



УТВЕРЖДАЮ
Исполнительный директор Министра

Д.Л. Пиневиц

2013 г.

Регистрационный № 252-1212

МЕТОД МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И РАЦИОНАЛЬНОЙ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПИЕЛОНЕФРИТОВ

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: Л. В. Лагун; д-р мед. наук, проф. С. В. Жаворонок

Минск БГМУ 2013

В настоящей инструкции по применению представлен метод микробиологической диагностики и рациональной антибактериальной терапии пиелонефритов.

Наиболее частыми возбудителями пиелонефритов являются энтеробактерии, главным образом *Escherichia coli*, на долю которой может приходиться до 85 % всех заболеваний, а также *Proteus mirabilis* и *Klebsiella pneumoniae*. *Pseudomonas aeruginosa* является этиологическим фактором пиелонефритов в 4,5–18 % случаев (D. J. Farrell et al., 2003; С. К. Яровой и др., 2011).

В последнее время резистентность энтеробактерий к ряду антибактериальных лекарственных средств, особенно β -лактамам, приобретает все большее распространение, что является серьезной проблемой здравоохранения. Продукция β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) — один из наиболее распространенных и клинически значимых механизмов резистентности энтеробактерий к современным β -лактамным антибиотикам (Л. С. Страчунский, 2005). Термин « β -лактамазы расширенного спектра» (от англ. extended-spectrum β -lactamases — ESBL) объединяет большое число бактериальных ферментов, которые отличаются способностью расщеплять оксимино- β -лактамы (цефалоспорины III–IV поколений и азтреонам) наряду с пенициллинами и ранними цефалоспоридами и проявляют чувствительность к ингибиторам (клавулановой кислоте, сульбактаму и тазобактаму) (D. L. Paterson, 2005; М. В. Эйдельштейн, 2001).

Продукция БЛРС приводит к формированию устойчивости ко всем пенициллинам, цефалоспоридам и часто является причиной их клинической неэффективности. Вместе с тем, стандартные методы определения чувствительности не всегда позволяют выявить истинную резистентность БЛРС-продуцирующих штаммов, поскольку такие штаммы могут проявлять *in vitro* уровень устойчивости к современным цефалоспоридам ниже установленных пограничных значений (чувствительность – умеренная резистентность). Своевременная и регулярная диагностика БЛРС способствует таким образом проведению рациональной и эффективной антибактериальной терапии. Поэтому подтверждена необходимость использования дополнительных фенотипических методов для выявления устойчиво-

сти к антибиотикам, опосредованной продукцией БЛРС. Различные фенотипические методы, применяемые в настоящее время для обнаружения продукции БЛРС, основаны на эффекте подавления их активности в отношении оксимино- β -лактамов в присутствии клавулановой кислоты. Наиболее доступным является метод «двойных дисков» (М. В. Эйдельштейн, 2001).

В настоящее время важно не только поставить клинический диагноз пиелонефрита, но и провести этиологическую диагностику и назначить рациональную антибактериальную терапию. От того, насколько правильно выбрана стартовая антимикробная терапия пиелонефритов, зависят в конечном итоге эффективность лечения и прогноз болезни.

Настоящая инструкция по применению предназначена для врачей-бактериологов, врачей-нефрологов, врачей-терапевтов, других врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим пиелонефритом.

Показания к применению

Выбор тактики рациональной стартовой эмпирической антибактериальной терапии и последующей этиотропной антибиотикотерапии пиелонефритов.

Противопоказания к применению

Отсутствуют.

Материально-техническое обеспечение метода

1. Стандартное оборудование и материалы микробиологической лаборатории для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

2. Контрольные штаммы (*контрольные штаммы можно получить по запросу на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»*, тел. (0232) 70 32 60):

– *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853;

- *Escherichia coli* ATCC 25922;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923;
- *Escherichia coli* ATCC 25922 — отрицательный контроль (БЛРС–);
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 — положительный контроль (БЛРС+).

3. Стандартные материалы для выявления продукции БЛРС:

- Мюллер–Хинтон агар;
- стерильный 0,85 % раствор хлорида натрия;
- дистиллированная вода;
- стерильные ватные тампоны;
- стандартные диски, пропитанные антибактериальными препаратами: амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг); цефтазидим (30 мкг); цефотаксим (30 мкг).

ОПИСАНИЕ МЕТОДА

1. Бактериологическое исследование мочи

Материалом для исследования является средняя порция утренней свободно выпущенной мочи, полученная после туалета наружных половых органов. Мочу берут до начала антибактериальной терапии или в интервалах между курсами лечения.

Исследование включает:

1.1. Выделение возбудителя количественным методом и его идентификацию.

Выделенные микроорганизмы должны быть обнаружены в этиологически значимых количествах более 10^5 колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл исследуемого материала. Идентификацию микроорганизмов до рода и вида проводят общепринятыми методами.

Выделение и идентификация этиологически значимых микроорганизмов проводится в соответствии с инструкцией по применению «Микробиологические методы исследования биологического материала» № 075-0210 от 19.03.2010.

Для проведения дальнейших исследований используют чистую культуру возбудителей пиелонефритов, выращенную в течение 18–24 ч на питательном скошенном агаре при температуре 37 °С.

1.2. Определение чувствительности возбудителей пиелонефритов к антибактериальным лекарственным средствам диско-диффузионным методом.

Осуществляется в соответствии с инструкцией по применению «Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» № 226-1200 от 30.12.2009. Выполнение исследования, учет и интерпретация результатов проводится с учетом рекомендаций Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS).

Выбор дисков с антибактериальными препаратами.

Для определения чувствительности возбудителей пиелонефритов диско-диффузионным методом используются диски, соответствующие стандарту NCCLS.

Перечень антибактериальных препаратов, подлежащих исследованию, ограничен и в первую очередь включает лекарственные средства с подтвержденной клинической эффективностью. В набор дисков для определения чувствительности необходимо включить:

- ампициллин (10 мкг),
- амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг),
- цефотаксим (30 мкг) или цефтриаксон (30 мкг),
- цефтазидим (30 мкг),
- ципрофлоксацин (5 мкг) или офлоксацин (5 мкг),
- гентамицин (10 мкг).

Дополнительно (при осложненных инфекциях мочевыводящих путей или неэффективности стартовой эмпирической терапии) определяется чувствительность к лекарственным средствам:

- цефепим (30 мкг),
- меропенем (10 мкг) или имипенем (10 мкг),
- цефоперазон/сульбактам (75/30 мкг),
- тикарциллин/клавуланат (75/10 мкг),

амикацин (30 мкг).

1.3. Определение продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) фенотипическим методом «двойных» дисков.

Критерием включения штаммов как потенциальных продуцентов БЛРС в исследование является снижение чувствительности хотя бы к одному из цефалоспоринов III поколения до уровня, предлагаемого NCCLS: для цефтазидима диаметр зоны подавления роста при использовании диско-диффузионного метода ≤ 22 мм, для цефотаксима ≤ 27 мм.

Метод «двойных дисков» представляет собой вариант классического диско-диффузионного метода определения чувствительности. Особенностью метода является то, что через 10 минут после инокуляции бактериальной взвеси на поверхность агара Мюллера–Хинтона накладывают диски с антибиотиками: в центр — диск, содержащий клавулановую кислоту (амоксциллин/клавуланат 20/10 мкг), по бокам от него на расстоянии 20 и 30 мм между центрами дисков — диски с цефтазидимом (30 мкг) и цефотаксимом (30 мкг).

Параллельно с анализом испытуемых культур исследуют контрольные штаммы: *E. coli* ATCC 25922 — отрицательный контроль (БЛРС–); *K. pneumoniae* ATCC 700603 — положительный контроль (БЛРС+). Расширение зоны подавления роста между одним или несколькими дисками с цефалоспоринами и диском, содержащим клавулановую кислоту, указывает на наличие БЛРС.

При выявлении в фенотипическом тесте продукции БЛРС должна быть проведена коррекция антибиотикограммы: для аминопенициллинов и цефалоспоринов I–IV поколений (за исключением ингибиторзащищенных) категории «S» и «I» (чувствительный и умеренно устойчивый) изменяется на «R» — устойчивый.

2. Стартовая эмпирическая антибактериальная терапия:

фторхинолон (ципрофлоксацин или офлоксацин при уровне устойчивости основных возбудителей не более 15 % по данным локального микробиологического мониторинга);

ингибиторзащищенный аминопенициллин (амоксициллин/клавуланат).

3. Коррекция эмпирической терапии при неэффективности стартовой терапии (отсутствии улучшения через 72 часа от начала антибактериальной терапии):

фторхинолон (если не использовался для стартовой терапии);

ингибиторзащищенный уреидопенициллин;

карбапенем;

комбинированная терапия (амикацин + ингибиторзащищенный аминопенициллин или амикацин + фторхинолон).

Антибактериальные препараты, не рекомендуемые для проведения эмпирической терапии пиелонефрита:

аминопенициллины (амоксициллин, ампициллин);

ко-тримоксазол (может назначаться только при доказанной чувствительности к нему возбудителя);

цефалоспорины I–III поколений (в связи с широким распространением продуцентов БЛРС среди возбудителей инфекций мочевыделительной системы).

4. Этиотропная антибактериальная терапия — коррекция схемы антибиотикотерапии при получении результатов определения чувствительности к антибиотикам и определения продукции БЛРС.

5. Повторное микробиологическое исследование мочи:

на 5-й день от начала антибактериальной терапии;

через 10 дней после завершения антибактериальной терапии (контроль микробиологической санации).

Подписано в печать 15.04.13. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».

Ризография. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 0,46. Уч.-изд. л. 0,26. Тираж 35 экз. Заказ 197.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.