

Косилова И.С.<sup>1</sup>, Домотенко Л.В.<sup>1</sup>, Фурсова Н.К.<sup>1</sup>, Дентовская С.В.<sup>1</sup>, Ершова М.Г.<sup>2</sup>, Шепелин А.П.<sup>1</sup>

## ИСПЫТАНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА «АГАР МЮЛЛЕРА-ХИНТОН II – ОБОЛЕНСК»

<sup>1</sup>Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, 142279, п. Оболенск, Московская обл., Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ Ярославской области «Инфекционная клиническая больница № 1», 150040, Ярославль, Россия

Приведены результаты сравнительных испытаний разработанной в ФБУН ГНЦ ПМБ питательной среды «Агар Мюллера-Хинтон II – Оболенск» и контрольной питательной среды «Mueller Hinton II Agar» импортного производства при определении чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) клинических штаммов бактерий с помощью диско-диффузионного метода и метода градиентной диффузии (E-тесты), при оценке карбапенемазной активности штаммов, несущих гены карбапенемаз, в СИМ-тесте. Использованы 173 охарактеризованных штамма бактерий видов: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Photobacterium* spp., *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., в том числе на наличие генов карбапенемаз OXA- и NDM-типов у грамотрицательных бактерий. Показана высокая степень совпадения результатов определения чувствительности к антимикробным препаратам для двух питательных сред. Показатель согласования категорий чувствительности штаммов к АМП (S, I, R) составил 98,2% для диско-диффузионного метода, 94,4-100% – для методов E-тестов и СИМ-теста. В рамках Программы импортозамещения успешно разработана отечественная питательная среда «МХА II-Оболенск», удовлетворяющая требованиям ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы in vitro. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам».

Ключевые слова: питательная среда; агар Мюллера-Хинтон; диско-диффузионный метод; E-тесты; СИМ-тест; грамотрицательные бактерии; грамположительные бактерии.

Для цитирования: Косилова И. С., Домотенко Л. В., Фурсова Н. К., Дентовская С. В., Ершова М. Г., Шепелин А. П. Испытания питательной среды отечественного производства «Агар Мюллера-Хинтон II – Оболенск». Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (6): 360-367. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-6-360-367>

Kosilova I. S.<sup>1</sup>, Domotenko L. V.<sup>1</sup>, Fursova N. K.<sup>1</sup>, Dentovskaya S. V.<sup>1</sup>, Ershova M. G.<sup>2</sup>, Shepelin A. P.<sup>1</sup>

TRIALS OF THE DOMESTICALLY PRODUCED NUTRIENT MEDIUM «AGAR MULLER-HINTON II – OBOLENSK»

<sup>1</sup>State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, 142279, Obolensk, Moscow region, Russia;

<sup>2</sup>State Healthcare Institution of the Yaroslavl Region «Infectious Clinical Hospital No. 1», Yaroslavl, Russia

The results of the comparative tests of the «Agar Muller-Hinton II – Obolensk» nutrient medium developed in SRCAMB, Obolensk, and the control nutrient medium imported «Mueller Hinton II Agar» are presented in the study. The susceptibility of bacterial clinical strains to antimicrobial agents (AMP) was determined by the disc diffusion method and the method of gradient diffusion (E-test). The carbapenemase activity of the strains carrying the carbapenemase genes was determined by CIM-test. Total 173 characterized bacterial strains of species *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Photobacterium* spp., *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. were used in the study, including producers of OXA- and NDM-types carbapenemases for gram negative bacteria. A high degree of coincidence of the results obtained on both nutrient media was shown. The consistency index of the strain sensitivity categories to AMPs (S, I, and R) was 98.2% for the disc diffusion method, and 94.4-100% – for E-test and CIM-test methods. Thus, within the framework of the Import Substitution Program, the domestic nutrient medium «MHA II-Obolensk» has been successfully developed. The nutrient medium meets the requirements of GOST R ISO 20776-2-2010 «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices».

Keywords: nutrient medium; Müller-Hinton agar; disc diffusion method; E-test; CIM-test; gram-negative bacteria; gram-positive bacteria.

For citation: Kosilova I. S., Domotenko L. V., Fursova N. K., Dentovskaya S. V., Ershova M. G., Shepelin A. P. Trials of the domestically produced nutrient medium «Agar Muller-Hinton II – Obolensk». Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (6): 360-367 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-6-360-367>

For correspondence: Kosilova I.S., Junior Researcher, Laboratory of Nutrient Medium Development; e-mail: [kosilova.irina@gmail.com](mailto:kosilova.irina@gmail.com)

### Information about authors:

Kosilova I.S., <http://orcid.org/0000-0003-4020-0894>  
Domotenko L.V., <http://orcid.org/0000-0002-4785-6418>  
Shepelin A.P., <http://orcid.org/0000-0002-8253-7527>

Fursova N.K., <https://orcid.org/0000-0001-6053-2621>  
Dentovskaya S.V., <http://orcid.org/0000-0002-1996-8949>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 25.04.2019  
Accepted 30.04.2019

**Введение.** Инфекционные болезни, вызываемые бактериальными патогенами, во всем мире представляют серьёзную угрозу здоровью и жизни людей. Ситуация усугубляется угрожающим распространением антибиотикорезистентных бактерий. По результатам масштабного исследования только в Европе и США каждый год до 50 тыс. жизней уносят инфекции, вызванные возбудителями, устойчивыми к лекарственной терапии, к 2050 г. прогнозируется рост летальных исходов до 10 млн. в год [1]. Устойчивость к антимикробным препаратам (АМП) – многогранная проблема, которая определяется многими взаимосвязанными факторами и требует слаженных действий от всего общества [2]. Ключевыми задачами, стоящими перед клиническими микробиологами, являются выделение, идентификация возбудителя инфекции и проведение тестов по определению чувствительности к АМП.

Для определения чувствительности микроорганизмов к АМП используют различные методы, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. Наиболее часто применяемыми являются метод микроразведений в бульоне, диско-диффузионный метод, метод градиентной диффузии, так называемый метод E-тестов. Метод микроразведений в бульоне, являющийся референтным, в основном, выполняется в автоматизированном варианте с использованием коммерческих автоматизированных анализаторов. Диско-диффузионный метод и метод градиентной диффузии относятся к «ручным» методам. Перечисленные методы обеспечивают качественную оценку чувствительности микроорганизмов к АМП с использованием трёх клинически ориентированных категорий: чувствительные, условно-резистентные, устойчивые (резистентные). Методы микроразведений и градиентной диффузии дают количественные результаты оценки чувствительности к АМП, выражаемые в значениях минимальной подавляющей концентрации (МПК). Все три метода преследуют одну цель, которая заключается в обеспечении надёжного прогнозирования эффективности лечения конкретного пациента с помощью конкретного АМП<sup>1</sup>. Результаты тестирования должны быть надёжными и достоверными.

Достоверность результатов, получаемых при использовании методов определения чувствительности к АМП, зависит от качества питательных сред и реагентов, выбора метода тестирования и соблюдения стандартной процедуры исследования, регулярного проведения контроля качества и др. Для выполнения диско-диффузионного метода и метода градиентной диффузии используют агар Мюллера-Хинтона, к качеству которого предъявляют строгие требования. В стандартах Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), экспертных правилах European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), клинических рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» приведены данные интегрального метода оценки качества агара Мюллера-Хинтона, основанного на анализе соответствия размеров зон подавления роста АМП для контрольных штаммов целевым значениям или нахождения этих показателей в установленных пределах. Современные критерии пригодности питательной среды для оценки антимикробной

чувствительности изложены в новом международном стандарте ISO/TS 16782:2016 «Clinical laboratory testing – Criteria for acceptable lots of dehydrated Mueller-Hinton agar and broth for antimicrobial susceptibility testing», не имеющем пока российского аналога в виде ГОСТа. В документе содержатся физико-химические критерии, среди которых содержание марганца, цинка, тимидина, и интегральные критерии, а именно допустимые значения диаметров зон подавления роста контрольных штаммов для конкретных комбинаций микроорганизм – АМП, являющиеся своеобразными индикаторами качества питательной среды. Несоответствие критериям пригодности может быть причиной ошибок при определении чувствительности к АМП [3-5].

В ФБУН ГНЦ ПМБ разработана технология и организовано производство отечественного агара Мюллера-Хинтона II. Римская цифра II исторически введена в название питательной среды, свидетельствуя о том, что при её производстве все компоненты используются в сухом виде [6]. Со временем цифра из названия среды некоторых фирм-производителей исчезла и сохранилась только у BioMerieux, BD BBL, HiMedia.

Разработанная среда удовлетворяет современным требованиям нормативов EUCAST, Клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», Стандарта ISO/TS 16782:2016, в том числе по содержанию элементов кальция, магния, марганца, цинка, влияющих на результаты определения чувствительности микроорганизмов. Диаметры зон подавления роста всех использованных тест-штаммов соответствовали рекомендованным целевым значениям или незначительно отличались от них, находясь в рекомендованных диапазонах.

Цель исследования – оценить качество агара Мюллера-Хинтона II отечественного производства при определении чувствительности к АМП микроорганизмов, относящихся к различным видам и родам, включая новые, с помощью диско-диффузионного метода, метода градиентной диффузии, при выявлении карбапенемаз-продуцирующих штаммов грамотрицательных микроорганизмов с помощью СИМ-теста.

**Материал и методы. Биоэтические требования.** Материалы, использованные в работе, не содержат персональных данных пациентов, т. к. полученные от них клинические изоляты промаркированы без указания фамилии, даты рождения, адреса проживания, номера истории болезни, личных документов и других именных материалов. В соответствии с требованиями биоэтического комитета Российской Федерации, каждый пациент при поступлении в клинику заключал договор с лечебным учреждением, содержащий согласие на проведение лечения и лабораторного обследования.

**Питательные среды.** В работе использованы питательные среды «Агар Мюллера-Хинтона II» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия, РУ № РЗН 2017/5962) – далее по тексту «МХА II-Оболонск», в качестве контрольной среды – «Mueller Hinton II Agar» (Becton Dickinson, США) – далее по тексту «МХА II-BD».

**Штаммы.** В работе использованы охарактеризованные музейные штаммы грамотрицательных возбудителей внутрибольничных инфекций ( $n=18$ ): *Klebsiella pneumoniae* ( $n=8$ ), *Pseudomonas aeruginosa* ( $n=2$ ), *Acinetobacter baumannii* ( $n=3$ ), *Proteus mirabilis* ( $n=2$ ), *Serratia marcescens* ( $n=1$ ), *Enterobacter aerogenes* ( $n=1$ ), *Escherichia coli* ( $n=1$ ); музейные штаммы нового патоген-

<sup>1</sup>Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Клинические рекомендации. Версия 2018-03.

на *Photorhabdus* spp. ( $n=8$ ), клинические изоляты бактерий ( $n=147$ ), включая *K. pneumoniae* ( $n=49$ ), *A. baumannii* ( $n=49$ ), *Staphylococcus aureus* ( $n=14$ ), *Enterococcus* spp. ( $n=14$ ), *E. coli* ( $n=12$ ), *P. aeruginosa* ( $n=9$ ).

**Диски с АМП.** При определении чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом использованы диски с 50 АМП (BD, США), относящиеся к 17 функциональным группам: *пенициллины*, включая пенициллины, защищенные ингибиторами  $\beta$ -лактамаз, (ампициллин, ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавулановая кислота, бензилпенициллин, карбенициллин, мециллинам, пиперациллин, пиперациллин/тазобактам, тикарциллин, тикарциллин/клавулановая кислота), *цефалоспорины* (цефуроксим, цефокситин, цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, цефоперазон/сульбактам, цефепим, цефтаролин), *монобактамы* (азтреонам), *карбапенемы* (эртапенем, меропенем, имипенем, дорипенем), *аминогликозиды* (канамицин, тобрамицин, гентамицин, амикацин, нетилмицин), *хинолоны/фторхинолоны* (налидиксовая кислота, норфлоксацин, офлоксацин, перфлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), *макролиды* (эритромицин, кларитромицин, азитромицин), *тетрациклины* (тетрациклин, доксициклин, миноциклин, тигециклин), *липепептиды* (колистин, полимиксин), *гликопептиды* (ванкомицин), *рифамицины* (рифампицин), *линкозамиды* (клиндамицин), *сульфаниламиды* (триметоприм/сульфаметоксазол), *нитрофураны* (нитрофурантоин), *амфениколы* (хлорамфеникол), *фузидиевая кислота*.

**Е-тесты.** При определении чувствительности микроорганизмов методом градиентной диффузии использованы Е-тесты (BioMerieux, Франция) 13 наименований: амоксициллин 0,016-256 мг/л, ампициллин 0,016-256 мг/л, цефотаксим 0,016-256 мг/л, цефтазидим 0,016-256 мг/л, имипенем 0,002-32 мг/л, меропенем 0,002-32 мг/л, гентамицин 0,016-256 мг/л, стрептомицин 0,064-1024 мг/л, ципрофлоксацин 0,02-32 мг/л, левофлоксацин 0,002-32 мг/л, тетрациклин 0,016-256 мг/л, доксициклин 0,016-256 мг/л, хлорамфеникол 0,016-256 мг/л.

**Диско-диффузионный метод.** Чувствительность микроорганизмов к АМП определяли в соответствии с Клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» и стандартами EUCAST (Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам)<sup>2</sup>. Культивирование бактерий осуществляли при температуре 35<sup>0</sup> С в течение 18-20 ч, за исключением штаммов *Photorhabdus* spp., которые выращивали при двух температурах (25 и 37<sup>0</sup> С) в течение 18-20 ч (*P. asymbiotica* subsp. *asymbiotica* US86, *P. asymbiotica* subsp. *asymbiotica* US88, *P. asymbiotica* subsp. *asymbiotica* AU46, *P. asymbiotica* subsp. *asymbiotica* AU97, *P. asymbiotica* CbKj163, *P. luminescens* subsp. *luminescens* HbT) и в течение 42-44 ч (*P. luminescens* subsp. *akhurstii* FRG04, *P. luminescens* subsp. *laumondii* TT01T).

Диаметр зон подавления роста бактерий измеряли в мм, регистрируя клиническую категорию чувствительности: чувствительный (S), умеренно-резистентный (I), устойчивый (R) штамм. Интерпретацию результатов проводили в соответствии с критериями, изложенными в клинических рекомендациях, за исключением резуль-

татов по тестированию *A. baumannii* к пиперациллину, пиперациллин/тазобактаму, цефтазидиму, ампициллин/сульбактаму, *P. aeruginosa* к колистину, полимиксину, *E. coli* к налидиксовой кислоте, *K. pneumoniae* к налидиксовой кислоте, миноциклину, *S. aureus* к норфлоксацину, *Enterococcus* spp. к левофлоксацину, тетрациклину, которые интерпретировали по стандарту CLSI<sup>3</sup>. Результаты, полученные при тестировании *A. baumannii* к азтреонаму, тигециклину, цефоперазон/сульбактаму, *Enterococcus* spp. к гентамицину, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* к цефоперазон/сульбактаму, оценивали только путём сравнения абсолютных значений с таковыми для контрольных штаммов.

**Определение чувствительности методом Е-тестов** проводили в соответствии с инструкцией производителя. Минимальные подавляющие концентрации антимикробных препаратов в мг/л определяли визуально, идентифицируя клиническую категорию штамма: чувствительный (S), умеренно-резистентный (I), резистентный (R), в соответствии с актуальной версией стандарта EUCAST.

**СИМ-тест** (Carbapenem Inactivation Method) проводили в соответствии с рекомендациями W. Song и соавт. [7]. Диски, содержащие 10 мкг меропенема, выдерживали в бактериальной суспензии исследуемого штамма, плотность которой соответствовала 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, при температуре 35<sup>0</sup> С в течение 2 ч. Обработанные и контрольные (необработанные) диски помещали на поверхность питательных сред «МХА II-Оболенск» и «МХА II-BD», со свежесезянным газом тест-штамма *E. coli* ATCC 25922. Посевы инкубировали при температуре 35<sup>0</sup> С в течение 16-18 ч. При отсутствии зоны подавления роста тест-штамма фиксировали наличие карбапенемазной активности в исследуемом клиническом штамме (положительный результат), при наличии зоны подавления роста с диаметром >20 мм – отсутствие карбапенемазной активности в исследуемом штамме (отрицательный результат).

**Детекция генов антибиотикорезистентности.** Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в классическом режиме со специфичными праймерами определяли гены карбапенемаз *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>OXA-244</sub>, *bla*<sub>OXA-40-like</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, как описано ранее [8-10].

**Результаты.** Для оценки качества питательной среды «МХА II-Оболенск» выбраны грамположительные и грамотрицательные бактерии – возбудители ИСМП, новый патоген – *Photorhabdus* spp., тестирование проводили в несколько этапов.

**Чувствительность возбудителей ИСМП.** На I этапе проводили испытания новой питательной среды в лаборатории разработки питательных сред ФБУН ГНЦ ПМБ с использованием 18 музейных штаммов грамотрицательных бактерий, охарактеризованных по чувствительности к АМП и наличию генетических детерминант антибиотикорезистентности (табл. 1). Выбор тест-штаммов обусловлен клинической значимостью бактерий видов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *P. mirabilis* и др. в качестве возбудителей ИСМП [11]. Определяли чувствительность штаммов к 28 антибиотикам на среде «МХА II-Оболенск» диско-

<sup>2</sup>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Version 8.1, 2018.

Clinical and Laboratory Standards Institute (M100-S24 Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty – Fourth Informational Supplement, January, 2014 г.).



Характеристика нозокомиальных штаммов, использованных для тестирования среды «МХА II-Оболенск»

Вид микроорганизма	Штамм	Резистентность к АМП	Генетические детерминанты антибиотикорезистентности
<i>K. pneumoniae</i>	B-1822/14	AMC, CEF, CTA, CAZ, FEP, EPM, GEN, TOB, AMI, CIP, TET, TGC, CTZ, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>SHV</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>
	B-1969/14	AMC, CEF, CTA, CEX, EPM, IMI, TOB, CIP, CTZ, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>SHV</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>
	B-352K/15	AMC, CEF, CEX, CTA, CAZ, FEP, EPM, GEN, TOB, CIP, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>SHV</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-244</sub>
	B-369/15	AMC, CEF, CEX, CTA, CAZ, FEP, EPM, GEN, TOB, CIP, TGC, CTZ, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>SHV</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-244</sub>
	410	AMC, CEF, CEX, CTA, CAZ, FEP, EPM, GEN, TOB, CIP, CTZ, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
	409	AMC, CEF, CEX, CTA, CAZ, FEP, EPM, GEN, TOB, CIP, CTZ, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>
	I-1627	AMP, TCA	<i>bla</i> <sub>SHV</sub>
	I-2135	AMP, TCA	<i>bla</i> <sub>SHV</sub>
<i>A. baumannii</i>	B-740/14	AMC, CEF, CEX, CTX, CTA, CAZ, FEP, IMI, GEN, TOB, AMI, CIP, CTZ, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-2</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub>
	B-2137/14A	AMC, CEF, CEX, CTX, CTA, CAZ, FEP, IMI, GEN, TOB, AMI, CIP, TET, CTZ, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> <sup>2</sup> int2
	B-774/15A	AMC, CEF, CEX, CTX, CTA, CAZ, FEP, IMI, GEN, TOB, AMI, CIP, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-115</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-51-like</sub> <sup>2</sup> int1
<i>P. aeruginosa</i>	B-458/14	AMC, CAZ, TCA, TCC, PIP, FEP, IMI, MER, GEN, TOB, CIP, PEF, CTZ	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> <sup>2</sup> int1
	B-519/14P	AMC, CAZ, TCA, TCC, PIP, FEP, IMI, MER, GEN, TOB, CIP, PEF, CTZ	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>
<i>P. mirabilis</i>	B-757M	CEF, CTA, FEP, TET, TGC, GEN, TOB, CIP, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>OXA-244</sub> <sup>2</sup> int2
	B-912/14	CEF, TET, TGC, CIP, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>CTX-M-3</sub> <sup>2</sup> int1, int2
<i>S. marcescens</i>	B-208/15	CEF, CTA, FEP, GEN, TOB, CIP, NIT, CM	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-3</sub>
<i>E. aerogenes</i>	B-658/15	CEF, CEX, CTX, FEP, AZR, GEN, AMI, NET, CTZ	<i>bla</i> <sub>TEM</sub> <sup>2</sup> <i>bla</i> <sub>CTX-M-3</sub> <sup>2</sup> int1
<i>E. coli</i>	B-529/15	AMC, CEF, CTX, CAZ, FEP, CIP, CTZ	<i>bla</i> <sub>CTX-M-15</sub>

Примечание. AMC - амоксициллин/клавулановая кислота, AMP – ампициллин, CEF – цефуроксим, CEX – цефокситин, CTX – цефотаксим, CTA – цефтриаксон, CAZ – цефтазидим, TCA – тикарциллин, TCC – тикарциллин/клавулановая кислота, PIP – пиперациллин, FEP – цефепим, EPM – эртапенем, AZR – азтреонам, IMI – имипенем, MER – меропенем, TET – тетрациклин, TGC – тигециклин, CIP – ципрофлоксацин, PEF – пefлоксацин, CM – хлорамфеникол, GEN – гентамицин, TOB – тобрамицин, AMI – амикацин, CTZ – триметоприм/сульфаметоксазол, NET – нетилмицин, NIT – нитрофурантоин; *bla*<sub>SHV</sub><sup>2</sup>, *bla*<sub>CTX-M</sub><sup>2</sup>, *bla*<sub>OXA</sub><sup>2</sup>, *bla*<sub>NDM</sub><sup>2</sup>, *bla*<sub>TEM</sub><sup>2</sup>, *bla*<sub>VIM</sub><sup>2</sup> – гены бета-лактамаз SHV, CTX-M, OXA, NDM, TEM, и VIM типов; int1 – интегрон класса 1, int2 – интегрон класса 2.

диффузионным методом (см. рисунок на обложке). Параллельно оценивали чувствительность этих штаммов к тем же АМП на контрольной питательной среде – «МХА II-BD». Значения диаметров зон подавления роста всех исследованных штаммов микроорганизмов, полученные на обеих питательных средах, совпадали между собой практически для всех АМП, отличаясь максимально на ±3 мм, что не влияло на результаты интерпретации в соответствии с клиническими критериями чувствительности (табл. 2). В ходе испытаний выполнили по 1512 тестов на разработанной и контрольной питательных средах. В 1506 тестах (99,6%) получили совпадающие результаты, в шести (0,4%) – результаты не совпадали. Штамм *P. aeruginosa* B-519/14P классифицирован на среде «МХА II-BD» как резистентный к цефтазидиму, на среде «МХА II-Оболенск» – как чувствительный. Штамм *K. pneumoniae* B-1969/14 определен на среде «МХА II-BD» как резистентный к миноциклину, на среде «МХА II-Оболенск» – как умеренно-резистентный.

Сравнение данных диско-диффузионного метода с данными, полученными при тестировании штаммов на приборе Vitek 2 Compact, показали совпадение интерпретации чувствительности с данными, полученными на контрольной среде «МХА II-BD».

**Чувствительность клинических изолятов.** На II этапе проводили клинические испытания разработанной питательной среды на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ярославской области «Инфекционная клиническая больница» диско-диффузионным методом. Использовано 147 клинических изолятов бактерий, из которых *K. pneumoniae* – 49, *A. baumannii* – 49, *S. aureus* – 14, *Enterococcus* spp. – 14, *E. coli* – 12, *P. aeruginosa* – 9, выделенных от пациентов нескольких отделений больницы. Значения диаметров зон подавления роста тест-культур на двух средах отличались максимально на 1-2 мм для всех использованных дисков с АМП. Полученные различия не влияли на определение клинических категорий чувствительно-

**Результаты определения чувствительности музейных штаммов и клинических изолятов грамотрицательных бактерий на питательных средах «МХА II-Оболенск» и «МХА II-BD» (I и II этапы испытаний)**

Музейные штаммы	I этап испытаний			II этап испытаний			
	Количество АМП к которым проводили тестирование	Всего проделанных тестов*	Количество совпавших тестов**	Клинические изоляты	Количество АМП к которым проводили тестирование	Всего проделанных тестов*	Количество совпавших тестов**
<i>K. pneumoniae</i> (n=8)	28	672	669	<i>K. pneumoniae</i> (n=49)	28	4116	4116
<i>A. baumannii</i> (n=3)	28	252	252	<i>A. baumannii</i> (n=49)	28	4116	4116
<i>P. aeruginosa</i> (n=2)	28	168	165	<i>S. aureus</i> (n=14)	8	336	336
<i>P. mirabilis</i> (n=2)	28	168	168	<i>Enterococcus</i> spp. (n=14)	9	378	378
<i>S. marcescens</i> (n=1)	28	84	84	<i>E. coli</i> (n=12)	12	432	429
<i>E. aerogenes</i> (n=1)	28	84	84	<i>P. aeruginosa</i> (n=9)	11	297	297
<i>E. coli</i> (n=1)	28	84	84				
Итого	28	1512	1506	Итого	28	9675	9672

Примечание. \* – определение чувствительности к каждому АМП выполняли в трех повторах; \*\* - данные в сравнении с результатами тестов на контрольной питательной среде «МХА II- BD».

сти, за исключением одного несоответствующего результата для изолята *E. coli* X 623, который чувствителен к амоксициллину/клавулановой кислоте на контрольной среде «МХА II-BD» и устойчив к этому препарату на среде «МХА II-Оболенск» (табл. 2).

В соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 20776-2–2010<sup>4</sup> изделия, применяемые для испытаний антибактериальной чувствительности, считаются пригодными, если показатель согласования категорий клинической чувствительности с референтным методом превышает 90%, при этом допустимый процент больших расхождений и очень больших расхождений – менее 3%. В соответствии с приведёнными показателями проведён анализ результатов определения чувствительности 165 штаммов возбудителей ИСМП и внегоспитальных инфекций к АМП на разработанной питательной среде «МХА II-Оболенск» и контрольной питательной среде «МХА II-BD» надёжного производителя Becton Dickinson с помощью диско-диффузионного метода. Показатель согласования клинических категорий (S, I, R), полученных на разработанной и контрольной средах, составил 98,2% (162 из 165 штаммов). Поскольку все три несоответствующих результата фиксировали при тестировании грамотрицательных бактерий, дальнейший расчёт показателей расхождений проводили только для них (n=137).

Первое расхождение, касающееся определения чувствительности штамма *P. aeruginosa* В-519/14Р к цефтазидиму, отнесли к категории «очень большие расхождения». Доля «очень больших расхождений», рассчитываемая как отношение количества штаммов с «очень большим расхождением» (n=1) к количеству проанализированных устойчивых к цефтазидиму грамотрицательных бактерий (n=87), составила 1,1%. Такой уровень расхождений не превышает допустимых значений, изложенных в ГОСТ Р ИСО 20776-2–2010 (3%).

Второе выявленное расхождение, полученное при тестировании чувствительности штамма *K. pneumoniae*

В-1969/14 к миноциклину, отнесли к категории «малые расхождения». Доля «малых расхождений», определенная как отношение количества штаммов с «малым расхождением» (n=1) к общему количеству проанализированных на чувствительность к миноциклину грамотрицательных бактерий (n=137), составила 0,7%. Требования к данному показателю в ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010 отсутствуют.

Третий случай несоответствия результатов чувствительности бактерий к АМП на разработанной питательной среде «МХА II-Оболенск» и контрольной питательной среде «МХА II-BD», отмеченный для клинического изолята *E. coli* X 623 по отношению к амоксициллину/клавулановой кислоте, отнесли к категории «большие расхождения». Доля «больших расхождений», определенная как отношение количества штаммов с «большим расхождением» (n=1) к количеству проанализированных чувствительных к амоксициллину/клавулановой кислоте грамотрицательных бактерий (n=42), составила 2,7%, что не превышало допустимых значений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010 (3%).

**Чувствительность штаммов *Photobacterium* spp.**  
На III этапе испытаний оценивали питательную среду «МХА II-Оболенск» при определении чувствительности к АМП диско-диффузионным методом восьми музейных штаммов *Photobacterium* spp., нового патогена человека [12]. Грамотрицательные почвенные бактерии рода *Photobacterium* (сем. *Enterobacteriaceae*) известны как симбионты энтомопатогенных нематод семейства *Heterorhabditidae* и паразиты личиночных форм насекомых, их применяют в сельском хозяйстве в качестве биологических инсектицидов. Установлена этиологическая роль представителя этого рода *P. asymbiotica* при развитии инфекционно-воспалительных заболеваний у иммунокомпрометированных пациентов [13-18]. Для тестирования питательной среды «МХА II-Оболенск» использованы пять патогенных для человека штаммов *P. asymbiotica* и три непатогенных штамма *P. luminescens*. По данным литературы чувствительность *Photobacterium* spp. к АМП зависит от температуры культивирования [18], тестирование проводили при двух температурах: 25 и 37° С, имитирующих условия в организме нематод и личинок насекомых или в организме человека, соответственно (табл. 3).

<sup>4</sup>Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. [https://allgosts.ru/11/100/gost\\_r\\_iso\\_20776-2-2010.pdf](https://allgosts.ru/11/100/gost_r_iso_20776-2-2010.pdf)

Таблица 3

**Результаты определения чувствительности штаммов *Photorhabdus* spp. к АМП диско-диффузионным методом на питательных средах «МХА II-Оболенск» и «МХА II-BD» (III этап испытаний)**

Диски с антимикробными препаратами	Штаммы <i>Photorhabdus</i> spp. / Температура культивирования, °С															
	<i>P. asymbiotica</i> US86		<i>P. asymbiotica</i> US88		<i>P. asymbiotica</i> AU46		<i>P. asymbiotica</i> AU97		<i>P. asymbiotica</i> CbKj163		<i>P. luminescens</i> Hb <sup>T</sup>		<i>P. luminescens</i> FRG04		<i>P. luminescens</i> TT01 <sup>T</sup>	
	25	37	25	37	25	37	25	37	25	37	25	37	25	37	25	37
Амоксициллин/клавулановая к-та	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
Ампициллин	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
Бензилпенициллин	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
Гентамицин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Доксициклин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Имипенем	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Канамицин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Карбенициллин	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
Кларитромицин	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	I	I	R	R	R	R
Хлорамфеникол	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Левифлоксацин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Пеперациллин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Тобрамицин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Триметоприм/сульфаметоксазол	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Цефепим	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Цефокситин	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S
Цефотаксим	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Цефтазидим	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Цефтриаксон	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ципрофлоксацин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S

Примечание. S- чувствительный, I умеренно-резистентный и R- устойчивый штаммы.

Таблица 4

**Определение чувствительности возбудителей ИСМП к АМП методом Е-тестов на питательных средах «МХА II-Оболенск» и «МХА II-BD» (IV этап испытаний)**

Тест-штаммы	Всего проделанных тестов*	Количество совпавших тестов**	Количество тестов, для которых значение МПК отличалось на одно двукратное разведение (наименования АМП)**	Количество тестов, для которых значение МПК отличалось на два двукратных разведения (наименования АМП)**
<i>K. pneumoniae</i> (n=8)	312	177	54 (AM, CT, TZ, IP, MER, CI, LE, GM, CL)	81 (AM, CT, TZ, IP, MER, CI, LE, GM, CL)
<i>A. baumannii</i> (n=3)	117	69	30 (IP, MER, LE, GM, CI)	18 (IP, MER, LE, GM, CI)
<i>P. aeruginosa</i> (n=2)	78	51	15 (IP, MER, LE, CI, GM)	12 (GM, IP, MER, TZ)
<i>P. mirabilis</i> (n=2)	78	60	18 (CT, IP, MER, CI, LE, GM)	0
<i>S. marcescens</i> (n=1)	39	27	12 (IP, MER, CI, LE)	0
<i>E. aerogenes</i> (n=1)	39	24	15 (AM, CT, TZ, IP, MER)	0
<i>E. coli</i> (n=1)	39	15	24 (AM, CT, TZ, GM)	0
Итого	702	423	168	111

Примечание. \* - определение чувствительности к каждому АМП выполняли в трех повторах; \*\* - данные в сравнении с результатами тестов на контрольной питательной среде «МХА II – BD». AM – ампициллин, CT – цефотаксим, TZ – цефтазидим, IP – имипенем, MER – меропенем, GM – гентамицин, CI – ципрофлоксацин, LE – левофлоксацин, CL – хлорамфеникол.

Обнаружено влияние температуры культивирования на результаты определения чувствительности к ампициллину, бензилпенициллину, амоксициллину/клавулановой кислоте для трёх штаммов *P. asymbiotica* US86, *P. asymbiotica* US88, *P. asymbiotica* AU46 и одного штамма *P. luminescens* Hb<sup>T</sup>: при температуре 25° С их регистрировали как резистентные, при 37° С – как чувствительные. При определении чувствительности этих штаммов к остальным АМП не наблюдали зависимости результатов от температуры, но регистрировали устойчивость к некоторым АМП при обеих температурах (табл. 3). Четыре штамма *P. asymbiotica*

AU97, *P. asymbiotica* CbKj163, *P. luminescens* FRG04, *P. luminescens* TT01<sup>T</sup> проявляли чувствительность к большинству АМП. Исключение составил штамм *P. asymbiotica* AU97: штамм был резистентный к пяти АМП и умеренно-резистентный к одному АМП. Аналогичные результаты получили для штамма *P. asymbiotica* CbKj163, за исключением устойчивости к кларитромицину. Штамм *P. luminescens* FRG04 резистентен к четырём АМП, штамм *P. luminescens* TT01<sup>T</sup> – к пяти АМП. Различий в антибиотикограммах штаммов, полученных на питательной среде «МХА II-Оболенск» и на контрольной среде «МХА II-BD», не выявлено.

Детекция карбапенемазной активности штаммов методом СИМ-теста на питательных средах «МХА II-Оболенск» и «МХА II-ВД» (V этап испытаний)

Вид бактерий	Штамм	Гены карба- пенемаз	Результаты СИМ-метода	Вид бактерий	Штамм	Гены карбапе- немаз	Результаты СИМ-метода
<i>K. pneumoniae</i>	410	<i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	Положительный	<i>K. pneumoniae</i>	YKP203	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	409	<i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	Положительный	<i>K. pneumoniae</i>	I-1627	—	Отрицательный
<i>K. pneumoniae</i>	B-352K/15	<i>bla</i> <sub>OXA-244</sub>	Положительный	<i>K. pneumoniae</i>	I-2135	—	Отрицательный
<i>K. pneumoniae</i>	B-369/15	<i>bla</i> <sub>OXA-244</sub>	Положительный	<i>K. pneumoniae</i>	YKP1648	—	Отрицательный
<i>K. pneumoniae</i>	B-1822/14	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>K. pneumoniae</i>	YKP2111	—	Отрицательный
<i>K. pneumoniae</i>	B-1969/14	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	B-740/14	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP201	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	B-774/15A	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP202	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	B-2137/14A	<i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP200	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB43	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP16	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB61	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP2160	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB66	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP1645	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB118	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP1747	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB127	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP1643	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB179	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP1646	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB144	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP1644	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB121	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP902	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB140	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP533	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB220	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP2395	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB224	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP498	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB246	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP522	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB268	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP87	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB56	<i>bla</i> <sub>OXA-40-like</sub>	Положительный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP669	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB199	—	Отрицательный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP2291	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB122	—	Отрицательный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP1142	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB246	—	Отрицательный
<i>K. pneumoniae</i>	YKP178	<i>bla</i> <sub>OXA-48</sub>	Положительный	<i>A. baumannii</i>	YAB245	—	Положительный

Примечание: *bla*<sub>OXA</sub> и *bla*<sub>NDM</sub> – гены карбапенемаз OXA- и NDM- типов, «—» - отсутствие гена карбапенемазы.

**Метод E-тестов.** На IV этапе проводили оценку качества разработанной питательной среды «МХА II-Оболенск» при определении чувствительности штаммов возбудителей ИСМП, использованных на первом этапе испытаний (см. табл. 1) методом градиентной диффузии (E-тестов). Данный метод позволяет определять значенные минимально подавляющей концентрации (МПК) антимикробных препаратов, что сопоставимо с данными метода разведений (см. рисунок). В ходе исследования на разработанной и контрольной питательных средах провели по 702 теста. Значения МПК антимикробных препаратов на обеих средах полностью совпали в 423 тестах (60,2%), различались на одно двукратное разведение, не выходя за рамки точности метода, – в 168 тестах (23,9%), различались на два двукратных разведения – в 111 тестах (15,8%). Только один штамм (*K. pneumoniae* B-1969/14) интерпретировали на разработанной и контрольной питательных средах по-разному: как чувствительный к доксициклину на среде «МХА II-ВД» и как умеренно-резистентный – на среде «МХА II-Оболенск» (табл. 4).

Показатель согласования категорий чувствительности 18 музейных штаммов бактерий к АМП при определении значений МПК для амоксициллина, ампициллина, гентамицина, стрептомицина, тетрациклина, имипенема, меропенема, хлорамфеникола, левофлоксацина, ципрофлоксацина, цефотаксима, цефтазидима составил

100%, для доксициклина – 94,4%, что соответствует требованиям ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010.

**СИМ-тест.** На V этапе испытаний оценивали экспериментальные данные по инактивации карбапенемов клеточными лизатами штаммов-продуцентов карбапенемаз на разработанной питательной среде «МХА II-Оболенск» в сравнении с контрольной питательной средой «МХА II-ВД». Этот тест позволяет идентифицировать штаммы, продуцирующие карбапенемазы. Используются штаммы, несущие гены карбапенемаз OXA-48-типа ( $n=23$ ), OXA-244-типа ( $n=2$ ), OXA-40-типа ( $n=16$ ), OXA-23-типа ( $n=1$ ), NDM-1 ( $n=2$ ) и не имеющие гены карбапенемаз ( $n=8$ ). Все штаммы *K. pneumoniae* и *A. baumannii*, содержащие гены карбапенемаз, продемонстрировали положительный результат в СИМ-тесте. Штаммы, не имеющие гены карбапенемаз, показали отрицательный результат в СИМ-тесте, кроме одного штамма (*A. baumannii* YAB245), который продемонстрировал положительный результат, возможной причиной которого может являться наличие в этом штамме не выявленного с помощью использованного набора праймеров для ПЦР гена карбапенемазы (табл. 5). Несовпадений результатов, полученных на разработанной питательной среде «МХА II-Оболенск» и на контрольной питательной среде «МХА II-ВД», не зафиксировано.

**Обсуждение.** Испытания разработанной в ФБУН ГНЦ ПМБ питательной среды «МХА II-Оболенск» в



сравнении с контрольной питательной средой «МХА П-ВД» продемонстрировали высокую степень совпадений полученных результатов тестирования чувствительности грамположительных и грамотрицательных штаммов бактерий к АМП разных функциональных классов. Подавляющее большинство использованных тест-штаммов и клинических изолятов отнесены к категориям чувствительных, умеренно-резистентных, устойчивых бактерий идентично на обоих использованных питательных средах. Отмеченные единичные случаи расхождений результатов соответствуют требованиям ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам». Возможность получения адекватных результатов микробиологических экспериментов продемонстрирована при использовании диско-диффузионного метода, метода градиентной диффузии, СИМ-теста, что подтверждает фенотипическое выражение генетических детерминант антибиотикорезистентности.

В рамках Программы импортозамещения в России успешно разработана питательная среда «МХА П-Оболенск», пригодная для получения надёжных и достоверных результатов определения чувствительности клинически значимых бактерий к антимикробным препаратам.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

#### ЛИТЕРАТУРА (1, 3-4, 7-11, 13-17 см. REFERENCES)

2. Миронов А.Ю., Крапивина И.В., Мудрак Д.Е., Иванов Д.В. Молекулярные механизмы резистентности к  $\beta$ -лактамам патогенов внутрибольничных инфекций. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 1: 39-43.
5. Шепелин А.П., Морозова Т.П., Косилова И.С., Глазкова Г.П., Домотенко Л.В. Оценка качества питательных сред для определения чувствительности к антибактериальным препаратам. *Дезинфекция. Антисептика*. 2013; 1: 43-8.
6. Поляк М.С., Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. *Питательные среды для медицинской микробиологии*. СПб.: Издательство «ЭЛБИ-СПб»; 2008.
12. Авдошин В.П., Макаров О.В., Киричек А.А. *Phototribidus asymbiotica* — новый представитель грамотрицательной микрофлоры в инфекции мочевых путей. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: медицина*. 2013; 4: 94-9.
18. Киришева Н.А., Ганина Е.А., Комбарова Т.И., Шайхутдинова Р.З., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Инфекционная чувствительность мышей линии BALB/c к заражению *Phototribidus asymbiotica* и *Phototribidus temperate*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 3(113): 64-6.

#### REFERENCES

1. Jim O'Neill. Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. London: The review on antimicrobial resistance. 2016. URL: [https://amr-review.org/sites/default/files/160525\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf).
2. Mironov A.Yu., Kravivina I.V., Mudrak D.E., Ivanov D.V. Molecular mechanisms of the antibacterial resistance of nosocomial infection pathogens to  $\beta$ -lactams. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; 1: 39-43. (in Russian)

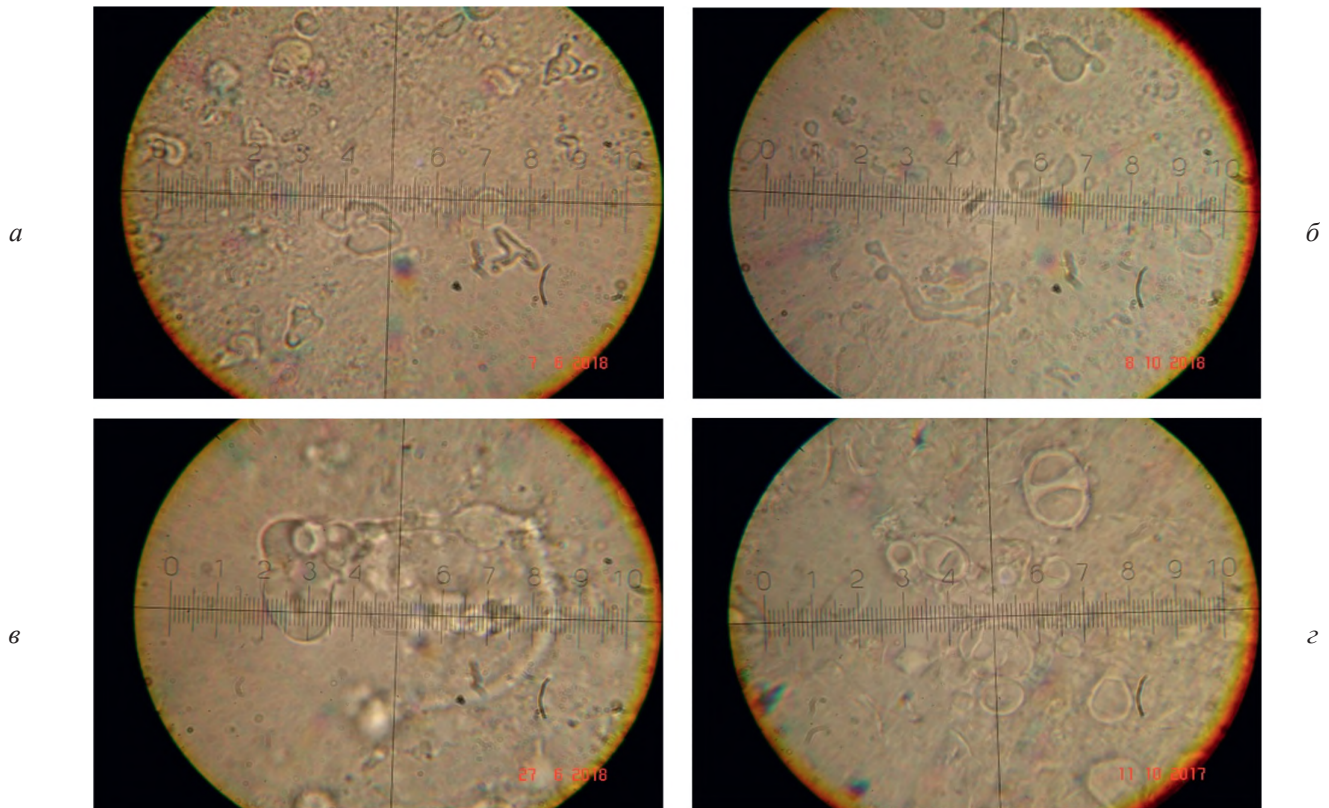
3. Veenemans J., Mouton J.W., Kluytmans J.A., Donnelly R., Verhulst C., van Keulen P.H. Effect of manganese in test media on in vitro susceptibility of *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii* to tigecycline. *Journal of Clinical Microbiology*. 2012; 50(9): 3077-9.
4. Daly J. S., Dodge R. A., Glew R. H., Soja D. T., Deluca B. A., Hebert S. Effect of zinc concentration in Mueller-Hinton Agar on susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997; 35(4): 1027-9.
5. Shepelin A.P., Morozova T.P., Kosilova I.S., Glazkova G.P., Domotenko L.V. Assessment of the quality of nutrient media for determining sensitivity to antibacterial drugs. *Dezinfektsiya Antiseptika*. 2013; 1: 43-8. (in Russian)
6. Polyak M.S. Nutrient media for medical and sanitary microbiology. St.Petersburg: ELBI-SPb; 2008. (in Russian)
7. Song W., Kim H.-S., Kim J.-S., Kim H. S., Shin D. H., Shin S., Park M.-J. Carbapenem Inactivation Method: Accurate Detection and Easy Interpretation of Carbapenemase Production in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. *Ann. Clin. Microbiol.* 2016; 19(4): 83-7.
8. Fursova N.K., Astashkin E.I., Knyazeva A.I., Kartsev N.N., Leonova E.S., Ershova O.N., Alexandrova I.A., Kurdyumova N.V., Sazikina S.Y., Volozhantsev N.V., Svetoch E.A., Dyatlov I.A. The spread of blaOXA-48 and blaOXA-244 carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter* spp. isolated in Moscow, Russia. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2015; 14(1): 46.
9. Dyatlov I., Astashkin E., Kartsev N., Ershova O., Svetoch E., Firsova V., Fursova N. Novel blaCTX-M-2-type gene coding extended spectrum beta-lactamase CTX-M-115 discovered in nosocomial *Acinetobacter baumannii* isolates in Russia. In: Multidisciplinary Approaches for Studying and Combating Microbial Pathogens. Ed. A. Mendez-Vilas. Brown Walker Press. Boca Raton, Florida, USA. 2015; 107-110. ISBN-10: 1-62734-544-2. ISBN-13: 978-1-62734-544-6.
10. Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S., Ilina E.N., Lobzin Y.V., Shlyapnikov S.A., Sidorenko S.V. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2014; 44(2): 152-5.
11. Rodrigo-Troyano A., Sibila O. The respiratory threat posed by multidrug resistant Gram-negative bacteria. *Respirology*. 2017; 22: 1288-99.
12. Avdoshin V.P., Makarov O.V., Kirichek A.A. *Phototribidus asymbiotica* is a new representative of gram-negative microflora in urinary tract infections. *Bulleten' Rossiyskogo Universiteta Druzhby narodov. Seriya :Meditsina*. 2013; 4: 94-9. (in Russian)
13. Costa S.C., Chavez C.V., Jubelin G. et al. Recent insight into the pathogenicity mechanisms of the emergent pathogen *Phototribidus asymbiotica*. *Journal Microbes and Infection*. 2010; 12: 182-9.
14. Gerrard J., Waterfield N., Vohra R. et al. Human infection with *Phototribidus asymbiotica*: an emerging bacterial pathogen. *Journal Microbes and Infection*. 2004; 6: 229-37.
15. Gerrard J.G., McNeven S., Alfredson D. et al. *Phototribidus* species: bioluminescent bacteria as emerging human pathogens? *Journal Emerging Infectious Diseases*. 2003; 9: 251-4.
16. Peel M.M., Alfredson D.A., Gerrard J.G. et al. Isolation, identification, and molecular characterization of strains of *Phototribidus luminescens* from infected humans in Australia. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999; 37: 3647-53.
17. Weissfeld A.S., Halliday R.J., Simmons D.E. et al. *Phototribidus asymbiotica*, a pathogen emerging on two continents that proves that there is no substitute for a well-trained clinical microbiologist. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43(8): 4152-55.
18. Kirsheva N.A., Ganina E.A., Kombarova T.I., SHajhutdinova R.Z., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Infectious sensitivity of BALB/c mice to infection with *Phototribidus asymbiotica* and *Phototribidus temperate*. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2012; 3(113): 64-6. (in Russian)

Поступила 25.04.19

Принята к печати 30.04.19



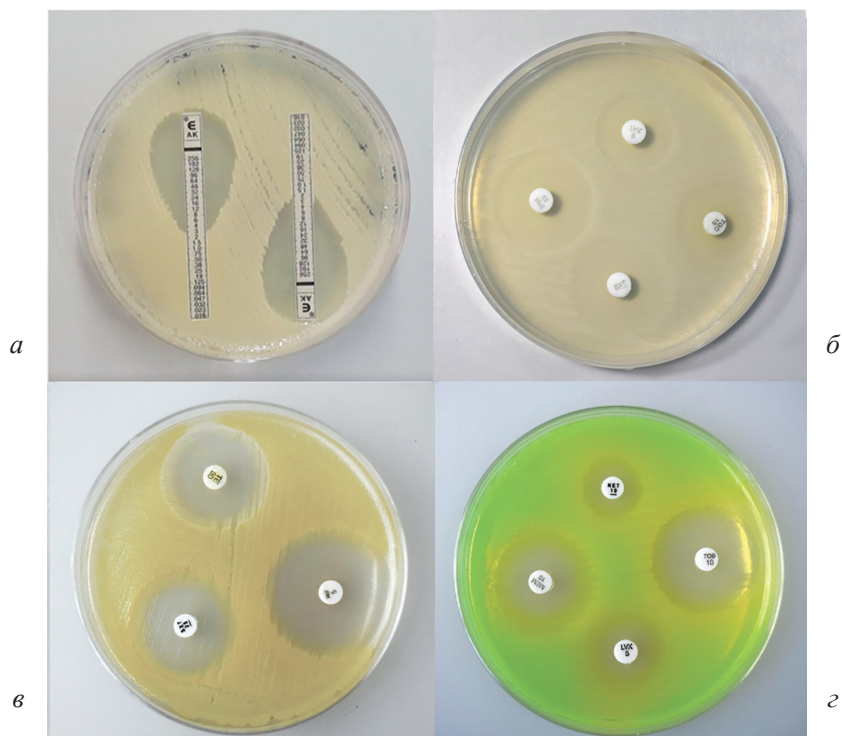
К ст. Арзумян В.Г. и соавт.



Элементы дерматофитных грибов в препаратах чешуй кожи больных атопическим дерматитом (АД) в стадии обострения.

*а* - мальчик 5,5 лет (спина); *б* – мальчик 13 лет (волосистая часть головы);  
*в* – девушка 16 лет (наружная поверхность ступни); *г* – девушка 18 лет (предплечья).  
Увеличение микроскопа 1750 раз. Линейка на фото в микрометрах.

К ст. Косиловой И.С. и соавт.



Е-тест на чувствительность штамма *K. pneumoniae* 409 NDM к амоксициллину (*а*). Диско-диффузионный метод на чувствительность *E. coli* X 627 к имипенему, левофлоксацину, триметоприм/сульфаметоксазолу и тигециклину (*б*), *S. aureus* Д 508 к тетрациклину, триметоприм/сульфаметоксазолу и рифампицину (*в*), *Pseudomonas aeruginosa* X 629 к нетилимицину, меропенему, тобрамицину, левофлоксацину на разработанной питательной среде «МХА П-Оболенск» (*г*).