

Intrahospitalne infekcije



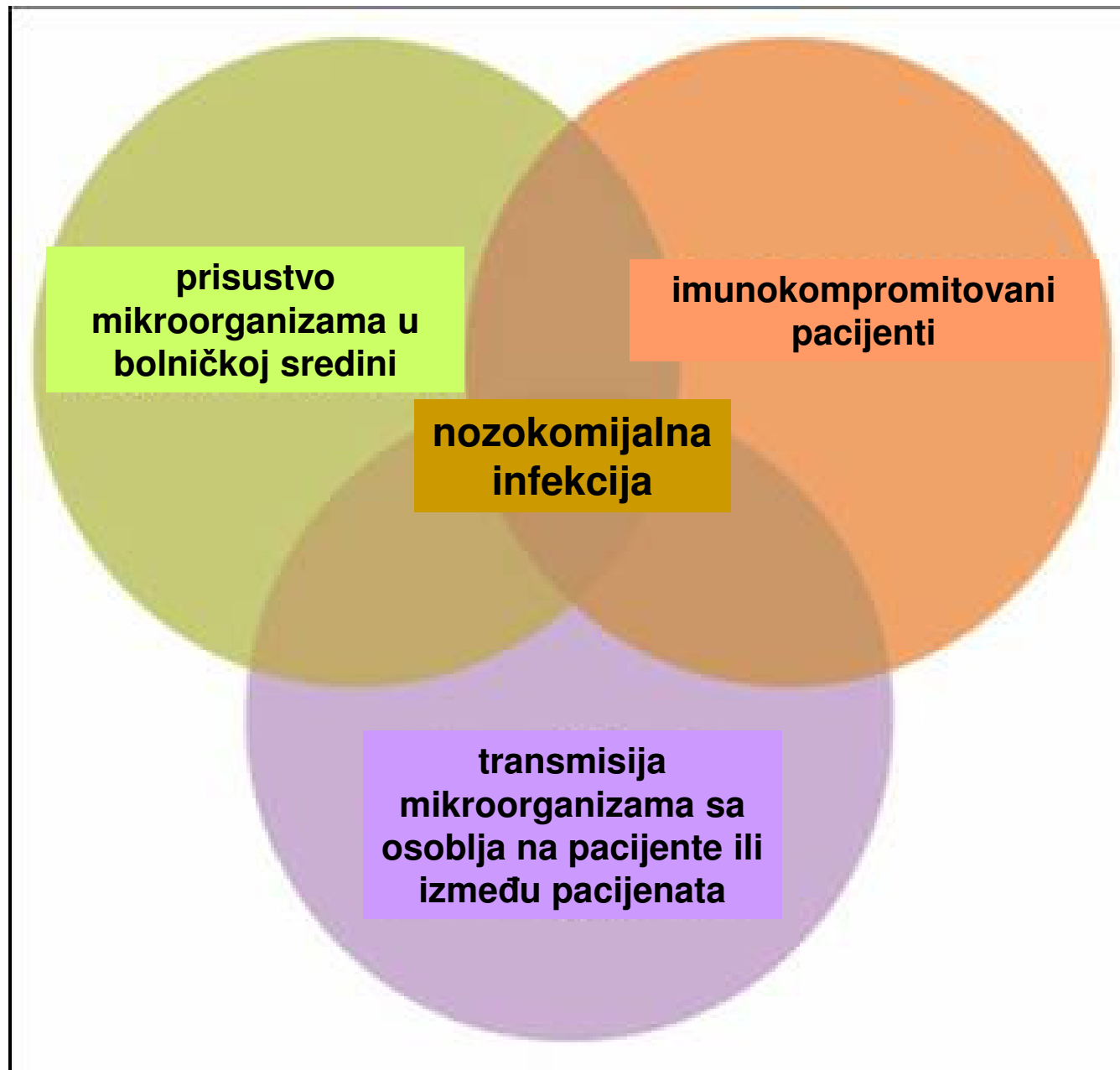
Intrahospitalne infekcije



bolničke ili nozokomijalne

infekcije stečene tokom boravka bolesnika u bolnici (najmanje 48 h posle prijema i najviše 48 h posle izlaska iz bolnice)

- infekcija nije postojala ili nije bila u periodu inkubacije u trenutku prijema bolesnika na lečenje



Intrahospitalne infekcije



- komplikacije bolničkog lečenja ➡ povećanje morbiditeta, mortaliteta i troškova lečenja
- iznošenje bolničkih sojeva mikroorganizama u vanbolničku sredinu i zdravu populaciju

Ko može da oboli?

- bolesnici
- bolničko osoblje (lekari, medicinske sestre i tehničari, bolničari, osoblje zaduženo za hranu, osoblje zaduženo za čišćenje,...)
- posetioci
- studenti
- ...



Učestalost intrahospitalnih infekcija

- kod svih hospitalizovanih pacijenata

5 - 10%

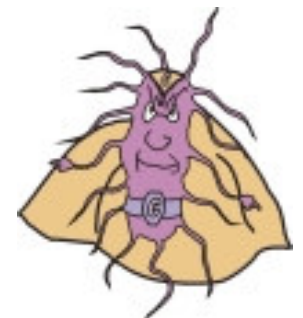
- na odeljenjima intenzivne nege

15 - 20%



Faktori rizika za nastanak intrahospitalnih infekcija

- imunokompromitovani pacijenti (bolest ili hemoterapija)
- hirurške intervencije, primena katetera, respiratora i drugih instrumenata koji narušavaju epitelne barijere
- dužina boravka u bolnici
- antibiotska terapija (> 10 dana)
- prisustvo multirezistentnih mikroorganizama u bolničkoj sredini zbog selektivnog pritiska i mogućnosti razmene gena rezistencije



Poreklo intrahospitalnih infekcija



Endogene

mikroorganizmi normalne flore bolesnika:

- bolesnik donosi u bolnicu



Egzogene

mikroorganizmi potiču iz spoljašnje sredine:

- **bolničko osoblje**
- **bolesnici**
- posetioci
- bolničko okruženje

Transmisija uzročnika intrahospitalnih infekcija

Direktna

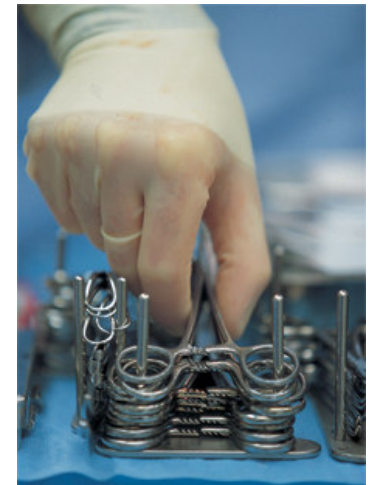
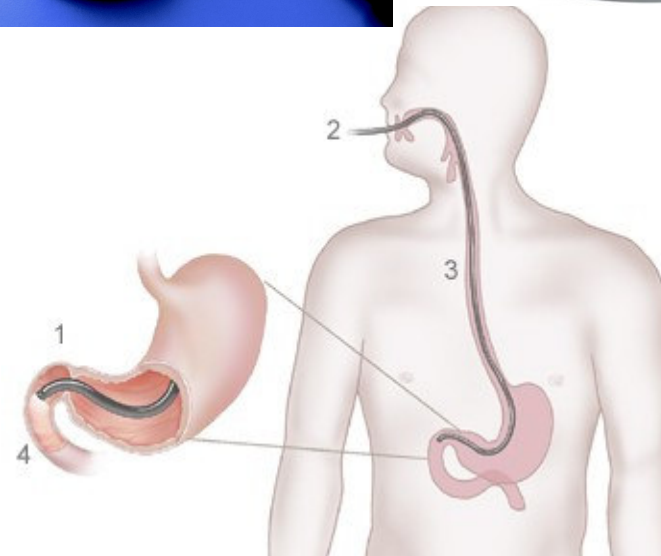
- kontakt - ruke bolničkog osoblja!



Transmisija uzročnika intrahospitalnih infekcija

Indirektna

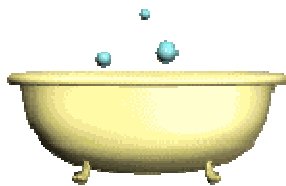
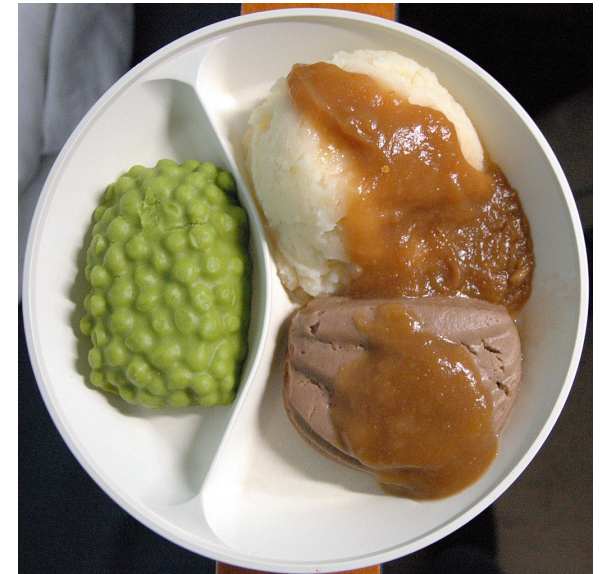
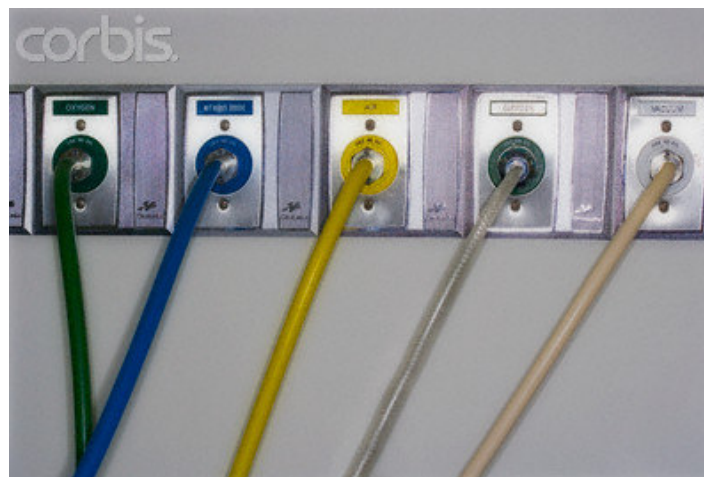
- kontaminirani predmeti - oprema i instrumenti!



Transmisija uzročnika intrahospitalnih infekcija

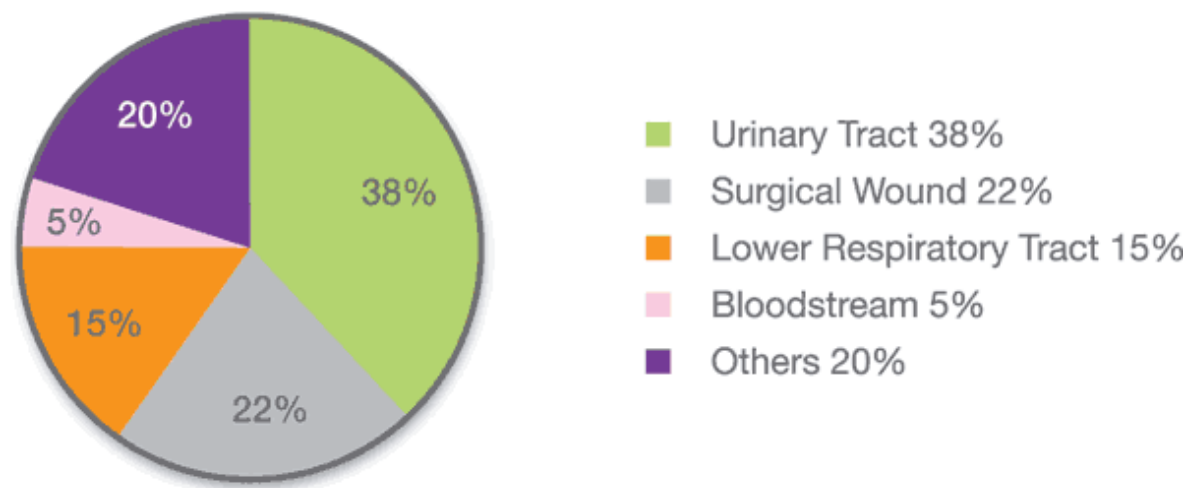
Indirektna

- vazduh
- hrana
- voda
- ...

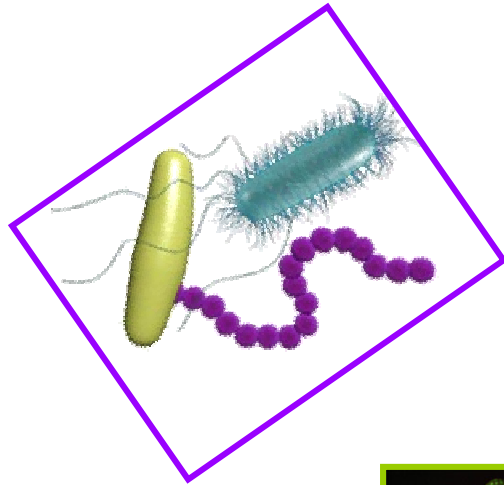


Učestalost različitih bolničkih infekcija

- infekcije urinarnog trakta $\approx 40\%$
- pneumonije $\approx 15\text{-}20\%$
- infekcije hirurških rana $\approx 15\text{-}20\%$
- bakterijemije $\approx 5\text{-}10\%$
- ostale (gastroenteritis, meningitis,...) $\approx 20\%$
- infekcije posredovane medicinskim implantatima

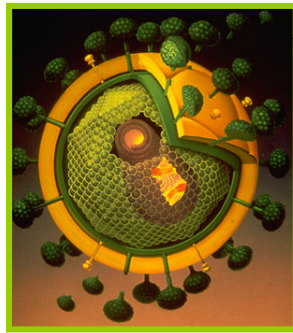


Uzročnici intrahospitalnih infekcija

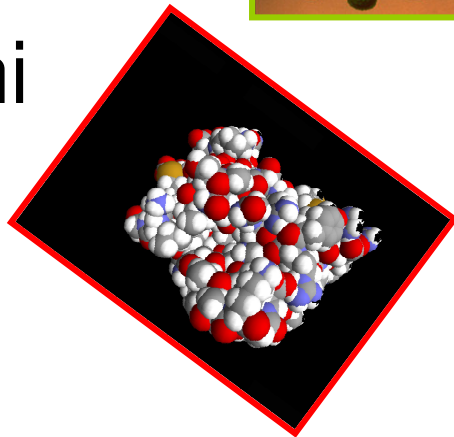


bakterije

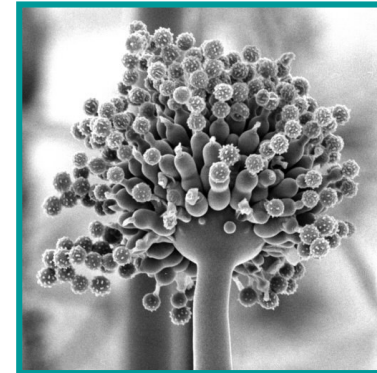
virusi



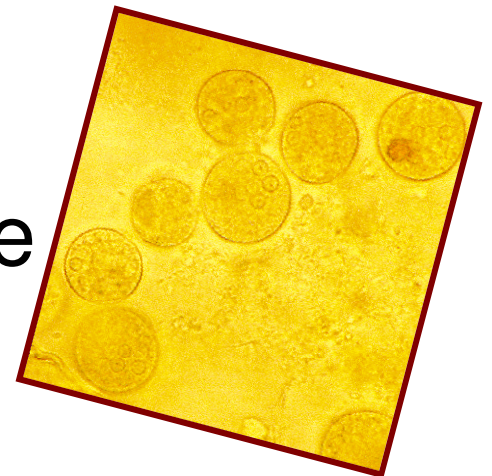
prioni



gljive



protozoe



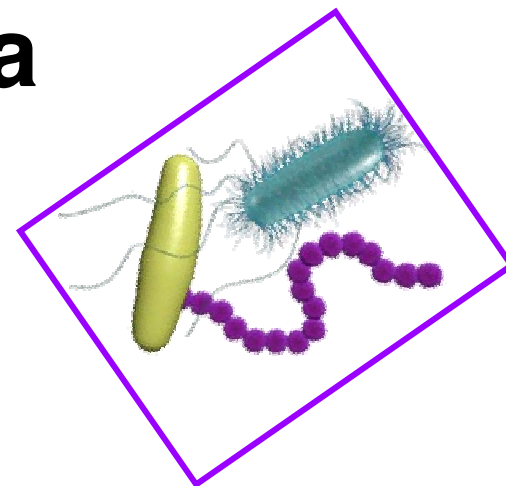
Najvažnije bakterije uzročnici bolničkih infekcija

Gram pozitivne:

Staphylococcus aureus

koagulaza negativne stafilokoke

Enterococcus spp.



Gram negativne:

Escherichia coli

ostale oportunističke enterobakterije (*Klebsiella* spp., *Serratia* spp.,...)

Pseudomonas aeruginosa

ostale nefermentativne (*Acinetobacter* spp.,...)

Osobine bolničkih sojeva bakterija

- rezistencija na antibiotike (MDR!)
- pojava zavisnosti od antibiotika
- sposobnost preživljavanja u bolničkom okruženju (dezinficijensi!)

Najznačajniji oblici rezistencije:

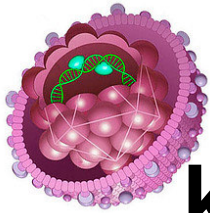


- **MRSA** (meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*)
- **VRE** (vankomicin-rezistentni enterokok)
- **MBL** (metalo- β -laktamaze-produkujući sojevi)
- **ESBL** (β -laktamaze proširenog spektra delovanja)

Najvažniji virusi uzročnici bolničkih infekcija

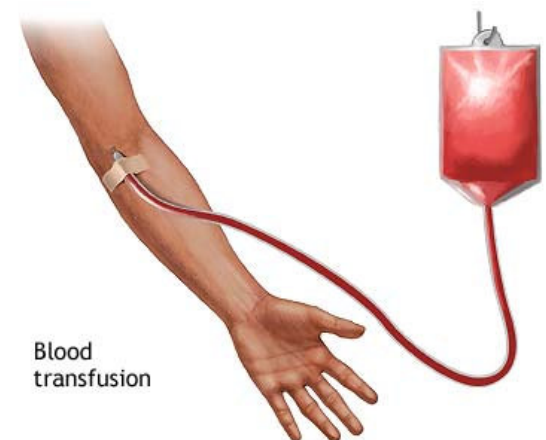
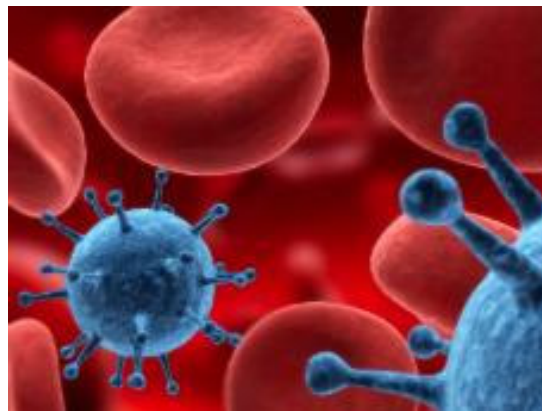
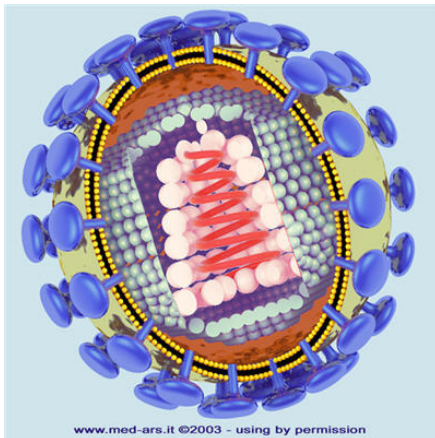
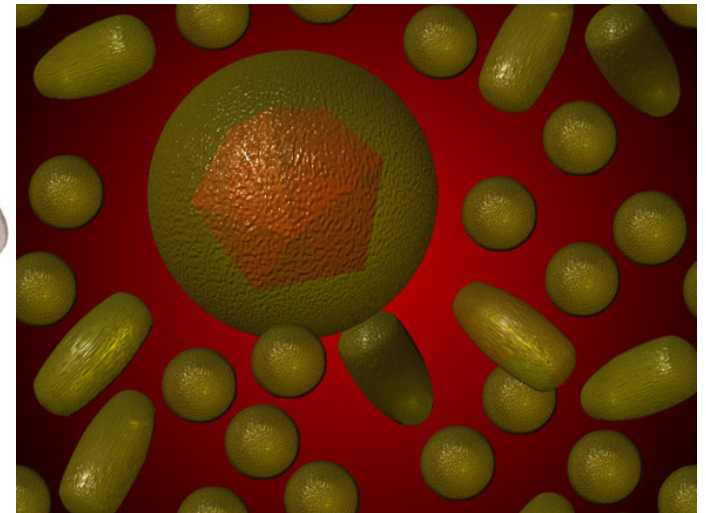
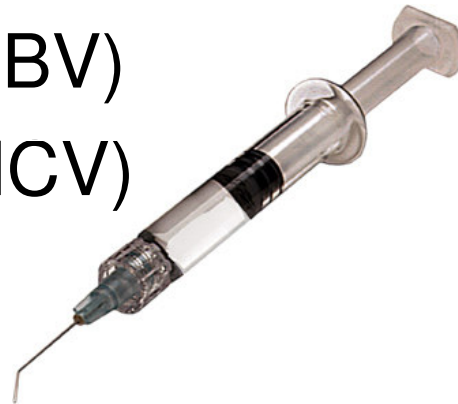
- **prenos vazduhom:**
virus influenzae
respiratorni sincicijalni virus
virus parainfluenzae
Varicella-Zoster virus (VZV)
- **prenos direktnim kontaktom sa lezijama na koži**
HSV1, HSV2, VZV
- **prenos feko-oralnim putem**
rotavirusi i norovirusi
(Norwalk-like virus)





Virusi koji se prenose putem krvi, krvnih produkata ili kontaminiranim instrumentima

- Virus humane imunodeficijencije (HIV)
- Hepatitis B virus (HBV)
- Hepatitis C virus (HCV)



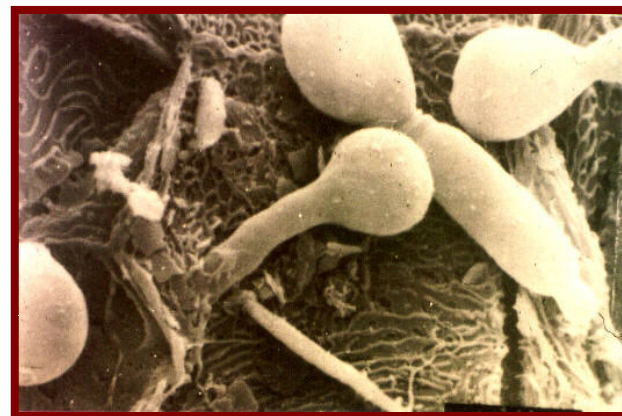
Najvažnije gljive uzročnici intra-hospitalnih infekcija

kvasnice

Candida spp. (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*,...)

Malassezia furfur, *M. pachydermatis*

Trichosporon beigelii



plesni

Aspergillus spp.

Penicillium spp.

Acremonium spp.



Mucorales

Rhizopus spp.

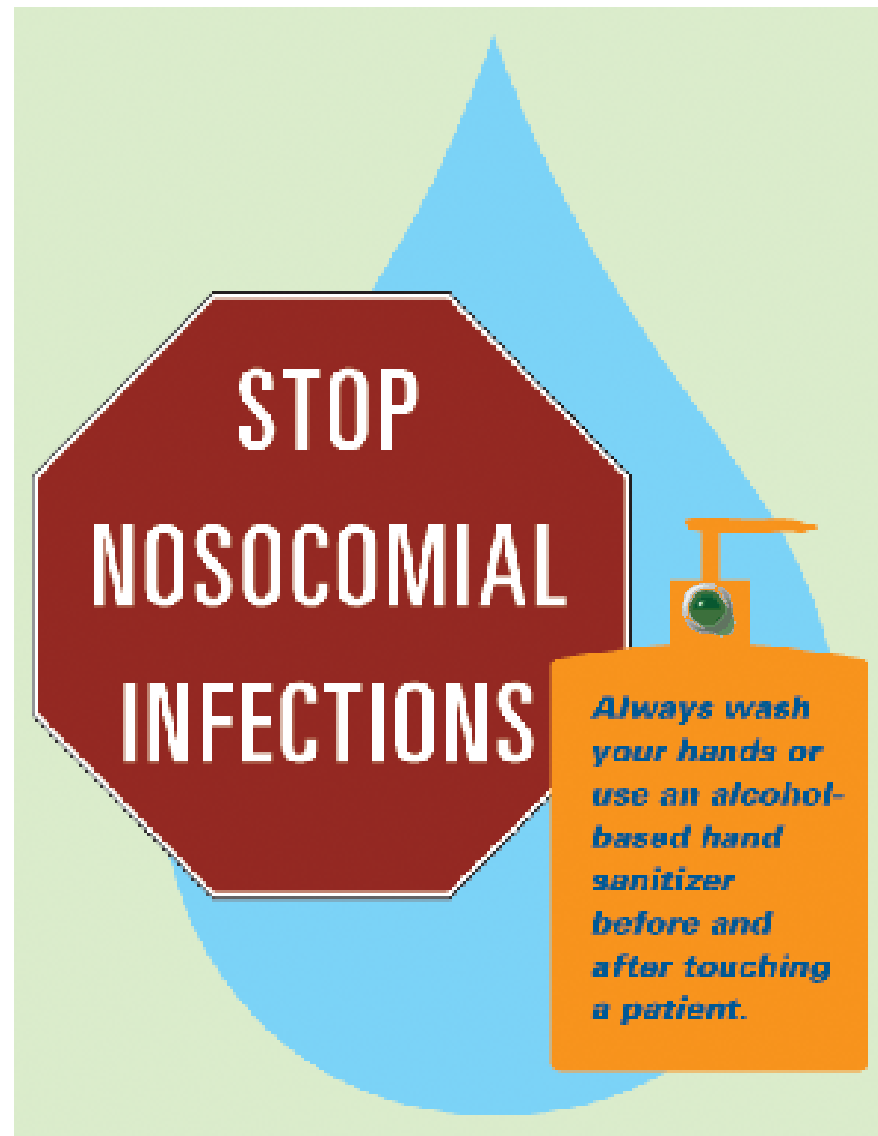
Mucor spp.

Absidia spp.

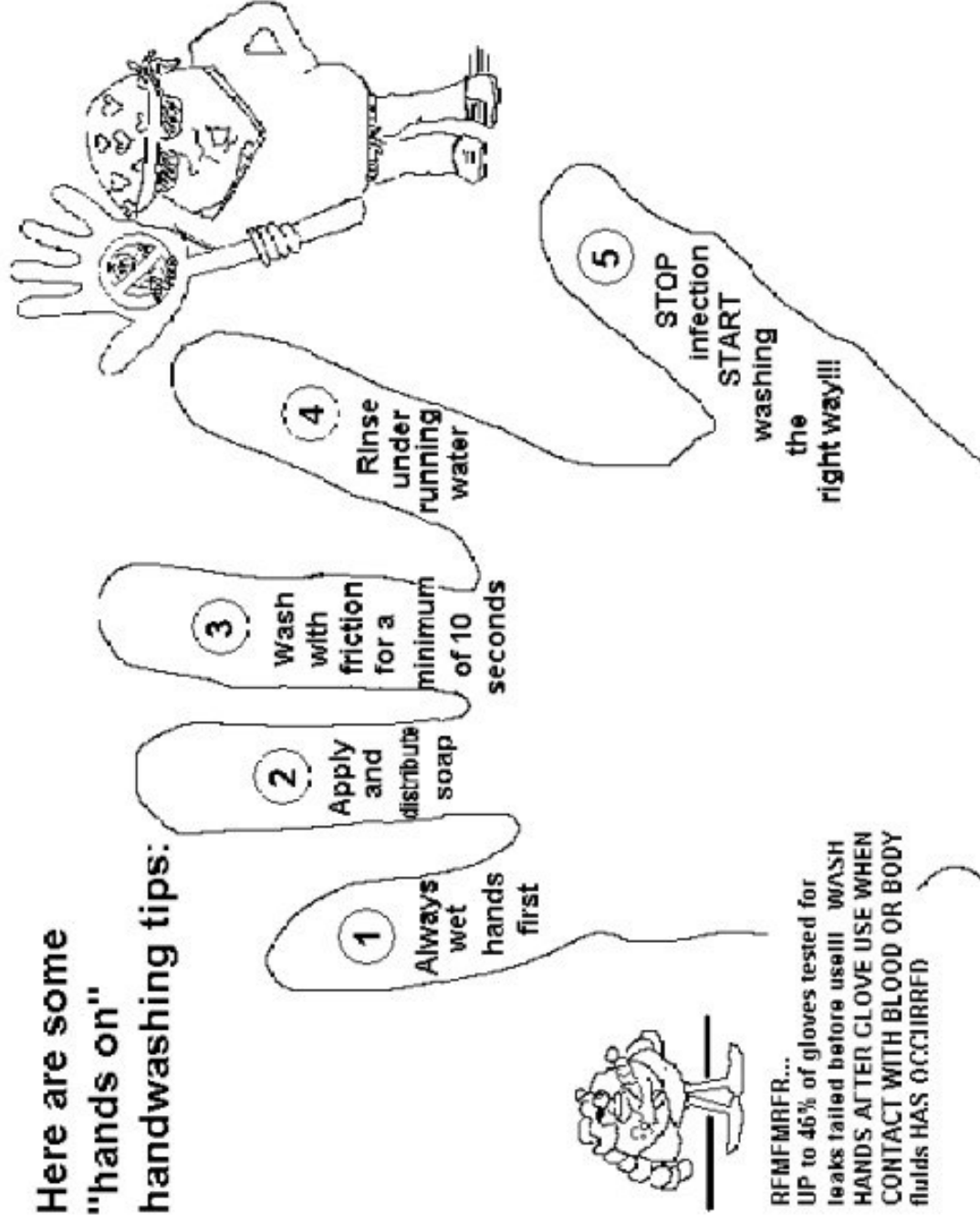


Prevenција i kontrola

- pranje ruku!



Here are some
"hands on"
handwashing tips:



Prevenција i kontrola

- upotreba zaštitne odeće, maski, rukavica
- korišćenje instrumenata za jednokratnu upotrebu
- sterilizacija instrumenata
- dezinfekcija površina i vazduha
- pravilno odlaganje kontaminiranog materijala i krvi



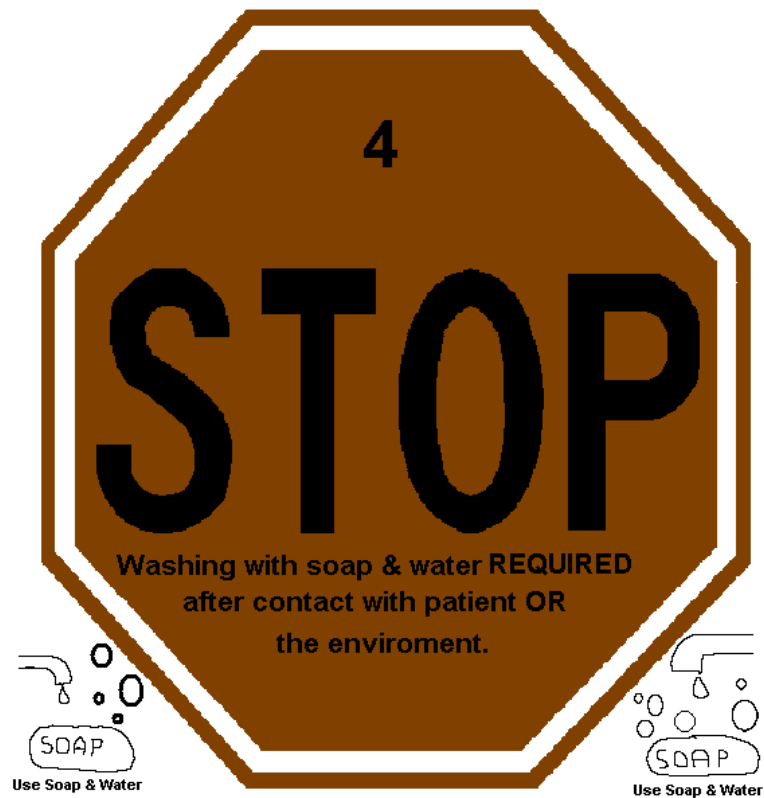
Prevenција i kontrola

- izolacija pacijenata sa infekcijom

AIRBORNE COMMUNICABLE DISEASE
ONLY PAPR TRAINED AND
EQUIPPED PERSONS IN ROOM



Enteric Alert



Prevenција i kontrola

- protektivna izolacija - izolacija imunokompromitovanih pacijenata

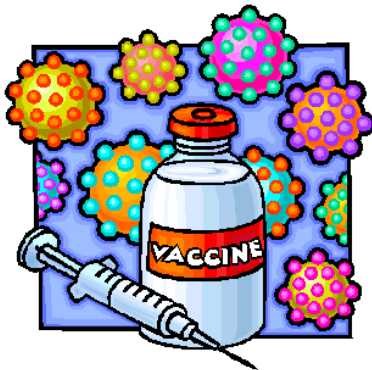


Protective Alert



Prevenција i kontrola

- obeskličavanje bolničkog osoblja
- imunizacija bolničkog osoblja i pacijenata u visokom riziku (rotavirusi, VZV, influenza,...)
- antibiotska profilaksa
- kontrola krvi i krvnih produkata
- osoba zadužena za praćenje i kontrolu bolničkih infekcija





Uloga mikrobiološke laboratorije u kontroli bolničkih infekcija

Zadaci mikrobiološke laboratorije

- **dijagnostika intrahospitalnih infekcija:**
 - izolacija
 - identifikacija uzročnika
 - ispitivanje osetljivosti na antimikrobne agense
- analiza učestalosti pojedinih uzročnika
- praćenje promena rezistencije najznačajnijih bolničkih patogena (MRSA, VRE, ESBL,...)
- praćenje promena virulencije

Zadaci mikrobiološke laboratorije

- screening osoblja i pacijenata i otkrivanje kliconoštva (rutinski screening na MRSA i VRE u različitim uzorcima)
- praćenje higijensko-epidemiološke situacije (brisevi sa raznih površina, uzorci vazduha,...)
- kontrola procesa sterilizacije i kontrola sterilnosti predmeta

Zadaci mikrobiološke laboratorije

- kontrola higijene osoblja (pranje ruku!)
- ispitivanje efikasnosti dezinficijensa
- edukacija zdravstvenog osoblja (predavanja i testovi)
- tipizacija uzročnika bolničkih infekcija (fenotipska i genotipska)

Tipizacija uzročnika bolničkih infekcija

Uloga tipizacije: da se ustanovi da li između izolata postoji povezanost

izolati srodni i/ili identični ?

Metode tipizacije zasnovane na ispitivanju:

- fenotipskih karakteristika izolata
- genotipskih karakteristika izolata

Potvrda genetske srodnosti između izolata
uzročnika intrahospitalnih infekcija, odnosno
utvrđivanje pripadnosti istom klonu omogućava
da se:

- A** identifikuje izvor infekcije (iz spoljne sredine ili od osoblja)
- B** razlikuje infektivni od neinfektivnog soja (kontaminant)
- C** razlikuje relaps od reinfekcije

Fenotipske metode tipizacije bakterija izazivača intrahospitalnih infekcija

 istovremeno metode identifikacije mikroorganizama i ispitivanja osetljivosti na antimikrobna sredstva

Biotipizacija ➡ **biotipovi**

Ispitivanje osetljivosti na antibiotike ➡ **rezistotipovi**

Serotipizacija ➡ **serotipovi**

Ispitivanje osetljivosti na bakteriofage ➡ **fagotipovi**

Ispitivanje osetljivosti na bakteriocine ➡ **bakteriocinotipovi**

e.g. biotipizacija - identifikacija i razlikovanje biotipova na osnovu rezultata biohemijskih reakcija/ morfologije/ tolerancije na faktore spoljne sredine



Pacijent 1

Dva izolata *Pseudomonas aeruginosa* od različitih pacijenata - **identični biotip**



Pacijent 1

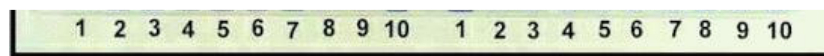
Dva izolata *Pseudomonas aeruginosa* od različitih pacijenata - **različiti biotipovi**



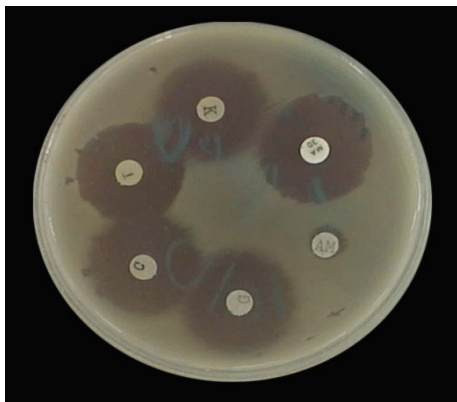
Pacijent 2



Pacijent 2



e.g. rezistotipizacija - rezultat antibiograma ukazuje na model *in vitro* osetljivosti/rezistencije na grupu antimikrobnih agenasa (antibiotika)

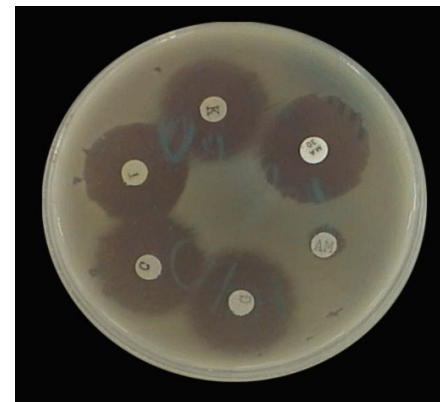


Pacijent 1

Izolati *E. coli* različitih pacijenata

– **isti rezistotip**

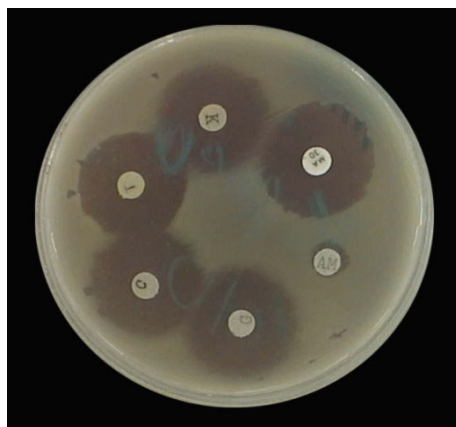
Moguće je u rutinskom radu detektovati nove oblike rezistencije



Pacijent 1

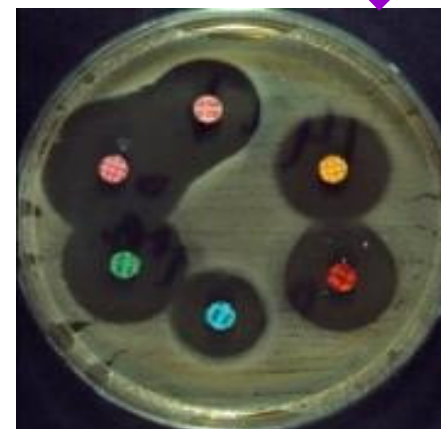
Izolati *E. coli* različitih pacijenata

– **različiti rezistotipovi**



Pacijent 2

! Moguće je da bakterije koje nisu genetski / epidemiološki srodne imaju isti antibiogram



Pacijent 2

Ograničenja fenotipskih metoda

- ☞ imaju manju moć razlikovanja sojeva u odnosu na genotipske metode
- ☞ problemi standardizacije različitih metoda i loša reproducibilnost
- ☞ mogućnost varijacije u ekspresiji gena i slučajne mutacije mogu izmeniti biološke osobine izolata

Genotipske metode tipizacije

Cilj ovih metoda je da se dokaže da su izolati uzročnika intrahospitalnih (IH) infekcija genetski srodni i da potiču od istog soja

osnovna pretpostavka:

A epidemiološki povezani izolati uzročnika IH infekcija predstavljaju potomke jednog klona i imaju isti genotip (DNK fingerprint)

B izolati koji nisu epidemiološki povezani imaju različite genotipove

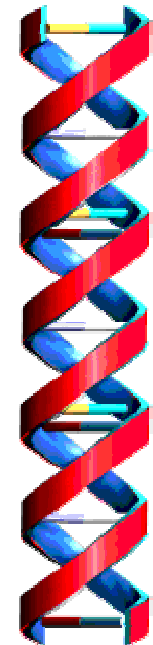
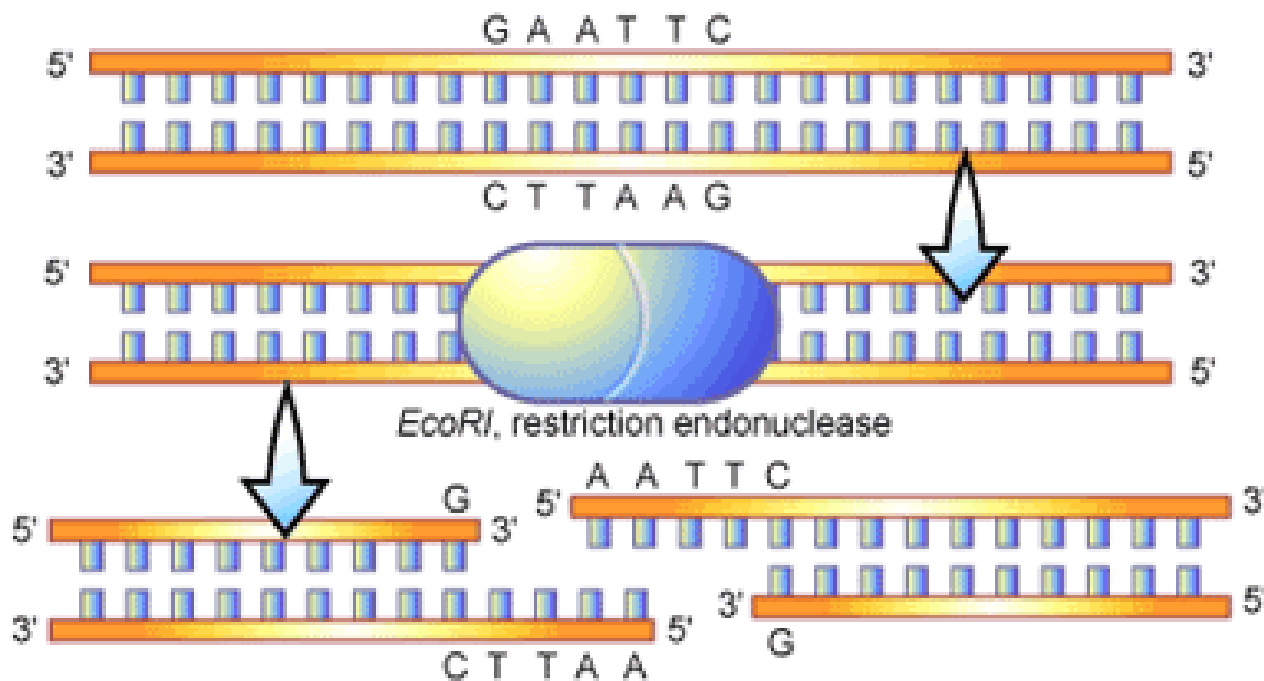
Genotipske metode tipizacije

 zasnivaju se na analizi i upoređivanju hromozomske i plazmidske DNK

veliki broj različitih tehnika:

-  metode zasnovane na primeni restrikcioni endonukleaza (sa ili bez prethodne amplifikacije - PCR)
-  metode zasnovane na ispitivanju polimorfnih genetičkih markera (ponovljene sekvence)
-  metode zasnovane na analizi sekvence nukleotida (sekvenciranje PCR produkata)

Restriktione endonukleaze



Restriksione endonukleaze

Some restriction enzymes

Enzyme	Source organism	Restriction recognition site in double-stranded DNA	Structure of the cleaved products
(a)			
EcoRI	<i>Escherichia coli</i>		5' overhang
PstI	<i>Providencia stuartii</i>		3' overhang
SmaI	<i>Serratia marcescens</i>		Blunt ends
(b)			
HaeIII	<i>Haemophilus aegyptius</i>		Blunt ends
HpaII	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>		5' overhang

Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

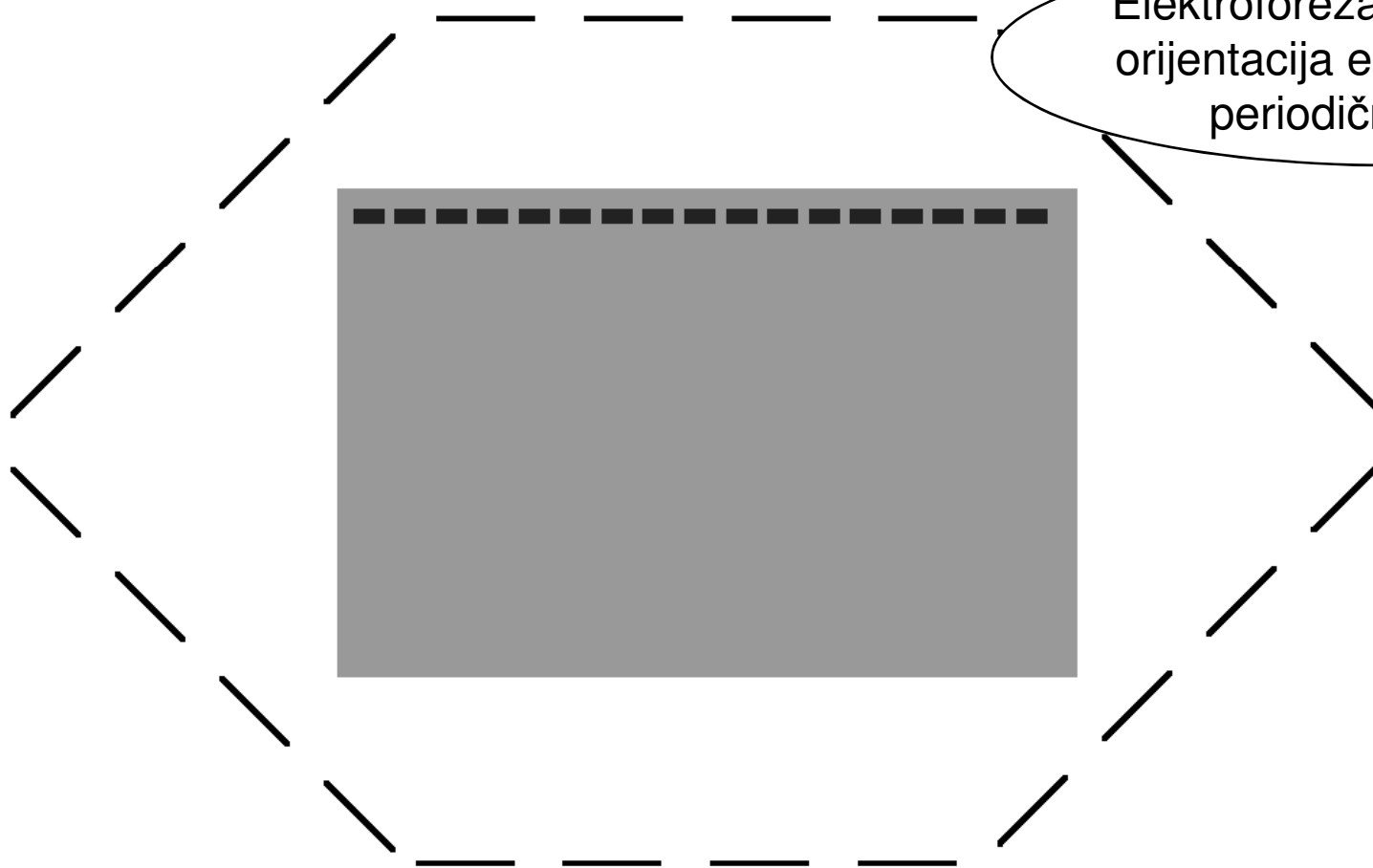
izolacija DNK

restrikcioni enzimi

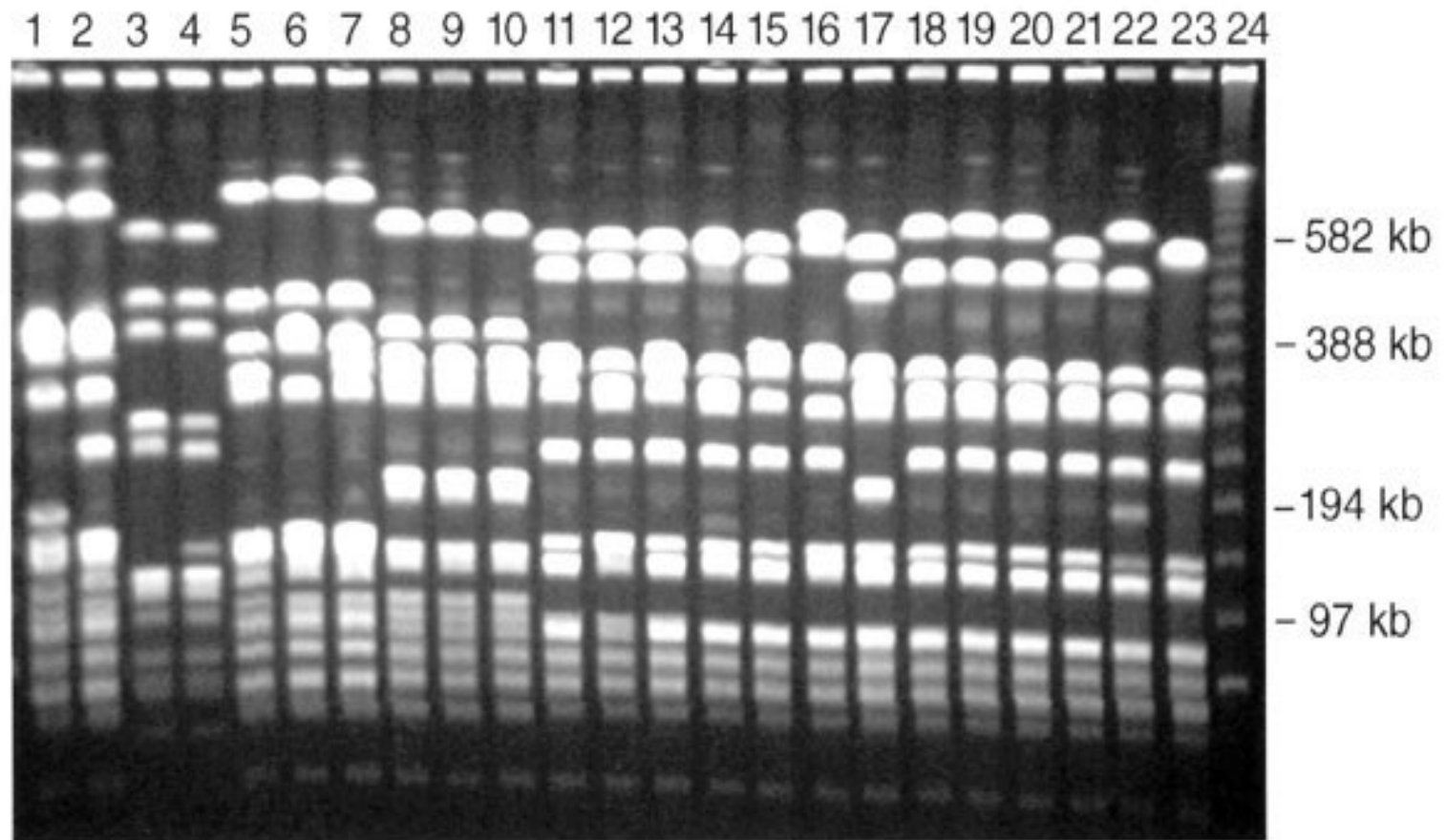
elektroforeza

tumačenje: upoređivanje broja i veličine elektroforetski
odvojenih DNK fragmenata

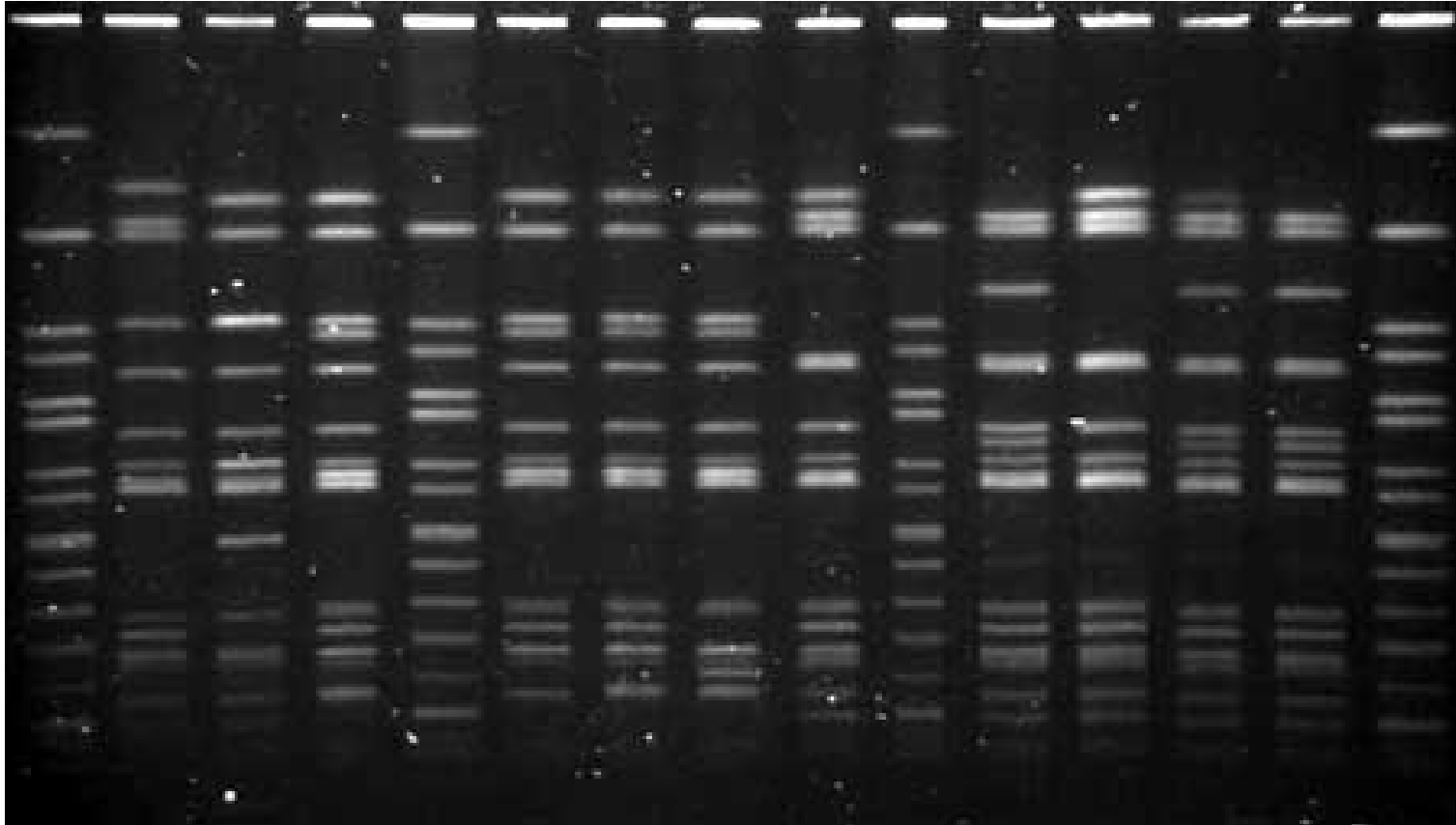
Elektroforeza u gelu gde se
orijentacija električnog polja
periodično menja



***Staphylococcus aureus* - PFGE**



***Enterococcus faecalis* - PFGE**



Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

izolacija DNK



restrikcioni enzimi



elektroforeza

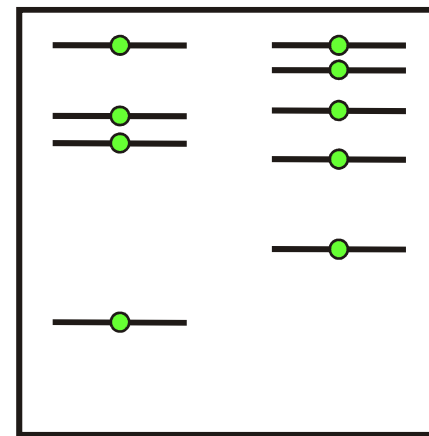
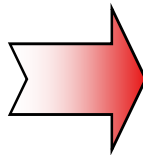
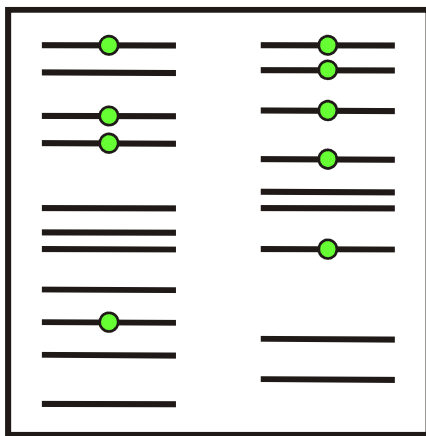
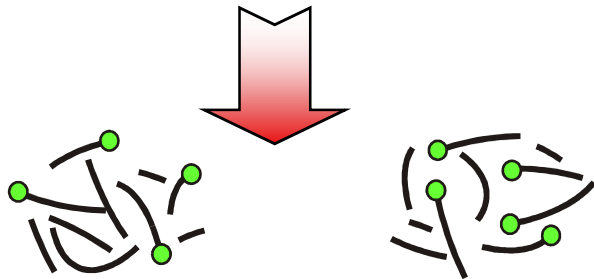
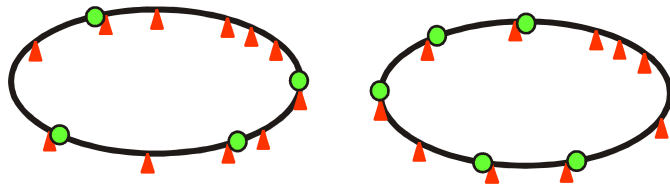


upoređivanje broja i veličine elektroforetski odvojenih
DNK fragmenata



detekcija DNK fragmenata sa specifičnim genetičkim
markerom

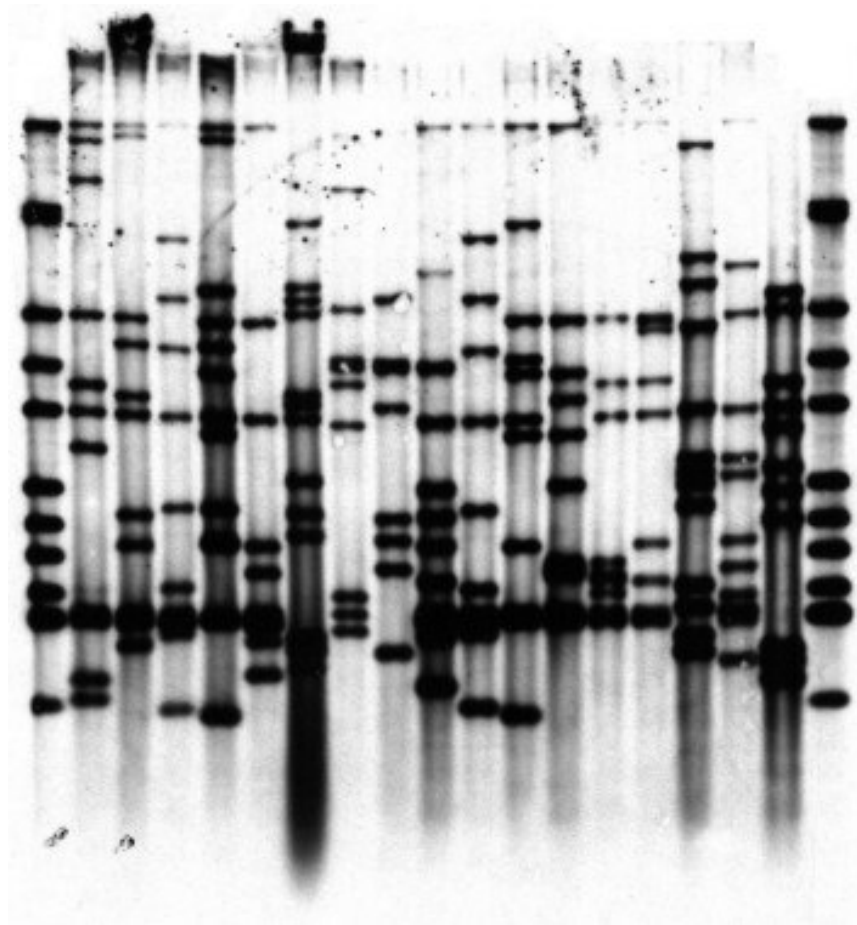
RFLP



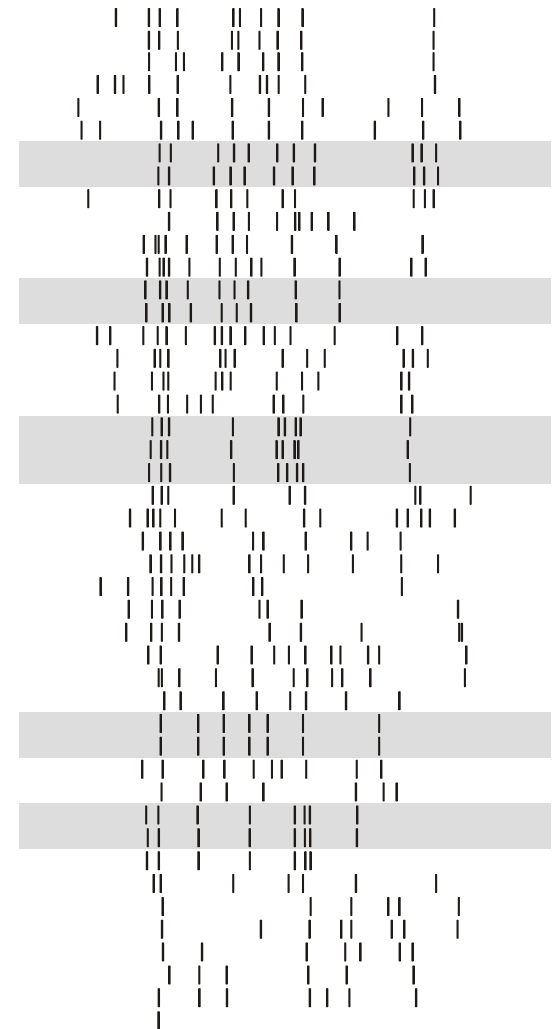
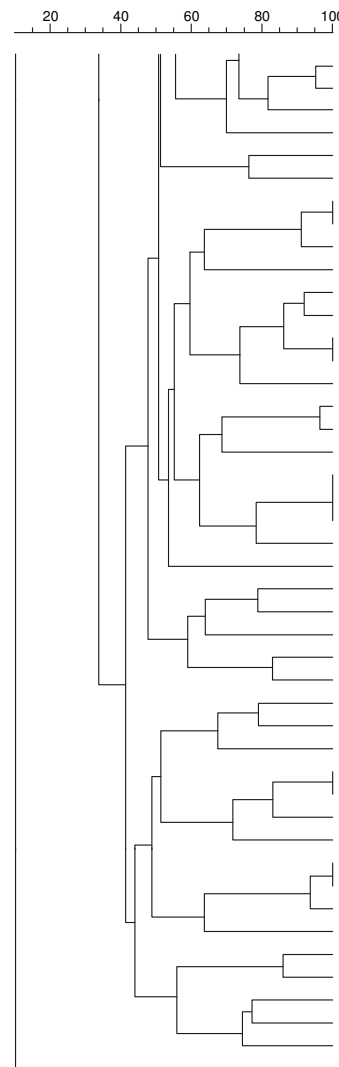
▲ mesto koje prepoznaje
restrikcioni enzim

● genetički marker

**detekcija: obeležena proba
komplementarna sekvenci
genetičkog markera**



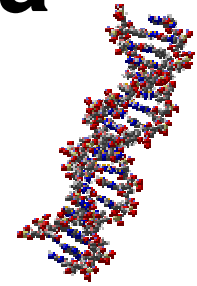
**RFLP
fingerprintovi
izolata *E. coli***



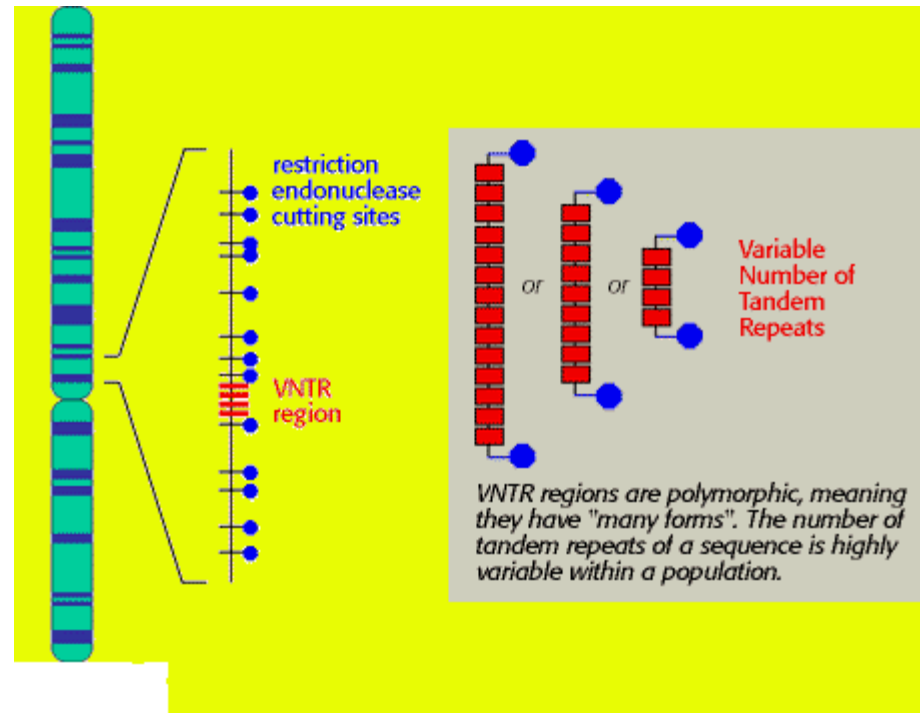
rezultati nakon kompjuterske analize

Metode zasnovane na ispitivanju polimorfnih genetičkih markera

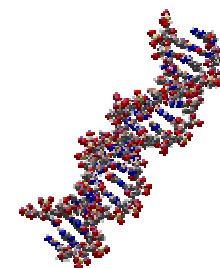
e.g. **VNTR** - variable number of tandem repeats



- tandem repeat: kratka DNK sekvenca koja se javlja u većem broju ponavljanja na određenom delu hromozoma

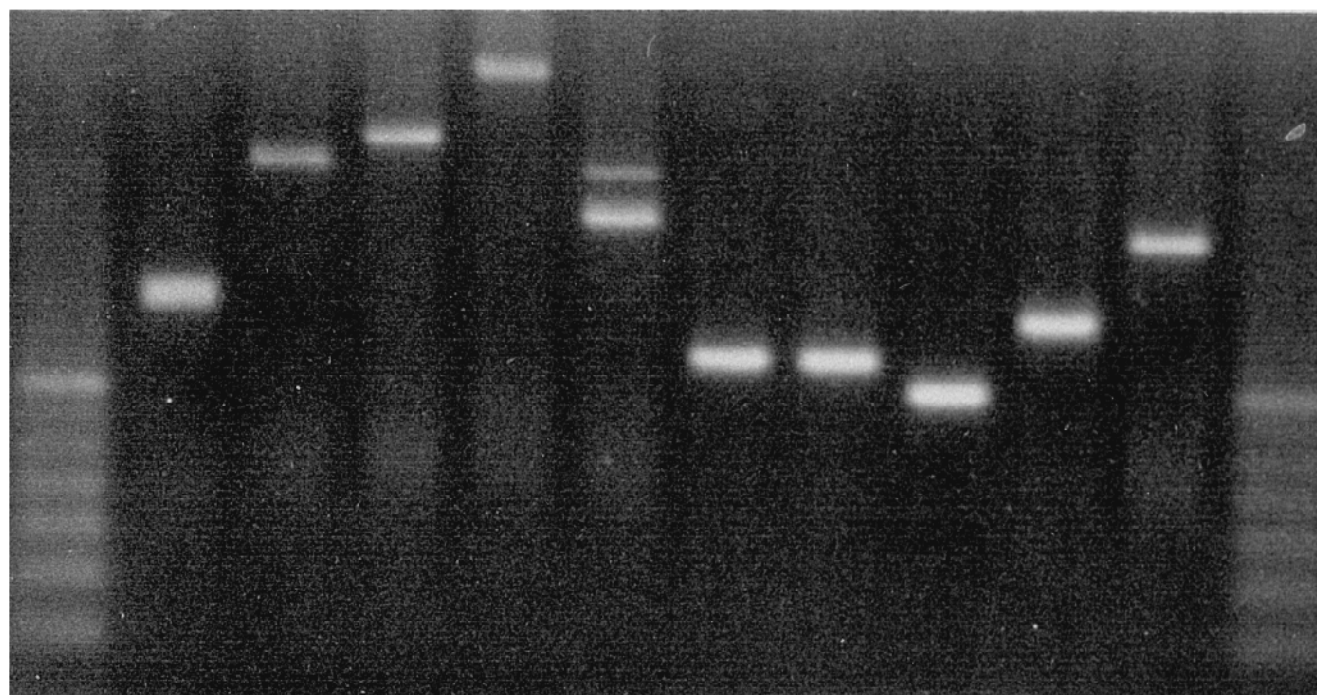


VNTR polimorfizam izolata MRSA



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 M

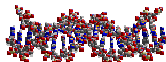
100 bp

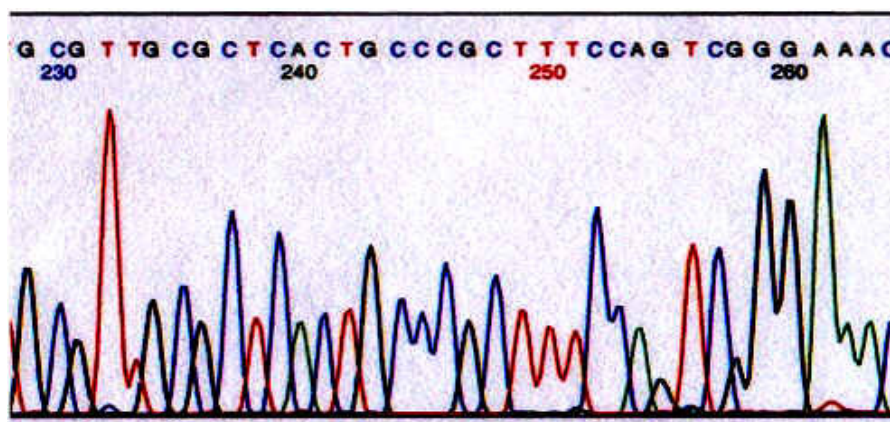


Hi 4-10

Metode zasnovane na analizi sekvence nukleotida

 nove metode u molekularnoj epidemiologiji

 zasnovane na analizi sekvence nukleotida u pojedinačnim ili multiplim hromozomskim lokusima - izražavaju se jednostavnim rezultatima: A, T, G i C



 standardizacija, jedinstvena interpretacija, podaci o sekvencama nukleotida za razne gene dostupni su na internetu