

Возможности микробиологической лаборатории в диагностике септических состояний

Поликарпова С. В. к.м.н. заведующая бактериологической
лабораторией ГКБ № 15 им. О М. Филатова, Москва

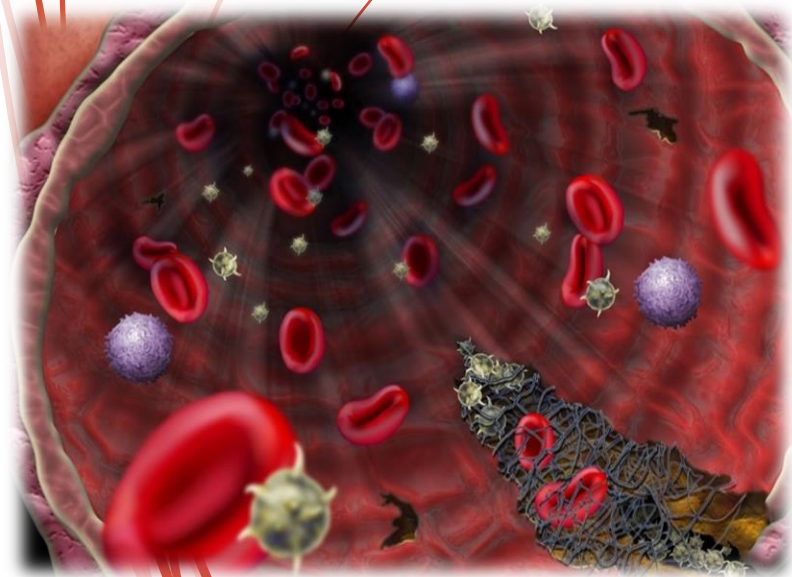
**Самарский форум лабораторной медицины: современные подходы к
организации лабораторной службы, повышению качества и доступности
клинических лабораторных исследований**

16 марта 2018г

Самара

Лабораторная диагностика бактериемии и
фунгемии остается одной из наиболее
важных задач клинической
микробиологической лаборатории...

...несмотря на все недостатки,
гемокультивирование остается
несовершенным **ЗОЛОТЫМ СТАНДАРТОМ**
лабораторной диагностики бактериемии и
фунгемии



Клиническая значимость исследования крови

3

Подтверждение инфекционной этиологии болезни пациента

Выявление и идентификация этиологического агента

Определение чувствительности выделенного микроорганизма - обоснование выбора схемы антибиотикотерапии

Оценка эффективности терапии



Важность гемокультивирования



Существенными причинами высокой летальности вследствие инфекций кровотока являются

- **ПОЗДНЯЯ ДИАГНОСТИКА** (в т. ч. микробиологическая)
- **неадекватное эмпирическое лечение** антибиотиками

Быстрая и адекватная АБТ увеличивает шансы на выживание

Каждый час задержки введения антибиотика сопровождается снижением выживаемости в среднем на 7,6% в первые 6 часов после развития СИМПТОМОВ

Wolk, D. & Fiorello, A.B., ClinMicrobiolNewslett32, p.41-49, 2010

От чего зависит успех гемокультивирования ?

5

Оптимальный отбор образцов –
преаналитический этап является ключевым для
достижения наилучших результатов



- Показания для проведения бактериологического исследования крови
- Время взятия образцов крови
- Правила взятия крови
- Объем пробы для исследования
- Количество флаконов на 1 больного
- Транспортировка проб в лабораторию

Показания для проведения бактериологического исследования крови

Surviving Sepsis
Campaign

**Для всех
категорий
пациентов**

1. Кто удовлетворяет критериям, свидетельствующим о начале развития сепсиса у взрослых пациентов
2. С тяжелой пневмонией
3. С лихорадкой или лихорадкой в анамнезе и подозрением на нейтропению или с доказанной нейтропенией
4. С лихорадкой или доказанной инфекцией и наличием устройств сосудистого доступа
5. С подозрением на эндокардит

Назначение исследования крови на гемокультуру

7

- Врачи значительно переоценивают вероятность наличия инфекции кровотока для своих пациентов:

в большинстве случаев только от 5 до 13% назначенных и взятых проб на гемокультуру оказываются положительными

из этих проб от 20 до 56% составляют контаминированные пробы

Когда должно проводиться взятие крови на гемокультивирование

8

Как можно раньше после появления клинических симптомов

До назначения антибактериальной терапии

Если антибиотикотерапия начата-непосредственно перед введением следующей дозы антибиотика

Если гемокультура отрицательная через 24ч инкубации флаконов при сохраняющемся у пациента подозрении на сепсис



Правила взятия крови на гемокультуру

9



Подготовить
всё
необходимое
Проверить
срок годности



Дезинфекция
рук
персонала
Дезинфекция
флакона
Одноразовые
перчатки
Экспозиция



Дезинфекция
места
венепункции
Экспозиция



Применение
устройств
типа
«бабочка»
NB! Первым
наполняют
аэробный
флакон

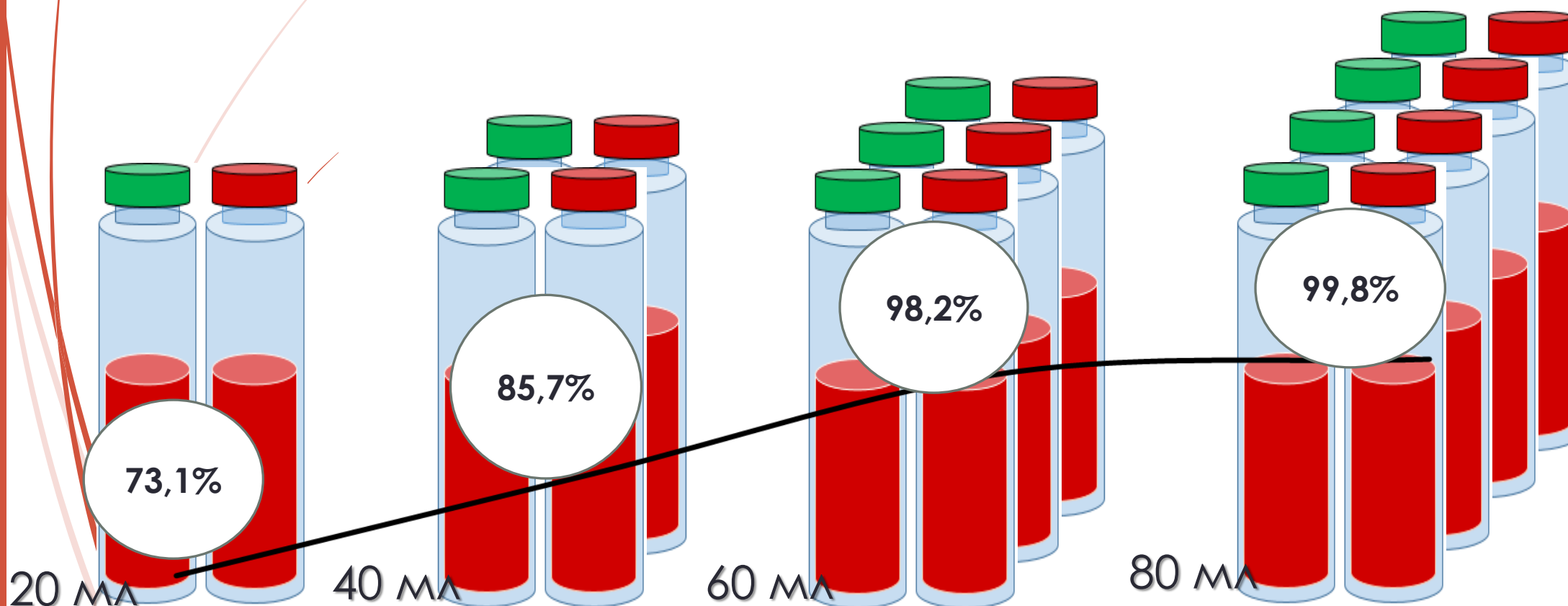


Только
вертикальное
расположение
флаконов с
пробами
NB! Первым
наполняют
анаэробный
флакон

Сколько проб крови необходимо собирать?

10

Объем - это единственная наиболее важная переменная при выявлении bacteriemia



Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. 2007

Detection of bloodstream infections in adults: how many cultures are needed? J Clin Microbiol 45:3546–3548.

Объем крови в педиатрической практике

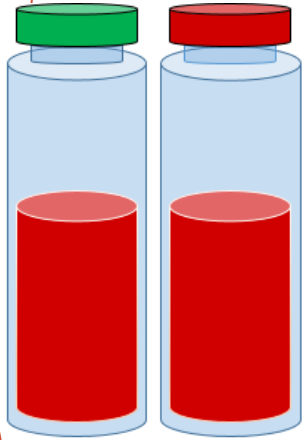
11

1. Объем не должен превышать 1% от объема циркулирующей крови пациента (CLSI, M47)
2. В индивидуальных случаях объем может основываться на массе тела и гематокрите пациента
3. Приемлемый объем культуры крови

1 месяц	0,5мл
От 1 до 36 месяцев	1 мл
Более 36 месяцев	4,0 мл

Когда использовать флаконы для анаэробов?

12



➔ Обязательно по клиническим показаниям:

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

- 2 анаэробных флакона

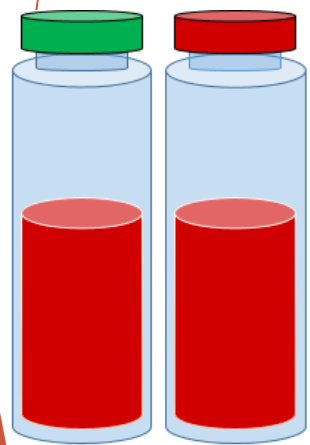
положительных- 12,2%

- 2 флакона аэробный + анаэробный

положительных - 18,6%

Когда использовать флаконы для анаэробов?

13



➔ Добавление анаэробного флакона повышает выявление

- *S. aureus* на 50%
- *Enterococcus* spp. на 60%
- *Enterobacteriaceae* более чем в 2 раза (кроме *E. coli*)

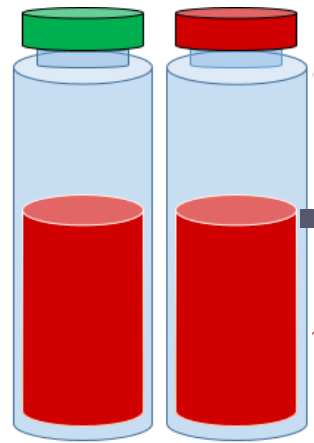


ВСЕГДА

Внимание к «одиночным» наборам

14

«Одиночный» набор - 1 набор/2 флакона в течение 24ч



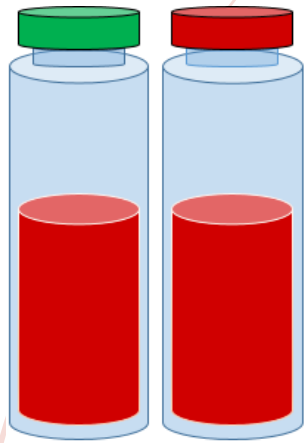
- Различные причины одиночных наборов (разрешение лихорадки, плохие вены, перевод в другое отделение и несогласованность между отделениями)
 - Часто флаконы, которые должны содержать 8-10мл крови недостаточно заполнены (менее 8мл)
 - Реже во флаконы засевают более 10мл крови

Неправильное заполнение флаконов+ высокий %
одиночных наборов

Недостаточный объем крови для диагностики инфекций
кровотока

Трудности интерпретации результатов исследования «одиночных» наборов

15



- Трудно дифференцировать патоген от контаминанта
- Интерпретация положительной одиночной пробы – до 20-56% положительных проб

Как следствие:

- Более длительное пребывание в стационаре
- Бесполезное назначение антибактериальных или противогрибковых препаратов
- Дополнительные исследования (эхокардиография, повторный отбор проб)

Качество заполнения флаконов для гемокультуры

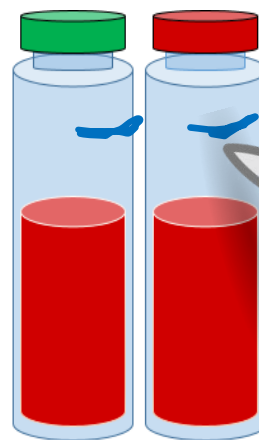
Under-filled bottles		Over-filled bottles		Country
Threshold (mL)	Rate (%)	Threshold (mL)	Rate (%)	
< 8	65	>10	13.0	France
< 8	26.2–36.0	>12	7.6-12.8	Belgium
< 8	55.3	–	–	The Netherlands
< 8	28.0	>12	23.2	Belgium
< 8	97.7	>10	0.2	South Korea
< 7	28.3	>10	13.3	Taiwan
< 5	20	–	–	USA
< 3	48.4	–	–	South Korea

Как контролировать объем?

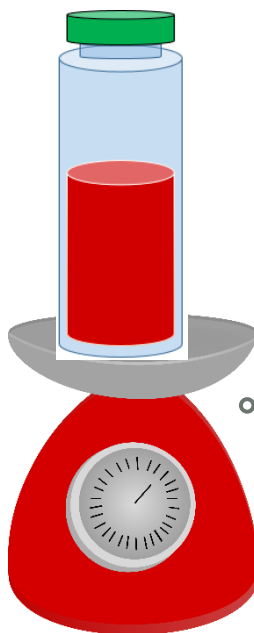
17

- Взрослые и дети старше 12 лет:
от 20 до 30 мл в одной пробе

- Соотношение образца со средой 1:5 – 1:10



Нарисуйте
метки
на флаконах



Взвесьте образец
до и после...

Рекомендации по оптимальному объему крови

18



Общественное здравоохранение Англии (Public Health England, 2014)

4 флакона / 2 комплекта (20-30мл)



Французское общество микробиологов (French Society of Microbiology)

4-6 флаконов / 2-3 комплекта



Европейские рекомендации (European guidelines, 2012)

4-6 флаконов / 2-3 комплекта



Американский колледж неотложной медицины и общество инфекционных заболеваний Америки (American College of Critical Care Medicine (ACCM) and Infectious Diseases Society of America (IDSA) 6-8 флаконов / 3-4 комплекта



Американское общество микробиологии (American Society of Microbiology (ASM) 2013)

от 4 флаконов / 2 комплектов (20-30мл) до 8 флаконов / 4 комплектов

Транспортировка образца в лабораторию

19



Доставка в лабораторию – немедленно!

Хранение зависит от типа флакона

Флаконы с бульоном для автоматизированных систем – при комнатной температуре, хранение более 48ч недопустимо

Флаконы для ручных методик – возможно начать инкубирование в термостате до момента доставки в лабораторию



Аналитический этап

20

- Какие среды использовать
- Методы диагностики бактериемии/фунгемии: автоматизированные системы или «ручные» методы?
- Длительность инкубации
- Оценка этиологического значения выделенных микроорганизмов
- Определение чувствительности к антимикробным препаратам и интерпретация результатов

Какую питательную среду использовать?

- Состав питательной среды: основа -триптиказо-соевый бульон + добавки: антикоагулянтны и адсорбенты - СПС (полианетол сульфат натрий) 0,03%, цитрат натрия
- Рекомендуется включать в каждый стандартный комплект для гемокультивирования парные флаконы для посева в аэробных и анаэробных условиях
- Если анаэробный флакон не используется, его следует всегда заменять дополнительным аэробным флаконом, чтобы гарантировать посев достаточного объема крови



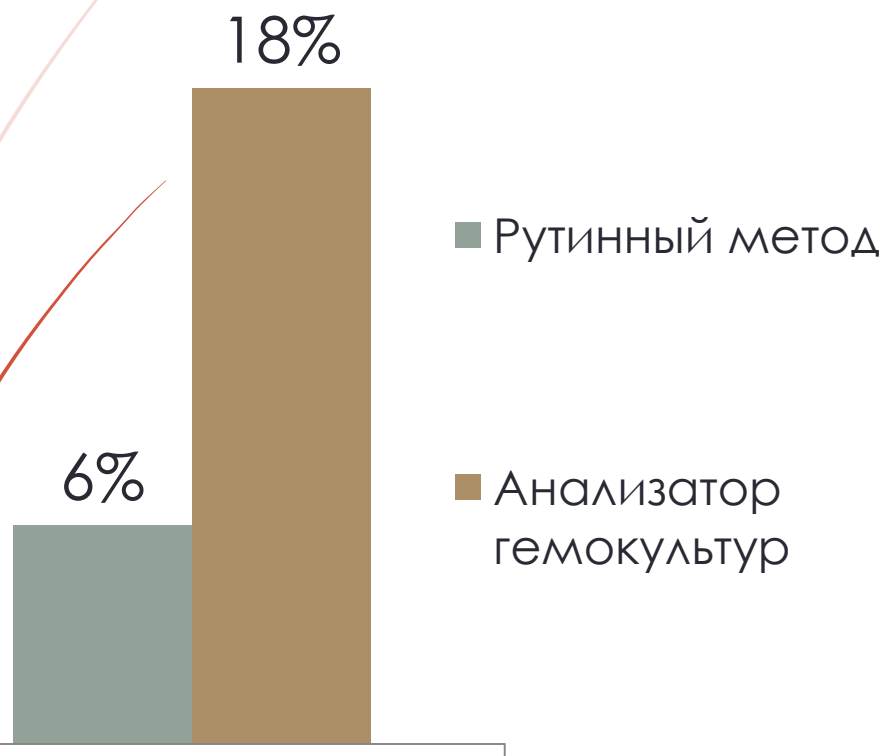
Среда для гемокультивирования должна быть:

- Достаточно **чувствительной** : обеспечивать рост большинства микроорганизмов (в том числе микроорганизмы с повышенными питательными потребностями)
- **Универсальной** : давать возможность получения результатов при посеве образцов всех типов (полученных от взрослых и у детей, от пациентов, получающих антибиотикотерапию, образцов стерильных жидкостей организма и т.д.)



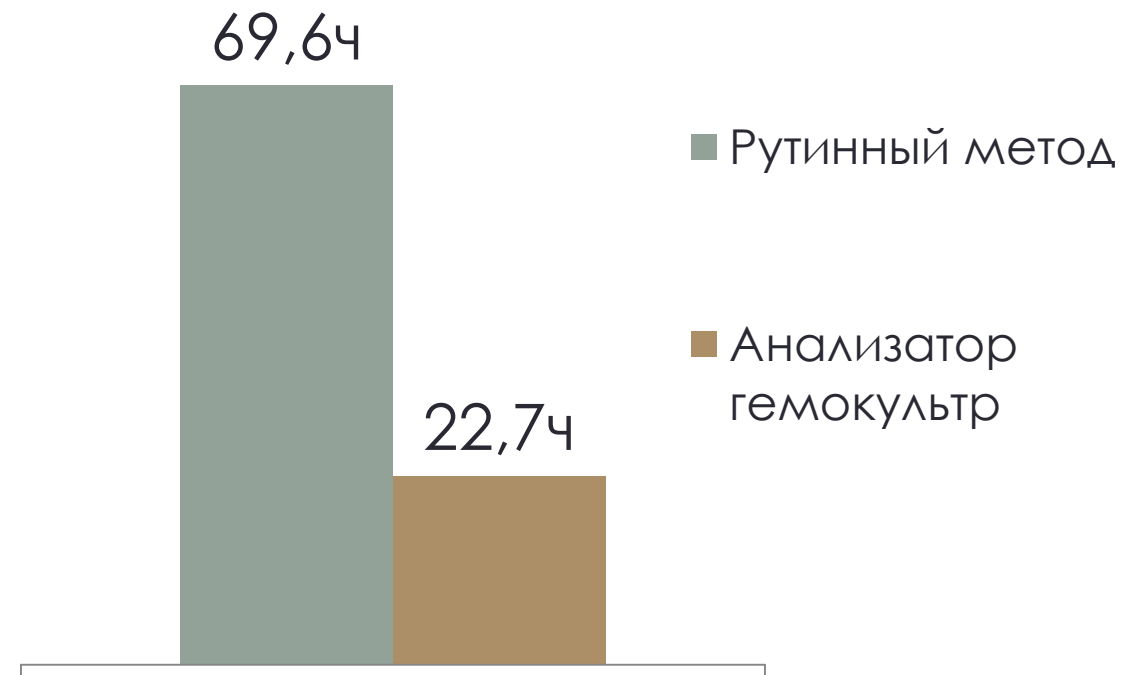
Использование анализатора для диагностики бактериемии и рутинных методов

Вероятность обнаружения
бактериемии



Malini R. Capoor et al., 2006

Скорость обнаружения
бактериемии

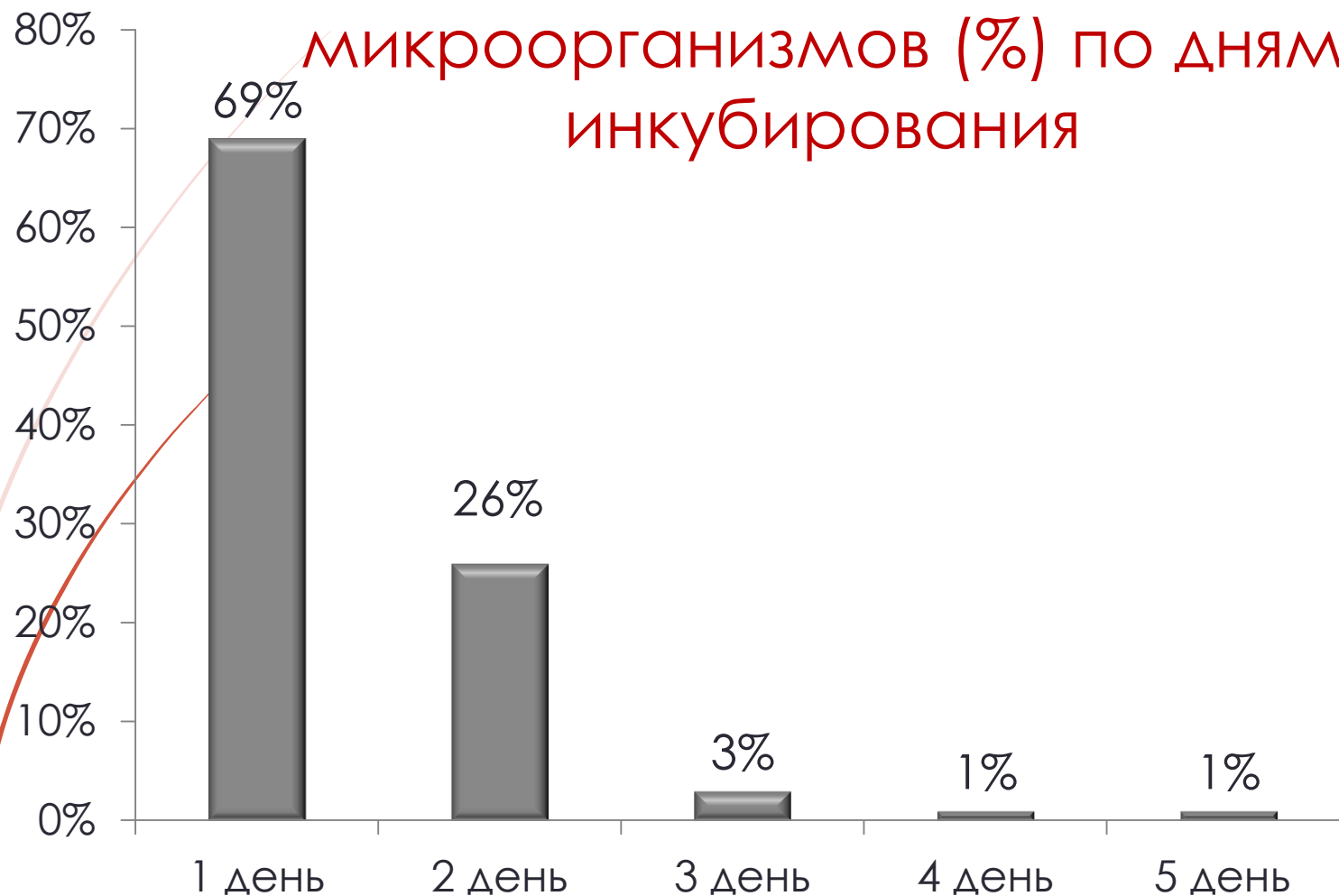


Черненькая Т.В. 2003

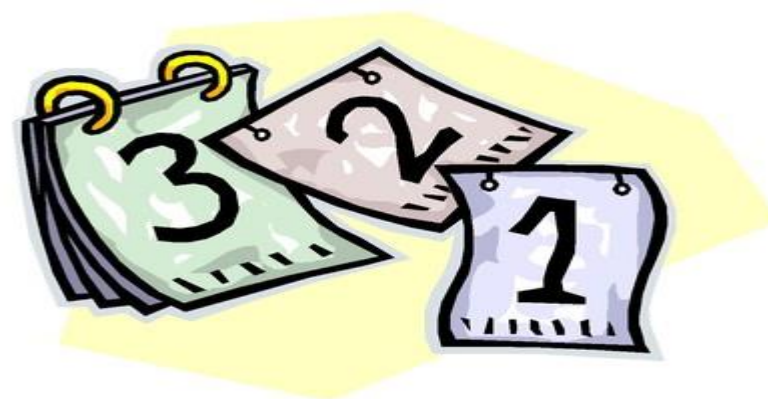
Длительность инкубации

24

Количество значимых
микроорганизмов (%) по дням
инкубирования



- 98% клинически значимых микроорганизмов были выделены в течение первых 3 дней инкубации
- 95%- в течение первых 2 дней инкубации

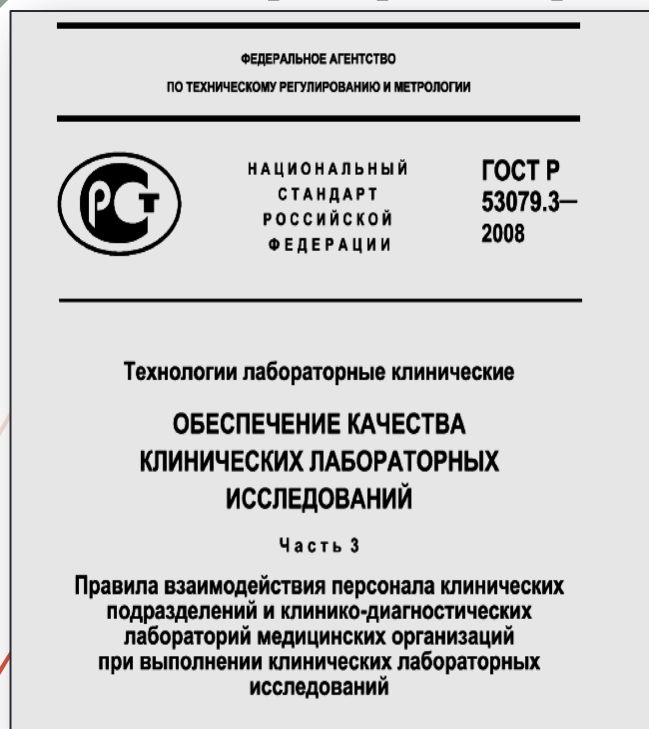


Bourdeau PP et al. Routine incubation of BacT/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. J Clin Microbiol. 2005; 43: 2506-2509

Причины отрицательных результатов исследования крови:

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

Первые действия – микроскопия и информирование клинических специалистов



ГОСТ Р 53079.3—2008

Т а б л и ц а 1 — Лабораторные исследования, выполняемые по жизненным показаниям, и критические значения результатов лабораторных анализов, требующие немедленных действий

Показатель	Критическое значение
------------	----------------------

Микробиология	
Культура крови	положительная
Окраска по Граму ликвора и других жидкостей (плевральной, синовиальной)	положительная

4.7.3 Критические значения результатов лабораторных анализов, выполняемых по жизненным показаниям

При получении в лаборатории значений результатов лабораторных исследований, отражающих изменения деятельности физиологических систем, угрожающие жизни пациента (таблица 1), лабораторный персонал должен немедленно информировать об этом клинический персонал для принятия необходимых мер лечения.

Интерпретация результатов: бактериемия или контаминация?

Истинная бактериемия:

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

Контаминация:

- Продолжительный период инкубации до роста микроорганизмов
- Отрицательный рост в последовательных образцах
- Рост микроорганизмов в ассоциациях
- Нет клинических признаков сепсиса
- Рост нормальной микрофлоры кожных покровов (КНС, дифтероидов....)

Ключевые факторы успеха



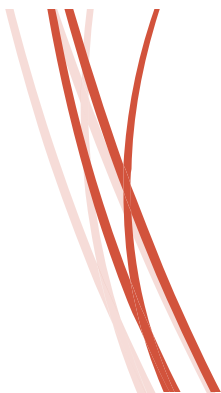
Образцы крови для бактериологического исследования должны быть взяты:

- В правильном (нужном) случае
- В правильное (нужное) время
- Правильным образом

Ключевые факторы успеха

29

- 
- Отбирать 2 или 3 набора флаконов (аэробный + анаэробный) на эпизод
 - Избегать контаминации флаконов с культурами крови
 - Отбирать соответствующие объемы крови:
 - взрослые 10мл (рекомендуемый и оптимальный объем на флакон)
 - дети до 4 мл в зависимости от веса и возраста
 - Быстрая транспортировка флаконов с культурами крови в лабораторию
 - Предоставление результатов клиницистам у установленные сроки



Поликарпова С.В. spolikarpova@mail.ru