

«Использование автоматизированных систем анализа в диагностике ППИ»



ПЯТЫЙ ЮБИЛЕЙНЫЙ ЕВРАЗИЙСКИЙ ОРТОПЕДИЧЕСКИЙ ФОРУМ

EURASIAN
ORTHOPEDIC
FORUM

Овсянкин А.В., главный врач ФГБУ «ФЦТОЭ» Минздрава России (г. Смоленск), заведующий кафедрой травматологии и ортопедии с военно-полевой хирургией (ВПХ) ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, к.м.н.

Гузюкина С.А., заведующий клинико-диагностической лабораторией-врач клинической лабораторной диагностики
Мищенко В.М., клинический фармаколог, Зиновьев М.П., врач травматолог-ортопед, к.м.н., Головина Е.А., врач-бактериолог, Коршунов Д.Ю. заведующий ОТО 1, врач травматолог-ортопед

Актуальность проблемы



Рост АМР снижает вероятность
эффективной эмпирической терапии

Для достижения
наибольшей эффективности

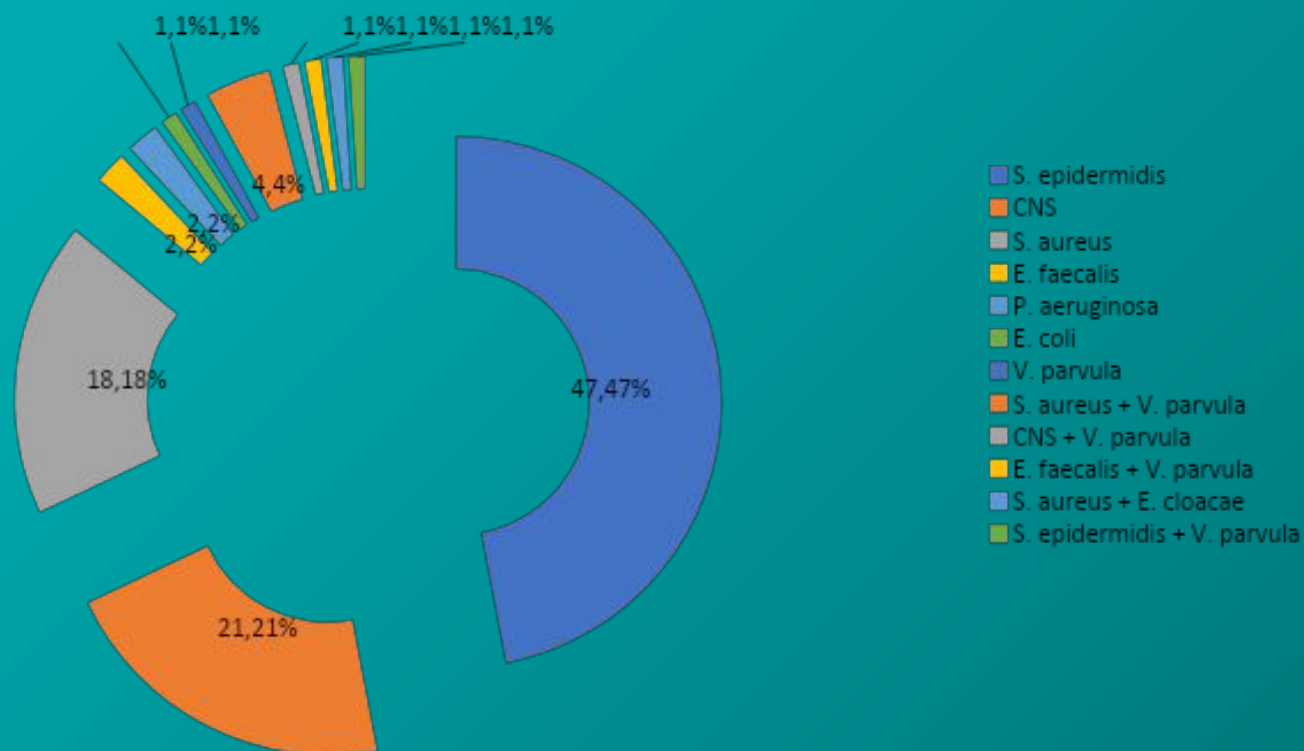
Повышение эффективности
диагностики в выявлении
возбудителя

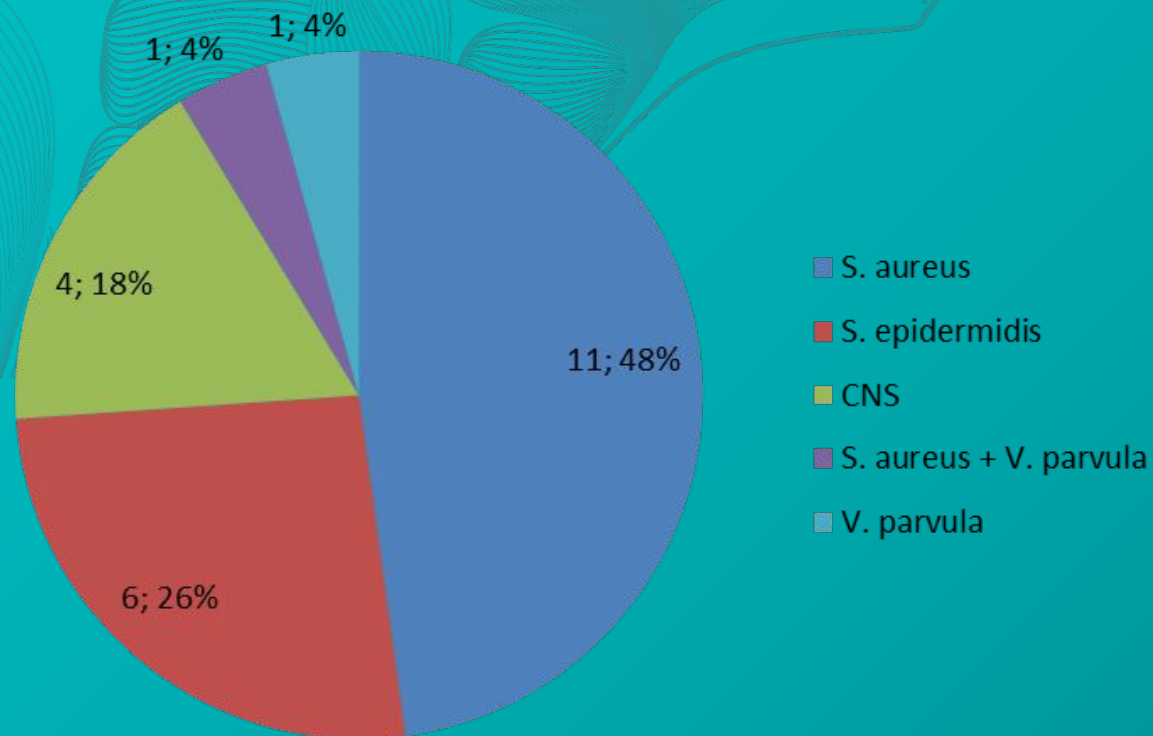
формирование локальной
системы мониторинга АМР
с последующим использованием
полученных данных для
корректировки подходов к АМТ

Анализ ситуации



За 2023-2024гг выполнено 191 ревизионное оперативное вмешательство у пациентов с эндопротезами крупных суставов. Из них 100 операций по поводу перипротезной инфекции суставов с подтвержденной микробной этиологией. 59 операций выполнено на тазобедренном суставе, 41 на коленном суставе. Структура возбудителей перипротезной инфекции представлена на рисунке:





Дополнительный заголовок

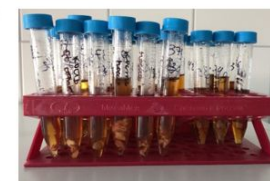
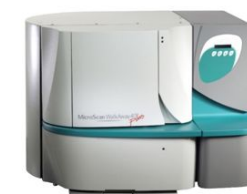
В 77% случаев (77 пациентов) назначалась эмпирическая антибактериальная терапия, которая была адекватной в 94,8% случаев и продолжалась как этиотропная после получения результатов бактериологического исследования интраоперационного материала (биоптаты тканей и/или компоненты эндопротеза). В 5,2% случаев (4 ревизионных вмешательства) эмпирическая терапия не была адекватна и после получения результатов посева была скорректирована. В 23% случаев (23 ревизионных вмешательства) назначалась этиотропная антибактериальная терапия, на основании бактериологического исследования пунктатов целевого сустава.

Структура возбудителей ППИ полученных из



2

Выявление
возбудителя



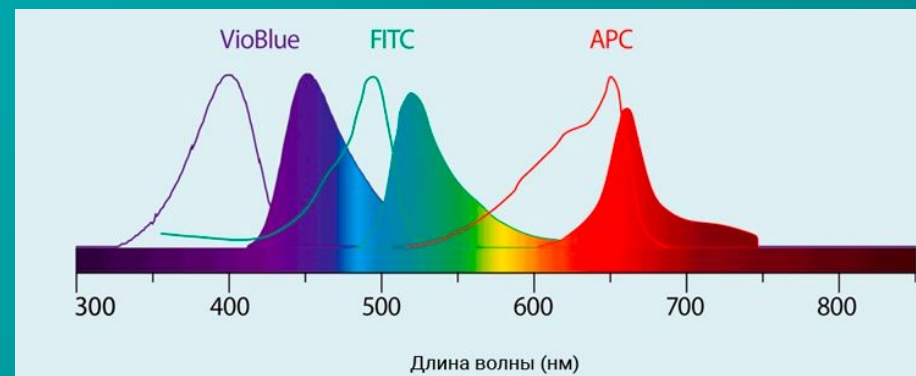
Автоматизированные системы анализа



Автоматизация всегда влечет за собой повышение Уровня контроля качества. С приходом в рутинную клиническую практику Метода проточной цитофлуориметрии начинаются попытки использования его применительно к биологическим жидкостям...



Автоматический гематологический анализатор



Гузюкина С.А., Москаленко А.А., Овсянкин А.В. Исследование синовиальной жидкости на гематологических анализаторах нового поколения // Профилактическая и клиническая медицина. — 2024. — № 1 (90). — С. 96–102. DOI:10.47843/2074-9120_2024_1_96

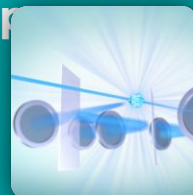
Методы обнаружения бактерий



Золотой стандарт-посев
Длительная процедура
исследования

Микроскопическое исследование
Ручные методики
Субъективно
Проблемы с контролем качества
Ошибки при пробоподготовке

Автоматизированный анализ осадка
Проточная цитофлуорометрия
Цифровая микроскопия
Технология потокового распределения
с распознаванием частиц



Nit

Свидетельствуют о бактериальной инфекции
Не все бактерии являются нитрифицирующими!
Жидкость должна постоять...

ВАСТ

Количественное определение бактерий, живых и мертвых
Не равно КОЕ!
Индикатор плохой преаналитики

CR канал

SF канал

Грам-принадлежность



Автоматизированное определение Грам-принадлежности бактерий на интраоперационном этапе позволит:

Предположить этиологию

Назначить антибактериальную терапию с учетом

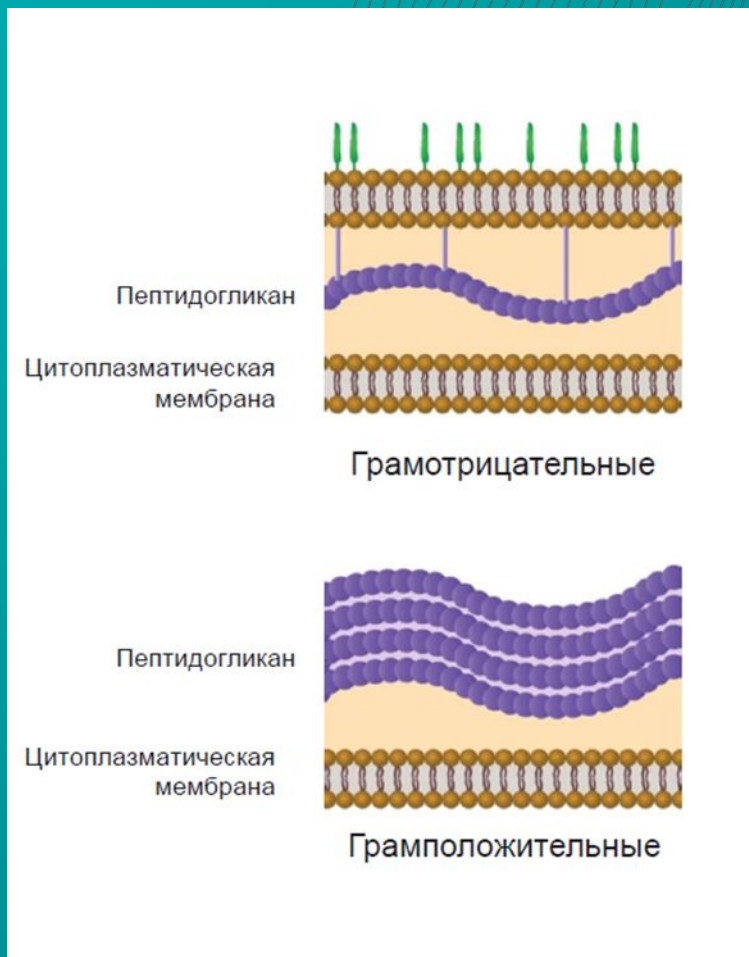
Грам-принадлежности

Цвет окрашивания по Граму зависит от клеточной стенки бактерий

- У Гр+ толстая клеточная стенка, много пептидогликана – больше красителя попадает в клетку

Метод проточной цитофлуориметрии

окрашивание + количественный подсчет + скатерограммы



Анализ публикаций



PubMed® Evaluation of flow cytometry for the detection of bacteria in biological fluids

[Advanced](#) [Create alert](#) [Create RSS](#) [User Guide](#)

Sort by:

MY NCBI FILTERS 41 results Page of 5

RESULTS BY YEAR

TEXT AVAILABILITY

☐ Abstract

2 articles found by citation matching

Evaluation of flow cytometry for the detection of bacteria in biological fluids.
Rubio E, et al. PLoS One. 2019. PMID: 31390352 [Free PMC article](#).

Evaluation of Flow Cytometry for Cell Count and Detection of Bacteria in Biological Fluids.
Dossou N, et al. Microbiol Spectr. 2022. PMID: 35196801 [Free PMC article](#).

[Show all](#)

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Evaluation of flow cytometry for the detection of bacteria in biological fluids

Elisa Rubio^{1*}, Yuliya Zboromyrska², Jordi Bosch^{1,3}, Mariana J. Fernandez-Pitto¹, Berta I. Fidalgo¹, Assumpta Fasanella¹, Anna Mons¹, Angely Román¹, Climent Casals-Pascual^{1,3}, Jordi Vila^{1,3}

1 Department of Microbiology, Biomedical Diagnostic Center (BDC), Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain, 2 Consorci del Laboratori Intercomarcal de l'Alt Penedès, l'Anoia i el Garraf, Vilafranca del Penedès, Barcelona, Spain, 3 ISGlobal, Barcelona, Institute for Global Health, Barcelona, Spain

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY **Microbiology Spectrum**

RESEARCH ARTICLE

Evaluation of Flow Cytometry for Cell Count and Detection of Bacteria in Biological Fluids

N. Dossou,^a I. Gaubert,^a C. Moriceau,^b E. Cornet,^b S. le Hello,^a D. Malandain^a

^aCHU de Caen Normandie, Department of Microbiology, Caen, France
^bCHU de Caen Normandie, Department of Haematology, Caen, France

Клинический пример №1



Женщина 57 лет, нестабильность компонентов
эндопротеза коленного сустава.
СОЭ 33 мм/ч, СРБ 22 мг/л



Метод «сухой ХИМИИ»



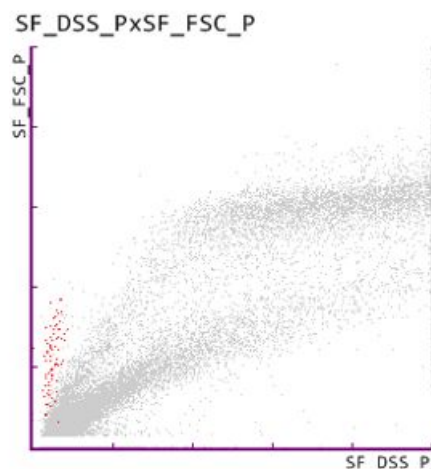
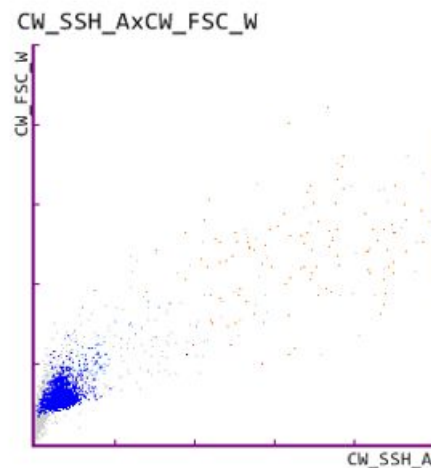
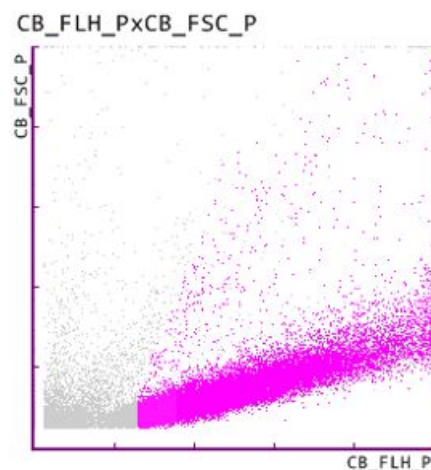
UC			
19/10/2022 09:11:51,UC-			
R	Параметр	Результат	Ед.
	Лейкоциты	500	с/μL
	Кетоны	-	
	Нитриты	+	
	Уробилиноген	normal	
	Билирубин	-	
	Белок	-	
	Глюкоза	-	
	S.G	1.021	
	Гемоглобин	-	
	Эритроциты	-	
	pH	5.5	
	Цвет	STRAW 02	
	Мутность	1+	

Проточная цитофлуориметрия



UF		
19/10/2022 09:15:17,U		
Параметр	Результат	Ед.
RBC	10.1	/μl
WBC	3 784.9	/μl
WBC Clumps	10.2	/μl
EC	17.9	/μl
Squa.EC	17.2	/μl
Non SEC	0.7	/μl
Tran.EC	0.1	/μl
RTEC	0.5	/μl
Hy.CAST	0.25	/μl
Path.CAST	0.51	/μl
X'TAL	0.0	/μl
YLC	0.5	/μl
BACT	28761.7	/μl
MUCUS	0.12	/μl
SPERM	0.0	/μl

Клинический пример №1



Исследовательская информация

UTI : UTI?
BACT : Gram Negative?

Комментарий правила

Возможна инфекция

Параметр	Результат
Клинический материал	Синовиальная жидкость
Результат	E. Coli, ESBL-
КОЕ	10 ⁵
Амикацин	S
Амоксициллин/клавуланат	S
Ампициллин	S
Гентамицин 10	S
Имипенем	S
Норфлоксацин	S
Фурадонин	S
Цефепим	S
Цефтазидим	I
Цефуроксим	R

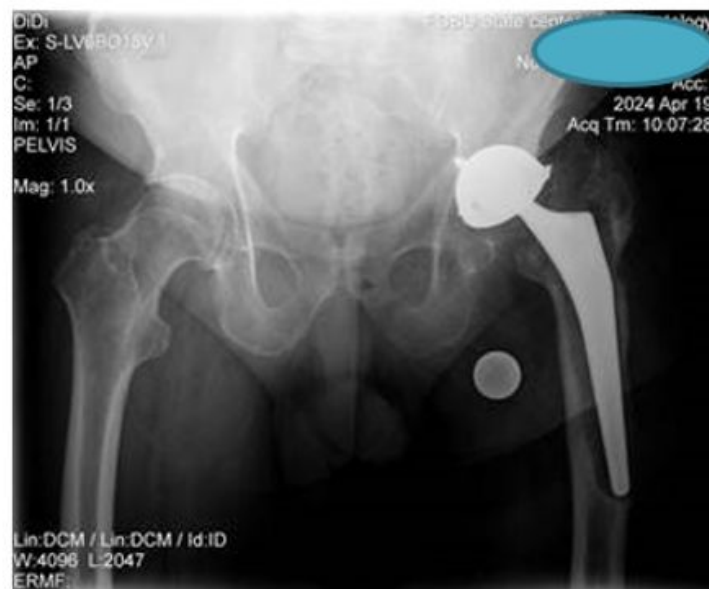
Левифлоксацин 500 мг 1 раз/сут. в/в капельно
14 сут.(стационар) в спейсере-фосфомицин
Амб. 500 мг 1 раз/день 4 недели

Клинический пример №2



Мужчина 64 года, нестабильность компонентов
эндопротеза тазобедренного сустава.

СОЭ 42 мм/ч, СРБ 36 мг/л



Метод «сухой химии»



UC		
15/07/2022 11:47:51,UC-3		
Параметр	Результат	Ед.
Лейкоциты	500	с/μL
Кетоны	-	
Нитриты	-	
Уробилиноген	normal	
Билирубин	-	
Белок	+-	
Глюкоза	-	
S.G	1.021	
Гемоглобин	0.03	mg/dL
Эритроциты		
pH	5.0	
Цвет	STRAW 02	
Мутность	-	

Проточная
цитофлуориметрия

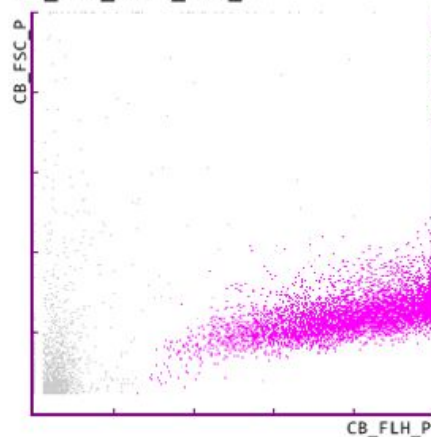


UF		
15/07/2022 11:54:12		
Параметр	Результат	Ед.
RBC	5.1	/μl
WBC	11036.7	/μl
WBC Clumps	8.6	/μl
EC	0.8	/μl
Squa.EC	0.4	/μl
Non SEC	0.4	/μl
Tran.EC	0.2	/μl
RTEC	0.1	/μl
Hy.CAST	0.25	/μl
Path.CAST	0.00	/μl
X'TAL	0.0	/μl
YLC	0.0	/μl
BACT	10968.3	/μl
MUCUS	0.12	/μl
SPERM	0.0	/μl

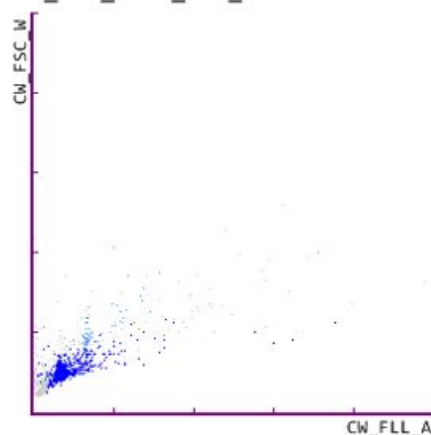
Клинический пример №2



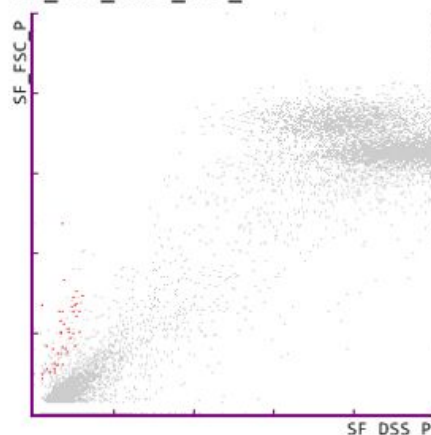
CB_FLH_PxCB_FSC_P



CW_FLL_AxCW_FSC_W



SF_DSS_PxSF_FSC_P



Исследовательская информация

UTI : UTI?

BACT : Gram Negative?

Комментарий правила

Возможна инфекция

Параметр	Результат
Клинический материал	Синовиальная жидкость
Результат	<u>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</u> ctm + (продуцирует карбапенемазы)
КОЕ	10 ⁵
<u>Амикацин</u>	R
<u>Амоксициллин/клавуланат</u>	R
Гентамицин 10	R
Имипенем	R
Меропенем	R
Норфлоксацин	R
Цефепим	R
Цефтазидим	R
Ципрофлоксацин	R
<u>Эртапенем</u>	R

Левифлоксацин 500/1 р/д в/в капельно до выявления возбудителя (2 дня) в спейсере-фосфомицин тигециклин 100 мг однократно, далее тигециклин 50 мг 2р/д в/в, до 14 дней 4 нед фосфомицин 4г/3 р/д в/в



Использование автоматизированных систем анализа при полной сопоставимости с ручным подсчётом имеет ряд преимуществ, таких как скорость выполнения теста, дифференцировка клеток в автоматическом режиме и возможность корректировки цитоза геморрагических образцов.

Подсчет количества бактерий методом проточной цитометрии с окрашиванием и определением Грам-принадлежности микроорганизмов с использованием автоматического анализатора мочи может применяться перед рутинными микробиологическими процедурами для улучшения диагностики

Спасибо за внимание!!!

