



ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ

С. В. Поликарпова

к.м.н. руководитель бактериологической лаборатории
ГКБ № 15 им. О. М. Филатова г. Москвы



ГКБ №15 им. О.М.Филатова, Москва



- Стационар на 1662 коек – 51 569 пациентов в 2014 г.:
 - Хирургического профиля -820
 - Терапевтического профиля -570
 - Реанимационные койки -72
- Консультативно-диагностический центр на 1 тыс. посещений в день
- Акушерский стационар на 170 коек - 8,5 тыс родов в 2014 г.



Прикрепленные районы

Зеленоградский АО



Северный АО



Взрослые жители ВАО:

1 159 915 человек



**Всего более 2
миллионов человек**

Взрослые жители ЮВАО:

936 000 человек



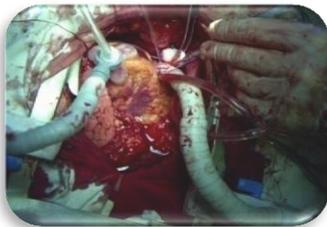


Клиническая база ведущих учебных учреждений

- 1. Российский Государственный Медицинский Университет им. Н.И.Пирогова (Национальный Исследовательский университет)**
 - Кафедра госпитальной терапии
 - Кафедра госпитальной хирургии
 - Кафедра глазных болезней
 - Кафедра неврологии ФПДО
- 2. Московский Государственный Медико-Стоматологический университет**
 - Кафедра репродуктивной медицины и хирургии ФПДО
 - Кафедра восстановительной медицины
- 3. Российская Медицинская Академия Постдипломного Образования**
 - Кафедра травматологии

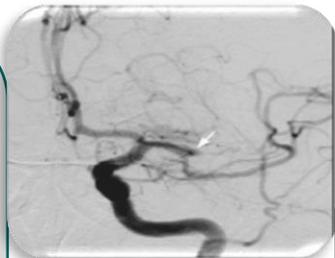


**КДЦ
и
ПОЛИКЛИНИКИ**



**Хирургия сердца и
сосудов**

**Эндоваскулярные
вмешательства**



Гемодиализ

**Ретроструктивная
хирургия**



Ревматология

Нефрология

**Травматология,
остеосинтез**

Нейрохирургия

Офтальмология

**С
т
а
ц
и
о
н
а
р**





Негативные феномены использования антибиотиков

Использование антибиотиков



Селективное давление на возбудителей заболевания



Рост устойчивости микроорганизмов к используемым препаратам

«параллельный ущерб» - селекция резистентности не только и не столько среди штаммов возбудителей, на которых была направлена антибактериальная терапия, но и среди микроорганизмов, даже изначально не входящих в спектр активности препарата.

Резистентные возбудители от пациентов с внебольничными инфекциями



УПРАВЛЕНИЕ

АНТИБИОТИКОТЕРАПИЕЙ

(ANTIBIOTIC STEWARDSHIP)

Российские национальные рекомендации

«Стратегия и тактика применения антимикробных средств в лечебных учреждениях России» (2012г.)

Решение проблемы лечения в стационаре инфекций, вызванных полирезистентными бактериями, связано в основном не с ожиданием рождения новых антибиотиков, а с разработкой и внедрением решительных и адекватных мер по сдерживанию антибиотикорезистентности.



УПРАВЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОТЕРАПИЕЙ

Цель:

- Оптимизация применения антибиотиков в стационаре
- Сдерживание антибиотико-резистентности

Необходимость
наличия в стационаре:

- Отдела клинической фармакологии;
- Госпитального эпидемиолога с группой контроля нозокомиальных инфекций и антибиотикорезистентности
- **Современной микробиологической лаборатории**



Задачи, стоящие перед бактериологической лабораторией многопрофильного стационара:

Выделение и идентификация микроорганизмов из клинического материала и внешней среды

Определение чувствительности выделенных штаммов микроорганизмов к антибактериальным препаратам

Изучение механизмов резистентности микроорганизмов, циркулирующих в стационаре

Микробиологический мониторинг - количественный учет на постоянной основе резистентных (внутрибольничных) штаммов, выделенных от пациентов, персонала, объектов внешней среды



Бактериологическая лаборатория



БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ
ЛАБОРАТОРИЯ

480 м² площади
18 сотрудников
46 000 проб в год



- Клинические исследования – 69%
- Инфекционный контроль – 29%
- Кишечные инфекции – 2%
- ПЦР-лаборатория



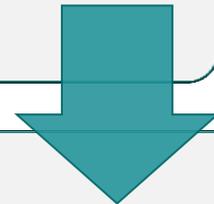


Организация работы бактериологической лаборатории

Преаналитический этап



Аналитический этап



Постаналитический этап

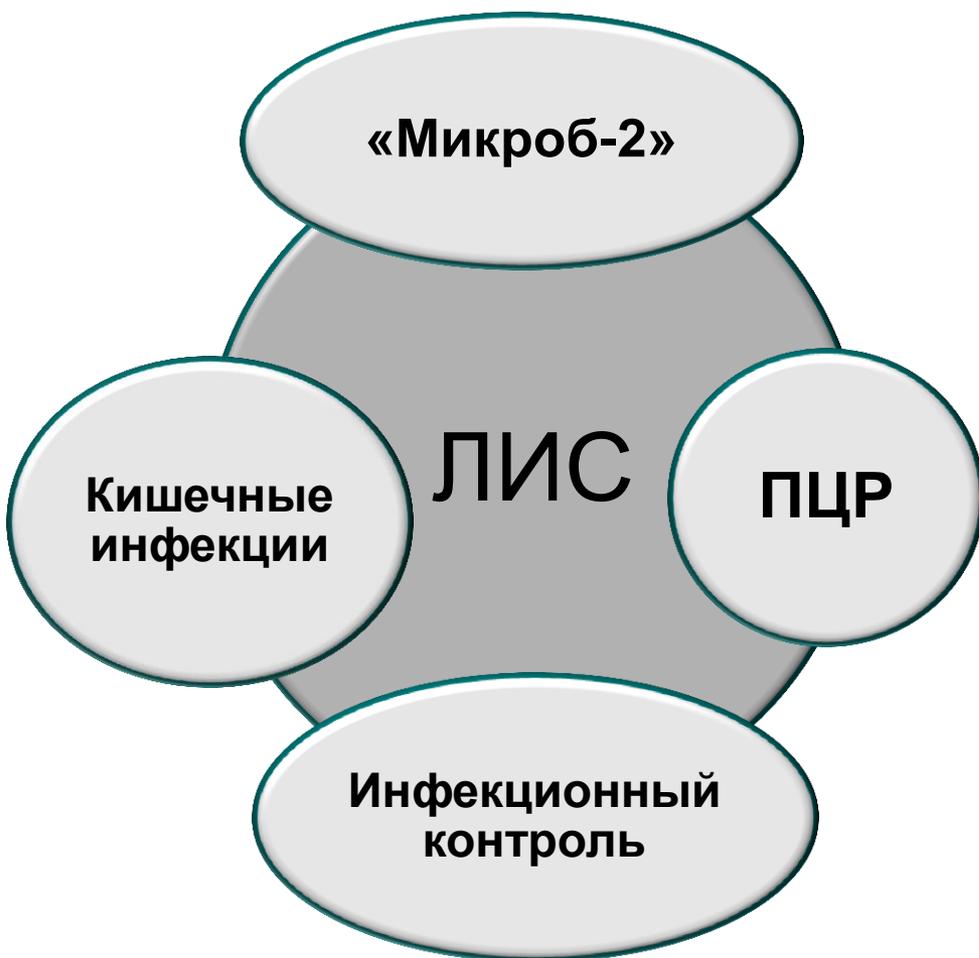


Преаналитический этап

- Правильность получения, хранения и транспортировки биологического материала- качество и достоверность получаемых результатов;
- Соблюдение сроков хранения и транспортировки материала -большое преимущество - **это наличие бактериологической лаборатории в составе ЛПУ;**
- Обязательное использование транспортных сред при невозможности выдерживать двухчасовой интервал хранения биоматериалов



Интеграция микробиологических исследований в лабораторную информационную систему (ЛИС)



- Охват всех отделов микробиологической лаборатории
- Возможность управления данными, получаемыми в автоматическом режиме со всех приборов, а также для обработки результатов исследований, в том числе полученных ручными методами
- Двусторонний обмен данными между ЛИС и «Микроб 2»
- Единая база по пациентам, возможность автоматически загружать данные по пациентам
- Получение доступа к текущим результатам исследований



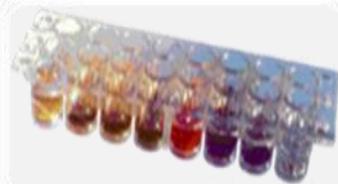
Аналитический этап

- Микроскопия биологического материала
- Первичный посев на питательные среды:
 - использование готовых неселективных, селективных и хромогенных сред, разлитых в чашки Петри;
 - использование автоматизированных систем посева наиболее перспективно в лабораториях с большим потоком исследований;
- Культивирование бактерий, выделение чистых культур и их идентификация. Использование комплекса культуральных, тинкториальных признаков, различных видов ферментативной активности;
- Определение чувствительности выделенных культур к антимикробным препаратам;
- Детекция механизмов резистентности



Автоматизированное рабочее место

микробиолога, эпидемиолога, клинического фармаколога



расходные материалы и реагенты – тест-системы различных производителей, предназначенные для идентификации и определения антибиотикочувствительности выделенных микроорганизмов



оборудование – микропланшетные фотометры iEMS-Reader, Multiskan FC, Multiskan-Ascent



программа «Микроб-Автомат» - идентификация более 500 видов микроорганизмов и патогенных грибов, определение антибиотикочувствительности методом определения МПК через 6-24 часов



программа «Система микробиологического мониторинга «Микроб-2» (СМММ) - регистрация персональных данных и учёт результатов



Система микробиологического мониторинга (ССМ) «МИКРОБ-2»

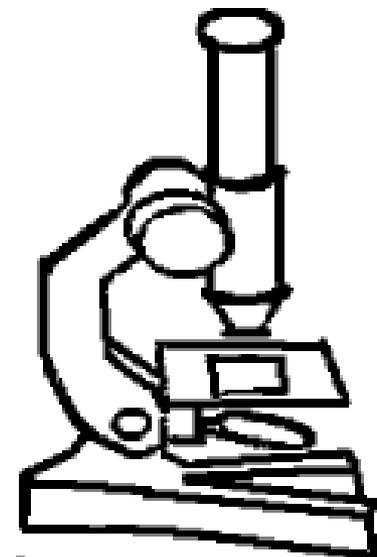
изучение этиологической структуры возбудителей инфекций, мониторинг динамики патогенов, а также их антибиотикорезистентности

**«Журнал микробиолога»
(Скала Л.З. Нехорошева А.Г.
Лукин И.Н.)**



МИКРОБ

2



Система
микробиологического
мониторинга

(с) МедПроект-3, 1999-2007

Разработана на базе бактериологической лаборатории ГKB № 15 им. О. М. Филатова и постоянно модернизируется с момента внедрения в 1993 г.



Идентификация микроорганизмов MIKRO-LA-TEST

(более 500 видов микроорганизмов и грибов)

Идентификационные планшеты:

ЭНТЕРОтест 16;24;Рапид
НЕФЕРМтест 24
НЕЙССЕРИЯтест
СТАФИтест 16;24
СТРЕПТОтест 16;24
ЭН-КОККУСтест
АНАЭРОтест 23
КАНДИДАтест 21;Скрин

Тест-полоски:

ПИРА тест
ВП тест (реакция Фогеса-
Проскауэра)
ОКСИ тест
ИНДОЛ тест
КОЛИ тест
ОНП тест
ГИППУРАТ тест
БЕТА-ЛАКТАМ

Диски:

Новобиоцин
Оптохин
Бацитрацин S и 10 ЕД
X, V, X+V-факторы





Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам- ключевой момент в организации работы бактериологической лаборатории!

- Выбор методов исследований;
- Интерпретация результатов;
- Формирование наборов антимикробных препаратов для оценки чувствительности отдельных микроорганизмов;
- Контроль качества методов оценки антибиотикочувствительности



Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам(Методические указания МУК 4.2.1890-04)

Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Clinical and Laboratory Standards Institute – **(CLSI)** - Институт клинических и лабораторных стандартов (США) (2015г.)

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (**EUCAST**) – Европейский комитет по тестированию антимикробной восприимчивости (2015г.)



Клинические рекомендации

Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам

Версия-2014-01

Клинические рекомендации утверждены:

- *Расширенное совещание Межрегиональной ассоциацией по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (XУ1 международный конгресс по антимикробной химиотерапии МАКМАХ/ESCMID ,21-23 мая 2014, Москва);*
- *Совещание рабочей группы по медицинской микробиологии профильной комиссии МЗ РФ по КЛД (Всероссийская научно-практическая конференция по медицинской микробиологии и клинической микологии (XУ11 Кашкинские чтения),9-11 июня 2014, Санкт-Петербург)*



Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам



Определении бактериального роста при пограничных (break-point) концентрациях антибиотика-обычно 2-3- концентрации- тест-системы к анализаторам iEMS Reader «Erba Lachema» и Phoenix 100 «BBL»



Диско-диффузионный метод



ЭпсилOMETрический метод определение МИК (E-тест)



Наборы для определения чувствительности к антибактериальным препаратам



Сенси-Ла-Тесты	Новинка! Определение МПК	Маркеры резистентности
СЕНСИЛА ТЕСТ УРИНЕ	МПК УРИНЕ	ESBL-штаммы
СЕНСИЛА ТЕСТ Г-I	МПК Г-I	
СЕНСИЛА ТЕСТ Г-II	МПК Г-II	
СЕНСИЛА ТЕСТ НЕФЕРМ	МПК НЕФЕРМ	МЛБ-штаммы
СЕНСИЛА ТЕСТ Г+	МПК Г+	MLSb-штаммы
СЕНСИЛА ТЕСТ СТАФИ	МПК СТАФИ	MLSb-штаммы + MRSA



Определение МПК (Г- микроорганизмы)

	AMP	AMS	CFZ	CXM	AZT	GEN	AMK	COL	T/S	CIP	CMP	TET
A	128	128/64	16	64	16	32	64	16	4/76	8	32	32
B	64	64/32	8	32	8	16	32	8	2/38	4	16	16
C	32	32/16	4	16	4	8	16	4	1/19	2	8	8
D	16	16/8	2	8	2	4	8	2	0.5/9.5	1	4	4
E	8	8/4	1	4	1	2	4	1	0.25/4.75	0.5	2	2
F	4	4/2	0.5	2	0.5	1	2	0.5	0.12/2.38	0.25	1	1
G	2	2/1	0.25	1	0.25	0.5	1	0.25	0.06/1.19	0.12	0.5	0.5
H	1	1/0.5	0.12	0.5	0.12	0.25	0.5	0.12	0.03/0.6	0.06	0.25	0.25



Структура клинических исследований (количество анализов) в 2014 г.





Phoenix 100

iEMS-Reader

NMIC

Амикацин
Ампициллин/сульбактам
Азтреонам
Цефазолин
Цефепим
Цефоперазон/сульбактам
Цефокситин
Цефтазидим
Цефтриаксон
Ципрофлоксацин
Колистин
Эртапенем
Гентамицин
Имипенем
Левофлоксацин
Меропенем
Пиперациллин/тазобактам
Тикарциллин/клавуоанат
Тигециклин
Триметоприм/сульфаметоксазол

СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ-Г-I

Амикацин	Цефотаксим
Ампициллин	Колистин
Ампициллин/сульбактам	Гентамицин
Ципрофлоксацин	Цефуроксим
Цефалексин	
Триметоприм/сульфаметоксазол	

СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ-Г-II

Азтреонам	Меропенем
Цефтазидим	Цефепим
Нетилмицин	Тигециклин
Пиперациллин/тазобактам	

СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ-НЕФЕРМ

Амикацин	Цефепим
Цефтазидим	Ципрофлоксацин
Колистин	Гентамицин
Пиперациллин/тазобактам	Меропенем
Триметоприм/сульфаметоксазол	





Постаналитический этап





Создание отчетов



ОТЧЕТЫ



статистический

анализы

биоматериалы

положительные
высевы

микрорганизмы

ассоциации

эпидемиологический

спектр
микрорганизмов

чувствительность
микрорганизмов

активность
антибиотиков

состав ассоциаций

полирезистентные
штаммы



Экспертная система





Пограничные значения
(диаметры зон и МПК)

Сведения о
синергизме АБ

Сведения о
клинической
эффективности

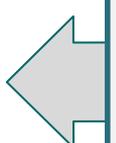
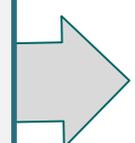
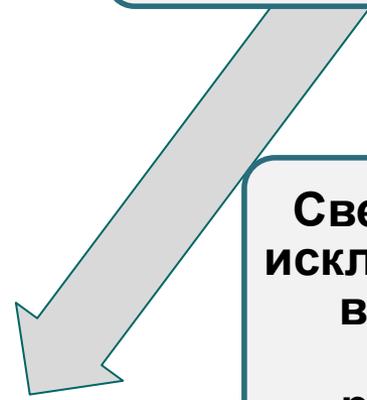
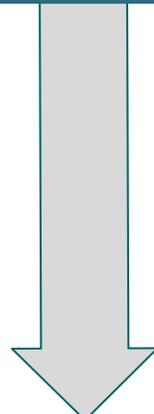
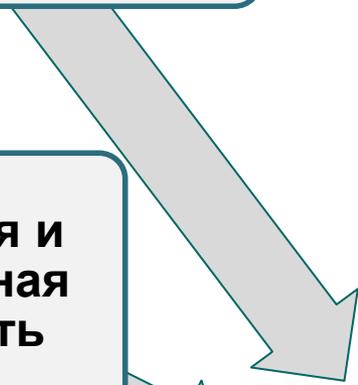
Приобретенная и
ассоциированная
резистентность

Сведения о редких,
исключительных и не
встречающихся
фенотипах
резистентности

Природная
резистентность

**Экспертная
оценка**

Оценка
вероятности
технических
ошибок





Экспертная оценка

Интерпретация пограничных значений в категории SIR

Рекомендации врачам-микробиологам

- методические
- информационные

Рекомендации клиническим фармакологам и лечащим врачам

- по режиму дозирования
- особенностям применения

Информация для службы ИК (инфекционного контроля)

Исключение недостоверных данных, в том числе, связанных с техническими погрешностями



Уровни автоматизации

Возможно постепенное создание комплекса «Рабочее место микробиолога, эпидемиолога и клинического фармаколога»

I

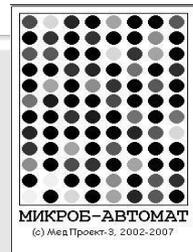


- рабочий журнал
- идентификация
- чувствительность к антибиотикам
- бланк анализа
- отчеты



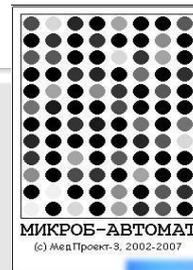
- рабочий журнал
- идентификация (учет результатов на анализаторе)
- чувствительность к антибиотикам (учет результатов на анализаторе)
- бланк анализа, отчеты

II



- рабочий журнал
- идентификация (учет результатов на анализаторах)
- чувствительность к антибиотикам (учет результатов на анализаторе)
- бланк анализа
- отчеты
- интеграция «Микроб-2» с ЛИС

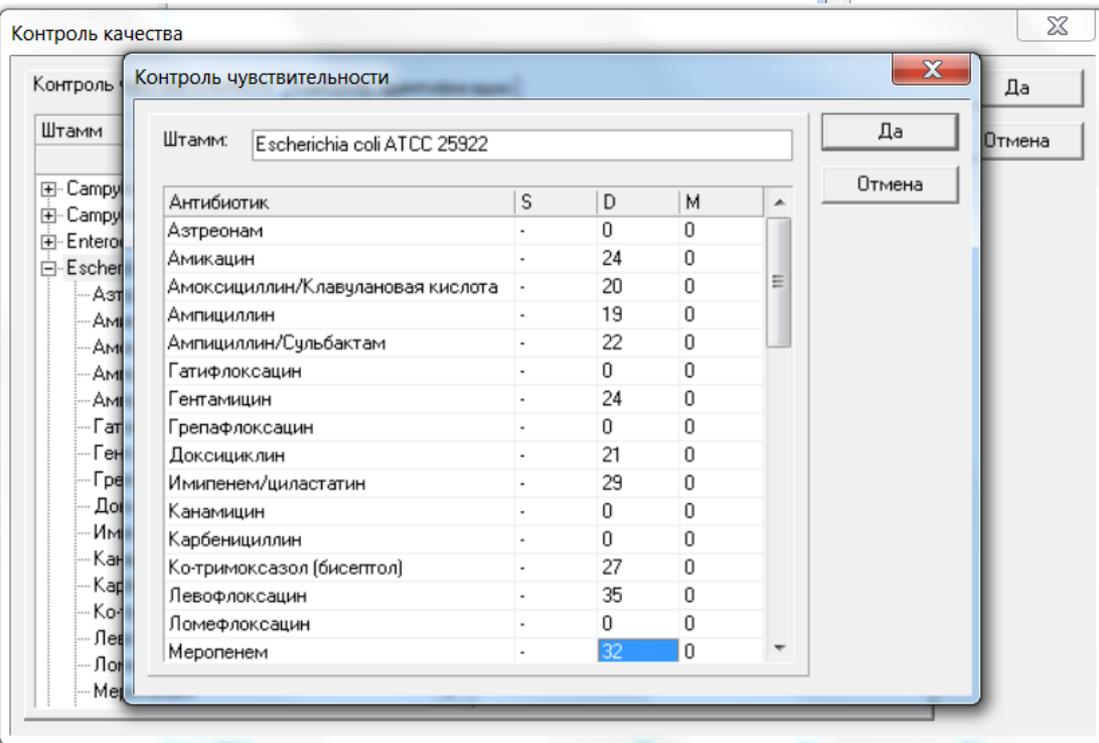
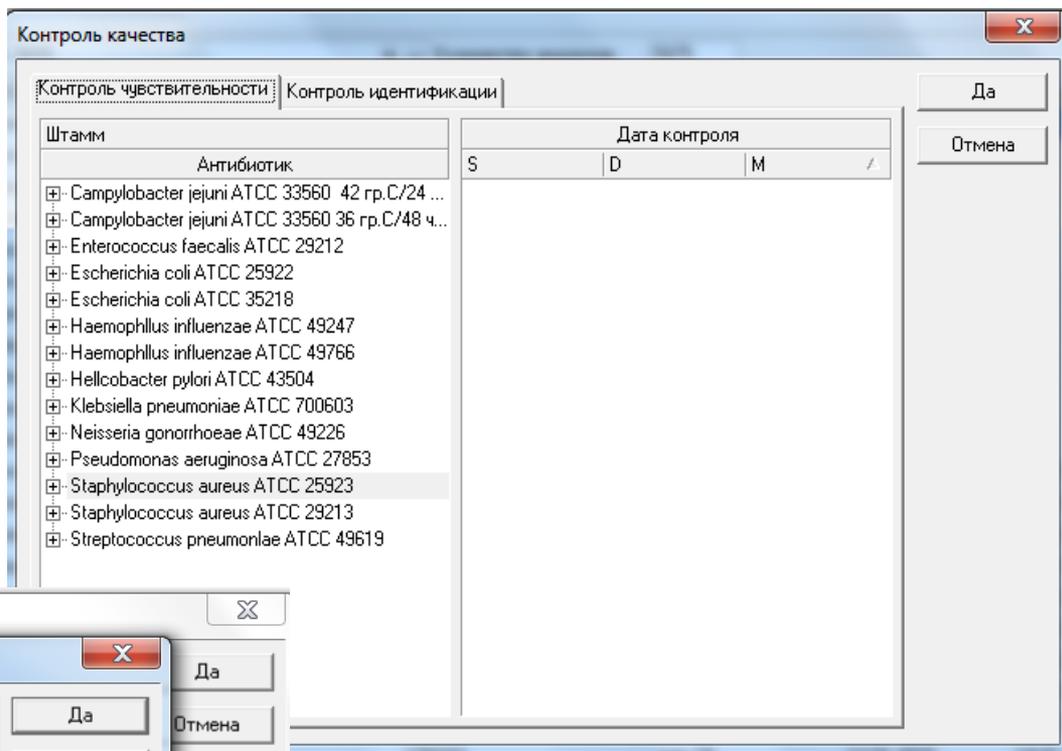
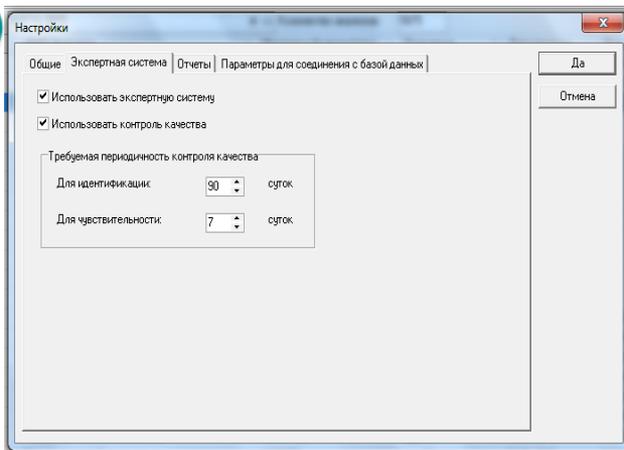
III





Контроль качества

- Состав питательной среды (контроль роста, проверка РН-агара, контроль катионного состава, контроль содержания тимина и тимидина) - **минимизирование технических погрешностей данного этапа- применение готовых чашек с агаром Мюллера-Хинтон с добавлением крови и без добавления**
- Соответствие реальной активности используемых антибиотиков (диски, Е-тесты, коммерческие тест-системы);
- Соблюдение стандартности выполнения всех лабораторных процедур



Результаты каждого исследования контрольного штамма сравниваются с результатами последних 20 исследований этого же контрольного штамма для своевременного выявления тенденции увеличения или уменьшения зон подавления роста по сравнению с целевыми значениями;

- Определение периодичности проведения контроля



Детекция механизмов резистентности

Для целей эпидемиологического наблюдения и инфекционного контроля.

Является ли резистентный изолят привнесённым извне или в ЛПУ существуют условия для селекции собственных резистентных штаммов:

-недостаточные усилия клининговых служб, вопросы гигиены персонала, субоптимальные воздействия АБ и дезинфектантов;

-создание условий передачи внутрибольничных штаммов при скученности пациентов, недостаточном количестве и перегрузке персонала;

- особенности планировки ЛПУ, организации потоков пациентов.

Всё это может способствовать, в том числе, и горизонтальной передаче генов в виде мобильных генетических структур-плазмид, транспозонов, интегронов- не только внутри вида, но и между разными группами микробов от энтерококков к стафилококкам, от энтеробактерий к неферментирующим и наоборот.



Инфекционный контроль

Для целей эпидемиологического наблюдения и инфекционного контроля:

внедрение в работу микробиологических лабораторий фенотипических методов определения клинически значимых механизмов резистентности:

- MRSA/ MRCNS (метициллинорезистентный *S.aureus*/ коагулазонегативные стафилококки)
- VRE (ванкомицинорезистентные энтерококки)
- HLAGR (высокий уровень резистентности к АГ у энтерококков)
- PRP (пенициллинорезистентные пневмококки)
- MLS β (индукция резистентности к макролидам, линкозамидам, стрептограминам группы В)
- ESBL (продукция β -лактамаз расширенного спектра действия – БЛРС)
- Карбапенемаз класса А





Детекция механизмов резистентности

Метод ПЦР в режиме реального времени

- Выявление генов металло- β - лактамаз групп VIM, IMP и NDM;
- Выявление генов карбапенемаз групп KPC и OXA-48;
- Выявление генов VanA/Van, обуславливающих резистентность к гликопептидам(ванкомицину, тейкопланину) у *E.faecalis/faecium*;
- Выявление генов MecA/ErmB, обуславливающих резистентность к β -лактамным антибиотикам у стафилококков;
- Выявление генов Mef/ ErmB, обуславливающих резистентность к макролидам у стрептококков.





В свете концепции «параллельного ущерба» в
в зоне «особого внимания» проблемные
микроорганизмы:

Метициллин-резистентный стафилококк (*MRSA*), штаммы *MRSA*, как правило, обладают множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам: аминогликозидам, тетрациклинам, ко-тримоксазолу, фторхинолонам и линкозамидам



Enterobacteriaceae - продуценты β -лактамаз расширенного спектра (**БЛРС**)

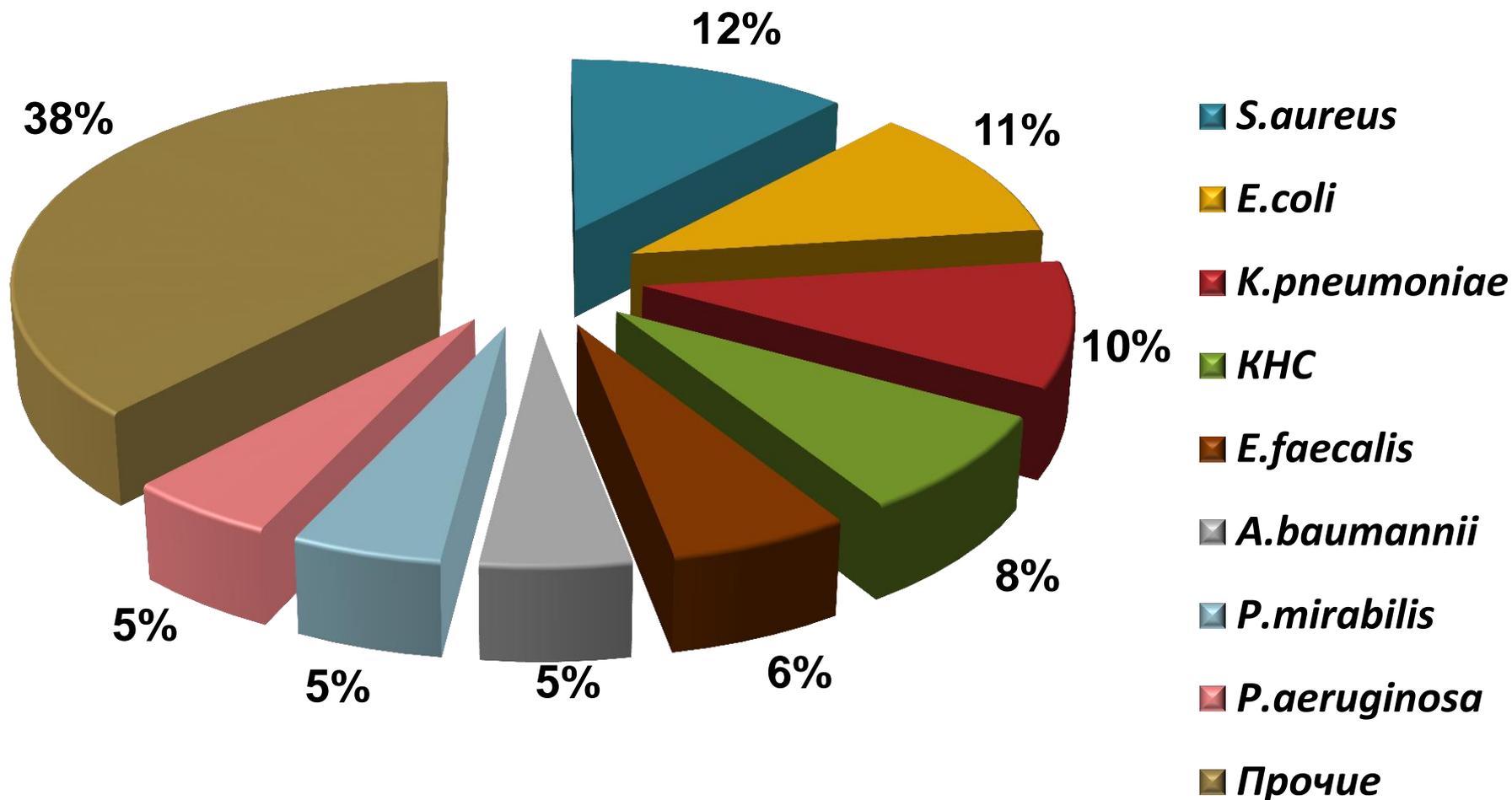
Klebsiella pneumoniae резистентные к карбапенемам

Ванкомицинрезистентные энтерококки (**VRE**)

Неферментирующие продуценты металло-бета-лактамаз (МБЛ)
(*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) (резистентные к карбапенемам, хинолонам,

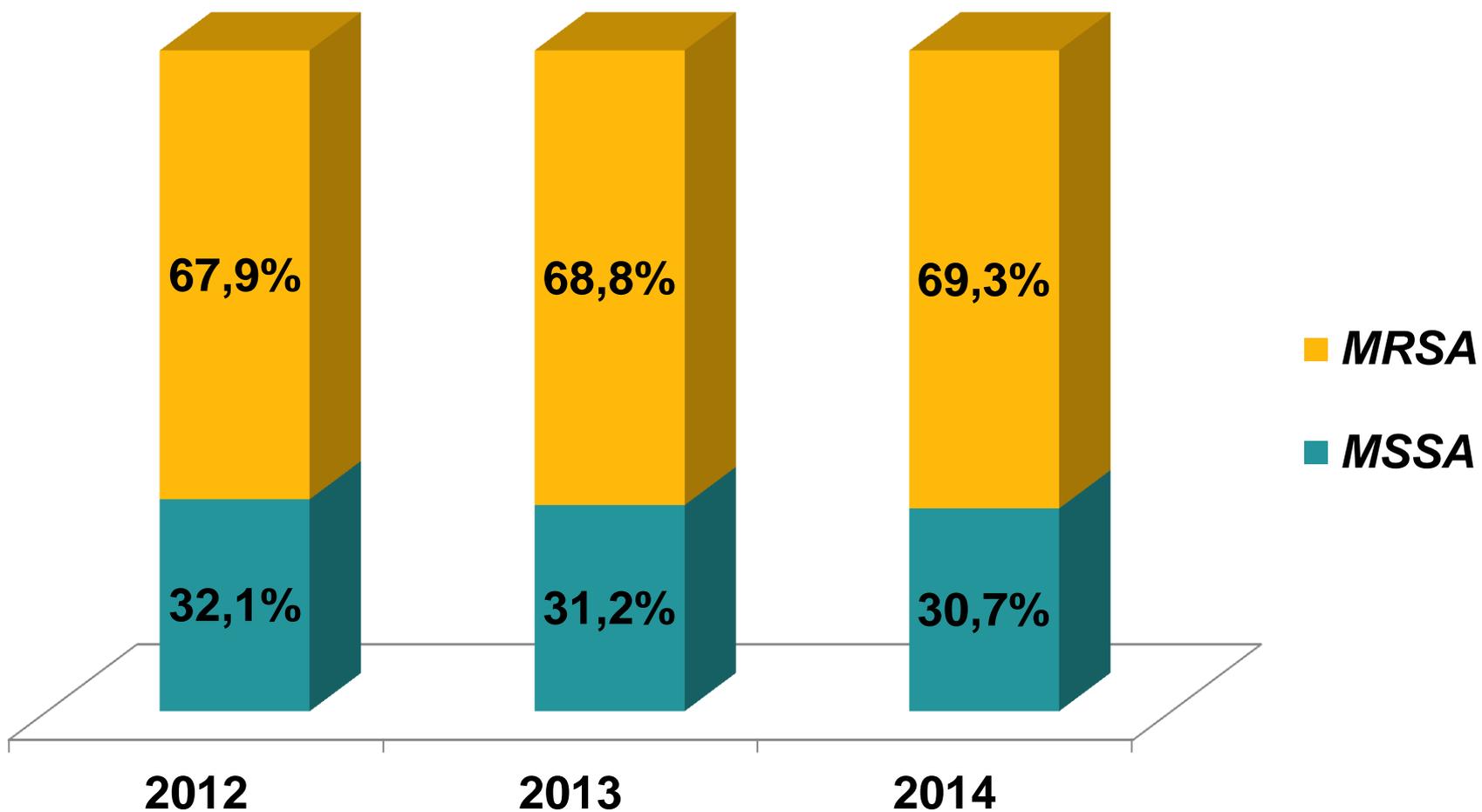


Ведущая микрофлора стационара (n=24 560)



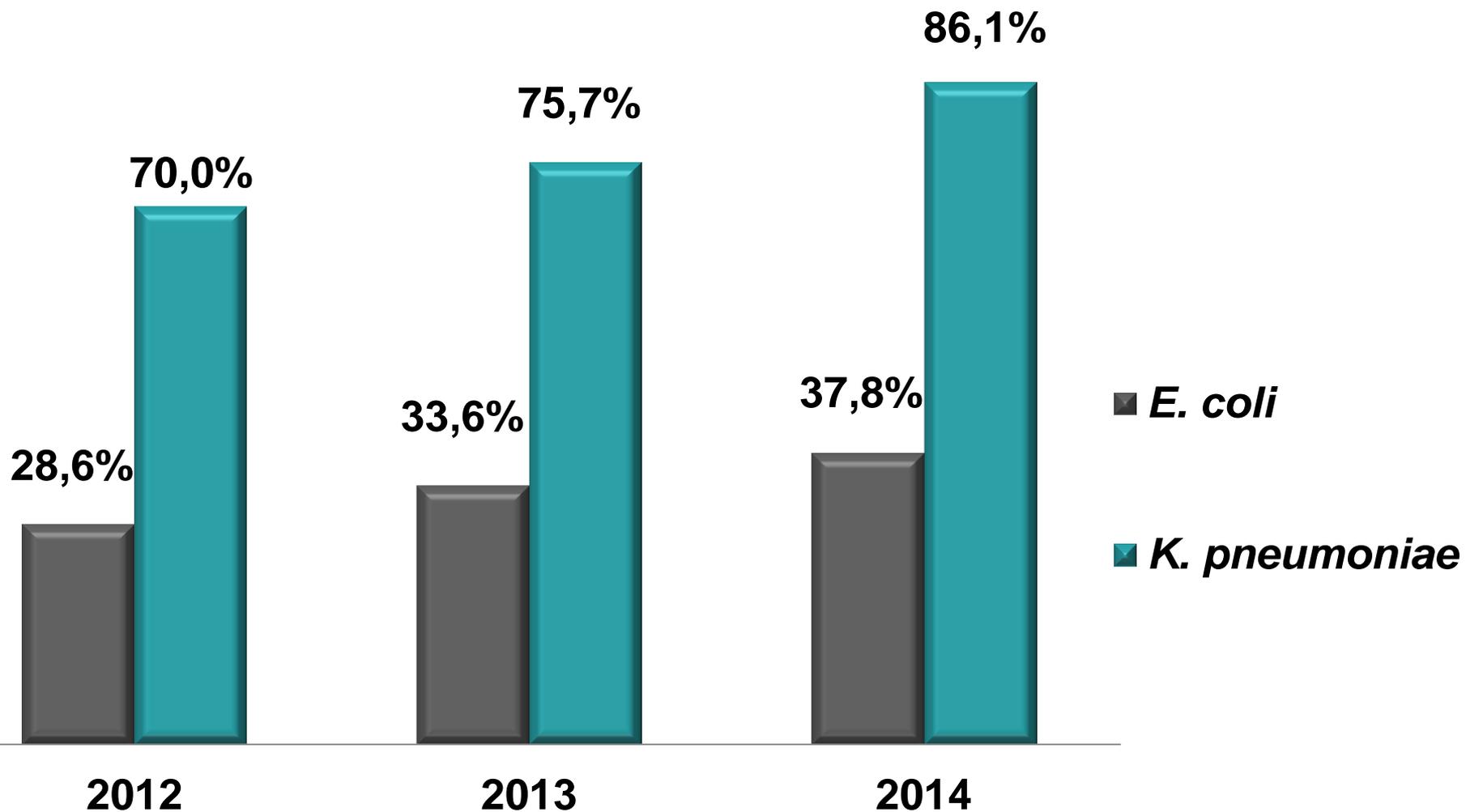


Динамика *MRSA* и *MSSA*



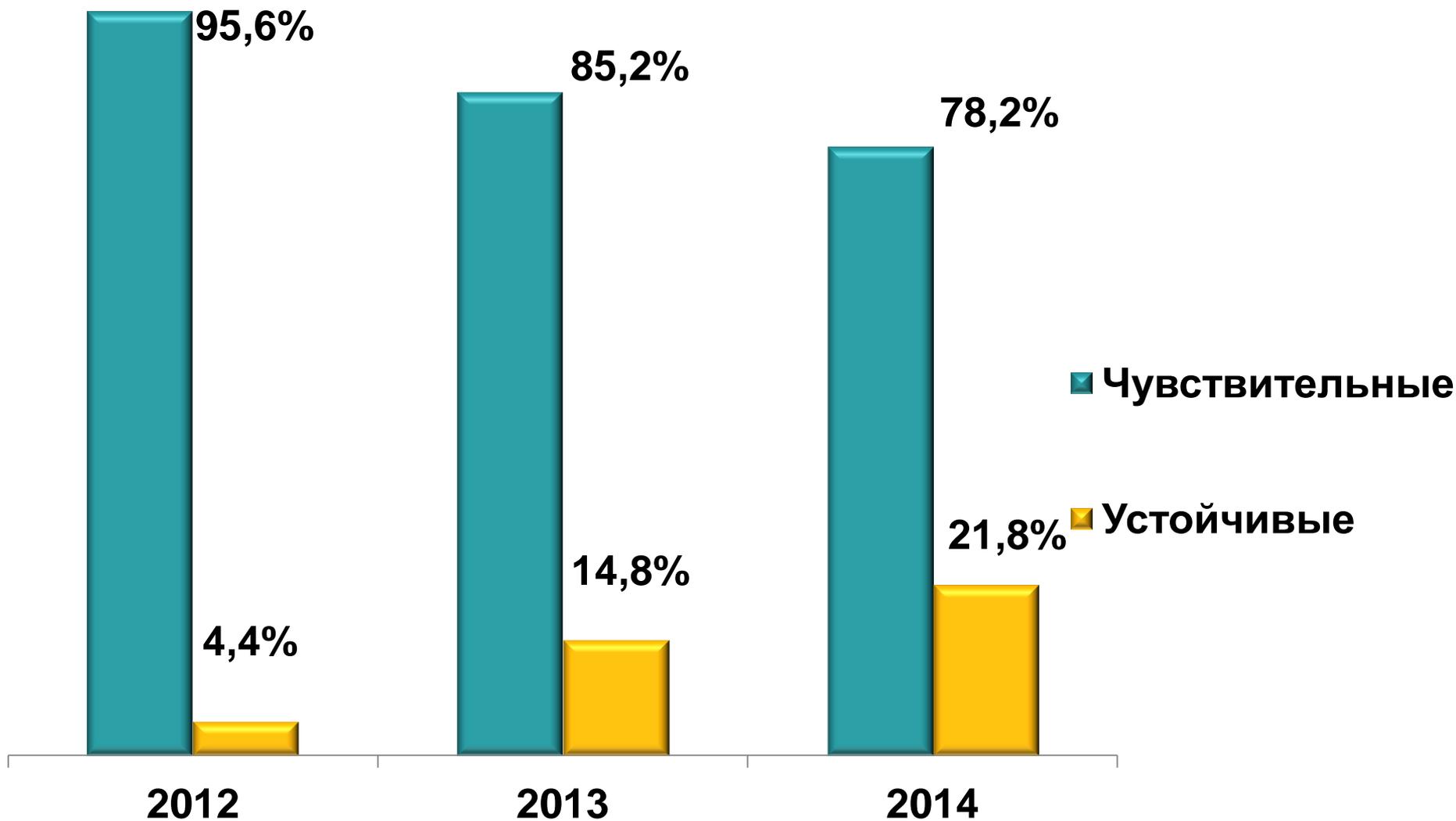


E.coli (БЛРС+), *K.pneumoniae* (БЛРС+)



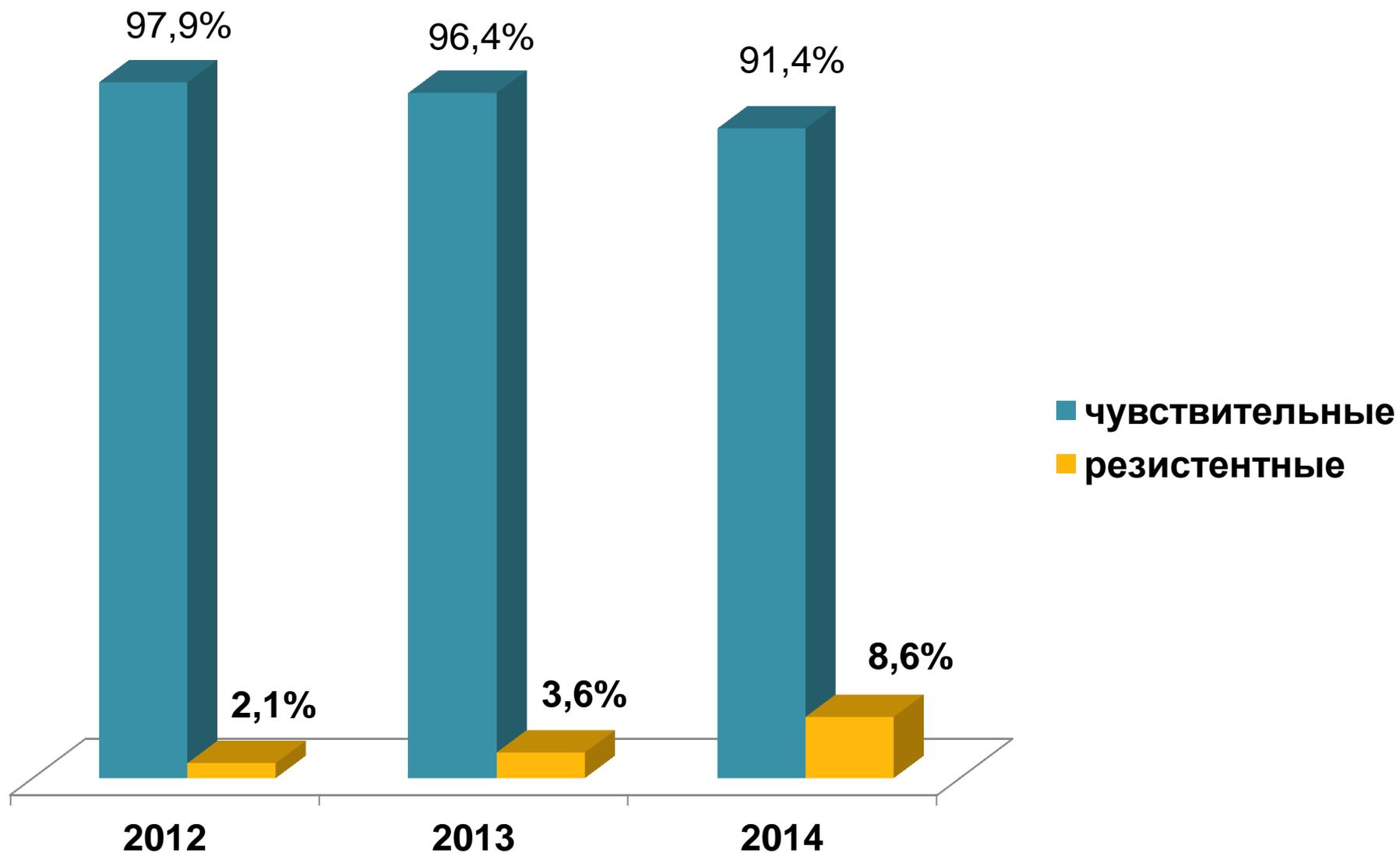


K.pneumoniae (БЛРС+)- динамика уровня резистентности к меропенему



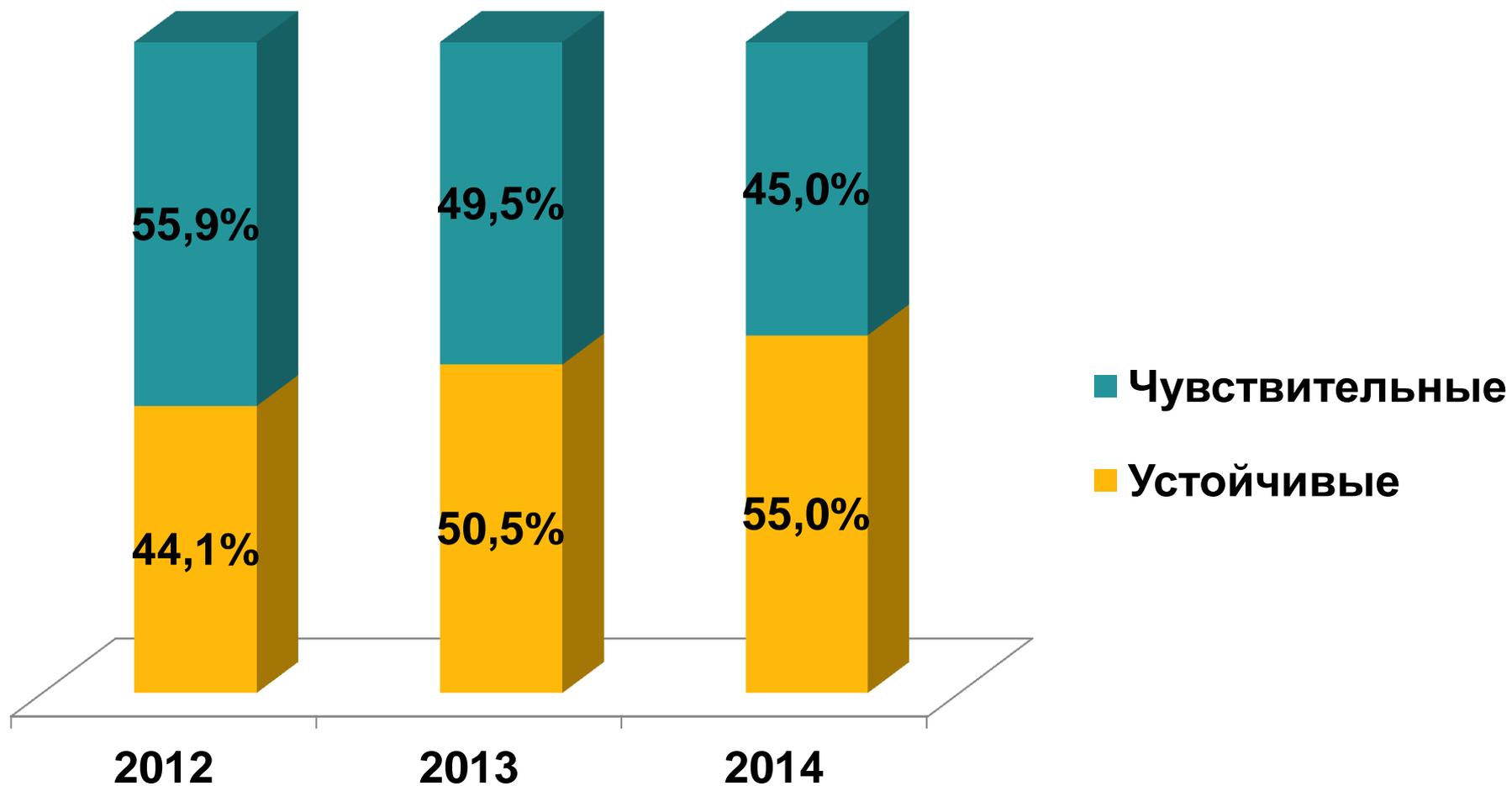


Динамика VRE



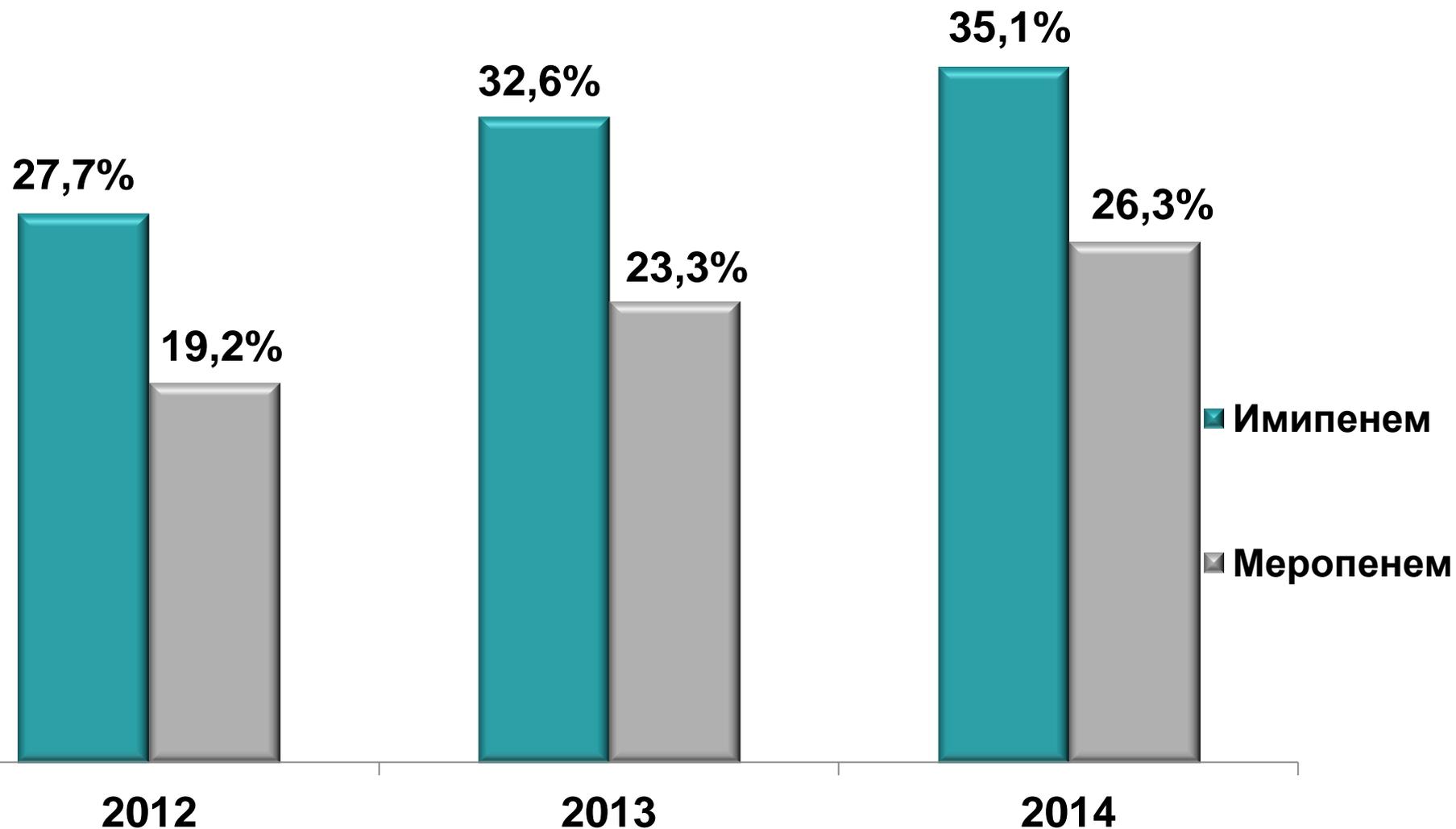


Динамика устойчивости *P.aeruginosa* к ципрофлоксацину



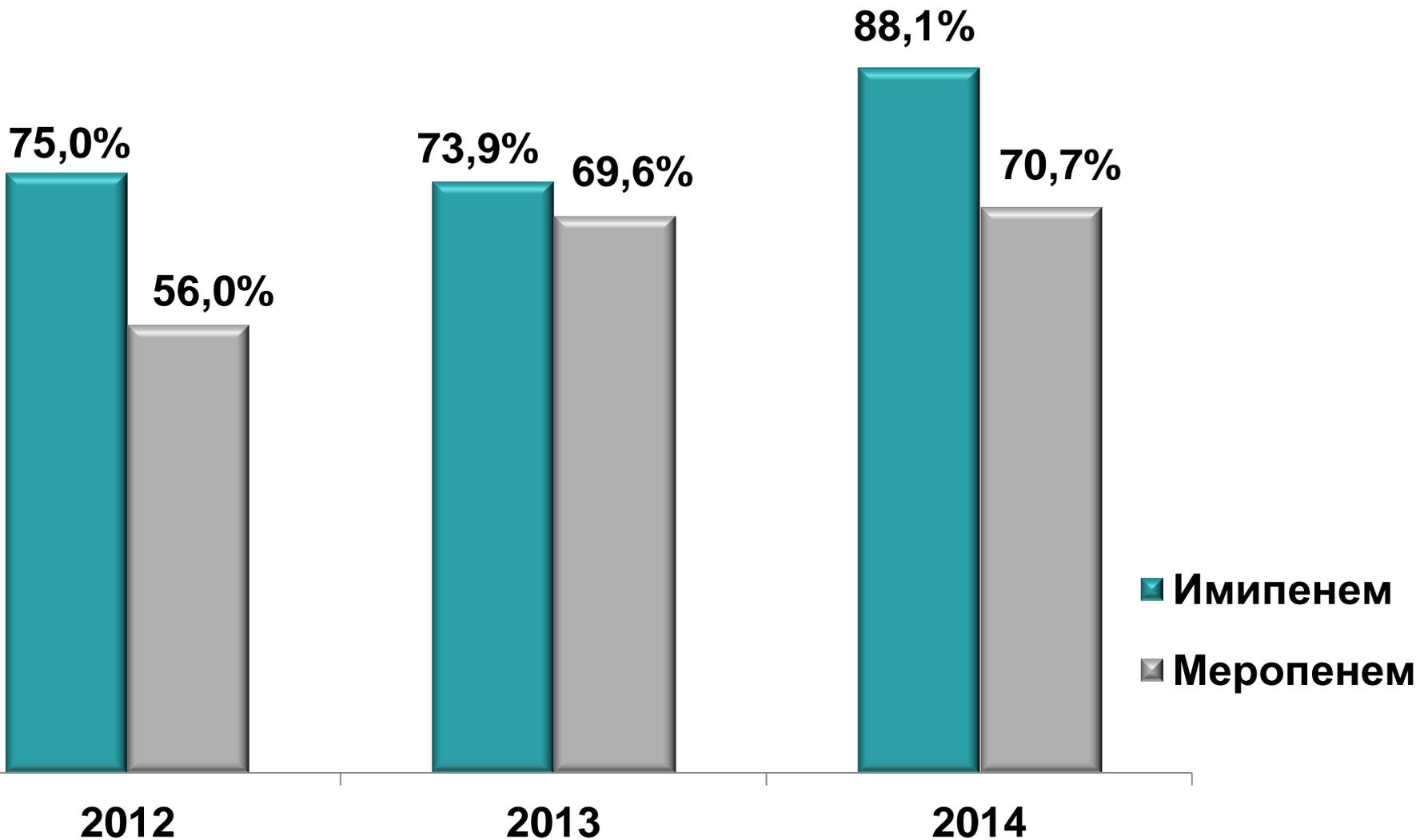


Динамика устойчивости *P.aeruginosa* к карбапенемам





Динамика устойчивости *A. baumannii* к карбапенемам





**РЕЗИСТЕНТНОСТЬ
МИКРОБОВ-
естественное
неизбежное
биологическое
явление.**

**Предотвратить её
практически
невозможно !**

**РЕЗИСТЕНТНОСТЬ
МОЖНО
СДЕРЖИВАТЬ !!!**





Бактериологическая лаборатория

Чувствительность микроорганизмов

Госпитальные штаммы, механизмы резистентности

Эпидемиолог

Уровень АБ-резистентности

Активность АБ

Лечащий врач

Клинический фармаколог

Аптека

Санитарно-противоэпидемические мероприятия

Этиотропная терапия

Алгоритмы а/б-терапии-эмпирическая терапия

Закупка АБ

Профилактика ВБИ



БЛАГОДАРЮ
ЗА
ВНИМАНИЕ

