

**« Катетер-ассоциированные инфекции:
эффективное применение современных методов
диагностики»**

**Боронина Л.Г.
Уральский Государственный Медицинский
Университет,
кафедра клинической лабораторной
диагностики и бактериологии ФПК и ПП ,
Екатеринбург.**

Катетер-ассоциированные инфекции кровотока (КАИК) –

группа инфекционных
заболеваний, развивающихся у человека в результате
использования **сосудистого**

катетера для введения лекарственных средств
при оказании медицинской помощи.

КАИК являются составной частью
инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи
(ИСМП).

Профилактика катетер-ассоциированных инфекций кровотока и уход за
центральной венозной катетером (ЦВК): **национальные клинические
рекомендации.** – 19.11. 2014г.

Катетер-ассоциированные инфекции

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи имеют место в любом стационаре, в том числе катетер-ассоциированные инфекции.

По данным Всемирной организации здравоохранения среди пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии в странах с высоким уровнем дохода в условиях нарастания инвазивности лечебно-диагностического процесса, распространения полирезистентных к антимикробным препаратам микроорганизмов манипуляция **пункционной катетеризации сосудов** сопряжена с риском развития инфекционных осложнений.

Катетер-ассоциированные инфекции

- Клинические проявления подобного состояния разнородны и проявляются как в виде локального воспаления в месте введения катетера, так и в виде наиболее тяжелой формы генерализованной инфекции — сепсиса
- При этом самым распространенным источником нозокомиальной инфекции являются центральный венозный катетер (ЦВК)
- другие катетеризации , часто мочевыводящие пути, особенно в случае их дренирования уретральным катетером.

Катетер-ассоциированные инфекции

- КАИК занимает 3 место среди всех нозокомиальных инфекций (20%).
- 1 место среди причин бактериемий
 - 10% - от числа госпитализированных,
 - 87% - первичных бактериемий.
- 500 000 случаев ежегодно в Европе и США (80 000 случаев в ОРИТ).
- **Связь сепсиса с инфицированным катетером составляет от 20 до 55%.**

Катетер-ассоциированные инфекции

- Частота инфекций, связанных с сосудистыми катетерами составляет:
 - ✓ в развивающихся странах 6,9-8,9 на 1000 дней катетеризации;
 - ✓ в США: 1,5 на 1000 дней катетеризации.
- Количество КАИК варьирует в различных по структуре и профилю отделениях и стационарах:
 - ✓ от 2,9 случаев на 1000 дней катетеризации в специализированных отделениях реанимации и интенсивной терапии;
 - ✓ до 7,7 случаев у пациентов ОРИТ общего профиля.
- В Екатеринбурге 4,6 случаев у взрослых пациентов ОРИТ на 1000 дней катетеризации
- Профилактика катетер-ассоциированных инфекций кровотока и уход за центральным венозным катетером (ЦВК): клинические рекомендации. Госпитальные инфекции в отделениях реанимации нейрохирургического профиля: распространённость, факторы риска и определение подходов к профилактике. – (Бельский Д.В.Екатеринбург, 2012г.). автореферат дисс. ...к.м.н. - Екатеринбург, 2012г.)

Катетер-ассоциированные инфекции

- к инфекциям связанным с оказанием медицинской помощи можно отнести гнойный менингит, венитрикулит у больных с гидроцефалией при проведении нейрохирургического вмешательства с целью установки шунтирующей системы или ее обслуживания
- Правильная и быстрая идентификация возбудителя, определение чувствительности к антибактериальным препаратам, может сыграть решающую роль при лечении больных с различными катетер-ассоциированными инфекциями.

Катетер-ассоциированные инфекции

- Примерно у 15% пациентов после постановки ЦВК развиваются осложнения:
 - ∨ механические – 5-19%
 - ∨ инфекционные – 5-26%
 - ∨ тромботические – до 26% } требуют удаления катетера
- Риск возникновения КАИК частично определяется типом используемого материала и длительностью применения:
 - ∨ при сроках катетеризации до 7 дней развитие инфекции наблюдается у 5% больных;
 - ∨ более 1 месяца – у 36% больных.

КАИ: КЛАССИФИКАЦИЯ

(США, ЦЕНТР ПО КОНТРОЛЮ И ПРОФИЛАКТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ)

- Колонизированный катетер
- Инфекция места введения катетера
- «Карманная» инфекция
- Туннельная инфекция
- Инфекция, связанная с вводимым раствором
- **Катетер-ассоциированные инфекции кровотока**

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КАИК

Возбудитель	1986-1989гг., %	1992-1999гг., %	2001г., %
Коагулазонегативные стафилококки	27	37	34
<i>S. aureus</i>	16	13	17
<i>Enterococcus spp.</i>	8	13	6
<i>E. coli</i>	6	2	-
<i>Enterobacter spp.</i>	5	5	9
<i>P. aeruginosa</i>	4	4	6
<i>K. pneumoniae</i>	4	3	6
<i>Candida spp.</i>	8	8	9

КАТЕТЕР –АССОЦИИРОВАННЫЕ ИНФЕКЦИИ КРОВотоКА

Летальность (при доказанных случаях) -19-25%.

- Вызвана:
- *Candida spp.* - 38%.
- ***Pseudomonas aeruginosa* - 50%.**
- Стафилококки (2-10%):
 - *S.aureus* - 8,2%;
 - Коагулазонегативные стафилококки - 0,7%.

Основные возбудители КАИК

Основными возбудителями КАИК микроорганизмы рода

1. *Staphylococcus* – 43%

(*Staphylococcus aureus* - 25%,

коагулазоотрицательные стафилококки - 18%),

2. *Enterobacteriaceae sp.* - 27%,

3. *Acinetobacter spp.* - 13%,

4. *Pseudomonas aeruginosa* - 9%,

5. *Enterococcus spp.* - 3%,

6. *Candida spp.* - 5% .

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ КАИК

II. ПРИ НАЛИЧИИ КЛИНИЧЕСКИХ ПОКАЗАНИЙ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ КАТЕТЕРА (напр., признаки инфицирования раны входного отверстия катетера):

○ полуколичественное культуральное исследование удаленного катетера по методу Маки (D. Maki)

ИЛИ

○ количественное культуральное исследование удаленного катетера после обработки ультразвуком, интенсивного встряхивания с помощью вортекса или центрифугирования

○ **ИЛИ**

○ микроскопия кончика удаленного катетера, окрашенного по Граму и акридиновым оранжевым.

(Бережанский Б.В., Жевнерев А.А. КАИК //Клин микробиол антимикроб химиотер.–Т. 8, № 2.–2006;

Микробиологическая диагностика КАИК / Школа сосудистого доступа. I.C.S.

URL: <http://www.incsys.ru/school/base/kaik/diagnostics>)

Микробиологические ДИАГНОСТИКИ

МЕТОДЫ КАИК

- ❖
- ❖ Плановые посевы всех извлеченных ЦВК производить не рекомендуется.
- ❖ Выборочные посевы можно проводить для оценки эффективности различных мер
- ❖ В случае роста заболеваемости КАИК, с целью эпидемиологической диагностики, может быть проведен микробиологический мониторинг всех извлеченных ЦВК

(Профилактика катетер-ассоциированных инфекций кровотока и уход за центральным венозным катетером (ЦВК): **федеральные клинические рекомендации. - 2014г.**)

Дизайн исследования

- Цель – оценить возможность применения ускоренных методов диагностики катетер-ассоциированных инфекции у детей для получения быстрых, но при этом точных результатов посевов катетеров.
- Продолжительность исследования: с 6 марта по 6 ноября 2018 г. (9 мес).
- Количество исследованных проб: 197 проб катетеров от 197 детей. Возраст детей от 3 дней до 16 лет
- Отделения: реанимации новорожденных хирургические и онкогематологические отделений ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница».



Областная детская клиническая больница в Екатеринбурге – это крупнейшая детская больница в Уральском Федеральном округе. **на 800 коек**, включает в себя все отделения педиатрических профилей , крупнейшее в регионе

Отделение детской хирургии, 6 отделений реанимации, включая реанимацию недоношенных новорожденных, отделение хирургии новорожденных.

Онкогематологический центр(90 коек) с отделением трансплантации костного мозга
Перинатальный центр на **7000** родов в год

Работа выполнена на кафедре лабораторной клинической диагностики и микробиологии Уральского государственного медицинского университета
клиническая база : Областная детская клиническая больница г. Екатеринбург в 2018 году



Больные с диагнозами: респираторный дистресс-синдром; внутриутробная инфекция, недоношенность; катетер-ассоциированная инфекция кровотока под вопросом; гемолитическая болезнь новорожденных; атрезия пищевода; хроническая почечная недостаточность; пневмония; врожденный порок сердца; острый лейкоз; гидроцефалия; инфекция мочевыводящих путей.

Исследуемый материал:

1. при подозрении на катетер-ассоциированные инфекции кровотока исследовали: пупочный, центральный венозный катетер (ЦВК), глубокую венозную линию, сосудистый катетер; п
2. при поэтапных шунтирующих операциях при гидроцефалии с подозрением на шунт-менингит - вентрикулярный шунт;
3. при инфекциях мочевыводящих путей – мочевого катетер.

МЕТОДЫ

Для посева крови из интактной периферической вены использовались: системы для гемокультур «Signal» («Oxoid», Великобритания), флаконы для автоматического анализатора гемокультур «ВАСТЕС™ FX» («Becton Dickinson», США)

Видовую идентификацию бактерий, определение чувствительности к антибактериальным препаратам выделенных микроорганизмов проводили по классическим бактериологическим методикам и с использованием наборов реагентов для бактериологических анализаторов: автоматического MicroScan WalkAway 96 (Siemens, Германия) и полуавтоматических: SENSITITRE (TREK Diagnostic Systems, США), ATB Expression (bioMerieux).

МЕТОДЫ

с соблюдением правил стерильности каждый катетер длиной не менее 5-6 см делился пополам.

Посев одного из фрагментов осуществлялся классическим культуральным полуколичественным методом по D. Макі на кровяно-сывороточный агар (инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 72 часов) и погружением катетера в сахарный бульон для изучения его внутреннего канала, инкубация при +37°C в течение трое суток с ежедневным просмотром.

МЕТОДЫ

Вторая половина катетера исследовалась с помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) с технологией лазерного светорассеивания, позволяющей обнаружить делящиеся бактерии.

Для этого второй фрагмент катетера заливался 1 мл сахарно-сывороточного бульона, перемешивался в течение 5 минут на вортексе, затем центрифугировался при 3500 оборотов/мин в течение 30 минут.

500 мкл суспензии образца катетера вносили во флаконы из HB&L КУЛЬТУРАЛЬНОГО НАБОРА.

В каждый флакон было также добавлено 200 мкл коммерческого препарата Alifax, содержащего никотинамидадениндинуклеатид, фактор X и гемин, для ускорения роста прихотливых микроорганизмов (*Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*). Флаконы с образцами загружали в анализатор ALIFAX HB&L LIGHT, время инкубации составляло 10 часов.

МЕТОДЫ

Результаты фиксировались автоматически с выдачей концентрации микроорганизмов в образце (в КОЕ/мл).

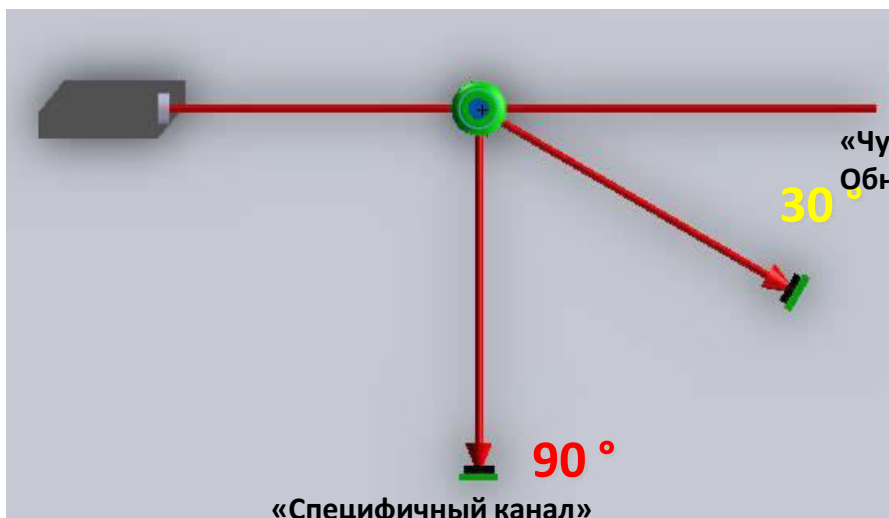
Если бактериальная концентрация 0 КОЕ/мл выдается результатом анализатором, **как отрицательный**;

бактериальная концентрация 0+50 КОЕ/мл – **результат положительный** в количестве < 50 КОЕ/мл;

бактериальная концентрация > 50 КОЕ/мл – результат положительный в конкретном цифровом количестве.

Положительные образцы, высевали на кровяно-сывороточный агар и инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂.

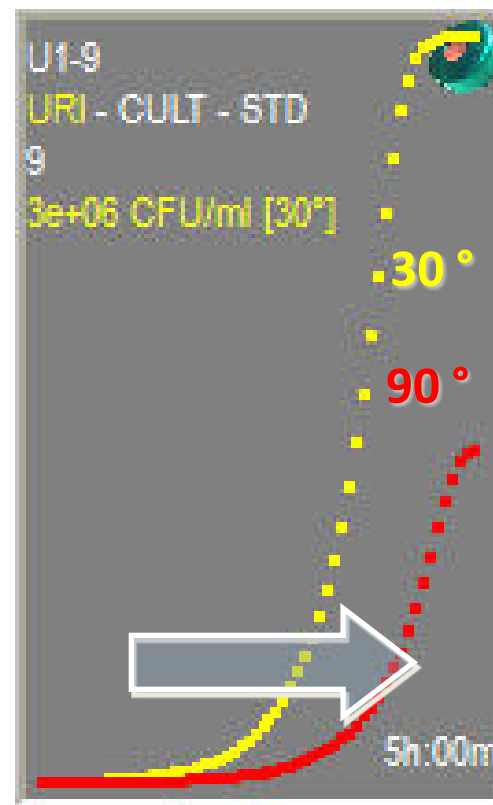
Кинетические измерения рассеянного света



«Чувствительный канал»
Обнаруживает все частицы

«Специфичный канал»
Избирателен по отношению к форме и
размеру частиц

Мониторинг роста бактерий:
2000 считываний за цикл,
Последовательные циклы
измерения каждые 5 минут

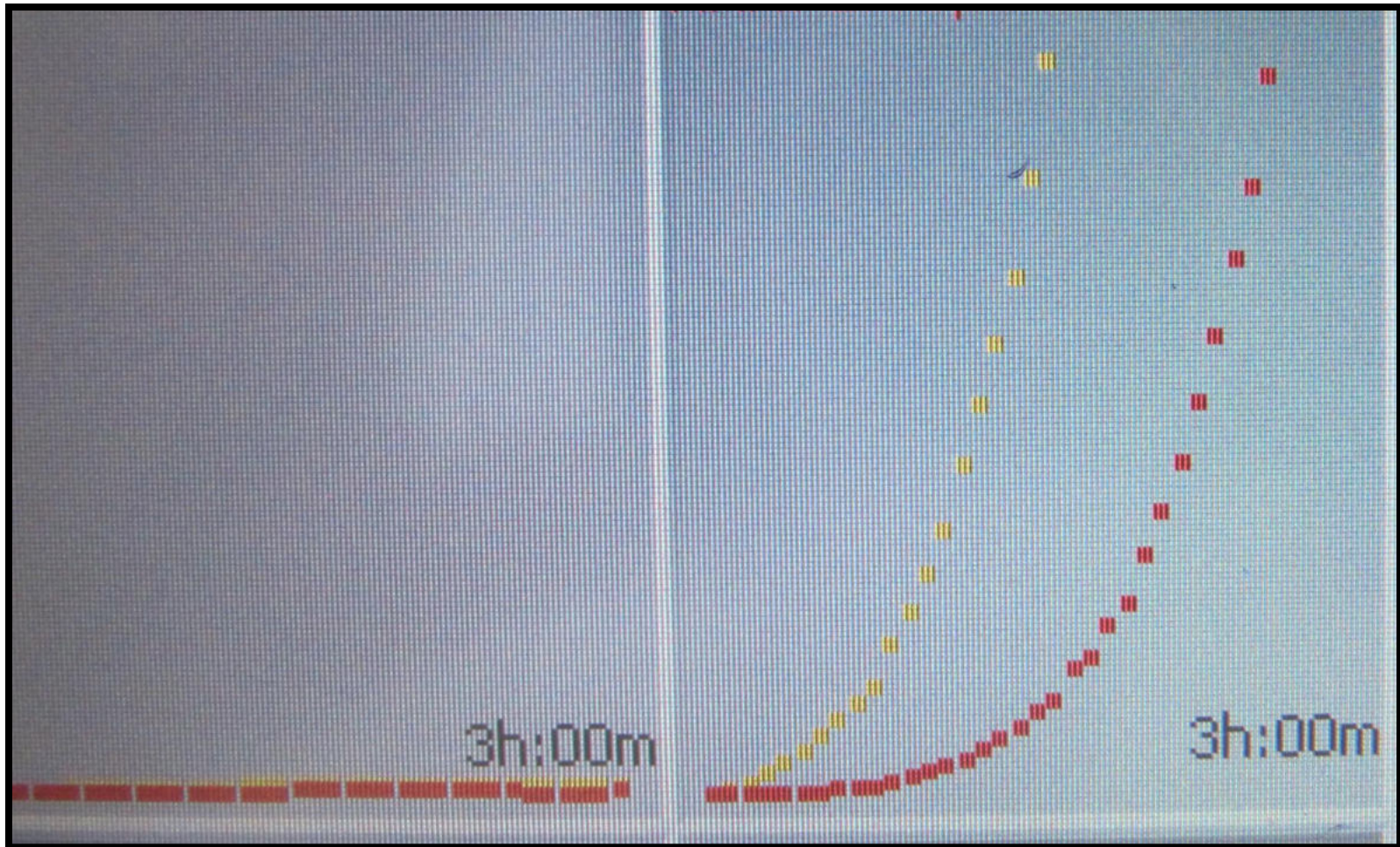


Возможности применения ALIFAX HB&L LIGHT



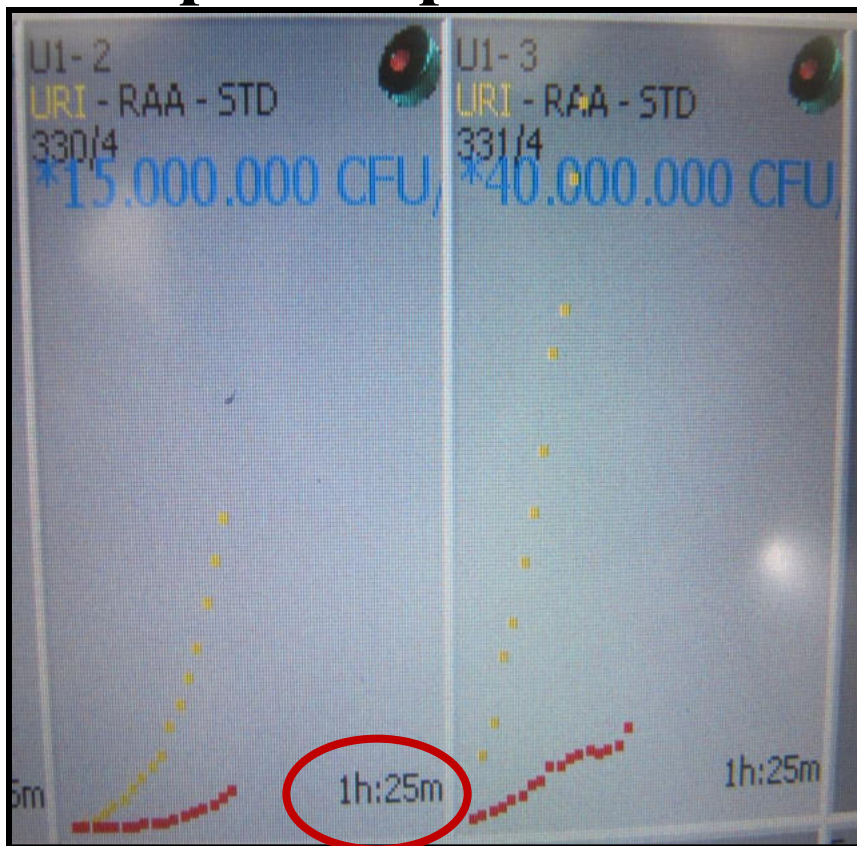
Результат

отрицательный положительный

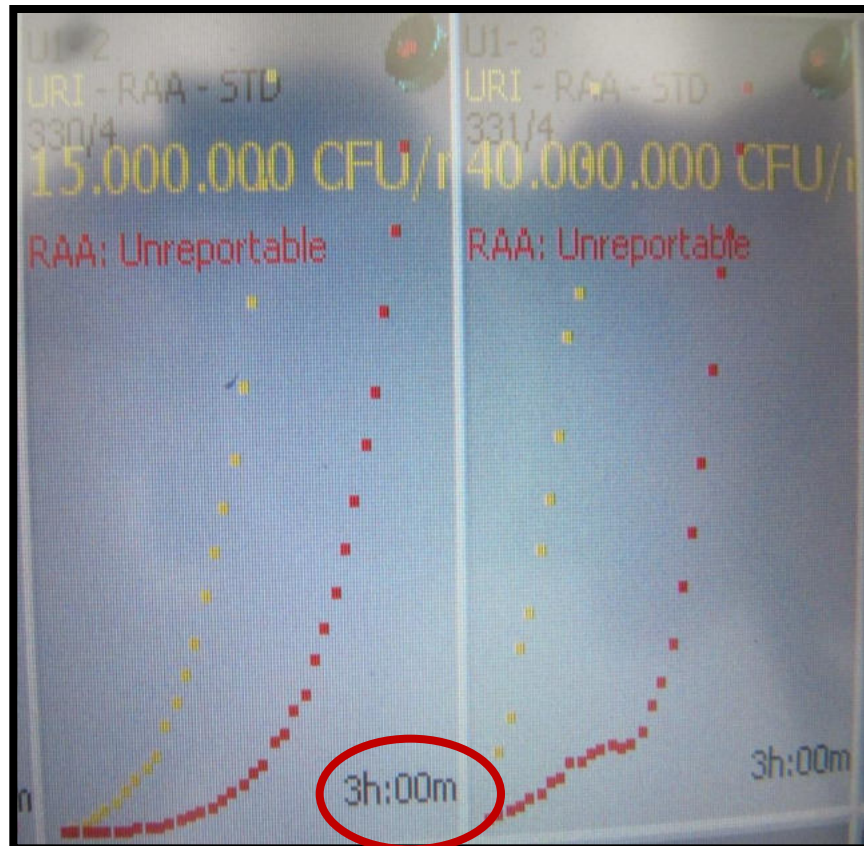


Положительный результат

Ориентировочный



Окончательный



Отрицательный результат

Ориентировочный



Окончательный



РЕЗУЛЬТАТЫ

В 156 (79,2%) пробах, исследованных как методом D. Маки, так и с использованием полуавтоматического анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) выявлена корреляция:

- ALIFAX – результат отрицательный (микроорганизм не обнаружен), культуральный метод – «рост микроорганизмов не обнаружен».

В 25 пробах (12,6%) выявлена корреляция с результатами культурального исследования по D. Маки

Обнаружены диагностически значимые для катетер-ассоциированной инфекции микроорганизмы (13 проб, 6,6%):

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus* как в монокультуре, так и в ассоциации.

Результат ALIFAX : от 1000 до 12.000.000 КОЕ/мл.

Вид исследуемого катетера	Всего	Из них положительные	Обнаруженные микроорганизмы	КОЕ/мл
Катетер-ассоциированные инфекции кровотока				
Пупочный	60	8	Staphylococcus haemolyticus + Enterococcus sp.	1.000
			Staphylococcus hominis	400.000
			Escherichia coli + Enterococcus faecalis	12.000.000
			Streptococcus agalactiae	700.000
			Corynebacterium sp.,	< 50
			Escherichia coli	1000
			Staphylococcus epidermidis + Enterococcus sp.	< 50
			Staphylococcus haemolyticus	< 50
Центральный венозный катетер	46	7	Staphylococcus epidermidis	< 50
			Staphylococcus aureus	1000
			Staphylococcus epidermidis	< 50
			Escherichia coli + Staphylococcus aureus	1000
			Acinetobacter baumannii	200.000
			Staphylococcus haemolyticus	< 50
			Klebsiella pneumoniae	1000
Глубокая венозная линия	34	4	Staphylococcus epidermidis	< 50
			Streptococcus sp.	< 50
			Staphylococcus epidermidis	< 50
			S. haemolyticus + S. epidermidis	< 50
Сосудистый	33	2	Staphylococcus aureus	3.000
			S. haemolyticus + S. epidermidis	< 50
Венозный	14	1	Enterobacter cloacae	40.000
Катетер-ассоциированные инфекции центральной нервной системы				
Вентрикулярный шунт	8	2	Escherichia coli лактозонегативная + Staphylococcus haemolyticus	12.000.000
			Staphylococcus epidermidis	< 50
Катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей				
Мочевой	2	1	Pseudomonas aeruginosa	500.000
Всего	197	25		

РЕЗУЛЬТАТЫ

Контаминация - в 12 пробах (6%) выявлены главным образом коагулазоотрицательные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*), *Corynebacterium sp.*, *Streptococcus sp.* как в монокультуре, так и в ассоциации, титр менее 50 КОЕ/мл, свидетельствующие о колонизации катетера.

В 16 пробах (8,2%) отрицательных в ALIFAX и положительных по результатам культурального метода – выделялись преимущественно коагулазоотрицательные стафилококки в количестве менее 15 КОЕ/катетер, что свидетельствует о возможной контаминации.

В тоже время выделение *Staphylococcus epidermidis* из интактной вены у недоношенных детей или детей с нарушениями иммунитета может играть этиологическую роль в развитии бактериемии и сепсиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Совпадение - результаты бактериологического исследования катетеров на анализаторе и культуральным методом D. Маки совпали в 91,8% случаев. Инфекции, связанные с катетером доказаны в 8 случаях. У 5 пациентов из крови и интраваскулярного катетера выделялись:

- *Staphylococcus epidermidis* (n=1), *Staphylococcus haemolyticus* (n=1),
- *Escherichia coli* (n=1), *Staphylococcus aureus* (n=2);
- из вентрикулярного шунта и ликвора обнаружен *Staphylococcus epidermidis* (n=1),
- из вентрикулярного шунта *Escherichia coli* лактозонегативная + *Staphylococcus haemolyticus*, а из ликвора только *Escherichia coli* лактозонегативная;
- у 1 пациента из мочевого катетера и мочи выявлена *Pseudomonas aeruginosa* (n=1).

Выделенные микроорганизмы чаще были отнесены к контаминантам с кожи или колонизирующие на катетере

- Катетер-ассоциированные инфекции кровотока, связанные с катетером, доказаны в 13 случаях, т.е. у 4,4% обследованных.
- У 13 пациентов из крови и интраваскулярного катетера выделялись: ***S.epidermidis***(n=6), *E.coli*(n=1), *E.faecalis* + *A. baumannii*(n=1);

молекулярно-генетическое типирование клинических изолятов *S.epidermidis* (MRSE), выделенных из крови

- Идентификация гена биопленкообразования ***icaA***
- ✓ Штаммы *MRSE* типировали молекулярно-генетическим методом. Клональную принадлежность изучаемых культур определяли методом **MLVA** по 5 локусам с использованием праймеров и условий реакции, предложенных JohanssonA. с соавторами [JohanssonA /JClinMicrobiol, 2006,Jan44(1):260
- Молекулярно-генетическое типирование **6 штаммов *MRSE*, выделенных из крови**, позволило установить циркуляцию в стационарах нескольких генетических линий *MRSE*, характеризующих госпитальные штаммы.
- **5 из 6 штаммов *MRSE*, представляют собой одну клональную линию**, что свидетельствует о наличии единого резервуара инфекции для пациентов этих отделений. (Боронина Л.Г.,Гончаров А.Е. , Саматова Е.В., 2017г)

клинически изоляты *S.epidermidis*- причина бактериемии и сепсиса

- ❖ Доля колонизированных или локально инфицированных катетеров составила 31,4% от числа исследований;
- ❖ доказаны катетер-ассоциированные инфекции (КАИК) – у 4,4% обследованных больных; в половине случаев *S.epidermidis* (MRSE)
- ❖ 5 из 6 штаммов MRSE, выделенных из крови при КАИК, представляют собой одну клональную линию, что свидетельствует о наличии единого резервуара инфекции
- ❖ КАИК: 3,4-3,2 случаев на 1000 дней катетеризации в отделении реанимации и интенсивной терапии недоношенных детей

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение технологии лазерного светорассеивания позволяет выявить минимальное количество микроорганизмов на катетере.

Результаты бактериологического исследования катетеров на анализаторе с технологией лазерного светорассеивания и культуральным методом D. Мaкi совпали в 91,8% случаев.

Клиническое значение выделенных микроорганизмов из катетера необходимо оценивать в каждом конкретном случае с учетом его количества и вида выделенного микроорганизма. Кроме того для смыва бактериологических пленок с катетеров оптимально использование встряхивателя типа «Vortex».

Использование технологии лазерного светорассеивания возможно для оценки колонизации/инфекции связанной с катетером, шунтом, при сокращении времени получения результата до 10 и менее часов.

**« Катетер-ассоциированные инфекции:
эффективное применение современных методов
диагностики»**

**Боронина Л.Г.
Уральский Государственный Медицинский
Университет,
кафедра клинической лабораторной
диагностики и бактериологии ФПК и ПП ,
Екатеринбург.**

Спасибо за внимание!



Литература

- Боронина Л.Г., Гончаров А.Е., Саматова Е.В. MLVA-типирование нозокомиальных изолятов эпидермального стафилококка. Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». М., 2017. Т. 2. С. 228-229.
- Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Панова С.А. Применение технологии лазерного светорассеивания для диагностики катетер-ассоциированных инфекций» Клиническая лабораторная диагностика 2019 №8 С 448
- Бельский Д.В. Госпитальные инфекции в отделениях реанимации нейрохирургического профиля: распространённость, факторы риска и определение подходов к профилактике. Автореферат дисс. ...к.м.н. Екатеринбург, 2012. 27 с.
- Бережанский Б.В., Жевнерев А.А. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока. Клин микробиол и антимикроб химиотер. 2006; 8(2):130-144.
- Васильев А.О., Говоров А.В., Ширяев А.А., Пушкарь Д.Ю. Роль уретрального катетера в развитии катетер-ассоциированной инфекции мочевыводящих путей. Журнал урология. 2017; 6:107-111.
- Квашнина Д.В., Ковалишена О.В., Белянина Н.А. Комплексная клинико-этиологическая и эпидемиологическая характеристика катетер-ассоциированных инфекций кровотока. Медицинский Альманах. 2017; 49(4):41-45.
- Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов. Методические указания 4.2.1887 – 04. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005. 48 с.
- Рекомендации по ведению больных с инфекциями почек, мочевых путей и мужских половых органов (European Association of Urology, 2008). Available: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17>.
- Профилактика катетер-ассоциированных инфекций кровотока и уход за центральным венозным катетером (ЦВК): федеральные клинические рекомендации / Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Межрегиональная общественная организация «Общество врачей и медицинских сестер «Сепсис Форум». Москва, 2017. 43 с.
- Essential procedures for clinical microbiology. Editor in chief H.D. Isenberg. Washington, D.C.: ASM PRESS, 1998. 842 p.
- Технология лазерного светорассеивания в диагностике и катетерассоциированных инфекций доклад представлен на 29 European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Амстердам, Нидерланды. Апрель 13-16, 2019.