

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ

ВСЕ, ЧТО ВЫ ВСЕГДА ХОТЕЛИ УЗНАТЬ

**М.В. Сухорукова**  
**19 мая 2023 г.**

**ЗАЧЕМ ОПРЕДЕЛЯТЬ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ  
МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИМИКРОБНЫМ  
ПРЕПАРАТАМ?**

# Оценка чувствительности к антибиотикам

## Прогноз эффективности терапии

### ЗАДАЧИ

- Выбор/коррекция АМТ для пациента
- Выбор терапии для будущих пациентов
  - протоколы эмпирической терапии
- Эпидемиологическое наблюдение за антибиотикорезистентностью в динамике

**на основании результатов рутинных исследований**

# Клинические категории чувствительности: определения

**S – Susceptible, standard dosing regimen /**

**Ч – Чувствительный при стандартном режиме дозирования:**

**высокая вероятность эффективности терапии при стандартном режиме дозирования АМП**

**«I» – Susceptible increased exposure**

**«У» – Чувствительный при увеличенной экспозиции**

**высокая вероятность эффективности терапии при увеличении экспозиции АМП путем коррекции режима дозирования или благодаря его концентрации в очаге инфекции**

**R – Resistant /**

**Р – Резистентный:**

**высокая вероятность терапевтической неудачи даже при увеличенной экспозиции антибиотика**

# ВЫБОР/КОРРЕКЦИЯ АМТ ДЛЯ ПАЦИЕНТА

## Результат микробиологического исследования

### ПРИМЕР

Бактериологическое исследование

Биоматериал: кровь

#### РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ:

	Выделенные микроорганизмы	Количество	Комментарий
1.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 <sup>8</sup> КОЕ/мл	Обнаружена карбапенемаза группы OXA-48 (молекулярный класс D)

Антибиотик	1. <i>K. pneumoniae</i> , продуцент карбапенемазы OXA-48		Комментарий
	МПК, мг/л	Клиническая категория	
Азтреонам		P	
Амикацин	2	Ч	Клинических доказательств эффективности монотерапии для недостаточно. При системных инфекциях следует назначать в комбинации с другими активными методами терапии.
Амоксициллин-клавуланат		P	
Гентамицин		P	
Имипенем		У	
Меропенем		P	
Пиперациллин-тазобактам		P	
Тигециклин	0,5		Активность тигециклина в отношении <i>K. pneumoniae</i> переменна. МПК ≤ ФК/ФД пограничного значения при режиме дозирования: 0,1 г нагрузочная доза, затем по 50 мг x 2 в/в. Формальная оценка клинической категории невозможна. МПК (0,5 мг/л) позволяет предположить возможность клинического использования.
Триметоприм-сульфаметоксазол		P	
Фосфомицин		Ч	
Цефепим		P	
Цефтазидим		P	
Цефтазидим-авибактам		Ч	
Ципрофлоксацин		P	
Эртапенем		P	

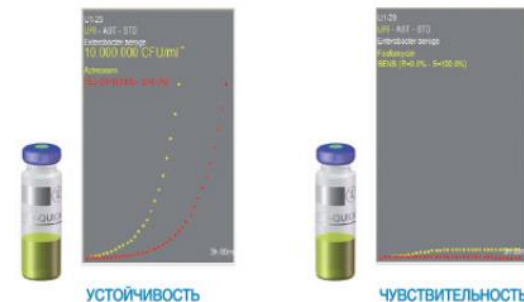
\*Ч – чувствительный при стандартном режиме дозирования,  
У – чувствительный при увеличенной экспозиции препарата,  
P – резистентный даже при увеличенной экспозиции препарата.

**Внимание:** *K. pneumoniae*, продуцент OXA-48! Возможна неэффективность терапии карбапенемами (по крайней мере, в виде монотерапии и в стандартных дозах).

**КАК МОЖНО ОЦЕНИТЬ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ  
К АНТИБИОТИКАМ?**

# Параметры оценки чувствительности

- Определение минимальной концентрации антибиотика, которая вызывает подавление видимого роста (**минимальная подавляющая концентрация, МПК**) или гибель (**минимальная бактерицидная концентрация, МБК**) исследуемого МО *in vitro* в бульонной культуре или на плотной питательной среде
  - *(некоторые методы, например, методы диффузии в агаре, позволяют оценивать МПК не напрямую, а косвенно)*
- Определение **скорости роста/отмирания** микробной культуры в присутствии заданной концентрации антибиотика
- Выявление определенных **факторов устойчивости** (с помощью фенотипических или молекулярно-генетических тестов)



# ПАРАМЕТРЫ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

- Минимальная подавляющая концентрация (МПК), мг/л – минимальная концентрация, подавляющая видимый рост исследуемого мо в бульонной культуре или на плотной питательной среде

ISO 20776-1:2019

ISO 20776-2:2019

и/или

- Ø зоны подавления роста, мм



# Учет и интерпретация результатов

## Таблицы пограничных значений

**Enterobacterales\*** Пограничные значения EUCAST, версия 13.0, действует с 01.01.2023

Цефалоспорины <sup>1</sup>	Пограничные значения МПК (мг/л)			Содержание в диске (мкг)	Пограничные значения диаметров зон подавления роста (мм)		
	Ч ≤	Р >	ЗТН		Ч ≥	Р <	ЗТН
Цефаклор (только при неосложненных ИМП)	НД	НД			НД	НД	
Цефадроксил (только при неосложненных ИМП)	16	16		30	12	12	
Цефалексин (только при неосложненных ИМП)	16	16		30	14	14	
Цефазолин (источник инфекции - мочевые пути), <i>E. coli</i> и <i>Klebsiella spp.</i> (кроме <i>K. aerogenes</i> )	0,001 <sup>2</sup>	4 <sup>2</sup>		30	50 <sup>A</sup>	20 <sup>A</sup>	
Цефепим	1	4		30	27	24	
Цефидерокол	2 <sup>3</sup>	2 <sup>3</sup>		30	22	22	18-22
Цефиксим (только при неосложненных ИМП)	1	1		5	17	17	
Цефотаксим (при всех инфекциях, кроме менингита)	1	2		5	20	17	
Цефотаксим (менингит)	1	1		5	20	20	

**КАКИЕ МЕТОДЫ СУЩЕСТВУЮТ ДЛЯ ОЦЕНКИ  
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ?**

# МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

## ➤ Диффузионные

- диско-диффузионный (ДДМ)

∅ зоны подавления роста, мм

- градиентный

МПК, мкг/мл

## ➤ Последовательных разведений

- разведений в агаре

МПК, мкг/мл

- разведений в бульоне

МПК, мкг/мл

- микроразведений в бульоне

МПК, мкг/мл

МПК, мкг/мл

## ➤ Автоматизированные системы

- модификация метода микроразведений в бульоне

МПК (?)

категория Ч-У-Р

## ➤ Дополнительные методы выявления механизмов

резистентности

категория Ч-У-Р (?)

наличие отдельных

факторов Р

# МЕТОД РАЗВЕДЕНИЙ В БУЛЬОНЕ

Концентрация антибиотика X (мг/л)

Контроль

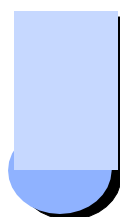
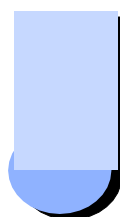
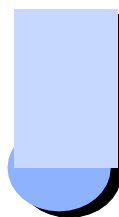
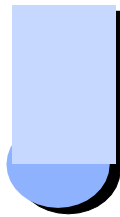
0

0,5

1

2

4



Рост микроорганизма

8

16

32

64



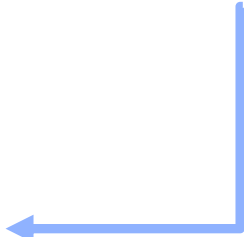
Роста нет

МПК

# МЕТОДЫ РАЗВЕДЕНИЙ: ДОСТОИНСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ

- + Количественный
- + Стандартизированный
- + Высокая воспроизводимость
- + Гибкий
- + Широкий диапазон концентраций
- + Возможность тестирования большинства клинически значимых бактерий
- Трудоемкость
- Необходимость использования химических субстанций антибиотиков
- Визуальный учет результатов – “*trailing end points*” (ингибиторы синтеза фолиевой кислоты, тетрациклины)
- Высокие требования к квалификации персонала

Крайне редко применяются  
в клинических микробиологических  
лабораториях



# Коммерческие системы для определения МПК

- Trek Diagnostic Systems Ltd.
  - 16 типов панелей
- MIKROLATEST® MIC
  - 6 типов панелей
- MICRONAUT AST-SYSTEME, Merlin-diagnostika
  - 4 типа панелей

Возможность работы в «ручном режиме» и использования специального оборудования (автоматизированного и визуального учета результатов\_



# АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ

- Модификация метода микроразведений в бульоне
  - метод пограничных концентраций
  - определение МПК (двойные последовательные разведения)
- Специальное оборудование (термостатирование, анализ роста, учет результатов)
- Программное обеспечение – анализ, хранение результатов

# АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ

## ➤ В основе – определении МПК

Принцип – рост исследуемого микроорганизма в присутствии различных концентраций АБ

- 2-х последовательных
- отдельных концентраций (пограничных)

## Метод

- Модифицированный метод микроразведений в бульоне
- Анализ кривых роста





# АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ: VITEK®2

Детекция бактериального роста осуществляется турбидиметрически при 660 нм

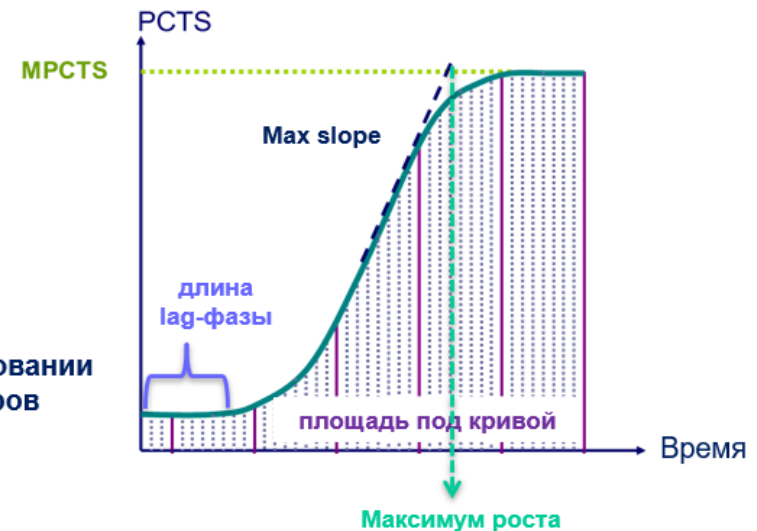
- ✗ 1 до 6 лунок на АМП/тест в Гр(+) картах
- ✗ 3 до 6 лунок на АМП/тест в Гр(-) картах

Каждая лунка считывается 45 раз каждые 15 минут



**МПК**

← определяется на основании данных параметров



**MPCTS** = максимальный процент изменения величины светопоглощения (RTU)

**Max slope** = максимальная скорость роста в log-фазе

Построение кривых роста культуры происходит на основании сравнения значений интенсивности светопоглощения (RTU) тестируемого образца по отношению к контрольной лунке.

# АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ: ВИТЕК®2

## Результат микробиологического исследования

### Пример

Сведения об изоляте

1 из 25

Подтверждено

Идентификационный номер: 2211259

Происхождение организма: Лаборант

Микроорганизм: *K. pneumoniae*

Выводы AES: **Согласованный**

Фенотипы, отобранные для проверки: Ничего не обнаружено

AST-N360

Antibiotic	MIK	INT	Antibiotic	MIK	INT
<input type="checkbox"/> БЛРС	ОТР	-	<input type="checkbox"/> Цефтазидим	>32	R
<input type="checkbox"/> Ампициллин	>16	R	<input type="checkbox"/> Цефепим	>16	R
<input type="checkbox"/> Амоксициллин/ клавулановая кислота			<input type="checkbox"/> Эртапенем	>4	R
Моча	>16	R	<input type="checkbox"/> Меропенем		
Другое	>16	R	Менингит	>8	R
<input type="checkbox"/> Цефотаксим			Другое	>8	R
Менингит	>32	R	<input type="checkbox"/> Амикацин	>32	R
Другое	>32	R	<input type="checkbox"/> Гентамицин	>8	R

Комментарии к карте:

Комментарии к расширенной функции управления отчетами:

**Внутренние комментарии:**

Колистин  
Проверьте результат методом микроразведений в бульоне.

Критерии оценки чувствительности к тигециклину установлены только для *E. coli* и *S. koseri*. Активность тигециклина в отношении других *Enterobacterales* различается: от недостаточной в отношении *Proteus spp.*, *Morganella morganii* и *Providencia spp.* до вариабельности в отношении других видов.

Пограничные значения аминопенициллинов для *Enterobacterales* установлены для внутривенного применения. Пограничные значения для оценки эффективности пероральной терапии действительны только при неосложненных инфекциях мочевых путей.

У всех изолятов с МПК меропенема >0,125 мг/л рекомендуется проводить скрининг карбапенемаз. Использование карбапенемов для терапии инфекций, вызванных штаммами-продцентами карбапенемаз, может быть неэффективной, по крайней мере в виде монотерапии и в стандартных дозах, не смотря на клиническую категорию чувствительности.

У изолятов, резистентных к карбапенемам, скрининг БЛРС может быть затруднен.

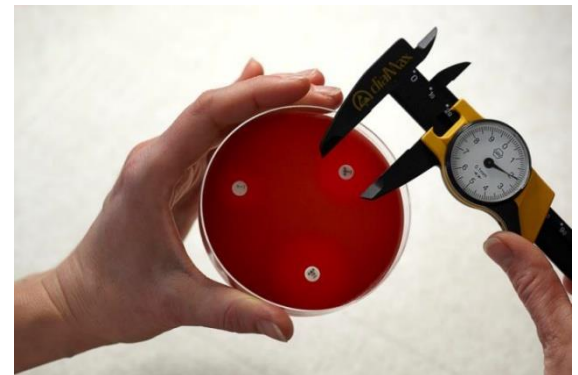
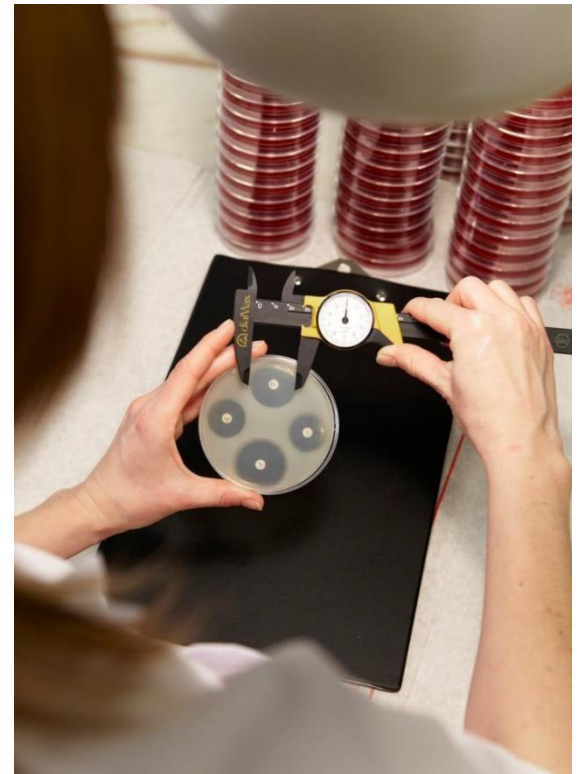
Тесты с нетипичными результатами:

# АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ: ДОСТОИНСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ

- + Специальное оборудование и расходные материалы – ↓ контроль качества (при соблюдении условий транспортировки, хранения и пр.)
- + Программное обеспечение – автоматизированный учет результатов (корректная визуализация) / экспертная оценка
- + ↓ Трудозатраты
- + ↓ Требования к квалификации персонала
- + **! Наибольшая скорость получения результатов**
- Невозможность тестирования всех клинически значимых видов бактерий
- Фиксированный набор антибиотиков
- Ограниченный диапазон разведений антибиотиков
- Качественный результат: S/I/R
- Не всегда позволяет выявить резистентные штаммы
- Относительно высокая стоимость тестирования

# ДИСКО-ДИФФУЗИОННЫЙ МЕТОД

- Стандартизированное *in vitro* тестирование
- В качестве источника АМП – бумажный диск
- Агар инокулируется взвесью тестируемого микроорганизма
- В результате диффузии АМП в агар – зона подавления роста
- Чувствительность определяется измерением диаметра зоны подавления роста (мм) вокруг диска, содержащего антибиотик
- Непрямой качественный метод. Критерии интерпретации – диаметр зоны подавления роста, мм → S/I/R

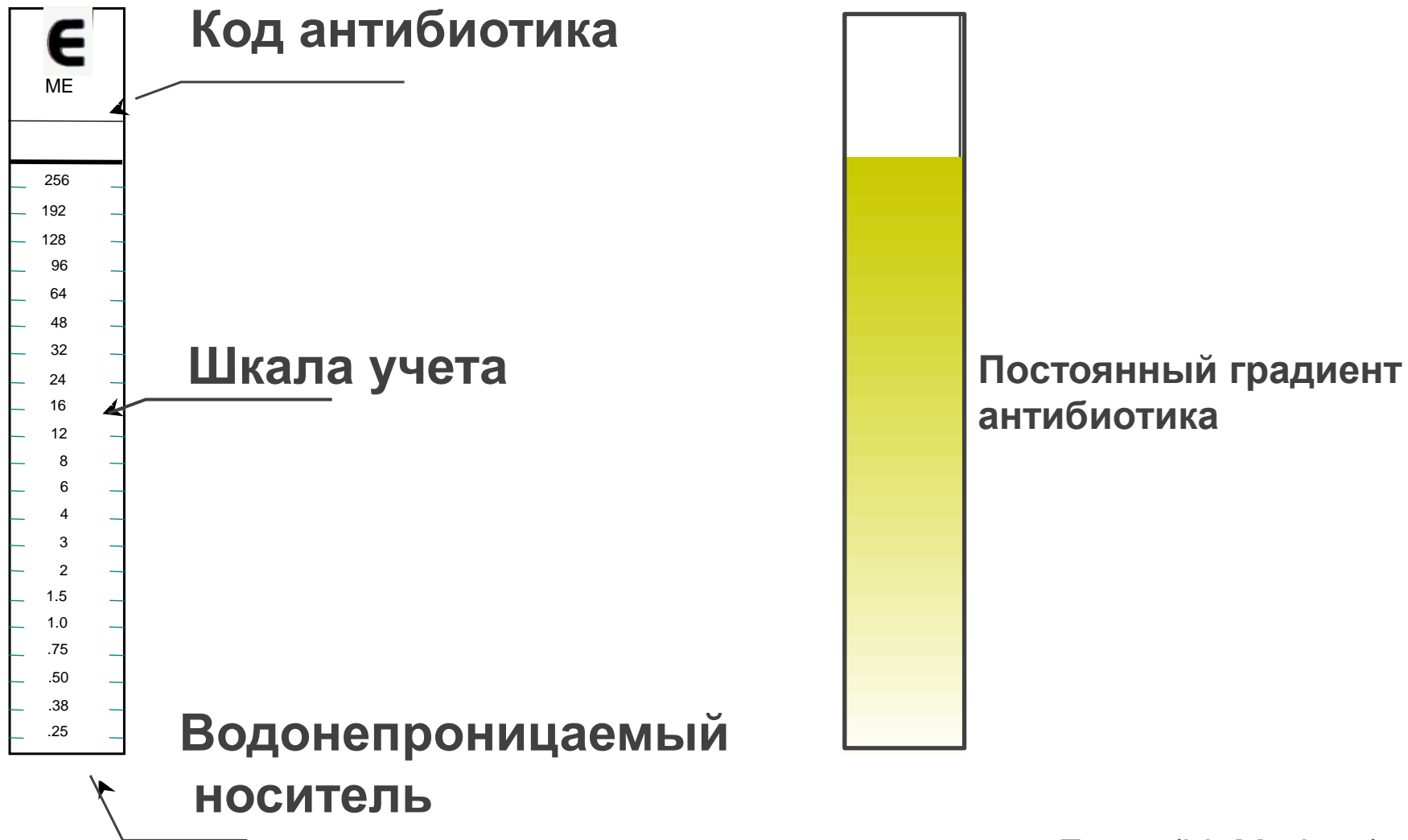


# ДДМ: ДОСТОИНСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ

- + Стандартизация метода
  - + Высокая воспроизводимость
  - + Гибкость
    - комбинации антибиотиков
    - различное количество и наборы антибиотиков
    - широкие возможности выявления механизмов резистентности
  - + Относительно низкая стоимость
  - + Технологическая доступность
  - + Возможность использования автоматизированных систем учета и интерпретации результатов
- 
- Непрямой полуколичественный метод
  - Используется только для быстро растущих микроорганизмов
  - Необходимость строгого контроля качества



# МЕТОД ГРАДИЕНТНОЙ ДИФФУЗИИ

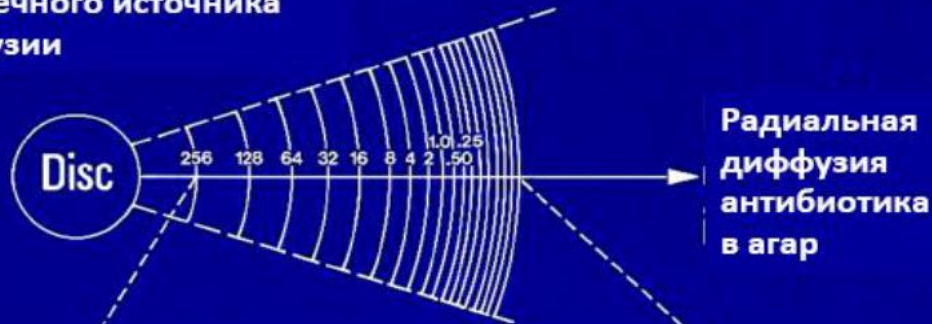


E-test (bioMerieux)  
M.I.C.E. (OXOID)  
MTS (Liofilchem)

# МЕТОД ГРАДИЕНТНОЙ ДИФфуЗИИ

## Схематическая иллюстрация градиента концентраций

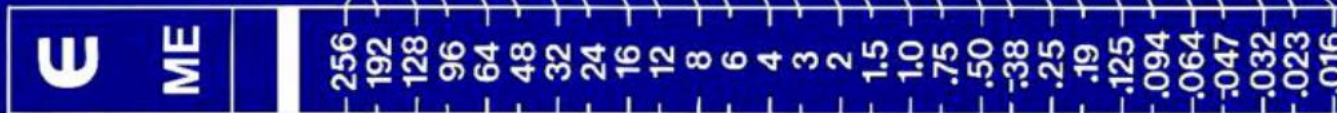
Динамический градиент  
из точечного источника  
диффузии



Допустимая ширина зоны 15 мм

УМНОЖЕНИЕ X3

15 МИК – последовательных разведений равномерно нанесены на ось 45 мм



Стабильный готовый градиент на твердом носителе

ДДМ

Градиентный метод  
1 тест = 15 пробирок

# МЕТОД ГРАДИЕНТНОЙ ДИФФУЗИИ: УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТА



Диапазон  
концентраций

- + Высокая воспроизводимость
- + Количественный (определение МПК)
- + Стандартизация
- + Гибкость
- + Возможность тестирования большинства клинически значимых видов бактерий
- + Широкий диапазон концентраций
- + Технологическая простота
- Высокая стоимость



**КАКОЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
ЛУЧШЕ?**

# КАКОЙ АВТОМОБИЛЬ ЛУЧШЕ?



**КАК ВЫБРАТЬ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ  
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ  
ДЛЯ СВОЕЙ ЛАБОРАТОРИИ?**

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ МПК – НЕОБХОДИМОСТЬ

## Когда нужно определить МПК

- **если нельзя использовать другой метод**
- **если значение МПК может повлиять на принятие клинического решения**
- **для разрешения сомнительных результатов / технической неопределенности при проведении других методов**

# Когда необходимо определять МПК

Фосфомицин:	<i>Enterobacterales</i> , кроме <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus</i> spp.	Метод разведений в агаре
Ципрофлоксацин:	<i>Salmonella</i> (особенно <i>S. typhi</i> )	
Тигециклин:	<i>Enterobacterales</i> , кроме <i>E. coli</i> , <i>Citrobacter koserii</i>	
Колистин:	Все грам«-» бактерии	Метод микроразведений в бульоне
β-лактамы:	<i>S. pneumoniae</i> ,  стрептококки группы <i>Viridans</i>	Метод микроразведений в бульоне
Гликопептиды, липопептиды	<i>Staphylococcus</i> spp.	Методы разведений
Далбаванцин, оритаванцин	Стрептококки групп <i>Viridans</i> , <i>A, B, C, G</i>	
Все АМП	<i>Neisseria</i> spp., <i>H. pylori</i> , <i>M. tuberculosis</i> , анаэробы, грибы	

# Когда необходимо определять МПК

- Определенные виды микроорганизмов

*Neisseria spp.*, *Helicobacter pylori*, анаэробы, грибы, микобактерии\*

- Определенные виды инфекционных заболеваний:

эндокардит, сепсис, менингит

(напр., *Haemophilus influenzae* / меропенем / менингит)\*

- Многоцентровые эпидемиологические исследования

# Оценка чувствительности к антибиотикам

## Прогноз эффективности терапии

### ЗАДАЧИ

- Выбор/коррекция АМТ для пациента
- Выбор терапии для будущих пациентов
  - протоколы эмпирической терапии
- Эпидемиологическое наблюдение за антибиотикорезистентностью в динамике

**на основании результатов рутинных исследований**



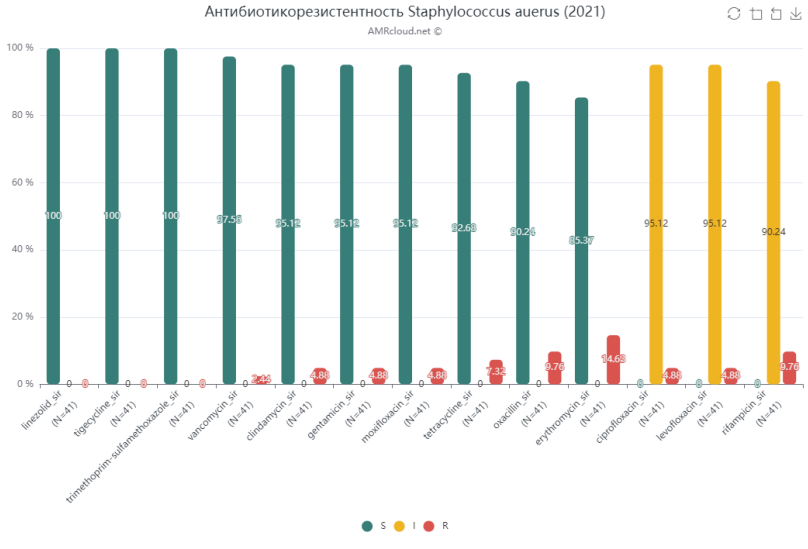
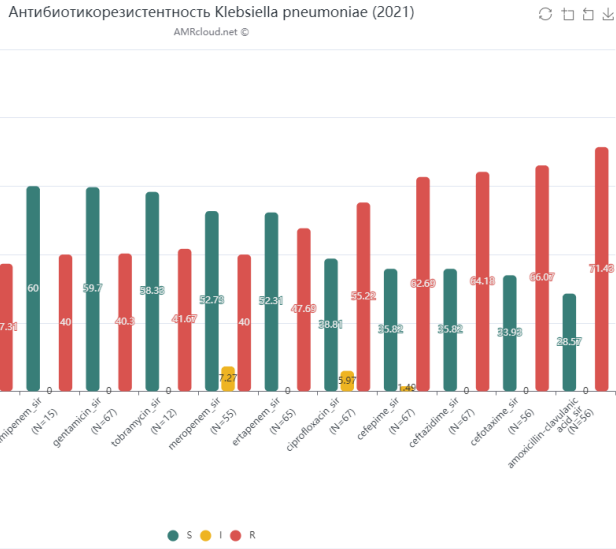
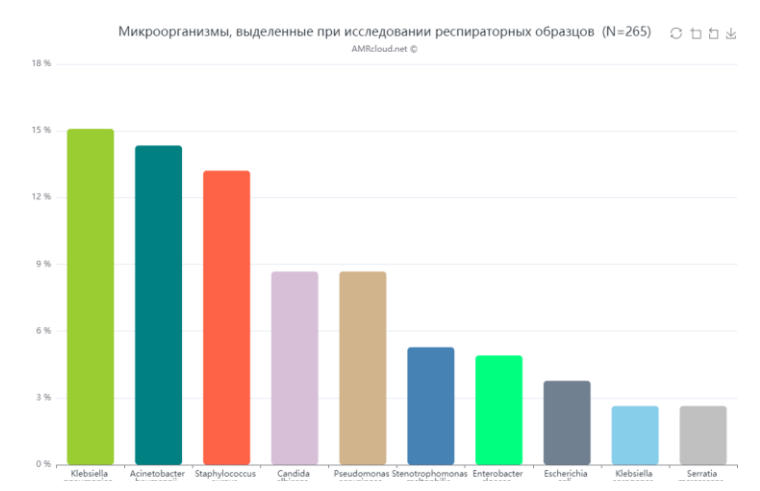


# Экспорт из Vitek-2 в AMRcloud

<https://amrcloud.net>

Created: 12-01-2022 16:28  
 НИИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко

The screenshot shows an Excel spreadsheet with the following columns: AM, AMK, C, CL, CO, CP, CR, CS, CT, CU, CV, CW, CX, CY, CZ, DA. The data includes patient IDs, names, collection dates, and test results for various antibiotics.



# ВЫБОР МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

## Комбинации 2-х и возможно более методов

### С УЧЕТОМ:

- Задачи лаборатории (референтная, диагностическая, мониторинг антибиотикорезистентности)
- Профиль медицинской(их) организации(й), отделений, пациентов
- Кадры и нагрузка лаборатории

# КОМБИНАЦИЯ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

## ОСНОВНОЙ

Диско-диффузионный

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ

МПК (коммерческая система)

Градиентный

Автоматизированная система

# КОМБИНАЦИЯ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

## ОСНОВНОЙ

Диско-диффузионный

Автоматизированная система

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ

МПК (коммерческая система)

Градиентный

# КОМБИНАЦИЯ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

## ОСНОВНОЙ

Диско-диффузионный

Автоматизированная система

МПК (коммерческая система)

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ

Автоматизированная система  
(скорость)

Диско-диффузионный

Градиентный  
(некот. м-мы резистентности,  
сомнительные результаты и т.п.)

**ВОЗМОЖНО ПАРАЛЛЕЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ

## ВЫЗОВЫ И ЗАДАЧИ ВРЕМЕНИ

- Следование актуальному профессиональному стандарту
- Использование адекватных методов определения чувствительности
- Комбинации методов, возможность определить МПК
- Выявление основных механизмов резистентности, имеющих наиболее важное клиническое и эпидемиологическое значение
- Экспертная оценка получаемых результатов