

РАЗВИТИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ПИРОГОВСКОГО ЦЕНТРА

Петрова Л.В.*, Лашенкова Н.Н., Гайдукова И.А.,
Полуэктова М.В.

DOI: 10.25881/20728255_2023_18_2_10

ФГБУ «Национальный медико-хирургический
Центр им. Н.И. Пирогова», Москва

Резюме. Изложены основные этапы становления микробиологической лаборатории (МБЛ) Пироговского Центра, её состояние и структура, определены наиболее значимые достижения и современные технологии микробиологической диагностики, используемые в ежедневной работе МБЛ, а также направления её научной деятельности.

Ключевые слова: микробиологическая лаборатория, Пироговский Центр, инфекционный эндокардит, СКАТ, микробиологические и молекулярно-биологические исследования, карбапенемазы, контроль качества.

За последние двадцать лет микробиологическая диагностика совершила огромный скачок от ручных методик до полностью автоматизированных этапов. И этот процесс развивается и совершенствуется непрерывно. МБЛ Пироговского Центра всегда шла в ногу со временем, предвосхищая требования клиницистов.

С 2003 г. первой заведующей бактериологического отдела КДЛ ЦКДК была Мелкумян Алина Ранतिकовна, которая внедрила автоматические методы диагностики, на тот момент являющиеся передовыми и востребованными в нашем Центре, особенно для врачей отделений реанимации и интенсивной терапии. Было закуплено два автоматических бактериологических гемокультиватора, один из которых стоял непосредственно в ОАР №2 Клиники гнойно-септической хирургии, что способствовало быстрой диагностике сепсиса, а также пациентов с инфекционным эндокардитом (далее — ИЭ). Основоположник гнойно-септической кардиохирургии академик РАН Ю.Л. Шевченко из оперативного лечения больных ИЭ выделил целое научное направление. Юрий Леонидович экспериментально обосновал и использовал в диагностике ИЭ разность напряженности бактериемии артериальной и венозной крови пациента. Совместная работа команд Ю.Л. Шевченко и бактериологов помогла достичь значимых результатов в диагностике и лечении пациентов с ангиогенным сепсисом с локализацией септического очага в сердце. Автоматический бактериологический анализатор для идентификации и определения чувствительности микроорганизмов позволял не только проводить высококачественные исследования с актуальной интерпретацией результатов, но также встроенная программа анализатора позволяла проводить электронную регистрацию анализов и распечатку результатов исследования на бланках. На автоматиче-

THE HISTORY OF THE DEVELOPMENT OF THE
MICROBIOLOGICAL LABORATORY OF THE PIROGOV CENTERPetrova L.V.*, Lashenkova N.N., Gajdukova I.A., Poluektova M.V.
Pirogov National Medical and Surgical Center, Moscow

Abstract. The article outlines the main stages in the formation of microbiological laboratory of the Pirogov Center, the state and structure of the microbiological laboratory, identifies the most significant achievements and modern microbiological diagnostic technologies used in the daily work of the microbiological laboratory, and areas of scientific activity.

Keywords: microbiological laboratory, Pirogov Center, infective endocarditis, antimicrobial therapy control strategies, microbiological and molecular biological research, carbapenemase, quality control.

ский этап был поставлен также процесс приготовления питательных сред.

С приходом заведующей Наталии Николаевны Лашенковой в 2008 г. продолжилось совершенствование микробиологических исследований: начал проводиться строгий санитарно-бактериологический контроль внутрибольничной среды, введена оценка чувствительности микроорганизмов к дезинфицирующим средствам и кожным антисептикам. Был осуществлен переход на одноразовую лабораторную посуду, в т.ч. транспортные среды (Рис. 1). Огромная роль стала отводиться научным исследованиям и клиническим испытаниям с международным участием. Также регулярно проходили обучающие мастер-классы в рамках научно-практической конференции с международным участием «Стратегия контроля антибиотикорезистентности в стационаре: проблемы и перспективы». Внедрение в стационаре стратегии контроля антимикробной терапии (СКАТ) потребовало дальнейшего усиления и модернизации бактериологической лаборатории.

Отбор проб для микробиологических исследований проводится во всех подразделениях Пироговского Центра в соответствии со стандартными операционными процедурами, которые разработаны совместно с главными медицинскими сестрами при непосредственном участии начальника эпидемиологической службы и главного врача стационара. Работа МБЛ построена таким образом, чтобы минимизировать потери времени от момента отбора пробы и до посева на питательные среды. ПЦР-отдел МБЛ проводит исследование и по воскресеньям, что позволяет выдавать необходимые результаты день в день для реанимационных отделений стационара.

Внутренний контроль качества (ВКК) дисков с антибиотиками и питательных сред в МБЛ с 2018 г.

* e-mail: petrovalv@pirogov-center.ru



Рис. 1. Процесс посева биологического материала на твердые и жидкие питательные среды.

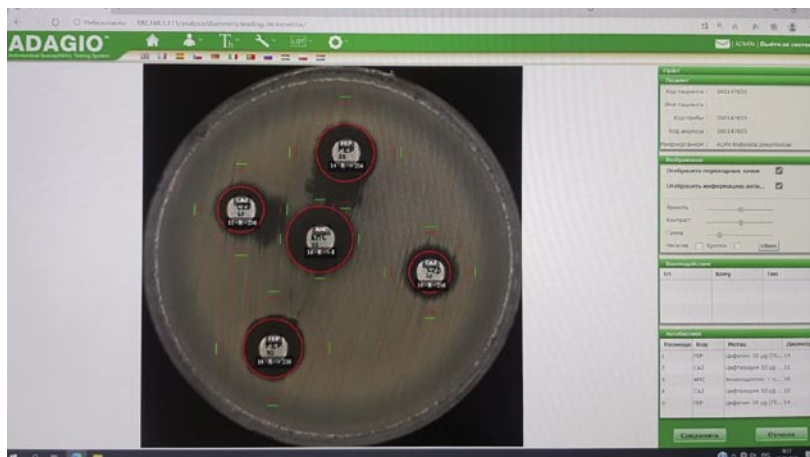


Рис. 2. Проведение внутреннего контроля качества дисков с антибиотиками.



Рис. 3. Свидетельство об участии в Федеральной системе внешней оценки качества.

проводится на анализаторе определения антибиотикочувствительности бактерий дискодиффузионным методом с автоматическим построением калибровочных графиков и сохранением результатов, с использованием сертифицированных эталонных штаммов микроорганизмов (Рис. 2). Внедрение в работу сертифицированных готовых питательных сред позволило сократить расход средств и времени на проведение ВКК. МБЛ имеет большую рабочую коллекцию микроорганизмов, ежегодно пополняющуюся, которая используется для написания научных статей, участия в крупных российских проектах, а также проведения клинических испытаний новых медицинских изделий. МБЛ участвует в программах внешней оценки качества не только Российской федеральной системы (ФСВОК), но также и международной — NEQAS, что ежегодно подтверждается сертификатами (Рис. 3).

На протяжении долгого времени продолжается плодотворное сотрудничество с Лабораторией Молекулярных Механизмов антибиотикорезистентности ФБУН ЦНИИ Эпидемиологи Роспотребнадзора в рамках изучения молекулярно-генетических механизмов устойчивости к антибактериальным препаратам, геномной организации, а также геномной эпидемиологии условнопатогенных бактерий с целью изучения эпидемиологических источников и путей распространения высоковирулентных штаммов микроорганизмов, с последующим анализом полученных данных и ежегодной совместной публикацией статей в иностранных научных журналах. С 2019 г. МБЛ активно сотрудничает с НИИ антимикробной химиотерапии СГМА, Смоленска, а именно в крупных российских

проектах «Мониторинг распространённости и антибиотикорезистентности возбудителей инфекций в многопрофильных стационарах (МАРАФОН)» и «Эпиднадзор за устойчивостью к противомикробным препаратам в Центральной Азии и Европе (CAESAR)».

Благодаря большой поддержке руководства Пироговского Центра в бактериологической лаборатории с 2017 г. начал меняться и обновляться парк бактериологических анализаторов: появление времяпролетной масс-спектрометрии позволило в течение 20 минут проводить идентификацию выросших колоний микроорганизмов, а с появлением в 2020 г. анализатора скрининга биологических жидкостей человека сократилось культуральное исследование мочи до 4,5 часов — 1 суток, что позволило лечащим врачам назначать своевременно этиотропную терапию (Рис. 4).

С 2019 г. в бактериологической лаборатории, с приходом новой заведующей Петровой Людмилы Викторовны и после получения санитарно-эпидемиологического заключения на проведение молекулярно-генетических исследований, проводятся исследования на выявление



Рис. 4. Парк анализаторов микробиологической лаборатории.

генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам, что позволяет проводить более полноценную и качественную разработку протоколов антибактериальной терапии, а также проводить скрининг пациентов высокого риска развития инфекционных осложнений (Рис. 5, 6).

Для этих же целей было внедрено фенотипическое выявление типов карбапенемаз с помощью современных панелей для автоматического бактериологического анализатора, в которых помимо этого есть возможность определения чувствительности к новым антибактериальным препаратам с получением ответа в виде минимальной ингибирующей концентрации.

Результатом внедрения СКАТ, а также модернизации МБЛ является уменьшение распространённости и уровня устойчивости к антибиотикам микроорганизмов группы ESKAPE — возбудителей нозокомиальных инфекций, обладающих наиболее высоким потенциалом антибиотикорезистентности, а также сокращение количества и продолжительности курсов антимикробной терапии (АМТ) у пациентов в ОРИТ; сокращение длительности госпитализации и уровня летальности от инфекций (в т.ч. инфекций кровотока); снижение уровня потребления антибиотиков в стационаре; сокращение расходов стационара на антимикробные препараты (АМП) и лечение инфекций.

В 2022 г. Л.В. Петрова прошла обучение у ведущих микологов страны на базе НИЛ микологического мониторинга и биологии грибов (референс-лаборатория) в Санкт-Петербурге, что позволило внедрить в практику люминесцентную микроскопию отделяемого нижних дыхательных путей и прочих биологических материалов, а также усовершенствовать культуральную диагностику патогенных грибов (Рис. 7).

На базе МБЛ в 2020 г. проводилось клинико-лабораторное испытание медицинского изделия «Экспресс-тест для определения карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP и NDM в бактериальной колонии из культуры» для по-



Рис. 5. Этап выделения нуклеиновых кислот.



Рис. 6. Кабинет экстракции нуклеиновых кислот (верх). Кабинет амплификации нуклеиновых кислот (низ).

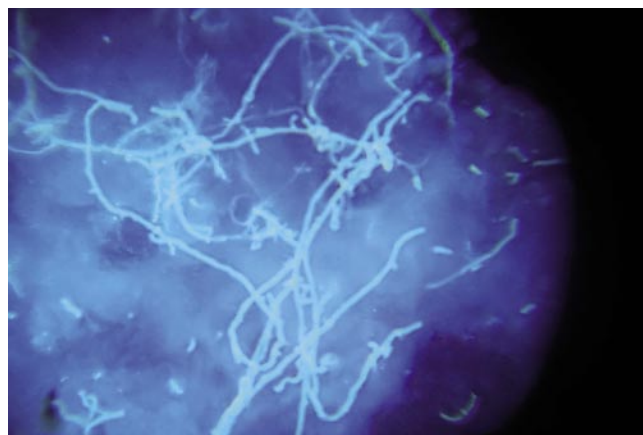


Рис. 7. Истинный мицелий грибов. Люминесцентная микроскопия x100. Окраска калюкофлуор белый.

лучения регистрационного удостоверения (Рис. 8). В настоящее время также проходит испытание другой набор с подобным механизмом действия.

Информационные технологии в Пироговском Центре внедрены во все отделения, в том числе и МБЛ. В медицинской информационной системе (МИС) происходит создание заявки и направления на микробиологическое исследование, а в лабораторной информационной системе (ЛИС) отражен ход всех этапов исследования. Это позволило исключить бумажное ведение учетно-отчетных форм, что минимизирует ошибки «человеческого фактора», а также, что немаловажно, исключает контактную передачу внутрибольничных патогенов. Результаты исследований амбулаторные пациенты отслеживают в своем личном кабинете на сайте Пироговского Центра.

В 2021 г. произошел переход на локальную систему мониторинга антибиотикорезистентности с использованием онлайн-платформы AMRcloud для обеспечения доказательной базы реестра по активности АМП и эпидемиологии антимикробной резистентности (АМР).

Сотрудники МБЛ ежегодно принимают участие с докладами на ведущих российских конференциях с международным участием: научно-практическая конференция «Стратегия контроля антибиотикорезистентности в стационаре: проблемы и перспективы» Пироговский Центр; Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Эпидемиологическая безопасность медицинской деятельности в условиях пандемии COVID-19» Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (НАСКИ); Конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность», Конгресс с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи»; Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (Кашкинские чтения); международный конгресс МАКМАХ по антимикробной терапии и клинической микробиологии и другие местные и региональные конференции. В 2021 г. вышло руководство под редакцией члена-корр. РАН Р.С. Козлова «Мониторинг антибиотикорезистентности с использованием платформы AMRcloud. Практическое руководство», в авторский коллектив которого вошли сотрудники Пироговского Центра: Гусаров В.Г., Замятин М.Н. и Петрова Л.В. (Рис. 9).

Врачи и лаборанты МБЛ являются членами Федерации лабораторной медицины, активно участвуют в дистанционных обучающих программах и своевременно проходят обучение не только по совершенствованию своей основной специализации, но также с интересом изучают смежные дисциплины, которые находят применение в текущей деятельности МБЛ.

В настоящее время штат МБЛ представлен четырьмя врачами-бактериологами (все с высшей категорией) и пятью фельдшерами-лаборантами (Рис. 10). Все сотрудники лаборатории имеют сертификаты и удостоверения по



Рис. 8. Испытание медицинского изделия «Экспресс-тест для определения карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP и NDM.

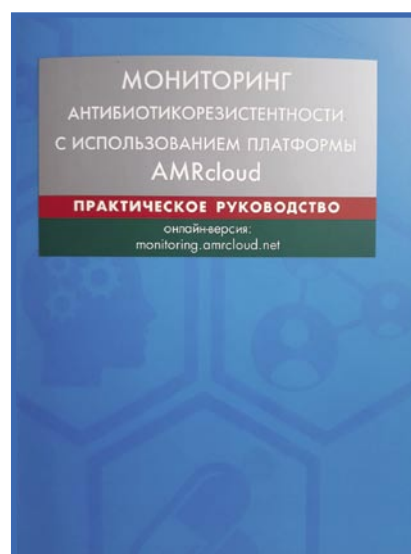


Рис. 9. Обложка практического руководства под редакцией члена-корр. РАН Р.С. Козлова.



Рис. 10. Штат микробиологической лаборатории.

работе не только по бактериологической диагностике, но и по молекулярно-биологическим методам исследования, что позволяет обеспечить полную взаимозаменяемость во всех разделах микробиологического исследования.

С 2021 г. на базе МБЛ в Пироговском Центре начал функционировать референс-центр системного мониторинга распространения антимикробной резистентности по профилю «хирургия», руководителем которого является главный врач стационара Гусаров Виталий Геннадьевич.

Таким образом, плодотворная и насыщенная история развития МБЛ наглядно демонстрирует, что для непрерывной, своевременной и качественной работы необходимо не только современное оборудование и реагенты, а также высококвалифицированные сотрудники, которые хотят развиваться и учиться, а также с любовью относятся к своему труду.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Шевченко Ю.Л., Гудымович В.Г., Попов Л.В., Борщев Г.Г., Матвеев С.А. Кардиохирургия Пироговского Центра — сохраняя традиции, приближаем будущее // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. — 2022. — Т.17. — №4. — Ч.1. — С.24-31. [Shevchenko YuL, Gudymovich VG, Popov LV, Borshchev GG, Matveev SA. Vestnik Nacional'nogo mediko-hirurgicheskogo Centra im. N.I. Pirogova. 2022, 17(4): 24-31. (In Russ.)] doi: 10.25881/20728255.
2. Карпов О.Э., Борщев Г.Г., Матвеев С.А. Научная биография Юрия Леонидовича Шевченко // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. — 2022. — Т.17. — №4. — Ч.1. — С.18-23. [Karpov O.E., Borshchev G.G., Matveev S.A. Scientific biography of Yuri Leonidovich Shevchenko. Vestnik Nacional'nogo mediko-hirurgicheskogo Centra im. N.I. Pirogova. 2022, 17(4): 18-23. (In Russ.)] doi: 10.25881/20728255.
3. Карпов О.Э., Гусаров В.Г., Замятин М.Н., Орлова О.А., Петрова Л.В., Камышова Д.А., Дементенко М.В., Габоян Я.С., Пивкина А.И., Гриценко Е.А. Управление антибиотикорезистентностью в стационаре: современные реалии и перспективы // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2020. — Т.22. — №4. — С.277-286. [Karpov OE, Gusarov VG, Zamyatin MN, Orlova OA, Petrova LV, Kamyshova DA, Dementienko MV, Gaboyan YAS, Pivkina AI, Gricenko EA. Upravlenie antibiotikorezistentnost'yu v stacionare: sovremennye realii i perspektivy // Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2020; 22(4): 277-286. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmasc.2020.4.277-286.
4. Гусаров В.Г., Замятин М.Н., Гороховатский Ю.И., Теплых Б.А., Ловцевич Н.В., Лисиченко И.А., Борисов Ф.Ф., Лузин М.В., Шабулдо И.Н. Безопасность пациента как основа стратегии развития службы анестезиологии и реаниматологии Пироговского Центра // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. — 2022. — Т.17. — №4. — Ч.1. — С.4-12. [Gusarov V.G., Zamyatin M.N., Gorohovatskij YU.I., Teplyh B.A., Lovcevic N.V., Lisichenko I.A., Borisov F.F., Luzin M.V., Shabuldo I.N. Patient safety for the development strategy of department of anesthesiology and intensive of the Pirogov Center. Vestnik Nacional'nogo mediko-hirurgicheskogo Centra im. N.I. Pirogova. 2022; 17(4): 4-12. (In Russ.)] doi: 10.25881/20728255.
5. Петрова Л.В., Кузьменков А.Ю., Камышова Д.А., Виноградова А.Г., Гусаров В.Г., Замятин М.Н. Опыт внедрения онлайн-платформы AMRcloud для локального мониторинга антибиотикорезистентности в многопрофильном стационаре // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2022. — Т.24. — №1. — С.39-46. [Petrova LV, Kuzmenkov AYU, Kamyshova DA, Vinogradova AG, Gusarov VG, Zamyatin MN. Experience in implementing the AMRcloud online platform for local antimicrobial resistance surveillance in a tertiary care hospital. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya. 2022; 24(1): 39-46 (In Russ.)]