

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Боронина Л.Г.^{1,2}, Саматова Е.В.²

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛАЗЕРНОГО СВЕТОРАСSEИВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра клинической лабораторной диагностики и бактериологии, 620028, Екатеринбург, Россия;

²ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», лаборатория клинической микробиологии, 620149, Екатеринбург, Россия

Результаты бактериологического исследования катетеров на анализаторе с технологией лазерного светорассеивания и культуральным методом по D. Maki 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); у 1 ребенка из вентрикулярного шунта и ликвора обнаружен Staphylococcus epidermidis (n=1) и у 1 ребенка 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).

Клиническое значение выделенных микроорганизмов из катетера необходимо оценивать в каждом конкретном случае с учетом его количества и вида выделенного микроорганизма.

Ключевые слова: катетер-ассоциированные инфекции; дети; технология лазерного светорассеивания.

Для цитирования: Боронина Л.Г., Саматова Е.В. Применение технологии лазерного светорассеивания для диагностики катетер-ассоциированных инфекций. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64(8): 503-506

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-503-506>

Boronina L.G.^{1,2}, Samatova E.V.²

APPLICATION OF LASER LIGHT SCATTERING TECHNIQUE TO DIAGNOSE CATHETER-ASSOCIATED INFECTIONS

¹Urals State Medical University, chair of clinical laboratory diagnostics and bacteriology, 620028, Ekaterinburg, Russian Federation;

²Regional Children's Clinical Hospital, clinical microbiology laboratory, 620149, Ekaterinburg, Russian Federation

The results of the bacteriological catheter investigation on the analyzer with the technology of laser light scattering and using D. Maki culture technique coincided in 91.8% of cases. Catheter-associated infections are proven in 8 cases. The following obtained from blood and intravascular catheter in 5 patients: Staphylococcus epidermidis (n=1), Staphylococcus haemolyticus (n=1), Escherichia coli (n=1), Staphylococcus aureus (n=2); Staphylococcus epidermidis (n=1) was detected in 1 child from ventricular shunt and cerebrospinal fluid and Escherichia coli lactose-negative + Staphylococcus haemolyticus were detected in 1 child from ventricular shunt, while only Escherichia coli lactose-negative was detected from cerebrospinal fluid; Pseudomonas aeruginosa (n=1) was found out in 1 patient from the urinary catheter and urine.

Clinical significance of the isolated microorganisms from the catheter must be assessed in each particular case taking into account its quantity and type of the isolated microorganism.

Key words: catheter-associated infections; children; laser light scattering technology.

For citation: Boronina L.G., Samatova E.V. Application of laser light scattering technique to diagnose catheter-associated infections. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64(8): 503-506. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-503-506>

For correspondence: Boronina Lyubov Grigorievna, Doctor of Medical Sciences, Professor of chair of clinical laboratory diagnostics and bacteriology; e-mail: boroninalg@mail.ru

Information about authors:

Boronina L.G., <http://orcid.org/0000-0003-0152-962X>

Samatova E.V., <http://orcid.org/0000-0003-3154-6201>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had sponsorship – firm Alifax, Moscow.

Received 17.06.2019
Accepted 25.07.2019

Введение. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи имеют место в любом стационаре, в том числе катетер-ассоциированные инфекции. По данным Всемирной организации здравоохранения среди

взрослых пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии в странах с высоким уровнем дохода, например, частота катетер-ассоциированных инфекций кровотока (КАИК) составляет 3,5 на 1000 катетеро-дней и для новорожденных 17,6 на 1000 катетеро-дней, в странах со средним и низким уровнем доходов данный показатель значительно выше — 12,2 на 1000 катетеро-дней [1]. В России 4,6 случаев у пациентов ОРИТ на 1000 дней катетеризации [2]. Примерно у 15% пациен-

Для корреспонденции: Боронина Любовь Григорьевна, д-р мед. наук, проф. каф. клин. лаб. диагностики и бактериологии; e-mail: boroninalg@mail.ru

тов после постановки центрального венозного катетера (ЦВК) развиваются осложнения: механические – 5-19%, инфекционные – 5-26%, тромботические – до 26%, которые требуют удаления катетера. В условиях нарастания инвазивности лечебно-диагностического процесса, распространения полирезистентных к антимикробным препаратам микроорганизмов манипуляция пункционной катетеризации сосудов сопряжена с риском развития инфекционных осложнений. 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 [1, 3]. КАИК занимает 3 место среди всех нозокомиальных инфекций (20%) [4]. При этом самым распространенным источником нозокомиальной инфекции являются мочевыводящие пути, особенно в случае их дренирования уретральным катетером. Катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей составляют, по меньшей мере, 80% всех осложненных инфекций мочевыводящих путей и остаются наиболее распространенным типом внутрибольничной инфекции [5]. Также к инфекциям, связанным с оказанием медицинской помощи можно отнести гнойный менингит, вентикулит 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.

Целью настоящего исследования является оценить возможность применения ускоренных методов диагностики катетер-ассоциированных инфекции у детей для получения быстрых, но при этом точных результатов посевов катетеров.

Материал и методы. С 6 марта по 6 ноября 2018 г. исследованы 197 проб катетеров от 197 ребенка преимущественно из реанимационных, хирургических и онкогематологических отделений ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница». Возраст детей от 3 дней до 16 лет, преимущественно с диагнозами: респираторный дистресс-синдром; внутриутробная инфекция, недоношенность; катетер-ассоциированная инфекция кровотока под вопросом; гемолитическая болезнь новорожденных; хирургические вмешательства по поводу атрезии пищевода; хроническая почечная недостаточность; пневмония; врожденный порок сердца; острый лейкоз; гидроцефалия; инфекция мочевыводящих путей. При подозрении на катетер-ассоциированные инфекции кровотока исследовали: пупочный, центральный венозный катетер (ЦВК), глубокую венозную линию, сосудистый катетер; при поэтапных шунтирующих операциях при гидроцефалии с подозрением на шунт-менингит – вентрикулярный шунт; при инфекциях мочевыводящих путей – мочевой катетер.

При соблюдении стерильности каждый катетер длиной не менее 5-6 см делился по палам. Посев одного из фрагментов осуществлялся классическим культуральным полуколичественным методом по D. Maki на кровяно-сывороточный агар (инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 72 ч) и погружением катетера в сахарный бульон для изучения его внутреннего канала, инкубация при +37°C в течение трех суток с ежедневным просмотром.

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 в специальные флаконы HB&L. 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 с технологией лазерного светорассеивания, время инкубации составляло 10 часов. 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, высеивали на кровяно-сывороточный агар и инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂ с последующей идентификацией выделенных микроорганизмов.

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

Посев спинномозговой жидкости (СМЖ) проводился, согласно методическим указаниям 4.2.1887-04 [6]. Чашки с шоколадным и кровяно-сывороточным агарами инкубировали при +37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 48 часов, 0,1% полужидкий сывороточный агар при +37°C в течение 5 суток с ежедневным просмотром. Мазки из СМЖ окрашивали по Граму.

Посев мочи осуществлялся на кровяной агар по методу Айзенберга [7].

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, США) и полуавтоматических: SENSITITRE (TREK Diagnostic Systems, США/Великобритания), ATB Expression (bioMerieux, Франция).

Результаты и обсуждение. В 156 (79,2%) пробах, исследованных как методом по D. Maki, так и с использованием полуавтоматического анализатора с технологией лазерного светорассеивания выявлена корреляция: анализатор – результат отрицательный (микроорганизм не обнаружен), культуральный метод – «рост микроорганизмов не обнаружен».

В 25 пробах (12,6%) выявлена корреляция с результатами культурального исследования по D. Maki (см. таблицу). Обнаружены как 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*,

Положительные результаты исследования катетеров методом лазерного светорассеивания

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

Staphylococcus hominis, *Staphylococcus haemolyticus* как в монокультуре, так и в ассоциации. Результат анализатора с технологией лазерного светорассеивания был от 1000 до 12.000.000 КОЕ/мл.

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 скорее о колонизации катетера.

16 проб (8,2%) отрицательные по результатам анализатора с технологией лазерного светорассеивания, а в культуральном методе положительные – выделялись преимущественно коагулазоотрицательные стафилококки в количестве менее 15 КОЕ/катетер, что свидетельствует о возможной контаминации.

В то же время выделение *Staphylococcus epidermidis* из интактной вены у недоношенных детей или детей с нарушениями иммунитета может играть этиологическую роль в развитии бактериемии и сепсиса [8].

Таким образом, результаты бактериологического исследования катетеров на анализаторе с технологией ла-

зерного светорассеивания и культуральным методом по D. Makі 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); у 1 ребенка из вентрикулярного шунта и ликвора обнаружен *Staphylococcus epidermidis* (n=1) и у 1 ребенка 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).

Считаются основными возбудителями КАИК микроорганизмы рода *Staphylococcus* – 43% (*Staphylococcus aureus* - 25%, коагулазоотрицательные стафилококки - 18%), *Enterobacteriaceae sp.* - 27%, *Acinetobacter spp.* - 13%, *Pseudomonas aeruginosa* - 9%, *Enterococcus spp.* - 3%, *Candida spp.* - 5% [1].

Ведущая роль в патогенезе катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей принадлежит собственной кишечной микрофлоре, тогда как среди фак-

торов риска развития наиболее значимым считается длительность катетеризации, при этом ежедневно колонизируется 5% пациентов находящихся в стационаре. В 15% случаев бактериурия может носить полимикробный характер. В случае кратковременной и интермиттирующей катетеризации проведение рутинной антибиотико-профилактики не требуется, в то время как при развитии клинически значимой инфекции пациентам должна быть назначена системная антибактериальная терапия, коррекция которой возможна только после бактериологического анализа мочи [5, 9].

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 по D. Маки 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 применение для оценки колонизации/инфекции связанной с катетером, шунтом.

Финансирование. Исследование имело спонсорскую поддержку – фирма *Alifax*, Москва.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Благодарим врачей-бактериологов лаборатории клинической микробиологии ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»: Блинову С.М., Кукушкину М.П., Панову С.А., Устюгову С.С., за оказанную помощь.

ЛИТЕРАТУРА (п. 7 см. REFERENCES)

1. 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». М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2017.
2. Бельский Д.В. Госпитальные инфекции в отделениях реанимации нейрохирургического профиля: распространённость, факторы риска и определение подходов к профилактике: Автореферат дисс. ...канд.мед.наук. Екатеринбург; 2012.
3. Квашнина Д.В., Ковалишена О.В., Белянина Н.А. Комплексная клиничко-этиологическая и эпидемиологическая характеристика катетер-ассоциированных инфекций кровотока. *Медицинский Альманах*. 2017; 49(4): 41-5.
4. Бережанский Б.В., Жевнерев А.А. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2006; 8(2): 130-44.

5. Васильев А.О., Говоров А.В., Ширяев А.А., Пушкаръ Д.Ю. Роль уретрального катетера в развитии катетер-ассоциированной инфекции мочевыводящих путей. *Журнал урологии*. 2017; 6:107-11.
6. Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов. Методические указания 4.2.1887 – 04. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2005.
8. 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.: ООО фирма «Юлис»; 2017: 228-9.
9. 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>. (Accessed 31 May 2019).

REFERENCES

1. Prevention of catheter-associated bloodstream infections and care of the central venous catheter (CVC): federal clinical guidelines. [Natsional'naja asociaciya specialistov po kontrolyu infektsiy, svyazannyh s okazaniem meditsinskoy pomoshchi. Mezhregional'naya obshchestvennaya organizatsiya «Obshchestvo vrachey i meditsinskih sester «Sepsis Forum»]. Moscow: Ministerstvo zdравоохранeniya Rossiyskoy Federatsii; 2017. (in Russian)
2. Bel'skiy D.V. Hospital infections in the neurosurgical resuscitation units: prevalence, risk factors and determination of approaches to prevention. Diss.... Ekaterinburg; 2012. (in Russian)
3. Kvashnina D.V., Kovalishena O.V., Beljanina N.A. Comprehensive clinical, etiological and epidemiological characteristics of catheter-associated bloodstream infections. *Meditsinskiy Al'manakh*. 2017; 49(4): 41-5. (in Russian)
4. Berezhanskiy B.V., Zhevnerov A.A. Catheter-associated bloodstream infections. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2006; 8(2): 130-44. (in Russian)
5. Vasil'ev A.O., Govorov A.V., Shirjaev A.A., Pushkar' D.Ju. The role of a urethral catheter in the development of a catheter-associated urinary tract infection. *Zhurnal urologiya*. 2017; 6:107-11. (in Russian)
6. Laboratory diagnosis of meningococcal infection and purulent bacterial meningitis. Methodical instructions 4.2.1887 – 04. Moscow: Federal'nyj tsentr gigiyeny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2005. (in Russian)
7. Essential procedures for clinical microbiology. Isenberg H.D., ed. Washington, D.C.: ASM PRESS; 1998.
8. Boronina L.G., Goncharov A.E., Samatova E.V. MLVA-typing of nosocomial isolates of epidermal staphylococcus. *Materialy IX Vserossiyskoynauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Molekulyarnaya diagnostika 2017»*. Moscow: ООО firma «Julis»; 2017: 228-9. (in Russian)
9. Recommendations for the management of patients with infections of the kidneys, urinary tract and male genital organs (European Association of Urology, 2008). Available: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17>. (Accessed 31 May 2019). (in Russian)

Поступила 17.06.19

Принята к печати 25.07.19