

Методы определения
чувствительности к
антибактериальным препаратам

МУК 4.2.1890-04

Основные этапы проведения тестирования на антибиотикочувствительность микроорганизмов

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

Приготовление питательных сред для определения чувствительности

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

Приготовление питательных сред для определения чувствительности

- **Плотную питательную среду готовят в соответствии с инструкцией изготовителя.**
- **Важным моментом при определении чувствительности ДДМ является толщина слоя агара в чашке. Она должна составлять $(4,0 \pm 0,5)$ 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.**

Приготовление питательных сред для определения чувствительности

- 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.

Приготовление суспензии исследуемого 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 Мак-Фарланду.**
- **Контроль оптической плотности суспензии можно также осуществлять спектрофотометрически**

Приготовление инокулюма



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 вершечек колоний в пробирку со стерильным физиологическим раствором или питательным бульоном, доводя плотность инокулюма точно до 0,5 по стандарту Мак-Фарланда.
- **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 Мак-Фарланду путем добавления стерильного бульона или физиологического раствора.

Приготовление стандарта 0,5 по Мак-Фарланду

- К 0,5 мл раствора BaCl_2 в концентрации 0,048 моль/л (1,175% раствор $\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) 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.

Методы 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.

Методы серийных разведений

- Основные растворы АБП готовят в концентрации 1000,0 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:

$$m \text{ АБП теор. (мг)} = \frac{C (\text{мкг} / \text{мл}) \times V \text{ теор. (мл)}}{A (\text{содержание АБП в мкг} / \text{мг})}$$

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)

Методы серийных разведений

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

$$V_{\text{практ.}} (\text{мл}) = \frac{m_{\text{АБ практ.}} (\text{мг}) \times V_{\text{теор.}} (\text{мл})}{m_{\text{АБ теор.}} (\text{мг})}$$

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

$m_{\text{АБ практ.}}$ – полученная навеска АБП;

$m_{\text{АБ теор.}}$ – расчётная (теоретическая) навеска АБП;

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

Метод серийных разведений в бульоне.

- **Макрометод** (пробирочный)
- **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.

Макрометод

- 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, содержащую 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.

Макрометод

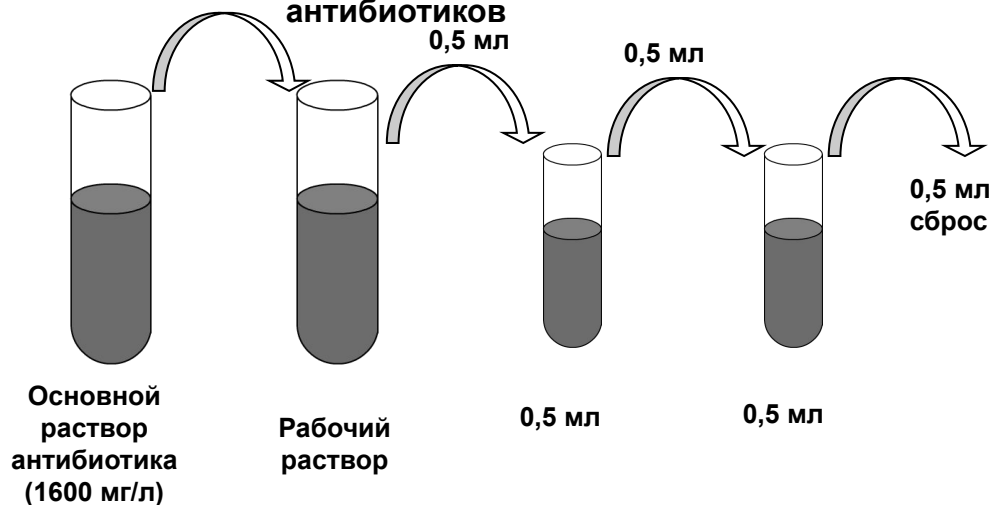
- Приготовление инокулюма и инокуляция.
- Для инокуляции используют стандартную микробную взвесь, эквивалентную 0,5 по стандарту МакФарланда, разведенную в 100 раз на питательном бульоне, после чего концентрация микроорганизма в ней составит примерно 10^6 КОЕ/мл.
- По 0,5 мл инокулюма вносят в каждую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

Макрометод

- 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°C в течение 16-20 или 20-24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма). Пробирку "отрицательный" контроль помещают в холодильник при +4°C, 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.

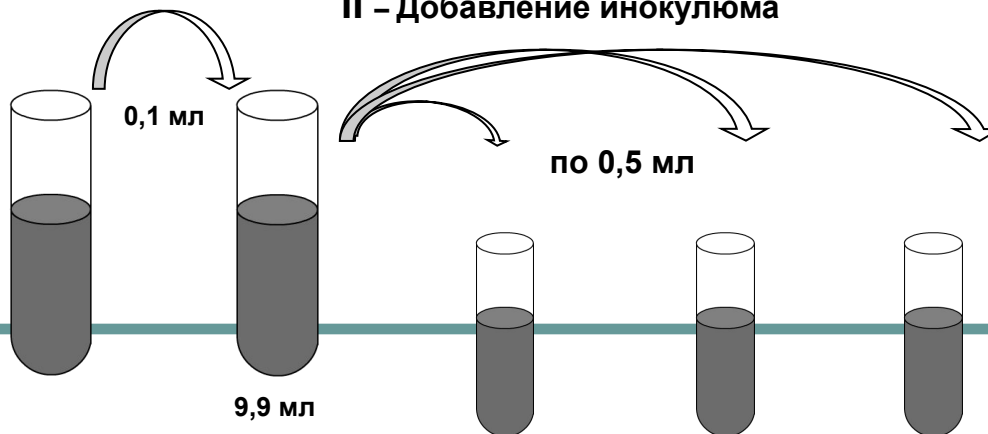
Метод серийных разведений в бульоне

I - Приготовление серийных разведений антибиотиков

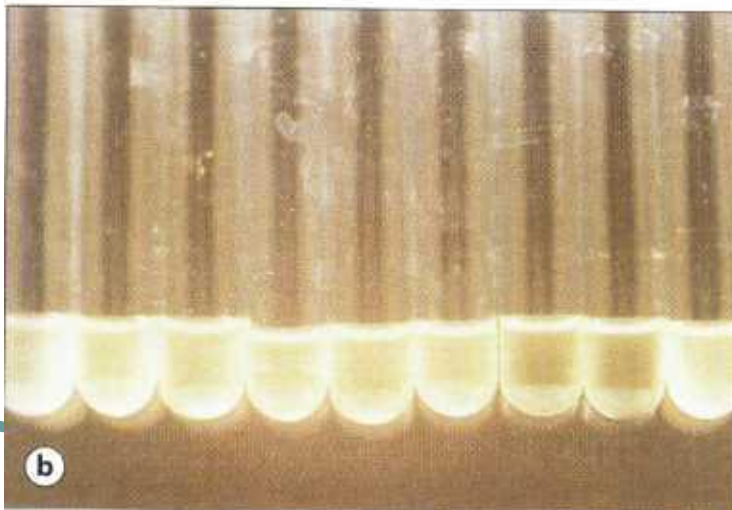
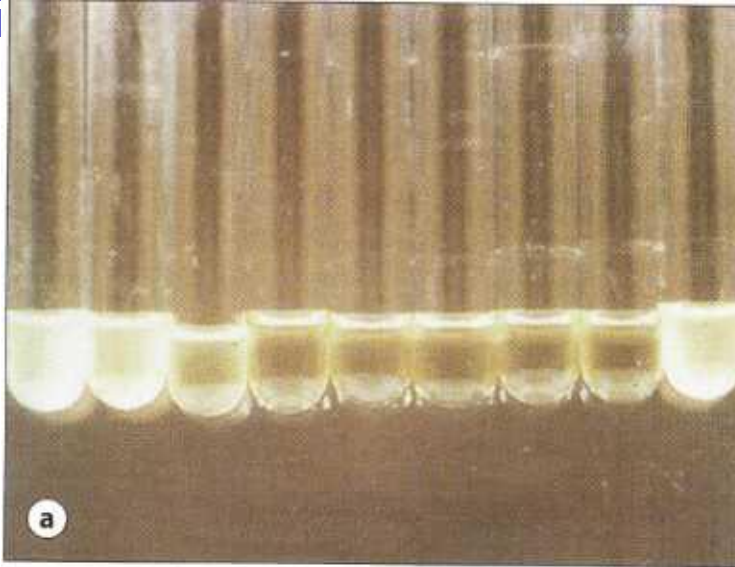


II - Добавление инокулюма

Инокулюм
плотностью
0,5 по МакФарланду
($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл)



Метод серийных разведений бульоне



335 Tube minimum inhibitory concentration (MIC) of two *Escherichia coli* isolates to ampicillin. Serial dilutions of ampicillin from 0.5 µg/ml to 64 µg/ml are prepared. 1 ml of the test organism suspension is added to each tube. After overnight incubation, visual turbidity is noted. The MIC is the lowest antibiotic concentration in which there is no visible growth. In the upper row **(a)**, the MIC is 2 µg/ml. In the lower row **(b)**, the MIC is 32 µg/ml. (Ampicillin concentrations (µg/ml) left to right: 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 0 (control))

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.**

Микрометод

- 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°C 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.
- **Учет результатов** проводят визуально или спектрофотометрически, сравнивая рост микроорганизма в присутствии АБП с ростом культуры в ячейке без АБП.
- За **МПК** принимают **минимальную концентрацию, обеспечивающую полное подавление видимого роста исследуемого штамма**.

Микрометод

Rows	Gentamicin ($\mu\text{g/ml}$)	Penicillin ($\mu\text{g/ml}$)				
		2	1	0.5	0.12	0
A	32	-	-	-	-	-
B	16	-	-	-	-	+
C	8	-	-	-	-	+
D	4	-	-	+	+	+
E	2	+	+	+	+	+
F	0	1	2	3	4	5

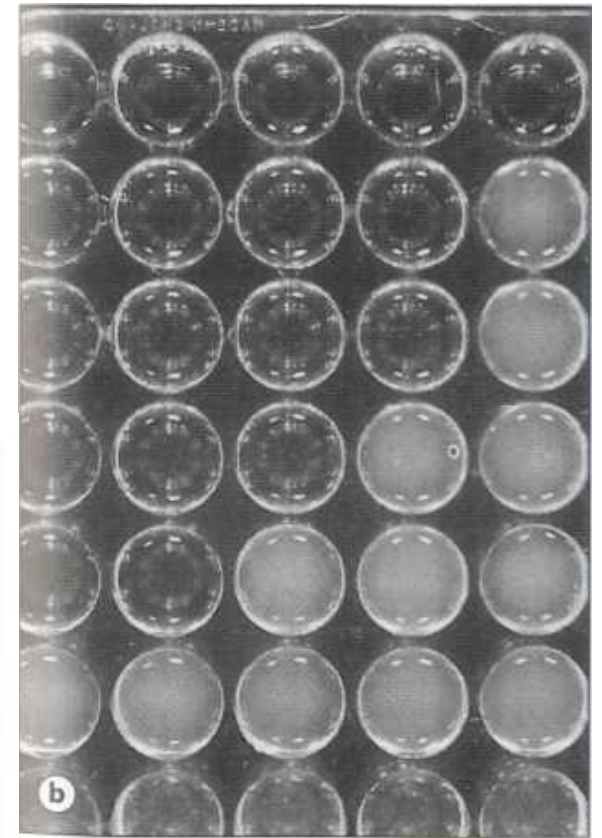
+ = Growth

Columns

a

340 Antimicrobial agents in combination.

Each well in the plate contains a different combination of penicillin and gentamicin, shown in **a**. Row F shows growth at all concentrations of penicillin in the absence of gentamicin. Column 5 shows growth at all concentrations of gentamicin, except at 32 $\mu\text{g/ml}$, in the absence of penicillin. The two antimicrobials work synergistically, growth being inhibited at a gentamicin concentration of 2 $\mu\text{g/ml}$ in the presence of 1 $\mu\text{g/ml}$ of penicillin (**b**).



Методы серийных разведений

- 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.**

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.**

Метод серийных разведений в агаре

- **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 в АБП в каждом последующем разведении должна быть в 2 раза меньше, 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).

Метод серийных разведений в агаре

- 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 - 50⁰С, 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.

Метод серийных разведений в агаре

- **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.**

Метод серийных разведений в агаре

- Для **контроля качества** приготовления суспензий периодически рекомендуется проводить подсчет реальных колониеобразующих единиц путем посева образца приготовленного инокулюма на неселективные питательные среды.
- **Инкубация.**
- После инокуляции чашки оставляют при комнатной температуре для подсыхания, далее переворачивают и инкубируют при температуре 35°C в течение 18-24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма).

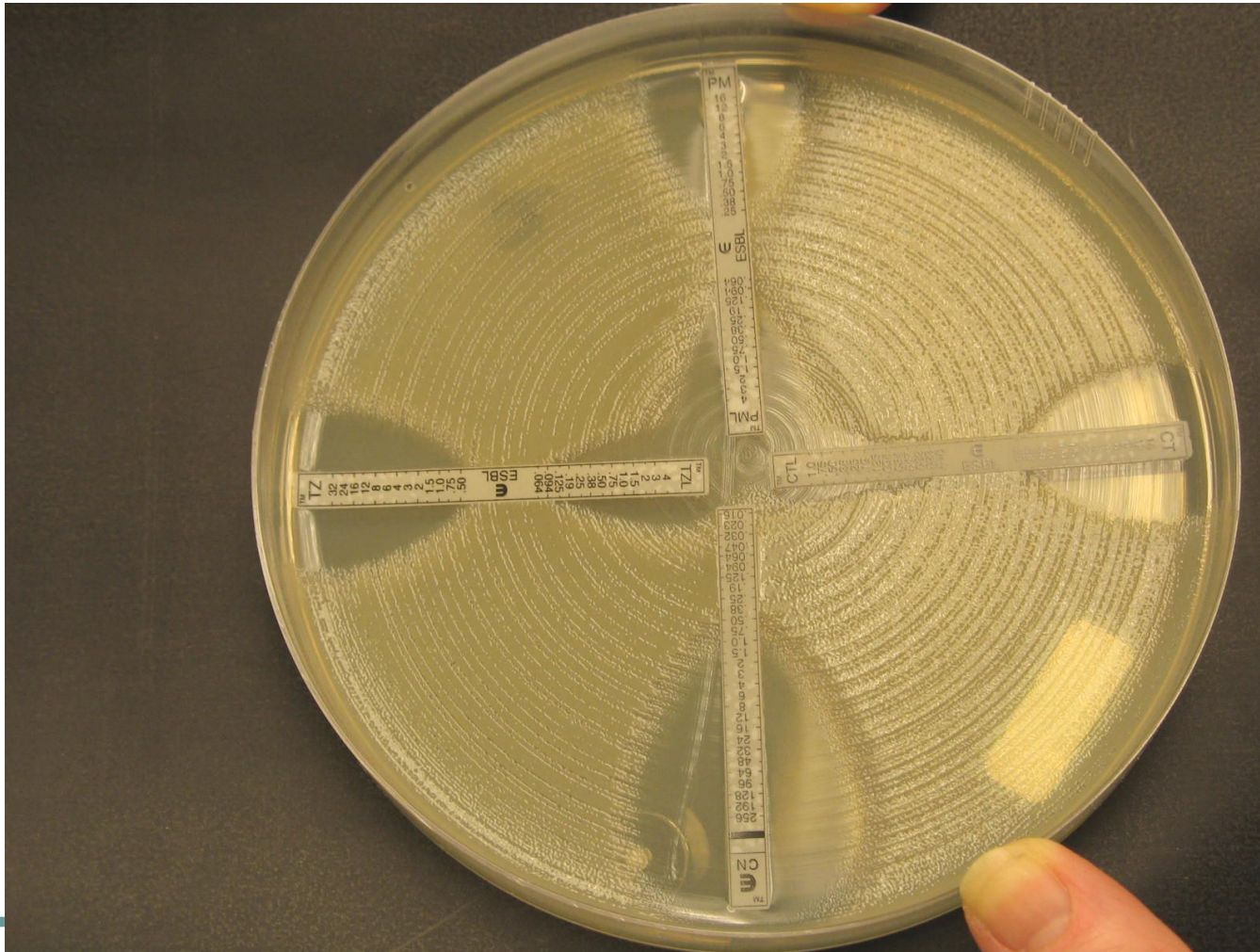
Метод серийных разведений в агаре

- Учет результатов.
- Учет результатов проводят, поместив чашку на темную не отражающую свет поверхность. **За МПК принимают концентрацию, вызвавшую полную ингибицию видимого роста.** Для дифференцировки 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 (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.**

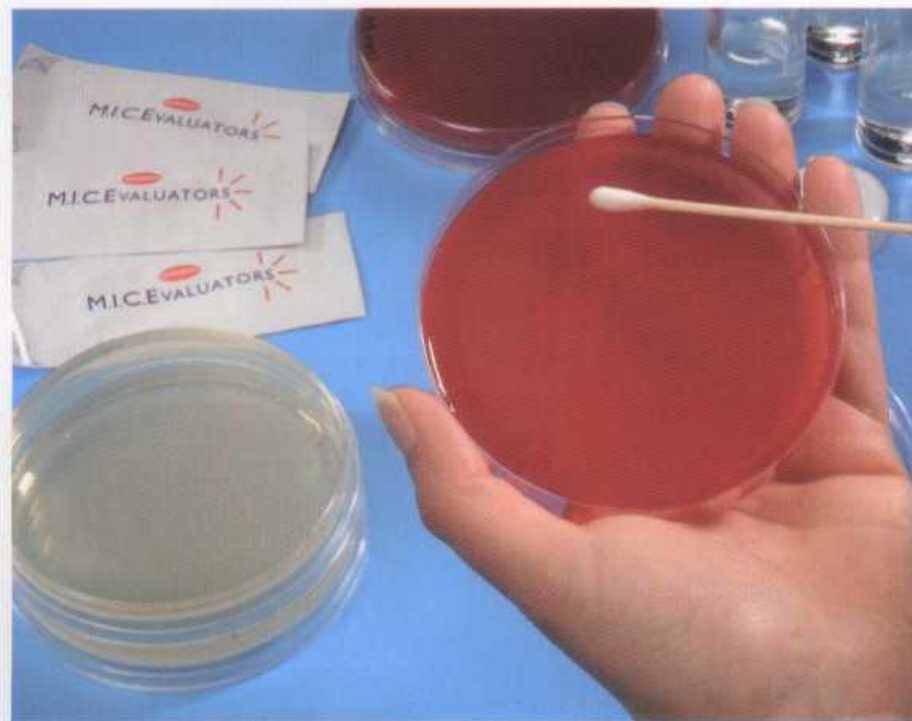
Общие замечания по методам серийных разведений

- Несмотря на то, что методы серийных разведений являются наиболее точными и информативными, их постановка в практических лабораториях сопряжена со значительными методическими 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 антибиотикорезистентности. 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).

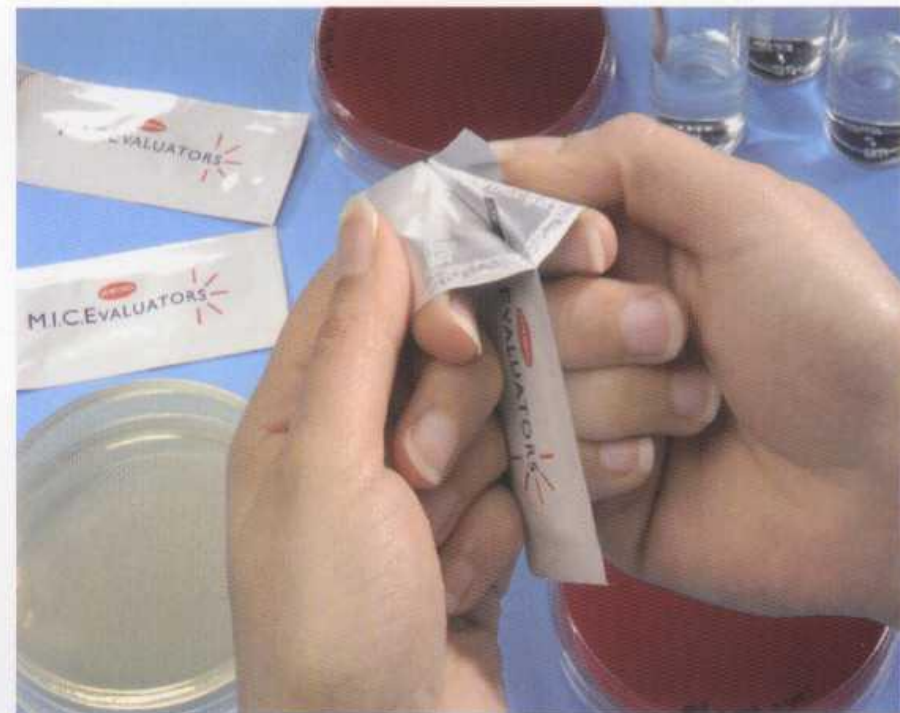
E-test



Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) E-test

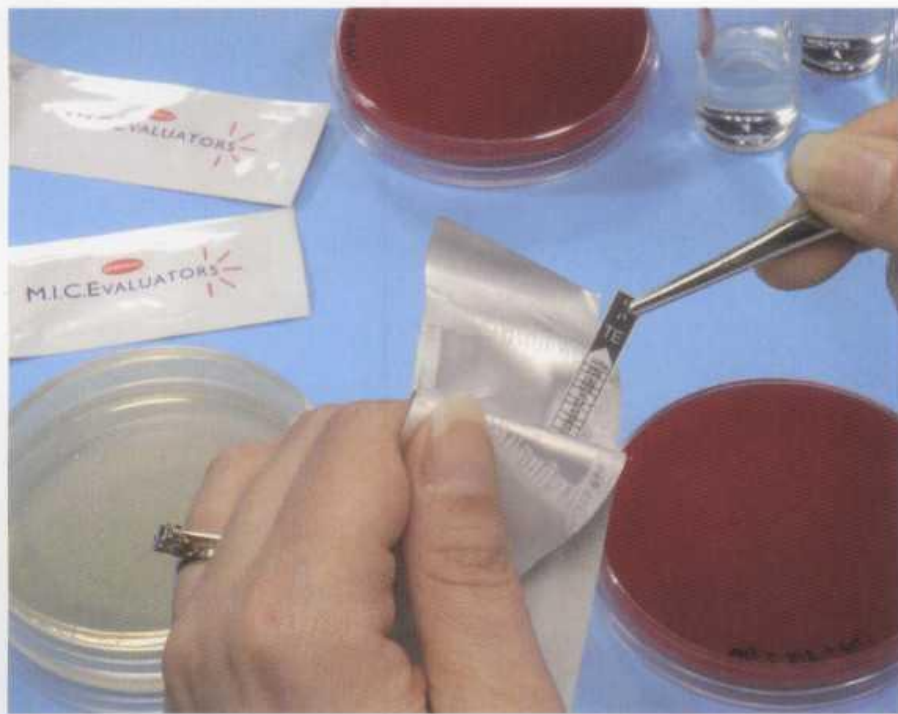


1 Inoculate the appropriate agar plate by swabbing the test organism in at least three different directions, taking care to ensure no gaps are left in the deposited inoculum.

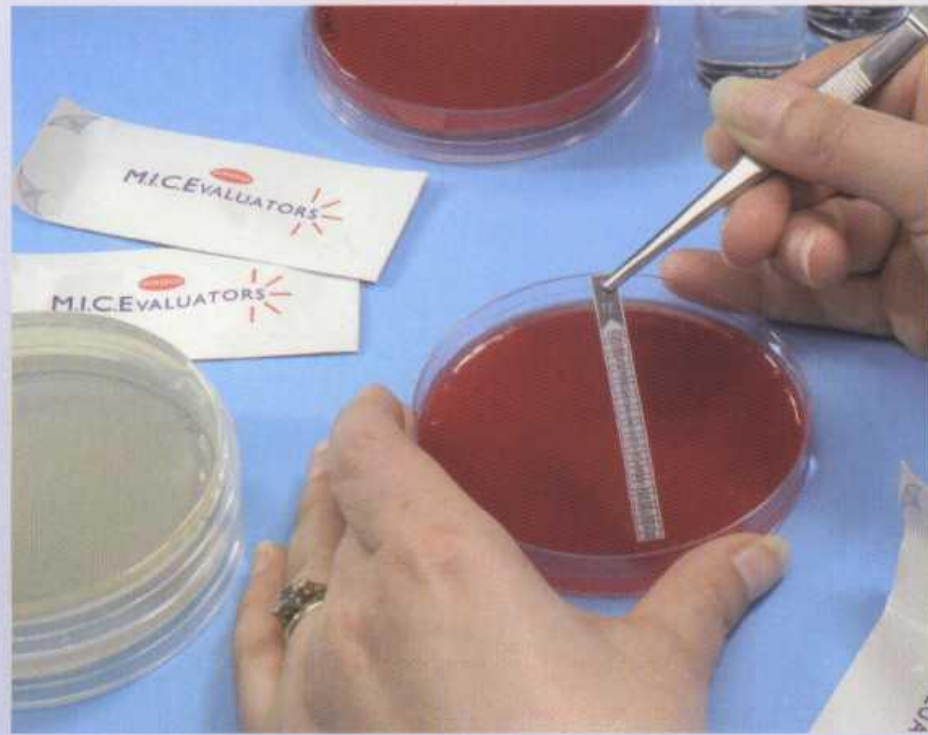


2 Open the sachet by peeling apart at the corners indicated by the blue arrows.

Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) E-test

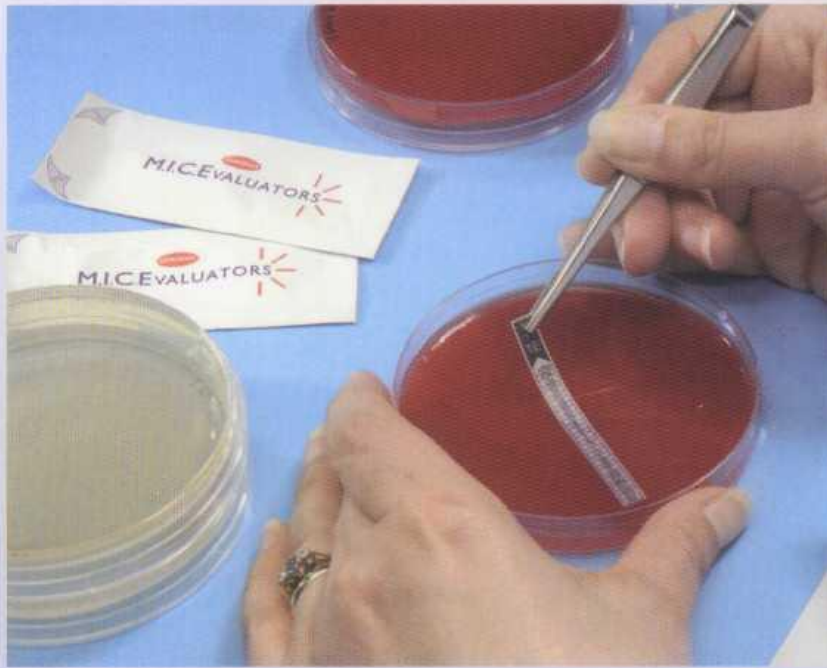


3 Remove the strip with sterile forceps using the black M.I.C.E. handle at the top of the strip.



4 Apply the strip by placing the end with the lowest concentration onto the plate first.

МИНИМАЛЬНАЯ ИНГИБИРУЮЩАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ (MIC) E-test



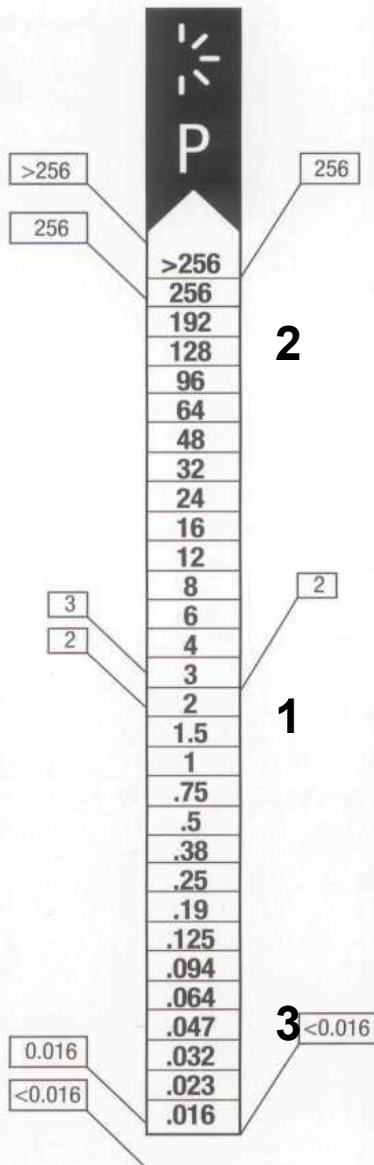
5 Carefully roll the strip onto the agar surface to ensure good contact along the entire length of the strip. Alternatively, carefully place the lower end of the M.I.C.E. onto the agar and gently drop the strip. Using sterile forceps gently smooth the strip onto the agar. TAKE CARE NOT TO MOVE THE POSITION OF THE STRIP.



6 Incubate the plates in an inverted position under conditions appropriate for the test organism.

Simplified Reading

The MIC is the value
in the box.



MIC - E-test

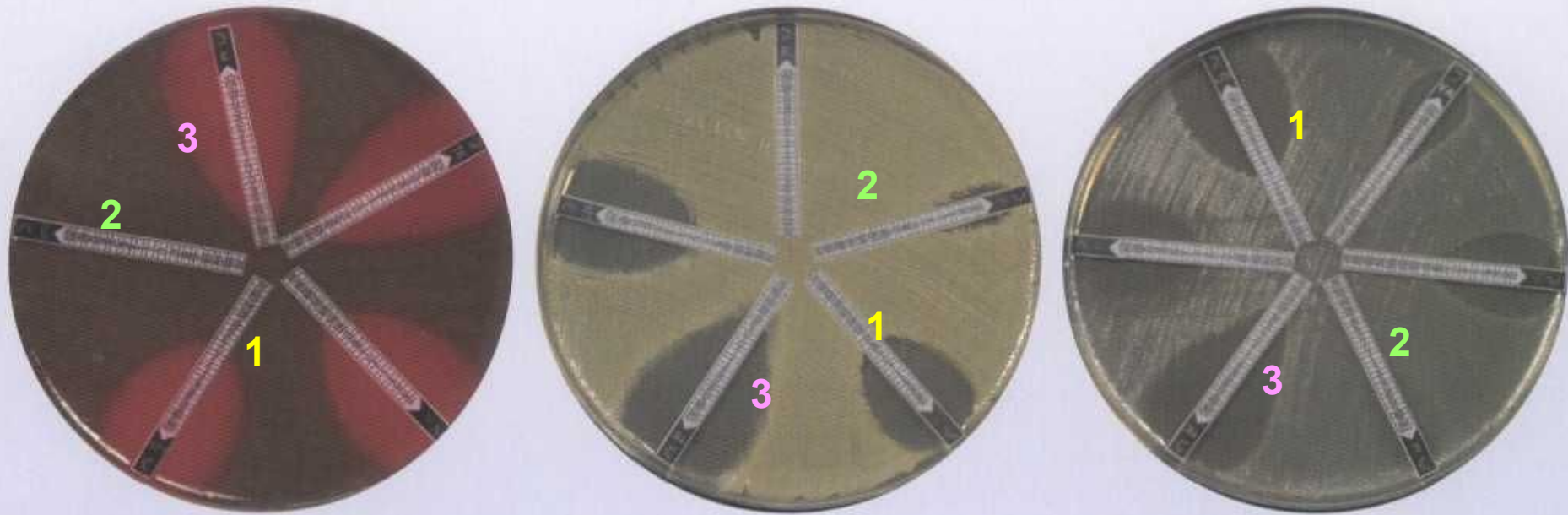
1. Если рост культуры пересекается на линии между двумя зонами, то МИК читаем по значению меньшей зоны.
2. Если рост культуры наблюдается на протяжении всей полоски, это расцениваем как высокий показатель МИК.
3. Если рост культуры ингибируется вокруг полоски, то МИК расцениваем как минимальную.

All antibiotics are available in packs of 10 and 50. Each M.I.C.E. is individually foil wrapped for ease of use and quality assurance.

Product Code*	Antimicrobial Name	Concentration Range	Antimicrobial Code
MA0100	Penicillin G	32 – 0.002µg/ml	P
MA0101	Penicillin G	256 – 0.016µg/ml	P
MA0102	Vancomycin	256 – 0.016µg/ml	VA
MA0103	Metronidazole	256 – 0.016µg/ml	MTZ
MA0104	Ciprofloxacin	32 – 0.002µg/ml	CIP
MA0105	Tetracycline	256 – 0.016µg/ml	TE
MA0106	Linezolid	256 – 0.016µg/ml	LZD
MA0107	Amoxicillin/clavulanic acid	256 – 0.016µg/ml	AMC
MA0108	Erythromycin	256 – 0.016µg/ml	E
MA0109	Amoxicillin	256 – 0.016µg/ml	AML
MA0110	Ampicillin	256 – 0.016µg/ml	AMP
MA0111	Cefotaxime	32 – 0.002µg/ml	CTX
MA0112	Cefotaxime	256 – 0.016µg/ml	CTX
MA0113	Levofloxacin	32 – 0.002µg/ml	LEV
MA0114	Oxacillin	256 – 0.016µg/ml	OX
MA0115	Imipenem	32 – 0.002µg/ml	IPM
MA0116	Gentamicin	256 – 0.016µg/ml	CN
MA0117	Gentamicin	1024 – 0.064µg/ml	CN

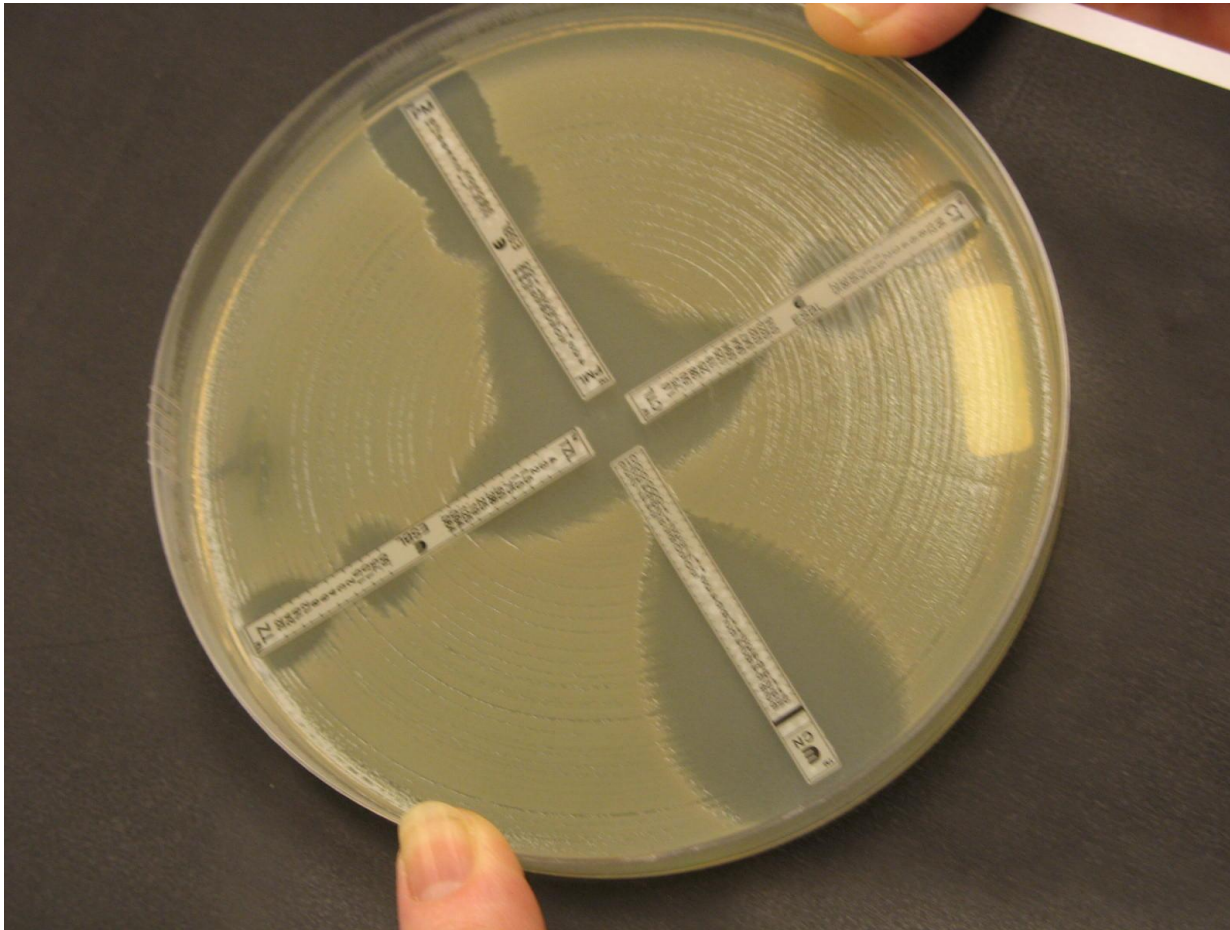
* Add Suffix 'D' to order 10 strip pack and 'F' to order 50 strip pack.

MIC - E-test

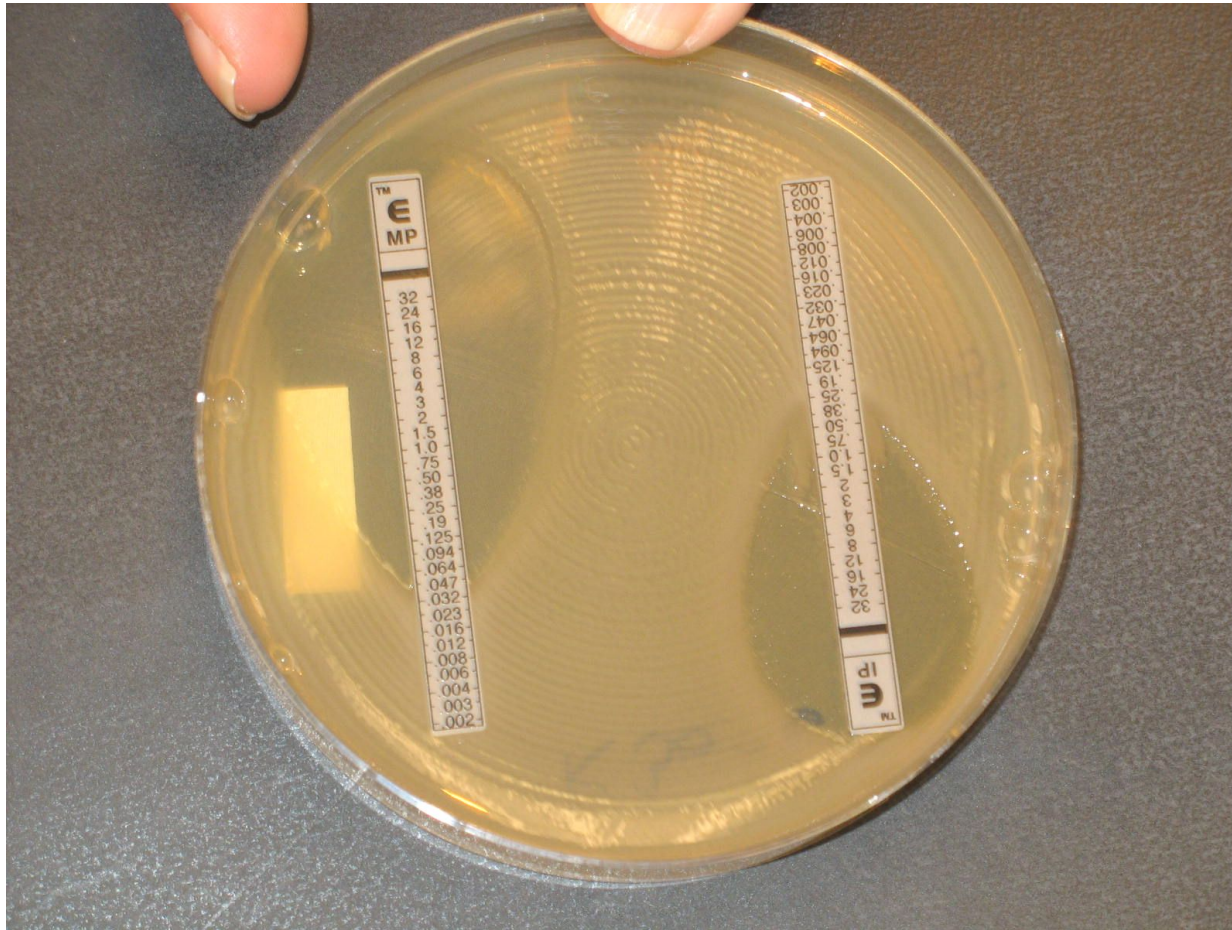


1. МИК оцениваем по нижнему значению.
2. Высокий показатель МИК .
3. МИК оцениваем как минимальный.

MIC - E-test



MIC - E-test



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.**

Диски с антибиотиками

- **Использовать только стандартизированные качественные диски.**
- **Строго соблюдать правила хранения дисков (в целях избежания снижения содержания в них антибиотиков до истечения срока годности)**
- **Долговременное хранение дисков осуществляют в герметичной упаковке в морозильной камере при температуре -18°C и ниже.**
- **Кратковременное хранение небольших партий дисков, используемых при повседневной работе, можно хранить в холодильнике при температуре $4 - 8^{\circ}\text{C}$, плотно укупоренными со специальным влагопоглотителем (силикагель).**
- **Перед началом работы флаконы (картриджи) с дисками следует извлекать из холодильника за 1 ч и выдерживать герметично закрытыми до достижения ими комнатной температуры, что предотвращает образование конденсата на дисках после открывания флаконов.**

Способы инокуляции

Первый способ:

- 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°.

Второй способ:

- 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.

Инокуляция с помощью тампона



Аппликация дисков

- 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.



Аппликация дисков

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.

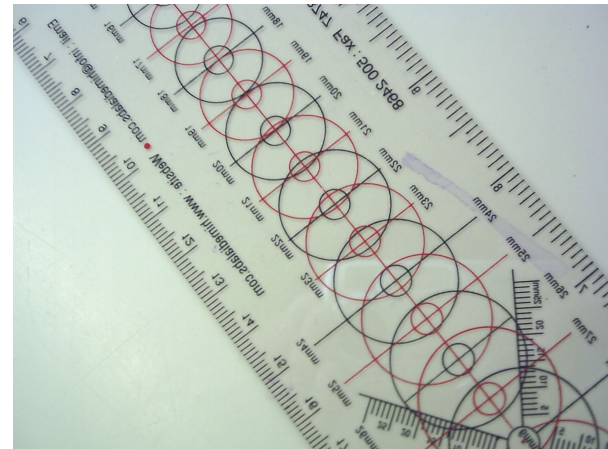


Инкубация

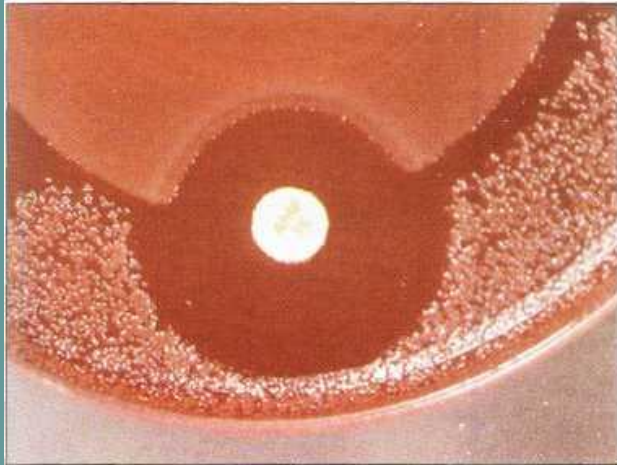
- Непосредственно после аппликации дисков чашки Петри помещают в термостат кверху дном и инкубируют при температуре 35 °С в течение 18 - 24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма).
- Увеличение интервала времени между нанесением дисков на поверхность среды и началом инкубации (а соответственно - 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.



учет результатов



- 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.



Fig. 30.34 The antibiotic susceptibility of an organism can be tested by the application of filter paper discs impregnated with antibiotic onto a lawn of the organisms seeded on an agar plate. After overnight incubation, during which time the organism grows and the antibiotics diffuse from the discs, a zone of inhibition develops indicating the degree of susceptibility of the organism. This plate shows the antibiotic susceptibility of *Shigella*, indicating sulfonamide resistance. SF100 is the sulfonamide disc. (Courtesy of DK Banerjee.)

- 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.

Учет результатов

Agar Diffusion Test

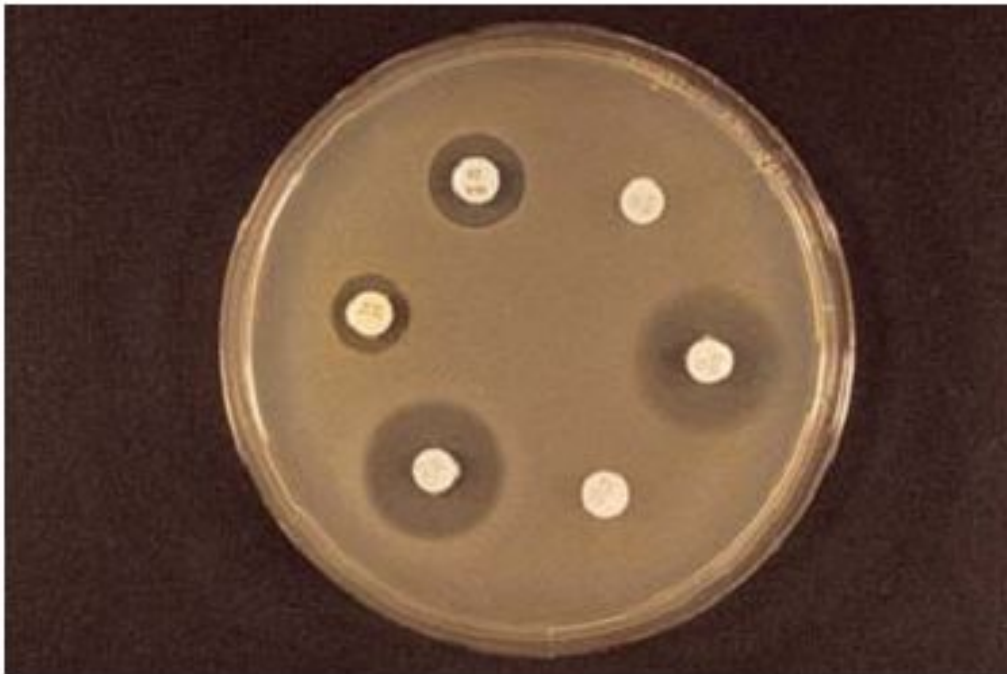
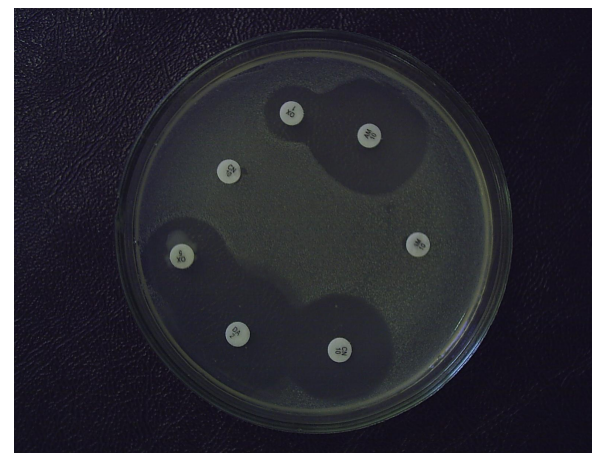
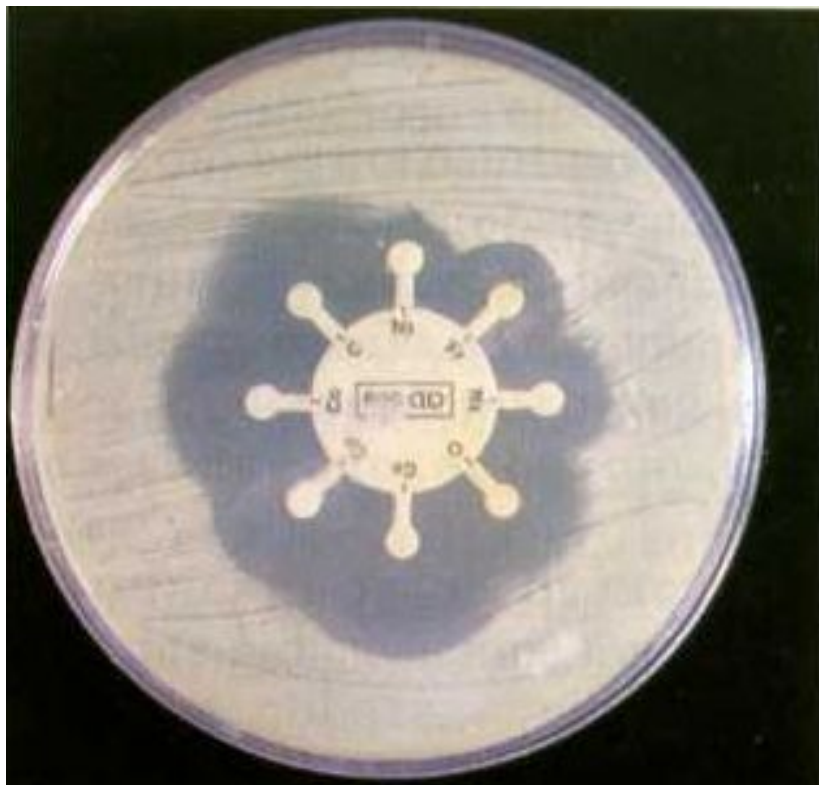


Fig. 3.31 This method, also known as the “disk test,” is used to test the resistance of a bacterial culture to various anti-infective agents. The method provides a basis for classification of a bacterial strain as “susceptible,” “resistant,” or “intermediate” according to the dimension of the inhibition zone.

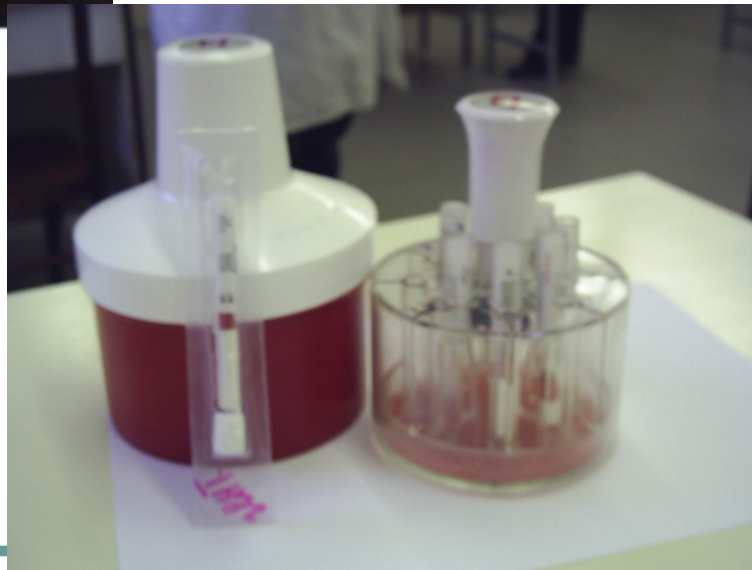
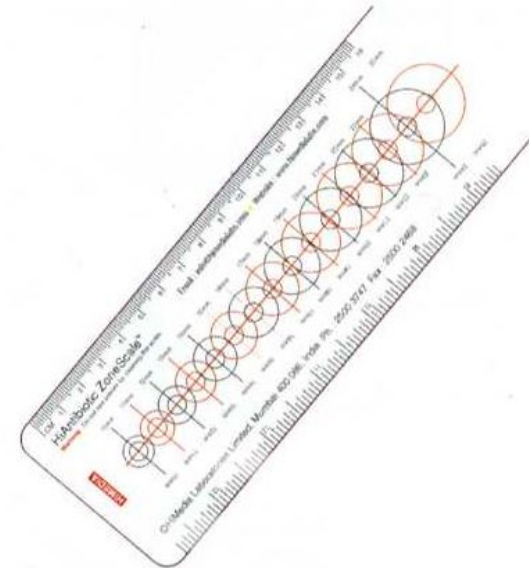
Учет результатов

- При определении чувствительности ДДМ **роящихся штаммов** протеза 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 триметопримом 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.

ДДМ



ДДМ



Определение чувствительности к противогрибковыми препаратами

- Диски предназначены для определения чувствительности дрожжеподобных грибов рода **Кандида к:**
 - амфотерицину В
 - нистатину
 - клотримазолу
 - флуконазолу
 - итраконазолу
 - кетоконазолу

Определение чувствительности к противогрибковыми препаратами

- **Диски подлежат хранению в плотно закрытых флаконах, и сухом, защищенном от света месте, при температуре 2 - 6°C.**
- **Поскольку диски с противогрибными препаратами не являются самостерилизующимися, необходимо бранши пинцета перед извлечением диска провести над пламенем горелки и остудить.**
- **При соблюдении перечисленных правил срок хранения дисков - 12 месяцев (указан на этикетке).**

Техника постановки анализа

Питательная среда

- Рекомендуется использовать агаризованную среду Сабуро с рН не ниже 6,0. Для дисков с амфотерицином В, нистатином и клотримазолом может быть использована среда МИЛ.
- Среду расплавляют на водяной бане, охлаждают до 50 ~ 60°C и разливают по 20 мл в чашки Петри. Готовые чашки со средой рекомендуется хранить в холодильнике при температуре 2 - 6°C, чтобы предупредить высыхание среды. Срок хранения - не более 7 суток.
- Если на поверхности среды есть конденсат, необходимо подсушить чашки со средой в термостате.

Техника постановки анализа

Приготовление инокулюма

- **Готовят взвесь 24 — 48 часовой культуры гриба в изотоническом растворе хлорида натрия по оптическому стандарту мутности 5 ЕД (без пересчета на размер клетки гриба). Готовую взвесь разводят изотоническим раствором хлорида натрия в 10 раз**

Инокуляция

- **Около 1 — 2 мл взвеси наносят на поверхность чашки с питательной средой и покачиванием чашки равномерно распределяют взвесь по всей поверхности среды. Пипеткой удаляют избыток взвеси и приоткрытые чашки подсушивают при комнатной температуре 15 минут.**

Техника постановки анализа

Нанесение дисков

- Диски располагают по поверхности агара на равном расстоянии друг от друга и плотно прижимают к среде. Не следует помещать на чашку более 5 дисков.

Преддиффузия

- При использовании дисков с флуконазолом чашки оставляют закрытыми на 30 минут на столе при комнатной температуре (до 20°C); при использовании дисков с итраконазолом и кетоконазолом чашки с дисками помещают в холодильник (2 - 6°C) на 1 час; при использовании дисков с амфотерицином В, нистатином и клотримазолом в холодильник на 2 часа.

Инкубация

- Чашки с дисками инкубируют в термостате при 25 - 27°C в течение 40 - 48 часов.

Учет результатов по диаметру зоны подавления роста культуры

Противогрибковый препарат в диске	Диаметр зон (мм) подавления роста культур		
	R	I	S
Амфотерицин В	<14		≥14
Нистатин	<18		≥18
Клотримазол	<12		≥12
Флуконазол	≤19	20-28	≥29
Итраконазол	≤13	14-18	≥19
Кетоконазол*	≤19	20-25	≥26

*Предварительные
данные

Определение чувствительности анаэробных бактерий (методом элюции из диска с оценкой по пограничной концентрации).

- **Необходимое количество дисков (табл.) с антибиотиками вносят в пробирку с 5 мл. тиогликолевой среды. Через 2 часа после завершения диффузии антибиотика в питательную среду в пробирки вносят 2 капли суточной культуры. Пробирки встряхивают, инкубируют 48 часов при 37°C в аэробных условиях и учитывают результаты.**
- **Необходимы *два контроля*:**
 - а) тиогликолевая среда без культуры**
 - в) тиогликолевая среда с культурой**

Необходимое количество ДИСКОВ

Антибиотик	Содержание препарата в диске (мкг)	Количество дисков на 5 мл. среды	Конечные концентрации антибиотиков
Пенициллин	6 (10 ЕД)	1	1,2 (2 ЕД)
Ампициллин	10	2	4
Карбенициллин	100	3	60
Цефалексин	30	2	12
Левомецетин	30	2	12
Тетрациклин	30	1	6
Эритромицин	15	1	3
Клиндомицин	2	4	1,6
Метронидазол	80	1	16

Учет результатов

Чувствительными считают штаммы, не выросшие при данной концентрации антибиотиков или дающие мутность <50% по сравнению с контролем.

Определение чувствительности микроорганизмов со сложными питательными потребностями

- **Определение чувствительности микроорганизмов со сложными питательными потребностями является методически одной из наиболее трудных задач, так как 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. При оценке необходимости определения чувствительности микроорганизмов этой группы к АБП необходимо объективно оценить соотношение стоимости и эффективности исследований, 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.**

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°C.

АБП для *S. pneumoniae*, группы “viridans” и β-гемолитических стрептококков

Источник выделения	<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus</i> spp. (группа “viridans”)	<i>S. pyogenes, S. agalactiae</i> и другие бета-гемолитические стрептококки
Нестерильные локусы	<p>А) Препараты выбора</p> <ul style="list-style-type: none"> • Скрининг на пенициллинорезистентность (диск 1 мкг оксациллина) • Эритромицин • Линкомицин <i>или</i> Клиндамицин • Тетрациклин <i>или</i> Доксициклин • Ко-тримоксазол <p>Б) Дополнительные АБП</p> <ul style="list-style-type: none"> • Пенициллин* • Цефотаксим* <i>или</i> Цефтриаксон* • Левофлоксацин 	<ul style="list-style-type: none"> • Нет 	<p>А) Препараты выбора</p> <ul style="list-style-type: none"> • Эритромицин • Клиндамицин <p>Б) Дополнительные АБП</p> <ul style="list-style-type: none"> • Хлорамфеникол • Левофлоксацин

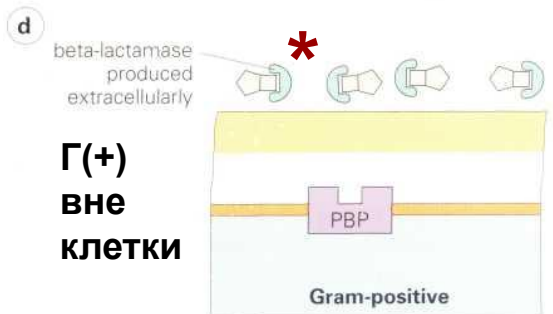
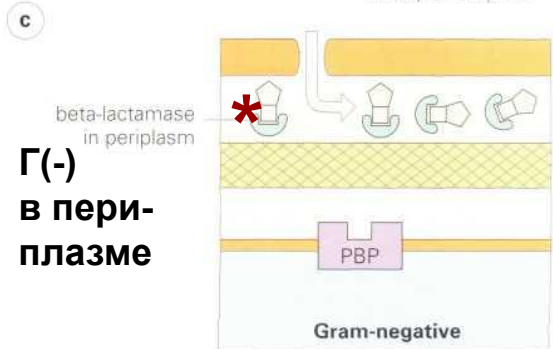
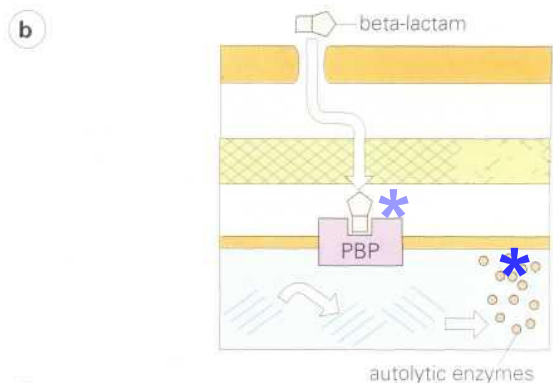
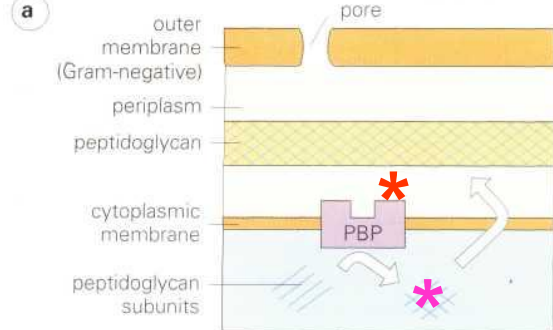
АБП для *S. pneumoniae*, группы “viridans” и β -гемолитических стрептококков

Кровь, ликвор	А) Препараты выбора <ul style="list-style-type: none">• Скрининг на пенициллинорезистентность (диск 1 мкг оксациллина)• Пенициллин*• Цефотаксим* (цефтриаксон*)• Карбапенемы*• Ванкомицин• Левофлоксацин• Хлорамфеникол• Рифампицин	А) Препараты выбора <ul style="list-style-type: none">• Пенициллин*• Цефотаксим* или Цефтриаксон*• Клиндамицин• Хлорамфеникол	А) Препараты выбора <ul style="list-style-type: none">• Эритромицин• Клиндамицин• Хлорамфеникол• Левофлоксацин
--------------------------	---	---	--

Streptococcus pneumoniae

- **Бета-лактамы антибиотики** (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-лактамам обусловлен изменением пенициллинсвязывающих белков (ПСБ) клеточной стенки.** В результате ступенчатых мутаций уменьшается сродство ПСБ к бета-лактамам.

S. pneumoniae



Г(-)
в пери-
плазме

Г(+)
вне
клетки

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

Streptococcus pneumoniae

- При лечении инфекций дыхательных путей, вызванных штаммами *S. pneumoniae* с промежуточным уровнем резистентности к пенициллину, бета-лактамы 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-лактамам было проведено подразделение штаммов по источникам выделения (инфекции дыхательных путей, ликвор) и пересмотрены критерии оценки чувствительности к амоксициллину, цефотаксиму и цефтриаксону.

Streptococcus pneumoniae

- Следует обратить внимание на несколько важных особенностей определения чувствительности *S.pneumoniae*:
- невозможность определения чувствительности к бета-лактамам (пенициллину, аминопенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам) ДДМ
- невозможность определения чувствительности *S.pneumoniae* к АБП методом разведений в агаре

Streptococcus pneumoniae

- Определение чувствительности пневмококков к пенициллину и другим бета-лактамам 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:
- чувствительные и умеренно-резистентные
- резистентные штаммы пневмококков.
- **Определение МПК** пенициллина и других бета-лактамов методом разведений в бульоне или с помощью **Е-тестов** у штаммов, отнесенных ко второй группе по результатам скрининга.

Критерии чувствительности *S.pneumoniae*

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
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

Критерии чувствительности *S.pneumoniae*

Цефтриаксон (при менингите)	–	–	–	–	≥ 2	1	$\leq 0,5$
Цефепим	–	–	–	–	≥ 4	2	≤ 1
Цефепим (при менингите)	–	–	–	–	≥ 2	1	$\leq 0,5$
Имипенем	–	–	–	–	≥ 1	0,25–0,5	$\leq 0,12$
Меропенем	–	–	–	–	≥ 1	0,5	$\leq 0,25$
Эртапенем	–	–	–	–	≥ 4	2	≤ 1

Критерии чувствительности *S. pneumoniae*

- При оценке чувствительности к бета-лактамам 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 пенициллинорезистентности у штаммов пневмококков.
- Штаммы, чувствительные к пенициллину, следует считать чувствительными ко всем бета-лактамам антибиотикам.
- При подозрении на наличие пенициллинорезистентности по результатам теста с оксациллином необходимо определить МПК пенициллина и других бета-лактамов антибиотиков методом серийных разведений в бульоне.
- Критерии интерпретации результатов определения МПК применимы только для метода серийных разведений в бульоне.

Критерии чувствительности *S.pneumoniae*

МАКРОЛИДЫ И ЛИНКОЗАМИДЫ

Эритромицин	15	≤ 15	16–20	≥ 21	≥ 1	0,5	$\leq 0,25$
Кларитромицин	15	≤ 16	17–20	≥ 21	≥ 1	0,5	$\leq 0,25$
Азитромицин	15	≤ 13	14–17	≥ 18	≥ 2	1	$\leq 0,5$
Линкомицин	15	< 17	17–20	≥ 21	> 8	4–8	≤ 2
Клиндамицин	2	≤ 15	16–18	≥ 19	≥ 1	0,5	$\leq 0,25$

Критерии чувствительности *S. pneumoniae*

ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Тетрациклин	30	≤18	19–22	≥23	≥8	4	≤2
Офлоксацин	5	≤12	13–15	≥16	≥8	4	≤2
Левифлоксацин	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
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	1/19–2/3 8	≤0,5/9,5
Рифампицин	5	≤16	17–18	≥19	≥4	2	≤1
Ванкомицин	30	–	–	≥17	–	–	≤1
Линезолид	30	–	–	≥21	–	–	≤2

Скрининг пенициллинорезистентности *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, карбапенемов) методами серийных разведений в бульоне или с помощью E-тестов.

Скрининг резистентности *S. pneumoniae*

- **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 резистентности микроорганизмов к АБП этой группы.**

Скрининг резистентности *S. pneumoniae*

- 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:
- **MLSB** – перекрестная устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам и стрептограминам В, обусловленная метилированием мишени действия препаратов.
- **M** – устойчивость к 14-ти и 15-членным макролидам (сохранении чувствительности к 16-ти членным макролидам, линкозамидам и стрептограминам), обусловленная активным выведением АБП.

Скрининг резистентности *S. pneumoniae*

- **Фторхинолоны.** Традиционные фторхинолоны (пефлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин и ломефлоксацин) не являются адекватными для лечения пневмококковых инфекций, соответственно **оценивать чувствительность** к этим препаратам **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 наблюдаются полной перекрестной резистентности возникает **необходимость включения в исследование всей группы**

Скрининг резистентности *S. pneumoniae*

- **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.**

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 удастся 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 цефалоспорином III поколения (цефотаксиму и цефтриаксону), IV поколения (цефепиму) и карбапенемам. Однако критерии интерпретации результатов определения чувствительности в настоящее время установлены только для **цефотаксима и цефтриаксона**.

Streptococcus spp. группа «viridans»

- **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 зеленыящих 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

- Среди стрептококков выделяют различные серологические группы по Лансфельд (А, В, С, 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 достоверные случаи устойчивости к АБП этой группы описаны в последние годы. Не описана устойчивость к ванкомицину.

Определение чувствительности бета-гемолитических стрептококков

- 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 антибиотикорезистентности возможно определение чувствительности к хлорамфениколу и левофлоксацину.
- Для бета-гемолитических стрептококков, выделенных из стерильных локусов необходимо определять чувствительность ко всем вышеперечисленным препаратам одновременно.

Критерии чувствительности

Streptococcus spp. (кроме *S.pneumoniae*)

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

1 – штаммов *S. agalactiae*, устойчивых к пенициллину не описано
 2 – критерии диско-диффузионного метода применимы только для β-гемолитических стрептококков

Критерии чувствительности

Streptococcus spp. (кроме *S.pneumoniae*)

МАКРОЛИДЫ И ЛИНКОЗАМИДЫ

Эритромицин	15	≤ 15	16–20	≥ 21	≥ 1	0,5	$\leq 0,25$
Кларитромицин	15	≤ 16	17–20	≥ 21	≥ 1	0,5	$\leq 0,25$
Азитромицин	15	≤ 13	14–17	≥ 18	≥ 2	1	$\leq 0,5$
Клиндамицин	2	≤ 15	16–18	≥ 19	≥ 1	0,5	$\leq 0,25$

Критерии чувствительности *Streptococcus* spp. (кроме *S.pneumoniae*)

ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Тетрациклин	30	≤18	19–22	≥23	≥8	4	≤2
Офлоксацин ³	5	≤12	13–15	≥16	≥8	4	≤2
Левифлоксацин	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

3 – критерии диско-диффузионного метода и метода серийных разведений применимы только для β-гемолитических стрептококков

Определение чувствительности *Haemophilus influenzae*

Питательные среды

- Для определения чувствительности *Haemophilus* spp. необходимо использовать только **специальную питательную среду НТМ** (*Haemophilus Test Medium*), содержащую необходимые для гемофил факторы роста. Данная среда доступна из коммерческих источников. Однако **ее можно приготовить на основе среды Мюллера-Хинтона** в лаборатории.
- Среду готовят на основе бульона или агара Мюллера-Хинтон. После растворения основы в нее добавляют
- дрожжевой экстракт (до конечной концентрации 5 мг/мл)
- 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.

Определение чувствительности *Haemophilus influenzae*

- В подготовленную для автоклавирования среду на 1 л вносят 30,0 мл основного раствора гематина.
- После автоклавирования и охлаждения основы до 48–50⁰С 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 - 50⁰С среду асептически вносят также раствор тимидина.

Определение чувствительности *Haemophilus influenzae*

- ***Haemophilus spp.*** характеризуются природной чувствительностью к большинству распространенных антибиотиков, в том числе, 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.

Определение чувствительности *Haemophilus influenzae*

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

Выявление ампициллинорезистентности *H.influenzae*

- Для выявления ампициллинорезистентности у гемофильной палочки в рутинной лабораторной практике достаточно определения чувствительности к ампициллину ДДМ и теста на продукцию β -лактамаз с нитроцефином.
- Эти два теста позволяют подразделить штаммы на ампициллиночувствительные, бета-лактамазопродуцирующие ампициллинорезистентные (чувствительные к ингибиторозащищенным пенициллинам и цефалоспорином II–IV поколений) и БЛНАР, которые следует расценивать как резистентные к ингибиторозащищенным пенициллинам и некоторым цефалоспорином.
- При этом тестирование с диском, содержащим ингибиторозащищенные пенициллины, например амоксициллин/клавуланат, не позволяет отличить БЛНАР от ампициллиночувствительных штаммов *H.influenzae*.

Определение резистентности *Haemophilus influenzae*

- **Макролидные антибиотики** отличаются невысоким уровнем активности в отношении *Haemophilus* spp., при этом между ними выявляются незначительные различия (наиболее активен азитромицин).
- 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 органах и тканях оказываются недостаточными для обеспечения эрадикации патогена.
- Учитывая приведенные факты обоснованность критериев чувствительности *H. influenzae* к азитромицину и кларитромицину вызывает сомнения.

Определение резистентности *Haemophilus influenzae*

- **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.

АБП для определения чувствительности *H.influenzae*

Препараты выбора	Дополнительные АБП
<ul style="list-style-type: none">• Ампициллин• Ампициллин/сульбактам <i>или</i> Амоксициллин/клавулана <i>т и/или</i>• Тест с нитроцефином для выявления продукции бета-лактамаз	<ul style="list-style-type: none">• Тетрациклин <i>или</i> Доксициклин• Ко-тримоксазол• Хлорамфеникол• Фторхинолоны• Цефотаксим <i>или</i> цефтриаксон

Критерии чувствительности *H.influenzae*

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ¹							
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
Цефуросим	30	≤16	17–19	≥20	≥16	8	≤4
Цефотаксим	30	–	–	≥26	–	–	≤2

Критерии чувствительности *H.influenzae*

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			$\leq 0,5$
Эртапенем	10			≥ 19			$\leq 0,5$

1. Для прогнозирования чувствительности к бета-лактамам 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 цефалоспорином II поколения

Критерии чувствительности *H.influenzae*

МАКРОЛИДЫ

Кларитромицин	15	≤10	11–12	≥13	≥32	16	≤8
Азитромицин	15	–	–	≥12	–	–	≤4

ХИНОЛОНЫ

Ципрофлоксацин	5	–	–	≥21	–	–	≤1
Офлоксацин	5	–	–	≥16	–	–	≤2
Левифлоксацин	5	–	–	≥17	–	–	≤2
Спарфлоксацин					–	–	≤0,25
Моксифлоксацин	5	–	–	≥18	–	–	≤1
Гатифлоксацин	5	–	–	≥18	–	–	≤1

Критерии чувствительности *H.influenzae*

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	1/19–2/3 8	≤0,5/9, 5

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

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 (GC Agar Base, VBL) и 1% комплексной питательной добавки (КПД) (PolyVitex, BioMerieux или собственного приготовления) без гемоглобина. При тестировании карбапенемов и клавулановой кислоты необходимо использовать добавку, не содержащую цистеин.

Определение чувствительности *Neisseria gonorrhoeae*

В КПД входят следующие компоненты:

- Глюкоза 100 г
- L-цистеингидрохлорид 25,9 г
- L-глутамин 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
- $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,02 г
- Парааминобензойная кислота 0,013 г
- Тиамина гидрохлорид 3 г

Определение чувствительности *Neisseria gonorrhoeae*

- Все ингредиенты растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и затем доводят объём 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°C 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-лактамы 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 цефалоспорином III поколения, что позволяет рассматривать цефалоспорины III поколения (цефотаксим и цефтриаксон) как препараты выбора для лечения гонореи.

Определение чувствительности *Neisseria gonorrhoeae*

- 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 цефалоспорином II-III поколений.

Критерии чувствительности *N.gonorrhoeae*

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Ø зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		P	У/P	Ч	P	У/P	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ¹							
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

¹ – Критерии интерпретации результатов чувствительности по МПК применимы только для метода серийных разведений в агаре

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

Критерии чувствительности *N.gonorrhoeae*

ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ

Тетрациклин³	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

3 – Выявление устойчивости к тетрациклину свидетельствует о резистентности к доксициклину

Определение чувствительности *Enterococcus* spp

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

Определение чувствительности *Enterococcus* spp

- При решении вопроса о необходимости определения чувствительности *Enterococcus* spp. к АБП крайне **важно оценить клиническую значимость этих микроорганизмов.**
- **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.

АБП для определения чувствительности *Enterococcus* spp

<i>Enterococcus</i> spp., выделенные при тяжелых и генерализованных инфекциях	<i>Enterococcus</i> spp., выделенные при ИМП
<ul style="list-style-type: none">• Пенициллин <i>или</i> ампициллин.• Стрептомицин (выявление высокого уровня резистентности)• Гентамицин (выявление высокого уровня резистентности)• Ванкомицин.• Линезолид	<ul style="list-style-type: none">• Пенициллин <i>или</i> ампициллин• Ципрофлоксацин• Норфлоксацин• Нитрофурантоин• Фосфомицин

Определение чувствительности *Enterococcus* spp

- ***Пенициллин и ампициллин.*** Данные антибиотики являются препаратами выбора для лечения энтерококковых инфекций. Между пенициллином и ампициллином отмечается перекрестная резистентность. Полученные результаты можно экстраполировать на ингибиторо-защищенные 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.**

Определение чувствительности *Enterococcus* spp

- **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 1000 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.

Определение чувствительности *Enterococcus* spp

- **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.

Определение чувствительности *Enterococcus* spp

Другие препараты.

В отношении ванкомицинрезистентных энтерококков, несмотря на отсутствие убедительных данных, возможно оценивать активность к 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 чувствительности *Enterococcus* spp.

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

Критерии чувствительности *Enterococcus* spp.

ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ							
Хлорамфеникол	30	≤ 12	13–17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Эритромицин	15 мг	≤ 13	14–22	≥ 23	≥ 8	4–1	$\leq 0,5$
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
Левифлоксацин	5	≤ 13	14–16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2
Гатифлоксацин	5	≤ 14	15–17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2

Критерии чувствительности *Enterococcus* spp.

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	$\geq 1000^1$ $\geq 2000^2$	–	$< 1000^1$ $< 2000^2$
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

Скрининг резистентности к аминогликозидам у энтерококков.

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: 1000 мг/л.

Скрининг резистентности к аминогликозидам у энтерококков

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 инокулом до конечной концентрации 5×10^5 КОЕ/мл.
- Инкубацию проводят при температуре 35⁰С, для гентамицина – в течение полных 24 ч, для стрептомицина – до 48 ч.

Скрининг резистентности к аминогликозидам у энтерококков

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

Определение ванкомицинрезистентных *Enterococcus* spp.

- 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..

Определение ванкомицинрезистентных *Enterococcus* spp.

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 35⁰С в течение полных 24 ч.

Определение ванкомицинрезистентных *Enterococcus* spp.

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

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.
- ***Бета-лактамы.*** Препаратами выбора для лечения стафилококковых инфекций (вызванных как *S.aureus*, так и КОС) являются бета-лактамные антибиотики.

Определение чувствительности *Staphylococcus* spp

- Устойчивость стафилококков связана либо с продукцией бета-лактамаз, либо с наличием пенициллино-связывающего белка - ПСБ2а.
- Выявление и дифференцировка 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:
 - - 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.

Определение чувствительности *Staphylococcus* spp

- - 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 (метициллинорезистентные стафилококки).

Определение чувствительности *Staphylococcus* spp

- **Определение чувствительности *Staphylococcus* spp. к бета-лактамам АБП должно включать выполнение двух тестов:**
- **- определения чувствительности к бензилпенициллину или выявления продукции бета-лактамаз (пенициллиназ);**
- **- определения чувствительности к оксациллину или выявления ПСБ2а или кодирующего его гена *tesA*.**

АБП для определения чувствительности *Staphylococcus spp*

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты ¹⁾
<ul style="list-style-type: none">• Бензилпенициллин <i>или</i> тест с нитроцефином для выявления бета-лактамаз• Оксациллин• Эритромицин• Линкомицин <i>или</i> клиндамицин• Ципрофлоксацин <i>или</i> левофлоксацин• Гентамицин• Ванкомицин	<ul style="list-style-type: none">• Тетрациклин <i>или</i> Доксициклин• Рифампицин• Фузидин• Триметоприм/сульфаметокс азол• Хлорамфеникол• Линезолид• Нитрофураны²⁾

1) - рекомендуется тестировать при высокой частоте метициллинорезистентности в ЛПУ, или при выявлении резистентности к препаратам первого ряда.

2) - рекомендуется тестировать при инфекциях мочевыводящих путей

Критерии чувствительности *Staphylococcus spp*

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ ¹⁾							
Бензилпенициллин	10 ЕД	≤28	–	≥29	≥0,25	–	≤0,12
Оксациллин ²⁾	1	≤10	11–12	≥13	≥4	-	≤2
• <i>S. aureus</i>	1	≤17	-	≥18	≥0,5	-	≤0,25
• КОС							

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.

Критерии чувствительности *Staphylococcus spp*

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
Нетилмцин	30	≤12	13–14	≥15	≥32	16	≤8
Амикацин	30	≤14	15–16	≥17	≥64	32	≤16

Критерии чувствительности *Staphylococcus spp*

ХИНОЛОНЫ

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
Левифлоксацин	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

Критерии чувствительности *Staphylococcus spp*

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
Азитромицин	15	≤13	14–17	≥18	≥8	4	≤2

Критерии чувствительности *Staphylococcus spp*

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
-------------------	-----------	----------	----------	------------	------------	-------------	-----------

Критерии чувствительности *Staphylococcus spp*

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	4–16	≤2
Линезолид	30	–	–	≥21	–	–	≤4

Выявление продукции бета-лактамаз (пенициллиназ)

Суть метода:

определение чувствительности к бензилпенициллину

Методы:

1. При использовании ДДМ **Недостаток:** возможно получение результатов ложной чувствительности, т.к. синтез бета-лактамаз у этого микроорганизма является индуцибельным процессом (продукция фермента усиливается после контакта с антибиотиком).
2. Метод 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 с нитроцефином

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

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.
- 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.
- критерии метициллинрезистентности для *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков различны.

Определение чувствительности к оксациллину

Интерпретация результатов тестирования

- Штаммы стафилококков, резистентные к оксациллину, должны рассматриваться как устойчивые ко всем бета-лактамам АБП.
- Результаты определения чувствительности стафилококков к оксациллину и к другим бета-лактамам АБП могут быть противоречивыми, при этом результаты определения чувствительности к оксациллину являются решающими.
- Определять чувствительность стафилококков к бета-лактамам 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.
- При получении сомнительных результатов необходимо использовать дополнительные методы (скрининг на агаре, прямое выявление гена *tesA* 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-лактамам 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 уреидопенициллинам, но чувствителен к оксациллину, ингибиторозащищенным пенициллинам и цефалоспорином 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-лактамам антибиотикам, для лечения необходимо использовать препараты других групп, из которых препаратами выбора считаются гликопептиды.

Скрининг метициллинрезистентности

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.
- 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).

Скрининг МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Инокуляция

1) Метод I (микропипеткой):

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

2) Метод II (с помощью тампона):

- стерильный ватный тампон погружают в пробирку со стандартизированной суспензией (0,5 по Мак-Фарланду), затем отжимают избыток влаги о стенку пробирки;
- культуру наносят тампоном либо на ограниченную поверхность (диаметром 10 - 15 мм), либо на всю поверхность агара с оксациллином в чашке Петри.

Скрининг метициллинрезистентности

Инкубация

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

Учет результатов

- 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*.

Скрининг метициллинрезистентности

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 метициллинрезистентных стафилококков.

Определение резистентности к другим антибиотикам

- **Макролиды и линкозамиды.**

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

- **Фторированные хинолоны.**

- - левофлоксацин, спарфлоксацин, моксифлоксацин и др. Между перечисленными подгруппами препаратов нет полной перекрестной резистентности.

- **Аминогликозиды.** 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.

- **Ванкомицин.** Появление сообщений об устойчивости стафилококков к гликопептидам требует внимательного отношения к оценке результатов исследования.

Определение чувствительности *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);
 - -возбудителей кишечных инфекций (*Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Escherichia spp.*);
 - -возбудителей 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 чувствительности *Enterobacteriaceae* значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Ø зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
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

Критерии чувствительности *Enterobacteriaceae* значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

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

Критерии чувствительности *Enterobacteriaceae* значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

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

Критерии чувствительности *Enterobacteriaceae* значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

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
Нетилмцин	30	≤12	13-14	≥15	≥32	16	≤8
Амикацин	30	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16

Критерии чувствительности *Enterobacteriaceae* значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

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
Левифлоксацин	5	≤13	14-16	≥17	≥8	4	≤2
Гатифлоксацин	5	≤14	15-17	≥18	≥8	4	≤2

Критерии чувствительности *Enterobacteriaceae* значения диаметров зон подавления роста (мм) и МПК (мг/л) АБП

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

Enterobacteriaceae – возбудители внекишечных инфекций

- Основу лечения внекишечных инфекций, вызываемых представителями семейства *Enterobacteriaceae*, составляют **β-лактамы антибиотики**. Выбор препаратов и принципы интерпретации результатов основываются на данных о природной активности антибиотиков.
- Препаратами альтернативными β-лактамам являются аминогликозиды и фторхинолоны.
- Оценивать чувствительность возбудителей внекишечных инфекций к тетрациклинам, хлорамфениколу и ко-тримоксазолу нецелесообразно.
- Препараты относятся к бактериостатикам и существенно уступают по эффективности антибиотикам других групп, среди микроорганизмов к ним широко распространена резистентность.

АБП для *Enterobacteriaceae*, возбудителей внекишечных инфекций

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
<ul style="list-style-type: none">• Ампициллин• Ингибиторозащищенный пенициллин (ампициллин/сульбактам <i>или</i> амоксициллин/клавуланат)• Цефалоспорин III поколения (цефотаксим <i>или</i> цефтриаксон)• Цефтазидим• Гентамицин• Фторхинолон	<ul style="list-style-type: none">• Карбапенем (имипенем <i>или</i> меропенем)• Цефепим• Цефоперазон/сульбактам• Тикарциллин/клавуланат• Второй цефалоспорин III поколения (цефтриаксон <i>или</i> цефотаксим)• Цефкситин• Амикацин• Цефуроксим• Оральные цефалоспорины II – III поколений

Enterobacteriaceae – возбудители внекишечных инфекций

Характеристика препаратов первого ряда.

Ампициллин. 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.

Enterobacteriaceae – возбудители внекишечных инфекций

- ***Цефотаксим* или *цефтриаксон***. Оба цефалоспорины практически идентичны по своим антибактериальным свойствам. Результаты оценки 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**.

Enterobacteriaceae – возбудители внекишечных инфекций

- **Гентамицин.** Результаты, получаемые при оценке чувствительности к гентамицину, нельзя экстраполировать на другие аминогликозиды.
- **Фторхинолон.** Применительно к *Enterobacteriaceae* существенных различий в уровне антибактериальной активности между цiproфлоксацином, 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.

Enterobacteriaceae – возбудители внекишечных инфекций

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 носит перекрестный характер между отдельными представителями группы, то в исследование достаточно включать лишь один препарат.

Enterobacteriaceae – возбудители внекишечных инфекций

- ***Цефепим***. Антибиотик обладает значительно большей устойчивостью к хромосомным бета-лактамазам класса С в сравнении с цефалоспоридами 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.

Enterobacteriaceae – возбудители кишечных инфекций

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

Enterobacteriaceae – возбудители внекишечных инфекций

- При выдаче результатов тестирования микроорганизмов группы *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia* необходимо указывать, что при монотерапии генерализованных инфекций, вызванных данными возбудителями, цефалоспоридами 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 *Enterobacteriaceae* 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.

Enterobacteriaceae – возбудители кишечных инфекций

- Интерпретация результатов оценки резистентности к **хинолонам**, как правило не вызывает затруднения. Штаммы, устойчивые к нефторированным хинолонам, могут сохранять чувствительность к фторированным.
- Значительная часть штаммов, устойчивых к нефторированным хинолонам, сохраняет чувствительность к фторхинолонам. На практике можно считать, что между ципрофлоксацином, офлоксацином, пефлоксацином и ломефлоксацином имеется полная перекрестная резистентность.

Enterobacteriaceae – возбудители 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.

АБП для *Enterobacteriaceae*, при кишечных инфекциях

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
<ul style="list-style-type: none">• Ампициллин• Ко-тримоксазол• Норфлоксацин <i>или</i> Ципрофлоксацин <i>или</i> Офлоксацин.	<ul style="list-style-type: none">• Цефотаксим <i>или</i> Цефтриаксон• Хлорамфеникол• Тетрациклин <i>или</i> Доксициклин

Enterobacteriaceae – возбудители кишечных инфекций

- 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 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.

АБП для возбудителей внебольничных уроинфекций

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
<ul style="list-style-type: none">• Ампициллин• Амоксициллин/клавулат• Ко-тримоксазол• Норфлоксацин• Ципрофлоксацин <i>или</i> офлоксацин.	<ul style="list-style-type: none">• Фосфомицин• Нитрофурантоин• Цефуроксим• Цефотаксим <i>или</i> цефтриаксон• Гентамицин• Амикацин

Выявление БЛРС у штаммов

Enterobacteriaceae (фенотипическими методами)

- **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 которые по данным предварительного тестирования проявляют пониженную чувствительность хотя бы к одному из цефалоспоринов III поколения**

Выявление БЛРС у штаммов

Enterobacteriaceae (фенотипическими методами)

- **Скрининг проводится в ходе рутинной практики.**
- **Для эффективного скрининга в рутинное микробиологическое исследование необходимо включать несколько цефалоспориновых антибиотиков**
- **Наиболее чувствительными к гидролизу БЛРС считаются цефподоксим и цефтазидим.**
- **При отсутствии возможности тестирования **цефподоксима**: цефотаксим, цефтриаксон и цефтазидим.**

Выявление БЛРС у штаммов

Enterobacteriaceae (фенотипическими методами)

- **Чем больше цефалоспоринов использовано для тестирования, тем более достоверными будут результаты выявления БЛРС.**
- **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

Принцип метода:

- Основан на ингибции БЛРС клавуланатом. При постановке этих тестов проводится сравнение чувствительности исследуемых микроорганизмов к различным цефалоспорином 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)
- цефподоксимом (10 мкг)
- цефотаксим + клавуланат или цефтазидим + клавуланат (30/10 мкг)
- цефподоксим + клавуланат (10/10 мкг).
- В исследование целесообразно включать одновременно и диски с цефотаксимом и диски с цефтазидимом и их комбинациями с клавуланатом.

Тесты, подтверждающие продукцию БЛРС

Постановка теста

- **Методика приготовления микробной взвеси и инокуляции чашек с агаром стандартные. На поверхность агара накладывают диски с цефалоспоридами 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.**

Тесты, подтверждающие продукцию БЛРС

Контроль качества

- Для контроля качества исследования необходимо использовать два штамма (отрицательный и положительный контроли):
- - **отрицательный контроль**. При тестировании контрольного штамма *E. coli*, не продуцирующего бета-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 двойных дисков

Принцип метода

Метод предполагает использование доступных коммерческих дисков с цефалоспорином III поколения и с амоксициллином/клавуланатом.

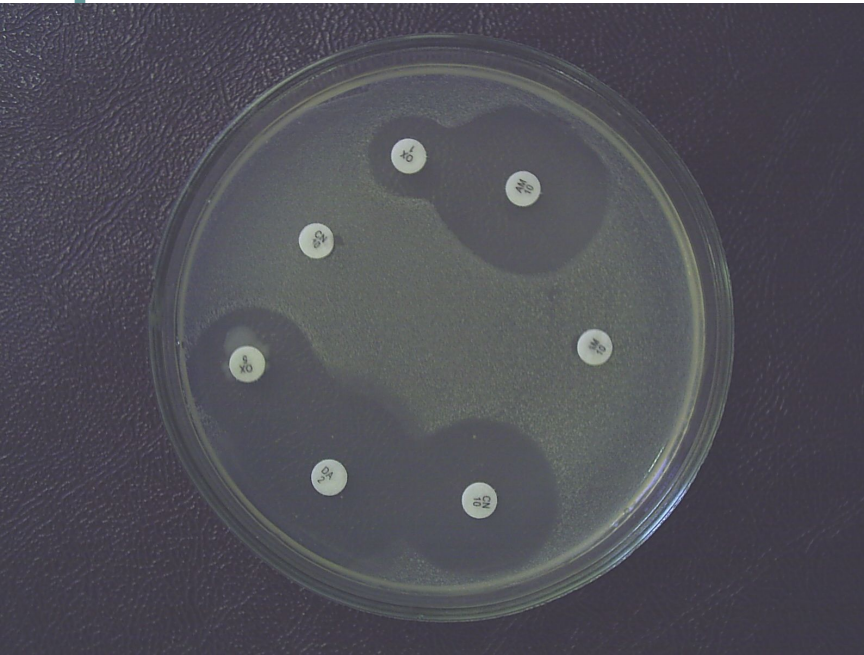
- Метод "двойных дисков" представляет собой вариант классического ДДМ определения чувствительности, который позволяет выявить продукцию БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с каким-либо цефалоспорином III поколения напротив диска, содержащего клавулановую кислоту (синергизм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

Метод двойных дисков

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.

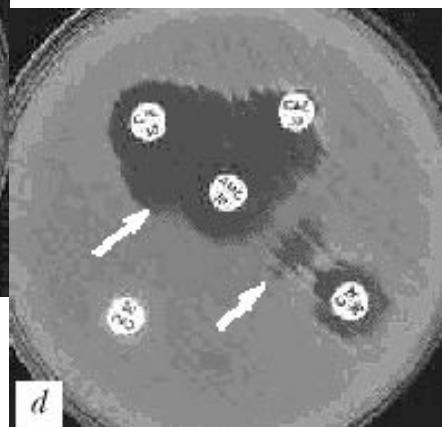
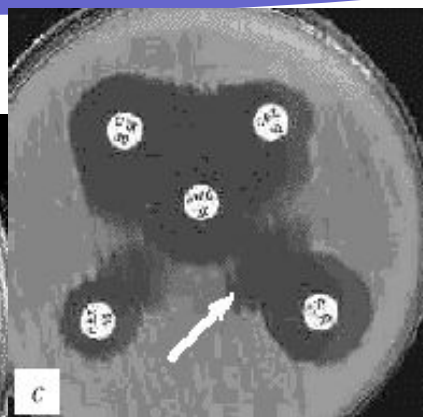
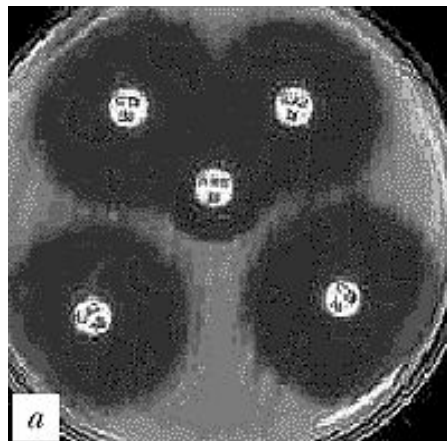
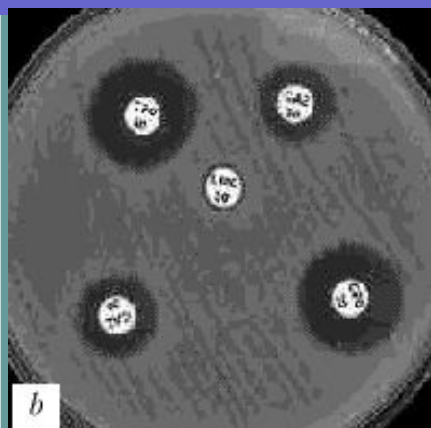
МЕТОД ДВОИНЫХ ДИСКОВ



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**
- 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.

Метод двойных дисков



Отрицательные результаты:

- a)** *E. coli* (БЛРС-);
- b)** *E. cloacae* (гиперпродукция AmpC).

Положительные результаты:

- c), d)** *K. pneumoniae* (БЛРС+).

Обозначения дисков:

- АМС - амоксициллин/клавулановая кислота (20/10 мкг);
- САЗ - цефтазидим (30 мкг);
- СТХ - цефотаксим (30 мкг);
- СРО - цефпиром (30 мкг).

БЛРС

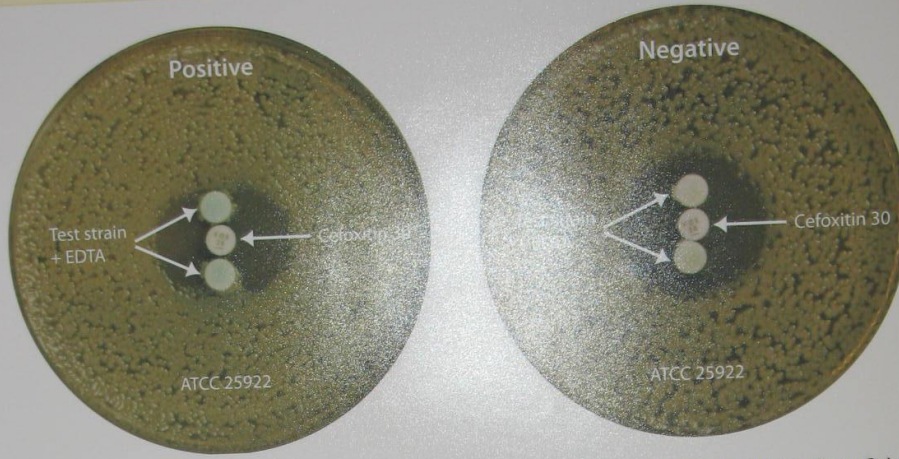


Figure 1: EDTA-based AmpC Disk Test. The test is based on the ability of Tris-EDTA (Sigma-Aldrich, Corp., St. Louis, MO) to permeabilize a bacterial cell and release β -lactamases into the external environment. A 30 μ g cefoxitin disk (BD Diagnostic Systems, Sparks, MO) is placed on a Mueller Hinton Agar plate (Oxoid) inoculated with a semi-confluent inoculum of cefoxitin-susceptible *E. coli* ATCC 25922. The test-microbe is applied on a blank disk covered with Tris-EDTA and then placed on the inoculated agar surface. After 16-20 hours incubation, the plates are examined for indentation of the inhibition zone, indicating enzymatic inactivation of cefoxitin (positive result), or the absence of indentation, indicating no significant inactivation of cefoxitin (negative result) by class C enzymes. The plates are showing (A) a positive result and (B) a negative result.

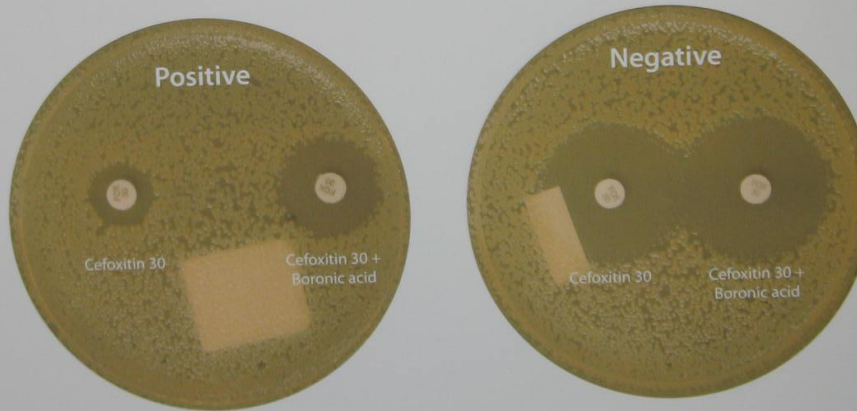
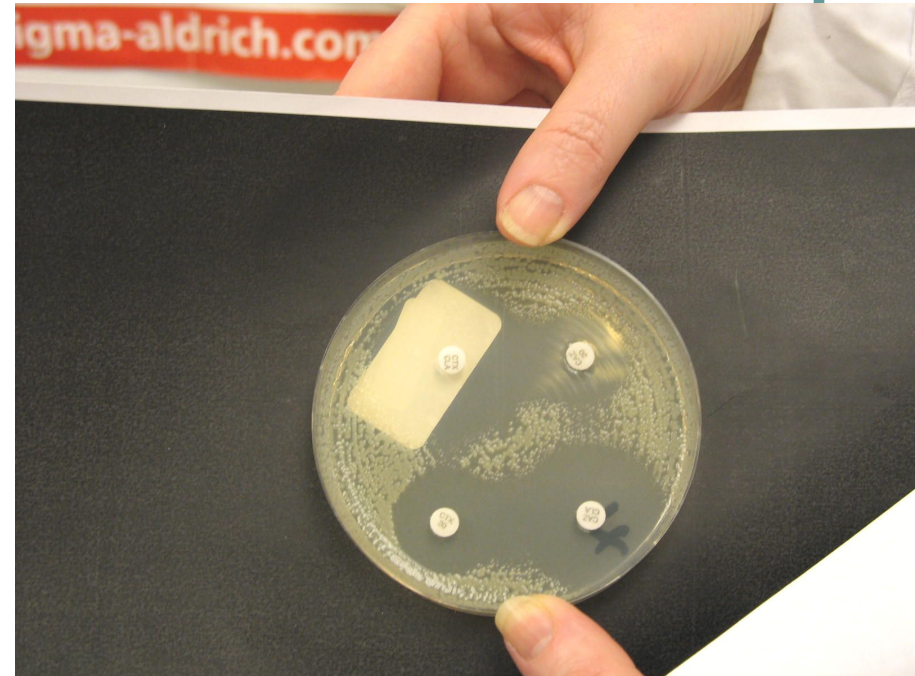


Figure 2: Inhibitor based disk test using phenylboronic acid. Semi-confluent inoculum of the test microbe on a Mueller Hinton agar with a 30 μ g cefoxitin disk (FOX 30) and a 30 μ g cefoxitin disk + boronic acid (Sigma-Aldrich). After 16 hours incubation, an inhibition zone diameter around the disk containing cefoxitin and boronic acid that is 5 mm or more than the zone diameter around the cefoxitin disk is considered positive for AmpC-production. The plates are showing (A) a positive result and (B) a negative result.



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

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

Определение чувствительности *P.aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и других НГОБ

- При определении чувствительности НГОБ 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 НГОБ, предпочтение следует отдавать методам серийных разведений.

Перечень антибиотиков для НГ ОБ

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
<ul style="list-style-type: none">• Цефтазидим• Цефепим• Имипенем <i>или</i> Меропенем• Гентамицин• Амикацин• Ципрофлоксацин	<ul style="list-style-type: none">• Цефоперазон• Азтреонам• Цефоперазон/сульбактам• Ампициллин/сульбактам (для <i>Acinetobacter spp.</i>)• Тобрамицин• Тикарциллин/клавуланат (для <i>S.multophila</i>)• Триметоприм/сульфаметоксазол (для <i>S.multophila</i>)

Определение чувствительности НГОБ

- **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.

Определение чувствительности НГОБ

- ***Ципрофлоксацин***. Среди фторхинолонов ципрофлоксацин является препаратом выбора при лечении рассматриваемой группы инфекций.
- ***Меропенем, имипенем***. Меропенем характеризуются наибольшим уровнем активности в отношении рассматриваемой группы микроорганизмов, имипенем ему несколько уступает. Целесообразность включения обоих карбапенемов объясняется отсутствием между ними в некоторых случаях перекрестной резистентности.

Определение чувствительности НГОБ

- **Дополнительные препараты.** 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 распространенным среди *P. aeruginosa* и, в силу этого комбинированные препараты, не обладают существенными преимуществами с сравнении с исходными антибиотиками.

Определение чувствительности НГОБ

- **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.

Определение чувствительности НГОБ

- **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.**

Критерии чувствительности *P.aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и НГОБ

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)			МПК (мг/л)		
		Р	П	Ч	Р	П	Ч
БЕТА-ЛАКТАМЫ							
Ампициллин/сульбактам	10/10	≤11	12–14	≥15	≥32/16	16/8	≤8/4
Тикарциллин/клавулатат ²⁾ <i>P.aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp.	75/10 75/10	≤14 ≤14	– 15–19	≥15 ≥20	≥128/ 2	– –	≤64/ 2
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

1. ДДМ стандартизирован только для *P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. Для других НФБ использовать методы серийных разведений.

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

Критерии чувствительности *P.aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и НГОБ

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

Критерии чувствительности *P.aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и НГОБ

АМИНОГЛИКОЗИДЫ

Гентамицин	10	≤12	13–1 4	≥15	≥16	8	≤4
Тобрамицин	10	≤12	13–1 4	≥15	≥16	8	≤4
Нетилмицин	30	≤12	13–1 4	≥15	≥32	16	≤8
Амикацин	30	≤14	15–1 6	≥17	≥64	32	≤16

Критерии чувствительности *P.aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и НГОБ

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
Левифлоксацин	5	≤13	14–16	≥17	≥8	4	≤2
Ломефлоксацин	10	≤18	19–21	≥22	≥8	4	≤2

Критерии чувствительности *P.aeruginosa*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. и НГОБ

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

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.
- Трудность в интерпретации результата при наличии у микроорганизмов нескольких детерминант устойчивости одновременно. Например, при продукции БЛРС и гиперпродукции хромосомных бета-лактамаз класса С устойчивость последних к клавуланату маскирует присутствие БЛРС.

Контроль качества определения чувствительности

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.

Контроль качества определения чувствительности

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*.

Контроль качества определения чувствительности

- Из суточных культур указанных микроорганизмов готовят микробную взвесь, соответствующую по плотности 0,5 по стандарту Мак-Фарланда (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 качества определения чувствительности

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.

Контроль качества питательных сред

- Проверка pH агара 7,2 - 7,4.
- 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+} ($\text{Ca}^{2+} = 20 - 25$ мг/л и $\text{Mg}^{2+} = 10,0 - 12,5$ 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 вокруг диска с гентамицином должен быть в пределах 16 - 21 мм, а МПК гентамицина - в пределах 0,5 - 2,0 мкг/мл).

Контроль качества питательных сред

- **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.

Интегральный контроль качества определения чувствительности

- сопоставление результатов определения чувствительности 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

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

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 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.

Хранение контрольных штаммов

- 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 удастся получить при хранении в замороженном состоянии при температуре $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ и ниже в морозильной камере или в жидком азоте.
- Другой метод длительного хранения контрольных штаммов - в лиофилизированном виде.

Частота проведения контроля качества

- **Оптимально - 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.

Интерпретация результатов

- **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.**

Эпидемиологический надзор за резистентностью к АБП

Определение

- Эпидемиологический надзор за антимикробной резистентностью представляет собой систематический постоянный процесс сбора и анализа данных для количественной оценки распространенности антибиотикорезистентности 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.

Эпидемиологический надзор за резистентностью к АБП

- Созданию системы эпидемиологического надзора за антимикробной резистентностью на международном уровне уделяет достаточно большое внимание **Всемирная организация здравоохранения**, определяющая эпидемиологический надзор за антибиотико-резистентностью как одно из основных направлений Глобальной стратегии ВОЗ по сдерживанию антибиотикорезистентности.
- В Европе этой проблемой также активно занимается специальная Исследовательская группа по надзору за антимикробной резистентностью **ESCMID** (ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance - ESGARS), которая в 2004 г. издала рекомендации по проведению эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью.

Эпидемиологический надзор

Общие принципы

При эпидемиологическом надзоре за антибиотикорезистентностью микроорганизмов основное внимание следует уделять:

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

Эпидемиологический надзор

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.)

Эпидемиологический надзор

- **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.**

Эпидемиологический надзор

Виды эпидемиологического надзора

- Существуют два основных временных подхода к проведению эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью:
- **Постоянный** мониторинг данных по антибиотикорезистентности.
- **Специальные** (эпизодические) **эпидемиологические исследования** антибиотикорезистентности, касающиеся какой-либо отдельной проблемы.

Эпидемиологический надзор

- Выделяют два типа эпидемиологического надзора **по степени охвата:**

- **Всеобъемлющий (полный) эпидемиологический надзор** предусматривает исследование антибиотикорезистентности 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

- демографические данные пациентов,

- сведения о локализации инфекции,

- виде клинического материала и

- фенотипе резистентности.

Эпидемиологический надзор

- **Сигнальный (неполный) эпидемиологический надзор** подразумевает сбор данных на ограниченной территории или у определённой 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.

Эпидемиологический надзор

По методике выполнения:

- **Пассивный**, основанный на поступлении отчётов с мест (когда не предпринимается специальных усилий по получению данных из первоисточника);
- **Активный**, при котором затрачиваются регулярные усилия для получения данных по антимикробной резистентности из первоисточника.

Эпидемиологический надзор

В зависимости от **используемого подхода к сбору данных:**

- **Рутинный**, включающий регулярное, систематическое получение определённого набора данных;
- **Расширенный**, включающий получение дополнительных данных, в соответствии с заранее определённым планом

Эпидемиологический надзор

- **Эпидемиологический надзор за возникновением и распространением антибиотико-резистентности 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.**

Эпидемиологический надзор

Выбор штаммов микроорганизмов для включения в исследование

При проведении рутинного эпидемиологического надзора за антибиотико-резистентностью могут быть использованы следующие подходы:

- **определение чувствительности все штаммов определенного вида микроорганизмов**, выделенных из определенного клинического материала; используется для изучения динамики резистентности.
- **исследование определенного вида клинического материала** (полученного от пациентов с неэффективностью терапии). Используется для своевременного выявления возможного возникновения и распространения резистентности, представляющей потенциальную или теоретическую угрозу для данного региона или учреждения.

Эпидемиологический надзор

Принципы проведения эффективного эпидемиологического надзора

Для эффективного проведения эпидемиологического надзора на каждом уровне его проведения (локальном, региональном и т.д.) должен регистрироваться минимально необходимый объём 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.

Эпидемиологический надзор

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.

Эпидемиологический надзор

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, спинномозговая жидкость и пр.) имеют значительно более высокую ценность чем мазок с поверхности кожи и пр.**
- **Для некоторых микроорганизмов (*S. pneumoniae* или *H. influenzae*) исследование чувствительности штаммов, колонизирующих носоглотку, коррелирует с резистентностью штаммов, вызывающих инфекции (острый средний отит, синусит).**

Эпидемиологический надзор

- 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

Эпидемиологический надзор

Вид инфекции

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

Эпидемиологический надзор

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 общепринятыми стандартными микробиологическими методами.

Эпидемиологический надзор

- **Методы определения чувствительности**
- 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
 - и резистентный – Р),
 - **количественных показателей - диаметров зон подавления роста.**

Эпидемиологический надзор

- **Выбор набора АБП** для тестирования также **является** очень **важным**.
- В большинстве случаев для проведения рутинного эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью достаточно определения чувствительности к АБП, приведенным в списке препаратов первого ряда для тестирования различных видов микроорганизмов.
- При проведении эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью большое значение имеет **проведение лабораторией специальных тестов** для выявления **отдельных видов резистентности**
- детекция БЛРС,
- скрининг на агаре с оксациллином и солью для выявления MRSA и т.д.

Эпидемиологический надзор

- При наличии практической **необходимости** и **возможности**, а также **в целях научных исследований**, **набор АБП** для проведения эпидемиологического надзора за антибиотикорезистентностью **может быть увеличен**, в том числе 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.

Эпидемиологический надзор

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 цефалоспорином III поколения;
 - чувствительность *Klebsiella spp.*, *P. aeruginosa* к ампициллину
- тестирование необходимо повторить, а резистентный штамм должен быть сохранен и передан для дальнейшего исследования в специализированную микробиологическую лабораторию, занимающуюся изучением антибиотикорезистентности.
- **Методы молекулярно-генетического выявления резистентности** доказали свою эффективность в отношении некоторых возбудителей
 - определение *tesA*-гена с помощью ПЦР у штаммов стафилококков.

Эпидемиологический надзор

Методы оценки клонального родства штаммов

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

Эпидемиологический надзор

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

Эпидемиологический надзор

- Приведенные методы существенно **различаются** по таким характеристикам как
- **воспроизводимость,**
- **разрешающая способность,**
- **стоимость,**
- **трудоемкость проведения**
- **особенности интерпретации** результатов.
- По основным из приведенных характеристик (за исключением стоимости) генотипические методы обладают явными преимуществами.

Эпидемиологический надзор

- Для двух из генотипических методов (**PFGE** и **MLST – multilocus sequence typing**) 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 генетипических методов позволило выявить клоны некоторых резистентных микроорганизмов (**MRSA**, *S. pneumoniae*), распространение которых приняло глобальный характер.
- Основным недостатком PFGE и методов, основанных на секвенировании является их трудоемкость и высокая стоимость.
- К наиболее дешевым и простым в проведении относятся методы основанные на амплификации, однако они отличаются недостаточной воспроизводимостью.

Эпидемиологический надзор

Поддержание стандартов качества

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

Эпидемиологический надзор

Дополнительные сведения

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

Эпидемиологический надзор

- **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.);

Эпидемиологический надзор

- **дату поступления пациента;**
- **основные симптомы или особенности клинической картины заболевания;**
- **диагноз инфекции;**
- **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.**

Эпидемиологический надзор

Анализ и представление данных по антибиотикорезистентности

- Провести анализ больших объемов информации, собранной при проведении эпидемиологического мониторинга за антибиотикорезистентностью, без использования компьютерной техники невозможно.
- Были созданы специальные компьютерные программы для сбора, хранения и анализа данных по антибиотикорезистентности микроорганизмов.
- В частности компьютерная программа **WHONET**, рекомендованная ВОЗ, является бесплатной и свободно доступна в сети Интернет (версия для работы в операционной среде Windows).
- Более ранняя версия этой программы (для работы в операционной среде DOS) переведена на русский язык.

Эпидемиологический надзор

- Кроме того, существует множество коммерческих компьютерных программ, позволяющих создавать в микробиологической лаборатории базы данных, содержащие всю перечисленную выше необходимую информацию, анализировать ее и представлять результаты эпидемиологического мониторинга.
- Дополнительным преимуществом большинства из этих программ (включая WHONET) является **наличие встроенной экспертной системы, сигнализирующей о выявлении необычных фенотипов резистентности.**

Эпидемиологический надзор

- 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

Эпидемиологический надзор

Для лечебных учреждений амбулаторно-поликлинического профиля

- **Количество врачей, направляющих образцы для микробиологического исследования**
- **Численность обслуживаемого населения**
- **Среднее число посещений**
- **Количество микробиологических исследований**

Эпидемиологический надзор

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 MRSA 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 MRSA 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.).

Эпидемиологический надзор

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

Эпидемиологический надзор

- **Фенотип чувствительности** – при этом в анализ может быть включен повторный изолят данного вида микроорганизма, при условии доказанных значительных отличий в профиле его антибиотикочувствительности ($P \rightarrow Ч$ или $Ч \rightarrow P$) к какому-либо АБП, по сравнению с первым изолятом.
- Минимальные отличия в антибиотико чувствительности ($P \rightarrow П$, $П \rightarrow P$, $П \rightarrow Ч$ или $Ч \rightarrow П$), скорее всего являются проявлением фенотипической вариабельности экспрессии определенного механизма резистентности, или следствием некоторых методических проблем при определении чувствительности, не могут случить 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.

Эпидемиологический надзор

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. На основании данных о степени чувствительности (распределении значений МПК) можно рассчитать кумулятивные показатели чувствительности популяции штаммов к определенному АБП:
 - **МПК50,**
 - **МПК90** и
 - **диапазон значений МПК.**
- **МПК50** – это значение МПК, подавляющей 50% штаммов исследуемой популяции микроорганизмов.
- **МПК90** – это значение МПК, подавляющей 90% штаммов исследуемой популяции микроорганизмов.

Эпидемиологический надзор

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 определённой популяции пациентов, в течение определенного интервала времени и т.д.

Результаты эпидемиологического надзора

- **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 1000 дней пребывания в стационаре.
- По возможности, частоты резистентности должны быть представлены в виде числа случаев в определенной популяции в течение определённого промежутка времени.

Эпидемиологический надзор

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.

Эпидемиологический надзор

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.**

Эпидемиологический надзор

- 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 антибиотикорезистентности 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.



Благодарю
за
внимание

