

Evaluatie van de diagnostische opbrengst en klinische impact van een incubatieprotocol van 4 versus 5 dagen voor hemocultuurflessen

Critically Appraised Topic (CAT) · 12/05/2026

Dr. Julie Dom · Supervisor: Prof. Dr. Melissa Depypere



Vijfdaags incubatieprotocol voor hemoculturen

- Moderne, geautomatiseerde detectiesystemen: BACTEC (Becton Dickinson) en BacT/ALERT Virtuo (bioMérieux)
- Verbeterde samenstelling van flessenmedia: introductie FAN-flessen (Fastidious antimicrobial neutralization) en Plus-media voor absorptie antimicrobiële stoffen
- Significant kortere time-to-positivity (TTP) dan in pre-automatiseringstijdperk
- >90% van alle positieve hemocultuur-flessen positief <48u
- In laattijdig positieve flessen (**>96u incubatie**) worden frequent contaminanten geïdentificeerd, maar ook traag-groeiende pathogenen
- Specifieke situaties waarvoor verlengde incubatieduur waarschijnlijk nog steeds noodzakelijk is
 - HACEK
 - Gisten
 - Vermoeden endocarditis
 - Bacteriëmie bij kinderen
 - *Brucella species*, *Nocardia species*
 - Mycobacteriëën
- Bloedvolume = belangrijkste variabele voor kweken van bacteriën en gisten in hemocultuur-flessen
 - volwassenen 20-30 ml/set
 - kinderen: o.b.v. leeftijd en gewicht (min. 1ml)

 CLSI en ASM CMPPH raden 5 dagen incubatieduur aan, tenzij gevalideerde lokale data een kortere duur verantwoorden.

Waarom het huidige vijfdaags incubatieprotocol verkorten?

UZ Leuven

- Meeste positieve flessen geven signaal binnen 48–72 uur
- In laattijdig positieve flessen worden frequent contaminanten geïdentificeerd

Voordelen van verkorting

- Verminderde instrumentbezetting
- Verlaging werkdruk & materiaalkost
- Sneller 'definitief negatief'- resultaat
- Verminderde extra interventies
- Verkorting turnaround time (TAT)

Risico's van verkorting

- Missen van laat-positieve klinisch relevante kiemen: HACEK-groep, gisten, ..
- Vertraagd instellen van gerichte therapie of foutieve de-escalatie

 BacT/ALERT® FA & FN Plus: "After culture bottles have been loaded into the instrument, incubate 5 days or until designated positive."

Onderzoeksvragen

- 1 Wat is de impact van een 4-daags vs 5-daags incubatieprotocol op de diagnostische opbrengst van hemoculturen volgens de huidige literatuur? Worden relevante pathogenen frequent gemist bij verkorte incubatieduur?
- 2 Wat tonen de data van UZ Leuven over het effect van een incubatieduur van 4 versus 5 dagen op de diagnostische opbrengt van hemoculturen?
- 3 Kan een verkorte incubatieduur van hemocultuur-flessen van 4 dagen i.p.v. 5 dagen in UZ Leuven geïmplementeerd worden?

Literatuurreview & data-analyse UZ Leuven

Literatuurreview

Systematische review via **PubMed (Medline, 1995–2025)** met MeSH-termen: "Blood Culture", "Incubation", "Incubation Protocol", "Four Day vs Five Day Incubation". Ook geraadpleegd: Cochrane, NICE, CLSI M47, IDSA/ASM-richtlijnen (2024), ASM CMPH (2016) en UpToDate.

- **587 publicaties** teruggevonden
- **22 studies** als relevant geselecteerd na abstractscreening

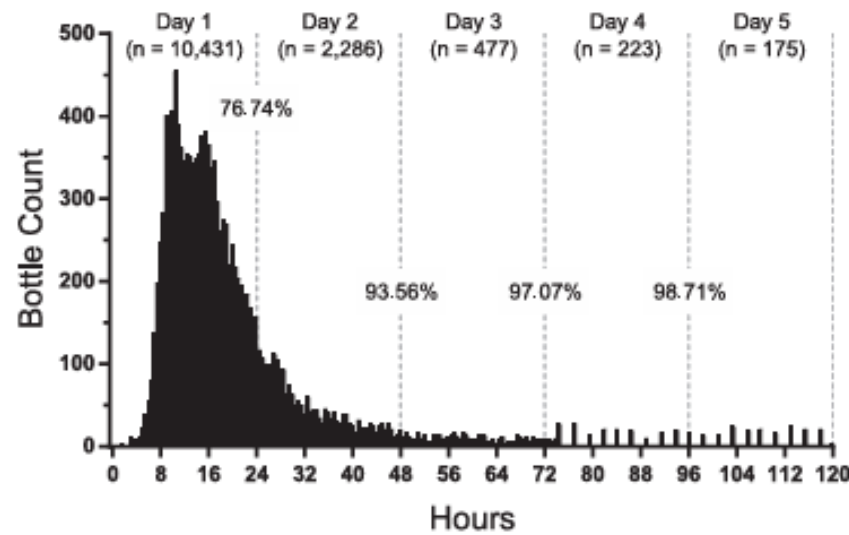
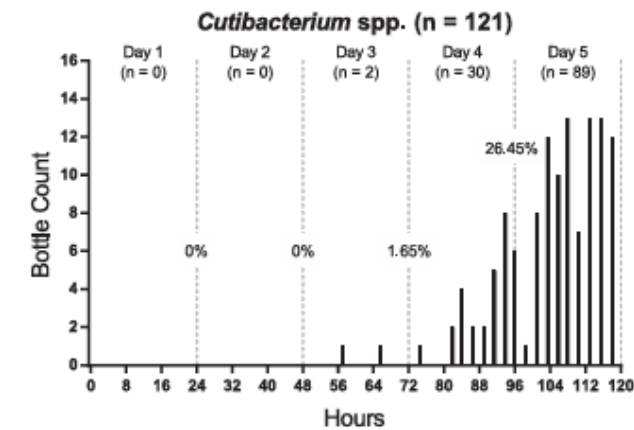
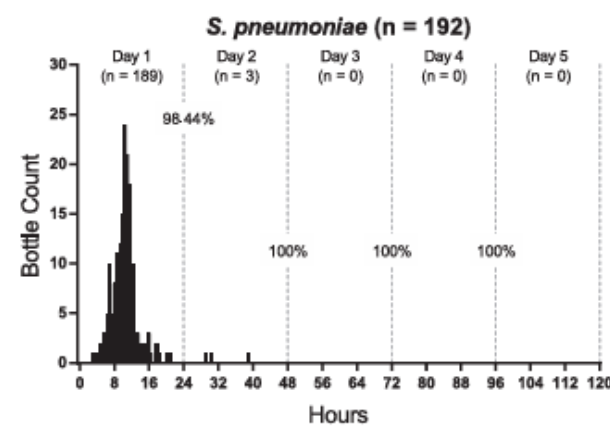
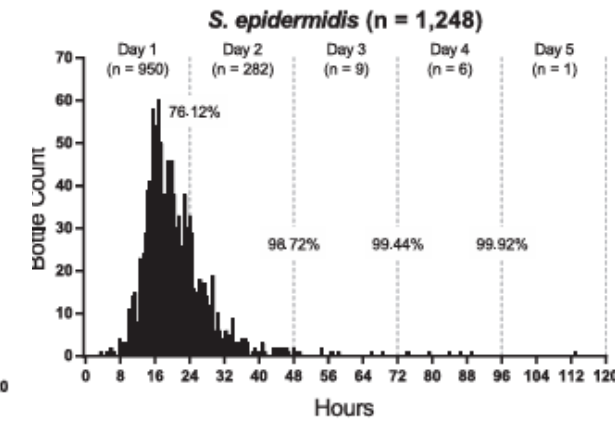
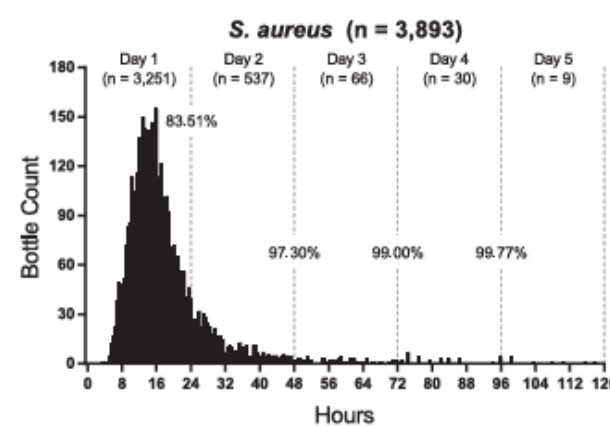
Lokale dataverzameling UZ Leuven

- BacT/ALERT VIRTUO (bioMérieux) & BacT/ALERT FA Plus & FN Plus flessen
- KPI 'contaminatie hemoculturen'
- 1 januari tot 31 december 2025
- Alle positieve hemoculturen met TTP en relevantie per fles geïnterpreteerd → Selectie flessen met TTP $\geq 96u$
- Review PON ter controle
 - relevant: (antibiotica-)beleidswijziging
 - niet relevant: Andere fles in set of andere fles tijdens zelfde bacteriëmie-episode positief voor zelfde micro-organisme én geen beleidswijziging
 - contaminatie

Evaluation of Optimal Blood Culture Incubation Time To Maximize Clinically Relevant Results from a Contemporary Blood Culture Instrument and Media System

Ransom et al. (2021)

- BacT/ALERT VIRTUO: FA & FN Plus
- 5 vs 4 dagen incubatie
- 158.710 hemocultuur-flessen
- 13.592 (8,6%) positief
- 175 laattijdig positief (>96u)



Aerobe flessen: 0,7% + =>96u

Anaerobe flessen: 1,8% + =>96u

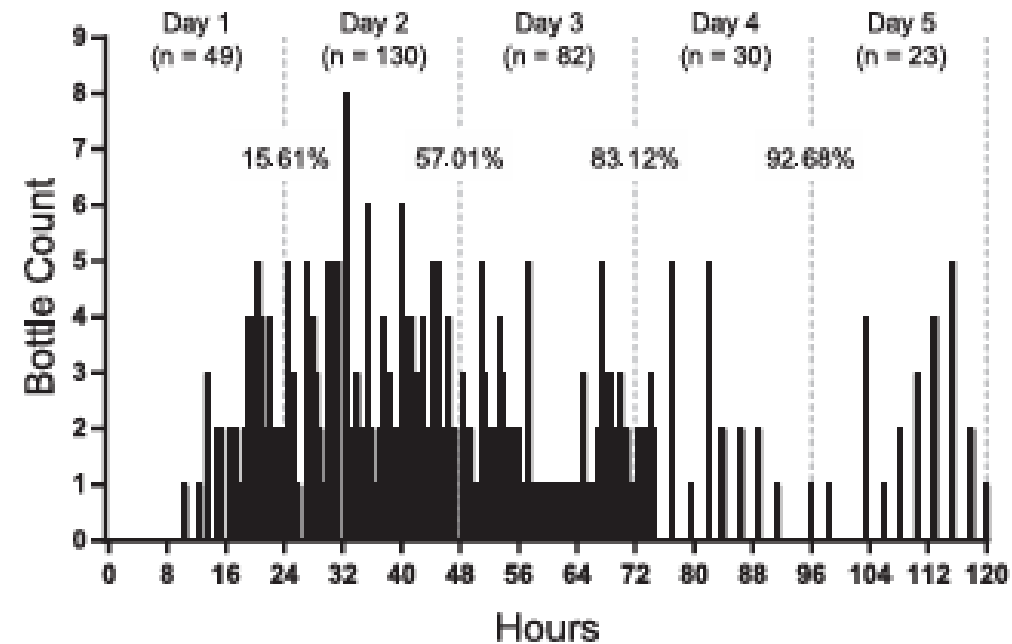
Alle Gram-positieven behalve *C. acnes*: => 99,6% positief na 4 dagen, *C. acnes*: slechts 26,4% positief na 4 dagen, 73,5% laattijdig positief!

→ *C. acnes*: alle laattijdige flessen contaminatie

Evaluation of Optimal Blood Culture Incubation Time To Maximize Clinically Relevant Results from a Contemporary Blood Culture Instrument and Media System

Ransom et al. (2021)

- BacT/ALERT VIRTUO: FA & FN Plus
- 5 vs 4 dagen incubatie
- 158.710 hemocultuur-flessen
- 13.592 (8,6%) positief
- 175 laattijdig positief (1,3%)



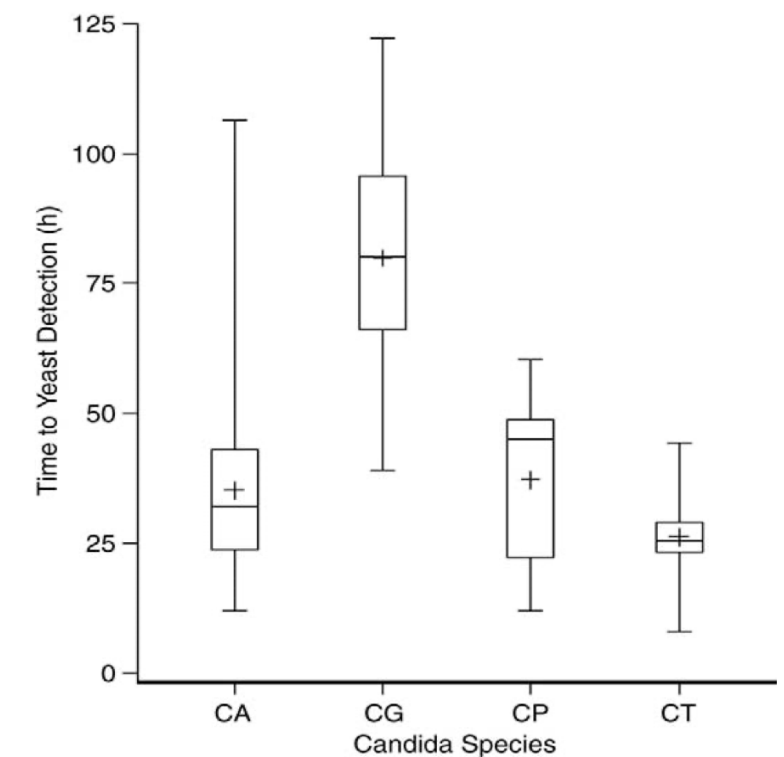
Candida species:

Grootste variatie wat betreft TTP, slechts 92,7% positief na 96u, 23 flessen (7,3%) laattijdig positief

→ Géén gisten relevant na nakijken klinische info: andere flessen reeds positief & geen beleidswijziging

Candida species: laattijdige groei?

- IDSA (2024): *Candida* species groeien <5d, tenzij reeds antifungale therapie werd opgestart
- *Candida* non-*albicans* frequenter teruggevonden na >96u incubatie
- Gemiddelde TTP *C. albicans*: 35.3 ± 18.1 u, voor *C. glabrata*: 80.0 ± 22.4 u
- Aerobe incubatie voor *C. glabrata* vermindert gemiddelde TTP maar blijft hoger dan deze voor *C. albicans*
- Pathogenen met primaire focus in de GI tractus vb. *C. albicans*: lagere fungale load, hogere TTP? (Hashimoto et al., 2025)



Fernandez J, Erstad BL, Petty W, Nix DE. Time to positive culture and identification for *Candida* bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;64(4):402–407.

Evaluation of Optimal Blood Culture Incubation Time To Maximize Clinically Relevant Results from a Contemporary Blood Culture Instrument and Media System

Ransom et al. (2021)

- BacT/ALERT VIRTUO: FA & FN Plus
- 5 vs 4 dagen incubatie
- 158.710 hemocultuur-flessen
- 13.592 (8,6%) positief
- 175 laattijdig positief (1,3%)

BESLUIT

- 0,07% van +HC laat positief en relevant
- Implementatie van 4-dagen incubatieprotocol
- Verlenging incubatieduur op telefonische vraag van de clinicus

- Frequentst laattijdig geïsoleerde micro-organismen: *S. aureus*, *coagulase-negative staphylococcus species*, *Cutibacterium species*, *Candida species*, en *Sphingomonas species*.
- 9 relevante flessen gaven aanleiding tot aanpassing antibiotica-schema
- Andere flessen: niet relevant of negatieve impact op beleid
nl. afname opvolg-hemoculturen, verlengde opnameduur, heropname etc
- HACEK (n=36): geen laattijdig positieve flessen
- *S. aureus*: 6 laattijdig positieve flessen
 - Companion fles in dezelfde set reeds positief (n=3)
 - Intermittente *S. aureus* bacteriëmie, 'flanking cultures' voor en na betreffende fles positief (n=2)
 - Laatste positieve fles alvorens negativering hemoculturen (n=1)
→ Geen therapeutische implicaties
- Gisten: Géén laattijdig positieve én relevante flessen

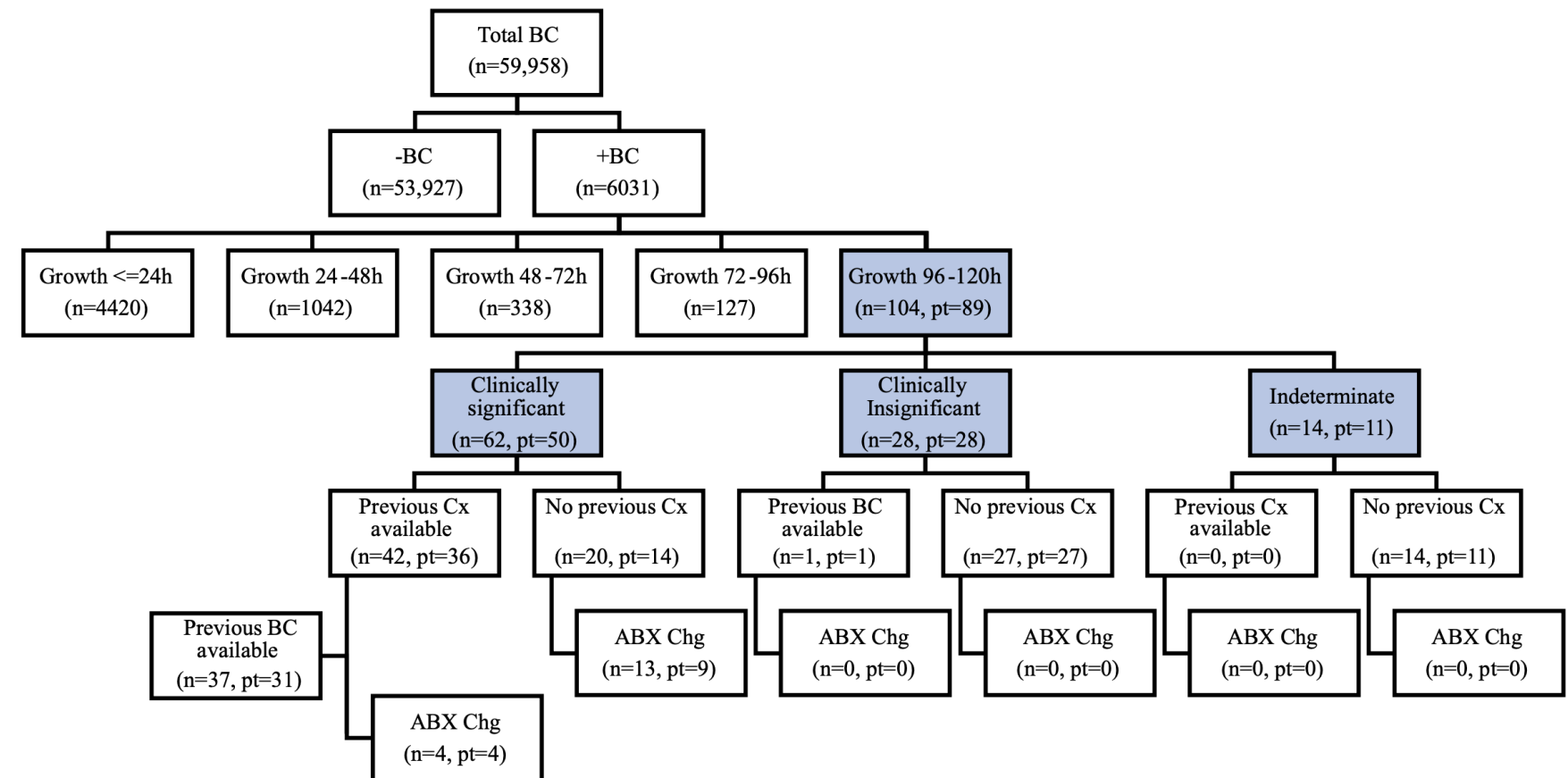
Clinical Significance of BD Bactec FX Blood Culture Incubation Beyond 96 Hours (4 Days)

Ulrich et al. (2022)

- Bactec FX: Standard Aerobic F, lytic anaerobic F
- 5 vs 4 dagen incubatie
- 59.958 hemocultuur-flessen
- 8.516 (10,1%) positief
- 1,7% laattijdig positief

BESLUIT

- 0,3% van alle +HC laattijdig positief & relevant
- Géén routinematige verkorting van incubatieduur
- Enkel tijdens seizoens-gebonden capaciteitstekorten zal tijdelijk een 4-dagen incubatieportocol ingesteld worden



60-73% van de +HC zijn laattijdig positief & klinisch significant

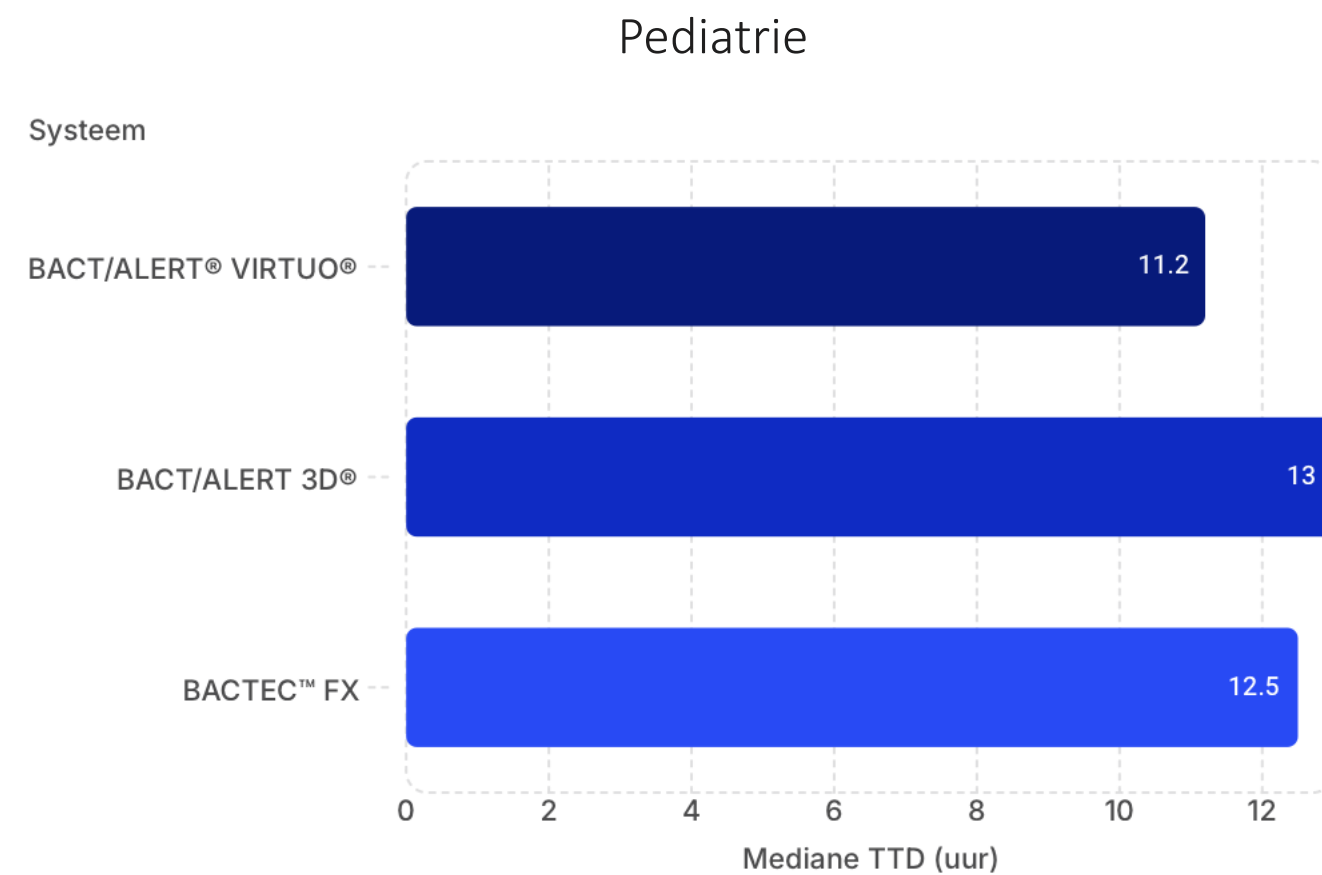
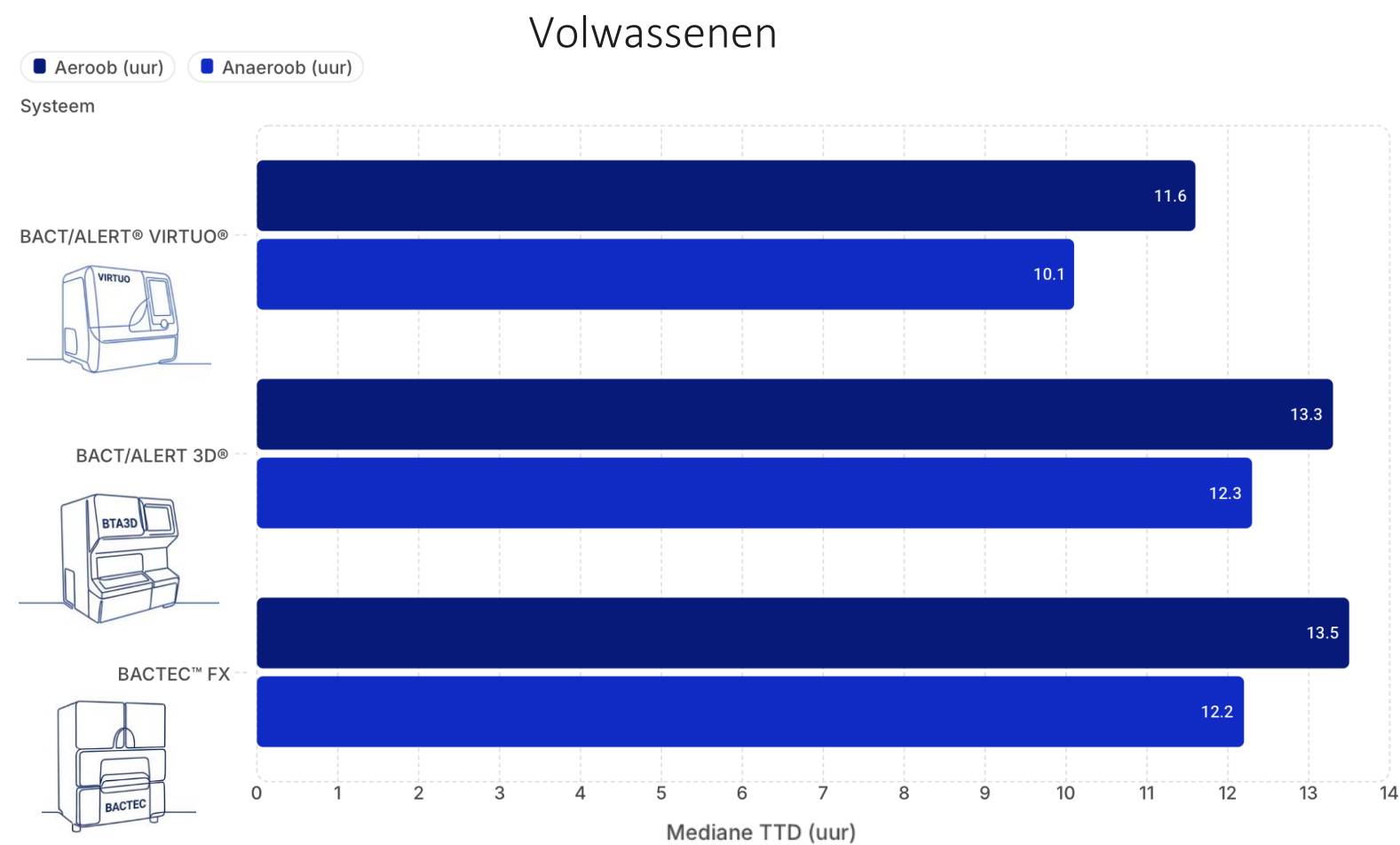
→ 15%: antibiotica-aanpassing = 0,3% van alle +HC =>96u

<-> Ransom et al.: slechts 5% van de laattijdig positieve flessen gaf aanleiding tot aanpassing aan antibiotica-gebeleid

Door snellere detectie in BacT/ALERT VIRTUO vergeleken met BACTEC Fx?

Ulrich PS et al., *J Clin Microbiol*, 2022;60(7):e00549-22. doi:10.1128/JCM.00549-22.

BACT/ALERT VIRTUO vs BACTC Fx



Literatuuroverzicht: Diagnostische opbrengst na 4 dagen vs 5 dagen

Retrospectieve studies tonen consistent dat het merendeel van positieve hemoculturen snel wordt gedetecteerd: **~70–77% binnen 24u, 90–94% binnen 48u** en **>95% binnen 72u**. Het aandeel dat pas na 96u positief wordt, blijft beperkt tot **0,8–1,8%** van alle positieve flessen. Maximaal 0,3% van alle afgenomen flessen leidde tot belangrijke wijziging in het beleid.

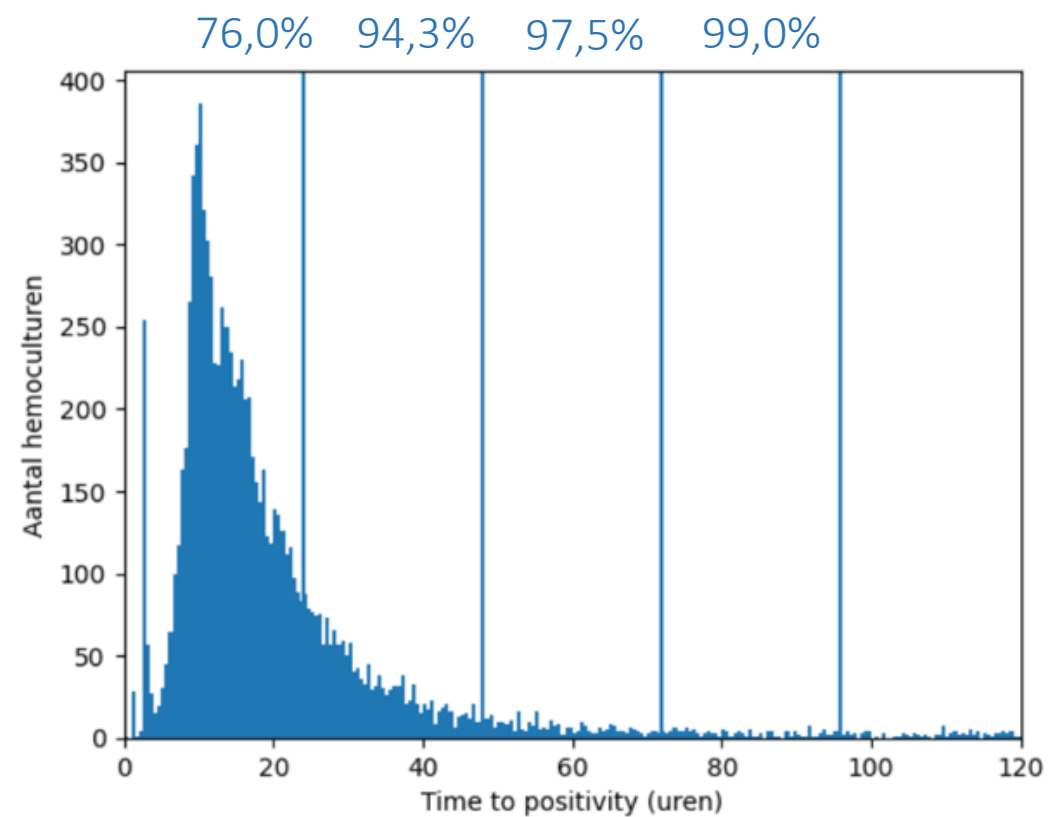
Studie	Totaal HC afgenomen	Systeem	Laat-positief (%)	Relevant van laat-positief (%)	Relevant (%)	Incubatie 4 dagen
Ransom et al. (2021)	158.710	BacT/Alert Virtuo	1,3%	8,5%	0,07% van positieve HC	ja
AlMuta et al. (2025)	71.862	BD BACTEC	0,8%	12,8%	0,01% van alle flessen	ja
Ulrich et al. (2022)	59.958	BD Bactec FX	1,7%	16,3%	0,30% van positieve HC	nee
De Pontilly et al. (2020)	292.349	BACTEC / Virtuo	1,0%	2,1%	0,02% van positieve HC	ja
Doern et al. (1997)	-	Difco ESP / BACTEC	2,2%	4,8%	0,1% van positieve HC	ja
Sepulveda et al. (2020)	88.201	BACTEC FX	1,0%	6,3%	0,06% van positieve HC	ja

 Ransom et al. & AlMuta et al. ~40 HACEK-kiemen geïncubeerd — **alle bacteriën werden binnen 96u gedetecteerd**.
Ransom et al. - **geen relevante gisten laattijdig gedetecteerd**, AlMuta et al. toonde aan dat 2% van de laattijdig geïdentificeerde gisten relevant was.

Data UZ Leuven

2025

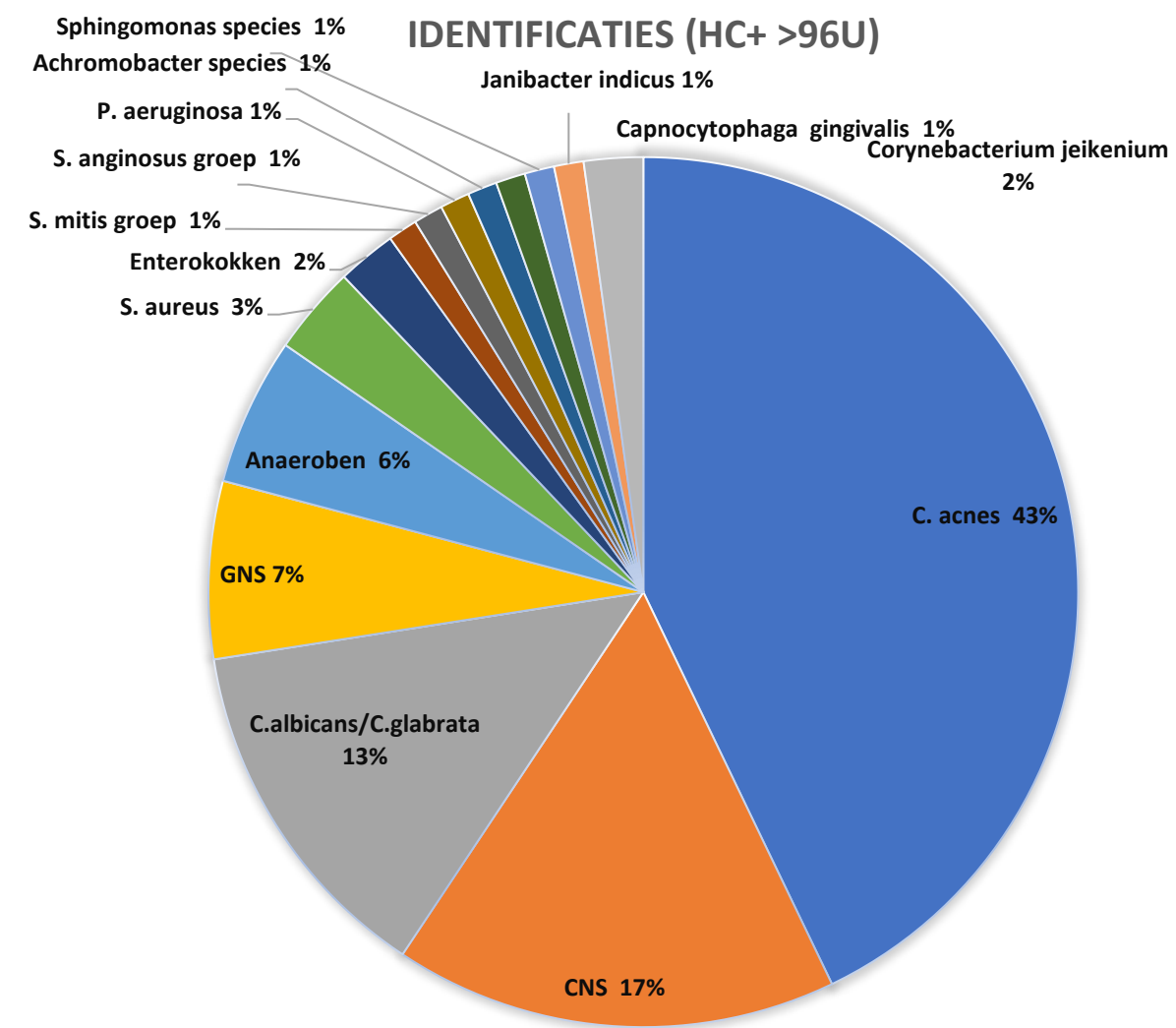
Overzicht hemoculturen (2025)	n	% van totaal HC
Totaal HC geïncubeerd	125751	100%
Totaal HC positief	9665	7,7%
Vals positief	435	0,3%
Reëel positief	9230	7,3%
↳ Aeroob	4557	49,4%
↳ Anaeroob	4178	45,3%
↳ Pediatrie	495	5,4%



2 Data UZ Leuven (2025)

In 2025 werden **125.751 hemocultuurflessen** afgenomen en geïncubeerd in het BacT/ALERT® VIRTUO®-systeem. Hiervan werden **9.665 (7,7%)** positief gesignaleerd, waarvan **9.230 (7,3%)** correct positief na uitsluiting van 435 vals-positieven.

Relevantie laattijdig positieve hemoculturen	n	% van totaal afgenomen HC (n=125751)	% van totaal HC+ (n=9230)	% van totaal HC+ =>96 (n=96)
Laat positief (>96u)	96	0,08%	1,04%	100%
↳ Contaminatie	58	0,05%	0,6%	60,4%
↳ Klinisch relevant (gemiste pathogenen)	38	0,03%	0,4%	39,6%



2 Data UZ Leuven (2025)

Volwassenen: aeroob & anaeroob

Laattijdig +HC (n=96)	Aeroob (Bact/ALERT FA Plus)	Anaeroob (Bact/ALERT FN Plus)
HC+=>96u (n)	23	69
HC+=>96u per type fles (%)	0,50%	1,65%
→ Relevant (n)	14	21
→ Relevant per type fles (%)	0,30%	0,50%

↓
60,9% van HC+=>96u
relevant

↓
30,4% van HC+=>96u
relevant

2 Data UZ Leuven (2025)

PON review: 4 klinisch relevante laattijdig positieve hemocultuur-flessen

Klinische relevantie geïdentificeerde kiemen	Klinisch relevant (n/totaal HC+>96u)	Afname onder therapie (n/totaal HC+>96u)	Andere fles positief (n/totaal HC+>96u)	Klinische info/beleidswijziging
<i>C. acnes</i>	0/39	-	-	3 flessen: contaminatie na PON-review
CNS	0/15	-	-	1 fles: CUAC+STWA, contaminatie na PON review
GNS	0/6	5/6	6/6	<i>E. coli</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>K. pneumoniae</i> : ≥5 dagen effectieve antibiotica of andere flessen in dezelfde set positief <96u
<i>S. aureus</i>	0/3	3/3	3/3	≥3 dagen antibiotica, telkens laatste positieve fles voor negativeren HC
Enterokokken	0/2	2/2	2/2	≥2 dagen antibiotica
Streptokokken	0/2	2/2	2/2	
Anaeroben	1/5	2/5	2/5	- <i>Parvimonas micra</i> (n=1): contaminatie - <i>Clostridium species</i> (n=2): afgenomen na =>5 dagen antibiotica - <i>Prevotella species</i> (n=1) : Recidiverende cholangitis, gerichte therapie aangepast!
<i>P. aeruginosa</i>	0/1	0/1	1/1	
<i>A.xylosoxidans</i>	1/1	0/1	0/1	Pneumosepsis bij muco-patiënt, in bronchus-aspiraats reeds groei zelfde kiem, therapie-verlenging!
Gisten	2/12	1/12	10/12	- CDAL (n=1): patiënt onder antifungale therapie o.w.v urosepsis, behandelduur verlengd! - CDGL (n=1): patiënt op ITE, katheter verwijderd en antifungale therapie opgestart o.b.v. laattijdig positieve fles (EPD: 'contaminatie?')
Andere	0/11	-	2/12	- <i>Sphingomonas species</i> (n=1) - <i>Capnocytophaga gingivalis</i> (n=1) - <i>Paenibacillus species</i> (n=1), <i>C. jeikeium</i> (n=2), <i>Janibacter indicus</i> (n=1), <i>Kocuria species</i> (n=1), <i>Rothia denticariosa</i> (n=1), <i>Metamycoplasma hominis</i> (n=1)

Data UZ Leuven (2025)

Na PON review

Laattijdig +HC per type fles	+HC>96u (n)	+HC>96u (%)	Contaminatie (%)	Relevante pathogeen (%)	Gemiste pathogenen/totaal +HC per type fles
Totaal	96	100			
Aeroob	23	23,9	91,4%	8,6%	0,04%
Anaeroob	69	71,9	97,2%	2,8%	0,05%
Pediatrie	4	4,2	100,0%	0%	0%

C. albicans!
Achromobacter species
C. glabrata
Prevotella species

2 Data UZ Leuven (2025)

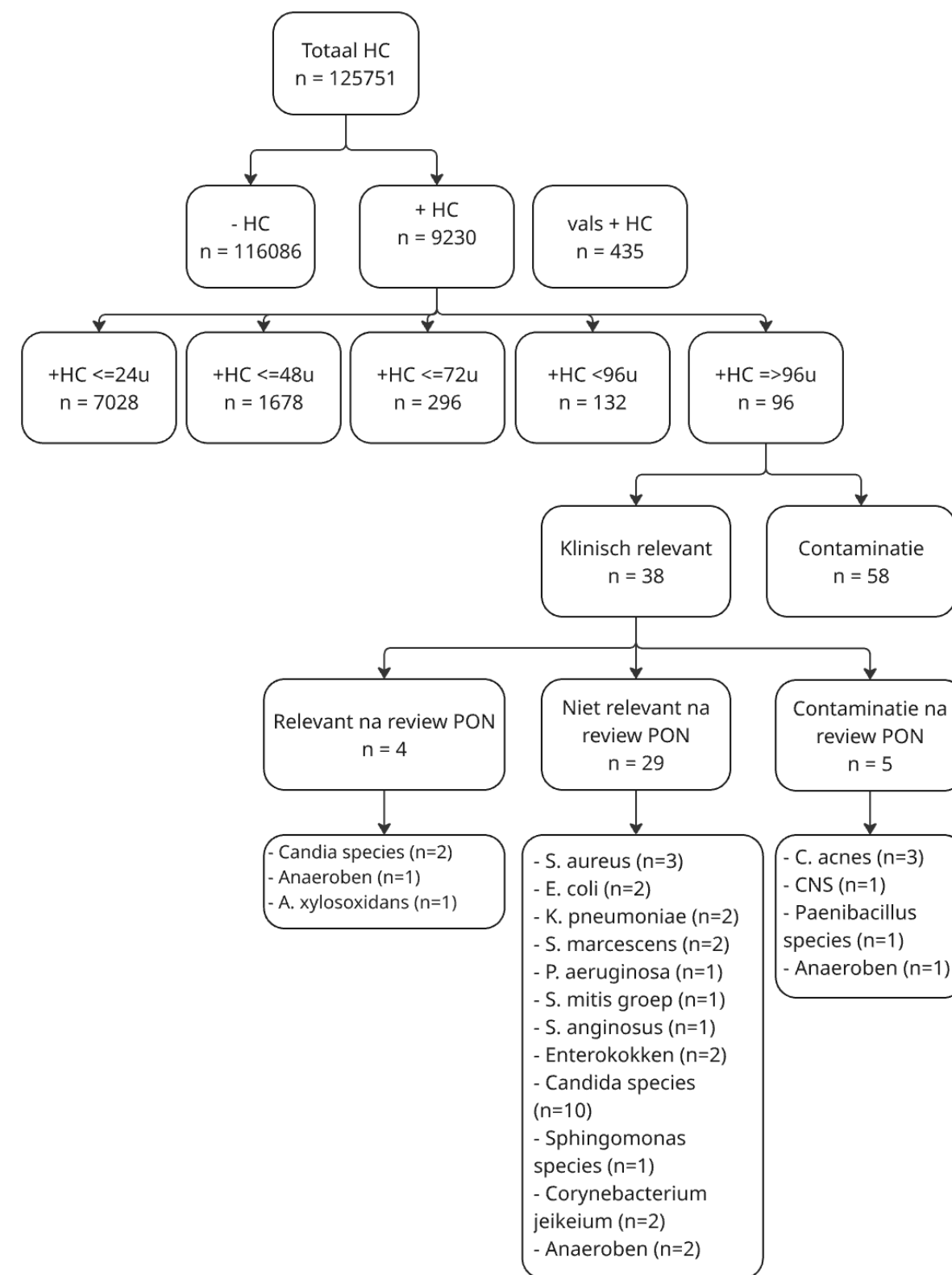
RESULTATEN — VRAAG 2

True positive HC = reëel +HC/totaal HC

- Alle HC: 95,5%
- HC+>96u: 91,4%

Gemiste pathogenen bij 4 dagen incubatieduur

- 4,2% van HC+>96u
- 0,04% van alle HC+
- 0,003% van alle afgenomen HC



3 Praktische implementatie

Richtlijnen

Het bloedvolume per set is de **belangrijkste variabele** voor het terugvinden van bacteriën en gisten. Het aantal sets per septische episode is de tweede kritische factor.

20–30 ml 

Volume per set (volwassenen)

2–4 

Sets per septische episode

6–12% 

Positieve HC

IDSA

- Positieve resultaten binnen 48 uur voor de meeste verwekkers. Incubatie **>5 dagen zelden nodig** bij moderne geautomatiseerde systemen, incl. HACEK en *Brucella* species.
- *Candida* species groeit adequaat in hemoculturen tenzij de patiënt onder antifungale therapie staat.

ASM CMPH

- Incubeer **5 dagen**, tenzij kwaliteitsmonitoring aantoont dat een kortere tijd volstaat.
- Speciale omstandigheden (bijv. *Brucella*) vereisen langere incubatie.

CLSI

- Standaard **5 dagen** voor geautomatiseerde systemen, incl. HACEK, NVS, *Brucella* species. Gepubliceerde data tonen dat 3–4 dagen volstaan voor detectie van 95–97% van de bacteriën en gisten. Als adequate validatie een kortere validatietijd verantwoordt kan het incubatieprotocol verkort worden.
- Endocarditis: geen noodzaak aan verlengde incubatieperiode.

3 Praktische implementatie

Literatuur

Studie	Totaal HC afgenomen	Systeem	Laat-positief (%)	Relevant van laat-positief (%)	Relevant (%)	Incubatie 4 dagen
Ransom et al. (2021)	158.710	BacT/Alert Virtuo	1,3%	8,5%	0,07% van positieve HC	ja
AlMuta et al. (2025)	71.862	BD BACTEC	0,8%	12,8%	0,01% van alle flessen	ja
Ulrich et al. (2022)	59.958	BD Bactec FX	1,7%	16,3%	0,30% van positieve HC	nee
De Pontilly et al. (2020)	292.349	BACTEC / Virtuo	1,0%	2,1%	0,02% van positieve HC	ja
Doern et al. (1997)	-	Difco ESP / BACTEC	2,2%	4,8%	0,1% van positieve HC	ja
Sepulveda et al. (2020)	88.201	BACTEC FX	1,0%	6,3%	0,06% van positieve HC	ja
UZ Leuven (2025)	125.751	BacT/Alert Virtuo	1,0%	4,2%	0,04% van alle positieve HC 0,003% van alle flessen	ja*

 99,5% van de relevante kiemen (flessen) wordt detecteerd binnen 96u incubatie

Praktische implementatie



Ransom et al. & AlMuta et al.: ~40 HACEK-kiemen geïncubeerd — **alle bacteriën <96u gedetecteerd**

UZ Leuven: géén laattijdig positieve, relevante HACEK-kiemen



Ransom et al.: **géén relevante gisten laattijdig gedetecteerd.**

UZ Leuven: **2/12 laattijdig positieve gisten relevant!**

→ Gezien jaarlijks 60-80 candidemieën worden vastgesteld en de therapieduur gebaseerd is op de eerste negatieve set & aerobe flessen een geschikt medium zouden moeten zijn, wordt de 5 dagen-incubatieduur van de aerobe flessen o.b.v. de huidige data behouden



Pediatrie: 4 flessen laat-positief

→ Onvoldoende bloedvolume kan de detectie compromitteren. Omwille van onvoldoende data over pediatrische hemoculturen wordt voor deze aparte aanvraag de incubatieduur van 5 dagen behouden



Endocarditis: géén flessen met aanvraag 'endocarditis' laattijdig positief.

→ Gezien het om een aparte aanvraag gaat, CLSI richtlijnen 5 dagen incubatieduur aanraden en dit niet expliciet werd meegenomen in de scope van deze analyse blijft de totale incubatieduur van 5 dagen behouden.

Praktische implementatie

Op basis van de literatuur en lokale data wordt een **4-dagen incubatieprotocol** veilig geïmplementeerd voor routine **anaerobe** hemoculturen via het BacT/ALERT VIRTUO-system.

 Standaardprotocol aerobe flessen — 5 dagen

Routine hemoculturen zonder specifieke indicaties.

 Uitzondering: Endocarditis — 5 dagen

Vermoeden van endocarditis: aparte aanvraag, verwerking blijft ongewijzigd.

 Uitzondering: Pediatrie — 5 dagen

Beperkte validatiedata; frequent onvoldoende bloedvolume (2–10 mL/set).
Detectie kan gecommiteerd zijn. Jaarlijkse evaluatie noodzakelijk voor mogelijke toekomstige verkorting.

 OpvolgHC *S. aureus* & *Candida species*!

Opvolghemoculturen bepalen startpunt behandelduur. Vals-negatief risico bij laaggradige bacteriëmie/candidemie onder therapie.

To do's

1 Correcte afname benadrukken

Adequaat bloedvolume is cruciaal: **20–30 mL/set** bij volwassenen, **2–10 mL/set** bij kinderen (gewichtsafhankelijk). Sensibilisering van clinici en verpleegkundigen is essentieel.

3 Implementatie in Virtuo en LIS

Virtuo-systeem configureren voor uitwerping van anaerobe flessen na 96u. Controleren dat LIS 'definitief negatief' registreert na 96u.

2 Clinici informeren over aangepast protocol

Weinig verandering voor clinici: enkel anaerobe flessen zonder endocarditis-vermoeden krijgen **definitief negatief resultaat 24u vroeger**.

4 Continue monitoring & jaarlijkse evaluatie

KPI 'contaminatie hemoculturen' blijft ingevuld bij elke positieve fles. Jaarlijkse evaluatie van aerobe flessen, laat-positieve kweken bij kinderen en endocarditis-patiënten om toekomstige optimalisatie mogelijk te maken.

Bedankt voor uw aandacht!
Vragen?

