



## **Ускорение этиологической диагностики сепсиса** (новые продукты и технологии)

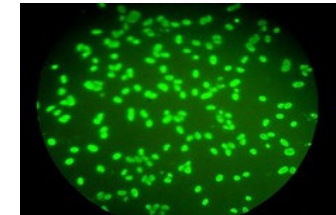
Топорищев Ю.А., к.м.н.,  
мед.советник bioMérieux



## Значимость проблемы

---

- 18-20 млн. случаев сепсиса каждый год (в мире)
- 4-6 млн. смертельных случаев от сепсиса



### Причины:

- Разнообразные локализации-катетерный, одонтогенный, кардиогенный, хирургический, криптогенный, акушерский
  - Увеличение инвазивных вмешательств и процедур
  - Отсутствие единых национальных стандартов диагностики и лечения
  - Широкое применение антибиотиков на догоспитальном этапе
  - Неправильный и недостаточный забор материала
-

### Клинические:

Лихорадка, одышка, тахикардия, сердечно-сосудистая, дыхательная, почечная недостаточность, поражение центральной нервной системы, полиорганная недостаточность...

### Лабораторные

*Общеклинические:* лейкоцитоз, уровень СРБ, СОЭ, ЛИИ, кол-во тромбоцитов

*Бактериологические:* гемокультура, идентификация, АБ чувствительность

*Иммунологические:* ИЛ-6, TNF, PCT, пресепсин, et cetera.

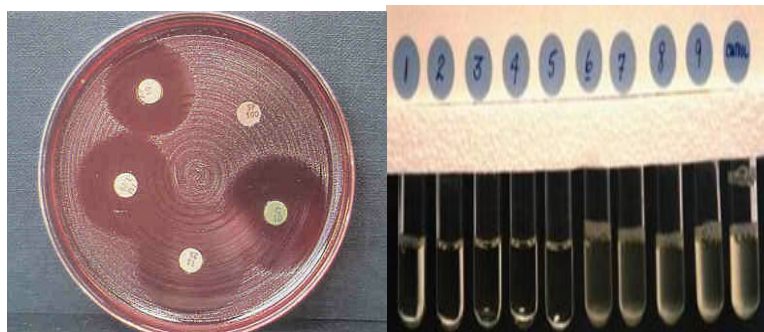
---

# Парадигма классического лабораторного исследования в микробиологии

Образец  
кровь

Флаконы для  
Гемокультивирования  
(приказ 535)  
до 10 дней

Культуры на  
Чашки с агаром  
(вручную или  
автоматически)  
1-2 суток



В итоге  
ID/AST



Идентификация колоний  
Подготовка к ID/AST

6/8 ч



## **Требование времени: Полная автоматизация+ Быстрая микробиологии**

**Взгляд в будущее это:**

**Усовершенствование культуральных-исследований**

**Исследование расширяющегося множества технологий для  
микробиологической диагностики**

**Полная автоматизация + Быстрая микробиология =  
Быстрые результаты для микробиолога,  
клинициста и пациента**





# Современная концепция биоМерье для ускорения диагностики сепсиса

**Пациент**

→ тест на PCT (20 мин.)



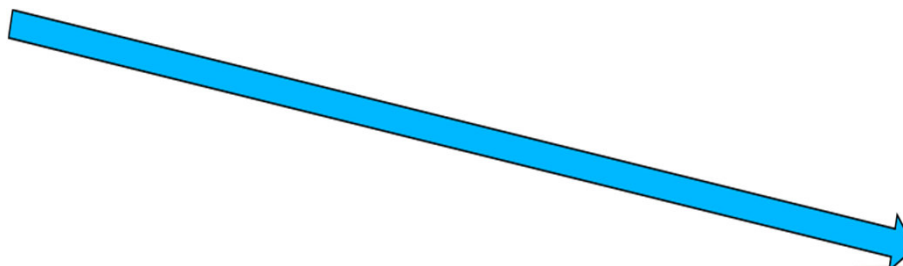
→ кровь на гемокультуру (1-5 сут.)



← прямая идентификация возбудителя MS (30 мин)



Определение чувствительности к АБ (7-8 ч.)



## Значение количественного определения РСТ

---

**При воспалительном процессе, вызванном бактериальными и грибковыми инфекциями, а также простейшими, уровень ПКТ в крови возрастает в течение 6 - 12 часов.**

**Количественное определение РСТ позволяет:**

- \*Мониторинг течения заболевания**
- \*Мониторинг антибиотикотерапии**



## Рекомендации по интерпретации результатов определения PCT

---

- \* У здоровых индивидов уровни ПКТ очень низкие  $< 0,05$  нг/мл
- \* Небольшое повышение  $< 0,5$  нг/мл наблюдается при локальных инфекциях и с низкой вероятностью при системных инфекциях (сепсис).
- \* Умеренно повышенные уровни (0,5-2 нг/мл) указывают на возможность сепсиса с малым риском его прогрессирования в тяжелый сепсис.
- \* Высокие уровни (2-10 нг/мл) указывают на большую вероятность сепсиса, имеющего высокий риск прогрессирования в тяжелый сепсис;
- \* Очень высокие уровни ( $> 10$  нг/мл) почти всегда вызваны исключительно тяжелым сепсисом или септическим шоком.





## Преимущества теста V.R.A.M.S. VIDAS PCT

---

- **Количественный тест**
- **Широкий диапазон измерения 0,05-200 нг/мл**
- **Калиброван по тесту V.R.A.M.S. PCT LIA**
- **Объем материала 200 мкл (сыворотка или плазма)**
- **Время получения результата 20 мин.**
- **Высокая стабильность реагентов 9 мес**
- **Калибровка 1 раз в 28 дней**



- **Высокая специфичность (до 99%)**
- **Чувствительность 25-45%**
- **Время получения результатов 24-48 час**



# Значение диагностики бактериемии

---

- **Бактериемия является признаком сепсиса – состояния, характеризующегося высокой летальностью**
- **Опоздание с адекватной антибиотикотерапией ведет к снижению выживаемости пациентов**
- **Эмпирическая терапия современными антибиотиками является чрезвычайно дорогостоящей**



## Три основных цели гемокультивирования

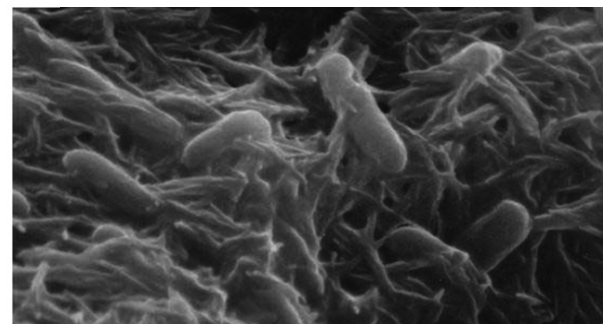
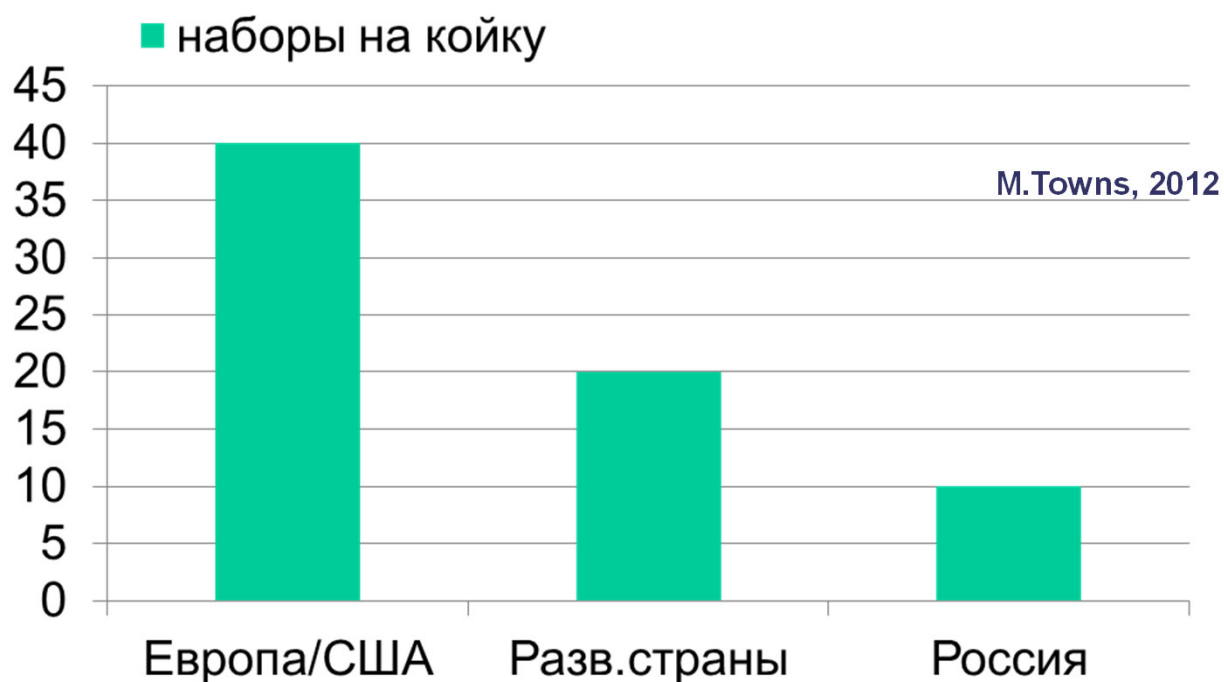
---

- Подтвердить инфекционную этиологию
- Идентифицировать возбудителя
- Направлять антибиотикотерапию

*Для эффективного гемокультивирования абсолютно необходимо надлежащее взятие образцов*

**Principles and Procedures for  
Blood Cultures. CLSI 47-A**

# Недостаточное Гемокультивирование!



## Когда брать кровь для посева (CLSI 47-A)

---

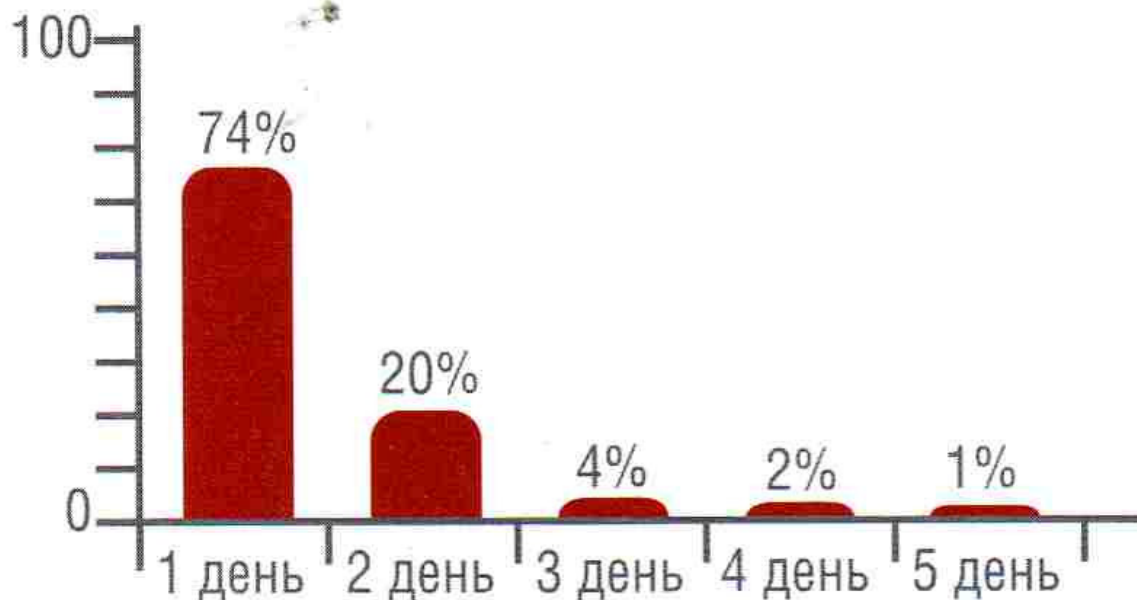
- Лихорадка неясного генеза
- Лейкоцитоз (> 10.000 mL)
- Гранулоцитопения (<1000 mL)
- Гипо (<36 C) или гипертермия (>38 C)
- Шок, озноб, дрожь
- Тяжелые локальные инфекции (менингит, эндокардит, пневмония, гнойные интраабдоминальные процессы...)
- Патологическое повышение частоты сердечных сокращений
- Повышенная частота дыхания
- Почечная недостаточность



## Сколько дней инкубировать?

Количество значимых микроорганизмов по дням инкубирования <sup>18</sup>

Bourbeau PP et al. Routine incubation of BacT/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. J Clin Microbiol. 2005;43:2506-2509



Эти результаты показывают, что 98% клинически значимых микроорганизмов были выявлены в течение первых 3 дней инкубирования, а 94% – в течение первых 2 дней инкубирования.

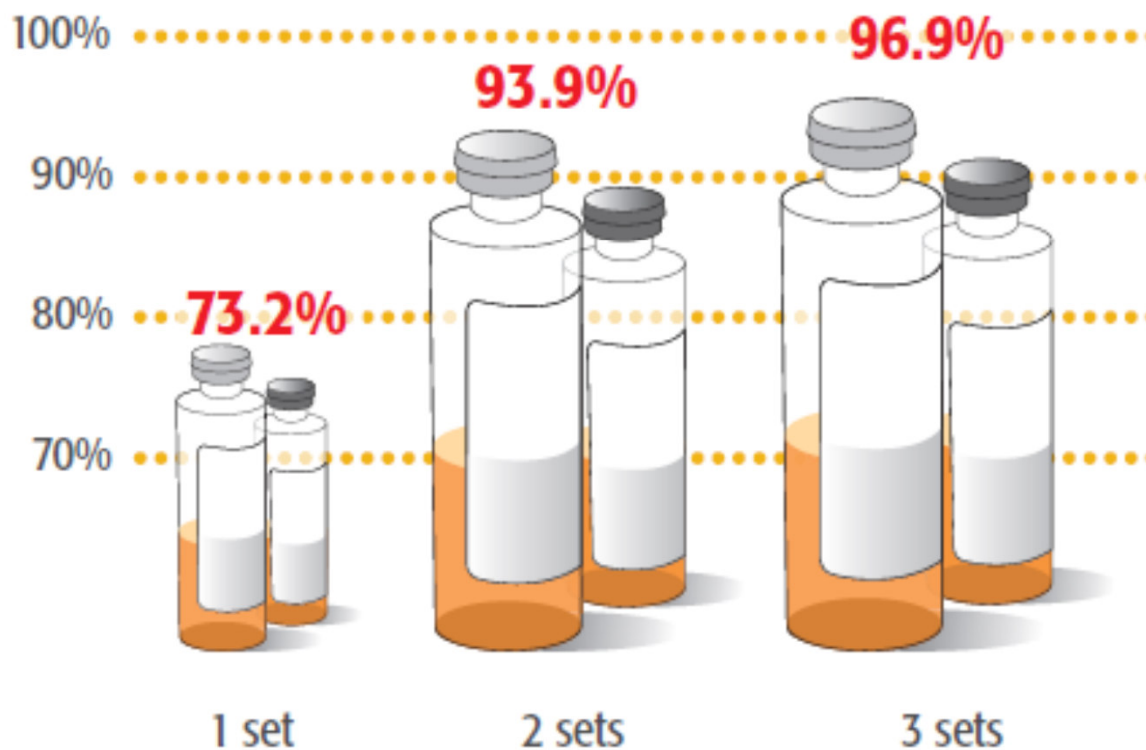


## Сколько флаконов использовать для посева

### Cumulative sensitivity of blood culture sets<sup>16</sup>

Weinstein et al. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed J Clin Microbiol. 2007; 45:3546-3548

#### Detection sensitivity





## Семейство приборов и флаконов BTA 3D



259789	BTA SA (Standard Aerobic)
259790	BTA SN (Standard Anaerobic)
259791	BTA FA (FAN Aerobic)
259793	BTA FN (FAN Anaerobic)
259794	BTA PF (Pediatric FAN)

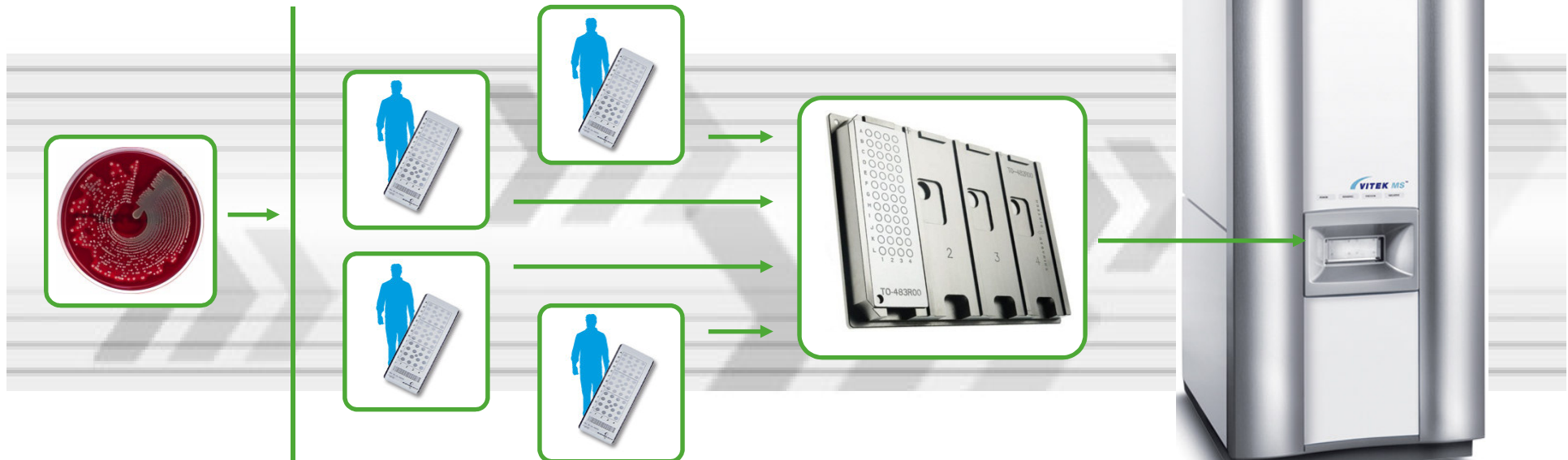
# Прямая идентификация из флаконов VacTALERT 3D с помощью VITEK® MS: workflow

## Advantages

Up to 4 technicians can work in parallel

Bar-coded for traceability

Internal (on-plate) calibration/Internal Control



## Прямая идентификация из образца - гемокультуры

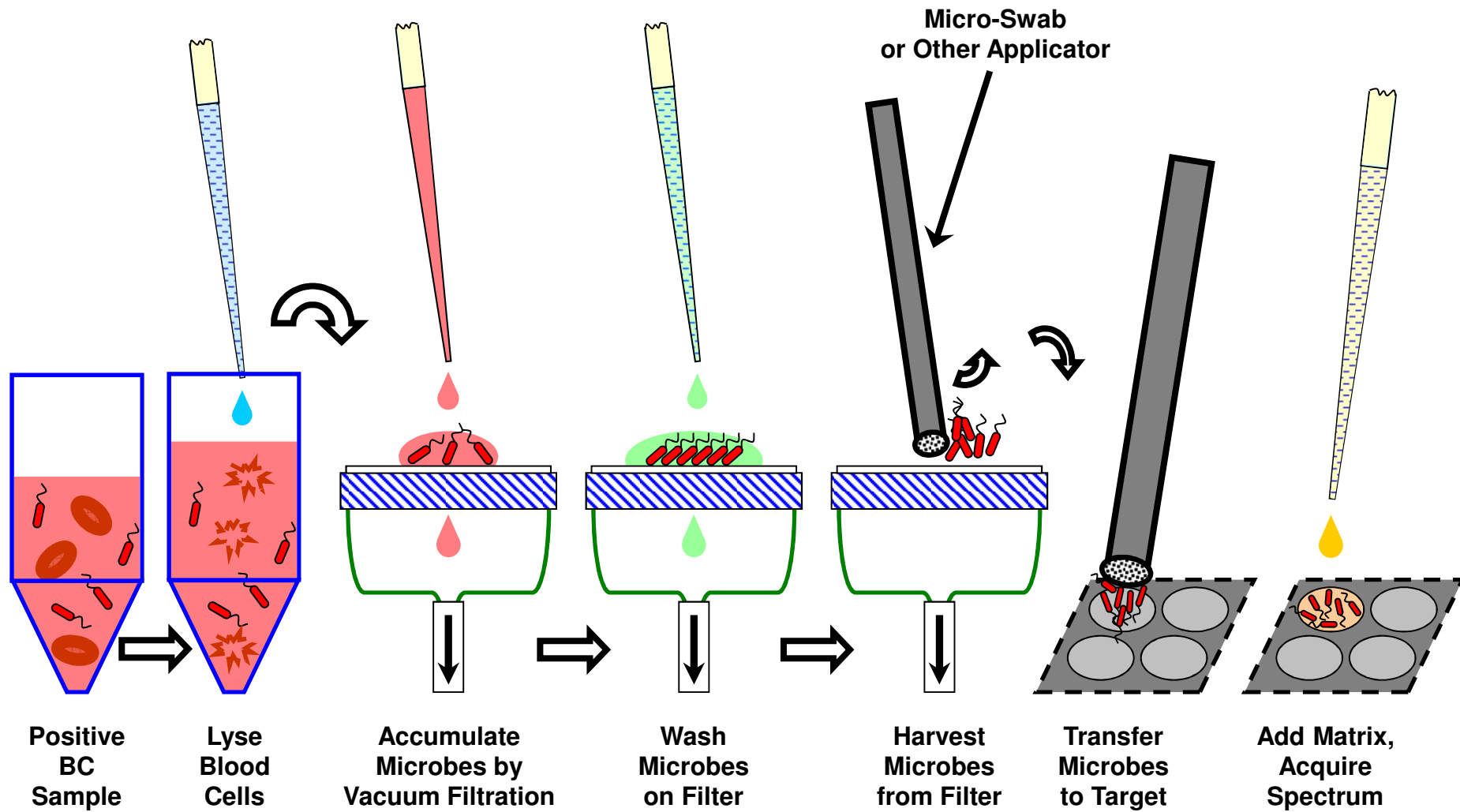
---

- ✓ Бактерии в кровотоке < 1-10 КОЕ/мл
- ✓ После гемокультивирования - 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> КОЕ/мл
- ✓ Несколько протоколов для экстракции
- ✓ В зависимости от протокола - 65-95% правильной идентификации
- ✓ Время до получения результата 30 мин – 1 час

\*Идентификация с помощью MALDI может затруднена из-за присутствия и компонентов культуральной среды



# Lysis-Filtration Protocol with “Off-The-Shelf” Materials





# Processing of positive Blood Culture with lysis-filtration for direct ID by MALDI TOF MS



Positive Blood Culture 1  
2mL

Positive Blood Culture 2  
2mL

Positive Blood Culture 3  
2mL

Wet the entire surface of the filter



1mL lysis buffer  
+ vortex 5 to 7 sec.



0



45 sec



1 min 45 sec



Filtration



End

2 min 40 sec

3 min 40 sec

4 min 40 sec



Washing

2 times with washing buffer  
3 times with deionised water

## Прямая идентификация из образца - моча

---

- ✓ Кол-во бактерий при инфекциях мочеполовой системы  $>10^5$  КОЕ/мл
- ✓ 1-2  $\mu\text{L}$  мочи на слайд MALDI-TOF -> слишком маленькое количество микроорганизмов
- ✓ Протокол пробоподготовки работает при большой концентрации бактерий в моче ( $10^7$ - $10^8$ ) -> не годится для скрининга
- ✓ Нужна антибиотикограмма
- ✓ В основном *E. coli*



# Рабочий процесс VITEK2 и VITEK® MS

**VITEK MS™**



**VITEK® MS**  
Пробоподготовка



**VITEK® 2**



**MIDDLEWARE SOLUTIONS**

**Myla™ server with MS-ID v1 database**  
- Closed  
- CE-marked



**CP Computer with MALDI Solutions software**





# VITEK 2 Система для автоматической идентификации и антибиотикорезистентности

---

## Совместная работа 3 подсистем:

**VITEK® 2:** платформа для автоматической идентификации и антибиотикорезистентности

**Advanced Expert System (AES™):** программное обеспечение для экспертной оценки результатов антибиотикорезистентности

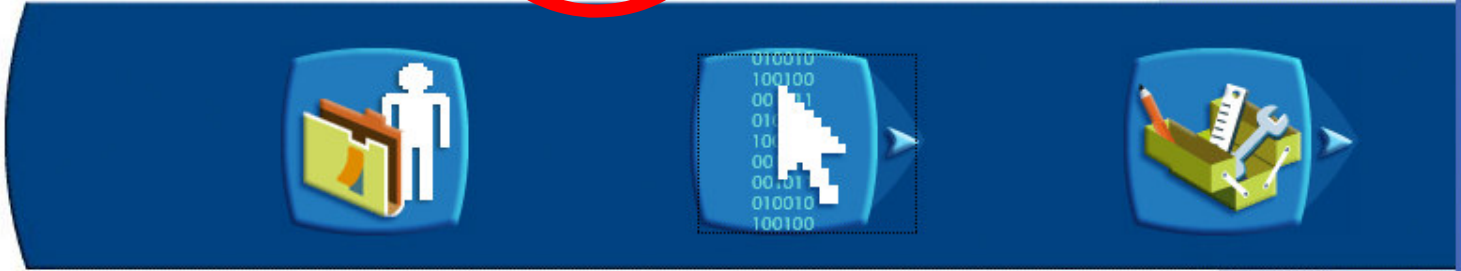
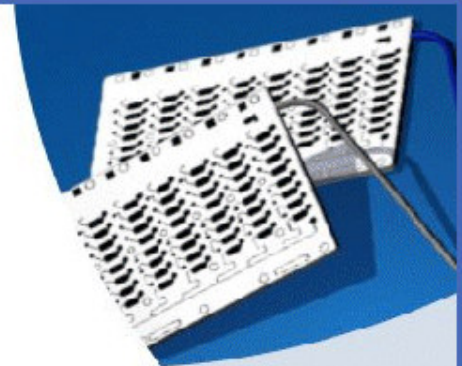
**Etest®:** ручное определение МИК







# Просмотр результатов



View and Maintain Isolate Results

Patient Name : GONZALES, Antonio

Lab ID: en04 1

Organism: Esch.coli (99%)

Review Status: To be reviewed

Bionumber: 0405610550026611

ID Confidence: Excellent identification

Analysis Status: 8.75 hr - Final

Analysis Messages:

AES Findings: Consistent

Phenotypes Selected for Review:

- BETA-LACTAMS
  - ESBL + IMPERMEABILITY (CEPHAMYCINS)
  - EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE
- AMINOGLYCOSIDES
  - HETEROGENEOUS (?+AAC(6'))

AST Offline Tests

Card Comment:

**Время, затраченное на определение чувствительности**

**Обнаруженные механизмы резистентности**

Antibiotic	MIC	Inter...	Antibiotic	MIC	Inter...	Antibiotic	MIC	Inter...
+ Mecillinam		R	+ Cefamandole		R	Gentamicin	≥16	R
+ Amoxicillin		R	+ Cefuroxime		R	Netilmicin	≥32	R
Ampicillin	≥32	R	Cefoxitin	8	I	Tobramycin	≥16	R
Amoxicillin/Clavulanic Acid	4	S	+ Cefixime			+ Cinoxacin		R
+ Ampicillin/Sulbactam			Cefotaxime	≥64	R	Nalidixic Acid	≥32	R
+ Carbenicillin		R	Ceftazidime	32	R	+ Pipemidic Acid		R
Ticarcillin	≥128	R	+ Ceftizoxime			Ciprofloxacin	2	I
Ticarcillin/Clavulanic Acid	32	I	+ Ceftriaxone			+ Enoxacin		
+ Azlocillin		R	+ Cefepime			+ Moxifloxacin		
+ Mezlocillin		R	+ Aztreonam			Norfloxacin	2	S
Piperacillin/Tazobactam	≤4	S	Imipenem	≤0.5	S	Ofloxacin	4	I
+ Cefaclor		R	+ Meropenem		S	+ Pefloxacin		
Cefalotin	≥64	R	+ Panipenem			Nitrofurantoin	≤16	S
+ Cefazolin		R	Amikacin	4	I	Trimethoprim/Sulfamethoxaz...	≥320	R

**МИК и категории**

**Результаты определения чувствительности к антибиотикам**

Schleicher, Butch  
schleib1

VITEK 2 compact

Благодарю за внимание



BIOMÉRIEUX

