

Автоматизированные системы в практике микробиологической лаборатории

**Менеджер по продукции
ТОО «НПФ «Медилэнд»**

Кильчевская Татьяна

ПОЧЕМУ АВТОМАТИЗАЦИЯ ВАЖНА

По сравнению с клинической химией и гематологией в микробиологической лаборатории...

- намного меньше автоматизации
- беспорядок
- меньше стандартизации
- меньше поддержки финансистов

**... меньше
индустриализации!**



ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

- **Увеличение количества исследований**
- **Расширение спектра исследуемых возбудителей**
- **Усиление роли условно-патогенных микроорганизмов**
- **Увеличение частоты встречаемости резистентных штаммов**

МИКРОБИОЛОГИЯ

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ



WASP®



WASPLab®

BACT/ALERT® 3D

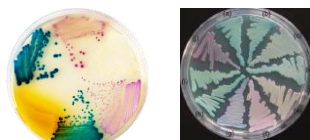


BACT/ALERT® VIRTUO®



ИДЕНТИФИКАЦИЯ

CHROMagar®



VITEK® MS
(MALDI-TOF)

VITEK® ID cards

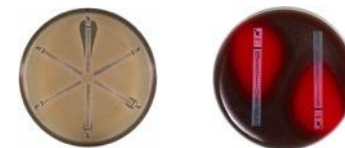


CHROMagar®



ТЕСТИРОВАНИЕ АНТИБИОТИКО- ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

E-TEST®



VITEK® 2 COMPACT



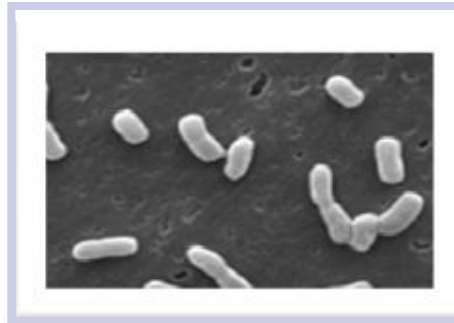
VITEK® AST cards



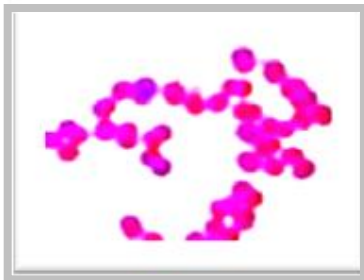
PREVI® Color Gram
прибор для автоматической
окраски по Граму
(BioMérieux, Франция)

ОКРАСКА ПО ГРАМУ

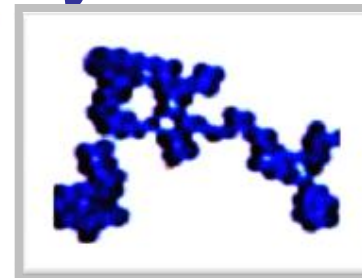
- Первый и один из важнейших этапов исследований в микробиологических лабораториях



Какой микроорганизм
<окраска по Граму>



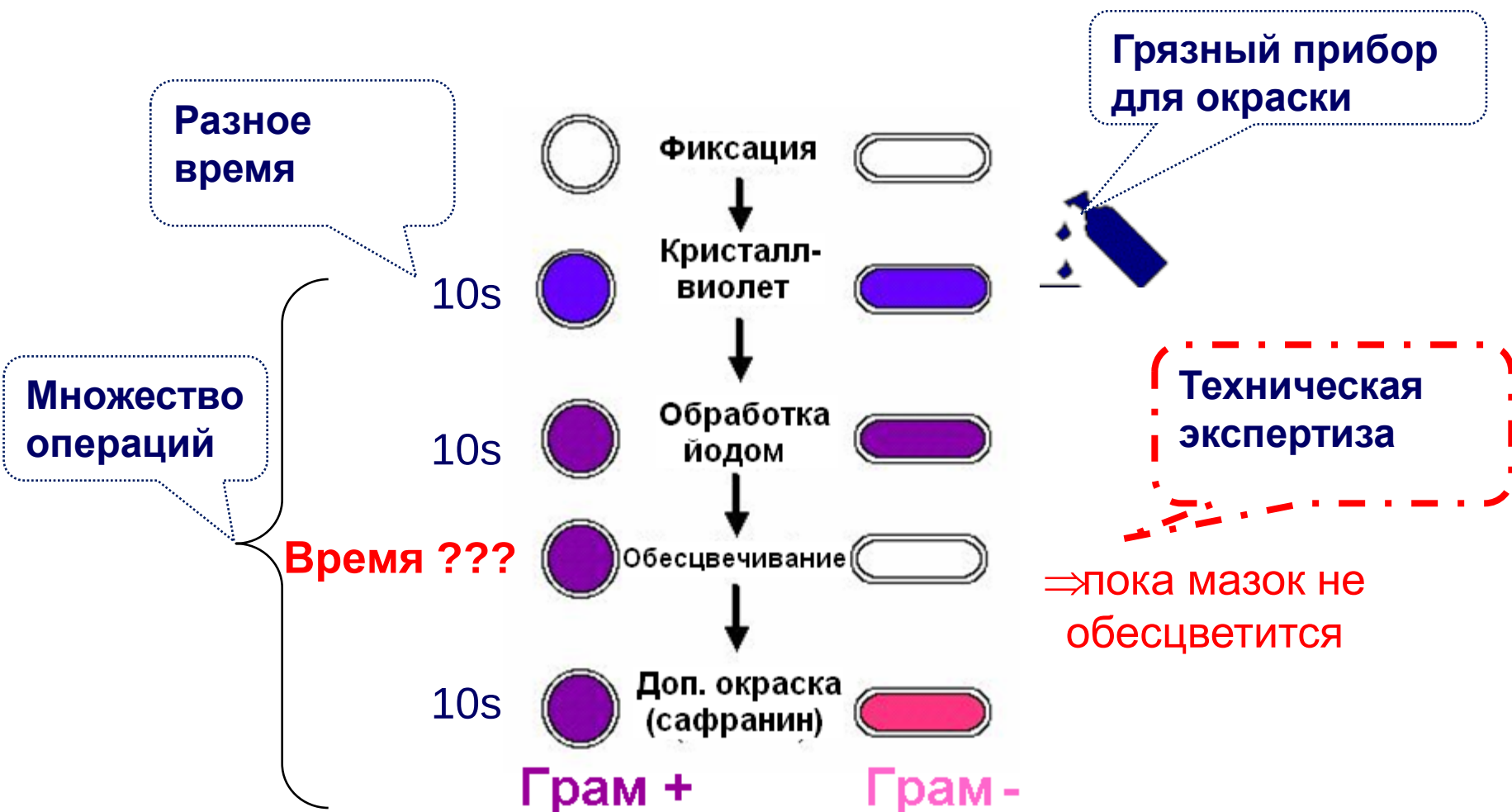
Грам -



Грам +

ФАКТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ

Долгая процедура со множеством ручных операций



КАК ВЫГЛЯДИТ ЛАБОРАТОРИЯ СЕЙЧАС



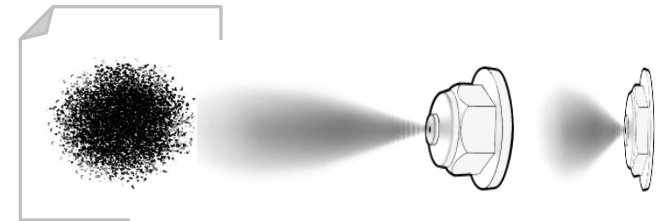
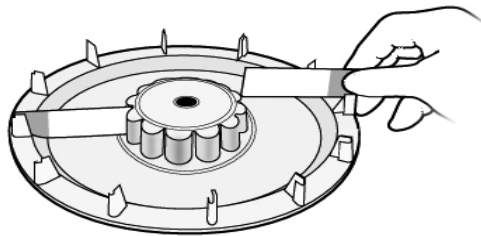
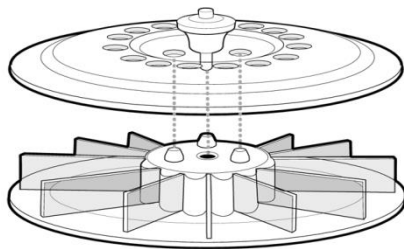
ЧТО ТРЕБУЕТСЯ ВСЕМ ЛАБОРАТОРИЯМ?

- Надежные и быстрые результаты
- Отсутствие риска перекрестной контаминации
- Простота в использовании (не требуется опыт)
- Чистая и безопасная технология



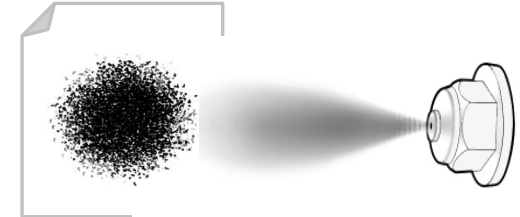
ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРИБОРА PREVI COLOR GRAM

- Вместимость барабана для загрузки слайдов:
 - ☐ **12 отсеков**
 - ☐ **30 отсеков**
- Гибкий и высокоэффективный
- Быстрые результаты
 - ☐ **Менее 5 минут на 12 слайдов**
 - ☐ **Подготовка более 120 стекол за 1 час**



ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРИБОРА PREVI COLOR GRAM

- Окраска методом распыления
- Нет риска перекрестной контаминации
- Снижение потребления реагентов (до 80%)
- Экологичная система



- 9 настраиваемых режимов обесцвечивания
- Не требуется техническая экспертиза
- Высокая производительность

АВТОМАТИЧЕСКАЯ СТАНЦИЯ ОКРАСКИ МАЗКОВ PREVI COLOR GRAM

Полностью
автоматизированная
система

Экологичная система

Безопасность. Нет
контакта с образцами

Стандартизированная
система

Система
небольшого
размера



Гибкость:
от 12 до 30 слайдов

Простота в
использовании:
«Загрузи и иди...»

Быстрые результаты
«менее, чем за 5 мин»

АКСЕССУАРЫ ДЛЯ ЦИТОЦЕНТРИФУГИ



**Ротор для цитоцентрифуги емкостью в 8
отсеков / слайдов**

**Обеспечивает подготовку тонких слоев при применении
любой жидкой матрицы и стерильной биологической
жидкости**

ЗАБОТА ОБ ЭКОЛОГИИ С PREVI COLOR GRAM

- Низкое потребление реагентов и воды
- Дополнительные возможности для лаборатории
 - Использование реагентов/красителей в соответствии с количеством слайдов
 - Концентрированные красители
 - Минимальное потребление за счет технологии распыления
- Низкая стоимость обслуживания/очистки
 - Минимум медицинских отходов



&



**Автоматический
бактериологический анализатор
культур крови Bact/ALERT 3D
(BioMerieux, США)**

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ МОДУЛЬНЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ

BacT /ALERT 3D

(BioMerieux, США), РК-МТ-7№011812



Быстрое обнаружения бактериемии и фунгемии в гемокультурах, а также в других стерильных жидкостях организма.

Несколько часов вместо нескольких дней!

ФЛАКОНЫ ДЛЯ ПОСЕВА КРОВИ НА СТЕРИЛЬНОСТЬ И ГЕМОКУЛЬТУРУ



- Одноразовые флаконы промышленного производства
- Готовая питательная среда (аэробные, анаэробные, педиатрические)
- Ударопрочный поликарбонатный флакон – безопасность транспортировки
- Определение стерильности **в течение 1 суток** (традиционным методом – 10 суток)
 - Рекомендованный объем образца: 10 мл.
 - Флаконы для педиатрических образцов: рекомендованный объем образца от 0.5 до 4 мл.
 - Выделение грибов в аэробном флаконе.
 - Возможность исследования не только крови, но и других в норме стерильных биологических жидкостей.

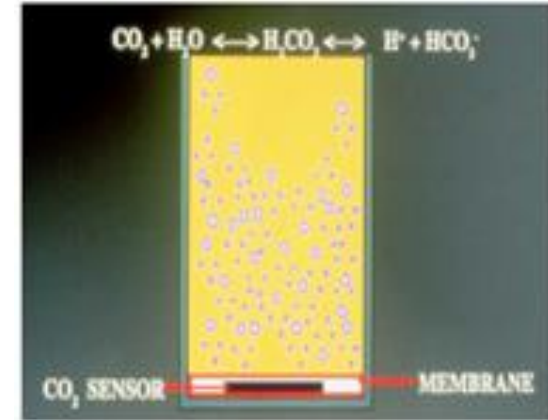


- В составе адсорбирующие полимерные гранулы для нейтрализации антибиотиков.
- Не требуется отменять назначенную антибиотикотерапию перед взятием образца
- Улучшается высеваемость микроорганизмов у пациентов, принимающих антибиотикотерапию

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ

Химический рост

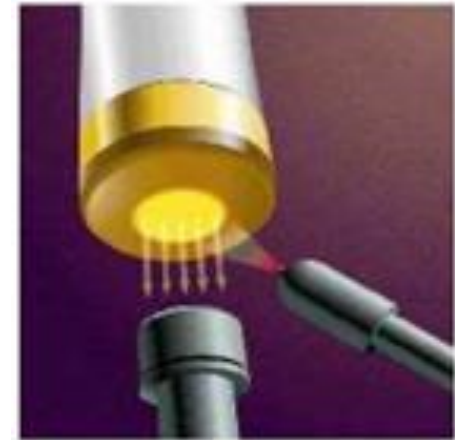
- Организмы растут в питательной среде и производят CO₂
- В дно флакона встроен колориметрический датчик
- Он отслеживает наличие и выработку углекислого газа (CO₂), продуцируемого микроорганизмами
- При появлении CO₂ цвет газопроницаемого датчика изменяется с сине-зеленого на желтый.



ЧТЕНИЕ И АНАЛИЗ

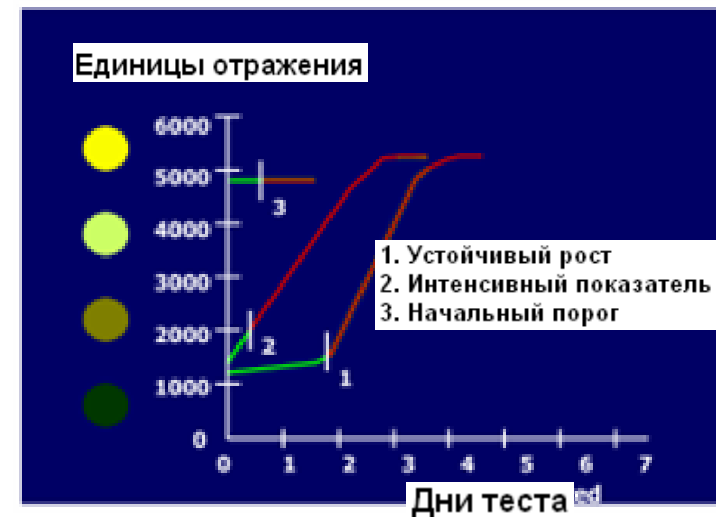
Постоянный мониторинг

- LED-индикатор подсвечивает датчик
- Фотодиод поглощает отраженный свет
- Сигнал передается на компьютер
- Единицы отражения вычерчивают кривую



Алгоритмы

- Независимость от типа питательной среды
- Немедленное уведомление о положительных результатах
- Пороговый алгоритм дает непревзойденные возможности для отсроченного ввода



ПОЧЕМУ ИМЕННО КОЛОРИМЕТРИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ?

Используемые технологии (запатентованные при необходимости)

- Флуоресценция
- Производство/потребление газа (давление)
- Помутнение
- Колориметрия

■ Преимущества колориметрической технологии

- неинвазивная
- постоянный мониторинг
- повышенная способность определять
 большее количество разнообразных микроорганизмов
- быстрое получение результатов (обнаружение)

ПОЧЕМУ ИМЕННО КОЛОРИМЕТРИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ?

Преимущества колориметрической технологии (продолжение)

- Большая предсказуемость и стабильность
 - проще для производителя
 - меньше ложно-положительных результатов
- Визуальный индикатор роста
 - заметные изменения перед инкубацией
 - сохранение изменений
- Возможности отсроченного ввода
- Безопасная и простая утилизация

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗАТОРОВ BacT/ALERT

- Визуальный цветовой сенсор
- Загрузка и выгрузка флаконов в любое время
- Контроль качества детекторов и флаконов, калибровочная кривая
- Надежная фиксация флаконов внутри анализатора
- Немедленный сигнал о ячейке, в которой обнаружен рост
- В качестве образцов можно использовать кровь и в норме стерильные жидкости организма
- Флаконы из ударопрочного поликарбоната
- Производительность до 7200 анализов в год



Системы VITEK 2 Compact®

Автоматическая идентификация (ID)
и определение чувствительности (AST)

VITEK 2 ТЕХНОЛОГИЯ



VITEK[®] 2
—compact

**Идентификация и определение чувствительности
в день получения чистой культуры**

ЭЛЕМЕНТЫ АНАЛИЗАТОРА



VITEK 2: КОМПЛЕКТАЦИЯ ПРИБОРА

В комплектацию анализатора входят:

несколько кассет
(на 10 карт) –
штативов для
пробоподготовки,
переноски,
заполнения и
загрузки карт



денситометр
для
приготовления
суспензии
определенной
плотности



2 цветных пипетки
фиксированного
объема для
приготовления
суспензии для
определения
чувствительности



диспенсер для
дозирования
физ. раствора



VITEK 2: РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- **Стерильный солевой раствор (водный раствор NaCl, 0,45-0,5%, pH 4,5 – 7,0)**
- **12 x 75 мм прозрачные полистирольные одноразовые пробирки**
- **Наконечники для пипеток для приготовления суспензии для определения чувствительности**
- **Карты для идентификации микроорганизмов**
- **Карты для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам**

КАРТЫ VITEK 2 COMRAST – ОБЩИЕ СПЕЦИФИКАЦИИ



■ Карты для идентификации

- ☐ Грамположительные бактерии
- ☐ Грамотрицательные бактерии
- ☐ Нейссерии и гемофилы
- ☐ Дрожжи
- ☐ Анаэробные организмы и коринебактерии
- ☐ Бациллы

■ Карты для определения чувствительности

- ☐ Нормы CLSI (Институт клинических и лабораторных стандартов) и Eucast (Европейский комитет по исследованиям антимикробной чувствительности)
- ☐ Кишечные
- ☐ Некишечные
- ☐ Кишечные, мочевыводящих путей
- ☐ Стафилококк
- ☐ Энтерококк
- ☐ Пневмококк
- ☐ Стрептококк Вириданс и Стреп. группы В.

■ Карты для определения чувствительности дрожжей к антигрибковым препаратам

КАРТЫ VITEK 2 COMRAST – ОБЩИЕ СПЕЦИФИКАЦИИ

- **Имеются 64 лунки для антибиотиков и биохимикатов**
 - Посев производится устройством автоматически
- **Не нужно проводить дополнительные автономные анализы**
 - Не нужно добавлять оксидазу, каталазу, минеральное масло или реагент Ковача
- **Штрих-коды на картах позволяют системе считать тип карты, срок ее действия, номер партии.**
- **У каждой карты имеется отдельная трубка для посева для автоматизации процесса**
- **Каждая карта – в отдельной упаковке**



**Минимум
медицинских
отходов**

КАРТЫ VITEK 2 COMRAST ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Микроорганизмы	Тип карты - номер по каталогу	Кол-во идентифицируемых таксонов	Кол-во тестов	Время до получения рез-та, час	Плотность суспензии, McF
Грамотрицательные палочки	GN 21341	146	47	2 – 10	0.5 - 0.63
Грамположительные кокки	GP 21342	115	43	2 – 8	0.5 - 0.63
Нейссерии/ Гемофилы	NH 21346	26	30	6	2.7 – 3.3
Дрожжи	YST 21343	50	46	18	1.8 - 2.2
Бациллы	BCL 21345	42	46	14	1.8 - 2.2
Анаэробы/ Коринебактерии	ANC ID 21347	63	36	6	2.7 – 3.3
ИТОГО		452			

КАРТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ (AST КАРТЫ)

Каждая карта содержит от 18 до 22 видов антибактериальных препаратов в различных концентрациях

АБ препараты - различные по химическому составу и механизму действия, в т.ч.

Фторхинолоны

-ципрофлоксацин, офлакссацин, моксифлоксацин, левофлоксацин и др.

Аминогликозиды

-тобрамицин,неомицин и др.

Гликопептиды

-ванкомицин

Цефалоспорины, макролиды и др.

**Карты для определения чувствительности в
антимикотическим препаратам**

-флуконазол, вориконазол, амфотерицин, микофунгин

КАРТЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Микроорганизмы	Количество антибиотиков	Время до получения результата		
		min	Среднее	max
Грамотрицательные палочки	18-23	5 ч	6 ч 30 мин	18 ч
Стафилококки / Энтерококки / Стрептококки гр. В	20-22	5 ч	7 ч	18 ч
Пневмококки	12-19	6 ч	8 ч	18 ч
Грибы	5		13 ч 30 мин	36 ч

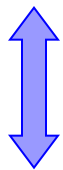
КАРТЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МОГУТ ИСПОЛЬЗОВАТЬСЯ ОТДЕЛЬНО

- Вы можете выбрать только карту для идентификации
- Вы можете выбрать только карту для определения чувствительности
- ИЛИ Вы можете использовать обе карты одновременно

VITEK 2 COMPACT – ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС



Из изолята готовится чистый раствор

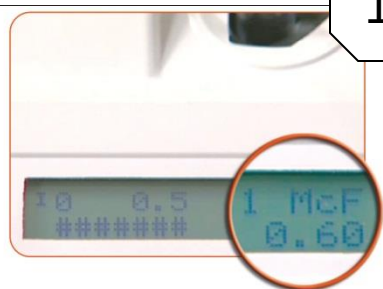


Подготовка по каждому изоляту:

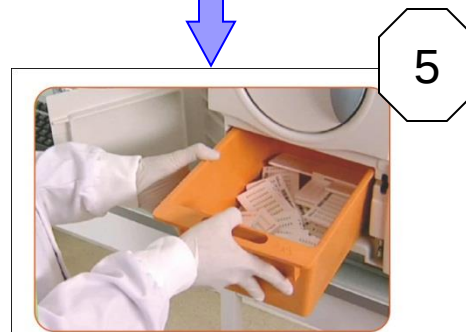
- Только идентиф. карта ID
- или только карта чувствительности AST
- или обе ID и AST карты



Загрузка карт в VITEK 2



Проверка плотности раствора (по McFarland)



Обработанные тест-карты автоматически сбрасываются в емкость для отходов

ОСНОВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА ПЕРЕД РУЧНОЙ МЕТОДИКОЙ

- Скорость получения результата
- Минимум мануальных манипуляций
- Стандартизованная методика
- Возможность получения результата по идентификации и чувствительности одновременно.
- Большая клиническая база идентифицируемых МО
- Получение результата чувствительности в МИК!!!
- Определение фенотипов резистентности (экспертная система AES)
- Возможность формирования отчетов
- Возможность обновления (дополнения) библиотеки штаммов МО и новых видов АБ



МИК - МИНИМАЛЬНАЯ ИНГИБИРУЮЩАЯ (БИОСТАТИЧЕСКАЯ, ПОДАВЛЯЮЩАЯ) КОНЦЕНТРАЦИЯ (МИК, МПК)

МИК - минимальная концентрация химиотерапевтического или антисептического вещества, вызывающая полное подавление заметного невооруженным глазом роста данного микроорганизма на средах в стандартных условиях опыта.

Измеряют в мкг/мл или в ед. действия (МЕ, ЕД).

Интерпретация результатов на VITEK

МИК к Цефалексину 0,06 МЕ

МИК к Тобрамицину 0,5 МЕ

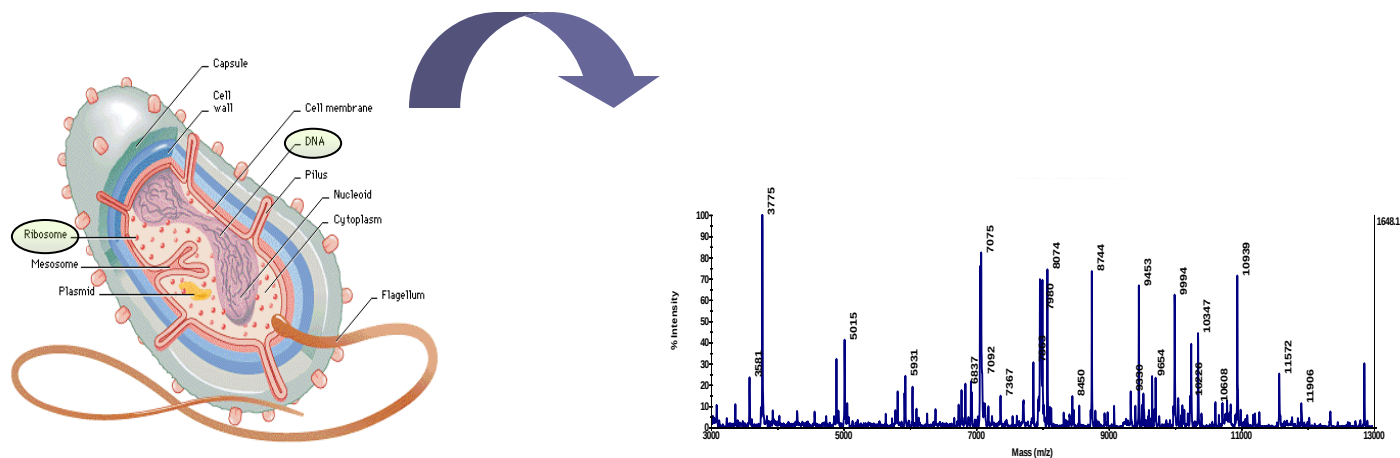
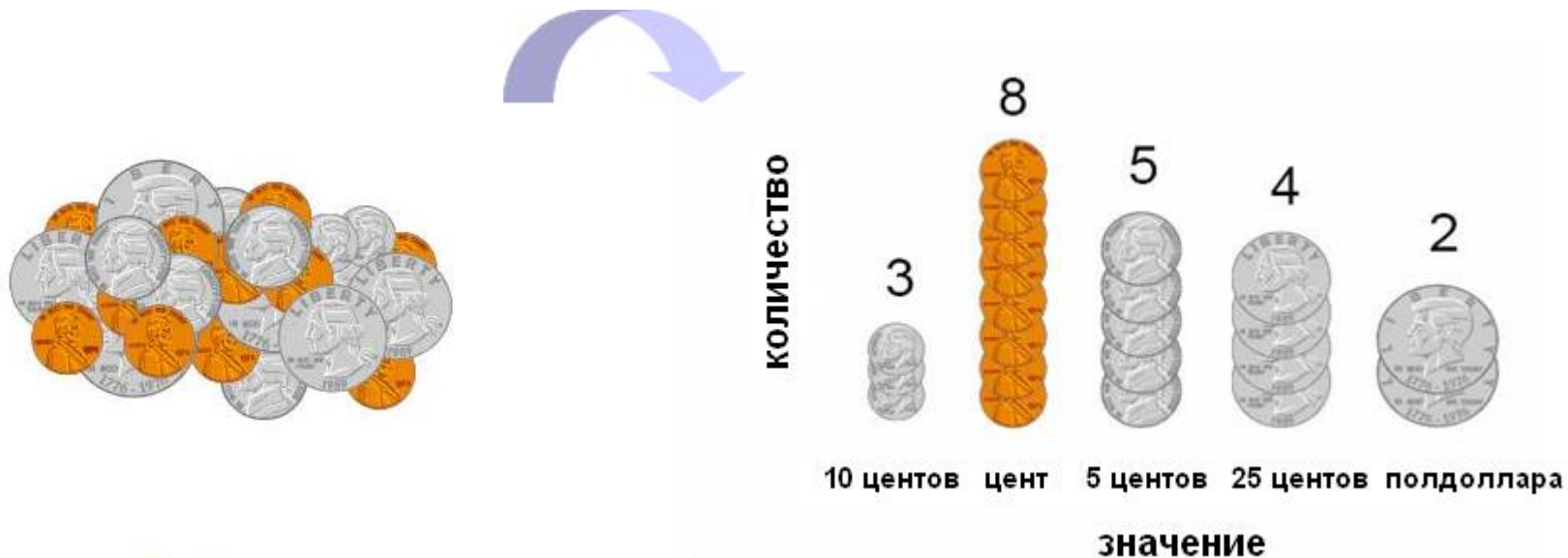
Цефалексин в меньших дозировках будет эффективней, чем Тобрамицин для данного пациента.

VITEK MS®
Масс-спектрометр Maldi-Tof
Автоматизированная система
идентификации микроорганизмов

ЧТО ТАКОЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ?

- Масс-спектрометрия (МС) – это аналитический метод определения **состава** элементов образца
- Принцип МС в **ионизации** химических соединений для образования **заряженных молекул** и определения отношения их **массы** к заряду (m/z)
- MALDI-TOF (**М**атричная **Л**азерная **Д**есорбционная **И**онизация – времяпролетная МС) – разновидность массовой спектрометрии, с помощью которой можно проводить скрининг белков непосредственно на интактной бактерии

ЧТО ТАКОЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ?



MALDI-TOF MS

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Шаг 1

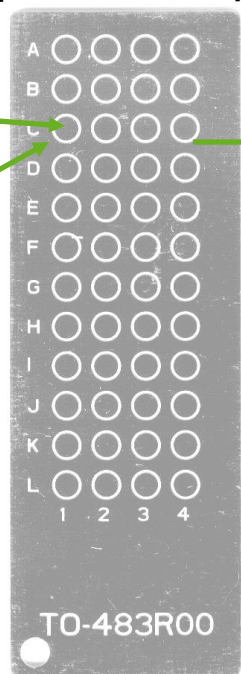


Бактерии, плесень, дрожжи,
микробактерии

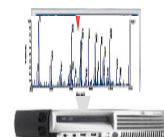
Шаг 2

Добавьте 1.0 мкл
матричного раствора

Целевой слайд



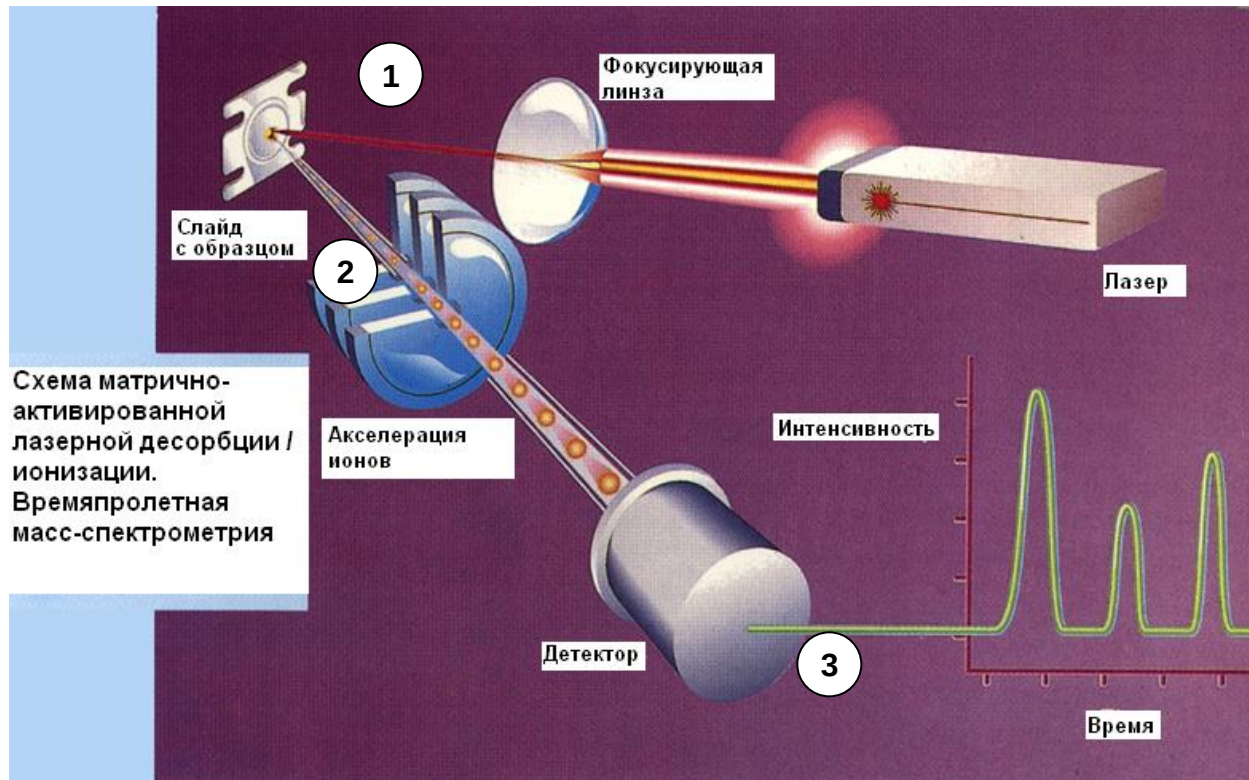
Шаг 4 Загрузка



Шаг 5 Создание спектра

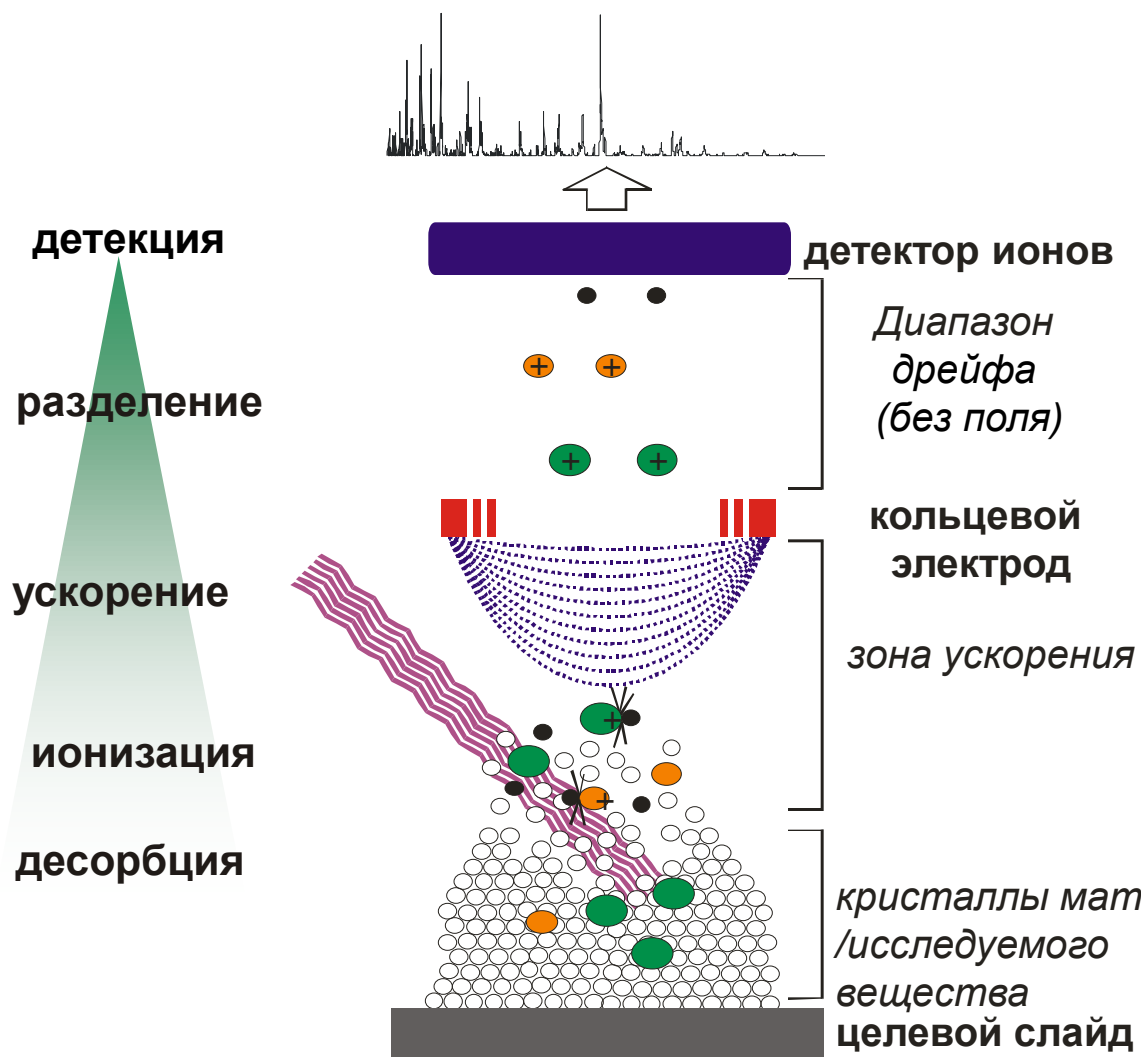
Шаг 3 Просушивание: 1-2 мин.

MALDI-TOF MS ТЕХНОЛОГИЯ



- ① При помощи лазерного луча происходит выброс микрочастиц из образца и матрицы
- ② Движение образованных ионов ускоряется за счет высокого напряжения, а затем ионы перемещают по пролетной трубке, где они сортируются по массе
- ③ Детекция в конце пролетной трубки

БЫСТРЫЙ ВЗГЛЯД НА MALDI-TOF MS



$$\frac{m}{z} = \frac{2eU}{L^2} t^2$$

m: масса

z: заряд

U: ускоряющее напряжение

L: длина пути

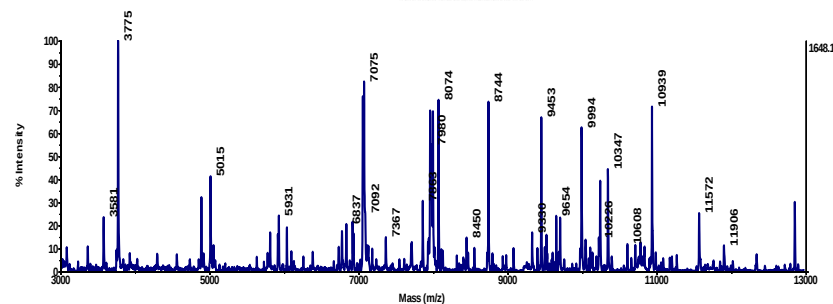
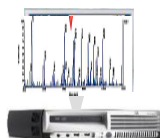
t: время

e: элементарный заряд

АНАЛИЗ ДАННЫХ VITEK MS



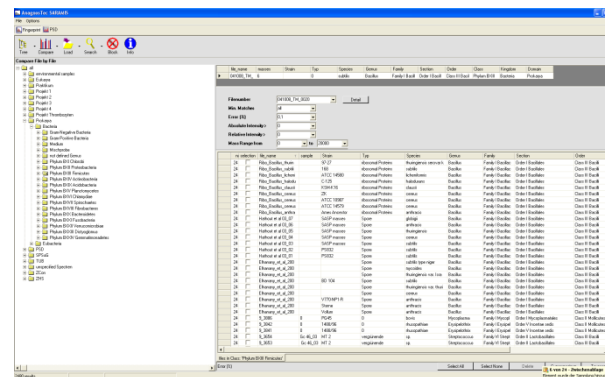
Получение спектра



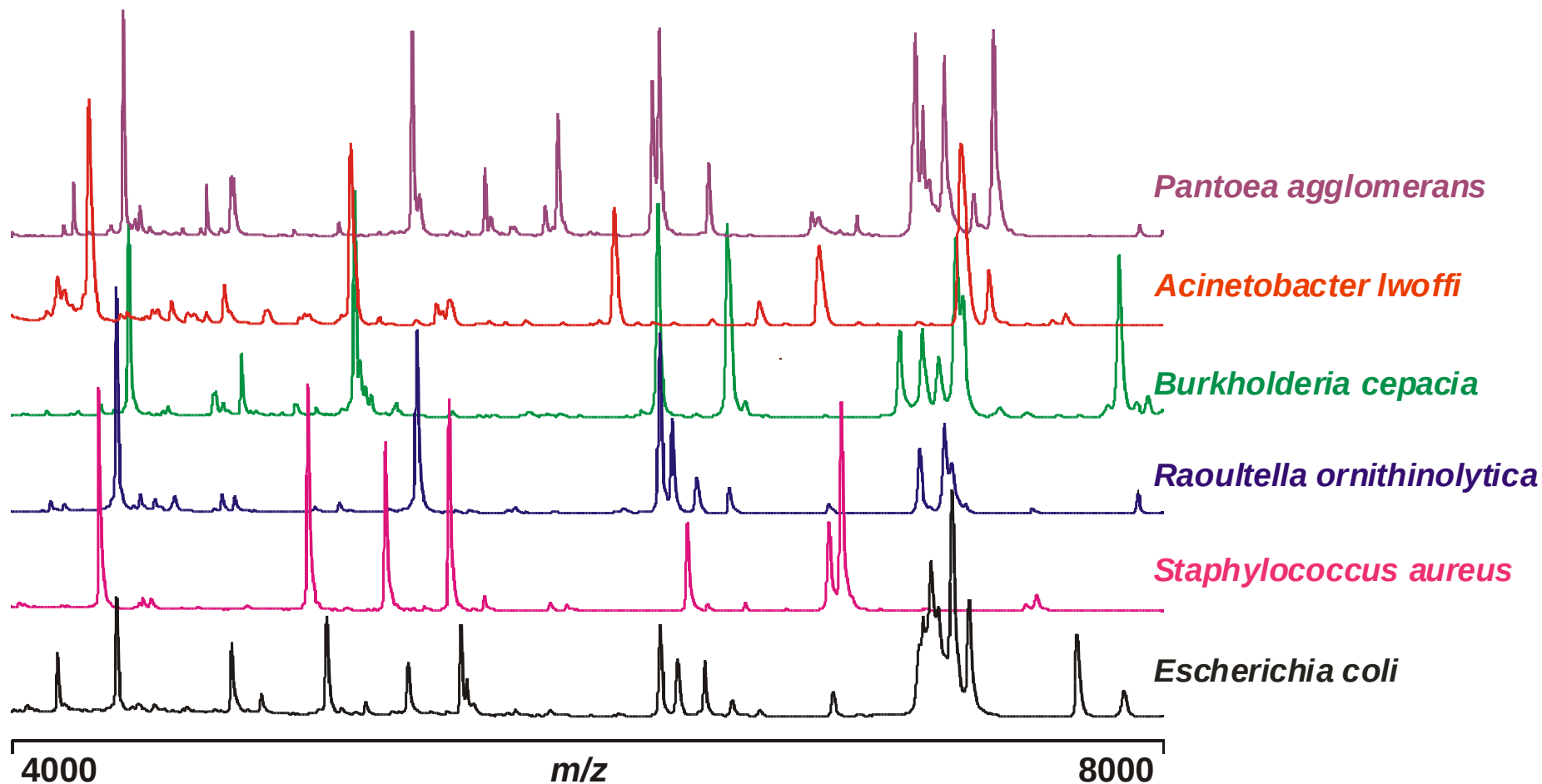
MALDI-TOF- MS спектр



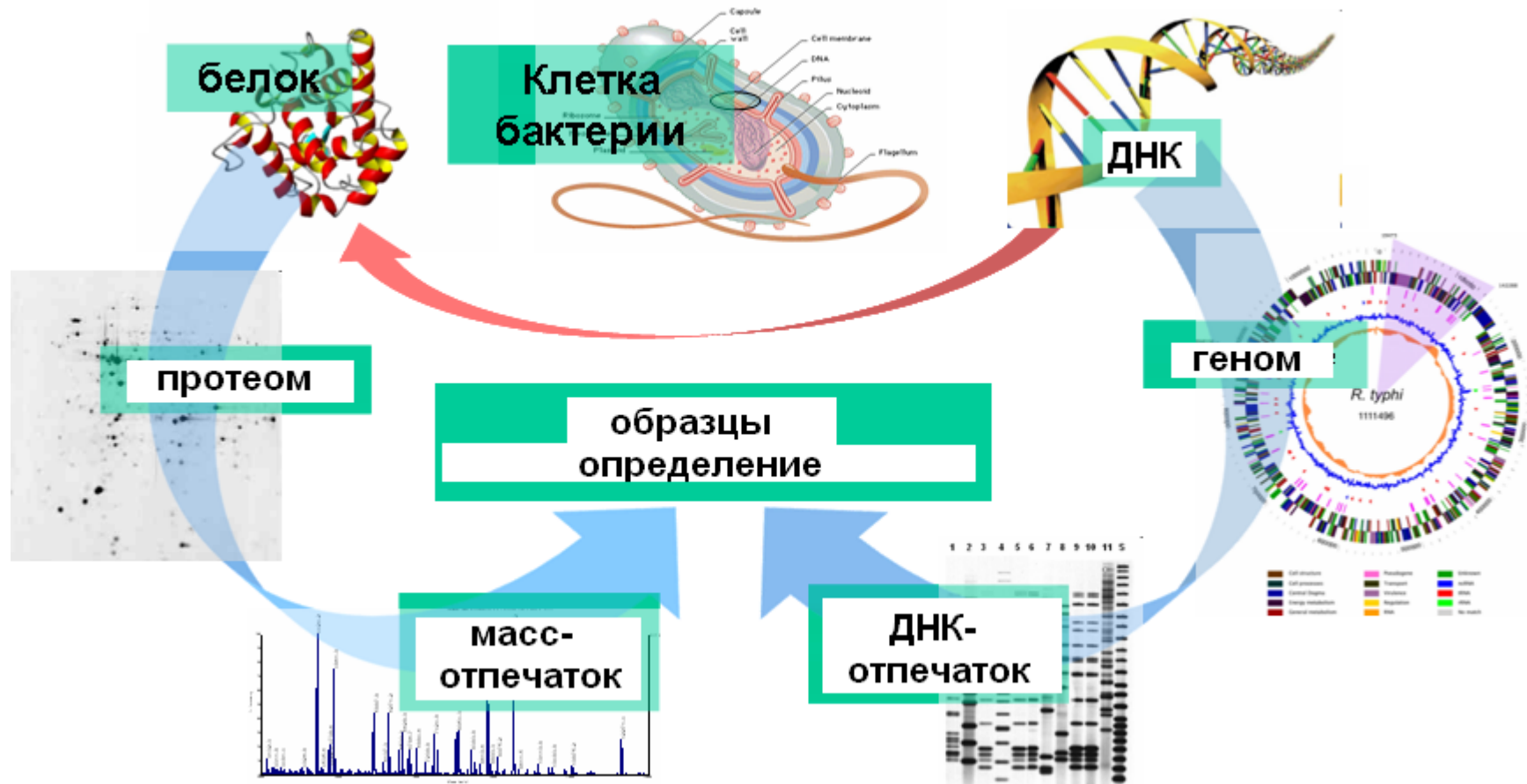
Анализ спектра
образца с
помощью базы
данных ⇒
получение
идентификации



МАСС СПЕКТР ЦЕЛОЙ КЛЕТКИ БАКТЕРИЙ: РАЗНИЦА В РИСУНКЕ ПИКОВ



СОВРЕМЕННАЯ ТАКСОНОМИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ: ПРОТЕОМИКА И ГЕНОМИКА

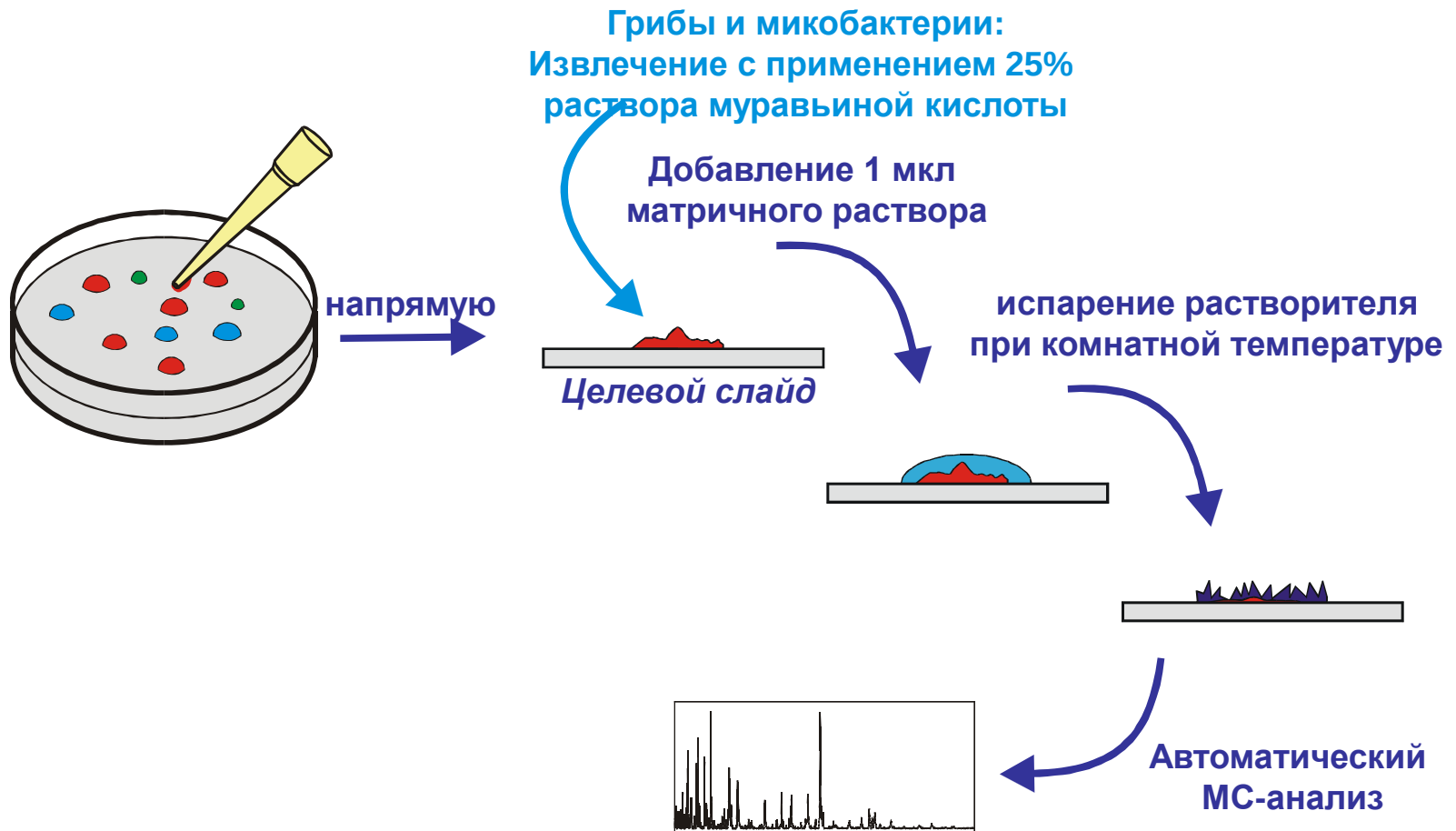


Масс-генетические отпечатки связаны непосредственно с геномными последовательностями

ВРЕМЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ НА VITEK MS

Этап процесса	Время (мин)		
	n = 5 изолятов	n = 24 изолята	n = 96 изолятов
Нанесение на чашку	1	5	16
Нанесение матрицы	1	3	10
Просушивание	2	2	7
Прочтение в системе	5	12	43
Время до результата			
Итого	9	22	76

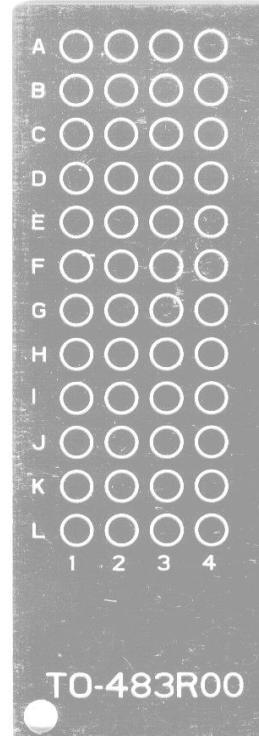
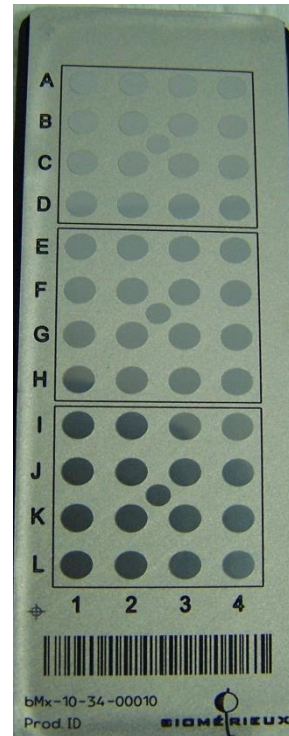
ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА



ВЫБОР ЦЕЛЕВЫХ СЛАЙДОВ

Одноразовые слайды:

- Подходят для in-vitro диагностики
- Штрих-код (отслеживаемость)
- Ячейки для калибровки
- Не нужно мыть
- Низкая стоимость анализа

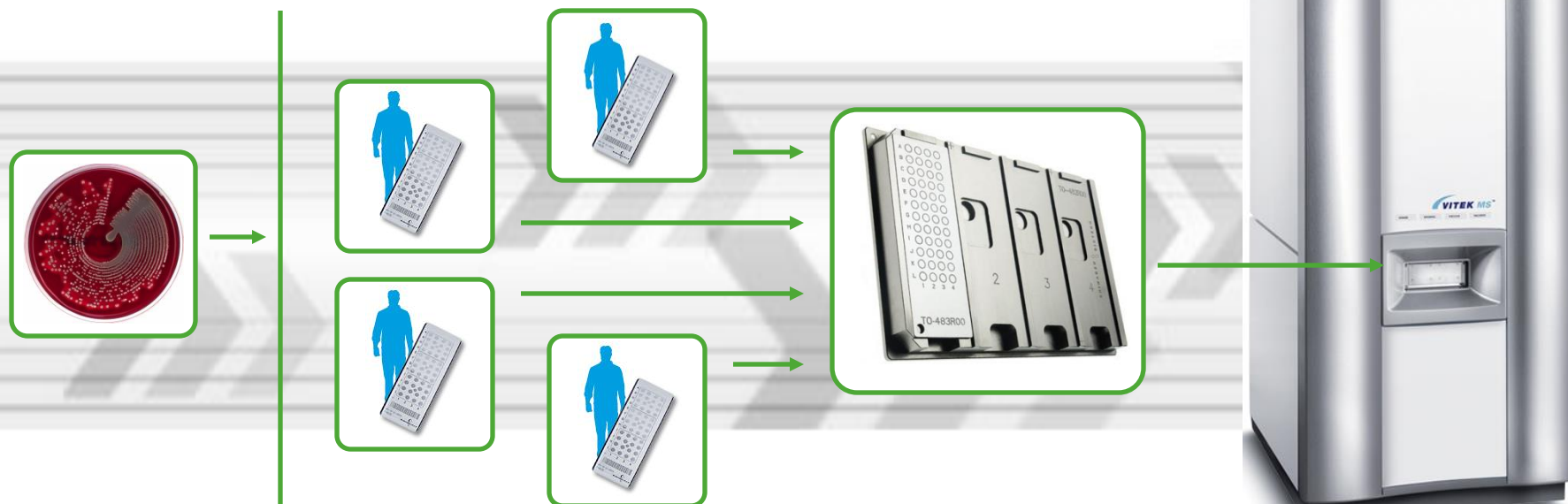


- **Многоразовые слайды:**
- Только для исследований
- Самая низкая стоимость анализа

VITEK MS: РАБОЧИЙ ПРОЦЕСС

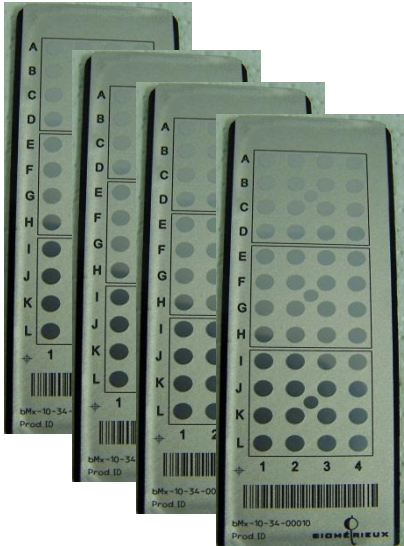
ПРЕИМУЩЕСТВА

- Параллельно могут работать до 4-х специалистов
- Штрих-коды для прослеживания
- Внутренняя калибровка (на чашке) /Внутренний контроль



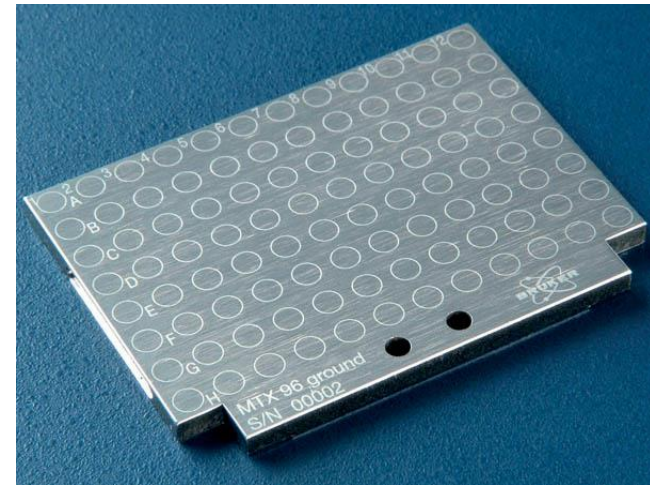
ОДНОРАЗОВЫЕ МАТЕРИАЛЫ





VITEK MS:

- Подготовка образца на целевом слайде
- Потокное производство (слайды 4x48)
- Отслеживаемость и контроль



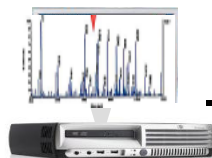
Конкуренты:

- Один целевой слайд (1 x 96 лунок)
- Нет штрих-кода
 - Ручной ввод данных
- Не одноразовые

ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К РУТИННОЙ РАБОТЕ



- Все преимущества MALDI-TOF (быстро, просто, экономично), плюс:
 - Подходит для in vitro диагностики
 - Весомые преимущества рабочего процесса
 - Отслеживаемость
 - Модернизированная интеграция с VITEK2, системой с элементами интеллекта AES, связующим IT-решением Myla и LIS (лабораторной инфо системой)
 - Перспективные клинические результаты



Myla™



ПОЛНАЯ АВТОМАТИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСНОЕ РЕШЕНИЕ

Глобальное решение на основе построения тесного и уникального партнерства с каждой лабораторией



САМОЕ КОМПЛЕКСНОЕ РЕШЕНИЕ В МИКРОБИОЛОГИИ

PPM
chromID™



PREVI™ Isola



ПОСЕВ

Mass
spectrometry



VITEK® 2

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ
и/или ПРОВЕРКА
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К
АНТИБИОТИКАМ**

**Станция
ГРАМ+/ГРАМ-**



PREVI™ Color Gram

**АНАЛИЗАТОР
ГЕМОКУЛЬТУР**



BacT/ALERT®

**СКРИНИНГ
ЭЛЕМЕНТОВ
МОЧИ**



Sysmex UF- 500i & UF-1000i

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ
РЕЗУЛЬТА**



AES™

**СВЯЗУЮЩЕЕ ПРОГРАММНОЕ
РЕШЕНИЕ**

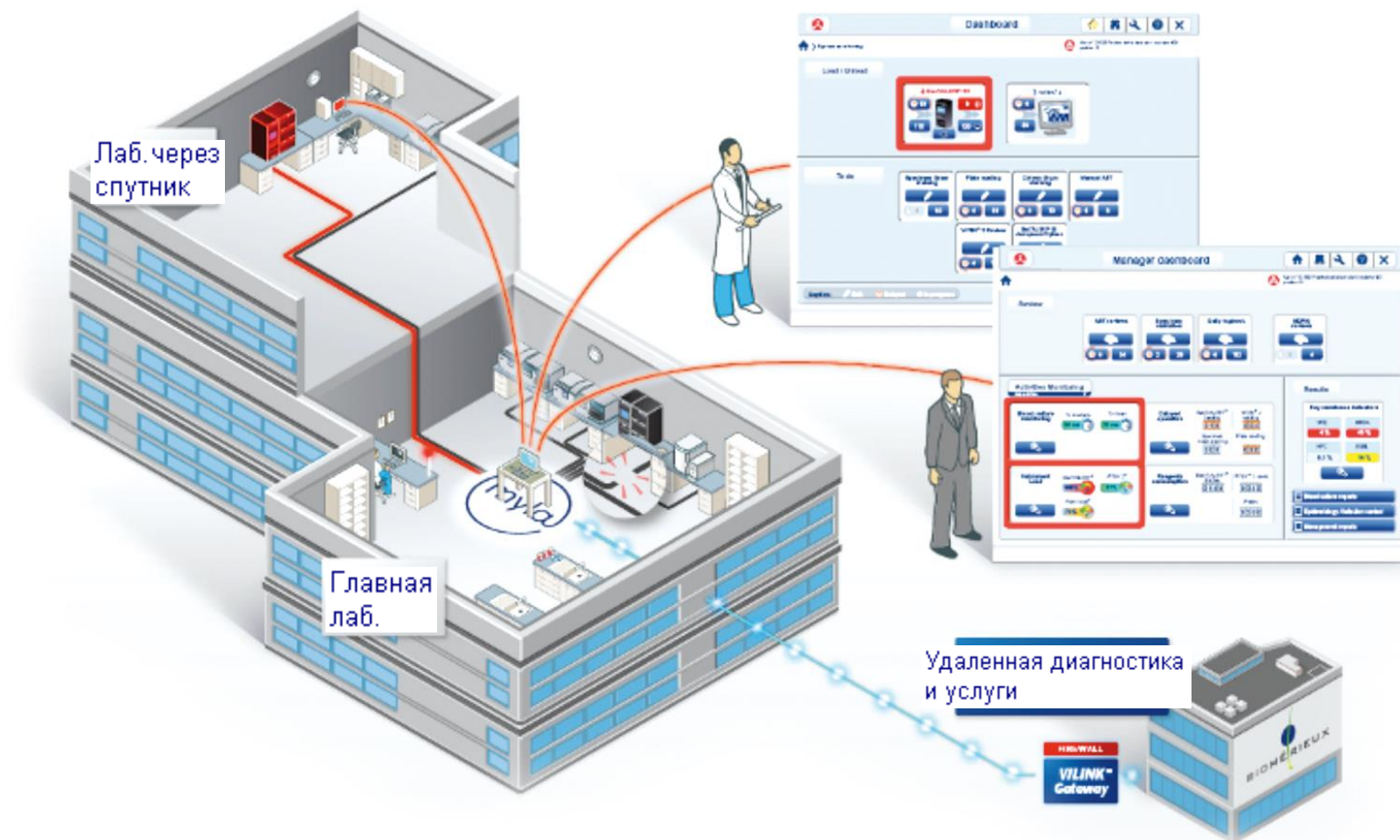
myla

DiversiLab®



**ТИПИРОВАНИЕ
ШТАММОВ**

МУЛА НА РАБОЧЕМ МЕСТЕ



Мула™ предоставляет услуги по управлению информацией и обеспечивает доступность всех необходимых данных тогда и там, где они требуются

Автоматизация бактериологических исследований

Что дает?

- **Сокращение** времени получения результата
- **Повышение** эффективности лечения пациента
- **Снижение** средней продолжительности койко - дня
- **Уменьшение** количества ошибок лаборантов
- **Возможность анализа** ситуации в режиме реального времени
- **Снижение трудозатрат** при выполнении большого объема анализов
- **Стандартизация** чтения результатов
- **Создание** базы данных

A decorative graphic on the left side of the slide consisting of a grid of squares in various shades of blue and purple, arranged in a stepped pattern.

Спасибо за внимание!