

Микробиологическая диагностика заболеваний НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ

Шевченко Н.И.



Инфекции нижних дыхательных путей

- острый бронхит
- хронический бронхит
- пневмония внебольничная
- пневмония госпитальная, в т.ч. осложненная абсцедированием и эмпиемой плевры
- легочный туберкулез



Основные инфекционные агенты острого бронхита

- Вирусы (гриппа А и В, парагриппа, рино-, корона-, РСВ) - 90%
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydophila pneumoniae* } 10%
- *Bordetella pertussis*

Основные инфекционные агенты острого бронхита у детей и пациентов со сниженным иммунитетом

- *S. pneumoniae*
- *H. influenzae*
- *M. catarrhalis*



Микробиологические исследования

- Диагноз ОБ не требует использования дополнительных методов исследования и ставится на основании клинической симптоматики



Микробиологические исследования

- Микробиологическое исследование мокроты при ОБ проводят только при затяжном течении заболевания. Повод для дополнительного исследования :
 - лихорадка
 - одышка
 - плеврит



Хронический бронхит

- прогрессирующее заболевание, характеризующееся воспалением и морфологической перестройкой бронхиальной слизистой и протекающее с обострениями и ремиссиями. Причины обострения-инфекция (50-60% случаев)



Этиология обострения ХБ

- *H. influenzae*
 - *H. parainfluenzae*
 - *M. catarrhalis*
 - *S. pneumoniae*
- } 70-85%



Этиология обострения ХБ

- Enterobacteriaceae
 - P.aeruginosa
 - S.aureus
 -
- 15-30% обострений



H. influenzae

- Имеет наибольшее значение в прогрессировании бронхо- легочного поражения при ХБ. Вызывает :
- угнетение мукоцилиарного клиренса
- повышение продукции слизи
- локальное разрушение иммуноглобулинов
- угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов и альвеолярных макрофагов
- повреждение трахеобронхиального эпителия
- синтез гистамина и др.провоспалительных медиаторов

Симптоматика «инфекционного» обострения ХБ

- Признаки :
- увеличение количества отделяемой мокроты
- изменение характера мокроты (преобладание гнойной)
- лихорадка(редко)
- усиление одышки



Микробиологическая диагностика проводится

- в случаях частых обострений
- неэффективности антимикробной терапии
- Включает :
- окраска мазков по Граму
- бактериологическое исследование мокроты



Внебольничная пневмония

- Острое инфекционное заболевание преимущественно бактериальной этиологии, характеризующееся очаговым или долевым поражением респираторных отделов легких, наличием внутриальвеолярной экссудации, выраженными в различной степени лихорадкой и интоксикацией



Причины развития воспаления

- снижение активности защитных механизмов макроорганизма
- массивность инфицирующей дозы микроорганизмов
- повышенная вирулентность микробов



Основные патогенетические механизмы развития пневмонии

- аспирация секрета ротоглотки
- ингаляция аэрозоля, содержащего микроорганизмы
- гематогенное распространение м/о
- непосредственное распространение инфекции



Аспирация секрета ротоглотки

- Основной путь инфицирования респираторных отделов легких. Микроаспирация секрета – физиологический феномен.
- кашлевой рефлекс
- мукоцилиарный клиренс
- альвеолярные макрофаги
- обеспечивают элиминацию инфицированного секрета из ндп. При их нарушении- развитие болезни.



Ингаляция аэрозоля, содержащего м/о

- **Играет основную роль при инфицировании облигатными патогенами. Менее часто развивающийся механизм развития пневмонии.**



- Гематогенное распространение микроорганизмов из внелегочного очага инфекции (эндокардит, септический тромбофлебит и др.) наблюдается редко.



- Непосредственное распространение инфекции из соседних пораженных тканей (абсцесс печени, надпеченочный абсцесс) или в результате инфицирования при проникающих ранениях грудной клетки наблюдается крайне редко (в основном- при госпитальной пневмонии).



Этиология внебольничной пневмонии

- Типичные возбудители :
- *S. pneumoniae* (30-50% случаев)
- *H. influenzae* (10-20%)
- Атипичные возбудители :
- *M. pneumoniae*
- *C. pneumoniae* 8-20%
- *L. pneumophila*
- *S. aureus* 3-5%
- *K. pneumoniae*



Этиология внебольничной пневмонии

- у больных муковисцидозом,
бронхоэктазами
 - *P. aeruginosa*
- у вич-инфицированных
 - *P. jiroveci*

Микробиологическое исследование

- Амбулаторным больным не показано.
- Госпитализированным больным :
 - - бактериологическое исследование мокроты ,полученной при глубоком откашливании
 - - исследование гемокультуры
 - - исследование плевральной жидкости, клин.материала после бронхоскопии по показаниям



Госпитальная пневмония

- Развившаяся через 48 и более часов после госпитализации при условии отсутствия какой-либо инфекции на момент поступления пациента в стационар.



Факторы, предрасполагающие к развитию госпитальной пневмонии

- пожилой возраст
- • бессознательное состояние
- • аспирация
- • экстренная интубация
- • длительная (более 48 часов) ИВЛ
- • зондовое питание
- • горизонтальное положение
- • проведение операций и анестезии
- • ОРДС
- • хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ)



Нозокомиальная пневмония, связанная с ИВЛ (НПивл),

- пневмония, развившаяся не ранее чем через 48 часов от момента интубации и начала проведения ИВЛ, при отсутствии признаков лёгочной инфекции на момент интубации



Нозокомиальная пневмония, связанная с ИВЛ

- В зависимости от срока развития выделяют:
- **раннюю НП**, возникающую в течение первых пяти дней с момента госпитализации, для которой характерны возбудители, чувствительные к традиционно используемым антибактериальным препаратам
- **позднюю НП**, развивающуюся не ранее пятого дня госпитализации, которая характеризуется высоким риском наличия полирезистентных бактерий и менее благоприятным прогнозом



Источники инфицирования нижних дыхательных

- **Эндогенные источники**

- микрофлора ротоглотки, придаточных пазух носа, носоглотки, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), кожи, возбудители из альтернативных очагов инфекции. Главные пути эндогенного проникновения инфекции в НДП :
 - аспирация секрета ротоглотки, содержащего потенциальных возбудителей НП
 - аспирация нестерильного содержимого пищевода / желудка
 - гематогенное распространение из отдалённого очага инфекции



Главные пути эндогенного проникновения инфекции в НДП

- аспирация секрета ротоглотки, содержащего потенциальных возбудителей НП
- • аспирация нестерильного содержимого пищевода / желудка
- • гематогенное распространение из отдалённого очага инфекции
- транслокация условно-патогенных бактерий из ЖКТ



Источники инфицирования НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ

- **Экзогенные источники.**
- объекты внешней среды, прямо или опосредованно соприкасающиеся с дыхательными путями больного :
- воздух
- ингалируемые медицинские газы
- оборудование для проведения ИВЛ (эндотрахеальные и трахеостомические трубки, респираторы, дыхательные контуры, катетеры для санации трахеобронхиального дерева, бронхоскопы)
- микрофлора других пациентов и медицинского персонала



ЭТИОЛОГИЯ

- "Ранние" госпитальные пневмонии у больных, не получавших антибиотиков, обусловлены нормальной микрофлорой верхних дыхательных путей с естественным уровнем антибиотикочувствительности
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Haemophilus influenzae*
- некоторые энтеробактерии



ЭТИОЛОГИЯ

- При "поздних" госпитальных пневмониях или пневмониях, развившихся на фоне или после лечения (профилактики) антибиотиками, ведущую роль играют госпитальные штаммы
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Enterobacter spp.*
- *S.aureus*
- *Acinetobacter spp.*
- *Pseudomonas aeruginosa*



Диагностика госпитальной пневмонии

- должны быть решены равнозначные задачи:
 - диагностика легочной инфекции
 - уточнение этиологического диагноза
 - оценка тяжести и прогноза заболевания



Микробиологическая диагностика

- Исследование биологического материала из дыхательных путей, крови и плевральной жидкости



Микробиологическая диагностика

- Свободно откашливаемая мокрота (СОМ) – основной клинический материал



Исследование мокроты

- До начала антибактериальной терапии
- В ранние сроки заболевания и по показаниям
- Собирают первую утреннюю порцию до еды после полоскания полости рта кипяченой водой или раствором пищевой соды (1 чайная ложка на стакан воды)



Исследование мокроты

- Если мокрота отделяется плохо, накануне пациенту дают отхаркивающие средства (возможно использование индуцированной мокроты)
- Сроки доставки мокроты в лабораторию не должны превышать 1,5-2 часов от момента ее получения.



Кровь при бактериемии и сепсисе

- При остром сепсисе – 2-3 образца крови, взятых отдельными венопункциями с интервалом 30 мин
- При подостром течении – 3 образца крови с интервалом 15-20 мин в 1-ый день и через 24 часа еще 3 посева
- На фоне АБ-терапии-по 2 посева/сутки 3 дня подряд
- При лихорадке неясного генеза – 2 раза в течение 1 часа,затем по той же схеме через 24 и 36 часов



Микробиологическое исследование крови

- Объем крови при каждой венепункции у детей 1-5 мл, у взрослых 10-30 мл
- Флаконы хранят при комнатной температуре(+15-+30°С)
- Флаконы маркируют и до транспортировки в лабораторию содержат при комнатной температуре (не в холодильнике)



Микробиологическое исследование крови

- Многократные посевы крови повышают вероятность выделения гемокультуры и позволяют дифференцировать истинные патогены (при повторном выделении бактерий того же вида) от случайных контаминантов, наблюдаемых в 41,5% случаев.



Жидкости из стерильных полостей

- Плевральную жидкость собирают в стерильную пробирку с соблюдением правил асептики и незамедлительно отправляют в лабораторию. При подозрении на наличие неспорообразующих анаэробных микроорганизмов возможна доставка в шприце.



Схема бактериологической диагностики пневмонии Алгоритм исследования



Преимущества окраски по Граму

- 1. Исследование позволяет обоснованно расширить спектр стартовой эмпирической антибактериальной терапии с учетом менее распространенных возбудителей
- 2. Подтверждает результат последующих посевов мокроты



Культуральное исследование. Оценка результатов мокроты

- Выделение м/о в концентрации 10^6 КОЕ/мл и выше является диагностически значимым.

Нужно учитывать :

- - этот показатель может снижаться на фоне антибактериальной терапии
- - колонизация верхних дыхательных путей посторонней микрофлорой может сопровождаться выделением ее в диагностически значимых титрах



Отличия колонизации от суперинфекции:

- При колонизации не происходит увеличение продукции мокроты, а характер ее не изменяется (со слизистой на гнойную)
- Клиническое течение болезни не ухудшается.
- При суперинфекции присутствуют 3 компонента: лихорадка, лейкоцитоз, усиление дыхательных признаков и симптомов



Трахеобронхиальные смывы

- Недостаток :
- значительное разведение содержимого, что снижает возможность выделения бактерий, а концентрация их падает примерно в 100 раз по сравнению с мокротой
-



Трахеобронхиальные смывы

- Имеют ограниченную диагностическую ценность :
- Чувствительность - 38–82 %
- специфичность - 72–85 %.
- Основное значение микробиологического исследования эндотрахеальных аспиратов :
исключение определённых видов возбудителей НП при отрицательных результатах исследования.



Инвазивные методы. Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)

- **Позволяет** судить о микробной обсеменённости большого числа альвеол .
- **Чувствительность** 63–100%
- **специфичность** 66–96 %



Инвазивные методы .Метод взятия материала из бронхов с помощью «защищённой» щётки (ЗЩ)

- предотвращает контаминацию микрофлорой верхних дыхательных путей. Метод заключается в использовании «защищённого» катетера-щётки, который выдвигается примерно на 3 см от конца бронхоскопа в нужный субсегментарный отдел бронхиального дерева. Если при этом визуализируется гнойный секрет, то щётка проворачивается в нём несколько раз; после взятия материала щётка втягивается во внутреннюю канюлю, та — в наружную, после чего катетер извлекается из внутреннего канала бронхоскопа. Чувствительность и специфичность метода достигают 58–86 и 71–100 % соответственно
- -



Количественные критерии оценки этиологической значимости микроорганизмов, выделенных из материала, полученного из нижних дыхательных путей

- | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|
| • Метод получения материала | • Критерий значимости (КОЕ/мл) |
| • Мокрота | • $> 10^6$ |
| • Эндотрахеальный аспират | • $> 10^6$ |
| • Бронхоальвеоляр. лаваж | • $> 10^4$ |
| • "Защищенные" щетки | • $> 10^3$ |



Причины, препятствующие установлению этиологического диагноза бактериальной пневмонии

- Отсутствие мокроты, особенно в ранние сроки заболевания (у 10-30% больных) и трудности получения ее у детей
- Невозможность получения материала инвазивными методами (тяжесть состояния больного, отсутствие специальной аппаратуры и т.д.)



Причины, препятствующие установлению этиологического диагноза бактериальной пневмонии

- Контаминация бронхиального содержимого микрофлорой ВДП и ротоглотки (до 40% больных)
- Применение антибиотиков на догоспитальном этапе (15-30% больных)
- Высокий уровень носительства пневмотропных патогенов



Частота носительства пневмотропных патогенов в ВДП

<u>Микроорганизмы</u>	<u>Встречаемость, %</u>
• S. aureus	• 35-40
• S. pyogenes	• 0-9
• S. pneumoniae	• 0-50
• N.meningitidis	• 0-15
• H. influenzae	• 5-20
• ГОБ	• 2-60



Серологические исследования

- имеют ограниченную диагностическую ценность и при обследовании пациентов с подозрением на НП не используются. Эти тесты, имеющие эпидемиологическое значение, в части случаев могут оказаться полезными в ретроспективной диагностике (легионеллёзная инфекция).



Атипичная пневмония

- **Этиология** •
- *Mycoplasma pneumoniae* (агент Итона) •
- *Legionella pneumophila*, *Legionella migidadei*, *Legionella bozemanii*, *Legionella dumoffii*
- *S. pneumoniae* , *Chlamydia trachomatis*
- вирусы



Атипичная пневмония

- **Факторы риска** •
- Массовое проживание людей (больницы, тюрьмы, военные базы, монашеские братства)
- Иммунодефициты
- Хламидиоз половых органов
- Контакт с загрязнённой системой кондиционеров, хранилищем тёплой воды (легионеллы)



Диагностика атипичных пневмоний

- Культуральная диагностика доступна только специализированным лабораториям.
- Общепринятый метод -серотипирование. Используют реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) и связывания комплемента (РСК). Для всех возбудителей доказательно 4-кратное увеличение титров антител в парных сыворотках крови, взятых с интервалом в 2 нед. Эти методики фактически обеспечивают лишь ретроспективную диагностику.



Диагностика атипичных пневмоний

- Для определения концентраций специфических антител к хламидиям , микоплазмам и легионеллам в сыворотке крови применяется ИФА.
- Для поиска антигена в клиническом материале – ПЦР.



Диагностика атипичных пневмоний

- Иммунохроматографический метод :
поиск в моче антигена легионеллы
Экспресс-методика специфична только
для одного серотипа возбудителя, но с
ее помощью расшифровывается до
95% случаев легионеллеза.



Благодарю за внимание!

