

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Лихачев И.В.<sup>1</sup>, Краева Л.А.<sup>1</sup>, Самойлова А.А.<sup>1</sup>, Рогачева Е.В.<sup>1</sup>, Кафтырева Л.А.<sup>1,2</sup>, Егорова С.А.<sup>1</sup>, Михайлов Н.В.<sup>1</sup>

### АПРОБАЦИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ТЕСТ-ПОЛОСОК, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ МЕТОДОМ ГРАДИЕНТНОЙ ДИФФУЗИИ (Е-ТЕСТ)

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, 191015, Санкт-Петербург, Россия

Наиболее достоверным критерием чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам является значение минимальной подавляющей концентрации (МПК). Метод градиентной диффузии (эпсилотрический тест, Е-тест), проводимый с использованием тест-полосок, импрегнированных антимикробным препаратом (АМП), позволяет получить количественное значение МПК, минуя трудоёмкие этапы традиционного метода последовательных серийных разведений. Выполнена апробация тест-полосок для проведения эпсилотрического теста, разработанных в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Контроль качества тест-полосок, проведённый путём тестирования эталонных штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 29213 подтвердил соответствие заявленных производителем диапазонов концентраций антибиотиков, а также воспроизводимость результатов при тестировании в трёх повторностях. Проведено сравнение значений МПК, полученных при изучении чувствительности к АМП 101 клинического изолята микроорганизмов, входящих в группу ESKAPE, выделенных из проб биоматериала от госпитализированных пациентов Санкт-Петербурга, к восьми АМП с использованием апробируемых тест-полосок и соответствующих тест-полосок М.И.С.Е., производитель Oxoid (Великобритания). Продемонстрирован высокий процент соответствия значений МПК, а также полное соответствие категорий чувствительности для всех комбинаций микроорганизм/АМП. Полученные расхождения значений МПК не превышали одного шага двукратного последовательного разведения, что допустимо по ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010. Проведённое исследование показало, что разработанные тест-полоски являются приемлемой альтернативой импортным тестам и после окончания процедуры получения регистрационного удостоверения могут быть предложены для определения чувствительности микроорганизмов к АМП в клинико-диагностических лабораториях (КДЛ).

Ключевые слова: метод градиентной диффузии; Е-тест, минимальная подавляющая концентрация; МПК; определение чувствительности к антимикробным препаратам; ESKAPE.

**Для цитирования:** Лихачев И.В., Краева Л.А., Самойлова А.А., Рогачева Е.В., Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Михайлов Н.В. Апробация отечественных тест-полосок, предназначенных для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам методом градиентной диффузии (Е-тест). Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (9): 557-561. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-9-557-561>

Likhachev I.V.<sup>1</sup>, Kraeva L.A.<sup>1</sup>, Samoilova A.A.<sup>1</sup>, Rogacheva E.V.<sup>1</sup>, Kaftyreva L.A.<sup>1,2</sup>, Egorova S.A.<sup>1</sup>, Mikhailov N.V.<sup>1</sup>

### APPROBATION OF RUSSIAN TEST STRIPS FOR ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING OF MICROORGANISMS BY GRADIENT DIFFUSION METHOD (E-TEST)

<sup>1</sup>St. Petersburg Pasteur Institute, 197101, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>State Educational Institution of the Higher Professional Education "North-Western state medical University n.a. I.I. Mechnikov" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 191015, Saint-Petersburg, Russia

The most reliable criterion for the microorganisms antibiotic susceptibility is the value of the minimum inhibitory concentration (MIC). The gradient diffusion method (epsilometric test, e-test), carried out using test strips impregnated with an antimicrobial agent, allows to obtain the quantitative value of MIC, bypassing the time-consuming steps of the traditional method of serial dilutions. We tested strips for the epsilometric test, developed at Saint-Petersburg Pasteur Institute. The quality control, carried by testing the reference strains of *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* 29213, confirmed compliance of the manufacturer's declared antibiotic concentration ranges. The MIC values obtained in the study of the antibiotic susceptibility of 101 clinical isolates of microorganisms of the ESKAPE group, isolated from patients of various hospitals in St. Petersburg, were compared to 8 antimicrobial agents using tested test strips and the corresponding M.I.C. Evaluator of the Oxoid (UK). A high percentage of compliance of MIC values was demonstrated, as well as full compliance of susceptibility categories for all microorganism/antibiotic combinations. The resulting divergences in the MIC values did not exceed one step of a double serial dilution, which is permissible according to GOST R ISO 20776-1-2010. The study showed that the test strips developed at the Saint-Petersburg Pasteur Institute DNT are an acceptable alternative to import tests and, after the registration certificate will be completed, can be offered to determine the susceptibility of microorganisms to antimicrobial agents in bacteriological laboratories.

Key words: gradient diffusion method; E-test, minimum inhibitory concentration; MIC; antimicrobial susceptibility testing; ESKAPE.

**For citation:** Likhachev I.V., Kraeva L.A., Samoiloa A.A., Rogacheva E.V., Kaftyreva L.A., Egorova S.A., Mikhailov N.V. *Approbation of russian test strips for antimicrobial susceptibility testing of microorganisms by gradient diffusion method (E-test). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (9): 557-561 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-9-557-561>*

**For correspondence:** Likhachev I.V., junior researcher of Laboratory of Biological Products department of new technologies; e-mail: [liv-dnt@mail.ru](mailto:liv-dnt@mail.ru)

**Information about authors:**

Likhachev I.V., <https://orcid.org/0000-0001-9952-0126>  
Kraeva L.A., <https://orcid.org/0000-0002-9115-3250>  
Samoiloa A.A., <https://orcid.org/0000-0003-4090-7275>  
Rogacheva E.V., <https://orcid.org/0000-0002-3843-0685>  
Kaftyreva L.A., <https://orcid.org/0000-0003-0989-1404>  
Egorova S.A., <https://orcid.org/0000-0002-7589-0234>  
Mikhailov N.V., <https://orcid.org/0000-0002-3760-9464>

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

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 19.05.2020  
Accepted 29.05.2020

**Введение.** Резистентность к антимикробным препаратам (АМП) определена Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как главная угроза эффективному лечению бактериальных инфекций [1]. Около 700 000 человек ежегодно умирает от инфекций, вызванных антибиотикорезистентными микроорганизмами. В отсутствие радикальных действий к 2050 г. ежегодное число смертей населения от инфекционных заболеваний в мире может достигнуть 10 млн человек [2]. В настоящее время значительную опасность представляет группа микроорганизмов с наибольшей долей полирезистентных штаммов, названная «ESKAPE», включающая *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp [3, 4]. Микроорганизмы, входящие в группу ESKAPE, в совокупности являются одними из наиболее актуальных возбудителей нозокомиальных инфекций в Российской Федерации: доля микроорганизмов данной группы среди наиболее часто встречающихся возбудителей инфекций области хирургического вмешательства (ИОХВ) в многопрофильных стационарах составляет 73,56% [5]. Патогены группы ESKAPE характеризуются высоким уровнем устойчивости к АМП, применяющимся для лечения инфекций в стационаре [6, 7].

Наибольшую угрозу представляют клинические изоляты, устойчивые к препаратам выбора, используемым для лечения инфекций различной локализации. Наиболее актуальна в настоящее время устойчивость изолятов *Enterococcus faecium* и *faecalis* к гликопептидам, в частности, к ванкомицину (VRE), *Staphylococcus aureus* – к β-лактамам (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* и *Enterobacter* spp. – к β-лактамам за счет продукции β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемаз, *Acinetobacter* spp. – к карбапенемам, *Pseudomonas aeruginosa* – к карбапенемам, фторхинолонам и аминогликозидам [8-11]. Перечисленные микроорганизмы представляют особую угрозу, поскольку они могут приобретать устойчивость ко всем наиболее эффективным, безопасным и доступным классам АМП, включая карбапенемы и цефалоспорины расширенного спектра [12]. Именно поэтому данные микроорганизмы отнесены ВОЗ к группе возбудителей с «критически высоким уровнем приоритетности» [13]. Для снижения циркуляции резистентных штаммов микроорганизмов необходимы строгие меры инфекционного контроля и рации-

ональное использование АМП, основанное на данных локального мониторинга чувствительности, а также достоверных результатах тестирования конкретного изолята возбудителя [14].

Наиболее достоверным критерием чувствительности микроорганизма к АМП является значение МПК, которое не только позволяет отнести исследуемый изолят к категории чувствительности, но и в ряде случаев помогает определить режим дозирования антибиотика, оптимальный в отношении выделенного у пациента изолята. При лечении инфекций, вызванных устойчивыми штаммами, в условиях крайне ограниченного выбора эффективных АМП возможно использование высоких доз антибиотиков с ограниченным прямым токсическим действием с целью создания в организме больного такой концентрации АМП, которая позволила бы преодолеть резистентность возбудителя [15, 16]. Такой подход возможен только в том случае, если это позволяет соотношение МПК препарата и его фармакокинетических показателей [17]. Очевидно, что определение точного значения МПК выбранного препарата в данном случае играет ключевую роль [18].

Фенотипические методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам делятся на диффузионные и методы последовательных разведений. Референсным методом считается метод серийных разведений, однако, его широкое использование в условиях бактериологических лабораторий стационаров ограничено определенными методическими трудностями (сложностью приготовления рабочих растворов АМП, необходимостью тщательного контроля качества питательных сред, строгого соблюдения режимов их хранения и др.) [19, 20]. Диффузионные методы основаны на подавлении роста исследуемой культуры к АМП, диффундирующим из носителя в плотную питательную среду [21, 22]. В КДЛ наиболее широко используют простой в постановке диско-диффузионный метод (ДДМ), который хорошо зарекомендовал себя при тестировании большинства комбинаций микроорганизм/антибиотик. Тем не менее, ДДМ не позволяет провести количественную оценку чувствительности штамма к исследуемому АМП и получить точное значение МПК [23]. Кроме того, в ряде случаев нормативные документы не позволяют использовать ДДМ: например, при определении чувствительности *S. aureus* к ванкомицину, *S. pneumoniae* к β-лактамам (кроме оксациллина).

Для определения МПК диффузионным методом в 1988 г. был предложен метод градиентной диффузии, названный позже эпсилонметрическим тестом (Е-тестом) [24]. Применение Е-теста позволяет получить достоверные количественные результаты (точное значение МПК) и избежать трудоемких подготовительных этапов [25]. В настоящее время в РФ для определения чувствительности к АМП микроорганизмов вышеуказанным методом используют импортные тесты, высокая стоимость которых ограничивает их широкое применение в КДЛ стационаров и диктует необходимость разработки альтернативных тестов отечественного производства.

Цель работы – апробировать отечественные тест-полоски для определения чувствительности микроорганизмов к АМП методом градиентной диффузии.

**Материал и методы.** Использовали тест-полоски, изготовленные в отделе новых технологий (ОНТ) ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (далее по тексту – тест-полоски ОНТ). На лицевой стороне тест-полоски, выполненной из пористого материала, нанесено типографское изображение шкалы со значениями концентраций АМП. Противоположная сторона полоски импрегнирована 16 концентрациями АМП, нанесёнными градиентно. В ходе исследования провели апробацию тест-полосок, импрегнированных АМП различных классов: амикацин, гентамицин (аминогликозиды), азитромицин (макролиды), ванкомицин (гликопептиды), меропенем (карбапенемы), оксациллин (пенициллины), цефотаксим (цефалоспорины) и цiproфлоксацин (фторхинолоны).

Внутрилабораторный контроль качества изготовленных тест-полосок проводили с использованием эталонных штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 на основании целевых и допустимых значений МПК, установленных стандартом EUCAST в разделе «Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion» (версия 10.0) и Институтом клинических и лабораторных стандартов в разделе «Performs standards for antimicrobial susceptibility testing» (CLSI M100-S25).

В работе использовали клинические изоляты микроорганизмов группы ESKAPE ( $n=101$ ), выделенные из проб биоматериала от госпитализированных пациентов Санкт-Петербурга. Идентификацию изолятов до вида проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) с использованием спектрометра Microflex LRF и программным обеспечением «Biotyper RTC» (Bruker Daltonik, Германия). Значения Score  $\geq 2,0$  использовали в качестве критерия надежной видовой идентификации.

Определение чувствительности микроорганизмов к АМП проводили методом градиентной диффузии в соответствии с клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия 2018-03 на среде агар Мюллера-Хинтона (Himedia, Индия). Клинические категории чувствительности исследуемых изолятов микроорганизмов определяли на основании пограничных значений МПК, в соответствии с рекомендациями EUCAST раздела «Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters» (версия 10.0) и российскими клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия 2018-03. М.И.С.Е. – полоски (производитель Oxoid, Ве-

ликобритания) использовали в качестве референсных полосок для проведения эпсилонметрического теста.

Обработка полученных результатов производилась согласно ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010, регламентирующему испытание разрабатываемых для определения антибиотикочувствительности тест-систем. Поскольку эпсилонметрический тест является валидированной методикой, для которой значения случайных погрешностей известны и внесены в алгоритм учёта и интерпретации результатов, полученные данные не требовали дополнительной статистической обработки.

**Результаты.** На первом этапе исследования выбрали подходящий диапазон концентраций АМП, наносимых на тест-полоски. Для этого использовали базу данных EUCAST, в которой представлены распределения значений МПК большого количества АМП в отношении широкого спектра микроорганизмов [26]. Анализ данных EUCAST позволил установить подходящий диапазон концентраций для каждого АМП (табл. 1). Выбранные диапазоны включали пограничные значения МПК для отнесения штаммов к определенной категории чувствительности согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2018-03).

На втором этапе исследования тест-полоски ОНТ, содержащие АМП в ранее выбранных диапазонах концентраций (азитромицин, амикацин, ванкомицин, гентамицин, меропенем, оксациллин, цефотаксим и цiproфлоксацин), апробировали на эталонных штаммах микроорганизмов. Тестирование каждого АМП провели трижды для оценки воспроизводимости результатов. Значения МПК антимикробных препаратов в отношении эталонных штаммов представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, значения МПК, полученные с использованием тест-полосок ОНТ, находились в диапазонах допустимых значений стандартов EUCAST-2020 и CLSI M100-S25. Согласно национальному стандарту ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010 п. 5.4.3, значения МПК должны быть воспроизводимы в пределах одного двукратного разведения, что и было получено по результатам исследования.

На третьем этапе исследования оценили сопоставимость значений МПК и клинических категорий чувствительности, полученных с использованием тест-полосок ОНТ и М.И.С.Е.–полосок. Методом градиентной диффузии определили чувствительность 101 клинического изолята микроорганизмов группы ESKAPE к соответствующим АМП. Изучены 25 комбинаций микроорганизм/антибиотик: *Enterococcus* spp./ванкомицин и цiproфлоксацин; *Staphylococcus aureus*/азитромицин, амикацин, ванкомицин, гентамицин, оксациллин и цiproфлоксацин; *Klebsiella pneumoniae*/амикацин, гентамицин, меропенем, цефотаксим, цiproфлоксацин; *Acinetobacter* spp./амикацин, гентамицин, меропенем и цiproфлоксацин; *Pseudomonas aeruginosa*/амикацин, меропенем и цiproфлоксацин; *Enterobacter* spp./амикацин, гентамицин, меропенем, цефотаксим и цiproфлоксацин. Согласно полученным значениям МПК, исследованные изоляты отнесли к соответствующей клинической категории чувствительности.

По результатам исследования процент полного соответствия значений МПК, полученных с использованием тест-полосок ОНТ и М.И.С.Е.–полосок (Oxoid), составил  $\geq 90\%$  для цiproфлоксацина при тестировании изолятов *S. aureus* и *K. pneumoniae*;  $\geq 80\%$  – для амикацина при

**Значения МПК антимикробных препаратов, полученные при тестировании эталонных штаммов микроорганизмов с использованием тест-полосок ОНТ**

№	АМП	Концентрации АМП на тест-полоске, мкг/мл	Эталонный штамм	Допустимый диапазон значений МПК*, мкг/мл	Полученные значения МПК, мкг/мл
1	Азитромицин	0,008 – 256	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,5 – 2,0	1,0; 0,5; 1,0
2	Ванкомицин	0,016 – 512	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,5 – 2,0	1,0; 0,5; 0,5
3	Оксациллин	0,016 – 512	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,12 – 0,5	0,25; 0,5; 0,25
4	Амикацин	0,016 – 512	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,5 – 4,0	2,0; 2,0; 2,0
5	Гентамицин	0,016 – 512	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,25 – 1,0	0,5; 0,25; 0,25
6	Меропенем	0,004 – 128	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,008 – 0,06	0,06; 0,031; 0,031
7	Цефотаксим	0,004 – 128	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,03 – 0,125	0,125; 0,063; 0,063
8	Ципрофлоксацин	0,004 – 128	<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,004 – 0,016	0,004; 0,004; 0,008

Примечание. \* – допустимые диапазоны для эталонных штаммов из стандартов EUCAST-2020 и CLSI M100-S25.

**Процент (%) полного соответствия значений МПК, полученных при тестировании клинических изолятов микроорганизмов группы ESKAPE с использованием сравниваемых тест-полосок**

АМП	<i>Enterococcus</i> spp (n = 15)	<i>S. aureus</i> (n = 10)	<i>K. pneumoniae</i> (n = 28)	<i>Acinetobacter</i> spp (n = 15)	<i>P.aeruginosa</i> (n=13)	<i>Enterobacter</i> spp. (n=20)
Азитромицин	но	70,0	но	но	но	но
Амикацин	но	80,0	85,7	80,0	69,2	85,0
Ванкомицин	46,6	80,0	но	но	но	но
Гентамицин	но	80,0	85,7	66,7	но	70,0
Меропенем	но	но	58,3	46,7	53,8	50,0
Оксациллин	но	60,0	но	но	но	но
Цефотаксим	но	но	78,6	но	но	65,0
Ципрофлоксацин	53,3	90,0	92,8	60,0	76,9	70,0

Примечание. но – не определяли.

тестировании *S. aureus*, *Acinetobacter* spp. и *Enterococcus* spp.; 80 % – для ванкомицина и гентамицина при тестировании *S. aureus* (табл. 2). Для остальных комбинаций микроорганизм/АМП процент полного соответствия значений МПК колебался от 46,6% (*Enterococcus* spp./ванкомицин) до 76,9% (*P.aeruginosa*/ципрофлоксацин). Выявленные расхождения значений МПК находились в пределах одного двукратного разведения, что допустимо согласно ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010.

Мы оценили, насколько выявленные расхождения в значениях МПК повлияли на клиническую категоризацию изолятов, которая используется клиницистами для принятия решения о выборе АМП и режиме дозирования в рамках этиотропного лечения заболеваний. Установлено, что несмотря на расхождения значений МПК, категории чувствительности клинических изолятов (S, I или R), определенные с использованием тест-полосок ОНТ и референтных М.И.С.Е. полосок (Oxoid), совпали для всех исследуемых комбинаций микроорганизм/АМП. Таким образом, соответствие клинических категорий чувствительности составило 100 %.

**Обсуждение.** В настоящее время тест-полоски для определения антибиотикочувствительности микроорганизмов выпускают следующие производители: Ettest (bioMérieux, Франция), M.I.C. Evaluator (Oxoid, Великобритания), MIC TEST STRIP (Liofilchem, Италия), Ezy MIC (HiMedia, Индия), MIC test strips (BIOANALYSE, Турция). На территории стран Евразийского экономического сообщества (ЕВРАЗЭС), включая Российскую

Федерацию, полоски для эпсилонметрического теста на момент написания данной статьи не производились. Поскольку широко распространённый ДДМ не дает необходимой информации при тестировании некоторых комбинаций микроорганизм/АМП, а методы последовательных разведений трудоемки, метод градиентной диффузии (эпсилонметрический тест) является для практической диагностической лаборатории методом выбора в тех случаях, когда необходимо получить количественное значение МПК антибиотика. В настоящее время врачам-бактериологам приходится проводить исследования, используя импортные тесты, но ввиду их высокой стоимости, количество выполненных исследований ниже потребности в них. В этих условиях разработка и производство отечественных тестов для метода градиентной диффузии (эпсилонметрического теста) является актуальной задачей.

Апробация разработанных тест-полосок на эталонных штаммах показала высокую воспроизводимость результатов – значения МПК при трехкратном тестировании колебались в пределах одного двукратного разведения и находились в диапазоне допустимых значений, рекомендованных EUCAST. Сравнение результатов тестирования клинических изолятов микроорганизмов *Enterococcus* spp., *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp. методом градиентной диффузии с использованием тест-полосок ОНТ и референтных М.И.С.Е. – полосок продемонстрировало высокий процент соответствия значений МПК, а также полное соответствие категорий чувствительности для всех комбинаций микроорганизм/АМП. Полученные расхождения значений МПК не превышали одного двукратного разведения, что допустимо по ГОСТ Р ИСО 20776-2-2010. Тест-полоски планируется производить в 79 вариантах исполнения. Варианты исполнения отличаются наименованием АМП, сорбированного на носителе (тест-полоске).

Проведенная работа послужила базисом для дальнейших перспективных разработок. Так, помимо стандартных тест-полосок, импрегнированных одним антимикробным препаратом в 16 концентрациях, разработаны тест-полоски для фенотипической детекции клинически значимых механизмов резистентности: продукции бета-лактамаз расширенного спектра, цефало-

спориаз молекулярного класса C (AmpC). Потребность в таких разработках существует во многих лабораториях, особенно клинического профиля, когда идет большой поток пациентов с нозокомиальными инфекциями, в особенности обусловленными такими бактериями, как *K. pneumoniae*, *E. coli* [27]. Для выявления у бактерий карбапенемаз и металло-бета-лактамаз существует ряд фенотипических тестов [28, 29]. Однако все они трудоемки и сложны в постановке. Поэтому нами разработаны тест-полоски для фенотипической детекции карбапенемаз генетической группы KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase), а также для определения чувствительности к гликопептидным антибиотикам у штаммов *S. aureus* типа GISA (Glycopeptide Intermediate *S. aureus*) или hGISA (гетеро-GISA), для изучения которых пока используется ряд трудоемких методов [30].

**Заключение.** Проведенное исследование показало, что разработанные тест-полоски являются приемлемой альтернативой импортным тестам. После окончания процедуры получения регистрационного удостоверения они могут быть предложены для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам в КДЛ.

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

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

#### ЛИТЕРАТУРА (1-4, 6-17, 19-30 см. REFERENCES)

- Кузьменков А.Ю. Этиологическая структура возбудителей нозокомиальных хирургических инфекций в многопрофильных стационарах Российской Федерации. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2017; 16(3): 84–9.
- Поляк М.С. Роль микробиологической службы в обеспечении эффективной антибиотикотерапии на современном этапе. *Медицинский алфавит. Современная лаборатория № 2*. 2014; 12 (228): 27–31.

#### REFERENCES

- WHO's first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health. Geneva, Switzerland. 2014. Available at: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/en/> (Reference date: April 2020).
- O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. Tackling drug resistant infections globally: final report and recommendations. 2016. Available at [https://amr-review.org/sites/default/files/160518\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf).
- Santajit S., Indrawattana N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Res Int*. 2016; 6:1-8. DOI: 10.1155/2016/2475067.
- Pletzer D., Mansour S.C., Hancock R.E.W. Synergy between conventional antibiotics and anti-biofilm peptides in a murine, sub-cutaneous abscess model caused by recalcitrant ESKAPE pathogens. *Plos Pathog*. 2018; 14(6): e1007084. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007084.
- Kuz'menkov A.Yu. Etiological structure of hospital-acquired surgical infections in multi-profile hospitals in Russian Federation. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoj akademii*. 2017; 16(3): 84–9. DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-6-22-276. (in Russian)
- Navidinia M. The clinical importance of emerging ESKAPE pathogens in nosocomial infections. *J. Paramed. Sci*. 2016; 7(3): 43–57. DOI: 10.22037/jps.v7i3.12584.
- Mulani M.S., Kamble E.E., Kumkar S.N., Tawre M.S., Pardesi K.R. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front. Microbiol*. 2019; 10:539. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00539.
- Ahmed M.O., Baptiste K.E. Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. *Microbial Drug Resistance*. 2018; 24(5): 590–606. DOI: 10.1089/mdr.2017.0147.
- Potter R.F., D'Souza A.W., Dantas G. The rapid spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Drug Resist*. 2016; 29, 30–46. DOI: 10.1016/j.drug.2016.09.002.

- Ventola C.L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015; 40(4): 277–83.
- Ge B., Mukherjee S., Hsu C.H., Davis J.A., Tran T.T., Yang Q. et al. MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in US retail meats, 2010–2011. *Food Microbiol*. 2017; 62: 289–97. DOI: 10.1016/j.fm.2016.10.029.
- Bearman G., Munoz-Price S., Morgan D., Murthy K. Infection Prevention New Perspectives and Controversies. 1st ed. Cham: Springer; 2018. DOI: 10.1007/978-3-319-60980-5.
- WHO. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed (2017). The first ever list of WHO cataloging clinically relevant multidrug-resistant pathogens in order of priority, according to the current threat to human health, for urgent research and development of new antibiotics. [www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/](http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/).
- Gill J.S., Arora S., Khanna S.P., Kumar K.H. Prevalence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from a tertiary level intensive care unit. *J. Glob. Infect*. 2016; 8(4): 155–9. DOI: 10.4103/0974-777X.192962.
- Bassetti M., Righi E. New antibiotics and antimicrobial combination therapy for the treatment of gram-negative bacterial infections. *Current opinion in critical care*. 2015; 21(5): 402–11. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000235.
- Baker C.M., Ferrari M.J., Shea K. Beyond dose: Pulsed antibiotic treatment schedules can maintain individual benefit while reducing resistance. *Scientific reports*. 2018; 8: 58–66. DOI: 10.1038/s41598-018-24006-w.
- Sumi C.D., Heferman A.J., Lipman J., Roberts J.A., Sime F.B. What antibiotic exposures are required to suppress the emergence of resistance for Gram-Negative bacteria? a systematic review. *Clinical Pharmacokinetics*. 2019; 58: 1407–43. DOI: 10.1007/s40262-019-00791-z.
- Polyak M.S. The role of bacteriological service in providing the effective antibiotic therapy today. *Meditsinskiy alfavit. Sovremennaya laboratoriya № 2*. 2014; 12 (228): 27–31. (in Russian)
- Kadlec K., Wendlandt S., Feßler A. T., Schwarz S. Methods for the detection of antimicrobial resistance and the characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from food-producing animals and food of animal origin. In: Chen Chin-Yi, Yan X., Jackson C.R. Antimicrobial resistance and food safety: Methods and techniques. Academic Press; 2015: 207–32. DOI: 10.1016/B978-0-12-801214-7.00011-9.
- Schumacher A., Vranken T., Malhotra A., Arts J.J.C., Habibovic P. *In vitro* antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2018; 37(2): 187–208. DOI: 10.1007/s10096-017-3089-2.
- Flanagan J.N., Steck T.R. The relationship between agar thickness and antimicrobial susceptibility testing. *Indian J. Microbiol*. 2017; 57(4): 503–6. DOI: 10.1007/s12088-017-0683-z.
- Maugeri G., Lychko I., Sobral R., Roque Ana C.A. Identification and antibiotic-susceptibility profiling of infectious bacterial agents: a review of current and future trends. *Biotechnol. J*. 2019; 14(1): e1700750. DOI: 10.1002/biot.201700750.
- Behera B., Anil Vishnu G.K., Chatterjee S., Sitaram Gupta V., Sreekumara N., Nagabhushana A. et al. Emerging technologies for antibiotic susceptibility testing. *Biosensors and Bioelectronics*. 2019; 142(1): 111552. DOI: 10.1016/j.bios.2019.111552.
- Bolmstrom, A., Arvidson, S., Ericsson, M., and Karlsson, A. A novel technique for direct quantitation of antimicrobial susceptibility of microorganisms. Presented at the Interscience Conference Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Los Angeles: CA; 1988.
- Syal K., Mo M., Yu H., Iriya R., Jing W., Guodong S. et al. Current and emerging techniques for antibiotic susceptibility tests. *Theranostics*. 2017; 7(7): 1795–1805. DOI: 10.7150/thno.19217.
- Smith P., Endris R., Kronvall G., Thomas V., Verner-Jeffreys D., Wilhelm C. et al. Epidemiological cut-off values for *Flavobacterium psychrophilum* MIC data generated by a standard test protocol. *Journal of Fish Diseases*. 2016; 39(2): 143–54. DOI: 10.1111/jfd.12336.
- Mohanty S., Gaiand R., Ranjan R., Deb M. Use of the ceftipime-clavulanate ESBL Etest for detection of extended-spectrum beta-lactamases in AmpC co-producing bacteria. *J. Infect. Dev. Ctries*. 2010; 4 (1): 24–29. DOI: 10.3855 / jidc.493.
- Tamma P. D., Simmer P. J. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 2018; 56(11): e01140-18. DOI: 10.1128/JCM.01140-18.
- Liao Q., Xie Y., Wang C., Zong Z., Wu S., Liu Y. et al. Development and evaluation of the method for detecting metallo-carbapenemases among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Microbiological Methods*. 2019; 163: 105652. DOI: 10.1016/j.mimet.2019.105652.
- Périchon B., Courvalin P. Synergism between  $\beta$ -lactams and glycopeptides against VanA-type Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and heterologous expression of the vanA operon. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2006; 50(11):3622-30. DOI: 10.1128/AAC.00410-06.

Поступила 19.05.20

Принята к печати 29.05.20