4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

Методические указания
МУК 4.2.1890—04

gost.e-ecolog.ru

ББК 52.64
О60

О60 **Определение** чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания.—М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.—91 с.

1. Разработаны: Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологи (Н. А. Семина, С. В. Сидоренко); Государственным научным центром по антибиотикам (С. П. Резван, С. А. Грудинина); Научно-исследовательским институтом антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии (Л. С. Страчунский, О. У. Стецюк, Р. С. Козлов, М. В. Эйдельштейн); Кафедрой микробиологии и химиотерапии Российской медицинской академии последипломного образования (Е. А. Ведьмина, Л. Г. Столярова, И. В. Власова); Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (З. С. Середа).

2. Утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации – Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г. Г. Онищенко 4 марта 2004 г.

3. Введены взамен «Методических указаний по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков», утв. Заместителем Главного государственного санитарного врача СССР В. Е. Ковшило 10 марта 1983 г. № 2675-83.

ББК 52.64

© Роспотребнадзор, 2004
© Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004

Содержание

1. Область применения ... 4
2. Общие сведения ... 4
3. Показания для исследования чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам ... 5
4. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам ... 7
4.1. Общая характеристика методов. ... 7
4.2. Методы серийных разведений ... 10
4.3. Диско-диффузионный метод (ДДМ) ... 18
5. Контроль качества определения чувствительности ... 21
5.1. Контроль чистоты роста культуры ... 21
5.2. Контроль качества питательных сред ... 21
5.3. Интегральный контроль качества определения чувствительности ... 23
5.4. Хранение контрольных штаммов ... 24
5.5. Частота проведения контроля качества ... 24
6. Определение чувствительности отдельных групп бактерий к антибактериальным препаратам и интерпретация результатов ... 25
6.1. Принципы выбора АБП для тестирования различных видов микроорганизмов и интерпретации результатов ... 25
6.2. Определение чувствительности представителей семейства Enterobacteriaceae ... 27
6.3. Определение чувствительности P. aeruginosa, Pseudomonas spp., Acinetobacter spp. и других неферментирующих бактерий (НФБ) ... 36
6.4. Определение чувствительности Staphylococcus spp. ... 38
6.5. Определение чувствительности Enterococcus spp. ... 44
6.6. Определение чувствительности микроорганизмов со сложными питательными потребностями ... 47
6.7. Определение чувствительности Streptococcus spp. ... 48
6.8. Определение чувствительности Haemophilus influenzae ... 52
6.9. Определение чувствительности Neisseria gonorrhotae ... 54
7. Эпидемиологический надзор за резистентностью к антимикробным препаратам ... 55
Приложение 1. Используемые сокращения ... 68
Приложение 2. Таблицы 1—10 ... 69
Приложение 3. Таблицы 11—19 ... 82
Приложение 4. Таблицы 20—23 ... 86

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации

Г. Г. Онищенко

4 марта 2004 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

Методические указания
МУК 4.2.1890—04

1. Область применения

1.1. В настоящих методических указаниях изложены стандартные методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (методы серийных разведений и диско-диффузионный метод).

1.2. Методические указания предназначены для применения в микробиологических лабораториях учреждений государственной санитарно-эпидемиологической службы и здравоохранения.

2. Общие сведения

Определение чувствительности микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний человека к антибактериальным препаратам (АБП) – приобретает все более важное значение в связи с появлением и широким распространением антибиотико-резистентности у бактерий. Стандартные методы определения чувствительности микроорганизмов к АБП (диско-диффузионный и серийных разведений) были разработаны во второй половине 60-х – начале 70-х годов XX века и с тех пор с методической точки зрения не претерпели принципиальных изменений.

Однако внедрение в клиническую практику значительного количества новых АБП и появление новых механизмов антибиотико-резистентности у микроорганизмов потребовало более строгой стандартизации процедуры тестирования, разработки новых подходов к интерпре-

тации результатов, внедрения современной системы внутреннего контроля качества на каждом этапе исследования.

В настоящих методических указаниях систематизированы современные подходы к определению чувствительности бактериальных возбудителей инфекционных заболеваний человека, учитывающие рекомендации Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам, а также Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США.

Исследования чувствительности микроорганизмов к АБП осуществляются для решения следующих задач:

- обоснование целенаправленной индивидуальной антибактериальной терапии для лечения конкретной инфекционной болезни отдельным пациентам;
- обоснование эмпирической терапии отдельных нозологических форм инфекционных болезней в пределах лечебных учреждений или географических регионов;
- осуществление наблюдения за распространением антибиотикорезистентности в отдельных учреждениях или географических регионах;
- исследование новых химических соединений на наличие антибактериальной активности.

3. Показания для исследования чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

В ходе повседневной деятельности в бактериологических лабораториях из различных биологических материалов и объектов внешней среды выделяют множество бактерий, относящихся к различным таксономическим группам. Однако определение чувствительности выделенных микроорганизмов к АБП показано далеко не во всех случаях. Определение показаний для исследования чувствительности микроорганизмов к АБП является обязанностью врача-бактериолога.

Определять чувствительность к АБП представителей нормальной микрофлоры человека, при их выделении из естественных мест обитания, бактерий, выделенных из объектов внешней среды, за исключением случаев проведения специальных исследований, нецелесообразно.

Обязательному исследованию на чувствительность к АБП подлежат все микроорганизмы, выделенные из первично стерильных жидкостей, органов и тканей человека. В остальных случаях оценке чувствительности должна предшествовать оценка клинической значимости выделенного микроорганизма.

Определение чувствительности выделенного штамма микроорганизма показано, если уровень его устойчивости к АБП не может быть

предсказан на основании данных идентификации или вероятной таксономической принадлежности микроорганизма. Практически важной задачей является выявление приобретенной резистентности к АБП у природно-чувствительных к ним микроорганизмов. Подтверждение природной чувствительности или резистентности микроорганизма к АБП не является целью практических исследований.

Исследованию по оценке антибиотикочувствительности подлежат чистые культуры микроорганизмов или материал изолированных колоний с плотных питательных сред после первичного посева образца клинического материала, в последнем случае параллельно необходимо провести идентификацию культуры.

При обнаружении на плотных питательных средах после первичного посева смешанной культуры исследовать антибиотикочувствительность до идентификации и оценки этиологической значимости отдельных микроорганизмов нецелесообразно.

Прямое определение чувствительности с использованием клинического материала (без выделения чистой культуры) возможно только в исключительных случаях при условии подтверждения однородности культуры и высокой степени обсемененности при окраске по Граму, причем исследование следует повторить после выделения чистой культуры микроорганизма.

Следует уделять особое внимание определению чувствительности микроорганизмов, относящихся к таксономическим группам, для которых характерна высокая частота распространения приобретенной резистентности.

У микроорганизмов, проявляющих универсальную чувствительность к каким-либо АБП, т. е. когда случаев резистентности не описано (например, *Streptococcus pyogenes* – все штаммы чувствительны к пенициллину), проводить определение чувствительности к этим препаратам в повседневной практике нецелесообразно.

Факты выявления резистентности у микроорганизмов, для которых этот феномен ранее не был описан в научной литературе, следует оценивать с крайней осторожностью и рекомендуется обращаться за консультациями в лаборатории, занимающиеся изучением антибиотикорезистентности.

Не следует в практических целях исследовать микроорганизмы, для которых методы определения чувствительности в настоящее время не стандартизованы и отсутствуют критерии интерпретации результатов. Результаты, полученные в данном случае, не могут служить основанием для назначения антибактериального препарата, если соответствующая нозологическая форма не приведена в утвержденной инструкции по его применению.

4. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

4.1. Общая характеристика методов

Современные стандартизованные методы определения чувствительности микроорганизмов к АБП подразделяют на методы серийных разведений и диффузионные.

Методы серийных разведений основаны на прямом определении основного количественного показателя, характеризующего микробиологическую активность АБП – величины его минимальной подавляющей концентрации (МПК).

МПК – минимальная концентрация, подавляющая видимый рост исследуемого микроорганизма в бульонной культуре или на плотной среде.

Для определения МПК заданные концентрации АБП вносят в питательную среду, которую затем засевают культурой исследуемого микроорганизма и после инкубации оценивают наличие или отсутствие видимого роста.

В зависимости от характера используемой питательной среды различают методы серийных разведений в агаре или в бульоне. В зависимости от объема используемой жидкой питательной среды выделяют методы серийных макро- и микроразведений.

Разновидностью метода серийных разведений является также метод, основанный на использовании только двух концентраций АБП, соответствующих пограничным значениям МПК (см. ниже). Этот принцип исследования широко используется в автоматизированных системах для определения чувствительности микроорганизмов.

Диффузионные методы определения чувствительности основаны на диффузии АБП из носителя в плотную питательную среду и подавлении роста исследуемой культуры в той зоне, где концентрация АБП превосходит МПК.

В настоящее время существуют две основные модификации диффузионного метода: диско-диффузионный и Е-тест.

В диско-диффузионном методе в качестве носителя АБП используют бумажный диск. Образование зоны подавления роста происходит в результате диффузии АБП из носителя в питательную среду. В определенных пределах величина диаметра зоны подавления роста обратно пропорциональна МПК. Однако диско-диффузионный метод позволяет лишь косвенно судить о величине МПК, а результатом исследования является отнесение микроорганизма к одной из категорий чувствительности (чувствительный, промежуточный или резистентный).

Е-тест представляет собой узкую полоску полимера (0,5 × 6,0 см), на которую нанесен градиент концентраций АБП (от минимальных до максимальных). Подавление роста микроорганизма вокруг полоски Е-теста происходит только в той зоне, где концентрация АБП, диффундирующего из носителя, выше МПК, при этом образуется каплевидная зона ингибиции. Значения концентрации АБП в каждом участке носителя типографским способом нанесены на наружной (обращенной к исследователю) поверхности Е-теста. Величину МПК учитывают в том месте, где граница зоны подавления роста вплотную подходит к носителю. Детальные инструкции по определению чувствительности с использованием Е-тестов прилагаются изготовителем к набору реактивов.

4.1.1. Основные этапы проведения тестирования

Оценка антибиотикочувствительности, независимо от конкретного метода, предполагает последовательное выполнение нескольких этапов:

- приготовление питательных сред;
- приготовление суспензии исследуемых микроорганизмов (инокулюма);
- инокуляция;
- инкубация;
- учет и интерпретация результатов, формулировка рекомендаций по лечению.

Диффузионные методы включают также этап наложения дисков или полосок Е-теста на плотную питательную среду.

4.1.2. Приготовление питательных сред для определения чувствительности

Для оценки чувствительности используют специально предназначенные для этой цели среды, разрешенные к применению в Российской Федерации в установленном порядке и по своим характеристикам удовлетворяющие требованиям, приведенным в разделе 5. Внутрилабораторный контроль качества среды проводят при использовании всех сред, разрешенных к применению в Российской Федерации в установленном порядке.

Вид питательной среды для оценки чувствительности определяют выбранным методом проведения исследования (агар или бульон), а также видом тестируемого микроорганизма.

Выбранную питательную среду для определения чувствительности готовят из сухой среды промышленного производства в соответствии с инструкцией изготовителя. После автоклавирования питательную среду сразу же разливают в стерильные пробирки или в чашки Петри, или (если необходимо) колбы со средой помещают на водяную баню при

48—50 °С, где выдерживают до достижения указанной температуры, после чего в них асептически вносят термолабильные питательные добавки и/или рабочие растворы антибиотиков, а затем разливают в пробирки или в чашки Петри.

Агар разливают по чашкам слоем толщиной 4 мм (на чашку диаметром 100 мм требуется 25 мл агара, на чашку диаметром 90 мм – 20 мл). Чашки оставляют при комнатной температуре для застывания. Приготовленные указанным образом чашки Петри предпочтительнее использовать немедленно. Допускается хранение в запаянных полиэтиленовых пакетах в холодильнике при 4—8 °С в течение 5 суток.

4.1.3. Приготовление суспензии исследуемых микроорганизмов (инокулюма)

Общим и принципиально важным для всех методов тестирования является стандартизация суспензии исследуемого микроорганизма, ее концентрация должна составлять $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Практически наиболее приемлемым методом оценки концентрации бактериальной суспензии является измерение ее оптической плотности. Оптическая плотность бактериальной суспензии с концентрацией $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл при визуальном контроле соответствует стандарту мутности 0,5 по МакФарланду. Контроль оптической плотности суспензии можно также осуществлять спектрофотометрически (денситометрически). Существуют коммерчески доступные стандарты мутности и спектрофотометры. Бактериальную суспензию можно готовить либо из бульонной, либо из агаровой культуры.

Приготовление инокулюма из агаровой культуры

Для приготовления инокулюма используют чистую суточную культуру микроорганизмов, выросших на плотных питательных средах. Отбирают несколько однотипных, четко изолированных колоний, выросших на неселективных плотных питательных средах. Петлей переносят незначительное количество материала с верхушек колоний в пробирку со стерильным физиологическим раствором или питательным бульоном, доводя плотность инокулюма точно до 0,5 по стандарту МакФарланда. Инокулюм следует использовать в течение 15 мин после приготовления.

Приготовление инокулюма из бульонной культуры

При определении чувствительности быстро растущих бактерий с обычными питательными потребностями для приготовления инокулюма также можно использовать 5—6-часовую бульонную культуру микроорганизма. Для этого отбирают несколько однотипных изолированных колоний, петлей переносят незначительное количество материала в

пробирку с 4,0—5,0 мл жидкой неселективной питательной средой. Инкубируют при 35 °С. Через 5—6 ч инкубации плотность микробной суспензии приблизительно соответствует необходимой, и ее точно доводят до 0,5 по МакФарланду путем добавления стерильного бульона или физиологического раствора.

Стандарт МакФарланда может быть либо приобретен, либо приготовлен в лаборатории.

4.1.4. Приготовление стандарта 0,5 по МакФарланду

К 0,5 мл раствора $BaCl_2$ в концентрации 0,048 моль/л (1,175 % раствор $BaCl_2 \times 2\ H_2O$) медленно при тщательном перемешивании добавить 99,5 мл раствора H_2SO_4 в концентрации 0,18 моль/л (1 %) до получения гомогенной суспензии.

Правильность приготовления суспензии необходимо проверить на спектрофотометре. Поглощение при использовании кюветы 1 см должно составить 0,08—0,10 при длине волны 625 нм.

Полученную суспензию необходимо разлить по 4—6 мл в пробирки с герметично закрывающимися крышками. Пробирки должны быть такого же диаметра, как и используемые для приготовления бактериальной суспензии.

Хранить пробирки с суспензией необходимо в темноте при комнатной температуре.

Перед использованием пробирки необходимо тщательно встряхивать и оценивать однородность суспензии. При появлении видимых частиц пробирки изымаются из употребления.

Стандарт мутности необходимо обновлять или проверять его оптическую плотность ежемесячно.

4.2. Методы серийных разведений

4.2.1. Приготовление растворов АБП для методов серийных разведений

Общим и крайне важным этапом для всех методов серийных разведений является приготовление растворов АБП. Различают «основные» растворы АБП (пригодные для хранения) и «рабочие» – те, которые необходимо использовать «*ex tempore*» для приготовления питательных сред.

Для приготовления основных растворов АБП необходимо использовать субстанции АБП с известной активностью, лекарственные формы не пригодны. Для взвешивания субстанций необходимо использовать электронные лабораторные весы с точностью до 4 знака, для измерения объёмов – калиброванные дозаторы и пипетки.

Основные растворы АБП готовят в концентрации 1 000,0 мкг/мл и выше. Навески АБП для приготовления базовых растворов готовят с

учетом их активности. Расчет навески АБП для приготовления базового раствора проводят по формуле:

$$m\ АБ_{теор.}\ (мг) = \frac{C\ (мкг/мл) \times V_{теор.}\ (мл)}{A\ (содержание\ АБП\ в\ мкг/мг)}\ ,\ где$$

$m\ АБ_{теор.}$ – расчётная (теоретическая) навеска АБП;

C – необходимая концентрация АБП;

$V_{теор.}$ – объём растворителя для растворения теоретической навески;

A – активность АБП (количество активного вещества, содержащегося в субстанции).

Взвесить точно расчётное количество порошка практически невозможно. Поэтому готовят близкую к расчётной навеску, а затем пересчитывают количество необходимого растворителя.

$$V_{практ.}(мл) = \frac{m\ АБ_{практ}\ (мг) \times V_{практ}\ (мл)}{m\ АБ_{теор.}\ (мг)}\ ,\ где$$

$V_{практ.}$ – объём растворителя для растворения практической навески;

$m\ АБ_{практ.}$ – полученная навеска АБП;

$m\ АБ_{теор.}$ – расчётная (теоретическая) навеска АБП;

$V_{теор.}$ – объём растворителя для растворения теоретической навески.

В связи с тем, что АБП существенно различаются по растворимости, в ряде случаев возникает необходимость использовать различные вещества для первичного растворения (солюбилизации) препаратов (растворители) и для доведения их до заданной концентрации (разбавители). В тех случаях когда растворители и разбавители являются разными веществами, для растворения АБП необходимо использовать минимально возможное количество растворителя.

Отличные от воды растворители и разбавители для отдельных АБП приведены в табл. 1. Основные растворы необходимо хранить при температуре не выше –20 °С (сроки хранения отдельных АБП при этой температуре существенно различаются). Оптимальными условиями для хранения основных растворов АБП является температура –60 °С и ниже, длительность не более 6 месяцев. При этом необходимо иметь в виду, что основные растворы бета-лактамных АБП могут терять активность и в более ранние сроки.

После извлечения из холодильника перед открыванием флаконов с основными растворами их необходимо довести до комнатной температуры для предотвращения конденсации влаги. Размороженные основные растворы должны быть использованы для приготовления рабочих растворов, повторное замораживание не допускается. Для приготовления рабочих растворов используется дистиллированная вода.

Из рабочих растворов готовят двукратные разведения АБП. При расчетах за основу берется конечная концентрация АБП в питательной среде равная 1,0 мкг/мл (более высокие – 2, 4, 8, и т. д.; более низкие – 0,5; 0,25; 0,125 и т. д.). При этом реальные концентрации растворов должны учитывать фактор разбавления раствора АБП при приготовлении чашек с плотной питательной средой или при инокуляции. Диапазон двукратных серийных разведений АБП зависит от вида тестируемого микроорганизма, предполагаемой активности АБП и целей исследования.

4.2.2. Метод серийных разведений в бульоне

Различают два основных варианта метода серийных разведений в бульоне: макрометод (пробирочный) и микрометод (при величине конечного объема 0,2 мл и меньше). Область применения макрометода из-за низкой производительности ограничивается случаями необходимости оценки чувствительности единичных штаммов.

Макрометод

Процедура

Тестирование проводят в объеме 1 мл каждого разведения АБП с конечной концентрацией исследуемого микроорганизма примерно 5×10^5 КОЕ/мл.

Питательная среда

Питательный бульон для определения чувствительности разливают по 0,5 мл в каждую пробирку. Количество пробирок определяют необходимым диапазоном разведений АБП и увеличивают на одну для постановки «отрицательного» контроля.

Приготовление серийных разведений АБП (рис. 1)

Рабочий раствор АБП готовят из основного раствора с использованием жидкой питательной среды. Концентрацию рабочего раствора рассчитывают исходя из необходимой максимальной концентрации в ряду серийных разведений, учитывая фактор разбавления препарата при последующей инокуляции. Затем рабочий раствор в количестве 0,5 мл при помощи микропипетки со стерильным наконечником вносят в первую пробирку, содержащую 0,5 мл бульона. Тщательно перемешивают и новым стерильным наконечником переносят 0,5 мл раствора АБП в бульоне во вторую пробирку, содержавшую первоначально 0,5 мл бульона. Эту процедуру повторяют, пока не будет приготовлен весь необходимый ряд разведений. Из последней пробирки 0,5 мл бульона удаляют.

Таким образом, получают ряд пробирок с растворами АБП, концентрации которых отличаются в соседних пробирках в 2 раза. Одновременно готовят дополнительные ряды серийных разведений АБП для

тестирования контрольных штаммов. Серия разведений обязательно должна включать в себя пограничные концентрации и допустимые диапазоны МПК для контрольных штаммов.

Приготовление инокулюма и инокуляция

Для инокуляции используют стандартную микробную взвесь, эквивалентную 0,5 по стандарту МакФарланда, разведенную в 100 раз на питательном бульоне, после чего концентрация микроорганизма в ней составит примерно 10^6 КОЕ/мл.

По 0,5 мл инокулюма вносят в каждую пробирку, содержащую по 0,5 мл соответствующего разведения АБП, и в одну пробирку с 0,5 мл питательного бульона без антибиотика («отрицательный» контроль). Конечная концентрация микроорганизма в каждой пробирке достигнет необходимой – примерно 5×10^5 КОЕ/мл. Инокулюм должен быть внесен в пробирки с разведениями АБП не позднее 15—30 мин с момента приготовления.

Инкубация

Пробирки закрывают стерильными ватно-марлевыми пробками или металлическим колпачками и все пробирки с тестируемыми штаммами, кроме пробирки «отрицательный» контроль, инкубируют в обычной атмосфере при температуре 35 °С в течение 16—20 или 20—24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма). Пробирку «отрицательный» контроль помещают в холодильник при 4 °С, где хранят до учета результатов.

Учет результатов

Для определения наличия роста микроорганизма пробирки с посевами просматривают в проходящем свете. Рост культуры в присутствии АБП сравнивают с референтной пробиркой («отрицательный» контроль), содержащей исходный инокулюм и хранившейся в холодильнике. МПК определяют по наименьшей концентрации АБП, которая подавляет видимый рост микроорганизма.

Микрометод

Преимуществами микрометода является высокая производительность и возможность длительного хранения заранее приготовленных планшет. Тестирование проводят при величине конечного объема 0,2 мл и меньше, что позволяет значительно сократить количество расходных материалов. Методика не имеет отличий от макрометода, за исключением используемых объемов питательного бульона с разведениями антибиотиков и инокулюма, но требует дополнительного оснащения лаборатории многоканальными пипетками, 96-луночными планшетами для иммунологических исследований (с плоским дном) со стерильными крышками.

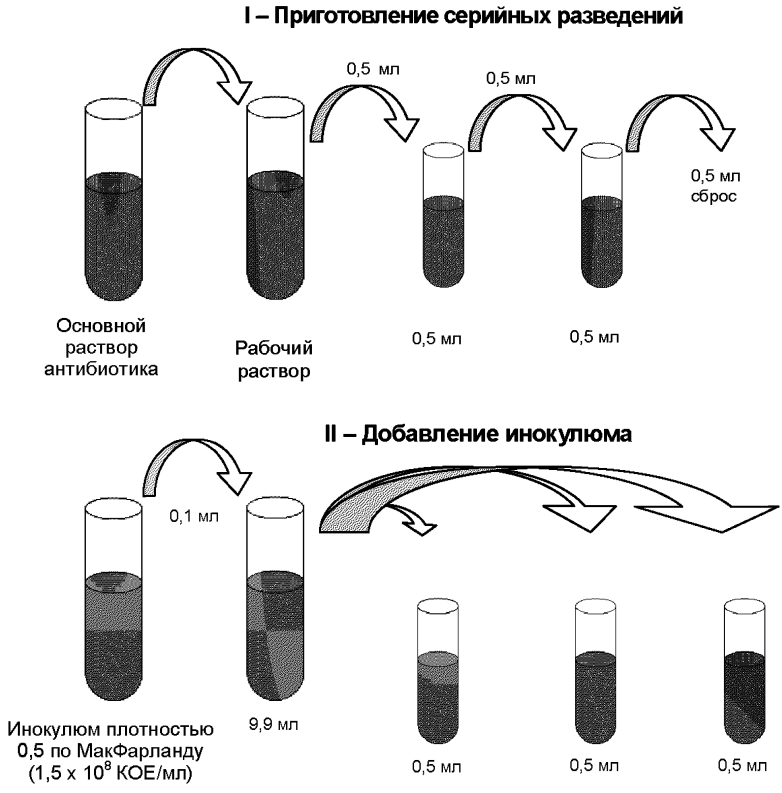


Рис. 1. Алгоритм определения чувствительности одной исследуемой культуры к одному АБП методом разведений в жидкой питательной среде.

Первым этапом является изготовление планшет, пригодных для хранения. После внесения рабочих растворов антибиотиков в лунки, запаянные в полиэтилен планшеты могут храниться при температуре ниже –60 °С до момента использования. Повторное замораживание-оттаивание не допускается.

Для проведения исследования планшеты после извлечения из холодильника выдерживают до достижения ими комнатной температуры, после чего проводят инокуляцию приготовленной суспензией исследуемого микроорганизма. При проведении инкубации планшет обязательно должен быть закрыт крышкой для предотвращения высыхания содержимого лунок.

ячейке без АБП. За МПК принимают минимальную концентрацию, обеспечивающую полное подавление видимого роста исследуемого штамма.

Метод серийных микроразведений в бульоне легко поддается модификациям для разработки тест-систем. При использовании тест-систем, разрешенных к применению в Российской Федерации в установленном порядке, следует пользоваться инструкциями изготовителей.

Контроль качества

При постановке методов серийных разведений в бульоне необходимо проводить контроль роста культуры в среде без АБП. Необходимо также контролировать чистоту суспензии микроорганизма, использованной для инокуляции, путем высева на неселективные среды. Каждая партия тестируемых штаммов сопровождается внутренним контролем качества исследования с использованием соответствующих контрольных (референтных) штаммов.

4.2.3. Метод серийных разведений в агаре

Метод серийных разведений в агаре позволяет одновременно определить МПК партии штаммов (от 15 до 30 клинических штаммов + контрольные штаммы, в зависимости от используемой модели инокулятора).

Процедура

Принцип метода заключается в посеве тестируемых микроорганизмов на чашки Петри с агаром, содержащим последовательные двойные разведения антибиотиков. Одновременно проводят тестирование партии клинических штаммов и соответствующих контрольных штаммов, а также контроль роста микроорганизмов на чашках без АБП и контроль чистоты культуры путем высева образцов инокулюма на неселективные питательные среды.

Приготовление серийных разведений АБП

Из основного раствора исследуемого АБП готовят рабочий раствор в концентрации, в 10 раз превосходящей максимальную из используемых в конкретном исследовании. Затем готовят серию двукратных разведений рабочего раствора. Таким образом, концентрация АБП в каждом последующем разведении должна быть в 2 раза меньшей, чем в предыдущем. Для приготовления серии разведений используют любые стерильные химически инертные лабораторные ёмкости с завинчивающимися крышками объёмом не менее 10 мл (для удобства размешивания).

Питательная среда

Сухую агаризованную питательную среду растворяют и автоклавируют в соответствии с инструкцией изготовителя. После автоклавирования колбы с питательной средой помещают на водяную баню при 48—50 °С, где выдерживают до достижения указанной температуры,

после чего в них асептически вносят рабочие растворы антибиотиков (1 часть рабочего раствора АБП на 9 частей расплавленного агара) и, при необходимости, термолабильные питательные добавки. Затем среду тщательно перемешивают и разливают по чашкам Петри, толщина слоя питательной среды должна быть 3—4 мм.

Вторым способом приготовления чашек Петри с агаром, содержащим разведения АБП, является смешивание питательной среды и раствора АБП непосредственно в чашке Петри. Для приготовления стандартных пластиковых чашек диаметром 90 мм необходимо к 2 мл раствора АБП добавить 18 мл разогретого до 50 °С жидкого агара. Чашки предварительно маркируют с указанием препарата и его концентрации. Очень важно тщательно перемешивать агар до того, как он начнёт застывать для равномерного распределения АБП по всей толще питательной среды. Перемешивание производят на горизонтальной поверхности последовательно плавными разнонаправленными круговыми движениями чашки. После приготовления чашек агар должен затвердеть в горизонтальном положении. Нельзя резко передвигать, переносить чашки до полного застывания агара.

Параллельно с чашками Петри, содержащими растворы антибиотиков, для контроля роста готовят чашки Петри без антибиотиков. Чашки оставляют при комнатной температуре для застывания и подсушивания на 10—12 ч.

Приготовленные указанным образом чашки Петри предпочтительнее использовать немедленно, однако допускается хранение в запаянных полиэтиленовых пакетах при 4—8 °С в течение 5 сут. При этом необходимо иметь в виду, что некоторые бета-лактамные антибиотики (прежде всего, ампициллин, цефаклор, имипенем), особенно при низких концентрациях, не выдерживают даже указанный срок хранения. В этой связи стабильность антибиотиков в приготовленных в лаборатории чашках Петри целесообразно устанавливать экспериментально с использованием референтных штаммов.

Приготовление инокулюма и инокуляция

Конечная посевная доза исследуемого микроорганизма на поверхности питательной среды должна составлять 10^4 КОЕ. Поскольку коммерческие инокуляторы или стандартная бактериологическая петля диаметром 3,0 мм переносят 1—2 мкл жидкости, концентрация микроорганизмов в исходной суспензии должна быть 10^7 КОЕ/мл. Такую концентрацию можно получить при разведении стандартной микробной суспензии, соответствующей стандарту 0,5 по МакФарланду, в 10 раз. Полученную суспензию необходимо инокулировать на поверхность

агара в течение 15 мин после приготовления, при этом образуется пятно диаметром 5—8 мм.

Для контроля качества приготовления суспензий периодически рекомендуется проводить подсчет реальных колониеобразующих единиц путем высева образца приготовленного инокулюма на неселективные питательные среды.

Инкубация

После инокуляции чашки оставляют при комнатной температуре для подсыхания, далее переворачивают и инкубируют при температуре 35 °С в течение 18—24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма).

Учет результатов

Учет результатов проводят, поместив чашку на темную не отражающую свет поверхность. За МПК принимают концентрацию, вызвавшую полную ингибицию видимого роста. Для дифференцирования нежного роста от налета, оставшегося после инокулята, в ряде случаев целесообразно использовать увеличение. Появление единственной колонии на чашке с концентрацией на 1 разведение выше, чем явная МПК, можно не учитывать. Результат оценки антибиотикочувствительности имеет смысл учитывать только при подтверждении чистоты культуры (см. контроль качества).

Контроль качества

При постановке методов серийных разведений в агаре необходимо проводить контроль роста культуры на чашке Петри с питательной средой, не содержащей АБП. Важнейшим требованием контроля качества является высев, использованной для инокуляции суспензии на плотную неселективную среду для подтверждения чистоты культуры! Каждая партия тестируемых штаммов сопровождается внутренним контролем качества исследования с использованием соответствующих контрольных (референтных) штаммов.

4.2.4. Общие замечания по методам серийных разведений

Несмотря на то что методы серийных разведений являются наиболее точными и информативными, их постановка в практических лабораториях сопряжена со значительными методическим трудностями. Прежде всего, речь идет о необходимости использования субстанций антибиотиков с известным уровнем активности, строгого соблюдения режимов хранения, тщательного выполнения контроля качества питательных сред, трудоемкости приготовления рабочих растворов антибиотиков.

Использование тест-систем на основе метода микроразведений позволяет избегать трудоемких процедур по стандартизации подготовительных этапов, но при этом обеспечивает получение достоверных количественных результатов по уровню антибиотико-резистентности. Весьма экономичным и простым в исполнении является также вариант метода серийных микроразведений, основанный на использовании двух пороговых концентраций, позволяющий получить качественные результаты (т. е. распределить штаммы по чувствительности на три категории).

4.3. Диско-диффузионный метод (ДДМ)

Принцип метода

ДДМ определения чувствительности основан на способности АБП диффундировать из пропитанных ими бумажных дисков в питательную среду, угнетая рост микроорганизмов, посеянных на поверхности агара.

Питательная среда

Для определения чувствительности ДДМ используют такую же, как и для метода разведений в агаре, питательную среду. К качеству питательных сред для постановки диско-диффузионного метода выдвигают те же требования, что и к плотным питательным средам для постановки метода серийных разведений в агаре, соответственно используют и те же методы контроля качества.

Приготовление чашек Петри с плотной питательной средой связано с некоторыми особенностями. Плотную питательную среду готовят в соответствии с инструкцией изготовителя. Важным моментом при определении чувствительности ДДМ является толщина слоя агара в чашке. Она должна составлять (4,0 ± 0,5) мм, что достигается при внесении в чашку Петри диаметром 90 мм строго 20 мл агара, диаметром 100 мм – 25 мл агара, а диаметром 150 мм – 60 мл агара. Перед заполнением расплавленной средой чашки Петри устанавливают на строго горизонтальную поверхность (выверенную по уровню, без впадин и выпуклостей). Соблюдение указанных предосторожностей необходимо в связи с тем, что размер и форма зоны ингибиции роста зависят от глубины и равномерности агарового слоя.

После заполнения чашки оставляют при комнатной температуре для застывания. Хранить чашки можно запаянными в полиэтиленовые пакеты при 4—8 °С в течение 7—10 сут. При использовании свежеприготовленных чашек или чашек после хранения в холодильнике их необходимо подсушить перед инокуляцией, что достигается инкубацией при 35 °С с приоткрытой крышкой в течение 10—20 мин. Перед инокуляцией необходимо проконтролировать отсутствие конденсата жидкости на внутренней поверхности крышек.

Диски с антибиотиками

Для определения чувствительности ДДМ следует использовать только стандартизированные качественные диски. Изготовление дисков с АБП, необходимых для определения чувствительности диско-диффузионным методом, в лабораторных условиях нецелесообразно. Это связано с жесткими требованиями к исходным материалам (субстанциям АБП, картону) и со значительной трудоемкостью методов контроля качества дисков.

Для получения правильных результатов определения чувствительности ДДМ необходимо строго соблюдать правила хранения и использования коммерческих дисков, в противном случае содержание в них антибиотиков может снизиться ниже допустимого уровня (прежде всего в результате увлажнения) еще до истечения срока годности.

Долговременное хранение дисков с АБП осуществляют в герметичной упаковке в морозильной камере при температуре –18 °С и ниже. Небольшие партии дисков, используемые при повседневной работе, можно хранить в холодильнике при температуре 4—8 °С, плотно укупоренными так, чтобы гарантировать невозможность попадания во флакон влаги, кроме того для дополнительной защиты от влаги во флаконах (картриджах) с дисками содержится специальный влагопоглотитель (силикагель).

Флаконы (картриджи) с дисками следует извлекать из холодильника за 1 ч до начала работы и выдерживать герметично закрытыми до достижения ими комнатной температуры, что предотвращает образование конденсата на дисках после открывания флаконов.

Приготовление бактериальной суспензии и инокуляция

При определении чувствительности ДДМ используют стандартный инокулюм, соответствующий по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащий примерно $1{,}5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Инокулюм следует использовать в течение 15 мин после приготовления. Для инокуляции приготовленных чашек с агаром можно использовать два способа.

1. Наиболее удобным способом инокуляции является использование стерильных ватных тампонов. Тампон необходимо погрузить в стандартную суспензию микроорганизма, затем избыток инокулюма удалить, отжав тампон о стенки пробирки. Инокуляцию проводят штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°.

2. При использовании второго способа стандартный инокулюм наносят пипеткой на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 1—2 мл, равномерно распределяют по поверхности покачиванием, после чего удаляют избыток инокулюма пипеткой. Приоткрытые чашки подсушивают при комнатной температуре в течение 10—15 мин.

Аппликация дисков и инкубация

Не позднее чем через 15 мин после инокуляции на поверхность питательной среды наносят диски с АБП. Аппликацию дисков проводят с помощью стерильного пинцета или автоматического диспенсера. Расстояние от диска до края чашки и между дисками должно быть 15—20 мм. Таким образом, на одну чашку диаметром 100 мм следует помещать не более 6 дисков с АБП. Диски должны равномерно контактировать с поверхностью агара, для чего их следует аккуратно прижать пинцетом.

Непосредственно после аппликации дисков чашки Петри помещают в термостат кверху дном и инкубируют при температуре 35 °С в течение 18—24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма). Увеличение интервала времени между нанесением дисков на поверхность среды и началом инкубации (а соответственно – началом роста исследуемой культуры микроорганизма) приводит к «преддиффузии» АБП в агар и к увеличению диаметра зоны подавления роста.

Учет результатов

После окончания инкубации чашки помещают кверху дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на них под углом в 45° (учет в отраженном свете). Диаметр зон задержки роста измеряют с точностью до 1 мм, предпочтительнее пользоваться штангенциркулем или кронциркулем.

При измерении зон задержки роста следует ориентироваться на зону полного подавления видимого роста. Не следует обращать внимания на очень мелкие колонии, выявляемые в пределах зоны задержки роста только при особых условиях освещения или увеличении, и едва заметный налет у края зоны. Исключение составляют случаи учета результатов определения чувствительности стафилококков к оксациллину, когда необходимо учитывать и самые мелкие колонии, выявляемые в пределах четкой зоны подавления роста.

Крупные колонии, выявляемые в пределах четкой зоны подавления роста, свидетельствуют о наличии посторонней микрофлоры или о гетерорезистентности популяции микроорганизмов, в этом случае необходимо повторить идентификацию микроорганизма, формирующего эту колонию, и определение чувствительности этого штамма.

При определении чувствительности ДДМ роящихся штаммов протея, зона подавления роста может быть затянута тонкой вуалеобразной пленкой, которая не мешает установлению границы зоны и не учитывается при регистрации результатов.

При определении чувствительности к сульфаниламидам и их комбинации с триметоприм границу зоны подавления роста следует учитывать на уровне ингибиции роста на 80 %. Это связано с тем, что под

действием этих препаратов перед полным подавлением роста возможно завершение 1—2 циклов пролиферации микроорганизма.

5. Контроль качества определения чувствительности

При определении чувствительности микроорганизмов к АБП любым методом необходимо выполнять процедуры внутреннего контроля качества исследования.

Достоверность результатов исследования чувствительности микроорганизмов к АБП зависит от следующих основных параметров:

- состава питательной среды;
- соответствия реальной активности используемых антибиотиков (или их содержания в дисках) паспортным характеристикам (активности);
- соблюдения стандартности выполнения всех лабораторных процедур.

5.1. Контроль чистоты роста культуры

Образец инокулюма, использованного для оценки чувствительности, необходимо засеять на чашку с неселективной питательной средой и инкубировать в течение ночи. При выявлении на неселективной среде смешанной культуры, результаты оценки антибиотикочувствительности не учитывают, исследование необходимо повторить.

5.2. Контроль качества питательных сред

Контроль роста

Каждую партию плотных питательных сред для определения чувствительности должны проверять на пригодность для роста тестируемых микроорганизмов. Для этого используют соответствующие контрольные штаммы *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*. Из суточных культур указанных микроорганизмов готовят микробную взвесь, соответствующую по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда (содержащую приблизительно $1{,}5 \times 10^8$ КОЕ/мл). Из полученной микробной взвеси готовят серию последовательных разведений 1 : 10. Затем на приготовленные чашки с соответствующим агаром высевают по 0,1 мл взвеси -5, -6, -7 разведений, содержащих соответственно 1×10^3, 1×10^2, 1×10^1 КОЕ/мл. При хороших питательных свойствах среды должен отмечаться рост микроорганизмов из -6, -7 разведений.

Для контроля роста при определении чувствительности методами разведений (в агаре, в жидкой питательной среде) используют чашки с агаром, пробирки с бульоном или специально выделенные лунки микротитровального планшета, в которые не внесен АБП.

Контроль стерильности

Для контроля стерильности проводят инкубацию при 35 °С в течение 24 или более часов репрезентативного количества чашек с агаром из каждой партии при определении чувствительности ДДМ, чашек с агаром или пробирок с бульоном, не содержащих антибиотиков, при тестировании методом разведений в агаре или макроразведений в бульоне, соответственно. При определении чувствительности методом микроразведений контроль стерильности производят по специально выделенным для этой цели лункам микротитровального планшета, в которые не вносят растворы антибиотиков и микробную взвесь.

Проверка pH агара

В условиях рутинной работы лаборатории допустимо не контролировать pH приготовленного агара, если результаты тестирования контрольных штаммов находятся в необходимых границах. При возникновении проблем с результатами тестирования контрольных штаммов, особенно к АБП, активность которых может существенно изменяться под влиянием pH питательной среды (например, аминогликозиды, макролиды, тетрациклины и др.), необходимо провести определение pH среды после автоклавирования, внесения всех необходимых добавок и охлаждения до комнатной температуры (25 °С). Для достоверного определения pH необходимо использовать pH-метр с поверхностно-активным электродом, другие методы определения pH (с помощью лакмусовой бумаги, обычного pH-метра) не должны использоваться, так как не обеспечивают получения достаточно точных результатов. Приемлемый диапазон pH для питательных сред для определения чувствительности 7,2—7,4. При pH среды, выходящей за указанные пределы, возможны существенные отклонения результатов определения чувствительности от должных значений.

Контроль катионного состава

Для получения воспроизводимых результатов определения чувствительности к АБП (особенно к аминогликозидам, фторхинолонам, карбапенемам, тетрациклинам и некоторым другим) питательная среда должна содержать строго стандартизированные концентрации двухвалентных катионов, прежде всего Ca^{2+} и Mg^{2+} (Ca^{2+} = 20—25 мг/л и Mg^{2+} = 10,0—12,5 мг/л). Применение метода атомной абсорбционной спектрофотометрии для непосредственной оценки концентрации двухвалентных катионов в среде в повседневной практике мало реально.

О содержании в среде двухвалентных катионов косвенно можно судить по результатам тестирования чувствительности контрольного штамма *Pseudomonas aeruginosa* к аминогликозидам (диаметр зоны во-

круг диска с гентамицином должен быть в пределах 16—21 мм, а МПК гентамицина – в пределах 0,5—2,0 мкг/мл).

Контроль содержания тимина и тимидина

При определении чувствительности к АБП из группы антагонистов фолиевой кислоты (антифолатов) – сульфаниламидов и триметоприма – критически важным показателем является содержание антагонистов действия этих препаратов – тимина и тимидина в питательной среде. Питательные среды для определения чувствительности к сульфаниламидам и триметоприму должны содержать минимальные концентрации тимидина. О пригодности питательной среды для определения чувствительности к антифолатам можно косвенно судить по результатам тестирования контрольного штамма *Enterococcus faecalis*. Среда считается удовлетворительной по качеству при МПК триметоприма/сульфаметоксазола в отношении *E. Faecalis* < 0,5/9,5 мг/л и диаметре зоны подавления роста вокруг диска с этим АБП ≥ 0 мм.

5.3. Интегральный контроль качества определения чувствительности

Наиболее доступным интегральным методом оценки качества определения чувствительности является сопоставление результатов определения чувствительности (МПК или диаметров зон подавления роста) контрольных (референтных) штаммов микроорганизмов с соответствующими показателями, приведенными в их паспортной характеристике. Тестирование контрольных штаммов проводят в соответствии с описанными выше методами, параллельно тестированию клинических изолятов.

Контрольные (референтные) штаммы микроорганизмов

В качестве контрольных используют штаммы, отличающиеся генетической стабильностью и хорошо изученными фенотипическими характеристиками, в том числе и уровнем чувствительности к АБП. Если при исследовании чувствительности к АБП контрольных штаммов получены значения МПК или диаметров зон подавления роста, соответствующие паспортным характеристикам этих штаммов, то это свидетельствует о стандартности условий постановки эксперимента. Результаты определения чувствительности клинических изолятов, полученные в этих условиях, следует признать достоверными.

Выбор референтных штаммов для проведения контроля качества тестирования определяется видом исследуемого микроорганизма.

При детекции отдельных механизмов резистентности (бета-лактамазы расширенного спектра – БЛРС, метициллинрезистентности и др.) возникает необходимость использования контрольных штаммов, обладающих указанными механизмами.

Допустимые диапазоны значений МПК и диаметров зон подавления роста для основных контрольных штаммов представлены в табл. 2—5.

5.4. Хранение контрольных штаммов

В условиях лаборатории штаммы должны храниться таким образом, чтобы возможность мутаций и контаминации культуры была минимальной. Для этого создается банк контрольных штаммов, предназначенный для длительного хранения, а для ежедневной рутинной работы используются регулярно субкультивируемые культуры.

Для длительного хранения штаммов существуют два основных способа. Первый состоит в приготовлении суспензии микроорганизмов в стабилизирующем растворе (50 % фетальной телячьей сыворотки в бульоне, 10—15 % глицерина в триптиказо-соевом бульоне, дефибринированная баранья или кроличья кровь). Наилучшую сохранность культур удается получить при хранении в замороженном состоянии при температуре –70 °С и ниже в морозильной камере или в жидком азоте. Другой метод длительного хранения контрольных штаммов – в лиофилизированном виде.

Для непродолжительного хранения «рабочих» контрольных штаммов их выращивают в пробирке со скошенным агаром (триптиказо-соевым или другим аналогичным для «непривередливых» микроорганизмов, шоколадным для «привередливых» бактерий) и хранят в холодильнике при температуре 2—8 °С, субкультивируя еженедельно.

В случае, если «рабочие» контрольные штаммы были контаминированы или результаты определения чувствительности контрольного штамма не попадают в необходимые пределы, и это не может быть объяснено нарушениями методики определения чувствительности, «рабочий» штамм должен быть заменен на свежий из банка контрольных штаммов.

Перед использованием для контроля качества определения чувствительности хранившийся контрольный штамм должен быть дважды субкультивирован на подходящих питательных средах.

5.5. Частота проведения контроля качества

Оптимальным является проведение контроля качества определения чувствительности с использованием набора контрольных штаммов ежедневно, параллельно с тестированием клинических изолятов.

Однако на практике, при получении достаточно стабильных результатов контроля качества в течение хотя бы одного месяца, частота контрольных исследований может быть сокращена до 1—2 раз в неделю. Контрольные исследования необходимо проводить при использовании новых партий реагентов, прежде всего, питательных сред.

В то же время, если при проведении подобного тестирования получаемые результаты окажутся за пределами указанных границ, необходимо вернуться к ежедневному контролю качества для выяснения причины получения неправильных результатов.

6. Определение чувствительности отдельных групп бактерий к антибактериальным препаратам и интерпретация результатов

6.1. Принципы выбора АБП для тестирования различных видов микроорганизмов и интерпретации результатов

Выбор АБП

Основой для выбора АБП, подлежащих включению в исследование, являются данные о природной чувствительности отдельных видов микроорганизмов или их групп, о распространении среди них приобретенной резистентности, а также о клинической эффективности АБП.

В исследование целесообразно включать АБП, обладающие в отношении выделенных микроорганизмов природной активностью и клинически подтвержденной эффективностью при соответствующих инфекциях. Учитывая значительное количество имеющихся в клинической практике АБП, различия между лечебными учреждениями по контингенту пациентов, особенностям этиологической структуры инфекций и по распространенности приобретенной антибиотико-резистентности, создать единые стандартные наборы АБП для всех лечебных учреждений не представляется возможным.

В настоящее время перечень АБП, чувствительность к которым рекоендуется определять у различных видов микроорганизмов, принято подазделять на две группы: подлежащие изучению в первую очередь (I группа) и дополнительные (II группа). Оценка чувствительности к препаратам I группы позволяет получить минимально необходимую информацию для обоснования рациональной терапии инфекции, вызванной исследуемым микроорганизмом. Информативность исследований возрастает по мере увеличения количества включенных в исследование АБП из группы II.

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что прогнозирование клинической эффективности АБП, на основе оценки фенотипа (антибиотикограммы) менее информативно, чем ее прогнозирование на основе выявления генотипа (набора детерминант резистентности) данного патогена. Однако непосредственная детекция детерминант резистентности генетическими методами (генотипирование) в рутинной практике в большинстве случаев неосуществима. В ряде случаев генотипирование может быть заменено оценкой чувстви-

тельности к АБП, являющимся маркерами того или иного механизма устойчивости.

Наиболее демонстративным примером указанного подхода является использование оксациллина в качестве маркера устойчивости *Staphylococcus spp.* ко всем бета-лактамным антибиотикам, связанной с наличием *mecA* гена. На практике возможны ситуации, когда исследуемый микроорганизм при обычном тестировании проявляет устойчивость к оксациллину, но чувствителен к другим бета-лактамам. В указанных случаях приоритет отдается результатам, получаемым при тестировании оксациллина.

Следующей важной особенностью, которую необходимо учитывать при составлении наборов АБП для изучения чувствительности являются закономерности перекрестной резистентности бактерий к различным представителям одной группы АБП. В пределах некоторых групп АБП можно выделить подгруппы препаратов, в отношении которых бактерии проявляют полную перекрестную резистентность. В этих случаях на практике достаточно оценивать чувствительность только к одному АБП данной подгруппы.

Окончательное формирование наборов АБП для определения чувствительности различных видов микроорганизмов в конкретных учреждениях является задачей врача-бактериолога, для ее решения необходимо привлекать врачей клинических специальностей.

Интерпретация результатов

Интерпретация результатов оценки чувствительности заключается в прогнозировании результата антибактериальной терапии на основе данных исследования возбудителя инфекционной болезни *in vitro*.

Интерпретация результатов оценки антибиотикочувствительности заключается в отнесении исследуемого микроорганизма к одной из трех категорий.

• Чувствительный – Штамм подавляется при концентарциях АБП, создающихся в органах и тканях человека при рекомендуемых режимах дозирования. Лечение инфекции, вызванной микроорганизмом, относящимся к этой категории, обычно эффективно при применении АБП в рекомендуемых дозах.

• Промежуточный – МПК АБП в отношении штаммов этой категории выше, чем в отношении чувствительных, но находится в пределах, достижимых при рекомендуемых режимах дозирования. Лечение инфекции, вызванной микроорганизмом, относящимся к этой категории, может быть эффективным при применении АБП в повышенных дозах, либо при локализации очага инфекции в тех органах или тканях, в которых в силу физиологических особенностей создаются повышенные концентрации АБП.

• Устойчивый – Штамм не подавляется при концентрациях АБП, создающихся в органах и тканях при рекомендуемых режимах дозирования. Для устойчивых штаммов характерно наличие определенных механизмов резистентности. Лечение инфекции, вызванной микроорганизмом, относящимся к этой категории, скорее всего, будет неэффективным.

Интерпретация осуществляется на основании сопоставления результатов исследования (величины МПК АБП или диаметра зоны ингибиции роста) с пограничными значениями этих параметров, отделяющих чувствительные штаммы от промежуточных и промежуточные от устойчивых. При выборе значений пограничных концентраций АБП учитывают микробиологические, фармакокинетические, фармакодинамические, а также клинические факторы. Обоснование значений пограничных концентраций является сложным и, во многом, субъективным процессом.

Приведенные выше категории являются клинически ориентированными и не всегда коррелируют с микробиологическими. Возможны как ситуации, при которых чувствительный с микробиологической точки зрения штамм будет отнесен к устойчивым, так и обратные, при которых к чувствительным будет отнесен штамм, устойчивый с микробиологической точки зрения.

6.2. Определение чувствительности представителей семейства Enterobacteriaceae

Представители семейства *Enterobacteriaceae* являются одними из ведущих этиологических агентов как внебольничных, так и нозокомиальных инфекций, для них характерно крайнее разнообразие возможных механизмов резистентности к АБП.

При тестировании микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* рекомендуется использовать отдельные наборы АБП для определения чувствительности возбудителей:

• внекишечных инфекций (кроме инфекций мочевыводящих путей);

• кишечных инфекций (*Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia* spp.);

• внебольничных инфекций мочевыводящих путей (ИМП).

Необходимость такого разделения связана с особенностями фармакокинетики отдельных АБП в желудочно-кишечном тракте и мочевыводящих путях, а также различиями в их клинической эффективности.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности для штаммов *Enterobacteriaceae* (пограничные значения МПК АБП и соответствующие диаметры зон подавления роста) приведены в табл. 2.

Оценка антибиотикочувствительности Enterobacteriaceae – возбудителей внекишечных инфекций

Основу лечения внекишечных инфекций, вызываемых представителями семейства *Enterobacteriaceae*, составляют бета-лактамные антибиотики. Выбор препаратов для включения в исследование чувствительности, а также принципы интерпретации результатов основываются на данных о природной активности антибиотиков. Несмотря на наличие природной активности в отношении некоторых представителей Enterobacteriaceae такие препараты, как незащищенные амино-, карбокси- и уреидопенициллины, а также цефалоспорины I поколения практически полностью утратили значение при лечении инфекций, вызываемых этими бактериями, в этой связи оценка чувствительности к ним лишена практического смысла.

Препаратами альтернативными бета-лактамам являются аминогликозиды и фторхинолоны.

Оценивать чувствительность возбудителей внекишечных инфекций к тетрациклинам, хлорамфениколу и ко-тримоксазолу в настоящее время нецелесообразно. Препараты относятся к бактериостатикам и существенно уступают по эффективности антибиотикам других групп, кроме этого среди микроорганизмов к ним широко распространена резистентность. Перечень препаратов, предлагаемых для тестирования в отношении представителей семейства *Enterobacteriaceae*, приведен в табл. 13.

Характеристика препаратов первого ряда

В первую очередь чувствительность представителей семейства *Enterobacteriaceae* необходимо оценивать к следующим препаратам.

Ампициллин. Является типовым представителем подгруппы аминопенициллинов. Получаемые результаты можно полностью экстраполировать на амоксициллин. Оценивать чувствительность к амоксициллину нецелесообразно, поскольку критерии чувствительности к этому антибиотику для *Enterobacteriaceae* не обоснованы. Включение ампициллина в набор для тестирования *Enterobacteriaceae* объясняется не столько клиническим значением этого антибиотика, сколько важностью для оценки фенотипа исследуемого микроорганизма и внутреннего контроля качества.

Ингибиторзащищенный аминопенициллин. Амоксициллин/клавуланат и ампициллин/сульбактам во многом сходны по своим антибактериальным свойствам. В то же время необходимо иметь в виду, что клавуланат является более эффективным ингибитором бета-лактамаз. Возможны отдельные случаи сохранения чувствительности к амоксициллину/клавуланату при устойчивости к ампициллину/сульбактаму.

Цефотаксим или цефтриаксон. Оба цефалоспорина практически идентичны по своим антибактериальным свойствам. Результаты исследования чувствительности к указанным антибиотикам необходимо оценивать, учитывая возможную продукцию микроорганизмами БЛРС. При подтверждении продукции БЛРС все цефалоспорины необходимо рассматривать как клинически недостаточно эффективные независимо от конкретных результатов тестирования.

Цефтазидим. Антибиотик не рекомендуется для лечения инфекций, вызываемых *Enterobacteriaceae*. Однако поскольку цефтазидим высоко чувствителен к действию большинства БЛРС, то он может служить маркером продукции этих ферментов исследуемым микроорганизмом.

Гентамицин. Результаты, получаемые при оценке чувствительности к гентамицину, нельзя экстраполировать на другие аминогликозиды.

Фторхинолон. Применительно к *Enterobacteriaceae* существенных различий в уровне антибактериальной активности между ципрофлоксацином, офлоксацином, пефлоксацином, а также новыми «антипневмококковыми» фторхинолонами нет. Между перечисленными препаратами наблюдают практически полную перекрестную резистентность. Выбор конкретного фторхинолона для включения в исследования должен основываться на местных условиях.

Характеристика дополнительных препаратов

Включение в набор для исследования дополнительных антибиотиков определяется особенностью ЛПУ.

В случае тяжелых, крайне тяжелых и, особенно, госпитальных инфекций, в исследование целесообразно включать следующие антибиотики.

Карбапенемы. Поскольку устойчивость к этим антибиотикам среди *Enterobacteriaceae* встречается очень редко и, как правило, носит перекрестный характер между отдельными представителями группы, то в исследование достаточно включать лишь один препарат.

Цефепим. Антибиотик обладает значительно большей устойчивостью к хромосомным бета-лактамазам класса С в сравнении с цефалоспоринами III поколения, может также сохранять активность в отношении части продуцентов БЛРС.

Цефоперазон/сульбактам, тикарциллин/клавуланат. Препараты могут сохранять активность *in vitro* в отношении части продуцентов БЛРС. Однако клиническое значение этого феномена не определено. Данные, подтверждающие наличие или отсутствие клинической эффективности указанных АБП при инфекциях, вызываемых продуцентами БЛРС, отсутствуют.

Цефокситин. Антибиотик не имеет реального значения в лечении инфекций, вызванных *Enterobacteriaceae*, однако может быть использо-

ван для дифференцирования продуцентов БЛРС и AmpC. Продуценты БЛРС – чувствительны, продуценты AmpC – устойчивы.

Амикацин. К амикацину сохраняет чувствительность значительная часть штаммов, устойчивых к гентамицину. Оценивать чувствительность *Enterobacteriaceae* к другим аминогликозидам нецелесообразно.

Для оценки чувствительности возбудителей инфекций легкой и средней степеней тяжести в исследование следует включать цефалоспорины II поколения и оральные цефалоспорины II—III поколений.

При определении чувствительности микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* особенно важным является выявление штаммов, вырабатывающих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС). Необходимость дополнительной детекции данного механизма устойчивости связана с тем фактом, что часть продуцентов БЛРС при применении существующих критериев попадают в категорию чувствительных, однако клинические наблюдения свидетельствуют о недостаточной эффективности цефалоспоринов II—IV при инфекциях, вызываемых такими микроорганизмами. Для детекции БЛРС предлагается последовательное проведение скрининга (выявление подозрительных штаммов) и подтверждающих тестов в отношении подозрительных штаммов. Для эффективного скрининга в рутинное микробиологическое исследование необходимо включать несколько цефалоспориновых антибиотиков, минимальный набор должен включать 3 цефалоспорина III поколения: цефотаксим, цефтриаксон и цефтазидим.

Методы скрининга БЛРС и подтверждающие тесты приведены ниже.

В случае выявления или подозрения на продукцию БЛРС необходимо информировать лечащих врачей о высокой вероятности клинической неэффективности терапии пенициллинами и цефалоспоринами I—IV поколений, независимо от конкретных результатов определения чувствительности.

При выдаче результатов тестирования микроорганизмов группы *Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Morganella, Providencia* необходимо указывать, что при монотерапии генерализованных инфекций, вызванных данными возбудителями, цефалоспоринами III поколения возможно развитие резистентности в процессе лечения.

При интерпретации результатов оценки устойчивости к аминогликозидам следует ориентироваться на следующие особенности. Широкий субстратный профиль аминогликозидмодифицирующих ферментов, возможность продукции микроорганизмами семейства *Enterobacteriacae* одновременно нескольких энзимов, приводят к частой перекрестной резистентности между отдельными препаратами. На основании данных о чувствительности или устойчивости исследуемого микроорганизма к одному

или нескольким аминогликозидам прогнозировать уровень резистентности к другим антибиотикам этой группы практически невозможно.

Интерпретация результатов оценки резистентности к хинолонам, как правило, не вызывает затруднения. Штаммы, устойчивые к нефторированным хинолонам, могут сохранять чувствительность к фторированным. На практике можно считать, что между ципрофлоксацином, офлоксацином, пефлоксацином и ломефлоксацином имеется полная перекрестная резистентность. Современные антипневмококковые фторхинолоны (левофлоксацин, спарфлоксацин и моксифлоксацин) не имеют преимуществ перед перечисленными препаратами и характеризуются перекрестной резистентностью.

Тестирование Enterobacteriaceae – возбудителей кишечных инфекций

Основную роль в этиологии кишечных инфекций играют представители родов *Shigella, Salmonella, Escherichia* и *Yersinia,* относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*, а также семейств *Spirillaceae* (род *Campylobacter*) и *Vibrionaceae*. В рутинной практике при кишечных инфекциях определение чувствительности следует проводить только для штаммов семейства *Enterobacteriaceae.*

Перечень АБП, подлежащих исследованию, весьма ограничен и включает препараты с подтвержденной клинической эффективностью (табл. 14). При генерализованных инфекциях, вызванных микроорганизмами рода *Salmonella* (выделение возбудителя из стерильных локусов), в исследование необходимо включать цефалоспорины III поколения (цефотаксим или цефтриаксон).

Дополнительно возможно включение хлорамфеникола и тетрациклинов, однако их роль в лечении инфекций желудочно-кишечного тракта представляется на сегодняшний день крайне сомнительной. В то же время результаты определения чувствительности к этим АБП могут иметь определенное значение для эпидемиологического мониторинга.

Тестирование Enterobacteriaceae – возбудителей внебольничных инфекций мочевыводящих путей (ИМП)

С практической точки зрения ИМП крайне важно разделять на внебольничные и нозокомиальные. Для тестирования штаммов *Enterobacteriaceae,* выделенных при нозокомиальных ИМП, следует использовать тот же перечень АБП, что и для определения чувствительности возбудителей инфекций различной локализации.

Формирование отдельного набора антибактериальных препаратов для оценки чувствительности возбудителей внебольничных инфекций мочевыводящих путей целесообразно при наличии значительного потока таких исследований. Примерный перечень препаратов приведен в табл. 15.

Выявление БЛРС у штаммов Enterobacteriaceae фенотипическими методами

Обоснованные рекомендации по выявлению БЛРС фенотипическими методами распространяются только на штаммы *Klebsiella* spp. и *E.coli*. Однако продукция БЛРС может отмечаться практически у всех видов семейства *Enterobacteriaceae* и ряда других грамотрицательных микроорганизмов. Учитывая распространенность ферментов этой группы, представляется целесообразным проведение скрининга всех выделенных в лаборатории штаммов *Enterobacteriaceae* с последующим использованием специальных подтверждающих исследований у любых штаммов, которые по данным предварительного тестирования проявляют пониженную чувствительность хотя бы к одному из цефалоспоринов III поколения (МПК ≥ 2 мг/л, либо эквивалентное уменьшение диаметра зоны подавления роста – табл. 3).

Скрининг не предполагает проведения специального исследования, его основу должен составлять анализ данных, получаемых в рутинной практике. В то же время, для эффективного скрининга в рутинное микробиологическое исследование необходимо включать несколько цефалоспориновых антибиотиков, даже если использование некоторых из них в качестве терапевтических препаратов не планируется. Наиболее чувствительными к гидролизу БЛРС считаются цефподоксим и цефтазидим. Соответственно, эти препараты целесообразно включать в набор для определения чувствительности *Enterobacteriaceae*. При отсутствии возможности тестирования цефподоксима, минимальный набор цефалоспоринов III поколения, используемых для определения чувствительности грамотрицательных микроорганизмов, должен включать цефотаксим, цефтриаксон и цефтазидим.

Чем больше цефалоспоринов использовано для тестирования, тем более достоверными будут результаты выявления БЛРС. Некоторые штаммы могут проявлять высокий уровень устойчивости ко всем АБП, у других же обнаруживается лишь незначительное повышение МПК к 1—2 АБП цефалоспоринового ряда. Результаты тестирования *Klebsiella* spp. и *E. coli* к цефалоспоринам, указывающие на возможную продукцию БЛРС этими штаммами, приведены в табл. 10.

После выявления штамма, подозрительного на продукцию БЛРС, рекомендуется провести подтверждающий тест.

Тесты, подтверждающие продукцию БЛРС

Все фенотипические тесты для подтверждения продукции БЛРС являются вариантами стандартных методов определения чувствительности к АБП и основаны на ингибиции БЛРС клавуланатом. При постановке этих тестов проводится сравнение чувствительности исследуемых

микроорганизмов к различным цефалоспоринам III поколения и к комбинации этих антибиотиков с клавулановой кислотой.

Диско-диффузионный метод предусматривает использование стандартных дисков с обычным содержанием цефотаксима и цефтазидима (30 мкг) или диска с цефподоксимом (10 мкг), а также диски, содержащие комбинации: цефотаксим + клавуланат или цефтазидим + клавуланат (30/10 мкг) или цефподоксим + клавуланат (10/10 мкг). В исследование целесообразно включать одновременно и диски с цефотаксимом и диски с цефтазидимом и их комбинациями с клавуланатом.

Постановка теста

Методика приготовления микробной взвеси и инокуляции чашек с агаром стандартные. На поверхность агара накладывают диски с цефалоспоринами и их комбинациями с клавулановой кислотой. Чашки инкубируют в термостате при 35 °С в течение 18—20 ч.

Интерпретация результатов

Различие в диаметрах зон подавления роста для дисков с цефподоксимом/клавулановой кислотой и цефподоксимом на 6 мм и более, для дисков с цефотаксимом/клавулановой кислотой и цефотаксимом, цефтазидимом/клавулановой кислотой и цефтазидимом – на 5 мм и более, свидетельствует о продукции штаммом БЛРС. Необходимо подчеркнуть, что результат считается положительным, если указанные различия получены хотя бы для одной пары дисков.

Контроль качества

Для контроля качества исследования необходимо использовать два штамма (отрицательный и положительный контроли):

• отрицательный контроль. При тестировании контрольного штамма *E. coli*, не продуцирующего β-лактамаз, различия в диаметрах зон между дисками с ингибитором и без него не должны превышать 2,0 мм;

• положительный контроль. При тестировании контрольного штамма *K. pneumoniae*, продуцирующего БЛРС, различия в диаметрах зон между дисками с цефподоксимом/клавулановой кислотой и цефподоксимом ≥ 6 мм, с цефотаксимом/клавулановой кислотой и цефотаксимом > 3 мм, с цефтазидимом/клавулановой кислотой и цефтазидимом ≥ 5 мм.

Метод серийных разведений в бульоне предполагает использование двойных серийных разведений препаратов в следующих диапазонах концентраций: цефтазидима от 0,25 до 128,0 мг/л, цефтазидима/клавуланата от 0,25/4,0 до 128,0/4,0 мг/л; цефотаксима от 0,25 до 64,0 мг/л; цефотаксима/клавуланата от 0,25/4,0 до 64,0/4,0 мг/л. В исследование целесообразно включать оба цефалоспорина и их комбинации с клавулановой кислотой.

Постановка теста

Методика выполнения исследования (приготовление разведений антибиотиков в бульоне, микробной взвеси, инокуляция и инкубация) – стандартная.

Интерпретация результатов

Снижение МПК цефтазидима или цефотаксима не менее чем в 8 раз (на 3 последовательных двукратных разведения) в присутствии ингибитора, в сравнении со значениями МПК соответствующих цефалоспоринов без ингибиторов, свидетельствует о продукции штаммом БЛРС.

Контроль качества

• Отрицательный контроль. При тестировании контрольного штамма *E. coli*, не продуцирующего β-лактамаз, соотношения МПК соответствующих цефалоспоринов III поколения к МПК их комбинации с клавуланатом должны быть < 8.

• Положительный контроль. Для штамма *K. pneumoniae*, продуцирующего БЛРС, соотношения значений МПК цефалоспоринов и МПК их комбинаций с клавуланатом должны быть ≥ 8.

Метод двойных дисков

Хотя этот метод и не относится к хорошо стандартизованным, чувствительность, специфичность и простота выполнения позволяют рассматривать его приемлемым методом для рутинной практики. Метод предполагает использование доступных коммерческих дисков с цефалоспоринами III поколения и с амоксициллином/клавуланатом.

Метод «двойных дисков» представляет собой вариант классического ДДМ определения чувствительности, который позволяет выявить продукцию БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с каким-либо цефалоспорином III поколения напротив диска, содержащего клавулановую кислоту (синергизм отмечается в участке пересечения зон диффузии двух дисков, расположенных на небольшом расстоянии друг от друга).

Постановка теста

Методика приготовления микробной взвеси, инокуляции и инкубации чашек не имеет отличий от стандартного ДДМ. Особенностью метода является то, что через 5—10 мин после инокуляции на поверхность агара накладывают диски с АБП: в центр – диск, содержащий клавулановую кислоту, обычно в виде комбинации амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг), по бокам от него на расстоянии 20 и 30 мм между центрами дисков – диски с цефтазидимом (30 мкг) и цефотаксимом (30 мкг). Использование двух дисков каждого АБП, расположенных на разном расстоянии от диска с клавулановой кислотой, позволяет повысить эффективность обнаружения БЛРС.

Интерпретация результатов

Если тестируемый микроорганизм вырабатывает БЛРС (действие которых в большинстве случаев обратимо клавуланатом), зона подавления роста вокруг диска с цефалоспорином III поколения окажется «вытянутой» в сторону диска с амоксициллином/клавуланатом (рис. 2). Причиной данного эффекта является дополнительное подавление роста микроорганизма в той зоне, куда диффундируют и клавуланат и цефалоспорин III поколения. Тест сугубо качественный и требует определенных навыков при интерпретации.

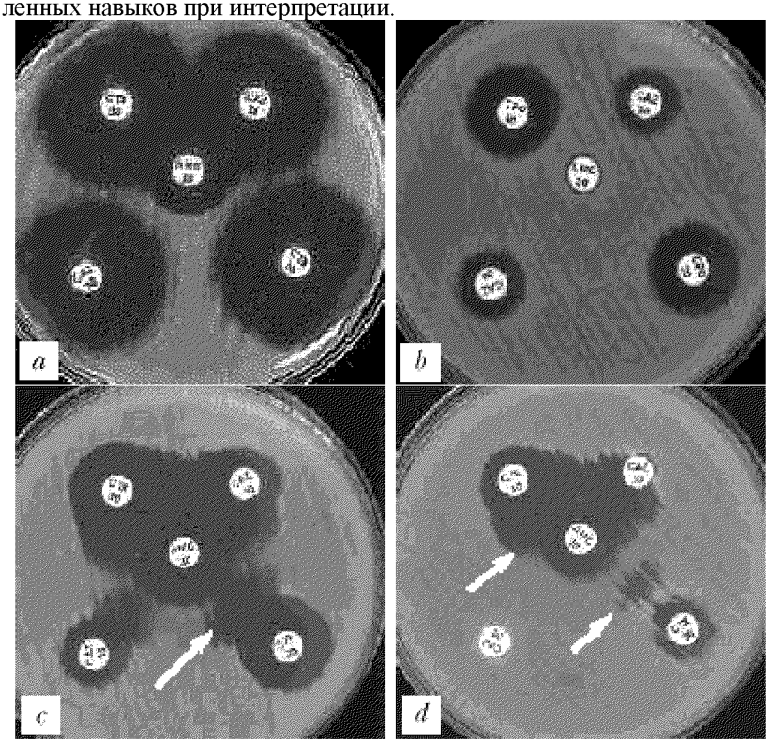


Рис. 2. Выявление продукции БЛРС с помощью метода «двойных дисков».
Отрицательные результаты: a) *E.coli* (БЛРС-)б;
b) *E. cloacae* (гиперпродукция AmpC).
Положительные результаты: c), d) *K. pneumoniae* (БЛРС+).
Обозначения дисков: AMC – амоксициллин/клавулановая кислота (20/10 мкг), CAZ – цефтазидим (30 мкг), CTX – цефотаксим (30 мкг), CPO – цефпиром (30 мкг).

Контроль качества

Параллельно с анализом исследуемых культур тестируют контрольные штаммы.

К сожалению ни один из традиционных микробиологических методов, основанных на оценке фенотипа микроорганизма, не обеспечивает выявление БЛРС в 100 % случаев. Ситуация существенно затрудняется при наличии у микроорганизмов нескольких детерминант устойчивости одновременно, что встречается достаточно часто. Например, при продукции БЛРС и гиперпродукции хромосомных бета-лактамаз класса С устойчивость последних к клавуланату маскирует присутствие БЛРС.

6.3. Определение чувствительности P. aeruginosa, Pseudomonas spp., Acinetobacter spp. и других неферментирующих бактерий (НФБ)

При определении чувствительности НФБ следует иметь в виду, что ДДМ достаточно стандартизован лишь для *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. При исследовании *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas* spp. (кроме *P. aeruginosa*) и других НФБ, предпочтение следует отдавать методам серийных разведений. Примерный перечень АБП, рекомендуемых для определения чувствительности рассматриваемой группы бактерий, приведен в табл. 12.

Препараты первого ряда

В первую очередь для оценки антибиотикочувствительности *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp. следует использовать препараты, отличающиеся наибольшей природной активностью.

Цефтазидим. Является одним из основных АБП, используемых для лечения инфекций, вызываемых рассматриваемой группой микроорганизмов.

Цефепим. При сопоставимом с цефтазидимом уровне природной активности, в ряде случаев цефепим сохраняет активность в отношении микроорганизмов, устойчивых к цефтазидиму.

Гентамицин, амикацин. Аминогликозиды для монотерапии инфекций, вызываемых рассматриваемой группой бактерий, не применяются, однако во многих случаях являются необходимым компонентом комбинированных схем терапии. Целесообразность включения в перечень препаратов первого ряда амикацина и гентамицина обосновывается высокой частотой устойчивости к последнему антибиотику в ряде учреждений.

Ципрофлоксацин. Среди фторхинолонов ципрофлоксацин является препаратом выбора при лечении рассматриваемой группы инфекций.

Меропенем, имипенем. Меропенем характеризуются наибольшим уровнем активности в отношении рассматриваемой группы микроорга-

низмов, имипенем ему несколько уступает. Целесообразность включения обоих карбапенемов объясняется отсутствием между ними в некоторых случаях перекрестной резистентности.

Дополнительные препараты

Дополнительные препараты по уровню природной активности, как правило, уступают антибиотикам первого ряда, однако во многих случаях, прежде всего, по экономическим соображениям могут быть использованы в терапии. Кроме этого необходимо учитывать, что неферментирующие бактерии существенно различаются по уровню природной чувствительности к АБП.

Азтреонам, цефоперазон. По основным свойствам близки к цефтазидиму.

Цефоперазон/сульбактам, тикарциллин/клавуланат. Доступные ингибиторы не способны подавлять активность большинства бета-лактамаз, распространенных среди *P. aeruginosa*, и в силу этого комбинированные препараты не обладают существенными преимуществами в сравнении с исходными антибиотиками.

Цефоперазон/сульбактам (а также ампициллин/сульбактам) могут иметь реальное значение в лечении инфекций, вызываемых *Acinetobacter* spp., благодаря наличию у сульбактама собственной активности в отношении указанного микроорганизма.

При инфекциях, вызываемых *Stenotrophomonas maltophilia,* клиническое значение имеет ко-тримоксазол и тикарциллин/клавуланат. Микроорганизм обладает природной устойчивостью ко всем бета-лактамам, кроме тикарциллина/клавуланата.

Карбенициллин. В силу выраженной токсичности и высокой частоты устойчивости применение карбенициллина даже для лечения инфекций, вызываемых *P. Aeruginosa,* следует признать нецелесообразным.

Очевидно, что «неферментирующие» микроорганизмы нельзя рассматривать как единую группу с точки зрения их природной чувствительности к антибиотикам. Оценка антибиотикочувствительности редких видов «неферментирующих» микроорганизмов требует индивидуального подхода.

Поскольку тяжелые инфекции, вызываемые псевдомонадами, являются показанием для назначения комбинированной терапии, целесообразно при выдаче ответа в клинику указывать на наиболее эффективную с микробиологической точки зрения комбинацию антибиотиков.

Пограничные значения МПК антибиотиков (и соответствующие диаметры зон ингибиции роста) в отношении *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и неферментирующих бактерий, используемые для

интерпретации результатов оценки антибиотикочувствительности приведены в табл. 4.

6.4. Определение чувствительности Staphylococcus spp.

При оценке чувствительности *Staphylococcus* spp. в первую очередь необходимо тестировать препараты, имеющие основное клиническое значение: бета-лактамы, макролиды, фторхинолоны, аминогликозиды и ванкомицин.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Staphylococcus* spp. (пограничные значения диаметров зон подавления роста и МПК АБП) приведены в табл. 5.

Бета-лактамы. Препаратами выбора для лечения стафилококковых инфекций (вызванных как *Staphylococcus aureus*, так и коагулазонегативными стафилококками) являются бета-лактамные антибиотики, следовательно, в первую очередь необходимо определять чувствительность стафилококков к этим препаратам.

Устойчивость стафилококков к бета-лактамным АБП связана либо с продукцией бета-лактамаз, либо с наличием дополнительного пенициллино-связывающего белка – ПСБ2а. Выявление и дифференцирование этих двух механизмов резистентности позволяет надежно прогнозировать активность всех бета-лактамных антибиотиков без непосредственной оценки чувствительности к каждому из этих препаратов. При этом необходимо учитывать следующие закономерности:

- штаммы *Staphylococcus* spp., лишенные механизмов резистентности, чувствительны ко всем бета-лактамным АБП;
- бета-лактамазы (пенициллиназы) *Staphylococcus* spp. способны гидролизовать природные и полусинтетические пенициллины, за исключением оксациллина и метициллина. Чувствительность или резистентность к бензилпенициллину является индикатором активности природных и полусинтетических амино-, карбокси- и уреидопенициллинов. Остальные бета-лактамы с потенциальной антистафилококковой активностью (антистафилококковые пенициллины, цефалоспорины I, II и IV поколений и карбапенемы) сохраняют активность в отношении бета-лактамазпродуцирующих штаммов;
- штаммы *Staphylococcus* spp, обладающие ПСБ2а, клинически устойчивы ко всем бета-лактамным АБП. Маркером наличия ПСБ2а является устойчивость к оксациллину и метициллину. Такие штаммы исторически получили название метициллинрезистентных стафилококков.

Метициллин в настоящее время в клинической практике и в лабораторной диагностике не применяется, его практически полностью вы-

теснил оксациллин, соответственно появился термин «оксациллинорезистентность», являющийся полным синонимом термина «метициллинрезистентность».

Таким образом, определение чувствительности *Staphylococcus* spp. к бета-лактамным АБП должно включать выполнение двух тестов определения чувствительности:

- к бензилпенициллину или выявления продукции бета-лактамаз (пенициллиназ);
- к оксациллину или выявления ПСБ2а или кодирующего его гена *mecA*.

Определение чувствительности к бензилпенициллину или выявление продукции бета-лактамаз (пенициллиназ)

Определение чувствительности *Staphylococcus* spp. к бензилпенициллину несколько затруднено тем фактом, что синтез бета-лактамаз у этого микроорганизма является индуцибельным процессом (продукция фермента усиливается после контакта с антибиотиком). В результате этого при использовании стандартных методов серийных разведений и ДДМ возможно получение результатов ложной чувствительности.

Решением данной проблемы может быть использование метода непосредственного выявления бета-лактамаз, основанного на использовании дисков с нитроцефином. Нитроцефин представляет собой хромогенный цефалоспорин, который легко гидролизуется под действием всех бета-лактамаз с образованием окрашенного продукта.

Постановка теста

Для проведения исследования используют чашку, на которой оценивали чувствительность исследуемого штамма *Staphylococcus* spp. к пенициллину и/или оксациллину ДДМ. С границы зоны ингибиции роста вокруг диска с оксациллином бактериологической петлей забирается незначительное количество культуры и наносится на предварительно увлажненный диск с нитроцефином. Диск инкубируют при комнатной температуре до 1 ч.

Интерпретация результатов

Появление красного окрашивания свидетельствует о продукции бета-лактамаз исследуемым штаммом микроорганизма.

Штамм, продуцирующий бета-лактамазу, рассматривают как устойчивый к природным и полусинтетическим пенициллинам (за исключением оксациллина), независимо от конкретных результатов тестирования к перечисленным АБП.

Определение чувствительности к оксациллину

При определении чувствительности к оксациллину стандартными методами необходимо учитывать некоторые особенности:

• для приготовления инокулюма используют только прямой метод суспендирования колоний;

• длительность инкубации до момента учета результатов определения чувствительности к оксациллину должна составлять не менее 24 ч.

Особенности тестирования ДДМ:

• необходимо использовать диски, содержащие 1 мкг оксациллина;

• при учете результатов необходимо обращать внимание даже на единичные мелкие колонии стафилококков, обнаруженные в пределах зоны подавления роста.

Особенности тестировании методами серийных разведений

В питательную среду целесообразно добавлять NaCl (до конечной концентрации 2 %).

Интерпретация результатов тестирования стафилококков к оксациллину

Штаммы стафилококков, резистентные к оксациллину, должны рассматриваться как устойчивые ко ВСЕМ бета-лактамным АБП.

Результаты определения чувствительности стафилококков к оксациллину и к другим бета-лактамным АБП могут быть противоречивыми, при этом результаты определения чувствительности к оксациллину являются решающими.

Определять чувствительность стафилококков к бета-лактамным АБП, кроме бензилпенициллина и оксациллина, нецелесообразно

Для метициллинрезистентных стафилококков характерно наличие ассоциированной резистентности к АБП других групп. Выявление у стафилококков множественной резистентности при чувствительности к оксациллину требует проведения повторных исследований.

Следует обратить внимание на различия в критериях метициллинрезистентности для *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков.

При получении сомнительных результатов необходимо использовать дополнительные методы (скрининг на агаре – метод приведен ниже, прямое выявление гена *mecA* или белка ПСБ2а).

Выдача клиницистам результатов исследования и рекомендаций по лечению.

При выделении пенициллино- и метициллино-чувствительных штаммов стафилококков, микроорганизм считается чувствительным ко всем бета-лактамным АБП, а препаратами выбора будут природные и аминопенициллины.

При выявлении продукции бета-лактамаз и чувствительности к оксациллину, микроорганизм является резистентным к природным пенициллинам, амино-, карбокси- и уреидо-пенициллинам, но чувствителен к оксациллину, ингибиторозащищенным пенициллинам и цефалоспоринам I—II поколений, которые являются препаратами выбора в данном случае. В отношении данных штаммов будут также активны цефалоспорины IV поколения и карбапенемы, однако преимуществами в сравнении с препаратами выбора они не обладают.

При выявлении метициллинрезистентности штамм считается устойчивым ко всем бета-лактамным антибиотикам, для лечения необходимо использовать препараты других групп, из которых препаратами выбора считаются гликопептиды.

Дополнительные методы выявления метициллинрезистентности

Наиболее надежным методом выявления метициллинрезистентности у стафилококков является непосредственное определение наличия гена *mecA* молекулярно-генетическими методами (с помощью полимеразной цепной реакции – ПЦР). Кроме того, разработан коммерческий метод выявления дополнительного пенициллиносвязывающего белка – ПСБ2а в реакции агглютинации.

В то же время, скрининг на агаре для выявления метициллинрезистентности является высокочувствительным и специфичным методом, легко выполнимым в условиях рутинной работы микробиологической лаборатории, однако он может быть использован только для штаммов *S. aureus.*

Постановка теста

Для проведения скрининга готовят чашки с агаром Мюллера-Хинтон, содержащие 4 % NaCl и 6,0 мкг/мл оксациллина. Хлористый натрий вносят в питательную среду в необходимом количестве до автоклавирования. Рабочий раствор оксациллина добавляют в питательную среду после автоклавирования и охлаждения среды до 45—50 °С. Для приготовления рабочего раствора оксациллина используют субстанцию АБП с известной активностью.

Микробную взвесь следует готовить только методом прямого суспендирования из нескольких однотипных изолированных колоний стафилококка, выросших на чашке с неселективным питательным агаром, в стерильном физиологическом растворе и доводить до мутности 0,5 по Мак-Фарланду ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл).

Инокуляция

Для инокуляции чашек с агаром можно использовать два метода: 1) с помощью микропипетки или 2) с помощью стерильного ватного тампона.

1) Метод I (микропипеткой):

а) готовят разведение 1 : 100 стандартного инокулюма, соответствующего стандарту мутности 0,5 по Мак-Фарланду для получения бактериальной взвеси, содержащей $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл (например, добавить 0,1 мл стандартной суспензии к 9,9 мл стерильного физиологического раствора);

б) с помощью микропипетки наносят каплю (10 мкл) разведенной стандартной суспензии на поверхность агара с оксациллином.

2) Метод II (с помощью тампона):

а) стерильный ватный тампон погружают в пробирку со стандартизированной суспензией (0,5 по Мак-Фарланду), затем отжимают избыток влаги о стенку пробирки;

б) культуру наносят тампоном либо на ограниченную поверхность (диаметром 10—15 мм), либо на всю поверхность агара с оксациллином в чашке Петри.

Инкубация

Штаммы *S. aureus* инкубируются при температуре 35 °С в течение полных 24 ч, а коагулазанегативных стафилококков – в течение 48 ч.

Учет результатов

После инкубации чашки тщательно просматривают в проходящем свете:

- появление видимого роста более 1 колонии или вуалеобразного роста на месте нанесения культуры означает устойчивость данного штамма к оксациллину (метициллину);
- при отсутствии роста на месте нанесения культуры исследуемый штамм учитывается как чувствительный к метициллину (оксациллину);
- при сомнительных результатах, а также для штаммов, выделенных у больных с клинически неэффективной терапией и у больных с серьезными инфекциями, необходимо провести развернутое исследование с определением МПК к оксациллину и гена *mecA*.

Контроль качества

Исследование проводят при обязательном контроле роста испытуемых культур на агаре Мюллера–Хинтон с 4 % NaCl без оксациллина (культуру наносят так же, как на агар с оксациллином).

Параллельно с исследуемыми тестируют также контрольные штаммы метициллин-чувствительных и метициллин-резистетных стафилококков.

Макролиды и линкозамиды. Макролиды и линкозамиды являются альтернативными препаратами для лечения стафилококковых инфекций. В исследование необходимо включать:

- один из представителей 14- и 15-членных макролидов. Полная перекрестная резистентность между отдельными представителями;
- клиндамицин. Полная перекрестная резистентность между 16-членными макролидами и линкозамидами.

Приведенный выбор препаратов определяется закономерностями перекрестной резистентности между антибиотиками указанных подгрупп.

Фторированные хинолоны. В последнее время отмечается повышение интереса к фторхинолонам как к препаратам для лечения стафилококковых инфекций (особенно кожи и мягких тканей). Новые представители этой группы АБП (антипневмококковые фторхинолоны – левофлоксацин, спарфлоксацин, моксифлоксацин и др.) обладают повышенной активностью в отношении *Staphylococcus* spp. в сравнении с традиционными препаратами. Между перечисленными подгруппами препаратов нет полной перекрестной резистентности. Антипневмококковые препараты часто сохраняют активность в отношении штаммов, устойчивых к другим фторхинолонам.

Аминогликозиды. На практике необходимо учитывать некоторые особенности интерпретации результатов, полученных in vitro. Так, при детекции устойчивости к гентамицину выделенный штамм следует рассматривать как устойчивый ко всем аминогликозидам. В этой связи гентамицин должен включаться в набор для тестирования в обязательном порядке. В то же время крайне редко могут встречаться штаммы, устойчивые к другим аминогликозидам при чувствительности к гентамицину.

Ванкомицин. Ванкомицин является одним из препаратов выбора (наряду с оксазолидинонами) для лечения инфекций, вызываемых оксациллинрезистентными штаммами. Появление сообщений об устойчивости стафилококков к гликопептидам требует внимательного отношения к оценке результатов исследования.

Дополнительные препараты

Линезолид. Оксазолидиноны являются важным достижением в лечении инфекций, вызываемых оксациллин-резистентными штаммами, в том числе и устойчивыми к гликопептидам. В то же время, необходимо иметь в виду, что уже известно о формировании устойчивости к антибиотикам этой группы.

Другие препараты

Ко-тримоксазол
Хлорамфеникол
Фузидиевая кислота
Тетрациклины
Рифампицин

Значение перечисленных препаратов в лечении стафилококковых инфекций, вызванных метициллин-чувствительными штаммами, невелико, так они уступают по активности бета-лактамам. Их клиническая эффективность при инфекциях, вызываемых оксациллинрезистентными штаммами, изучена недостаточно.

Рифампицин, ко-тримоксазол и фузидиевую кислоту нельзя рекомендовать как средство монотерапии из-за высокой частоты селекции резистентности в процессе лечения.

Формировать конкретный набор антибиотиков для оценки антибиотикочувствительности стафилококков наиболее целесообразно на основании данных о частоте распространения в стационаре метициллинрезистентности. При отсутствии или низкой частоте метициллинрезистентности вполне достаточно ограничиться оценкой чувствительности к оксациллину (в плане надзора), макролидам и, возможно, еще к 1—2 препаратам, реально применяемым в конкретном стационаре для лечения стафилококковых инфекций. В случае же высокой частоты распространения метициллинрезистентности в исследование необходимо включать достаточно широкий круг антибиотиков.

6.5. Определение чувствительности ***Enterococcus*** **spp.**

Энтерококки характеризуются природной устойчивостью ко многим АБП (цефалоспоринам, аминогликозидам), а клиническое значение наблюдаемой *in vitro* чувствительности к тетрациклинам, хлорамфениколу, макролидам и рифампицину окончательно не определено. Таким образом, перечень препаратов, подлежащих включению в исследование энтерококков, весьма ограничен (табл. 17).

При решении вопроса о необходимости определения чувствительности *Enterococcus* spp. к АБП крайне важно оценить клиническую значимость этих микроорганизмов. Так, энтерококки, выделенные из нестерильных локусов организма, особенно в составе ассоциаций, чаще всего следует рассматривать как контаминирующие или колонизирующие микроорганизмы, соответственно, определять чувствительность таких штаммов к АБП нецелесообразно. Проводить определение чувствительности необходимо для штаммов *Enterococcus* spp., выделенных из крови и других в норме стерильных жидкостей и тканей организма, а

также из мочи. При этом, подходы к определению чувствительности этих микроорганизмов и наборы АБП для тестирования несколько различаются в зависимости от источника выделения штаммов (табл. 17).

Пенициллин и ампициллин. Данные антибиотики являются препаратами выбора для лечения энтерококковых инфекций. Между пенициллином и ампициллином отмечается перекрестная резистентность. Полученные результаты можно экстраполировать на ингибиторозащищенные аминопенициллины и уреидопенициллины. Поскольку известны случаи резистентности энтерококков к пенициллинам, связанные с продукцией бета-лактамаз, резистентные штаммы следует исследовать на продукцию пенициллиназы в тесте с нитроцефином.

Аминогликозиды. Несмотря на то, что энтерококки обладают природной устойчивостью к аминогликозидам, данный класс АБП широко применяются в комбинированной терапии генерализованных энтерококковых инфекций. Целесообразность таких схем лечения объясняется выраженным синергизмом между аминогликозидами и ампициллином или ванкомицином. Однако синергизм проявляется только в том случае, если МПК аминогликозидов не превосходит 500 мкг/мл для гентамицина и 1 000 мкг/мл для стрептомицина. Указанное обстоятельство требует проведения скрининга (методом серийных разведений или ДДМ) на наличие у энтерококков высокого уровня резистентности к стрептомицину и гентамицину.

Ванкомицин. Ванкомицин является препаратом выбора для лечения инфекций, вызванных штаммами, резистентными к бета-лактамам и аминогликозидам. В ряде географических регионов устойчивость энтерококков к ванкомицину является серьезной клинической проблемой. Имеются сообщения о выделении единичных штаммов ванкомицинорезистентных энтерококков и в России. Для выявления устойчивости энтерококков к ванкомицину целесообразно проводить целенаправленный скрининг.

Линезолид. Препарат является средством выбора для лечения инфекций штаммами, устойчивыми к ванкомицину. Линезолид также рассматривается в качестве альтернативы ванкомицину при лечении инфекций, вызываемых штаммами, устойчивыми к бета-лактамам и аминогликозидам.

Другие препараты

В отношении ванкомицин-резистентных энтерококков, несмотря на отсутствие убедительных данных, возможно оценивать активность тетрациклинов, хлорамфеникола, эритромицина и рифампина.

Для штаммов энтерококков, выделенных при инфекциях мочевыводящих путей, целесообразно исследовать чувствительность к следующим антибиотикам:

- пенициллину или ампициллину;
- фторхинолонам;
- тетрациклинам;
- нитрофуранам;
- фосфомицину.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Enterococcus* spp. (пограничные значения диаметров зон подавления роста и МПК АБП) приведены в табл. 6.

Скрининг для выявления высокого уровня резистентности к аминогликозидам у энтерококков

Скрининг можно проводить в агаре или бульоне.

Питательная среда

Агар или бульон на сердечно-мозговом экстракте. Питательная среда готовится в соответствии с инструкцией производителя. После автоклавирования и охлаждения до 45—50 °С в среду асептически добавляют растворы антибиотиков до следующих конечных концентраций:

- гентамицин для скрининга в агаре и бульоне – 500 мг/л;
- стрептомицин;
- для скрининга в агаре – 2000 мг/л;
- для скрининга в бульоне – 1 000 мг/л.

Приготовление микробной взвеси, инокуляция и инкубация

Микробную взвесь готовят путем суспендирования изолированных колоний из 24-часовой культуры, выращенной на неселективных средах до концентрации 0,5 по Мак-Фарланду. Для скрининга на агаре на поверхность среды наносят 10,0 мкл суспензии. Для скрининга в бульоне в среду вносят инокулюм до конечной концентрации 5×10^5 КОЕ/мл. Инкубацию проводят при температуре 35 °С: для гентамицина – в течение полных 24 ч, для стрептомицина – до 48 ч.

Учет результатов

Исследуемый штамм рассматривается как резистентный при следующих условиях:

- при скрининге на агаре – рост более 1 колонии;
- при скрининге в бульоне – любой видимый рост.

Контроль качества

Для контроля качества используют штаммы чувствительных и резистентных энтерококков.

Скрининг для выявления ванкомицинорезистентности у энтерококков

Скрининг осуществляется на агаре.

Питательная среда

Агар на сердечно-мозговом экстракте. Питательная среда готовится в соответствии с инструкцией производителя. После автоклавирования и охлаждения до 45—50 °С в среду асептически добавляют раствор ванкомицина до конечной концентрации 6,0 мг/л.

Приготовление микробной взвеси, инокуляция и инкубация

Микробную взвесь готовят путем суспендирования изолированных колоний из 24-часовой культуры, выращенной на неселективных средах до концентрации 0,5 по Мак-Фарланду. Для скрининга на поверхность агара наносят 10,0 мкл суспензии. Инкубацию проводят при температуре 35 °С в течение полных 24 ч.

Учет результатов

Исследуемый штамм рассматривается как резистентный при росте более 1 колонии на агаре с ванкомицином.

Контроль качества

Для контроля качества используют штаммы чувствительных и резистентных энтерококков.

6.6. Определение чувствительности микроорганизмов со сложными питательными потребностями

Определение чувствительности микроорганизмов со сложными питательными потребностями является методически одной из наиболее трудных задач, т. к. в ряде случаев требует одновременного использования метода серийных разведений и ДДМ, особой тщательности в выполнении всех процедур, начиная от приготовления питательных сред и инокулюма и заканчивая проведением контроля качества. В то же время эффективность эмпирической антибактериальной терапии многих инфекций, вызываемых микроорганизмами этой группы, хорошо предсказуема. Учитывая эти факты, при оценке необходимости определения чувствительности микроорганизмов этой группы к АБП следует объективно оценить соотношение стоимости и эффективности (клинической значимости) таких исследований, а также сопоставить стоимость полноценного материально-технического оснащения с доступными ресурсами.

Попытки даже незначительной модификации стандартных методов (замена дорогостоящих реагентов на более дешевые) могут привести к получению ошибочных, недостоверных результатов, способных ввести в заблуждение, и микробиологов, и клиницистов.

6.7. Определение чувствительности Streptococcus *spp.*

Питательные среды

Для определения чувствительности стрептококков используют следующие питательные среды:

• для методов серийных разведений в бульоне необходимо использовать бульон Мюллера-Хинтон с добавлением 2,0—5,0 % лизированной лошадиной крови. Кровь лизируют замораживанием – оттаиванием с последующим центрифугированием для освобождения от теней эритроцитов.

• для методов серийных разведений в агаре и ДДМ используют агар Мюллера-Хинтон с добавлением 5 % дефибринированной бараньей крови.

Указанные добавки асептически вносят в питательную основу после автоклавирования и охлаждения до 48—50 °С.

Определение чувствительности Streptococcus pneumoniae

Бета-лактамные антибиотики (в частности пенициллин) являются препаратами выбора для терапии пневмококковых инфекций. В то же время критерии интерпретации результатов определения чувствительности пневмококков к этим препаратам постоянно пересматриваются в связи с появлением новых клинических и экспериментальных данных об эффективности различных бета-лактамов при пневмококковых инфекциях, вызванных штаммами с различным уровнем чувствительности к пенициллину.

Механизм резистентности *S. pneumoniae* к пенициллину и другим бета-лактамным антибиотикам обусловлен изменением пенициллинсвязывающих белков (ПСБ) клеточной стенки. В результате ступенчатых мутаций уменьшается сродство ПСБ к бета-лактамным антибиотикам.

При этом установлено, что при лечении инфекций дыхательных путей, вызванных штаммами *S. pneumoniae* с промежуточным уровнем резистентности к пенициллину, бета-лактамные антибиотики остаются клинически эффективными, но применение их при менингите приводит к неудаче терапии.

В связи с этим, при разработке критериев интерпретации результатов определения чувствительности *S. pneumoniae* к бета-лактамным ан-

тибиотикам, было проведено подразделение штаммов по источникам выделения (инфекции дыхательных путей, ликвор) и пересмотрены критерии оценки чувствительности к амоксициллину, цефотаксиму и цефтриаксону. Критерии интерпретации результатов определения чувствительности к пенициллину не пересмотрены.

Следует обратить внимание на несколько важных особенностей определения чувствительности *S. pneumoniae*:

• невозможность определения чувствительности к бета-лактамным антибиотикам (пенициллину, аминопенициллинам, цефалоспоринам, карбапенемам) ДДМ;

• невозможность определения чувствительности *S. pneumoniae* к АБП методом разведений в агаре.

Поэтому определение чувствительности пневмококков к пенициллину и другим бета-лактамным антибиотикам подразумевает последовательное (выделение *S. pneumoniae* из нестерильных локусов) или одновременное (при тяжелых инфекциях, выделении пневмококков из крови и ликвора) выполнение двух исследований:

• скрининга с диском, содержащим 1,0 мкг оксациллина, с целью выявления возможной пенициллинорезистентности. Скрининговый метод позволяет разделить микроорганизмы на две группы: группу чувствительных штаммов и группу, в которую входят часть чувствительных, а также умеренно-резистентные и резистентные штаммы пневмококков.

• определение МПК пенициллина и других бета-лактамных антибиотиков методом разведений в бульоне или с помощью Е-тестов у штаммов, отнесенных ко второй группе по результатам скрининга.

Скрининг на наличие пенициллинорезистентности у штаммов S. pneumoniae

Постановка теста

Методика проведения исследования не отличается от обычной процедуры определения чувствительности пневмококков к АБП ДДМ.

Интерпретация результатов

При выявлении диаметра зоны подавления роста штамма пневмококка вокруг диска с 1 мкг оксациллина ≥ 20 мм, *S. pneumoniae* расценивается как чувствительный ко всем бета-лактамным антибиотикам.

При выявлении диаметра зоны подавления роста < 20 мм необходимо определение МПК всех бета-лактамных антибиотиков (пенициллина, аминопенициллинов, цефалоспоринов II—IV поколений, карбапе-

немов) методами серийных разведений в бульоне или с помощью Е-тестов.

Макролиды и линкозамиды. Вторыми по значимости в лечении пневмококковых инфекций являются макролидные и линкозамидные антибиотики. Оценка чувствительности *S. pneumoniae* к перечисленным антибиотикам возможна как диско-диффузионным методом, так и методом серийных разведений. В связи с разнообразием механизмов устойчивости *S. pneumoniae* к макролидам в повседневной практике могут встречаться различные варианты перекрестной резистнетности микроорганизмов к АБП этой группы.

Однако в практических целях для характеристики чувствительности *S. pneumoniae* к рассматриваемой группе АБП достаточно оценить чувствительность к эритромицину и клиндамицину, что позволяет дифференцировать два основных фенотипа:

MLS_B – перекрестная устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам и стрептограминам В, обусловленная метилированием мишени действия препаратов.

М – устойчивость к 14- и 15-членным макролидам (сохранении чувствительности к 16- членным макролидам, линкозамидам и стрептограминам), обусловленная активным выведением АБП.

Фторхинолоны. Традиционные фторхинолоны (пефлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин и ломефлоксацин) не являются адекватными для лечения пневмококковых инфекций, соответственно оценивать чувствительность к этим препарата нецелесообразно. В последние годы в лечении пневмококковых инфекций важное место заняли антипневмококковые фторхинолоны (левофлоксацин, спарфлоксацин, моксифлоксацин и гатифлоксацин). Частота устойчивости к перечисленным препаратам минимальна, однако поскольку между ними не наблюдают полной перекрестной резистентности, возникает необходимость включения в исследование всей группы.

АБП других групп. Из антибиотиков других групп, для лечения пневмококковых инфекций применяют ко-тримоксазол, хлорамфеникол, тетрациклины. Однако роль перечисленных препаратов в последние годы резко снижается в связи с нарастанием устойчивости, меньшей клинической эффективностью в сравнении с бета-лактамами, макролидами и антипневмококковыми фторхинолонами, также значительным числом нежелательных эффектов.

Для лечения тяжелых пневмококковых инфекций, вызванных штаммами с высоким уровнем устойчивости к антибактериальным препаратам других групп, в ряде случаев рекомендуется ванкомицин.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *S. pneumoniae* (пограничные значения диаметров зон подавления роста и МПК АБП) приведены в табл. 7.

Определение чувствительности Streptococcus spp. группа «viridans»

Проводить определение чувствительности штаммов стрептококков группы «viridans», выделенных из нестерильных локусов, в рутинной практике нецелесообразно. У штаммов, выделенных из стерильных в норме локусов организма, необходимо, в первую очередь, исследовать чувствительность к пенициллину. Воспроизводимые результаты при определении чувствительности стрептококков группы «viridans» к пенициллину удается получить только при помощи метода серийных разведений, ДДМ не пригоден для этой цели.

Штаммы, чувствительные к этому антибиотику, следует расценивать, как чувствительные ко всем бета-лактамным антибиотикам. Часть штаммов, устойчивых к пенициллину, могут сохранять чувствительность к некоторым цефалоспоринам III поколения (цефотаксиму и цефтриаксону), IV поколения (цефепиму) и карбапенемам. критерии интерпретации результатов определения чувствительности в настоящее время установлены только для цефотаксима и цефтриаксона.

Определенный интерес может представлять изучение чувствительности стрептококков группы «viridans» к эритромицину и другим макролидам, клиндамицину, тетрациклину и хлорамфениколу, однако, клиническое значение получаемых при этом данных не определено.

В случае сниженной чувствительности или резистентности зеленящих стрептококков к пенициллину при выдаче результатов тестирования клиницистам целесообразно рекомендовать проведение комбинированной терапии бета-лактамами с аминогликозидами, которые проявляют синергизм при совместном применении с бета-лактамами, несмотря на отсутствие у аминогликозидов собственной значимой активности в отношении стрептококков.

Определение чувствительности бета-гемолитических стрептококков

К бета-гемолитическим стрептококкам относятся микроорганизмы, принадлежащие к различным серологическим группам по Лансфельд (A, B, C, G). Среди них наибольшее клиническое значение имеют стрептококки группы А (*Streptococcus pyogenes*) и группы В (*Streptococcus agalactiae*).

Препаратами выбора для лечения инфекций, вызванных бета-гемолитическими стрептококками, являются бета-лактамы, причем достоверных случаев устойчивости к АБП этой группы не описано. Не

описана и устойчивость к ванкомицину. Следовательно, оценивать чувствительность к указанным АБП в рутинной практике нецелесообразно.

При выделении из нестерильных локусов необходимость в оценке чувствительности возникает только для *S. pyogenes* и *S. agalactiae*. Примерный перечень препаратов для определения чувствительности этих микроорганизмов включает: макролиды (эритромицин) и линкосамиды (клиндамицин). С целью мониторинга антибиотико-резистентности возможно определение чувствительности к хлорамфениколу и левофлоксацину. Для бета-гемолитических стрептококков, выделенных из стерильных локусов, необходимо определять чувствительность ко всем вышеперечисленным препаратам одновременно.

Примерный перечень АБП, рекомендуемых для определения чувствительности *S. pneumoniae*, стрептококков группы «viridans» и бета-гемолитических стрептококков, выделенных из различных локусов организма, представлен в табл. 18.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Streptococcus* spp. (кроме *S. pneumoniae*) (пограничные значения диаметров зон подавления роста и МПК АБП) приведены в табл. 8.

6.8. Определение чувствительности Haemophilus influenzae

Питательные среды

Для определения чувствительности *Haemophilus* spp. используют специальную питательную среду, например НТМ, содержащую необходимые для гемофил факторы роста.

Эту среду можно приготовить в лаборатории на основе среды Мюллера-Хинтона:

• среду готовят на основе бульона или агара Мюллера-Хинтон. После растворения основы в нее добавляют дрожжевой экстракт (до конечной концентрации 5 мг/мл) и раствор гематина (до конечной концентрации 15 мг/л). Для приготовления основного раствора гематина 50 мг порошка помещают в 100,0 мл 0,01N NaOH (0,01 моль/л) и нагревают при тщательном перемешивании до полного растворения. В подготовленную для автоклавирования среду на 1 л вносят 30,0 мл основного раствора гематина;

• после автоклавирования и охлаждения основы до 48—50 °С в нее асептически вносят раствор никотинамид аденин динуклеотида (НАД) до конечной концентрации 15 мг/л. Раствор НАД стерилизуют фильтрацией через мембранные фильтры с размером пор 0,45 мкм;

• при определении чувствительности к сульфаниламидам и триметоприму в охлажденную до 48—50 °С среду асептически вносят также раствор тимидин фосфорилазы до конечной концентрации 0,2 ед./мл.

Haemophilus spp. характеризуются природной чувствительностью к большинству распространенных антибиотиков, в т. ч., и к бета-лактамам. Практически важным исключением является отсутствие активности в отношении *Haemophilus* spp. у цефалоспоринов I поколения. Наибольшее значение имеет приобретенная резистентность к ампициллину, обусловленная продукцией плазмидных бета-лактамаз TEM-1 и ROB-1. Кроме ампициллина эти ферменты частично гидролизуют цефалоспорины I поколения, но не активны в отношении препаратов II—III поколений.

Известны штаммы *H. influenzae*, устойчивость которых к ампициллину связана с изменением мишени действия β-лактамных антибиотиков (пенициллинсвязывающих белков) или снижением проницаемости наружной клеточной стенки. Эти штаммы получили название бета-лактамазонегативные ампициллинорезистентные (БЛНАР) и считаются нечувствительными к ингибиторозащищенным пенициллинам и таким цефалоспоринам, как цефаклор, цефуроксим, цефиксим, цефтибутен. До настоящего времени не получено клинических штаммов *H. influenzae*, устойчивых к цефалоспоринам III—IV поколений и карбапенемам.

Для выявления ампициллинорезистентности у гемофильной палочки в рутинной лабораторной практике достаточно определения чувствительности к ампициллину диско-диффузионным методом и теста на продукцию β-лактамаз с нитроцефином.

Эти два теста позволяют подразделить штаммы на ампициллиночувствительные, бета-лактамазопродуцирующие ампициллинорезистентные (чувствительные к ингибиторозащищенным пенициллинам и цефалоспоринам II—IV поколений) и БЛНАР, которые следует расценивать как резистентные к ингибиторозащищенным пенициллинам и некоторым цефалоспоринам. Причем тестирование с диском, содержащим ингибиторозащищенные пенициллины, например, амоксициллин/клавуланат, не позволяет отличить БЛНАР от ампициллиночувствительных штаммов *H. influenzae*.

Макролидные антибиотики, в целом, отличаются невысоким уровнем активности в отношении *Haemophilus* spp., при этом между ними выявляются незначительные различия (наибольшая активность характерна для азитромицина). Низкий уровень активности макролидов связан с наличием у этого микроорганизма фоновой активности механизмов активного выведения. Подавляющее большинство штаммов

H. influenzae с микробиологической точки зрения относятся к «дикой» популяции, лишенной дополнительных детерминант резистентности к этим АБП. Однако, in vivo, при приеме в рекомендуемых дозах концентрации макролидов в органах и тканях оказываются недостаточными для обеспечения эрадикации патогена. Учитывая приведенные факты, обоснованность критериев чувствительности *H. influenzae* к азитромицину и кларитромицину вызывает сомнения.

Устойчивость к фторхинолонам среди *H. influenzae* встречается редко, однако частота встречаемости штаммов с повышенными значениями МПК фторхинолонов возрастает, что обосновывает необходимость тестирования указанных АБП. Наиболее вероятно, что между отдельными представителями этой группы существует перекрестная резистентность, характерная и для других грамотрицательных бактерий.

Примерный перечень АБП, рекомендуемых для определения чувствительности *H. influenzae*, выделенных из различных локусов организма, представлен в табл. 18.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *H. influenzae* (пограничные значения диаметров зон подавления роста и МПК АБП) приведены в табл. 9.

6.9. Определение чувствительности Neisseria gonorrhoeae

Оценка антибиотикочувствительности *N. gonorrhoeae* представляет собой достаточно сложную методическую проблему. Методы определения чувствительности гонококков в бульоне недостаточно надежны, поэтому следует использовать только метод разведений в агаре или ДДМ.

Питательные среды

Для определения чувствительности *N. gonorrhoeae* используют гонококковый агар, состоящий из гонококковой агаровой основы и комплексной питательной добавки следующего состава:

Глюкоза	100 г
L-цистеингидрохлорид	25,9 г
L-глютамин	10 г
L-цистин	1,1 г
Аденин	1 г
Никотинамидадениндинуклеотид	0,25 г
Витамин В12	0,1 г
Тиамина пирофосфат	0,1 г
Гуанина гидрохлорид	0,03 г
$Fe(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$	0,02 г
Парааминобензойная кислота	0,013 г
Тиамина гидрохлорид	3 г

При тестировании карбапенемов и клавулановой кислоты необходимо использовать добавку, не содержащую цистеин.

Все ингредиенты растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и затем доводят объем до 1 л. КПД стерилизуют фильтрацией через бактериальный фильтр 0,02 мкм. КПД нельзя хранить и автоклавировать, необходимо использовать ex tempore. Полученную смесь асептически вносят в GC агар после автоклавирования и охлаждения до 48—50 °С в количестве 1,0 % (объем/объем). Агар разливают в чашки Петри без добавления антибиотиков для ДДМ и с добавлением АБП для метода разведения в агаре.

Средствами выбора для лечения гонореи являются бета-лактамные антибиотики. Однако среди штаммов *N. gonorrhoeae* широко распространена резистентность к пенициллину, тетрациклинам и макролидам. В ряде регионов Земного шара отмечают резкое возрастание частоты резистентности гонококков к фторированным хинолонам. Для практики крайне важно то, что до сих пор достоверно не описано случаев резистентности гонококков к цефалоспоринам III поколения, что позволяют рассматривать цефалоспорины III поколения (цефотаксим и цефтриаксон) как препараты выбора для лечения гонореи.

Таким образом, на практике оценивать антибиотикочувствительность гонококков следует только в тех случаях, когда для лечения невозможно или нецелесообразно использовать цефалоспорины III поколения. Такие ситуации складываются при наличии у пациентов аллергии к бета-лактамам или при смешанных гонорейно-хламидийных инфекциях, а также для эпидемиологического мониторинга.

В набор для тестирования *N. gonorrhoeae* рекомендуется включать фторхинолоны (офлоксацин или ципрофлоксацин), тетрациклины, спектиномицин. Дополнительно для более полной характеристики штаммов и эпидемиологического мониторинга целесообразно изучать чувствительность к пенициллину и цефалоспоринам II—III поколений.

Критерии оценки антибиотикочувствительности *Neisseria gonorrhoeae* приведены в табл. 10.

7. Эпидемиологический надзор за резистентностью к антимикробным препаратам

Эпидемиологический надзор за антимикробной резистентностью представляет собой систематический постоянный процесс сбора и анализа данных для количественной оценки распространенности антибиотико-резистентности и ее временной динамики.

Цель и задачи

Целью проведения эпидемиологического надзора за антимикробной резистентностью является получение информации, необходимой для разработки и внедрения более эффективных подходов к лечению инфекций, сдерживанию появления и распространения антимикробной резистентности на локальном, региональном, национальном и международном уровнях. Рекомендации по организации наблюдения за антибиотико-резистентностью разработаны ВОЗ и Исследовательской группой Европейского общества микробиологии и инфекционных болезней.

Общие принципы

При эпидемиологическом надзоре за антибиотико-резистентно стью микроорганизмов основное внимание следует уделять:

- инфекционным заболеваниям, встречающимся с высокой частотой, сопровождающимся высокой летальностью, а также тем нозологическим формам, при которых инфекция, вызванная резистентными штаммами возбудителя, приводит к достоверному снижению эффективности терапии;
- инфекционным заболеваниям, склонным к эпидемическому распространению, что может приводить к возникновению вспышек (шигеллез, сальмонеллез и др.);
- получению и анализу данных по заболеваемости и смертности, связанной с инфекциями, вызванными резистентными штаммами.

Полученные эпидемиологические данные по уровню и характеру резистентности должны использоваться для:

- оценки временных тенденций и прогнозирования вероятности возникновения и распространения антимикробной резистентности с учетом ее механизмов, путей распространения, видовой принадлежности резистентных микроорганизмов, вызываемых ими нозологических форм инфекционных заболеваний, факторов риска и характеристик пациентов, предрасполагающих к возникновению подобных инфекций, последствий их для пациента и системы здравоохранения (неэффективность терапии, удлинение сроков госпитализации, повышение стоимости лечения и пр.);
- информирования органов системы здравоохранения соответствующего уровня о сложившейся ситуации с целью разработки стратегии по сдерживанию распространения антибиотикорезистентности, проведения надлежащих мероприятий по борьбе с распространением резистентных микроорганизмов;

• внедрения в практику работы микробиологических лабораторий соответствующих процедур и методов для своевременного и достоверного выявления резистентных микроорганизмов;

• обновления руководств по эмпирической антибактериальной терапии инфекций, изменения формуляров антимикробных препаратов.

Виды эпидемиологического надзора

Существуют два основных временных подхода к проведению эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью:

1. Постоянный мониторинг данных по антибиотикорезистентности.

2. Специальные (эпизодические) эпидемиологические исследования антибиотикорезистентности, касающиеся какой-либо отдельной проблемы. Достаточно часто необходимость выполнения специальных исследований диктуется данными, выявленными при проведении постоянного мониторинга антимикробной резистентности.

Помимо этого, выделяют два типа эпидемиологического надзора по степени охвата:

1. Всеобъемлющий (полный) эпидемиологический надзор предусматривает исследование антибиотико-резистентности определенного микроорганизма или возбудителей определенного инфекционного заболевания во всей популяции (т. е. включает в себя сбор данных обо всех случаях инфекции во всей популяции). Учитывая, что проведение подобного надзора требует вовлечения большого числа учреждений и специалистов различного профиля, обычно удается собрать только основную информацию об анализируемых случаях (например, демографические данные пациентов, сведения о локализации инфекции, виде клинического материала и фенотипе резистентности).

2. Сигнальный (неполный) эпидемиологический надзор подразумевает сбор данных на ограниченной территории или у определенной части популяции для получения данных, которые могут служить индикаторами состояния антибиотикорезистентности во всей популяции в целом. При этом обследуемая популяция должна быть репрезентативной для всей популяции. Данный тип эпидемиологического надзора является более предпочтительным при необходимости проведения длительного и детального сбора данных.

По методике выполнения эпидемиологический надзор может быть:

• пассивным, основанным на поступлении отчетов с мест (когда не предпринимается специальных усилий по получению данных из первоисточника);

• активным, при котором затрачиваются регулярные усилия для получения данных по антимикробной резистентности из первоисточника.

В зависимости от используемого подхода к сбору данных, эпидемиологический надзор также может быть:

• рутинным, включающим регулярное, систематическое получение определенного набора данных;

• расширенным, включающим получение дополнительных данных, в соответствии с заранее определенным планом.

Выбор вида эпидемиологического надзора определяется конкретными заранее установленными целями и задачами исследования.

Эпидемиологический надзор за возникновением и распространением антибиотикорезистентности не ограничивается только сферой медицинской практики. Подобные эпидемиологические исследования распространения антимикробной резистентности могут проводиться у бактерий, резистентность которых может представлять потенциальную угрозу для человека, выделенных из объектов окружающей среды, от сельскохозяйственных животных, из продуктов питания и т. д. Однако рассмотрение принципов проведения исследований подобного рода не является задачей данного документа.

Выбор штаммов микроорганизмов для включения в исследование

При проведении рутинного эпидемиологического надзора за антибиотико-резистентностью далеко не всегда представляется возможным и рациональным тестирование всех выделенных микроорганизмов. Вследствие этого, при выборе микроорганизмов для включения в системы эпидемиологического надзора, могут быть использованы следующие подходы:

• определение чувствительности всех штаммов определенного вида микроорганизмов, выделенных из определенного клинического материала;

• исследование определенного вида клинического материала (например, полученного от пациентов с неэффективностью терапии).

Первый подход чаще используют для изучения динамики резистентности, уже распространенной в данном регионе или учреждении, а второй – для своевременного выявления возможного возникновения и распространения резистентности, представляющей потенциальную или теоретическую угрозу для данного региона или учреждения.

Принципы проведения эффективного эпидемиологического надзора

Для эффективного проведения эпидемиологического надзора на каждом уровне его проведения (локальном, региональном и т. д.) должен регистрироваться минимально необходимый объем информации. Мероприятия, разрабатываемые на основе полученных данных, должны соответствовать принципам доказательной медицины.

Эффективность эпидемиологического надзора за инфекциями, вызванными резистентными микроорганизмами, зависит от:

- получения качественных клинических образцов от пациентов с инфекциями;
- успешного выделения возбудителя инфекции;
- адекватного определения чувствительности к антимикробным препаратам;
- качественного сбора, объединения и анализа данных;
- своевременного использования полученной информации для внедрения практических мероприятий.

Таким образом, получение достоверных данных зависит от использования единых правил забора клинического материала, критериев и определений инфекционных заболеваний, стандартизации методов выделения, идентификации и определения чувствительности микроорганизмов, интерпретации полученных результатов, соответствия работы лабораторий единым стандартам качества выполнения исследований.

Клинический материал

Забор и последующее исследование клинического материала для эпидемиологического надзора должно проводиться по единой методологии. Методики забора материала должны быть приемлемыми и выполнимыми для пациента и медицинского персонала, обладать малым риском получения ложноотрицательных и ложноположительных результатов.

В то же время необходимо учитывать, что исследования образцов, полученных из стерильных в норме источников (кровь, спинно-мозговая жидкость и пр.) имеют значительно более высокую ценность, чем, например, мазок с поверхности кожи и пр.

Однако, для некоторых микроорганизмов (например, *S. pneumoniae* или *H. influenzae*) исследование чувствительности штаммов, колонизирующих носоглотку, коррелирует с резистентностью штаммов, вызывающих инфекции (острый средний отит, синусит).

Поэтому решение вопроса о возможности использования материалов санитарной микробиологии (смывы с оборудования, поверхностей, анализ микробной обсемененности воздуха, воды и пр.), поверхностных культур, колонизирующих кожные покровы, слизистые оболочки, желудочно-кишечный тракт пациента (носительство), должно приниматься в зависимости от эпидемиологической ситуации, целей и задач проведения исследования, видов выделяемых микроорганизмов, нозологической структуры пациентов, определенных характеристик обследуемых лиц

(пациенты с факторами риска, медицинский персонал), возможностей лаборатории и эпидемиологической службы медицинского учреждения.

Вид инфекции

Инфекции часто классифицируют в зависимости от условий их возникновения: внебольничные или нозокомиальные (госпитальные). Это имеет существенное значение для проведения эпидемиологического надзора, т. к. спектр возбудителей и их резистентность к АБП существенно различаются в вышеуказанных группах.

Методы выделения и идентификации

Для получения сравнимых данных о частоте выделения определенных микроорганизмов и об этиологической структуре определенных нозологических форм инфекционных заболеваний выделение и идентификация микроорганизмов должны проводиться в соответствии с нормативно-методическими документами.

Методы определения чувствительности

По возможности, предпочтение должно быть отдано количественным методам определения чувствительности, позволяющим получить значения МПК АБП в отношении исследуемого штамма микроорганизма. В случае использования ДДМ очень важным является регистрация не только качественных показателей (категорий чувствительности микроорганизма: чувствительный – Ч, штамм с промежуточной чувствительностью – П или резистентный – Р), но количественных показателей – диаметров зон подавления роста.

Выбор набора АБП для тестирования также является очень важным и детально рассмотрен в соответствующих разделах. В большинстве случаев для проведения рутинного эпидемиологического надзора за антибиотико-резистентностью достаточно определения чувствительности к АБП, приведенным в списке препаратов первого ряда для тестирования различных видов микроорганизмов. Кроме того, при проведении эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью большое значение имеет проведение лабораторией специальных тестов для выявления отдельных видов резистентности, которые были подробно описаны выше (например, детекция БЛРС, скрининг на агаре с оксациллином и солью для выявления метициллинрезистентных стафилококков и т. д.).

При наличии практической необходимости и возможности, а также в целях научных исследований, набор АБП для проведения эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью может быть увеличен, в т. ч. и за счет применения скрининга в бульоне или на чашках с агаром, содержащих определенные концентрации антибиотиков, рекомендуемые в качестве «пороговых» концентраций для выявления

штаммов, подозрительных на наличие резистентности, при скрининговых эпидемиологических исследованиях.

В конечном итоге, выбор АБП и используемых тестов будет определяться целями, задачами и дизайном эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности.

Определение чувствительности микроорганизмов к АБП должно проводиться в соответствии с настоящими методическими указаниями. При получении необычных фенотипов антибиотикорезистентности:

- умеренный или высокий уровень резистентности *S. aureus* к ванкомицину;
- резистентность *S. pyogenes* к пенициллину или другим β-лактамам;
- резистентность *S. maltophilia* к ко-тримоксазолу;
- резистентность *H. influenzae* к цефалоспоринам III поколения;
- чувствительность *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa* к ампициллину.

Тестирование необходимо повторить. При подтверждении полученных результатов рекомендуется обращаться за консультациями в лаборатории, занимающиеся изучением антибиотикорезистентности.

Методы молекулярно-генетического выявления резистентности доказали свою эффективность в отношении некоторых возбудителей (например, определение *mecA* гена с помощью ПЦР у штаммов стафилококков). В будущем эти методы будут применяться более широко.

Методы оценки клонального родства штаммов

В настоящее время известны два основных механизма распространения антибиотикорезистентности: распространение генетических детерминант резистентности с подвижными генетическими элементами и распространение клонов резистентных бактерий, а также их сочетания. Дифференцировка указанных механизмов имеет важное значение для планирования и проведения мероприятий по сдерживанию распространения резистентности.

Методы типирования, используемые для оценки, родства микроорганизмов можно разделить на фенотипические (основанные на изучении антибиограмм, био-, серо- и фаготипировании, иммуноблотинге и электрофорезе белков) и генотипические (основанные на изучении плазмидного профиля, рестрикционном анализе плазмидной и хромосомной ДНК, риботипировании, электрофорезе макрорестриктов хромосомной ДНК в пульсирующем поле, амплификации нуклеиновых кислот, а также на секвенировании отдельных фрагментов генома).

Приведенные методы различаются по таким характеристикам как воспроизводимость, разрешающая способность, трудоемкость проведения и особенности интерпретации результатов. Для двух из генотипиче-

ских методов (электрофорез макрорестриктов хромосомной ДНК в пульсирующем поле и мультилокусное секвенирование) международными группами специалистов разработаны стандартные протоколы, что позволяет получать в различных лабораториях полностью сопоставимые данные и анализировать распространение резистентных клонов в различных географических регионах, а также в пределах всего Земного шара. Использование генотипических методов позволило выявить клоны некоторых резистентных микроорганизмов (метициллинрезистентных стафилококков, *S. pneumoniae*), распространение которых приняло глобальный характер.

Поддержание стандартов качества

Для обеспечения достоверности результатов лаборатории участвующие в программах по эпидемиологическому надзору за антимикробной резистентностью должны иметь адекватную систему внутреннего контроля качества своей работы и регулярно участвовать в Федеральной программе внешнего контроля качества.

Дополнительные сведения

Для получения достоверной информации в процессе эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью получаемые данные о чувствительности выделенного штамма микроорганизма должны быть взаимосвязаны с определенным случаем заболевания у пациента (демографические данные, вид инфекции, наличие факторов риска, результат лечения и пр.).

Минимальный рекомендуемый набор данных для проведения эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью должен включать:

- уникальный идентификационный код пациента (например, инициалы, номер истории болезни, страхового полиса и т. п.);
- дату рождения пациента;
- пол пациента;
- место жительства;
- тип медицинского учреждения;
- название отделения, клиники и пр.;
- тип отделения стационара (напр., терапевтическое, хирургическое и пр.);
- дату поступления пациента;
- основные симптомы или особенности клинической картины заболевания;
- инфекционное заболевание, выявленное у пациента;

• дату возникновения симптомов инфекции или установления диагноза;

• характер инфекции (внебольничная или нозокомиальная);

• вид клинического материала;

• дату и время забора материала;

• данные о предшествующей антибиотикотерапии;

• данные об антимикробной терапии, проводимой в настоящее время;

• сведений об исходе заболевания.

На практике проведение эпидемиологического надзора за антибиотико-резистентностью обычно подразумевает использование микробиологических данных, получаемых на регулярной основе в рутинной практике, использование дополнительных сведений о пациенте, которые возможно собрать, с их последующей обработкой, анализом и представлением результатов анализа.

Анализ и представление данных по антибиотикорезистентности

Для анализа больших объемов информации, собранной при проведении эпидемиологического мониторинга за антибиотикорезистентностью, рекомендуется использовать специальные компьютерные программы (например, WHONET и др.), позволяющие создавать в микробиологических лабораториях базы данных, содержащие необходимую информацию, анализировать ее и представлять результаты эпидемиологического мониторинга. Дополнительным преимуществом большинства программ является наличие встроенной экспертной системы, сигнализирующей о выявлении необычных фенотипов резистентности.

Помимо перечисленной выше информации, для проведения анализа и расчета соответствующих эпидемиологических показателей могут потребоваться данные медицинской статистики, в частности:

Для стационарных лечебных учреждений:

• количество коек – в целом и по различным отделениям стационара;

• число случаев госпитализации;

• среднее число дней госпитализации – в целом и по различным отделениям стационара;

• количество микробиологических исследований – в целом и по различным отделениям стационара.

Для лечебных учреждений амбулаторно-поликлинического профиля:

• количество врачей, направляющих образцы для микробиологического исследования;

• численность обслуживаемого населения;

• среднее число посещений;

• количество микробиологических исследований.

Перечисленные статистические данные могут использоваться:

• в качестве контроля получаемых результатов эпидемиологического мониторинга (например, ожидаемое число штаммов микроорганизмов определенного вида, выделенных за определенный период времени);

• для стратификации результатов (например, сравнительные показатели частоты метициллинрезистентности в различных стационарах, в зависимости от количества коек или числа случаев госпитализации);

• в качестве знаменателя при расчете статистических показателей (например, частота внебольничной пневмонии, вызванной пенициллинорезистентным штаммом *S. pneumoniae*, на 100 случаев госпитализации, частота метициллинрезистентности на 1000 койко-дней);

• для экстраполяции результатов, полученных в определенной части популяции на всю популяцию в целом, используя региональные или национальные данные медицинской статистики (например, общую численность населения, численность по возрастам и т. д.).

Процедуры для выявления и исключения из анализа повторных изолятов

Для получения достоверных данных по антибиотикорезистентности в анализ следует включать только первый штамм микроорганизма одного вида, выделенный у пациента из определенного очага инфекции. Все идентичные первому штаммы микроорганизма, выделенные при последующих микробиологических исследованиях клинического материала, полученного из очага инфекции у пациента, должны быть исключены из анализа.

Для установления идентичности штаммов с целью выявления повторных изолятов используют несколько критериев:

1. Временной – в исследование включается только первый выделенный изолят данного вида микроорганизма, причем независимо от того, отмечалось или нет развитие резистентности данного микроорганизма к какому-либо АБП во время лечения.

2. Фенотип чувствительности – при этом в анализ может быть включен повторный изолят данного вида микроорганизма, при условии доказанных значительных отличий в профиле его антибиотикочувствительности (Р → Ч или Ч → Р) к какому-либо АБП, по сравнению с первым изолятом. Минимальные отличия в антибиотикочувствительности (Р → П, П → Р, П → Ч или Ч → П), скорее всего являются проявлением фенотипической вариабельности экспрессии определенного механизма резистентности, или следствием некоторых методических проблем при определении чувствительности, не могут служить основанием для включения повторного изолята в анализ.

Кроме этих предлагаются и другие критерии для выявления повторных изолятов, однако они не превосходят по точности, достоверности и удобству использования приведенные выше и не рекомендуются руководствами ВОЗ, ESGARS и NCCLS.

Виды представления данных по антибиотикорезистентности

Данные по антибиотикорезистентности определенного микроорганизма или группы микроорганизмов к определенному АБП могут быть представлены в следующем виде:

• Частотное распределение популяции микроорганизмов по степени чувствительности (по МПК или по диаметру зоны подавления роста), представленное в табличном или в графическом (в виде гистограммы) варианте. Этот вид представления данных является наиболее точным и показательным. На основании данных о степени чувствительности (распределении значений МПК) можно рассчитать кумулятивные показатели чувствительности популяции штаммов к определенному АБП: $МПК_{50}$, $МПК_{90}$ и диапазон значений МПК.

$МПК_{50}$ – это значение МПК, подавляющей 50 % штаммов исследуемой популяции микроорганизмов.

$МПК_{90}$ – это значение МПК, подавляющей 90 % штаммов исследуемой популяции микроорганизмов.

• Частоты встречаемости резистентных (Р) штаммов, штаммов с промежуточной чувствительностью (П) и чувствительных (Ч) штаммов в исследуемой популяции микроорганизмов. Подобные качественные данные являются менее показательными, чем количественные показатели частотного распределения штаммов по степени чувствительности и не позволяют выявить ранние тенденции в возникновении и распространении антибиотикорезистентности.

• Частоты встречаемости резистентных к определенному АБП микроорганизмов или определенных механизмов резистентности при определенных нозологических формах инфекций, в зависимости от возраста пациентов, пола пациентов, в определенной популяции пациентов, в течение определенного интервала времени и т. д.

Результаты эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью могут быть представлены в виде показателей различной степени сложности:

• **Простые**. Частота (%) резистентности к определенному АБП у микроорганизма данного вида, например, частота (%) выделения MRSA среди всех исследованных штаммов *S. aureus*.

• **Средней степени сложности.** Частота (%) резистентности к определенному АБП у микроорганизма данного вида, выделенных из

определенного клинического материала, например, частота (%) выделения ципрофлоксацин-резистентных штаммов *E. coli*, выделенных из мочи.

• **Сложные.** Частота (%) резистентности при инфекции определенного вида, например, частота (%) выделения ципрофлоксацин-резистентных штаммов *E. coli* при внебольничных инфекциях мочевыводящих путей.

• **Очень сложные**. Частота инфекций определенного вида, вызванных определенным резистентным микроорганизмом в указанном подразделении, например, частота случаев бактериемии, вызванных MRSA, и развившихся в отделении интенсивной терапии, на 1 000 дней пребывания в стационаре.

По возможности, частоты резистентности должны быть представлены в виде числа случаев в определенной популяции в течение определённого промежутка времени.

Практические рекомендации по проведению анализа данных и представлению его результатов

Если число штаммов одного вида менее 10, то суммарные данные по их чувствительности представлять не рекомендуется. Для представления подобных результатов для последующей разработки стандартов эмпирической терапии существует несколько подходов:

• объединение нескольких видов одного рода (например, представление данных по микроорганизмам всего рода *Shigella* – *Shigella* spp.);

• объединение данных по чувствительности за несколько предшествующих лет;

• объединение данных по чувствительности нескольких учреждений, находящихся в данном регионе;

• использование ранее опубликованных данных.

Использование полученной информации

Основной целью эпидемиологического надзора является предоставление информации в соответствующие органы системы здравоохранения для разработки надлежащих мероприятий по контролю и сдерживанию развития и распространения антибиотикорезистентности, оптимизации антибактериальной терапии инфекций определенной локализации у различных категорий пациентов. В зависимости от уровня проведения эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью, его результаты могут быть представлены для внутренней информации клиницистам и администрации определенного лечебного учреждения, в виде информации для учреждений системы здравоохранения регионального (районного, городского и т. д.) уровней, публикации данных

по антибиотико-резистентности в Российской Федерации (национальный уровень), а также для интеграции их в Европейскую и Международную системы данных по антимикробной резистентности. Особенно перспективным может быть представление этих данных для свободного доступа в сети Интернет, что позволяет своевременно дополнять и корректировать представленную информацию при появлении новых сведений.

Приложение 1

Используемые сокращения

АБП – антибактериальные препараты
АГВ – агар Гивенталя-Ведьминой
АРП – антибиотико-резистентные пневмококки
БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
КА – кровяной агар
КОЕ – колониеобразующие единицы
ЛК – лизированная кровь
ЛПУ – лечебно-профилактические учреждения
МПК – минимальная концентрация АБП, подавляющая видимый рост исследуемого микроорганизма
МХА – агар Мюллера-Хинтон
МХБ – бульон Мюллера-Хинтон
НФБ – неферментирующие бактерии
ПРП – пенициллин-резистентные пневмококки
ЦГСЭН – центры госсанэпиднадзора
ATCC – American Type Cultures Collection – Американская коллекция типовых культур микроорганизмов
BSAC – British Society for Antimicrobial Chemotherapy – Британское общество по антимикробной химиотерапии
CA SFM – Comite de l'Antibiogramme de la Societe Francaise de Microbiologie – Комитет по антибиотикограммам Французского общества микробиологов
CRG – Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen – Нормативная комиссия по определению чувствительности, Нидерланды
DIN – Deutsches Institut fur Normung – Немецкий институт стандартизации
EUCAST – European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing – Европейский комитет по определению чувствительности к антибиотикам
ESCMID – European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases – Европейское общество по клинической микробиологии и инфекционным болезням
MENSURA – Mese Espanola de Normalizacion de la Suseptibilitad y Resistencia a los Antimicrobianos – Испанский совет по стандартизации чувствительности и резистентности к антибиотикам.

NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards – Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам США

NWGA – Norwegian Working Group on Antibiotics – Норвежская рабочая группа по антибиотикам

SRGA – Swedish Reference Group on Antibiotics – Шведская референтная группа по антибиотикам

НТМ – Haemophilus Test Medium – среда, используемая для определения чувствительности к АБП гемофильной палочки, содержащая все необходимые для гемофил факторы роста

Приложение 2
(обязательное)
Таблица 1

Растворители и разбавители, используемые для приготовления основных растворов АБП

Антибиотик	Растворитель	Разбавитель
Ампициллин	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 8,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0
Амоксициллин	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0
Азитромицин	95 %-ный этанол или ледяная уксусная кислота	Питательная среда
Азтреонам	Натрия бикарбонат насыщенный раствор	Вода
Цефазолин	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0
Цефалотин	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0	Вода
Цефуроксим	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0	Вода
Цефтазидим	Натрия карбонат	Вода
Цефепим	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,0
Имипенем	Фосфатный буфер 0,01 моль/л pH 7,2	Фосфатный буфер 0,01 моль/л pH 7,2
Азитромицин	95 %-ный этанол или ледяная уксусная кислота	Питательная среда
Эритромицин	95 %-ный этанол или ледяная уксусная кислота	Вода
Кларитромицин	95 %-ный этанол или ледяная уксусная кислота	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 6,5
Хлорамфеникол	95 %-ный этанол	Вода
Налидиксовая кислота Эноксацин Норфлоксацин Офлоксацин Левофлоксацин	1/2 объема воды, затем добавлять по каплям 0,1 моль/л раствор NaOH до растворения	Вода
Нитрофурантоин	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 8,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л pH 8,0
Рифампин	Метанол	Вода
Сульфаниламиды	1/2 объема горячей воды и минимальное количество 2,5 моль/л раствора NaOH	Вода
Триметоприм	0,05 N раствор соляной к-ты до 10 % от конечного объема	Вода

Таблица 2

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Enterobacteriaceae*: пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	∅ зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
1	2	3	4	5	6	7	8
БЕТА-ЛАКТАМЫ							
Ампициллин	10	≤ 13	14—16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Ампициллин/сульбактам	10/10	≤ 11	12—14	≥ 15	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Амоксициллин/клавуланат	20/10	≤ 13	14—17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Тикарциллин/клавуланат	75/10	≤ 14	15—19	≥ 20	≥ 128/2	32/2—64/2	≤ 16/2
Цефалотин	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефазолин	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефаклор	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефамандол	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефуроксим Na	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефуроксим аксетил	30	≤ 14	15—22	≥ 23	≥ 32	8—16	≤ 4
Цефокситин	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефотетан	30	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 64	32	≤ 16
Цефметазол	30	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 64	32	≤ 16
Цефоперазон	75	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 64	32	≤ 16
Цефотаксим	30	≤ 14	15—22	≥ 23	≥ 64	16—32	≤ 8
Цефтриаксон	30	≤ 13	14—20	≥ 21	≥ 64	16—32	≤ 8
Цефтазидим	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефиксим	5	≤ 15	16—18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1
Цефподоксим	10	≤ 17	18—20	≥ 21	≥ 8	4	≤ 2
Цефтибутен	30	≤ 17	18—20	≥ 21	≥ 32	16	≤ 8
Цефепим	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Азтреонам	30	≤ 15	16—21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8
Имипенем	10	≤ 13	14—15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
Меропенем	10	≤ 13	14—15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
Эртапенем	10	≤ 15	16—18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2

1	2	3	4	5	6	7	8
АМИНОГЛИКОЗИДЫ							
Канамицин	30	≤ 13	14—17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16
Гентамицин	10	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Тобрамицин	10	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Нетилмицин	30	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8
Амикацин	30	≤ 14	15—16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
ХИНОЛОНЫ							
Налидиксовая кислота	30	≤ 13	14—18	≥ 19	≥ 32	–	≤ 16
Норфлоксацин	10	≤ 12	13—16	≥ 17	≥ 16	8	≤ 4
Пефлоксацин	5	≤ 15	16—21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 1
Офлоксацин	5	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 8	4	≤ 2
Ципрофлоксацин	5	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Ломефлоксацин	10	≤ 18	19—21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2
Левофлоксацин	5	≤ 13	14—16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Гатифлоксацин	5	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2
ТЕТРАЦИКЛИНЫ							
Тетрациклин	30	≤ 14	15—18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4
Доксициклин	30	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Хлорамфеникол	30	≤ 12	13—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Ко-тримоксазол	1,25/23,75	≤ 10	11—15	≥ 16	≥ 4/76	–	≤ 2/38
Нитрофурантоин	300	≤ 14	15—16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Фосфомицин*	200	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64

Примечание. * Для определения МПК фосфомицина необходимо использовать метод серийных разведений в агаре. При определении чувствительности к этому антибиотику как методом серийных разведений в агаре, так и ДДМ, в питательную среду необходимо вносить 25 мг/л глюкозо-6-фосфата.

Таблица 3

Критерии выявления штаммов *Klebsiella* spp. и *E. coli*, предположительно продуцирующих БЛРС

Антибиотик	Диаметр зоны подавления роста, мм	МПК, мг/л
Цефподоксим	≤ 17	≥ 8,0
Цефтазидим	≤ 22	≥ 2,0
Азтреонам	≤ 27	≥ 2,0
Цефотаксим	≤ 27	≥ 2,0
Цефтриаксон	≤ 25	≥ 2,0

Таблица 4

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *P. aeruginosa, Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и других НФБ[1]: пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ							
Ампицил-лин/сульбактам	10/10	≤ 11	12—14	≥ 15	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Тикарциллин/клавуланат[2)]							
P.aeruginosa	75/10	≤ 14	–	≥ 15	≥ 128/2	–	≤ 64/2
Acinetobacter spp.	75/10	≤ 14	15—19	≥ 20	–	–	–
Цефоперазон	75	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 64	32	≤ 16
Цефотаксим	30	≤ 14	15—22	≥ 23	≥ 64	16—32	≤ 8
Цефтриаксон	30	≤ 13	14—20	≥ 21	≥ 64	16—32	≤ 8
Цефтазидим	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Цефепим	30	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Азтреонам	30	≤ 15	16—21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8
Имипенем	10	≤ 13	14—15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
Меропенем	10	≤ 13	14—15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
АМИНОГЛИКОЗИДЫ							
Гентамицин	10	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Тобрамицин	10	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Нетилмицин	30	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8
Амикацин	30	≤ 14	15—16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
ХИНОЛОНЫ							
Норфлоксацин	10	≤ 12	13—16	≥ 17	≥ 16	8	≤ 4
Пефлоксацин	5	≤ 12	13—16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Офлоксацин	5	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 8	4	≤ 2
Ципрофлоксацин	5	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Левофлоксацин	5	≤ 13	14—16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Ломефлоксацин	10	≤ 18	19—21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Хлорамфеникол	30	≤ 12	13—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Ко-тримоксазол	1,25/ 23,75	≤ 10	11—15	≥ 16	≥ 4/76	–	≤ 2/38
Тетрациклин	30	≤ 14	15—18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4
Доксициклин	30	≤ 12	13–15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4

[1] ДДМ стандартизирован только для *P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. При определении чувствительности других НФБ необходимо использовать методы серийных разведений.

[2] Метод серийных разведений не стандартизован для определения чувствительности *Acinetobacter* spp. к тикарциллину/клавуланату.

Таблица 5

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Staphylococcus* spp.: пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
1	2	3	4	5	6	7	8
БЕТА-ЛАКТАМЫ [1]							
Бензилпенициллин	10 ЕД	≤ 28	–	≥ 9	≥ 0,25	–	≤ 0,12
Оксациллин [2] *S. aureus* Коагулазонегативные стафилококки	 1 1	 ≤ 10 ≤ 17	 11—12 –	 ≥ 13 ≥ 18	 ≥ 4 ≥ 0,5	 – –	 ≤ 2 ≤ 0,25
АМИНОГЛИКОЗИДЫ							
Канамицин	30	≤ 13	14—17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16
Гентамицин	10	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Тобрамицин	10	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Нетилмицин	30	≤ 12	13—14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8
Амикацин	30	≤ 14	15—16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
ХИНОЛОНЫ							
Норфлоксацин	10	≤ 12	13—16	≥ 17	≥ 16	8	≤ 4
Эноксацин	10	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2
Пефлоксацин	5	≤ 15	16—21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 1
Офлоксацин	5	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 8	4	≤ 2
Ципрофлоксацин	5	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Ломефлоксацин	10	≤ 18	19—21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2
Левофлоксацин	5	≤ 13	14—16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Спарфлоксацин	5	≤ 15	16—18	≥ 19	≥ 2	1	≤ 0,5
Гатифлоксацин	5	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2
ТЕТРАЦИКЛИНЫ							
Тетрациклин	30	≤ 14	15—18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4
Доксициклин	30	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
Миноциклин	30	≤ 14	15—18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4
МАКРОЛИДЫ							
Эритромицин	15	≤ 13	14—22	≥ 23	≥ 8	1—4	≤ 0,5
Кларитромицин	15	≤ 13	14—17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2

1	2	3	4	5	6	7	8
Азитромицин	15	≤ 13	14—17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2
ЛИНКОЗАМИДЫ							
Линкомицин	15	< 17	17—20	≥ 21	> 8	4—8	≤ 2
Клиндамицин	2	≤ 14	15—20	≥ 21	≥ 4	1—2	≤ 0,5
ГЛИКОПЕПТИДЫ							
Ванкомицин	30	–	–	≥ 15	≥ 32	8—16	≤ 4
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Хлорамфеникол	30	≤ 12	13—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Ко-тримоксазол	1,25/ 23,75	≤ 10	11—15	≥ 16	≥ 4/76	–	≤ 2/38
Нитрофурантоин	300	≤ 14	15—16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Рифампицин	5	≤ 16	17—19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1
Фузидин	10	< 15	15—21	≥ 22	≥ 32	4—6	≤ 2
Линезолид	30	–	–	≥ 21	–	–	≤ 4

[1] В практических лабораториях оценивать чувствительность *Staphylococcus* spp. к бета-лактамам кроме бензилпенициллина и оксациллина нецелесообразно.
[2] Штаммы, устойчивые к оксациллину должны однозначно рассматриваться как устойчивые ко всем доступным бета-лактамам.

Таблица 6

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Enterococcus* spp.: пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ							
Бензилпенициллин	10 ЕД	≤ 14	–	≥ 15	≥ 16	–	≤ 8
Ампициллин	10	≤ 16	–	≥ 17	≥ 16	–	≤ 8
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Хлорамфеникол	30	≤ 12	13—17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Эритромицин	15 мг	≤ 13	14—22	≥ 23	≥ 8	4—1	≤ 0,5
Тетрациклин	30	≤ 14	15—18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4
Доксициклин	30	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4
Ципрофлоксацин	5	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Норфлоксацин	10	≤ 12	13—16	≥ 17	≥ 16	8	≤ 4
Левофлоксацин	5	≤ 13	14—16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Гатифлоксацин	5	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2
Нитрофурантоин	300	≤ 14	15—16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Ванкомицин	30	≤ 14	15—16	≥ 17	≥ 32	8—16	≤ 4
Линезолид	30	≤ 20	21—22	23	8	4	≤ 2
Фосфомицин	200	≤ 12	13—15	16	256	128	≤ 64
Стрептомицин (высокий уровень)	300	6	7—9	≥ 10	≥ 1000[1] ≥ 2000[2]	–	< 1000[1] < 2000[2]
Гентамицин (высокий уровень)	120	6	7—9	≥ 10	≥ 500	–	< 500

[1] – критерии высокого уровня резистентности при использовании метода разведения в бульоне.
[2] – критерии высокого уровня резистентности при использовании метода разведения в агаре.

Таблица 7

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *S. pneumoniae*: пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
1	2	3	4	5	6	7	8
БЕТА-ЛАКТАМЫ							
Бензилпенициллин	1 мкг оксациллина	–	–	≥ 20	≥ 2	0,12—1	≤ 0,06
Амоксициллин	–	–	–	–	≥ 8	4	≤ 2
Амоксициллин / клавуланат	–	–	–	–	≥ 8/4	4/2	≤ 2/1
Цефотаксим	–	–	–	–	≥ 4	2	≤ 1
Цефотаксим (при менингите)	–	–	–	–	≥ 2	1	≤ 0,5
Цефтриаксон	–	–	–	–	≥ 4	2	≤ 1
Цефтриаксон (при менингите)	–	–	–	–	≥ 2	1	≤ 0,5
Цефепим	–	–	–	–	≥ 4	2	≤ 1
Цефепим (при менингите)	–	–	–	–	≥ 2	1	≤ 0,5
Имипенем	–	–	–	–	≥ 1	0,25—0,5	≤ 0,12
Меропенем	–	–	–	–	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Эртапенем	–	–	–	–	≥ 4	2	≤ 1
МАКРОЛИДЫ И ЛИНКОЗАМИДЫ							
Эритромицин	15	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Кларитромицин	15	≤ 16	17—20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Азитромицин	15	≤ 13	14—17	≥ 18	≥ 2	1	≤ 0,5
Линкомицин	15	< 17	17—20	≥ 21	> 8	4–8	≤ 2
Клиндамицин	2	≤ 15	16—18	≥ 19	≥ 1	0,5	≤ 0,25
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Тетрациклин	30	≤ 18	19—22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Офлоксацин	5	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 8	4	≤ 2
Левофлоксацин	5	≤ 13	14—16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Спарфлоксацин	5	≤ 15	16—18	≥ 19	≥ 2	1	≤ 0,5
Моксифлоксацин	5	≤ 14	15—17	≥ 18	≥ 4	2	≤ 1

1	2	3	4	5	6	7	8
Гатифлоксацин	5	≤ 17	18—20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Хлорамфеникол	30	≤ 20	–	≥ 21	≥ 8	–	≤ 4
Ко-тримоксазол	1,25/23,75	≤ 15	16—18	≥ 19	≥ 4/76	1/19—2/38	≤ 0,5/9,5
Рифампицин	5	≤ 16	17—18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1
Ванкомицин	30	–	–	≥ 17	–	–	≤ 1
Линезолид	30	–	–	≥ 21	–	–	≤ 2

Примечания.

• При оценке чувствительности к бета-лактамным антибиотикам ДДМ не позволяет получить воспроизводимые результаты, необходимо использовать метод серийных разведений в бульоне.

• ДДМ (с диском, содержащим 1 мкг оксациллина) применим только для скрининга на наличие пенициллинрезистентности у штаммов пневмококков.

• Штаммы, чувствительные к пенициллину, следует считать чувствительными ко всем бета-лактамным антибиотикам.

• При подозрении на наличие пенициллинрезистентности по результатам теста с оксациллином необходимо определить МПК пенициллина и других бета-лактамных антибиотиков методом серийных разведений в бульоне.

• Критерии интерпретации результатов определения МПК применимы только для метода серийных разведений в бульоне.

Таблица 8

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Streptococcus* spp. (кроме *S. pneumoniae*): пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ [1]							
Бензилпенициллин[2]	10 ЕД	≤ 19	20—27	≥ 28	≥ 4	0,25—2	≤ 0,12
Ампициллин [2]	10	≤ 18	19—25	≥ 26	≥ 8	0,5—4	≤ 0,25
Цефотаксим	30	≤ 25	26—27	≥ 28	≥ 2	1	≤ 0,5
Цефтриаксон	30	≤ 24	25—26	≥ 27	≥ 2	1	≤ 0,5
МАКРОЛИДЫ И ЛИНКОЗАМИДЫ							
Эритромицин	15	≤ 15	16—20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Кларитромицин	15	≤ 16	17—20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0,25
Азитромицин	15	≤ 13	14—17	≥ 18	≥ 2	1	≤ 0,5
Клиндамицин	2	≤ 15	16—18	≥ 19	≥ 1	0,5	≤ 0,25
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Тетрациклин	30	≤ 18	19—22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Офлоксацин [3]	5	≤ 12	13—15	≥ 16	≥ 8	4	≤ 2
Левофлоксацин	5	≤ 13	14—16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Гатифлоксацин	5	≤ 17	18—20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
Хлорамфеникол	30	≤ 17	18—20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4
Ванкомицин	30	–	–	≥ 17	–	–	≤ 1
Линезолид	30	–	–	≥ 21	–	–	≤ 2

[1] – штаммов *S. pyogenes, S. agalactiae*, устойчивых к пенициллину не описано.
[2] – критерии диско-диффузионного метода применимы только для β-гемолитических стрептококков.
[3] – критерии диско-диффузионного метода и метода серийных разведений применимы только для β-гемолитических стрептококков.

Таблица 9

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *H. influenzae*: пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК[1] (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
1	2	3	4	5	6	7	8
БЕТА-ЛАКТАМЫ[2]							
Ампициллин	10	≤ 18	19–21	≥ 22	≥ 4	2	≤ 1
Ампициллин/сульбактам	10/10	≤ 19	–	≥ 20	≥ 4/2	–	≤ 2/1
Амоксициллин/клавуланат	20/10	≤ 19	–	≥ 20	≥ 8/4	–	≤ 4/2
Цефаклор	30	≤ 16	17—19	≥ 20	≥ 32	16	≤ 8
Цефамандол	–	–	–	–	≥ 16	8	≤ 4
Цефуроксим	30	≤ 16	17—19	≥ 20	≥ 16	8	≤ 4
Цефотаксим	30	–	–	≥ 26	–	–	≤ 2
Цефтриаксон	30	–	–	≥ 26	–	–	≤ 2
Цефтазидим	30	–	–	≥ 26	–	–	≤ 2
Цефтибутен	30	–	–	≥ 28	–	–	≤ 2
Цефиксим	5	–	–	≥ 21	–	–	≤ 1
Цефподоксим	10	–	–	≥ 21	–	–	≤ 2
Цефепим	30	–	–	≥ 26	–	–	≤ 2
Азтреонам	30	–	–	≥ 26	–	–	≤ 2
Имипенем	10	–	–	≥ 16	–	–	≤ 4
Меропенем	10			≥ 20			≤ 0,5
Эртапенем	10			≥ 19			≤ 0,5
МАКРОЛИДЫ							
Кларитромицин	15	≤ 10	11—12	≥ 13	≥ 32	16	≤ 8
Азитромицин	15	–	–	≥ 12	–	–	≤ 4
ХИНОЛОНЫ							
Ципрофлоксацин	5	–	–	≥ 21	–	–	≤ 1
Офлоксацин	5	–	–	≥ 16	–	–	≤ 2
Левофлоксацин	5	–	–	≥ 17	–	–	≤ 2
Спарфлоксацин					–	–	≤ 0,25
Моксифлоксацин	5	–	–	≥ 18	–	–	≤ 1

1	2	3	4	5	6	7	8
Гатифлоксацин	5	–	–	≥ 18	–	–	≤ 1
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Тетрациклин	30	≤ 25	26—28	≥ 29	≥ 8	4	≤ 2
Хлорамфеникол	30	≤ 25	26—28	≥ 29	≥ 8	4	≤ 2
Рифампицин	5	≤ 16	17—19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1
Ко-тримоксазол	1,25/23,75	≤ 10	11—15	≥ 16	4/76	1/19—2/38	≤ 0,5/9,5

[1] – Критерии интерпретации результатов тестирования с определением МПК применимы только для метода серийных разведений в бульоне.

[2] – Для прогнозирования чувствительности к бета-лактамным антибиотикам целесообразно проводить непосредственное выявление выработки бета-лактамаз в тесте с нитроцефином. Описаны штаммы устойчивые к ампициллину, но не продуцирующие бета-лактамазы, их следует расценивать как устойчивые к защищенным пенициллинам и цефалоспоринам II поколения.

Таблица 10

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *N. gonorrhoeae*: пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	∅ зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	У/Р	Ч	Р	У/Р	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ[1]							
Бензилпенициллин[2]	10	≤ 26	27–46	≥ 47	≥ 2	0,12–1	≤ 0,06
Цефметазол	30	≤ 27	28–32	≥ 33	≥ 8	4	≤ 2
Цефотетан	30	≤ 19	20–25	≥ 26	≥ 8	4	≤ 2
Цефокситин	30	≤ 23	24–27	≥ 28	≥ 8	4	≤ 2
Цефуроксим	30	≤ 25	26–30	≥ 31	≥ 4	2	≤ 1
Цефотаксим	30	–	–	≥ 31	–	–	≤ 0,5
Цефтриаксон	30	–	–	≥ 35	–	–	≤ 0,25
Цефиксим	5	–	–	≥ 31	–	–	≤ 0,25
Цефподоксим	10	–	–	≥ 29	–	–	≤ 0,5
Цефтазидим	30	–	–	≥ 31	–	–	≤ 0,5
Цефепим	30	–	–	≥ 31	–	–	≤ 0,5
ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Тетрациклин[3]	30	≤ 30	31–37	≥ 38	≥ 2	0,5–1	≤ 0,25
Ципрофлоксацин	5	≤ 27	28–40	≥ 41	≥ 1	0,12–0,5	≤ 0,06
Офлоксацин	5	≤ 24	25–30	≥ 31	≥ 2	0,5–1	≤ 0,25
Ломефлоксацин	10	≤ 26	27–37	≥ 38	≥ 2	0,25–1	≤ 0,12
Гатифлоксацин	5	≤ 33	34–37	≥ 38	≥ 0,5	0,25	≤ 0,125
Спектиномицин	100	≤ 14	15–17	≥ 18	≥ 128	64	≤ 32

[1] – Критерии интерпретации результатов определения чувствительности по значению МПК применимы только для метода серийных разведений в агаре.

[2] – Предпочтительно поводить непосредственное выявление продукции бета-лактамаз с использованием теста с нитроцефином, положительный результат теста свидетельствует о резистентности штамма к пенициллину, ампициллину, амоксициллину.

[3] – Выявление устойчивости к тетрациклину свидетельствует о резистентности к доксициклину.

Приложение 3
(рекомендуемое)
Таблица 11

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *S. pneumoniae*, стрептококков группы «viridans» и бета-гемолитических стрептококков

Источник выделения	*S. pneumoniae*	*Streptococcus* spp. (группа «viridans»)	*S. pyogenes*, *S. agalactiae* и другие бета-гемолитические стрептококки
Нестерильные локусы	А) Препараты выбора • Скрининг на пенициллинрезистентность (диск 1 мкг оксациллина) • Эритромицин • Линкомицин или Клиндамицин • Тетрациклин или Доксициклин • Ко-тримоксазол Б) Дополнительные АБП • Пенициллин* • Цефотаксим* или Цефтриаксон* • Левофлоксацин	• Нет	А) Препараты выбора • Эритромицин • Клиндамицин Б) Дополнительные АБП • Хлорамфеникол • Левофлоксацин
Кровь, ликвор	А) Препараты выбора • Скрининг на пенициллинрезистентность (диск 1 мкг оксациллина) • Пенициллин* • Цефотаксим* (цефтриаксон*) • Карбапенемы* • Ванкомицин • Левофлоксацин • Хлорамфеникол • Рифампицин	А) Препараты выбора • Пенициллин* • Цефотаксим* или Цефтриаксон* • Клиндамицин • Хлорамфеникол	А) Препараты выбора • Эритромицин • Клиндамицин • Хлорамфеникол • Левофлоксацин
* – для исследования возможно использовать только метод серийных разведений в бульоне.			

Таблица 12

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *P. aeruginosa, Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и других НФБ

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
• Цефтазидим • Цефепим • Имипенем или Меропенем • Гентамицин • Амикацин • Ципрофлоксацин	• Цефоперазон • Азтреонам • Цефоперазон/сульбактам • Ампициллин/сульбактам (для *Acinetobacter* spp.) • Тобрамицин • Тикарциллин/клавуланат (для *S. multophilia*) • Триметоприм/сульфаметоксазол (для *S. multophilia*)

Таблица 13

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *Enterobacteriaceae*, выделенных при внекишечных инфекциях

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
• Ампициллин • Ингибиторозащищенный пенициллин (ампициллин/сульбактам или амоксициллин/клавуланат) • Цефалоспорин III поколения (цефотаксим или цефтриаксон) • Цефтазидим • Гентамицин • Фторхинолон	• Карбапенем (имипенем или меропенем) • Цефепим • Цефоперазон/сульбактам • Тикарциллин/клавуланат • Второй цефалоспорин III поколения (цефтриаксон или цефотаксим) • Цефситин • Амикацин • Цефуроксим • Оральные цефалоспорины II—III поколений

Таблица 14

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *Enterobacteriaceae*, выделенных при кишечных инфекциях

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
• Ампициллин • Ко-тримоксазол • Норфлоксацин или Ципрофлоксацин или Офлоксацин	• Цефотаксим или Цефтриаксон • Хлорамфеникол • Тетрациклин или Доксициклин

Таблица 15

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *Enterobacteriaceae*, выделенных при внебольничных ИМП

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
• Ампициллин • Амоксициллин/клавуланат • Ко-тримоксазол • Норфлоксацин • Ципрофлоксацин или офлоксацин	• Фосфомицин • Нитрофурантоин • Цефуроксим • Цефотаксим или цефтриаксон • Гентамицин • Амикацин

Таблица 16

Рекомендуемый перечень микроорганизмов для включения в программу эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью

В амбулаторно-поликлинической практике	В стационарах
Escherichia coli *Proteus mirabilis* *Salmonella* spp. (включая *typhi, paratyphi, typhimurium, enteritidis*) *Shigella* spp. *Klebsiella pneumoniae* и *oxytoca* *Haemophilus influezae* *Campylocacter jejuni / coli* *Neisseria meningitides* *Neisseria gonorrhoeae* *Moraxella catarrhalis* *Staphylococcus aureus* *Streptococcus pneumoniae* *Streptococcus pyogenes* *Streptococcus agalactiae* *Enterococcus faecalis u faecium*	*Escherichia coli* *Proteus mirabilis* *Salmonella* spp. (включая *typhi, paratyphi, typhimurium, enteritidis*) *Shigella* spp. *Klebsiella pneumoniae* и *oxytoca* *Enterobacter cloacae* и *aerogenes* *Serratia marcescens* *Citrobacter freundii* *Morganella morganii* *Pseudomonas aeruginosa* *Acinetobacter baumannii* *Stenotrophomonas maltophilia* *Burkholderia cepacia* *Haemophilus influezae* *Campylocacter jejuni / coli* *Neisseria meningitides* *Neisseria gonorrhoeae* *Moraxella catarrhalis* *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis* *Staphylococcus haemolythicus* *Streptococcus pneumoniae* *Streptococcus pyogenes* *Streptococcus agalactiae* *Enterococcus faecalis u faecium* *Bacteroides fragilis* *Clostridium difficile*

Таблица 17

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *Enterococcus* spp.

Enterococcus spp., выделенные при тяжелых и генерализованных инфекциях	*Enterococcus* spp., выделенные при ИМП
• Пенициллин или Ампициллин • Стрептомицин (выявление высокого уровня резистентности) • Гентамицин (выявление высокого уровня резистентности) • Ванкомицин • Линезолид	• Пенициллин или Ампициллин • Ципрофлоксацин • Норфлоксацин • Нитрофурантоин • Фосфомицин

Таблица 18

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *H.influenzae*

Препараты выбора	Дополнительные АБП
• Ампициллин • Ампициллин/сульбактам или Амоксициллин/клавуланат и/или • Тест с нитроцефином для выявления продукции бета-лактамаз	• Тетрациклин или Доксициклин • Ко-тримоксазол • Хлорамфеникол • Фторхинолоны • Цефотаксим или цефтриаксон

Таблица 19

Рекомендуемый перечень АБП для определения чувствительности *Staphylococcus* spp.

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты[1]
• Бензилпенициллин или тест с нитроцефином для выявления бета-лактамаз • Оксациллин • Эритромицин • Линкомицин или клиндамицин • Ципрофлоксацин или левофлоксацин • Гентамицин • Ванкомицин	• Тетрациклин или Доксициклин • Рифампицин • Фузидин • Триметоприм/сульфаметоксазол • Хлорамфеникол • Линезолид • Нитрофураны[2]
[1] – рекомендуется тестировать при высокой частоте метициллинрезистентности в лечебном учреждении, или при выявлении резистентности к препаратам первого ряда. [2] – рекомендуется тестировать при инфекциях мочевыводящих путей.	

Приложение 4
(справочное)
Таблица 20

Допустимые диапазоны значений МПК (мг/л) контрольных штаммов микроорганизмов с обычными питательными потребностями

Антибиотик	*S. aureus* ATCC 29213	*E. faecalis* ATCC 29212	*E. coli* ATCC 25922 *E. coli* ATCC 35218*	*P. aeruginosa* ATCC 27853
1	2	3	4	5
Бензилпенициллин	0,25—2	1—4	–	–
Ампициллин	0,5—2	0,5—2	2—8	–
Ампициллин/сульбактам	–	–	2/1—8/4 8/4—32/16*	–
Амоксициллин/клавуланат	0,12/0,06—0,5/0,25	0,25/0,12—1,0/0,5	2/1—8/4 4/2—16/8*	–
Оксациллин	0,12—0,5	8—32	–	–
Тикарциллин/клавуланат	0,5/2—2/2	16/2–64/2	4/2—16/2 8/2—32/2*	8/2—32/2
Цефазолин	0,25—1	–	1—4	–
Цефалотин	0,12—0,5	–	4—16	–
Цефаклор	1—4	–	1—4	–
Цефамандол	0,25—1	–	0,25—1	–
Цефуроксим	0,5—2	–	2—8	–
Цефокситин	1—4	–	2—8	–
Цефиксим	8—32	–	0,25—1	–
Цефподоксим	1—8	–	0,25—1	
Цефтибутен	–	–	0,12—0,5	–
Цефоперазон	1—4	–	0,12—0,5	2—8
Цефотаксим	1—4	–	0,03—0,12	8—32
Цефтазидим	4—16	–	0,06—0,5	1—4
Цефтриаксон	1—8	–	0,03—0,12	8—64
Цефепим	1—4	–	0,016—0,12	1—8
Азтреонам	–	–	0,06—0,25	2—8
Имипенем	0,016—0,06	0,5—2	0,06—0,25	1—4
Меропенем	0,03—0,125	2—8	0,008—0,06	0,25—1
Эртапенем	0,06—0,25	4—16	0,004—0,016	2—8
Налидиксовая к–та	–	–	1—4	–

1	2	3	4	5
Норфлоксацин	0,5—2	2—8	0,03—0,12	1—4
Ципрофлоксацин	0,12—0,5	0,25—2	0,004—0,016	0,25—1
Офлоксацин	0,12—1	1—4	0,015—0,12	1—8
Ломефлоксацин	0,25—2	2—8	0,03—0,12	1—4
Левофлоксацин	0,06—0,5	0,25—2	0,008—0,06	0,5—4
Спарфлоксацин	0,03—0,12	0,12—0,5	0,004—0,16	0,5—2
Моксифлоксацин	0,016—0,12	0,06—0,5	0,008—0,06	1—8
Гатифлоксацин	0,003—0,12	0,12—1	0,008—0,03	0,5—2
Гемифлоксацин	0,008—0,03	0,016—0,12	0,004—0,016	0,25—1
Амикацин	1—4	64—256	0,5—4	1—4
Гентамицин	0,12—1	4—16	0,25—1	0,5—2
Нетилмицин	< 0,25	4—16	< 0,5—1	0,5—8
Тобрамицин	0,12—1	8—32	0,25—1	0,25—1
Канамицин	1—4	16—64	1—4	–
Эритромицин	0,25—1	1—4	–	–
Азитромицин	0,5—2	–	–	–
Кларитромицин	0,12—0,5	–	–	–
Клиндамицин	0,06—0,25	4—16	–	–
Телитромицин	0,06—0,25	0,016—0,12	–	–
Хлорамфеникол	2—8	4—16	2—8	–
Тетрациклин	0,12—1	8—32	0,5—2	8—32
Доксициклин	–	–	0,5—2	–
Рифампицинн	0,004—0,016	0,5—4	4—16	16—64
Нитрофурантоин	8—32	4—16	4—16	–
Ко–тримоксазол (1/19)	< 0,5/9,5	< 0,5/9,5	< 0,5/9,5	8/152—32/608
Ванкомицин	0,5—2	1—4	–	–
Линезолид	1—4	1—4	–	–
Фосфомицин*	0,5—4	32—128	0,5—2	2—8

Примечание: – данные приведены для методов серийных микроразведений в бульоне.

* – при оценке чувствительности к фосфомицину необходимо использовать метод серийных разведений в агаре, в среду необходимо добавлять глюкозо–6–фосфат до концентрации 25 мкг/мл.

Таблица 21

Допустимые диапазоны значений диаметров зон подавления роста (мм) контрольных штаммов микроорганизмов с обычными питательными потребностями

Антибиотик	Содержание в диске, мкг	*E. coli* АТСС 25922 *E. coli* АТСС 35218*	*S. aureus* АТСС 25923	*P. aeruginosa* АТСС 27853
1	2	3	4	5
Бензилпенициллин	6 (10 ЕД)	–	26—37	–
Ампициллин	10	16–22	27–35	–
Ампицил-лин/сульбактам	10/10	19—24 13—19*	29—37	–
Амоксицил-лин/клавуланат	20/10	18—24 17—22*	28—36	–
Оксациллин	1	–	18—24	–
Тикарциллин/кла-вуланат	75/10	24—30 21—25*	29—37	20—28
Цефазолин	30	21—27	29—35	–
Цефалотин	30	15—21	29—37	–
Цефаклор	30	23—27	27—31	–
Цефамандол	30	26—32	26—34	–
Цефуроксим	30	20—26	27—35	–
Цефокситин	30	23—29	23—29	–
Цефиксим	5	23—27	–	–
Цефподоксим	10	23—28	19—25	–
Цефтибутен	30	27—35	–	–
Цефоперазон	75	28—34	24—33	23—29
Цефотаксим	30	29—35	25—31	18—22
Цефтазидим	30	25—32	16—20	22—29
Цефтриаксон	30	29—35	22—28	17—23
Цефепим	30	31—37	23—29	24—30
Азтреонам	30	28—36	–	23—29
Имипенем	10	26—32	–	20—28
Меропенем	10	28—34	29—37	27—33
Эртапенем	10	29—36	24—31	13—21
Налидиксовая к-та	30	22—28	–	–
Норфлоксацин	10	28—35	17—28	22—29
Ципрофлоксацин	5	30—40	22—30	25—33

1	2	3	4	5
Офлоксацин	5	29—33	24—28	17—21
Ломефлоксацин	10	27—33	23—29	22—28
Левофлоксацин	5	29—37	25—30	19—26
Спарфлоксацин	5	30—38	27—33	21—29
Моксифлоксацин	5	28—35	28—35	17—25
Гатифлоксацин	5	30—37	27—33	20—28
Гемифлоксацин	5	29—36	27—33	19—25
Амикацин	30	19—26	20—26	18—26
Гентамицин	10	19—26	19—27	16—21
Нетилмицин	30	22—30	22—31	17—23
Тобрамицин	10	18—26	19—29	19—25
Канамицин	30	17—25	19—26	–
Эритромицин	15	–	22—30	–
Азитромицин	15	–	21—26	–
Кларитромицин	15	–	26—32	–
Клиндамицин	2	–	24—30	–
Телитромицин	15	–	24—30	–
Хлорамфеникол	30	21—27	19—26	–
Тетрациклин	30	18—25	24—30	–
Доксициклин	30	18—24	23—29	–
Рифампицин	5	8—10	26—34	–
Нитрофурантоин	300	20—25	18—22	–
Ко-тримоксазол (1/19)	1,25/23,75	23—29	24—32	–
Ванкомицин	30	–	17—21	–
Линезолид	30	–	25—32	–
Фосфомицин*	200	22—30	25—33	–
* – при оценке чувствительности к фосфомицину в питательную среду необходимо добавлять глюкозо-6-фосфат до концентрации 25 мкг/мл.				

Таблица 22

Допустимые диапазоны значений МПК (мг/л) контрольных штаммов микроорганизмов со сложными питательными потребностями

Антибиотик	*S. pneumoniae* ATCC 49619	*H. influenzae* ATCC 49247 (ATCC 49766)	*N. gonorrhoeae* ATCC 49226
Бензилпенициллин	0,25—1	–	0,25—1
Ампициллин	0,06—0,25	2—8	–
Ампициллин/сульбактам	–	2/1—8/48	–
Амоксициллин	0,03—0,12	–	–
Амоксициллин/клавуланат	0,03/0,016—0,12/0,06	2/1—16/8	–
Цефаклор	1—4	–	–
Цефуроксим	0,25—1	(0,25—1)	0,25—1
Цефотаксим	0,003—0,012	0,12—0,5	0,015—0,06
Цефтазидим	–	0,12—1	0,03—0,12
Цефтриаксон	0,03—0,12	0,06—0,25	0,004—0,016
Цефепим	0,03—0,25	0,5—2	0,016—0,06
Имипенем	0,03—0,12	(0,25—1)	–
Меропенем	0,06—0,25	(0,03—0,12)	–
Эртапенем	0,03—0,25	(0,016—0,06)	–
Эритромицин	0,03—0,12	–	–
Азитромицин	0,06—0,25	1–4	–
Кларитромицин	0,03—0,12	4–16	–
Клиндамицин	0,03—0,12	–	–
Телитромицин	0,004—0,03	1–4	–
Норфлоксацин	2—8	–	–
Ципрофлоксацин	–	0,004—0,03	0,001—0,008
Офлоксацин	1—4	0,016—0,06	0,004—0,016
Ломефлоксацин	–	0,03—0,12	0,008—0,03
Левофлоксацин	0,5—2	0,008—0,03	–
Спарфлоксацин	0,12—0,5	0,004—0,016	0,004—0,016
Моксифлоксацин	0,06—0,25	0,008—0,03	–
Гатифлоксацин	0,12—0,5	0,004—0,03	0,002—0,016
Хлорамфеникол	2—8	0,25—1	–
Рифампин	0,015—0,06	0,25—1	–
Тетрациклин	0,12—0,5	4—32	0,25—1
Ко-тримоксазол	0,12/2,4—1/19	0,03/0,59—0,25/4,75	–
Ванкомицин	0,12—0,5	–	–
Линезолид	0,5—2	–	–

Примечание: – для *S. pneumoniae, H. influenzae* результаты приведены для метода серийных микроразведений в бульоне,
– для *N. gonorrhoeae* результаты приведены для метода серийных разведений в агаре.

Таблица 23

Допустимые диапазоны значений диаметров зон подавления роста (мм) контрольных штаммов микроорганизмов со сложными питательными потребностями

Антибиотик	Содержание в диске (мкг)	*S. pneumoniae* ATCC 49619	*H. influenzae* ATCC 49247 (ATCC 49766)	*N. gonorrhoeae* ATCC 49226
Бензилпенициллин	10 ЕД	24—30	–	26—34
Ампициллин	10	30—36	13—21	–
Амоксициллин/клавуланат	20/10	–	15—23	–
Ампициллин/сульбактам	10/10	–	14—22	–
Оксациллин	1	≤ 12	–	–
Цефаклор	30	24—32	(25—31)	–
Цефуроксим	30		(28—36)	
Цефотаксим	30	31—39	31—39	38—48
Цефтазидим	30	–	27—35	35—43
Цефтриаксон	30	30—35	31—39	39—51
Цефепим	30	28—35	25—31	37—46
Имипенем	10	–	21—29	–
Меропенем	10	28—35	20—28	–
Эртапенем	10	28—35	20—28	27–33
Эритромицин	15	25—30	–	–
Азитромицин	15	19—25	13—21	–
Кларитромицин	15	25—31	11—17	–
Клиндамицин	2	19—25	–	–
Телитромицин	15	27—33	17—23	–
Норфлоксацин	10	15—21	–	–
Ципрофлоксацин	5	–	34—42	48—58
Офлоксацин	5	16—21	31—40	43—51
Ломефлоксацин	10	–	33—41	45—54
Левофлоксацин	5	20—25	32—40	–
Спарфлоксацин	5	21—27	32—40	43—51
Моксифлоксацин	5	25—31	31—39	–
Гатифлоксацин	5	24—31	33—41	45—56
Хлорамфеникол	30	23—27	31—40	–
Рифампин	5	25—30	22—30	–
Тетрациклин	30	27—31	14—22	30–42
Нитрофурантоин	300	23—29	–	–
Ко-тримоксазол	1,25/23,75	20—28	24—32	–
Ванкомицин	30	20—27	–	–
Линезолид	30	25—34	–	–

gost.e-ecolog.ru