

# Современные возможности микробиологической диагностики



# BD

Helping all people  
live healthy lives



Аделина Гаязова  
Специалист по продукции

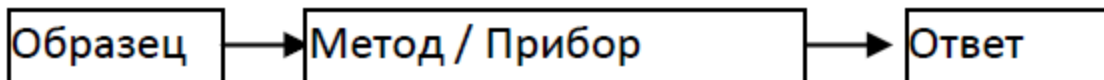
BD Diagnostic  
Diagnostic Systems

# **BD** Микробиологическая лаборатория глазами клиницистов

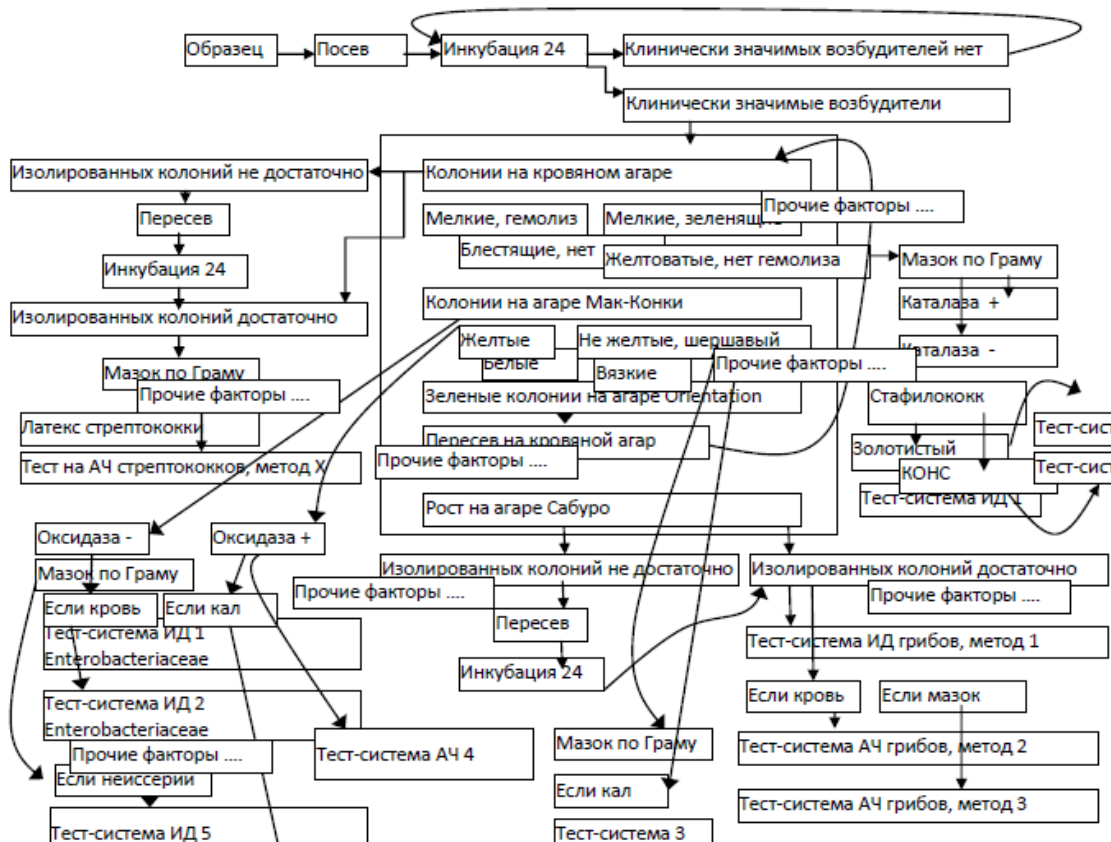
- Время ожидания результатов до недели, назначение эмпирической терапии
- К моменту получения результатов бактериологических исследований пациент выздоравливает, либо заканчивает второй курс антибиотиков
- Часто назначения бак. исследований только в случаях неэффективной эмпирической терапии
- Назначения на основе стандартов лечения



## Схема процессов для 1 теста в КДЛ:



## Схема процессов для 1 теста в микробиологии:





# Особенности микробиологического исследования

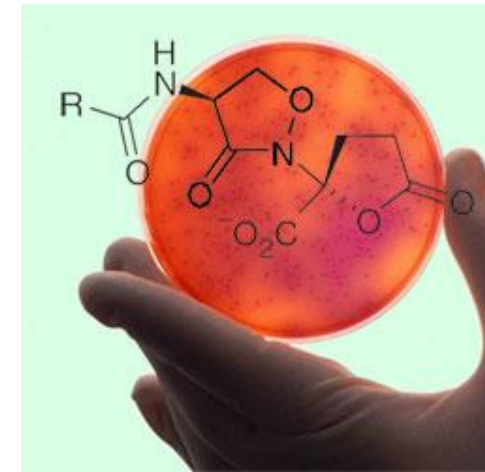
**Объект исследования - живая, неоднородная масса, с плохо предсказуемыми и меняющимися свойствами**

- Крайне трудоемкое исследование
- Сложные протоколы исследования
- Разветвленные, нелинейные рабочие процессы
- Множественные ручные операции
- Много непродуктивных операций: пересевы, повторные тесты, просмотр отрицательных посевов ...

На сегодняшний день для клинического использования доступен **широкий перечень антимикробных препаратов**.

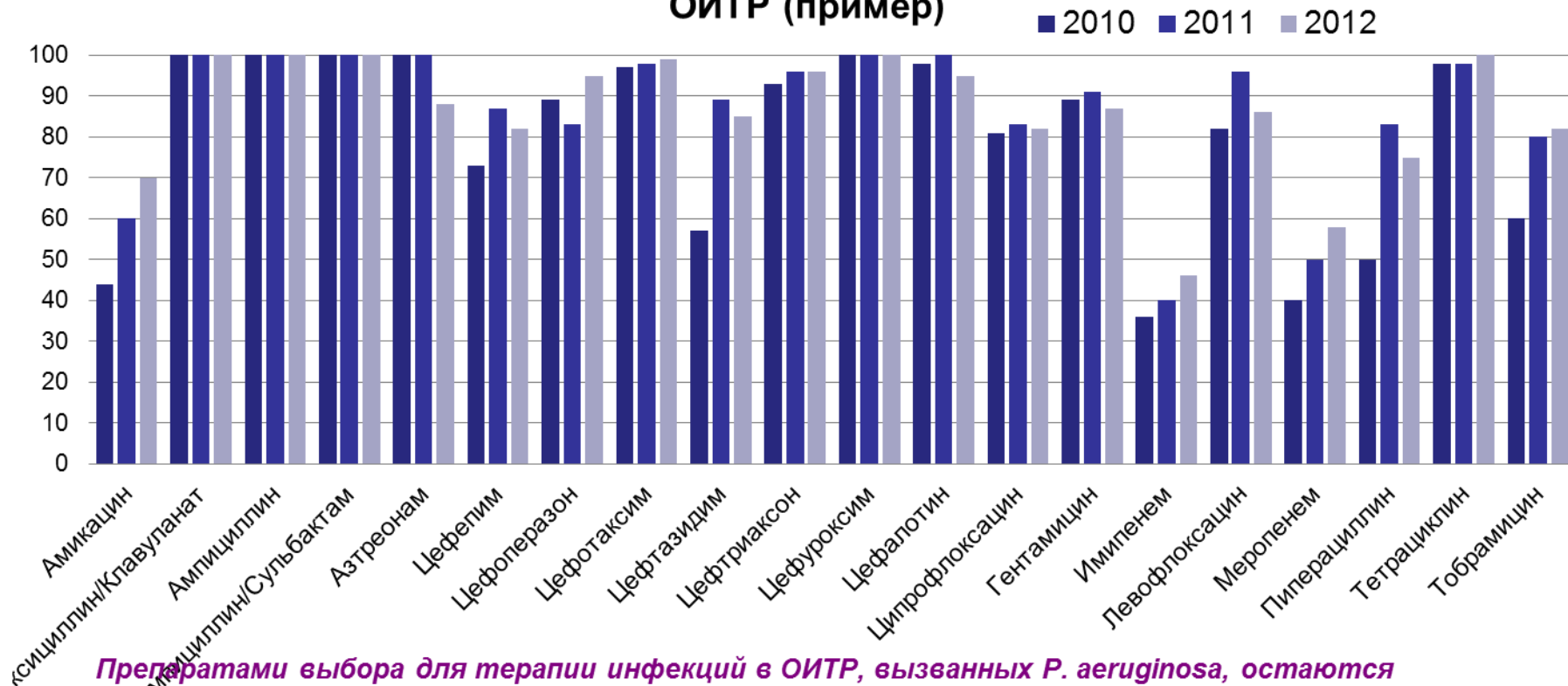
Но, несмотря на это, проблема лечения инфекций крайне далека от решения. Это связано с возможностью **вырабатывания устойчивости микроорганизмов** ко всем классам антибиотиков без исключения.

Рост устойчивости возбудителей внебольничных и нозокомиальных инфекций к антимикробным препаратам наблюдается во всем мире. В России проблема антимикробной резистентности принимает угрожающие масштабы.



# Развитие антибиотикорезистентности

Резистентность *P.aeruginosa* к антибактериальным препаратам, ОИТР (пример)



*Препаратами выбора для терапии инфекций в ОИТР, вызванных *P. aeruginosa*, остаются имипенем, меропенем и амикацин. Однако с учетом резко возрастающей резистентности амикацин нельзя отнести к реально действующим и перспективным препаратам.*

# Развитие антибиотикорезистентности

При назначении адекватной направленной антибиотикотерапии в течение первых трех дней с начала инфекции, **летальность снижается более чем в два раза.**

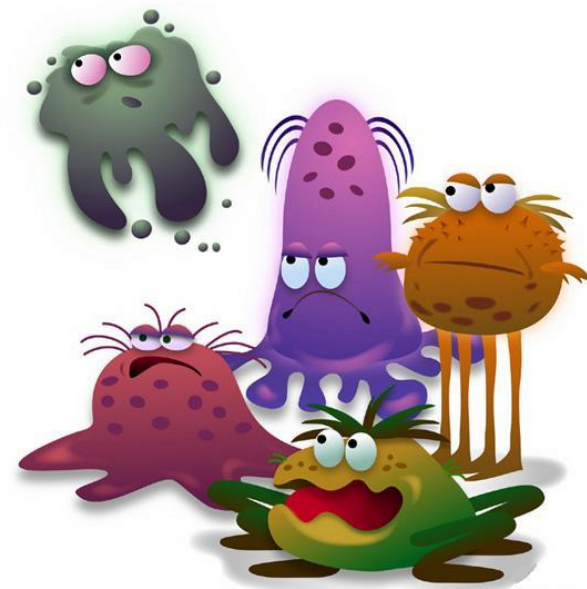


**% летальности в отделении интенсивной терапии среди пациентов с бактеримией**  
Ibrahim et al, Chest 2000 Washington Univ. of St. Louis.

# Развитие антибиотикорезистентности

Скорость развития резистентности зависит от вида АМП и вида микроорганизма, но в целом новые резистентные штаммы возникают и распространяются в течение 1-2 лет.

Скорость разработки и вывода на фармацевтический рынок нового АМП составляет 5-7 лет.

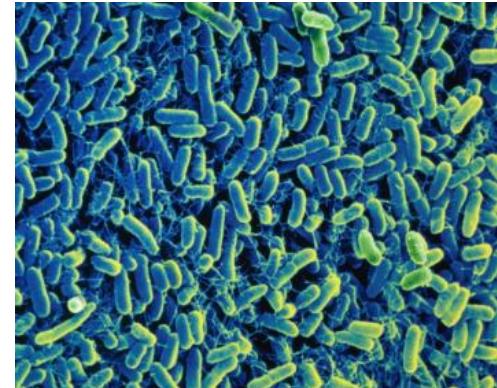




# Развитие антибиотикорезистентности

Способность микроорганизмов формировать устойчивость к антибиотикам сопряжена с рядом негативных последствий как для отдельных пациентов, так и для общества в целом:

- ухудшение прогноза выздоровления,
- увеличение летальности,
- рост экономических затрат на лечение



## Современная микробиологическая лаборатория обеспечивает:

- Получение результатов с развернутой антибиотикограммой за 48 часов
- Контроль за развитием резистентных штаммов, выявление всех известных маркеров резистентности
- Высеваемость даже на фоне приема антимикробных препаратов
- Широкий спектр идентифицируемых клинически значимых микроорганизмов (более 500 видов)
- Стандартизация и автоматизация бактериологических исследований



# Работа микробиологической лаборатории

**Преаналитический этап:**

- **Взятие и транспортировка в лабораторию**

**Аналитический этап:**

- **Выделение возбудителей из образца**
  - первичный посев
  - инкубация при нужной  $t^{\circ}C$  и атмосфере
  - подсчет, оценка клинической значимости
  - пересев для получения чистой культуры
- **Идентификация**
  - ориентировочные тесты
  - идентификация
- **Определение чувствительности к АМП**

***Задача: не допустить гибели или размножения микроорганизмов в образце***

Требования к исследуемым образцам:

- Тип биоматериала выбирается лечащим врачом на основе симптомов и стандартов диагностики.
- Образцы биоматериала берут до назначения антимикробной терапии, соблюдая правила асептики.
- Образцы должны быть доставлены в лабораторию с соблюдением всех правил.



**Необходима лаборатория, соответствующая единым стандартам качества выполнения исследований**





# Аналитический этап. Выделение возбудителей из образца

Автоматизированная бактериологическая рабочая станция BD Kiestra™ WCA

- Автоматический посев жидких и твердых образцов
- Стандартизация посева
- Автоматическая инкубация
- Цифровой учет результатов

**Время выделения возбудителей из образца сокращается от 12 до 24 часов**

Выделение возбудителей классическими ручными методами занимает от **48 до 72 часов**





# Аналитический этап. Идентификация возбудителя

Автоматическая система идентификации микроорганизмов и определения антибиотикочувствительности BD Phoenix™

- Идентификация более 160 Грам- (ферментирующие, неферментирующие, 140 Грам+ и 64 вида дрожжей и грибов
- Использование одновременно флуориметрического и колориметрического методов для идентификации микроорганизмов, что повышает точность исследования
- **Среднее время идентификации в системе Phoenix™ 3-4 ч**

Среднее время идентификации ручными методами составляет **10-12 часов**



# Аналитический этап. Идентификация возбудителя

## Масс-спектрометрический метод

- Идентификация более 1000 клинически значимых микроорганизмов
- Высокая специфичность
- Среднее время идентификации 10-15 мин



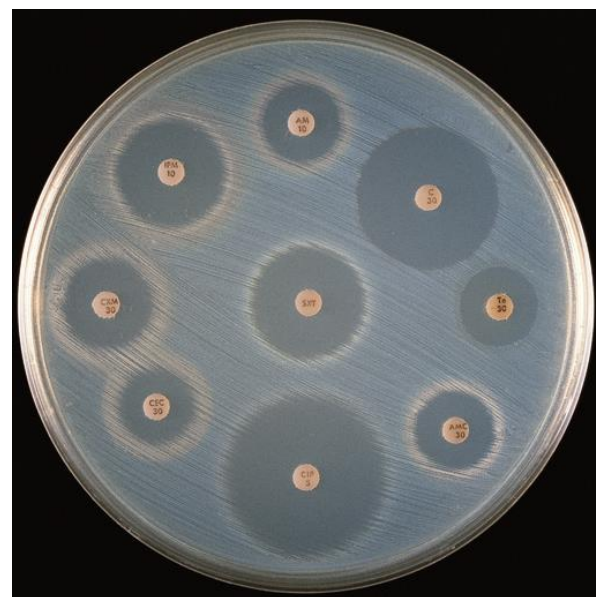


## Определение чувствительности к АМП

**Диско-диффузионный метод –  
качественный, ручной**

- Готовят суспензию **ЧИСТОЙ** (предварительно выделенной) культуры
- Суспензию засевают газоном на чашку с агаром Мюллер-Хинтон
- Сверху пинцетом или диспенсером наносят диски с антибиотиками
- Инкубируют
- Измеряют  $\varnothing$  зоны подавления роста
- Интерпретируют по стандарту S, I, R

**Время проведения теста 24 часа**





## Аналитический этап.

# Определение чувствительности к АМП

Автоматическая система идентификации микроорганизмов и определения антибиотикочувствительности BD Phoenix™

**Количественный  
Метод микроразведений**

**Автоматическое тестирование и  
Интерпретация на основе  
CLSI, EUCAT**

**Выявление всех известных  
механизмов резистентности**



**Время проведения теста 6-8 часов**

## Определение чувствительности к АМП

**Метод микроразведений –**

**количественный, автоматический**

–Готовят суспензию **ЧИСТОЙ**

(предварительно выделенной) культуры

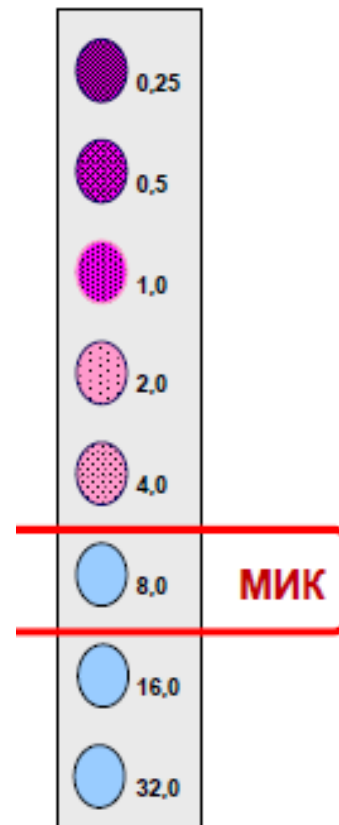
–Вносят в пробирки / лунки тест-системы,  
где антибиотики внесены в двукратных  
разведениях

–Инкубируют

–Определяют **минимальную**

**концентрацию, подавляющую рост**  
**(МИК или МПК)**

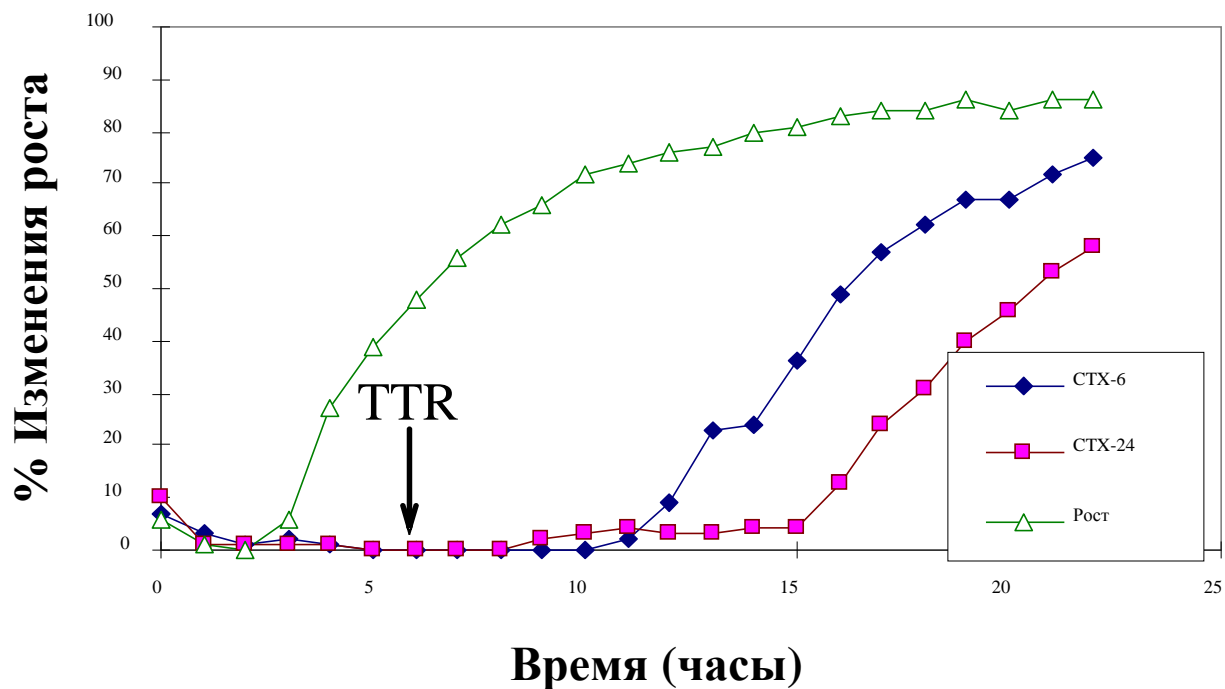
–Интерпретируют по стандарту S, I, R



## Определение чувствительности к АМП

**Отсроченная резистентность** : явление, при котором у устойчивого организма в присутствии антибиотика присутствует задержка роста (лаг-фаза) 5-6 часов

*Serratia marcescens* в присутствии Cefotaxime(CTX)  
Графики Роста



TTR – время до получения результата



# Аналитический этап.

## Определение маркеров резистентности

- ESBL Extended-spectrum beta-lactamase
- Macrolide resistance in Streptococci and Staphylococci (Efflux/MLSb)
- MRSA: Methicillin (Oxacillin) Resistant Staph aureus
- mecA mediated resistance in Staphylococcus
- Carbapenem Resistance
- b-lactamase: Staphylococcus Penicillinase
- VRSA: vancomycin resistant Staphylococcus aureus
- VISA: vancomycin intermediate Staphylococcus aureus
- TISA: teicoplanin intermediate Staphylococcus aureus
- TRSA: teicoplanin resistant Staphylococcus aureus
- VRE: Vancomycin Resistant Enterococci
- HLAR: High level aminoglycoside resistance (Gentamicin HLGR or Streptomycin HLSR)
- TRE: teicoplanin resistant Enterococcus
- High level mupirocin resistance in S. aureus
- Class A Carbapenemase



## Аналитический этап.

# Определение чувствительности к АМП

### Зачем нужна МИК:

–Определение режима дозирования при нестандартной массе тела или при отсутствии опций для лечения (полирезистентные штаммы)

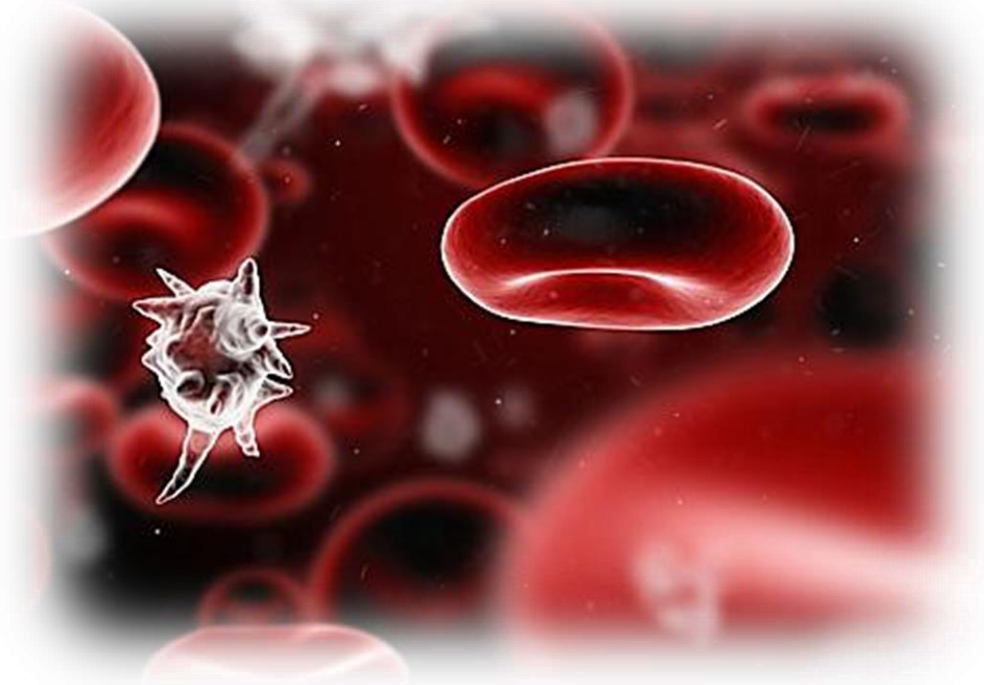
–Определение клинически значимых механизмов резистентности, прогноз активности антибиотика *in vivo*

# Гемокультивирование

- Наиболее важный инструмент для диагностики септицемии
- Высокая смертность пациентов вследствие **бактериемии и фунгемии** (данные ВОЗ) **4.5- 6.0 млн** умерших в год в мире в сравнении с:

1.8 млн умерших в год  
от СПИДа

1.7 млн умерших  
в год от туберкулеза



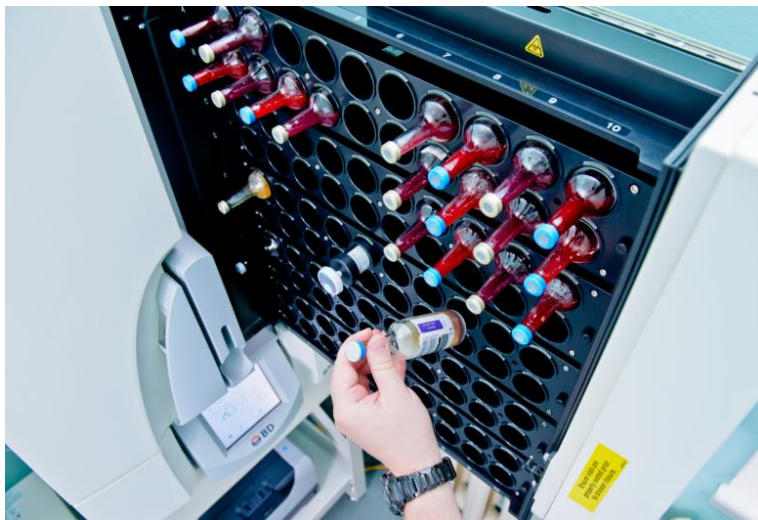




# Современная диагностика сепсиса бактериологическими методами

- Положительные результаты гемокультур на первые - вторые сутки после посева
- *Высеваемость даже на фоне приема антимикробных препаратов*

Реальность при соблюдении правил преаналитики





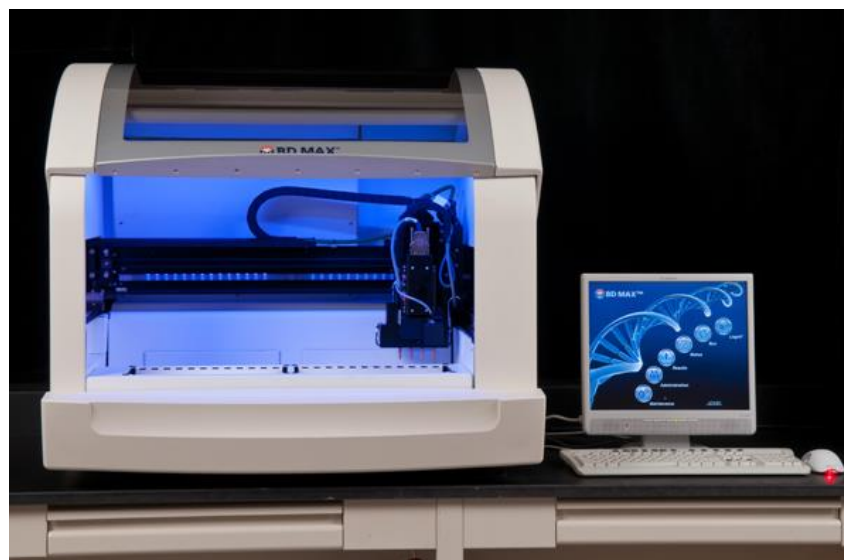


# Дополнительные возможности – метод ПЦР

Молекулярно-генетический анализ (ПЦР)

«+» Скорость, высокая специфичность, идентификация **сложнокультивируемых микроорганизмов и вирусов**, возможность **скрининга**

«-» Таргетный анализ, невозможно оценить жизнеспособность микроорганизма



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная микробиологическая лаборатория позволяет:

- ✓ достичь высеваемости более 90%
- ✓ получать окончательный результат посева в течение 1-2 суток
- ✓ назначить адекватную антибиотикотерапию в первые 3 суток лечения, следовательно:

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная микробиологическая лаборатория позволяет:

- ✓ достичь высеваемости более 90%
- ✓ получать окончательный результат посева в течение 1-2 суток
- ✓ назначить адекватную антибиотикотерапию в первые 3 суток лечения, следовательно:
  - Снизить % развития резистентных штаммов
  - Снизить частоту осложнений
  - Увеличить выживаемость в 2 и более раза
  - Сократить стоимость антибиотикотерапии и время пребывания в ОРИТ
  - Сохранять антибиотики резервной группы

Одиночество не даёт покоя?



Запомни:  
ты не одинок.



ТЫ НИКОГДА НЕ БУДЕШЬ ОДИНОК.

Вопросы?