

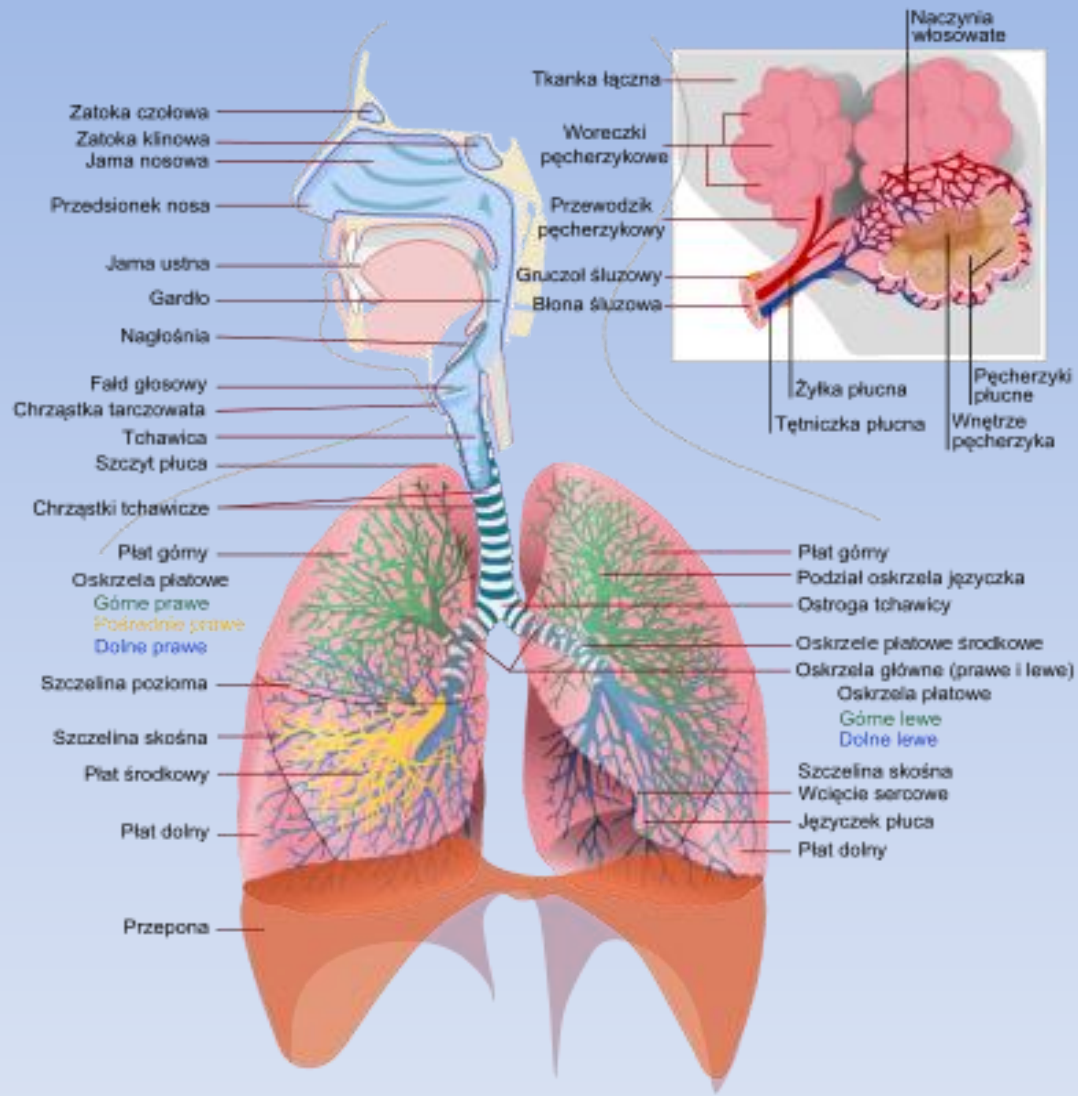
Diagnostyka mikrobiologiczna swoistych i nieswoistych zakażeń układu oddechowego

Paweł Gruszczyński

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej WCPiT

I Zjazd Polskiego Towarzystwa Pneumonologii
Dziecięcej

Poznań, 22-23 kwietnia.2016 r.



CHOROBY DRÓG ODDECHOWYCH

- GÓRNYCH

- ZAPALENIE GARDŁA I/LUB MIGDAŁKÓW

- ZAPALENIE UCHA ŚRODKOWEGO

- ZAPALENIE JAM NOSOWYCH I ZATOK PRZYNOSOWYCH

- DOLNYCH

- ZAPALENIE OSKRZELI I OSKRZELIKÓW

- ZAPALENIE PŁUC

IDENTYFIKACJA ETIOLOGII ZAKAŻENIA

ZAKAŻENIE	BADANIA MIKROBIOLOGICZNE
ostre zapalenie gardła	zawsze, gdy podejrzewana jest etiologia bakteryjna
ostre zapalenie jam nosowych i zatok przynosowych	nie jest zalecane jako badanie rutynowe
ostre zapalenie ucha środkowego	nie jest zalecane jako badanie rutynowe
ostre zapalenie oskrzeli lub oskrzelików	nie jest zalecane jako badanie rutynowe
zapalenie płuc	nie jest zalecane rutynowo, a jedynie, gdy stan pacjenta jest bardzo ciężki lub etiologia może odbiegać od typowej

ETIOLOGIA ZAKAŻEŃ DRÓG ODDECHOWYCH U DZIECI

GRUPA WIEKOWA	CZYNNIK ETIOLOGICZNY
1 – 21 DNI	pacjorkowce z grupy B, bakterie z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> , rzadziej: <i>Listeria monocytogenes</i> , wirusy (CMV, różyczka, HSV, enterowirusy)
3 TYGODNIE – 3 MIESIĄCE	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Bordetella pertussis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , wirusy (RSV, hMPV, grypy, paragrypy, adenowirusy)
4 MIESIĄCE – 4 LATA	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , rzadziej: <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
POWYŻEJ 5 LAT	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , wirusy (grypy, paragrypy, adenowirusy, RSV, rinowirusy, koronawirusy)

Wynik dodatni zawsze oznacza obecność zakażenia w przypadku stwierdzenia u pacjenta następujących drobnoustrojów:

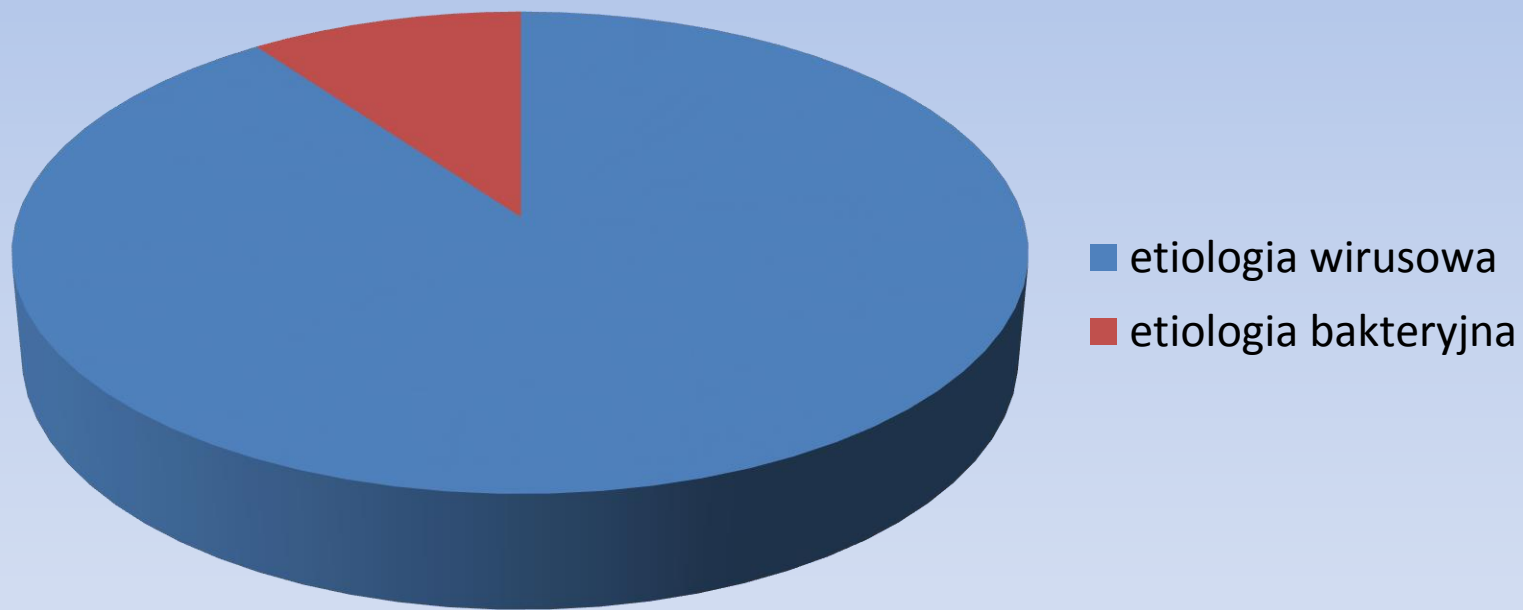
- *Legionella pneumophila*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Cryptococcus neoformans*
- wirus grypy
- RSV

KOLONIZACJA DRÓG ODDECHOWYCH

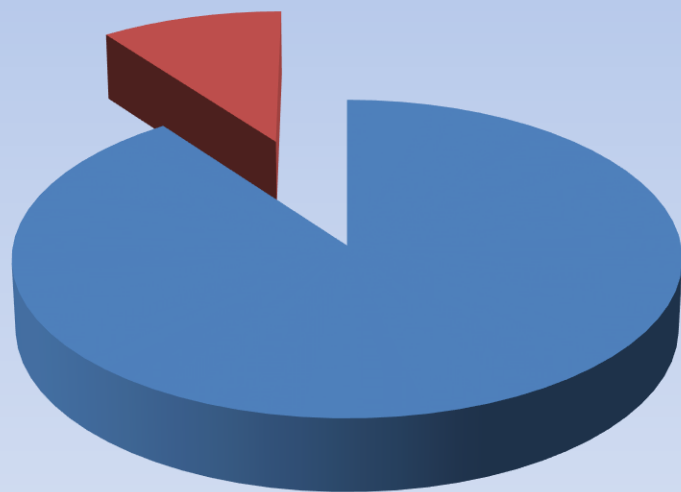
- *Streptococcus pyogenes* >10%
- *Streptococcus pneumoniae* do 70%
- *Haemophilus influenzae* do 70%
- *Moraxella catarrhalis* do 50%
- *Staphylococcus aureus* 25-50%
- pałeczki Gram(-) z rodziny *Enterobacteriaceae*
oraz Gram(-) pałeczki niefermentujące ???

Efekt Pollyanny, zwany również **regułą Pollyanny** (*Pollyanna principle*) to tendencja do myślenia o rzeczach przyjemnych i poszukiwania pozytywnych aspektów/cech w każdej sytuacji/osobie przy jednoczesnym ignorowaniu aspektów przykrych lub nieprzyjemnych.

OSTRE ZAPALENIE GARDŁA



OSTRE ZAPALENIE GARDŁA

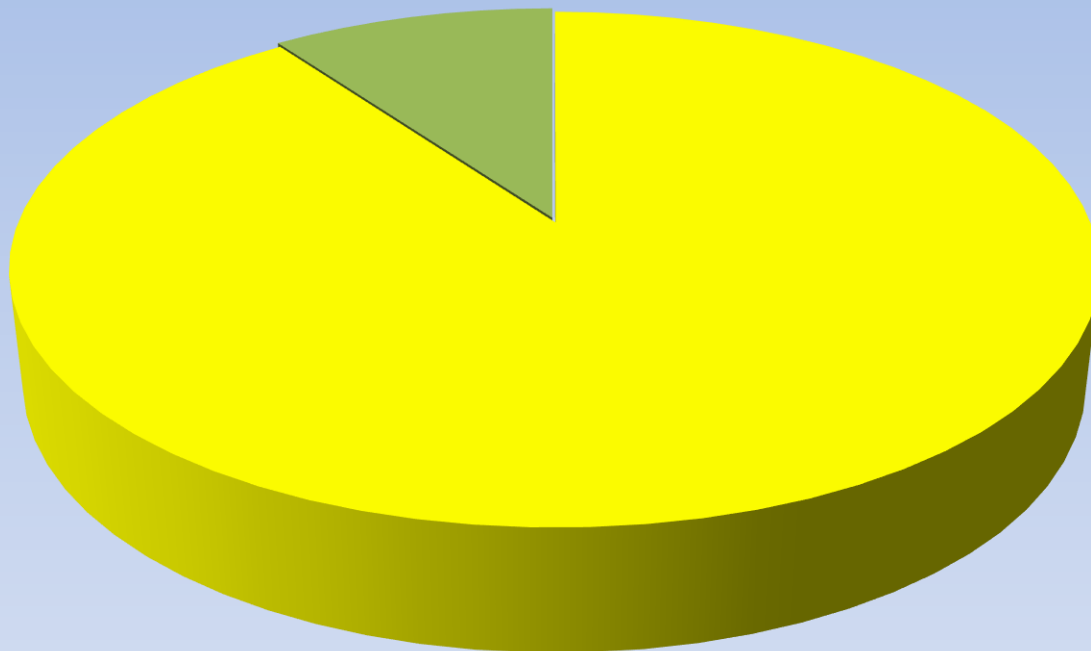
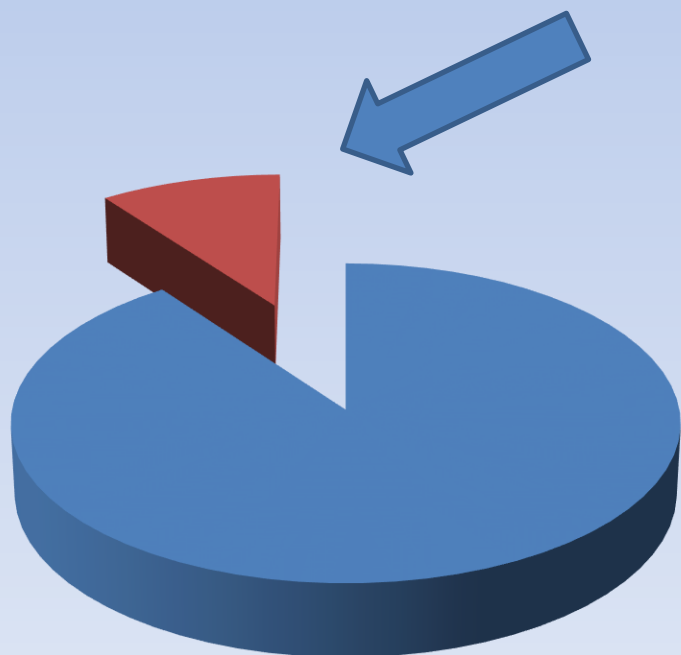


- etiologia wirusowa
- etiologia bakteryjna

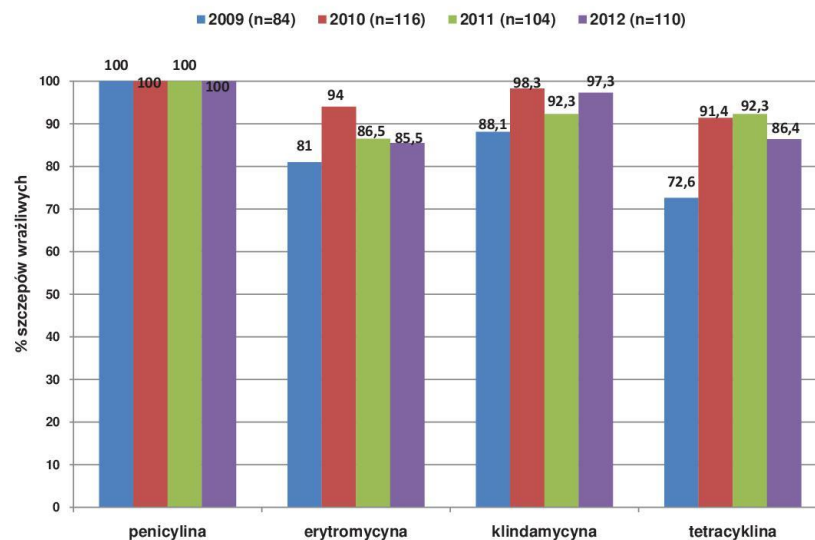
OSTRE ZAPALENIE GARDŁA

■ etiologia *S. pyogenes*

■ inna etiologia bakteryjna



Wrażliwość szczepów *Streptococcus pyogenes* na wybrane leki przeciwbakteryjne, 2009-2012



Wieloośrodkowe badanie wrażliwości na leki bakterii wywołujących zakażenia dróg oddechowych w środowisku pozaszpitalnym 2009-2012

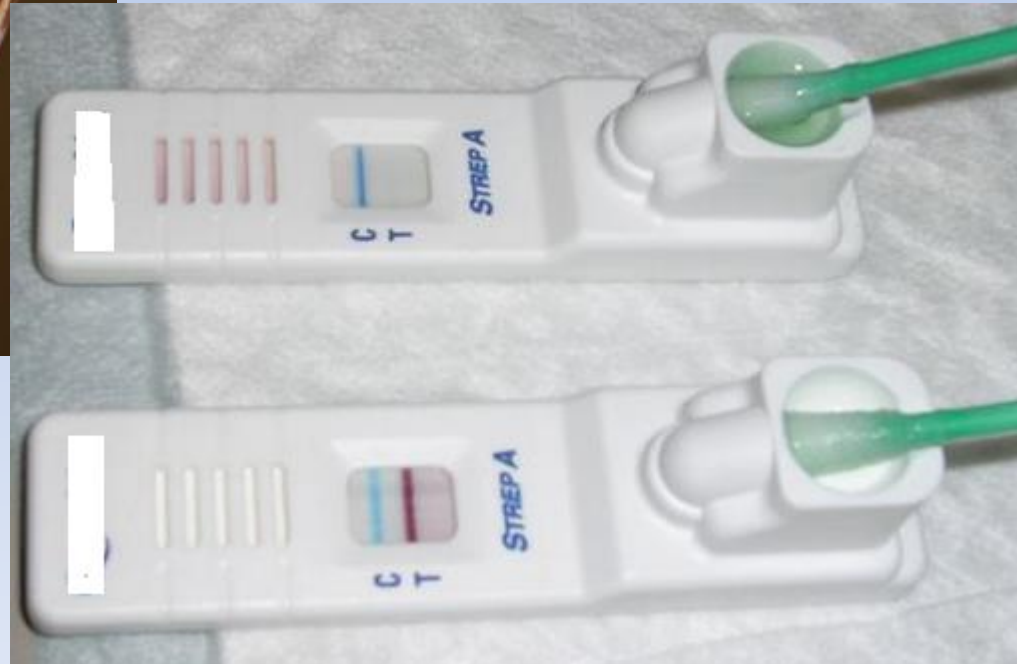
(dawny Projekt Alexander)

Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej
Narodowy Instytut Leków

DIAGNOSTYKA MIKROBIOLOGICZNA OSTREGO ZAPALENIE GARDŁA



POSIEW WYMAZU Z GARDŁA



WYKRYWANIE ANTYGENU

OSTRE ZAPALENIE JAM NOSOWYCH I ZATOK PRZYNOSOWYCH

Wymaz z nosa

Tekst: K [redacted] P [redacted]

 Drukuj  Wyślij znajomym  Udostępnij



Dodane: 14. października, 2014



Wymaz z nosa to badanie, które ma na celu określenie jaki rodzaj patogenów odpowiada za zakażenie górnych dróg oddechowych i jest przyczyną uciążliwych objawów takich jak np. katar. Badanie pozwala określić jaki rodzaj bakterii jest przyczyną objawów choroby i dobrać odpowiednie leczenie. Wymaz z nosa jest badaniem bezbolesnym. Nie wykonuje się go rutynowo.

[fotostock.com](http://www.fotostock.com)

OSTRE ZAPALENIE JAM NOSOWYCH I ZATOK PRZYNOSOWYCH

- WYMAZ Z NOSA NIE JEST MATERIAŁEM DIAGNOSTYCZNYM W ROZPOZNANIU ZAPALENIA JAM NOSOWYCH I ZATOK PRZYNOSOWYCH.
- JEŚLI BADANIE MIKROBIOLOGICZNE NIEZBĘDNE – TYLKO POSIEW MATERIAŁU Z PUNKCJI ZATOK

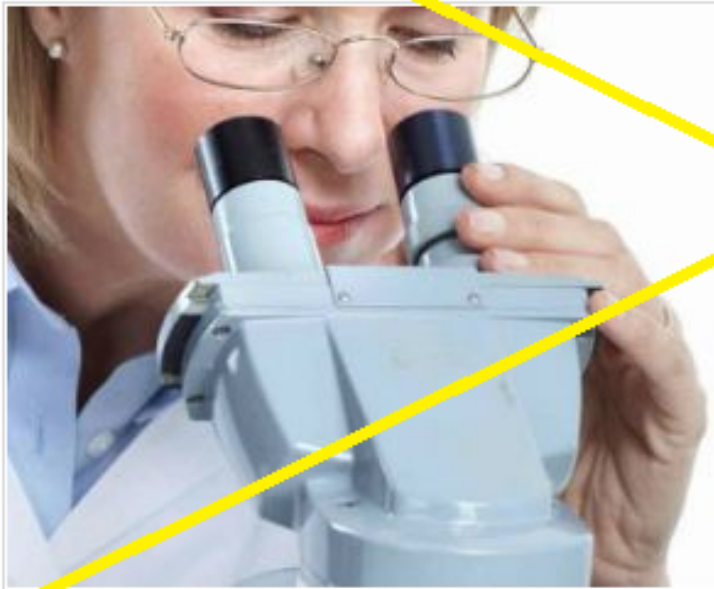
OSTRE ZAPALENIE JAM NOSOWYCH I ZATOK PRZYNOSOWYCH

Wymaz z nosa

Tekst: K [redacted] P [redacted]

 Drukuj  Wyślij znajomym  Udostępnij

Dodane: 14. października, 2014



Wymaz z nosa to badanie, które ma na celu określenie jaki rodzaj patogenów odpowiada za zapalenie górnych dróg oddechowych i jest przyczyną ciężkich objawów takich jak np. katar. Badanie pozwala określić jaki rodzaj bakterii jest przyczyną objawów choroby i dobrać odpowiednie leczenie. Wymaz z nosa jest badaniem bezbolesnym. Nie wykonuje się go rutynowo.

Źródło: Fotolia.com

OSTRE ZAPALENIE UCHA ŚRODKOWEGO

- WYMAZ Z PRZEWODU SŁUCHOWEGO ZEWNĘTRZNEGO NIE JEST MATERIAŁEM DIAGNOSTYCZNYM W ROZPOZNANIU OSTREGO ZAPALENIA UCHA ŚRODKOWEGO
- JEŚLI BADANIE MIKROBIOLOGICZNE NIEZBĘDNE – TYLKO POSIEW WYSIĘKU Z UCHA POBRANY PODCZAS PARACENTEZY

ETIOLOGIA ZAPALENIA JAM NOSOWYCH I ZATOK PRZYNOSOWYCH ORAZ ZAPALENIA UCHA ŚRODKOWEGO

- wirusy
- *Haemophilus influenzae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Moraxella catarrhalis*

OSTRE ZAPALENIE OSKRZELI I OSKRZELIKÓW

- W OSTRYM ZAPALENIU OSKRZELI RUTYNOWE WYKONYWANIE BADAŃ DODATKOWYCH NIE JEST UZASADNIONE
- W OSTRYM ZAPALENIU OSKRZELIKÓW U DZIECI LECZONYCH AMBULATORYJNIE, RUTYNOWE WYKONYWANIE BADAŃ RADIOLOGICZNYCH, BIOCHEMICZNYCH I MIKROBIOLOGICZNYCH NIE JEST UZASADNIONE.

ALE...

- WYKONYWANIE BADANIA W KIERUNKU WIRUSA RS MOŻNA ROZWAŻAĆ W CELU WDRAŻANIA IZOLACJI LUB KOHORTACJI PACJENTÓW W WARUNKACH SZPITALNYCH

ETIOLOGIA OSTREGO ZAPALENIA OSKRZELI U DZIECI

- wirusy oddechowe – 90%
- *Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae* - 10%
- nie ma dowodów na udział *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* w etiologii OZO

POZASZPITALNE ZAPALENIE PŁUC U DZIECI – DIAGNOSTYKA MIKROBIOLOGICZNA

- posiew krwi

- badanie przeprowadzone w ZDM WCPiT
- w ciągu roku przebadano 1375 dzieci w wieku 0 – 5 lat
- wynik dodatni uzyskano u 9 dzieci
 - *Streptococcus pneumoniae* – 6
 - *Haemophilus influenzae* – 2
 - *Neisseria meningitidis* – 1
- w 128 przypadkach zanieczyszczenie szczepami gronkowców koagulazo-ujemnych

POZASZPITALNE ZAPALENIE PŁUC U DZIECI – DIAGNOSTYKA MIKROBIOLOGICZNA

- posiew krwi
- posiew plwociny

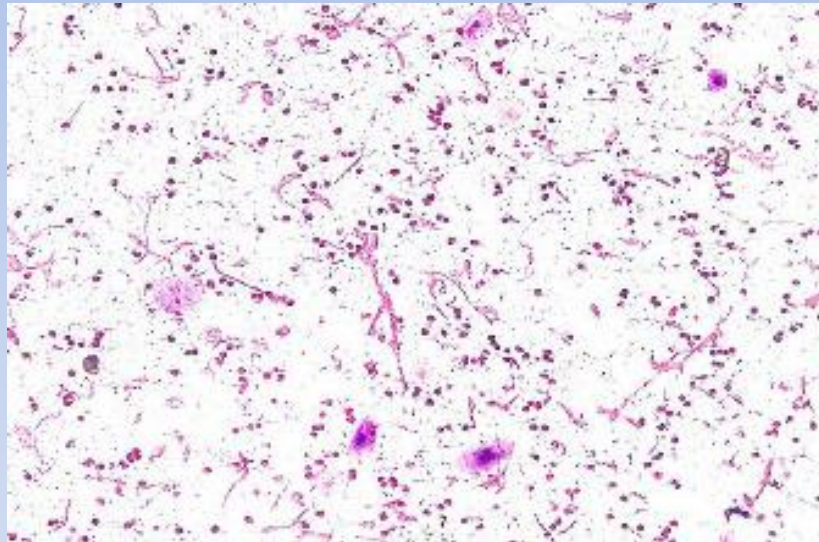
KRYTERIUM CYTOLOGICZNE WYDZIELINY Z DDO

- >25 LEUKOCYTÓW
- <10 KOMÓREK NABŁONKA

W POLU WIDZENIA PRZY POWIĘKSZENIU 100x

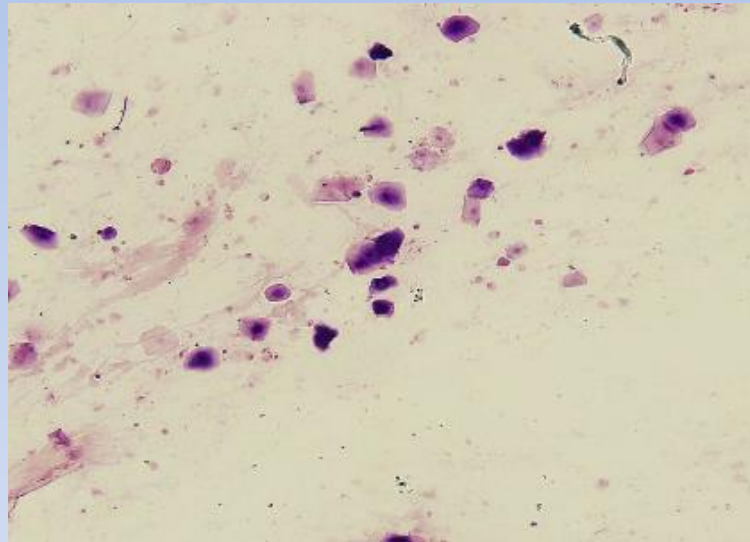
Materiał diagnostyczny

(preparat bezpośredni z płwociny, pow. 100x)



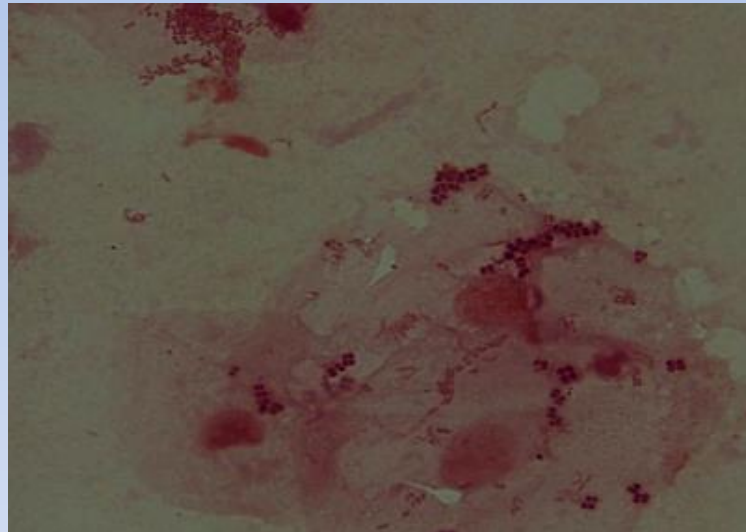
Materiał niediagnostyczny

(preparat bezpośredni z płwociny, pow. 100x)



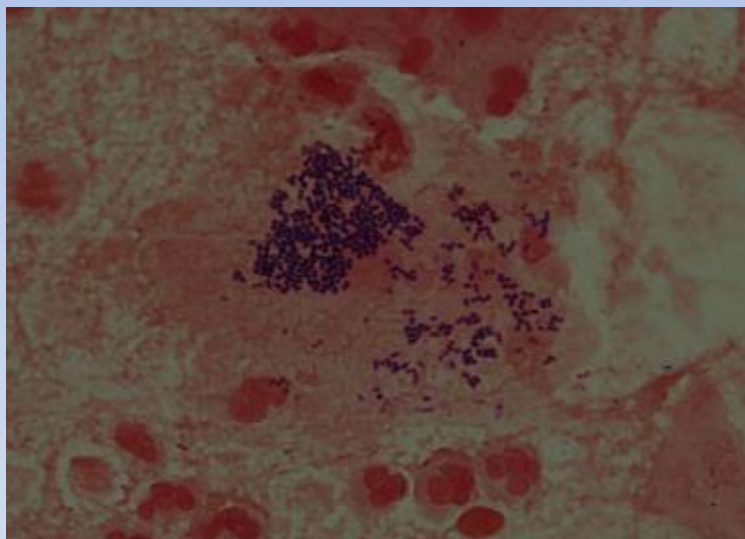
Materiał diagnostyczny pałeczki Gram ujemne

(preparat bezpośredni z plwociny, pow. 1000x)



Materiał diagnostyczny ziarniaki Gram dodatnie

(preparat bezpośredni z płwociny, pow. 1000x)



POZASZPITALNE ZAPALENIE PŁUC U DZIECI – DIAGNOSTYKA MIKROBIOLOGICZNA

- krew
- plwocina
- płyn z jamy opłucnej

POZASZPITALNE ZAPALENIE PŁUC U DZIECI – DIAGNOSTYKA MIKROBIOLOGICZNA

- krew
- plwocina
- płyn z jamy opłucnej
- mocz

TESTY DO WYKRYWANIA ANTYGENÓW BAKTERYJNYCH W MOCZU

- *Legionella pneumophila* (sg. 1 lub 1 i 7)
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Mycobacterium tuberculosis* (LAM test)

POZASZPITALNE ZAPALENIE PŁUC U DZIECI – DIAGNOSTYKA MIKROBIOLOGICZNA

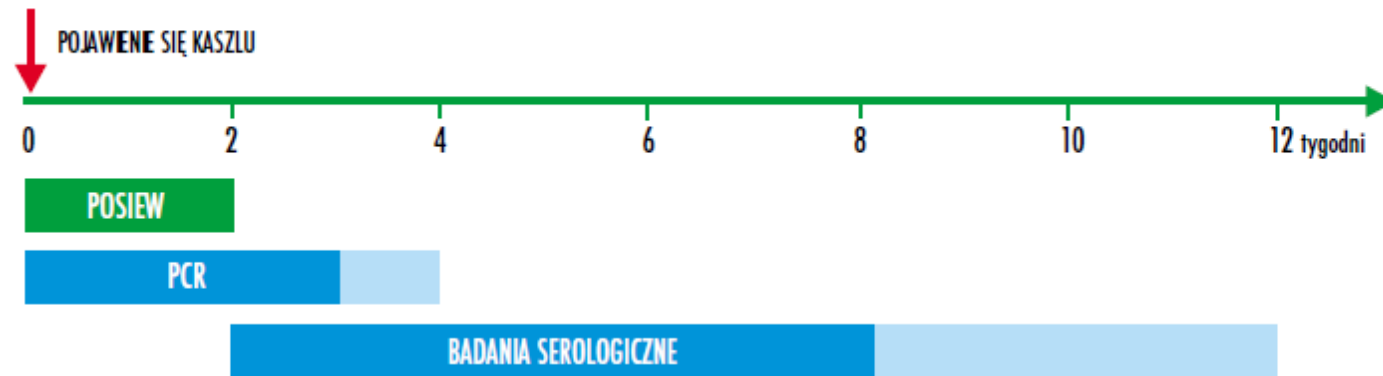
- krew
- plwocina
- płyn z jamy opłucnej
- mocz
- wymaz z gardła

Wymaz z gardła jako materiał w diagnostyce zakażeń DDO

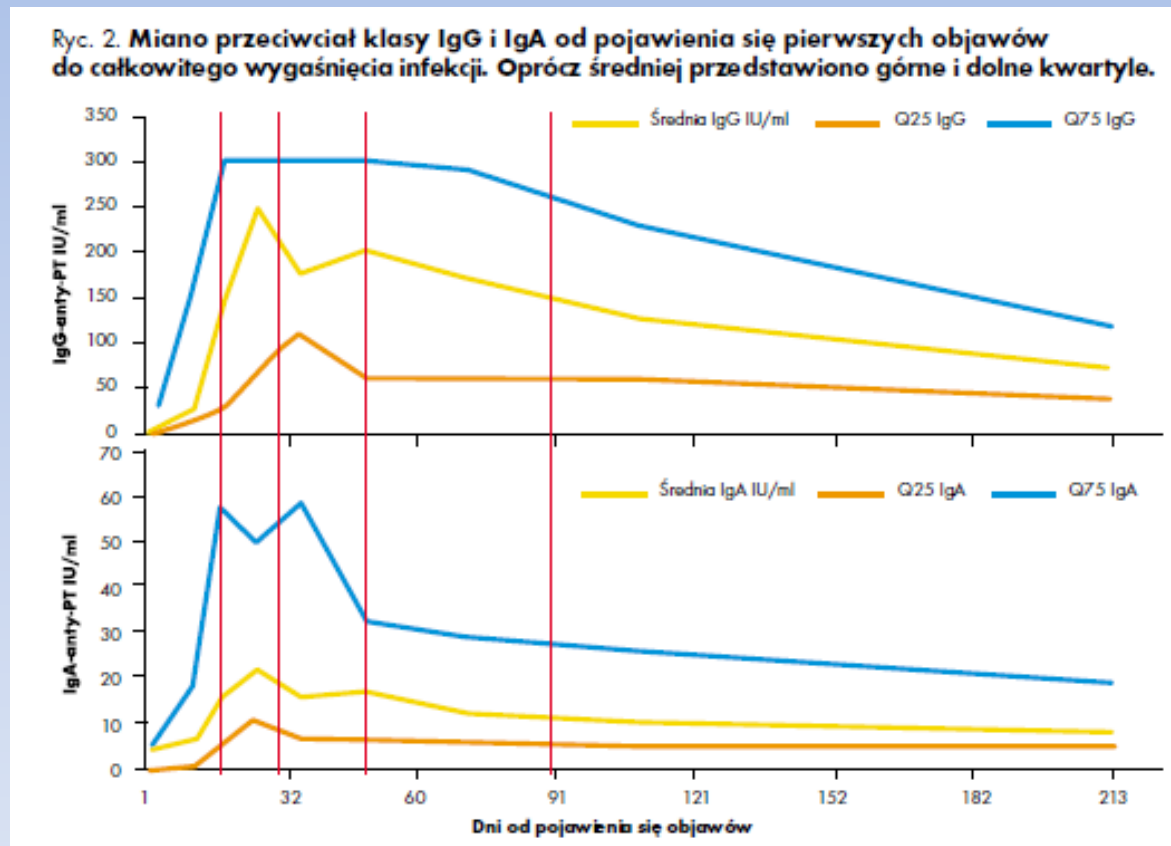
- Diagnostyka molekularna
- Szybkie testy immunochromatograficzne
- wirusy (RSV, grypy, paragrypy, adeno)

DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ SWOISTYCH – KRZTUSIEC

Ryc. 1. Ramy czasowe wykonywania badań w kierunku *Bordetella pertussis*



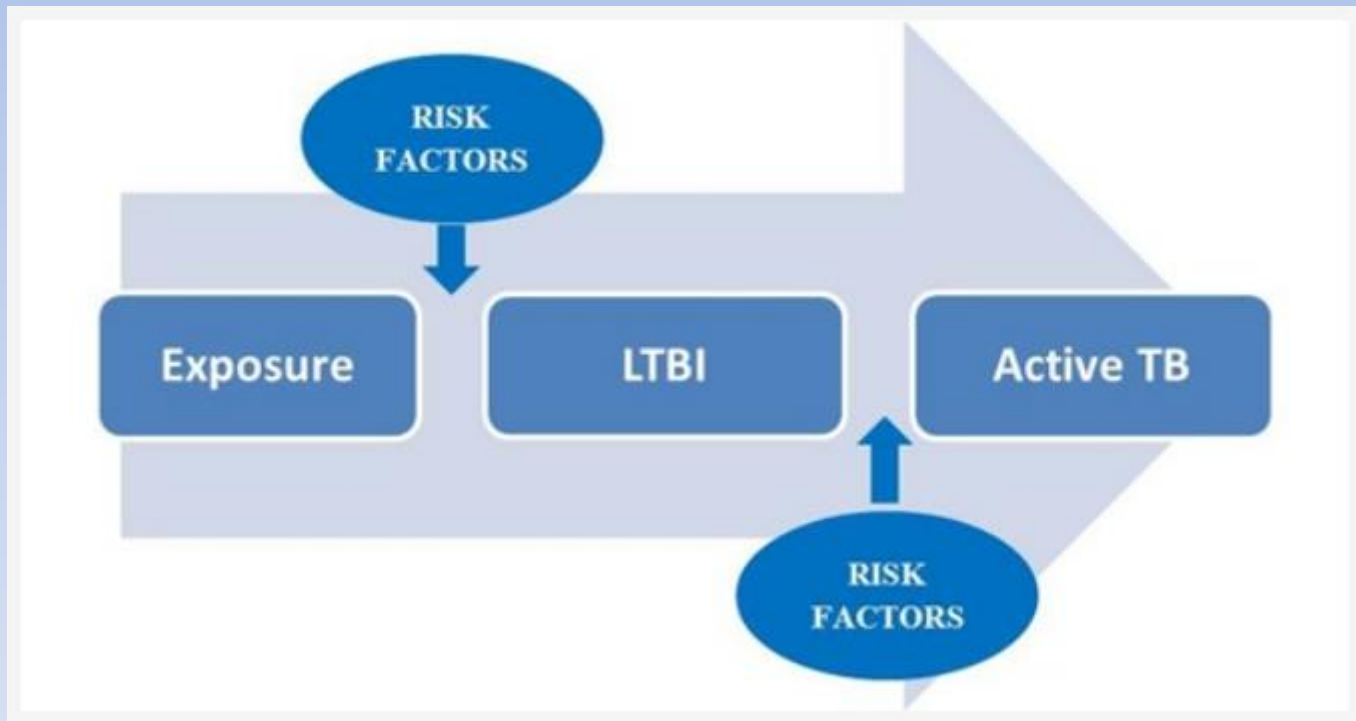
DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ SWOISTYCH – KRZTUSIEC



DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ SWOISTYCH – KRZTUSIEC

IgG PT-100	IgG PT	IgA PT	interpretacja
+	+	+	Ostra infekcja.
+	+	-	Ostra infekcja. Uwaga! Także wynik niedawnego (<3 lat) szczepienia!
-	+	+	Możliwa ostra infekcja. Badanie należy powtórzyć po 2 tygodniach.
-	-	+	Możliwe wczesne stadium ostrej infekcji. Badanie należy powtórzyć po 2 tygodniach.
-	+	-	Wynik przeszłego zakażenia/szczepienia. Nie można wykluczyć bardzo wczesnego stadium ostrej infekcji. Badanie powtórzyć po 2 tygodniach
-	-	-	W przypadku obecności klinicznych wykładników krztuśca badanie powtórzyć po 2 tygodniach.

DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ SWOISTYCH – GRUŹLICA



DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ SWOISTYCH – GRUŻLICA

- latentne zakażenie prątkiem gruźlicy:
 - ✓ OT
 - ✓ IGRA

- czynna gruźlica
 - ✓ wszystkie dostępne narzędzia diagnostyczne (posiewy na podłożach płynnych w systemach automatycznie monitorujących wzrost prątków, metody biologii molekularnej)

PRZYSZŁOŚĆ (?)
DIAGNOSTYKI MIKROBIOLOGICZNEJ

PRZYSZŁOŚĆ (?) DIAGNOSTYKI MIKROBIOLOGICZNEJ

✓ MULTIPLEX PCR

MULTIPLEX-PCR

przykładowe oferty

PANEL BAKTERYJNY

Bordetella sp.,
Chlamydophila pneumoniae,
Legionella pneumophila,
Mycoplasma pneumoniae,
Coxiella burnetii

PANEL WIRUSOWY

Adenovirus,
Respiratory syncytial virus,
Metapneumovirus,
Influenza A,
Influenza B,
Parainfluenza 1, 2, 3, 4

MULTIPLEX-PCR – przykładowe oferty

Targets

Panel 1

Internal Control (IAC)

Influenza A

Influenza B

RSV-A

RSV-B

Human Metapneumovirus

Rhinovirus/Enterovirus

Adenovirus

Mycoplasma pneumoniae

Chlamydia pneumoniae

Legionella pneumophila

Bordetella pertussis

Panel 2

Internal Control (IAC)

Influenza A H1N1v

Parainfluenza-1

Parainfluenza-2

Parainfluenza-3

Parainfluenza-4

Bocavirus

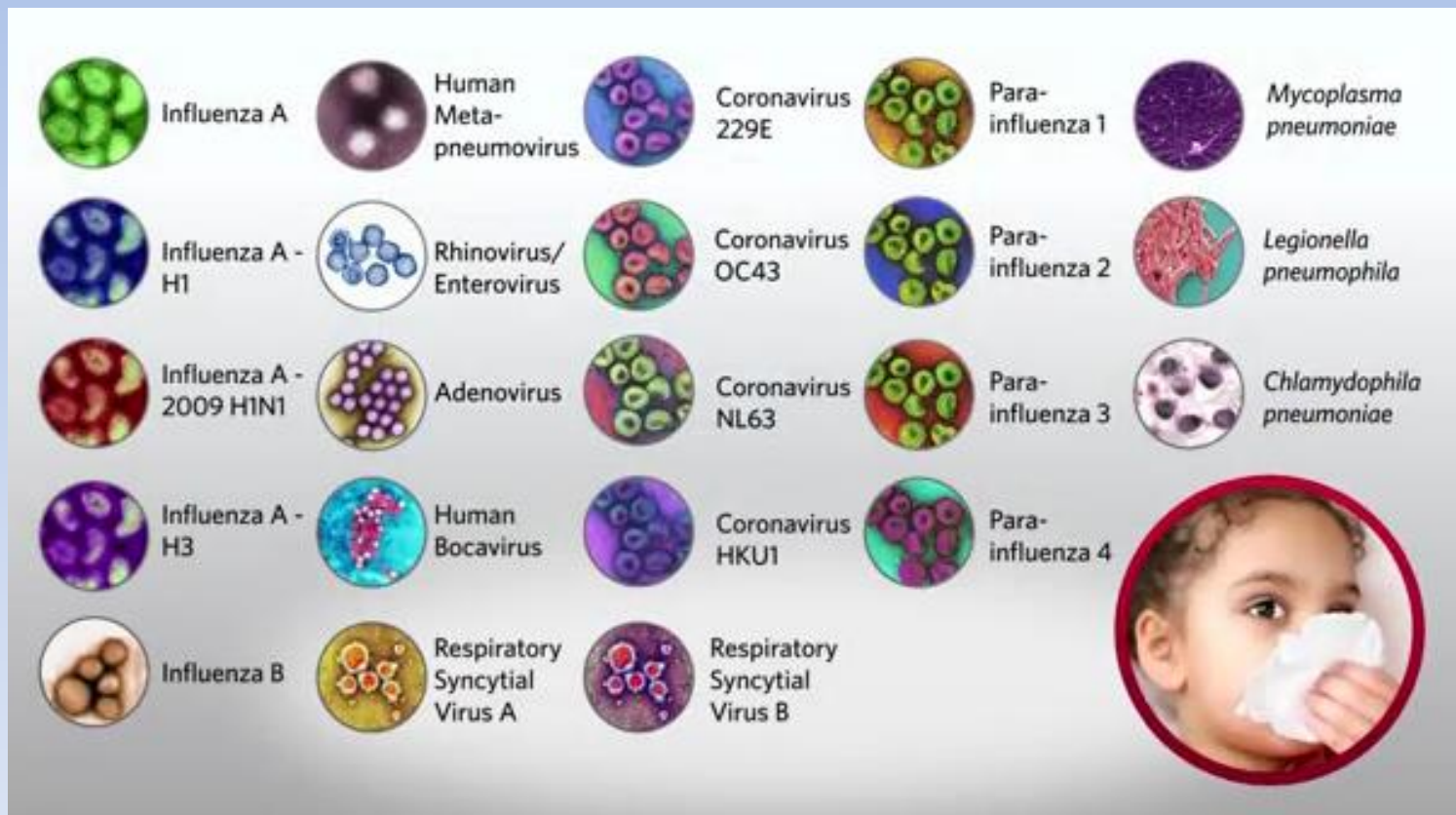
Coronavirus NL63

Coronavirus HKU1

Coronavirus 229E

Coronavirus OC43

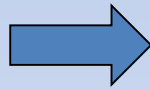
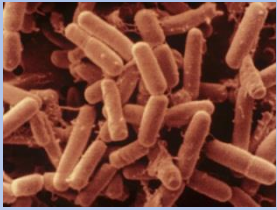
MULTIPLEX-PCR – przykładowe oferty



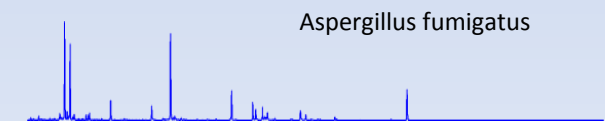
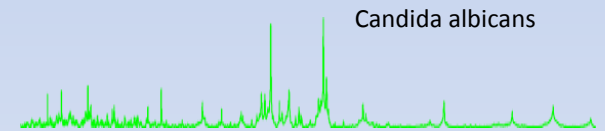
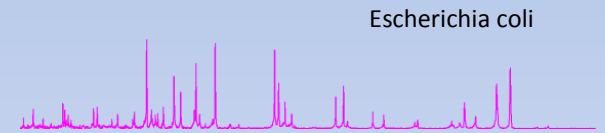
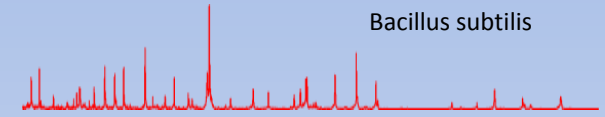
PRZYSZŁOŚĆ (?) DIAGNOSTYKI MIKROBIOLOGICZNEJ

- ✓ MULTIPLEX PCR
- ✓ SPEKTOMETRIA MAS

SPEKTOMETRIA MAS MALDI-TOF (**M**atrix-**A**ssisted **L**aser **D**esorption/**I**onisation – **T**ime-**O**f-**F**light)



1 min



SPEKTOMETRIA MAS MALDI-TOF

identyfikacja patogenu bezpośrednio z dodatniego posiewu krwi

Pobranie próbki krwi



Wzrost bakterii



Przygotowanie do identyfikacji



Identyfikacja



ID >2300 gatunków bakterii i drożdżaków w mniej niż 30 min po pozytywnej hodowli





DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ