

Mikrobiološke preiskave v diagnostiki sepse

Microbiological procedures in the diagnostics of sepsis

Manica Müller Premru,¹ Bojana Beović,² Vesna Cvitković Špič¹

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta v Ljubljani, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

² Univerzitetna klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva 2, 1525 Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

Manica Müller Premru, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta v Ljubljani, Zaloška 4, 1000, Ljubljana tel. 015437425, e-mail: manica.mueller-premru@mf.uni-lj.si

Ključne besede:

sepsa, bakteriemija, epidemiologija, povzročitelji, mikrobiološke preiskave

Key words:

sepsis, bacteremia, epidemiology, causative agents, microbiological procedures

Izvleček

Izhodišča: Sepsa je ena najbolj resnih bakterijskih okužb. Diagnoza sepse je klinična. Mikrobiologi lahko s preiskavo, ki jo imenujemo hemokultura, dokažemo bakteriemijo, ki pa ni prisotna pri vseh septičnih bolnikih.

Metode: V retrospektivni raziskavi smo pregledali hemokulture, odvzete v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani (UKCL), na Onkološkem inštitutu (OI) in v Splošni bolnišnici Trbovlje (SBT) med leti 2006 in 2011. Hemokultura je delno avtomatizirani postopek kultivacije vzorca krvi v gojiščih za dokaz povzročitelja bakteriemije. Pomembno je, da odvzamemo vsaj dva vzorca z zadostnim volumnom krvi. V prispevku pregledno opisujemo tudi nove hitrejša postopke za identifikacijo bakterij iz pozitivnih hemokultur in molekularne metode za dokaz povzročiteljev sepse neposredno iz vzorca krvi, ki se šele uveljavljajo.

Rezultati: V letih 2006–2011 se je število hemokultur pri bolnikih UKCL, OI in SBT (od leta 2007) povečalo s 18.404 v letu 2006 na 25.214 v letu 2011, število bolnikov s pozitivno vsaj eno hemokulturo pa s 1.033 v letu 2006 na 1.396 v letu 2011. Delež pozitivnih hemokultur se je gibal med 10,9 % in 12,3 %. Razmerje med po Gramu pozitivnimi in po Gramu negativnimi bakterijami je bilo približno 50:50. V vseh letih smo med patogenimi bakterijami najpogostejše osamili bakterije *Escherichia coli* (19,2–22,9 %) in *Staphylococcus aureus* (15,3–17,4 %). Delež bakterij *Klebsiella* spp. je bil 5,3–8,3 %, *Pseudomonas aeruginosa*

1,8–3,4 %, *Streptococcus pneumoniae* 2,9–4,7 %, *Enterococcus* spp. 5,4–8,1 %. Delež anaerobnih bakterij je znašal 2,1–3,2 %. Delež *Staphylococcus epidermidis* in drugih koagulazno negativnih stafilokokov, ki v večini primerov predstavljajo kontaminacijo hemokultur ob odvzemu, se je zmanjšal s 23,3 % na 16,9 %. Povzročitelje sepse iz pozitivnih hemokultur z metodo masne spektrometrije identificiramo znatno hitreje kot prej in natančno identificiramo večje število bakterijskih vrst. Dokažemo jih lahko tudi neposredno iz vzorca krvi z molekularno metodo, verižno reakcijo s polimerazo (PCR); z evbakterijskim testom (z interno metodo) ali s komercialnimi kiti SeptiFast ali SepsiTst.

Zaključek: Hemokultura postaja v UKCL, OI in SBT vedno pogostejša preiskava, delež pozitivnih pa se bistveno ne spreminja. Se pa med osamljenimi bakterijami povečuje število in delež patogenih bakterij, kot so *E. coli*, *S. aureus* in *S. pneumoniae*, zmanjšuje pa delež kontaminacij s koagulazno negativnimi stafilokoki.

Abstract

Background: Sepsis is one of the most serious bacterial infections. The diagnosis of sepsis is clinical. Microbiologists can detect bacteremia, which however is not present in all septic patients, by the procedure called blood culture.

Methods: Blood culture is a semi-automated procedure of culturing blood in liquid media to detect and identify the causative agents. It is important to take 2 to 3 blood cultures with ad-

Citirajte kot/Cite as:
Zdrav Vestn 2013;
82: 445–7

Prispelo: 29. avg. 2012,
Sprejeto: 24. apr. 2013

equate volume of blood. The new, faster methods for bacterial identification from positive blood cultures and molecular methods for the detection of bacterial DNA directly from a blood sample are also becoming available.

Results: In the years 2006 to 2011, the number of blood cultures obtained from patients in the University Medical Centre in Ljubljana, Institute of Oncology and the General hospital of Trbovlje (from 2007) was constantly increasing, from 18,404 in 2006 to 25,214 in 2011. The number of patients with positive blood culture/s increased from 1,033 in 2006 to 1,396 in 2011. The rate of blood culture positivity ranged from 10.9 % to 12.3 %. The ratio between gram-positive and gram-negative bacteria was approximately 50:50 %. In all the years under study, *Escherichia coli* was the most frequent pathogenic isolate

(19.2 % to 22.9 %), followed by *Staphylococcus aureus* (15.3 % to 17.4 %). *Klebsiella* spp. represented 5.3 % to 8.3 % of isolates, *Pseudomonas aeruginosa* 1.8 % to 3.4 %, *Streptococcus pneumoniae* 2.9 % to 4.7 %, *Enterococcus* spp. 5.4 % to 8.1 %, anaerobes 2.1 % to 3.2 %. Coagulase-negative staphylococci decreased from 23.3 % to 16.9 %. Today, bacteria are identified by the fast and accurate method of mass spectrometry. Bacteria can alternatively be detected directly from blood by the molecular tests.

Conclusions: Blood culture is a very common procedure, its rate of positivity is stable. Among bacteria, the number and the proportion of pathogenic bacteria such as *E. coli*, *S. aureus* and *S. pneumoniae* is increasing and the proportion of contaminants is decreasing.

Uvod

Sepsa je ena najbolj resnih invazivnih bakterijskih okužb. Med vzroki smrti v razvitih državah je na 10. mestu.¹ Diagnozo sepse postavimo klinično. Pred dvajsetimi leti je bila sprejeta definicija, ki sepso opredeljuje kot sistemski vnetni odgovor organizma (*angl.* systemic inflammatory response syndrome, SIRS) zaradi okužbe. SIRS je opredeljen s prisotnostjo vsaj dveh kliničnih oziroma laboratorijskih znakov: telesna temperatura več kot 38 °C ali manj kot 36 °C, srčni utrip več kot 90 na minuto, pospešeno dihanje s frekvenco vsaj 24 na minuto ali parcialnega tlaka CO₂ manj kot 32 mm Hg in koncentracija levkocitov v periferni krvi več kot 12 x 10⁹/l ali pod 4 x 10⁹/l oziroma prisotnost vsaj 10 % nezrelih oblik v diferencialni krvni sliki. Hudo sepso so opredelili kot sepso s poslabšanjem delovanja vsaj enega organa oziroma z znaki hipoperfuzije. Če je prizadet krvni obtok in ima bolnik zato znižan krvni tlak, govorimo o septičnem šoku.² Kasneje so definicijo sepse nekoliko spremenili. Definicija sedaj obsega dokazano ali zelo verjetno okužbo, vnetne in hemodinamske spremembe, motnje v delovanju organov in znake slabe prekrvitve.³

V zadnjih desetletjih se je incidenca sepse podvojila, kar pripisujejo staranju popu-

lacije in večjemu številu kroničnih bolnikov (bolniki s sladkorno boleznijo, z rakavimi boleznimi, s končnim stadijem ledvične odpovedi, z žilnimi katetri, vsadki), ki imajo večje tveganje za sepso. V ZDA opisujejo incidenco sepse na 240 primerov/100.000 prebivalcev. Klinično pomembna bakteriemija je dokazana pri 5–10 bolnikih/1.000 sprejemov.¹ V Sloveniji incidenco hude sepse pri odraslih ocenjujejo na 118 primerov/100.000 prebivalcev.⁴ Smrtnost bolnikov s sepso se glede na stopnjo (sepsa, huda sepsa, septični šok) giblje med 25 in 60 %.⁵

Možni povzročitelji sepse so praktično vsi mikroorganizmi, ki jih najdemo pri ljudeh, najpogostejši pa so: *Escherichia (E.) coli*, *Staphylococcus (S.) aureus*, *Streptococcus (S.) pneumoniae* in drugi streptokoki ter enterokoki, druge enterobakterije, *Pseudomonas (P.) aeruginosa*, idr.^{6–14} Polimikrobna bakteriemija je redka. Bouza s sod. jo opisuje v 11 %, ¹¹ Weinstein pa v 5–22 %.¹²

Z največjo gotovostjo dokažemo povzročitelja sepse z mikrobiološko preiskavo krvi (hemokulturo), žal pa bakteriemijo ugotovimo pri manj kot 50 % bolnikov, pri katerih sumimo na sepso.¹

Namen prispevka je opisati metode za dokaz bakteriemije in prikazati bakterijske izolate, osamljene iz krvi bolnikov, v UKCL, na OI in v SBT v letih 2006–2011.

Metode

Hemokultura je postopek kultivacije vzorca krvi v gojiščih za aerobne in anaerobne bakterije ter glive in osamitev povzročitelja bakteriemije oz. seapse. Kri za hemokulturo, pri odraslih od 8–10 ml na stekleničko in pri otrocih od 1–3 ml na stekleničko (odvisno od možnosti za odvzem, hemokulturnega sistema, pri otrocih od starosti), odvajamo ob porastu telesne temperature aseptično iz periferne vene in po potrebi tudi iz žilnega katetra, po možnosti pred uvedbo antibiotika. Bolnikom praviloma odvajamo po 2 do 3 vzorce krvi za hemokulturo v 30 minutnih intervalih ali pogosteje.^{6–14} Ob enem odvzemu pri odraslem bolniku nacepimo aerobno in anaerobno stekleničko. Na spremnem listu navedemo podatke bolnika, značilnosti vzorca, morebitno antibiotično zdravljenje, diagnozo, bolnikove osnovne bolezni, potovanja, ipd.

Hemokulturne stekleničke v laboratoriju vstavimo v komercialni avtomatizirani računalniško vodeni sistem, ki ga uporabljamo; sistem BacT/ALERT (bioMerieux, Francija) ali sistem BACTEC (Becton Dickinson, ZDA), ki odkriva bakterijsko rast, in inkubiramo 5–7 dni. Gojišča sistemov BacT/ALERT in BACTEC imajo vgrajene snovi za vezavo antibiotikov, ki omogočajo rast bakterij tudi pri bolnikih, ki že dobivajo antibiotike. Na voljo so tudi posebne stekleničke za otroke.^{15–17}

Če je bakterij v krvi veliko, so hemokulture pozitivne že isti dan, ko jih sprejmemo v laboratorij. Pri več kot 90 % pozitivnih hemokultur naprava javi rast v 48 urah.^{6–14} Informacije o rasti mikrobov sporočamo na oddelke, tako da javimo rezultat direktnega razmaza, obarvanega po Gramu. Bakterije lahko hkrati (po dogovoru s klinikom) tudi neposredno identificiramo iz vsebine pozitivne hemokulturne stekleničke z aplikacijo masne spektrometrije MALDI-TOF MS (*angl.* matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry) Sepsityper kit (MALDI-TOF, Bruker Daltonics, ZDA), vendar identifikacija ni vedno uspešna.^{18,19}

Vsebinsko pozitivne hemokulturne stekleničke zasejemo na gojišča, ki omogočajo rast

aerobnih in anaerobnih bakterij in hkrati naredimo antibiogram, ki ga običajno lahko odčitamo že po 8 urah rasti (preliminarni antibiogram). Takrat tudi bakterije v kulturi identificiramo z metodo masne spektrometrije (MALDI-TOF, Bruker Daltonics, ZDA) ali pa s sistemom Vitek (bioMerieux, Francija).^{18,19} Kadar s temi fenotipskimi testi bakterij ne uspemo identificirati, za določitev bakterijske vrste uporabimo molekularno metodo sekveniranja dela gena 16S rDNA.²⁰

Standardizirani antibiogram opravimo s Kirby Bauerjevo difuzijsko metodo oz. z določitvijo minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) v skladu z ameriškimi standardi CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).²¹

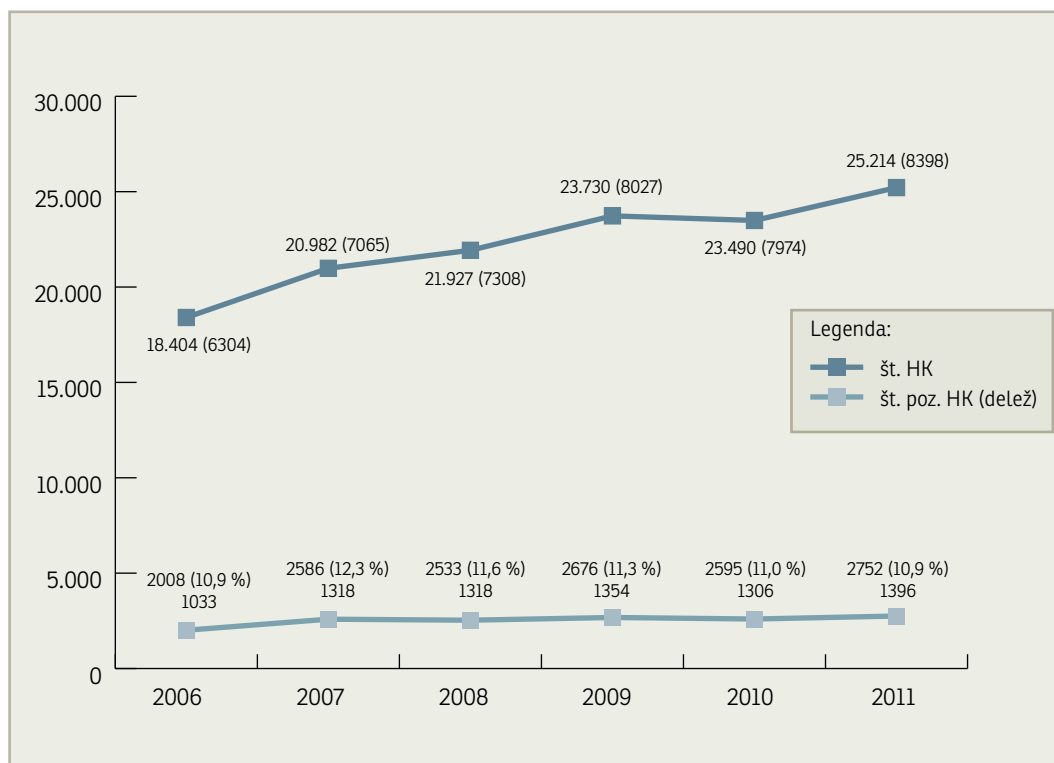
V retrospektivni raziskavi, ki jo predstavljamo, smo uporabili zgoraj opisane postopke osamitve in identifikacije.

Rezultati

Leta 2006 smo pri 6304 bolnikih v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani in na Onkološkem inštitutu odvzeli 18.404 hemokultur, leta 2011 pa pri 8398 bolnikih iz istih bolnišnic in SB Trbovlje 25.214 hemokultur. Število pozitivnih hemokultur se je povečevalo v skladu s številom odvzetih hemokultur, saj je bilo v letu 2006 pozitivnih 2.008 hemokultur in v letu 2011 2.752 hemokultur. Število bolnikov s pozitivno hemokulturo se je povečalo s 1033 bolnikov v letu 2006 na 1.396 v letu 2011. Delež pozitivnih hemokultur se je gibal od 10,9–12,3 % (Slika 1). Število izolatov je bilo zaradi polimikrobnih bakteriemij pri posameznih bolnikih vedno večje od števila pozitivnih hemokultur in se je povečalo s 3151 v letu 2006 na 4302 v letu 2011 (Tabela 1).

Razmerje med po Gramu pozitivnimi in po Gramu negativnimi bakterijami je bilo približno enako, nekoliko v korist po Gramu pozitivnih. V vseh letih smo med bakterijami najpogosteje izolirali *E. coli* (19,2–22,9 %) in *S. aureus* (15,3–17,4 %). Delež *Klebsiella* spp. je bil 5,3–8,3 %, *P. aeruginosa* 1,8–3,4 %, *S. pneumoniae* 2,9–4,7 %, *Enterococcus* spp. 5,4–8,1 %. Delež anaerobnih bakterij je znašal 2,1–3,2 %. Delež *S. epidermidis* in drugih koagulazno negativnih stafilokokov, ki v ve-

Slika 1: Število odvzetih hemokultur (bolnikov z odvzetimi hemokulturami) in število (delež) pozitivnih hemokultur ter število bolnikov s pozitivnimi hemokulturami v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani, na Onkološkem inštitutu in Splošni bolnišnici Trbovlje v letih 2006–2011.



čini primerov predstavljajo kontaminacijo hemokultur ob odvzemu, se je zmanjšal s 23,3 % v letu 2006 na 16,9 % v letu 2011 (Tabela 1). Izolatov gliv v tem članku ne navajamo.

Razpravljanje

V letih 2006–2011 se je število odvzetih hemokultur stalno povečevalo (18.404 do 25.214). Delež pozitivnih je bil 10,9–12,3 %. V svetu se giblje med 10 in 15 %.^{5–10}

Na pozitiven rezultat poleg ustrezno izbranih indikacij in pravočasnega odvzema pred začetkom zdravljenja z antibiotiki najbolj vplivata število odvzetih hemokultur in količina krvi. Občutljivost ene same hemokulture pri bolnikih z bakteriemijo je le 80 %, občutljivost treh hemokultur, če je krvi dovolj in če so bile odvzete v pravem času, pa 99 %.^{9,10} Posamezne hemokulture niso sprejemljive tudi zato, ker onemogočajo ločevanje povzročiteljev od kontaminantov. Še sprejemljivi delež kontaminantov je do 3 % od vseh odvzetih hemokultur.^{8–14}

Z uvedbo metode masne spektrometrije (MALDI-TOF, Bruker Daltonics, ZDA) se je identifikacija povzročiteljev zelo pospešila. Hitra identifikacija bakterij neposredno iz

vsebine pozitivne hemokulture stekleničke z MALDI Sepsityper kit (MALDI-TOF, Bruker Daltonics, ZDA) nam v primerjavi z direktnim razmazom, obarvanim po Gramu, omogoča razlikovanje npr. različnih vrst enterobakterij in *P. aeruginosa*, streptokokov od enterokokov, patogene bakterije *S. aureus* od koagulazno negativnih stafilokokov, ki so večinoma kontaminanti, določitev anaerobov. Ti podatki nam pomagajo, da že pred prejemom kulture in antibiograma, uvedemo antibiotik, na katerega je bakterijska vrsta predvidoma občutljiva. Z metodo masne spektrometrije identificiramo bakterije takoj tudi, ko jih osamimo v kulturi. S tem smo skrajšali čas identifikacije skupno za 24–48 ur, kolikor smo v preteklosti potrebovali za osamitev bakterij v kulturi in klasično fenotipsko identifikacijo. Z masno spektrometrijo tudi natančno identificiramo večje število bakterijskih vrst kot s klasično identifikacijo.^{18,19} Molekularna metoda sekvenciranja dela gena 16S rDNA pa omogoči natančno identifikacijo bakterij na osnovi njihovega genoma.²⁰

Še bolj bi diagnosticiranje sepse lahko izboljšale in pospešile molekularne metode za dokazovanje bakterij in gliv neposredno iz vzorca krvi, ki se uveljavljajo. Taka testa

sta SeptiFast (Roche, ZDA),²² in Sepsitest (Molzym, Nemčija).²³ Pri testu SeptiFast, ki je multipleks PCR v realnem času, iz krvi, poslane v epruveti z antikoagulantom K-EDTA, dokazujemo 20 najpogostejših bakterijskih in glivnih vrst. Priporočen je kot dodatni test poleg hemokultur pri bolnikih, ki so dobivali antibiotike že pred odvzemom hemokultur, predvsem pri bolnikih v intenzivnih enotah in transplantacijskih centrih, vendar pa je cena zelo visoka.²² Alternativno lahko uporabimo evbakterijski PCR, bodisi z interno metodo ali s kitom Sepsitest.^{20,23}

Pri nas, kjer sta bila poleg Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani vključena še Onkološki Inštitut in Splošna bolnišnica Trbovlje, je bilo razmerje med po Gramu pozitivnimi in po Gramu negativnimi bakterijami, ki smo jih osamili iz pozitivnih hemokultur, približno 50:50 %, nekoliko v korist po Gramu pozitivnih bakterij. Podobno ugotavljajo v raziskavi tudi Gubina in sod. (v letih 1989–1993).²⁴ Tudi drugi avtorji so v učnih bolnišnicah v primerjavi z neučnimi osamili več po Gramu pozitivnih bakterij (59 % proti 39 %), predvsem več sta-

Tabela 1: Primerjava števila in deležev bakterijskih izolatov iz 2008 (10,9 %) pozitivnih hemokultur v letu 2006, 2586 (12,3 %) v letu 2007, 2533 (11,6 %) v letu 2008, 2676 (11,3 %) v letu 2009, 2595 (11,0 %) v letu 2010 in iz 2752 (10,9 %) hemokultur v letu 2011 (izolati gliv niso vključeni, ponovni izolati niso izključeni).

Izolat	2006 n (%)	2007 n (%)	2008 n (%)	2009 n (%)	2010 n (%)	2011 n (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> in drugi KNS	734 (23,3)	912 (22,6)	768 (19,1)	838 (20,4)	675 (16,8)	726 (16,9)
<i>Staphylococcus aureus</i>	530 (16,8)	670 (16,6)	638 (15,9)	626 (15,3)	676 (16,8)	750 (17,4)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	111 (3,5)	118 (2,9)	165 (4,1)	194 (4,7)	184 (4,6)	157 (3,6)
<i>Streptococcus</i> spp.	180 (5,7)	190 (4,7)	152 (3,8)	153 (3,7)	165 (4,1)	161 (3,7)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	31 (0,9)	51 (1,3)	50 (1,2)	62 (1,5)	36 (0,8)	46 (1,1)
drugi betahemolitični streptokoki	45 (1,4)	67 (1,6)	84 (2,1)	79 (1,9)	77 (1,9)	58 (1,3)
<i>Enterococcus</i> spp.	196 (6,2)	217 (5,4)	327 (8,1)	310 (7,6)	213 (5,3)	257 (6,0)
<i>Haemophilus influenzae</i>	7 (0,2)	14 (0,3)	7 (0,1)	19 (0,5)	12 (0,2)	11 (0,2)
<i>Neisseria meningitidis</i>	5 (0,1)	7 (0,2)	7 (0,1)	3 (0,1)	5 (0,1)	6 (0,1)
<i>Escherichia coli</i>	606 (19,2)	862 (21,3)	921 (22,9)	825 (20,1)	879 (21,9)	942 (21,9)
<i>Klebsiella</i> spp.	206 (6,5)	226 (5,6)	213 (5,3)	298 (7,2)	285 (7,1)	358 (8,3)
<i>Enterobacter</i> spp.	101 (3,2)	81 (2,0)	114 (2,8)	127 (3,1)	134 (3,3)	122 (2,8)
<i>Salmonella</i> spp.	20 (0,6)	26 (0,5)	26 (0,6)	19 (0,5)	6 (0,1)	23 (0,5)
druge enterobakterije	117 (3,7)	211 (5,2)	146 (3,6)	151 (3,6)	195 (4,8)	223 (5,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	73 (2,3)	80 (1,9)	135 (3,4)	90 (2,2)	74 (1,8)	135 (3,1)
<i>Acinetobacter</i> spp.	9 (0,3)	22 (0,5)	20 (0,5)	28 (0,7)	6 (0,1)	23 (0,5)
<i>Pseudomonas</i> spp.	0	2 (0,05)	0 (0,0)	0	2 (0,05)	6 (0,1)
drugi G-nefermentativni bacili	16 (0,5)	28 (0,7)	23 (0,6)	31 (0,7)	48 (1,2)	37 (0,9)
<i>Corynebacterium</i> spp.	36 (1,1)	33 (0,8)	38 (0,9)	27 (0,7)	40 (1,0)	33 (0,8)
<i>Listeria monocytogenes</i>	2 (0,05)	9 (0,02)	0 (0,0)	11 (0,3)	11 (0,3)	0 (0,0)
druge bakterije	61 (1,9)	125 (3,1)	93 (2,3)	92 (2,2)	155 (3,8)	122 (2,8)
anaerobne bakterije (<i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> spp. idr.	65 (2,1)	90 (2,2)	89 (2,2)	116 (2,8)	129 (3,2)	106 (2,5)
skupaj	3151 (100)	4041 (100)	4016 (100)	4099 (100)	4007 (100)	4302 (100,0)

filokokov, enterokokov in streptokokov.¹ V naši raziskavi je bila najpogostejša bakterija, ki smo jo osamili iz hemokultur, *E. coli* z 19,2–22,9 % vseh izolatov, bakterija *S. aureus* pa je bila druga s 15,3–17,4 % , medtem ko je bila v raziskavi Gubine s sod. v letih 1989–1993 najpogostejša bakterija *S. aureus* z 10,4–17,1 % izolatov, *E. coli* pa je bila druga z 9–12,8 % izolatov.²⁴ Tudi drugje v Evropi delež *E. coli* narašča, postaja pa tudi bolj odporna proti antibiotikom, predvsem cefalosporinom 3. generacije. Povečuje se tudi delež bakterije *Klebsiella* spp., ki je še bolj odporna.²⁵ Delež bakterije *S. epidermidis* in drugih koagulazno negativnih stafilokokov, ki pogosto predstavljajo kontaminacijo, je bil v študiji Gubine do 32,3 % vseh izolatov.²⁴ V času naše študije se je zaradi dostopnosti navodil za pravičen odvzem hemokultur na oddelkih in zaradi izobraževanja medicinskega osebja ter boljše oskrbe žilnih katetrov zmanjšal s 23,3 % v letu 2006 na 16,9 % v letu 2011.

Zaključek

Incidenca sepse v svetu in pri nas narašča zaradi staranja populacije in večjega števila kroničnih bolnikov. Verjetno je s tem povezano tudi vedno večje število odvzetih hemokultur, ki ga opažamo v naši raziskavi. Ob približno enakem deležu pozitivnih hemokultur v zadnjih letih opažamo večje število in delež patogenih bakterij ter manjši delež kontaminiranih vzorcev. Nekoliko se spreminjajo deleži posameznih bakterij, v primerjavi z rezultati raziskave v letih 1989–1993 pa v ospredje stopajo po Gramu negativne bakterije. Pričakujemo lahko, da bosta uvedba novih hitrejših laboratorijskih postopkov in uveljavljanje molekularnih metod diagnosticiranje sepse še izboljšala.

Literatura

- Norrby-Teglund A, Low DE. Sepsis. In: Finch RG, Greenwood D, Norrby SR, Whitley RJ, eds. *Antibiotic and chemotherapy*. 8th ed. London: Churchill Livingstone; 2003. p. 513–25.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM consensus conference committee. American college of chest physicians/society of critical care medicine. *Chest* 1992; 101: 1643–55.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003; 29: 530–8.
- Beović B, Hladnik Ž, Požnel P, Siuka D, Slovenian severe sepsis Group. Epidemiology of severe sepsis in Slovenian intensive care units for adults. *J Chemother* 2008; 20: 134–6.
- Alberti C, Brun-Buisson C, Goodman SV, Guidici D, Granton J, Moreno R et al. Influence of systemic inflammatory response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients. *Am J Resp Crit Care Med* 2003; 168: 77–84.
- Van der Poll T, Opal SM. Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 32–43.
- American College of chest physicians/society of critical care medicine consensus conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864–74.
- Bryan CS. Clinical implications of positive blood cultures. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2: 329–53.
- American Society for Microbiology. Cumitech 1 B: Blood cultures III. 2005: 1–32.
- Clinical Laboratory Standards Institute. Principles and procedures for blood cultures. M-47. Villanova, PA, 2006.
- Bouza E, Perez-Molina J, Munoz P. Report of ESGNI-001 and ESGNI-002 studies. Bloodstream infections in Europe. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5 Suppl 2: 1–12.
- Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 584–602.
- Washington JA. Blood cultures: an overview. *Eur J Clin Microbiol* 1989; 8: 803–6.
- Fluckiger U, Zimmerli W, Sax H, Frei A, Widmer AF. Clinical impact of an infectious disease service on the management of bloodstream infection. *Eur J clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 493–500.
- Rohner P, Auckenthaler R. Review on evaluations of currently available blood culture systems. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 513–29.
- Smith JA, Bryce EA, Ngui-Yen JH, Roberts FJ. Comparison of Bactec 9240 and BacT/ALERT blood culture systems in an adult hospital. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1905–8.
- Lelievre H, Gimenez M, Vandenesch F, Reinhardt A, Lenhardt D, Just HM, 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: 669–74.
- van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 900–7.
- Loonen AJM, Jansz AR, Stalpers J. An evaluation of three processing methods and the effect of reduced culture times for faster direct identification of pathogens from BacT/ALERT blood cultures by MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 1575–83.
- Harris KA, Hartley JC. Development of broad-range 16S rDNA PCR for use in the routine diagnostic clinical microbiology service. *J Med Microbiol* 2003; 52: 685–91.
- Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21st informational supplement M100-S21. Villanova, PA, 2011.
- Yanagihara K, Kitagawa Y, Tomonaga M, Tsukasaki K, Kohno S, Seki M, et al. Evaluation of pathogen detection from clinical samples by real-time polymerase chain reaction using a sepsis pathogen DNA detection kit. *Crit Care* 2010; 14: R159. Epub 2010 Aug 24.
- Wellinghausen N, Kochem AJ, Disque C, Mühl H, Gebert S, Winter J et al. Diagnosis of bacteremia in whole-blood samples by use of commercial universal 16S rRNA gene-based PCR and sequence analysis. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 2759–65.
- Gubina M, Radšel-Medvešček A, Pokrajac T. Hemokultura kot diagnostična metoda. *Zdrav Vestn* 1995; 64: 9–12.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance report-Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009. Dosegljivo na: www.ecdc.europa.eu