



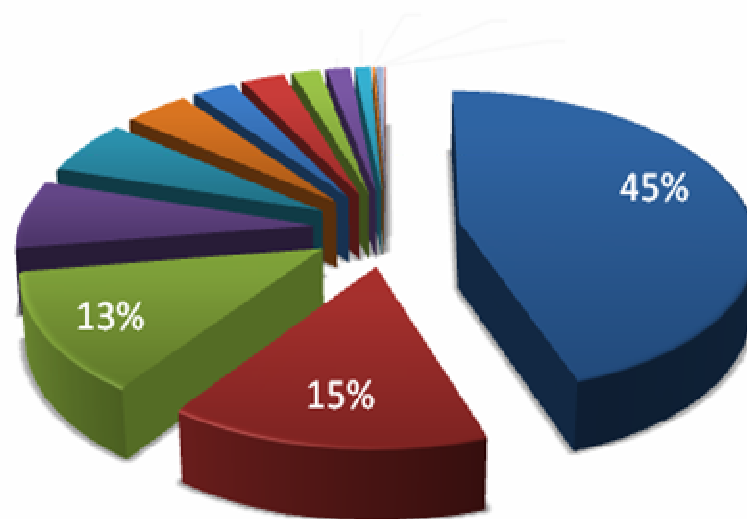
Возможности микробиологической службы многопрофильного стационара по выявлению фенотипов резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом.

Мурманск 2014

**Гордеева Светлана Александровна
Заведующая централизованной многофункциональной лабораторией
ГОБУЗ «Мурманская областная больница им. П.А.Баяндина»**



Структура анализов по биоматериалам 2013 г.



- моча
- кровь
- бронхиальный лаваж
- раневое отделяемое
- мокрота
- отделяемое зева, носа
- содержимое полостей
- отделяемое ушей
- отделяемое половых органов
- плевральная жидкость
- ликвор
- отделяемое глаз
- прочие биоптаты
- желчь

«Чем лечить?»



«КТО ВИНОВАТ?» и
«ЧТО ДЕЛАТЬ?»

автоматизированный микробиологический комплекс



- планшетный фотометр iEMS Reader (Labsystems)
 - программное обеспечение «Микроб-автомат»
- система микробиологического мониторинга «Микроб» (АО «Аналитика»).



автоматизированная система «Bact Alert – 3 D»



микробиологический анализатор «Vitek -2 compact»
«bio-Merieux» (Франция)



АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ

ДОСТОИНСТВА:

- **Сокращение сроков исследования**
- **Использование международных стандартов**
- **Сокращение затрат рабочего времени персонала лаборатории**
- **Возможность компьютерного анализа**

определение чувствительности с помощью АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ СИСТЕМ



Количество антибиотиков в составе используемых тест-систем от 18 до 22, что существенно расширяет возможности для выбора антимикробной терапии.

Программа «Микроб»

- это электронная база данных
всех микроорганизмов,
выделенных от всех
обследованных пациентов
МОКБ с 2000 года, позволяющая
сделать любую выборку по
любому пациенту за любой
период.

МИКРОБ

2



Система
микробиологического
мониторинга

(с) МедПроект-3, 1999-2007

система микробиологического мониторинга «Микроб»

Микроб-2

Журнал Отчет Справка

3066

Журнал: Журнал № 9 Количество анализов: 2590

Имя	ФИО больного	Ирис...	Отделение	Дата пост.	Дата выд.	Экспорт
2139	Палин В В	564423	Пульмонология	18.03.2013	21.03.2013	-
214	Тункин А С	649362	Сосудистая хирургия	15.01.2013	19.01.2013	-
214 ст	Николаев М А	753455	Цеховая служба	07.02.2013	12.02.2013	-
2140	Севастьянова Т Н	15513	Клиникохирургия	18.03.2013	22.03.2013	-
2141	Богданов И А	613955	Вз	18.03.2013	20.03.2013	-
2142	Пухова С В	803670	Дневной стационар Урология	18.03.2013	21.03.2013	-
2143	Крестьянина Ф С	930825	Урология	18.03.2013	20.03.2013	-
2144	Норко Н И	747904	Урология	18.03.2013	20.03.2013	-
2145	Голубев В В	803769	Урология	18.03.2013	19.03.2013	-
2146	Трунов А Н	195296	Урология	18.03.2013	20.03.2013	-
2147	Воловук В А	803843	Урология	18.03.2013	20.03.2013	-
2148	Воробьева Н П	562548	Урология	18.03.2013	21.03.2013	-
2148	Човчев В А	775607	Урология	18.03.2013	21.03.2013	-

Журнал: Журнал № 13 (Гарогова) Количество анализов: 331

Имя	ФИО больного	Ирис...	Отделение	Дата пост.	Дата выд.	Экспорт
2158	Нагичев А Т	1611	МКК ФГУ Национальный медико-х.	18.03.2013	21.03.2013	-
2159	Елизаров И В	1610	МКК ФГУ Национальный медико-х.	18.03.2013	20.03.2013	-
215	Наумов В В	146	МКК ФГУ Национальный медико-х.	15.01.2013	17.01.2013	-
2160	Рогожин С Н	1624	МКК ФГУ Национальный медико-х.	18.03.2013	-	-
2161	Сорбонина В В	2161	МКК ФГУ Национальный медико-х.	18.03.2013	22.03.2013	-
2162	Удочин П А	2167	МКК ФГУ Национальный медико-х.	18.03.2013	22.03.2013	-
217	Гиржович О Б	1865	МКК ФГУ Национальный медико-х.	15.01.2013	18.01.2013	-
2172	Басильев П Б	1684	МКК ФГУ Национальный медико-х.	18.03.2013	-	-
218	Даниченко М М	182	МКК ФГУ Национальный медико-х.	15.01.2013	18.01.2013	-
219	Савельев А А	213	МКК ФГУ Национальный медико-х.	15.01.2013	17.01.2013	-


ПУСК

С. Микроб-2

АМ "Лабортест"

14:29

SAMSUNG



Возможности программного обеспечения:

Система микробиологического мониторинга «Микроб» (АО «Аналитика»)

Сформированный бланк анализа после внесения в него выделенных (одного или нескольких) микроорганизмов с соответствующими каждому виду антибиотикограммами проходит **автоматическую экспертную оценку.**

Чего ждут клиницисты от микробиолога?

По мнению большинства клиницистов наиболее ценная информация из микробиологической лаборатории - это результат определения чувствительности этиологического агента (микроорганизма) к антибактериальным препаратам

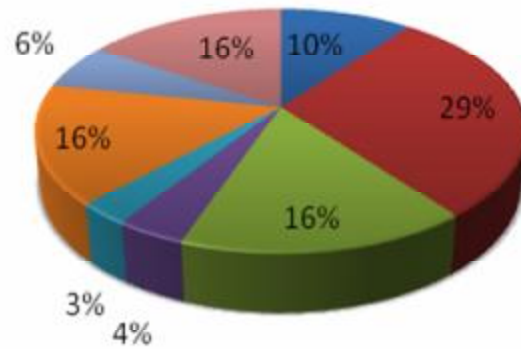




Рост антибиотикорезистентности по темпу опережает создание и внедрение в медицинскую практику новых эффективных антибактериальных препаратов.

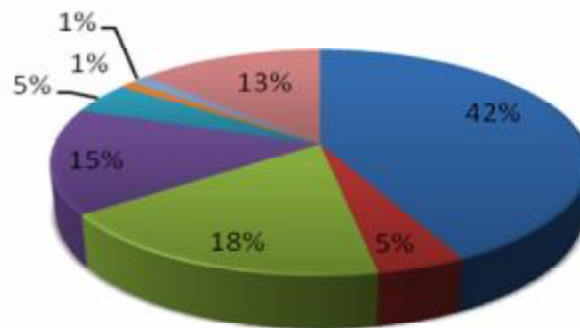


спектр выделенных культур 2013г. %




- Enterococcus sp.
- род Staphylococcus
- род Enteriobacteriaceae
- НГОБ
- Haemophilus influenzae/sp.
- Streptococcus sp.
- Candida sp.
- Прочие

ГОБУЗ МОКБ, 2013г. Структура полирезистентных штаммов, %



- Staphylococcus epidermidis MRSE
- Staphylococcus aureus MRSA
- Escherichia coli ESBL
- Klebsiella pneumonia/sp.ESBL
- Enterobacter cloacae/sp.ESBL
- Citrobacter freundii ESBL
- Serratia marcescens ESBL
- Acinetobacter baumannii/sp.



Государственное санитарно-эпидемиологическое
нормирование
Российской Федерации

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ И
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение чувствительности
микроорганизмов
к антибактериальным препаратам**

Методические указания
МУК 4.2.1890-04

Издание официальное

Москва • 2004



**Экспертная система
предупреждает назначение
заведомо неэффективной
антибактериальной терапии и,
кроме того, служит внутренним
контролем качества проведения
идентификации.**



National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)

**Национальный комитет по клиническим лабораторным
стандартам**

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

Институт клинических и лабораторных стандартов

**European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
(EUCAST)**

**Европейский Комитет по определению чувствительности
микроорганизмов к антибиотикам**, созданный Европейским
обществом по клинической микробиологии и инфекционным
болезням (*European Society for Clinical Microbiology and Infectious
Diseases - ESCMID*). В этом комитете также имеются
представители России.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)

Европейский Комитет по определению чувствительности


The screenshot shows the EUCAST website in a Mozilla Firefox browser window. The browser's address bar displays "www.eucast.org". The website header includes the EUCAST logo and the text "EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING" and "European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases". Navigation links for "Home", "Contact", and "Sitemap" are visible in the top right.

The left sidebar contains a list of navigation links: Organization, EUCAST News, Clinical breakpoints, Expert rules, MIC - distributions and QC, Zone diameter distributions, EUCAST disk diffusion test, Frequently Asked Questions (FAQ), Meetings, EUCAST Presentations, Documents, Information for industry, Links, and Website changes.

The main content area features a photograph of several petri dishes with antibiotic susceptibility test results. Below the image is the article title "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST". The article text states: "EUCAST is a standing committee jointly organized by ESCMID, ECDC and European national breakpoint committees. EUCAST deals with breakpoints and technical aspects of phenotypic in vitro antimicrobial susceptibility testing and functions as the breakpoint committee of EMA and ECDC. EUCAST does not deal with antibiotic policies, surveillance or containment of resistance or infection control. The Steering Committee is the decision making body. It is supported by a General Committee with representatives from European and other countries, FESCI and ISC. The Steering Committee also consults on EUCAST proposals with experts within the fields of infectious diseases and microbiology, pharmaceutical companies and susceptibility testing device manufacturers. EUCAST has a subcommittee on antifungal susceptibility testing. Subcommittees on expert rules for antimicrobial susceptibility testing and antimicrobial susceptibility testing of anaerobes have completed their tasks and have been disbanded. Most antimicrobial MIC breakpoints in Europe have been harmonised by EUCAST. Breakpoints for new agents are set as part of the licensing process for new agents through EMA. EUCAST breakpoints are available in devices for automated susceptibility testing but with some limitations, depending on the".


The right sidebar includes a search bar with the text "search term" and a "Search" button. Below it is a "QUICK NAVIGATION" dropdown menu. A promotional message reads: "Remember to activate your free 2011 membership with the newly-founded ESCMID". The "EUCAST News" section lists three items: "01 Nov 2011 Consultation on Aspergillus breakpoints for posaconazole" with a "Download" link, "01 Nov 2011 Consultation on Aspergillus breakpoints for itraconazole" with a "Download" link, and "29 Oct 2011 New EUCAST Expert Rules now".

The Windows taskbar at the bottom shows the "пуск" (Start) button, language "EN", and several open applications: "AST-2011", "ESCMID: EUCAST - M...", and "Безымянный - Paint". The system clock shows "9:11".



Внутрибольничные гнойно-септические
заболевания снижают эффективность лечения
в стационарах, увеличивают сроки
госпитализации, наносят значительный
экономический ущерб. Эффективность
лечения внутрибольничных инфекций зависит
от **точности** и **быстроты** постановки
бактериологического диагноза и, как
следствие, правильного выбора
антибактериального препарата.



- 
- Концепция ВОЗ по борьбе с антибиотикорезистентностью (2001)
 - «MRSA – возбудители внутрибольничных инфекций: идентификация и генотипирование», МР, 2006 год
 - СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»
 - Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи
 - 22.11.12 – Заседание Комитета Совета Федерации по социальной политике в рамках Экспертного совета по здравоохранению «Антибактериальная резистентность как угроза здоровью населения РФ»
 - «Стратегия и тактика применения антимикробных средств в лечебных учреждениях России» (Российские национальные рекомендации)



В ГОБУЗ «Мурманская областная клиническая больница им. П.А. Баяндина»

✓ микробиологическая лаборатория

✓ отдел госпитальной эпидемиологии

✓ комитет инфекционного контроля

✓ отдел клинической фармакологии

✓ формулярная комиссия

Изданы документы по контролю за рациональным назначением антибактериальной терапии:

- больничный формуляр (общий формуляр, формуляр антимикробных препаратов и по отделениям)
- алгоритмы по микробиологической диагностике внебольничных и нозокомиальных инфекций
- журнал регистрации нозокомиальных инфекций и форма экстренного извещения, направляемая в эпидбюро ФГУЗ Центра гигиены и эпидемиологии (!)
- проведение микробиологического мониторинга (полные сведения о микробном пейзаже, сформированном в каждом проблемном отделении, распространенность, структура возбудителей, их антибиотикорезистентность, предположения о преимущественных факторах и путях распространения)
- постоянно совершенствуются алгоритмы выполнения манипуляций

Приказ ГОБУЗ МОКБ № 83 ОТ 07.02.13 «О совершенствовании системы диагностики, лечения и профилактики ИСМП»:

С 2011 г. MRSA в ГОБУЗ МОКБ был взят на особый учет:

АБС.ЧИСЛО И % ОТ ВЫДЕЛЕННЫХ:		
	2011	2012
MR SA	54 / 14,8%	21 / 10,2%




- Удельный вес **MRSA** всего по всем биоматериалам снизился на **14%**, а именно: в раневом отделяемом снизился на **41%**, в крови - на **23%**, в мокроте - на **65%**.
- ПРИКАЗ ГУЗ МОКБ № **139** ОТ **06.04.2011** «О ПРОФИЛАКТИКЕ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ»



ПРИКАЗ ГОБУЗ МОКБ № 83 ОТ 07.02.13 «О СОВЕЩЕНСТВОВАНИИ СИСТЕМЫ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ИСМП»

- ситуации, в которых необходимо проводить консультации клинического фармаколога,
- порядок назначения антибиотиков резерва (ограничение доступности),
- мероприятия в отделениях при выявлении пациентов с **MRSA** и **VRE**,
- перечень регистрируемых нозологических форм ИСМП,
- стандартные определения ИОХВ, ИНДП, ИМВП.
- порядок бактериологического обследования при подозрении на ИСМП



В лаборатории разработаны алгоритмы постановки чувствительности культур к антибиотикам с учетом вида выделенного возбудителя, его природной устойчивости или чувствительности к определенным антимикробным препаратам, локуса выделения, тяжести процесса и др.

Определение чувствительности выделенных культур к антибиотикам проводится с целью:

1. Выбора АБ терапии для конкретного пациента.

- Большинство определений проводится с этой целью

2. Для эпидемиологического мониторинга.


- Выявления механизмов резистентности
- Назначение эмпирической терапии
- Создание больничного формуляра антибиотиков

3. Изучение активности новых препаратов



Специальные методы выявления определенных механизмов резистентности

- **MRSA/MRSE** (метициллинорезистентный *S.aureus*/
S.epidermidis)
- **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)



➤ ***S.aureus* MRSA, оксациллинрезистентные коагулазонегативные стафилококки:**

- Резистентность ко всем β -лактамам
- Сохранение чувствительности к ванкомицину и линезолиду

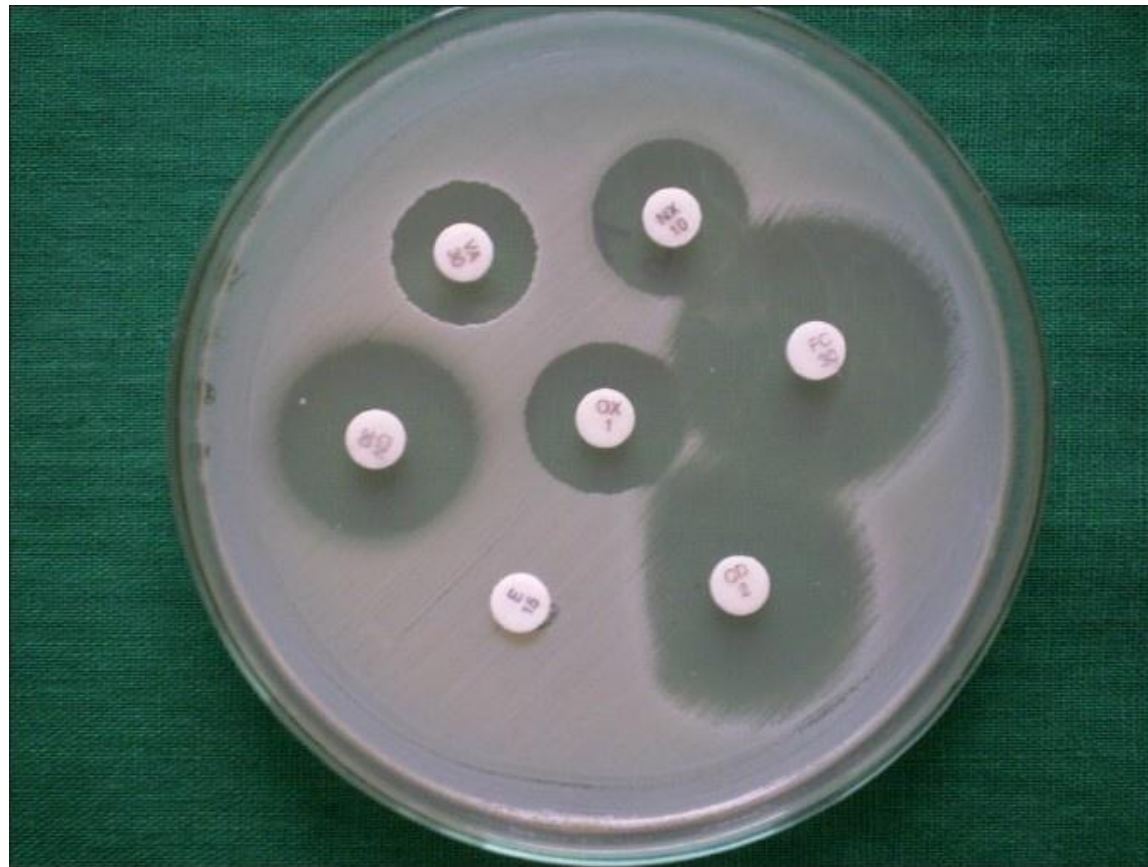
➤ ***S.pneumoniae***

- Значительная часть

пенициллинрезистентных штаммов пневмококка

чувствительны к ЦС-III-IV и карбапенемам

Выявление индукции резистентности к
макролидам, линкозамидам,
стрептограминам группы В **MLS β**





Extended-spectrum beta-lactamase ESBL

- Продукции β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) – один из наиболее распространенных и клинически значимых механизмов резистентности энтеробактерий к современным β -лактамным антибиотикам.



ФЕНОТИПЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

	род Staphylococcus		OR	MLSb	% резистентных штаммов
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1098	389	71	41,9
2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	154		11	7,1
3	<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	398		28	7,0
4	<i>Staphylococcus aureus</i> , в том числе MRSA	765	42	12	7,1
5	<i>Staphylococcus hominis</i>	50		7	14,0
6	<i>Staphylococcus warneri</i>	4			0,0
	Итого Staphylococcus	2469	431	129	22,7

Выявление продукции β -лактамаз расширенного спектра действия



Метод двойных дисков

Основание: Методические рекомендации УДК 579.84.017.7:577.152.3

2. С использованием наборов дисков для определения расширенного спектра β -лактамаз (ES β L & AmpC) для дифференциации типов ферментов резистентности. Это простая сравнительная интерпретация при низкой себестоимости исследования и соответствии международным стандартам.

Присутствие ES β L и/или ферментов AmpC легко определяется путем сравнения величины зоны задержки роста исследуемой культуры вокруг диска с антибиотиком и диска с антибиотиком ингибитором.

A CPD10

B CPD10+ингибитор ES β L

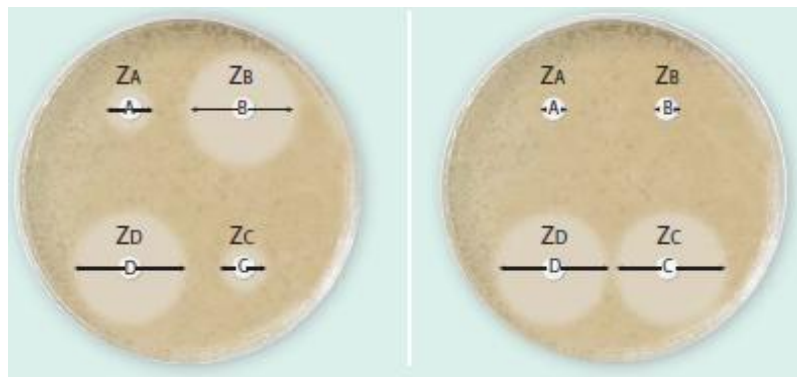
C CPD10+ингибитор AmpC

D CPD10+ингибитор ES β L и ингибитор AmpC

CPD- цефподоксим

ES β L положительный результат AmpC

положительный результат



Различия в диаметре зоны

$$ZB-ZA \quad ZD-ZC \geq 5\text{мм}$$

$$ZD-ZB \quad ZD-ZA < 5\text{мм}$$

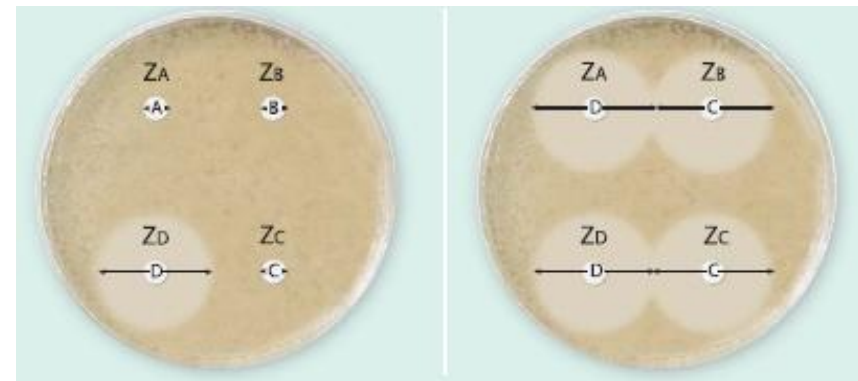
Различия в диаметре зоны

$$ZB-ZA \quad ZD-ZC < 5\text{мм}$$

$$ZD-ZB \quad ZD-ZA \geq 5\text{мм}$$

AmpC и ES β L
положительный результат
отрицательный результат

AmpC и ES β L



Различия в диаметре зоны

$$ZD-ZC \geq 5\text{мм} \quad \text{и} \quad ZB-ZA < 5\text{мм}$$

Все зоны отличаются друг
от друга не более ≤ 2 мм



ESBL (продукция β -лактамаз расширенного спектра действия – БЛРС)


	род Enteriabacteriaceae		в т. ч. ESBL	в т.ч. AmpC	% резистентных штаммов
¹	Escherichia coli	664	170	5	26,4
²	Klebsiella pneumonia/sp.	345	138	48	53,9
³	Enterobacter cloaceae/sp.	148	42		28,4
⁴	Citrobacter freundii	25	8		32,0
⁵	Serratia marcescens	20	12		60,0
⁶	Proteus sp.	85	10	2	14,1
⁷	Morganella morganii	85	4		4,7
	итого Enteriabacteriaceae	1372	384	55	32,0

ОПАСНОСТИ БЕСКОНТРОЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ КАРБАПЕНЕМОВ

Глобальное распространение карбапенемаз - наиболее серьезная угроза здравоохранению.

Карбапенемазы- группа бактериальных ферментов, которые могут гидролизировать большинство бета-лактамных антибиотиков- MBL (VIM, IMP, NDM), KPC, AmpC

- Нарастание устойчивости у *P.aeruginosa*
(металло-*b*- лактамазы - МБЛ)
- Появление полирезистентных *Acinetobacter spp.*
- Высокий риск распространения резистентности среди семейства Enterobacteriaceae.



Выявление продукции карбапенемаз

Выявление продукции карбапенемаз в МОКБ проводится с использованием тест-наборов дисков для определения карбапенемаз (D70C, MAST)

Простой расчет, основанный на измерении величины зоны задержки роста, указывает на продукцию ферментов KPC и MBL или AmpC с утратой порина. Добавление диска с Темоциллином 30 мг может помочь при идентификации OXA-48.

Чувствительность теста на выявление продукции KPC составляет 98%, а специфичность-93%. При выявлении NDM-продуцентов чувствительность и специфичность теста составляет 100%.

ФЕНОТИПЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ



Выявление продукции карбапенемаз

спектр выделенных НГОБ 2013г.		КОЛ-ВО выделенных культур	В ТОМ ЧИСЛЕ карбапенемрезистентные	
			абс.	%
1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	157	101	64,3
2	<i>Acinetobacter sp.</i>	4	4	100,0
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	116	2	1,7
4	<i>Ralstonia pickettii</i>	22		
5	<i>Stenothrophomonas maltophilia</i>	31		



ФНОТИПЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

- Выявление фенотипов резистентности помогает лечащему врачу своевременно корректировать эмпирическую антибактериальную терапию даже на этапе предварительного результата, при эмпирическом назначении антибиотиков резерва при тяжелых инфекциях производить замену после получения результата на эффективные и в тоже время зачастую экономически более выгодные антибиотики.
- С использованием данных микробиологического мониторинга, целенаправленного и своевременного выявления фенотипов резистентности и контроля за применением антибиотиков резерва удалось добиться в 2012 году экономии средств на приобретение антибактериальных препаратов около 25% по сравнению с 2011 годом.

НИИ антимикробной химиотерапии г. Смоленск



**Кафедра клинической
фармакологии**

МАКМАХ

Многоцентровой
общероссийский
мониторинг
распространенности
антибиотикорезистентности
возбудителей
нозокомиальных
инфекций
«МАРАФОН».

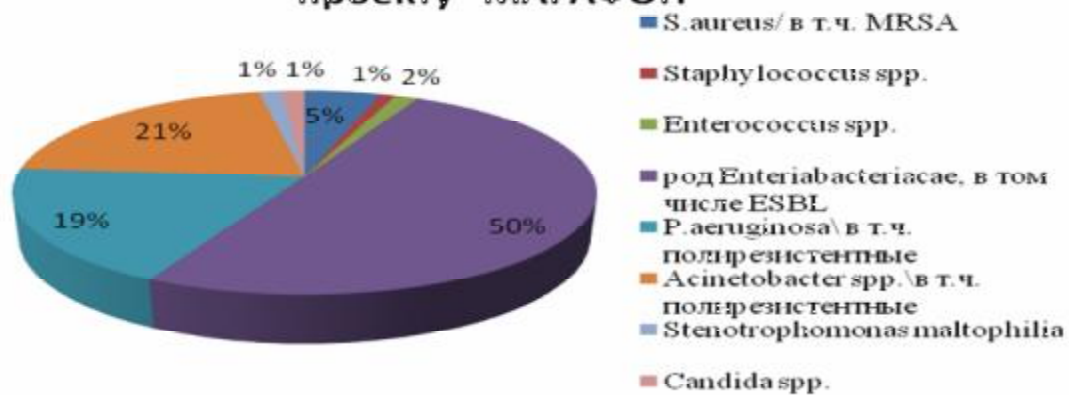
**Международный
проект PAPIRUS**

Микробный пейзаж культур, выделенных из клинического материала по проекту "МАРАФОН" за 2012-2013гг.

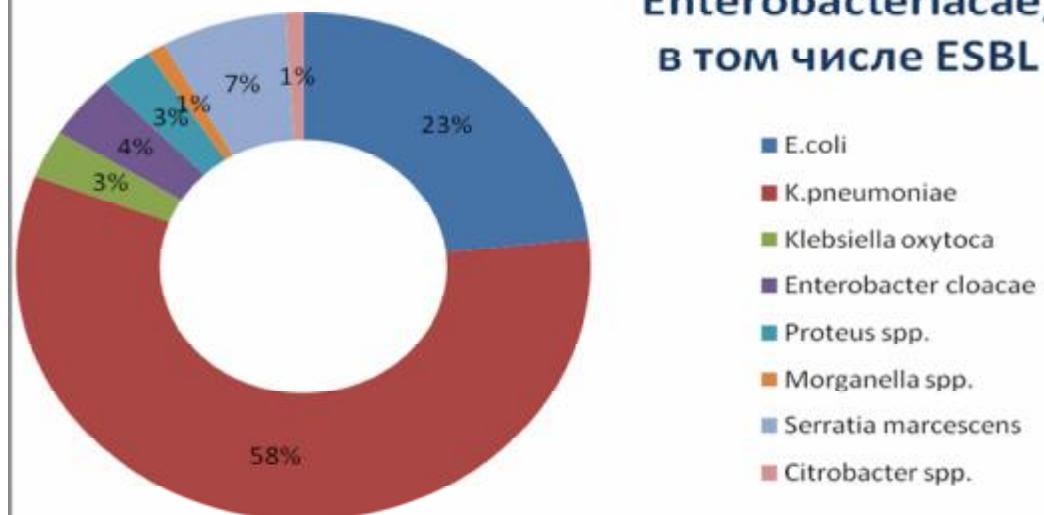
Вид клинического материала	Выделено культур	Микробный пейзаж культур, выделенных из клинического материала по проекту "МАРАФОН" за 2012-2013гг.															
		Staphylococcus spp.	Streptococcus spp.	Enterococcus spp.	в виде чистой культуры								Pseudomonas spp.	Acinetobacter spp.	Serratia spp.	Candida spp.	
					Klebsiella	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae	Klebsiella pneumoniae					
																	в виде чистой культуры с предельной ЭСДГ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
отделяемое ран при инфекциях кожи и мягких тканей	24	22	24	1	66	22	22	22				11		24	44		
БАЛ	111	44			77	3636	11	11	33			95		256	2726	2	
СМЖ	1	14															
мокрота	22	21				77		11					11	34	93	1	
моча	21			2	44	66					11	11		41	34		
плевральная жидкость	3				11									14			1
кровь	13	14			53	66								11	33		2
Итого	200	104	24	3	23421	5767	33	44	33	11	77	11	386	4238	3	3	

Многоцентровой общероссийский мониторинг распространенности антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций «МАРАФОН».

Спектр микроорганизмов, отобранных по
проекту "МАРАФОН"



Enterobacteriaceae,
в том числе ESBL





ФЕНОТИПЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ


- Фенотипический скрининг ESBL и выбор штаммов для проведения молекулярно-генетических методов выявления карбапенемаз проводился на основании рекомендаций EUCAST по выявлению механизмов резистентности (EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0. December 2013).



ФЕНОТИПЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Enterobacteriaceae	64	59
Citrobacter freundii	1	1
Enterobacter cloacae	4	4
Escherichia coli	15	13
Klebsiella oxytoca	2	1
Klebsiella pneumoniae	36	35
Morganella morganii	1	1
Proteus mirabilis	2	2
Serratia marcescens	3	2

- В результате из 64 штаммов представителей семейства **Enterobacteriaceae** у 59 подтвердился фенотип **ESBL**. Карбапенемазы методом ПЦР не обнаружены
- Из 26 штаммов НГОб рода **Acinetobacter** были выявлены 24 штамма **OXA-51**, подтверждающий видовую принадлежность к **Acinetobacter baumannii** и 22 штамма с **OXA-40**, имеющим клиническое значение и широко распространенном среди возбудителей нозокомиальных инфекций. Из 22 штаммов **Pseudomonas aeruginosa** карбапенемазы методом ПЦР не обнаружены.

- 
- *Для предупреждения распространения микроорганизмов резистентных к антибактериальным препаратам каждому ЛПУ необходимо ведение своего локального, регулярно обновляемого и официально утвержденного на соответствующем уровне руководства **формуляра антибиотикотерапии**, базирующегося на доказательных эпидемио-логических данных по **мониторированию** ведущей микрофлоры в конкретном ЛПУ, результатах доказательных клинических исследований, клиническом опыте. Необходимо максимально раннее выявлении пациентов колонизированных резистентными штаммами (**выявление фенотипов и генотипов резистентности**) и проведение противоэпидемических мероприятий.*

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

