

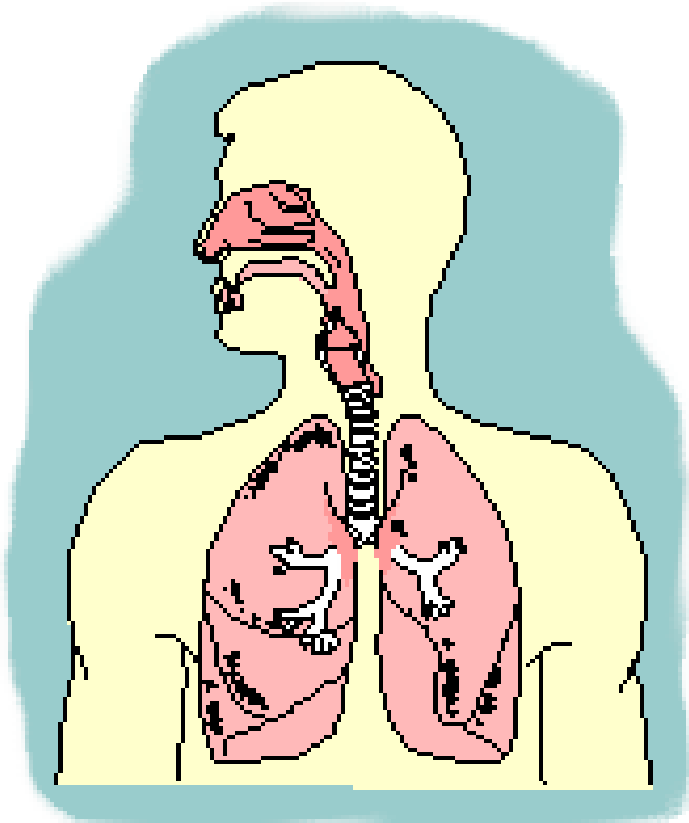
INFEKCIJE RESPIRATORNOG SISTEMA

TEME:

- Mehanizmi odbrane od infekcije
- Fiziološka mikroflora respiratornog trakta
- Odnos mikroorganizma i domaćina
- Najčešći uzročnici infekcija respiratornog trakta

RESPIRATORNI SISTEM

Prirodna barijera:



- turbulentno kretanje vazduha u nosu
- temperatura od 33°C
- trepljasti (cilijarni) epitel
- mukozni sekret
- sekretorna IgA
- tonzile, adenoidno tkivo u subepitelu nazofarinksa i traheje
- alveolarni makrofagi

FIZIOLOŠKA MIKROFLORA

NOS

- *Staphylococcus* spp: *S. aureus*, *S. epidermidis*
- difteroidi
- *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* – u malom broju u nazofarinksu

OROFARINKS

- *S. aureus*, *S. epidermidis*
- viridans streptokoke
- *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria* spp.
- *Candida* sp.

Tranzitorna mikroflora – kontaminanti:
plesni, kvasnice idr.

ODNOS MIKROORGANIZMA I DOMAĆINA

- **ADHERENCIJA**

S. pyogenes - proteini F i M

B. pertussis - hemagglutinin

Candida sp. – germinativne tube, manoproteini

- **TOKSINI:** difterični, pertusisni toxin

- **ENZIMI:** proteinaza, fosfolipaza, alkalna fosfataza

- **INTRACELULARNI m.o:** virusi, hlamidije

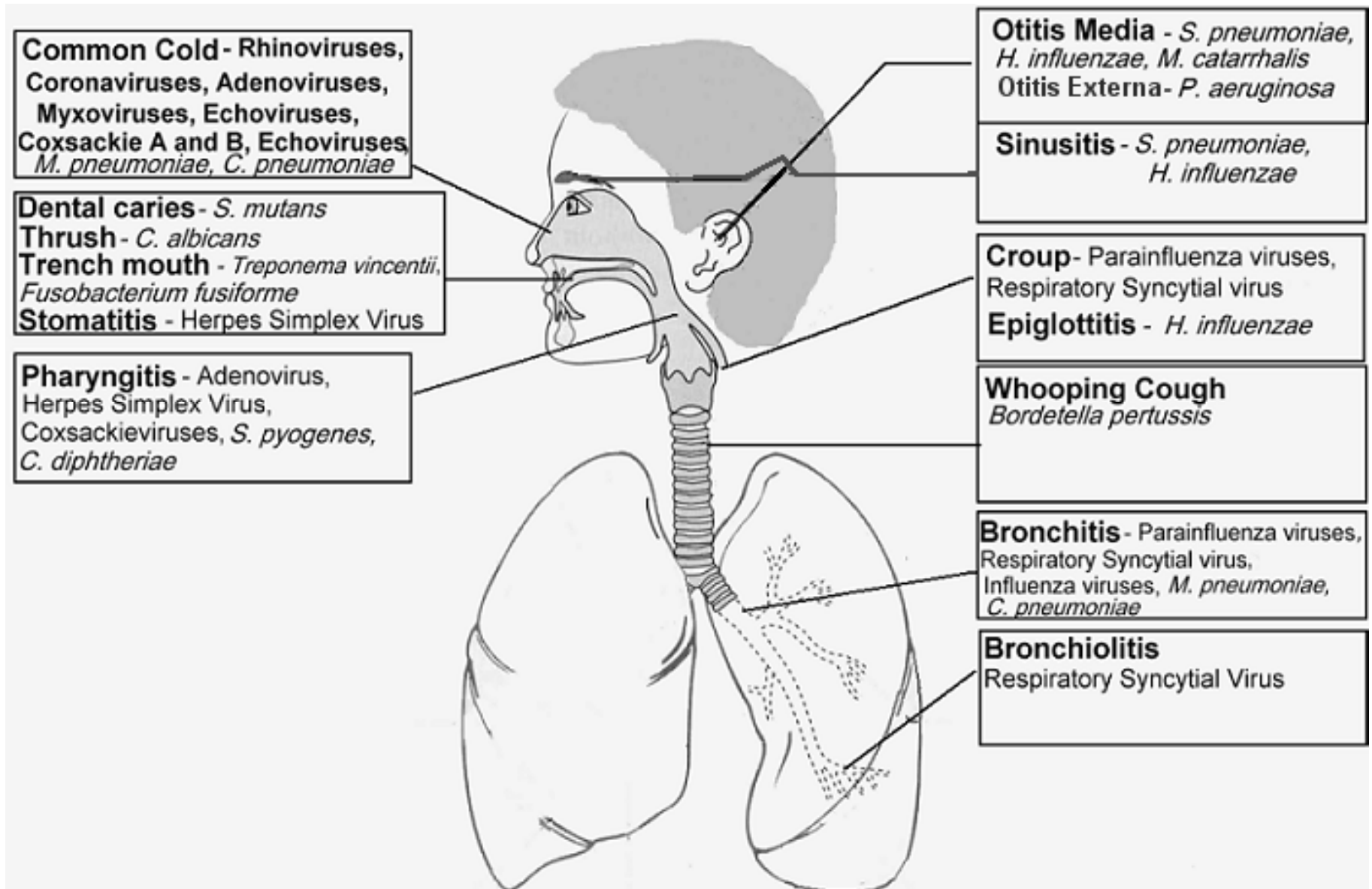
- **KAPSULA**

S. pneumoniae, *H. influenzae*, *Cryptococcus neoformans*

- **CITOCIDNI EFEKAT** virusa

- **IMUNOPATOLOGIJA**

Najvažniji uzročnici infekcija respiratornog trakta



INFEKCIJE GORNJIH PARTIJA RESPIRATORNOG TRAKTA

Infekcija	Najvažniji uzročnici	Laboratorijska dijagnoza
Rhinitis (common cold)	Rhinoviruses Coronaviruses Inflenzaviruses Adenoviruses	ne radi se
Sinusitis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> (deca) <i>Streptococcus pyogenes</i> retko anaerobi	mikroskopija kultura
	Inflenzaviruses Adenoviruses	Serologija
	Rhinoviruses Coronaviruses	ne radi se
Pharyngitis/tonsillitis/ gingivitis/stomatitis		
Virusi	Adenoviruses Inflenzaviruses RS virus Rhinoviruses Coronaviruses	Izolacija - ako je potrebna serologija
Herpangina	Coxsackie viruses, group A	Izolacija - ako je potrebna
Gingivitis/stomatitis	Herpes simplex virus	Izolacija Serologija
Infektivna mononukleoza	Epstein-Barr virus (EBV) Cytomegalovirus (CMV)	Serologija Izolacija serologija

INFEKCIJE GORNJIH PARTIJA RESPIRATORNOG TRAKTA (2)

Pharyngitis Bakterije	<i>Streptococcus pyogenes</i> (retko grupe B, C ili G)	kultura
Plaut-Vincentova angina	<i>Treponema vincentii</i> + mešana anaerobna flora	Mikroskopija
Akutni nekrotični ulcerozni gingivostomatitis	<i>Treponema vincentii</i> + mešana anaerobna flora	Mikroskopija
Diphtheria	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	kultura
Laryngotracheobronchitis (krup)	Parainfluenza viruses Influenza viruses Respiratory syncytial virus Adenoviruses Enteroviruses	Izolacija serologija
	Rhinoviruses	ne radi se

INFEKCIJE DONJIH PARTIJA RESPIRATORNOG TRAKTA

Infekcija	Najvažniji uzročnici	Laboratorijska diagnoza
Akutni bronhitis. Akutni bronhiolitis (mala deca)	Respiratorni sincicijalni virus Parainfluenza viruses Tipe A influenza viruses Adenoviruses	Serologijay,
	Rhinoviruses	ne radi se
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Serologija
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Serologija
Pertussis	<i>Bordetella pertussis</i>	kultura; napomena za uzimanje I slanje uzorka DIF
Akutna egzacerbacija hronične opstruktivne bolesti pluća	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>	kultura
Tuberculosis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Mikroskopija I kultura (3–6–8 nedelja)

INFEKCIJE DONJIH PARTIJA RESPIRATORNOG TRAKTA (2)

Pneumonia Virusna (15–20%) obično vanbolnička (community acquired)	Parainfluenza viruses (deca) Respiratorni sincicijalni virus (deca) Influenza viruses Adenoviruses	Serologija izolacija
	Epstein-Barr virus (EBV)	Serologija
	Cytomegalovirus (CMV) (kod transplantiranih) Virus malih boginja	Serologija kultura ćelija za CMV Antigen ili DNA test Serologija
	Hantavirusi sa plućnim sindromom	Serologija
	Enterovirusi	Izolacija
	Rhinoviruses	ne radi se

INFEKCIJE DONJIH PARTIJA RESPIRATORNOG TRAKTA (3)

Pneumonije Bakterije (80–90%) “Community-acquired pneumonia” / vanbolničke	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (30 %) <i>Haemophilus influenzae</i> (5%) <i>Staphylococcus aureus</i> (5%) <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i> Mešana anaerobna flora (aspiraciona pneumonija)	Mikroskopija i kultura Transport za anaerobe !!!
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (10%)	Serologija
	<i>Coxiella burnetii</i>	Serologija
	<i>Chlamydia psittaci</i>	Serologija
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Serologija
Bolničke pneumonije	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	kultura

INFEKCIJE DONJIH PARTIJA RESPIRATORNOG TRAKTA (4)

Pneumonije Gljive	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Coccidioides immitis</i> <i>Blastomyces</i> spp. <i>Mucorales</i>	Pregled direktnog preparata (nativni, bojeni, kalkofluor) i kultivisanje, najbolje transtrahealnog ili bronhoalveolarnog aspirata (lavaža), bronhoalveolarnog ispirka ili biopsije pluća. Serologija /detekcija Ag (galaktomanan, beta-glukan) i/ili At
	<i>Pneumocystis carinii</i> (<i>Pneumocystis carinii</i> pneumonia -PCP) česta kod pacijenata sa AIDS –om ili drugih imunodeficijentnih	Pregled direktnog bojenog preparata: biopsija pluća, indukovani sputum ili bronhijalni ispirak; detekcija Ag (imunofluorescencija) ili DNA analiza (PCR)
Protozoa	<i>Microspora (Microsporidia)</i>	Kao za <i>P. carinii</i>
	<i>Toxoplasma gondii</i>	Serologija
Helminti	<i>Echinococcus</i> spp.	Serologija, direktan preparat sputuma
	<i>Schistosoma</i> spp.	Serologija; jaja u stolici / urinu
	<i>Toxocara canis</i>	Nalaz larvi (patohistološki), serologija
	<i>Ascaris lumbricoides</i> (larve)	Serologija (specifična IgE) (jaja u stolici)
	<i>Paragonimus</i> spp.	Jaja u stolici i sputumu; serologija

INFEKCIJE DONJIH PARTIJA RESPIRATORNOG TRAKTA (5)

SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome)	SARS Corona Virus	Reverse transcriptase PCR (RT-PCR) u uzorcima RT (brisevi, ispirak idr) Serologija (ELISA).
Empyema	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> Brojne druge bakterije i gljive	Direktan preparat i kultivisanje uzoraka – gnoja dobijenog pleuralnom punkcijom
Plućni apsces Nekrotizirajuća pneumonija	Obično endogene infekcije izazvane Gram negativnim ili Gram-positivnim bakterijama mešanom anaerobnom florom, redje aerobima	Direktan preparat i kultivisanje transtrahealnog ili or bronhijalnog aspirata/ ispirka, bronchoalveolarnog ispirka ili plućne biopsije. Za anaerobe je značajno koristiti transportne medijume
	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Mucorales</i>	Direktan preparat i kultivisanje, Serologija

UZRAS

NAJVEROVATNIJI UZROČNICI

Novorođenčad
(0-1 meseci)

Escherichia coli, Group B *Streptococcus*

Odojčad (1-6 m)

Chlamydia trachomatis , Respiratory Syncytial Virus

Deca (6 m-5 godina)

Respiratory Syncytial Virus, Parainfluenza Viruses

Deca (5-15 godina)

Mycoplasma pneumoniae , Influenza Virus Type A

Mladje odrasle osobe
(16-30 godina)

Mycoplasma pneumoniae, *Streptococcus pneumoniae*

Starije odrasle osobe

Streptococcus pneumoniae, *Haemophilus influenzae*

TiP PNEUMONIJE

ČEŠĆI UZROČNICI

RETKI UZROČNICI

Community acquired

S. pneumoniae, *H. influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*

Staphylococcus, *M. catarrhalis*, *N. meningitidis*

Primarno atipična

Mycoplasma pneumoniae, Respiratory viruses, Influenza, *Chlamydia pneumoniae*

Adenovirus, *C. psittaci*, *C. trachomatis*, *Legionella* spp., primarna tuberkuloza, akutne gljivične pneumonije (npr. akutna invazivna aspergiloza)

Nosocomialna
Pneumonija

Gram-negative aerobic bacilli (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*), *S. aureus*, Anaerobic bacteria

Legionella, *S. pneumoniae*

Hematogena
Pneumonija

Staphylococcus spp., *Streptococcus* spp.

Gram-negativni aerobni bacili

Oportunistička
Pneumonija

Standardne bakterije, *Pneumocystis jirovecii* (ranije *Pneumocystis carinii*), Cytomegalovirus, HSV, *Nocardia*, Oportunističke gljive
• *Candida*
• *Mucor*
• *Aspergillus*

Legionella, *Listeria*, *Histoplasma*, *Coccidioides*

Pneumonija
vezane za specijalnu
izloženost

Akutna histoplasmosis, coccidioidomycosis, *C. psittaci*, *M. tuberculosis*, Radiation

B. mallei, *B. pseudomallei*, *Coxiella burnetii*, *Y. pestis*, *P. multocida*, *Paracoccidioides*

Aspiracione
Pneumonije

Prevotella melaninogenus, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, i drugi anaerobi, *Staphylococcus*, Gram-negativni aerobni bacili

Lipidni i peptični pneumonitisi

Pneumonije koje nastaju kao rezultat neubičajene izloženosti

BOLEST	UZROČNIK	IZVOR INFEKCIJE
Psittacosis	<i>Chlamydia psittaci</i>	Inficirane ptice
Q groznica, Histoplasmosis	<i>Coxiella burnetii</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i>	Inficirane ptice, slepi miševi, kontaminirano zemljište
Coccidioidomycosis, Cryptococcosis, Kuga	<i>Coccidioides immitis</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Yersinia pestis</i>	Zemljište, golubovi, inficirani vektori, životinje
Melioidosis, Tularemia	<i>Burkholderia pseudomallei</i> , <i>Francisella tularensis</i>	Zemljište, inficirani vektri

KLINIČKI UZORCI IZ RESPIRATORNOG TRAKTA

- **SPUTUM**

- prvi jutarnji uzorak, uspiranje usne duplje sterilnim FR, 24-časovni sputum samo izuzetno (npr. paraziti)
- iz dubokih partija RT (iskašljaj, ne saliva ili sadržaj iz nosa)
- zasejavaju se i preparat pravi od delova uzorka koji sadrži čvrste žilave strukture (kazeozni materijal, cilindri) ili purulentan sadržaj
- ne ostavljati sputum na sobnoj temperaturi dugo jer dolazi do likvefakcije
- hemoragični delovi sputuma obično sadrže malo tuberkuloznih bacila zato što je kontakt krvi sa lezijama kratkotrajan pre ekspektoracije
- sputum tretiran NaOH (zbog dekontaminacije, u Dg tuberkuloze) nije pogodan za mikološki pregled jer uništava većinu gljiva, mukolitički agensi (N-acetil L-cistein) mogu da se koriste
- oprez od kontaminacije – KONTAMINANTI!

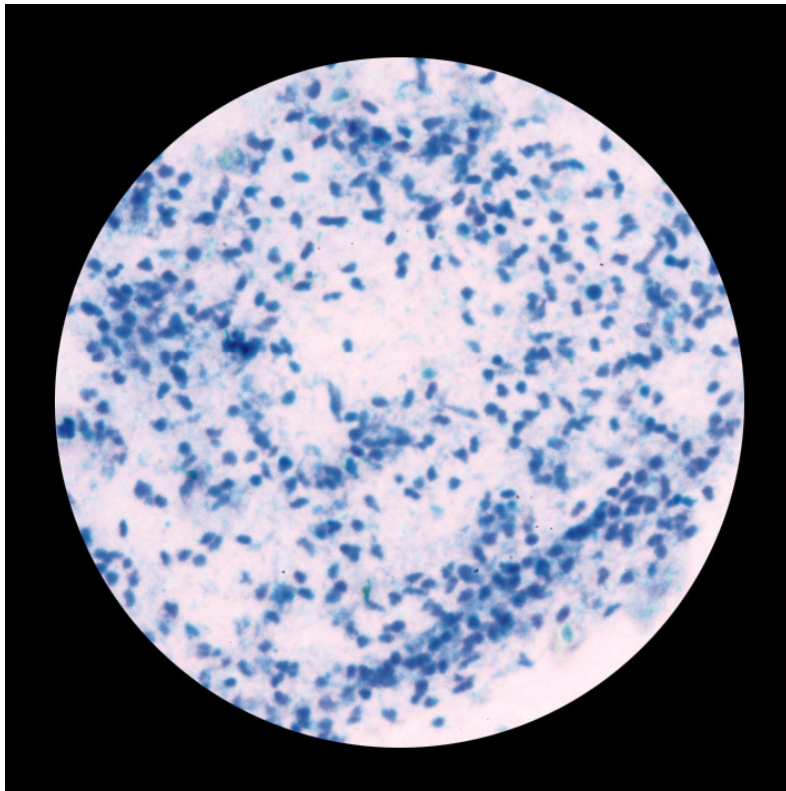
KLINIČKI UZORCI IZ RESPIRATORNOG TRAKTA

- **INDUKOVANI SPUTUM**
 - provokacija iskašljavanja primenom aerosola NaCl
- **BRONHOALVEOLARNI LAVAŽ (ISPIRAK)- BAL**
- **TRANSTRAHEALNA ASPIRACIJA**
- **TRANSTRAHEALNI BRAŠING (četkanje)**
- **PLEURALNA PUNKCIJA**
- **BIOPSIJA TKIVA (PLUĆNOG)**
 - OTVORENA BIOPSIJA
 - TRANSBRONHIJALNA BIOPSIJA
 - PERKUTANA BIOPSIJA
- **HEMOKULTURA**
- **NAZOFARINGEALNI ISPIRAK ILI BRIS – za Dg virusnih infekcija**

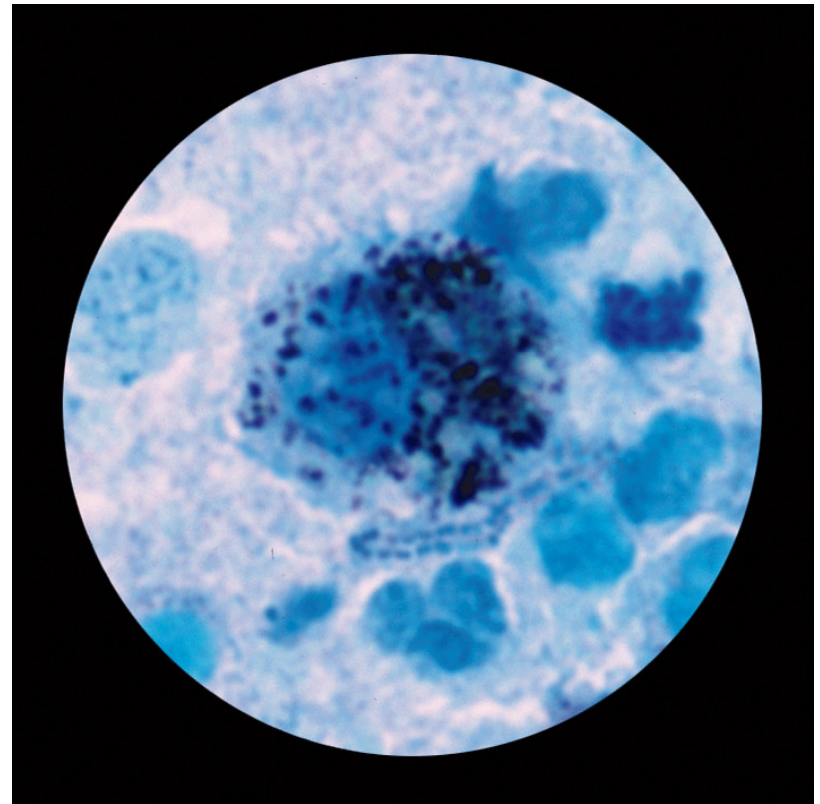
KVALITET SPUTUMA

- Ispituje se određivanjem broja polimorfonuklearnih leukocita i ćelija pločastog epitela orofarinksa mikroskopiranjem sa malim uveličanjem (x10)
- Uzorci sa više od 25 polimorfonukleara i manje od 10 epitelnih ćelija na jednom mikroskopskom polju mogu se smatrati nekontaminiranim i pogodnim za kultivisanje.
- Uzorak sa više od 25 epitelnih ćelija na jednom mikroskopskom polju ne bi trebalo kultivisati

Prisustvo leukocita

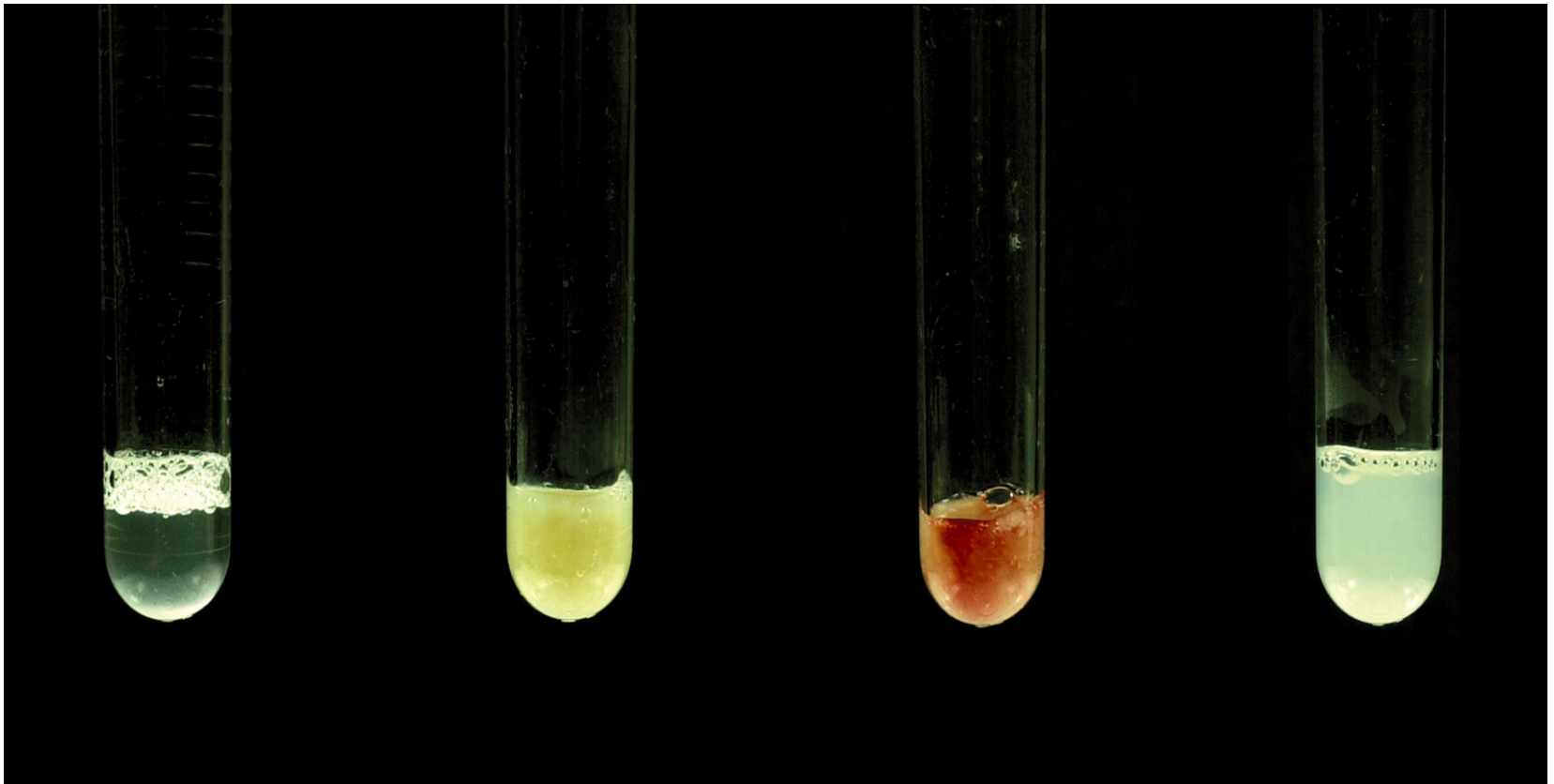


leukociti x 100



makrofagi x 1 000

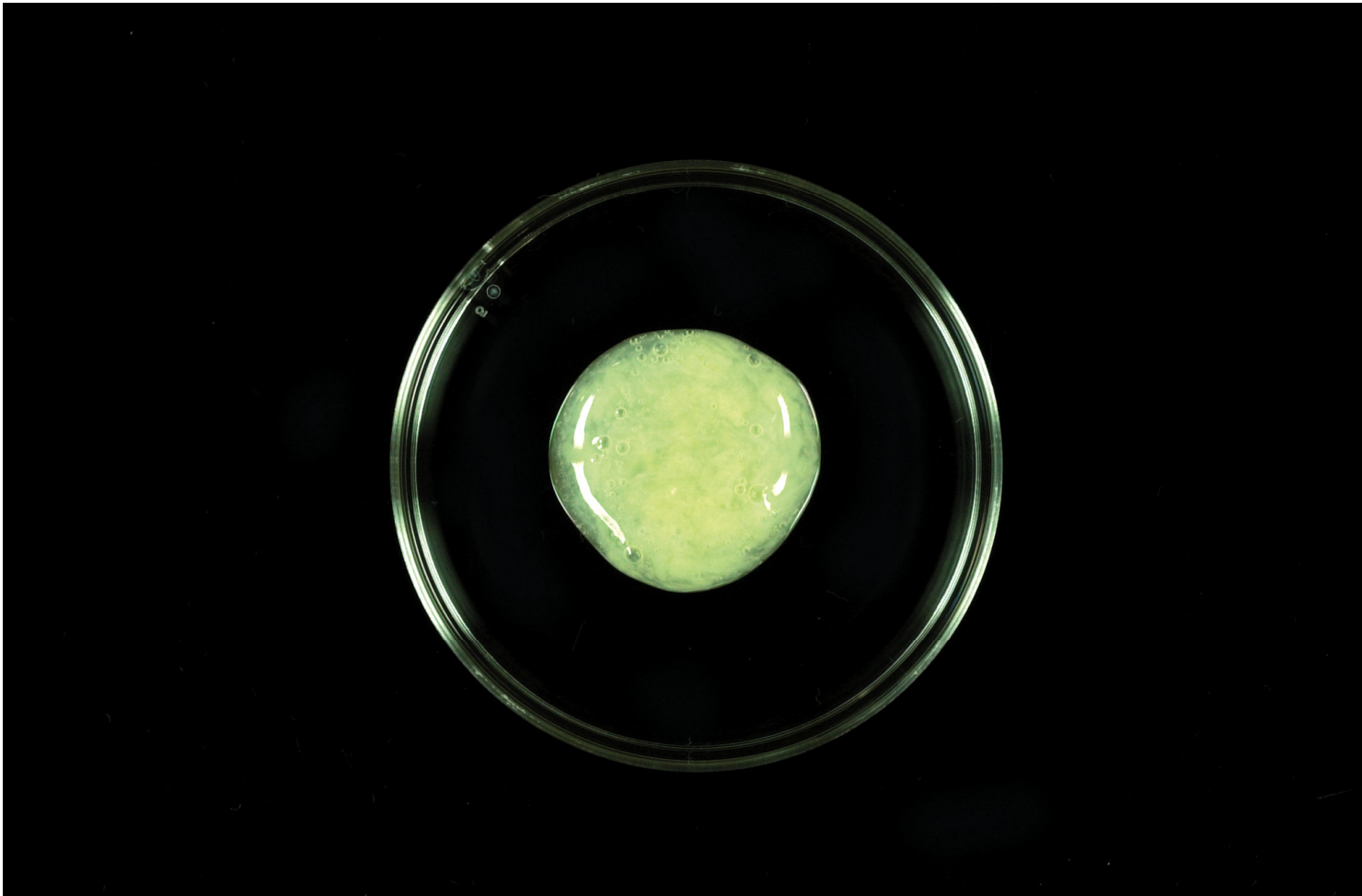
Izgled sputuma



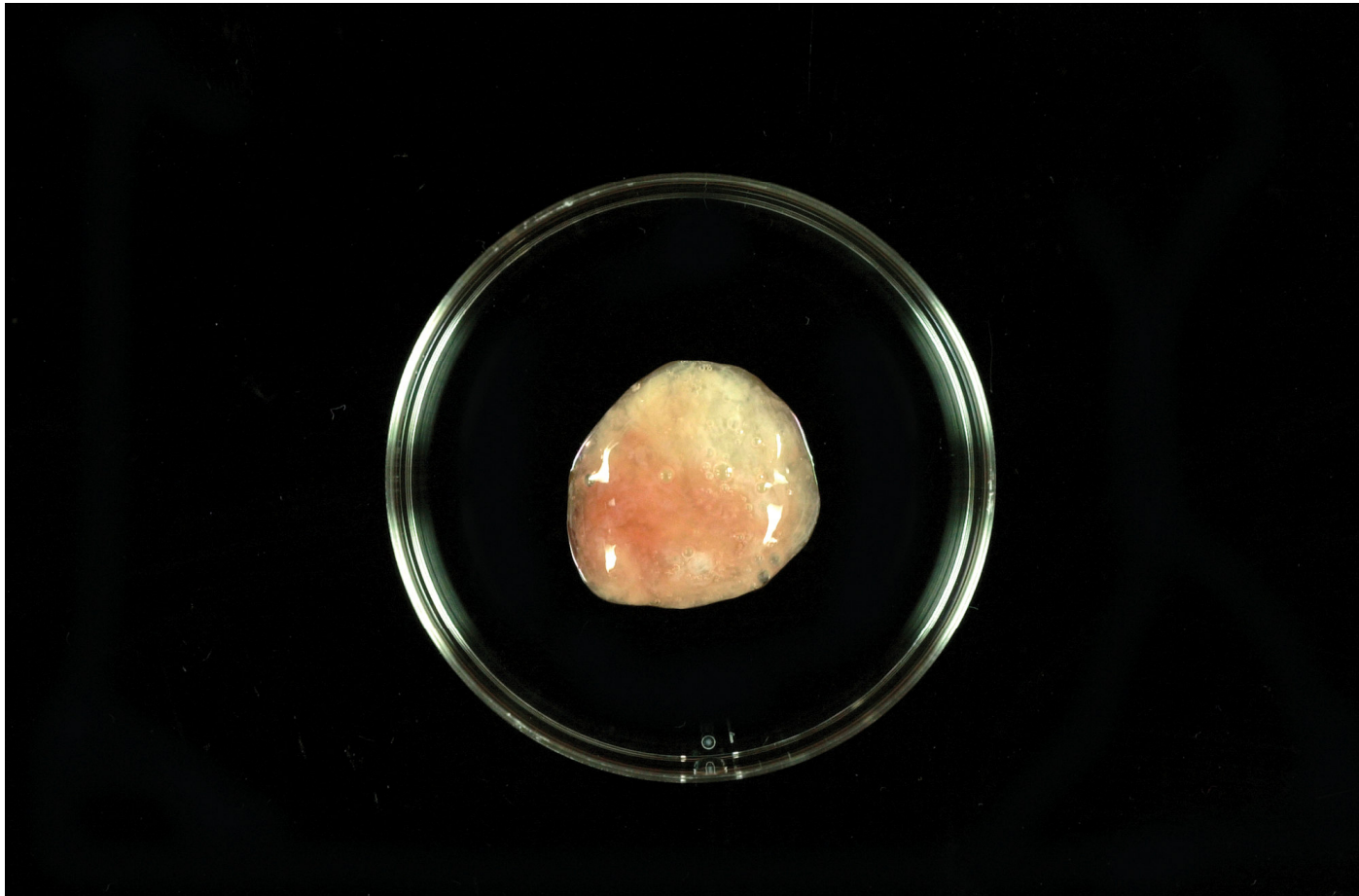
Saliva



Mukopurulentan sputum



Prisustvo krvi u sputumu



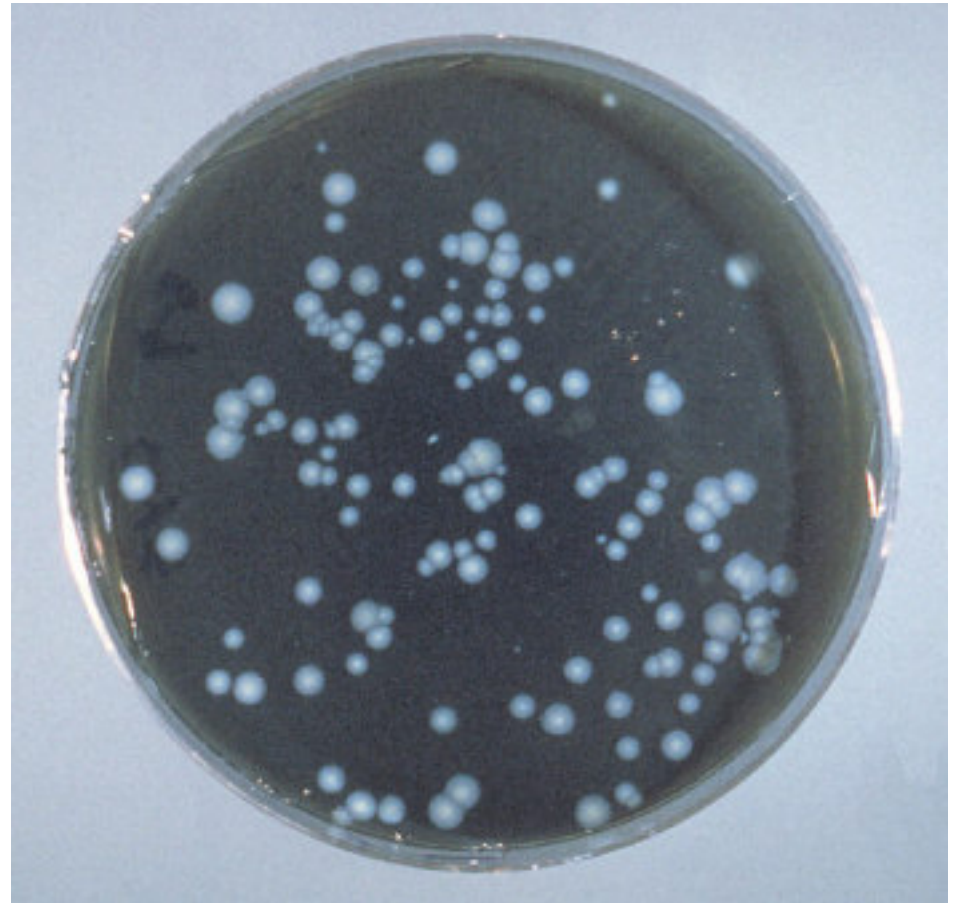
Legionarska bolest

- Uzorci: transtrahealni aspirat, aspirat pluća ili biopsija, urin - za detekciju Ag
- *Legionella* se retko nalazi u sputumu.
- Kliničar treba unapred da naglasi mikrobiologu sumnju na legionelozu kako bi se primenile odgovarajuće tehnike ili da uzorak pošalje u referentnu laboratoriju.

Legionella pneumophila

- ispitivanje kulturelnih osobina -

- *Legionella* je nutritivni probirač i raste samo na posebno obogaćenim hranljivim podlogama
- nakon 2 do 5 dana inkubiranja na 37°C formira kolonije

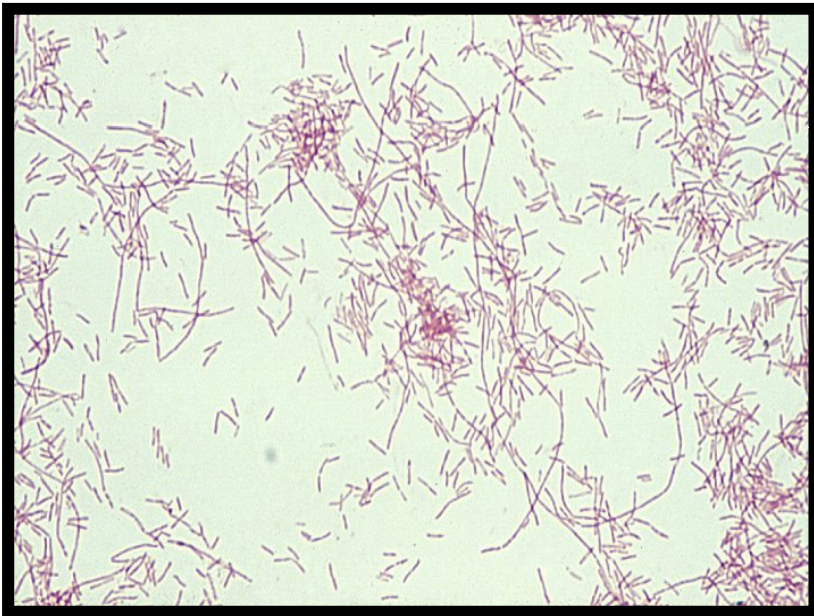


kultura na BCYE agaru
posle 6 dana inkubiranja

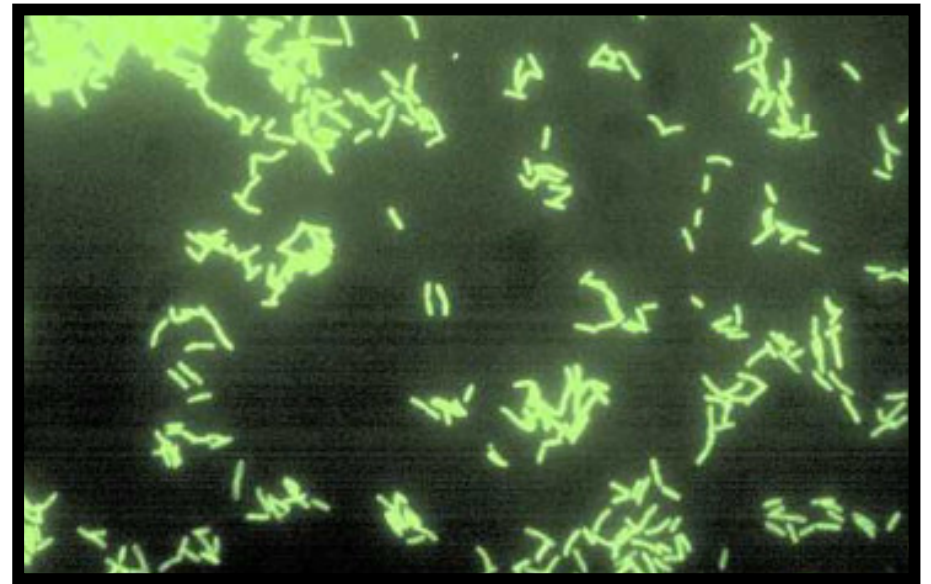
Legionella pneumophila

- bakteriološka dijagnostika -

● **ispitivanje mikroskopskih osobina**



bojenje po Gramu

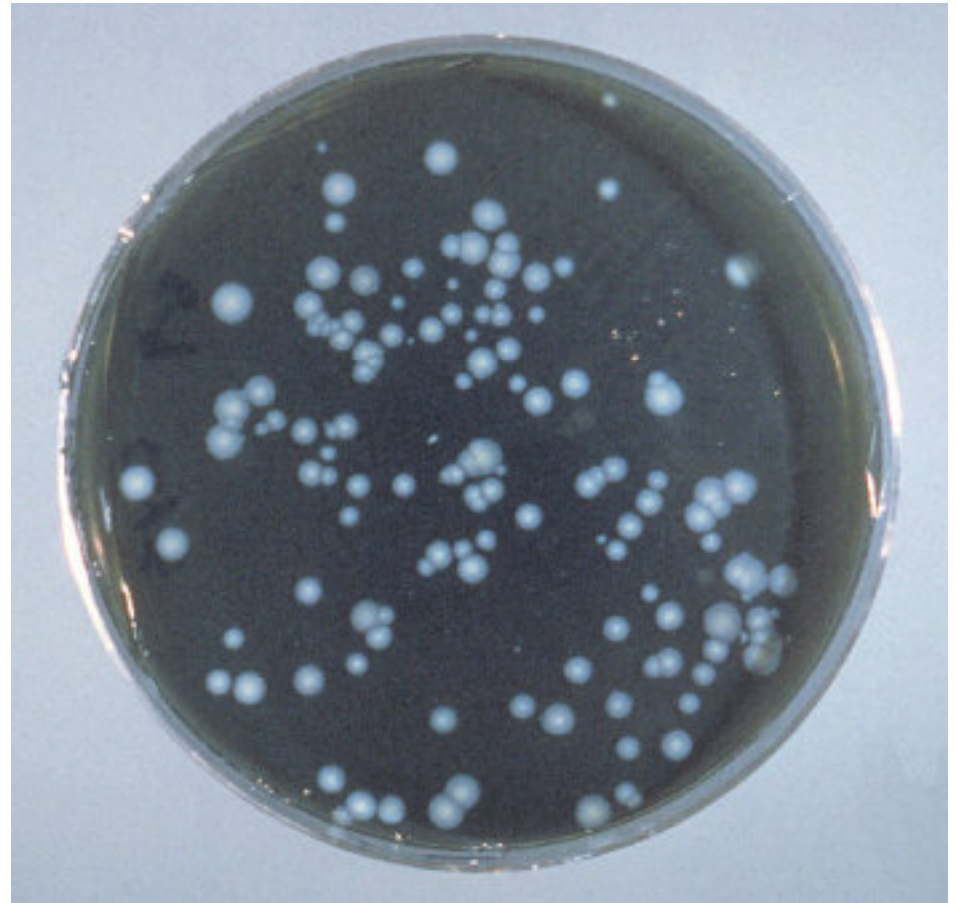


DIF

Legionella pneumophila

- ispitivanje kulturelnih osobina -

- *Legionella* je nutritivni probirač i raste samo na posebno obogaćenim hranljivim podlogama
- nakon 2 do 5 dana inkubiranja na 37°C formira kolonije



kultura na BCYE agaru
posle 6 dana inkubiranja

Legionella pneumophila

- bakteriološka dijagnostika -

- **ispitivanje mikroskopskih osobina**
- **ispitivanje kulturelnih osobina**
- **ispitivanje fiziološko-biohemijskih osobina**
- **ispitivanje antigenskih osobina:**
 - potvrda identifikacije
 - detekcija antigena direktno u uzorku (IF, ELISA, lateks aglutinacija)
- **serološki testovi** - za retrospektivno postavljanje dijagnoze
- **molekularne metode:** hibridizacija, PCR

Laboratorijska dijagnoza tuberkuloze

Konvencionalna dijagnostika

direktni preparat

+

izolacija

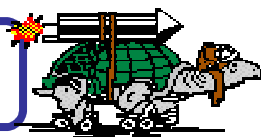
+

identifikacija

+

antibiogram

3 - 4 meseca



Brze metode dijagnostike u mikobakteriološkoj laboratoriji

direktni preparat

+

Bactec MGIT, BacT/Alert

+

genske probe

+

antibiogram

4 nedelje

Brza dijagnostika tuberkuloze



BACTEC MGIT 960

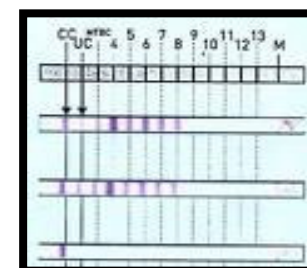
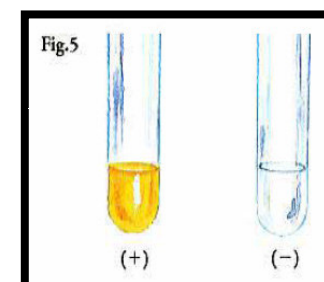
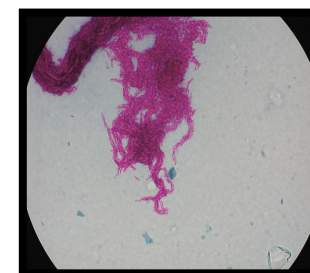
Izdavanje rezultata:

♦ vreme izdavanja:

- pozitivni rezultati – 4 -21 dan
- rezultat rezistencije – 4 -12 dana posle
MGIT pozitivnog nalaza
- negativan - posle 56 dana

♦ pozitivni nalazi :

- «MGIT pozitivan, identifikacija u toku»
- krajnja identifikacija:
 - klasična biohemijska – 4 nedelje
 - hibridizacija – 2 dana posle
MGIT pozitivnog nalaza



Molekularne tehnike

1. identifikacija bakterija – DNK probe

2. umnožavanje nukleinskih kiselina i detekcija bakterija direktno u bolesničkom materijalu

3. identifikacija gena odgovornih za rezistenciju bakterija na antibiotike

4. tipizacija bakterija (genotipizacija)

Primena molekularnih tehnika za identifikaciju bakterija

- koje se ne mogu kultivisati na veštačkim hranljivim podlogama**
- za koje dostupne metode izolacije nisu dovoljno osetljive**
- za čije kultivisanje su neophodne kompleksne podloge**
- koje sporo rastu na veštačkim hranljivim podlogama**

Primena molekularnih tehnika za identifikaciju bakterija

Chlamydia trachomatis

Chlamydia pneumoniae

Chlamydia psittaci

Coxiella burnetii

Bordetella pertussis

Legionella spp.

Mycoplasma pneumoniae

Mycobacterium tuberculosis

RESPIRATORNI SISTEM

LOKALNE

- Rhinovirusi
- Coronavirusi
- RSV
- V. influenzae
- V. parainfluenzae
- Adenovirusi
- Coxsackievirusi

SISTEMSKE:

- Morbilli virus
- Rubella virus
- VZV
- EBV
- CMV
- HSV

RESPIRATORNI SISTEM

KLINIČKI SINDROMI:

- Rinitis
- Faringitis
- Krup (laringotraheobronhitis)
- Bronhiolitis
- Pneumonija

RESPIRATORNI SISTEM

Laboratorijska dijagnostika:

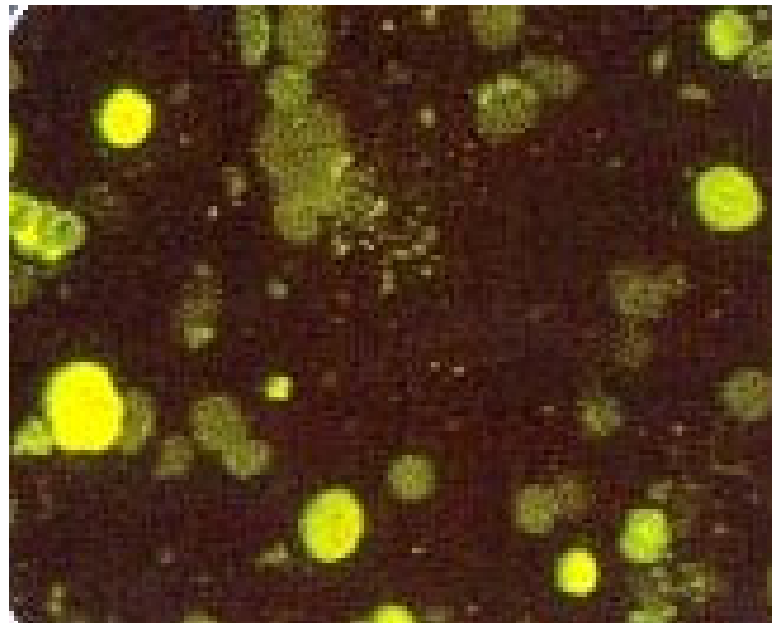
- Nazofaringealni bris
- Nazofaringealni ispirak (aspirat)
- Bronhoalveolarni lavat (BAL)
- Sputum*

RESPIRATORNI SISTEM

Laboratorijska dijagnostika:

✓ Dokazivanje virusnih antigena u uzorku
(IF, ELISA)

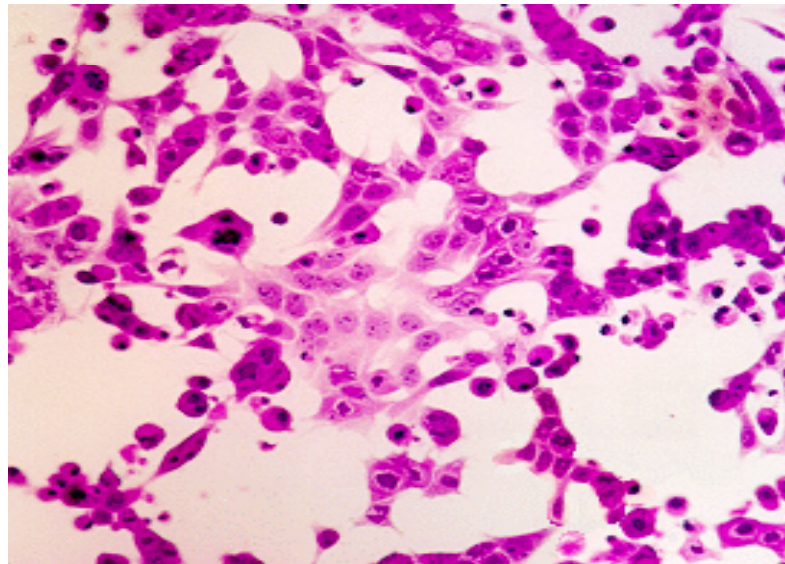
✓ PCR



RESPIRATORNI SISTEM

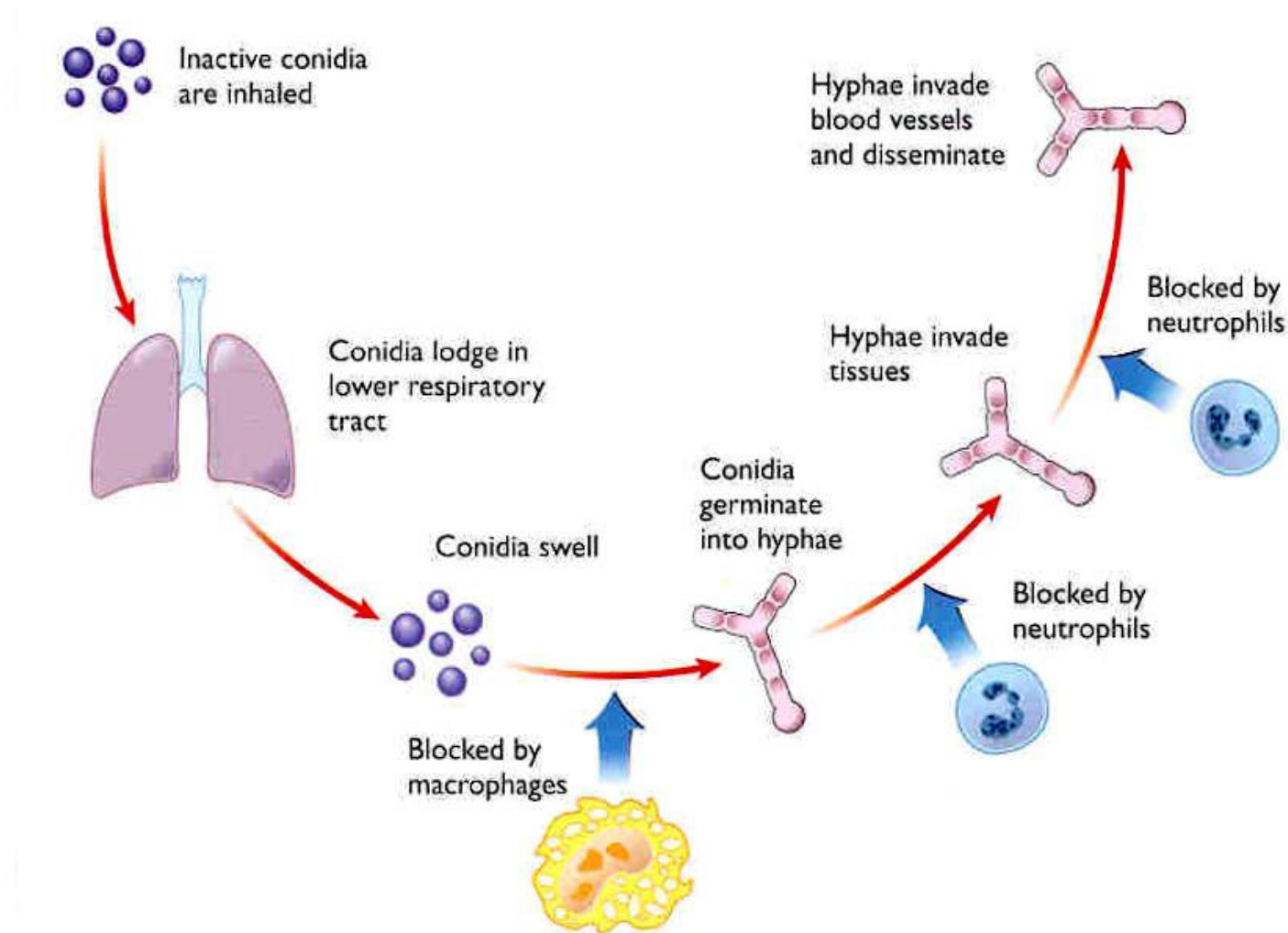
Laboratorijska dijagnostika:

- Izolovanje i identifikacija u sistemima živih ćelija

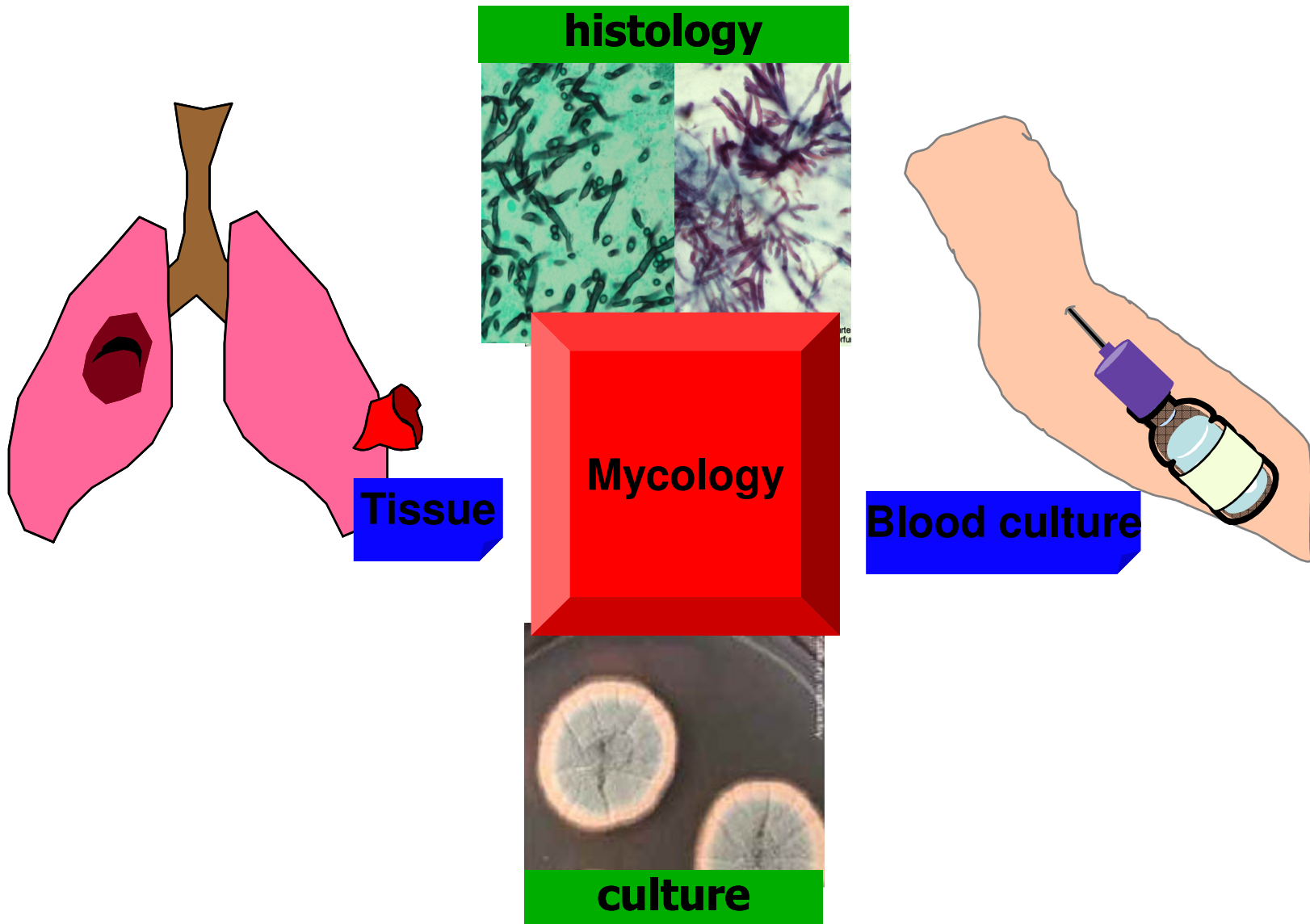


*Serološka dijagnostika nema značaja !!!!!

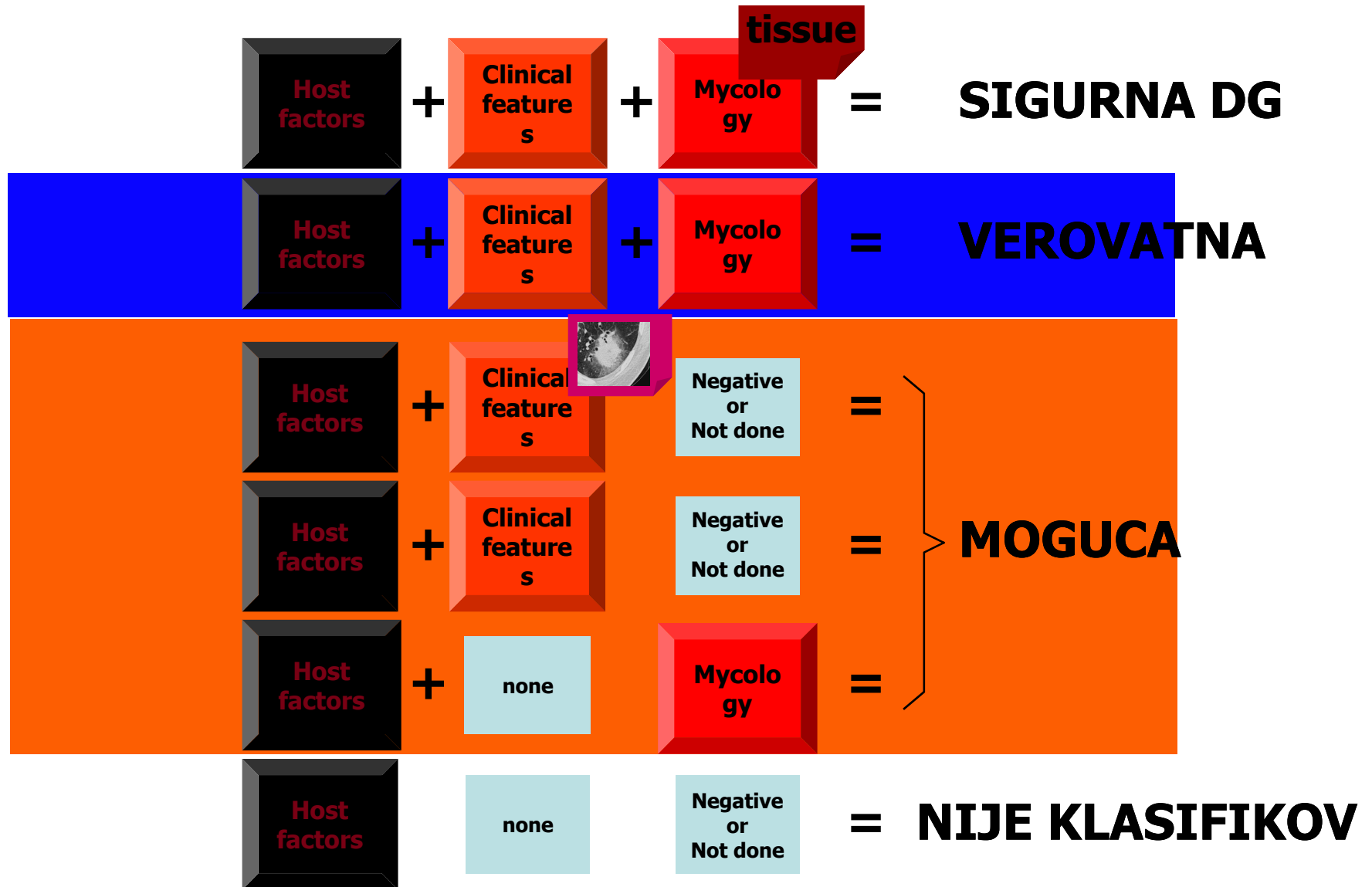
Infekcija plesnima – patogenetski mehanizmi



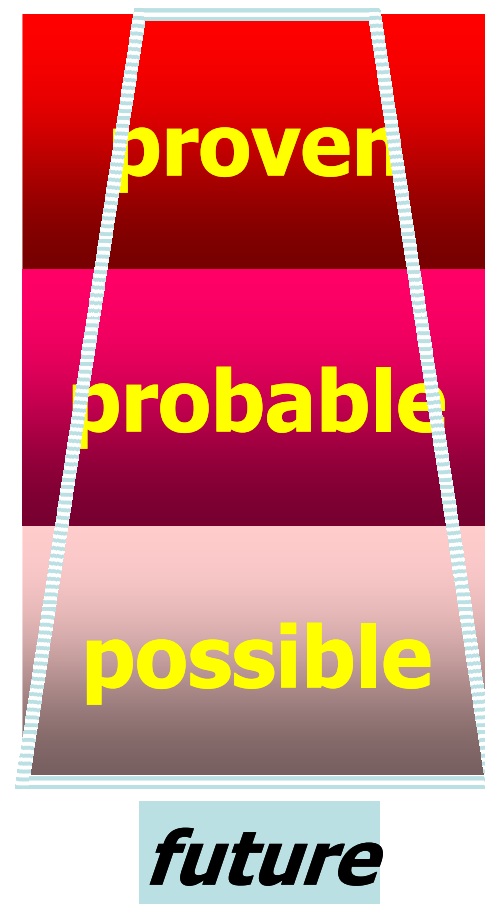
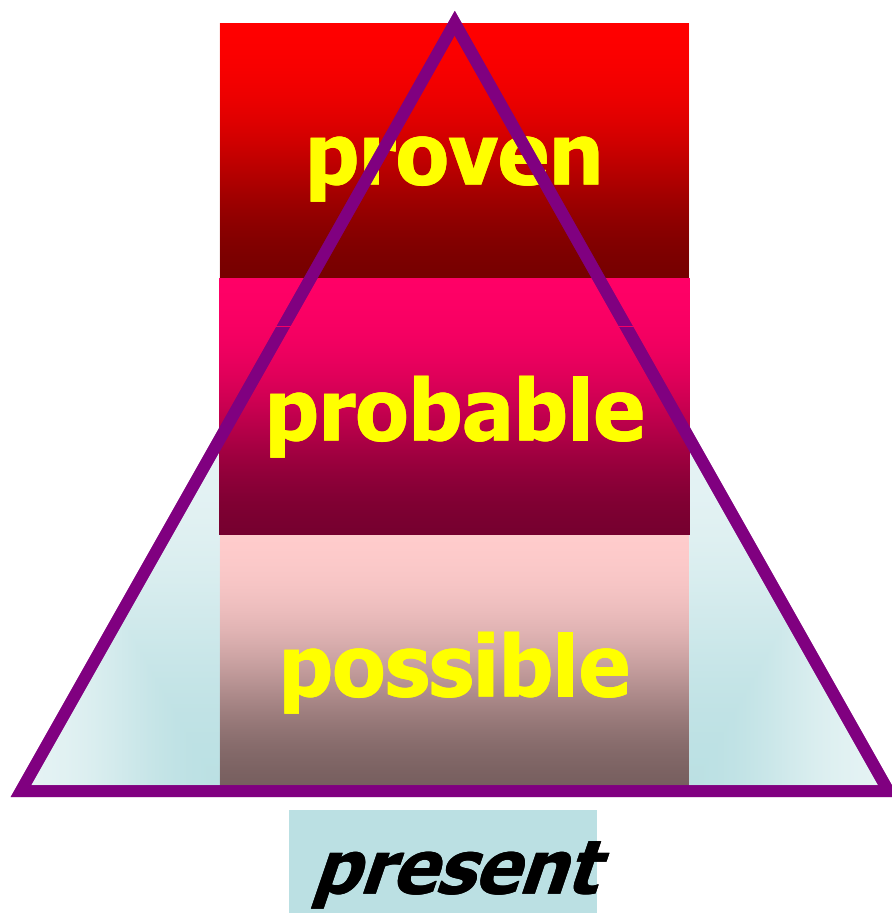
SIGURNA DIJAGNOZA INVAZIVNE MIKOZE



Invazivna gljivicna infekcija



CILJ UNAPREDJENJA DIJAGNOSTIKE



Definitions I - Host factors

neutropenia

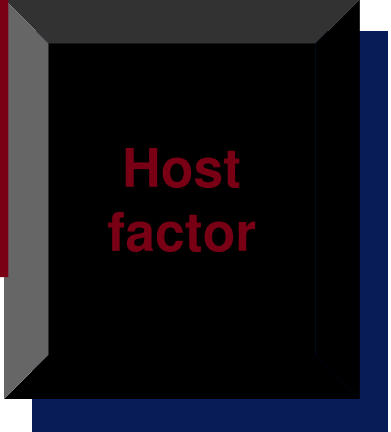
> 3 weeks corticosteroids

<36°C or > 38°C and

- **prior mycosis**
- **AIDS**
- **Immunosuppressive drugs**
- **> 10 days neutropenia**

**> 4 days unexplained
fever despite broad
spectrum antibiotics**

Graft versus Host Disease



**Host
factor**

Definitions II - Host factors

neutropenia

> 3 weeks corticosteroids

<36°C or > 38°C and

- **prior mycosis**
- **AIDS**
- **Immunosuppressive drugs**
- **> 10 days neutropenia**

**> 4 days unexplained
fever despite broad
spectrum antibiotics**

Graft versus Host Disease

**Host
factor**

neutropenia

> 3 weeks corticosteroids

Allogeneic HSCT recipient

**Treatment with other
recognized
T-cell immune suppressants**

**Inherited severe
immunodeficiency**

Definitions I - Clinical features

MAJOR

≥ 1

Lower respiratory tract infection

**Halo sign
Air-crescent sign
cavity**

Sinonasal infection

Radiological evidence

CNS infection

Radiological evidence

Chronic disseminated candidiasis

Bull's eye lesions in liver or spleen

**Clinical
feature**

Disseminated fungal infection

**Unexplained papular or nodular skin lesions
Chorioretinitis
endophthalmitis**

Definitions I - Clinical features

MINOR

Lower respiratory tract infection

≥ 2

CNS infection

Cough, chest pain, haemoptysis, dyspnoea
Physical finding of pleural rub
Any new infiltrate not fulfilling major criterion

CSF **No pathogens**
 no malignant cells
 abnormal biochemistry
 abnormal cell count

Focal neurological
 seizures
 hemiparesis
 cranial nerve palsy

Mental changes
Meningeal irritation

**Clinical
feature**

Sinonasal infection

Nasal discharge. stuffiness
Nose ulceration. eschar or epistaxis
Periorbital swelling
Maxillary tenderness
Black necrotic lesions or perforation of the hard-palate

Definitions II - Clinical features

Lower respiratory tract infection

Chronic disseminated candidiasis

Sinonasal infection

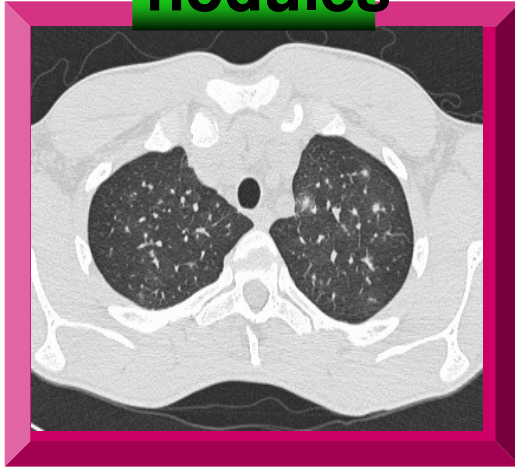


CNS infection

**No more major and no more minor
All in the same key now**

Specific pulmonary infiltrates on CT scan

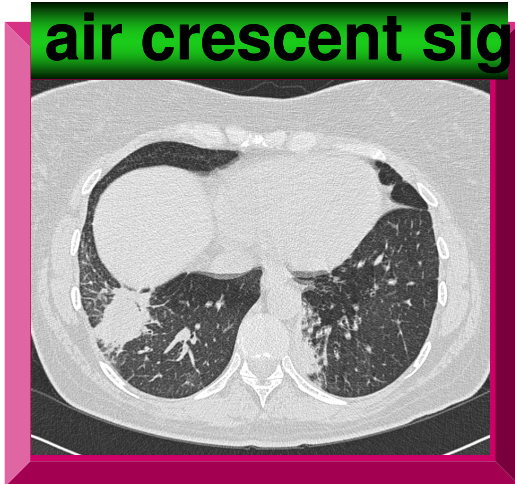
nodules



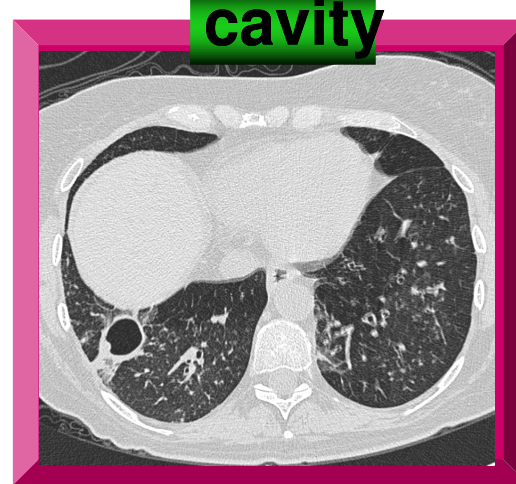
halo sign



air crescent sign



cavity

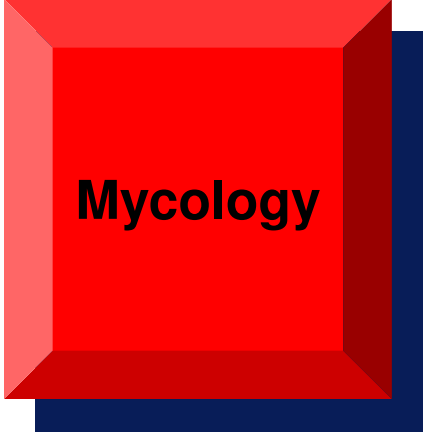


Definitions I - Mycology

Culture of mould from tissue. aspirate BAL or sputum

antigen in blood, BAL. CSF

mould seen in sinus aspirate



Mycology

Fungi seen in tissue or sterile body fluids

Definitions II - Mycology

