

Протокол микробиологического исследования спинномозговой жидкости и других биоматериалов при инфекциях ЦНС



Жилина Светлана Владимировна

КДЛ ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»

VII Российский конгресс лабораторной медицины

Москва

19.10.2021

Это мы уже знаем и умеем

Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клиничко-диагностических лабораториях

Перечень унифицированных микробиологических методов исследования

1. Микробиологические методы исследования биологического материала.
 - 1.1. Микробиологические методы исследования крови.
 - 1.2. Микробиологические методы исследования спинномозговой жидкости.

 - 1.3. Микробиологические методы исследования желчи.
 - 1.4. Микробиологические методы исследования мочи.
 - 1.5. Микробиологические методы исследования отделяемого дыхательных путей.
 - 1.6. Микробиологические методы исследования открытых инфицированных ран.
 - 1.7. Микробиологические методы исследования отделяемого глаз.
 - 1.8. Микробиологические методы исследования отделяемого ушей.
 - 1.9. Микробиологические методы исследования отделяемого женских половых органов.
 - 1.10. Микробиологические методы исследования материалов при аутопсии.
2. Микробиологические методы идентификации микроорганизмов различных родов.

* Идентификация проводится с применением бактериальных препаратов в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1887—04

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов

Методические указания
МУК 4.2.1887—04

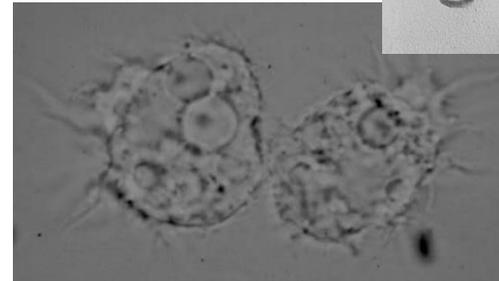
Это мы уже знаем и умеем

- ✓ СМЖ исследуют при первичном и вторичном менингите
- ✓ Первичный менингит у разных возрастных категорий имеет особенности
- ✓ При внебольничных менингитах предполагаем найти *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus (gp. B, D)*, *Listeria monocitogenes*, реже *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Mycobacterium tuberculosis*
- ✓ Этиологическими агентами при вторичном менингите после ЧМТ или нейрохирургической операции чаще всего являются *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*

В тексте МУК 2004 г. есть абзац: «...клиническая и лабораторная дифференциальная диагностика синдрома менингита должна включать и учитывать большой спектр заболеваний, таких как туберкулезный менингит, малярия, ряд энцефалитов, способных давать похожую на бактериальный менингит клиническую картину...»

Что мы упускаем?

- Патогенные грибы: у новорожденных – *Candida spp*, *Malassezia spp*, у взрослых иммунокомпроментированных – *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus species*, *Coccidioides immitis*
- Спирохеты: *Treponema pallidum*, *Borrelia*, *Leptospira*
- Простейшие: *Acanthamoeba spp*, *Naegleria spp*
- Нематоды: *Angiostrongilus cantonensis*
- Вирусы: *Enteroviruses* (не полиовирусы), *Parechoviruses*, *Herpes simplex virus*, *Varicella zoster virus*, Лимфоцитарный хориоменингит (*Lymphocytic choriomeningitis virus, LCM*), Вирус эпидемического паротита (*Mumps virus*), Вирус иммунодефицита человека (*HIV*)



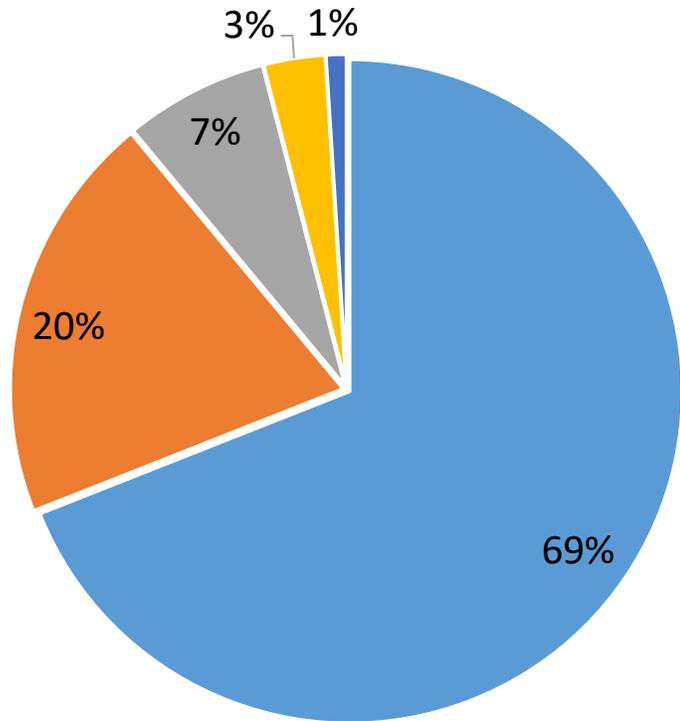
Нет официальных методических документов для диагностики этиологии:



- Энцефалитов
- Фокальных инфекций вещества головного мозга, абсцессов
- Субдуральной эмпиемы, эпидурального абсцесса и гнойного внутричерепного тромбофлебита
- Инфекций ЦНС, связанных с инвазивными устройствами (шунт-инфекции)

Энцефалиты: этиология

■ Вирусы ■ Бактерии ■ Прионы
■ Паразиты ■ Грибы



при обследовании 1570 иммунокомпетентных пациентов нашли этиологический агент только у 16%

California Encephalitis Project (IDSA) 1998 – 2005 г.г.

Вирус простого герпеса (HSV)
 Энтеровирусы
 (не полиовирусы)
 Парэховирусы
 Вирус лихорадки Западного Нила
 Другие арбовирусы
 Вирус ветряной оспы
 Вирус Эпштейна-Барр
 Цитомегаловирус
 Вирусы герпеса человека 6 типа
 Полиомавирус человека 2
 Вирус эпидемического паротита
 Вирус кори
 Вирус гриппа
 Аденовирус
 Вирус бешенства
 Лимфоцитарный хориоменингит

Mycobacterium tuberculosis
Bartonella spp
Mycoplasma pneumoniae
Tropheryma whipplei
Listeria monocytogenes
Coxiella burnetii
Rickettsia rickettsia
(Rocky Mountain spotted fever, RMSF)
R. typhi
Ehrlichia chaffeensis, Anaplasma phagocytophilum
 Другие: *B. burgdorferi,*
T. pallidum, Leptospira Spp
Cryptococcus neoformans
Cryptococcus gattii
Coccidioides species
Acanthamoeba spp

Фокальные инфекции вещества головного мозга: ЭТИОЛОГИЯ

Аэробы и факультативные анаэробы:

- *Streptococcus*,
- *Staphylococcus*,
- *Enterobacterales*
- *Pseudomonas*,
- *Haemophilus*,
- *Listeria spp*

Анаэробы (14 сут)

- *Bacteroides*,
- *Fusobacterium*,
- *Prevotella*, *Actinomyces*,
- *Clostridium*,
- *Propionibacterium spp*

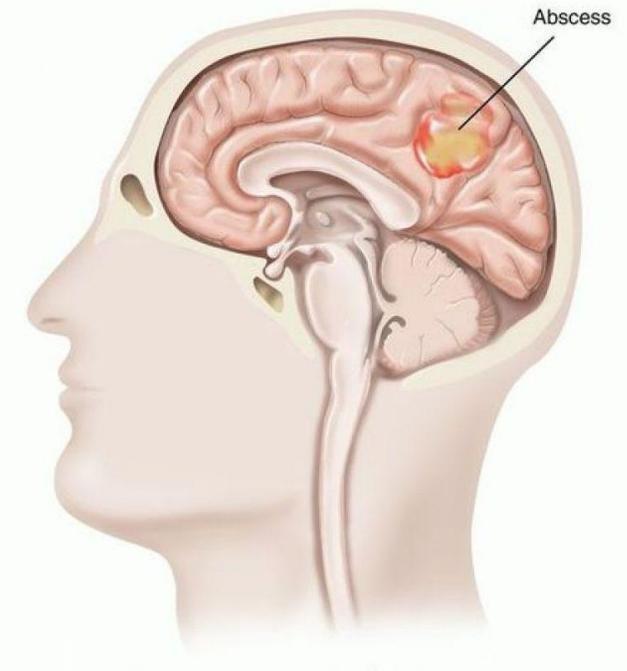
Требовательные

- *Nocardia spp* (7 сут, спец. среды)

Грибы (в т.ч. люм микроскопия)

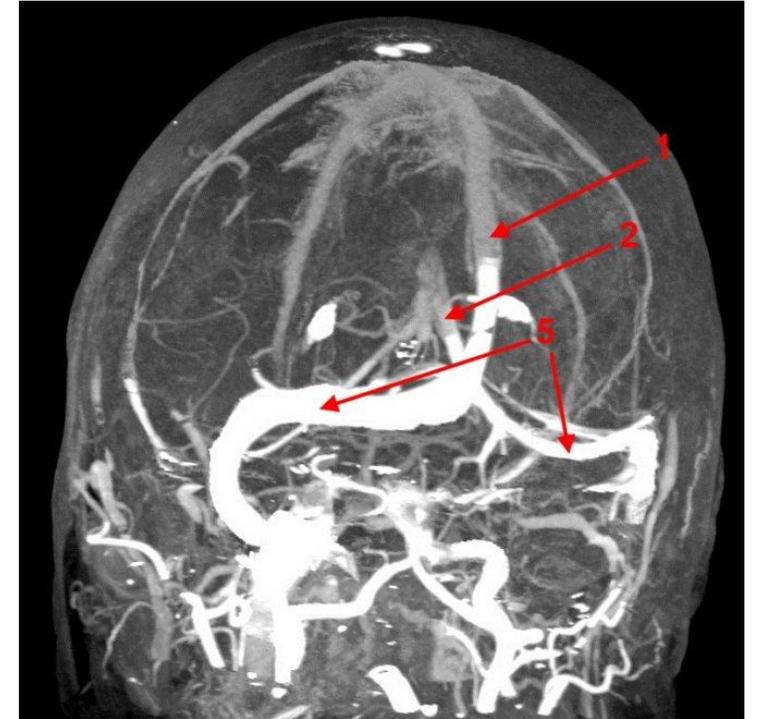
- *Candida spp*
- *Cryptococcus spp*
- *Aspergillus spp*
- *Zygomycetes (Rhizopus*,
- *Mucor sp)*
- *Zygomycetes (Rhizopus*,
- *Mucor sp)*
- *Trichosporon spp*
- *Trichoderma spp*
- *Dematiaceous moulds*
- (*Cladophialophora*
- *bantiana*, *Vipolaris spp*,
- *Exophiala spp*
- Эндемичные диморфные грибы

- Свиной цепень (*Taenia solium*, нейроцистицеркоз)
- *Acanthamoeba spp*
- *Toxoplasma gondii*



Субдуральная эмпиема, эпидуральный абсцесс, гнойный внутричерепной тромбоз: этиология

- *Streptococcus*
- *Enterococcus*
- *Staphylococcus*
- *Enterobacterales*
- *Haemophilus*
- *Pseudomonas*
- *Peptostreptococcus*
- *Veilonella*
- *Bacteroides*
- *Fusobacterium*
- *Prevotella spp*
- *Propionibacterium acnes*
- *Nocardia spp*
- *Mycobacterium spp*
- *Candida spp* другие грибы

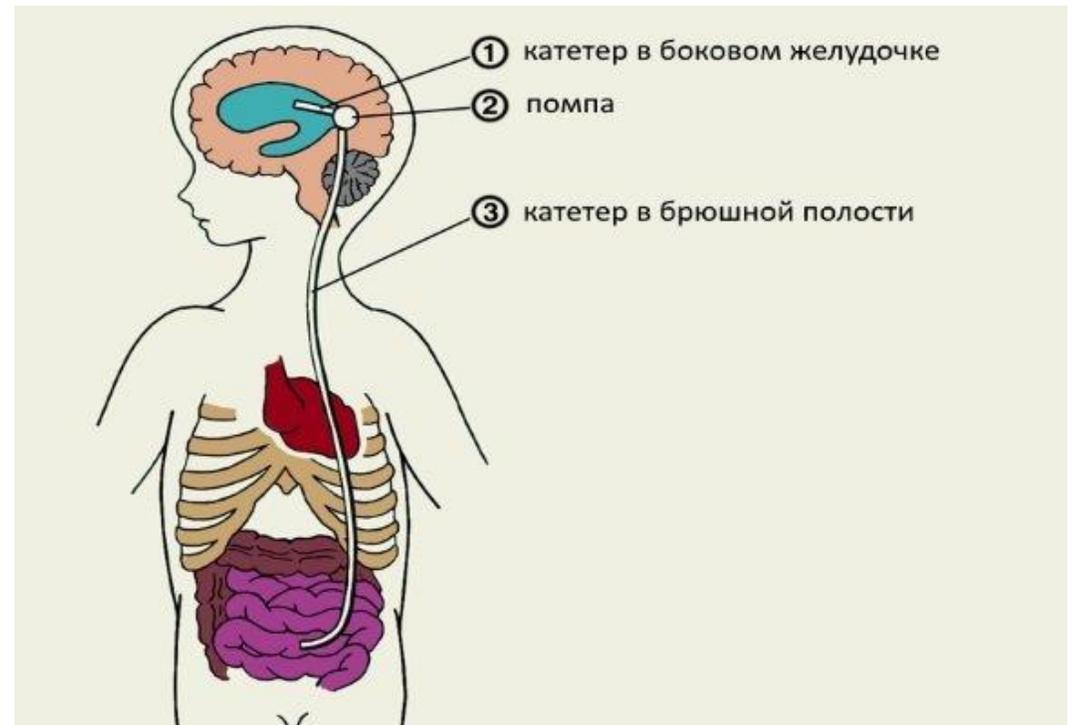


Шунт-инфекции: ЭТИОЛОГИЯ

- Коагулаза-негативные стафилококки
 - *Staphylococcus aureus*
-
- *Enterobacterales*
 - *Propionibacterium species* - 10% (инкубация до 14 дней!)
 - Коринеформы
 - *Enterococcus*
 - *Pseudomonas*
 - *Streptococcus*
 - Грибы
 - *Mycobacterium species*

} 60-85%

Проблема с формированием биопленок



Диагностика инфекций ЦНС требует комплексного подхода

- Определить количество и состав клеток
- Определить количество и состав лейкоцитов
- Выполнить микроскопическое исследование мазка, окрашенного по Граму
- Выполнить посев
- Определить уровень глюкозы и белка
- Выполнить тесты на основе ПЦР
- Выполнить антигенные тесты, в т.ч., латексный антигенный тест
(невысокая чувствительность, не выполняют при низком цитозе, отрицательный тест не является достоверным свидетельством отсутствия инфекции!)

Отбор и транспортировка проб

МУК 4.2.1887 – 04:

- 1,0 мл для ликворологического и цитологического исследования;
- 0,2 мл для пцр;
- 1,0 мл для первичного бактериологического посева

или

0,5 мл засевают в чашку с «шоколадным» агаром и 0,5 мл ликвора засевают в среду обогащения (в 5,0 мл 0,1 %-го полужидкого питательного агара) хранят при 37 °С до доставки в лабораторию

Приказ 535 МЗ РФ:

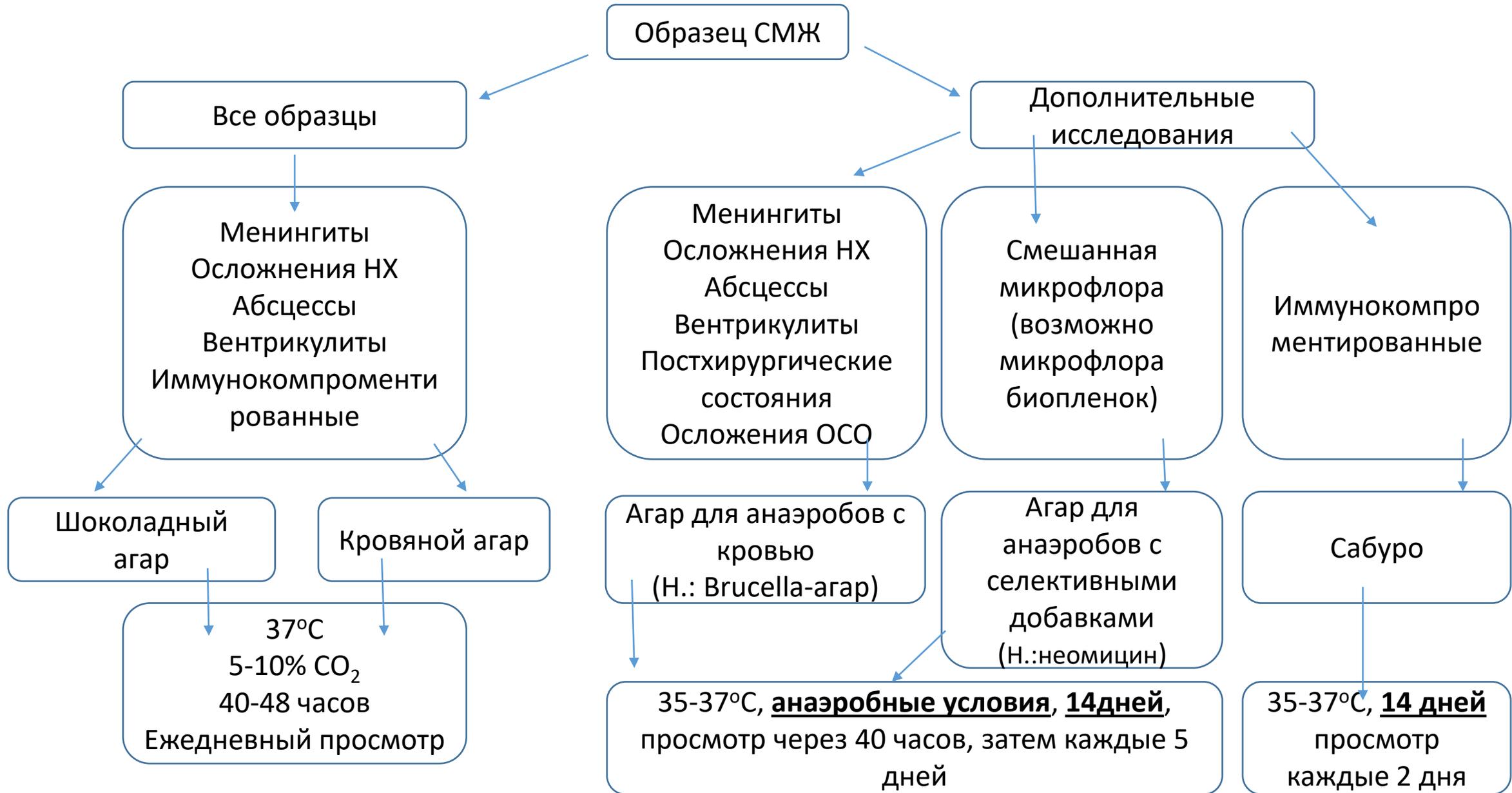
Только для посева - «...свежевзятый ликвор из шприца без иглы над спиртовкой вносят в стерильную, желательнo центрифужную пробирку в количестве 1-2 мл...» доставка немедленно или отсроченная до 2 часов при хранении при 37 °С до доставки в лабораторию

ВВ! Поле получения СМЖ немедленная доставка в лабораторию обеспечит правильное определение состава клеток и жизнеспособность микроорганизмов.

Использование автоматизированных систем для гемокультур и БЖЧ при исследовании СМЖ

PRO	CONTRA
<ol style="list-style-type: none"><li data-bbox="191 415 1065 515">1. Посев выполняется сразу после получения СМЖ<li data-bbox="191 582 1200 686">2. Выполнить посев можно вне рабочих часов лаборатории<li data-bbox="191 753 1212 858">3. Стандартизованный питательный бульон во флаконе для гемокультуры<li data-bbox="191 925 1207 1029">4. Можно выбрать специализированный бульон для анаэробов или грибов	<ol style="list-style-type: none"><li data-bbox="1289 415 2313 743">1. Для прихотливых микробов лучшим выбором будет помещение флакона в термостат, но преинкубация может помешать впоследствии в приборе определить наличие положительной пробы<li data-bbox="1289 753 2270 1086">2. Многие бульоны содержат полианетолсульфонат для нейтрализации естественных бактерицидных свойств крови. Этот компонент может подавлять роста нейссерий и гемофил<li data-bbox="1289 1096 2339 1310">3. Нет возможности выполнить микроскопическое исследование и антигенные тесты, включая латексный тест

Предлагаемая блок-схема исследования СМЖ





РОССИЙСКИЙ
ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ
САММИТ

19-21 октября 2021

Крокус Экспо, павильон 1



РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС
ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА
“ДИАГНОПОЛИС”

ОРГАНИЗАТОР



Благодарю за внимание!

Жилина Светлана Владимировна,

к. м. н., руководитель группы микробиологических исследований КДЛ

ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»

svzhilin@mail.ru

Москва

19.10.2021