diagnostyka stała się nie tylko łatwiejsza, ale i znacznie szybsza. W wielu przypadkach możliwe jest skrócenie czasu oczekiwania na wykrycie patogennego drobnoustroju z kilku dni do kilku godzin. Ma to szczególne znaczenie w przypadku zakażeń łożyska naczyniowego / sepsy, czy innych zakażeń inwazyjnych, gdzie nowoczesne technologie stanowią znakomite uzupełnienie tradycyjnych metod hodowlanych. Dzięki szybkiej identyfikacji szczepu, oznaczeniu lekowrażliwości, czy wykryciu genów oporności bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi, nowoczesne laboratorium mikrobiologiczne ma realny wpływ na wcześniejsze wdrożenie celowanej antybiotykoterapii, jej eskalację lub deeskalację. Działania te, w dużej mierze, zostały wsparte przez zakup nowoczesnej aparatury w ramach 31 edycji Finału Wielkiej Orkiestry Świątecznej Pomocy w 2023 roku. Niniejsza publikacja jest propozycją modyfikacji / uzupełnienia klasycznych algorytmów stosowanych w diagnostyce zakażeń krwi przez włączenie do nich aktualnie dostępnych zaawansowanych metod i urządzeń. Implementacja najnowszych technologii do rutynowej diagnostyki sepsy wymaga zaangażowania diagnostów laboratoryjnych, a właściwe wykorzystanie / interpretacja wyników badań ściślejszej współpracy mikrobiologów i klinicystów.

Autorzy

Wykaz stosowanych skrótów i symboli

AST – (ang. *Antimicrobial Susceptibility Testing*) badanie lekowrażliwości

ATU – (ang. *Area of Technical Uncertainty*) obszar niepewności technicznej

ID – Identyfikacja Drobnoustroju

MIC – (ang. *Minimum Inhibitory Concentration*) najmniejsze stężenie hamujące

RAST – (ang. *Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing*) szybka metoda oznaczania lekowrażliwości bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi



– kontakt z lekarzem

ZOMR – Zapalenie Opon Mózgowo-Rdzeniowych

Zaleca się, aby inkubacja krwi pobranej na posiew w systemie automatycznym rozpoczęła się najpóźniej w ciągu 2 godzin od pobrania.

Postępowanie z dodatnią próbką krwi:

Po stwierdzeniu dodatniego wyniku hodowli krwi, diagnosta laboratoryjny ma obowiązek, w czasie nieprzekraczającym 1 godziny, zainicjować odpowiednie procedury diagnostyczne:

1. **Przesiew krwi z butelki z dodatnim posiewem krwi na podłoża stałe** należy wykonać zawsze, niezależnie od stosowanych szybkich metod diagnostycznych.
2. **Preparat barwiony metodą Grama** należy wykonać zawsze i z każdej butelki z dodatnim posiewem krwi. Po ocenie preparatu informację należy przekazać do lekarza prowadzącego / dyżurnego / zlecającego badanie, a następnie podjąć kolejne czynności diagnostyczne. Etap ten powinien być zakończony **w ciągu 2 godzin** od stwierdzenia przez diagnostę laboratoryjnego dodatniego wyniku hodowli krwi.
3. **Wykorzystanie technologii MALDI-TOF** z możliwością wykonania identyfikacji drobnoustrojów bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi (np. test Sepsityper): zaleca się wykonać oznaczenie z co najmniej jednej z butelek z każdego kompletu z niezależnych pobrań / wkłuć (z cewnika, z obwodu). Po otrzymaniu wyniku informację należy przekazać do lekarza prowadzącego / dyżurnego / zlecającego badanie. Etap ten powinien być zakończony **w ciągu 2 godzin** od stwierdzenia przez diagnostę laboratoryjnego dodatniego wyniku hodowli krwi.
4. **Wykorzystanie metody multiplex PCR (np. panel BCID BioFire)** wykonywanej z butelki z dodatnim posiewem krwi. Badanie to zaleca się wykonać w następujących sytuacjach:
 - a) zawsze, gdy ciężki stan kliniczny pacjenta,
 - b) przy podejrzeniu ZOMR,
 - c) przy wysokim ryzyku zakażenia szczepem opornym,
 - d) gdy pacjent jest skolonizowany szczepem wielolekoopornym lub ma w wywiadzie zakażenie opornym szczepem w ciągu ostatnich 6 miesięcy,
 - e) gdy identyfikacja specyficznych genów oporności może mieć wpływ na sposób leczenia lub podejmowane działania epidemiologiczne, a zidentyfikowany metodą MALDI-TOF drobnoustrój mieści się w zakresie możliwości diagnostycznych wykorzystywanego testu multiplex PCR,

- f) gdy laboratorium nie dysponuje inną metodą identyfikacji patogenu stanowiącego czynnik etiologiczny bakteriemii / sepsy bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi,
- g) gdy wynik identyfikacji wykonanej z użyciem MALDI-TOF (ID MALDI-TOF Sepsityper) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi jest wątpliwy / ujemny,
- h) gdy w preparacie barwionym metodą Grama obserwowana jest mieszana morfologia drobnoustrojów.

5. Wykorzystanie metody RAST (np. dRAST) do oznaczania lekowrażliwości bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi wskazane jest w następujących sytuacjach:

- a) gdy zidentyfikowany drobnoustrój (ID MALDI-TOF Sepsityper i / lub multiplex PCR) mieści się w spektrum diagnostycznym wybranej metody RAST (np. dRAST) oraz gdy wynik lekowrażliwości zostanie wydany w ciągu 8 godzin od nastawienia lekowrażliwości i będzie miał wpływ na decyzję terapeutyczną – realna szansa na zmianę na antybiotykoterapię celowaną; dopuszcza się wydanie wyniku w ciągu 16 godzin, gdy odczyt wyniku po 8 godzinach nie jest możliwy;
- b) przy braku identyfikacji bezpośrednio z dodatniej próbki krwi, po przeprowadzeniu oceny preparatu barwionego metodą Grama, jeśli istnieją wskazania kliniczne lub epidemiologiczne do szybkiego otrzymania wyniku lekowrażliwości; wynik tak oznaczonej lekowrażliwości należy zinterpretować po uzyskaniu identyfikacji wykonanej z hodowli na podłożach stałych.

Wyniki uzyskane metodą RAST (np. z aparatu dRAST) zazwyczaj nie wymagają potwierdzenia, jeśli nie budzą wątpliwości i powinny zostać przekazane lekarzowi prowadzącemu / dyżurnemu / zlecającemu badanie. Powtórzenia mogą wymagać sytuacje wykrycia rzadkich, nietypowych fenotypów oporności, uzyskania wartości w zakresie ATU lub przy braku korelacji z wykrytymi genami oporności. Wyniki AST uzyskane metodą RAST, jeśli jest taka potrzeba, można uzupełnić inną metodą wykonując oznaczania lekowrażliwości z hodowli na podłożach stałych i wydać wynik uzupełniający (informację o uzupełnieniu / korekcie należy przekazać lekarzowi prowadzącemu / dyżurnemu / zlecającemu badanie).

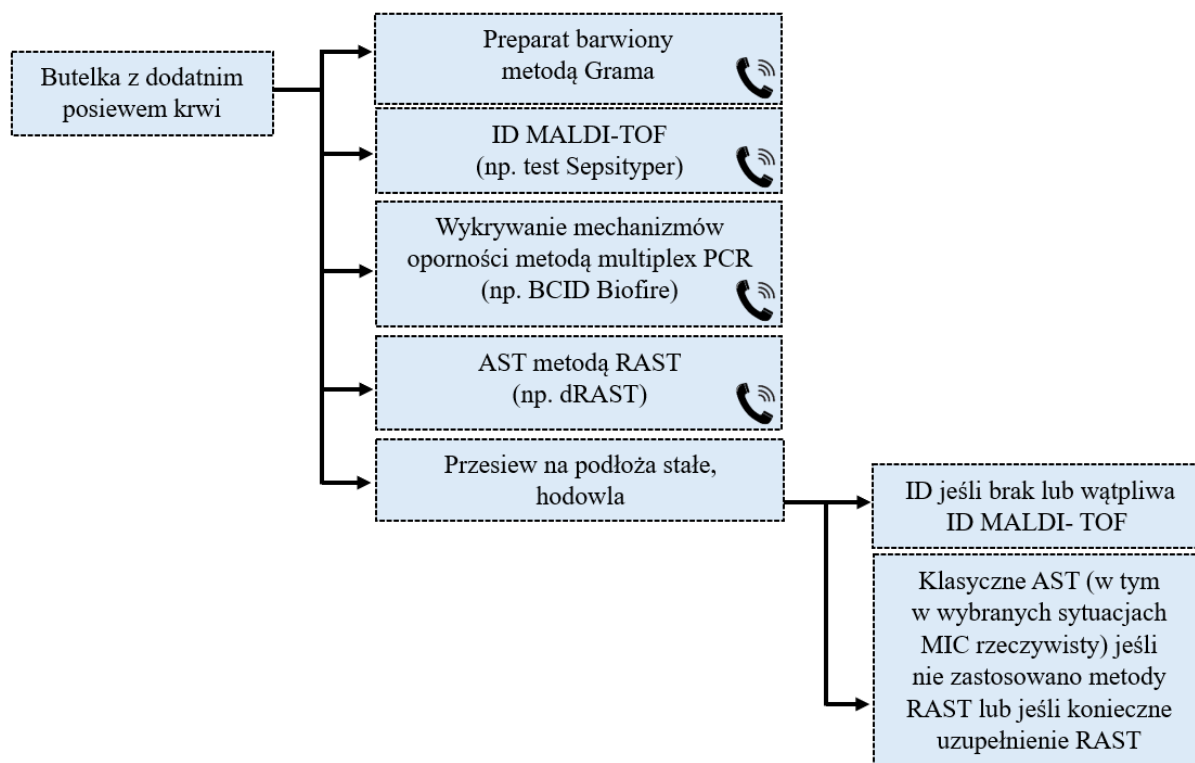
6. **Procedury uzupełniające** do oznaczeń wykonywanych z butelki z dodatnim posiewem krwi:

- a) w zakresie identyfikacji drobnoustrojów: jeżeli identyfikacja metodą MALDI-TOF (ID MALDI-TOF Sepsityper) lub multiplex PCR budzi wątpliwości - po uzyskaniu hodowli na podłożach stałych, bezwzględnie należy powtórzyć lub wykonać identyfikację inną dostępną metodą;
- b) w zakresie uzyskanych wyników w metodzie RAST: jeśli uzyskane wyniki znalazły się w zakresie ATU, zaobserwowano rzadkie / nietypowe fenotypy oporności, nie uzyskano korelacji z wykrytymi genami oporności lub wymagane jest oznaczenie lekowrażliwości na dodatkowe grupy leków - należy oznaczyć lekowrażliwość z hodowli na podłożach stałych metodą zgodną z aktualnymi zaleceniami EUCAST i KORLD;
- c) w uzasadnionych sytuacjach klinicznych oraz w zakażeniach wywoływanych przez szczepy wielolekooporne, należy dążyć do oznaczenia rzeczywistej wartości najmniejszego stężenia hamującego (MIC) wzrost drobnoustrojów.

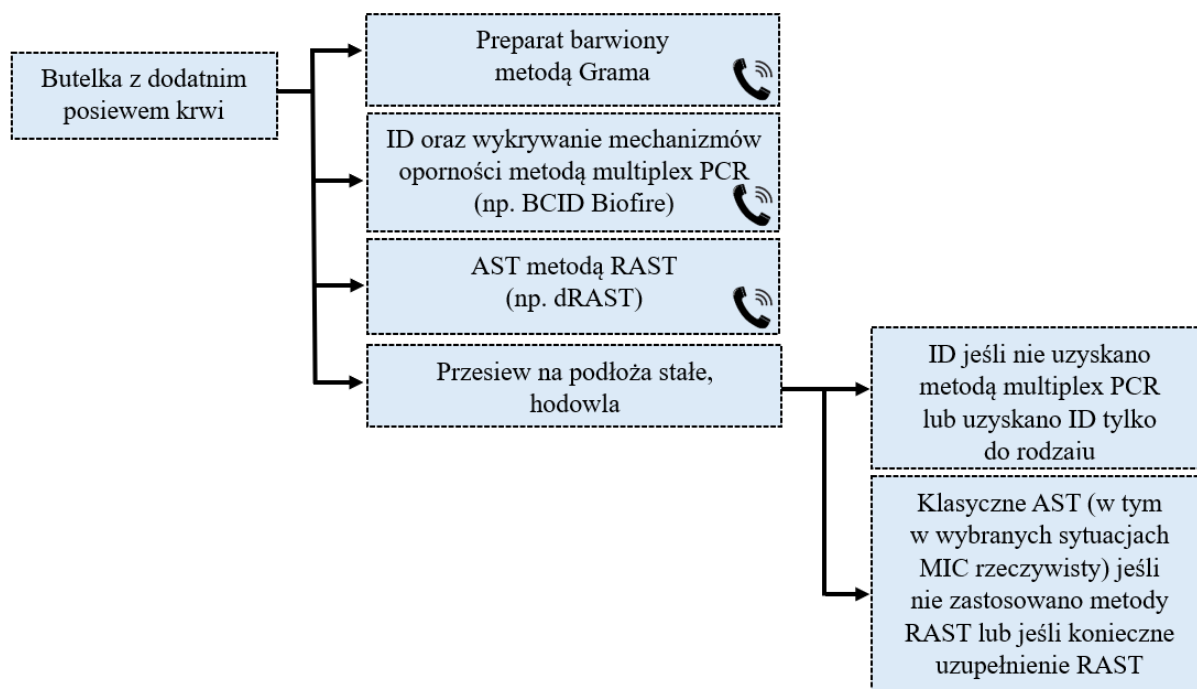
Zaleca się wydanie wyniku identyfikacji i oznaczania lekowrażliwości w ciągu 24 godzin od stwierdzenia przez diagnostę laboratoryjnego dodatniego wyniku posiewu krwi.

Propozycje wykorzystania nowych technologii w zależności od wyposażenia laboratorium przedstawiono w formie algorytmów 1-5.

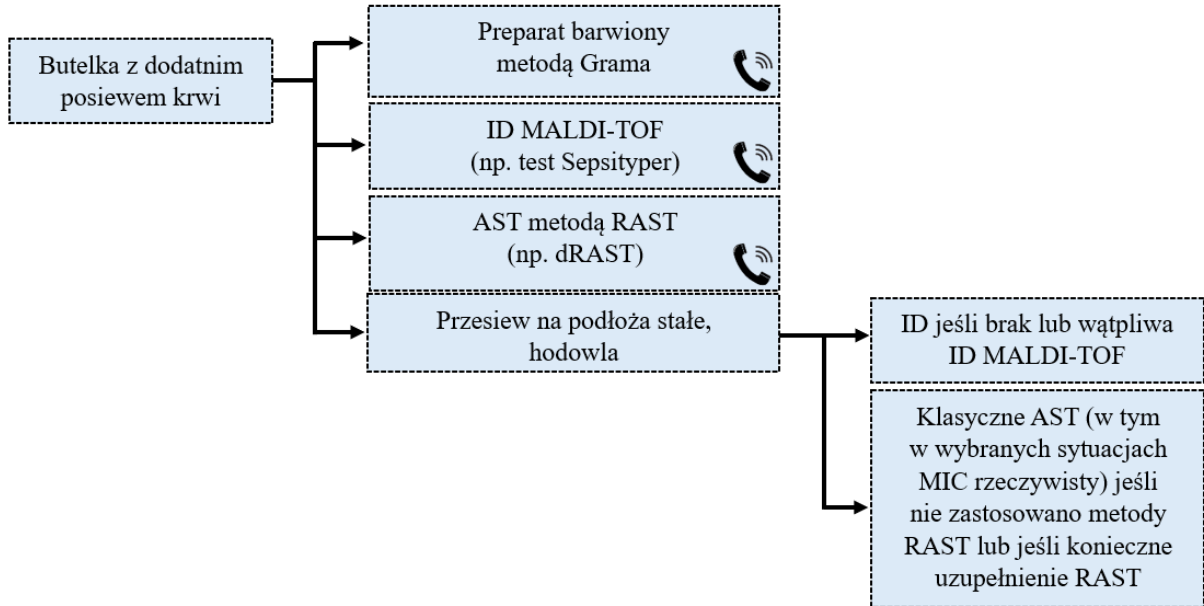
Algorytm 1. Laboratorium dysponuje następującymi technologiami: MALDI-TOF z możliwością wykonania identyfikacji drobnoustrojów (ID) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi (np. test Sepsityper), multiplex PCR z możliwością wykrywania mechanizmów oporności bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi (np. panel BCID BioFire) oraz metodą RAST (np. dRAST) do oznaczania lekowrażliwości (AST) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi.



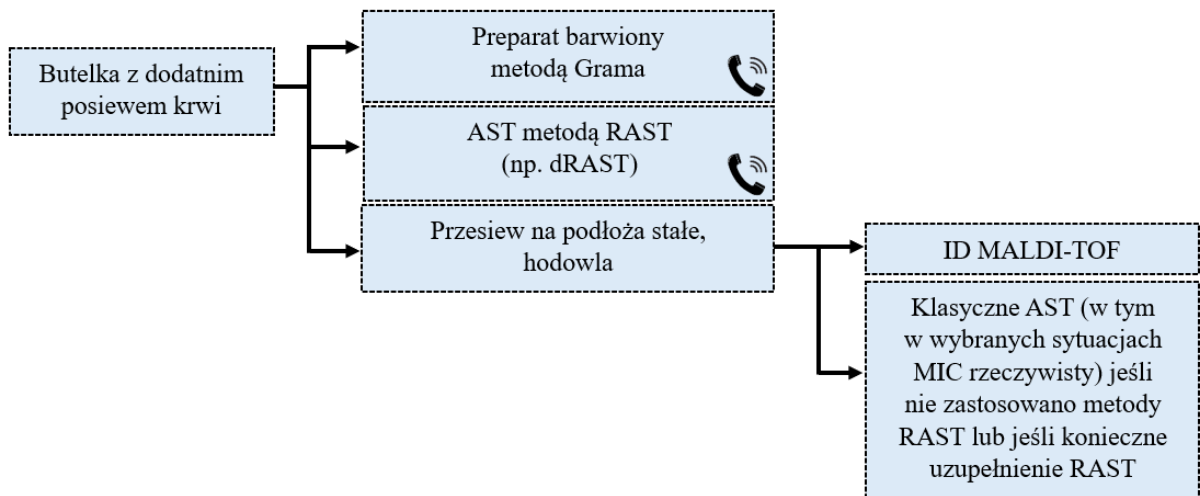
Algorytm 2. Laboratorium dysponuje następującymi technologiami: multiplex PCR z możliwością identyfikacji drobnoustrojów oraz wykrywania mechanizmów oporności bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi (np. panel BCID BioFire) oraz metodą RAST (np. dRAST) do oznaczania lekowrażliwości (AST) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi (ewentualnie również MALDI -TOF bez możliwości wykonania identyfikacji drobnoustrojów (ID) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi).



Algorytm 3. Laboratorium dysponuje następującymi technologiami: MALDI-TOF z możliwością wykonania identyfikacji drobnoustrojów (ID) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi (np. test Sepsityper) oraz metodą RAST (np. dRAST) do oznaczania lekowrażliwości (AST) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi.



Algorytm 4. Laboratorium dysponuje następującymi technologiami: MALDI-TOF bez możliwości wykonania identyfikacji drobnoustrojów (ID) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi oraz metodą RAST (np. dRAST) do oznaczania lekowrażliwości (AST) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi.



Algorytm 5. Laboratorium dysponuje następującymi technologiami: MALDI-TOF z możliwością wykonania identyfikacji drobnoustrojów (ID) bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi (np. test Sepsityper).

