



● ● ●

Значењето на микробиолошката дијагностика

во донесување

на клиничка одлука

**(посебно при ургентни состојби -
сепса, менингити)**

Проф. д-р Жаклина Цековска

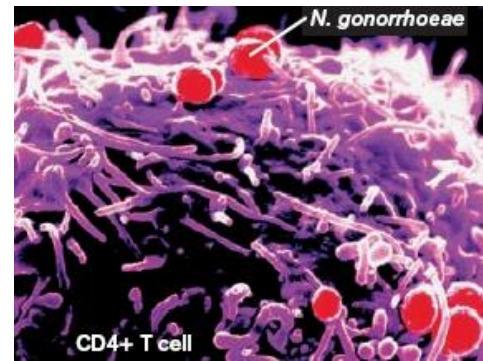
Институт за микробиологија и паразитологија,

Медицински факултет, Скопје

СОДРЖИНА

- Вовед: општи факти, фази на анализа и примероци за испитување на клиничката микробиологија
- Алки во синџирот на микробиолошката дијагностика
- Сознанија од микробиолошкото испитување!
- Важноста на микробиолошкиот наод од поединечни ургентни примероци:
 - Хемокултура
 - Ликвор
 - Посебен акцент → правилно толкување на наодот (правилна интерпретација)

Познати факти:



- Не секој антибиотик делува на сите бактерии
- Регистриран е евидентен пораст на резистентни бактерии (мултirezистентни)

Потребно е:

- Брза изолација и идентификација на причинителот **(има круцијално значење)**
- Правилен избор на антибиотици според антибиограмот
- Следствено: ефикасно и брзо лекување на болниот

Клиничка микробиологија

- **Клиничка микробиологија**
 - **Брзо и ефикасно изолирање (детекција) и идентификација на микроорганизмите од клинички примероци**
- **Клинички примероци**
 - **Материјал од хумано потекло во кој се одредува присуство (отсуство) на одредени микроорганизми**

Фази на тестирање

-
-
-
- **Преданалитичка**

(Одбир на правилен примерок, негово собирање, означување, транспорт, правилно чување до обработка)

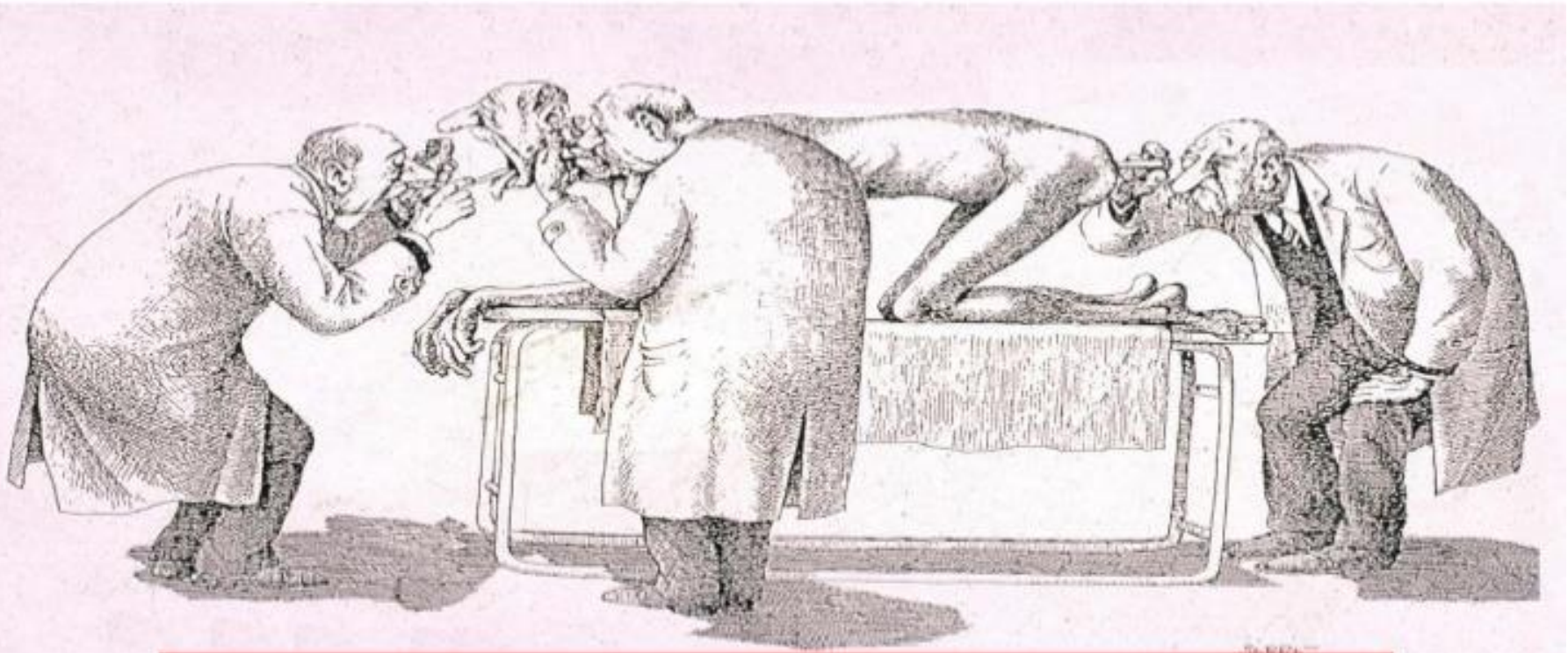
- **Аналитичка**

(Алки во синџирот на микробиолошката **дијагностика** -Микроскопска, културелна, биохемиска, молекуларна, серолошка, автоматизирана дијагностика, изработка на осетливост на изолираниот агенс кон антибиотици - антибиограм)

- **Постаналитичка**

(Финален извештај на лекарот, точна интерпретација на наодот и правилен терапевтски избор)

Collection & transposition of Specimen



Collection & transportation of Good quality specimen for microbiological examination is crucial

Dr.T.V.Rao MD

**Круцијален чекор за правилна дијагностика:
добро одбран - репрезентативен примерок**

Техники на испитување

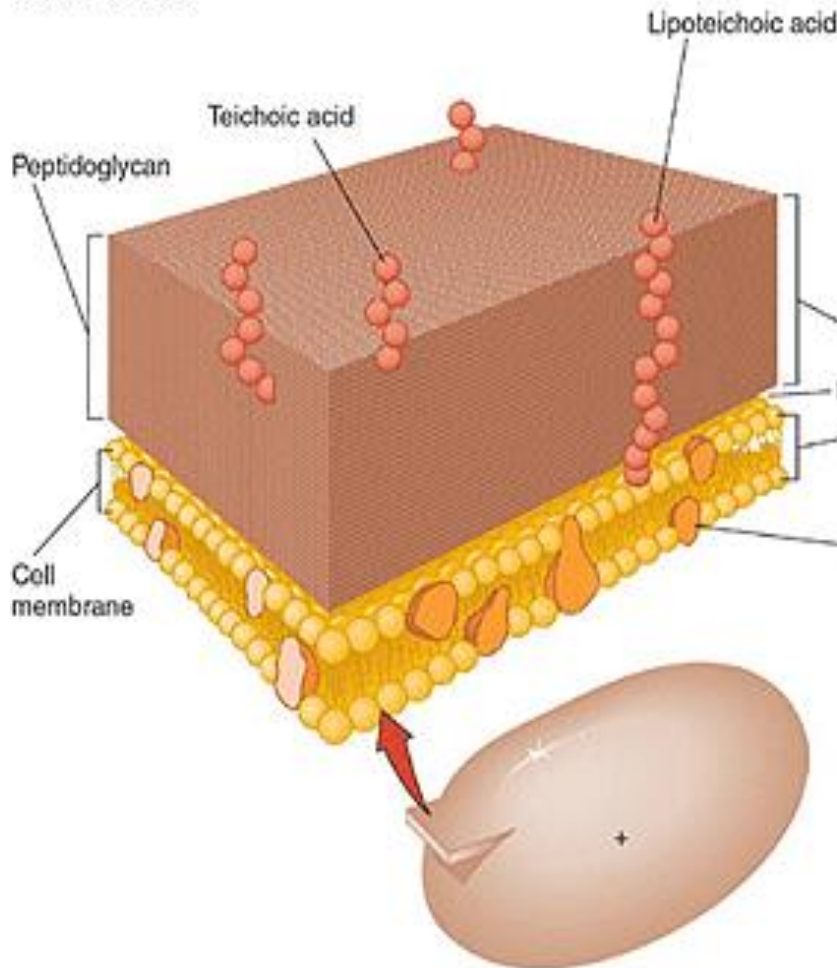
○ Идентификација на патогените:

- **Микроскопски:** докажување на морфологијата, подвижноста, поделба според Грам, флуоресцентен микроскоп за специфична детекција (антигени, индиректно - докажување на антитела)
- **Културелни и биохемиски карактеристики**
- **Автоматизирани техники (биохемиска основа)**
- **Имунолошки тестови**
- **Молекуларни техники:** PCR, R-time PCR

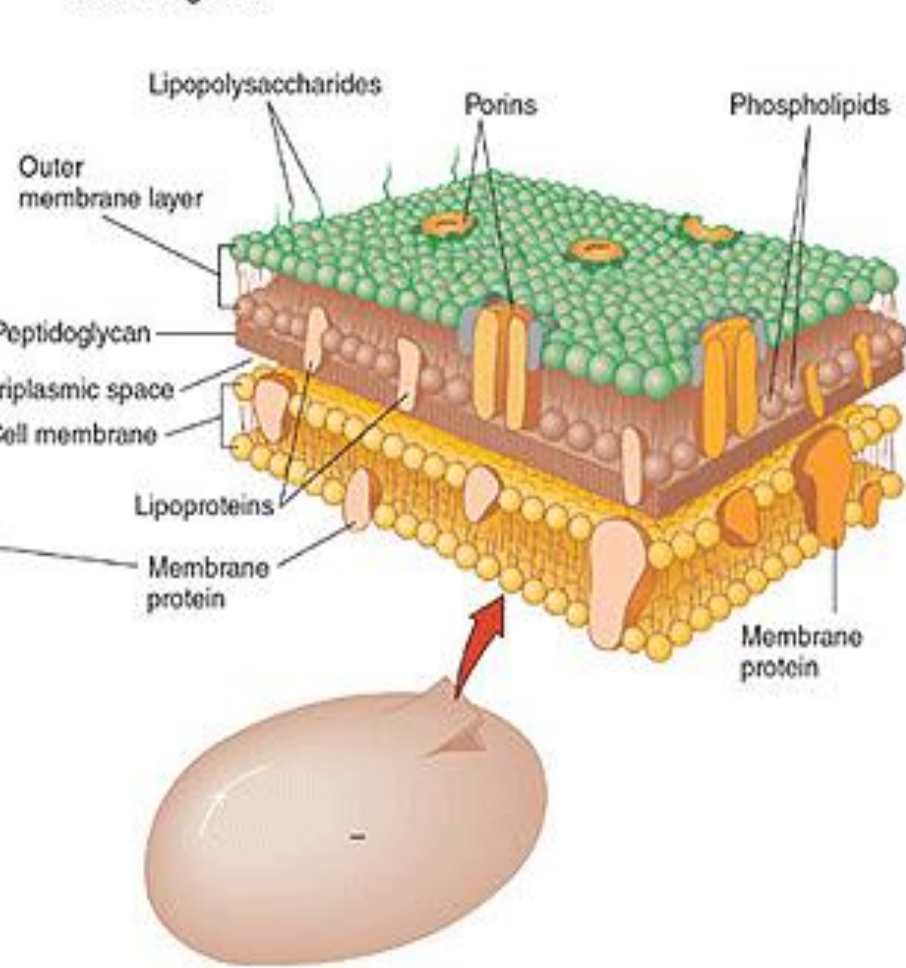
Многу важен факт- Грам позитивни или Грам негативни бактерии во примерокот

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Gram Positive



Gram Negative

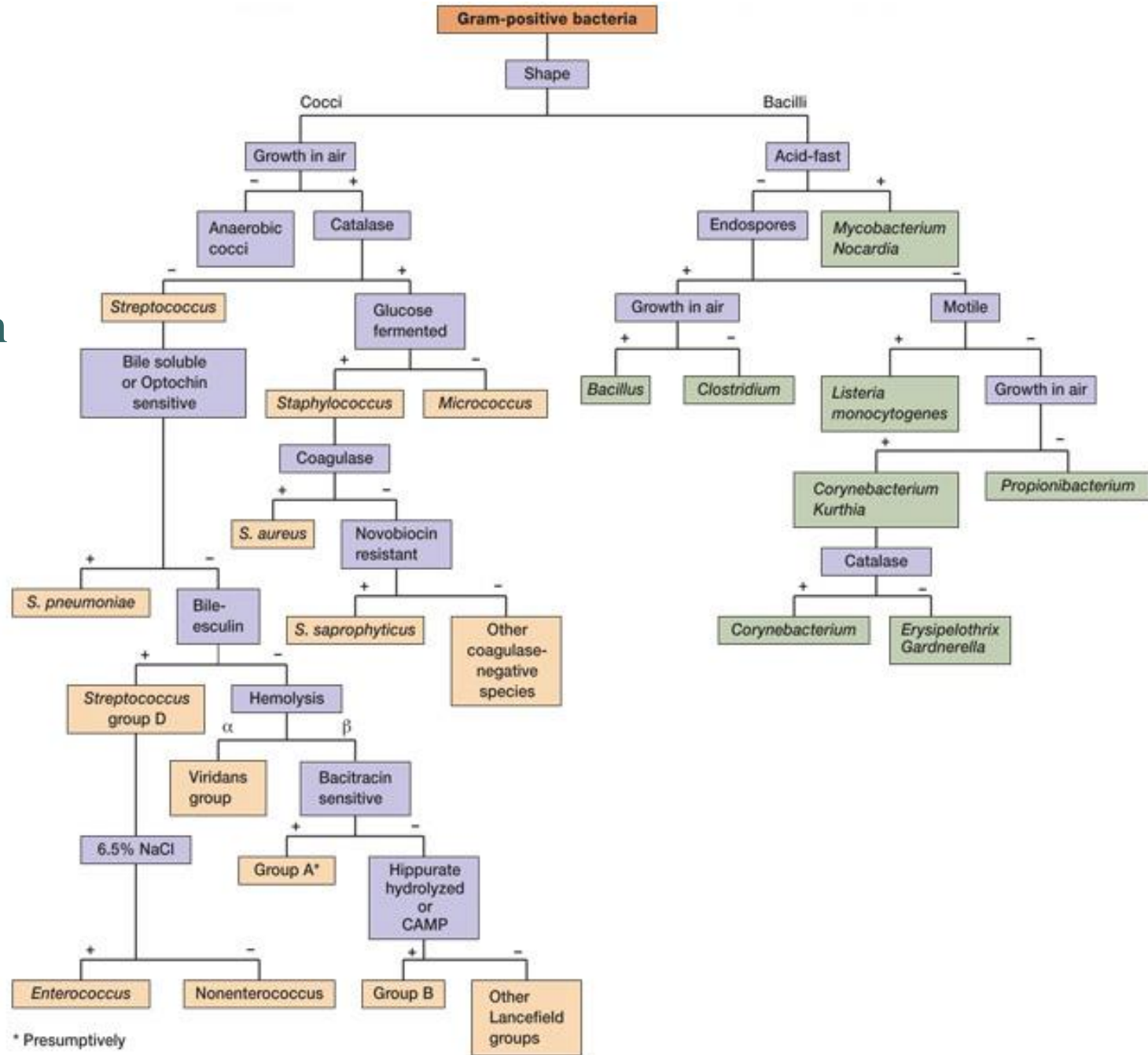


Дебелина
на клеточен ѕид:

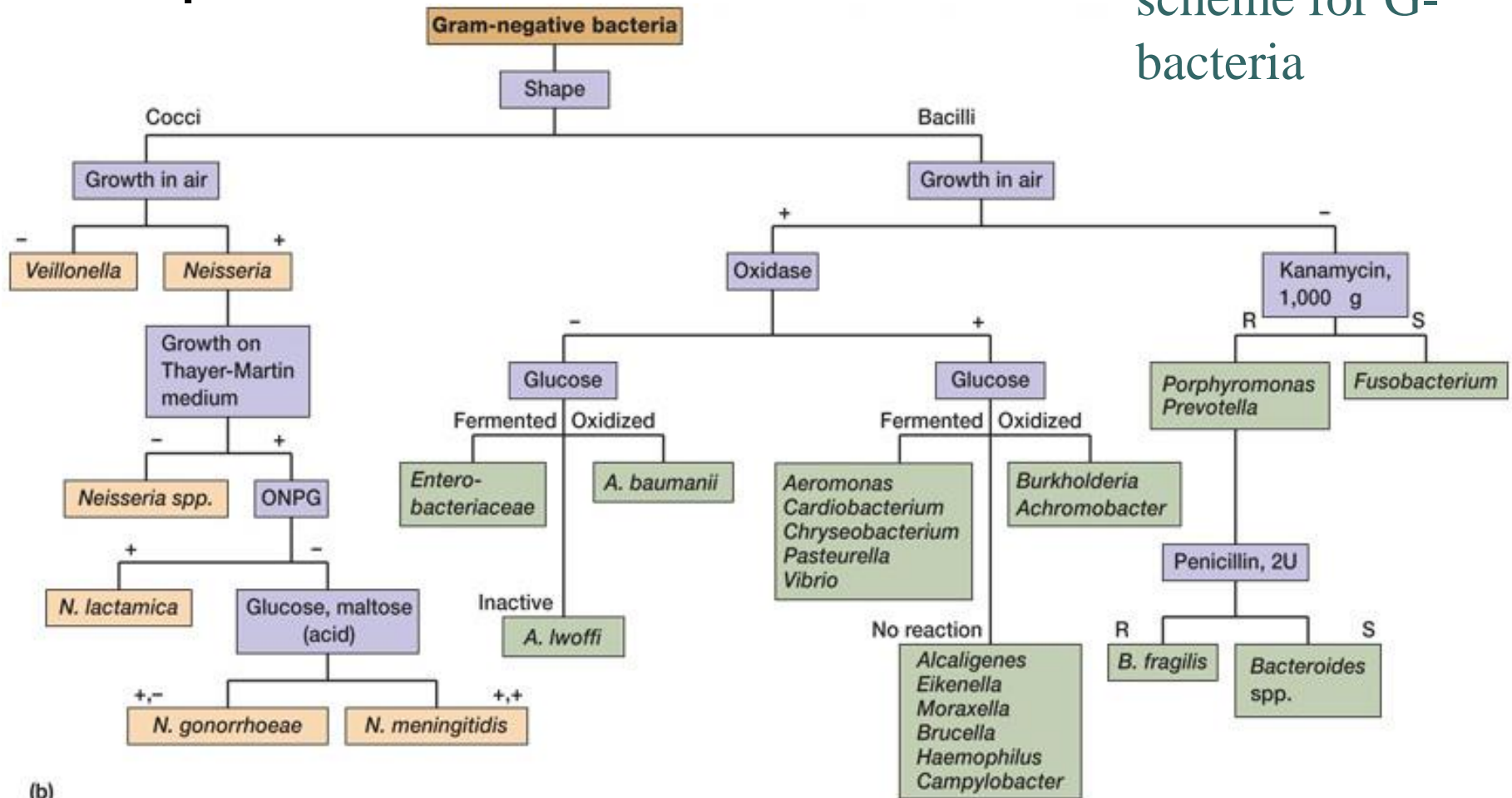
15-50 nm
Грам позитивни

10 nm
Грам - негативни

Identification scheme for G+ bacteria



Identification scheme for G- bacteria



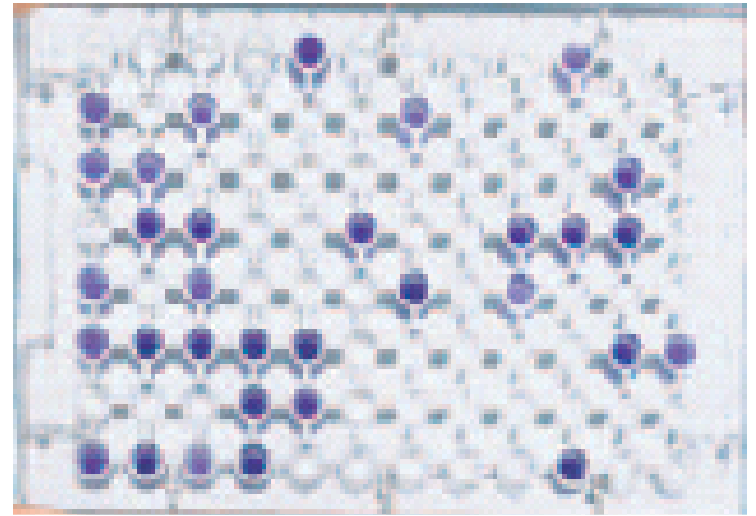


Картичка со бунарчиња - различни
биохемиски реакции - идентификација на бактеријата

Автоматизирана дијагностика: VITEK – 2 СИСТЕМ

Биохемиска идентификација- ВИТЕК картичка

- Повеќе од 2.500 бактерии и габи
- Врз основа на колориметриско откривање на раст
- Брз тест за 4-16 часа
- Компјутерски базирана база на податоци
- Висока точност



Секое прозорче содржи одредена супстанца и присуството на раст резултира со промена на бојата

Идентификација и испитување на осетливоста — VITEK апарат

INSTITUT MIKROBIOLOGIJA I PARAZITOLOGIJA

bioMerieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Apr 19, 2010 10:34 CEST
Printed by: gordana

Patient Name: nastov petre
Isolate Group: 2971/s-1

Patient ID: 01157

Bionumber: 034003265771771
Selected Organism: Enterococcus faecium

Comments:	

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242124740	Expires: May 14, 2010 13:00 CEST
	Completed: Aug 15, 2009 16:55 CEST	Status: Final	Analysis Time: 5.75 hours
Selected Organism	96% Probability Bionumber: 034003265771771	Enterococcus faecium	Confidence: Excellent identification
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s) Enterococcus faecium dRAF(15),			

Susceptibility Information	Card: AST-P534	Lot Number: 184124740	Expires: May 14, 2010 13:00 CEST		
	Completed: Aug 15, 2009 18:09 CEST	Status: Final	Analysis Time: 7.00 hours		
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Benzylpenicillin	>= 64	R	Moxifloxacin	>= 8	R
Ampicillin	>= 32	R	Norfloxacin	>= 16	R
Ampicillin/Sulbactam	>= 32	R	Erythromycin	>= 8	R
Cefuroxime	>= 64	R	Clindamycin	>= 8	R
Cefuroxime Axetil	>= 64	R	Quinupristin/Dalfopristin	0.5	S
Imipenem	>= 16	R	Linezolid	2	S
Gentamicin High Level (synergy)	SYN-R	R	Teicoplanin	<= 0.5	S
Kanamycin High Level (synergy)	SYN-R	R	Vancomycin	>= 32	R
Streptomycin High Level (synergy)	SYN-R	R	Tetracycline	<= 1	S
Ciprofloxacin	>= 8	R	Nitrofurantoin	64	I
Levofloxacin	>= 8	R	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 10	*R

+ = Deduced drug * = AES modified ** = User modified





Имунолошки техники

- Детекција на антигени или антитела во примерокот

Се користи:

- Кога методите на култивација се невозможни или непрактични
- Кога заболувањето е секвела од инфекцијата
- Да се потврди културелната изолација
- Да се потврди молекуларната дијагностика
- **Имунолошките техники имаат многу предности:**
 - **Лесни за употреба**
 - **Даваат брз одговор**
 - **Специфични и сензитивни**



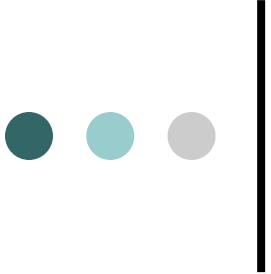
Молекуларна дијагностика

- Брза и прецизна идентификација на микроорганизмите
- Детекција и анализа на гените за вируленција и резистенција
- Генотипизација
- Класификација на познати и
- Откривање на нови микроорганизми



Важни сознанија од микробиолошкото испитување!!!

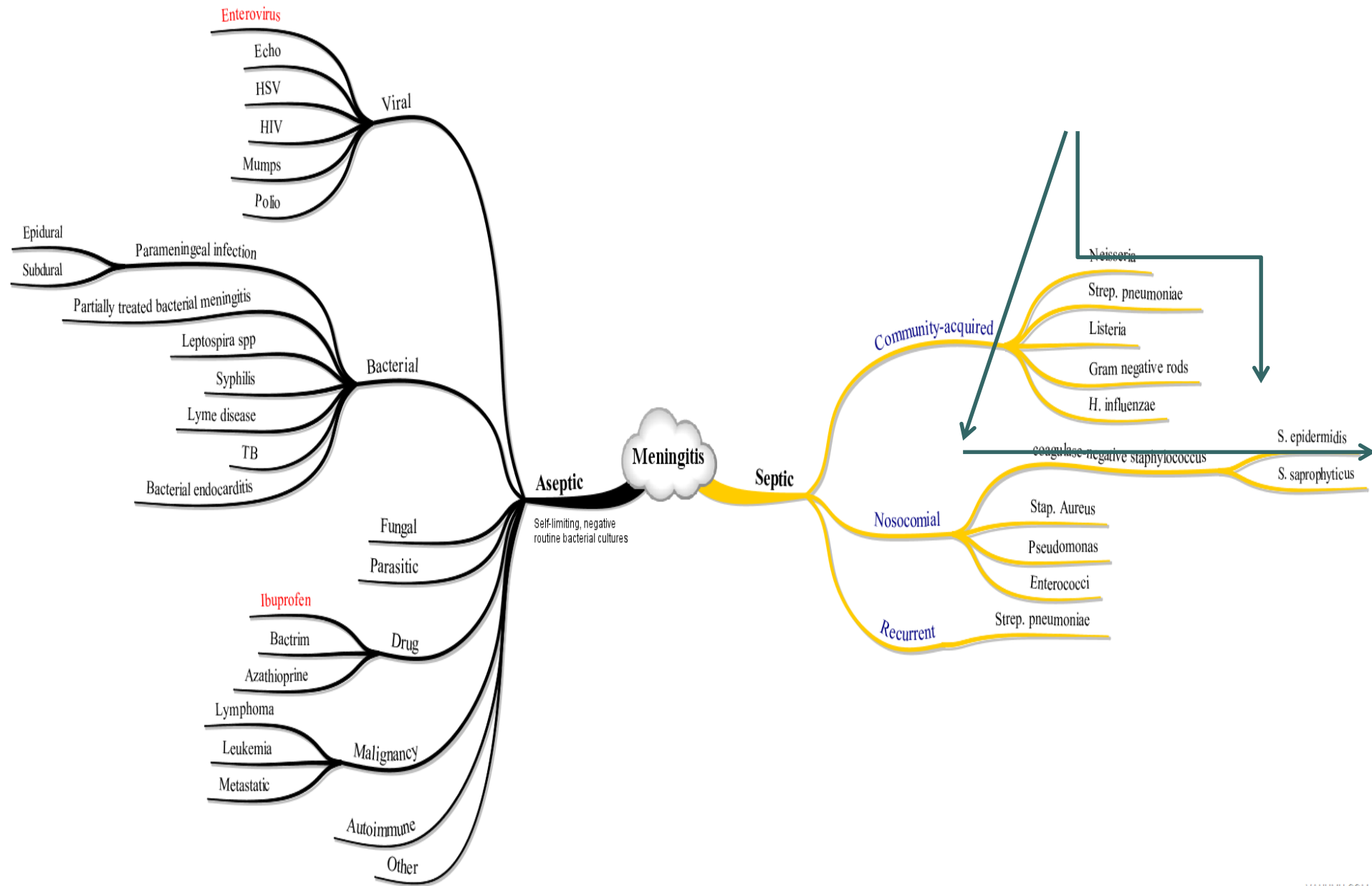
- Дали се работи за инфективен етиолошки агенс?
- **Ако се работи, за каков вид микроорганизам станува збор?**
- **Ако е детектирана бактерија, во која група припаѓа: според боењето по Грам (суштината е многу подлабока) и/или според односот кон молекуларниот кислород (важно е иницијалното ординирање на антимикуробна терапија)**
- **Припадноста на видот (некои видови се патогени, други помалку или пак воопшто не, зависи и од примерокот од кој се изолирани)**
- **Осетливоста кон антимикуробни средства (различна за секој поединичен сој), поради што неизмерно е важен резултатот од конкретниот антибиограм (класичен или со одредување на МИК - Е тест и/или ВИТЕК -2).**



□ **Значењето на микробиолошкиот наод
при донесување на конкретна клиничка
одлука**

кај ургентни клинички состојби

○ менингити и септикемии



Етиолошки агенси на менингити - во заедницата



Преданалитичка и аналитичка фаза

Важно!

❑ Колекцијата на цереброспиналната течност (CSF) **МОРА** да е строго асептична постапка (покрај останатите испитувања) се изведува и со цел да се направи микробиолошка анализа -

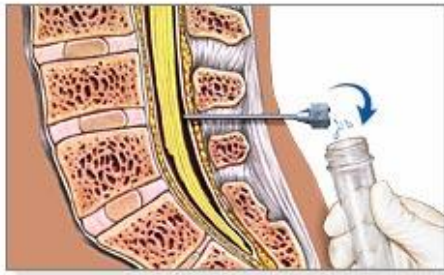
неопходна да се утврди или отфрли инфективната етиологија на процесот!!!

❑ **Брз и правилен транспорт (засадување најдобро веднаш!!!)**

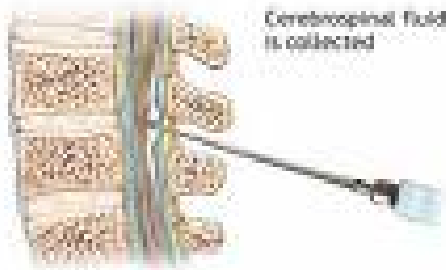
Најправилно е засадувањето крај постелата на болниот (најчестите етиолошките агенси се доста осетливи:

Neisseria meningitidis)

❑ **Садење само на обогатени подлоги, никако не на селективни!!!**



Spinal fluid is collected for testing



Cerebrospinal fluid is collected

L3-L4 or L4-L5 interspace

Постапка на колекција - една од најсоодветните и најупотребуваните положби за земање на ликвор кај пациентите

Стандардна колекција на CSF

Епрувета 1.
Макроскопски изглед
Грам-препарат
Култура и антибиограм

За микробиологија:
стерилни садови, а не
хемиски чисти!!!



Епрувета 2.
CSF Глукоза
CSF Протеини
Епрувета 3.

CSF број на клетки со диференцијал

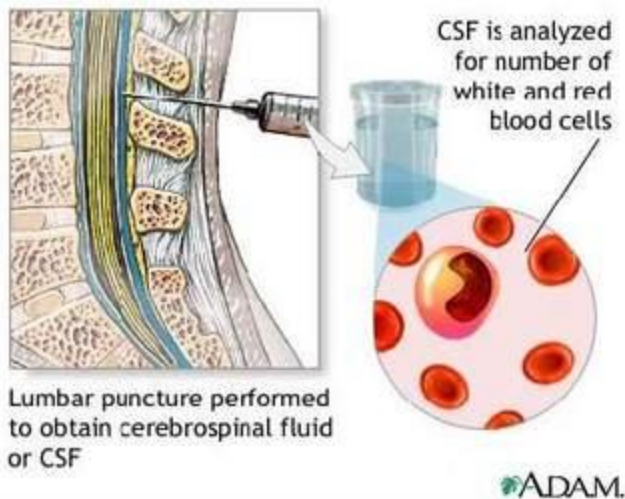
Епрувета 4. CSF
Latex
Agglutination
тест
(Одредување на
антигените)



Макроскопски изглед на ликворот – очекувани наоди



**Сад со CSF
суспектен за
присутна
бактериска
инфекција**

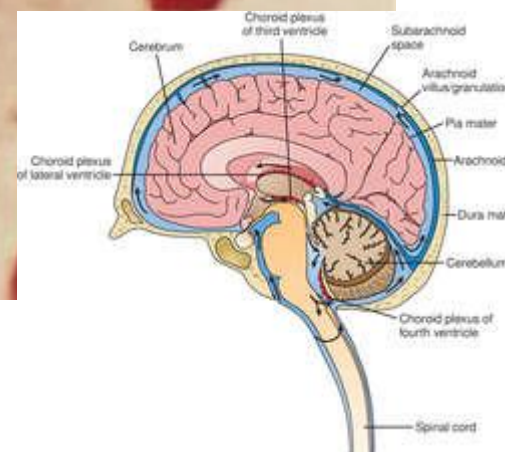
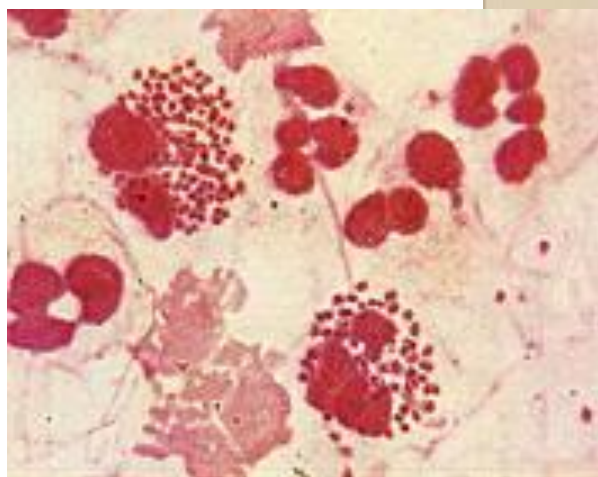
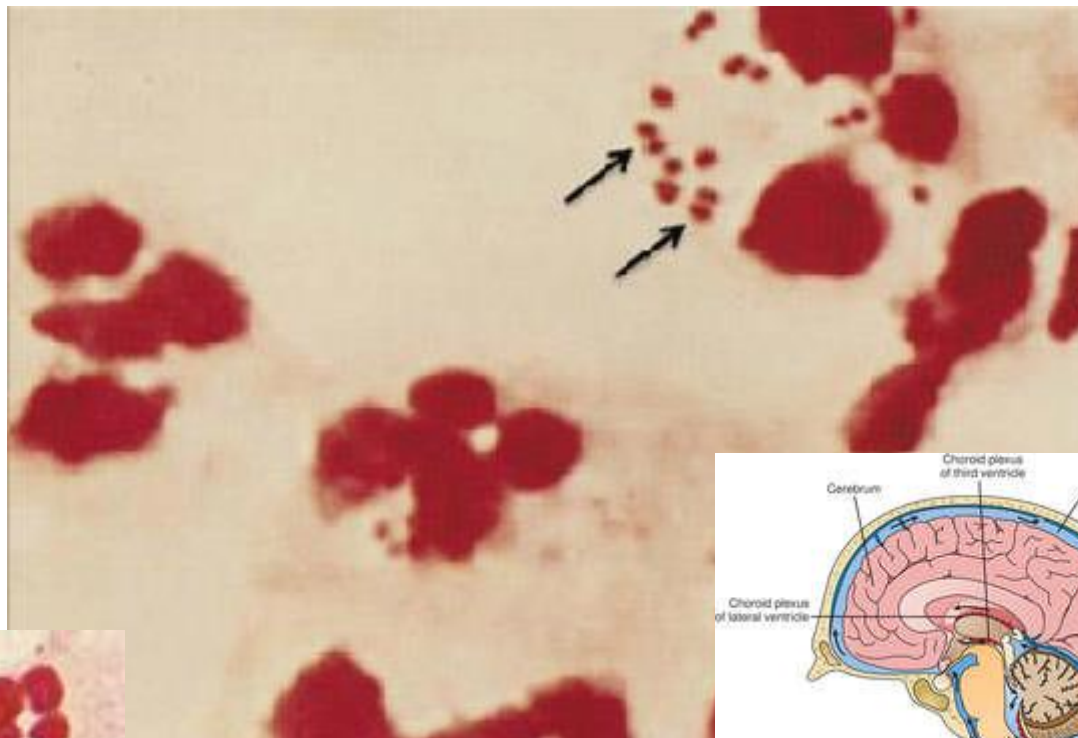


**Бистар - вирусна
инфекција (или ТВС)**



**Матен- можно присуство
на габички и фунги**

Микроскопски наод во CSF (пример)

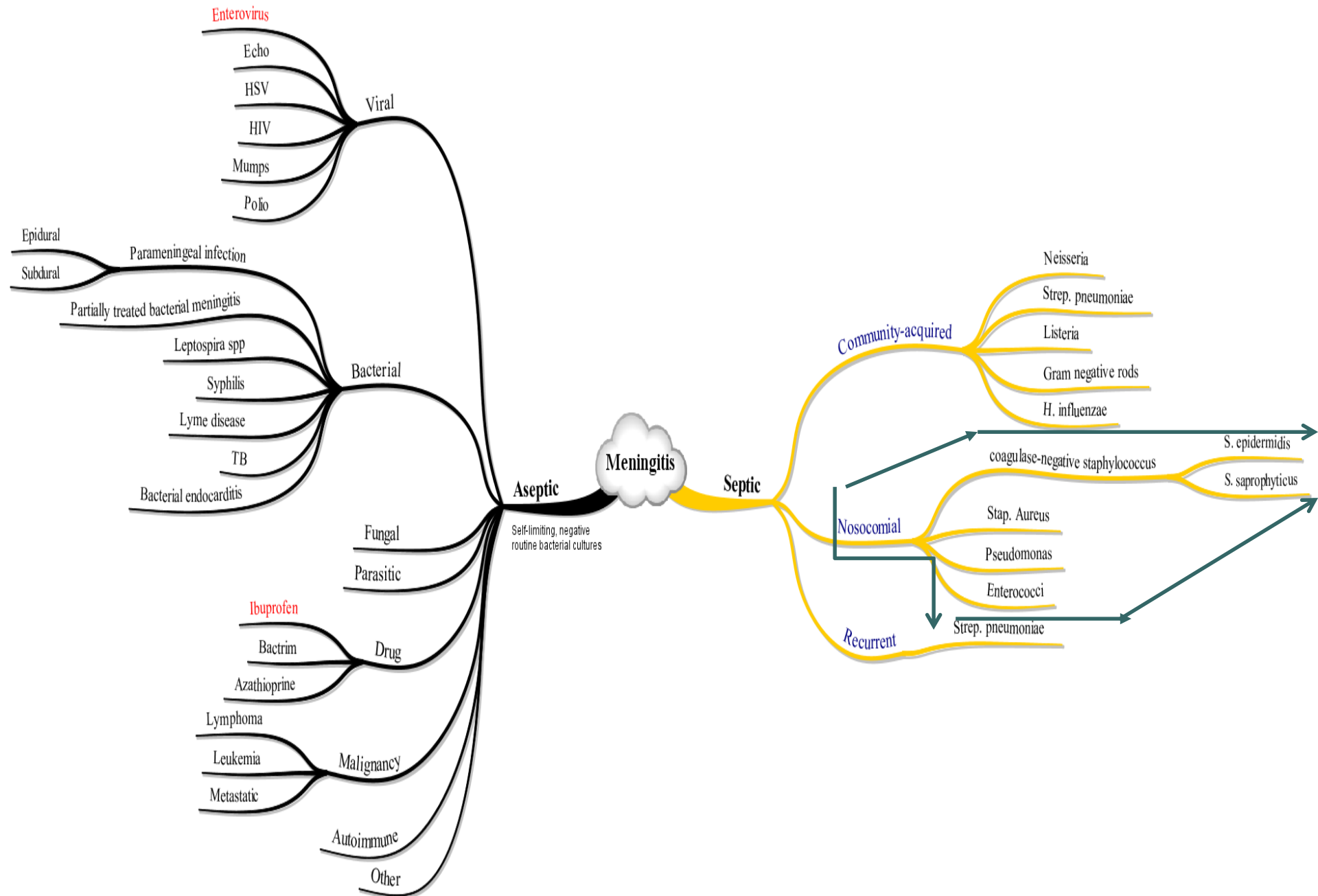


Грам негативни диплококи -
суспектно за *Neisseria meningitidis*,
мноштво полиморфонуклеари

Брзото јавување на наодот од директниот
препарат - многу придонесува за одлука на соодветна терапија

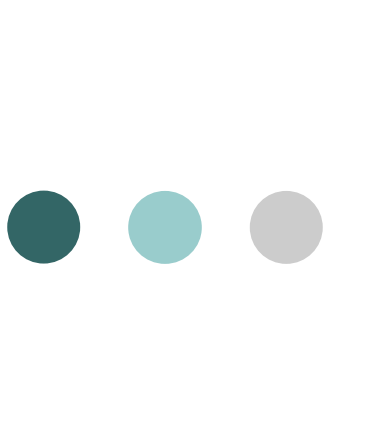
Правила кои мора да се почитуваат

- **Ликворот никогаш не треба да се чува во фрижидер!**
- **Доколку мора да се чува, тогаш да се стави во термостат или барем на собна температура!**
- **Исклучок (целно за вирусни испитувања) по колекцијата, се чува во фрижидер или за подолго од 24 часа се замрзнува на -70C.**
- **Подолгото стоење на ликворот (по ≥ 1 саат) пречи за детекција на антигенот на *Streptococcus pneumoniae***



Етиолошки агенси на менингити стекнати во болницата

24. Apr, 2009 by admin in Infectious diseases, Neurology



□ Нозокомијалниот бактериски менингит може да биде како резултат на следниве инванзивни процедури:

❖ Краниотомија

❖ Поставување на внатрешен и надворешен вентрикуларен катетер

❖ Лумбална пункција

❖ Интратектална инфузија на медикаменти

❖ Спинална анестезија

❖ Комплицирана ушна повреда

❖ Метастатска инфекција кај пациенти со хоспитално-аквирирана бактериемија (ретко се случува)



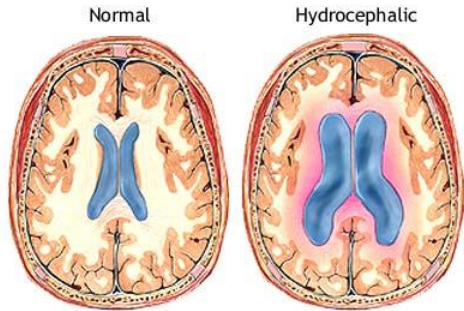
□ Внатрешен вентрикуларен катетер (Internal ventricular catheter)

❖ Се користат во третман на хидроцефалус - асоцирани со менингит од 4 до 17%

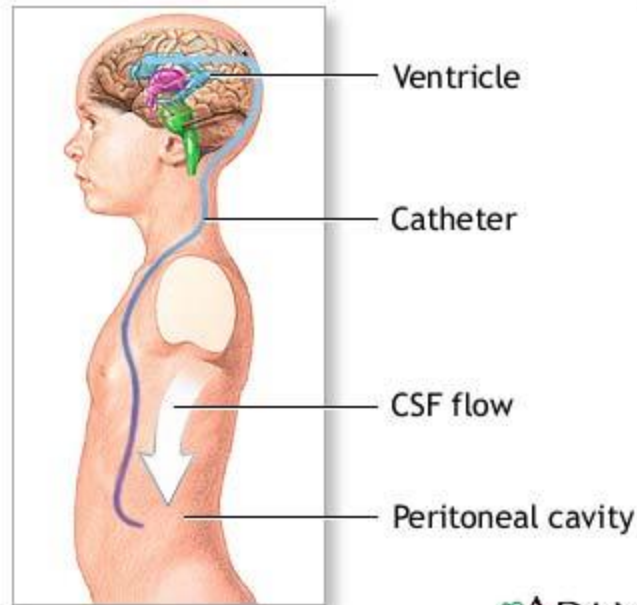
❖ Колонизација на катетер- инфекција може да настапи 1 месец по направената хируршка интервенција

❖ Почитување на сите мерки за асептично манипулирање (посебно менувањето на ракавици при поставување на катетерот, може во значителна мера да ги намали инфекциите)

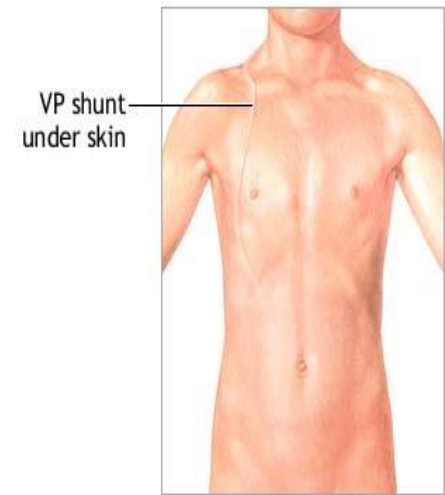
Внатрешен вентрикуларен катетер



ADAM.



ADAM.

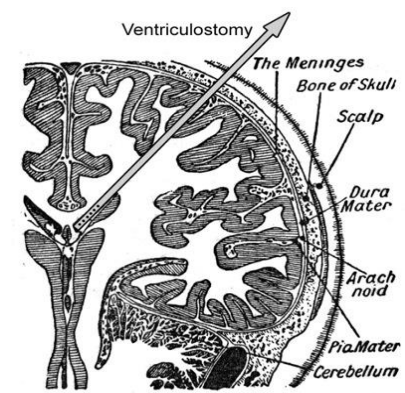


ADAM.

Ventriculoperitoneal shunt (internal ventricular catheter)

- Важен е во превенцијата на сериозните мозочни оштетувања кај децата со хидроцефалус
- Најчест проблем: евентуална лоша функција и инфекција
- Најчесто - се остава без проблеми на неколку години

External Ventricular Drain (EVD) –



Дренирање на CSF - Најчеста употреба:

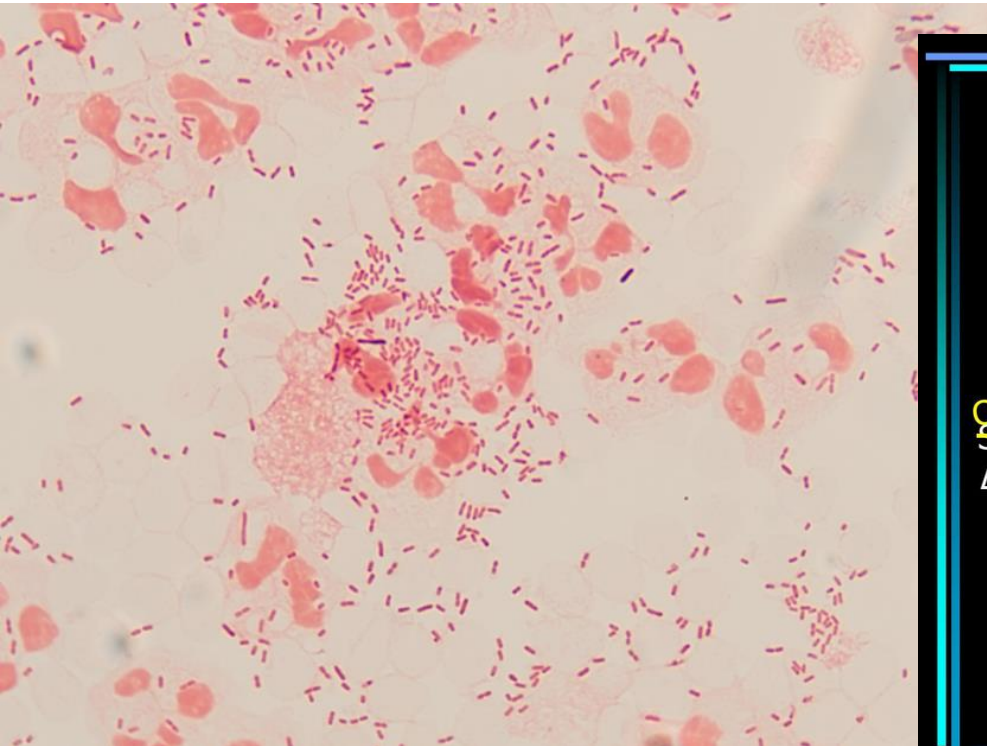
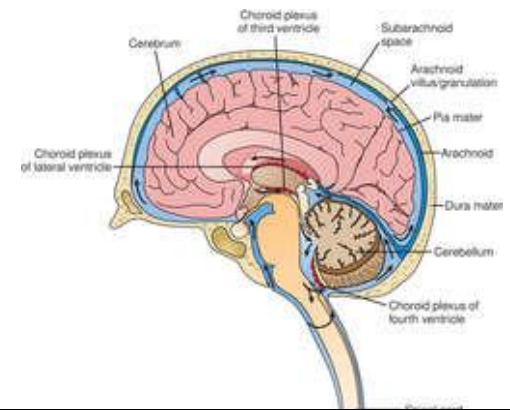
- Помош за дијагноза во нормална пресија од хидроцефалус
- Обезбедување на одвод на цереброспиналната течност поради инфекција, додека таа не се saniрана
- При привремена блокада на протокот на цереброспиналната течност поради одредени причини (повреди на главата)

□ Начин: Катетерот се поставува во една од коморите на мозокот или на лумбалниот дел на грботот и се врши канализација кон надворешниот одвод

Асоцирани со менингити во над 5%
(од - Болнички ЕКО систем, од
кожата)

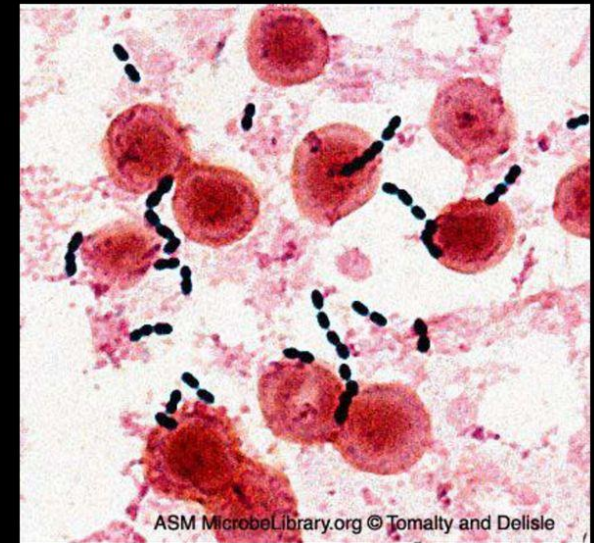


Микроскопски наод во CSF



Gram stained preparation

Cocci in chains
Streptococci, genus
Enterococcus



ASM MicrobeLibrary.org © Tomalty and Delisle

Брзо јавување на наодот од директниот препарат - Гр. негативни бацили (чест наод кај пациенти од неврохирургија) , или на пр. суспектно за ентерококи (десно), олеснува носење одлука за терапија

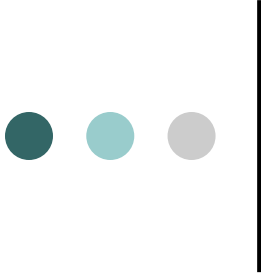
СЕПСА, СЕПТИКЕМИЈА, ендокардити

□ Присуството на микробите во крвта (најчесто бактериите), нивното размножување и продукцијата на ензими и токсини, вклучувајќи го и одговорот на домаќинот на настанатата состојба како и сите клинички и лабораториски параметри за постоење на инфекција - СЕПСА

□ Доколку се фунги- **ФУНГАЛНА СЕПСА**
Физиолошка фунгемија - не постои!

□ **САПРЕМИЈА** или септичка интоксикација се јавува како резултат на апсорпција на одредени дози на токсини продуцирани од микроорганизмите, како и состојби на нивно присуство без истовремено присуство на микроорганизми во крвотокот





□ **СЕПТИКЕМИЈА** означува состојба на сепса, но само кога се знае дека инфекцијата потекнува од крвниот тек и е клинички термин кој се употребува за опишување на една бактериемија со клинички знаци на тешка инфекција

❖ Поврзана е со интраваскуларна инвазија на бактериите и/или со апсорбција на токсичните продукти кои тие ги продуцираат

□ При влошување на состојбата (намалување на перфузијата на органите и ткивата, што доведува до хипотензија и хипоксемија) настанува **СЕПТИЧЕН ШОК**



СЕПСА Е БОЛЕСТ КОЈА НАСТАНУВА КАКО РЕЗУЛТАТ НА ОДГОВОРОТ НА ДОМАЌИНОТ НА ИНВАЗИЈАТА НА ИНФЕКТИВНИТЕ ОРГАНИЗМИ ВО КРВТА

Ignaz SEMMELWEIS

(1818-1865)

СЕПСА Е СОСТОЈБА ПРИ КОЈА ВО ТЕЛОТО СЕ ФОРМИРА ФОКУС ОД КОЈ БАКТЕРИИТЕ ПОМИНУВААТ ИНТРЕМИТЕНТНО ИЛИ КОНТИНУИРАНО ВО КРВНИОТ ТЕК, А ОД НИВНАТА ИНВАЗИЈА СЕ ЈАВУВААТ СУБЈЕКТИВНИ И ОБЈЕКТИВНИ МАНИФЕСТАЦИИ НА БОЛЕСТА

Hugo SCHOTTMULLER

(1867-1936)

Sepsis Kills.

- СЕПСАТА Е ГЛОБАЛЕН ЗДРАВСТВЕН ПРОБЛЕМ, СО ВИСОК РИЗИК ОД СМРТЕН ИСХОД!
- НЕОДАМНЕНА ГЛОБАЛНА ПРОЦЕНКА НА СТАПКАТА НА СМРТНОСТ НА ПАЦИЕНТИ СО СЕПСА ТРЕТИРАНИ НА ОДДЕЛОТ ЗА ИНТЕНЗИВНА НЕГА УКАЖУВА ДЕКА ПОВЕЌЕ ОД ЕДНА ТРЕТИНА ОД ОВИЕ ПАЦИЕНТИ УМИРААТ БЕЗ ДА ЈА НАПУШТАТ БОЛНИЦАТА!
- СЕПСАТА ГИ УБИВА ПАЦИЕНТИТЕ ПОВЕЌЕ ОТКОЛУ СИДАТА ИЛИ РАКОТ НА ДОЈКА!

Iwashyna TJ, Odden A, Rohde J, Bonham C, Kuhn L, Malani P, Chen L, Flanders S: Identifying patients with severe sepsis using administrative claims: patient-level validation of the angus implementation of the international consensus conference definition of severe sepsis. Med Care 2014, 52(6):e39-43. 21. The ProCESS Investigators. A Randomized Trial of Protocol-Based Care for Early Septic Shock. N

Sepsis is preventable and treatable.

Do you know the Signs of Sepsis?



Fever/
Shivering or
Very Cold



Rapid
Breathing



Extreme Pain/
Physical
Discomfort



Pale or
Mottled
Skin



Disoriented/
Confused &
Sleepy/Difficult
to Wake



Elevated
Heart Rate

THE RORY STAUNTON FOUNDATION

FOR SEPSIS PREVENTION

Help Save Lives. Share the Signs of Sepsis with your family and friends.

For more information, visit www.rorystauntonfoundationforsepsis.org



Cl
De
Ac
Ju
Gr
Ar
Jo
Fl
Jo
Er
Ed

Special Articles

Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012

R. Phillip Dellinger, MD¹; Mitchell M. Levy, MD²; Andrew Rhodes, MB BS³; Djillali Annane, MD⁴; Herwig Gerlach, MD, PhD⁵; Steven M. Opal, MD⁶; Jonathan E. Sevransky, MD⁷; Charles L. Sprung, MD⁸; Ivor S. Douglas, MD⁹; Roman Jaeschke, MD¹⁰; Tiffany M. Osborn, MD, MPH¹¹; Mark E. Nunnally, MD¹²; Sean R. Townsend, MD¹³; Konrad Reinhart, MD¹⁴; Ruth M. Kleinpell, PhD, RN-CS¹⁵; Derek C. Angus, MD, MPH¹⁶; Clifford S. Deutschman, MD, MS¹⁷; Flavia R. Machado, MD, PhD¹⁸; Gordon D. Rubenfeld, MD¹⁹; Steven A. Webb, MB BS, PhD²⁰; Richard J. Beale, MB BS²¹; Jean-Louis Vincent, MD, PhD²²; Rui Moreno, MD, PhD²³; and the Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup*

Objective: To provide an update to the "Surviving Sepsis Campaign Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock," last published in 2008.

Design: A consensus committee of 68 international experts representing 30 international organizations was convened. Nominal groups were assembled at key international meetings (for those committee members attending the conference). A formal conflict of interest policy was developed at the onset of the process and enforced throughout. The entire guidelines process was conducted independent of any industry funding. A stand-alone meeting was held for all subgroup heads, co- and vice-chairs, and selected individuals. Teleconferences and electronic-based discussion among subgroups and among the entire committee served as an integral part of the development.

Methods: The authors were advised to follow the principles of the Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE) system to guide assessment of quality of evidence from high (A) to very low (D) and to determine the strength of recommendations as strong (1) or weak (2). The potential drawbacks of making strong recommendations in the presence of low-quality evidence were emphasized. Some recommendations were ungraded (UG). Recommendations were classified into three groups: 1) those directly targeting severe sepsis; 2) those targeting general care of the critically ill patient and considered high priority in severe sepsis; and 3) pediatric considerations.

Results: Key recommendations and suggestions, listed by category, include: early quantitative resuscitation of the septic patient during the first 6 hrs after recognition (1C); blood cultures

¹ Cooper University Hospital, Camden, New Jersey.

² Warren Alpert Medical School of Brown University, Providence, Rhode Island.

³ St. George's Hospital, London, United Kingdom.

⁴ Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France.

⁵ Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin, Germany.

⁶ Memorial Hospital of Rhode Island, Pawtucket, Rhode Island.

⁷ Emory University Hospital, Atlanta, Georgia.

⁸ Hadassah Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel.

⁹ Denver Health Medical Center, Denver, Colorado.

¹⁰ McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.

¹¹ Barnes Jewish Hospital, St. Louis, Missouri.

¹² University of Chicago Medical Center, Chicago, Illinois.

¹³ California Pacific Medical Center, San Francisco, California.

¹⁴ Friedrich Schiller University Jena, Jena, Germany.

¹⁵ Rush University Medical Center, Chicago, Illinois.

¹⁶ University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania.

¹⁷ Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania.

¹⁸ Federal University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.

¹⁹ Sunnybrook Health Sciences Center, Toronto, Ontario, Canada.

²⁰ Royal Perth Hospital, Perth, Western Australia.

²¹ Guy's and St. Thomas' Hospital Trust, London, United Kingdom.

²² Erasme University Hospital, Brussels, Belgium.

²³ UICIN, Hospital de São José, Centro Hospitalar de Lisboa Central, E.P.E., Lisbon, Portugal.

* Members of the 2012 SSC Guidelines Committee and Pediatric Subgroup are listed in **Appendix A** at the end of this article.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this on the journal's Web site (<http://journals.lww.com/ccmjournal>).

Complete author and committee disclosures are listed in **Supplemental Digital Content 1** (<http://links.lww.com/CCM/A615>).

This article is being simultaneously published in *Critical Care Medicine and Intensive Care Medicine*.

For additional information regarding this article, contact R.P. Dellinger (Dellinger-Phil@CooperHealth.edu).

Copyright © 2013 by the Society of Critical Care Medicine and the European Society of Intensive Care Medicine

DOI: 10.1097/CCM.0b013e31827e83af

❑ РАНА ДЕТЕКЦИЈА

❑ Сепсата во ран стадиум често е тешка за препознавање

❑ РАН, СООДВЕТЕН ТРЕТМАН

❑ Рана детекција на етиолошкиот агенс и соодветна терапија

Surviving Sepsis Campaign International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012 International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock



Значењето на хемокултурата како метод

Доживува една прогресивна линија на пораст:

- ✓ Пораст на ризикот за септикемија кај пациенти со компромитиран имунолошки статус;
- ✓ Зголемување на бројот на новооткриени патогени агенси на септикемија и ендокардит: потврдување на *Bartonella quintana* како етиолошки агенс на ендокардит (1995), детекција на микобактериите во крвта, итн;
- ✓ Пораст на индикациите за широка примена на трајни интраваскуларни инструменти;
- ✓ Неминовна потреба од квалитетна, современа и сигурна техника за докажување и идентифицирање на микроорганизмите во крвта.



Blood cultures were pioneered in the early 20th century!

Gould, J., Bi Duerden, Blood culture – current state and future prospects, J. Clin. Pathol. 1998; 36:963-977.

- *“No microbiological test is more essential to the clinician than the blood culture. The finding of pathogenic microorganisms in a patient’s bloodstream is of great importance in terms of diagnosis, prognosis, and therapy.”*

L. Barth Reller, Clin. Infect. Diseases



- DIAGNOSIS
- PROGNOSIS
- THERAPY

DIAGNOSIS

- BLOOD CULTURE
- OTHER CULTURES
- IMAGING STUDIES

Diagnosis of sepsis

Sepsis is primarily a clinical diagnosis, supported by laboratory

investigation and imaging.

Culture of specimens from a sterile site

is the **gold standard**

microbiological investigation and the key to successful diagnosis.

Eaton S, Burnham E, Martin GS, Moss M. The ICD-9 code for septicemia maintains a high positive predictive value for clinical sepsis. Am J Respir Crit Care Med 2002.165:A471-A475.

Evaluation for Severe Sepsis Screening Tool

Instructions: Use this optional tool to screen patients for severe sepsis in the emergency department, on the medical/surgical floors, or in the ICU.

1. Is the patient's history suggestive of a new infection?

- | | | |
|---|--|---|
| <input type="checkbox"/> Pneumonia, empyema | <input type="checkbox"/> Bone/joint infection | <input type="checkbox"/> Implantable device infection |
| <input type="checkbox"/> Urinary tract infection | <input type="checkbox"/> Wound infection | <input type="checkbox"/> Other infection _____ |
| <input type="checkbox"/> Acute abdominal infection | <input type="checkbox"/> Blood stream catheter infection | |
| <input type="checkbox"/> Meningitis | <input type="checkbox"/> Endocarditis | |
| <input type="checkbox"/> Skin/soft tissue infection | | |

___ Yes ___ No

2. Are any two of following signs & symptoms of infection both present and new to the patient? Note: laboratory values may have been obtained for inpatients but may not be available for outpatients.

- | | | |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> Hyperthermia > 38.3 °C (101.0 °F) | <input type="checkbox"/> Tachypnea > 20 bpm | <input type="checkbox"/> Hyperglycemia (plasma glucose >140 mg/dL) or 7.7 mmol/L in the absence of diabetes |
| <input type="checkbox"/> Hypothermia < 36 °C (96.8°F) | <input type="checkbox"/> Leukocytosis (WBC count >12,000 μL^{-1}) | |
| <input type="checkbox"/> Altered mental status | <input type="checkbox"/> Leukopenia (WBC count < 4000 μL^{-1}) | |
| <input type="checkbox"/> Tachycardia > 90 bpm | | |

___ Yes ___ No

If the answer is yes, to both questions 1 and 2, *suspicion of infection* is present:

- ✓ Obtain: **lactic acid, blood cultures**, CBC with differential, basic chemistry labs, bilirubin.
- ✓ At the physician's discretion obtain: UA, chest x-ray, amylase, lipase, ABG, CRP, CT scan.

Патишта на ВЛЕЗ во циркулацијата



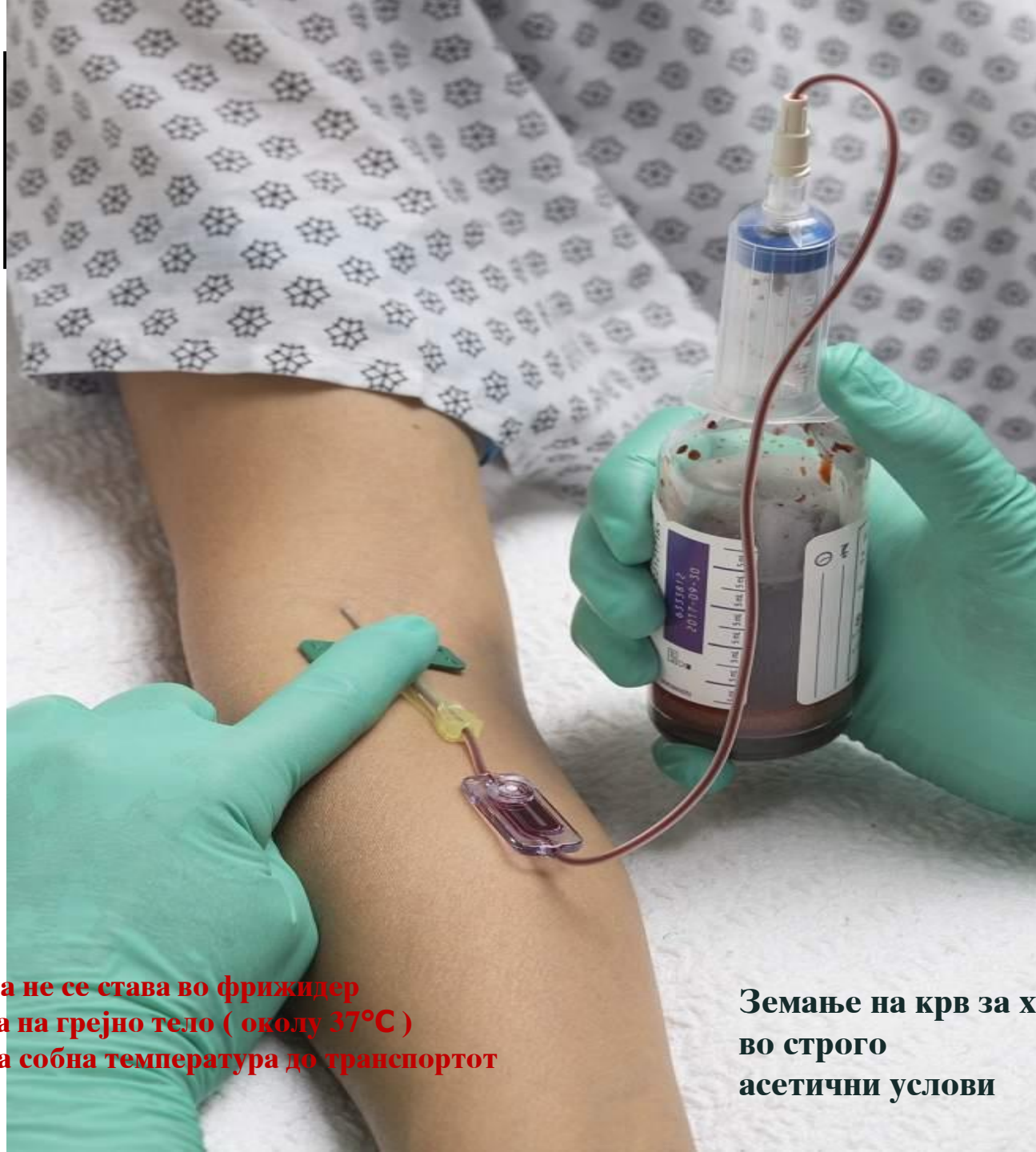
Donnino et al. Cryptic septic shock: A sub-analysis of early, goal-directed therapy.

Chest (2003); 124(4): 905.

Dellinger et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med.* 2008; Vol. 36, no.1.

ПРАВИЛА КОИ МОРА ДА СЕ ПОЧИТУВААТ

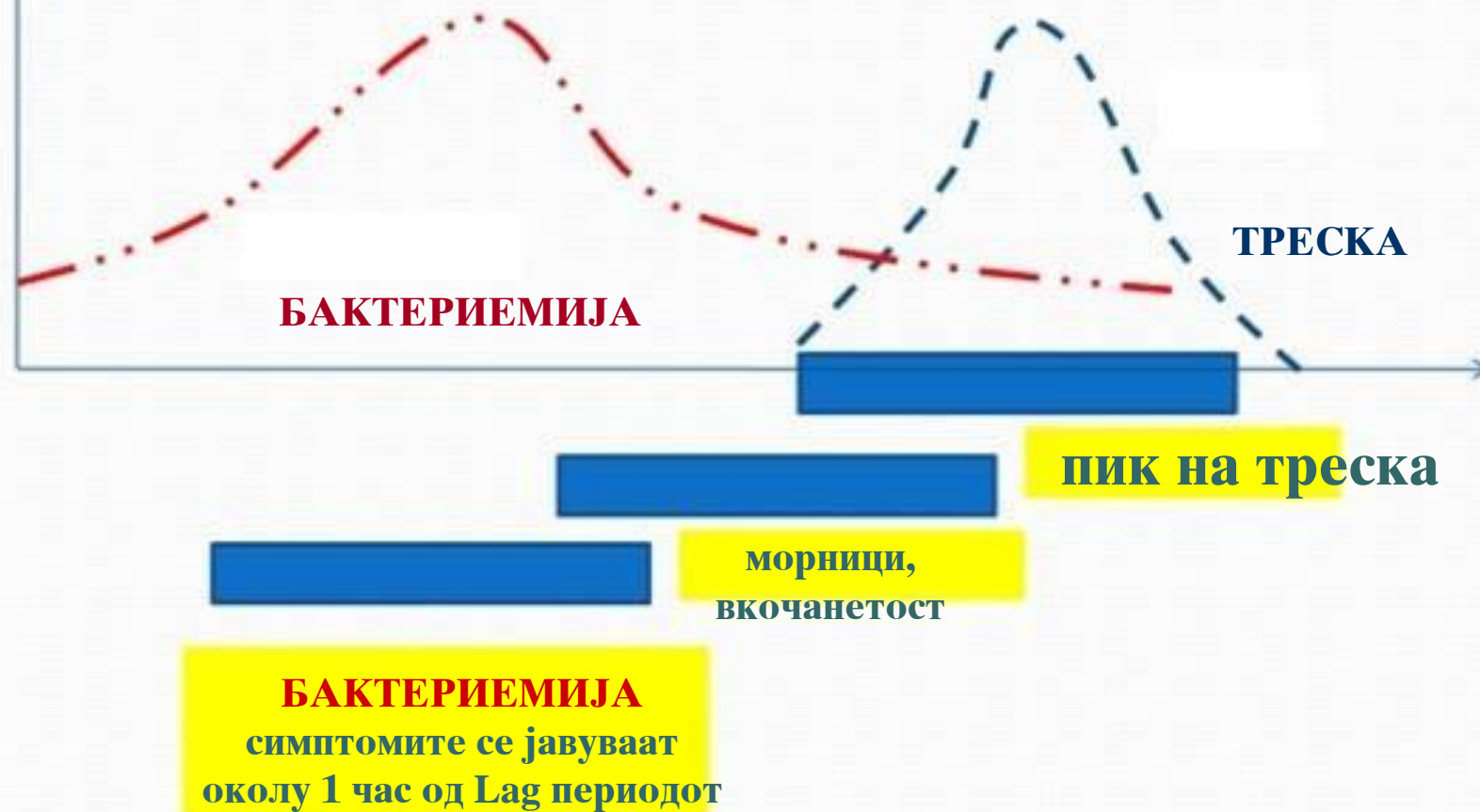
- ❑ Колекција на примерокот во асептични услови (минимизиран ризик за контаминирање на примерокот)
- ❑ Вистинско време на колекција
- ❑ Оптимално количество на земена крв
- ❑ Доволен број хемокултури од ист пациент
 - Соодветен метод на детекција
 - Соодветни хранителни подлоги
 - Услови и времетраење на култивирањето
 - Соодветно читање на наодот и супкултивирање



**Земената крв да не се става во фрижидер
туку во близина на грејно тело (околу 37°C)
или најмалку на собна температура до транспортот**

**Земање на крв за хемокултура
во строго
асетични услови**

ВРЕМЕ НА ЗЕМАЊЕ НА ХЕМОКУЛТУРИТЕ



Domino et al. Cryptic septic shock: A sub-analysis of early, goal-directed therapy. *Chest* (2003); 124(4): 905.

Dellinger et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2010.. *Crit Care Med.* 2008; Vol. 36, no.1.

Медиуми наменети за хемокултура но и други примарно стерилни примероци

○BacT/ALERT медиумите наменети за анализа на крв и стерилни телесни течности - екстремно важни во случај на присуство на микроорганизми во наведените примероци: апаратот ги детектира како позитивни



Брзата детекција на пораст на бактерии во BacT/Alert медиумските шишиња, овозможува адекватен почеток со соодветна антибиотска терапија што може да биде пресудно за животот на болниот

Waites, K. B., Brookings, E. S., Moser, S. A., Zimmer, B. L. Direct Susceptibility Testing with Positive BacT/Alert Blood Cultures by Using MicroScan Overnight and Rapid Panels. *J. Clin. Microbiol.* 1998. 36: 2052-2056.

Thorpe T C, Wilson M L, Turner J E, DiGuiseppi J L, Willert M, Mirrett S, Reller L B. BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Microbiol.* 1990. 28:1608-1612.

Takashi S, Kazuyoshi S, Shunji T, Naoko F, Toyoichiro K, Yoshitsugu I, Mitsune T and Satoshi I. Detection of bacteria and fungi in BacT/Alert standard blood-culture bottles. *Journal of Infection and Chemotherapy.* 2004. Vol 9 N 3. 227-232

МЕДИУМИ ПОГОДНИ ЗА ДЕЦА (ПЕДИЈАТРИСКИ МЕДИУМИ)



TSB збогатен со Brain Heart Infusion Solids

- Присуство на активна материја- Charcoal
- Индикација: медиум наменет за пораст на аеробни бактерии
- Примерок: најчесто крв
- Количина на примерок : до **4 mL (0,5-2 ml)**

Waites, K. B., Brookings, E. S., Moser, S. A., Zimmer, B. L. Direct Susceptibility Testing with Positive BacT/Alert Blood Cultures by Using MicroScan Overnight and Rapid Panels. J. Clin. Microbiol. 1998. 36: 2052-2056.

Thorpe T C, Wilson M L, Turner J E, DiGuseppi J L, Willert M, Mirrett S, Reller L B. BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system. J Clin Microbiol. 1990. 28:1608-1612.

Takashi S, Kazuyoshi S, Shunji T, Naoko F, Toyochiro K, Yoshitsugu I, Mitsune T and Satoshi I. Detection of bacteria and fungi in BacT/Alert standard blood-culture bottles. Journal of Infection and Chemotherapy. 2004. Vol 9 N 3. 227-232

ДОВОЛЕН БРОЈ ХЕМОКУЛТУРИ

Општо, за сите пациенти, за максимално сигурна и точна дијагноза доколку условите го дозволуваат тоа (состојбата на пациентот, условите за земање и постоењето на соодветен прибор за тоа) се препорачува земање на три различни медиуми во следниве временски интервали:

1: Во нулта минута



2: По 30 минути од земање на првиот

3: По 90 минути од земање на првиот медиум (односно по 60 минути од вториот)



Количина на крв: 5 до 10 мл. во еден медиум (со зелено или црвено капаче) и 0,5 -2 мл во педијатриски (жолт) медиум

Важно: Кај инфективен ендокардит- се препорачуваат 3-6 медиуми

Worldwide News, Current Blood Culture Methods and Systems:A. Review, WW-BC-47, August, 1996. Becton Dickinson.

Vincent JL, Marshall JC. Surviving sepsis: a guide to the guidelines. Crit Care. 2008. 12(3):162. Epub 2008 Jun 30.

James J, J. Plorde, L. Carison, Effects of Volume and Periodicity on Blood Cultures, J. Clin. Microbiol., Vol. 32, N.11, 1994, 2829-2831.

Автоматизиран метод – Bact/Alert



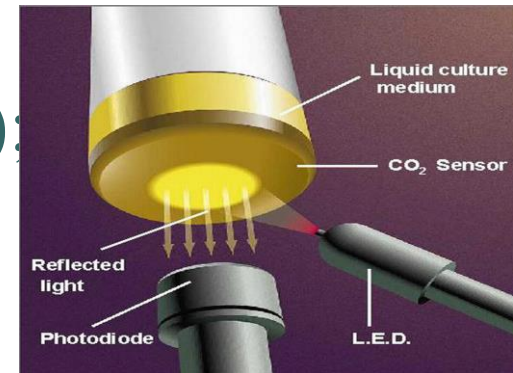
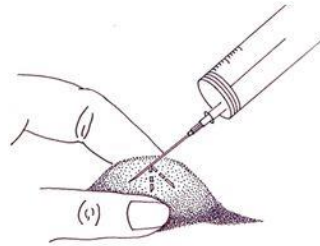
Waites, K. B., Brookings, E. S., Moser, S. A., Zimmer, B. L. Direct Susceptibility Testing with Positive BacT/Alert Blood Cultures by Using MicroScan Overnight and Rapid Panels. *J. Clin. Microbiol.* 1998. 36: 2052-2056.

Thorpe T C, Wilson M L, Turner J E, DiGuseppi J L, Willert M, Mirrett S, Reller L B. BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Microbiol.* 1990. 28:1608–1612.

Takashi S, Kazuyoshi S, Shunji T, Naoko F, Toyochiro K, Yoshitsugu I, Mitsune T and Satoshi I. Detection of bacteria and fungi in BacT/Alert standard blood-culture bottles. *Journal of Infection and Chemotherapy.* 2004. Vol 9 N 3. 227-232

Со апаратот се испитуваат (и други примарно стерилни примероци):

- ❑ Цереброспинална течност (ликвор);
- ❑ Плеврален пунктат;
- ❑ Торакален пунктат;
- ❑ Пунктат од синуси;
- ❑ Дијализатна течност;
- ❑ Пунктат од абдомен;
- ❑ Перикардијален пунктат



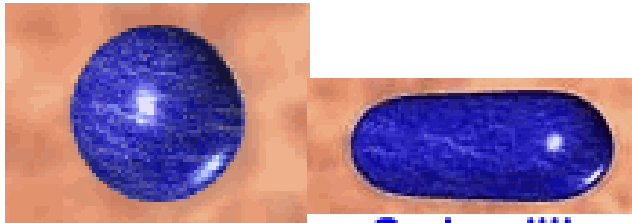
Постојан мониторинг на анализата - на секои 15 минути

Waites, K. B., Brookings, E. S., Moser, S. A., Zimmer, B. L. Direct Susceptibility Testing with Positive BacT/Alert Blood Cultures by Using MicroScan Overnight and Rapid Panels. J. Clin. Microbiol. 1998. 36: 2052-2056.

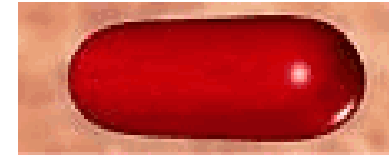
Thorpe T C, Wilson M L, Turner J E, DiGuseppi J L, Willert M, Mirrett S, Reller L B. BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system. J Clin Microbiol. 1990. 28:1608-1612.

Takashi S, Kazuyoshi S, Shunji T, Naoko F, Toyochiro K, Yoshitsugu I, Mitsune T and Satoshi I. Detection of bacteria and fungi in BacT/Alert standard blood-culture bottles. Journal of Infection and Chemotherapy. 2004. Vol 9 N 3. 227-232

Бактериска етиологија на септични состојби



G+ bacilli



G- bacilli

Грам₊ коки

□ Грам позитивни бактерии

▪ Коагулаза негативни стафилококи (МРСЕ)

▪ *Staphylococcus aureus* (МРСА)

▪ Алфа хемолитични стрептококи

▪ *Streptococcus pneumoniae* (ПРП)

▪ *Enterococcus*

▪ Бета хемолитични стрептококи

▪ *Streptococcus agalactiae*

▪ *Corynebacterium spp.*

□ Грам негативни бактерии

✓ *Escherichia coli-ESBL+*

✓ *Klebsiella spp-ESBL+*

✓ *Pseudomonas spp.*

✓ *Acinetobacter spp.*

✓ *Enterobacter spp.*

✓ *Proteus spp.*

□ Анаеробите, според фреквенцијата на јавување:

- *Bacteroides fragilis*;
- *Clostridium perfringens*;
- Други специеси од родот *Clostridium*;
- *Peptostreptococcus*;
- Други од групата на *B. fragilis*;
- *Bacteroides thetaiotaomicron*;
- *Fusobacterium species*;
- *Propionobacterium species*;
- *Prevotella species*;
- *Veillonella species*;
- *Eubacterium*



Eykyn S., Gransden W., Phillips I., The causative organisms of septicaemia and their epidemiology, J. Antimicrob. Chemother., 1990. 25 (Suppl. C), 41-58.

Eaton S, Burnham E, Martin GS, Moss M. The ICD-9 code for septicemia maintains a high positive predictive value for clinical sepsis. Am J Respir Crit Care Med 2002;165:A471-A475.

□ При фунгемиите, најфреквентни се:

- *Candida albicans*;
- *Candida species*;
- *Cryptococcus neoformans*;
- *Histoplasma capsulatum*;
- *Aspergillus spp.*



Meyer, M.-H., Letscher-Bru, V., Jaulhac, B., Waller, J., Candolfi, E. Comparison of Mycosis IC/F and Plus Aerobic/F Media for Diagnosis of Fungemia by the Bactec 9240 System. J. Clin. Microbiol. 2004. 42: 773-777

Messer, SA, Jones, RN, Fritsche, TR. International surveillance of Candida spp. and Aspergillus spp.: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2003). J Clin Microbiol. 2006. 44:1782.

Messer, SA, Jones, RN, Fritsche, TR. International surveillance of Candida spp. and Aspergillus spp.: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2003). J Clin Microbiol. 2006. 44:1782.

Huttová et al. Fungemia in Neonates: Report of 80 Cases From Seven University Hospitals Pediatrics. 2000. Vol. 105: N 4. 913-915.

Eykyn S., Gransden W., Phillips I., The causative organisms of septicaemia and their epidemiology, J. Antimicrob. Chemother., 1990. 25 (Suppl. C), 41-58.

□ **Најчести причини за добивање на сепса во болнички услови (НА):**

- **Присуство на интравенски катетер;**
- **Претходна употреба на антибиотици;**
- **Присуство на друга катетеризација во крвотокот;**
- **Постоење на претходна хируршка интервенција;**
- **Неопходна интубација;**
- **Употреба на кортикостероиди;**
- **Употреба на цитотоксична терапија;**
- **Вградување на протетички материјали и други инванзивни постапки;**
- **Основната здравствена состојба кај неутропеничните пациенти**
- **Манипулација со ендоскопи;**
- **Уролошки интервенции;**
- **Позитивитет на ХИВ инфекција**



Gould, J., Bi Duerden, Blood culture – current state and future prospects, J. Clin. Pathol. 1998; 36:963-977.

Garrouste-Orgeas M, Chevret S, Mainardi JL, Timsit JF, Misset B, Carlet J. A one-year prospective study of nosocomial bacteraemia in ICU and non-ICU patients and its impact on patient outcome. J Hosp Infect 2000. 44:206-213.

Eykyn S., Gransden W., Phillips I., The causative organisms of septicaemia and their epidemiology, J. Antimicrob. Chemother., 1990. 25 (Suppl. C), 41-58.

Толкување на наодите

Сигурни контаминантни (изолати само во една хемокултура):

- -
 - ✓
 - ✓
 - ✓
- Corynebacterium species*
- Propionobacterium acnes*
- Bacillus species*

➤ **Можни значење контаминанти (со неизвесно):**

- ✓ Коагулаза негативни стафилококи
- ✓ Гама хемолитичните стрептококи (освен група D)
- ✓ Алфа хемолитичните стрептококи

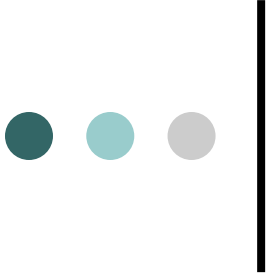
➤ **Секогаш значајни:**

- ✓ *Staphylococcus aureus*
- ✓ *Streptococcus pneumoniae*
- ✓ *Bacteroides*
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa*
- ✓ *Haemophilus spp.*
- ✓ *E. coli* и други ентеробактерии



Есенцијално значење

**Нешто што треба да се понесе
како порака за сите
примероци - толкување
на микробиолошкиот наод**



Толкување на микробиолошките наоди општо- (интерпретација за изолатите од различни примероци)

Неопходно и најправилно е да учествуваат:

- **Микробиологот** - со правилната проценка што треба да се одговори или дали воопшто треба да се одговори конкретниот наод
- **Лекарот - клиничар** кој ги толкува наодите во корелација со актуелната клиничка состојба на пациентот и останатите добиени параметри

Финален ефект од испитувањето

● ● ● за правилна клиничка одлука (за сите примероци):

- Причинител или колонизатор???
- Кој е изолираниот агенс?
- Од каде е изолиран?
- Дали примерокот е примарно стерилен?
- Дали е нормален жител на местото од изолација?
- Стриктно ли е или условно патоген?
- Интрахоспитална инфекција: ендогена или егзогена?
- Дали е можно да се работи за контаминација?



**Take home message*