

# **Sepse z pohledu mikrobiologa**

Filip Růžička

Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně

Přednáška TZKM 2020

**Bakteriémie** = pouhá přítomnost bakterií v krvi  
**Nemusí nutně jít o septický stav!!!**

**Fyziologická** - bez klin. příznaků (normální mikroflóra)

**Přechodné**

**Dočasná (transientní)** – obvykle bez klin. příznaků u disponovaných může vyústit v sepsis lenta

**Iatrogenní**

**Opakovaná (intermitentní)** - týž mikrob opakovaně v krvi

- ložiskové infekce
- některé malignity
  - Ca tlustého střeva (*Str.bovis*)
- iv. aplikace drog

**Kontinuální** – u celkových infekcí, u katéetrových sepsí

**INFEKCE**

BACTEREMIA

**SEPSE**

FUNGEMIA

JINÉ

TRAUMA

POPÁLENINY

PANKREATITIS

ETC.

**SIRS**

# Syndrom systémové zánětlivé odpovědi (SIRS)

zánětlivá odpověď organismu na inzult (infekční nebo neinfekční povahy)  
tělesná teplota  $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo  $<36\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; tepová frekvence  $>90/\text{min}$   
dechová frekvence  $>20/\text{min}$ ;  $\text{Pa CO}_2 > 4,3\text{ kPa}$   
leukocytóza ( $>12 \times 10^9/\text{l}$ ) nebo leukocytopenie ( $< 4 \times 10^9/\text{l}$ ),  $>10\%$  nezralé Ly

## Sepse = SIRS + infekce

těžké systémové onemocnění s charakteristickými hemodynam. změnami vyvolané interakcí imunitního systému s mikroorganismy či jejich produkty (endotoxin aj.)

## Těžká seps = seps + známky dysfunkce orgánů

hypotenze ( $T_{\text{syst}} < 90\text{ mm Hg}$ ), plicní dysfunkce - hypoxemie, oligurie ( $<0,5\text{ ml/kg/hod}$ ), metabolická acidóza, trombocytopenie ( $<100 \times 10^9/\text{l}$ ), zmatenost

## Septický šok = těžká seps + hemodynam. změny

hypovolémie, pokles TK vzhledem k adekvátnímu dodávání tekutin  $\Rightarrow$  pokles tkáňové perfuze  $\Rightarrow$  **MODS** (syndrom multiorgánové dysfunkce)

# Nosokomiální sepse ( > 2/3 sepsí)

**Enterobakterie** (cca 20 %) *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* (urosepsse, katetrizace moč. cest)

***Staphylococcus aureus*** – 15 % (z operačních ran)

**Stafylokoky koagulázanegativní** – 10 %

(**katéetrové sepse**, infikované umělé náhrady, febrilní neutropenie) **!!! Izolován častěji jako kontaminace**

**G– nefermentující bakterie, pseudomonády** - 5 %

**Kvasinky** 2-10 % (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) (katéetrové sepse, febrilní neutropenie)

***Enterococcus* a  $\alpha$ -hemolytické streptokoky** (cca 5 %)

**Anaeroby** (cca 1 %)

# Komunitní sepse

**enterobakterie**

***S. aureus***

**$\beta$ -hemolytické streptokoky**

**Pneumokok, meningokok**

## **Sepse u lokalizovaných infekcí**

**pneumonie** (pneumokoky)

**meningitidy** (meningokoky, pneumokoky) - urosepse

**pyelonefritidy** (*E. coli*, enterobakterie aj.)

**osteomyelitidy** (*S. aureus*)

**septické artritidy** (*S. aureus*, gonokoky)

**cholecystitidy** (entrobakterie, enterokoky)

**peritonitidy** (smíšená anaerobní a fakultativně anaerobní flóra)

**infekce ran** (*S. aureus*, *S. pyogenes* a další  $\beta$ -hemolytické str.,  
*pseudomonády* u popálenin, *Clostridium septicum* aj.)

**dekubity** (smíšená kožní a střevní flóra)

**abdominální seps** – polymikrobiální (**anaeroby**: *Bacteroides fragilis*,  
*Peptostreptococcus*, *Peptococcus* aj. + **fakultativní anaeroby**: *E. coli*, *P.*  
*mirabilis*, enterokoky aj.)

## **Poporodní seps**

**Sepsis puerperalis** (*Str. pyogenes*)

**Novorozenecká seps** (*Str. agalactiae*, enterobakterie - *E. coli*, listerie  
*S. aureus*)

## **Seps při některých malignitách**

**Ca tlustého střeva** (*Streptococcus bovis*)

**leukemie** (aeromonády, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*,  
*Clostridium septicum*)

**Iatrogenní sepse** (viz iatrogenní bakteriémie)

**extrakce zubů** ( $\alpha$ -streptokoky, prevotely )

**bronchoskopie** (flóra nosohltanu vč. patogenů )

**cévkování** (*E. coli* )

**infuse** (kožní flóra, G– nefermentující tyčinky )

**kolonizované katétrů** (CoNS, kandidy aj.)

**infikované umělé náhrady** (stafylokoky, enterokoky, aj.)

**febrilní neutropenie** (stafylokoky, enterokoky, G– tyčinky, kvasinky, plísňe)

**Sepse při nitrožilní aplikaci drog**

**kožní flóra** (*stafylokoky, korynebakteria – C. jeikeum* aj.)

**ústní flóra** (*neisserie, eikenely, i patogeny z nosohltanu* aj.)

**bakterie z prostředí** (*klostridia, bacily*)

**Sepse při infekcích krevního řečiště**

**tromboflebitidy** (*S. aureus, S. pyogenes*)

**centrální sepse - endarteritida a (trombo-)flebitida** (*S. aureus, S.pyogenes*)

**infekční endokarditida**

**katéetrová sepse**

# Sepse při infekční endokarditidě (IE)

**Akutní IE** (↑ mortal.) *S. aureus*, *S. pyogenes*, pneumokok, neisserie

## Subakutní IE

### IE nativních chlopní

40-60 % - α-hemolytické streptokoky (*S. mutans*, *S. salivarius*,  
*S. oralis(mitis)*, *S. anginosus*, *S. bovis* aj.)

10-30 % - stafylokoky (*S. aureus*, CoNS)

5-10 % - enterokoky

<10 % - G- bakterie (*E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Salmonella*  
*Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*  
aj.)

5-10 % - skupina HACEK

2-5 % - (↑ mortal.) *Candida*, *Aspergillus*

**IE chlopních náhrad** – zejm. CoNS, ostatní méně  
**„Kultivačně negativní“ endokarditidy** (*Coxiella burnetii*,  
bartonely, brucely, legionely aj.)

**IE i.v. uživatelů drog** - široké spektrum, méně obvyklá agens



# Katétrová infekce krevního řečiště

(catheter-related bloodstream infection, CRBSI)

- Bakteriémie či fungémie
  - Klinická manifestace infekce
  - Průkaz kolonizace katétru (mikrob shodný s izolátem z krve)
  - Neprokázan jiný zdroj infekce
- 

**Katétrová seps** - klinické příznaky septického stavu (SIRS) +  
kolonizovaný katétr + neprokázán jiný zdroj infekce

**Kolonizace katétru** - nález signifikantního množství agens,  
bez klinických příznaků

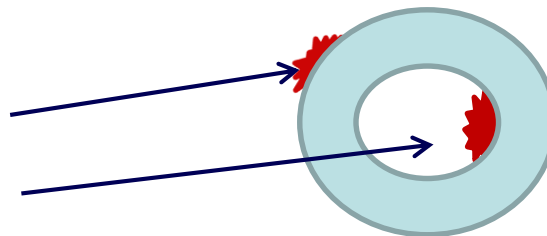
**Katétrová infekce možná (catheter-associated infection)**  
epidemiologický pojem: primární inf. krevního řečiště + katétr (> 48 h)  
+ neprokázán jiný zdroj

**Lokální infekce katétru** - infekce v místě inzerce, infekce tunelu či kapsy,  
flebitida

# Infekce

Extraluminální (< 10 dní)

Intraluminální (> 10 dní)



## Původ infekce

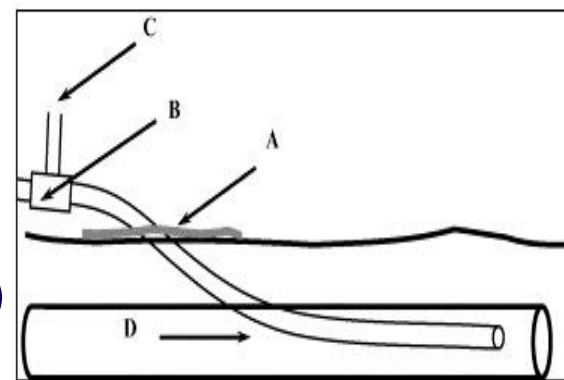
Kožní mikroflóra v místě inzerce katétru (A)

Nevhodná manipulace při aplikaci (A,B)

Kontaminace koncovky či rozbočovače (B,C)

Kontaminované infúzní roztoky (C)

Hematogenní cestou (D) - primární zdroj infekce - jiné ložisko



## Typ katétru

- Periferní venózní katétry (výměna: 48 – 96 hod.) – (0,5/1000 c.d.)
- Periferní arteriální katétry (výměna: 72 – 96 hod.)
- Plicnicové (Schwan-Ganz) katétry (5 dní)
- Centrální žilní katétry (CVK) – ↑↑↑ inf. komplikace (2,1/1000)
- Tunelizované CVK (Hickman, ...) – dlouhodobé, ↓↓ inf. komplikace (0,5/1000)
- Implantované cévní vstupy, porty – dlouhodobé, ↓↓↓ inf. komplikace (0,1/1000)

# Epidemiologie

**Závažná nozokomiální infekce** – CRBSI 10–20 % nozokom. infekcí

> 80 % primárních bakteriemií souvisí s centálními venózními katétry

Rostoucí počet implantátů/katétrů v krevním řečišti

	<b>Francie</b>	<b>Německo</b>	<b>Itálie</b>
<b>Počet obyvatel</b>	60,2	82,5	57,5
<b>Implant. CVK (mil.)</b>	1	1,75	0,49
<b>Incidence CRBSI</b> (1000 „katétrdní“)	1,23	1,5	2,0
<b>CRBSI za rok</b>	14 400	8 400	8 500
<b>Finanční zátěž</b> (mil. EUR/rok)	<b>100 – 130</b>	<b>59 – 78</b>	<b>81</b>

U všech uvedených zemí data z národních systémů surveillance nozokomiálních infekcí

(Tacconelli et al., 2009)

# Etiologie CRBSI

koagulázanegativní stafylokoky  
 enterobakterie  
 pseudomonády  
*S.aureus*  
 enterokoky a streptokoky  
 kvasinky  
 ostatní

TABLE 1. Frequency of microorganism isolation from 774 sonicated catheter cultures

Organism	Frequency <sup>a</sup>	%
Coagulase-negative staphylococci	376	36.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	143	13.9
Enterococci	103	10.0
Yeasts	95	9.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	60	5.8
<i>Enterobacter</i> species	45	4.4
<i>Escherichia coli</i>	40	3.9
<i>Corynebacterium</i> species	34	3.3
Alpha-hemolytic streptococci	27	2.6
<i>Serratia</i> species	19	1.8
<i>Klebsiella</i> species	18	1.7
<i>Bacillus</i> species	18	1.7
<i>Acinetobacter</i> species	12	1.2
<i>Proteus</i> species	10	1.0
Other	32	3.1

<sup>a</sup> A total of 1,032 organisms were isolated.

(Sherertz et al. , 1990)

Table 1. Incidence rates and distribution of pathogens most commonly isolated from monomicrobial nosocomial bloodstream infections (BSIs) and associated crude mortality rates for all patients, patients in intensive care units (ICU), and patients in non-ICU wards.

Pathogen	BSIs per 10,000 admissions	Percentage of BSIs (rank)			Crude mortality, %		
		Total (n = 20,978)	ICU (n = 10,515)	Non-ICU ward (n = 10,442)	Total	ICU	Non-ICU ward
CoNS	15.8	31.3 (1)	35.9 (1) <sup>a</sup>	26.6 (1)	20.7	25.7	13.8
<i>Staphylococcus aureus</i> <sup>b</sup>	10.3	20.2 (2)	16.8 (2) <sup>a</sup>	23.7 (2)	25.4	34.4	18.9
<i>Enterococcus</i> species <sup>c</sup>	4.8	9.4 (3)	9.8 (4)	9.0 (3)	33.9	43.0	24.0
<i>Candida</i> species <sup>c</sup>	4.6	9.0 (4)	10.1 (3)	7.9 (4)	39.2	47.1	29.0
<i>E. scherichia coli</i>	2.8	5.6 (5)	3.7 (8) <sup>a</sup>	7.6 (5)	22.4	33.9	16.9
<i>Klebsiella</i> species	2.4	4.8 (6)	4.0 (7) <sup>a</sup>	5.5 (6)	27.6	37.4	20.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.1	4.3 (7)	4.7 (5)	3.8 (7)	38.7	47.9	27.6
<i>Enterobacter</i> species	1.9	3.9 (8)	4.7 (6) <sup>a</sup>	3.1 (8)	26.7	32.5	18.0
<i>Serratia</i> species <sup>b</sup>	0.9	1.7 (9)	2.1 (9) <sup>a</sup>	1.3 (10)	27.4	33.9	17.1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0.6	1.3 (10)	1.6 (10) <sup>a</sup>	0.9 (11)	34.0	43.4	16.3

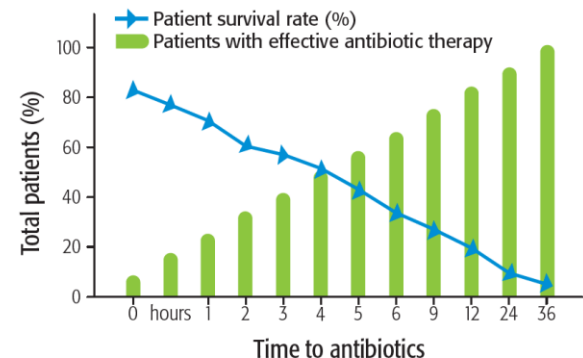
(Wisplinghoff et al., 2004 )

# Diagnostika sepsí

## Rychlost

Automatické kultivační systémy s detekcí přítomnosti rostoucích mikrobů

Rychlá identifikace agens přímo ze vzorku či po pomnožení (PCR, FISH, latexová aglutinace, MALDI-TOF MS aj.)



(www.biomerieux-usa.com, 2016)

## Senzitivita (citlivost)

Dostatečně citlivé detekční metody

Dostatečný objem testované krve + více odběrů

## Specificita (spolehlivost) Odlišit agens od kontaminant

Odběr více vzorků a porovnání získaných izolátů,

Kvantifikace agens ve vzorku

Správná technika odběru

# Hemokultury – odběr krve

Standard: automatická kultivace s detekcí růstu mikroba



# Kdy?

A.S.A.P. po výskytu klin příznaků SIRS

U těžkých lokálních infekcí (meningitis, endocarditis, pneumonia, pyelonephritis, intra-abdominal inf...)

Před podáním ATB

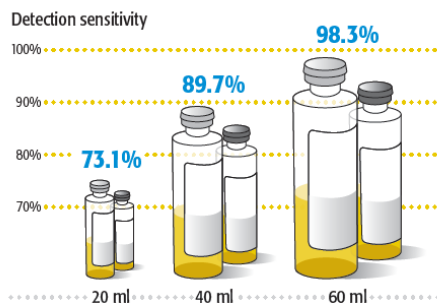
# Jaký objem?

Dospělí 10-15 ml / lahvička  
(aerob. + anaerob. lahvička  
= celkem 20-30 ml / odběr)

# Kolik odběrů?

Figure 2: Cumulative sensitivity of blood culture sets<sup>(22)</sup>

Adapted from Lee *et al.* Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? J Clin Microbiol. 2007; 45:3546-3548



(www.biomerieux-usa.com, 2016)

Table 1: Blood volumes suggested for cultures from infants and children<sup>(20)</sup>

Adapted from Kellogg *et al.* Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. J Clin Microbiol. 2000; 38:2181-2185.

Weight of patient		Patient's total blood volume (ml)	Recommended volume of blood for culture (ml)		Total volume for culture (ml)	% of patient's total blood volume
kg	lb		Culture no.1	Culture no.2		
≤1	≤2.2	50-99	2		2	4
1.1-2	2.2-4.4	100-200	2	2	4	4
2.1-12.7	4.5-27	>200	4	2	6	3
12.8-36.3	28-80	>800	10	10	20	2.5
>36.3	>80	>2,200	20-30	20-30	40-60	1.8-2.7

(www.biomerieux-usa.com, 2016)

ideálně 3 odběry s 30-60 min odstupem

# Do jaké lahvičky?

Nejlépe aerobní + anaerobní

V případě ATB terapie s neutralizátory ATB

U dětí – speciální lahvičky

Mykologické vzorky



# Jak odebírat?

Samostatná venepunkce (ne z arterií, ne z katétru)

Před odběrem dezinfikovat kůži (1-2% chlorhexidin, 70% isopropanol / etanol, iodová tinktura aj.)

Zajistit správné označení správnou dokumentací (doba odběru, ATP, klinický stav)

Rychlý transport do laboratoře a inkubace vzorku

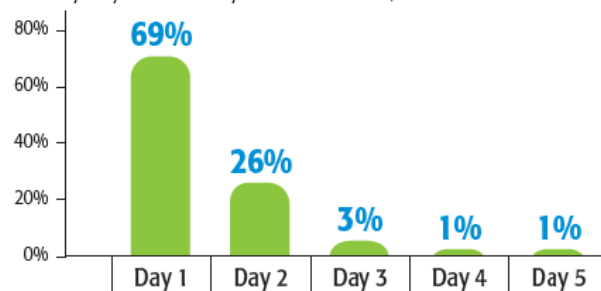
# Jak dlouho inkubovat?

1. negativní mezivýsledek: 48 hod

Prodloužení kultivace na 5-7 dní

Figure 4: Clinically significant isolates per day <sup>(35)</sup>

Adapted from Bourbeau PP *et al.* Routine incubation of BacT/ALERT<sup>®</sup> FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. *J Clin Microbiol.* 2005;43:2506-2509



(www.biomerieux-usa.com, 2016)



# Jak odlišit kontaminaci?

- Zajištění správného odběru
- Opakovaná pozitivita
- Čas positivity

Kontaminace zejm. hemokultur z kůže pacienta, rukou personálu, z prostředí a zdrav. pomůcek → **falešná pozitivita**

zejm. koagulázanegativní stafylokoky, viridující streptokoky, *Bacillus* spp., *Propionibacterium* spp., difteroidy, *Micrococcus* spp.

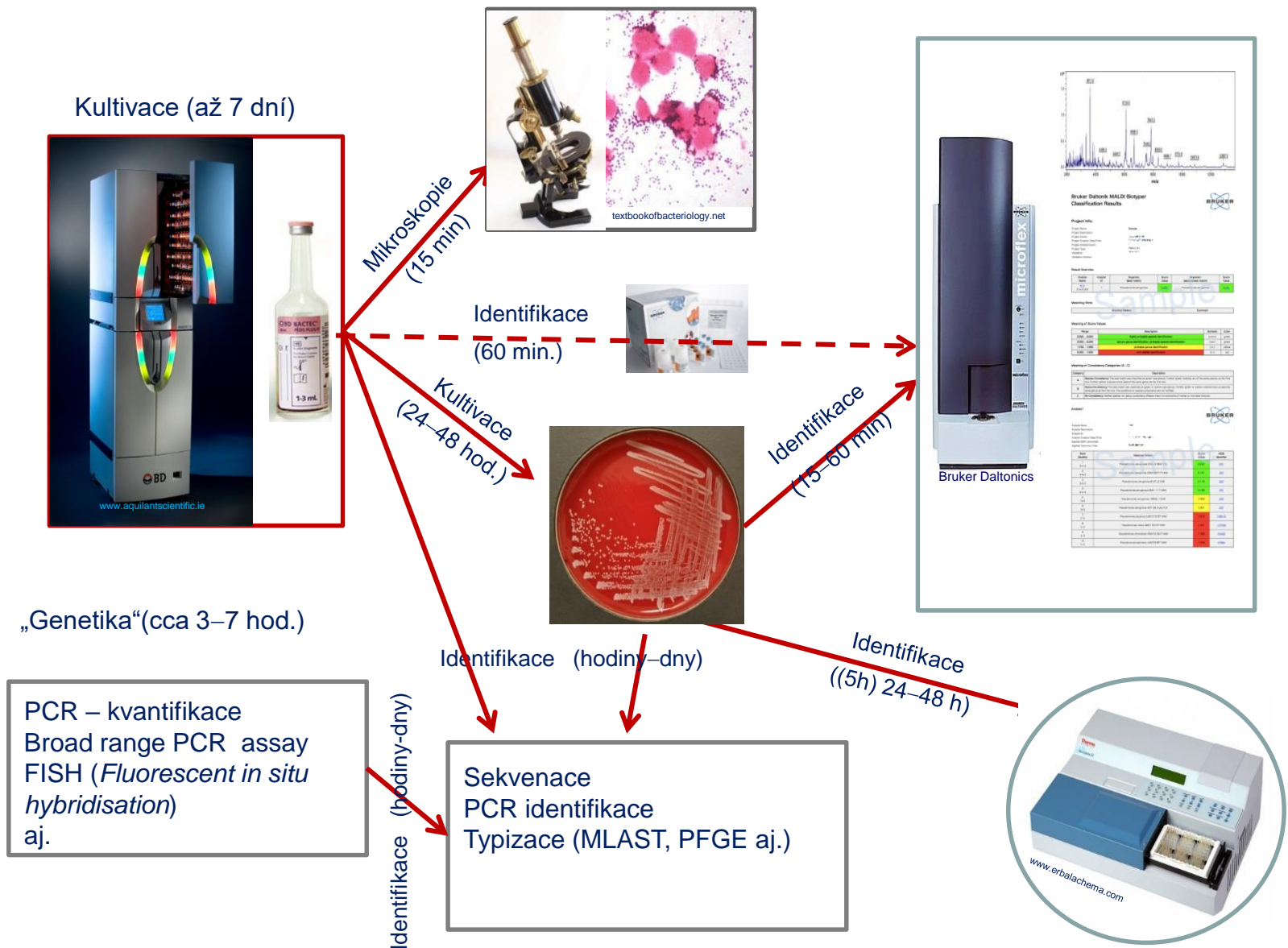
!!! koagulázanegativní stafylokoky jsou nejčastější původci katérových infekcí a bývají klinicky signifikantní v 10-20%

**Obligátní patogeny** (vysoce pravděpodobné agens) pneumokok, meningokok, βhemolytické streptokoky, *S. aureus*

**Typické nozokomiální patogeny krev. řečiště** (vysoce pravděpodobné agens) entrobakterie, pseudomonády, enterokoky, kandidy aj.

**Saprofyté kůže a sliznic** (40–85 % kontaminace) CoNS, viridující str., difteroidy

# Další vyšetření pozitivních hemokultur



# Pozitivní hemokultury

- Další kultivace na pevných půdách
- Přesná identifikace agens (biochemie, PCR, detekce Ag, FISH, MALDI-TOF MS aj.)
- Detekce faktorů virulence (biofilm, toxiny aj.)
- Zjišťování citlivosti k ATB/ATM

## Další možnosti diagnostiky sepsí

**Molekulárně-biologické metody** – PCR, FISH  
MALDI TOF MS

**Sérologie** – průkaz Ag – mannan (*Candida*),  
glaktonmannan, **(1→3)-β-D-glukan**

**Biochemie** – IL-6, C-reaktivní protein (→ 6 → 35 → 50 →),  
prokalcitonin aj.

V případě pacientů se zavedenými katetry je vždy podezření na katetrový původ sepse

# Laboratorní diagnostika CRBSI

**Izolace stejného mikroorganismu ve významné kvantitě z  
vyjmutého katétru**

nebo

**Rozdíl v kvantitě mikroba z periferní krve a krve získané z katétru**

Klinické příznaky systémové infekce

Neprokázán jiný zdroj bakteriémie

## Laboratorní mikrobiologické metody

**A) Nevyžadující vyjmutí katétru z krevního řečiště**

**B) Průkaz infekce po jeho odstranění katétru z krevního řečiště**

# A) Průkaz kolonizace katétru – katétr *in situ*

## - Kvantifikace hemokultur

**Kvantita mikrobů ve vzorku z katétru**

Pozitivita >100 CFU/ml

**Porovnání kvantity mikrobů ve vzorcích z periferie a z katétru**

Pozitivita  $\geq$  1:3 – 5

## - Rozdíl doby positivity u hemokultur odebraných z katétru a periferie

Pozitivita > 2 h

## - Intraluminární brush

Pozitivita  $\geq$  100 CFU/ml,  $\uparrow$  citlivost  $\times$  riziko disseminace

## - AOLC (Akridine Orange Leukocyte Cytospin)

rychlá metoda

+ **Gramovo barvení** –  $\uparrow$  citlivost

## B) Průkaz kolonizace katétru – katétru vyjmut

- **Subkultura + následné vyočkování** ↑ citlivost × ↓ ↓ ↓ specificita
- **Semikvantitativní metoda**  
Pozitivita > 15 CFU/katétru (4x rolování katétru po agaru)  
Levná, jednoduchá × nezachytí intraluminární kolonizaci
- **Intraluminární proplach – flush**  
Pozitivita > 10<sup>3</sup> CFU/katétru
- **Sonifikace , vortexování** – vhodná kombinace  
Pozitivita > 10<sup>3</sup> CFU/katétru
- **Barvení katétru** – Gram nebo akridinová oranž  
Nepraktické, ne pro všechny katétrů

**PREVENCE KATÉTROVÝCH INFEKČÍ  
JE VÝHODNĚJŠÍ NEŽ LÉČBA**

**Společný zájem pacienta, lékaře i  
ekonomů**



# Prevence vzniku CRBSI – zavedení katétru

**Aseptický charakter zavedení katétru**

**+**

**zkušený personál**

**+**

**kvalitní následná péče**

## **Místo inzerce katétru**

*vena subclavia* – ↑mechanické komplikace, ↓ infekce

*vena jugularis interna* – (v urgentních případech), ↑ infekce

*vena femoralis* – ↑ infekce, ↑ trombózy a flebitidy.

**Počet lumin katétru** – multiluminální katétr – ↑ riziko infekce

**Úpravy povrchu vstupů** (impregnace, kryty a komůrky s dezinf.)

**Lepší systémy propojení a in-line filtry**

**Implantované porty a tunelizace katétru** – ↓ mikrobiol. komplikací

- **Aseptický charakter manipulace s katétrem i péče o něj + školený personál + způsob organizace péče**
- **Minimalizovat manipulaci s katétrem a dobu jeho zavedení**
- **Pravidelná kontrola katétru a pravidelná výměna krytí**
- **Ošetření místa inzerce katétru dezinfekční látkou (2% chlorhexidin, 70% lihobenzin a 10% jodopolyvidon) × Ne ATB masti**
- **Profylaktického podávání samotných antikoagulancií  
× Ne systémové profylaktické podávání ATB**
- **Pravidelná výměna krátkodobých katétrů × Ne preventivní výměna dlouhodobých katétrů (CVK)**
- **Výměna infúzních setů a příslušenství (po 72 hod., častěji u lipidových emulzí, u krevních derivátů a při sepsi či imunosupresi)**

**Materiál** - polyuretan, vialon, teflon, silikon  
PVC či polyethylen – méně vhodné

## Úprava povrchu

**Potažení katétru hydromerem** (polyvinylpyrrolidon) či **heparinem** snižuje adhezi krevních bílkovin a brání vytvoření fibrinové vrstvy  
↑ životnost, ↓ trombózy, ↓ kolonizace katétru.

## Impregnace katétru antimikrobiálními látkami

Redukce rizika, ale pouze za předpokladu jejich správného použití a **řádné následné péče**. Katétrů zavedené >5 dní.

**Impregnace povrchu antiseptiky:** (sulfadiazin Ag + chlorhexidin, benzalkoniumchlorid)

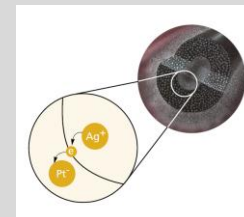
1. **generace** – jen vnější povrch → efekt jen u krátkodobých katétrů (<2 týdny).
2. **generace** – impregnován jak vnější, tak vnitřní povrch katétru

**Impregnace povrchu ATB:** (vnějšího i vnitřního povrchu) (MIN+RIF, MIK+RIF, TEI)  
- významná redukce katéetrových infekcí, ale riziko rezistence

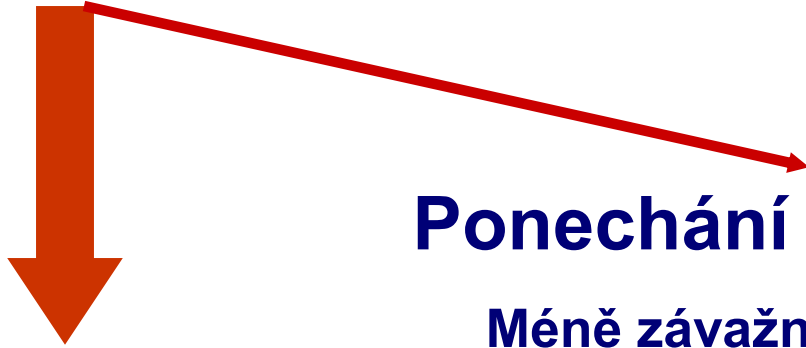
**Impregnace Ag :** Ag+C+Pt v PU katétru – uvolňování Ag elektrochemicky

**Další látky použitých k impregnaci povrchů (*in vitro*):**

ATB, acetylsalicylová kyselina, genciánová violet' aj.



# Terapie katérových infekcí krevního řečiště



## Likvidace ložiska

odstranění implantátu  
+  
následná ATM terapie

## Ponechání infikovaného katétru

### Méně závažné katérové infekce

- ↓ patogenními mikroby (např. CoNS),
- ↓ riziko disseminace

**Stabilizovaný pacient**, benigní průběh,  
bez komplikací a infekce tunelu či kapsy

### Reaguje na ATB terapii



**Pokus o likvidaci ložiska biofilmu**  
(Vysoká pravděpodobnost selhání)

# ATB terapie katérových infekcí

**Celková ATB terapie** – ↓ riziko komplikací, potlačení klinických příznaků vzniklých uvolněním mikrobu z ložiska

**× při eradikaci ložiska často selhává**

## ATB s vyšším účinkem na biofilm

RIF (nevadí kyselé prostředí, dobrý průnik do biofilmu,  
i na stac. bakterie, nutno kombinovat),

LZD, FQ, CMP, AMG (TOB > GEN)

Kvasinky: Echinokandiny (CAS, ANI), liposom. AB

## Výhodné kombinace antimikrobiálních látek

**Antimikrobiální zátka** – vysoká koncentrace ATB

působí po dlouhou dobu, min. 2 týdny (úspěch v 60 – 80 %)

- **Používat opatrně ve vybraných případech** (vznik rezistence)
- **Kombinovat s celkovou ATB léčbou**
- **Kombinovat s antikoagulancii (heparin)**