



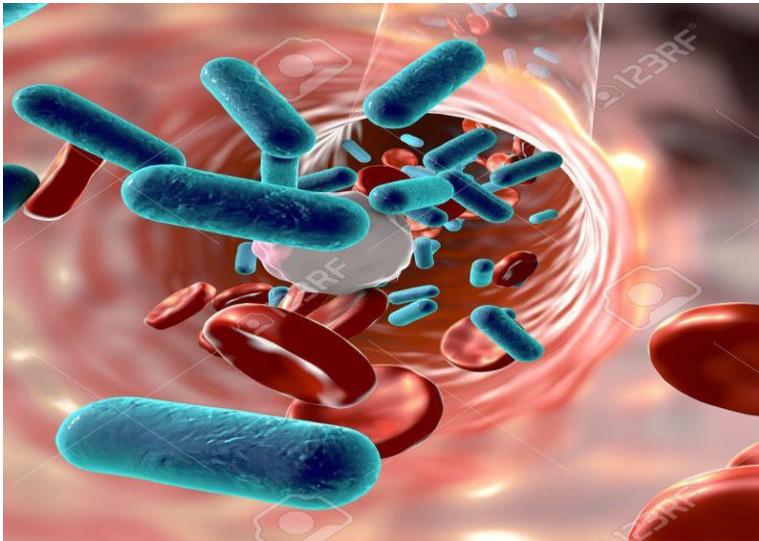
Роль и место микробиологических исследований при сепсисе

**Бисенова Неля Михайловна-
д.б.н., профессор,**

**Руководитель микробиологической лаборатории
АО «Национальный научный медицинский центр»**

Астана, 21 сентября 2023 г.

Сепсис — инфекционное осложнение крайней степени тяжести. ВОЗ в очередной раз в 2020 году призвала к масштабным действиям по борьбе с сепсисом, вызывающим каждую пятую смерть в мире, в 2017 году сепсис был признан глобальной проблемой.



Основные факты

Глобальное эпидемиологическое бремя сепсиса не поддается точной оценке. Согласно расчетам, он ежегодно развивается более чем у 30 миллионов человек и, возможно, уносит жизни 6 миллионов человек.

Согласно оценкам, каждый год сепсисом страдает 3 миллиона новорожденных и 1,2 миллиона детей. Три из десяти случаев смерти в результате неонатального сепсиса предположительно вызваны лекарственно устойчивыми патогенами.

Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. Am J Respir Crit Care Med 2016; 193(3): 259-72.

Fleischmann-Struzek C, Goldfarb DM, Schlattmann P, Schlapbach LJ, Reinhart K, Kissoon N. The global burden of paediatric and neonatal sepsis: a systematic review. The Lancet Respiratory medicine 2018; 6(3): 223-30.

Основные факты

- **Каждая десятая смерть в связи с беременностью и родами происходит по причине материнского сепсиса, при этом 95% случаев смерти от материнского сепсиса происходят в странах с низким и средним уровнем доходов. Каждый год в связи с материнскими инфекциями, в частности материнским сепсисом, умирает один миллион новорожденных.**
- **Сепсис может быть клиническим проявлением инфекций, приобретенных как за пределами медицинских учреждений, так и внутри их. Инфицирование в связи с оказанием медицинской помощи является одной из наиболее распространенных, если не самой распространенной разновидностью неблагоприятных событий, происходящих в ходе оказания такой помощи, и ежегодно затрагивает миллионы пациентов по всему миру. Поскольку такие инфекции нередко устойчивы к антибиотикам, они могут вызывать быстрое ухудшение клинического состояния.**

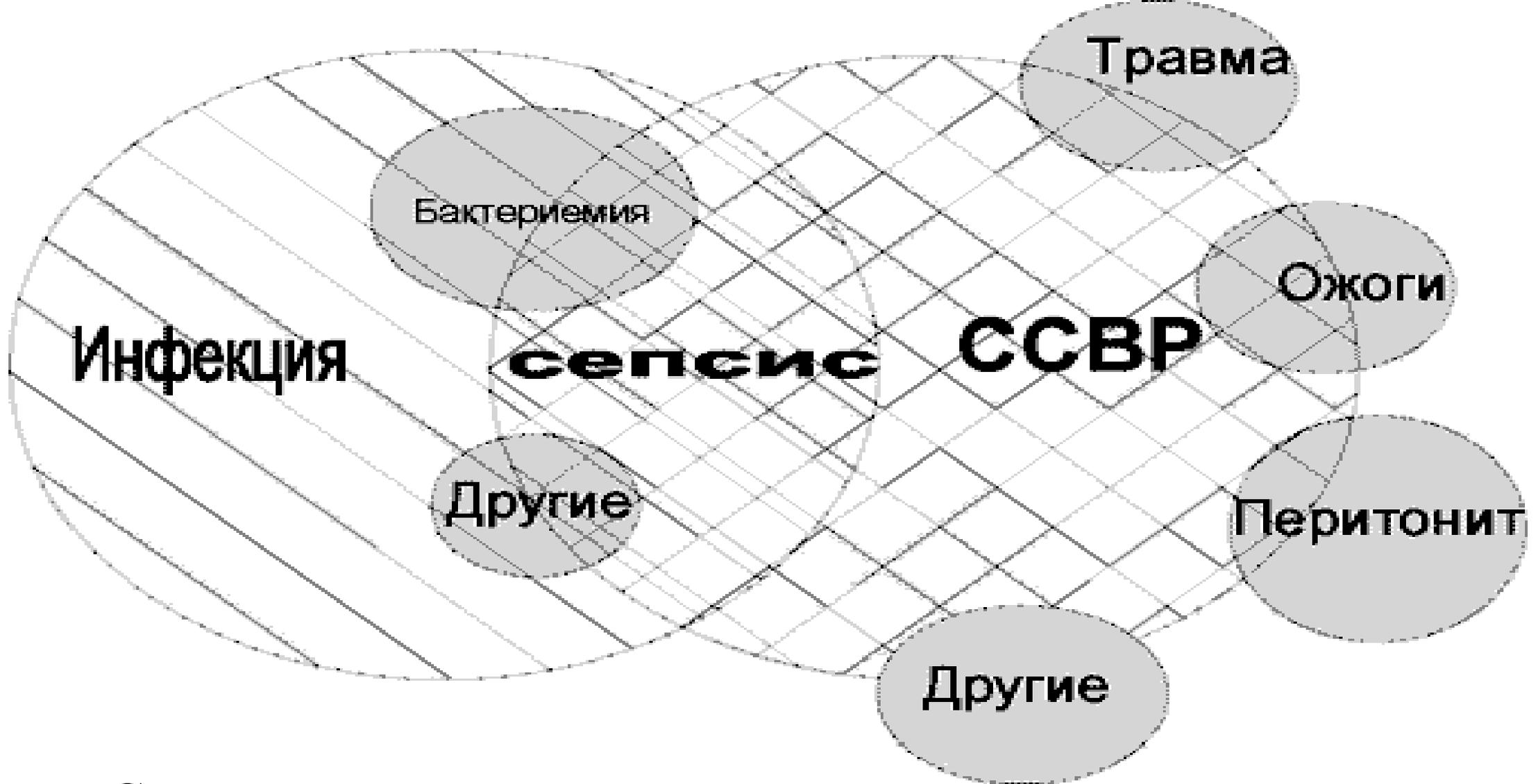
Say L, Chou D, Gemmill A, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. The Lancet Global health 2014; 2(6): e323-33.

Reproductive, Maternal, Newborn, and Child Health: Disease Control Priorities, Third Edition (Volume 2). In: Black RE, Laxminarayan R, Temmerman M, Walker N, eds. Reproductive, Maternal, Newborn, and Child Health: Disease Control Priorities, Third Edition (Volume 2). Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank(c) 2016 International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank.; 2016.

World Health Organization. WHO Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide. 2017-11-21 15:11:22 2011.

• **Первичный (криптогенный)**. Встречается относительно редко. Происхождение его не ясно. Предполагается связь с аутоинфекцией (хронический тонзиллит, кариозные зубы, дремлющая инфекция).

• **Вторичный сепсис** развивается на фоне существования в организме гнойного очага: гнойной раны, острого гнойного хирургического заболевания, а также после оперативного вмешательства.

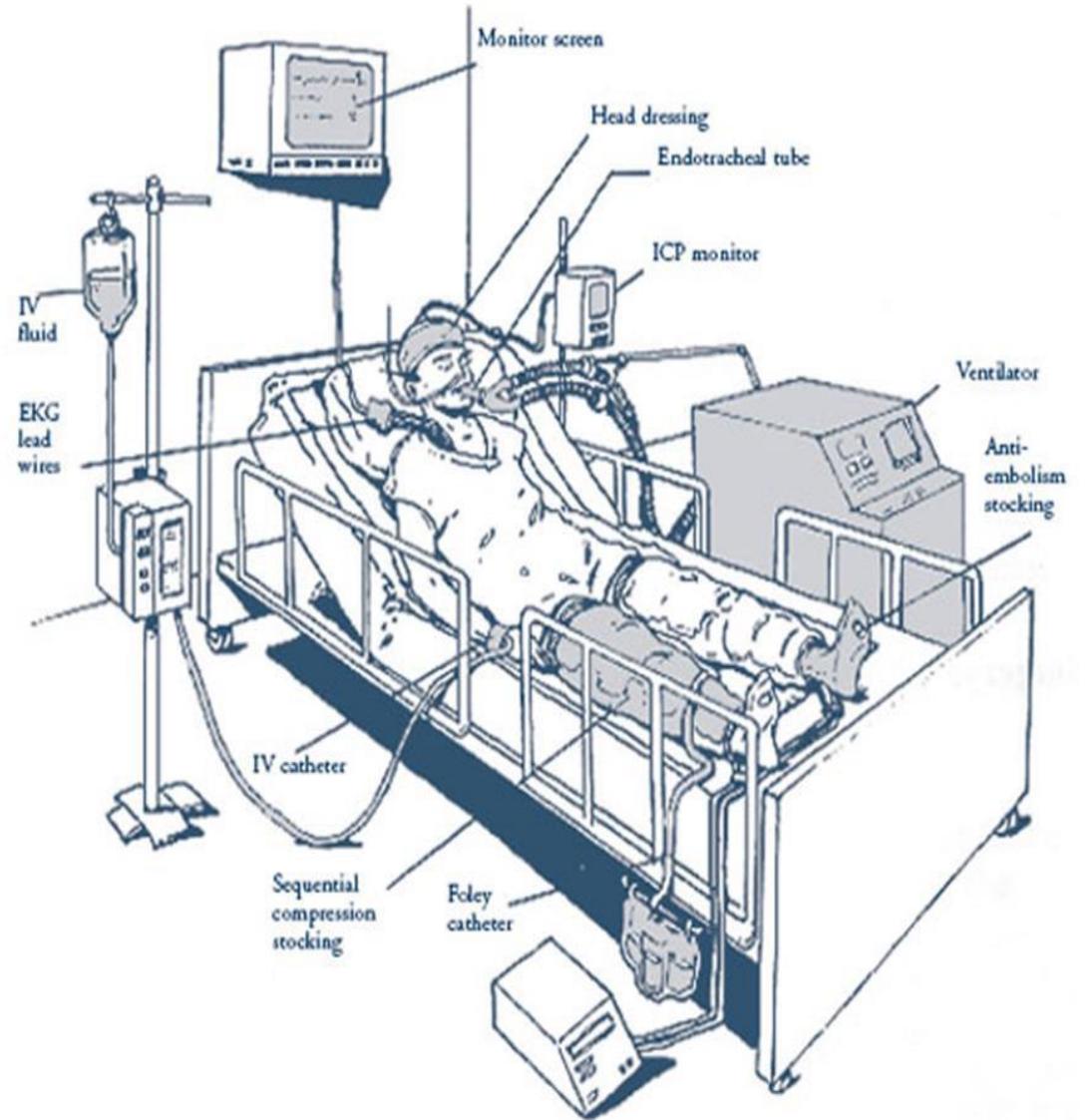


Сепсис – системный ответ на инфекцию, характеризующийся **симптомами системной воспалительной реакции**, на фоне явного местного инфекционного процесса.

Бактериемия – наличие жизнеспособных бактерий в крови пациента.

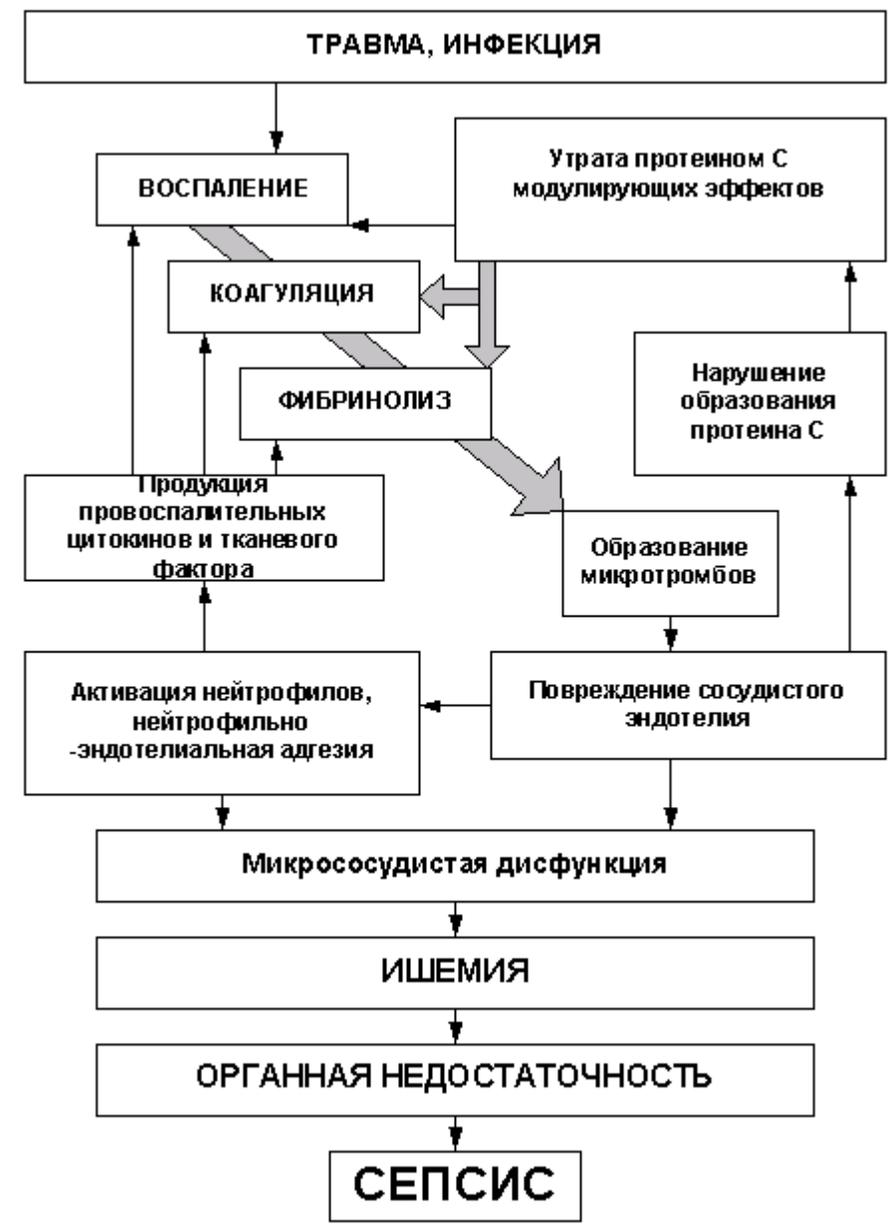
Синдром системной воспалительной реакции – системная воспалительная реакция на различные тяжелые повреждения тканей, проявляющаяся двумя и более из указанных признаков:

- температура выше 38 или ниже 36;
- тахикардия более 90 ударов в минуту;
- частота дыхания более 20 в минуту;
- число лейкоцитов выше 12 или ниже 4.



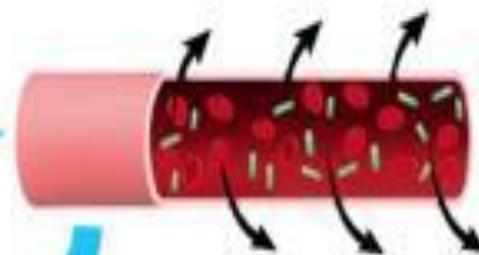


* СВРС – Системный воспалительный реактивный синдром



Сепсис

Бактерии
поступают в кровь



Просачивающиеся
сосуды крови

Очаги инфекции



СМЕРТЬ

Органная
недостаточность



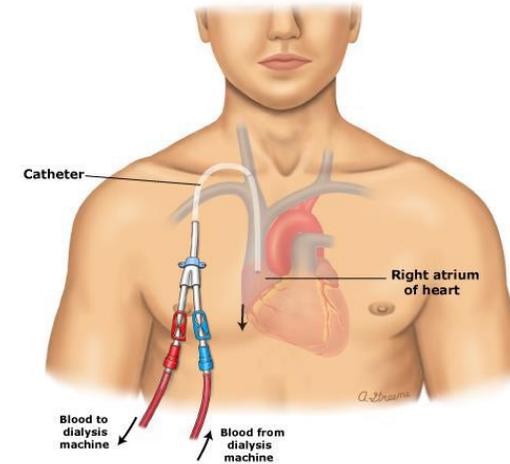
Закупорка сосудов

Гангрена кожи или
конечностей

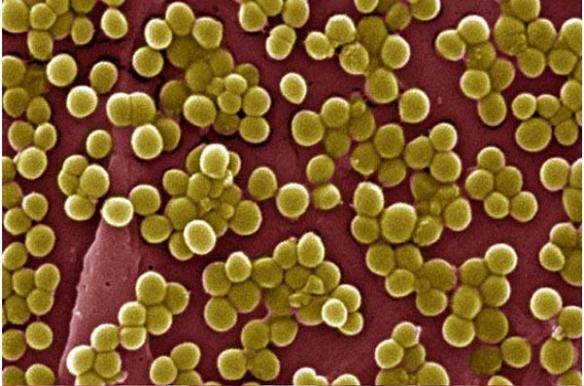


Источники инфекций кровотока

Внутри сосудистые устройства	- 19%
Мочеполовые пути	17%
Дыхательные пути	12%
Кишечник и брюшная полость	5%
Кожа	5%
Желчевыводящие пути	4%
Внутрибрюшные абцессы	3%
Другие известные очаги	8%
Неизвестные очаги	27%



Владемир Кантарелли – консультант ЕРБ ВОЗ
Тренинг Воз 17-19 апреля 2023 г.



По виду возбудителя

Стафилококковый

Стрептококковый

Пневмококковый

Колибациллярный

Синегнойный

Анаэробный

Неклостридиальный

•Смешанный и др



**В каждом регионе и даже в
отдельном стационаре
складывается своя конкретная
эпидемиологическая ситуация**

**спектр
антибиотикочувствительности
возбудителей в определенный
отрезок времени**

Локализация первичного очага и место возникновения инфекции

Наиболее вероятные возбудители

Легкие
(нозокомиальная пневмония, развившаяся вне ОАРИТ)

Streptococcus pneumoniae
Enterobacteriaceae (Klebsiella spp. E.coli)
Staphylococcus aureus

Легкие
(нозокомиальная пневмония, развившаяся в ОАРИТ)

Pseudomonas aeruginosa
Acinetobacter spp.
Staphylococcus aureus (MR)
Klebsiella spp. (БЛРС+)

Брюшная полость (внебольничный абдоминальный сепсис)

Enterobacteriaceae
Bacteroides spp.

Брюшная полость (нозокомиальный абдоминальный сепсис)

Enterobacteriaceae
Enterococcus spp.
Pseudomonas aeruginosa

Мочевыводящие пути (внебольничный сепсис)

Enterobacteriaceae (Klebsiella spp. E.coli)
Enterococcus spp.

Мочевыводящие пути (госпитальный сепсис)

Enterobacteriaceae (Klebsiella spp. E.coli)
Enterococcus spp.
Pseudomonas aeruginosa

Ангиогенный сепсис, связанный с катетеризацией центральных вен

Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Реже - **Enterococcus spp.** **Candida spp.**

WHO PRIORITY PATHOGENS LIST FOR R&D OF NEW ANTIBIOTICS

Priority 1: CRITICAL[#]

Acinetobacter baumannii, carbapenem-resistant

Pseudomonas aeruginosa, carbapenem-resistant

*Enterobacteriaceae**, carbapenem-resistant, 3rd generation cephalosporin-resistant

Priority 2: HIGH

Enterococcus faecium, vancomycin-resistant

Staphylococcus aureus, methicillin-resistant, vancomycin intermediate and resistant

Helicobacter pylori, clarithromycin-resistant

Campylobacter, fluoroquinolone-resistant

Salmonella spp., fluoroquinolone-resistant

Neisseria gonorrhoeae, 3rd generation cephalosporin-resistant, fluoroquinolone-resistant

Priority 3: MEDIUM

Streptococcus pneumoniae, penicillin-non-susceptible

Haemophilus influenzae, ampicillin-resistant

Shigella spp., fluoroquinolone-resistant

ВОЗ выпустила перечень приоритетных бактериальных патогенов с устойчивостью к антибиотикам, которые требуют в самом неотложном порядке новых препаратов

GLOBAL PRIORITY LIST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA TO GUIDE RESEARCH, DISCOVERY, AND DEVELOPMENT OF NEW ANTIBIOTICS. WHO 10 March 2017

ЦЕЛЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ



❖ Быстрый ответ

❖ Клиническая ценность ответа (для выбора антибактериальной терапии): присутствие возбудителя в кровотоке – доказательство его этиологического значения

ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ

Наличие 2 и более признаков:

1. Температура 38°C (лихорадка) или 36°C (гипотермия)
2. ЧСС 90 ударов в мин (тахикардия)
3. ЧДД 20 в мин (тахипноэ)
4. Лейкоциты 12×10^9 /л или 4×10^9 /л или 10% незрелых нейтрофилов (палочкоядерных форма)

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РЕЗУЛЬТАТ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ

➤ **Правила взятия крови**

➤ **Питательные среды**

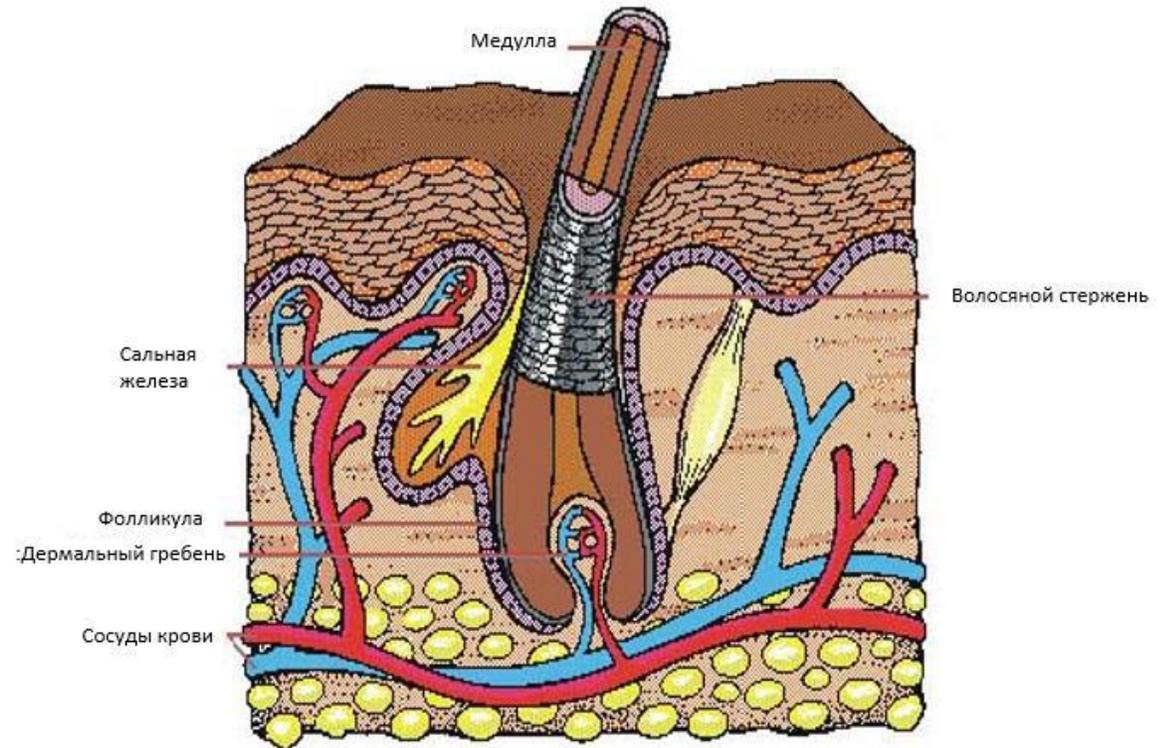
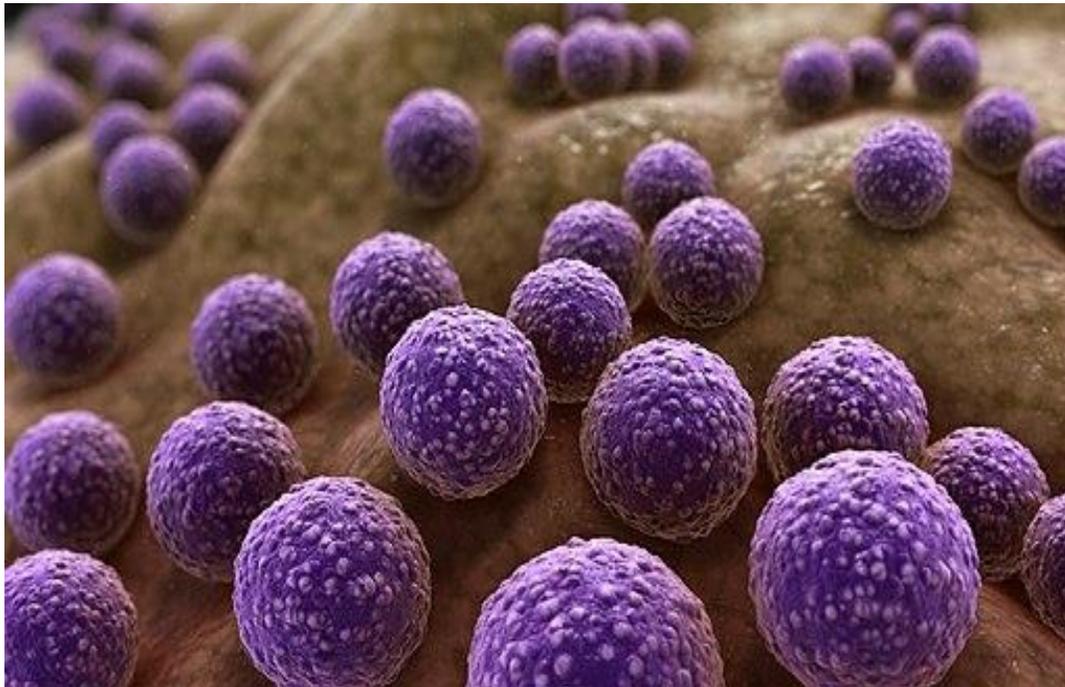
➤ **Объем исследуемой крови и количество флаконов**

➤ **Метод исследования**

➤ **Интерпретация результатов**

Кожа не стерильна

Ненадлежащее обеззараживание кожи и ненадлежащий антисептик увеличивают риск заражения микрофлорой кожи, например, коагулаза-отрицательными стафилококками или *Corynebacterium spp.*



Отбор образцов крови

Результаты лабораторных исследований зависят от качества полученных образцов.

- Образец должен соответствовать клиническому состоянию
- Отбор и транспортировка образца должны осуществляться так, чтобы обеспечить жизнеспособность любого патогена, а также безопасность персонала, обращающегося с образцом.
- В лаборатории должны быть установлены критерии отбраковки образцов, являющихся ненадлежащими, чтобы избежать получения неточных результатов и нарушения безопасности персонала



Отбор образцов крови

Количество: Не менее 2-3 отдельных отборов крови

Объем: взрослые 20 - 30 мл

- дети: количество зависит от веса ребенка
- важно из-за низкого числа циркулирующих бактерий.

Время: до/ во время скачка температуры

- ДО антибиотиков

ПОСЛЕ антисептической обработки кожи:

- этиловый спирт 70%
- йод 1-2%
- хлоргексидин (2% в 70%-ном спирте)

Дождитесь полного высыхания дезинфектанта



*Владимир Кантарелли – консультант ЕРБ ВОЗ
Тренинг Воз 17-19 апреля 2023 г.*

Правила забора крови

До отбора образца... Обеззараживание
КОЖИ

- ✓ **70%-ный спирт**
- ✓ 1 – 2% настойки йода
- ✓ **хлоргексидин (2% в 70%-ном спирте)**

Ненадлежащее обеззараживание кожи и
ненадлежащий антисептик увеличивают
риск заражения микрофлорой кожи,
например, коагулазаотрицательными
стафилококками или *Corynebacterium spp.*



Объем крови

Приростная значимость при объеме в диапазоне от 10 до 40 мл.

У пациентов с инфекционным эндокардитом

- объем 20 мл повышает значимость на 30% по сравнению с 10 мл
- объем 30 мл повышает значимость на 47% по сравнению с 10 мл
- при посеве 40 мл крови, увеличение значимости по сравнению с 30 мл было всего 7%.

Так, объем крови, забираемой у взрослых, на посев составляет 20 -30 мл, но не больше объёма, указанного на флаконе производителем



ВРЕМЯ ВЗЯТИЯ ОБРАЗЦОВ КРОВИ

Желательно перед началом подъема t или сразу после подъема t более 38°C , однако объем крови для исследования имеет большее 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

ТРАНСПОРТИРОВКА ОБРАЗЦОВ

❖ Флаконы для микробиологического исследования с внесенной в них кровью должны быть доставлены в лабораторию в кратчайшие сроки (макс. 4 ч)

❖ Если доставка флаконов откладывается, хранить флаконы до момента транспортировки:

- при автоматизированном методе исследования - при комнатной температуре

- при ручном методе исследования – при 37°C

❖ **Нельзя хранить флаконы для исследования крови в холодильнике!**



ФЛАКОНЫ ДЛЯ АНАЭРОБОВ

Обязательно по клиническим показаниям:

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

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

- Ни одна питательная среда или система не в силах оптимально выявить все потенциальные патогены
- Широко используется соево-казеиновый бульон
- Многие производители к своей базовой среде добавляют собственные добавки, предназначенные для усиления роста микроорганизмов
- Питательные среды для анаэробов, грибов и микобактерий также доступны на рынке
Разведение крови/среды: 1:5 - 1:1
- Паспорт безопасности и смолы

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Требования:

- ❖ Обеспечивать рост большинства микробов
- ❖ SPS – полианетол сульфонат 0,025 – 0,05%:
антикоагулирующее, антифагоцитарное действие
(ингибирует комплемент), нейтрализует многие АМП и
антимикробные факторы крови



ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Ручной метод

- ❖ **Инкубировать не менее 5-7 суток, периодически встряхивая и переворачивая флаконы**
- ❖ **Ежедневно осматривать флаконы для выявления визуальных признаков микробиологического роста: гемолиз, помутнение, газообразование, образование пленок сгустков**
- ❖ **Выполнить как минимум 1 высев на твердые питательные среды даже при отсутствии признаков роста: как правило – через 72 ч от начала инкубации**

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Ручной метод

Ограничения:

- **Инкубация:** 5-7 дней с визуальным осмотром
- Возможна контаминация вследствие манипуляции
- Встряхивание производится вручную и только раз в день



ВАСТ/ALERT® 3D - автоматический бактериологический анализатор культур крови



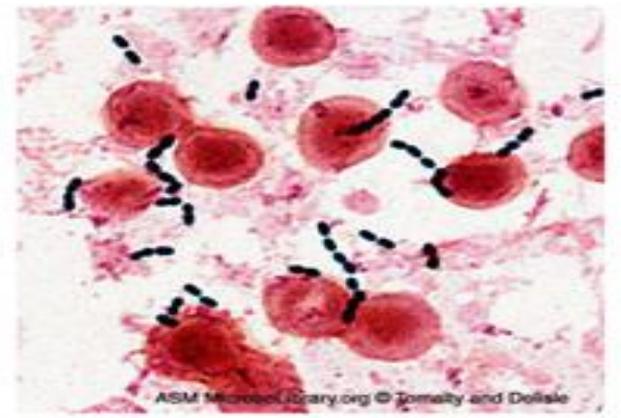
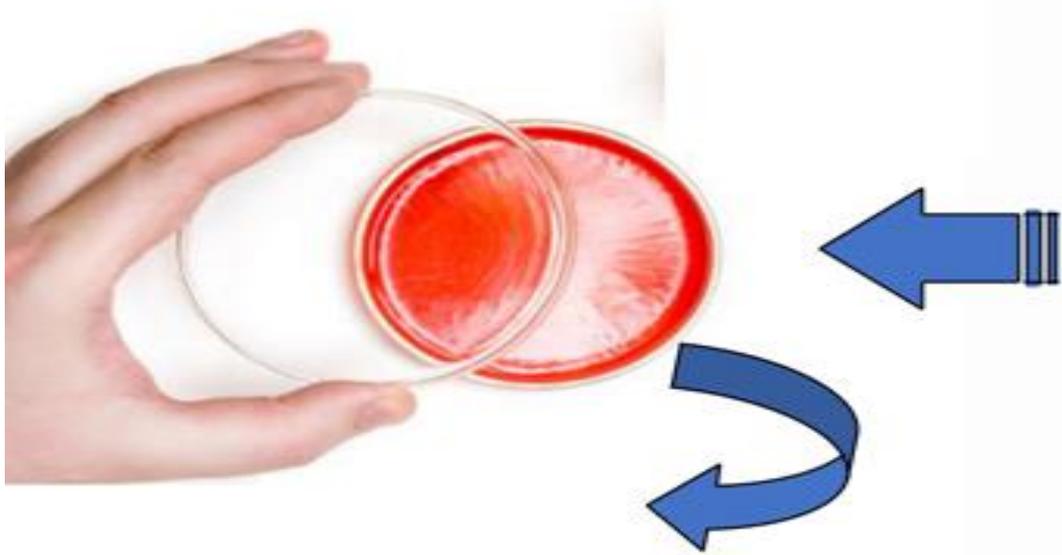
Производят взятие крови в шприц или непосредственно во флаконы для исследования крови с помощью двухсторонней иглы

Автоматизированные системы для гемокультур

Рекомендуемый метод

- ✓ 5 дней инкубация и автоматизированное выявление
- ✓ Большинство положительных результатов в первые 48 ч.
- ✓ Повышенная значимость
- ✓ Более быстрое получение результатов
- ✓ Меньше манипуляций с образцом,
- ✓ меньше контаминации
- ✓ Постоянное перемешивание
- ✓ Большое количество разных емкостей:
аэробные/анаэробные, со смолами и т.д. ...





ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИЕМИИ

**Причины отрицательных результатов
микробиологического исследования крови:**

- ❑ Антибактериальная терапия до взятия образцов
крови снижает количество положительных находок в
91-97%**

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ:
БАКТЕРИЕМИЯ или КОНТАМИНАЦИЯ

ДЛЯ ИСТИННОЙ БАКТЕРИЕМИИ ХАРАКТЕРНЫ:

- Рост облигатных патогенов**
- Наличие факторов риска и сопутствующей патологии**

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**

БАКТЕРИЕМИЯ ИЛИ КОНТАМИНАЦИЯ ?

Коагулазонегативные стафилококки (КНС), дифтероиды (коринеформные грамположительные палочки), зеленящие стрептококки, *Bacillus spp.* – комменсалы кожи – контаминация образца

Повторное выделение микроорганизма одного и того же вида у пациента в последовательных образцах – оценка клинического значения: эндокардит, инфекции эндопротезов и т.п.

Заключение

- **Сокращение времени, необходимого для получения микробиологических результатов (без ущерба качеству конечного результата исследования): внедрение новых методов работы, максимальная стандартизация процесса**
- **Качество: критерии оценки клинической значимости микроорганизма; недопустим механический подход: посев крови – рост– идентификация, определение АБГ– выдача ответа».**
- **Необходим осмысленный анализ полученных результатов. Врач-микробиолог обязан определить, является ли выделенный из данного образца крови микроорганизм (или несколько микроорганизмов) истинным возбудителем ИК или это следствие контаминации исследуемого образца крови на каком-либо этапе (или колонизация катетера)**

Заключение

- ❖ Микробный пейзаж в медицинской организации, это результат процессов взаимодействия микроорганизмов и макроорганизма, которые существуют в многопрофильном стационаре, учитывая влияния разнообразных факторов окружающей среды.**
- ❖ Постоянный микробиологический мониторинг дает возможность отслеживать изменения в структуре возбудителей ИСМП, а также тенденции в развитии устойчивости к АБП, выявление госпитальных штаммов, которые представляют серьезную угрозу для пациентов и развитию внутрибольничных инфекций**

Приказ № 535

- **Этиология**
- **Объем крови 5-10 мл**
- **Способ забора крови, Обработка кожи пациента, руки мед/персонала**
- **Инвазивные флаконы, термостат ежедневный просмотр, инкубация с контрольными посевами и микроскопией на 3-5 и 8 день. При отсутствии роста ответ на 9-10 день**
- **Повторные посевы рекомендовались без описания условий**
- **Отсутствие критериев оценки клинической значимости выделенного микроорганизма, эпизода бактериемии**

- **2021 год**
- **Этиология**
- **Объем крови 20-60 мл**
- **Способ забора крови, обработка кожи пациента, флаконов, руки мед/персонала**
- **Коммерческие флаконы, геманализаторы**
- **Отрицательный ответ на 5-7 сут. без микроскопии и контрольных посевов**
- **Повторные посевы обязательны с описанием условий, кратность гемокультур**
- **Критерии оценки клинической значимости выделенного микроорганизма, эпизода бактериемии**
- **Экспресс-методы**



Благодарю за внимание