



**EUCAST**

ЕВРОПЕЙСКИЙ КОМИТЕТ ПО  
ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Европейское общество по клинической микробиологии и инфекционным болезням

# **Руководство по учету результатов Метод микроразведений в бульоне**

Версия 2.0  
Март 2020 г.

# Изменения по сравнению с предыдущей версией (в. 1.0)

## Изменения

- Добавлены инструкции по учету результатов определения чувствительности грамотрицательных бактерий к тигециклину и эравациклину

# Метод микроразведений в бульоне

- Метод микроразведений в бульоне – референтный метод определения чувствительности быстро растущих аэробных бактерий к антимикробным препаратам, за исключением мециллинама и фосфомицина, референтным методом определения чувствительности к которым является метод разведений в агаре.
- EUCAST рекомендует выполнять исследования согласно международному стандарту ИСО 20776-1, но для бактерий со сложными питательными потребностями использовать бульон МХ-П (бульон Мюллера-Хинтон с добавлением 5% лизированной лошадиной крови и 20 мг/л  $\beta$ -НАД; инструкция по приготовлению см. [www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
- Результат учитывается как наименьшая концентрация антимикробного препарата, которая подавляет видимый рост микроорганизма – Минимальная Подавляющая Концентрация (МПК), и выражается в мг/л или мкг/мл.

# Учет результатов метода микроразведений в бульоне

Учет результатов можно проводить только при соблюдении следующих условий:

- Достаточный рост, т.е. четко определяемый осадок (в виде пятна) или помутнение в лунке положительного контроля роста.
- Чистая культура
  - Проверка чистоты культуры проводится путем субкультивирования содержимого из лунки контроля роста непосредственно после инокуляции планшета на неселективном агаре с последующей инкубацией
- Корректная плотность инокулюма –  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл
  - Подсчет жизнеспособных колоний: 10 мкл содержимого лунки контроля роста или пробирки с бактериальной суспензией перенести в пробирку с 10 мл ф.р; тщательно перемешать и перенести 100 мкл на поверхность неселективного агара. После инкубации на чашке должен определяться рост примерно 20-80 колоний.

# Визуализация роста

- Рост определяется как помутнение или клеточный осадок на дне лунки планшета. Видимые признаки роста могут отличаться при исследовании разных микроорганизмов и антимикробных препаратов.
- В лунках круглодонных планшетов рост наиболее часто выглядит как пятно/осадок в центре. В лунках плоскодонных планшетов рост может быть диффузным.
- Видимые признаки роста в лунках, содержащих антибиотик, могут отличаться от признаков роста в ячейках положительного контроля роста даже при отсутствии контаминации.

# Определение МПК по конечной точке

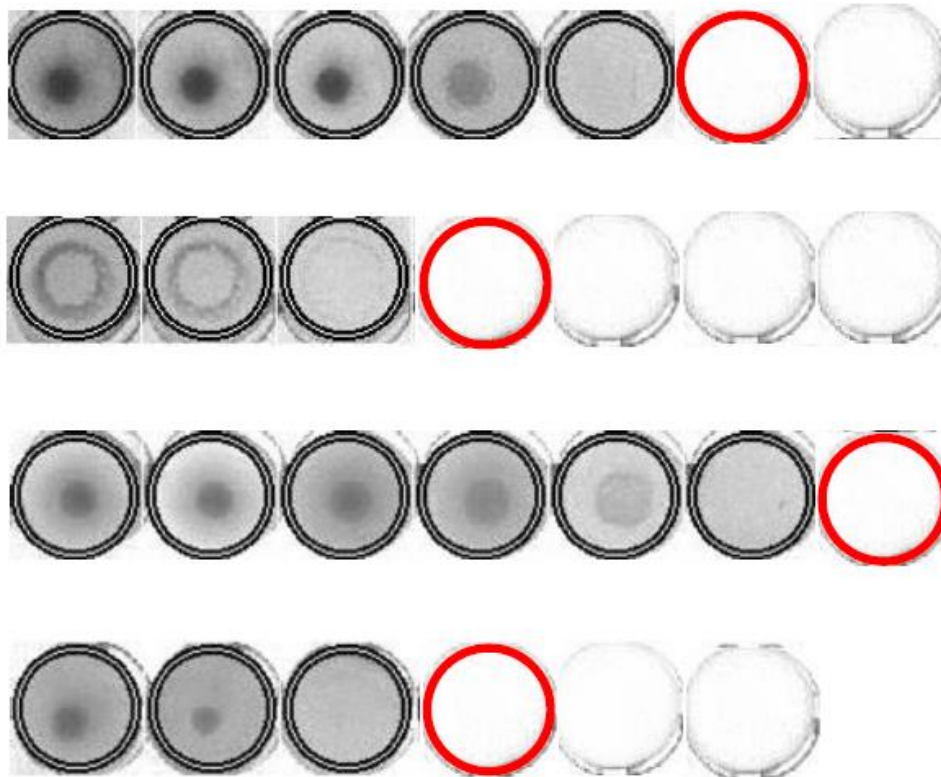
- Учет результатов проводится визуально. Использование зеркала может облегчить учет результатов.
- Автоматические устройства для считывания результатов должны быть калиброваны по отношению к визуальному учету.
- МПК учитывается как наименьшая концентрация антимикробного препарата, которая полностью подавляет рост микроорганизма, определяемый невооруженным глазом.  
Исключения – см. слайды 12-16.

# Скользкая конечная точка (Trailing endpoint)

- Для большинства комбинаций микроорганизм-антибиотик конечная точка определяется четко.
- При исследовании некоторых комбинаций микроорганизм-антибиотик конечные точки определить сложно из-за постепенного ослабления роста на протяжении 2-3 лунок.
- Конечную точку следует учитывать как концентрацию в лунке, в которой обнаруживается полное подавление роста, если не указано другое (исключения – см. слайды 12-16).

# Помутнение без осадка

- Помутнение среды разной степени выраженности часто встречаются при исследовании *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp. Это следует расценивать как рост. Конечная точка определяется как концентрация в первой лунке, где наблюдается полное подавление роста (прозрачный бульон).





# Гемолиз

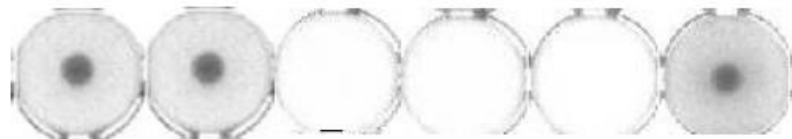
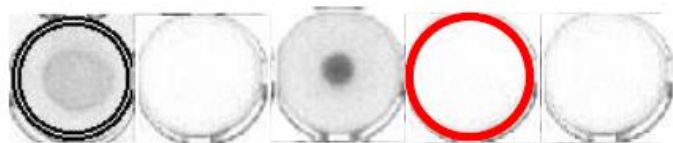
- При исследовании бактерий со сложными питательными потребностями в бульоне МХ-П может наблюдаться гемолиз. Часто это сопровождается помутнением или наличием осадка.
- При определении конечной точки гемолиз, сопровождаемый помутнением или осадком, следует оценивать как рост.



# Пропущенные лунки

- В некоторых случаях могут наблюдаться пропущенные лунки, т.е. лунки без признаков роста, находящиеся между лунками с явными признаками бактериального роста. У этого явления может быть несколько объяснений: неадекватная плотность инокулюма, контаминация, гетерогенная резистентность и т.д.
- Если наблюдается единичная пропущенная лунка, следует повторить исследования данного изолята или учесть наибольшее значение МПК для того, чтобы не оценить изолят как ложно чувствительный.
- Нельзя сообщать результат определения чувствительности к антимикробному препарату, если в ряду лунок с его разведениями наблюдается более одной пропущенной лунки.

# Пропущенные лунки: пример



Исследование повторить или учесть МПК по наибольшему значению!

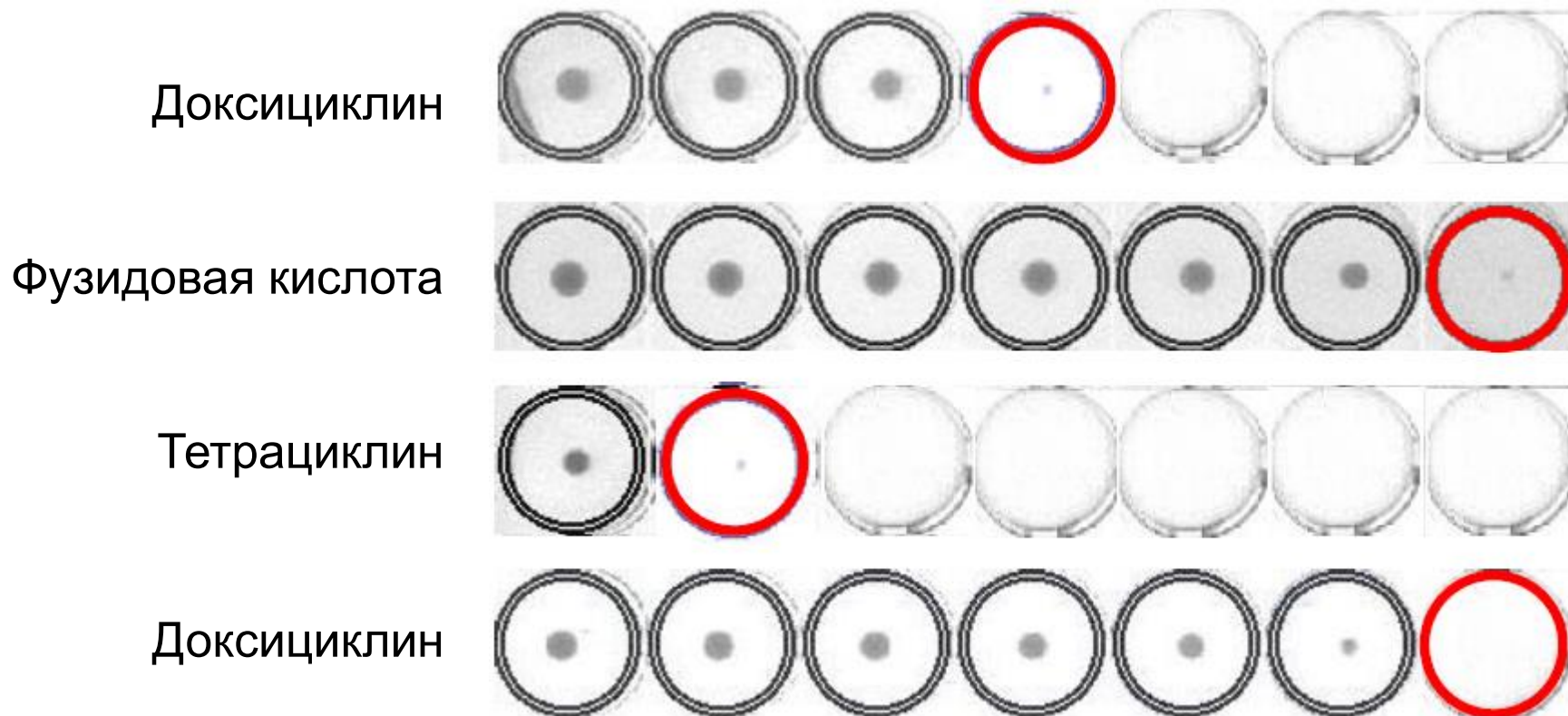
Результаты не действительны!

# Учет результатов: особые случаи

- Для следующих комбинаций учет результатов проводится в соответствии с особыми указаниями:
  - Грамположительные кокки и антимикробные препараты бактериостатического действия
    - Например: хлорамфеникол, клиндамицин, эритромицин, линезолид, тедизолид и тетрациклин
  - Грамотрицательные бактерии и тигециклин и эравациклин
  - Все микроорганизмы и триметоприм и триметоприм-сульфаметоксазол

# Грамположительные кокки и бактериостатические антибиотики

- Если наблюдается скользящая конечная точка, точечный рост не учитывается.



# Грамположительные кокки и бактериостатические антибиотики

- Если наблюдается скользящая конечная точка, точечный рост не учитывается.

Линезолид



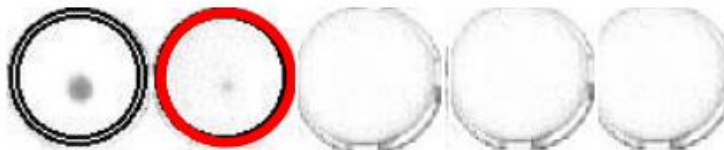
Линезолид



Тедизолид



Тедизолид



# Грамотрицательные бактерии и тигециклин и эравациклин

- Если наблюдается скользящая конечная точка, точечный рост не учитывается.

Тигециклин



Тигециклин



Эравациклин

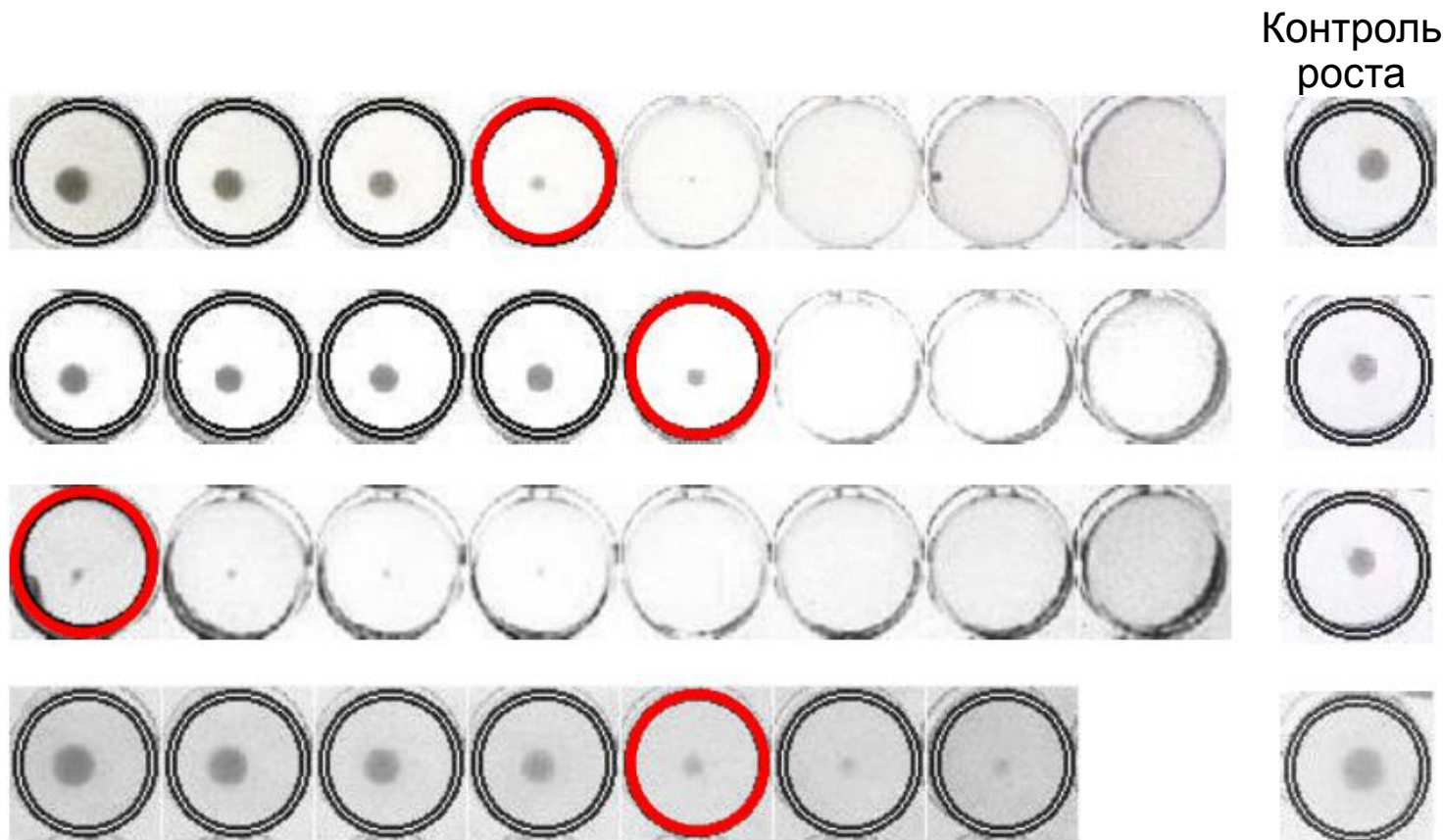


Эравациклин



# Триметоприм и триметоприм-сульфаметоксазол

МПК учитывается как наименьшая концентрация, которая подавляет  $\geq 80\%$  роста по сравнению с ростом в контрольной лунке.





# Интерпретация результатов

- Перед сообщением результатов необходимо убедиться, что значения МПК соответствующих контрольных штаммов находятся в допустимых пределах.
  - Критерии контроля качества см. Таблицы контроля качества EUCAST ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).
- Определить клиническую категорию чувствительности (Ч, У или Р) в соответствии с Таблицами пограничных значений EUCAST ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).



**EUCAST**

**ЕВРОПЕЙСКИЙ КОМИТЕТ ПО  
ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ**

**Европейское общество по клинической микробиологии и инфекционным болезням**