

# Пути повышения качества лабораторных исследований в современной микробиологии.

■ И.С.Тартаковский

НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

КЛИНИЧЕСКАЯ  
ЛАБОРАТОРНАЯ  
ДИАГНОСТИКА

МИКРОБИОЛОГИЯ

до середины  
60-х годов  
XX века

микробиология → иммунология

с 60-х годов  
XX века

микробиология → молекулярная  
генетика,  
молекулярная  
биология

# Основные задачи и проблемы микробиологии в XXI веке.

- Расширение круга патогенных для человека микроорганизмов
- Новые методы диагностики на базе геномных и постгеномных технологий
- *Новые подходы к созданию вакцин*
- Глобализация проблемы антибиотикорезистентности
- Персистенция : хронические и атипичные формы инфекционного процесса
- Возвращающиеся и вновь проявляющиеся инфекции

Медицинская помощь по разделу «бактериология» является неотъемлемой частью оказания медицинской помощи по профилю «клиническая лабораторная диагностика», но обладает определенными отличиями.

Основным отличием является необходимость, помимо характеристики внутренней среды организма пациента, выделения возбудителя инфекционного заболевания (бактерии, вирусы, грибы, простейшие) и (или) выявления и идентификации генетических детерминант, определяющих патогенность возбудителя и устойчивость к антимикробным препаратам.

Постулат Коха в качестве доказательства инфекционной природы болезни не потерял своего значения.

Культура возбудителя является объектом не только рутинных микробиологических исследований , но также геномики и протеомики возбудителей инфекционных заболеваний.

Научной основой лабораторного обеспечения в микробиологических исследованиях и его постоянного совершенствования служит

**МИКРОБИОЛОГИЯ** – отрасль медицинской науки, разрабатывающая на основе использования достижений фундаментальных наук систему представлений и конкретных знаний и умений.

При острых инфекционных заболеваниях особое значение приобретают срочные и среднесрочные микробиологические исследования со сроком выполнения в течение суток.

Существенный объем микробиологических исследований составляет анализ микробиологической составляющей внешней среды с целью профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Рабочая группа по микробиологии в рамках профильной комиссии экспертов по клинической лабораторной диагностике Минздрава России создана в июле 2013 года.

В работе группы принимают активное участие представители крупных научных центров в области микробиологии (Москва, Санкт-Петербург, Смоленск, Омск), ведущих ВУЗов страны (Ставрополь, Екатеринбург, Уфа, Владивосток), занимающихся подготовкой и переподготовкой кадров в области медицинской микробиологии.

**7 ноября 2014 года создан комитет микробиологии в составе Федерации лабораторной медицины.**

# Проблемы отечественной медицинской микробиологии:

- кадровые
- материально-технические
- нормативным документам (приказ №535 от 22 апреля 1985 г.)
- поставки оборудования и реагентов  
(рациональный выбор оборудования и реагентов)
- информационные

# Основные задачи рабочей группы по микробиологии

- Четко определить место , задачи и стратегию развития микробиологии в рамках системы клинической лабораторной диагностики
- Навести порядок в терминологии и номенклатуре микробиологических специальностей
- Повысить качество и уровень микробиологических исследований в лабораториях страны :

- На основе повышения качества подготовки врачей-микробиологов
- Подготовки предложений по вертикальной структуре взаимодействия микробиологических лабораторий в рамках централизации
- Подготовки предложений по оснащению микробиологических лабораторий современными стандартизованными методами исследований различного уровня.

- Создания методической и нормативной базы работы лабораторий на базе современных технологий микробиологических исследований на уровне международных стандартов.

# Медицинская микробиология:

(за рубежом)

- Бактериология
- Вирусология
- Паразитология
- Микология
- Молекулярная микробиология

# Медицинская микробиология в России

Бактериолог

Вирусолог

Клинический миколог

*Паразитолог*

*Молекулярный микробиолог ?*

# Основные тенденции развития современной микробиологии

- Автоматизация
- Централизация
- Внедрение молекулярно-генетических методов исследований
- Внедрение экспресс -методов ( point of care)  
«у постели больного»

# Современная микробиологическая диагностика:

MALDI – TOF масс-спектрометрия

Real-Time ПЦР

Автоматизированная система  
бактериологического посева

Анализатор для гемокультивирования

Анализатор для идентификации  
микроорганизмов и определения  
чувствительности микроорганизмов к  
препаратам

различные варианты секвенирования генома

ПЦР (ESI-TOF) + масс-спектрометрия

новые модификации ПЦР

микрочипы

# Россия передовой производитель ПЦР в мире.

- Производители тест-систем:
  - ЦНИИЭпид
  - ДНК-Технология
  - Вектор-БЕСТ
  - Литех
- Количество ПЦР исследований в год больше 45 млн. 80-90% тест-систем отечественного производства.
- Производители оборудования ПЦР:  
ДНК-Технология
- В год продается около 600 приборов класса «реал-тайм», это только 30% общей потребности.
- Основная доля ПЦР диагностики— это медицина частных инвесторов.

**Частота выявления (в %) редких и трудно культивируемых возбудителей воспалительных заболеваний органов дыхания у больных пневмонией и в группах сравнения**

Виды возбудителей	Дети от 1года до 16 лет		Взрослые	
	Больные пневмонией (n=125)	Здоровые (n=127)	Больные пневмонией (n=384)	Здоровые (n=52)
<i>M.pneumoniae</i>	30,4 ± 4,1	1,6 ± 1,1	12,2 ± 1,7	0
<i>S.pneumoniae</i>	1,6 ± 1,1	0	12,0 ± 1,6	0
<i>M.catarrhalis</i>	0	0	2,3 ± 0,8	1,9 ± 1,9
<i>L.pneumophila</i>	0	0	0,5 ± 0,4	0
<i>C.Psittaci</i>	0,8 ± 0,8	0	0,3 ± 0,3	0
HSV I / II	8,0 ± 2,4	1,6 ± 1,1	14,6 ± 1,8	3,9 ± 2,7
Cytomegalovirus	52,8 ± 4,5	15,0 ± 3,2	5,5 ± 1,2	3,9 ± 2,7

# Факторы сдерживающие внедрение MALDI-TOF спектрометрии:

- Отсутствие стандартов пробоподготовки для идентификации бактерий непосредственно в клиническом материале;
- Недостатки программного обеспечения ,затрудняющие достоверную интерпретацию результатов.

# Секвенирование генома бактерий:

-мультилокусное

-полногеномное



© Ermolaev Pavel 2008

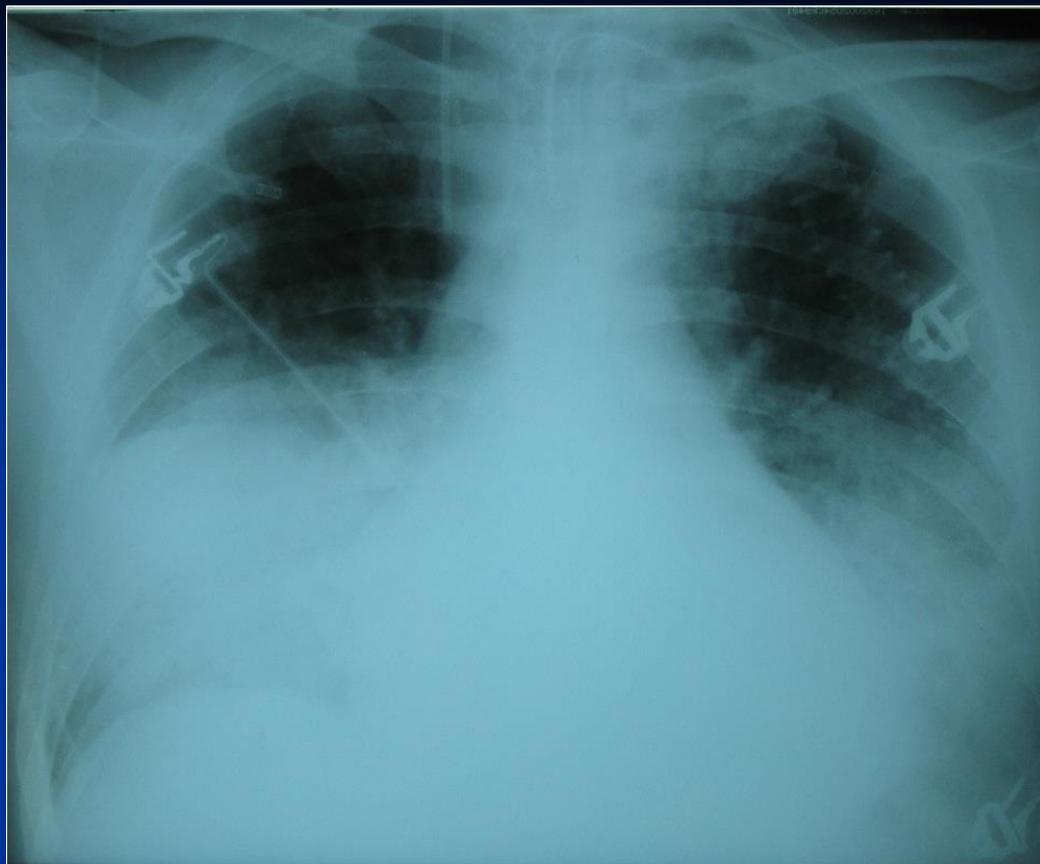


© Ermolaev Pavel 2008

- Диагностику легионеллезной пневмонии осуществляли у 85 пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии Гематологического научного центра с января 2012 по март 2014 года. Больные с пневмонией (100%), в состоянии агранулоцитоза (40%), лимфома, лейкоз, миелома (70%).
- Для диагностики использовали бактериологическое исследование бронхоальвеолярного лаважа и определение антигена легионелл в моче пациентов иммунохроматографическим методом.

- Диагноз легионеллезной инфекции был подтвержден у 9 больных (10,5% случаев) при исследовании БАЛ бактериологическим методом.
- Впервые прижизненно выделены культуры *Legionella pneumophila* серогруппы 1 (3), серогруппы 3 (5).





**Рис.** На рентгенограмме грудной клетки больного К. 13.02.2012 нижние отделы правого легочного поля затемнены, сверху затемнение отграничено малой междолевой щелью. Легочный рисунок усилен, деформирован. На этом фоне определяются очаговые тени, частично сливающиеся между собой. Корни легких не дифференцируются. Синусы не визуализируются. Тень сердца расширена влево. Картина двусторонней очагово-сливной плевропневмонии.

# The characteristics of the patients

Patient №	Age	Sex	Hematological diagnosis	Isolated culture of <i>L.pneumophila</i> from bronchoalveolar fluid	Another pathogen, isolated from bronchoalveolar fluid	outcome
1	58	M	Drug agranulocytos	sg 1	A.baumanii	recover
2	34	M	Immune trombocytopenie	sg 3	-	death
3	52	F	Non-Hodgkins lymphoma	sg 3	P.juroveci	death
4	32	M	Acute leukaemie	sg 3	Aspergillus spp.	death
5	64	M	Multiple myeloma	sg 3	-	death
6	55	M	Multiple myeloma	sg 1	-	recover
7	83	M	Non-Hodgkins lymphoma	sg 1	-	recover
8	81	M	Non-Hodgkins lymphoma	sg 3	-	recover



Результаты микробиологического исследования образцов воды и смывов на наличие легионелл в ФГБУ Гематологический научный центр.

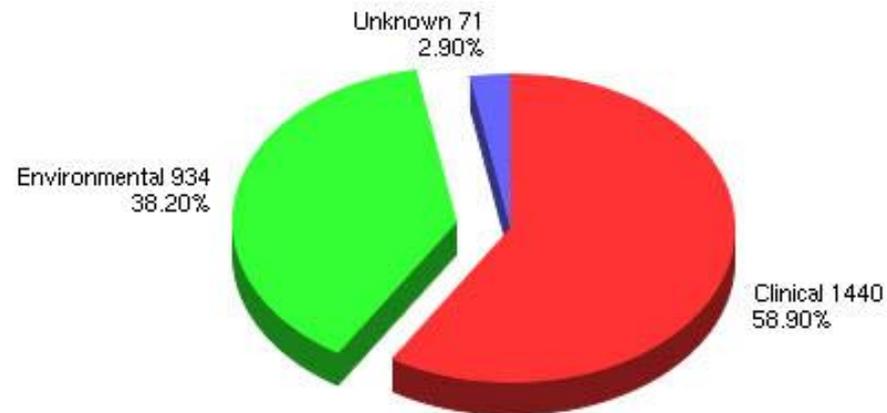
Проба воды для исследования	Количество легионелл (КОЕ\литр)
1. Отделение гематологии	$6 \times 10^2$
2. Отделение реанимации	$3 \times 10^2$
3. Отделение трансплантологии	$6,2 \times 10^3$
4. Отделение гемодиализа	$2,7 \times 10^3$
5. Новое отделение (высокодозная химиотерапия лимфом)	$5,5 \times 10^4$
6. Проба воды из бойлерной	$1,1 \times 10^5$

# EWGLI

## (European Working Group for Legionella Infections)

Total number of entries:	<b>2445</b>
Number of <b>Sequence Types</b> :	<b>560</b>
Number of <b><i>flaA</i></b> alleles:	<b>26</b>
Number of <b><i>pilE</i></b> alleles:	<b>34</b>
Number of <b><i>asd</i></b> alleles:	<b>37</b>
Number of <b><i>mip</i></b> alleles:	<b>41</b>
Number of <b><i>mompS</i></b> alleles:	<b>55</b>
Number of <b><i>proA</i></b> alleles:	<b>36</b>
Number of <b><i>neuA</i></b> alleles:	<b>26</b>

Sample source, total number of records 2445



29.10.08



Provided by The European Working Group for Legionella Infections (EWGLI) in conjunction with



Health Protection Agency and



The European Centre for Disease Prevention and Control

The results of DNA-sequence based and  
 Mab typing of *L.pneumophila* strains.  
 Isolated from bronchoalveolar fluid of patients.

clinical strains of <i>L.pneumophila</i>	serogroup	Mab-subgroup	st
Hem 1	1	France/Allentown	42
Hem 4	1	Philadelphia	36
Hem 5	1	Benidorm	1489
Hem 2	3	-	87
Hem 3	3	-	87
Hem 6	3	-	87
Hem 7	3	-	87
Hem 8	3	-	87

Из системы горячего водоснабжения  
выделены культуры *L.pneumophila* серогрупп  
2 и 3. *L. pneumophila* серогруппы 1  
отсутствует.

Все изоляты  
*L.pneumophila* серогруппы 3  
из воды принадлежат к ST87

Дифференциация случаев легионеллезной пневмонии в Гематологическом центре:

-3 случая внебольничной пневмонии,  
вызванной *L.pneumophila* sg 1.

-НОЗОКОМИАЛЬНАЯ ПНЕВМОНИЯ,  
вызванная *L.pneumophila* sg3  
(5+3 случаев).

# РОЛЬ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ИНДУСТРИИ В МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОМ ОБЕСПЕЧЕНИИ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

- Доля отечественной продукции в секторе рынка аналитических приборов не превышает 10%
- Доля отечественной продукции в секторе рынка специализированных наборов реагентов и расходных материалов для клинико-диагностических исследований не превышает 30%
- Доля отечественной продукции в секторе рынка вспомогательного оборудования составляет примерно 50%

В 2015 году ожидается рост цен на импортные лабораторные товары более чем на 30%. Это создаст серьезные проблемы и может привести к сокращению объемов клинико-лабораторных исследований.

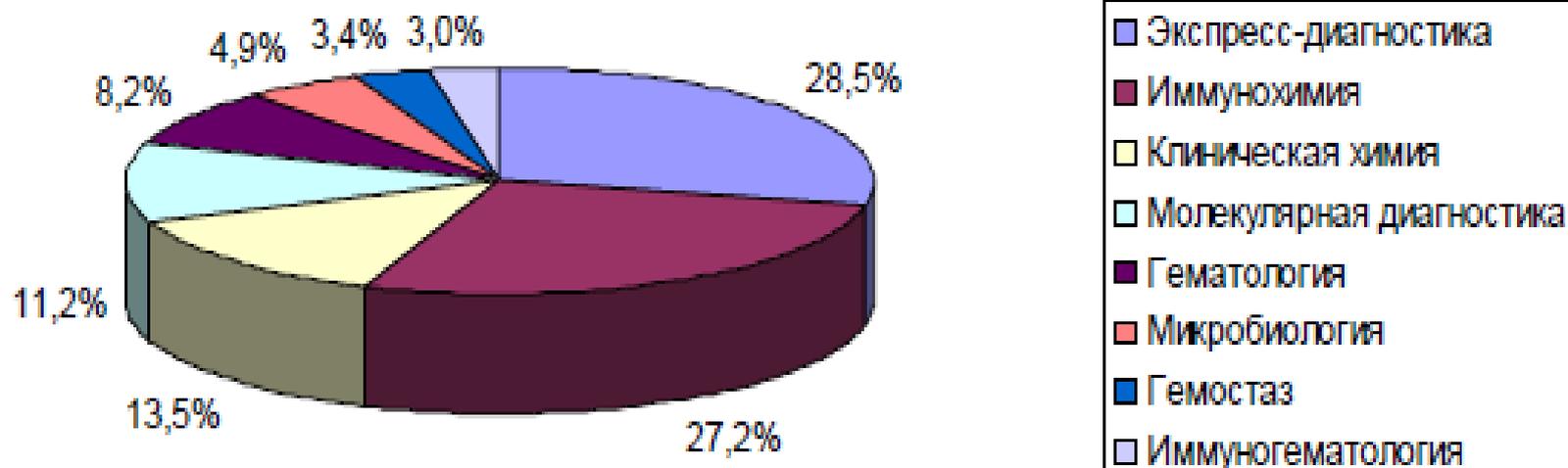
**Импортозамещение является ключевым вопросом в обеспечении стабильной работы лабораторной службы, вне зависимости от валютных курсов.**

# ПРОИЗВОДСТВО СРЕДСТВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПО СЕГМЕНТАМ

МИРОВОЙ ОБЪЕМ ПРОИЗВОДСТВА, МЛРД.ДОЛЛ.

СЕГМЕНТ	2012	2017	Рост
Экспресс-диагностика	15	22,1	47%
Иммунохимия	14,3	19,9	39%
Клиническая биохимия	7,1	8,8	24%
Молекулярная диагностика	5,9	8,8	49%
Гематология	4,3	5,9	37%
Микробиология	2,6	3,7	42%
Гемостаз	1,8	2,6	44%
Гематологическая иммунология	1,5	1,8	20%
<b>ВСЕГО:</b>	<b>52,5</b>	<b>73,6</b>	<b>40%</b>

## ДОЛИ В ОБЪЕМЕ ПРОИЗВОДСТВА РАЗЛИЧНЫХ РАЗДЕЛОВ ДИАГНОСТИКИ



# ПРОГНОЗЫ И ТЕНДЕНЦИИ

Опережающий рост объемов производства средств экспресс-диагностики за счет иммунохроматографических методов и создание экспресс-технологий в биохимических и других разделах клинической диагностики.

Радикальное упрощение аналитических процессов.

Децентрализация рутинных лабораторных исследований, приближение к месту лечения.

# Основные группы методов используемых для диагностики инфекционных болезней

- Культуральные (питательные среды)
- Иммуносерологические (РИФ, ИФА)
- Молекулярно-генетические (ПЦР, чипы и др.)
- Экспресс методы («point of care» - у постели больного)

# ЦЕНТРАЛЬНАЯ ФАБРИКА ГОТОВЫХ СРЕД, г. Москва



Это первое в России импортозамещающее высокотехнологичное производство готовых к использованию питательных сред, соответствующее российским и международным стандартам





ЦЕНТРАЛЬНАЯ ФАБРИКА  
ГОТОВЫХ СРЕД

# ЦФГС

1. Агар Эндо, готовый, в чашке Петри 90 мм
2. Триптиказо-соевый агар с ДК, готовый, в чашке Петри 90 мм
3. SS-агар (сальмонеллезно-шигеллезный агар), готовый, в чашке Петри 90 мм
4. Солевой агар с маннитом, готовый, в чашке Петри 90 мм
5. Шоколадный агар с ростовыми добавками, готовый, в чашке Петри 90 мм
6. Агар МакКонки с лактозой, готовый, в чашке Петри 90 мм
7. Агар МакКонки с сорбитом, готовый, в чашке Петри 90 мм
8. Триптиказо-соевый агар с ДК, готовый, в чашке Петри 90 мм
9. Агар Сабуро с декстрозой и хлорамфениколом, готовый, в чашке Петри 90 мм
10. Агар Сабуро с декстрозой, хлорамфениколом и актидионом, готовый, в чашке Петри 90 мм
11. Агар Байрда-Паркера, готовый, в чашке Петри 90 мм
12. Агар Сабуро с декстрозой, твином-80 и лецитином, готовый, в чашке Петри 90 мм
13. Агар Сабуро с декстрозой, готовый, в чашке Петри 90 мм
14. Триптиказо-соевый агар, готовый, в чашке Петри 90 мм
15. Триптиказо-соевый агар с твином 80 и лецитином, готовый, в чашке Петри 90 мм
16. Кампилобактериозный агар с ДК, готовый, в чашке Петри 90 мм
17. Колумбийский CNA агар с ДК, готовый, в чашке Петри 90 мм
18. Агар с эозином и метиленовым синим (среда Левина), готовый, в чашке Петри 90 мм
19. CLED агар, готовый, в чашке Петри 90 мм
20. XLD-агар (ксилозо-лизин-дезоксихолятный агар), готовый, в чашке Петри 90 мм
21. Агар Мюллера-Хинтона, готовый, в чашке Петри 90 мм
22. Колумбийский агар с ДК, готовый, в чашке Петри 90 мм
23. Гемофилезный тестовый агар, готовый, в чашке Петри 90 мм
24. Энтерококковый (азидный) агар, готовый, в чашке Петри 90 мм



# Быстрые иммунохроматографические тесты для выявления возбудителей инфекций



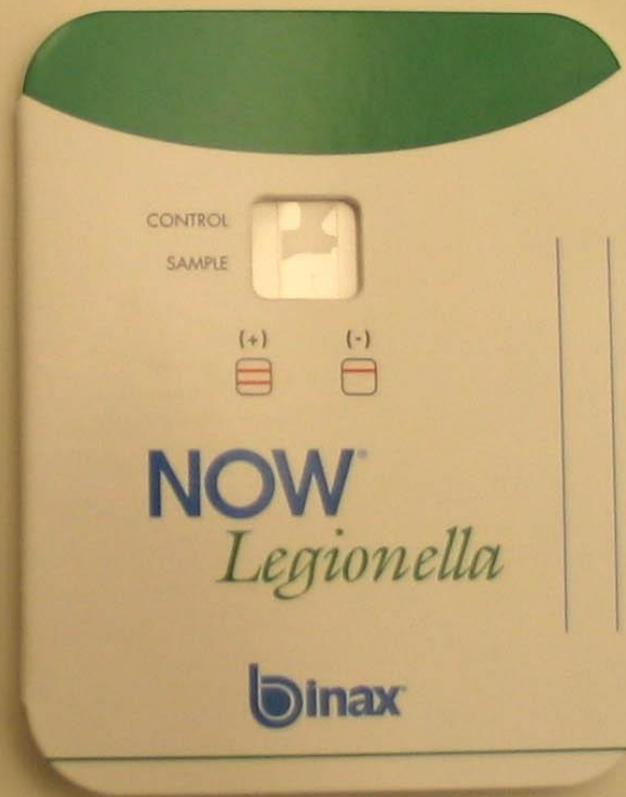
Kyokuto



SAS/Eiken



Trinity



Binax





«*Giardia/Crypto Тест*»  
ЭКСПРЕСС-ТЕСТ  
ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОДНОЭТАПНОГО  
ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ  
*Giardia intestinalis/Cryptosporidium spp.* В ФЕКАЛИЯХ  
20 тестов  
Кат. № R-6028

Срок годности: 2013-06  
Номер серии: N-027  
Регистрационное удостоверение:



Представительство в РФ: ООО «ГЕМ»  
г. Москва, Новый Зыковский пр., д. 4а  
(495) 787 04 32 sale@hemtd.ru



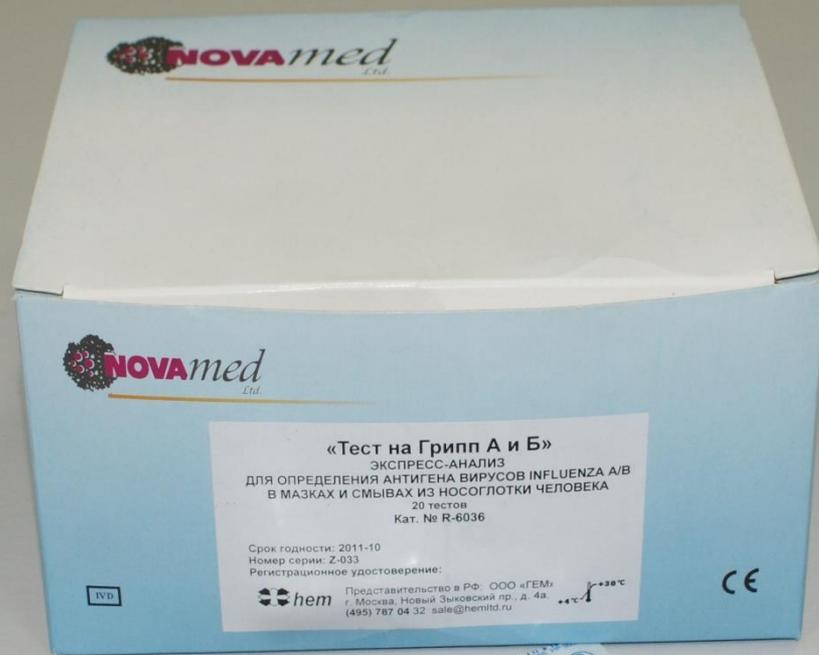
CRYPTO-GIARDIA

LOT: N-027  
EXP: 2013-06

CRYPTO-GIARDIA

LOT: N-027  
EXP: 2013-06



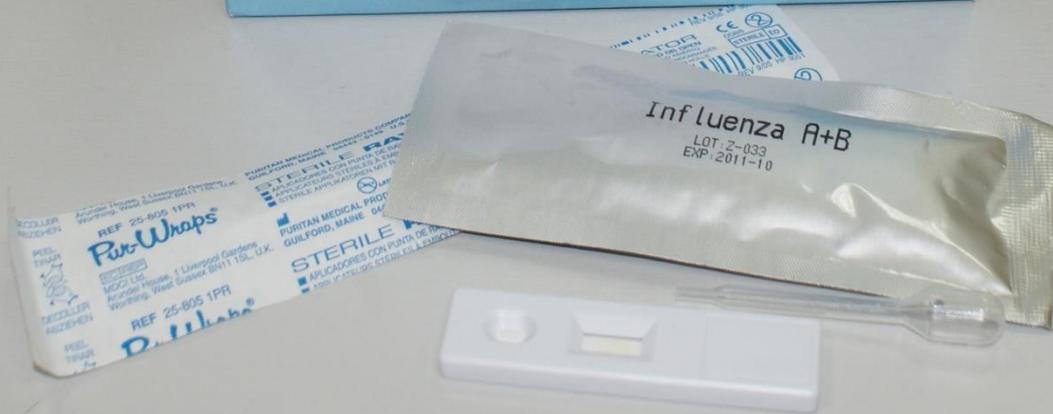


«Тест на Грипп А и Б»  
ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ  
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА ВИРУСОВ INFLUENZA A/B  
В МАЗКАХ И СМЫВАХ ИЗ НОСОГЛОТКИ ЧЕЛОВЕКА  
20 тестов  
Кат. № R-6036

Срок годности: 2011-10  
Номер серии: Z-033  
Регистрационное удостоверение:

hem Представительство в РФ: ООО «ГЕМ»  
г. Москва, Новый Зыковский пр. д. 4а  
(495) 787 04 32 sale@hemtd.ru

CE



## **Вирусы**

Ротавирусы

Аденовирусы

Астровирусы

Энтеровирусы

Респираторно-синцитиальный вирус

Вирус гриппа

Вирус Эпштейна-Барра

Вирус иммунодефицита человека

## **Бактерии**

Стрептококки группы А

*Streptococcus agalactiae*

*Streptococcus pneumoniae*

*Helicobacter pylori*

*Clostridium difficile*

Энтерогеморрагические штаммы  
серогруппы O157 *E. coli*

*Salmonella typhi*

*Salmonella* spp.

*Listeria monocytogenes*

*Campylobacter* spp.

*Neisseria gonorrhoeae*

*Chlamydia trachomatis*

*Legionella pneumophila*

*Francisella tularensis*

*Bacillus anthracis*

## **Простейшие**

Cryptosporidium sp.

Giardia lamblia

Plasmodium sp.

Entamoeba histolytica

## **Гельминты**

Wucheria bancrofti



**МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**  
(Минздрав России)

**ЗАМЕСТИТЕЛЬ МИНИСТРА**

Рахматчиковский пер., 3, Москва, 1 С/П 4, 127991  
тел.: (495) 628-44-93, факс: (495) 628-50-58

11 МАРТ 2013 № 16 - 3/10/12-5333

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

Главным внештатным  
специалистам Минздрава России

Минздрав России



2005339 24.07.13

Министерство здравоохранения Российской Федерации в целях обеспечения единых подходов к разработке и утверждению клинических рекомендаций (протоколов лечения) по вопросам оказания медицинской помощи (далее - клинические рекомендации) сообщает.

Клинические рекомендации должны соответствовать типовому макету клинических рекомендаций, утвержденному на совещании главных внештатных специалистов Минздрава России 15 марта 2013 г.

Клинические рекомендации должны содержать коды международной статистической классификации болезней (МКБ).

Обращаем внимание, что в соответствии со ст. 76 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» клинические рекомендации разрабатываются и утверждаются с участием медицинских профессиональных некоммерческих организаций.

Соответствующие данной законодательной норме клинические рекомендации должны быть рассмотрены на заседаниях соответствующей профильной комиссии и утверждены главным внештатным специалистом Минздрава России.

Утвержденные клинические рекомендации направляются в Департамент специализированной медицинской помощи и медицинской реабилитации Минздрава России в соответствии с сетевым графиком.

И.Н.Каграмян

# Порядок подготовки и утверждения клинических рекомендаций МЗ России.

Подготовка документа общественной  
медицинской научной организации.



Утверждение документа профильной  
комиссии Минздрава России по  
клинической лабораторной диагностике



В Минздрав России для включения в  
стандарты оказания медицинской  
помощи по направлениям (раздел  
антимикробной терапии).

# Основные направления совершенствования методической базы по группам (наиболее массовые исследования)

- *ВИЧ-инфекция и гепатиты*
- Инфекции связанные с оказанием медицинской помощи
- Определение антибиотикорезистентности
- Респираторные инфекции и пневмонии, кишечные инфекции
- Стандартизованные микробиологические процедуры, методики
- Оппортунистические инфекции

## Клинические рекомендации (утвержденные)

- Внутрилабораторный контроль качества питательных сред.
- Бактериологический анализ мочи.
- Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний.
- *Молекулярно-биологическое исследование для выявления ДНК или РНК возбудителей инфекций, выявляемых половым путем.*
- *Молекулярно-биологическое исследование «Определение концентрации РНК ВИЧ в плазме крови.*

## Проекты клинических рекомендаций на 2014 год

- Определение антибиотикорезистентности микроорганизмов
- Лабораторная диагностика оппортунистических инфекций
- Микробиологическая диагностика инфекций кровотока – принципы и процедура гемокультивирования.
- Диагностика кандидозов

# Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.»

XVI международный конгресс по антимикробной химиотерапии МАКМАХ/ESCMID, май 2014, Москва  
Всероссийская научно-практическая конференция по медицинской микробиологии и клинической микологии  
,XVII Кашкинские чтения ,июнь 2014, Санкт-Петербург.

1.Раздел I. Методология оценки чувствительности к антибиотикам.

2.Раздел II. Пограничные значения МПК и зон подавления роста для определения клинических категорий чувствительности бактерий к антимикробным препаратам.

3.Раздел III. Экспертные правила оценки чувствительности к антимикробным препаратам .

Всероссийская научно-практическая  
конференция по медицинской  
микробиологии и клинической  
микологии ,XVII Кашкинские чтения ,  
июнь 2014, Санкт-Петербург.

Конференция  
«Микробиологические аспекты  
диагностики и профилактики  
внутрибольничных инфекций».

4-5 декабря 2014 года ,Железноводск



ФЕДЕРАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

## Фундаментальный регулятор лабораторного сообщества



**БЛАГОДАРЮ  
ЗА  
ВНИМАНИЕ**