

# **Dijagnostika sepse i infekcija posredovanih stranim telima**

# **Dijagnostika sepse**

# Šta je bakterijemija?



Bakterijemija je prodor bakterija u krv  
(krvnu struju, krvotok),

bez pojave sistemskog inflamatornog  
odgovora !

- "naletno", tranzitorno stanje koje prolazi ili se razvija u sepsu

# Šta je sepsa?



prodor bakterija u krv sa razvojem sistemskog inflamatornog odgovora

- generalizovana infekcija izazvana mikroorganizmima

**bakterijemija**  
+  
**prisustvo znakova i  
simptoma bolesti**



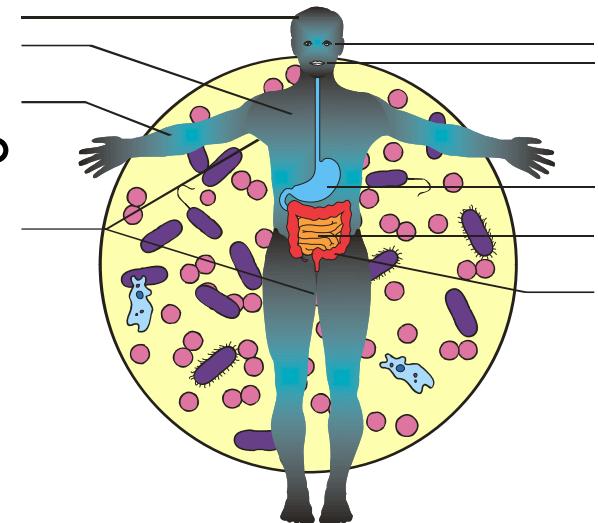
# Oblici sepsa



- **primarna sepsa**

- **sekundarna sepsa** (primarna lokalizacija infekcije, tj. mesto odakle mikroorganizmi dospevaju u krvotok):

- respiratorni trakt: 28-32%
- urogenitalni trakt: 21-30%
- gastrointestinalni trakt: 15-32%
- koža i meka tkiva: 5-7%
- nepoznata: 21-29%



# Učestalost sepse



## ■ incidenca sepse

- 86-367 na 100.000 stanovnika
- 1 do 3% svih hospitalizovanih pacijenata

## ■ mortalitet

- 6 do 42%
- 10 do 38% kod pravilno lečenih pacijenata
- do 100% kod pacijenata sa neutropenijom ili nepravilno lečenih

# Najznačajniji faktori rizika



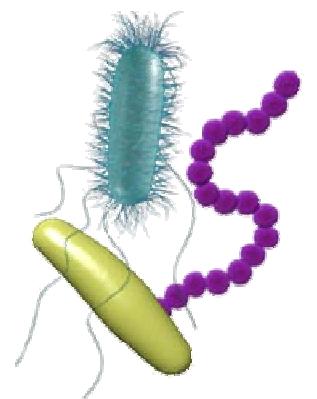
- starost pacijenta  
(<1 godine i >60 godina)
- imonsupresija  
(fiziološka, usled osnovne bolesti, usled primenjene terapije)
- invazivne dijagnostičko-terapijske procedure  
(kateterizacija, hirurške procedure, ugradnja implantata, primena respiratora,...)
- neracionalna primena antibiotika  
(remeti fizološku mikrofloru)

# Uzročnici sepse

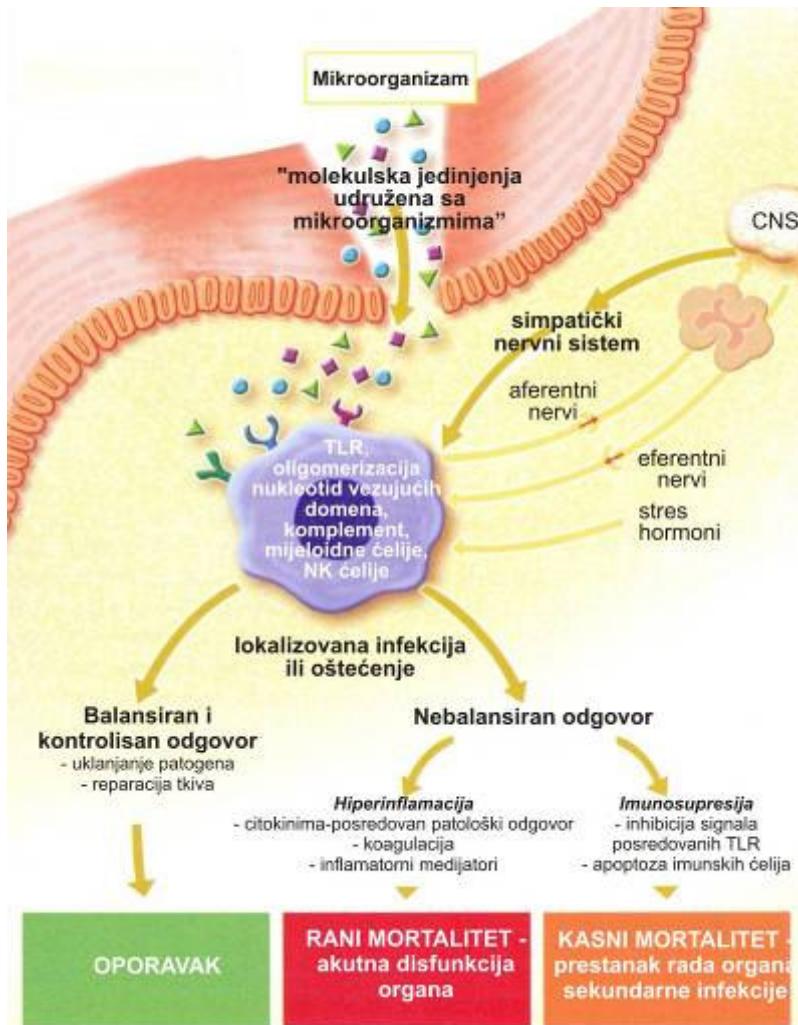


uzročnici sepse i njihova učestalost značajno variraju:

- Gram pozitivne bakterije 52,1%
- Gram negativne bakterije 37,6%
- polimikrobni uzročnici 4,7%
- gljive (*Candida* spp.) 4,6%
- anaerobne bakterije 1%



# Patogeneza sepse

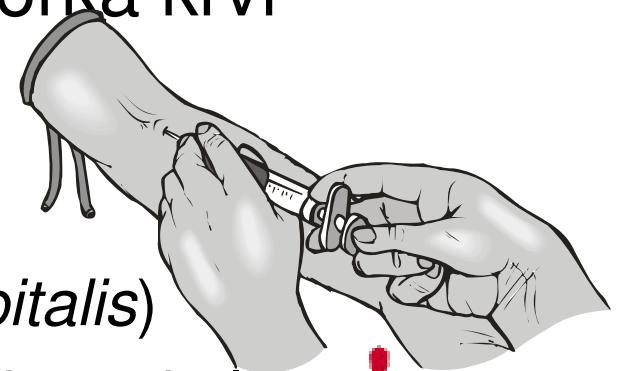


nebalansirana  
produkciјa  
proinflamatornih i  
anti-inflamatornih  
molekula !

# Laboratorijska dijagnoza sepse



- mikrobiološka potvrda sepse: **hemokultura**  
→ izolacija mikroorganizma iz uzorka krvi
- krv se uzima iz površinskih vena (*v. cubitalis*)
- uzeta krv se direktno unosi u bočicu za hemokulturu!  
(zasejavanje u hranljivu podlogu pored bolesničke postelje!)
- kritična tačka za moguću kontaminaciju uzorka
- procenat kontaminacije se kreće od 0,6% do 6%  
(prosečno 2 - 3%)



# Uzimanje uzorka za hemokulturu



- obavezna upotreba rukavica
- dezinfekcija mesta venepunkcije:  
70% alkohol, a zatim 1-2% jod
- **sačekati** vreme potrebno za delovanje  
dezinficijensa (1 min)
- posle dezinfekcije nema više palpacije
- nakon venepunkcije jedni dezinficijens bi trebalo  
ukloniti alkoholom

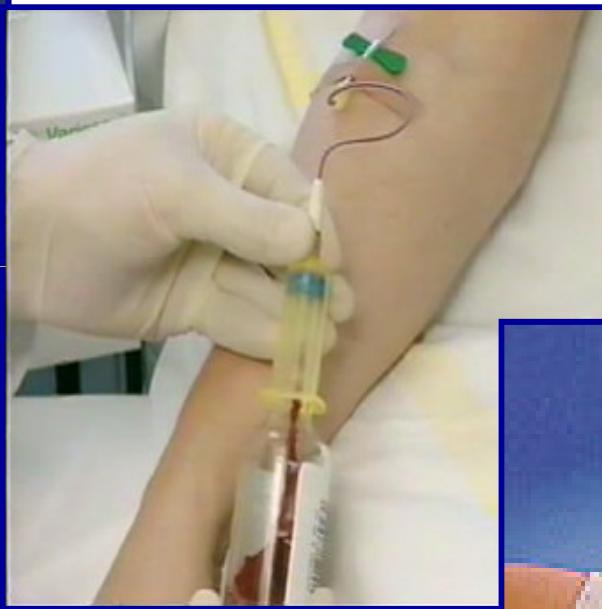


# Uzimanje uzorka za hemokulturu



- praksa "dve igle" (jednom igлом se radi venepunkcija, a drugom punkcija bočice i zasejavanje podloge) - napuštena '80-tih godina prošlog veka zbog rizika od HIV, HBV i HCV infekcije
- sistemi prilagođeni posebno za uzimanje krvi za hemokulturu (zaštićeni nastavak za punkciju bočice) - najbolja zaštita od kontaminacije i najbezbednija za zdravstvene radnike)

# Uzimanje uzorka za hemokulturu



# Uzimanje uzorka za hemokulturu



- ! kod sepse je često prisutan relativno mali broj mikroorganizama u krvi ( $< 30/\text{mL}$ )
  - adekvatna količina uzorka krvi zavisi od starosti:
    - < 10 godina: 1 mL krvi za svaku godinu života
    - > 10 godina: 20-30 mL krvi
- optimalan broj uzoraka: **3 u toku 24 h**
  - razmak između uzimanja uzoraka: 30 min do 1 h
- ✿ krv treba uzeti pri prvim simptomima ili znacima porasta temperature (ne treba čekati porast do  $38,5^\circ\text{C}$ )

# Uzimanje uzorka za hemokulturu



➡ krv se zasejava u odnosu

## 1 deo krvi : 9 delova podloge

- podloge različitog sastava - prilagođene izolovanju različitih mikroorganizama: za aerobne i anaerobne bakterije, mikobakterije, gljive (plesni/kvasnice)
- ➡ svaki uzorak krvi se zasejava u jedan set boćica: za aerobne i anaerobne bakterije



# Uzimanje uzorka za hemokulturu



- osnova svih podloga je nutritivno bogat bujon
- podloge sa dodatkom "smole" koje inaktivisu antibiotike, ako je bolesnik već primao terapiju
- podloge za hemokulturu prilagođene za konvencionalnu dijagnostiku (ručna obrada) ili za kultivisanje u automatskim sistemima

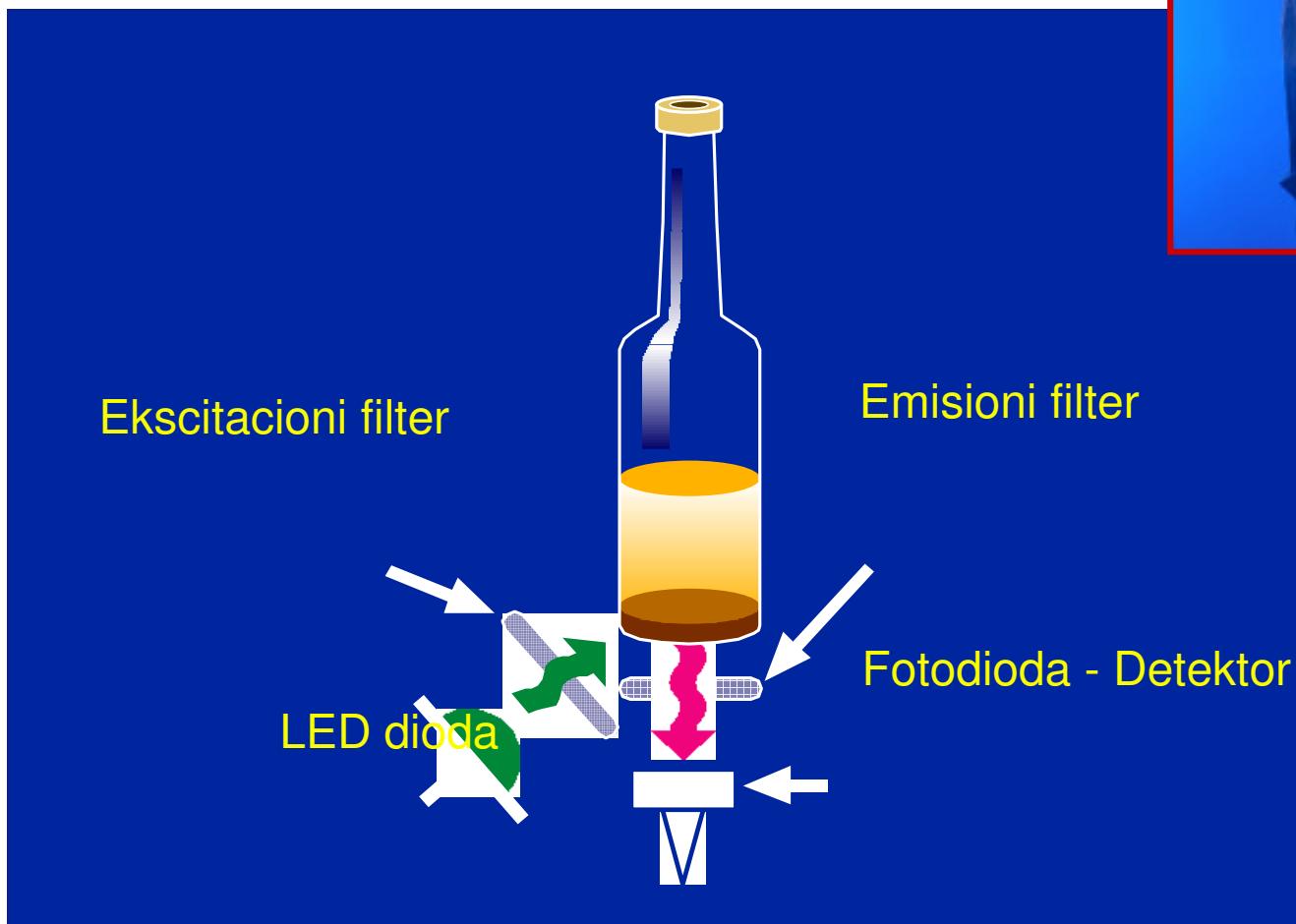
# Konvencionalna dijagnostika



► uočavanje porasta bakterija u podlozi:

- zamućenje
- pojava hemolize
- pojava gasa
- pojava kolonija u hemokulturi

# Automatizovani sistemi



metabolizam  
bakterija

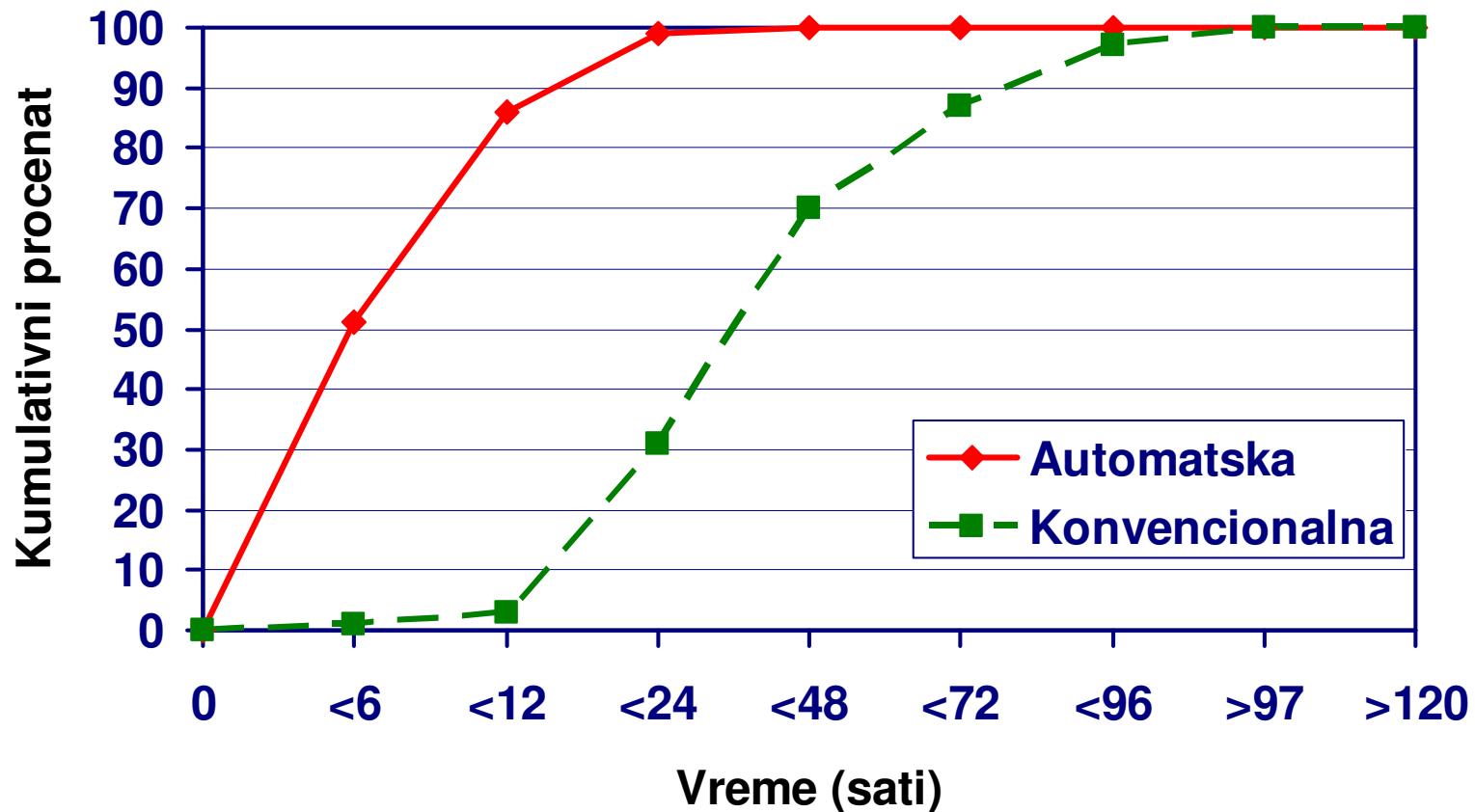


prisustvo  $\text{CO}_2$



promena pH

# Konvencionalna vs. automatska dijagnostika



**Klinička studija: 1442 hemokultura; 16,14% pozitivnih uzoraka**

# Izdavanje rezultata



- hemokulture se inkubiraju do 7 dana
  - pod posebnim okolnostima, npr. sumnja na brucelozu i do 21 dan, pa i duže.
- problem tumačenja nalaza:  
**šta je patogen, a šta kontaminant** ?  
(prisustvo znakova i simptoma bolesti,  
biohemski markeri, istorija bolesti, izolovanje  
mikroorganizma iz dve ili više boćica, vreme  
izolovanja < 48 h,...)

# **Dijagnostika infekcija posredovanih stranim telima**



# Strano telo

- **medicinski implantat** (strano telo): svaki instrument, aparat, uređaj, materijal ili drugi predmet koji se koristi za:
  - dijagnozu, prevenciju, monitoring, terapiju ili ublažavanje simptoma bolesti
  - dijagnozu, monitoring, terapiju i ublažavanje posledica povreda ili hendikepa
  - istraživanja, zamene ili modifikacije anatomske i fizioloških procesa
- danas široka primena:  
intravaskularni i urinarni kateteri, kontaktna sočiva, veštački srčani zalisci, endotrahealni tubusi, pejsmejkeri, endoproteze,...

# Infekcije posredovane stranim telima

nastaju kao posledica kolonizacije i formiranja biofilma na medicinskim implantatima

## Šta je biofilm?

- zajednica mikroorganizama koji su ireverzibilno adherisani za čvrstu površinu i/ili jedni za druge i uronjeni u ekstracelularnu polimernu supstancu (EPS) koju sami produkuju

# Formiranje biofilma

- formiranje biofilma je složen proces koji se odvija u nekoliko faza:



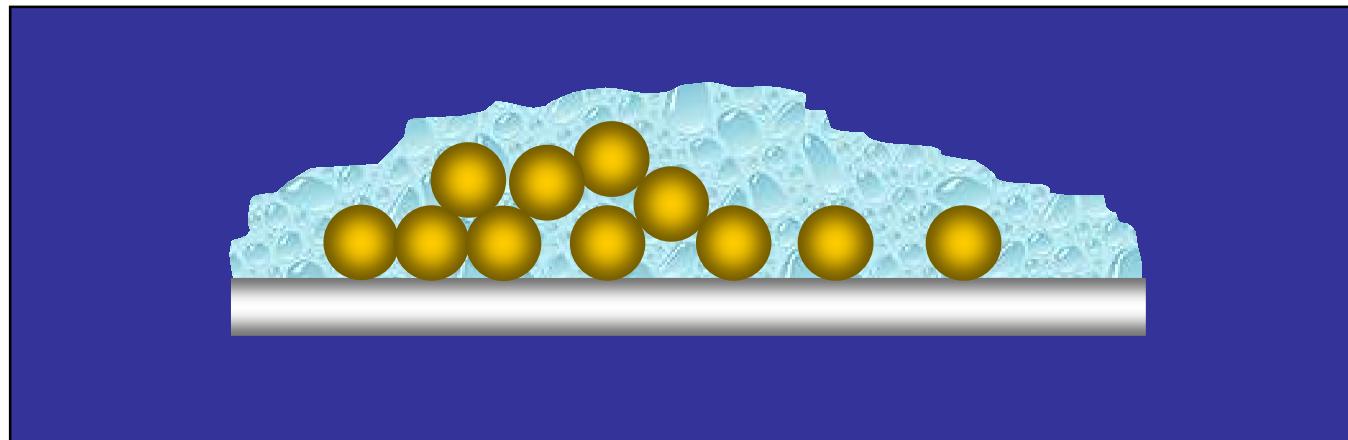
## adherencija mikroorganizma za površinu

- **abiotska** površina (različiti čvrsti, inertni materijali)
- **biotska** površina (živa tkiva ili ćelije)

# Formiranje biofilma

## kolonizacija površine

- adherisane bakterije rastu, razmnožavaju se i formiraju mikrokolonije na površini
- adherisane bakterije počinju da produkuju EPS koja predstavlja »lepak« koji ih čvršće vezuje za površinu i/ili jedne za druge



# Formiranje biofilma

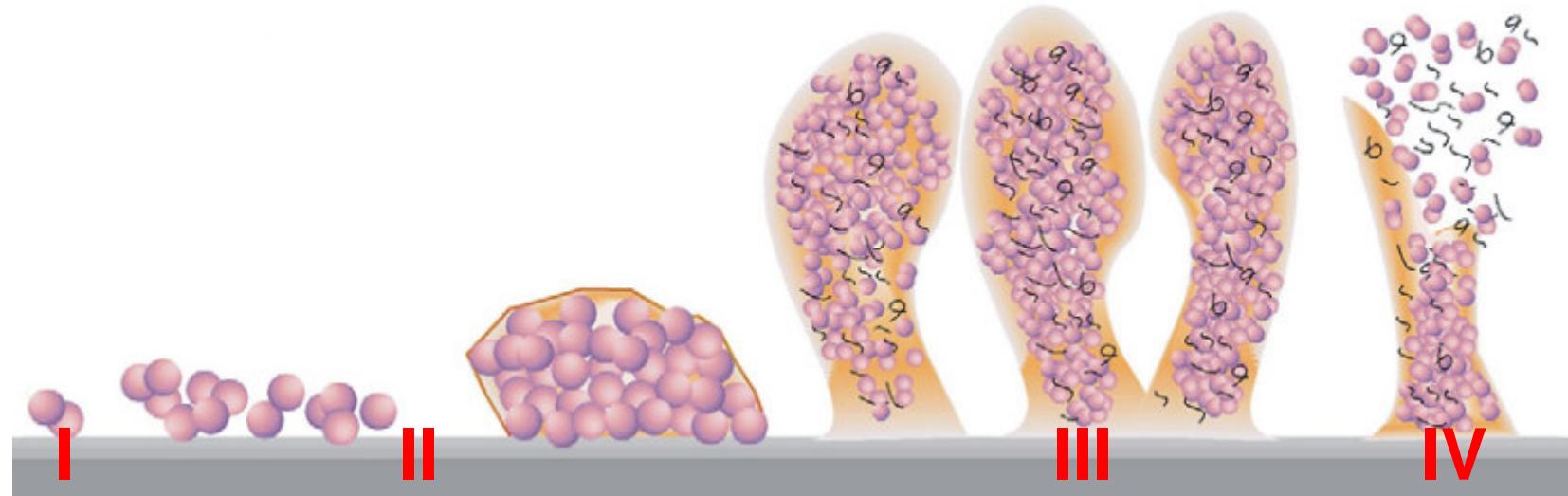
## 3 maturacija biofilma

- nakon kolonizacije površine započinje proces maturacije biofilma
- u formiranom biofilmu mikroorganizmi su povezani međućeljskim vezama unutar mikrokolonija koje su uronjene u EPS, a između njih se nalaze »vodeni kanali« koji omogućavaju transport vode, hrane i kiseonika do svake mikrokolonije i mikroorganizama koji ih grade

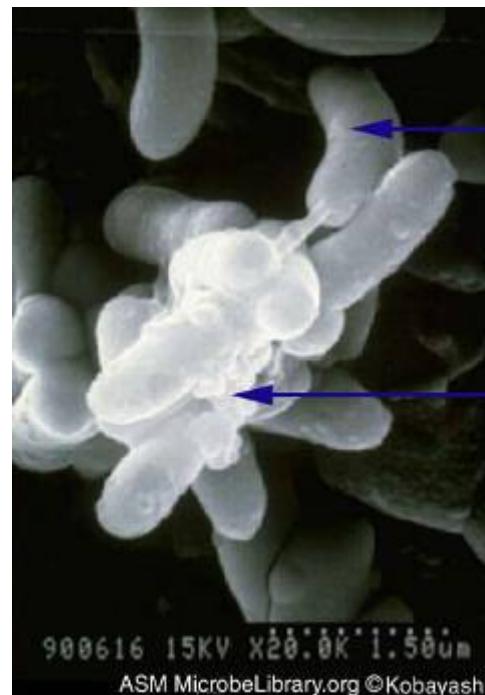
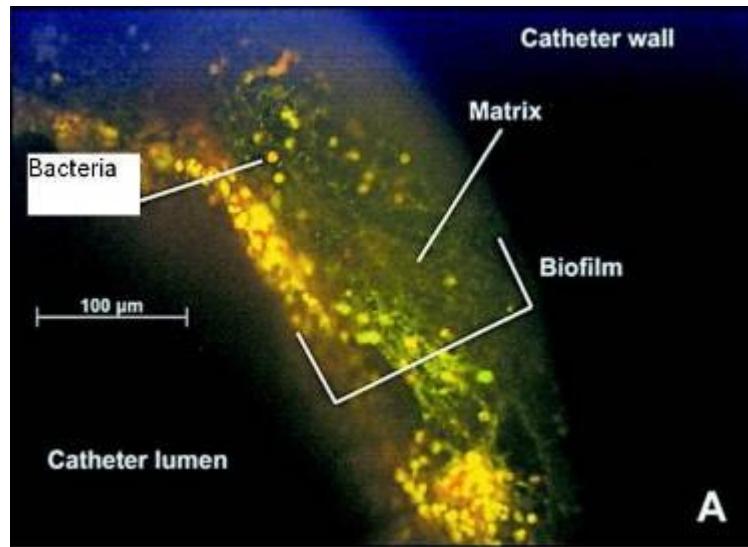
# Formiranje biofilma

## 4 otkidanje i disperzija ćelija sa površine biofilma

- vremenom biofilm postaje star i trošan, tako da se mikroorganizmi sa površine biofilma mogu otkinuti i diseminovati do nove, nekolonizovane površine na kojoj će formirati novi biofilm

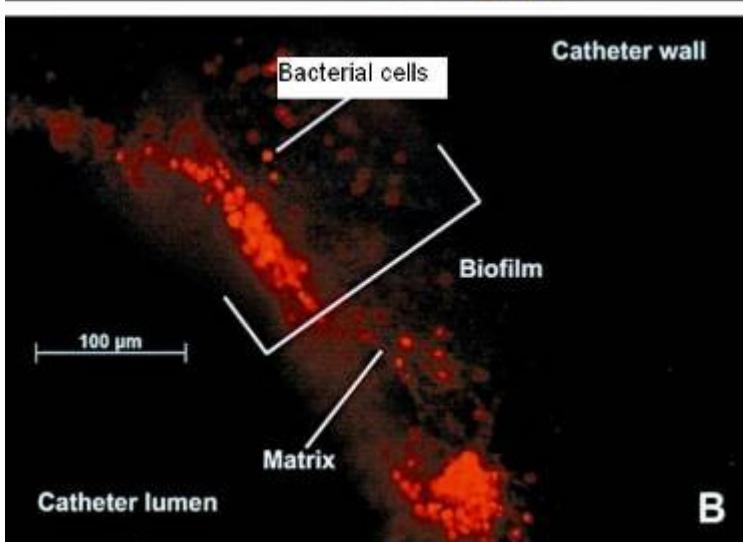


# Biofilm



bakterije

ekstracelularni  
matriks



biofilm na  
površini  
katetera



# Značaj biofilma

mikroorganizmi u biofilmu pokazuju drugačije fenotipske osobine u odnosu na mikroorganizme iste vrste koji nisu u biofilmu (planktonski mikroorganizmi):

- produkuju EPS
- rastu sporije
- drugačije regulišu ekspresiju gena
- pokazuju smanjenu osetljivost na brojne faktore spoljašnje sredine (UV zračenje, povišena temperatura, sušenje,...)
- pokazuju rezistenciju na mehanizme urođene i stečene imunosti
- pokazuju smanjenu osetljivost na antimikrobne agense i dezinficijense

# Uzročnici infekcija posredovanih stranim telima

- najznačajniji mikroorganizmi koji formiraju biofilm na medicinskim implantatima sa razvojem infekcije:



koagulaza-negativne stafilocoke

*Staphylococcus aureus*

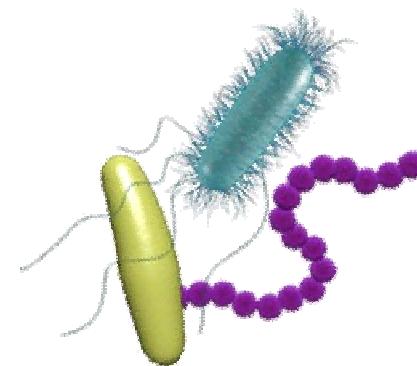
*Enterococcus* spp.

viridans streptokoke

*Escherichia coli*

*Klebsiella* spp.

*Pseudomonas aeruginosa*



*Candida albicans*



ASM MicrobeLibrary.org/Wiedermann

# Patogeneza infekcija posredovanih stranim telima - primer CVK -

- kontaminacija katetera u vreme insercije
- migracija mikroorganizama sa kože duž spoljašnje površine katetera (najznačajnije za kratkotrajno korištene katetere)
- kontaminacija hub-a katetera uz prolazak mikroorganizama kroz lumen katetera (najznačajnije za dugotrajno korištene katetere; duže od 10 dana)
- kontaminacija kontaminiranim infuzionim rastvorima
- hematogeno širenje mikroorganizama iz udaljenih žarišta

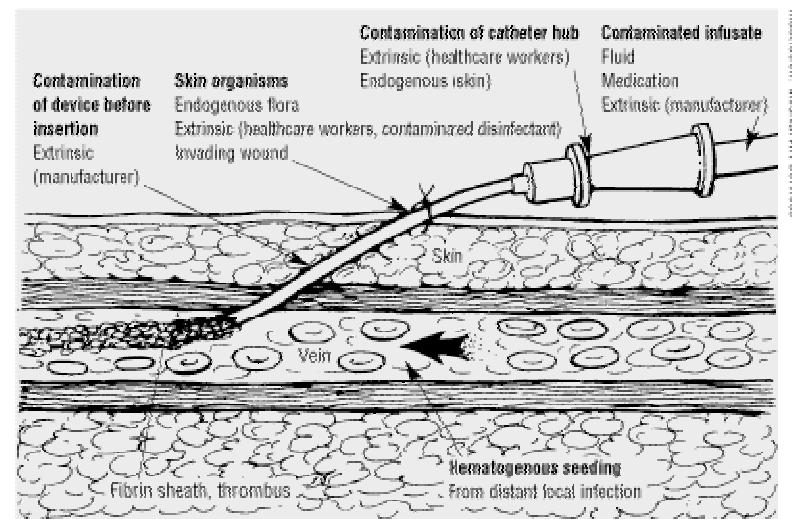
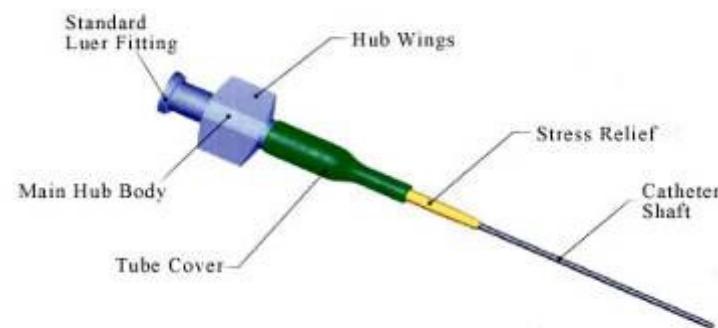


Figure 1. Sources of intravascular catheter-related infection. The chief sources are skin flora, contamination of the catheter hub, contamination of infusate, and hematogenous colonization from a distant site of infection.



# Manifestacije infekcija posredovanih stranim telima

- infekcije posredovane stranim telima se mogu manifestovati lokalnim i/ili sistemskim znacima i simptomima bolesti
- mogu se manifestovati kao bakterijemija ili sepsa, infektivni endokarditis, infekcija na mestu plasiranja stranog tela, septička tromboza, cistitis, pneumonija, keratitis,...



# Laboratorijska dijagnoza infekcija posredovanih stranim telima - primer CVK -

e.g. mikrobiološka diagnostika infekcije posredovane centralnim venskim kateterom



## uzorci:

- krv za hemokulturu i
- kateter (~5 cm)



izolacija i identifikacija mikroorganizma sa CVK i izolacija i identifikacija **istog** mikroorganizma iz hemokulture

# **Laboratorijska dijagnoza infekcija posredovanih stranim telima - primer CVK -**

- izolacija mikroorganizma iz krvi:  
**kvalitativna** (ima / nema) ili **kvantitativna**
- krv se uzima: kroz kateter i/ili venepunkcijom
- kvalitativna analiza krvi (ako se samo ta analiza radi) ima ograničenu vrednost u postavljanju dijagnoze
- kvantitativna (ne koristi se rutinski):  
**(A)** broj mikroorganizama u krvi uzetoj kroz CVK je 5-10 puta veći nego u krvi uzetoj venepunkcijom  
**(B)** raniji porast mikroorganizama ( $>2$  h) iz krvi uzete kroz CVK nego iz krvi uzete venepunkcijom
- Problem može predstavljati uzimanje krvi kroz CVK

# **Laboratorijska dijagnoza infekcija posredovanih stranim telima - primer CVK -**

- izolacija mikroorganizama sa katetera može biti:



## **semikvantitativna:**

tehnika kotrljanja (rolanja) katetera preko čvrste hranljive podloge ( $\geq 15$  cfu)



## **kvantitativna:**

vortexiranje ili sonikacija katetera u fiziološkom rastvoru (na taj način se biofilm odvaja od katetera) i zasejavanje na čvrstu hranljivu podlogu ( $\geq 10^3$  cfu)

# **Laboratorijska dijagnoza infekcija posredovanih stranim telima - primer CVK -**

- problem tumačenja nalaza:  
**šta je patogen, a šta kontaminant sa kože ?**
- mikroorganizam izolovan sa katetera i iz hemokulture mora biti isti i imati isti antibiogram
- problem su (retke) polimikrobne infekcije
- problem su infekcije izazvane koagulaza-negativnim stafilokokama i ređe drugim bakterijama koje čine deo fiziološke mikroflore kože; kvantitiranje kao deo rešenja

# **Laboratorijska dijagnoza infekcija posredovanih stranim telima - primer CVK -**

konvencionalna mikrobiološka diagnostika



rezultati za 2 (1) do 4 dana

- da li ima mikroorganizama
- broj mikroorganizama
- identifikacija i rezultat antibiograma