

## Einfluss der verzögerten Transportdauer bei Raumtemperatur auf die Rate der falsch negativen Blutkulturen im BACTEC™ 9000 Gerät

Impact of delayed entry at room temperature on the rate of false negative blood cultures with the BACTEC™ 9000 instrument

Anne-Marie Fahr<sup>1,\*</sup>, Ulrich Eigner<sup>1</sup> und Pramod M. Shah<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Gemeinschaftspraxis Heidelberg, Abteilung für Mikrobiologie und Hygiene, Heidelberg, Deutschland

<sup>2</sup> J. W. Goethe-Universität, Zentrum der Inneren Medizin, Infektiologie, Frankfurt am Main, Deutschland

### Zusammenfassung

Ein Krankenhauslabor und ein Einsendelabor, das mehrere Krankenhäuser versorgt, haben prospektiv 3.907 Blutkulturflaschen für das BACTEC™ 9000-System (BD Diagnostics, Heidelberg, Germany) untersucht. Dabei wurden 1.888 aerobe Flaschen, 1.880 anaerobe Flaschen und 139 pädiatrische Blutkulturflaschen verarbeitet. Es wurden der Zeitpunkt der Beimpfung und der Zeitpunkt des Einlesens der Kulturen in das Gerät dokumentiert. Neben den Medientypen und dem Blutvolumen wurden folgende Daten erhoben: Die Zeit vom Einlesen in das Gerät bis zum positiven Signal (Detektionszeit), die Identifizierung des Erregers bis zur Species, die Antibiotikatherapie und die Wiederfindungsrate verglichen mit der terminalen Subkultur.

Die mittlere Transportdauer betrug 21,4 h, die mittlere Detektionszeit 21,5 h. 27 Flaschen waren falsch negativ und sechs Flaschen falsch positiv. Bei sieben der falsch negativen Flaschen hatte die Partnerflasche ein positives Signal gegeben (*Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Burkholderia cepacia*, zwei *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme). Davon waren vier Isolate strikte Aerobier, die nicht in der anaeroben Flasche wuchsen, fünf Patienten standen unter Antibiotikatherapie und eine Flasche hatte eine Transportzeit >48 h und ist in dieser Gruppe ebenfalls aufgeführt. 15/27 falsch negative Flaschen hatten eine Transportzeit >48 h, 11 Patienten bekamen in dieser Gruppe eine Antibiotikatherapie. 6/27 falsch negative Flaschen hatten eine Transportzeit <48 h, davon wurden zwei Patienten antibiotisch behandelt. Einmal handelte es

sich um *C. glabrata*, die nicht in der anaeroben Flasche wuchs. Der klinisch relevante Anteil der falsch negativen Blutkulturen (Isolat nicht in der Begleitflasche nachgewiesen), der innerhalb von 48 h in das BACTEC™ 9000-Gerät eingelesen wurde, betrug 0,15%.

**Schlüsselwörter:** BACTEC™ 9000; Blutkulturdiagnostik; Sepsis.

### Abstract

One hospital-based laboratory and one laboratory serving a number of hospitals prospectively studied 3.907 blood culture bottles of the BACTEC™ 9000 System (BD Diagnostics, Heidelberg, Germany) (1.888 aerobic bottles, 1.880 anaerobic bottles and 139 pediatric bottles). Information on media type, blood volume, time of inoculation, entry into the system, anti-microbial treatment, time to detection, identification to the species level and positive rate compared to terminal subculture were recorded and analysed.

Twenty-seven bottles were classified as false negative, seven of these had a positive cohort bottle (*Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Burkholderia cepacia* and two strains of *Pseudomonas aeruginosa*), four out of these seven were not expected to grow in anaerobic media, five patients were under antibiotic treatment and one bottle had a transport time >48 h and is also mentioned in this group. Fifteen of the false negative bottles had a transport time of >48 h. Eleven patients underwent antibiotic therapy, six out of 27 false negative bottles had a transport time <48 h, two patients had antibiotic therapy. Out of these six isolates, one *C. glabrata* did not grow in the anaerobic bottle.

The rate of clinically relevant false negative blood cultures (pathogen not detected in cohort bottle) in bottles that were entered into BACTEC 9000 within 48 h after inoculation is 0,15%. All efforts need to be directed towards expediting the transportation of material to the microbiology laboratory.

\*Korrespondenz: Dr. Anne-Marie Fahr, c/o Labor Dr. Limbach und Kollegen, Im Breitspiel 15, 69126 Heidelberg, Deutschland

**Keywords:** BACTEC™ 9000; blood culture diagnostic; septicemia.

## Einleitung

Die Blutkulturdiagnostik ist eine der wichtigsten Aufgaben des mikrobiologischen Labors, da das Krankheitsbild der Sepsis trotz der Fortschritte in der antimikrobiellen Therapie noch immer mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden ist.

Während der letzten zwei Jahrzehnte ist durch die Entwicklung von kontinuierlich messenden Blutkultursystemen ein großer Fortschritt gelungen, da die Zeit bis zur Detektion eines positiven Isolates wesentlich verkürzt und zusätzlich die tägliche Arbeitsbelastung reduziert werden konnte. Dadurch haben sich auch die Präanalytik und die allgemeine Handhabung der Blutkulturdiagnostik geändert [1–5].

Doch auch bei diesen Geräten treten immer wieder Fragen zur Transportzeit, Transporttemperatur und Wiederfindungsrate auf. So berichteten Klaerner et al., dass bei einem Blutkultursystem (BacT/Alert, BioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich) Nonfermenter nicht automatisch angezeigt wurden, wenn die Blutkulturflaschen vor dem Einlesen in den Automaten bei 36°C vorinkubiert wurden [6]. Von 37 *P. aeruginosa*-Stämmen wurden 15 nicht im Gerät angezeigt.

Aufgrund dieser Beobachtung wurden künstlich beimpfte Blutkulturflaschen ohne Vorinkubation und mit Vorinkubation bei 36°C untersucht. Die Detektionszeit war hier bei *Enterobacteriaceae* mit vorbebrüteten Flaschen deutlich verkürzt, das BacT/Alert-Gerät konnte aber Nonfermenter (außer *Stenotrophomonas maltophilia*) innerhalb von sieben Tagen nicht mehr nachweisen, wenn die Blutkulturflaschen  $\geq 4$  h bei 36°C vorinkubiert waren [6]. Auch andere Studien berichten von einer verminderten Nachweisrate, besonders bei Nonfermentern, wenn die Blutkulturen bei 35°C vorinkubiert wurden [8–11].

Die derzeitige Empfehlung des Herstellers sieht vor, dass die Blutkulturen, die bis zu 20 h bei einer Vorinkubation von 36°C oder bis zu 48 h bei Raumtemperatur (RT) gehalten werden, in das Gerät ohne Verlust der Wiederfindungsrate eingelesen werden können. Die American Society for Microbiology (ASM) empfiehlt bis zum Einlesen in das Blutkulturgerät in ihrem Manual for Clinical Microbiology ebenfalls den Transport bei RT [12].

Da kaum Untersuchungen bei RT vorliegen, sollten diese auch vom Hersteller empfohlenen Modalitäten überprüft werden. Dies veranlasste uns, eine Studie in zwei Laboratorien durchzuführen, die routinemäßig alle Blutkulturflaschen bei RT lagern und transportieren.

## Material und Methode

Die Studie wurde in zwei Laboratorien durchgeführt. Ein Studienzentrum war das Infektionslabor am Zentrum der

Innenen Medizin, Abteilung Infektiologie an der J. W. Goethe-Universität in Frankfurt am Main (FR), das ca. 300 Betten der internistischen Kliniken versorgt; das andere Zentrum war die Mikrobiologische Abteilung des Labors Limbach in Heidelberg (HD). In HD wurden 12 Krankenhäuser aus dem Rhein-Neckar-Großraum und sechs Krankenhäuser aus dem Bonner Raum in die Evaluation einbezogen. Ein entscheidendes Kriterium bei der Auswahl der Blutkulturen im Labor HD war die korrekte Angabe auf dem Einsendeformular von Informationen wie Datum und Uhrzeit der Blutentnahme, Antibiotikatherapie und Verdachtsdiagnose. Im Zeitraum März bis Mai 2003 wurden in HD 10.806 Blutkulturflaschen abgearbeitet, die allerdings nicht nur aus den oben angegebenen Regionen stammten. Insgesamt wurden die Daten von 3907 Blutkulturflaschen ausgewertet, 1984 aus Frankfurt und 1923 aus Heidelberg. Dies betraf 1888 aerobe Blutkulturen, 1880 anaerobe Flaschen und 139 pädiatrische Flaschen. In Frankfurt wurden 467 Patienten mit 990 Kulturen und in Heidelberg 876 Patienten mit 889 Kulturen untersucht.

**Probentransport** In Frankfurt erfolgte der Transport der Proben durch einen Hol- und Bringedienst werktags von 8:00 bis 17:00 Uhr, mindestens dreimal täglich und am Samstag von 8:00 bis 12:00. Für das Labor Limbach war für den Probentransport ein Fahrdienst an sieben Tagen in der Woche zuständig. Das Datum und die Uhrzeit der Blutentnahme mussten von den jeweiligen Stationen auf dem Überweisungsschein dokumentiert werden. Beim Einlesen der Blutkulturen in das Blutkulturgerät im Labor wurden die entsprechenden Daten automatisch registriert. Aus diesen beiden Werten wurde die Transportdauer berechnet. Von der Blutentnahme bis zur Eingabe in das Blutkulturgerät wurden die Blutkulturflaschen bei Raumtemperatur (RT) gehalten.

**Bearbeitung der Blutkulturen** Folgende Blutkulturmedien waren in der Studie vertreten: BACTEC Plus Aerobic/F (A), Plus Anaerobic/F (N) und PEDS Plus/F (P). In die Studie aufgenommen wurden nur Blutkulturflaschen, die mindestens ein Blutvolumen von 5 mL bei den BACTEC Plus Aerobic/F und Anaerobic/F-Flaschen aufwiesen und 3 mL bei den PEDS Plus/F-Flaschen. Dies wurde anhand von graduierten BACTEC-Flaschen überprüft. Nach dem in den Studienzentren üblichen Routineprotokoll wurden in Frankfurt die Blutkulturen sieben Tage im Gerät bebrütet, in Heidelberg fünf Tage. Danach wurden alle Blutkulturflaschen auf Kochblut (BD Diagnostics) und Columbia-Blutagar (BD Diagnostics) subkultiviert und bei 35°C in CO<sub>2</sub>-Atmosphäre bzw. unter anaeroben Bedingungen bebrütet.

**Datenauswertung** Neben den bereits erwähnten Transportzeiten, den Medientypen und dem Blutvolumen

**Tabelle 1** Übersicht über die Ergebnisse des BACTEC 9000 Systems.

Zentrum	BACTEC Median getestet (n)	A	N	P	FN		FP		RN		RP	
					n	%	n	%	n	%	n	%
FR	1984	994	990	0	16	0,81	2	0,10	1786	90,02	180	9,07
HD	1923	894	890	139	11	0,57	4	0,21	1636	85,08	272	14,14
Gesamt	3907	1888	1880	139	27	0,69	6	0,15	3422	87,59	452	11,57

A=BACTEC Plus Aerobic/F, N=BACTEC Plus Anaerobic/F, P=BACTEC Plus Peds/F, FR=Frankfurt, HD=Heidelberg.

**Tabelle 2** Detektion der Blutkultur-Isolate.

Isolate	Gesamt n	Detektiert		Detektionszeit (h)			Nicht detektiert	
		n	%*	Mittelwert	Min	Max	n	%*
Gram-positive Isolate	237	217	91,6	15,9	1,0	219,6	20	8,4
<i>Staphylococcus</i> spp.	156	142	91,0	14,1	1,0	61,6	14	9,0
<i>Enterococcus</i> spp.	21	19	90,5	6,0	2,6	17,8	2	9,5
<i>Streptococcus</i> spp.	51	51	100,0	15,6	1,8	89,5		
<i>Corynebacterium</i> spp.	3	3	100,0	131,5	44,8	219,6		
<i>Bacillus</i> spp.	2	2	100,0	67,2	11,5	122,8		
<i>Propionibacterium</i> spp.	2						2	100,0
<i>Micrococcus</i> spp.	2						2	100,0
Gram-negative Isolate	132	128	97,0	17,3	0,8	136,4	4	3,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	120	119	99,2	17,1	0,8	136,4	1	0,8
Nonfermenter	12	9	75,0	19,0	2,5	49,6	3	25,0
Isolate Anaerobier	4	4	100,0	49,5	17,1	91,2		
Hefen	8	6	75,0	23,7	7,3	41,0	2	25,0
Polymikrobiell	8	7	87,5	4,9	1,2	12,1	1	12,5
Gesamt	389	362	93,1	16,7	0,8	219,6	27	6,9

\*% bezogen auf die jeweiligen Bakterienisolate.

**Tabelle 3** BACTEC-Flaschen mit falsch positivem Resultat.

Zentrum	Labor Nr.	Medium	Volumen (ml)	Therapie	Kommentar	Transportzeit (h)
FR	8523	A	7	Ja	Leukozyten (213.90)	2,0
FR	8523	N	7	Ja		2,0
HD	93192599-0102	A	10	Ja	Cefotaxim, Gentamicin	24,3
HD	92619177-0102	A	10			125,6
HD	93190556-02	P	3	Ja	Cefuroxim	24,8
HD	90617921-01	P	3			19,0

A=BACTEC Plus Aerobic/F, N=BACTEC Plus Anaerobic/F, P=BACTEC Plus Peds/F, FR=Frankfurt, HD=Heidelberg.

wurden folgende Daten erhoben: Der Zeitpunkt vom Einlesen in das Gerät bis zum positiven Signal (time to detection: TTD), die Identifizierung der angezüchteten Isolate bis zur Species und die Antibiotika-Therapie des Patienten. Zusätzlich wurde beurteilt, ob ein Isolat signifikant (S) für das Krankheitsgeschehen war oder ob es eine Kontamination (K) darstellte. Als richtig positiv (RP) wurde eine Blutkultur bezeichnet, bei der das BACTEC-Gerät ein positives Signal anzeigte und die terminale Subkultur ebenfalls positiv war. Als richtig negativ (RN) wurde eine Flasche beurteilt, bei der beide Kriterien negativ ausfielen. Als falsch positiv (FP) wurde eine Flasche beurteilt, bei der das Gerät ein positives Signal anzeigte und die terminale Subkultur sowohl unter CO<sub>2</sub>- als auch anaeroben Bedingungen negativ blieb. Weitergehende Untersuchungen wie Antigen-Nachweis oder molekularbiologische Methoden wurden nicht durchge-

führt. Falsch negativ (FN) wurde eine Flasche bezeichnet, die im BACTEC-Gerät nicht angezeigt wurde, bei der aber eine positive Subkultur zu verzeichnen war. Bei allen Flaschen wurden die Daten der Antibiotika-Therapie des Patienten und der Transportzeit in die Darstellung mit einbezogen, bei den FN Flaschen wurden zusätzlich die Ergebnisse der Partnerflaschen ausgewertet.

## Ergebnisse

Die mittlere Transportdauer betrug 21,4 h, in Frankfurt waren es 21,5 h, in Heidelberg 21,4 h. Die durchschnittliche Zeitspanne vom Einlesen in das Gerät bis zum positiven Signal betrug in Frankfurt 27,7 h und in Heidelberg 16,3 h.

Insgesamt wurden 452 RP Flaschen und 3422 RN Flaschen detektiert, 27 Flaschen waren FN und 6 Flaschen

**Tabelle 4** BACTEC-Flaschen mit falsch negativem Resultat.

Labor Nr.	Medium	Therapie	Keim	Partner-Fl. positiv	Transportzeit (h)	Transportzeit > 48 hT
7484	N	Ciprofloxacin	<i>S. aureus</i>	ja	0,5	nein
8215	A	Ceftriaxon	<i>E. cloacae</i>	ja	1,6	nein
8598	N	Imipenem	<i>P. aeruginosa</i>	ja	0,8	nein
91650082-0102	N	-	<i>C. albicans</i>	ja	23,4	nein
92615987-0102	N	-	<i>P. aeruginosa</i>	ja	21,5	nein
92617612-0102	N	Ampi/Sulbact., Gentamicin	<i>B. cepacia</i>	ja	27,5	nein
90615622-0102	A	-	<i>H. alvei, E. faecium, C. perfringens</i>	nein	23,9	nein
90617914-0102	N	Vancomycin	<i>C. glabrata</i>	nein	18,8	nein
90618743-0102	N	-	<i>Propionibacterium</i> spp.	nein	16,6	nein
92616032-0102	N	-	<i>Propionibacterium</i> spp.	nein	24,1	nein
93191840-01	P	Cotrimoxazol	<i>M. luteus</i>	nein	8,8	nein
90610076-01	P	-	<i>Micrococcus</i> spp.	nein	23,1	nein
6813	A	Imipenem, Metronidazol, Cotrimoxazol	<i>S. epidermidis</i>	nein	49,5	ja
6813	N	Imipenem, Metronidazol, Cotrimoxazol	<i>S. epidermidis</i>	nein	49,5	ja
6812	A	Imipenem, Metronidazol, Cotrimoxazol	<i>S. epidermidis</i>	nein	50,0	ja
6812	N	Imipenem, Metronidazol, Cotrimoxazol	<i>S. epidermidis</i>	nein	50,0	ja
6811	A	Imipenem, Metronidazol, Cotrimoxazol	<i>S. epidermidis</i>	nein	61,7	ja
6811	N	Imipenem, Metronidazol, Cotrimoxazol	<i>S. epidermidis</i>	nein	61,7	ja
7878	A	-	MRSA	nein	63,9	ja
7878	N	-	MRSA	nein	63,9	ja
8256	N	Ceftriaxon	<i>E. faecalis</i>	ja	71,5	ja
4757	A	Vancomycin	MRSA	nein	73,0	ja
4757	N	Vancomycin	MRSA	nein	73,0	ja
93192609-0102	A	-	<i>S. aureus</i>	nein	76,4	ja
93192609-0102	N	-	<i>S. aureus</i>	nein	76,4	ja
6543	A	Levofloxacin	<i>S. aureus</i>	nein	210,0	ja
6543	N	Levofloxacin	<i>S. aureus</i>	nein	210,0	ja

A= BACTEC Plus Aerobic/, N= BACTEC Plus Anaerobic/F, P=BACTEC Plus Peds/F.

FP (Tabelle 1). Eine Übersicht über alle detektierten Blutkulturisolate ist in Tabelle 2 zu finden. Die Daten der FP Flaschen sind Tabelle 3 zu entnehmen.

Die Ergebnisse der 27 FN Flaschen wurden detailliert ausgewertet. Es waren 9 aerobe, 16 anaerobe und 2 PEDS-Flaschen betroffen (Tabelle 4). Vier Isolate (zwei Mal *Propionibacterium* spp., ein *Micrococcus* spp., ein *M. luteus*) wurden als Kontaminanten eingestuft. Unter den 23 nicht detektierten klinisch relevanten Stämmen waren 14 Staphylokokken, zwei Enterokokken, drei Nonfermenter, ein Vertreter der Familie *Enterobacteriaceae*, zwei Hefen und eine polymikrobielle Infektion. Bei sieben Flaschen hatte die Partnerflasche im Gerät ein positives Signal gegeben. Vier Isolate (zwei *Pseudomonas aeruginosa*, ein *Burkholderia cepacia*, ein *Candida albicans*) waren strikt aerob wachsende Keime, die in der anaeroben Flasche nicht detektiert wurden.

Die TTD aller Blutkulturisolate ist Tabelle 2 zu entnehmen. Von den Gram-negativen Isolaten wurden alle Keime als klinisch signifikant beurteilt. Bei den Gram-positiven Isolaten wurden 82 als Kontaminanten eingestuft, 216 als klinisch signifikant. Bei den Kontaminanten lag die TTD bei 39,2 h, bei den klinisch signifikanten Isolaten bei 15,9 h. Diese unterschiedliche TTD konnte auch bei den polymikrobiellen Ergebnissen festgestellt werden: Sie betrug bei den als Kontaminanten eingestuftten Fällen

(n=5) 12,6 h, bei den klinisch signifikanten Proben (n=7) 4,9 h.

Die Transportzeit betrug bei den RP Flaschen 20,7 h, bei den RN 21,2 h, bei den FP 21,0 h, jedoch bei den FN durchschnittlich 55,1 h. Hier lag bei 15 Blutkulturflaschen die Transportzeit bei RT über 48 h (55,6%). Die genauen Daten sind Tabelle 4 zu entnehmen. Bei den 452 RP Flaschen wurde 11-mal die Transportzeit von 48 h überschritten (2,4%). Bei den 12 FN Isolaten, die in der regelrechten Transportzeit <48 h im Labor eingetroffen waren, war in sechs Fällen die Partnerflasche positiv, vier Ergebnisse wurden als Kontaminanten eingestuft.

## Diskussion

Seit Einführung der automatisierten Blutkulturdiagnostik haben viele Studien die Transportmodalitäten, die Zeitdauer bis zur Detektion eines positiven Isolates im Gerät, die Wiederfindungsrate und die Bebrütungsdauer untersucht [1, 7, 8, 10, 11, 13–16]. Dies betrifft sämtliche auf dem Markt befindlichen Blutkultursysteme.

**Lagerung und Transport** In unserer Studie lag die mittlere Transportdauer bei RT in beiden Studienzentren

bei 21,4 h, in 15 Fällen der FN Blutkulturflaschen wurde die empfohlene Transportdauer bei RT von 48 h zum Teil wesentlich überschritten. Dies war bei den 452 RP Flaschen nur 11-mal der Fall. Es gibt kaum Studien, die sich mit dem verzögerten Einlesen von Blutkulturen bei RT befassen.

Chapin et al. verglichen das BACTEC 9240-System mit dem Difco ESP-System (Fa. Difco, Augsburg, Deutschland), in dem sie künstlich beimpfte Blutkulturen nach 0, 8, 24, 36 und 48 h bei RT und bei 35°C in das entsprechende Gerät einlasen [17]. Beim Difco-System sollen 8 h bei 35°C nicht überschritten werden, darüber hinaus sollen die Flaschen bei RT gehalten werden. Die Sensitivität betrug hier 95,3%. Bei einer Präinkubation für 24 h bei 35°C wurde die Wiederfindungsrate beim BACTEC-Gerät kaum beeinflusst (97,9% Detektion), bei einem Einlesen > 24 h sollten die Blutkulturflaschen bei RT gehalten werden; die Sensitivität lag nach 48 h bei RT bei 98,2%.

**Time to detection (TTD)** Neben der Transportdauer beeinflusst die TTD die Geschwindigkeit der Blutkulturdiagnostik. In FR betrug die mittlere TTD 27,7 h, in HD 16,3 h. Dabei ist zu beachten, dass in FR die Blutkulturen 7 Tage im Gerät bebrütet wurden und das Labor Proben von Montag bis Freitag von 8:00 bis 17:00 Uhr und am Samstag von 8:00 bis 12:00 Uhr annahm, in HD wurden die Kulturen 5 Tage im Gerät bebrütet. Dadurch wurden in FR neun Mal ein *Corynebacterium* spp. nach einer durchschnittlichen TTD von 148,7 h detektiert und einmal ein *Bacillus* spp. nach 122,8 h, die alle als Kontaminanten eingestuft wurden. Werden diese Isolate bei der TTD-Auswertung nicht berücksichtigt, ergeben sich für FR und HD ähnliche Daten.

Mehrere Autoren fanden sowohl in der Routinediagnostik als auch bei künstlich beimpften Blutkulturen beim BACTEC™ 9000-Gerät eine kürzere TTD als im BacT/Alert-Gerät [13, 14, 18]. Chapin et al. konnten bei verzögertem Einlesen sowohl bei 35°C als auch bei RT eine Verlängerung der TTD beobachten [17].

Die initiale Konzentration der Bakterien beeinflusst ebenfalls die TTD, wie Haimi-Cohen et al. bei mit *S. epidermidis* beimpften BACTEC Peds Plus F-Flaschen nachweisen konnten [19]. Der gleiche Autor kam in einer klinischen Studie über die TTD von *S. epidermidis* in pädiatrischen Blutkulturen zum Schluss, dass eine TTD ≤ 15 h eher auf eine Infektion schließen lässt, eine TTD von ≥ 22 h eher auf eine Kontamination [20]. Auch wir konnten bei Kontaminanten eine längere TTD verzeichnen. Mit unterschiedlichen Zeiten bis zur Positivität der BACTEC-Blutkulturen konnten Seifert et al. bei neutropenischen Patienten eine Katheter-assoziierte Sepsis von einer primären Bakteriämie abgrenzen [21].

**Wiederfindungsrate** Die Wiederfindungsrate der verschiedenen Blutkultur-Systeme im Vergleich zur termi-

nalen Subkultur ist Gegenstand vieler Untersuchungen [1, 6–10, 13–15, 22–24]. Bei den meisten Studien wird die Präanalytik, die – wie bereits ausgeführt – die Wiederfindungsrate wesentlich beeinflussen kann, nicht genauer beschrieben. Die meisten Evaluationen sind Vergleichsuntersuchungen verschiedener auf dem Markt befindlicher Blutkultursysteme und Blutkulturmedien.

Im Vergleich mit dem Isolator-System, dem Vital-System und dem BacT/Alert-System verzeichneten einige Studien eine höhere Wiederfindungsrate im BACTEC 9000-System [8, 22, 23].

Ziegler et al. und Mirett et al. fanden bei Vergleichsuntersuchungen vom BACTEC-System mit dem BacT/Alert-Gerät eine höhere Wiederfindungsrate für das BacT/Alert-System, wobei Mirett nur aerobe Standardmedien untersuchte und dabei nicht in Betracht zog, dass eine höhere Wiederfindungsrate in der Kombination von aerober und anaerober Flasche zu verzeichnen ist [11, 18, 24, 25]. In der Routinediagnostik verzichteten mehrere Autoren nach Untersuchung einer großen Anzahl von Blutkulturen beim BACTEC 9000-System auf die terminale Subkultur, nachdem die FN Rate bei 0,17% bzw. 0,1% lag [9, 14]. Dies entspricht den in unserer Studie erhobenen Daten.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass von der Beimpfung der Blutkulturflaschen bis zum Einlesen in das Gerät die Flaschen bei RT gehalten werden sollten, besonders, wenn diese Zeit 24 h überschreitet. Auch bei RT darf das empfohlene 48 h-Intervall nicht überschritten werden, sonst sollten die Kulturen vor dem Einlesen in das Gerät manuell bearbeitet werden. Das einsendende Haus sollte darauf hingewiesen werden, dass das Datum und die Uhrzeit der Blutentnahme auf dem Einsendeschein zu dokumentieren sind, damit das Labor die richtigen Maßnahmen ergreifen kann. Es muss für einen schnellstmöglichen Transport ins Labor gesorgt werden. Den Krankenhäusern sollten Anweisungen zur Präanalytik der Blutkulturdiagnostik zur Verfügung gestellt werden, die sich an den MIQ (Mikrobiologisch-Infektiologischen Qualitätsstandards) oder an den Cumitech (Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology) orientieren [26, 27]. Unter Berücksichtigung der genannten Punkte sind die TTD und die Wiederfindungsrate im BACTEC™ 9000 in unserer Studie als sehr gut zu bezeichnen. Trotz der z.T. unakzeptabel langen Transportzeit ist die Rate falsch negativer Blutkulturflaschen sehr klein (27 von 3907 = 0,69%). Eine "blinde" Subkultur aller negativen Blutkulturflaschen und der hier untersuchten Medien ist beim BACTEC 9000-System nicht erforderlich.

## Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von der Firma BD Diagnostic Systems, Heidelberg, Deutschland unterstützt. Wir danken Frau Ulrike Kunert für ihre Hilfe bei der Organisation der Studie und der Auswertung der Daten.

## Literatur

1. Auckenthaler R, Rohner P, Verschraegen G, Bernard D, Claeys G, Shafi MS, et al. Kontinuierlich messende Blutkultursysteme. Poster 6th ECCMID 1994; Sevilla (Spanien).
2. Koontz FP, Flint KK, Reynolds JK, Allen SD. Comparison of the high volume (10 ml) NR BACTEC Plus system and the standard (5 ml) NR BACTEC system. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1991;14:111–8.
3. Mylotte JM, Tayara A. Blood cultures: Clinical aspects and controversies. *Eur J Clin Microbiol Dis* 2000;19:157–63.
4. Weinstein MP. Current blood culture methods and systems: Clinical concepts, technology and interpretation of results. *Clin Infect Dis* 1996;23:40–6.
5. 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* 1998;24:584–602.
6. Klaerner HG, Eschenbach U, Kamereck K, Lehn N, Wagner H, Miethke T. Failure of an automated blood culture system to detect nonfermentative gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol* 2000;38:1036–41.
7. Bergogne-Berezin E, Muller-Serieys C, Rohner P, Auckenthaler R. Detection of delayed blood cultures in clinical specimens using the BACTEC 9000 fluorescent blood culture system. Poster P44, 53rd Ann Meet Swiss Society Microbiol 1994; Lucerne (Switzerland).
8. Lelievre H, Gimenez M, Vandenesch F, Reinhardt A, Ausina V, Etienne J. Multicenter clinical comparison of resin-containing bottles with standard aerobic and anaerobic bottles for culture of microorganisms from blood. *Eur J Microbiol Infect Dis* 1997;16:669–74.
9. Martin B, Yeung C, Cain D, Kibsey PC. Nonvalue of terminal subcultures using BACTEC 9240. Poster C66 Gen Meeting ASM 1994; Las Vegas (USA).
10. Saleh AF, Schmid G, Bruns O. Comparison of the automated BACTEC 9000 blood culture technology with the manual OXOID SIGNAL blood culture system. Poster P243, 8th ECCMID 1997; Lausanne (Switzerland).
11. Ziegler R, Johnscher I, Martus P, Lenhardt D, Just HM. Controlled clinical laboratory comparison of two supplemented aerobic and anaerobic media used in automated blood culture systems to detect bloodstream infections. *J Clin Microbiol* 1998;36:657–61.
12. Thomson RB, Miller JM. In: Murray PR, Baron E, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. Washington, D.C.: ASM Press 2003:286–330.
13. Endimiani A, Tamborini A, Luzzaro G, Lombardi G, Toniolo A. Epidemiology of bloodstream infections and time to detection of positive blood cultures: an evaluation of the automated BacT/Alert and BACTEC 9240 systems. *New Microbiol* 2002;25:9–16.
14. Durmaz G, Us T, Aydinli A, Kiremitci A, Kiraz N, Akgün Y. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 aerobic blood culture system: evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital. *J Clin Microbiol* 2003;41:819–21.
15. Riest G, Linde HJ, Shah PM. Comparison of BacT/Alert and BACTEC NR 860 blood culture systems in a laboratory not continuously staffed. *Clin Microbiol Infect* 1997;3:345–51.
16. Rosenthal EJK, Knop-Hamad V, Müller KD, von Recklinghausen G. Einfluss der Inkubationsdauer auf den Nachweis von Bakterien und Pilzen im BACTEC NR 660-System. *Ärztliches Labor* 1991;37:180–2.
17. Chapin K, Lauderdale TL. Comparison of BACTEC 9240 and Difco ESP blood culture systems for detection of organisms from vials whose entry was delayed. *J Clin Microbiol* 1996;34:543–9.
18. Vigano EF, Vasconi E, Agrapp C, Clerici P. Use of simulated blood cultures for time to detection comparison between BacT/Alert™ and BACTEC™ 9240 blood culture systems. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;44:235–40.
19. Haimi-Cohen Y, Vellozzi EM, Rubin LG. Initial concentration of *Staphylococcus epidermidis* in simulated pediatric blood cultures correlates with the time to positive results with the automated, continuously monitored BACTEC blood culture system. *J Clin Microbiol* 2002;40:898–901.
20. Haimi-Cohen Y, Shafinoori S, Tucci V, Rubin LG. Use of incubation time to detection in BACTEC 9240 to distinguish coagulase-negative staphylococcal contamination from infection in pediatric blood cultures. *Pediatr Infect Dis* 2003;22:968–74.
21. Seifert H, Cornely O, Seggewiss K, Decker M, Stefanik D, Wisplinghoff H, et al. Bloodstream Infection in neutropenic cancer patients related to short-term nontunnelled catheters determined by quantitative blood cultures, differential time to positivity, and molecular epidemiological typing with pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 2003;41:118–23.
22. Cockerill FR, Reed GS, Hughes JG, Torgerson CA, Vetter EA, Harmsen WS, et al. Clinical comparison of BACTEC 9240 Plus Aerobic/F resin bottles and the isolator aerobic culture system for detection of bloodstream infections. *J Clin Microbiol* 1997;35:1469–72.23.
23. Vetter E, Torgerson C, Feuker A, Hughes J, Harmsen S, Schleck C, et al. Comparison of the BACTEC MYCO/F Lytic bottle to the isolator tube, BACTEC Anaerobic Lytic/10 bottle and comparison of the BACTEC Plus Aerobic F/bottle to the isolator tube for recovery of bacteria, mycobacteria, and fungi from blood. *J Clin Microbiol* 2001;39:4380–6.
24. Mirrett S, Reller LB, Petti CA, Woods CW, Vazirani B, Sivasdas R, et al. Controlled clinical comparison of BacT/Alert standard aerobic medium with BACTEC standard aerobic medium for culturing blood. *J Clin Microbiol* 2003;41:2391–4.
25. Riley JA, Heiler BJ, Bourbeau PP. Comparison of recovery of blood culture isolates from two BacT/Alert FAN aerobic blood culture bottles with recovery from one FAN aerobic bottle and one FAN anaerobic bottle. *J Clin Microbiol* 2003;41:213–7.
26. Dunne WM, Nolte FS, Wilson ML, Hindler JA, editors. *CUMITECH 1B, blood cultures III*. Washington: ASM Press, 1997.
27. Seifert H, Shah P, Ullmann U, Trautmann M, Briedigkeit H, Gross R, et al. *MiQ 3, Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Sepsis-Blutkulturdiagnostik: Gustav Fischer Verlag*, 1997.