

ИНФЕКЦИИ КРОВотоКА:

**ВЗЯТИЕ МАТЕРИАЛА, ИНТЕРПРЕТАЦИЯ
РЕЗУЛЬТАТОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С
ЛЕЧАЩИМИ ВРАЧАМИ, ПРЕДОСТАВЛЕНИЕ
ОТЧЕТОВ**

Смоленск, 12 декабря 2017

ЦЕЛЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ

“... лабораторное выявление бактеремии и фунгемии остается одной из важнейших функций лабораторий клинической микробиологии...”

Положительные культуры крови определяют или подтверждают наличие инфекционной этиологии болезни пациента. Кроме того, выявляют этиологический агент и позволяют проводить дальнейшее определение чувствительности к антибиотикам для оптимизации терапии.”

ЦЕЛЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ

➤ Быстрый ответ

➤ Клиническая ценность

ответа (для выбора АБТ): присутствие возбудителя в кровотоке – доказательство его этиологического значения



ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РЕЗУЛЬТАТ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ

- **Метод исследования**
- **Питательные среды**
- **Правила взятия крови**
- **Объем исследуемой крови и количество флаконов**
- **Интерпретация результатов**

СОВРЕМЕННАЯ ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИЕМИИ (2)

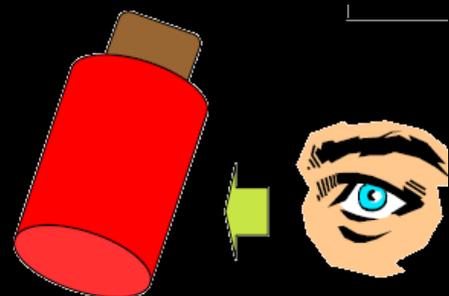
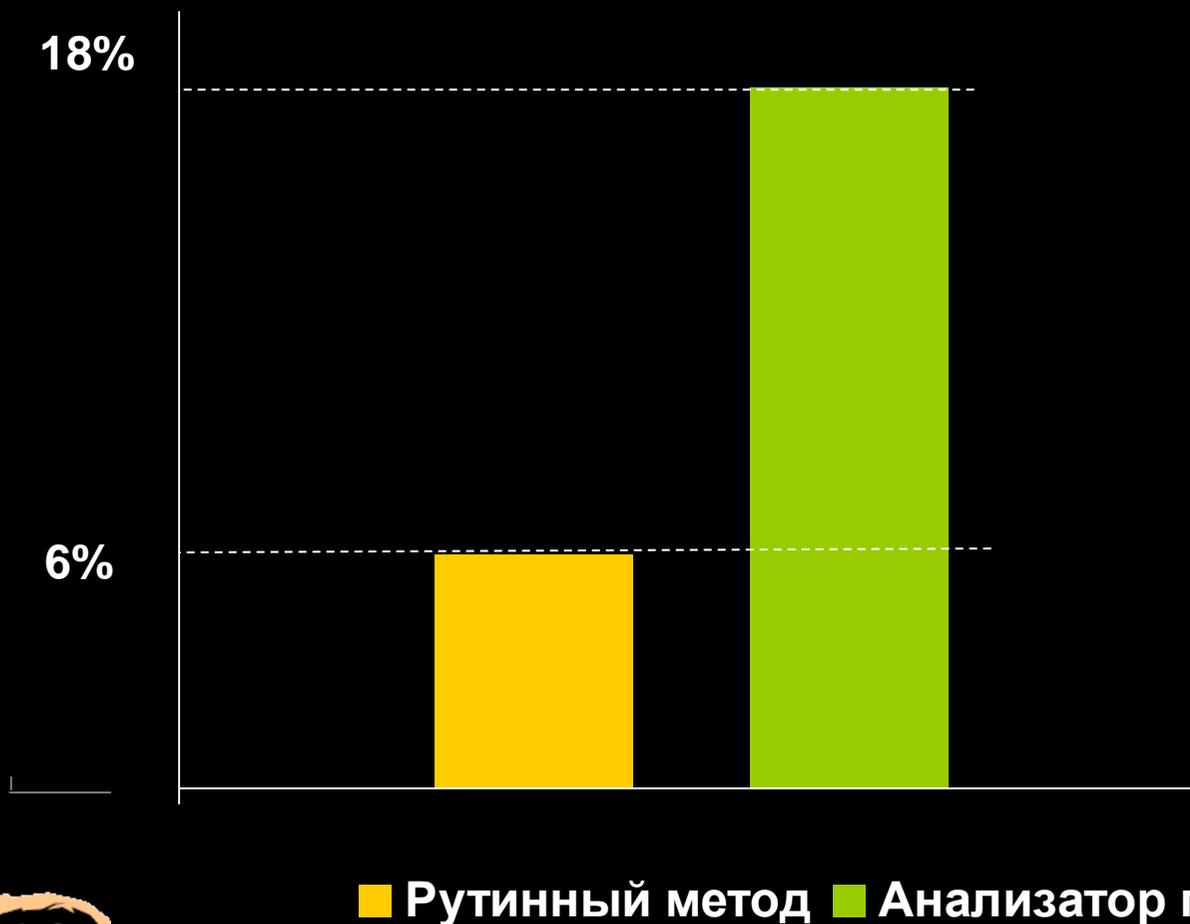
Применение «ручных» методов исследования с использованием ГОТОВЫХ КОММЕРЧЕСКИХ СИСТЕМ



Обычный компонентный состав	гм/л
Триптонно-соевый бульон	10,0
Желатиновый пептон	10,0
Глюкоза	1,0
L-аргинин	1,0
Полианетол сульфонат натрия	0,3
Желатин	1,0
Тиогликоль натрия	0,5
Цистеин HCl	0,4
Витамин К (Menadione)	0,005
.....	
pH 7,0	

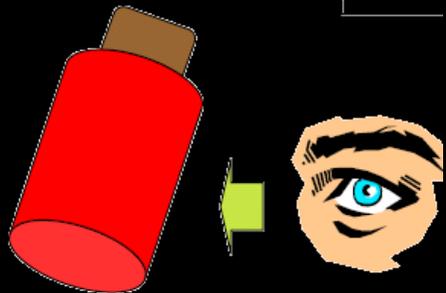
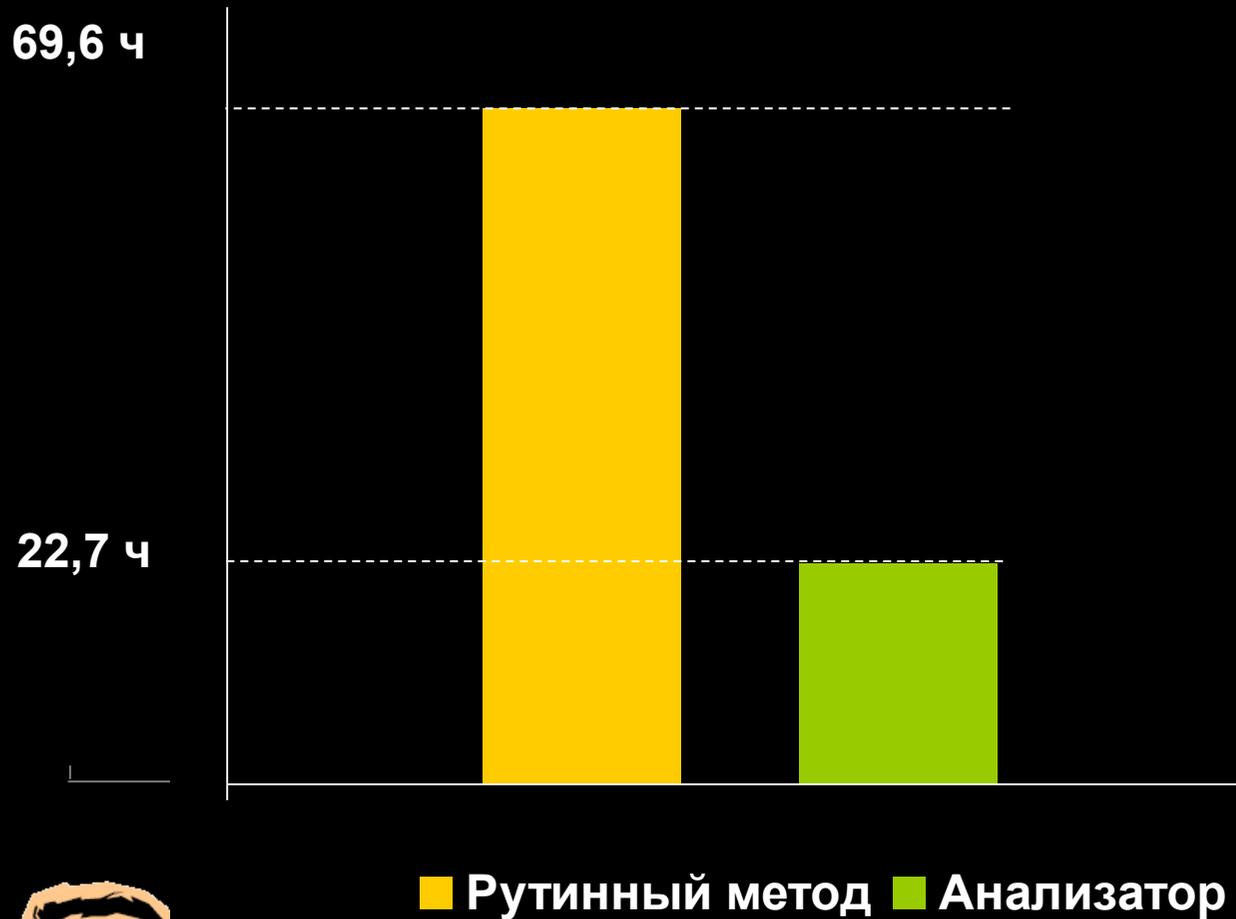
ТРАДИЦИОННЫЙ МЕТОД И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНАЛИЗАТОРА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИЕМИИ

- Вероятность обнаружения бактериемии



ТРАДИЦИОННЫЙ И АВТОМАТИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИЕМИИ

- Скорость обнаружения бактериемии



■ Рутинный метод ■ Анализатор гемокультур

ПРАВИЛА ВЗЯТИЯ КРОВИ

- Произведите дезинфекцию кожи циркулярными движениями от центра к периферии дважды:
 - 70% раствором этилового спирта
 - 1-2% раствором йода *или*
10% раствором повидон-йодина
- Дождитесь полного высыхания дезинфектанта
- Не касайтесь места пункции кожи после ее дезинфекции

ПРАВИЛА ВЗЯТИЯ КРОВИ

В случае плохого доступа – возможно 1 проба из катетера (но 2-я – пункция другой вены)

- Очистить порт катетера в течение 15 с использованием 70% спирта. Дождаться полного высыхания**
- Собрать 3 мл крови (взрослые) или 0,2 мл (дети) – не подлежит исследованию!**
- Другим шприцом собрать необходимый объем крови для исследования**
- Маркировка флакона должна содержать информацию о методе взятии крови: венепункция или из катетера**

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

- Производят взятие крови в шприц или непосредственно во флаконы для исследования крови с помощью двухсторонней иглы



ВРЕМЯ ВЗЯТИЯ ОБРАЗЦОВ КРОВИ

- Желательно перед началом подъема температуры или на высоте лихорадки, однако объем крови для исследования имеет бóльшее значение!
- Острые инфекции (сепсис, остеомиелит, менингит, пневмония, пиелонефрит) – перед началом антибактериальной терапии
- Образцы крови, полученные путем пункции 2 различных вен (не из катетера!), с интервалом в 10-30 минут
- При подострых инфекциях (лихорадка неясной этиологии) – 3 пробы крови, полученные в течение 24 часов (2 последовательно, 3-я через 1 час или позже), максимально возможного объема
- На фоне АБП – во время наименьшей концентрации АБП в интервале дозирования

ОБЪЕМ КРОВИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Минимальный объем крови

- Дети < 4 кг:

0,5-1,5 мл / флакон (1 мл предпочтительно)

! обычно 2 венепункции провести невозможно

- Дети 1 – 6 лет:

общий объем – 1 мл на 1 год жизни (например, для ребенка 3 лет – 2 венепункции по 1,5 мл)

- Дети 13,6 – 36,3 кг: общий объем – 10-20 мл

- Дети >36,3 кг и взрослые: общий объем – 30-40 мл

! Минимальный необходимый объем: 20-30 мл (разделив на 2 флакона)

КОГДА ИСПОЛЬЗОВАТЬ ФЛАКОНЫ ДЛЯ АНАЭРОБОВ?

Обязательно по клиническим показаниям:

- **Нейтропеническая лихорадка**
- **Синдром диабетической стопы**
- **Патология органов брюшной полости**

КОГДА ИСПОЛЬЗОВАТЬ ФЛАКОНЫ ДЛЯ АНАЭРОБОВ?

2 аэробных флакона
положительных - 12,2%



2 флакона аэро + анаэроб
положительных - 18,6%



Причины отрицательных результатов исследования крови:

- Антибактериальная терапия до взятия образцов крови снижает количество положительных находок на 91-97%
- ! Использование для культивирования крови сред, не удовлетворяющих по составу питательным потребностям микроорганизмов

ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ: ПРОЦЕДУРА

«Положительные» флаконы

- Микроскопия
- Посев содержимого флакона на твердые питательные среды (если необходимо – с учетом результатов микроскопии)
- Возможно: проведение предварительной! идентификации и определения чувствительности с использованием содержимого флакона при наличии микробиологического роста. Например:
- **НО:** Требуется последующее подтверждение ИД и определение чувствительности!

ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ: ПРОЦЕДУРА

Пример проведение предварительной! идентификации и определения чувствительности при наличии микробиологического роста.

- 2 капли содержимого «+» флакона – в 5 мл воды или ф.р. → ИД системы (для Грам(-) бактерий)
- 10 капель содержимого «+» флакона – в 5 мл ТСБ → инокулировать чашку Петри с МХА для ДДМ
- Посев содержимого «+» флакона на твердые среды, инкубация в течение 5 ч, собрать поверхностный рост для приготовления взвеси для ИД тестов и/или определения чувствительности
- **НО: Требуется последующее подтверждение ИД и определение чувствительности!**

ПРЯМОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ «+» ОБРАЗЦА: СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

• MALDI масс-спектрометрия для прямой идентификации мо в «+» флаконах

- 177/181 (97,8%) при наличии монокультуры – Microflex LT Biotyper (Bruker Daltonics)
- 167/181 (92,3%) – VITEK MS IVD (bioMerieux)

Jonathan H.K. Chen, Pak-Leung Ho, Grace S.W. Kwan. JCM. 2013

• Выявление наиболее значимых возбудителей и детерминант резистентности молекулярно-генетические методы

- *S. aureus* & *mecA* gene (GeneOhm IDI-MRSA™, BD; Cepheid GeneXpert® System) – ПЦР в реальном времени
- Выявление генов карбапенемаз грам(-) бактерий (МБЛ: IMP, VIM, NDM; ОХА-карбапенемаз *Acinetobacter* spp.; группы KPC и ОХА-48) – ПЦР в реальном времени
- ...

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ: БАКТЕРИЕМИЯ или КОНТАМИНАЦИЯ

ДЛЯ ИСТИННОЙ БАКТЕРИЕМИИ ХАРАКТЕРНЫ:

- **Рост облигатных патогенов**
- **Наличие факторов риска и сопутствующей патологии**
- **Выделение идентичного возбудителя из других локусов**

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ: БАКТЕРИЕМИЯ или КОНТАМИНАЦИЯ

ДЛЯ КОНТАМИНАЦИИ ХАРАКТЕРНЫ :

- Продолжительный период инкубации до роста микроорганизма
- Отрицательный рост в последовательных образцах
- Множественный рост микроорганизмов
- Нет клинических признаков сепсиса
- Рост нормальной микрофлоры кожных покровов, напр., коагулазо(-) стафилококков, дифтероидов и *Bacillus spp.*

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

- Ежегодно в лечебных учреждениях США регистрируется около 5 млн. случаев катетеризации центральных вен
- На инфекции связанные с ЦВК приходится 10% всех НИ
- 70% внутрибольничных бактериемий связано с КАИК
- Колонизация ЦВК колеблется в пределах от 7% до 29%
- Средняя частота возникновения КАИК в ОРИТ 4,3-7,7 случаев на 1000 дней катетеризации
- Летальность от КАИК в США 14-28%, странах Европы - 25%

Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections.

Clin Infect Dis 2011; 52:e162-e193.

R Agrawal, A Varma Hospital-acquired bloodstream infection: Indian perspective

Critical Care 2013, 17:P48

ФАКТОРЫ РИСКА

1. Пожилы и старческий возраст
2. Гемотрансфузии
3. Длительная катетеризация
4. Катетеризация бедренной вены
5. Проведение парентерального питания
6. Профиль отделения реанимации

A Kundakci, O Ozkalayci. Risk factors for catheter-related bloodstream infections in a surgical ICU. Critical Care 2013, 17:P49

I Cornick-Martin, M. McGovern. Analysis of risk factors for catheter-related bloodstream infection in a parenteral nutrition population

Critical Care 2013, 17:P49

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УДАЛЕННОГО ЦВК

- Окраска катетера по Граму
- Полуколичественный метод исследования дистального фрагмента ЦВК по Маки
- Количественный метод исследования ЦВК

ПРАВИЛА ВЗЯТИЯ ЦВК

- **Обработать кожу в месте стояния катетера >0,5% спиртовым раствором хлоргексидина**
- **Удалить катетер**
- **Стерильными ножницами отрезать дистальный фрагмент катетера длиной 5-7 см и поместить его в стерильную пробирку**
- **В течение 2 часов доставить пробирку с катетером в микробиологическую лабораторию**

IDSA Guidelines for intravascular catheter-related infection.

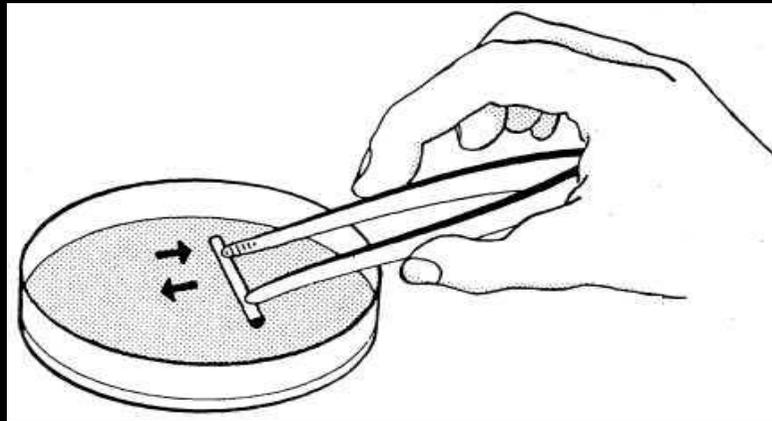
Clin Infect Dis 2009; 49:1-42

Isenberg H. Essential procedures for clinical microbiology.

Washington: ASM Press, 1998.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАТЕТЕРА ПО МАКИ

- Использование в европейских лабораториях – 64%
- Исследуется дистальный фрагмент катетера длиной 5 см
- Производится четырехкратное прокатывание фрагмента катетера по 5% кровяному агару



- Инкубация в CO₂-термостате при 35-37 гр. 24-48 часов (в отдельных случаях – до 4 сут. и более)
- Подсчет выросших колоний

ИССЛЕДОВАНИЕ КАТЕТЕРА ПО МАКИ

Интерпретация результатов

➤ Этиологическое значение:

➤ любой мо (в том числе грам (+) кокки в количестве > 15 КОЕ)

➤ При КОЕ < 15 – только значимые патогены:

C. albicans, *S. ruogenes*, грам (-) палочки

Присутствие > 15 КОЕ свидетельствует о том, что катетер является потенциальной причиной бактериемии

ПРАВИЛА ВЗЯТИЯ КРОВИ

- **Обработать ЦВК и кожу в месте пункции периферической вены >0,5% спиртовым раствором хлоргексидина. Обработку проводить от места предполагаемой пункции к периферии**
- **Получить из периферической вены и ЦВК по 10 мл крови**
- **Вскрыть крышки на флаконах и обработать пробки 70% спиртом**
- **Поместить образцы крови (по 10 мл) в 2 коммерческих флакона (Bact/ALERT, BioMerieux) с готовой питательной средой и доставить в микробиологическую лабораторию**

*IDSA Guidelines for intravascular catheter-related infection.
Clin Infect Dis 2009; 49:1-42*
*Isenberg H. Essential procedures for clinical microbiology.
Washington: ASM Press, 1998.*

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЕ ВРЕМЯ ДО ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО РЕЗУЛЬТАТА

Дифференциальное время до положительного результата (неколичественный метод парных гемокультур из ЦВК и периферической вены) определяется как разница во времени до положительного результата гемокультур, полученных через центральный венозный катетер и из периферической вены

R. Dellinger, M. Levy et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012

Crit Care Med 2013;41:580-637

ЭТИОЛОГИЯ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ЦВК

Грамположительные микроорганизмы – 58%

- коагулаза(-) стафилококки - 34%
- *S. aureus* - 18%
- *Enterococcus sp.* - 6%

Грамотрицательные микроорганизмы – 35%

- *Enterobacteriaceae* - 25%
- другие - 10%

Грибы – 7%

Cherifi et al. Variations in catheter-related bloodstream infections rates based on local practices. Antimicrobial Resistance and Infection Control 2013; 2:10