



Косилова И.С.¹, Домотенко Л.В.¹, Полосенко О.В.¹, Трухина Г.М.²

Подходы к определению чувствительности кампилобактерий к антимикробным препаратам для мониторинга распространения антибиотикоустойчивых штаммов

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ГНЦ ПМБ) Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 142279, Оболенск, Россия;

²ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Мытищи, Россия

Введение. Кампилобактериоз является одной из самых распространённых диарейных инфекций во всём мире. Ситуация осложняется значительным ростом случаев болезни, вызванных возбудителем *Campylobacter* spp., устойчивым к антимикробным препаратам (АМП). Сдерживание болезни требует проведения мониторинга распространения резистентных штаммов кампилобактерий, выделяемых как от больных людей и животных, так и из пищевых продуктов и воды.

Цель исследования — оценить результаты тестирования чувствительности кампилобактерий к антимикробным препаратам по требованиям методологий EUCAST и CLSI с использованием отечественных питательных сред.

Материалы и методы. В исследовании использовали музейные штаммы *S. jejuni*, *S. coli*, *S. fetus* и *S. lari*. Культивирование кампилобактерий проводили на *Campylobacter Agar Base (HiMedia)*, среде Престона лабораторного изготовления и железо-эритроцит кровяном агаре (ГНЦ ПМБ, Оболенск). Чувствительность к АМП определяли тремя методами: диско-диффузионным, градиентной диффузии и микроразведений с использованием агара и бульона Мюллера–Хинтона двух фирм-производителей (*BD BBL* и ГНЦ ПМБ, Оболенск) в соответствии с требованиями стандартов EUCAST и CLSI.

Результаты. Отечественные и импортные агар и бульон Мюллера–Хинтон позволили получить идентичные результаты чувствительности *Campylobacter* spp. к АМП. Все исследованные штаммы кампилобактерий отнесены к одной и той же категории чувствительности при тестировании всеми тремя методами в рамках одной методологии (EUCAST или CLSI). Из-за различий пограничных значений МПК и диаметров зон подавления роста в стандартах EUCAST и CLSI наблюдались некоторые отличия в интерпретации результатов.

Ограничения исследования. В работе определена чувствительность восьми штаммов, относящихся к четырём видам *Campylobacter*, к трём антимикробным препаратам тремя методами в соответствии с методологией EUCAST и CLSI.

Заключение. Полученные результаты подтверждают возможность использования комплекса отечественных питательных сред для культивирования и мониторинга ситуации с распространением устойчивых к АМП штаммов *Campylobacter* spp., что особенно актуально в связи с выполнением программы импортозамещения.

Ключевые слова: кампилобактерии; кампилобактериоз; *Campylobacter* spp.; питательные среды; определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам; агар Мюллера–Хинтон; бульон Мюллер–Хинтон; железо-эритроцит кровяной агар

Соблюдение этических стандартов. В исследовании не использован биологический материал от людей и животных. Использованы только музейные штаммы микроорганизмов, поэтому не требуется предствления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Косилова И.С., Домотенко Л.В., Полосенко О.В., Трухина Г.М. Подходы к определению чувствительности кампилобактерий к антимикробным препаратам для мониторинга распространения антибиотикоустойчивых штаммов. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(7): 706–712. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-7-706-712> <https://elibrary.ru/mervqc>

Для корреспонденции: Косилова Ирина Сергеевна, канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. разработки питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», 142279, Оболенск. E-mail: kosilova.irina@gmail.com

Участие авторов: Косилова И.С. — концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, статистическая обработка материала, написание текста; Домотенко Л.В. — концепция и дизайн исследования, сбор материала, статистическая обработка материала, написание текста; Полосенко О.В. — проведение экспериментов, статистическая обработка материала, написание текста; Трухина Г.М. — редактирование. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Поступила 29.12.2022 / Принята к печати 07.06.2023 / Опубликовано 30.08.2023

Irina S. Kosilova¹, Lyubov' V. Domotenko¹, Ol'ga V. Polosenko¹, Galina M. Trukhina²

Approaches to the antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* to monitor the spread of antibiotic-resistant strains

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology (SRCAMB) of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Obolensk, 142279, Russian Federation;

²Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation

Introduction. *Campylobacteriosis* is one of the most common diarrhea-associated infections over the world. The situation is getting worse along with increasing cases of the disease caused by the *Campylobacter* spp. pathogen resistant to antimicrobials (AMPs). Preventing the disease requires monitoring the spread of resistant *Campylobacter* strains isolated from both sick people and animals, food, and water.

Aim of the study is to evaluate the results of the antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* according to the requirements of the EUCAST and CLSI methodologies using Russia-made nutrient media.

Materials and methods. Collected and freshly isolated strains of *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* and *C. lari* were used. *Campylobacter* cultures were subcultured on *Campylobacter* Agar Base (HiMedia), Preston laboratory-produced medium and iron-erythritol blood agar (Obolensk). Their sensitivity to AMPs was determined by three methods as follows: disc diffusion, gradient diffusion and microdilutions using Mueller-Hinton agar, and broth of two manufacturers (BD BBL and Obolensk) according to EUCAST and CLSI.

Results. Using Russian-made and imported Mueller-Hinton agar and broth allowed obtaining identical results for AMPs susceptibility of *Campylobacter* spp. The *campylobacter* strains were attributed to the same susceptibility category by all three methods in frame of any methodology (EUCAST or CLSI) when interpreting results. Due to differences in cutoffs of MIC and inhibition zone diameters in the EUCAST and CLSI standards, there were some differences in the interpretation of the results.

Limitations. Eight strains of four species *Campylobacter* were tested for their susceptibility to three antimicrobials by three methods according to EUCAST and CLSI methodology.

Conclusion. The results obtained confirm the possibility of applying a complex of domestic nutrient media for cultivating and monitoring the spread of antibiotic resistant strains of *Campylobacter* spp. This is especially important in view of implementing the import substitution program.

Keywords: campylobacteriosis; *Campylobacter* spp.; nutrient media; determination of AMPs microorganism sensitivity; Mueller-Hinton agar; Mueller-Hinton broth; iron-erythritol blood agar

Compliance with ethical standards. The research did not use human or animal biological materials. Only collected strains of microorganisms were studied, and therefore the conclusion of the biomedical ethics committee or some other documents is not required

For citation: Kosilova I.S., Domotenko L.V., Polosenko O.V., Trukhina G.M. Approaches to the antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* to monitor the spread of antibiotic-resistant strains. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2023; 102(7): 706–712. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-7-706-712> <https://elibrary.ru/mervqc> (In Russ.)

For correspondence: Irina S. Kosilova, MD, PhD, Researcher, Nutrient Medium Development Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology (SRCAMB) of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Obolensk, 142279, Russian Federation. E-mail: kosilova.irina@gmail.com

Information about the authors:

Domotenko L.V., <https://orcid.org/0000-0002-4785-6418> Kosilova I.S., <https://orcid.org/0000-0003-4020-0894>
Polosenko O.V., <https://orcid.org/0000-0001-5961-9041> Trukhina G.M., <https://orcid.org/0000-0001-9955-7447>

Contribution: Kosilova I.S. – concept and design of the research, carrying out experiments, statistical processing of material, writing the text; Domotenko L.V. – concept and design of the research, collecting material, statistical processing of material, writing of the text; Polosenko O.V. – conducting experiments, statistical processing of material, writing text; Trukhina G.M. – reviewing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

Acknowledgement. The work was carried out within the Rospotrebnadzor industry program.

Received: December 22, 2022 / Accepted: June 7, 2023 / Published: August 30, 2023

Введение

Кампилобактериоз является одной из распространённых в мире инфекций и составляет около 10% от всех острых диарейных болезней [1, 2]. В России кампилобактериоз составляет 6,5–12,2% от общего числа острых кишечных инфекций, а летальность – 2,4% [3, 4]. Этиологическим агентом кампилобактериоза являются представители рода *Campylobacter*, который включает в себя более 20 видов. Наибольшую эпидемиологическую значимость представляют *C. jejuni* и *C. coli*, которые обуславливают до 90% подтверждённых лабораторных случаев пищевого кампилобактериоза у людей [1, 5]. Как зоонозный патоген *Campylobacter* имеет обширный животный резервуар и заражает людей через пищу, воду или молоко. Кампилобактериоз обычно является самокупирующейся инфекцией и не требует лечения. Пациентам с ослабленным иммунитетом или имеющим сопутствующие патологии требуется антимикробная терапия, включающая макролиды и фторхинолоны. Чрезмерное использование антибиотиков как в медицине, так и в животноводстве привело к увеличению во всём мире числа инфекций, вызванных штаммами, устойчивыми к антибиотикам, особенно к фторхинолонам [6].

Как показали результаты исследования 97 изолятов *C. jejuni*, выделенных от диарейных больных в период с 2002 по 2010 г., наблюдалось устойчивое увеличение резистентности к основным антибиотикам, используемым для лечения больных: резистентность к эритромицину увеличилась с 5 до 13,8%, к ципрофлоксацину – с 53 до 65,5%, к тетрациклину – с 40 до 62,1% [7]. В последнее время всё чаще стали появляться штаммы *Campylobacter* spp., устойчивые к нескольким группам антибиотиков, включая макролиды, фторхинолоны, аминогликозиды, β-лактамы антибиотиков и др. [7–10]. При выделении кампилобактерий из пищевых продуктов наряду с другими методами применяют бактериологический посев на питательные среды. Применение бактериологического метода сопряжено с

рядом трудностей, связанных не только со сложными питательными потребностями кампилобактерий, но и с тем, что в исследуемом образце, как правило, содержится незначительное количество кампилобактерий. Сообщается, что для инфицирования людей достаточно небольшая инфицирующая доза кампилобактерий, составляющая от 500 до 800 КОЕ [11].

Диагностика кампилобактериоза у людей также требует использования питательных сред, сконструированных с учётом специфических свойств микроба: его чувствительность к кислороду и окислительным радикалам, специфическая питательная потребность, природная устойчивость к некоторым антибиотикам и способность переходить в некультивируемые формы под влиянием стрессовых воздействий [12]. Как правило, в состав селективных сред для выделения *Campylobacter* spp. входят компоненты, способные поглощать кислород и обеспечивать питательные потребности микроорганизма: кровь, ионы железа, пируваты.

Для выделения кампилобактерий разработано множество питательных сред, преимущественно иностранного производства: *Campylobacter* Agar Base (HiMedia), *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar Base (modified CCDA) (Merck), Blood Free *Campylobacter* Selectivity Agar Base (HiMedia), Основа агара для *Campylobacter* Agar Base (Kargali) (Oxoid), хромогенная среда CASA (AES Chemunex, Франция) и др. [12–15].

Требованиями нормативно-методической литературы для определения кампилобактерий в пищевых продуктах и воде (МУК 4.2.2321–08¹, МУК 4.2.2959–11²,

¹ МУК 4.2.2321–08. Методы определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевых продуктах: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. 31 с.

² МУК 4.2.2959–11. Методы санитарно-микробиологического и санитарно-паразитологического анализа прибрежных вод морей в местах водопользования населения: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. 114 с.

ГОСТ ISO 10272–1–2013³ и МУ 4.2.3545–18⁴) рекомендованы бульон и агар Престона, агар Мюллера–Хинтон с добавлением 5–10% крови, кампилобакагар. В лабораторной диагностике кампилобактериоза дополнительно используется железо-эритрит кровяной агар (ЖЭКА). Выделенные культуры кампилобактерий изучают на предмет их чувствительности к антибиотическим препаратам для мониторинга антибиотикорезистентности и разработки мер ограничения циркуляции устойчивых штаммов [15–17]. До недавнего времени в качестве референтного метода определения антибиотикочувствительности использовали метод разведений в агаре, но его трудоёмкость обусловила применение других методов исследования. В настоящее время методологиями EUCAST и CLSI разрешено применение диско-диффузионного метода и метода микроразведений в бульоне, а требованиями МУ 4.2.3545–18 рекомендовано дополнительное использование метода градиентной диффузии. Для метода микроразведений обеими методологиями рекомендован бульон Мюллера–Хинтон с добавлением лизированной лошадиной крови и β -NAD. Исследования диско-диффузионным методом проводят на агаре Мюллера–Хинтон, который обогащают дефибрированной лошадиной кровью и β -NAD при использовании методологии EUCAST или бараньей кровью в случае применения методологии CLSI [18, 19].

Введение экономических санкций ряда стран в отношении Российской Федерации привело к ограничению экспорта продукции для проведения микробиологических исследований, в связи с чем импортозамещение является сейчас особенно актуальной задачей. В настоящее время в нашей стране налажен выпуск Кампилобакагара, железо-эритрит кровяного агара, агара Мюллера–Хинтон и разработана технология производства бульона Мюллера–Хинтон, который проходит стадию государственной регистрации.

Цель исследования – оценить результаты тестирования чувствительности кампилобактерий к антимикробным препаратам по требованиям методологий EUCAST и CLSI с использованием отечественных питательных сред.

Материалы и методы

1. Штаммы кампилобактерий

В исследовании использовали музейные штаммы: референтные *C. jejuni* ATCC 33560, *C. jejuni* NCTC 11168, *C. coli* ATCC 33559, *C. fetus* ATCC 27374, *C. lari* ATCC 352213 и ранее выделенные и депонированные в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов (ГКПМ–Оболенск) штаммы *C. jejuni* F-2 (выделен из помёта перепела фермерского хозяйства в Московской области), *C. jejuni* Ph-15 (выделен из помёта фазана фермерского хозяйства в Московской области), *C. coli* V-2 (выделен из помёта взрослой курицы частного хозяйства Московской области). Все штаммы получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГКПМ–Оболенск в лиофилизированном виде.

2. Питательные среды

Культивирование кампилобактерий проводили на трёх кровяных средах, приготовленных из Campylobacter Agar Base (HiMedia), среды Престона лабораторного изготовления и основы железо-эритрит кровяного агара (ЖЭКА) производства ГНЦПМБ (Оболенск) с добавлением 7% бараньей крови (ЗАО «ЭКОлаб»). В среду ЖЭКА дополнитель-

но вносили 5 мл/л аэротолерантной добавки, содержащей метабисульфит натрия, пируват натрия, сульфат железа (II), согласно МУ 4.2.3545–18. Питательные среды готовили в соответствии с инструкциями производителей.

Для диско-диффузионного метода (ДДМ) в соответствии с методологией EUCAST и метода градиентной диффузии (Е-тесты) использовали агар Мюллера–Хинтон двух фирм-производителей (BD BBL и ГНЦПМБ) с добавлением 5% дефибрированной лошадиной крови (ЗАО «ЭКОлаб») и 20 мг/л β -NAD (Sigma, США). При постановке ДДМ согласно методологии CLSI использовали агар Мюллера–Хинтон обеих фирм-производителей с добавлением 5% дефибрированной бараньей крови (ЗАО «ЭКОлаб»). Для удобства представления результатов далее в статье независимо от вида используемой крови данные среды обозначали сокращённо: агар Мюллера–Хинтон производства BD BBL (МХА-BD), а агар Мюллера–Хинтон производства ГНЦПМБ (МХА-Оболенск).

Для метода микроразведений в бульоне использовали бульон Мюллера–Хинтон производства BD BBL (МХБ-BD) и экспериментальные образцы бульона Мюллера–Хинтон (МХБ-Оболенск) с добавлением 5% лизированной лошадиной крови и 20 мг/л β -NAD (Sigma). Лизированную кровь готовили из дефибрированной лошадиной крови, для чего в неё добавляли стерильную деионизированную воду в соотношении 1 : 1, помещали в морозильную камеру на 8 ± 1 ч при температуре минус 20 °С. Затем замороженную при комнатной температуре кровь повторно подвергали замораживанию и оттаиванию, повторяя данный цикл четыре раза до полного лизиса кровяных клеток. После этого лизированную лошадиную кровь осветляли центрифугированием при 7000 об./с в течение 30 мин на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5702.

3. Антимикробные препараты

В работе использовали субстанции ципрофлоксацина (кат. № 17850), эритромицина (кат. № 45674) и тетрациклина (кат. № 64755) производства Sigma-Aldrich (США), а также диски производства BD BBL с 5 мкг ципрофлоксацина, 15 мкг эритромицина и 30 мкг тетрациклина и Е-тесты (BioMérieux): ципрофлоксацин (0,002–32 мг/л), эритромицин (0,016–256 мг/л) и тетрациклин (0,016–256 мг/л).

4. Культивирование кампилобактерий

Все исследуемые штаммы кампилобактерий, хранившиеся в лиофилизированном состоянии, ресуспендировали в 0,9%-м растворе хлорида натрия и высевали на все три кровяные питательные среды. Штаммы кампилобактерий инкубировали в течение 48–72 ч в анаэробе АЭ-01 (ООО «НИКИ МЛТ», Россия, ТУ 9443) с GasPak (BD, кат № 260680), который обеспечивал микроаэробную атмосферу (10% CO₂, 5% O₂ и 85% N₂) при различных температурах: *C. jejuni* ATCC 33560, *C. jejuni* NCTC 11168, *C. coli* ATCC 33559, *C. lari* ATCC 352213, *C. jejuni* F-2, *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2 при температуре плюс $42 \pm 0,5$ °С и плюс 37 $\pm 0,5$ °С, а штамм *C. fetus* ATCC 27374 – при температуре плюс 37 $\pm 0,5$ °С.

5. Определение чувствительности кампилобактерий к АМП

Постановку методов (диско-диффузионного и микроразведений) в бульоне с использованием 96-луночного планшета) проводили в соответствии с требованиями EUCAST, CLSI и ГОСТ Р ИСО 20776–1–2022⁵, инкубируя посевы в микроаэрофильных условиях при температуре плюс 41 ± 1 °С в течение 24 ч [18, 19]. Использование Е-тестов осуществляли согласно инструкции производителя в тех же условиях инкубации. Полученные значения диаметров зон подавления роста штаммов микроорганизмов вокруг дисков с АМП и минимальных подавляющих концентраций (МПК)

³ ГОСТ ISO 10272–1–2013. Межгосударственный стандарт «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы обнаружения и подсчёта бактерий *Campylobacter* spp. Часть 1. Метод обнаружения» (введён в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 июня 2013 г. № 227-ст). Стандартинформ, М., 2013.

⁴ МУ 4.2.3545–18. Методы ускоренного определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевой продукции и оценка их антибиотикорезистентности: Методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. 32 с.

⁵ ГОСТ Р ИСО 20776–1–2022. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод микроразведений в бульоне для лабораторного исследования активности антимикробных агентов по отношению к быстрорастущим аэробным бактериям, вызывающим инфекционные заболевания. ФГБУ «РСТ», 2022.

Результаты контроля качества МХА и МХБ с использованием *C. jejuni* ATCC 33560Results of Quality Control for MHA and MHB using *C. jejuni* ATCC 33560

Антимикробные препараты Antimicrobials	Диаметры зон подавления роста, мм Inhibition zone diameter, mm		Допустимый интервал значений диаметров (целевые значения) по EUCAST, мм EUCAST Quality Control Range of Diameter (Target), mm	Значения МПК антибиотиков, мг/л MIC antimicrobials, mg/L				Допустимый интервал значений МПК по CLSI, мг/л CLSI Quality Control Range of MIC, mg/L
				Метод микроразведений в бульоне Microdilution method		Метод градиентной диффузии Gradient diffusion method		
	МХА-BD MHA-BD	МХА-Оболенск MHA-Obolensk		МХБ-BD MHB-BD	МХБ-Оболенск MHB-Obolensk	МХА-BD MHA-BD	МХА-Оболенск MHA-Obolensk	
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	38 ± 1	38 ± 1	34–42 (38)	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03–0.12
Эритромицин Erythromycin	31 ± 1	31 ± 1	27–35 (31)	1.0	1.0	1.0	1.0	0.25–2.0
Тетрациклин Tetracycline	34 ± 1	34 ± 1	30–38 (34)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25–1.0

Примечание. МХА-BD и МХБ-BD – агар и бульон Мюллера – Хинтон производства BD BBL; МХА-Оболенск и МХБ-Оболенск – агар и бульон Мюллера – Хинтон производства ГНЦПМБ (Оболенск).

Note: MHA-BD and MHB-BD – Mueller – Hinton agar and broth manufactured by BD BBL; MHA-Obolensk and MHB-Obolensk – Mueller – Hinton agar and broth manufactured by SRCAMB (Obolensk).

антимикробных препаратов интерпретировали в категориях чувствительности штаммов – S (чувствительные), R (резистентные), I (чувствительные при увеличенной экспозиции антимикробного препарата).

Результаты

Подготовка штаммов *Campylobacter* spp. для определения чувствительности к АМП. Рост штаммов *C. jejuni* ATCC 33560, *C. jejuni* NCTC 11168, *C. coli* ATCC 33559 и *C. lari* ATCC 35221 не зависел от температуры инкубации, и на всех трёх кровяных средах для культивирования типичный рост кампилобактерий наблюдался через 48 ч. Для штамма *C. fetus* ATCC 27374 наблюдалось влияние температуры: инкубирование при плюс 37 ± 1 °C приводило к более интенсивному росту на всех трёх кровяных средах. Наиболее интенсивный рост музейных штаммов *C. jejuni* F2, *C. jejuni* Ph-15 и *C. jejuni* V-2 наблюдался после 48 ч только на железо-эритрит кровяном агаре при обеих температурах: плюс 42 ± 1 и плюс 37 ± 1 °C.

Для дальнейших исследований использованы штаммы, выращенные на железо-эритрит кровяном агаре в оптимальных условиях.

Определение чувствительности штаммов *Campylobacter* spp. Известно, что результаты чувствительности микроорганизмов к АМП зависят от качества используемых питательных сред [20]. Требованиями стандартов тестирования чувствительности микроорганизмов к АМП регламентирована обязательная оценка качества используемых питательных сред. Контроль качества МХА-BD и МХА-Оболенск при использовании диско-диффузионного метода осуществляли путём сравнения значений диаметров зон подавления роста тест-штамма *C. jejuni* ATCC 33560 вокруг дисков с АМП с целевыми значениями и допустимыми диапазонами, регламентируемыми только стандартом EUCAST. Качество бульонов МХБ-BD и МХБ-Оболенск, а также МХА-BD и МХА-Оболенск для метода Е-тестов оценивали путём сравнения полученных значений МПК антибиотиков в отношении тест-штамма *C. jejuni* ATCC 33560 с допустимыми диапазонами значений, регламентируемыми только стандартом CLSI, поскольку в стандарте EUCAST эти требования находятся в стадии разработки. Результаты контроля качества питательных сред приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, значения диаметров зон подавления роста тест-штамма вокруг дисков с АМП, полученные на агаре Мюллера–Хинтон обеих фирм-производителей,

соответствовали целевым значениям. Величины МПК, определённые методом Е-тестов на агаре Мюллера–Хинтон обеих фирм-производителей и методом микроразведений в обоих образцах бульона Мюллера–Хинтон, находились в допустимых интервалах значений. Полученные результаты свидетельствовали о высоком качестве изученных питательных сред и о возможности их использования для дальнейших исследований. После этого определяли чувствительность штаммов *C. jejuni* ATCC 11168, *C. coli* ATCC 33559, *C. fetus* ATCC 27374, *C. lari* ATCC 35221 и 3 изолятов *C. jejuni* F-2, *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2 к ципрофлоксацину, эритромицину и тетрациклину, которые являются основными лекарственными препаратами для лечения кампилобактериоза [21–25].

Результаты исследования всех протестированных штаммов *C. jejuni* и *C. coli* отражены в табл. 2, в которой пограничные значения диаметров зон подавления роста и МПК антибиотиков для *Campylobacter* spp. представлены только для методологии CLSI из-за отсутствия свободного доступа к интернет-ресурсам.

На рис. 1 показаны результаты тестирования чувствительности штамма *C. jejuni* F-2 к ципрофлоксацину, эритромицину и тетрациклину диско-диффузионным методом, на рис. 2 и 3 – результаты тестирования того же штамма для определения его чувствительности к тетрациклину и эритромицину методом градиентной диффузии (Е-тестов) и методом микроразведений в бульоне.

Как видно из табл. 2, в соответствии с требованиями обоих стандартов штаммы *C. jejuni* ATCC 11168, *C. coli* ATCC 33559 и *C. jejuni* F-2 были интерпретированы как чувствительные к эритромицину и тетрациклину. При интерпретации результатов тестирования чувствительности к ципрофлоксацину по методологии CLSI штаммы были отнесены к категории S (чувствительные), а по методологии EUCAST – к категории I (чувствительные при увеличенной экспозиции антимикробного препарата). Штамм *C. coli* V-2 был интерпретирован как чувствительный к эритромицину и тетрациклину, но устойчивый к ципрофлоксацину в соответствии с обеими методологиями. Штамм *C. jejuni* Ph-15 проявил устойчивость ко всем протестированным АМП при определении чувствительности по методологии EUCAST. По методологии CLSI он был также устойчив к ципрофлоксацину и тетрациклину, а к эритромицину проявил чувствительность при повышенной экспозиции. Результаты *C. coli* и *C. jejuni*, полученные на питательных средах обеих фирм-производителей, были идентичны.

Таблица 2 / Table 2

Результаты определения чувствительности кампилобактерий к АМП на МХА и МХБ двух фирм-производителей диско-диффузионным методом, методом градиентной диффузии и методом микроразведений в бульоне
Results of the Antimicrobial Susceptibility Testing of *Campylobacter* using MHA and MHB from two Manufacturers by the Disk Diffusion Method, Gradient Diffusion Method and the Microdilution Method

Антимикробные препараты Antimicrobials	Фирма-производитель МХА Manufacturer of MHA	Диаметры зон подавления роста, мм Inhibition growth Zone Diameter, mm	Средние значения МПК, мг/л Average of MIC values, mg/L		Категория чувствительности* Susceptibility Category*		Пограничные значения <i>Campylobacter</i> spp. по CLSI CLSI Breakpoints for <i>Campylobacter</i> spp.					
			Метод микроразведений Microdilution method	Е-тесты E-tests	CLSI	EUCAST	Диаметры зон подавления роста, мм Inhibition growth Zone Diameter, mm			МПК, мг/л MIC, mg/L		
							S	I	R	S	I	R
<i>C. jejuni</i> ATCC 11168												
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	BD Оболенск Obolensk	36 ± 1 37 ± 1	0.12 0.12	0.12 0.12	S S	I I	≥ 24	21–23	≤ 20	≤ 1.0	2,0	≥ 4
Эритромицин Erythromycin	BD Оболенск Obolensk	38 ± 1 37 ± 1	1.0 1.0	1.0 1.0	S S	S S	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 8.0	16	≥ 32
Тетрациклин Tetracycline	BD Оболенск Obolensk	42 ± 1 42 ± 2	1.0 1.0	1.0 1.0	S S	S S	≥ 26	23–25	≤ 22	≤ 4.0	8.0	≥ 16
<i>C. jejuni</i> F-2												
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	BD Оболенск Obolensk	38 ± 1 37 ± 2	0.12 0.12	0.12 0.12	S S	I I	≥ 24	21–23	≤ 20	≤ 1.0	2,0	≥ 4
Эритромицин Erythromycin	BD Оболенск Obolensk	33 ± 1 33 ± 1	1.0 1.0	1.0 1.0	S S	S S	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 8.0	16	≥ 32
Тетрациклин Tetracycline	BD Оболенск Obolensk	41 ± 1 42 ± 1	0.25 0.25	0.25 0.25	S S	S S	≥ 26	23–25	≤ 22	≤ 4.0	8.0	≥ 16
<i>C. jejuni</i> Ph-15												
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	BD Оболенск Obolensk	6 ± 0 6 ± 0	> 1.0 > 1.0	> 32.0 > 32.0	R R	R R	≥ 24	21–23	≤ 20	≤ 1.0	2.0	≥ 4
Эритромицин Erythromycin	BD Оболенск Obolensk	14 ± 1 14 ± 1	> 16.0 > 16.0	64.0 64.0	I I	R R	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 8.0	16	≥ 32
Тетрациклин Tetracycline	BD Оболенск Obolensk	20 ± 1 20 ± 1	> 4.0 > 4.0	32.0 32.0	R R	R R	≥ 26	23–25	≤ 22	≤ 4.0	8.0	≥ 16
<i>C. coli</i> ATCC 33559												
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	BD Оболенск Obolensk	37 ± 1 36 ± 2	0.25 0.25	0.25 0.25	S S	I I	≥ 24	21–23	≤ 20	≤ 1.0	2.0	≥ 4
Эритромицин Erythromycin	BD Оболенск Obolensk	37 ± 1 35 ± 2	2.0 2.0	2.0 2.0	S S	S S	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 8.0	16	≥ 32
Тетрациклин Tetracycline	BD Оболенск Obolensk	42 ± 1 43 ± 1	0.5 0.5	0.5 0.5	S S	S S	≥ 26	23–25	≤ 22	≤ 4.0	8.0	≥ 16
<i>C. coli</i> V-2												
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	BD Оболенск Obolensk	16 ± 1 16 ± 1	> 1.0 > 1.0	> 1.0 > 1.0	R R	R R	≥ 24	21–23	≤ 20	≤ 1.0	2.0	≥ 4
Эритромицин Erythromycin	BD Оболенск Obolensk	38 ± 1 37 ± 1	0.5 0.5	0.5 0.5	S S	S S	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 8.0	16	≥ 32
Тетрациклин Tetracycline	BD Оболенск Obolensk	43 ± 1 44 ± 2	0.06 0.06	0.06 0.06	S S	S S	≥ 26	23–25	≤ 22	≤ 4.0	8.0	≥ 16

Примечание. * – категории чувствительности, определённые тремя методами, совпали.

Note: – the susceptibility categories coincided when determined by three methods.

Поскольку в стандартах CLSI и EUCAST приведены пограничные значения МПК и диаметров зон подавления роста только для штаммов *C. coli* и *C. jejuni*, результаты тестирования антибиотикочувствительности штаммов *C. fetus* и *C. lari* оценивали путём сравнения абсолютных значений МПК и диаметров зон подавления роста, полученных на средах одинакового наименования, но разных фирм-производителей.

Как показали результаты исследования, полученные значения диаметров зон подавления роста *C. fetus* ATCC 27374 и *C. lari* ATCC 352213 не зависели от используемой питательной среды при тестировании чувствительности к ципрофлоксацину и эритромицину и составили для обоих штаммов 38 ± 1 и 36 ± 1 мм соответственно. При исследовании комбинаций «*C. fetus* – тетрациклин» и «*C. lari* – тетрациклин» на агаре Мюллера–Хинтона (BD) их величина составила 38 ± 1 и 42 ± 1 мм соответственно, а на агаре Мюллера–Хинтона (Оболонск) была на 2–3 мм ниже.

Значения МПК эритромицина и тетрациклина для штамма *C. fetus* ATCC 27374 не зависели от метода исследования (метод Е-тестов и метод микроразведений) и используемых питательных сред (агар и бульон Мюллера–Хинтона разных фирм-производителей) и составили 0,25 мг/л для эритромицина и 0,5 мг/л для тетрациклина. Значения МПК ципрофлоксацина не зависели от используемых питательных сред и составили 0,12 мг/л для метода микроразведений в бульоне и 0,06 мг/л для метода Е-тестов.

Для штамма *C. lari* ATCC 352213 было отмечено, что значения МПК всех трёх анализируемых антибиотиков не зависели от фирмы – производителя питательной среды, а также от методов тестирования и составили для ципрофлоксацина 0,25 мг/л, для эритромицина – 0,5 мг/л, а для тетрациклина – 0,12 мг/л.

Обсуждение

Кампилобактерии относятся к микроорганизмам со сложными питательными потребностями. Тестирование их чувствительности к АМП сопряжено с определёнными трудностями. Методологические подходы EUCAST и CLSI к тестированию имеют некоторые различия, касающиеся критериев интерпретации результатов по категориям чувствительности, требований к используемым питательным средам и проведению повседневного контроля качества исследования с использованием тест-штаммов *Campylobacter*. Стандарт EUCAST содержит программу контроля качества для диско-диффузионного метода, а стандарт CLSI – только для метода микроразведений. Поэтому авторами выполнено тестирование чувствительности кампилобактерий к АМП в соответствии с требованиями обеих методологий тремя методами: диско-диффузионным, микроразведений и градиентной диффузии (Е-тестов).

Результаты исследования показали, что категории чувствительности исследованных штаммов *C. jejuni* и *C. coli* к АМП не зависели от фирмы – производителя используемой питательной среды (агара или бульона Мюллера–Хинтона) и от метода тестирования в рамках любой методологии (EUCAST или CLSI).

При сравнении категорий чувствительности, определённых по методологиям EUCAST и CLSI, наблюдались расхождения в категориях чувствительности из-за различий в пограничных значениях МПК и диаметров зон подавления роста. При тестировании штаммов *C. jejuni* ATCC 11168, *C. jejuni* F-2 и *C. coli* V-2 к ципрофлоксацину в соответствии с методологией EUCAST штаммы были отнесены к категории I, по методологии CLSI – к категории S, а при тестировании комбинации *C. jejuni* Ph-15-эритромицин в соответствии с методологией EUCAST штаммы были отнесены к категории R, по методологии CLSI – к категории I.

Для кампилобактерий, относящихся к видам *C. fetus* и *C. lari*, из-за отсутствия в обеих методологиях интерпретационных таблиц, не представляется возможным оценить получаемые результаты. Поэтому в данном исследовании определяли значения МПК и диаметров зон подавления роста, полученные на МХА и МХБ двух фирм-производителей, и сравнивали их между собой. Незначительно различающиеся результаты свидетельствуют о пригодности отечественных питательных сред для тестирования данных микроорганизмов.

Ограничения исследования. В работе определена чувствительность восьми штаммов, относящихся к четырём видам *Campylobacter*, к трём антимикробным препаратам тремя методами в соответствии с методологией EUCAST и CLSI.

Заключение

Результаты проведённого исследования показали, что отечественные питательные среды для культивирования и изучения чувствительности *Campylobacter* spp. к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом, методом градиентной диффузии (Е-тесты) и методом микроразведений в бульоне в соответствии с методологиями EUCAST и CLSI не уступают импортным аналогам и могут быть использованы в микробиологической практике. В настоящее время налажен промышленный выпуск кампилобакагара, железо-эритрит кровяного агара и агара Мюллера–Хинтона, а бульон Мюллера–Хинтона находится на стадии государственной регистрации.

Полученные результаты подтверждают возможность использования комплекса отечественных питательных сред для культивирования кампилобактерий и мониторинга ситуации с распространением устойчивых к АМП штаммов *Campylobacter* spp. на высоком уровне, что особенно актуально в связи с выполнением программы импортозамещения в области производства медицинских изделий для проведения микробиологических исследований.

Литература

(п.п. 1, 2, 5–11, 16–19, 21–25 см. References)

- Литусов Н.В. *Кампилобактерии*. Екатеринбург; 2012.
- Молочкова О.В., Ковалев О.Б., Новокоснов А.А., Новосад Е.В., Россина А.Л., Шамшева О.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика кампилобактериоза у детей. *Педиатрия*. 2017; 96(6): 53–6. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2017-96-6-53-56> <https://elibrary.ru/ztpvsv>
- Ефимочкина Н.Р., Пичугина Т.В., Стеценко В.В., Быкова И.Б., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В. и др. Оптимизация методов контроля пищевых продуктов на основе создания дифференциально-диагностических сред для выделения и культивирования бактерий рода *Campylobacter*. *Вопросы питания*. 2017; 86(5): 34–41. <https://elibrary.ru/zvawgt>
- Ефимочкина Н.Р., Короткевич Ю.В., Стеценко В.В., Пичугина Т.В., Быкова И.Б., Маркова Ю.М. и др. Антибиотикорезистентность штаммов *Campylobacter jejuni*, выделенных из пищевых продуктов. *Вопросы питания*. 2017; 86(1): 17–27. <https://elibrary.ru/xwveof>
- Кремлева А.А., Скоморина Ю.А., Ахметова Л.Ш., Подольская Т.В., Полосенко О.В. Сравнительный анализ питательных сред отечественных и зарубежных производителей для выделения кампилобактерий. *Бактериология*. 2021; 6(2): 32–7.
- Попова А.Ю., Дятлов И.А. *Микробиологический контроль качества пищевой продукции*. М.: Династия; 2020.
- Домотенко Л.В., Миронов А.Ю., Косилова И.С., Шепелин А.П. Стандартность дисков с антимикробными препаратами различных производителей в свете импортозамещения. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(9): 550–6. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-9-550-556> <https://elibrary.ru/afrbws>

References

- Saeidi J., Mahdi E., Taradon L. The worldwide trend of *Campylobacter* spp., infection from duck-related isolates and associated phenotypic and genotypic antibiotic resistance, since 1985: identifying opportunities and challenges for prevention and control. *Poult. Sci.* 2021; 100(8): 101213. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101213>
- Kreling V., Falcone F.H., Kehrenberg C., Hensel A. *Campylobacter* sp.: Pathogenicity factors and prevention methods—new molecular targets for innovative antiviralulence drugs? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020; 104(24): 10409–36. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10974-5>
- Litusov N.V. *Campylobacteriia* [Kampilobakterii]. Ekaterinburg: 2012. (in Russian)
- Molochkova O.V., Kovalev O.B., Novokshonov A.A., Novosad E.V., Rossina A.L., Shamsheva O.V. Clinical epidemiological characteristics of campylobacteriosis in children. *Pediatrya.* 2017; 96(6): 53–6. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2017-96-6-53-56> <https://elibrary.ru/ztpvsvb> (in Russian)
- Clayton J.B., Danzeisen J.L., Johnson T.J., Trent A.M., Hayer S., Murphy T., et al. Characterization of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter upsaliensis*, and a novel *Campylobacter* sp. in a captive nonhuman primate zoological collection. *J. Med. Primatol.* 2019; 48(2): 114–22. <https://doi.org/10.1111/jmp.12393>
- Elhadidy M., Ali M.M., El-Shibiny A., Miller W.G., Elkhatib W.F., Botteldoorn N., et al. Antimicrobial resistance patterns and molecular resistance markers of *Campylobacter jejuni* isolates from human diarrheal cases. *PLoS One.* 2020; 15(1): e0227833. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227833>
- John M.A. *In vitro* susceptibility of *Campylobacter jejuni* from Kuwait to tigeicycline & other antimicrobial agents. *Indian J. Med. Res.* 2013; 137(1): 187–90.
- Kinga W., Jacek O. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. *BioMed Res. Int.* 2013; 2013: 340605. <https://doi.org/10.1155/2013/340605>
- Mofatt C.R.M., Kennedy K.J., O'Neill B., Selvey L., Kirk M.D. Bacteraemia, antimicrobial susceptibility and treatment among *Campylobacter*-associated hospitalisations in the Australian Capital Territory: a review. *BMC Infect. Dis.* 2021; 21(1): 848. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06558-x>
- Pedersen S.K., Wagenaar J.A., Vigre H., Roer L., Mikoleit M., Aidara-Kane A., et al. Proficiency of WHO Global Foodborne Infections Network External Quality Assurance System Participants in Identification and Susceptibility Testing of Thermotolerant *Campylobacter* spp. from 2003 to 2012. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(11): 1–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.01066-18>
- Janssen R., Krogfelt K.A., Cawthraw S.A., van Pelt W., Wagenaar J.A., Owen R.J. Host-pathogen interactions in campylobacter infections: the host perspective. *Clin. Microbiol. Rev.* 2008; 21(3): 505–18. <https://doi.org/10.1128/cmr.00055-07>
- Efimochkina N.R., Pichugina T.V., Stetsenko V.V., Bykova I.B., Markova Yu.M., Korotkevich Yu.V., et al. Optimization of food control methods based on the creation of differential diagnostic environments for the isolation and cultivation of bacteria of the genus *Campylobacter*. *Voprosy pitaniya.* 2017; 86(5): 34–41. <https://elibrary.ru/zwawgt> (in Russian)
- Efimochkina N.R., Korotkevich Yu.V., Stetsenko V.V., Pichugina T.V., Bykova I.B., Markova Yu.M., et al. Antibiotic resistance of *Campylobacter Jejuni* strains isolated from food. *Voprosy pitaniya.* 2017; 86(1): 17–27. <https://elibrary.ru/xwveof> (in Russian)
- Kremleva A.A., Skomorina Yu.A., Akhmetova L.Sh., Podol'skaya T.B., Shepelin A.P., Polosenko O.V. Comparative analysis of nutrient media of domestic and foreign manufacturers for the isolation of campylobacteria. *Bakteriologiya.* 2021; 6(2): 32–7. (in Russian)
- Popova A.Yu., Dyatlov I.A. *Microbiological Control of the Quality of Food Products* [Mikrobiologicheskiiy kontrol' kachestva pishchevoy produktitsii]. Moscow: 2020. (in Russian)
- EUCAST. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. Available at: <https://www.eucast.org>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirtieth Informational Supplement. CLSI document M100. USA; 2020. Available at: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0. Available at: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Third Informational Supplement. CLSI document M45. USA; 2015: 22–4. Available at: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m45/>
- Domotenko L.V., Mironov A.Yu., Kosilova I.S., Shepelin A.P. Standardness of antimicrobial discs by various manufacturers in the light of import substitution. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2022; 67(9): 550–6. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-9-550-556> <https://elibrary.ru/afitwbs> (in Russian)
- Sharifi S., Bakhshi B., Najar-peerayeh S. Significant contribution of the CmeABC Efflux pump in high-level resistance to ciprofloxacin and tetracycline in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* clinical isolates. *Annal. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2021; 20(1): 36. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00439-6>
- Rodrigues J.A., Cha W., Mosci R.E., Mukherjee S., Newton D.W., Lephart P., et al. Epidemiologic associations vary between tetracycline and fluoroquinolone resistant *Campylobacter jejuni* infections. *Front. Public Health.* 2021; 9: 672473. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.672473>
- Szczepanska B., Andrzejewska M., Spica D., Klawe J.J. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from children and environmental sources in urban and suburban areas. *BMC Microbiol.* 2017; 17(1): 80. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-0991-9>
- Wozniak-Biel A., Bugla-Płoskonska G., Kielsznia A., Korzekwa K., Tobiasz A., Korzeniowska-Kowal A., et al. High prevalence of resistance to fluoroquinolones and tetracycline *Campylobacter* spp. isolated from poultry in Poland. *Microb. Drug Res.* 2018; 24(3): 314–22. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0249>
- Wagner J., Jabbusch M., Eisenblätter M., Hahn H., Wendt C., Ignatius R. Susceptibilities of *Campylobacter jejuni* isolates from Germany to ciprofloxacin, moxifloxacin, erythromycin, clindamycin, and tetracycline. *Antimicrob. Agents Chem.* 2003; 47(7): 2358–61. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.7.2358-2361.2003>

К статье И.С. Косиловой и соавт.
To the article by Irina S. Kosilova et al.

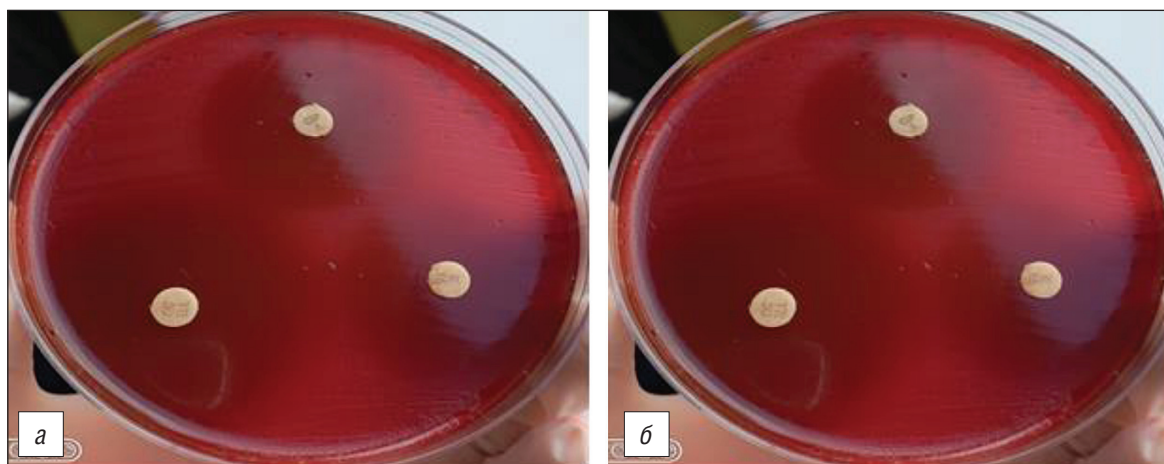


Рис. 1. Результаты определения чувствительности *Campylobacter jejuni* F-2 к ципрофлоксацину, эритромицину и тетрациклину диско-диффузионным методом на МХА-BD (а) и МХА-Оболенск (б).

Fig. 1. Results of the Susceptibility Testing of *Campylobacter jejuni* F-2 to ciprofloxacin, erythromycin and tetracycline using MHA-BD (a) and MHA-Obolensk (б) by the Disk Diffusion Method.

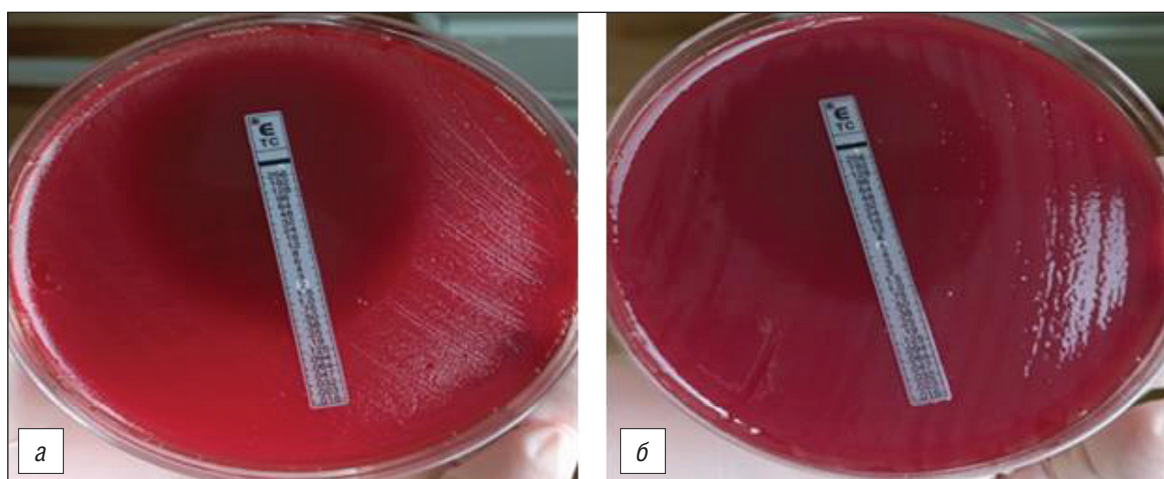


Рис. 2. Результаты определения чувствительности *Campylobacter jejuni* F-2 к тетрациклину методом градиентной диффузии (Е-тесты) на МХА-BD (а) и МХА-Оболенск (б).

Fig. 2. Results of *Campylobacter jejuni* F-2 Susceptibility Testing to tetracycline using MHA-BD (a) and MHA-Obolensk (б) by the Gradient Diffusion Method (E-tests).

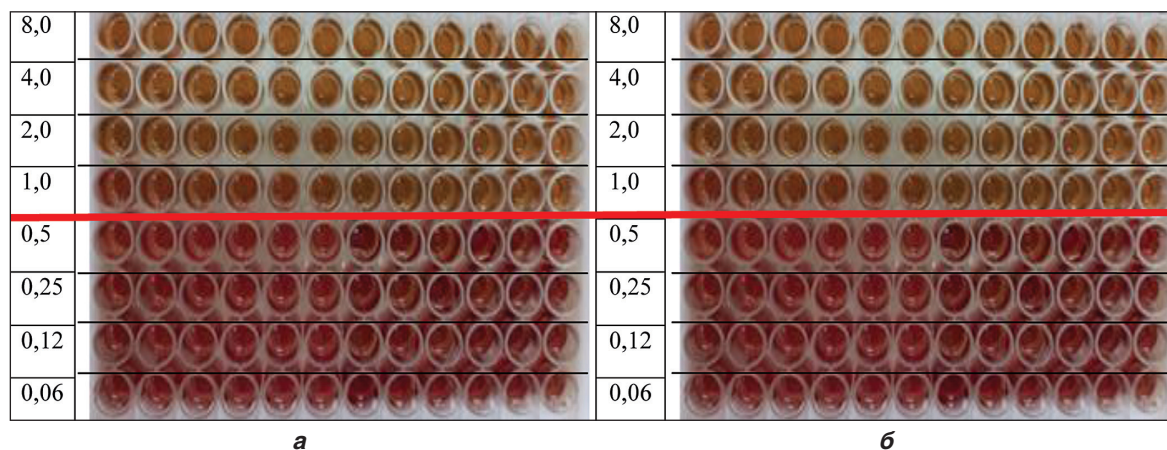


Рис. 3. Результаты определения чувствительности *Campylobacter jejuni* F-2 к эритромицину методом микроразведений в бульонах МХБ-BD (а) и МХБ-Оболенск (б). Красной линией отсечены полученные значения МПК эритромицина, равные 1,0 мг/л

Fig. 3. Results of *Campylobacter jejuni* F-2 Susceptibility Testing to erythromycin using MHB-BD (a) and MHB-Obolensk (б) by the Microdilution Method. The red line cuts off the obtained MIC values of erythromycin, which are equal to 1.0 mg/L.