

Среды и диски для определения чувствительности к антибиотикам

Disks and Media for Antimicrobial Susceptibility Testing

Вопрос

Глубокоуважаемые коллеги, на каких средах и какими дисками в бактериологической лаборатории стационара должны ставиться тесты на чувствительность возбудителей госпитальных инфекций к основным антибиотикам, применяемым в реанимационных отделениях, для того чтобы этим данным можно было доверять?

С.В. Шаболин,
зав. ОРИТ, МСЧ № 9, Пермь

Ответ

О.У. Стецюк

НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск, Россия
Эл. почта: olga@antibiotic.ru

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам необходимо проводить во всех случаях, когда эффективность антибактериальных препаратов невозможно предсказать на основании только диагноза инфекции и/или идентификации возбудителя, выделенного в чистой культуре. Подавляющее большинство случаев инфекций у пациентов в *отделениях реанимации и интенсивной терапии* (ОРИТ) относятся именно к этой категории.

Кроме того, у пациентов в ОРИТ есть и другие особенности, что обуславливает необходимость обеспечения высокого качества и достоверности результатов определения чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам.

Во-первых, тяжесть состояния пациентов требует эмпирического назначения им максимально эффективной антибактериальной терапии с последующей быстрой коррекцией ее на основании результатов микробиологического исследования. Во-вторых, инфекции у этих пациентов часто носят нозокомиальный характер и вызываются штаммами возбудителей с различными механизмами резис-

тентности ко многим классам современных антибактериальных препаратов. Следовательно, необходим постоянный мониторинг резистентности нозокомиальных штаммов бактерий, вызывающих инфекции в ОРИТ, а также быстрое и качественное исследование чувствительности к антибиотикам выделенных у конкретного пациента штаммов микроорганизмов.

Для получения результатов определения чувствительности, которые можно будет адекватно интерпретировать и опираться на них при назначении антибактериальной терапии, является **строгая стандартизация всех этапов определения чувствительности** в бактериологической лаборатории.

Стандарты определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, подробно описывающие показания к проведению исследований, все этапы тестирования, критерии и правила интерпретации результатов, методики выявления клинически значимых механизмов антибиотикорезистентности, выполнение процедур по внутреннему контро-

лю качества разрабатываются и регулярно пересматриваются в различных странах мира. Среди национальных стандартов наиболее известными и подробно разработанными являются Стандарты Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS). Для стран Европейского Союза такие стандарты разрабатывает Европейский комитет по определению чувствительности к антибиотикам (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST), созданный Европейским обществом по клинической микробиологии и инфекционным болезням (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases – ESCMID). В этом комитете также имеются представители России.

Агар для определения чувствительности. Следует отметить, что большинство комитетов по определению чувствительности микроорганизмов в различных странах мира, ВОЗ и EUCAST предусматривают использование для тестирования специальной питательной среды – агара Мюллера – Хинтон.

До недавнего времени в нашей стране нормативными документами, регламентирующими процедуру определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, были Приказ № 250 МЗ СССР от 13 марта 1975 г. «Об унификации методов определения чувствительности микроорганизмов к химиотерапевтическим препаратам» и «Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков» от 10 марта 1983 г. № 2675-83. В соответствии с этими «Методическими указаниями...» исследование чувствительности проводилось с использованием отечественной питательной среды АГВ, которая по своему составу значительно отличается от агара Мюллера – Хинтон и не соответствует требованиям ВОЗ, предъявляемым к питательным средам этого типа по нескольким ключевым параметрам (таблица).

Исследования, проведенные НИИ антимикробной химиотерапии СГМА, показали, что эти характеристики химического состава делают среду АГВ непригодной для определения чувствительности ко многим антибиотикам.

Во-первых, высокое содержание в среде АГВ катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} делает ее непригодной для определения чувствительности синегнойной палочки к аминогликозидам, фторхинолонам и карбапенемам. Во-вторых, избыточное содержание тимина и тимидина приводит к неправильным результатам тестирования чувствительности микроорганизмов к сульфаниламидам, триметоприму, триметоприму/сульфаметоксазолу. В-третьих, отличия среды АГВ от агара Мюллера – Хинтон по ростовым качествам не позволяют использовать АГВ для выявления резистентности к метициллину у стафилококков методом скрининга, так как тестирование на АГВ приводит к получению большого числа ложночувствительных результатов. Кроме того, все современные методики определения чувствительности микроорганизмов со сложными питательными потребностями (пневмококки, стрептококки, гемофильная палочка и др.) основаны на использовании агара Мюллера – Хинтон, обогащенного ростовыми добавками (кровью, дрожжевым экстрактом, гематином, НАД и пр.). Среда АГВ для данной цели непригодна.

Таким образом, при использовании среды АГВ невозможно применять используемые в международной практике критерии оценки чувствительности, которые разработаны для всех современных антибиотиков и периодически пересматриваются.

В 2004 г. Минздравом России утверждены новые «Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [1]. В данном документе указано, что «...для оценки чувствительности можно использовать только специально предназначенные для этой цели среды, по своим характеристикам удовле-

Сравнительные характеристики питательных сред для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

Параметр*	ВОЗ	Агар Мюллера – Хинтон	Среда АГВ	Возможные ошибки при определении чувствительности
pH	7,2–7,4	7,3±0,1	7,4±0,2	
Ca^{2+} , мг/л	≤50	56,1	100,2	К аминогликозидам
Mg^{2+} , мг/л	≤2	11,34	40,13	К аминогликозидам
Zn^{2+} , мг/л	–	56,1	155	К карбапенемам
Тимидин, мг/л	<0,03	<0,03	>25	К триметоприму и сульфаниламидам

Примечание. * Приведены основные параметры, от которых зависит результат исследования

творяющие требованиям, приведенным в разделе 5¹. Внутрिलाбораторный контроль качества среды необходимо проводить при использовании всех известных коммерчески доступных питательных сред (Мюллера – Хинтон, Изосенситест, АГВ и др.) независимо от их производителя...».

С учетом приведенных выше данных о составе среды АГВ маловероятно, что эта среда будет удовлетворять соответствующим требованиям при проведении контроля качества. Необходимо отметить, что агар Мюллера – Хинтон, также не всегда соответствует указанным выше характеристикам. Поэтому необходимо проводить оценку качества каждой новой серии агара с использованием соответствующего набора контрольных штаммов микроорганизмов.

Диски с антибиотиками для определения чувствительности. Качество дисков определяется двумя основными факторами: 1) следованием технологии изготовления дисков в промышленных условиях и 2) соблюдением правил хранения и использования дисков в микробиологической лаборатории (хранение в морозильной камере или в холодильнике, защита от влаги). На практике чаще приходится сталкиваться со снижением активности антибиотиков в дисках при их неправильном хранении и использовании, что особенно характерно для бета-лактамных антибиотиков (в частности имипенема), которые быстрее других подвергаются деградации при хранении [2]. Однако не исключены и случаи поставки в лаборатории изначально некачественных дисков.

Литература

1. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.2.1890-04.-М., 2004.

Единственным способом убедиться в качестве дисков с антибиотиками служит проведение внутрिलाбораторного контроля качества, который заключается в тестировании специального набора контрольных штаммов микроорганизмов.

Контроль качества. Помимо строгого следования стандартам определения чувствительности для получения достоверных результатов обязательным является регулярное проведение процедур внутреннего контроля качества этого исследования.

Таким образом, для того, чтобы получать достоверные данные по чувствительности микроорганизмов к антибиотикам в микробиологической лаборатории, необходимо:

1) строго следовать существующим стандартам определения чувствительности;

2) приобретать питательные среды и диски с антибиотиками у известных, хорошо зарекомендовавших себя микробиологических компаний, имеющих надлежащую систему производственного контроля качества своей продукции;

3) регулярно проводить внутрिलाбораторный контроль качества определения чувствительности путем тестирования соответствующего набора контрольных штаммов.

В лабораториях НИИ антимикробной химиотерапии при определении чувствительности бактерий мы используем агар Мюллера – Хинтон производства компании BBL (США) или bioMerieux (Франция) и диски с антибиотиками этих компаний.

2. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. WHO Technical Report Series 673. 32nd Report-Geneva: World Health Organization; 1982.144-78.

¹ Раздел 5. «Контроль качества определения чувствительности»