

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ  
МИКРООРГАНИЗМОВ К  
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ**

**АХРЕМЕНКО Я.А., К.М.Н**



**СВФУ**

СЕВЕРО-ВОСТОЧНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.К. АММОСОВА

- **Приобретенные карбапенемазы у Enterobacterales**
- **БЛРС**
- **Приобретенные БЛ у Enterobacterales (AmpC)**
- **Приобретенные карбапенемазы у НГ ОБ**
- **Резистентность к полимиксину у Грам(-) бактерий**
- **Резистентность к метициллину у стафилококков**
- **Резистентность к гликопептидам у энтерококков**
- **Нечувствительность к пенициллину у пневмококков**

# МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

- Продукция инактивирующих ферментов (беталактамазы, аминогликозидмодифицирующие ферменты)
- Системы эффлюкса (резистентность к беталактамам, аминогликозидам, тетрациклинам, тигециклину)
- Модификация мишени (ПСБ, рибосом)
- Точечные мутации (резистентность к фторхинолонам)
- Снижение проницаемости мембраны, модификация поринов

# ЭНТЕРОБАКТЕРИИ

Новое описание порядка Enterobacterales:

- Порядок содержит род *Enterobacter* и 7 семейств
- Семейства: *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*, *Nafniaceae*, *Morganellaceae*, *Budviciaceae*
- Типовой род *Enterobacter*

## БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ

- Получили широкое распространение в результате межвидового генного переноса
- У грамотрицательных МО локализуются в периплазматическом пространстве
- У грамположительных МО свободно диффундируют в окружающую среду

## БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ: ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА

- Встречаются у подавляющего большинства видов бактерий
- Часто – наличие нескольких ферментов у одного штамма
- Чувствительны к действию ингибиторов
- Локализация кодирующих генов хромосомная и/или плазмидная
- Характер экспрессии генов конститутивный или индуцибельный
- Субстратный профиль

## БЕТАЛАКТАМАЗЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ (СТРУКТУРНАЯ)

	СЕРИНОВЫЕ			МЕТАЛЛО-
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КЛАСС	C	A	D	B1, B2.B3
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГРУППА	1	2a, 2b, 2e, 2br, 2be, 2ber, 2f	2d, 2de, 2df	3
ПРИМЕРЫ	AmpC	TEM, SHV, <b>CTX-M</b>	OXA	NDM, VIM, IMP
Характеристика	Гидролизуют, природные и полусинт P, ЦС I-III поколений, не чувствительны к ингибиторам	Гидролизуют, природные и полусинт P, ЦС I-IV поколений, чувствительны к ингибиторам		Эффективно гидролизуют все бета-лактамы. Не чувствительны к ингибиторам

# Классификация семейства бета-лактамаз



- Бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС)
- Ингибитор-устойчивые бета-лактамазы
- Карбапенемазы

## БЕТАЛАКТАМАЗЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ (ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ)

- **Субстратная специфичность (способность к преимущественному гидролизу определенных субстратов: пенициллинов, цефалоспоринов, монобактамов и карбапенемов)**
- **Чувствительность к действию ингибиторов**

# НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЕ ПРИОБРЕТЕННЫЕ БЕТАЛАКТАМАЗЫ

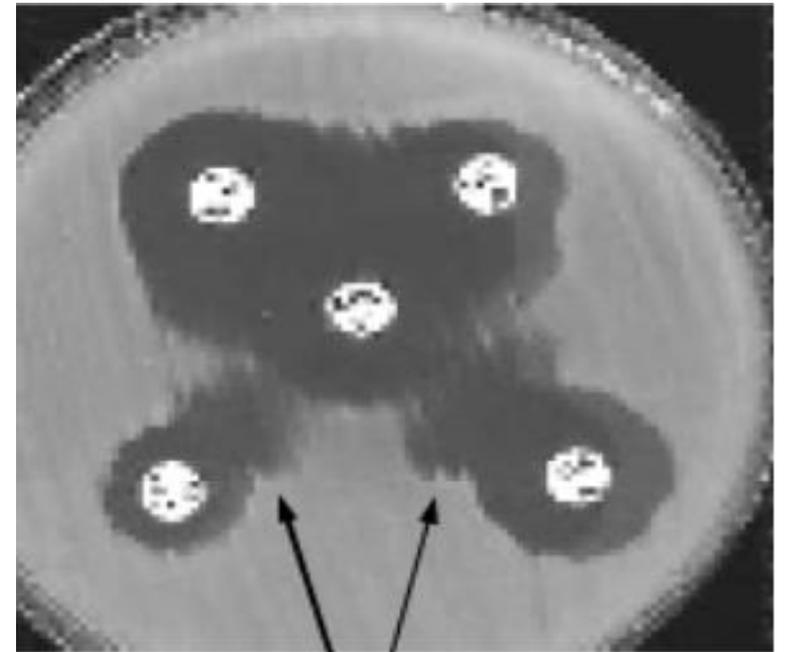
- БЛРС (обычно плазмидно-кодируемые)
- Плазмидные цефалоспориназы
- МБЛ
- ОХА
- КРС
- Распространены в основном у энтеробактерий и НГОб

# СПЕКТР АКТИВНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ИНГИБИТОРАМ

Примеры	АМП					Ингибиторы	
	ПЕН	ЦС III	ЦС IV, ЦТЛЗ	АЗТМ	КАРБ	КЛАВ, ТАЗОБ	АВИБ
<b>AmpC</b>	+	+	-	+/-	-	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>ESBL</b>	+	+	+	+	-	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>КАРБАПЕНЕМАЗЫ</b>							
<b>A/KPC, GES</b>	+	+	+	+	+	<b>I</b>	<b>S</b>
<b>D/OXA-48</b>	+	-	-	-	+	<b>R</b>	<b>S</b>
<b>B/NDM, VIM, IMP</b>	+	+	+	-	+	<b>R</b>	<b>R</b>

Антибиотик	Диск, мкг	Стандарт Ч $\geq$	Стандарт Р <	Примечание
Амикацин	AK 30	18	15	
Ампициллин	AMP 10	14	14	
Амоксиклав	AMC30	19	19	
Азтреонам	AZT 30	26	21	
Нитрофурантоин	F 100	11	11	
Фосфомицин	FOS200	24	24	
Ципрофлоксацин	CIP 5	26	24	
Цефепим	FEP 30	27	21	
Цефтазидим	CAZ 10	22	19	
Цефотаксим	CTX 5	20	17	
Цефтриаксон	CRO 30	25	22	
Эртапенем	ETP 10	25	22	Если менее соответствующих величин, то ставится тест на продукцию карбапенемаз
Имипенем	IPM 10	22	16	
Меропенем	MEM10	22	16	

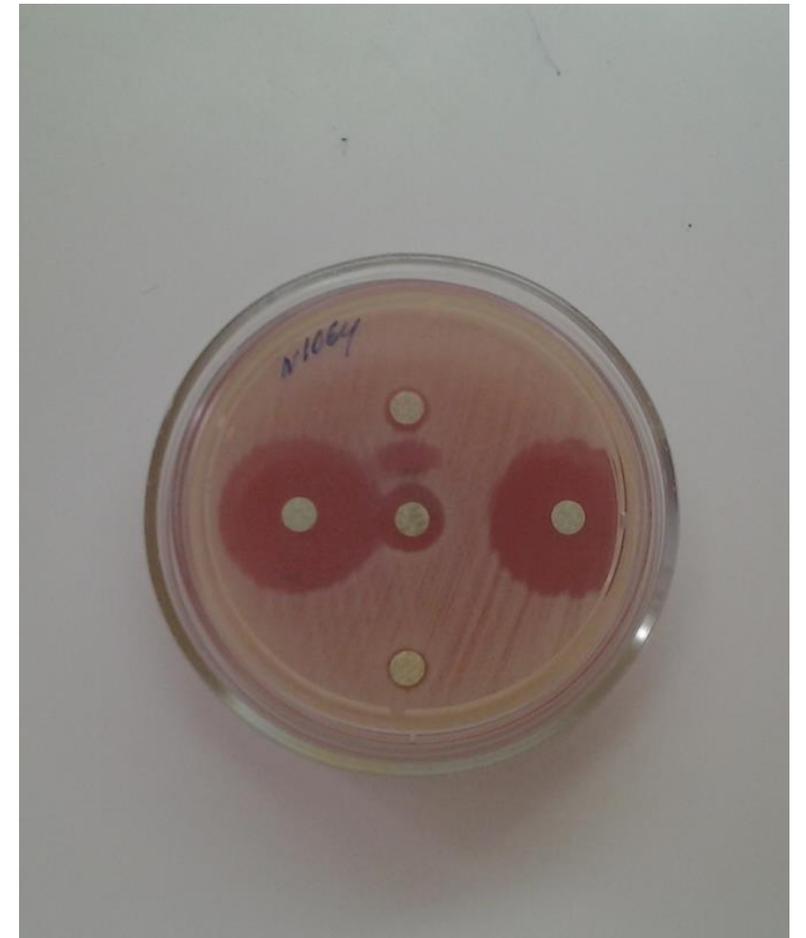
- Амоксиклав (20/10), цефепим (30) и цефтазидим(10) ставятся на 1 чашке (тест на продукцию БЛРС)
- Используется не менее 2 карбапенемов, но эртапенем обязателен!

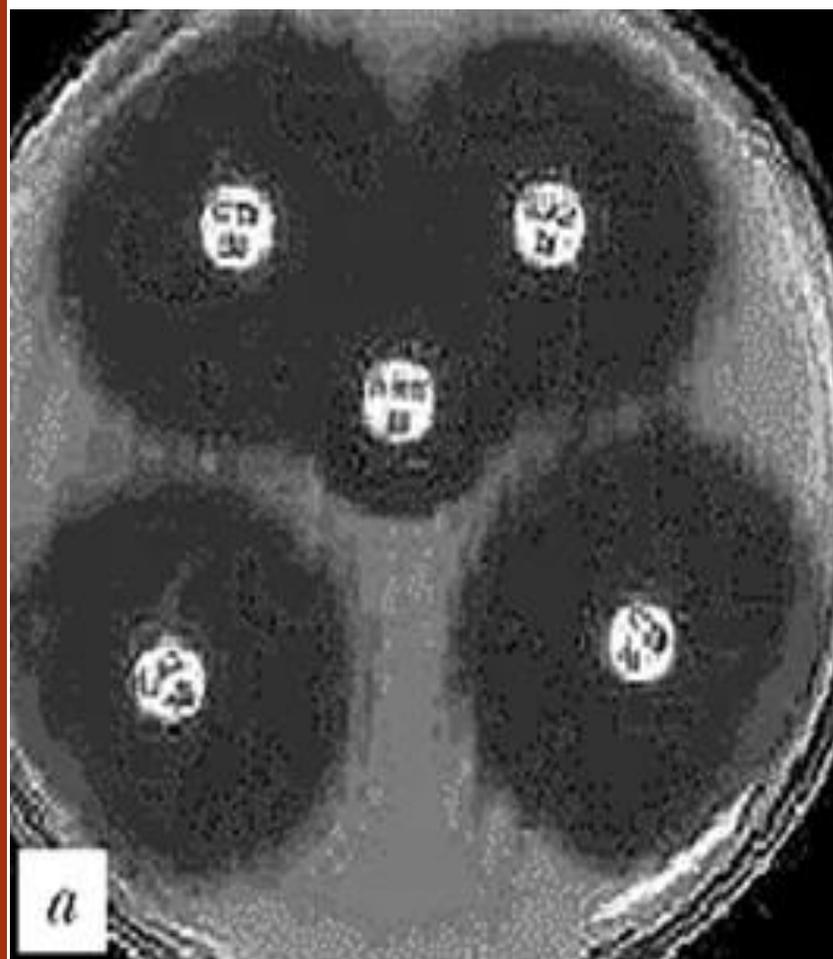
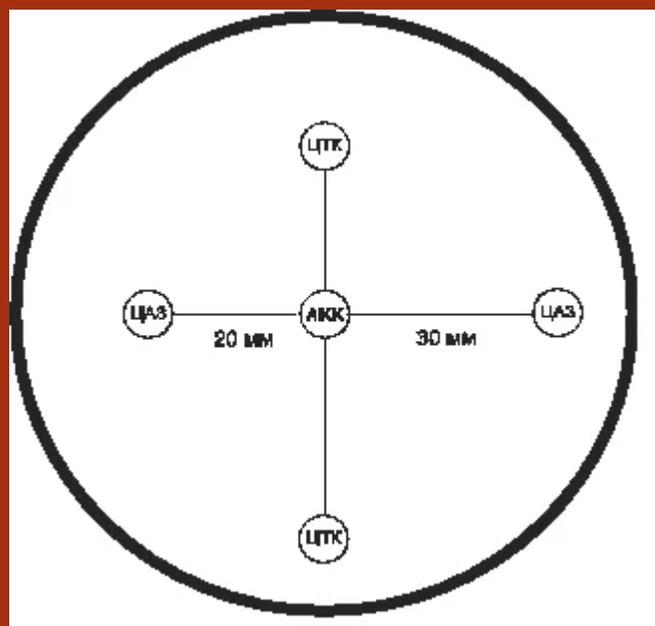


Синергизм между  
клавулановой  
кислотой и ЦС III

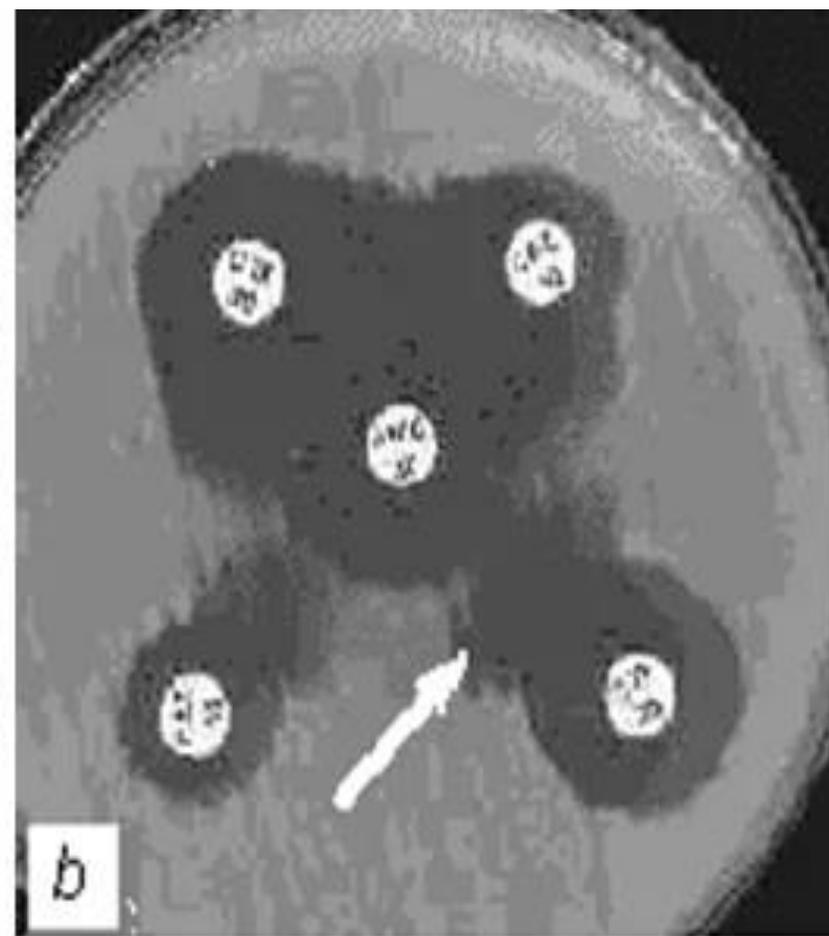
## ВЫЯВЛЕНИЕ БЛРС У ШТАММОВ ENTEROBACTERIACEAE ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ.

- **Метод «двойных дисков»**
- **Позволяет выявить продукцию БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с каким-либо цефалоспорином III поколения напротив диска, содержащего клавулановую кислоту**
- **Особенностью метода является то, что через 5–10 мин. после инокуляции на поверхность агара накладывают диски с АБП: в центр – диск, содержащий амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг),**
- *По бокам от него на расстоянии 20 и 30 мм между центрами дисков – диски с цефтазидимом (30 мкг) и цефепимом (30 мкг)*

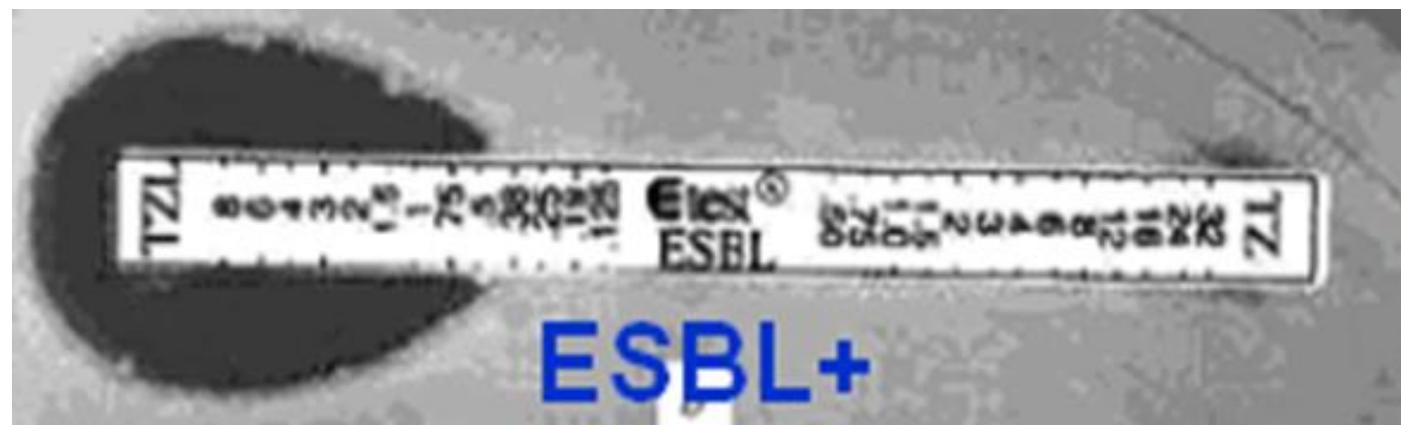
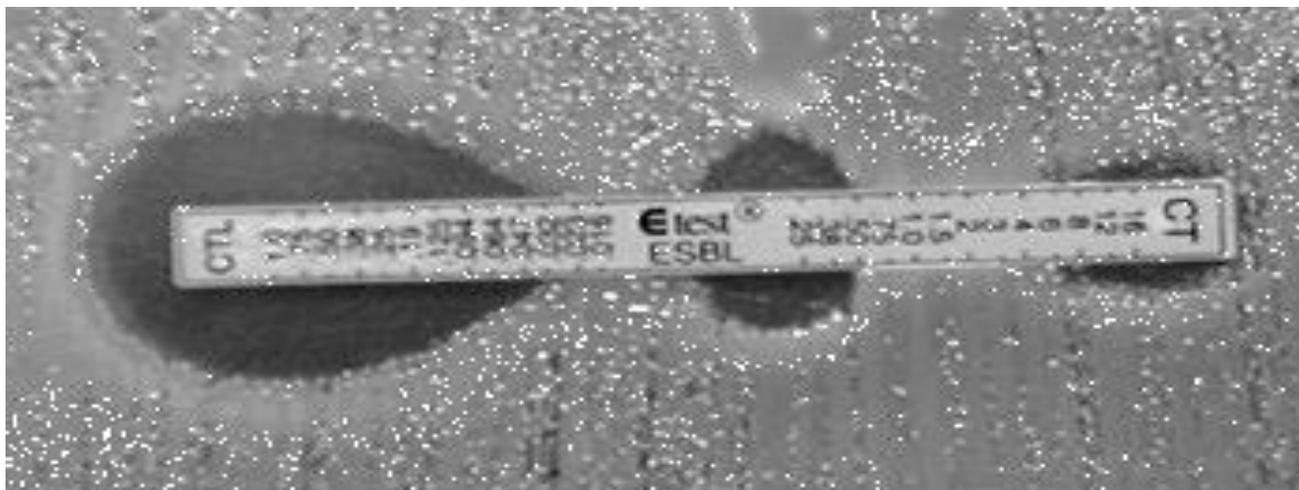




а) Отрицательные результаты (БЛРС-)



б) Положительные результаты (БЛРС+)



**E-Тесты** аккуратны и точны, но гораздо дороже,  
чем диски

# МОНОБАКТАМЫ (АЗТРЕОНАМ)

## Спектр антимикробной активности

Узкий спектр действия: Гр «-» бактерии, гемофильные палочки, нейсерии, протей, клебсиеллы, эшерихии, шигеллы, сальмонеллы, иерсинии

## Показания к применению:

- Альтернатива Аминогликозидам
- Принимают чаще в комбинациях с другими антибиотиками при сепсисе, перитоните, тяжелых инфекциях мочевыделительной системы, мягких тканей, кожи, бронхолегочной инфекции

## Карбапенемазы энтеробактерий

Тип карбапенемаз	Группа А сериновые	Группа В металло – БЛ
Представители	KPC, IMI	NDM, VIM
Повышение МПК карбапенемов	↔ или ↑	↑↑
Чувств-ть к ингибиторам	ДА	НЕТ
Ингибирование ЭДТА	НЕТ	ДА
Активность тигециклина	++	+/-

# ПЕРВИЧНЫЙ СКРИНИНГ – ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОДУЦЕНТОВ КАРБАПЕНЕМАЗ

Карбапенемы	Диаметр зоны подавления роста (мм) Диск 10 мг	
	Пограничное значение	Пороговое значение для скрининга
Меропенем	$\geq 22$	$< 28$
Эртапенем	$\geq 25$	$< 25$

- 
- Меропенем – оптимальный баланс между чувствительностью и специфичностью
  - Эртапенем – высокая чувствительность, но низкая специфичность. Можно использовать в качестве альтернативного скрининга, но изоляты, обладающие AmpC и ESBL, могут проявлять устойчивость и в отсутствии карбапенемаз

# НГОб

- ***Pseudomonas aeruginosa***
- ***Acinetobacter baumannii***
- ***Stenotrophomonas maltophilia***

# МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К БЕТАЛАКТАМАМ **PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

- Беталактамазы:
  - Индуцибельная **AmpC** цефалоспориназа
  - Оксациллиназа **OXA – 50**
  - МБЛ
- Проницаемость наружной мембраны
- Эффлюкс

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ PSEUDOMONAS SPP.

Антибиотик	Диск, мкг	Стандарт Ч $\geq$	Стандарт Р $<$	Интерпретация результата (Ч/УР/Р)	Примечание
Амикацин	AK 30	18	15		
Пиперациллин- тазобактам	PTZ30-6	18	18		
Ципрофлоксацин	CIP 5	26	26		
Цефепим	FEP 30	19	19		
Цефтазидим	CAZ 10	17	17		
Имипенем	IPM 10	20	17		Если менее соответствующих величин, то ставится тест на продукцию карбапенемов
Меропенем	MEM10	24	18		

# МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К БЕТАЛАКТАМАМ **ACINETOBACTER BAUMANNII**

- Цефалоспориназа **AmpC**
- Оксациллиназы **OXA-51/OXA-69** и родственные (слабо гидролизуют карбапенемы, низкий уровень экспрессии)
- Не определяется чувствительность к цефалоспорином
- К эртапенему чувствительность НГОб не определяется!

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ACINETOBACTER SPP.

Антибиотик	Диск, мкг	Стандарт $\chi \geq$	Стандарт $P <$	Примечание
Амикацин	AK 30	19	17	
Ципрофлоксацин	CIP 5	21 (50)	21	
Ампициллин/сульбактам*	SAM 20	15	12	
Цефепим*	FEP 30	18	15	
Триметоприм/сульфометоксазол	TS 25	14	11	
Имипенем	IPM 10	23	17	Если менее соответствующих величин, то ставится тест на продукцию карбапенемаз
Меропенем	MEM10	21	15	

# CIM TECT



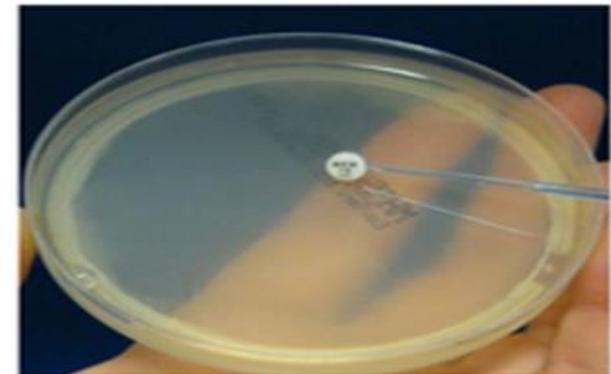
Suspend full loop of bacteria in H<sub>2</sub>O



Add 10 µg meropenem disk



Incubate for 2 hours 35°C



Place on Mueller Hinton agar inoculated with *E. coli* ATCC 25922



Incubate for at least 6 hours 35°C



Read presence or absence of inhibition zone

**+**  
Carbapenemase activity

**-**  
No carbapenemase activity

# Детекция генов резистентности

Группа		Типичные препараты	Ген - маркер резистентности	Бактерии - носители генов резистентности
β-лактамы антибиотики				
	пенициллины	ампициллин амоксициллин бензилпенициллин пиперациллин	TEM-1,2; SHV-1,11	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>(E.coli, Klebsiella spp., Proteus spp, Enterobacter spp., Serratia spp., Citrobacter spp., Shigella spp., Salmonella spp.), P. aeruginosa, Acinetobacter spp.</i>
	цефалоспорины	<b>I поколение:</b> цефазолин цефалотин цефалексин	CTX-M, SHV-5,12	
		<b>II поколение:</b> цефуроксим цефаклор		
		<b>III поколение:</b> цефотаксим цефтриаксон цефтазидим цефиксим		
	<b>IV поколение:</b> цефепим	AmpC		
карбапенемы	Меропенем Имипенем дорипенем	VIM, IMP, NDM, KPC, GES, OXA-20s, OXA-40s, OXA50s		
β-лактамы антибиотики		оксациллин	MecA	<i>S.aureus</i>
гликопептиды		ванкомицин	VanA, VanB	<i>E.faecalis, E.faecium</i>
		тейкопланин	VanA	
макролиды		эритромицин азитромицин klarитромицин	Mef, Erm	<i>Streptococcus spp.</i>
Фторхинолоны (II, III и IV поколение хинолонов)		<b>II поколение:</b> ципрофлоксацин офлоксацин <b>III поколение:</b> левофлоксацин <b>IV поколение:</b> Моксифлоксацин	GyrA, ParC, QnrA	<i>Streptococcus spp.</i> <i>P. aeruginosa,</i> <i>Enterobacteriaceae</i>

## STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

- **Stenotrophomonas maltophilia** – микроорганизм, широко распространенный в окружающей среде. Выделение его из клинического материала пациентов чаще всего свидетельствует о колонизации, однако в редких случаях *S. maltophilia* может являться причиной развития инфекций, особенно у пациентов с иммуносупрессией или муковисцидозом

## РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АМП

- Резистентность к АМП Серьезной проблемой является природная резистентность *S. maltophilia* к антибиотикам, особенно к аминогликозидам и карбапенемам.
- Множественные эффлюксные системы и модификации белков внешней мембраны приводят к резистентности различного уровня к широкому кругу АМП.
- Хромосомно-кодируемые бета-лактамазы гидролизуют все беталактамные соединения, включая карбапенемы.
- В подавляющем большинстве случаев изоляты *S. maltophilia* продуцируют аминогликозид-ацетил-трансферазу, а также имеют SmQnr гены, экспрессия которых обуславливает снижение чувствительности к фторхинолонам
- Также, резистентность ко многим АМП, включая триметоприм-сульфаметоксазол (котримоксазол), может быть связана с приобретением новых генов.
- Кроме того, эффективность антимикробных препаратов снижается за счет образования биопленок.

## ТЕРАПИЯ

- Триметоприм-сульфаметоксазол является препаратом с наиболее подтвержденной клинической активностью и единственным препаратом, для которого установлены пограничные значения EUCAST (чувствительный  $\leq 4$  мг/л, резистентный  $> 4$  мг/л, ДДМ – 16 мм). Если триметоприм-сульфаметоксазол не может быть использован для терапии из-за резистентности штаммов или, что встречается более часто, непереносимости сульфонамида, выбор терапии становится проблематичным. В этих случаях возможно применение различных комбинаций антимикробных препаратов, включающих тикарциллин-клавуланат, миноциклин, тигециклин, колистин, хлорамфеникол и цефалоспорины