

СИСТЕМА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ И ПАНРЕЗИСТЕНТНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ С ОПРЕДЕЛЕНИЕМ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К КОМБИНАЦИЯМ АНТИБИОТИКОВ

ТАПАЛЬСКИЙ Д.В.¹, БОНДА Н.А.², ЛАГУН Л.В.¹

¹Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Республика Беларусь

²Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Гомель, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №1. – С. 50-58.

MICROBIOLOGICAL MONITORING SYSTEM OF EXTENSIVELY DRUG-RESISTANT AND PANDRUG-RESISTANT BACTERIAL PATHOGENS DETERMINING THE SENSITIVITY TO ANTIBIOTIC COMBINATIONS

TAPALSKI D.V.¹, BONDA N.A.², LAGUN L.V.¹

¹Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

²Gomel Regional Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health, Gomel, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(1):50-58.

Резюме.

Цель – организовать систему микробиологического мониторинга, основанную на выявлении эпидемически значимых антибиотикорезистентных штаммов и определении их чувствительности к антибиотикам и их комбинациям.

Материал и методы. Для 130 экстремально-антибиотикорезистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных в 2016-2017 гг. в 21 организации здравоохранения Гомельской области, выполнена детекция генов карбапенемаз методом ПЦР в реальном времени и определение минимальных подавляющих концентраций антибиотиков методом двукратных серийных разведений в бульоне. Дополнительно для каждого микроорганизма выполнено определение чувствительности к 11 двойным комбинациям антибиотиков методом тестирования бактерицидности различных концентраций.

Результаты. Среди 82 экстремально-резистентных изолятов *P.aeruginosa* выявлено 8 изолятов (9,8%) с полной устойчивостью к антибиотикам (МПК колистина 4 и более мкг/мл) и 72 изолята (87,2%), чувствительных только к колистину. Большинство включенных в исследование штаммов *A.baumannii* и *K.pneumoniae* сохраняли чувствительность только к колистину и тигециклину. Продукция карбапенемаз выявлена у 11,0% изолятов *P.aeruginosa* (метало-бета-лактамаза VIM), всех изолятов *A.baumannii* (карбапенемаза OXA-23 – у 2,7% изолятов, карбапенемаза OXA-40 – у 97,3% изолятов), 30,6% изолятов *K.pneumoniae* (карбапенемаза OXA-48 у 25,0% изолятов, металло-бета-лактамаза NDM – у 5,6% изолятов). Выявлена бактерицидная активность всех комбинаций с включением колистина в отношении большинства исследуемых штаммов *K.pneumoniae* и *A.baumannii*. В отношении *P.aeruginosa* наиболее активными были комбинации меропенем-колистин и имипенем-колистин (бактерицидная активность для 82,9% и 89,0% изолятов).

Заключение. Показано, что экстремальная антибиотикорезистентность *A.baumannii* и *K.pneumoniae* ассоциирована с продукцией карбапенемаз. Выявлены комбинации антибиотиков, эффективные в отношении экстремально-антибиотикорезистентных микроорганизмов.

Ключевые слова: клебсиеллы, псевдомонады, ацинетобактеры, антибиотикорезистентность, комбинации антибиотиков, карбапенемазы.

Abstract.

Objectives. To organize the system of microbiological monitoring based on the detection of epidemiologically significant antibiotic-resistant isolates and determination of their sensitivity to antibiotics and their combinations.

Material and methods. Carbapenemases genes detection by means of real-time PCR method and determination of minimal inhibitory antibiotic concentrations with the help of twofold serial broth dilutions method were carried out for 130 extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* clinical strains isolated in 2016-2017 years in 21 health care institutions of Gomel Region. In addition, for each microorganism sensitivity to 11 double antibiotic combinations was determined by testing the bactericidal activity of various concentrations.

Results. 8 isolates (9,8%) with resistance to all antibiotics (with colistin MIC of 4 and more mcg/ml) and 72 isolates (87,2%) sensitive only to colistin were detected among 82 extensively drug-resistant *P.aeruginosa* isolates. Most of the strains of *A.baumannii* and *K.pneumoniae* included in the study remained sensitive only to colistin and tigecycline. The carbapenemases production was detected in 11,0% of the *P.aeruginosa* isolates (metallo- β -lactamase VIM); all isolates of *A.baumannii* (carbapenemase OXA-23 – in 2,7% of the isolates, carbapenemase OXA-40 – in 97,3% of the isolates); 30,6% of the *K.pneumoniae* isolates (carbapenemase OXA-48 – in 25,0% of the isolates, metallo- β -lactamase NDM – in 5,6% of the isolates). The bactericidal activity of all combinations with the inclusion of colistin for the majority of the investigated strains of *K.pneumoniae* and *A.baumannii* has been revealed. The combinations of meropenem-colistin and imipenem-colistin demonstrated the greatest activity against *P.aeruginosa* (bactericidal activity was detected for 82,9% and 89,0% of the isolates).

Conclusions. It has been shown that the extensive antibiotic resistance of *A.baumannii* and *K.pneumoniae* is associated with the production of carbapenemases. Antibiotic combinations, effective against extensively antibiotic-resistant microorganisms have been found.

Key words: *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, antibiotic resistance, antibiotic combinations, carbapenemases.

Формирование устойчивости к антибиотикам среди энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих бактерий может быть связано с различными механизмами, однако наибольшее клиническое и эпидемиологическое значение имеет продукция приобретенных карбапенемаз. Опасность этих ферментов обусловлена их широким спектром каталитической активности и способностью к быстрому горизонтальному распространению в бактериальных популяциях [1]. Отдельные эпидемиологически значимые клоны полиантибиотикорезистентных продуцентов карбапенемаз способны быстро распространяться на обширных территориях и вызывать тяжелые генерализованные инфекции [2].

Основным направлением терапии инфекций, вызванных экстремально-антибиотикорезистентными бактериями, является использование комбинаций антибиотиков, обладающих синергидным действием [3]. В многочисленных исследованиях установлено, что для подбора эффективных комбинаций антибиотиков целесообразно проводить микробиологическое тестирование бактериальных изолятов, выделенных от конкретного пациента [4]. В Беларуси и странах СНГ тестирование эффективности комбинаций антибиотиков не проводится, что связано с отсутствием доступных методик и подготовленных кадров. С исследовательской целью для опре-

деления антимикробного эффекта комбинаций антибиотиков в мире используются различные методы, большинство из них является дорогостоящими и трудозатратными, не применимыми для рутинного использования в клинической практике. На основе разработанного в 2000 г. в Канаде метода МСВТ (Multiple combination bactericidal testing, тестирование бактерицидности различных комбинаций) [5], с учетом современных данных о фармакокинетике и фармакодинамике антибиотиков, нами создан и адаптирован микробиологический метод, позволяющий подбирать эффективные комбинации из двух или трех антибиотиков, обладающие бактерицидной активностью в отношении экстремально-антибиотикорезистентных бактерий.

Цель исследования – организовать систему микробиологического мониторинга, основанную на выявлении эпидемически значимых антибиотикорезистентных штаммов и определении чувствительности к антибиотикам и их комбинациям.

Материал и методы

При проведении рутинных микробиологических исследований в микробиологической лаборатории Гомельского областного центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ГОЦГЭиОЗ) в 2016-2017 гг. был отобран 141

клинический изолят *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii* со множественной и экстремальной устойчивостью к антибактериальным препаратам. Указанные изоляты были выделены от пациентов, госпитализированных в 11 организаций здравоохранения г. Гомеля. Также в исследование включены 40 клинических экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, поступивших на реидентификацию в микробиологическую лабораторию ГОЦГЭиОЗ из 10 районных и зональных центров гигиены и эпидемиологии Гомельской области. Все изоляты были выделены из различных видов клинического материала – мокроты, крови, раневого отделяемого, экссудатов, интраоперационного материала, мочи в диагностически значимых количествах. Реидентификация изолятов была выполнена с использованием автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact на идентификационных картах VITEK 2 GN (bioMérieux, Франция).

Определение чувствительности к 17 антибактериальным препаратам (ампициллин/сульбактаму, пиперациллину, цефуроксиму, цефуроксим аксетилу, цефиксиму, цефтриаксону, цефепиму, азтреонаму, меропенему, левофлоксацину, моксифлоксацину, миноциклину, тетрациклину, тигециклину, хлорамфениколу, колистину, триметоприму) выполнено на анализаторе VITEK 2 Compact с использованием диагностических карт AST-XN-05 в соответствии с инструкциями производителя.

Для определения различных уровней антибиотикорезистентности использовались международные согласительные критерии: мультирезистентность (MDR – multidrug resistance) – нечувствительность по крайней мере к одному антибиотику в трех и более категориях antimicrobных препаратов, экстремальная резистентность (XDR – extensively drug resistance) – нечувствительность по крайней мере к одному антибиотику во всех категориях antimicrobных препаратов, за исключением 1-2 категорий, панрезистентность (PDR – pandrug resistance) – не-

чувствительность ко всем антибиотикам во всех категориях antimicrobных препаратов [6].

Для изолятов *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* и *A.baumannii* с выявленной автоматизированным методом экстремальной антибиотикорезистентностью методом ПЦР в реальном времени выполнена детекция генов карбапенемаз. Для проведения ПЦР использовали диагностические наборы производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Российская Федерация. Информация о выявляемых генах и используемых тест-системах представлена в таблице 1.

Экстракцию ДНК бактериальных культур, амплификацию с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени на амплификаторе RotorGene 3000 (Corbett Research, Австралия), анализ и интерпретацию полученных результатов выполняли в соответствии с инструкциями производителя диагностических наборов.

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) антибиотиков определяли методом двукратных серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона (BD, Франция). Тестирование проводили в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах (Sarstedt, Германия) в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 [7]. При учете и интерпретации результатов руководствовались стандартами EUCAST [8]. Качество исследований контролировали штаммами *E.coli* ATCC 25922 и *P.aeruginosa* ATCC 27853.

Определение чувствительности к комбинациям антибиотиков выполняли модифицированным методом тестирования бактерицидности различных комбинаций. Готовили рабочие растворы антибиотиков, содержащие тестируемые пороговые фармакокинетические/фармакодинамические концентрации (ФК/ФД концентрации) антибиотика (табл. 2), увеличенные в 10 раз. В качестве разбавителя использовали бульон Мюллера-Хинтона. В бульоне Мюллера-Хинтона готовили взвеси исследуемых микроорганизмов, содержащих $6 \div 8 \cdot 10^5$ мл⁻¹ бактериальных клеток

Таблица 1 – Гены карбапенемаз и используемые диагностические наборы для их выявления

Микроорганизм	Выявляемые гены карбапенемаз	Диагностические наборы
<i>K.pneumoniae</i>	bla _{KPC} , bla _{OXA-48}	АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL
	bla _{VIM} , bla _{IMP} , bla _{NDM}	АмплиСенс MDR MBL-FL
<i>P.aeruginosa</i>	bla _{VIM} , bla _{IMP} , bla _{NDM}	АмплиСенс MDR MBL-FL
<i>A.baumannii</i>	bla _{OXA-23} , bla _{OXA-40} , bla _{OXA-58}	АмплиСенс MDR Ab-OXA-FL

Таблица 2 — Концентрации антибиотиков для тестирования в составе комбинаций

Антибиотик	Краткое обозначение	Тестируемая в составе двойных комбинаций концентрация (ФК/ФД), мкг/мл
Меропенем	МЕР	8
Имипенем	ИМП	8
Цефтазидим	ЦЕФ	8
Азтреонам	АЗТ	8
Амикацин	АМК	16
Левифлоксацин	ЛЕВ	1
Тигециклин	ТИГ	0,5
Фосфомицин	ФОС	32
Колистин	КОЛ	2
Сульбактам	СУЛ	4

в логарифмической стадии роста. Комбинации из двух антибиотиков готовили в лунках стерильных 96-луночных полистироловых планшетов (Sarstedt, Германия). Для тестирования одной культуры использовали горизонтальный ряд из 12 лунок, при этом в лунки 1-11 вносили различные комбинации из двух антибиотиков, лунка 12 не содержала антибиотиков и использовалась в качестве контроля роста культуры. На одном планшете в горизонтальных рядах А...Н проводили определение чувствительности к 11 комбинациям антибиотиков одновременно для 8 различных бактериальных культур, принадлежащих к одному виду. После инокуляции лунок суспензиями исследуемых микроорганизмов планшеты закрывали крышками, помещали в герметичные пакеты из полиэтилена для предотвращения испарения среды из лунок и инкубировали 48 ч при температуре 35°C.

Для определения бактерицидного эффекта комбинаций антибиотиков после инкубации планшетов делали высеv 10 мкл содержимого из каждой лунки на сектор плотной питательной среды, посеvы инкубировали 18-24 ч при 35°C. Оценивали микробиологическую эффективность каждой из тестируемых комбинаций антибиотиков. Положительный результат (бактерицидный эффект комбинации) указывали при отсутствии микробного роста на соответствующем секторе либо при наличии роста в нем не более чем 1 колонии микроорганизмов.

Результаты и обсуждение

Из 36 клинических изолятов *K.pneumoniae*, включенных в исследование, экстремальная антибиотикорезистентность выявлена у 11 изоля-

тов. Все они сохраняли чувствительность только к колистину и тигециклину и являлись продуцентами карбапенемаз (МБЛ NDM – 2 изолята, ОХА-48 – 9 изолятов). Гистограммы распределения МПК меропенема, тигециклина, фосфомицина и колистина для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *K.pneumoniae* представлены на рисунке 1.

Из 92 клинических изолятов *P.aeruginosa*, включенных в исследование, экстремальная антибиотикорезистентность выявлена у 82 изолятов. Из них 74 изолята сохраняли чувствительность только к колистину, 8 изолятов были устойчивы ко всем антибиотикам, включая колистин (состояние панрезистентности). Продукция карбапенемаз (метало-бета-лактамаза VIM) выявлена у 9 изолятов (11,0%), у остальных 73 экстремально-антибиотикорезистентных и панрезистентных изолятов *P.aeruginosa* устойчивость к β-лактамам не была связана с продукцией карбапенем-гидролизующих ферментов. Гистограммы распределения МПК меропенема, имипенема, цефтазидима и колистина для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P.aeruginosa* представлены на рисунке 2.

Из 44 клинических изолятов *A.baumannii*, включенных в исследование, экстремальная антибиотикорезистентность выявлена у 37 изолятов. Все они были чувствительны к тигециклину, 35 изолятов сохраняли чувствительность к колистину, 4 изолята были чувствительны к сульбактаму. Все экстремально-антибиотикорезистентные изоляты являлись продуцентами ОХА-карбапенемаз: ОХА-23 – 1 изолят (2,7%), ОХА-40 – 36 изолятов (97,3%). Гистограммы распределения МПК меропенема, тигециклина, сульбактама и колистина для экстремально-

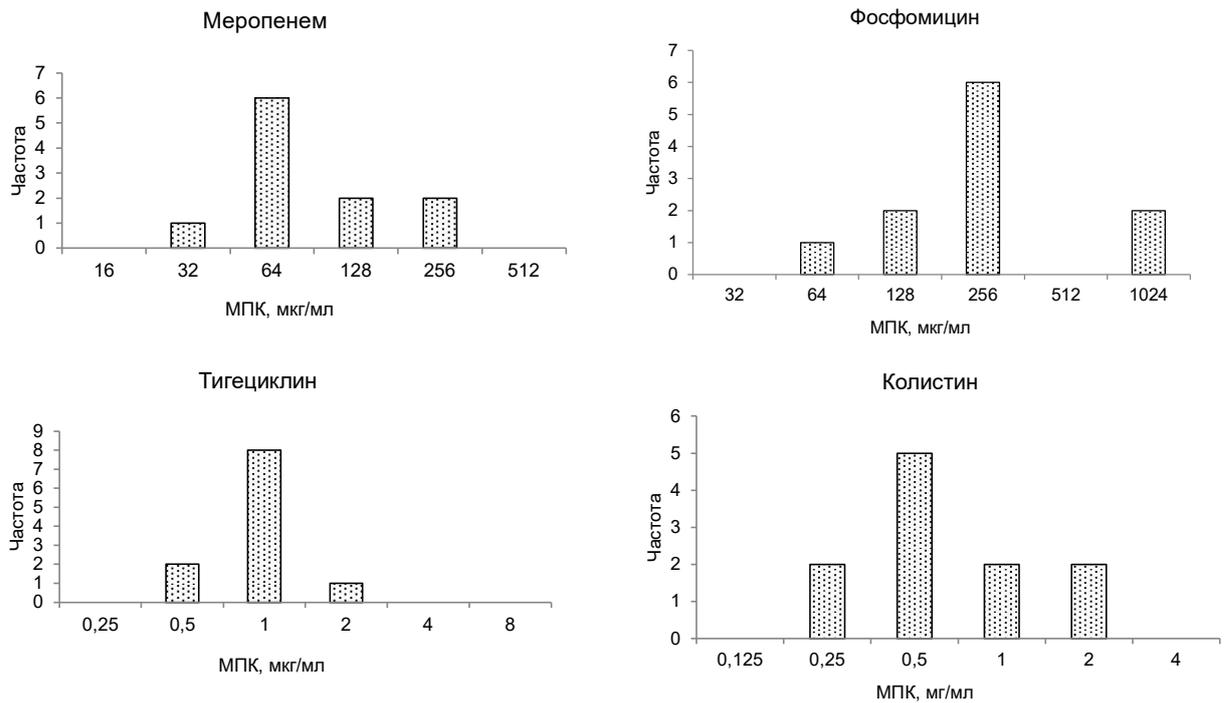


Рисунок 1 – Распределение МПК меропенема, фосфомицина, тигециклина и колистина для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *K. pneumoniae*.

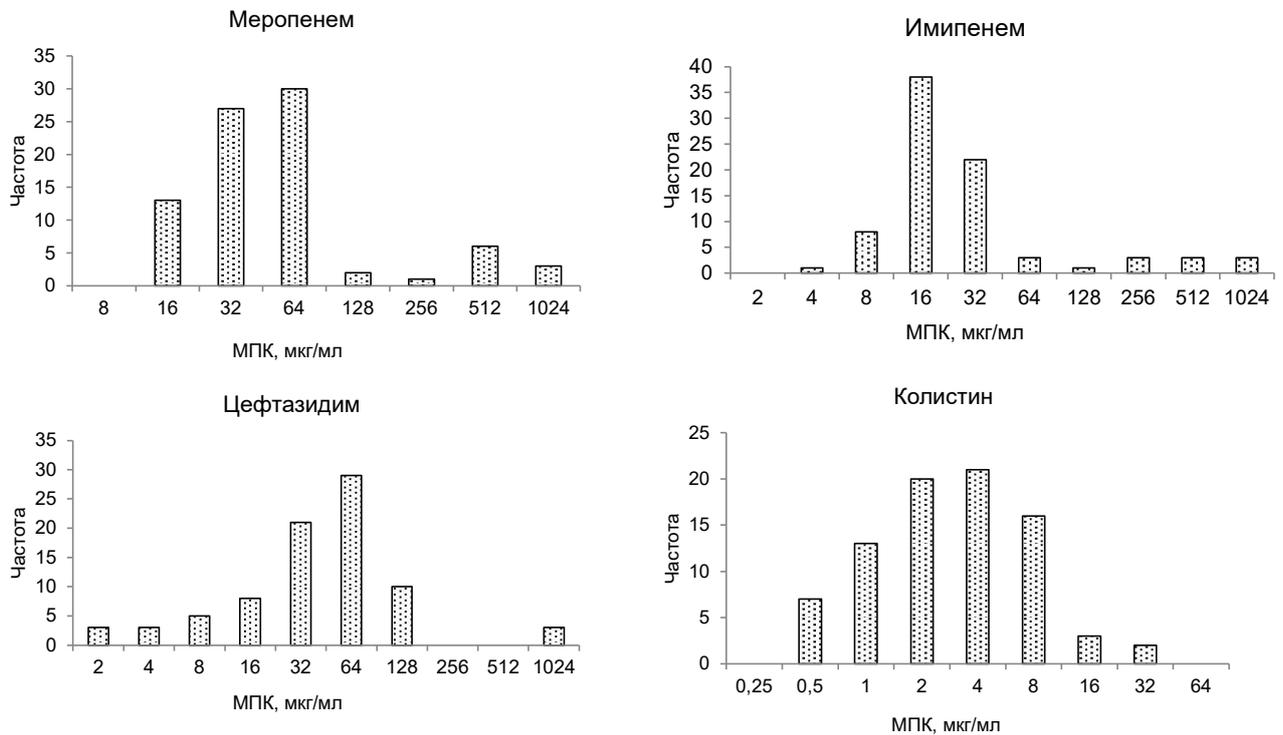


Рисунок 2 – Распределение МПК меропенема, имипенема, цефтазидима и колистина для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *Paeruginosa*, выделенных в Гомельской области.

антибиотикорезистентных изолятов *A. baumannii* представлены на рисунке 3.

Отмечена бактерицидная активность всех

комбинаций с включением колистина (меропенем – колистин, амикацин – колистин, левофлоксацин – колистин, тигециклин – колистин, фос-

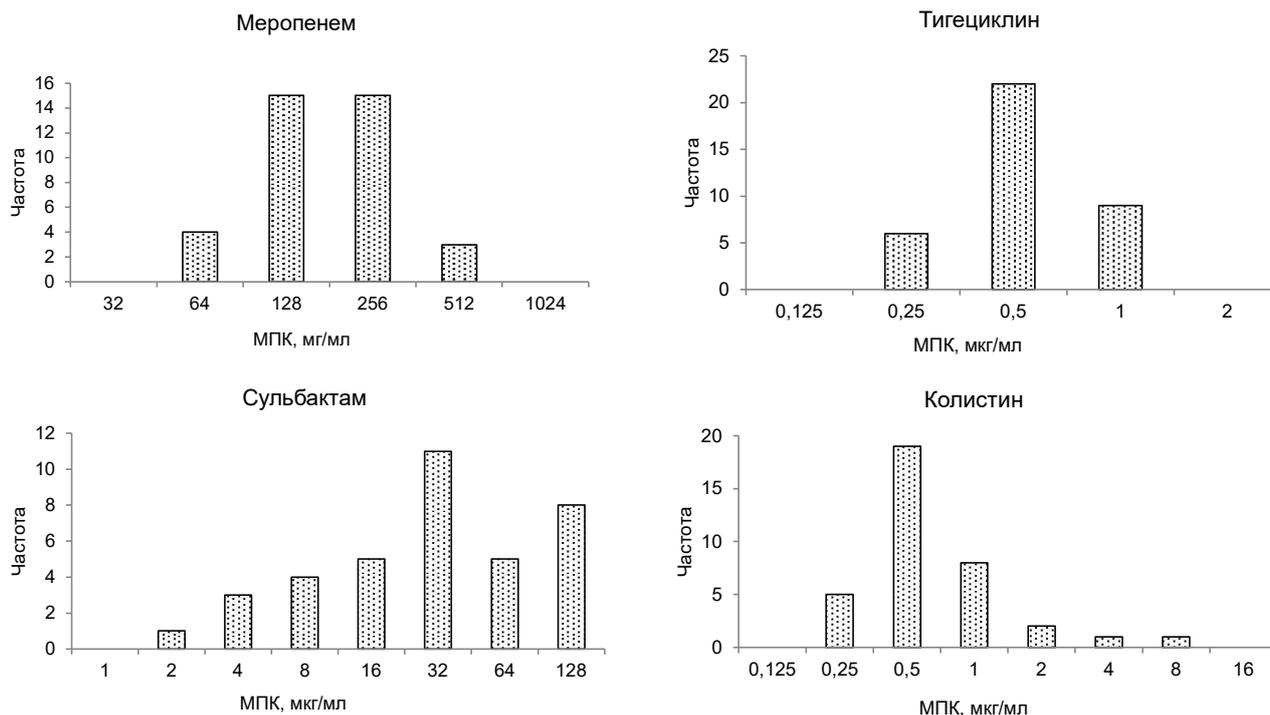


Рисунок 3 – Распределение МПК меропенема, тигециклина, сульбактама и колистина для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *A. baumannii*, выделенных в Гомельской области.

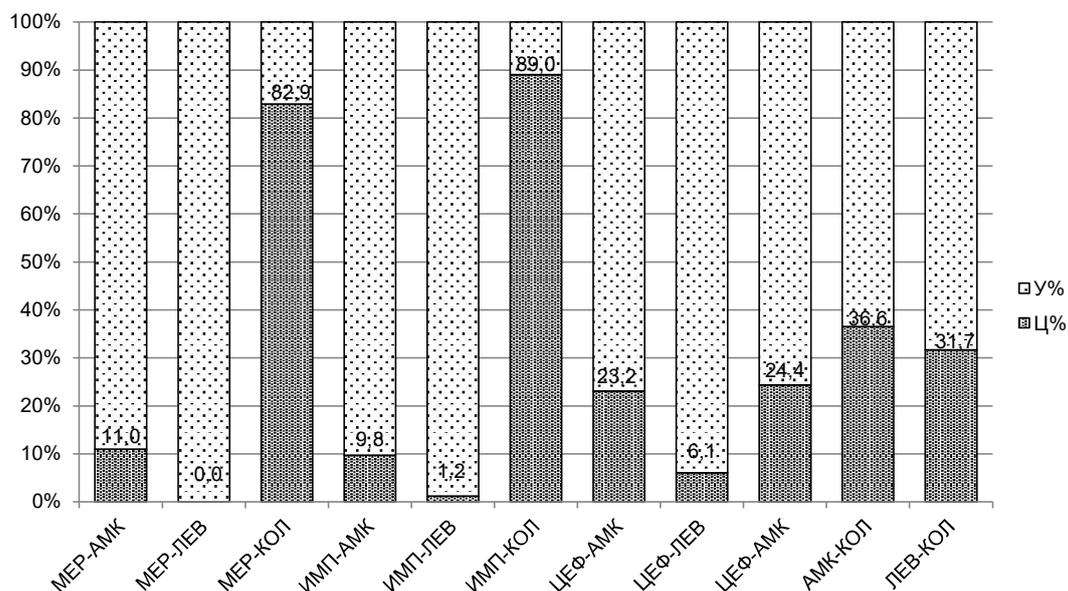


Рисунок 4 – Эффективность различных комбинаций из двух антибиотиков в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *Paeruginosa*: МЕР – меропенем, ИМП – имипенем, ЦЕФ – цефтазидим, АМК – амикацин, ЛЕВ – левофлоксацин, КОЛ – колистин, «У» – устойчивость, «Ц» – бактерицидный эффект.

фомицин – колистин) в отношении большинства исследуемых штаммов *K. pneumoniae*, что может быть связано с невысокими значениями МПК колистина и отсутствия устойчивости к нему у всех тестируемых изолятов. Комбинации меропенема

с фосфомицином, левофлоксацином, амикацином, а также комбинации амикацин-тигециклин и амикацин-левофлоксацин не обладали бактерицидной активностью.

Результаты тестирования 11 комбинаций

антибиотиков в отношении 74 экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P.aeruginosa* представлены на рисунке 4. Наиболее активными были комбинации меропенем-колистин и имипенем-колистин (бактерицидная активность в отношении 82,9% и 89,0% изолятов соответственно). В отношении панрезистентного изолята *P.aeruginosa* БП-018 ни одна из тестируемых двойных комбинаций антибиотиков не проявляла бактерицидной активности. В отношении экстремально-антибиотикорезистентных и панрезистентных изолятов *P.aeruginosa* БП-005, БП-020, БП-022, БП-033, БП-035, БП-061, БП-109 бактерицидная активность обнаружена только для одной из 11 протестированных комбинаций антибиотиков (меропенем-колистин или имипенем-колистин). Для указанных изолятов дополнительно проведено определение чувствительности к двойным и тройным комбинациям антибиотиков, включающим в себя ванкомицин или рифампицин. Комбинация рифампицин-колистин-меропенем оказывала бактерицидный эффект на все включенные в дополнительное исследование штаммы. Комбинации ванкомицин-колистин-меропенем, ванкомицин-колистин-имипенем, рифампицин-колистин-амикацин были бактерицидными в отношении 7 из 8 исследуемых штаммов.

Результаты тестирования 11 комбинаций антибиотиков в отношении 37 экстремально-

антибиотикорезистентных изолятов *A.baumannii* представлены на рисунке 5. Отмечена бактерицидная активность для всех комбинаций с включением колистина. Бактерицидная активность других комбинаций не превышала 6% для всех комбинаций с включением меропенема и 30% для комбинаций с включением сульбактама.

Заключение

Показано, что экстремальная антибиотикорезистентность *A.baumannii* и *K.pneumoniae* ассоциирована с продукцией карбапенемаз – ферментов, способных эффективно гидролизовать большинство β-лактаменных антибиотиков. Штаммы *A.baumannii* и *K.pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы, отличались высокими значениями МПК карбапенемов, многократно превышающими пороговые ФК/ФД концентрации. Большинство включенных в исследование штаммов *A.baumannii* и *K.pneumoniae* сохраняли чувствительность только к колистину и тигециклину, однако фармакокинетические и фармакодинамические особенности колистина не позволяют использовать его в виде монотерапии.

Методом тестирования бактерицидности различных комбинаций показано, что только двойные комбинации антибиотиков, включающие в себя колистин (меропенем – колистин, ами-

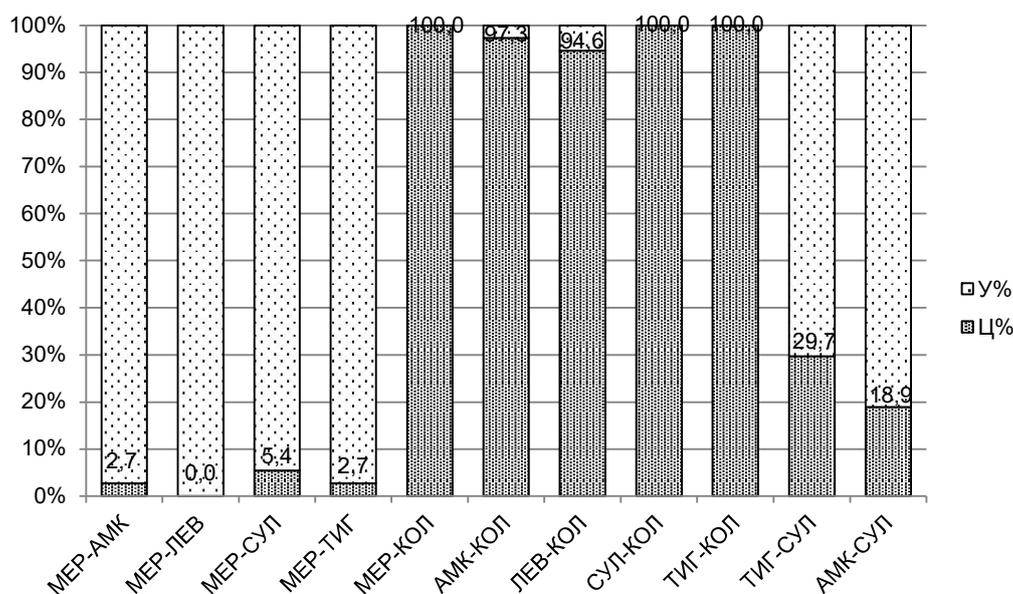


Рисунок 5 – Эффективность различных комбинаций из двух антибиотиков в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *A.baumannii*: MER – меропенем, AMK – амикацин, ЛЕВ – левофлоксацин, СУЛ – сульбактам, ТИГ – тигециклин, КОЛ – колистин, «У» – устойчивость, «Ц» – бактерицидный эффект.

кацин – колистин, левофлоксацин – колистин, тигециклин – колистин, фосфомицин – колистин), оказывают бактерицидное воздействие на экстремально-антибиотикорезистентные изоляты *K.pneumoniae*. Двойные комбинации с включением колистина (меропенем – колистин, амикацин – колистин, левофлоксацин – колистин, сульбактам – колистин, тигециклин – колистин) также оказывали бактерицидное воздействие на 95-100% экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *A.baumannii*.

Продукция карбапенемаз (метало-бета-лактамазы VIM) была выявлена только у 11% экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P.aeruginosa*. Таким образом, устойчивость к карбапенемам большинства экстремально-резистентных *P.aeruginosa* не связана с ферментативной инактивацией антибиотика, а вызвана другими механизмами (например, нарушением проницаемости клеточной стенки или активным выведением антибиотика из периплазмы). Среди 82 экстремально-резистентных изолятов *P.aeruginosa* выявлено 8 изолятов с полной устойчивостью к антибиотикам (МПК колистина 4 и более мкг/мл). Наиболее активными в отношении экстремально-резистентных изолятов *P.aeruginosa* были комбинации меропенем-колистин и имипенем-колистин (бактерицидная активность для 82,9% и 89,0% изолятов соответственно). Тройная комбинация рифампицин-колистин-меропенем оказалась бактерицидной в отношении всех панрезистентных изолятов.

По результатам проведенного исследования подготовлена и утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению «Методы определения чувствительности к комбинациям антибиотиков грамотрицательных бактерий с экстремальной и полной антибиотикорезистентностью».

Работа выполнена при финансовой поддержке Инновационного фонда Гомельского областного исполнительного комитета (инновационный проект «Внедрить в практику

здравоохранения Гомельской области систему микробиологического тестирования комбинаций антибиотиков в отношении экстремально-антибиотикорезистентных возбудителей бактериальных инфекций», договор №30/08 от 30 августа 2016 г., № госрегистрации 20164463 от 05.12.2016).

Литература

1. Тапальский, Д. В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции / Д. В. Тапальский, В. А. Осипов, С. В. Жаворонок // Мед. журн. – 2012. – № 2. – С. 10–15.
2. Woodford, N. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance / N. Woodford, J. F. Turton, D. M. Livermore // FEMS Microbiol. Rev. – 2011 Sep. – Vol. 35, N 5. – P. 736–755.
3. Zavascki, A. P. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria / A. P. Zavascki, J. B. Bulitta, C. B. Landersdorfer // Expert. Rev. Anti Infect. Ther. – 2013 Dec. – Vol. 11, N 12. – P. 1333–1353.
4. In vitro synergistic activity of colistin and ceftazidime or ciprofloxacin against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* / B. B. D'Souza [et al.] // Microb. Drug Resist. – 2014 Dec. – Vol. 20, N 6. – P. 550–554.
5. Multiple combination bactericidal antibiotic testing for patients with cystic fibrosis infected with *Burkholderia cepacia* / S. D. Aaron [et al.] // Am. J. Resp. Crit. Care Med. – 2000 Apr. – Vol. 161, N 4, pt. 1. – P. 1206–1212.
6. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance / A. P. Magiorakos [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2012 Mar. – Vol. 18, N 3. – P. 268–281.
7. ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010. Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы in vitro. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни. – Введ. 2012-03-01. – М.: Стандартинформ, 2011. – 23 с.
8. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. V. 6.0 [Electronic resource] / The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. – 2016. – Mode of access: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/.

Поступила 15.12.2017 г.

Принята в печать 31.01.2018 г.

References

1. Tapal'skiy DV, Osipov VA, Zhavoronok SV. Carbapenemases of gram-negative pathogens: spread and methods of detection. Med Zhurn. 2012;(2):10-5. (In Russ.)
2. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant

Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev. 2011 Sep;35(5):736-55. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00268.x.

3. Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria.

- Expert Rev Anti Infect Ther. 2013 Dec;11(12):1333-53. doi: 10.1586/14787210.2013.845523.
4. D'Souza BB, Padmaraj SR, Rekha PD, Tellis RC, Prabhu S, Pothan P. In vitro synergistic activity of colistin and ceftazidime or ciprofloxacin against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist*. 2014 Dec;20(6):550-4. doi: 10.1089/mdr.2014.0006.
 5. Aaron SD, Ferris W, Henry DA, Speert DP, Macdonald NE. Multiple combination bactericidal antibiotic testing for patients with cystic fibrosis infected with *Burkholderia cepacia*. *Am J Resp Crit Care Med*. 2000 Apr;161(4 Pt 1):1206-12. doi: 10.1164/ajrcm.161.4.9907147
 6. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Mar;18(3):268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
 7. GOST R ISO 20776-1-2010. Clinical laboratory studies and diagnostic test systems in vitro. Study of the sensitivity of infectious agents and evaluation of functional specifications for the study of sensitivity to antimicrobial means. Part 1. Reference method laboratory studies of the activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria causing infectious diseases. Vved 2012-03-01. Moscow, RF: Standartinform; 2011. 23 p. (In Russ.)
 8. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. V. 6.0 [Electronic resource]. 2016. Mode of access: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/.

Submitted 15.12.2017

Accepted 31.01.2018

Сведения об авторах:

Тапальский Д.В. – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, Гомельский государственный медицинский университет;

Бонда Н.А. – врач-бактериолог микробиологической лаборатории, Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья;

Лагун Л.В. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Гомельский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Tapalski D.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Medical Microbiology, Virology and Immunology, Gomel State Medical University;

Bonda N.A. – doctor-bacteriologist of the Microbiological Laboratory, Gomel Regional Centre of Hygiene, Epidemiology and Public Health;

Lagun L.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Medical Microbiology, Virology and Immunology, Gomel State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Ланге, 5, Гомельский государственный медицинский университет, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: tapalskiy@gsmu.by – Тапальский Дмитрий Викторович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 246050, Gomel, 5 Lange str., Gomel State Medical University, Chair of Medical Microbiology, Virology and Immunology. E-mail: tapalskiy@gsmu.by – Dmitry V. Tapalski.