



EUCAST

ЕВРОПЕЙСКИЙ КОМИТЕТ ПО
ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Европейское общество по клинической микробиологии и инфекционным болезням

Руководство по учету результатов

Определение чувствительности
к антимикробным препаратам

Диско-диффузионный метод EUCAST

Версия 5.0
Январь 2017

Изменения, по сравнению с предыдущей версией (4.0)

Слайд	Изменения
3	<ul style="list-style-type: none">Добавлены пояснения по учету зон подавления роста и использованию автоматических приборов учета
17	<ul style="list-style-type: none">Добавлены пояснения по учету результатов определения чувствительности <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> к триметоприму-сульфаметоксазолу.
18	<ul style="list-style-type: none">Добавлены ампициллин-сульбактам и амоксициллин-клавулановая кислота.
20	<ul style="list-style-type: none">Добавлены инструкции по учету результатов определения чувствительности <i>Escherichia coli</i> к фосфомицину.
21	<ul style="list-style-type: none">Добавлена информация по учету результатов определения чувствительности энтерококков к ванкомицину.

Измерение зон подавления роста

- Приведенные далее инструкции по оценке зон подавления роста являются частью методологии EUCAST по выполнению диско-диффузионного метода.
- При измерении зон подавления роста следует учитывать зону полного подавления роста микроорганизмов, определяемую невооруженным глазом, при расположении чашки на расстоянии примерно 30 см от глаз (за исключением частных случаев и специальных инструкций по учету, см. слайды 15-24).
- Измерение зон подавления роста проводится при помощи линейки или штангенциркуля до ближайшего миллиметра. При использовании автоматических приборов для измерения зон подавления роста, их результаты должны быть калиброваны по отношению к визуальному методу.

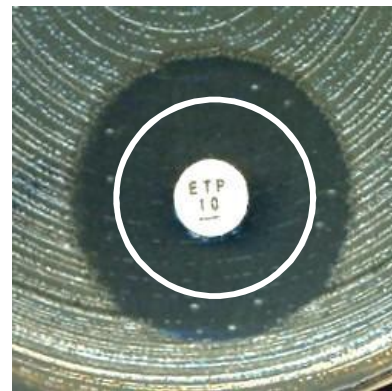
Измерение зон подавления роста

- Чашку Петри с агаром **МХ** располагают дном кверху с закрытой крышкой на темную поверхность, освещая ее отраженным светом.
- Чашку Петри с агаром **МХ-П** помещают дном книзу, освещая ее отраженным светом, крышку снимают.



Колонии внутри зоны

- Обнаруженные изолированные колоний внутри зоны подавления роста необходимо субкультивировать, проверить чистоту культуры и при необходимости повторить исследование.
- При подтверждении чистоты культуры колонии внутри зоны должны учитываться при измерении диаметра.



Измерение зон подавления роста при обнаружении колоний
внутри зоны

Колонии внутри зоны

- Обнаруженные изолированные колоний внутри зоны подавления роста необходимо субкультивировать, проверить чистоту культуры и при необходимости повторить исследование.
- При подтверждении чистоты культуры колонии внутри зоны должны учитываться при измерении диаметра.

E. coli ESBL



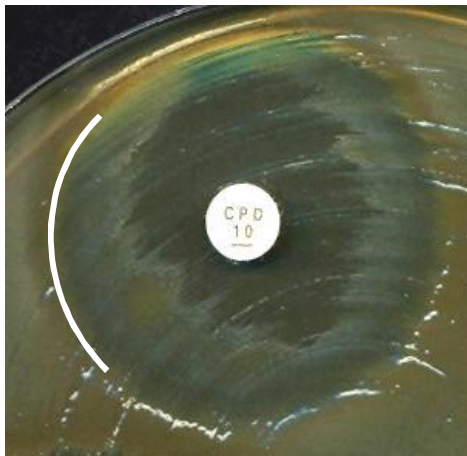
H. influenzae,
мутация ПСБ



Измерение зон подавления роста при обнаружении колоний внутри зоны

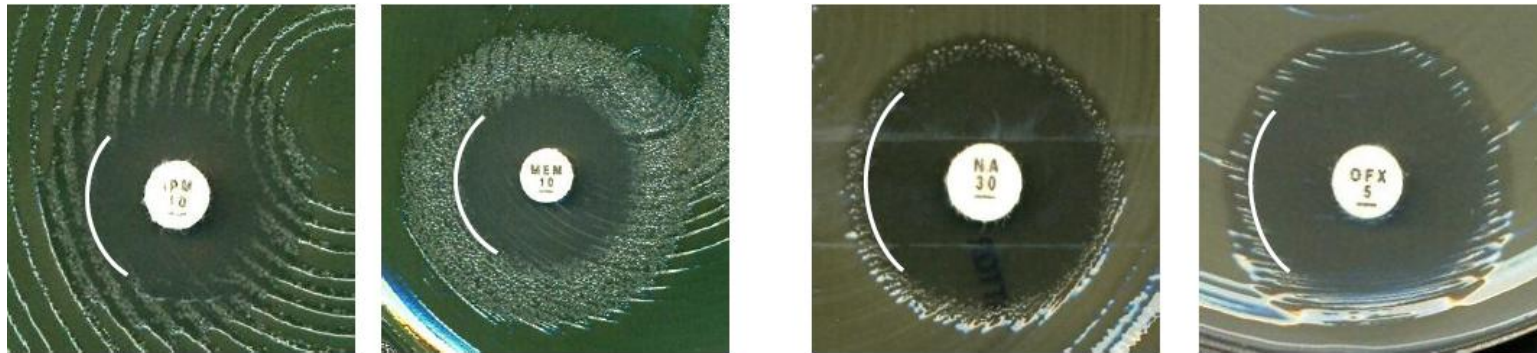
Роение

- При определении чувствительности *Proteus spp.* роение в зоне подавления роста не учитывается.



Двойные зоны

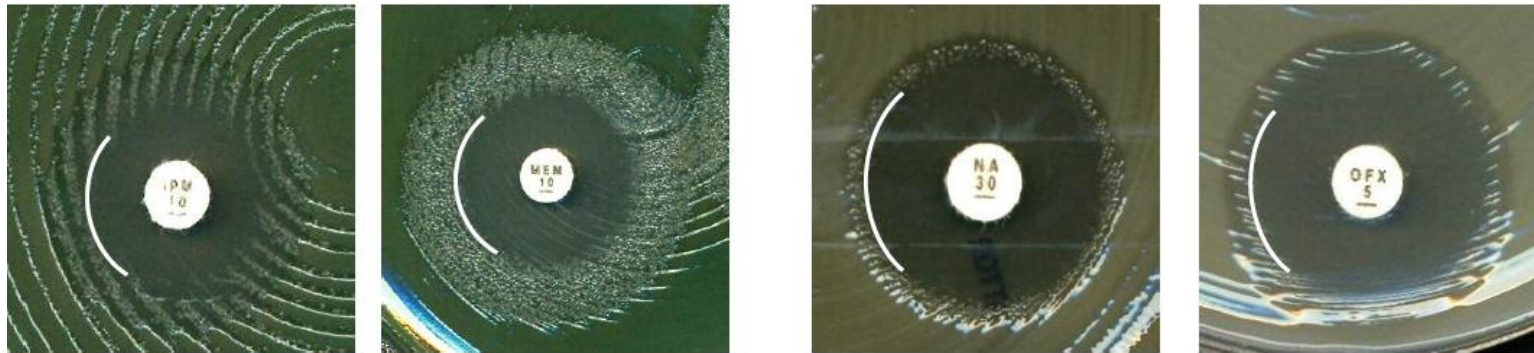
- Проверить чистоту культуры и повторить исследование при необходимости.
- При подтверждении чистоты культуры провести учет по внутреннему краю зоны.



Измерение двойной зоны.

Нечеткие границы зоны Enterobacteriaceae

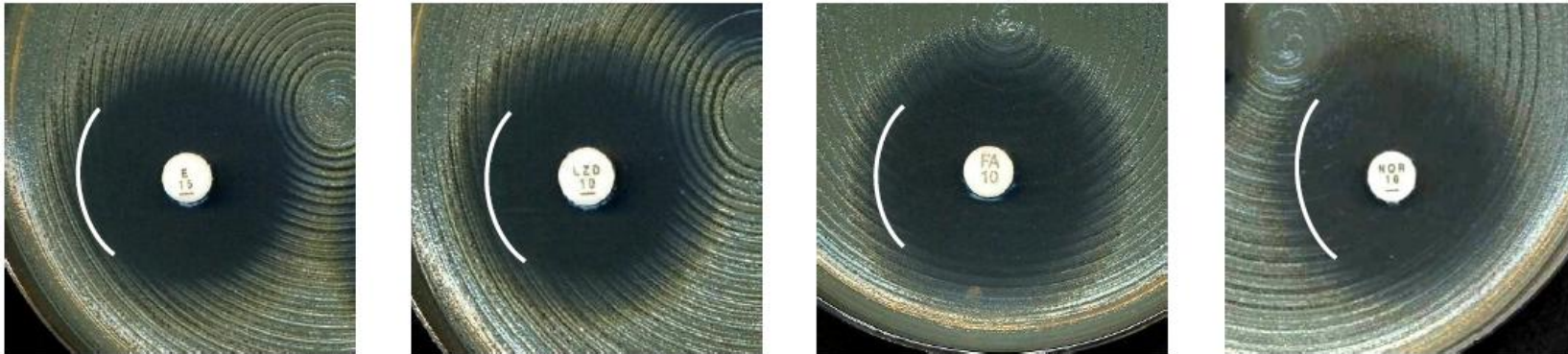
- Чашку располагают на темном фоне на расстоянии около 30 см от глаз, положение границы зоны оценивают невооруженным глазом. Не следует подносить чашку к источнику света (учитывать в проходящем свете) или использовать увеличительное стекло.



Enterobacteriaceae: измерение зоны с нечеткой границей.

Нечеткие границы зоны Стафилококки

- Чашку располагают на темном фоне на расстоянии около 30 см от глаз, положение границы зоны оценивают невооруженным глазом. Не следует подносить чашку к источнику света (учитывать в проходящем свете) или использовать увеличительное стекло.



Стафилококки: измерение зоны с нечеткой границей.

Нечеткие границы зоны *S. pneumoniae*

- Мелкие колонии, видимые невооруженным глазом с расстояния 30 см, должны учитываться при измерении зоны подавления роста.
- Присутствие мелких колоний вблизи края зоны может быть связано с чрезмерной влажностью агара МХ-П. Чтобы ослабить этот эффект чашки следует подсушивать перед использованием.



S. pneumoniae: измерение зоны с нечеткой границей.

Рост или гемолиз?

- Необходимо дифференцировать зону подавления роста (учитывается) и зону гемолиза (не учитывается).
- Это может вызвать определенные трудности:
 - β -гемолизины диффундируют в агар, поэтому обычно над зоной гемолиза нет роста микроорганизмов;
 - α -гемолизины не диффундируют в агар, поэтому гемолиз часто является маркером роста микроорганизмов.
 - Зоны подавления роста, сопровождающиеся α -гемолизом, наиболее характерны для *S. pneumoniae* при определении чувствительности к β -лактамам.

β-гемолиз

- Для лучшей дифференциации зоны подавления роста и зоны гемолиза, следует наклонить чашку вперед-назад.
- В зоне β-гемолиза рост, как правило, отсутствует.



S. pyogenes



Streptococcus группы C

α-гемолиз

- Для лучшей дифференциации зоны подавления роста и зоны гемолиза, следует наклонить чашку вперед-назад.



Обычно рост микроорганизмов наблюдается над всей зоной α-гемолиза.



В некоторых случаях зона α-гемолиза выходит за границы роста. Для облегчения учета результата следует наклонить чашку.

Учет результатов: частные случаи

- Триметоприм и триметоприм-сульфаметоксазол: общие рекомендации
- *Stenotrophomonas maltophilia* и триметоприм-сульфаметоксазол
- Enterobacteriaceae и ампициллин, **ампициллини-сульбактам и амоксициллин-клавулановая кислота**
- *E. coli* и мециллинам
- ***E. coli* и фосфомицин**
- Enterococci и ванкомицин
- *S. aureus* и бензилпенициллин
- Выявление индуцибельной резистентности к клиндамицину у стафилококков и стрептококков

Триметоприм и триметоприм-сульфаметоксазол

- При обнаружении двойных зон подавления роста следуйте инструкциям по учету результатов, приведенным выше.
- При наличии четкого края зоны подавления роста не следует учитывать тонкий рост, распространяющийся до диска.



E. coli



KNC



Moraxella



Haemophilus

Stenotrophomonas maltophilia и триметоприм-сульфаметоксазол

- При наличии любых признаков того, что диаметр зоны подавления роста \geq пограничного значения для чувствительных изолятов, результат оценивается как чувствительный. При этом рост внутри зоны подавления может быть достаточно выраженным.



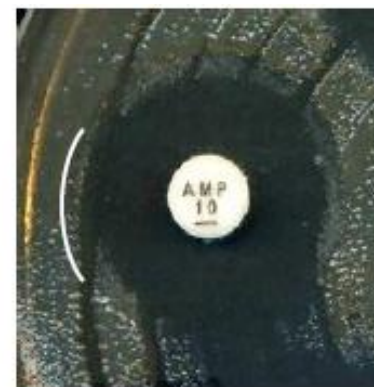
Учет проводится по любой различимой границе зоны подавления роста. Тонкий рост внутри зоны не учитывается. = Изолят чувствительный, если $d \geq 16$ мм

Полное отсутствие зоны подавления роста =
Изолят резистентный

Enterobacteriaceae и ампициллин, ампициллин-сульбактам

и амоксициллин-клавулановая кислота

- При использовании некоторых серий агара МХ внутри основной зоны подавления роста может появляться нежный рост, образующий внутреннюю зону. Этот рост следует игнорировать. При учете результатов только по внешней зоне различия в размерах зон между различными сериями не выявляются.



E. coli и мециллинам

- Изолированные колонии внутри зоны подавления роста не учитываются.



E. coli и фосфомицин

- Изолированные колонии внутри зоны подавления роста не учитываются. Диаметр измеряется по наружному краю зоны подавления роста.



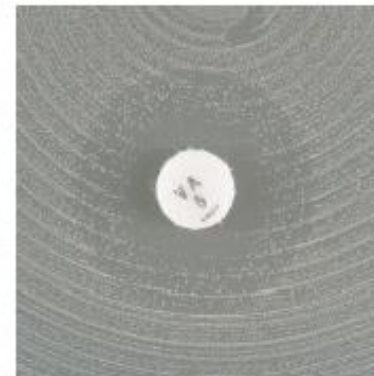
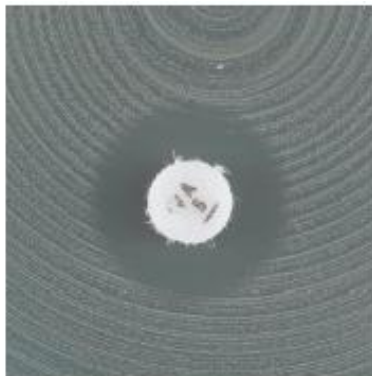
Enterococci и ванкомицин

- Зону подавления роста необходимо учитывать в проходящем свете (поднести чашку к источнику света).
 - Нечеткий край зоны подавления роста и рост изолированных колоний внутри зоны свидетельствуют о резистентности к ванкомицину. Если d зоны ≥ 12 мм, но ее край нечеткий, необходимо продолжить инкубацию.
 - Заключение о чувствительности изолята к ванкомицину может быть сделано только после 24 ч инкубации.



E. faecalis

не является резистентным
к ванкомицину (VRE)



E. faecium

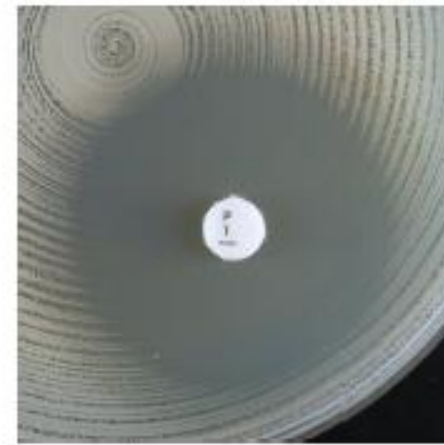
резистентный к ванкомицину (VRE)

S. aureus и бензилпенициллин

- Зону подавления роста необходимо учитывать в проходящем свете (поднести чашку к источнику света).
 - Для обнаружения пеницилиназы у *S. aureus* диско-диффузионный метод является более надежным, чем определение МПК. При этом необходимо измерить d зоны и тщательно оценить форму края зоны подавления роста.



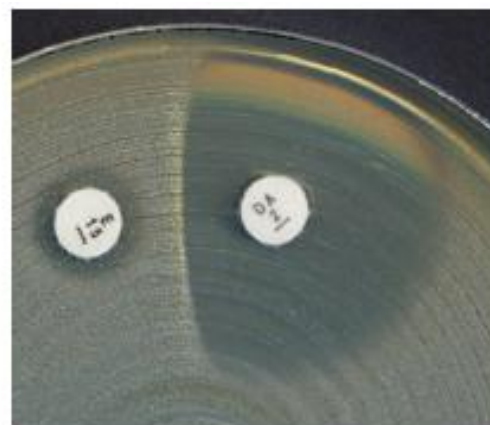
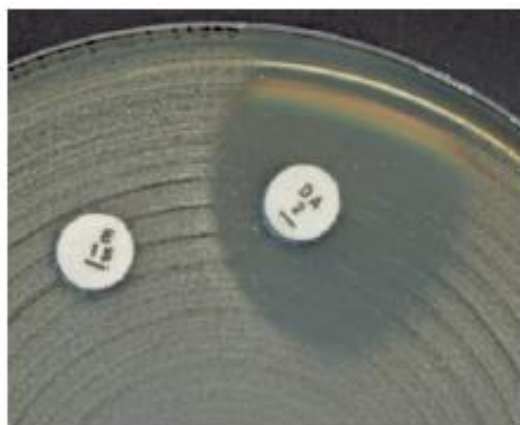
S. aureus. Четкий край зоны подавления роста и $d \geq 26$ мм
= Резистентный



S. aureus. Размытая граница зоны подавления роста и $d \geq 26$ мм
= Чувствительный

Выявление индуцибельной резистентности к клиндамицину у стафилококков

- Об индуцибельной резистентности к клиндамицину свидетельствует наличие антагонизма между клиндамицином и макролидами.
- Для выявления антагонизма необходимо поместить диски с эритромицином и клиндамицином рядом на расстоянии 12-20 мм (между краями дисков) (D-феномен).



Индуцибельная резистентность к клиндамицину у стафилококков (D феномен)

Выявление индуцибельной резистентности к клиндамицину у стрептококков

- Об индуцибельной резистентности к клиндамицину свидетельствует наличие антагонизма между клиндамицином и макролидами.
- Для выявления антагонизма необходимо поместить диски с эритромицином и клиндамицином рядом на расстоянии 12-16 мм (между краями дисков) (D-феномен).



Индуцибельная резистентность к клиндамицину у стрептококков (D феномен)



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases